



UNIVERSIDAD DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

ESTRUCTURA, ^{13}C RMN, BIOTRANSFORMACION
Y REACCIONES DE REAGRUPAMIENTO Y
CICLACION DE DITERPENOS DE SIDERITIS
ANDALUZAS

Antonio Martínez Rodríguez

Esta Tesis Doctoral fué defendida por D. Antonio Martínez Rodríguez, el día 8 de Mayo de 1986 y juzgada por el siguiente Tribunal:

Presidente:

Prof. Dr. D. Jose Luis Bretón Funes
Prof. invest. C.S.I.C. de
La Laguna.

Vocales:

Prof. Dr. D. Manuel Cortijo Merida
Catedrático de esta Universidad

Prof. Dr. D. Manuel Fraga González
Catedrático del C.S.I.C. de
La Laguna.

Prof. Dr. D. Alejandro Fernández Barrero
Catedrático de esta Universidad

Secretario:

Prof. Dr. D. Jose M^a Arias Peñalver
Prof. titular de esta Universidad

Siendo calificada con la nota de " APTO CUM LAUDE "



T 1/138 1

BIBLIOTECA
FACULTAD DE CIENCIAS
GRANADA

Estante 1
Tabla _____
Núm. 138

FE DE ERRATAS

Página

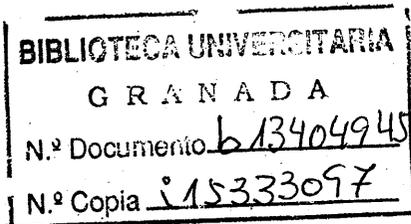
- 103 R₁ se encuentra sobre C-20 en el sistema ent-beyer -
-15-enico, debe encontrarse sobre C-1 con configura-
ción ent- β .
- 298 Falta un grupo metilo sobre C-8 con configuración
299 ent- β en las figuras de los productos 22, 23, 24 y 26.
- 315 1ª figura, el número 29 debe ser el 37.
- 375 Tabla 2, 4ª columna: el valor para C-12 dice "-1.82,"
debe decir "- 1.32."
- 378 Primer párrafo, línea 12, dice " $(\Delta\delta = - 0.91$ y $-1.26\dots$,"
debe decir " $(\Delta\delta = -0.85$ y $-1.32\dots$ ".
- 389 Línea 15; dice "... saturados 13 y 16, ..." debe decir
"... saturados 14 y 16,...".
- 392 Primer párrafo, línea 8, dice " γ son apantallantes.",
debe decir " γ son desapantallantes".
- 469 Segundo párrafo, línea 3, dice "puede pareciarse", debe
decir "puede apreciarse".
- 471 línea 3, dice " con la disposición ent- ", debe decir
" con la disposición ent- β ".
- 473 Segundo párrafo, línea 2, dice "producto 12", debe decir
"producto 10".
- 497 Debe figurar " Esquema III ".
- 499 Primer párrafo, línea 1, dice "por la cara ent- ", debe
decir "por la cara ent - β ". Línea 3 dice "por la cara
ent - β ", debe decir " por la cara ent- α ".
- 500 Debe figurar " Esquema IV ". En el producto 22
dice " R = OAc ", debe decir " R = OH ". En el produc-
to 23 el grupo acetoxilo sobre C-14 debe ser un grupo
hidroxilo. Ultimo producto de la parte izquierda de la
página es 24 y debe decir 26 .

Página

- 501 Tercer párrafo, línea 9, dice " dioxolan-2-iliium", debe decir " dioxan-2-iliium".
- 502 Segundo párrafo, línea 8, dice " 1,3-diòxolan-2-iliium ", debe decir " 1, 3-dioxan-2-iliium".
- 503 Primer párrafo, línea 3, dice "1,3 -dioxetan-2-iliium ", debe decir "1,3-dioxepan -2-iliium".

R. 31.825

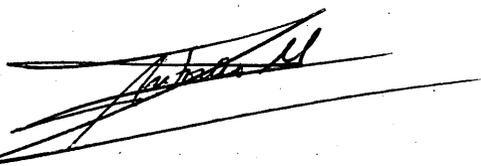
ESTRUCTURA, ^{13}C RMN, BIOTRANSFORMACION
Y REACCIONES DE REAGRUPAMIENTO Y
CICLACION DE DITERPENOS DE SIDERITIS
ANDALUZAS



ESTRUCTURA, ^{13}C RMN, BIOTRANSFORMACION
Y REACCIONES DE REAGRUPAMIENTO Y
CICLACION DE DITERPENOS DE SIDERITIS
ANDALUZAS

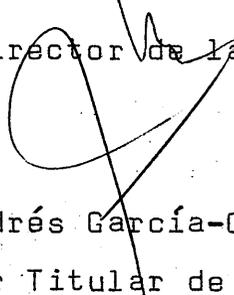
Antonio Martínez Rodríguez

Memoria presentada
para optar al Grado
de Doctor en Ciencias,
Sección de Químicas.



Visado en Granada, a
25 de Febrero de 1986

El Director de la Tesis:



Fdo. Andrés García-Granados L. de Hierro
Profesor Titular de Química Orgánica de
la Universidad de Granada.

A mi familia

Este trabajo ha sido realizado bajo la dirección del Prof. Dr. D. Andrés García-Granados López de Hierro a quien expreso mi más sincero agradecimiento.

Quiero manifestar mi agradecimiento a la Dra D^a Maria Esther Onorato Cutierrez por su constante colaboración y ayuda en el desarrollo del presente trabajo.

Así mismo, quiero expresar mi agradecimiento al Prof. Dr. D. F. Jorge López Aparicio, Catedrático y Director del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Granada, lugar donde se ha realizado el presente trabajo, y a todos los compañeros del Departamento.

Mi agradecimiento también al Prof. Dr. D. Jose María Arias, del Departamento de Microbiología, por las incubaciones realizadas, al Dr. D. Jorge Santoro, del Instituto de Estructura de la Materia (C.S.I.C.), por la realización de algunos espectros de ^{13}C RMN de alta resolución, al Prof. Dr. D. Jose Luís Bretón, del Instituto de Productos Naturales Orgánicos (C.S.I.C.), por su colaboración en el estudio de las biotransformaciones de sesquiterpenos, y al Prof. Dr. D. Oswaldo Socorro, del Departamento de Botánica, por su gran ayuda en el aspecto botánico de la presente Memoria.

 El presente trabajo ha sido realizado gracias a los siguientes Proyectos de Investigación concedidos por la Comisión Asesora de In-

investigación Científica y Técnica:

"Transformaciones biomiméticas de
diterpenos tetracíclicos: reaccion
es de reagrupamiento, eliminación
y ciclación " N° 0739/81 y

"Biotransformaciones y transformac
iones de compuestos sesquiterpé-
nicos y diterpénicos" N° 1209/84 .

I N D I C E

INTRODUCCION

1.- Objeto del trabajo	33
2.- Reacciones biomiméticas de algunos sistemas diterpénicos tetracíclicos	38
2.1.- Reacciones biomiméticas de 15,16-epoxibeyeranos	43
2.2.- Reacciones de ciclación en sistemas labdadiénicos.	51
3.- Biotransformación de terpenoides	61
4.- Resonancia magnética nuclear de carbono trece en sistemas biciclo [3.2.1]octánicos	95
5.- Diterpenos de Labiadas	107
6.- Estudio de <u>Sideritis</u>	109
6.1.- Características botánicas del género <u>Sideritis</u>	109
a) Posición sistemática	109
b) Descripción de la familia	109
c) Descripción del género	111
d) Delimitación de subgéneros y secciones	112
6.2.- Diterpenos de <u>Sideritis</u>	117

I PARTE

PARTE TEORICA

Aislamiento y determinación de estructuras de diterpenos de <u>Sideritis</u> Andaluzas	141
1.- Estudio de la <u>Sideritis Almeriensis</u>	143
2.- Estudio de la <u>Sideritis Pusilla</u>	150
3.- Estudio de la <u>Sideritis Pusilla</u> var <u>littoralis</u>	156
4.- Estudio de la <u>Sideritis arborescens</u> subsp. <u>paulii</u>	168
5.- Reacciones biomimeticas sobre sistemas <u>ent-labda-13(16),14</u> -diénicos	197

PARTE EXPERIMENTAL

1.- Técnicas generales utilizadas	211
2.- Formación de derivados	214
3.- Extracción del material vegetal y aislamiento de la fracción diterpénica	218
3.1.- Estudio de la <u>Sideritis almeriensis</u>	221
3.2.- Estudio de la <u>Sideritis pusilla</u>	224

3.3.- Estudio de la <u>Sideritis pusilla var littoralis</u>	227
3.4.- Estudio de la <u>Sideritis arborescens</u> subsp. <u>paulii</u>	233
Formación de derivados	242
4.- Reacciones biomiméticas sobre sistemas <u>ent</u> -labda-13(16),14-diénicos	248
4.1.- Obtención de los productos de partida	248
4.2.- Ciclación del producto <u>36</u>	251
4.3.- Ciclación del producto <u>32</u>	252
4.4.- Correlación química de los productos <u>37</u> y <u>38</u> con los aislados de la <u>Sideritis arborescens</u> subsp. <u>paulii</u>	255

II PARTE

PARTE TEORICA

Biotransformación de terpenoides	261
1.- Biotransformación de <u>ent</u> -beyerenos y <u>ent</u> -beyeranos	262
2.- Biotransformación de <u>ent</u> -18-acetoxi kaur-16-en-3,7-diona por <u>Aspergillus niger</u>	275

3.- Biotransformación del <u>ent</u> -18-aceto xi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno por <u>Rhizopus nigricans</u>	291
4.- Biotransformación de la deoxivulga rina con <u>Aspergillus ochraceus</u> y con <u>Rhizopus nigricans</u>	301
4.1.- Biotransformación de la deo- xivulgarina por <u>A. ochraceus</u>	303
4.2.- Biotransformación de la deo- xivulgarina por <u>R. nigricans</u>	307

PARTE EXPERIMENTAL

1.- Obtención de los productos de parti da	321
2.- Microorganismos y condiciones de cultivo	321
3.- Recuperación de metabolitos	323
4.- Biotransformaciones de <u>ent</u> -beyere- nos y <u>ent</u> -beyeranos	323
4.1.- Análisis físicos	323
4.2.- Aislamiento del <u>ent</u> -7 α -aceto- xi-14 β ,18-dihidroxibeyer-15 - -eno	324

4.3.- Obtención del <u>ent-7α</u> ,18-dia cetoxi-14 β -hidroxibeyer-15- -eno	325
4.4.- Obtención del <u>ent-7α</u> -aceto- xi-14 β ,18-dihidroxibeyerano	326
4.5.- Incubación del <u>ent-7α</u> -aceto xi-14 β ,18-dihidroxibeyerano con <u>R. nigricans</u> .	327
4.6.- Incubación del <u>ent-7α</u> ,18-dia cetoxi-14 β -hidroxibeyer-15- -eno con <u>Aspergillus ochra- ceus</u> .	328
4.7.- Incubación del <u>ent-7α</u> ,18-dia cetoxi-14 β -hidroxibeyer-15 - -eno con <u>R. nigricans</u> .	328
4.8.- Formación de derivados	332
5.- Biotransformaciones del <u>ent-18-ace-</u> <u>toxikaur-16-en-3,7-diona</u> con <u>Asper-</u> <u>gillus niger</u> .	333
5.1.- Análisis físicos	333
5.2.- Aislamiento del <u>ent-18-aceto-</u> xi-3 β ,7 α -dihidroxikaur-16-eno	334
5.3.- Obtención del <u>ent-18-acetoxi-</u> kaur-16-en-3,7-diona	334

5.4.- Incubación del <u>ent-18-acetoxi</u> kaur-16-en-3,7-diona con <u>As-</u> <u>pergillus niger</u>	335
a) Incubación a 48 horas	335
b) Incubación a 6 días	336
5.5.- Formación de derivados y co- relación química	339
6.- Biotransformación del <u>ent-18-aceto-</u> <u>xi-8α-hidroxilabda-13(16),14-dieno</u> por <u>Rhizopus nigricans</u>	348
6.1.- Obtención de materia prima	348
6.2.- Obtención del <u>ent-18-acetoxi</u> -8 α -hidroxilabda-13(16),14 - -dieno (23)	348
6.3.- Incubación del producto 23 con <u>R. nigricans</u>	349
6.4.- Formación de derivadas	351
7.- Biotransformación de la deoxivulga rina con <u>Aspergillus ochraceus</u> y con <u>Rhizopus nigricans</u>	354
7.1.- Análisis físicos	354
7.2.- Aislamiento de vulgarina	355

7.3.- Obtención de la deoxivulgarina	355
7.4.- Incubación de la deoxivulgarina con <u>A. ochraceus</u>	356
7.5.- Incubación de la deoxivulgarina con <u>R. nigricans</u>	358
7.6.- Reducción de la deoxivulgarina con BH_4Na	360
7.8.- Transformación de la deoxivulgarina a vulgarina	361

III PARTE

PARTE TEORICA

^{13}C RMN de <u>ent</u> -beyerenos y <u>ent</u> -beyerenos funcionalizados en los ciclos B, C y D	367
1.- Estudio de los efectos producidos por la hidroxilación sobre C-14	371
1.1.- Hidroxilación sobre C-14 en sistemas <u>ent</u> -beyeránicos	371
1.2.- Hidroxilación sobre C-14 en sistemas <u>ent</u> -beyeránicos	380

2.- Estudio de los efectos producidos por las hidroxilaciones sobre C-7 y C-14	384
3.- Estudio de los efectos producidos por un grupo epoxy situado en C-15 y C-16	393
4.- Estudio de los efectos producidos por un grupo ceto situado en C-14	399

PARTE EXPERIMENTAL

1.- Análisis físicos	409
2.- Reacciones utilizadas	410
3.- Obtención de materias primas	412
4.- Semisíntesis de productos estudiados por ^{13}C RMN	413
4.1.- Productos obtenidos a partir del tartesol	413
4.2.- Productos obtenidos a partir del 7-acetilpusillatriol	424
4.3.- Productos obtenidos a partir del pusillatriol	433
4.4.- Productos obtenidos a partir del 14-acetilpusillatriol	439

IV PARTE

PARTE TEORICA

Reacciones de reagrupamiento de epoxi
beyeranos funcionalizados en C-14 449

1.- Reacción de reagrupamiento del ent-
-18-acetoxi-14 α -hidroxi-15 α ,16 α -epo
xibeyerano 450

2.- Reacción de reagrupamiento del ent-
18-acetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epo-
xibeyerano 459

3.- Reacción de reagrupamiento del ent-
14 α ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeye-
rano 476

4.- Reacción de reagrupamiento del ent-
14 β ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeye-
rano 487

5.- Discusion de los resultados obteni-
dos en estos reagrupamientos 496

PARTE EXPERIMENTAL

1.- Analisis fisicos 509

2.- Reacciones utilizadas 509

3.- Aislamiento del producto de partida 511

4.- Semisíntesis de los productos uti lizados en estas experiencias	511
5.- Reagrupamiento del producto 1	520
6.- Reagrupamiento del producto 3	521
7.- Reagrupamiento del producto 6	521
8.- Reagrupamiento del producto 20	525
9.- Reagrupamiento del producto 28	529
10.- Correlación química y derivados	532

<u>CONCLUSIONES</u>	539
---------------------	-----

<u>BIBLIOGRAFIA</u>	555
---------------------	-----

APENDICE

PARTE I

Espectros de ^1H RMN	
Espectros de ^{13}C RMN	

PARTE II

Espectros de ^1H RMN	
Espectros de ^{13}C RMN	

PARTE III

Espectros de ^1H RMN

Espectros de ^{13}C RMN

PARTE IV

Espectros de ^1H RMN

Espectros de ^{13}C RMN

1. ...
2. ...
3. ...
4. ...
5. ...
6. ...
7. ...
8. ...
9. ...
10. ...

ANNEXE

1. ...

2. ...

3. ...

4. ...

5. ...

6. ...

7. ...

8. ...

9. ...

10. ...

INTRODUCCION

INTRODUCCION

El presente documento tiene como objetivo principal proporcionar una visión general de los aspectos más relevantes de la investigación realizada en el campo de la biología celular y molecular durante el periodo comprendido entre 1980 y 1985. Este trabajo se fundamenta en los datos obtenidos a través de técnicas de cultivo celular, análisis de ADN y estudios de expresión génica, que han permitido comprender mejor los mecanismos de regulación de la síntesis de proteínas y el papel de los factores de transcripción en el desarrollo de organismos multicelulares.

En primer lugar, se describen los métodos utilizados para el aislamiento y cultivo de líneas celulares primarias y derivadas, así como las técnicas de extracción y purificación de ácidos nucleicos. Posteriormente, se detallan los resultados obtenidos en los experimentos de hibridación in situ y en los estudios de expresión de genes reporteros, que demuestran la importancia de ciertos factores de transcripción en la iniciación de la cascada de señalización durante la diferenciación celular.

Además, se discuten las implicaciones de estos hallazgos en el contexto de la fisiología normal y en el estudio de enfermedades genéticas y cancerosas. Se concluye que los datos presentados aquí constituyen una base sólida para futuras investigaciones que permitan elucidar los detalles moleculares de los procesos de desarrollo y de la regulación génica.

ИДИОЗУОРЯТИ

I N T R O D U C C I O N

1. OBJETO DEL TRABAJO.-

El trabajo desarrollado en la presente Memoria tiende a cubrir una serie de aspectos que creemos interesantes dentro del campo de los productos naturales. En primer lugar se han realizado diversos estudios de Sideritis andaluzas, plantas que son, en forma importante, las suministradoras de materias primas de éste y otros trabajos de investigación. El estudio fitoquímico realizado sobre ellas tiene el interés de familiarizar al investigador novel con el manejo de los procedimientos y técnicas de aislamiento y determinación de estructuras de sistemas carbocíclicos, trabajo muy formativo para el Licenciado que realiza su Tesis Doctoral ya que en ocasiones se aislan productos cuya estructura se identifica con facilidad, mientras que, en otros casos, la determinación de tal estructura lleva consigo un sistemático estudio de la misma y sus derivados, lo cual permite profundizar en el conocimiento de las téc

nicas, fomentar la iniciativa y agudizar la imaginación, esto es, desarrollar en suma la madurez del doctorando.

Sin embargo, y salvo raras excepciones, la labor de un químico orgánico no debe terminar en las determinaciones estructurales sino que, tanto por cuestiones científicas como de formación del doctorando, se deben aprovechar las materias primas aisladas para el desarrollo de nuevos procedimientos, estudios de aspectos espectroscópicos interesantes o semisíntesis de sustancias de interés químico o biológico.

Nuestro grupo de investigación posee ya cierta experiencia en el estudio de reacciones biomiméticas de sistemas terpénicos y es precisamente este aspecto de la química de los productos naturales uno de los que se ha abordado en la presente Tesis. En el caso de sistemas labdadiénicos estos estudios han sido provocados por la presencia en las Sideritis de sistemas que a priori podrían correlacionarse biogenéticamente y cuya prueba de tal correlación ha sido precisamente

conseguida en el trabajo objeto de esta Memoria. Por otra parte, aunque las hipótesis biogenéticas de Wenkert han sido comprobadas mediante excelentes procesos biomiméticos en la década de los setenta, tan excelentes que daban la impresión de que la investigación en este aspecto estaba concluida, las comprobaciones biomiméticas en sistemas tetracíclicos estaban hechas sobre esqueletos tipo escasamente funcionalizados. En este trabajo venimos a completar y ampliar las posibilidades de reacciones biomiméticas de algunos diterpenos tetracíclicos altamente funcionalizados, lo que nos permite indicar la posibilidad de biogénesis de algunas series de productos naturales.

Aprovechando la rigidez del sistema carbocíclico que nos proporciona el esqueleto beyeránico se ha realizado un detallado estudio de resonancia magnética nuclear de carbono trece de ent-beyerenos y ent-beyeranos funcionalizados en los ciclos B, C y D. Aunque las nuevas técnicas bidimensionales están abriendo nuevos campos para la asignación de desplazamientos químicos en

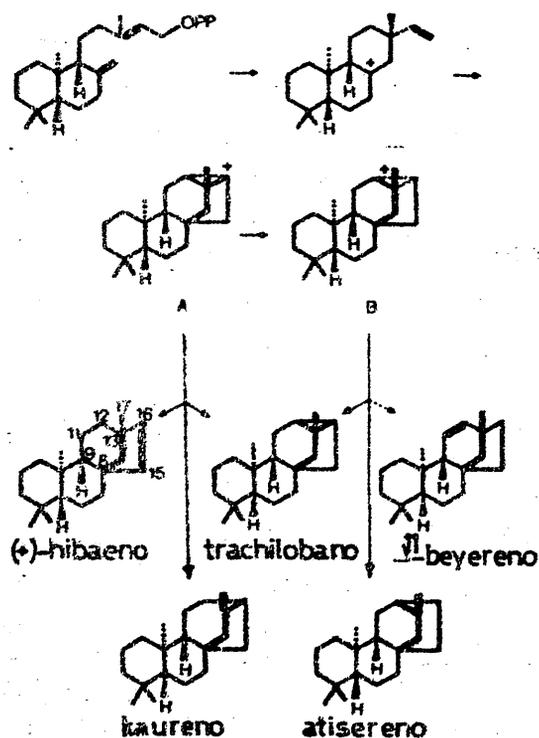
sistemas carbocíclicos, es interesante el estudio de los efectos χ debido a la gran influencia que los factores estereoquímicos tienen sobre este efecto. Por ello nos hemos dedicado a estudiar sistemas polihidroxilados en esqueletos rígidos, lo que nos ha permitido llegar a conclusiones de interés, particularmente en lo que se refiere a los efectos χ -sin.

Una línea de investigación que consideramos primordial y que se inició en una anterior Tesis Doctoral y en mi Tesina de Licenciatura es la de biotransformación de sistemas terpénicos. Este tipo de bioconversiones creemos que son muy interesantes por el fácil acceso que este tipo de procesos se supone que poseen a puntos de la molécula que por vía química son cuando menos problemáticos. Este tipo de trabajos poseen el problema perenne de que son interdisciplinarios. Sin embargo, no por complejos, resultan menos interesantes pues además de su valor científico suponen un motivo más de autodisciplina y de educación en la colaboración entre equipos científicos.

Afortunadamente todos los puntos de inves
tigación abordados en esta Memoria han podido ser
completados, al menos en sus aspectos fundamenta
les, lo que constituye un motivo de satisfacción.

2. REACCIONES BIOMIMETICAS DE ALGUNOS SISTEMAS DITERPENICOS TETRACICLICOS

El esquema biogénético de Wenkert (1955) predijo una gama de sistemas diterpénicos biogénicamente interrelacionados.



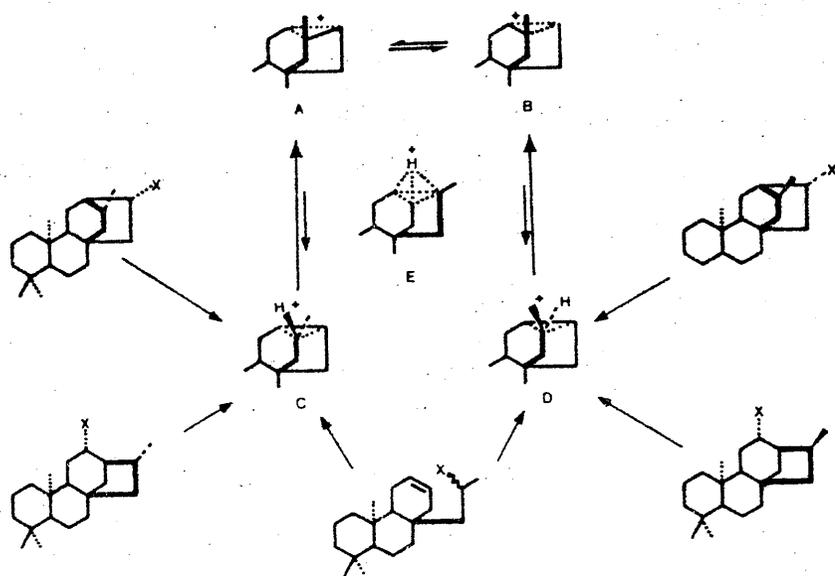
En la década de los setenta se publicaron diversos estudios interesantes de reagrupamientos biomiméticos particularmente de los ciclos C y D de diterpenos tetracíclicos, destacando los trabajos de Coates y Bertram (Coates 1971-1 y -2) y otros debidos a McAlees (McAlees, 1975). Puede observarse que se han propuesto dos carbocationes claves para la formación de los distintos esqueletos. Así, el carbocatión A, ha sido obtenido por desaminación, mediante reacción con NO_2H , de 16-aminobeyeranos, descomposición de tosilhidrazonas de 16-cetobeyeranos y solvolisis de ent-16 α -tosiloxibeyeranos. El carbocatión B se ha podido obtener mediante solvolisis de ent-12 α -hidroxibeyeranos, así como, otros derivados atisánicos y 12-hidroxikauranos, si bien en estos dos últimos casos en forma indirecta vía carbocatión D. Estos tosilatos sufren una transposición Wagner-Meerwein y eliminación en presencia de ácido acético, obteniendose fundamentalmente isoatisirenos. Por el contrario la formolisis conduce, mediante sustitución nucleofílica, a ent-12-formiloxibeyeranos.

El carbocatión A, generado por medios químicos, evoluciona mediante reagrupamiento Wagner-Meerwein a kaureno y, en ciertas condiciones, a trachilobano. El carbocatión B produce sin embargo esqueletos beyerénicos, atisirénicos y también trachilobánicos.

Por lo que a estas experiencias se refiere, no se observa desplazamiento de hidruro entre C-12 y C-16, por lo que no hay interconversión entre los carbocationes A y B, preponderando la reacción de eliminación.

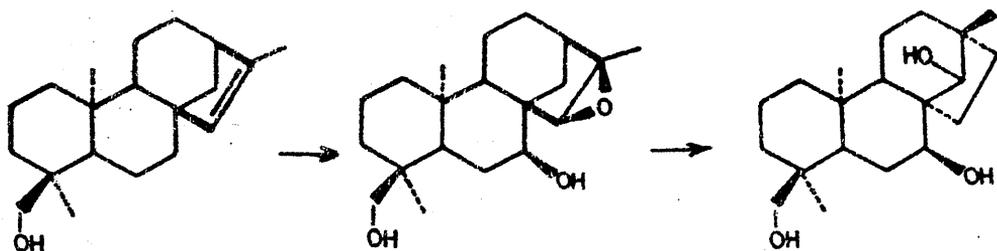
Si la reacción de solvolisis de tosilatos se realiza en un medio menos nucleofílico (fórmico, trifluoroacético), se consigue disminuir la velocidad de captura nucleofílica en C-12 y C-16, aumentando relativamente la velocidad de migración de hidruro, es decir, cierta interconversión entre los carbocationes A y B, lo cual se ha comprobado trabajando con productos deuterados.

En el año 1975, McAlees y McCrindle postulan la existencia de los carbocationes C y D (epímeros en C-16) en equilibrio a través del carbocatión E con los carbocationes A y B.

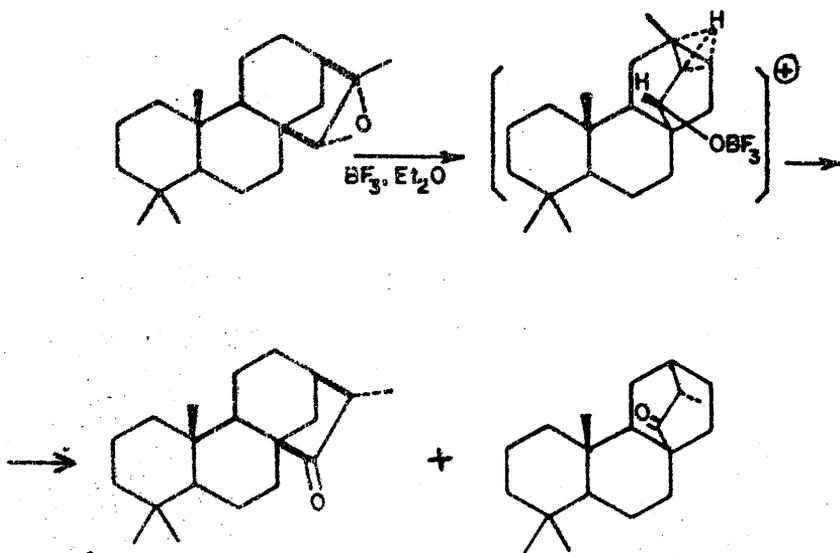


El reagrupamiento de ent-beyerenos en ent-atisenos puede realizarse fácilmente partiendo de ent-beyerenos funcionalizados en C-12 y C-17. Así los tiocarbonatos de ent-12 α ,17-dihidroxibeyer-15-enos se convierten en forma casi cuantitativa en sistemas ent-atis-13-énicos (García-Granados, 1982-1).

El carbocación A también puede obtenerse fácilmente a partir de los 15,16-epóxiderivados. En un medio de ácido de Lewis el anillo oxiránico se abre originando el carbocación A, que posteriormente puede evolucionar para dar la conversión de isokaureno en beyereno (Rodríguez, 1974-1)



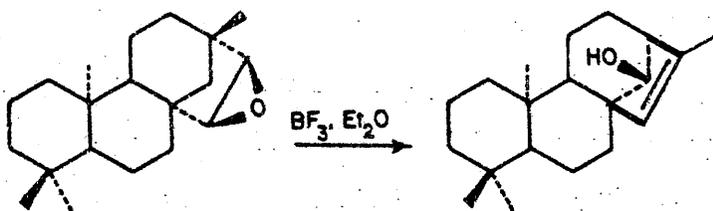
o bien formarse un sistema neoatisiránico a partir del epóxido de filocladeno (Buchanan, 1967; Gunn, 1971).



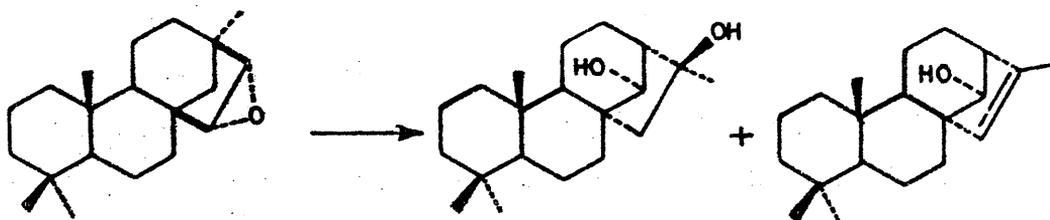
2.1 REACCIONES BIOMIMÉTICAS DE 15,16-EPOXIBEYERANOS.

Dentro de este tipo de reacciones biomiméticas comentadas anteriormente quiero destacar las realizadas con esqueletos beyeránicos epoxidados en las posiciones 15/16 dado que las experiencias realizadas en este sentido que figuran en la presente Memoria se han realizado con 15,16-epoxibeyeranos.

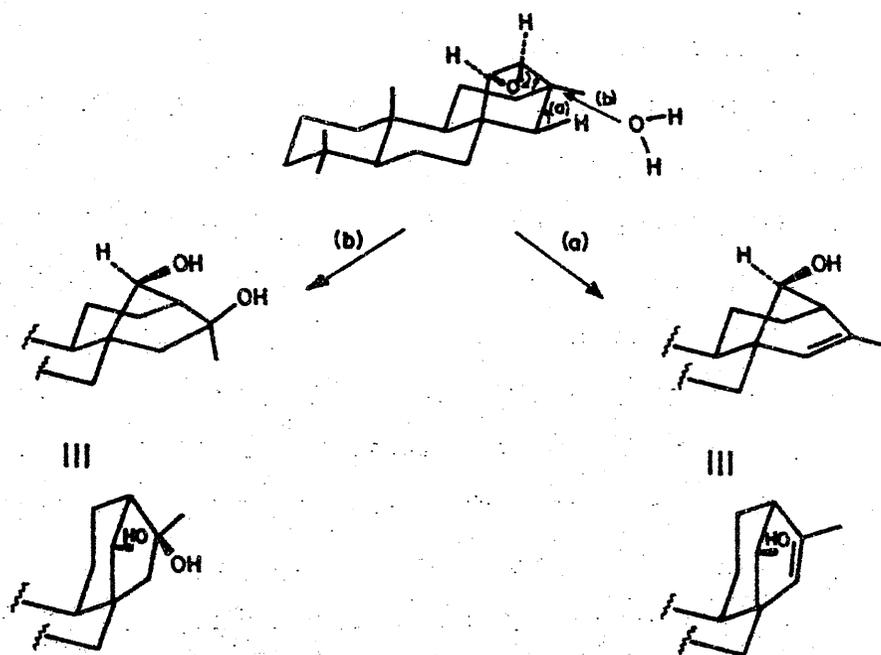
La transformación del esqueleto beyeránico en kaurénico fué llevada a cabo por Kapadi (Kapadi, 1965) al tratar el ent-15 α ,16 α -epoxibeyerano con $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ a 0°C en benceno, obteniéndose con muy buen rendimiento (85 %) el ent-14 α -hidroxikaur-15-eno.



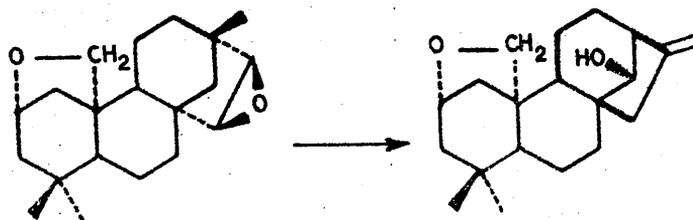
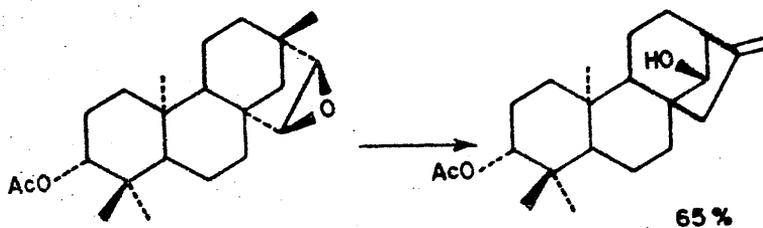
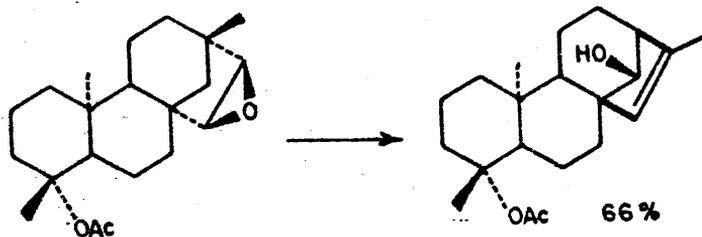
El mecanismo de este reagrupamiento fué establecido por Yoshikoshi (Yoshikoshi, 1967), comprobándose que cuando la reacción se realiza en un medio anhído se obtiene mayoritariamente (88 %) el isokaureno esperado junto con un producto muy minoritario (15 α ,16 β -dihidroxikaureno) procedente de la participación de una molécula de agua en el proceso de reagrupamiento, obteniendose de esta forma un grupo hidroxilo sobre C-16. Si la reacción se realiza en un medio saturado de agua, el producto mayoritario es el hidratado (70 %) y el minoritario el isokaureno (20%) .



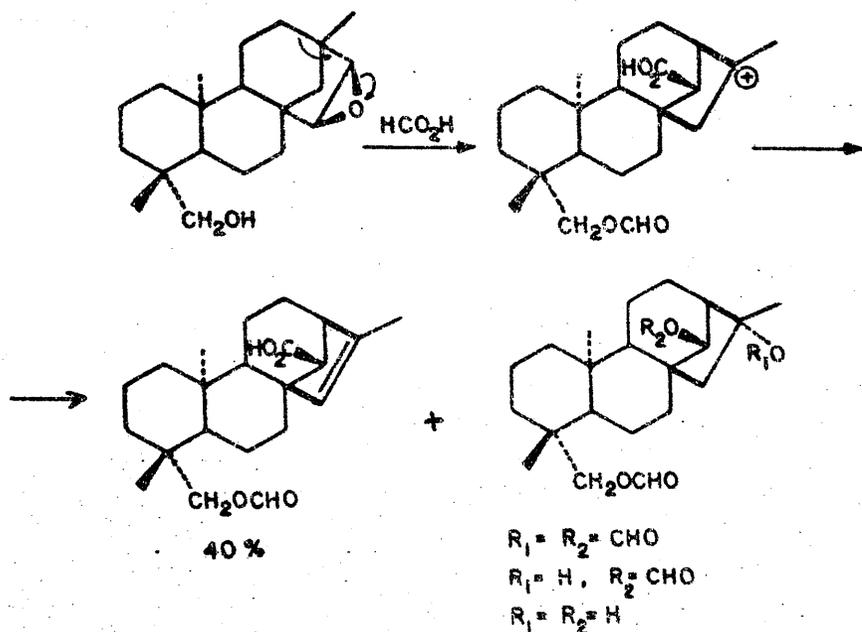
Según estos resultados se propuso un mecanismo concertado en el que la apertura del epóxido es simultánea con la migración del enlace C(12)-C(13) a C(12)-C(16), produciéndose o bien la pérdida de un protón en C-15 (obteniéndose el isokaureno) ó el ataque de una molécula de agua sobre C-16 (originando un α -hidroxi sobre C-14 y un β -hidroxi sobre C-16).



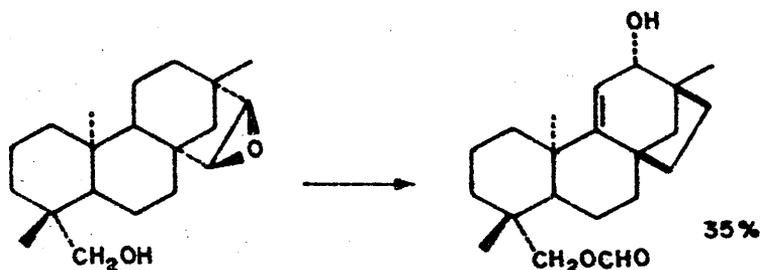
Cabe destacar que cuando el producto de partida es un derivado acetilado en el anillo A, el rendimiento del proceso disminuye hasta un 65 %. Por otra parte, parece que se produce también una salida de un protón en C-17 obteniéndose el doble enlace exocíclico (Kapadi 1965, Hanson, 1967 y 1970).



Murray (Murray, 1974) abordó también este reagrupamiento mediante el estudio de la reacción del ent-19-hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano con ácido fórmico. A baja concentración de ácido fórmico se originan una serie de productos esperados en este tipo de reagrupamiento, si bien como puede observarse, la configuración en C-16 de todos los ent-kaurenos aislados es siempre la misma, bien porque efectivamente pueda ser el resultado del ataque del nucleófilo por la cara menos impedida (ent- β) o bien porque sea el resultado de un ataque concertado con la migración del sistema carbocíclico en su transformación de esqueleto.



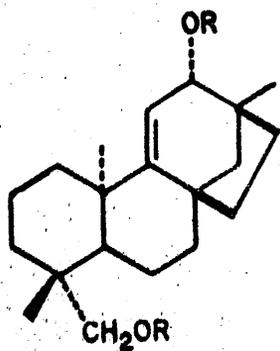
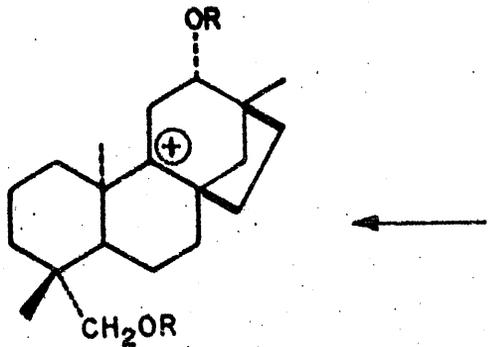
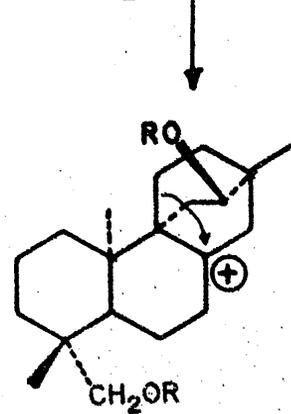
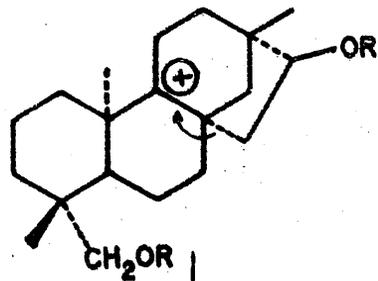
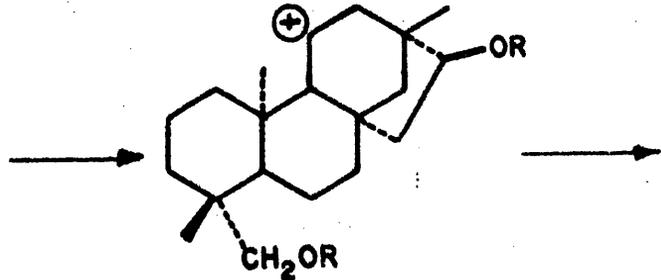
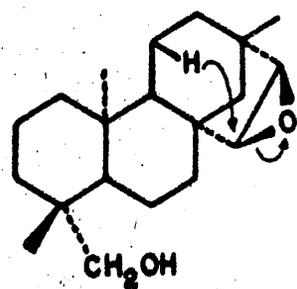
Cuando la reacción se realiza en un medio de ácido fórmico concentrado, el producto mayoritario sigue un camino totalmente diferente como es la apertura del grupo epoxi por el carbono 15 en lugar de por el carbono 16. Usualmente los



procesos que se han realizado originando un carbocatión sobre C-15 en este tipo de esqueletos siempre ha dado como resultado la eliminación del protón exo en C-16 o la captura de una molécula de disolvente. Sin embargo, en este caso, como no hay protón exo sobre C-16 y además la apertura del grupo epoxi protege la cara exo de los carbonos sobre los que está situado, se impide el ataque del nucleófilo. Tengase en cuenta que la cara endo de C-15 está enormemente impedida estericamente por el resto de la molécula y por el metilo

de C-20, por lo que los procesos concertados intermoleculares en C-15 están prácticamente prohibidos. Estos autores postularon una migración concertada de hidruro desde la posición 11-axial (ent-11 β) hacia ent-15 β , originándose de esta forma una carga sobre C-11 que probablemente evoluciona de forma concertada por migración del protón axial sobre C-9, seguido de un reordenamiento del esqueleto, formándose una unión entre C-15 y C-9 y posterior reordenamiento para dar un sistema 8,13-diepibeyeránico cargado sobre C-9, el cual se estabiliza por eliminación de un protón de C-11 originando un sistema $\Delta^9(11)$ del nuevo esqueleto.

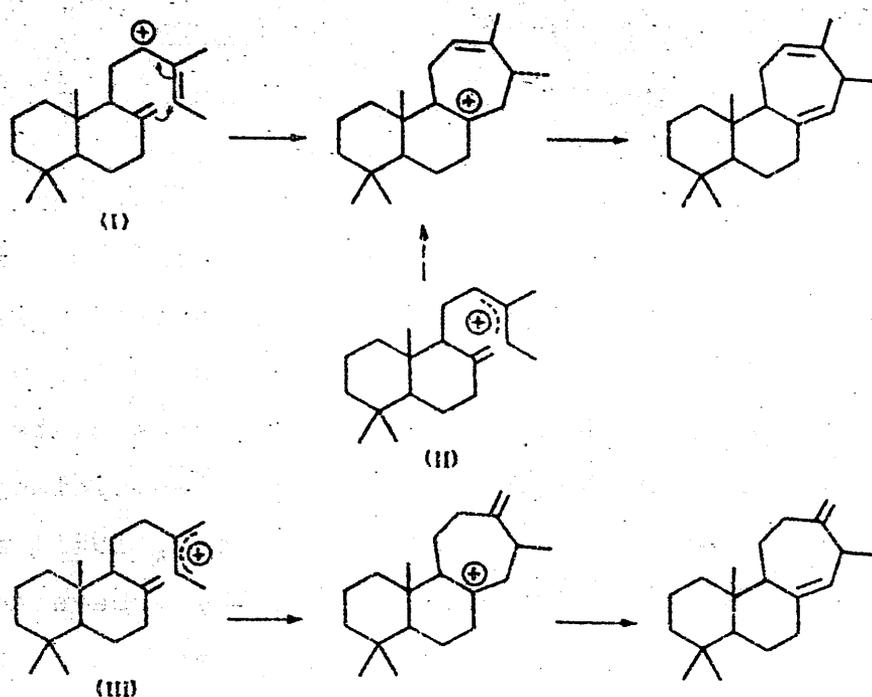
Tengase en cuenta que el grupo hidroxil que resulta de la apertura del grupo epoxi aparece ahora como un alcohol alílico en C-12 con configuración ent-12 β (vease el siguiente esquema):



2.2 REACCIONES DE CICLACION EN SISTEMAS LABDADIENICOS .

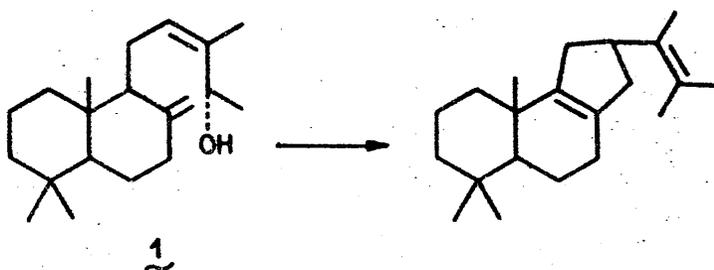
Existen algunos antecedentes bibliográficos que abordan la reacción de ciclación de sistemas labdadiénicos, que resultan de gran utilidad e interés por la información que han proporcionado en lo que a biogénesis de estos sistemas se refiere. Así, son conocidas las ciclaciones a esqueletos de isopimarano (Bory, 1961), pimarano (Hall, 1972 y Fetizon, 1978) y beyerano (Hall, 1972). Estas ciclaciones se producen en medios ácidos, aunque también pueden producirse otras ciclaciones mediante reacciones de oxidación (Cambie, 1971 y 1973) ó deshidratación (Joulain, 1977).

A veces, se ha intentado la ciclación de esqueletos labdadiénicos con objeto de establecer rutas biogénéticas en la obtención de esqueletos estrobánicos (Herz, 1977). Estos esqueletos podrían generarse a partir de los iones bicíclicos I, II ó III. Ya que estos iones pueden

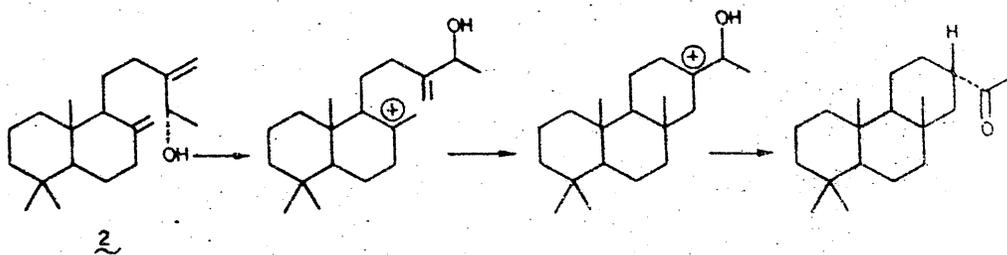


obtenerse fácilmente a partir de compuestos como ent-12 α -hidroxilabda-8(17),13-dieno, ent-14 α -hidroxilabda-8(17),12-dieno (1) ó ent-14 α -hidroxilabda-8(17),13(16)-dieno (2), se pensó que estos compuestos podrían ser precursores de los esque-

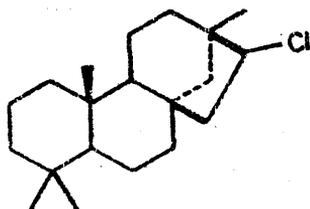
letos estrobánicos pues existen precedentes de la formación de anillos de siete miembros mediante ciclación catiónica inducida. No obstante, el cierre del anillo en este tipo de compuestos no tuvo lugar de la forma esperada para formar el esqueleto estrobánico: la ciclación del producto 1 producía un hidrocarburo procedente de la ciclación del ión II para formar un anillo de cinco miembros y no de siete.



La ciclación según las mismas condiciones, con el producto 2 tampoco evoluciona, como se esperaba, hacia el esqueleto estrobánico, originándose una cetona según la vía:

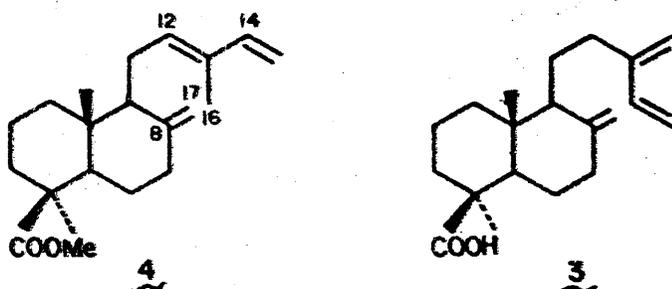


A partir del acetato del producto 2 se obtenía el esqueleto filocladánico:

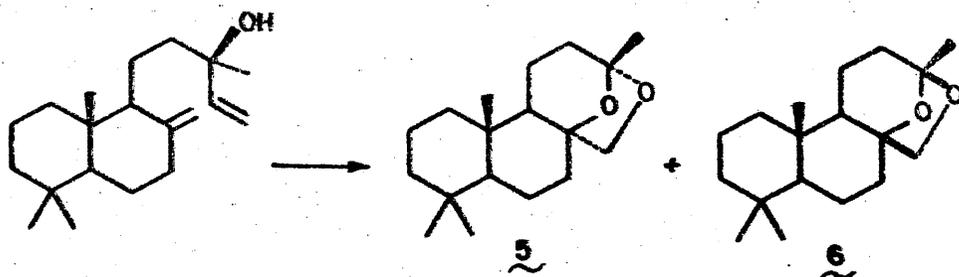


Los carbocationes I, II y III también pueden generarse a partir de compuestos labdatriénicos en medio ácido (de Pascual Teresa, 1982). Cuando el ácido mirceocomunico (3) se hace reaccionar con un medio ácido ($\text{AcOH}/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$) se protona el doble enlace 8(17) obteniéndose productos de isomerización del doble enlace. Dependiendo de las condiciones de reacción, se obtienen productos de ciclación a esqueletos de pimarano, isopimarano y beyerano, ó productos de ciclación de la cadena lateral sobre C-8 y sólo se obtiene un producto de ciclación a esqueleto estrobánico con bajo rendimiento. En las mismas condiciones, el trans-comunato de metilo (4) origina productos de isomerización del sistema dié-

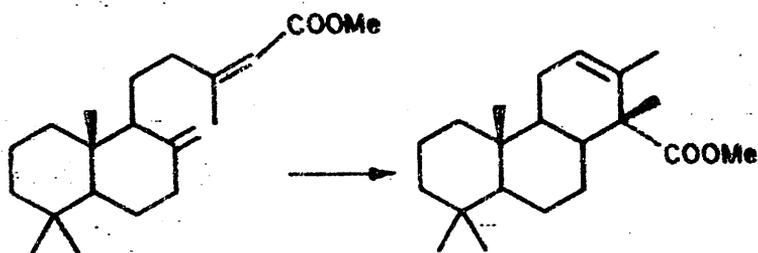
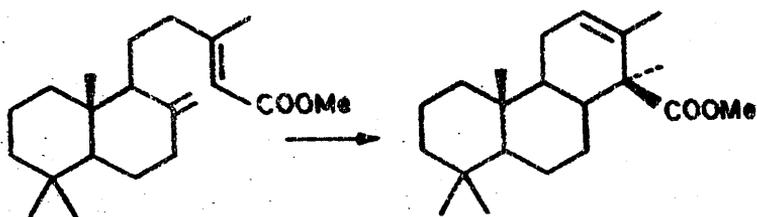
nico y del doble enlace 8(17) junto con un producto procedente de la adición 1,4 de agua al sistema diénico y posterior ciclación del alcohol obtenido sobre C-8 y además se obtiene un producto estrobánico procedente de la ciclación del doble enlace 8(17) sobre el carbocación en C-14.



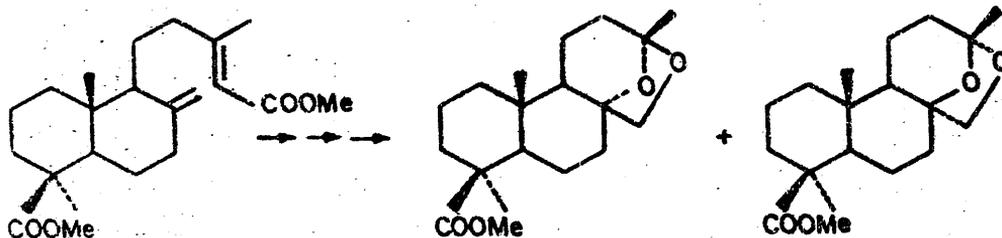
La obtención de éteres cíclicos (5 y 6) se ha logrado a partir de esqueletos labdadiénicos (Grant 1978-1 y -2, Cambie, 1973).



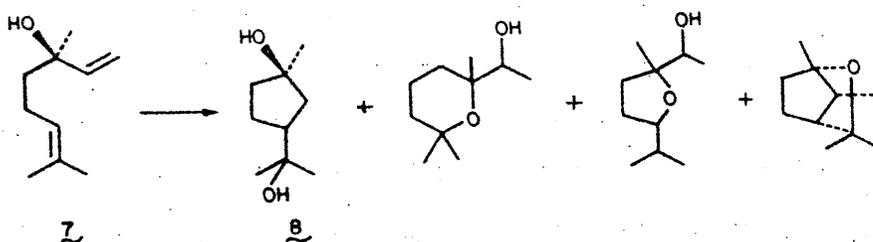
También se ha realizado la ciclación del E y Z-anticopalato de metilo en medio ácido (Borry, 1975)



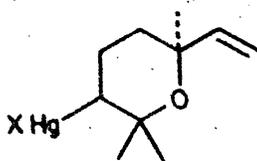
Si la ciclación de este tipo de esqueletos se realiza vía epoxidación del doble enlace 8(17) se obtienen éteres cíclicos análogos a los productos 5 y 6 (de Pascual Teresa, 1984).



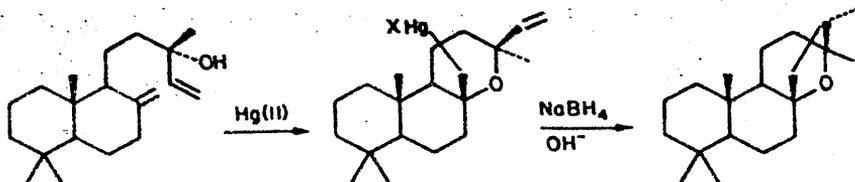
Ito realiza la ciclación inducida por Hg (II) de compuestos vinilcarbinólicos terpénicos (Ito 1979-1 y -2). Así, estudian la ciclación de linalool (7) a iridanol (8), obteniendo también una mezcla de hidroxiéteres cuya composición varía según el tiempo de reacción:



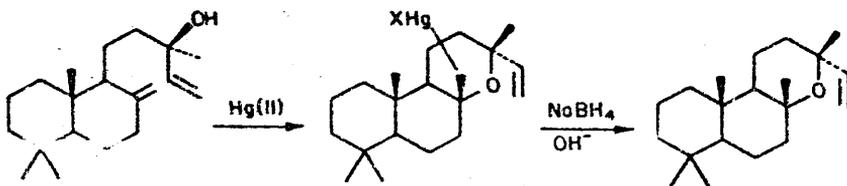
Todos estos productos pueden obtenerse mediante reacción de oximercuriación-demercuriación a partir del linalool vía un intermedio tipo



Estos resultados fueron aplicados al 13-epimanool, obteniéndose el óxido de estrobano.



Esta reacción constituye una ciclación biomimética de un sistema labdadiénico al esqueleto estrobánico, ciclación que fué intentada sin éxito por Herz (Herz, 1977). En las mismas condiciones, el manool sólo produce un óxido de manoil:

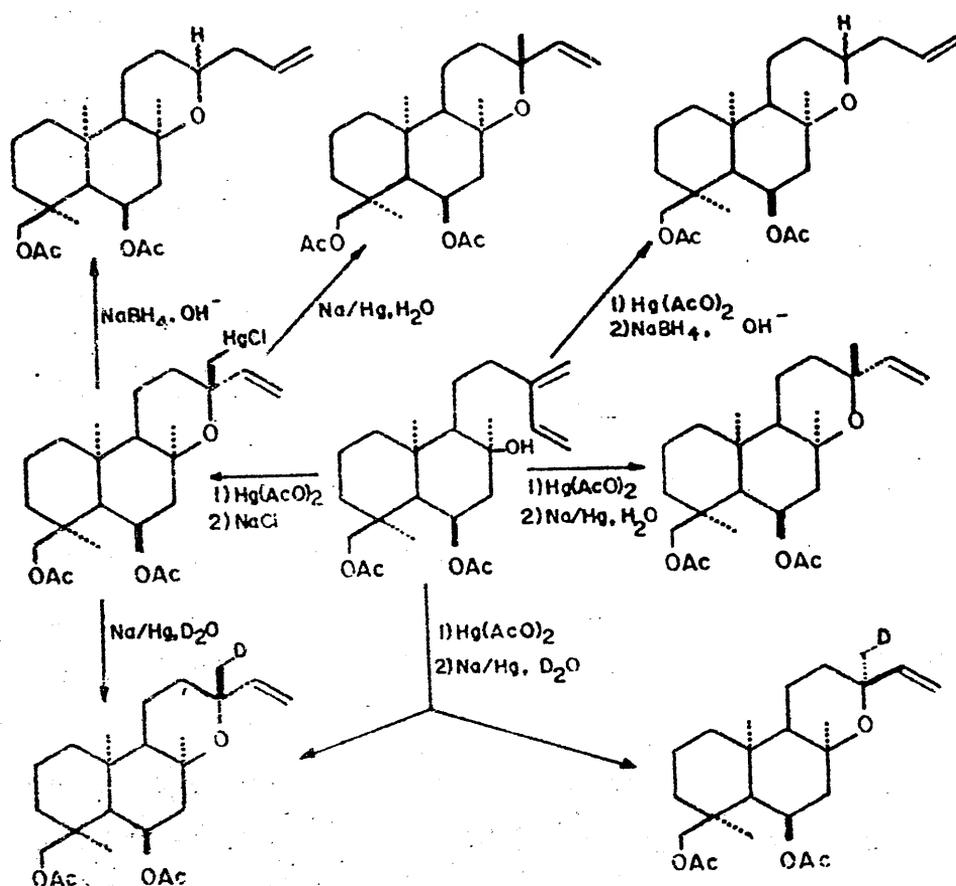


Puede comprobarse que cuando el mercurio y el vinilo quedan en disposición 1,3-diaxial, el radical que se produce al ser eliminado el mercurio por el borohidruro sódico cicla con el doble

enlace del vinilo originando el esqueleto estrobánico.

Dentro de este tipo de reacciones, se ha abordado en nuestro laboratorio una serie de reacciones biomiméticas en esqueletos labdadiénicos aislados de Sideritis andaluzas (García-Granados, 1982-2 y 1983-1). La ciclación del ent-6 α , 18-diacetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno, realizada mediante oximercuriación-demercuriación, empleando como reductor amalgama de sodio, conduce mayoritariamente al ent-6 α ,18-diacetoxi-8 α ,13(R)-epoxilabda-14-eno. Cuando la reacción de demercuriación se lleva a cabo con borohidruro sódico, tanto en la reacción de OM-DM de conjunto, como en la reacción del organomercurial previamente aislado, no se aislan oxidos de manoil, sino que se obtiene un producto de transposición radicalaria para el que se propone la estructura de ent-6 α ,18-diacetoxi(14 \rightarrow 16)abeo-13(S)-óxido de manoil. Estos resultados aparecen en el siguiente esquema y son una prueba de la posible inter-

relación biogénica entre los ent-8 α -hidroxilab-
da-13(16),14-dienos y los ent-13-epóxidos de ma-
noilo que coexisten en determinadas especies del
género Sideritis.



3. BIOTRANSFORMACION DE TERPENOIDES

En los últimos años se ha prestado bastante atención a la utilización de microorganismos en síntesis orgánica. Este interés radica en la regio y estereoespecificidad de los sistemas enzimáticos, que permite, por un lado, el que un determinado microorganismo transforme un grupo sin afectar a otros que existan en la molécula y por otro lado, la posibilidad de acceder a posiciones de la molécula que por vía química resultan problemáticas. Esto hace que mediante el uso de estos sistemas puedan obtenerse con buen rendimiento y alto grado de pureza, con procedimientos sencillos, una serie de productos que no son fácilmente asequibles por otros procedimientos.

Algunos enzimas presentan especificidad casi absoluta por un determinado sustrato y no actúan sobre moléculas con estructura muy parecida. Otros, sin embargo, no poseen tanta especifici

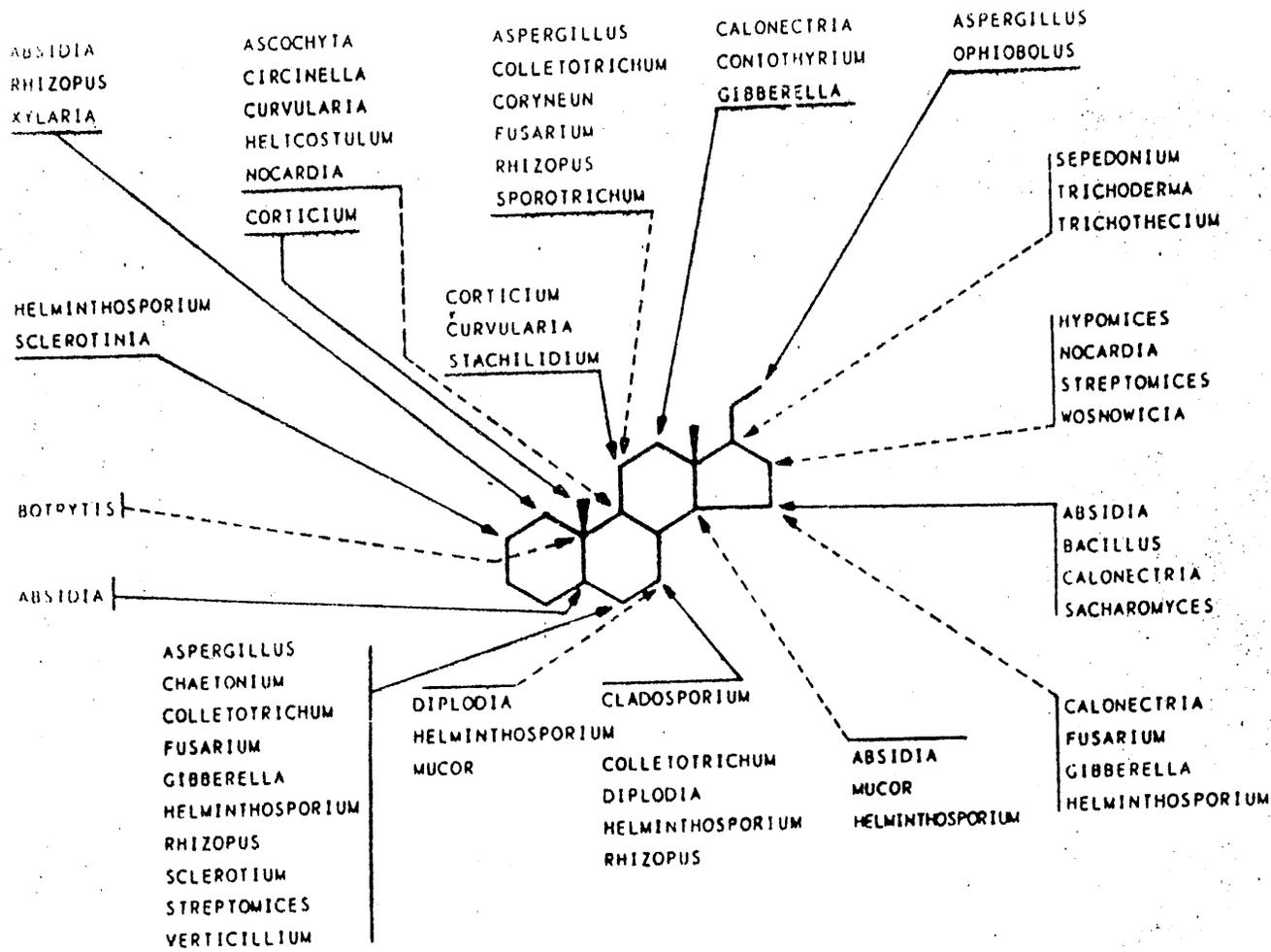
cidad y son capaces de actuar sobre un determinado número de moléculas que poseen características estructurales comunes.

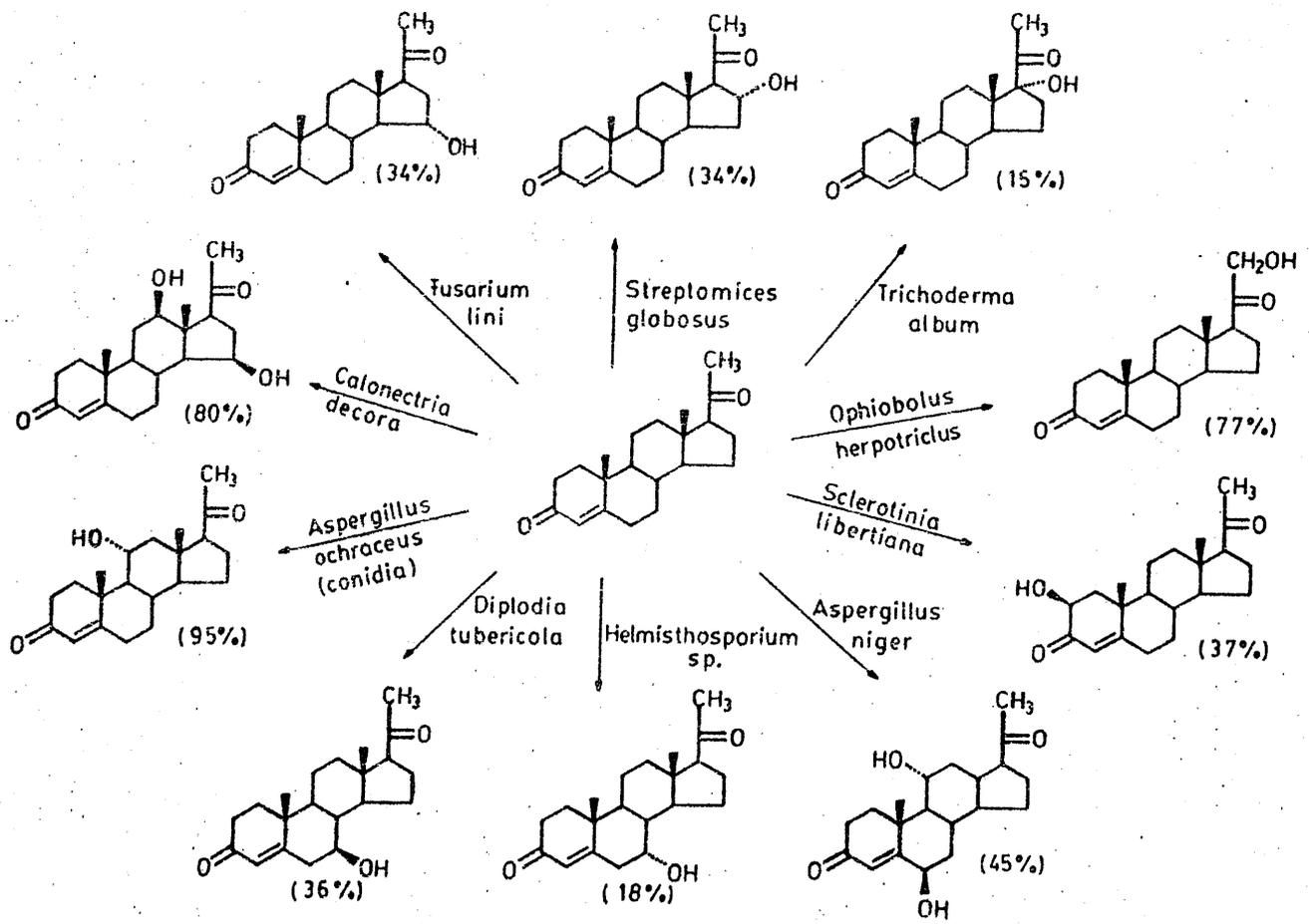
Muchas han sido las transformaciones realizadas utilizando microorganismos y muchos los sustratos empleados. Dentro de las transformaciones más estudiadas cabe destacar las oxidaciones, reducciones e hidroxilaciones.

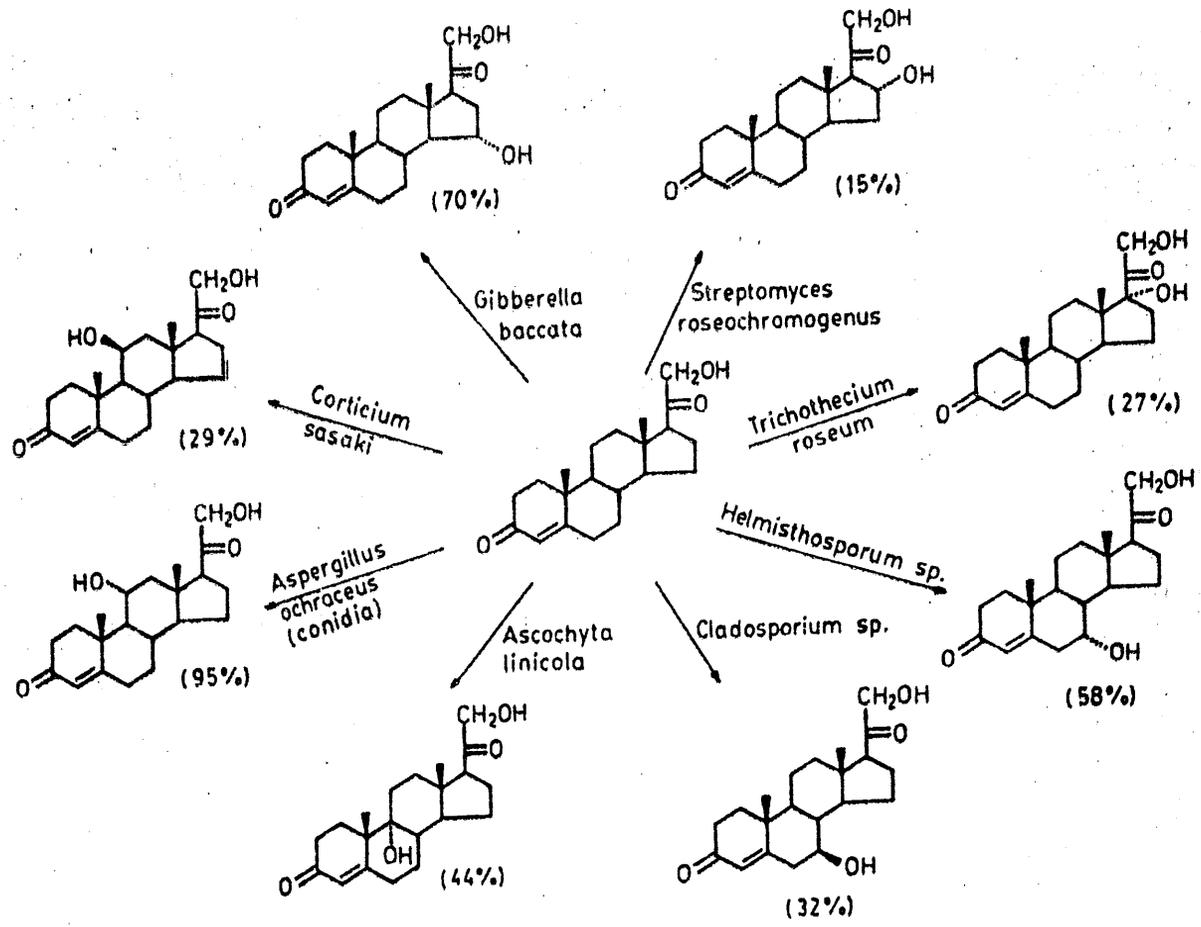
En lo que al tipo de sustratos empleados se refiere, han sido los esteroides los más estudiados (Charney, 1967; Jones, E.R.H., 1976), observándose que las transformaciones más frecuentes son las deshidrogenaciones, reducciones e hidroxilaciones, siendo estas últimas a las que se les ha dedicado más atención. Son muchos los microorganismos utilizados en estas transformaciones y muchos los sustratos esteroideos debidamente funcionalizados ensayados con cada uno de los microorganismos, siendo los esqueletos androstánicos y pregnánicos los más utilizados.

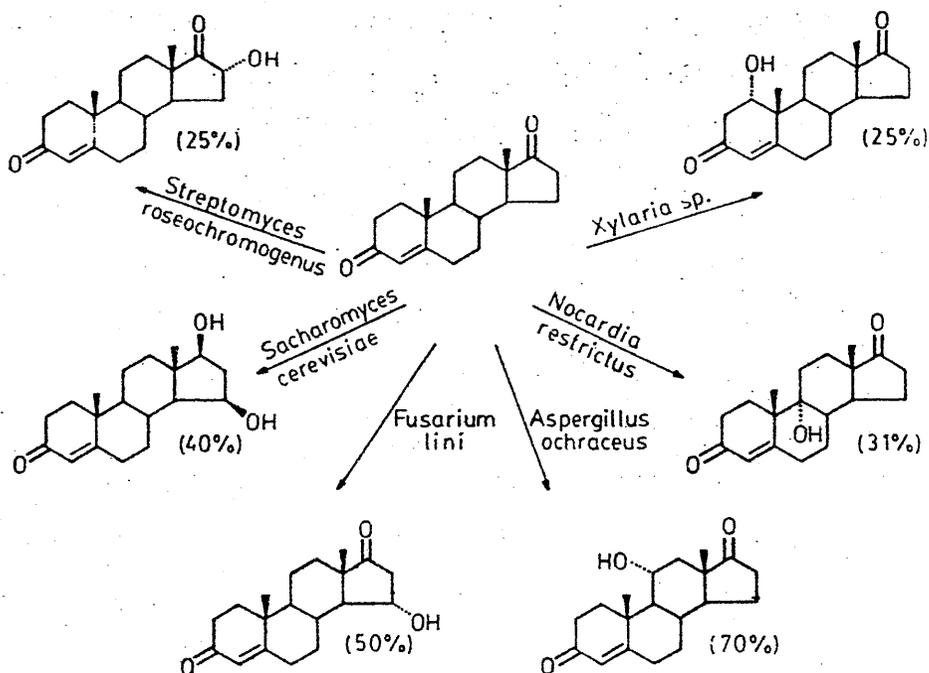
Se ha comprobado que la posición y eficacia de la hidroxilación por un determinado microorganismo está fuertemente influenciada por la estructura del sustrato, observándose que mediante el uso de sustratos con sustituyentes adecuados y situados en determinadas posiciones se podían ejercer influencias selectivas, dirigiendo la hidroxilación hacia las posiciones deseadas.

En las siguientes figuras se indican algunas de las hidroxilaciones y los microorganismos que las producen. Hoy día la mayor parte de los carbonos de un sistema pregnánico pueden hidroxilarse mediante el uso de un microorganismo adecuado. Esto puede verse en la primera figura en donde las hidroxilaciones por la cara β se indican con flechas continuas y por la cara α con flechas discontinuas.



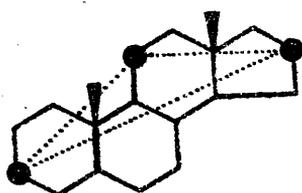




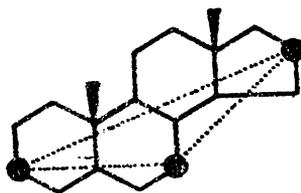


En base a las numerosas experiencias realizadas y como explicación de los resultados obtenidos, se ha postulado un modelo de acción enzimática para las transformaciones microbiológicas de esteroides (Chambers, 1973). Según este modelo, existen tres centros activos con capacidad de fijación y/o acción, que se disponen

gularmente sobre la superficie del enzima, capaces de fijarse y/o actuar sobre el sistema esterooidal. Dependiendo de cuales sean las posiciones de estos centros activos, van a existir dos modos de acción enzimática: modo normal y modo inverso. En el llamado modo normal, las posiciones del sustrato esterooidal que intervienen son C-3, C-11 y C-16. En el modo inverso los carbonos implicados son C-3, C-7 y C-16. Dos de estos



normal



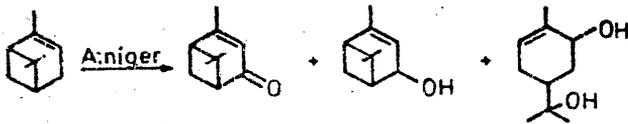
inverso

centros situados en la superficie del enzima se unen a dos sustituyentes oxigenados del sustrato esterooidal, produciéndose la hidroxilación en la tercera posición. La actuación de la mayoría de los microorganismos utilizados se puede explicar con este modelo de acción enzimática.

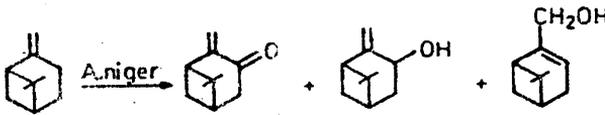
En las experiencias realizadas con un determinado microorganismo y distintos sustratos, se pueden obtener conclusiones interesantes acerca de las posibles hidroxilaciones que puedan tener lugar. Por ejemplo, se ha observado la tendencia de Calonectria decora (Jones, E.R.H., 1973) por la monohidroxilación de sustratos dioxigenados y la dioxigenación de sustratos monooxigenados, produciendo hidroxilaciones ecuatoriales. O las hidroxilaciones producidas por Aspergillus ochraceus, que sólo tienen lugar en los anillos intermedios, generalmente en las posiciones 11 y 6, sin depender de la posición de los sustituyentes en el anillo esteroidal (Bell, 1972).

El número de transformaciones microbiológicas publicadas sobre sistemas terpénicos es muy pequeño. Dentro de las transformaciones de monoterpenos quiero destacar las realizadas con el p-cimeno y la dihidrocarvona con los Pseudomonas (Hovijuchi, 1968; Noma, 1974)

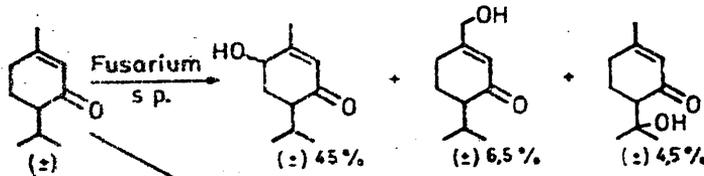
El Aspergillus niger transforma con buen rendimiento α - y β -pineno, entre otros.



Prema
Appl.Microbiol.(1964)



Bhattacharyya
Indian.J.Biochem.(1965)



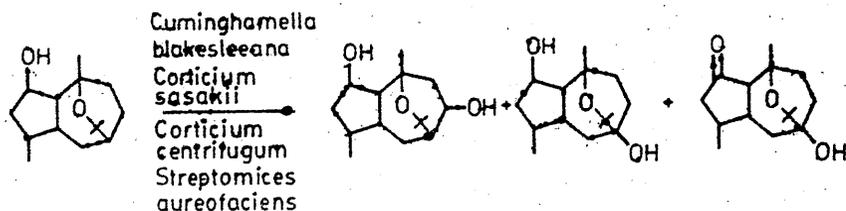
Proactinomyces
roseus
6-hidroxi
7-hidroxi

Aspergillus
niger
7-hidroxi

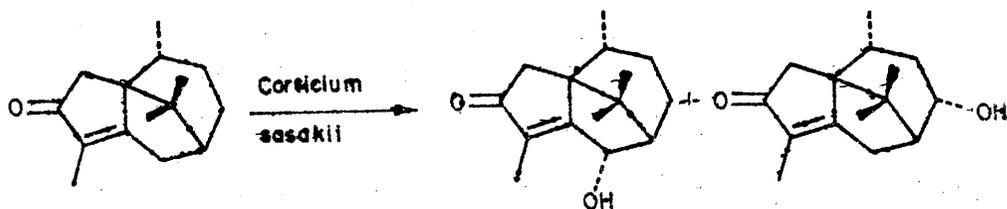
Lassack
Austr.J.Chem.(1973)

De entre las biotransformaciones de sesquiterpenos, se conocen reacciones de degradación (Chapman, 1965) y de hidroxilación, siendo estas últimas las más estudiadas.

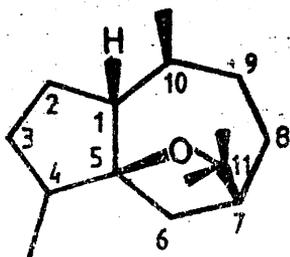
La hidroxilación del alcohol α -kesílico por varios microorganismos fué estudiada por Hokino (1968-1 y 1969).



También se ha descrito la hidroxilación de la cyperotundona con Corticium Sasakii (Hiki no, 1968-2).



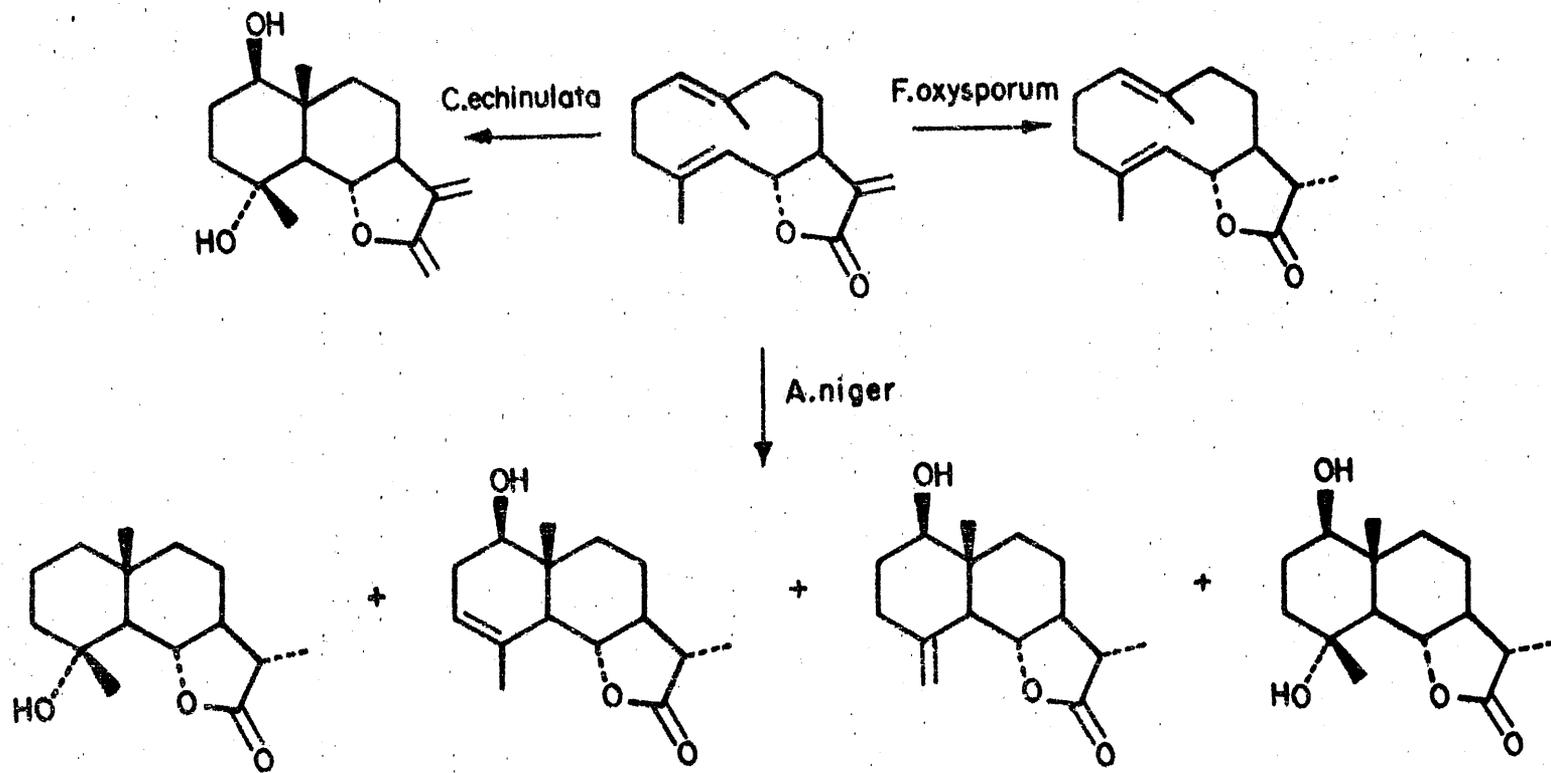
En la siguiente tabla aparecen los resultados obtenidos en la transformación de guaioxido (Ishii, 1968 y 1970) con Mucor parasiticus y la de ligulóxido con Mucor parasiticus (Funke, 1970) y con Streptomyces purpurascens (Ishii, 1971).



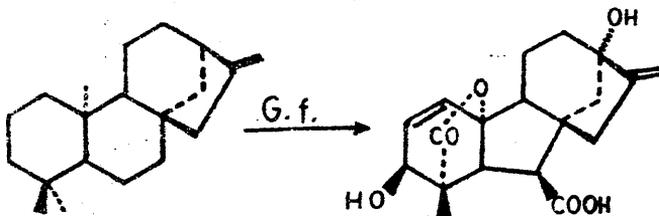
4 β -Me ligulóxido
4 α -Me guaióxido

Sustrato	Microorganismo	Posición de hidroxilación
guaióxido	<u>Mucor parasiticus</u>	4 α -; 6 β -; 7 α -; 8 α -; y 4 α , 8 α -
ligulóxido	<u>Mucor parasiticus</u>	7 α -; 8 α -; 8 β -; 9 α -; y 3 α -
ligulóxido	<u>Streptomyces purp.</u>	9 α -

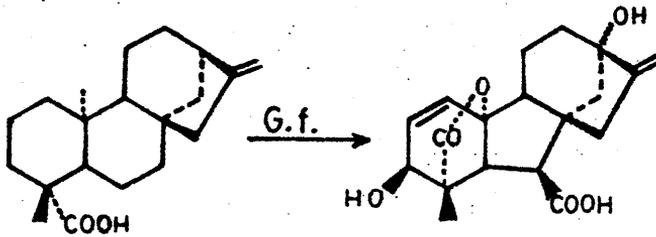
Los estudios realizados con lactonas sesquiterpénicas son muy escasos. Clark (1979) realizó las incubaciones del costunolido con Cunninghamella echinulata, Fusarium oxysporum y Aspergillus niger, obteniendo lactonas eudesmánicas. Estos resultados aparecen en el siguiente esquema.



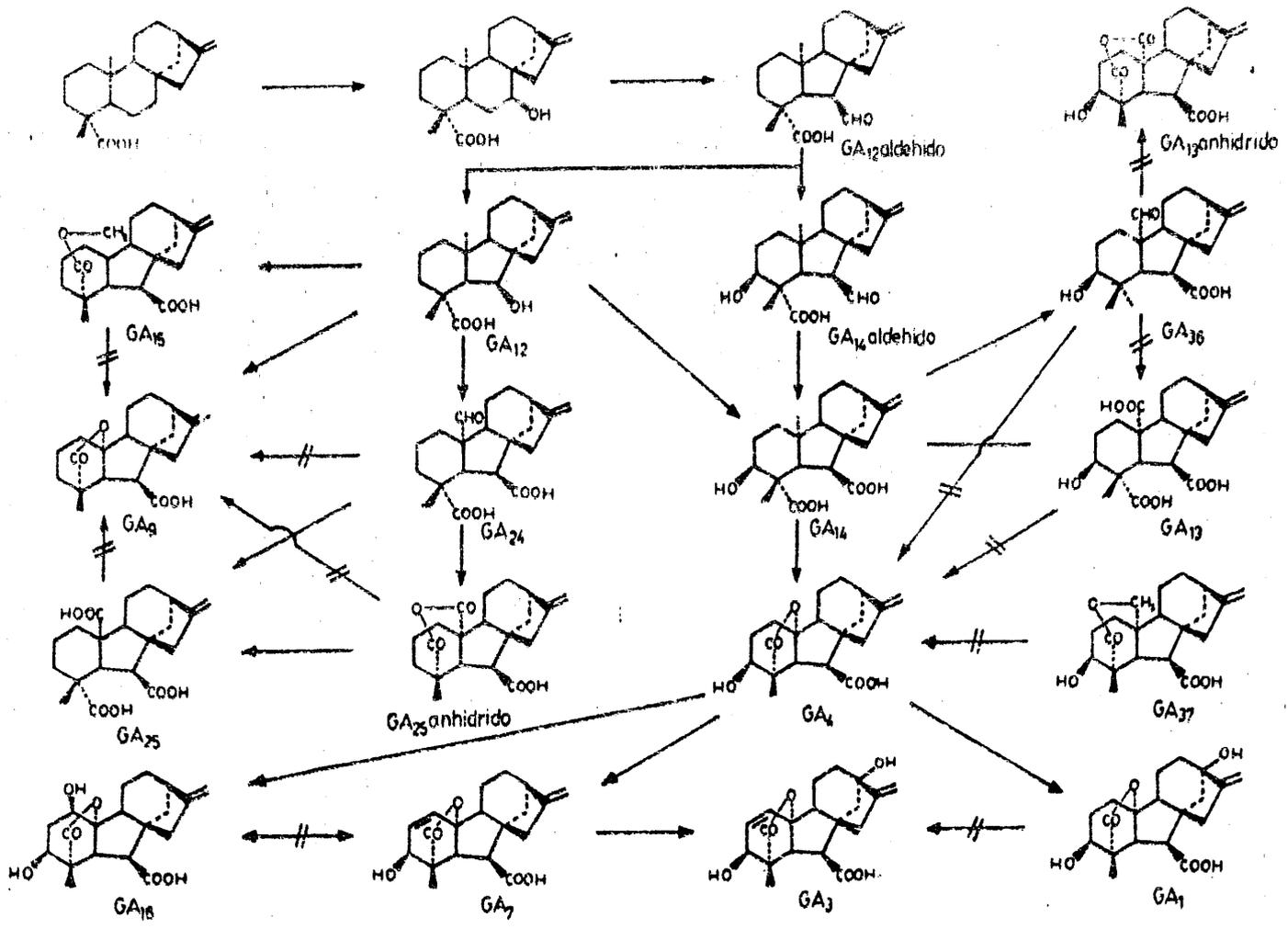
Aunque el número de diterpenoides conocidos es enorme, llama la atención el hecho de que se hayan publicado un número muy reducido de bio transformaciones de los mismos. La mayoría de es tas publicaciones se refieren a experiencias rea lizadas con el hongo Giberella fujikuroi, tenden tes, al menos en un principio a establecer el cur so biogénético de la formación de giberellinas. Así Cross (1964) observó que el ent-kaur-16-eno era un precursor del ácido giberelico (GA_3) en incubaciones con Giberella fujikuroi.



Posteriormente, Geissman (1966) comprobó que el ácido ent-kaur-16-en-19-oico era transfor mado con buen rendimiento a ácido giberelico por G. fujikuroi.

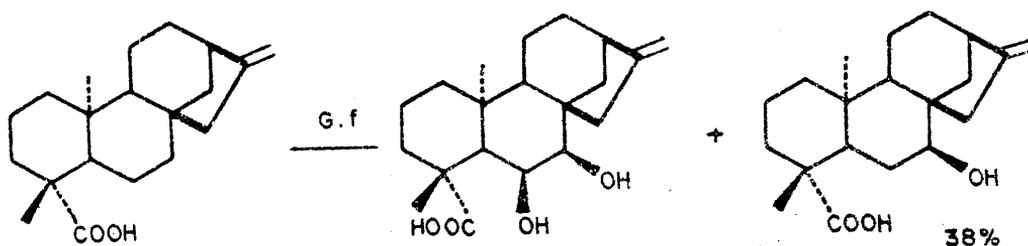


Con el fin de establecer cuales eran los intermedios en la biosíntesis del ácido giberelico , Cross (1968) realizó las incubaciones de GA_{12} , GA_{13} , GA_{17} y algunos derivados suyos, marcados con carbono trece en posición 17, con Gibberella fujikuroi. Estos trabajos fueron completados por MacMillan y cols (Hedden, 1974; Bearder, 1975-1), quienes basándose en estas y anteriores experiencias, postulan una ruta biosintética de giberelinas a partir del ácido ent-kaur-16-en-19-oico, que aparece en el siguiente esquema.

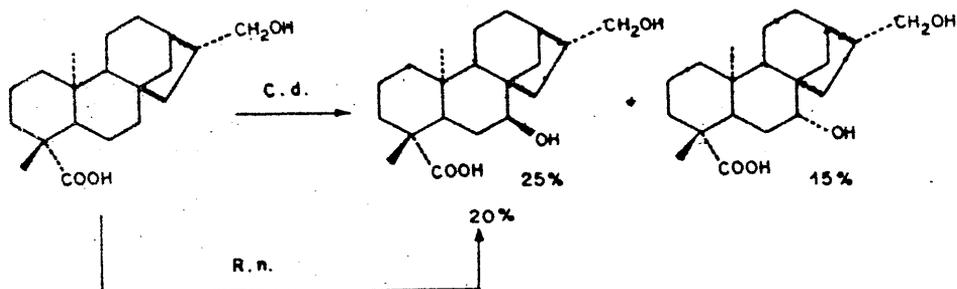


Otra interesante línea de investigación utilizando microorganismos consiste en la transformación previa, con el auxilio de hongos, de precursores biogénicos de giberelinas, con objeto de, mediante una posterior transformación obtener giberelinas nuevas o bien algunas de síntesis problemática. En ocasiones, ambos procesos han sido intentados de forma simultánea.

Dentro de este tipo de trabajos Croft (1974) realiza la incubación del ácido ent-kaur-16-en-19-oico con Giberella fujikuroi, obteniendo hidroxilaciones ent-6 α ,7 α y ent-7 α .

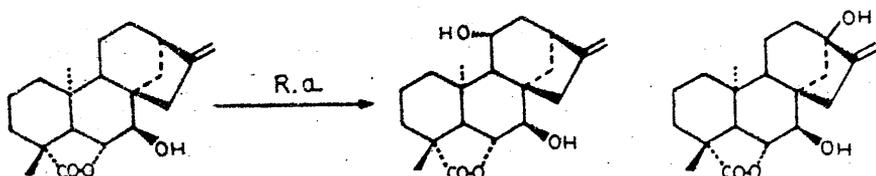


La incubación del ácido ent-17-hidroxi-kaur-19-oico con Calonectria decora y Rhizopus nigricans conduce a hidroxilaciones ent-7 α y ent-7 β .

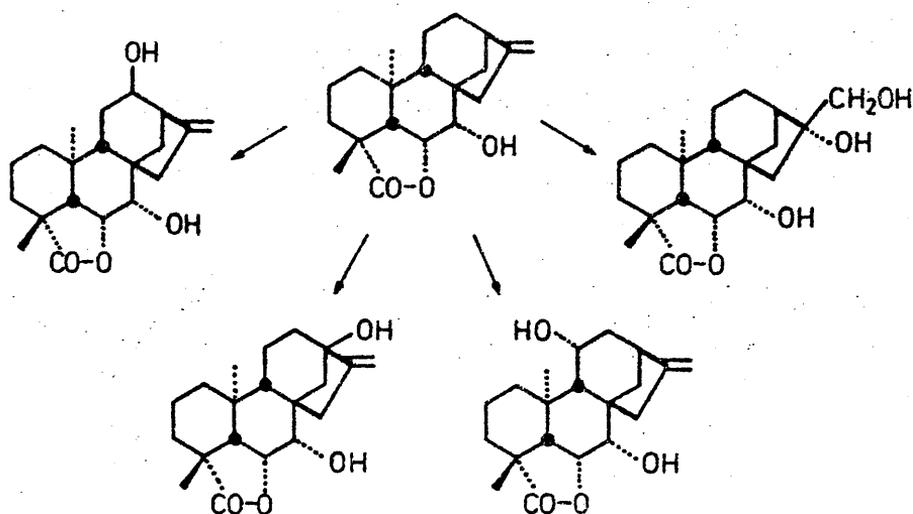


La obtención del ácido ent-7 α ,17-dihidro-xikauran-19-oico es interesante puesto que puede ser utilizado tras varios procesos para la síntesis de nuevas giberelinas.

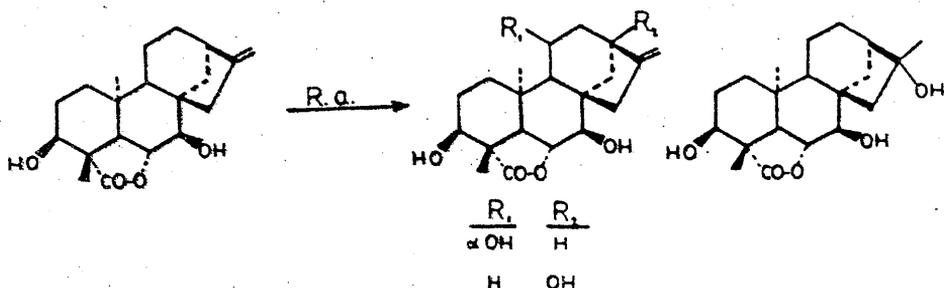
Hanson (1974) realizó con éxito la transformación del ent-7 α -hidroxikaurenólido, obteniendo dos productos correspondientes a las hidroxilaciones ent-11 β y 13.



El ent-7 β -hidroxikaurenólido origina cuatro productos correspondientes a las hidroxilaciones ent-11 β (10%), 13 (20%), ent-12 α y ent-16 β .

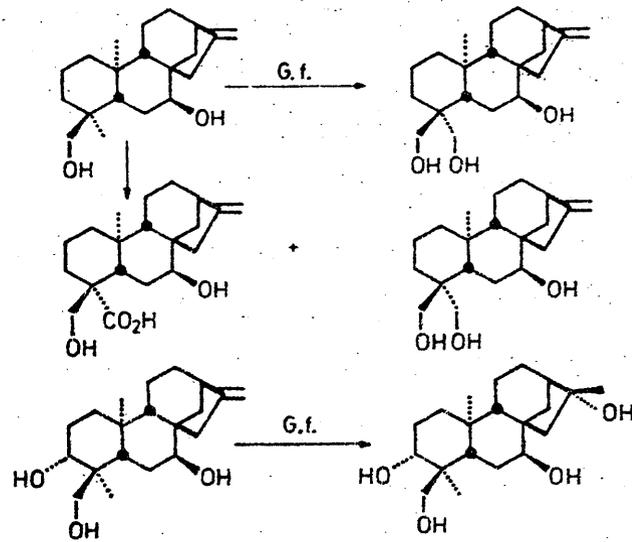


Ellanes (1976) incubó el ent-3 α ,7 α -dihidroxi-kaurenólido con Rhizopus arrhizus durante 7 días, formándose tres productos minoritarios correspondientes a las hidroxilaciones ent-11 β , 13 y ent-16 β . Los rendimientos son bajos y no se obtienen cantidades suficientes para posteriores transformaciones a giberelinas.

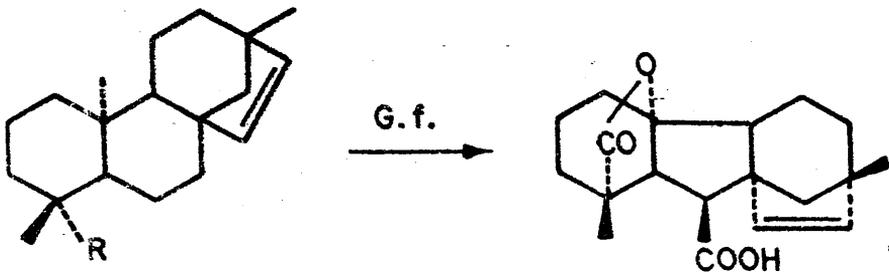
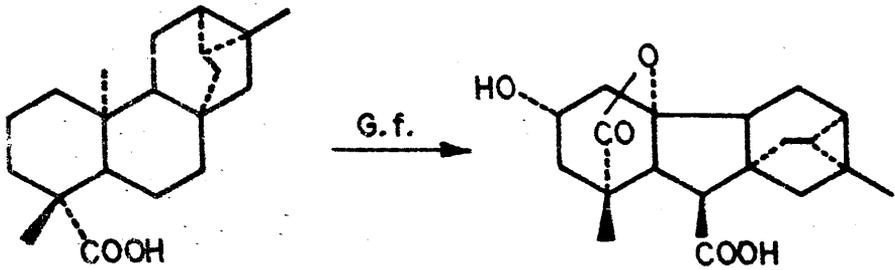
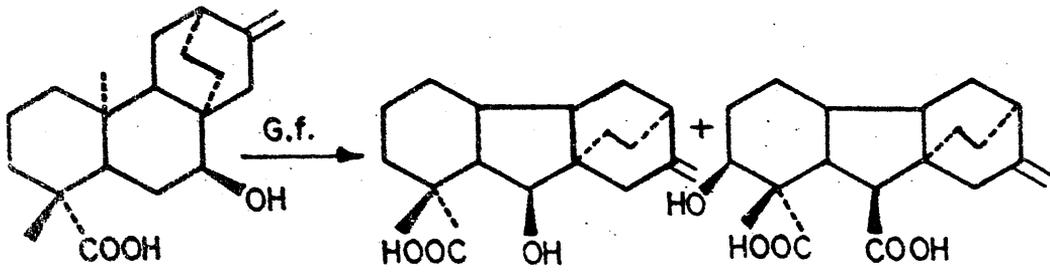


También se han publicado transformaciones de diversas giberelinas con hongos hidroxilantes, como Rhizopus nigricans. Muestra de esto son las incubaciones de GA₉ y su metilester. El producto mayoritario resultante está ent-16 β -hidroxilado (GA₁₀) mientras que en el caso del metilester, el mayoritario se encuentra ent-16 β ,17-dihidroxilado (Bearder, 1976-1)

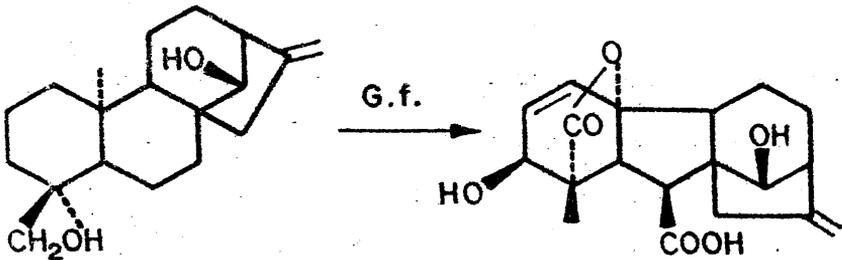
Quiero mencionar una serie de transformaciones de sistemas ent-kaurénicos con cultivos de Giberella fujikuroi (Lunnon, 1977; Hanson, 1968; Bearder, 1975-2 y -3 y 1976-2) entre los que quiero destacar la transformación del epican_{cicanciol} (Fraga, 1978).

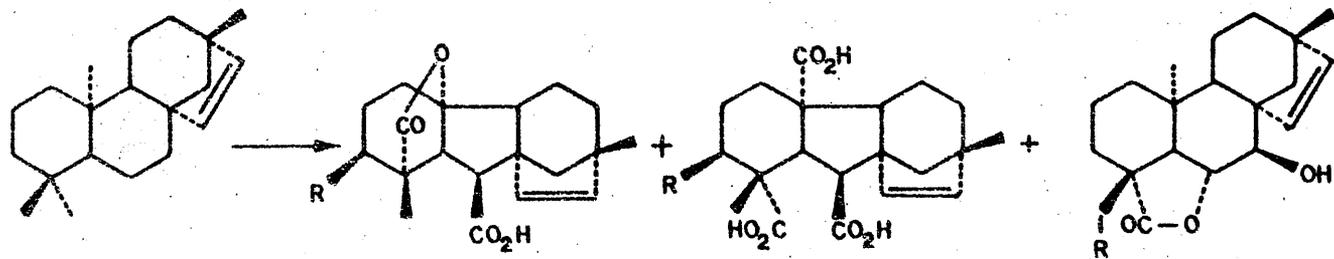
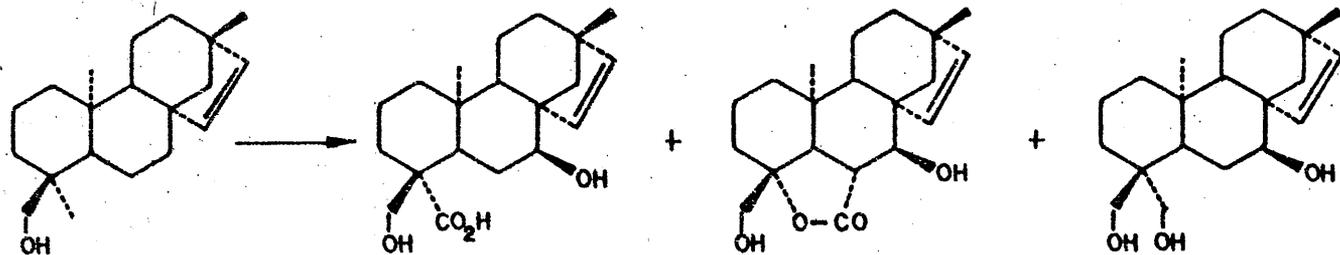


Dentro de los estudios encaminados a la obtención de nuevas giberelinas quiero destacar las experiencias realizadas por Fraga (1979 , 1982, 1983, 1985-1 y -2), que realiza las incubaciones con Giberella fujikuroi de diversos esqueletos diterpénicos, obteniendo atisagiberelinas, trachilobagiberelinas, beyergiberelinas y 14-hidroxigiberelinas.



R → CH₃ ó CH₂OH



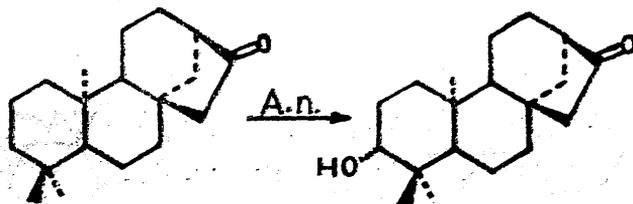


R = H 6 OH

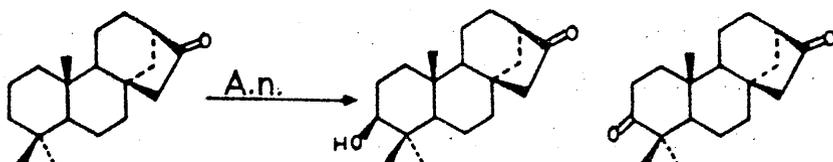
No se ha abordado ningún estudio extenso de transformaciones microbiológicas de diterpenos tetracíclicos con cultivos de hongos. Existen algunos antecedentes en este aspecto que comentaré a continuación.

Anderson (1973, 1975-1 y -2) realizó algunas experiencias utilizando los microorganismos Aspergillus niger y Rhizopus nigricans.

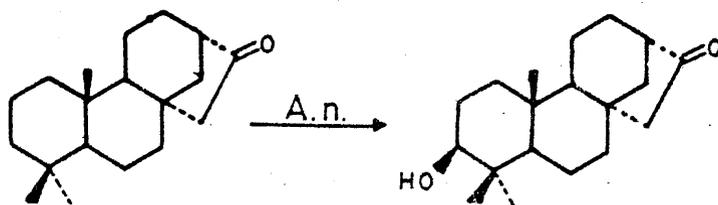
La incubación de ent-17-norkauran-16-ona con Aspergillus niger durante cinco días origina un cetoalcohol en el que el grupo hidroxilo introducido en posición 3 posee una configuración ent- β .



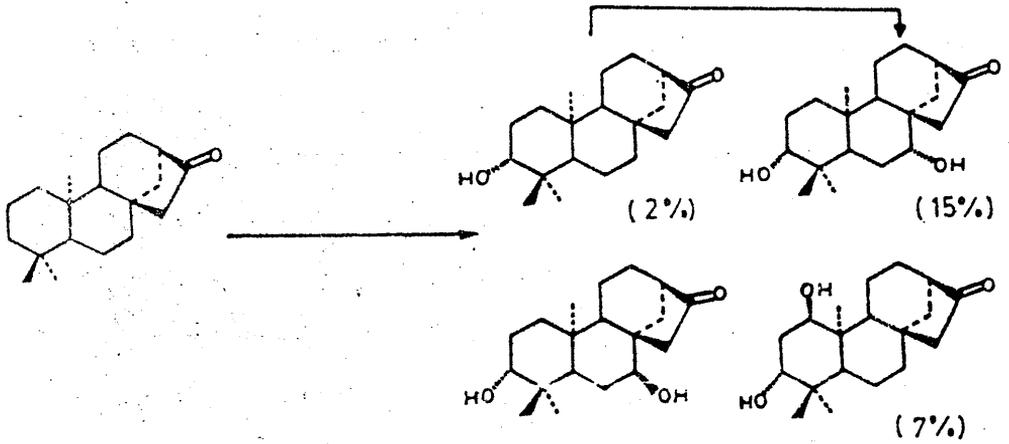
La incubación de 17-norfilocladan-16-ona con Aspergillus niger origina dos productos, un cetoalcohol con un grupo 3β -hidroxi y una dicitona.



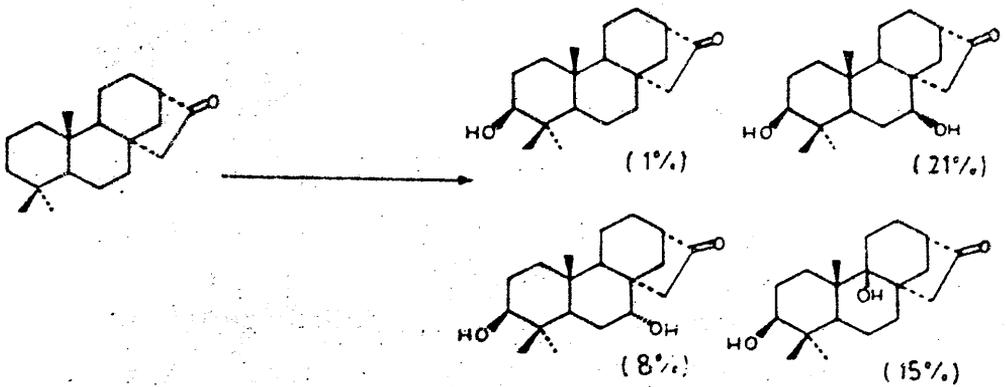
La transformación de 17-norkauran-16-ona conduce a un único producto con bajo rendimiento que posee un grupo hidroxilo ecuatorial sobre C-3.



La transformación de ent-17-norkauran-16-ona con Rhizopus nigricans produce cuatro productos con bajo rendimiento, aún cuando la incubación se efectúe durante cinco días.



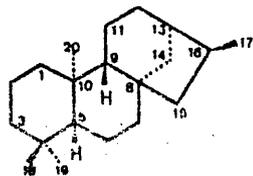
Cuando se incubaba 17-norkauran-16-ona se obtienen cuatro productos.



Otro ejemplo de transformaciones microbio-
lógicas de diterpenos tetracíclicos lo constitu-
ye las experiencias realizadas por Beilby (1973)
y Ghisalberti (1977 y 1982) con los microorga-
nismos Rhizopus nigricans, Aspergillus ochraceo
us y Calonectria decora, utilizando como sustra-
tos ent-kaurenos y ent-kauranonas oxigenadas
en C-19, ent-17-norkauranonas y un compuesto con
esqueleto ent-beyerénico. Los resultados obteni-
dos aparecen en la tabla de la página siguiente.

La transformación del ácido ent-kaur-16-
-en-19-oico a ácido ent-7 α -hidroxikaur-16-en-19-
-oico es interesante debido a que este último es
un intermedio en la biosíntesis de giberelinas.

Los microorganismos Calonectria decora y
Rhizopus nigricans muestran predilección por la
introducción de grupos hidroxil en posiciones 1
y 7 .



Substrato

Posición de la hidroxilación (% conversión)
(configuración ent-)

	<u>Rhizopus</u> <u>nigricans</u>	<u>Aspergillus</u> <u>ochraceus</u>	<u>Calonectria</u> <u>decora</u>
ácido <u>ent-kaur-16-en-19-oico</u>	7 α (25) 16 β ,17	16 β ,17 (25)	7 β ,15 β (30) 7 β (5) 15 β (5)
<u>ent-19-hidroxi-17-norkauran-16-ona</u>	7 β (20) 1 β (20)	16 α (10) 7 β (20)	7 β (10) 1 β (10)
ácido <u>ent-16-oxo-17-norkauran-19-oico</u>	7 β (30) 1 β (30) 7 α (5)	13 (5) 13,16 α (5)	7 β (15) 1 β (5) 7 α (40)
<u>ent-3β-hidroxi-17-norkauran-16-ona</u>	1 β (25) 7 β (35)	6 α (30) 7 β (25)	7 β (40)
<u>ent-17-norkauran-3,16-diona</u>	-	-	7 β (40)
<u>ent-norkauran-16-ona</u>	-	-	1 β ,6 α (20) 1 β ,7 α (15)
<u>ent-17-norkauran-3-ona</u>	-	-	7 β (1.5) 7 β ,11 α (1.3) 13 (1)
ácido <u>ent-3-oxobeyer-17-oico</u>	-	3 α	6 α (50)

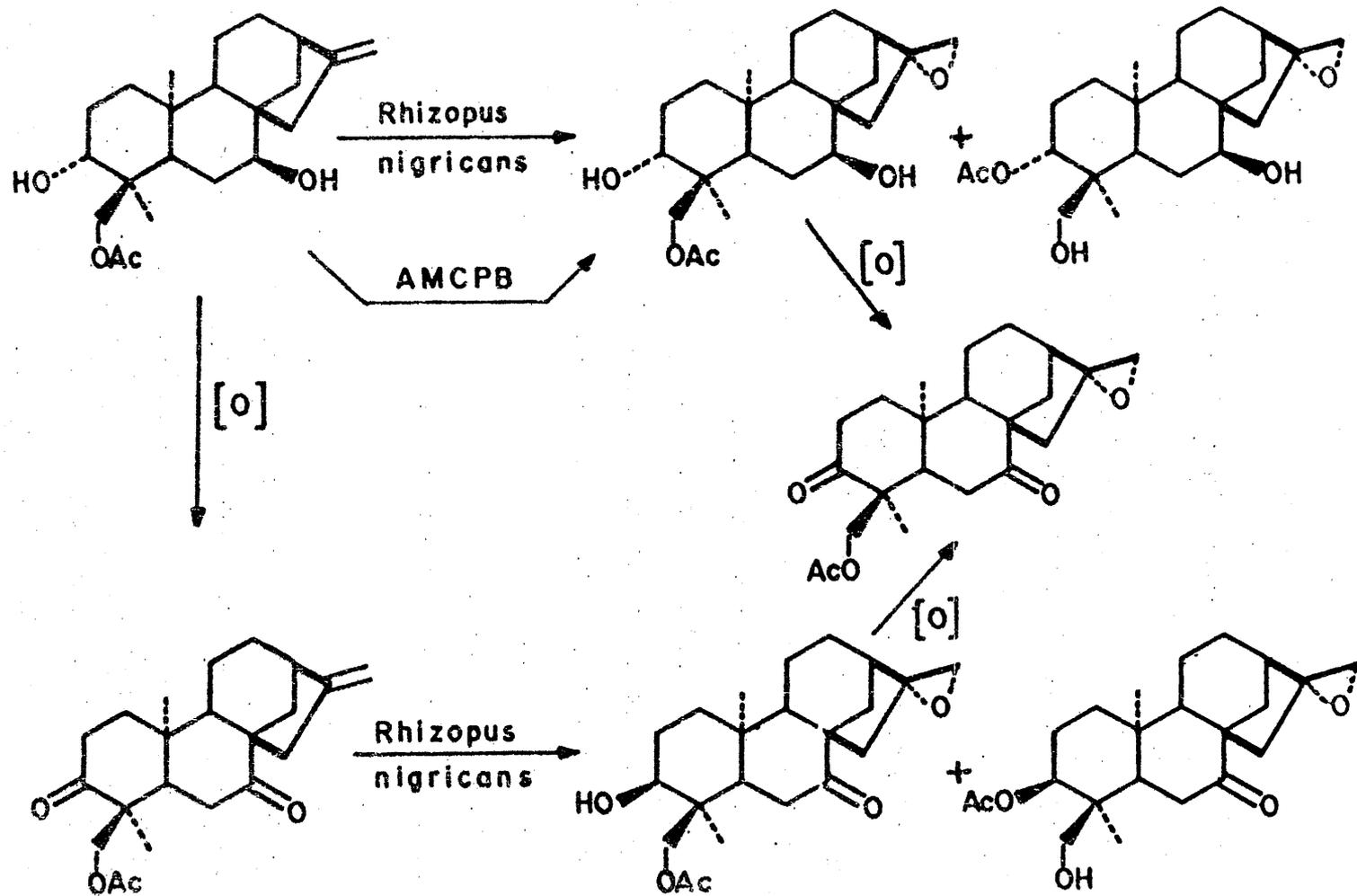
La hidroxilación del ácido ent-17-norkauran-19-oico en posición 13 por Aspergillus ochraceus, proporciona intermedios que pueden ser convertidos es steviol, difícil de obtener por métodos químicos.

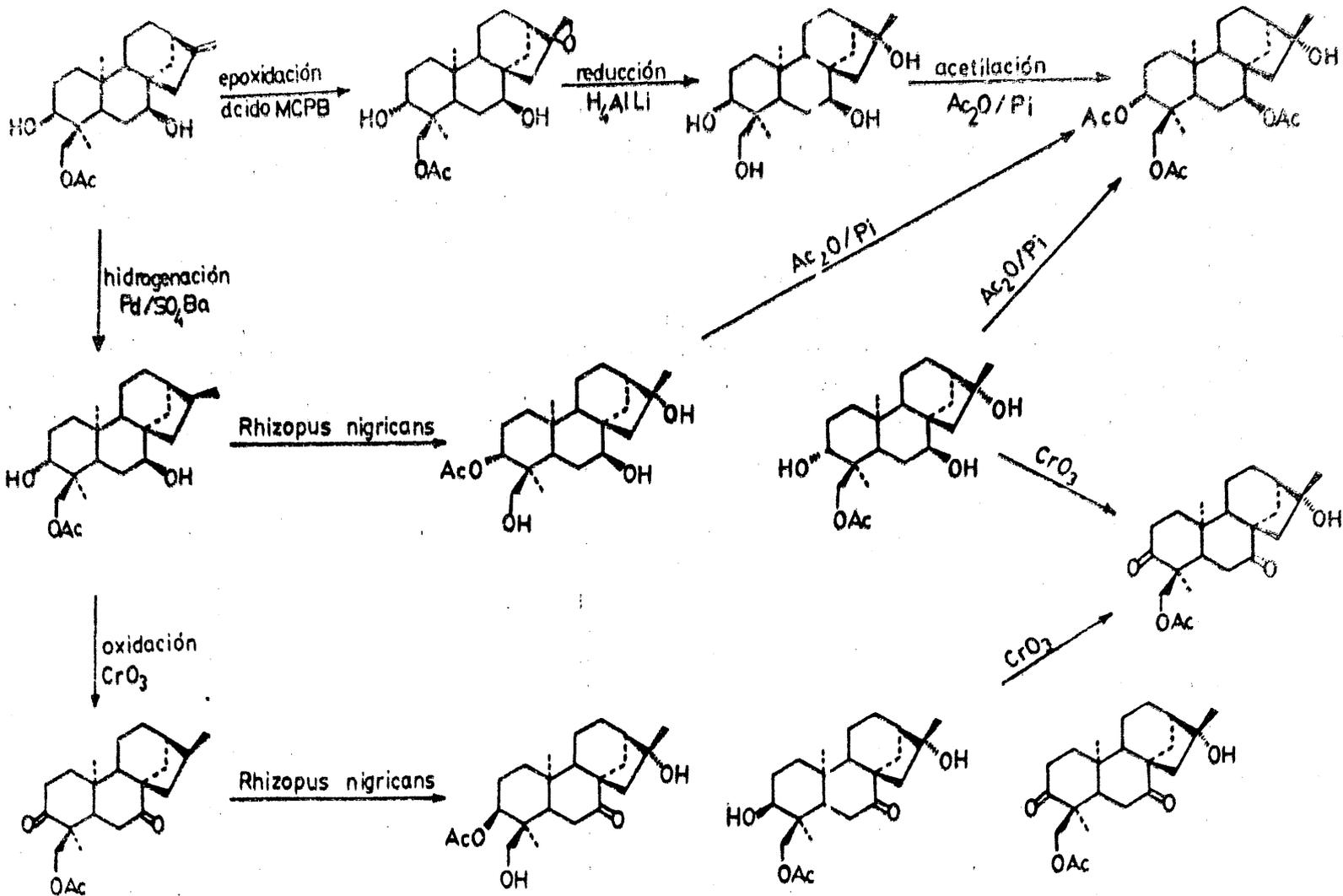
Calonectria decora, al igual que en los esteroides, presenta tendencia por la monohidroxilación de compuestos dioxigenados y la dihidroxilación de los compuestos monooxigenados. Sin embargo, en este caso, las hidroxilaciones tienden a ser axiales. Estos autores consideran que la hidroxilación en C-1 está determinada por la existencia de un grupo funcional en C-16 mientras que la hidroxilación sobre C-7 depende de la existencia de grupos oxigenados en C-19 ó C-3.

El esqueleto beyerénico sólo es transformado con buen rendimiento por Calonectria decora mientras que los demás microorganismos se muestran inactivos.

En nuestro laboratorio se han realizado varias transformaciones microbiológicas de diterpenos tetracíclicos que han formado parte de una Tesis Doctoral y han sido motivo de varias publicaciones (García-Granados, 1982-3 y 1984-1). Los resultados obtenidos en estas incubaciones del Rhizopus nigricans con ent-kaurenos, ent-kaurenonas, ent-kauranos y ent-kauranonas aparecen en los esquemas de las páginas siguientes.

En estas incubaciones se observa la epoxidación del doble enlace del sistema ent-kaurénico por la cara ent- β . Cuando sobre C-3 existe un grupo ceto, también se obtiene el producto de reducción por la cara ent- β , originándose un hidroxilo axial. En sistemas ent-kauránicos se produce una ent-16 β -hidroxilación junto con una reducción del grupo ceto sobre C-3. Tanto la ent-16 β ,17-epoxidación como la ent-16 β -hidroxilación se producen independientemente de que sobre C-3 del sustrato exista un grupo ceto ó un grupo ent- β -hidroxi.

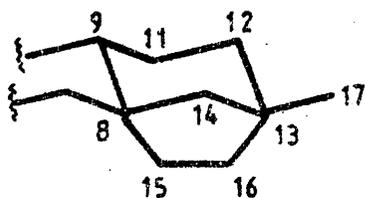




Aunque aún no existe un extenso estudio de las transformaciones microbiológicas de diterpenos tetracíclicos comparable al realizado para los esteroides, los resultados obtenidos parecen indicar que existe un cierto paralelismo con los obtenidos en esteroides similarmente funcionalizados. Es de hacer notar que en el espacio, la distancia entre los carbonos 3 y 16 del sistema esteroideal es practicamente la misma que la existente entre los correspondientes carbonos 3 y 16 del sistema ent-kauránico. Podría también aplicarse a estos esqueletos un modelo de acción enzimática similar al de los esteroides, considerando la existencia de un sistema tricéntrico que incluye las posiciones 3, 7, 16 ó 17, en los sistemas ent-kauránicos y ent-kauránicos.

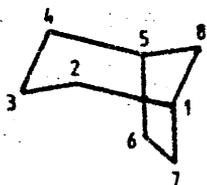
4. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR
DE CARBONO TRECE EN SISTEMAS
BICICLO [3.2.1] OCTANICOS .

Estructuralmente el ciclo C de los sistemas beyeránicos es relativamente rígido, adoptando una disposición espacial aproximadamente de silla. El anillo D es el causante de la rigidez de esta parte de la molécula. En su conjunto, los anillos C y D poseen una estructura similar a un sistema biciclo [3.2.1] octánico, aunque el conjunto debe resultar más rígido debido a su unión trans con el anillo B del sistema terpénico.

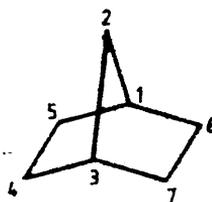


En los derivados biciclo [3.2.1] octánicos pueden predominar las conformaciones silla y bote, en contraste con el rígido biciclo [2.2.1]-

heptano. El esqueleto biciclo[3.2.1] octánico contiene un anillo de ciclohexano con dos sustituyentes axiales (el puente 6,7-etano), que forma una unidad análoga a la del esqueleto norbornánico. El anillo de seis miembros existe predominantemente en la conformación silla. Sin embargo, este anillo está aplanado en C-2, C-3 y C-4, hecho que puede acentuarse en Δ^6 derivados debido al acortamiento del enlace entre los carbonos 6 y 7 (Sthoters, 1977) .



biciclo [3.2.1] octano



norbornano

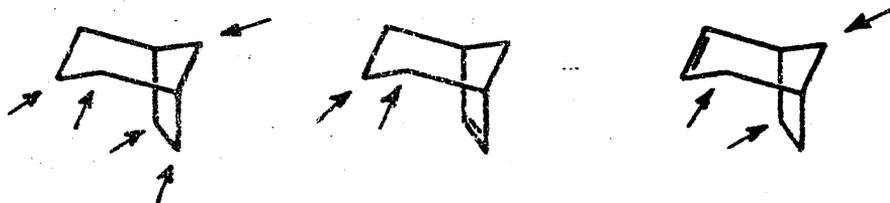
El sistema norbornílico ha sido estudiado con bastante intensidad mediante ^{13}C RMN (Grutzner, 1970; Sthoters, 1975).

Los trabajos de ^{13}C RMN realizados por Sthoters (1975) sobre sistemas biciclo[3.2.1] octánicos abarcan una gama de cetonas en las po-

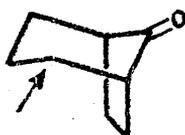
siciones 2, 3, 6 y 8 así como dobles enlaces en 3, 6 y grupos hidroxilo sobre C-2.

Lippmaa (1976) realiza un amplio estudio de derivados biciclo [3.2.1] octánicos con sustituyentes alquílicos, hidroxílicos, cetonas y ésteres sobre las posiciones 2 y 3 del sistema bicíclico para los isómeros exo y endo, analizando los efectos α , β , γ y δ . Cabe destacar los altos efectos γ de los derivados 2-exo-hidroxi, probablemente debido a las interacciones del hidroxilo exo con los carbonos del anillo. Cuando el hidroxilo está con la orientación endo en la posición 3 los efectos γ son pequeños, consistentes con un aplanamiento del anillo de seis miembros, lo cual provoca una reducción de las interacciones estéricas del grupo hidroxilo. De los resultados obtenidos se desprende la buena concordancia existente cuando se hace uso de la aditividad de los efectos de los sustituyentes sobre estos sistemas para el cálculo de desplazamientos químicos.

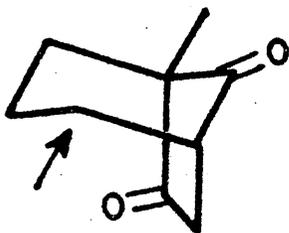
Stothers (1977) completa estos estudios de ^{13}C RMN sobre biciclo[3.2.1]octanos y biciclo[3.2.1]octenoles analizando los efectos producidos en los isómeros exo y endo por grupos hidroxilo situados en las posiciones 2, 3, 6, 7 y 8, así como el efecto producido por un grupo hidroxilo sobre C-2 ó C-3 cuando en el sistema existe un doble enlace entre las posiciones 6 y 7 y los efectos de la hidroxilación en 2, 6, 8 y doble enlace 3,4 .



Heumann (1979) estudió los efectos de los sustituyentes en los isómeros exo y endo hidroxilados en la posición 2 del biciclo[3.2.1]octan-8-ona, observando altos efectos γ -anti que en algunos casos pueden ser apreciablemente más grandes que los efectos estéricos γ .



Kasturi (1982) también realiza un detallado estudio de ^{13}C RMN en 5-metil-biciclo[3.2.1]octan-6,8-diona con los derivados 2-exo y 2-endo hidroxilados.

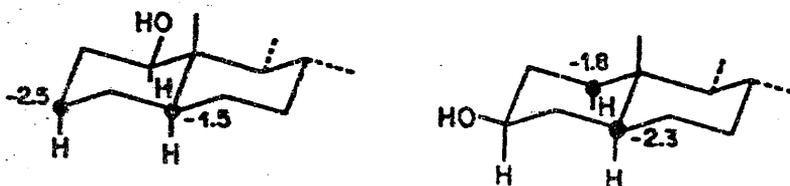


De estas experiencias se desprende que los efectos producidos por los sustituyentes en los desplazamientos químicos de carbono trece poseen un gran interés ya que sus valores son un medio de determinación de estructura y estereoquímica de compuestos. Merecen especial atención los efectos γ ya que proporcionan gran información de aspectos estereoquímicos. Aunque existe cierta controversia con relación al efecto γ , parece generalmente aceptado que un átomo de carbono (γ -gauche con un grupo hidroxilo) debe tener un átomo de hidrógeno vecino al grupo hidroxilo para producir un efecto γ -gauche hacia campo alto. Cuando los carbonos están totalmente sus

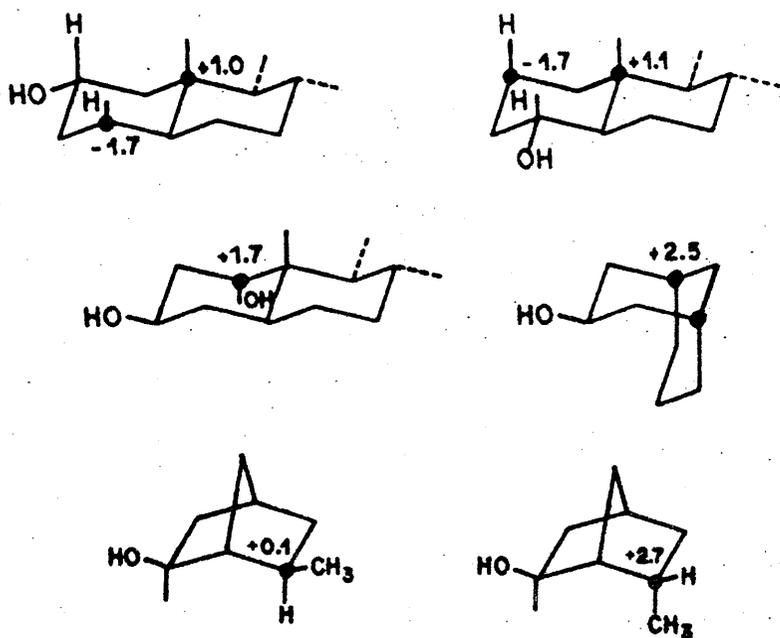
tituidos el efecto es hacia campo bajo (Sthoters, 1976; Forrest, 1979).

Forrest (1979) realizó un completo estudio de los efectos de un grupo hidroxilo en diferente posición γ -anti.

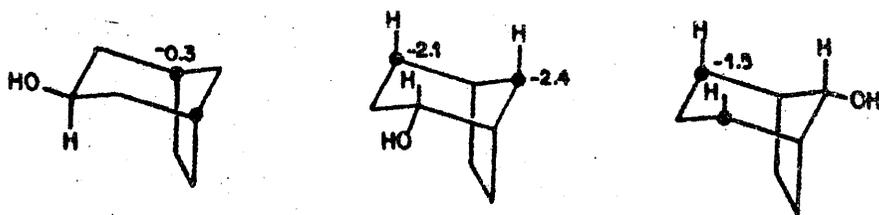
Cuando entre los protones de los carbonos α y γ existe una interacción 1,3-diaxial, el efecto es apantallante ($\Delta\delta$ de -0.6 a -2.5).



Si la interacción 1,3-diaxial está ausente, el efecto del grupo hidroxilo es desapantallante en el carbono γ -anti ($\Delta\delta$ de +0.1 a +2.7) tanto en carbonos cuaternarios como en carbonos que no están totalmente sustituidos.



En algunos casos, aunque el efecto del grupo hidroxilo es siempre desapantallante, se observa que cuando dicha interacción está presente el grupo hidroxilo es hasta 2.7 ppm más apantallante. En otros casos el efecto del grupo hidroxilo es siempre apantallante, pero más aún cuando existe la interacción entre los protones de los carbonos α y β .

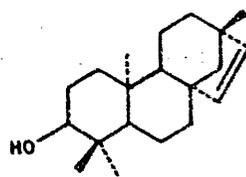
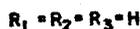
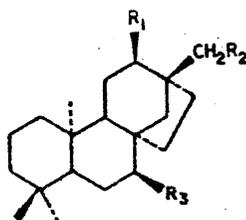
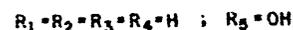
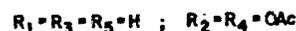
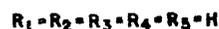
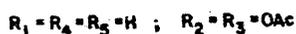
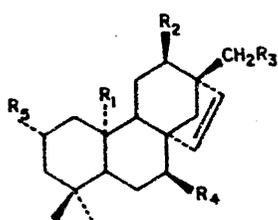


Sin embargo se ha indicado que aunque la interacción 1,3-diaxial entre los protones de los carbonos α y γ parece incrementar el apantallamiento del grupo hidroxilo en el carbono γ -anti, hay que tener en cuenta que los desplazamientos a campo alto ó a campo bajo originados por un sustituyente γ -anti pueden también depender de otros hechos estructurales como son los ángulos de enlace y la tensión del anillo (Stothers, 1977).

Los resultados obtenidos en estas experiencias de ^{13}C RMN pueden ser de gran utilidad para la asignación de desplazamientos químicos de los carbonos en un esqueleto como el beyeránico, en el que los anillos C y D poseen una estructura similar al sistema biciclo [3.2.1]octano. Los efectos de los sustituyentes en ^{13}C RMN han resultado ser de gran interés teniendo en cuenta la aditividad de los mismos en sistemas relacionados estructuralmente. No obstante, es preciso tener cuidado con el tratamiento de adi

tividades en sistemas polifuncionalizados. En estos sistemas, mediante el estudio de ^{13}C RMN, es posible determinar la posición de sustitución y la configuración de los centros sustituidos cuando se tratan de sistemas policíclicos que poseen un esqueleto común.

Existen pocos datos de ^{13}C RMN para esqueletos beyeránicos (von Carsten, 1975 y 1977; Chalmers, 1977). En estos casos se estudian los efectos producidos por grupos acetoxilo sobre las posiciones 1, 3, 7, 12 y 17 de sistemas ent-beyeránicos y ent-beyer-15-énicos.



La relación espacial entre el grupo acetoxi ecuatorial en C-1 y el carbono 11 es responsable del apantallamiento de +2.3 ppm observado. Este grupo acetoxi no produce efecto γ sobre C-9 ya que en esta posición no existen átomos de hidrógeno capaces de interaccionar con el grupo acetoxi en C-1.

El grupo acetoxilo sobre C-7 produce un efecto γ -antiperiplanar en C-15 del mismo orden que el observado para carbonos saturados y un efecto δ apreciable (+1.7 ppm) en C-16. El efecto γ -gauche sobre C-5, C-9 y C-14 parece indicar una cierta deformación del anillo en C-7.

Los efectos γ de los grupos acetoxilo en C-12 y C-17 son apantallantes y sugieren un cierto aplanamiento del anillo C (bajos valores de los efectos γ -gauche producidos por el grupo Acetoxilo sobre C-9 y C-14). El pronunciado efecto α observado para C-12 parece también indicar que se aleja de la posición axial pura.

También son de destacar los efectos sin-
-diaxiales observados sobre C-19 y C-20 cuando
existe un grupo hidroxil axial en C-2, mientras
que el efecto γ -gauche en C-4 y en C-10 es prac-
ticamente inexistente.

Los 14-hidroxibeyerenos son compuestos muy
escasos en la naturaleza, que han sido poco estu-
diados tanto en lo que se refiere a su reactivi-
dad como al estudio de ^{13}C RMN. En la presente
Memoria se han abordado estos dos puntos con ob-
jeto de aportar nuevos resultados en este campo
poco explorado hasta la fecha.

5. DITERPENOS DE LABIADAS

Casi todas las familias y géneros de plantas poseen diterpenos, aunque en tipos y proporciones muy variables. Dentro de la familia de las Labiadas, hay géneros que poseen abundantes diterpenos y otros que los poseen en muy escasa cantidad.

De especies pertenecientes a la familia de las Labiadas ya se habían aislado hasta 1966 más de veinte diterpenos (Eriesskorn, 1966 y Hegnauer, 1966), pero ha sido en los años setenta cuando más ha sido estudiado el contenido diterpénico de esta familia, aislándose de ella nuevos diterpenos derivados del labdano (Henderson, 1969; Kaplan, 1970; White, 1970) por citar algunos ejemplos. En el género Isodon, Labiadas que crecen en Japón se han encontrado nuevos diterpenos con esqueletos tri y tetracarbocíclicos (Fujita, 1970-1, -2 y -3, 1971 y 1976). El género

Nepeta ha dado resultados variables, siendo en algunos casos una buena fuente de diterpenoides (Bretón, 1969-1 y 1970; Gonzalez, 1973-1 y 1976-1).

Actualmente, el estudio se centra en Labiadas de dos orígenes distintos: Por una parte las Labiadas europeas, dentro de las cuales se pueden citar los géneros Teucrium (Piozzi, 1981; Toshio, 1981; Eguren, 1981; Márquez, 1981; Papanov, 1981, 1982, 1983 y 1985; Node, 1981; Camps, 1985; de la Torre, 1985), Salvia (Boya, 1980; Ulubelen, 1985; Kusumi, 1985; Gonzalez, 1985) y Ajuga (Camps, 1980) y por otra parte las Labiadas africanas, entre las que cabe mencionar los géneros Leonotis y Lasiocorys (Rivett, 1975 y 1976; Eagle, 1978; Lago nigro, 1979).

Dentro de esta familia de Labiadas es de importancia el género Sideritis, que por ser objeto de la presente Memoria comentaré con detenimiento en el siguiente apartado.

6. ESTUDIO DE SIDERITIS

6.1.- CARACTERISTICAS BOTANICAS DEL GENERO SIDERITIS

a) POSICION SISTEMATICA .

Desde el punto de vista sistemático, el enclave botánico del género Sideritis L. es el siguiente:

DIVISION	:	Magnoliophyta
CLASE	:	Magnoliopsida
SUBCLASE	:	Asteridae
SUPERORDEN:		Lamianae
ORDEN	:	Lamiales
FAMILIA	:	Lamiaceae (= Labiatae)

b) DESCRIPCION DE LA FAMILIA.

La familia Labiadas está constituida aproximadamente por unas 3000 especies de plantas herbáceas o arbustivas, frecuentemente glandulares y aromáticas, distribuidas por todos los países cálidos y templados del globo, pero con espe

cial representación en la región mediterránea.

Presentan tallos de sección cuadrangular y hojas opuestas y decusadas.

Las flores son hermafroditas, zigomorfas y pentámeras, en cimas modificadas; en las axilas, brácteas u hojas florales opuestas formando pseudoverticilos o verticilastros, los cuales es tan dispuestos en espigas simples o compuestas, cimosas, corimbosas, paniculadas ó inflorescencias capitadas, raramente en verdaderas cimas. Bracteolas generalmente pequeñas, en ocasiones ausentes.

Cáliz gamosépalo, persistente y casi siempre bilabiado, con el labio superior tridentado y el inferior bidentado. Corola tubulosa, bilabiada, raramente unilabiada ó casi regular. Androceo frecuentemente de 4 estambres didínamos, raramente dos.

El ovario es súpero y bicarpelar, pero divicido ya durante la floración en 4 profundos lóbulos, convirtiéndose en densas en las que el micropilo y radícula están vueltos hacia abajo, quedando el estilo inserto entre ellos.

c) DESCRIPCION DEL GENERO .

Plantas anuales herbáceas o perennes sufruticosas. Cáliz tubuloso-campanulado, pentadentado, dientes espinosos o subespinosos, iguales, subiguales o el superior más largo y ancho que los cuatro inferiores, garganta frecuentemente con una corona de pelos (carpostegio). Corola con tubo incluido en el cáliz, limbo bilabiado, labio superior erecto, subplano entero o brevemente bífido, el inferior trilobado, con lóbulo central más grande. Estambres 4, incluidos en la corola. Estilo incluso con ápice bífido. Núculas con ápice redondeado-obtuso.

d) DELIMITACION DE SUBGENEROS Y SECCIONES

Willdow en 1880 en la 5ª edición de *Species Plantarum* de Linneo (tomo 3, pg 63) subdividió el género Sideritis en tres grupos: el 1º reúne las especies consideradas por el autor como desprovistas de brácteas "Ebracteatae"; el 2º agrupa a la de las bracteas enteras y el 3º incluye las de brácteas dentadas. Estos dos últimos grupos son bastantes naturales y pueden mantenerse aún en la actualidad.

Bentham en su obra *Labiatarum Genera et Species* (1834), lo considera subdividido en cuatro secciones: *Marrubiastrum*, *Empedoclea*, *Ensideritis* y *Hesiodia*. Briquet (1893) subdivide la sección *Hesiodia* en *Hesiodia p.d.* y *Burgsdorfia*. Willkomm en su *Prodromus Florae Hispanicae* (1868) mantiene las secciones consideradas por Bentham. Font Quer, en su *Estudio sobre morfología y nomenclatura de las Sideritis* (1924) subdivide a la sección *Ensideritis* en dos subsecciones: *Gymnocarpae* (sin carpostegio) y *carpostegiatae* (con carpostegio).

Por último, Mendoza-Heuer en 1977 fundamentándose básicamente en la estructura de la inflorescencia y morfología de la flor, ratifica lo propuesto por Huynh en 1972 y agrupa las especies en dos subgéneros que diagnostica de la siguiente forma:

Subgenero Sideritis

Con pelos sencillos, pluricelulares, brácteas ausentes, plantas anuales herbáceas o perennes sufruticosas.

- Sección Hesiodia (Moench) Bentham

Brácteas foliáceas, pecioladas, o al menos estrechadas en la base. Hojas superiores estériles, en general ausentes. Cáliz bilabiado, con tres sépalos superiores, cortos y dos inferiores mayores. Plantas anuales. Polen tricolpado.

Especie tipo: Sideritis montana L.

Distribución: Europa mediterránea, desde el sur de Rusia hasta España y Norte de África.

- Sección Burgsdorfia (Moench) Briquet

Brácteas foliáceas, pecioladas o nó . Ho-

jas superiores estériles, en general ausentes. Cáliz bilabiado con un sépalo superior más ancho o largo y cuatro inferiores más cortos, ó raramente iguales todos. Plantas anuales. Polen tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis romana L.

Distribución: Ampliamente representada en los países europeos y africanos de la cuenca mediterranea, desde Siria hasta Portugal.

- Sección Sideritis

Brácteas sesiles, con base ancha, amplectantes, dentadas, siempre distintas de las hojas inferiores. Hojas superiores estériles, generalmente sésiles. Plantas perennes con base leñosa. Polen tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis hyssopifolia L.

Distribución: Región mediterranea. Frecuentemente en la parte occidental de la misma, fundamentalmente en la Península Ibérica.

- Sección Empedoclea(Rafin)Bentham

Brácteas sésiles, con base ancha, amplexantes, enteras, diferente de las hojas inferiores, más alargadas. Hojas superiores estériles, frecuentemente sésiles. Plantas perennes con base leñosa. Polen 6-pantocclpado. Especie tipo: Sideritis syriaca L.

Distribución: Región mediterranea oriental , fundamentalmente Grecia, Asia Menor, Crimea, Siria, etc.

Subgenero Marrubiastrum(Moench)Merdoza-
-Heuer

Con pelos ramificados, pluricelulares , brácteas presentes, plantas perennes, en general arboreiformes.

- Sección Marrubiastrum(Moench)Bentham

Brácteas la mayoría con peciolo, ó al menos estrechamiento en la base, semejantes a las hojas basales. Hojas superiores estériles, si aparecen, por encima de los paracladeos. Plantas perennes, arboreiformes. Polen tetra-colpado.

Especie tipo: Sideritis canariensis L.

Distribución: Región Macaronésica: Islas de Canarias y de Madeira.

- Sección Empedocleopsis Huynh.

Brácteas sésiles, con base ancha, amplexantes, enteras, diferentes de las hojas inferiores más alargadas. Sin paracladeos. Hojas superiores estériles, la mayoría sésiles. Plantas perennes arboreiformes. Poles tetracolpado.

Especie tipo: Sideritis gomerae Bolle

Distribución: Islas Canarias. Exclusiva de la isla de la Gomera.

Los taxones que son objeto de nuestro estudio en la presente Memoria están incluidos en la Sección Sideritis, la cual está constituida casi exclusivamente por Sideritis Ibero-Mauritánicas.

6.2.- DITERPENOS DE SIDERITIS

El género botánico de las Sideritis crece abundantemente en nuestro país, contando con al rededor de un centenar de especies, con la particularidad de que la mayor parte de ellas son endemismos de zonas muy concretas.

Los estudios sobre este género se iniciaron en 1968, con la aparición de un trabajo de Piozzi, dedicando su atención, a partir de este momento, algunos grupos de investigadores españoles. En la actualidad se han aislado alrededor de un centenar de nuevos diterpenos, que se recogen, según la nomenclatura de Rowe (1968), en la tabla general de este apartado.

Como puede observarse, existe una gran diversidad de diterpenos. Contrariamente a la afirmación mantenida por Ourisson respecto al contenido diterpénico de Labiadas (Ourisson, 1974), en

el caso del género Sideritis puede observarse que la totalidad de los compuestos tri-, tetra- y pentacíclicos pertenecen a la serie enantio (ent-) y entre los diterpenos tipo labdano, con esqueleto carbonado bicíclico, sólo el borjatriol corresponde a la serie normal, (llamando serie normal a la de configuraciones similares a los esteroides).

Una constante biogenética prácticamente universal entre los diterpenos tipo ent-kaurénico procedentes de Sideritis, es la hidroxilación en C-18 (sustituyente ecuatorial). Muy frecuente es también la presencia de un -OH en C-7 y configuración axial. Otras posiciones de oxidación de los ent-kaurénicos pertenecientes a este género botánico son C-3, C-15, C-16 y C-17.

Recientemente se ha detectado la presencia de hidroxilo ecuatorial sobre C-11 del esqueleto ent-kaurénico (García Alvarez, 1979; García-Granados, 1981-1) así como de hidroxilación

ent-6 α ,7 α (García-Granados, 1980-1).

Los diterpenos con esqueleto ent-beyer-15-énicos procedentes de Sideritis suelen estar hidroxilados en las mismas posiciones que los ent-kaurenos (excepto C-16), pero además se dan oxidaciones en C-12 y, sorprendentemente, en C-14, aunque las teorías biogénéticas de Wenkert no permiten (aunque puede explicarse de otra forma) el origen de derivados de ent-beyer-15-en-14 β -ol y, como aproximación estructural, sólo justificarian la presencia de ent-beyeranos (compuestos saturados con un hidroxilo en C-14 pero de configuración ent- α) (Hall, 1972).

La coexistencia en la Sideritis grandiflora de compuestos con esqueleto ent-kaur-15-eno y ent-beyer-15-eno, junto con epoxikaurenos sugieren (Rodríguez, 1974-1) de que la biogénesis del sistema ent-beyer-15-en-14 β -ol debe transcurrir a través de los derivados epoxídicos de ent-kaur-15-enos, que por un reagrupamiento de Wagner-Mee

weín generarían ent-beyer-15-enos con un -OH en C-14 y estereoquímica idéntica a la encontrada en los compuestos naturales; experiencias "in vitro" han demostrado que esta hipótesis puede ser correcta (Rodríguez, 1974-2).

Otra particularidad interesante desde el punto de vista biogenético la constituyen los ent-atis-13-enos. La localización del doble enlace olefínico es anormal si se considera que el sideritol y el serradiol proceden del ión carbonio no clásico propuesto por Wenkert como intermediario obligado en la biosíntesis de los diterpenos tetracíclicos. Experiencias in vitro han demostrado que debe existir una estrecha relación en el proceso biosintético del jativatriol y sideritol llegando a la conclusión de que el segundo procede directamente del primero o bien, ambos poseen un precursor común, que debe ser diferente del ión carbonio propuesto por Wenkert como intermediario obligado de todos los diterpenos tetracíclicos (von Carstann, 1974). Incluso hemos podido comprobar que hay fáciles reagrupamientos en

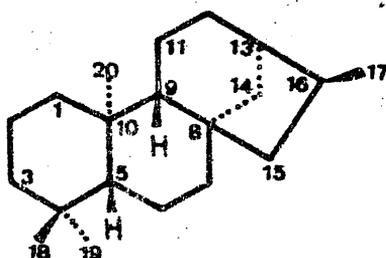
este sentido sin necesidad de buenos nucleófilos salientes (García-Granados, 1982-1).

Ultimamente, investigaciones realizadas en nuestro laboratorio han dado como resultado nuevos sistemas ent-labda-13(16),14-dienos (García-Granados, 1983-2, Algarra, 1983) coexistiendo con nuevos ent-13-epióxidos de manoilo. Igualmente investigaciones realizadas en nuestro laboratorio han demostrado la relación biogenética de ambos sistemas (García-Granados, 1982-2 y 1983-1).

Los diterpenos representantes de ent-8,5-friedopimar-5-enos, presentes en Sideritis, presentan posiciones y grados de oxidación ya encontrados en otras familias botánicas diferentes de Labiadas (Connolly 1966).

DITERPENOIDES DEL GENERO "SIDERITIS"

a) Esqueleto de ent-kaurano



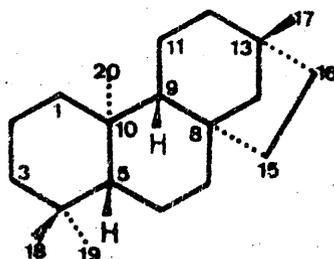
Nombre trivial	Nomenclatura sistematizada	Especie Sideritis	Refer. Bibl.
1. Sideridiol	<u>ent</u> -7 α ,18-dihidro xikaur-15-eno	Sicula	Piozzi 1968-1
2. Siderol	<u>ent</u> -7 α -acetoxi-18 hidroxikaur-15-eno	Sicula	Piozzi 1968-1
3. Sideroxol	<u>ent</u> -7 α ,18-dihidro xi-15 β ,16 β -epoxi- kaurano	Sicula	Piozzi 1968-2
4. Epoxisiderol	<u>ent</u> -7 α -acetoxi-18 -hidroxi-15 β ,16 β - epoxikaurano	Sicula	Piozzi 1972

5. Sideri - triol	<u>ent-7α,17,18-tri</u> hidroxi-kaur-15- eno	Sicula	Piozzi 1969
6. Candican- diol	<u>ent-7β,18-dihi-</u> droxi-kaur-16-eno	Candicans	Bretón 1969-2
7. Epicandi- candiol	<u>ent-7α,18-dihi-</u> droxi-kaur-16-eno	Candicans	Rodriguez 1970
8. Candidiol	<u>ent-15β,18-dihi-</u> droxi-kaur-16-eno	Candicans	Rodriguez 1970
9. Vierol	<u>ent-16β,18-dihidroxi-</u> kaurano	Canariensis	Gonzalez 1973-2
10. Powrol	<u>ent-7β,16β-dihidroxi-</u> kaurano	Canariensis	Gonzalez 1973-2
11. Candol A	<u>ent-7α-hidroxi-</u> kaur-16-eno	Candicans	Gonzalez 1973-3
12. Candol B	<u>ent-18-hidroxi-</u> kaur-16-eno	Candicans	Gonzalez 1973-3
13. 7-acetil- epicandi- candiol	<u>ent-7α-acetoksi-</u> -18-hidroxi-kaur- -16-eno	Candicans	Gonzalez 1973-3
14. Foliol	<u>ent-3β,7α,18-tri</u> hidroxi-kaur-16- -eno	Leucantha	G. Quesada 1972-1
15. Isofoliol	<u>ent-3β,7α,18-tri</u> hidroxi-kaur-15- eno	Leucantha	G. Quesada 1972-1
16. Sidol	<u>ent-3β-acetoksi-</u> 7 α ,18-dihidroxi- kaur-16-eno	Leucantha	G. Quesada 1972-1

- | | | | |
|--------------------------|---|-----------|----------------------|
| 17. Isosidol | <u>ent-3β-acetoxi-7α,
18-dihidroxikaur -
-15-eno</u> | Leucantha | G. Quesada
1972-1 |
| 18. Epoxiiso | <u>ent-3β-acetoxi-7α,
18-dihidroxiki-15,16
-epoxikaürano</u> | Biflora | G. Alvarez
1976 |
| 19. Linearol | <u>ent-18-acetoxi-3β,
7α-dihidroxikaur -
-16-eno</u> | Leucantha | G. Quesada
1972-1 |
| 20. Isolinea
rol | <u>ent-18-acetoxi-3β,
7α-dihidroxikaur -
-15-eno</u> | Leucantha | G. Quesada
1972-1 |
| 21. Leucan-
thol | <u>ent-3β, 7α, 15β, 18 -
tetrahidroxikaur -
-16-eno</u> | Leucantha | G. Quesada
1972-2 |
| 22. Isoleu-
canthol | <u>ent-3β, 7α, 17, 18-te
trahidroxikaur -15-
-eno</u> | Leucantha | G. Quesada
1972-2 |
| 23. Epoxiiso
foliol | <u>ent-3β, 7α, 18-trihi
droxi-15,16-epoxi-
kaurano</u> | Paulii | Rodriguez
1976 |
| 24. Epoxiiso
linearol | <u>ent-18-acetoxi-3β,
7α-dihidroxiki-15,16
-epoxikaürano</u> | Syriaca | Venturella
1975 |
| 25. Eubotriol | <u>ent-7α, 15β, 18-tri-
hidroxikaur-16-eno</u> | Euboea | Venturella
1977 |
| 26. Eubol | <u>ent-7α-acetoxi-15,
18-dihidroxikaur -
-16-eno</u> | Euboea | Venturella
1977 |

27. Sideripol ent-18-acetoxi-7 α Sicula Venturella
-hidroxi-kaur-15 Ucria 1978
-eno
28. Epoxiside ent-15 β ,16 β -epo- Sicula Venturella
ritriol xikauran-7 α ,17, Ucria 1978
18-triol
29. ent-3 β ,15 β -dihi- Crispata Carrascal
droxi-7 α ,18-dia- 1978
cetoxikaur-16-eno
30. ent-3 β ,7 α ,15 β -tri Crispata Carrascal
hidroxi-18-aceto 1978
xikaur-16-eno
31. ent-3 β -acetoxi - Crispata Carrascal
-7 α ,15 β ,18-trihi 1978
droxikaur-16-eno
32. Funkiol ent-3 β ,6 α ,7 α -tri Funkiana G.Granados
hidroxi-18-aceto 1980-1
xikaur-15-eno
33. Sidofun- ent-6 α ,7 α ,18-tri Funkiana G.Granados
kiol hidroxi-3 β -aceto 1980-1
xikaur-15-eno
34. ent-11 β ,18-dihi- Chamae - G.Alvarez
droxikaur-15-eno drifolia 1979
35. SA-10 ent-11 β ,18-dihi- Arbores- G.Granados
droxikaur-16-eno 1981-1
36. ent-7 α ,18-dihi - Cistosi- Fernandez
droxikaur-15-en- phon 1985
-17-al

37. ent-7 β ,18-dihi - Inferna Fernandez
 droxikaur-15-en- lis 1985
 -17-al
38. ent-7 β ,17,18-tri Inferna Fernandez
 hidroxi-15 β ,16 β - lis 1985
 epoxikaurano
39. ent-7 β ,17,18-tri Inferna Fernandez
 hidroxikaur - 15- lis 1985
 -eno
40. ent-7 β ,15 β ,18- Inferna Fernandez
 trihidroxikaur - lis 1985
 -16-eno

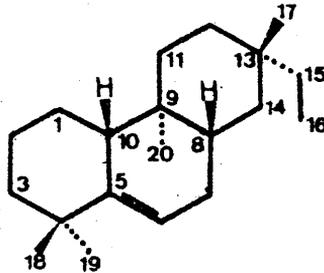
b) Esqueleto de ent-beyerano:

Nombre trivial	Nomenclatura sistemática	Especie Sideritis	Referencia Bibliogr.
41. Jativa-triol	<u>ent</u> -1 β , 12 α , 17-tri hidroxibeyer-15-eno	Angustifolia	V. Carstenn 1974
42. Conchi-triol	<u>ent</u> -7 α , 12 α , 17-tri hidroxibeyer-15-eno	Angustifolia	V. Carstenn 1974
43. Pusilla-triol	<u>ent</u> -7 α , 14 β , 18-tri hidroxibeyer-15-eno	Pusilla	G. Quesada 1974
44. Isoousillatriol	<u>ent</u> -3 β , 14 β , 18-tri hidroxibeyer-15-eno	Pusilla	G. Quesada 1974
45. Pusilla-tetrol	<u>ent</u> -3 β , 7 α , 14 β , 18-tetrahidroxibeyer-15-eno	Pusilla	G. Quesada 1974
46. SP-1	<u>ent</u> -14 β -acetoxi-3 β , 18-dihidroxibeyer-15-eno	Pusilla	G. Quesada 1973

47. 7-acetil-pusilla-triol ent-7 α -acetoxi-14 β ,
18-dihidroxi-beyer-
-15-eno Pusilla G.Quesada
1973
48. 7-acetil-pusillate-trol ent-7 α -acetoxi-3 β ,
14 β ,18-trihidroxi-
beyer-15-eno Pusilla G.Quesada
1973
49. Tartesol ent-14 β -acetoxi-18
-hidroxibeyer-15-
eno Grandi Rabanal
flora 1974
50. Tobarrol ent-12 α ,17-dihidro
xibeyer-15-eno Serrata G.Quesada
1975
51. Benuol ent-7 α ,17-dihidro
xibeyer-15-eno Grandi G.Quesada
flora 1975
52. 1-acetil-jativa-triol ent-1 β -acetil-12 α ,
17-dihidroxi-beyer-
-15-eno Ang.Tra Carrascal
goriga- 1978
num
53. 12-acetil-jativatri-ol ent-12 α -acetoxi-1 β ,
17-dihidroxi-beyer-
-15-eno Rever - Márquez
choni 1975
54. 1,12-dia-cetiljati-vatriol ent-1 β ,12 α -diaceto
xi-17-hidroxi-beyer
-15-eno Leucan- G.Granados
tra tra 1981-2
goriga-
num
55. 1,17-dia-cetiljati-vatriol ent-1 β ,17-diaceto
xi-12 α -hidroxibe-
yer-15-eno Leucan- G.Granados
ta tra- 1981-2
goriga-
num
56. 14,18-dia-cetilousi-llatriol ent-14 β ,18-diaceto
xi-3 β -hidroxibeyer
-15-eno Pusilla G.Granados
1984-2

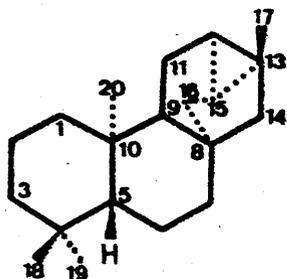
57. 3,14-dia- ent-3 β ,14 β -diaceto- Pusilla G.Granados
 cetilpusi xi-18-hidroxi-beyer- 1984-2
 llatetriol -15-eno
58. 3-acetil- ent-3 β -acetoxi-14 β , Pusilla G.Granados
 pusilla- 18-dihidroxi-beyer- 1984-2
 triol -15-eno
59. 14-acetil ent-14 β -acetoxi-7 α , Pusilla G.Granados
 pusilla- 18-dihidroxi-beyer- 1984-3
 triol -15-eno
60. 3,7-dia- ent-3 β ,7 α -diacetoxi Pusilla G.Granados
 tilpusi- -14 β ,18-dihidroxi-be 1984-2
 llatetriol yer-15-eno
61. 7,18-dia- ent-7 α ,18-diacetoxi Pusilla G.Granados
 cetilpusi -3 β ,14 β -dihidroxi-be 1984-2
 llatetriol yer-15-eno
62. 14,18-dia ent-14 β ,18-diacetil Pusilla G.Granados
 cetilpusi -3 β ,7 α -dihidroxi-be 1984-2
 llatetriol yer-15-eno
63. Flavovirol ent-7 α ,18-dihidroxi Pusilla G.Granados
beyer-15-eno 1984-2
64. 14-acetil ent-14 β -acetoxi-3 β , Pusilla G.Granados
 pusillate 7 α ,18-trihidroxi-be- 1984-2
 triol yer-15-eno

c) Esqueleto de ent-8,5-friedopimar-5-eno:

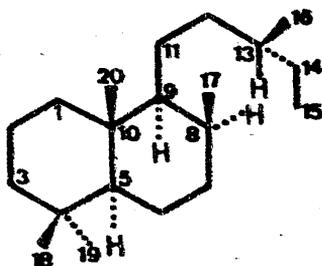


Nombre trivial	Nomenclatura sistemática	Especie Sideritis	Referencia bibliogr.
65. <u>Lagasca</u> triol	<u>ent</u> -8,5-friedo-pimar-5-en-11 β , 15S,16-triol	Angusti- folia	M.Panizo 1974
66. <u>Lagascol</u>	<u>ent</u> -8,5-friedo-pimar-5-en-15S, 16-diol	Serrata	G.Quesada 1975

d) Esqueleto de trachilobano (ent-ciclokaurano):



Nombre trivial	Nomenclatura sistemática	Especie Sideritis	Referencia bibliogr.
67. Trachinodiol	<u>ent</u> -7 α ,18-dihidroxitrachilobano	Canariensis	Gonzalez 1971-1
68. Trachinol	<u>ent</u> -7 α -hidroxitrachilobano	Canariensis	Gonzalez 1971-1
69. Trachisol	<u>ent</u> -7 α -acetoxi-18-hidroxitrachilobano	Canariensis	Gonzalez 1973-4

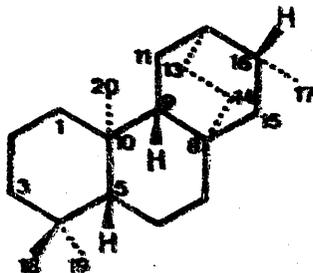
e) Esqueleta de labdano (ent-labdano):

Nombre trivial	Nomenclatura sistemática	Especie Sideritis	Referencia bibliogr.
70. Borja-triol	7S,14R,15-trihidroxi-8 α ,13-epoxilabdano	Mugronensis	Rodriguez 1973 y 1977
71. Tiganona	<u>ent</u> -3-oxo-A-nor-8 α ,13-epoxi-13-epi-14-labdano	Canariensis	Gonzalez 1971-2
72. Ribenol	<u>ent</u> -3 β -hidroxi-8 α ,13-epoxi-13-epi-labdano	Canariensis	Gonzalez 1973-4
73. Barbatol	<u>ent</u> -15-hidroxi-8 α ,13 α -epoxilabdano	Arbocrescens	Rodriguez 1973
74.	<u>ent</u> -8 α ,15-dihidroxi-13(14)-ano	Gomerae	Gonzalez 1975
75. Gomeraldehido	<u>ent</u> -8 α ,13-epoxilabdano-15-al	Gomerae	Gonzalez 1975

76. 13-epigo- ent-8 α ,13 β -epoxilab Gomerae Gonzalez
meraldehi dan-15-al 1975
do
77. ácido ácido ent-8 α ,13 α - Gomerae Gonzalez
gomérico epoxilabdan-15-oico 1975
78. ácido 13- ácido ent-8 α ,13 β - Gomerae Gonzalez
epigomé*ri* epoxilabdan-15-oico 1975
co
79. Andalusol ent-6 α ,8 α ,18-trihi- Arbores López
droxi-13(16),14-lab cens 1977
dadieno
80. Villenol ent-15,19-dihidroxi Chamae- Rodriguez
-8-nor-7 ,13-labda dryfo - 1978
dieno lia
81. 19-aceta- ent-19-acetoxi-15 - Chamae- Rodriguez
to de vi -hidroxi-8-nor-7,13 dryfo - 1978
llenol -labdadieno lia
82. Villeno- ent-7-ceto-15,19-di Chamae- Rodriguez
lona hidroxilabd-13-eno dryfo - 1978
lia
83. 19-aceta- ent-7-ceto-15-hidro Chamae- Rodriguez
to de vi xi-19-acetoxilabd - dryfo - 1978
llenolona -13-eno lia
84. Villena - ent-7 α ,15,19-trihi- Chamae- Rodriguez
triol droxilabd-8,17-eno drifo - 1978
lia
85. 19-aceta- ent-7 α ,15-dihidroxi Chamae- Rodriguez
to de vi -19-acetoxilabd-3, dryfo - 1978
llenatriol 17-eno

86. Villena-triolona ent-7-ceto-3,15,19-trihidroxiab-dano Chamae-dryfolia Rodriguez 1978
87. 6-desoxi-andalusol ent-8 α ,18-dihidroxi-13(16),14-labdadieno Arborescens Rodriguez 1979
88. 6-acetil-andalusol ent-6 α -acetoxi-8 α ,18-dihidroxiabda-13(16),14-dieno Foetens G.Alvarez 1980
89. 18-acetil-andalusol ent-18-acetoxi-6 α ,8 α -dihidroxiabda-13(16),14-dieno Foetens G.Alvarez 1980
90. 6-acetil-isoandalusol ent-6 α -acetoxi-3 β ,8 α -dihidroxiabda-13(16),14-dieno Foetens G.Alvarez 1980
91. 6-desoxi-andalusol ent-1abda-13(16),14-dien-19-al Varoi Algarra 1983
92. Varol ent-12 α -hidroxi-13-epi óxido de manoilol Varoi Algarra 1983
93. Varodiol ent-3 β ,12 α -dihidroxi-13-epi óxido de manoilol Varoi Algarra 1983
94. 3-acetil-varodiol ent-3 β -acetoxi-12 α -hidroxi-13-epi óxido de manoilol Varoi Algarra 1983
95. 12-acetil-varodiol ent-12 α -acetoxi-3 β -hidroxi-13-epi óxido de manoilol Varoi Algarra 1983

- | | | | | |
|------|----------------------------|---|-------------|----------------------|
| 96. | 3,12-diacetilvarog diol | <u>ent</u> -3 β ,12 α -diacetoxi-13-epi óxido de manoilo | Varoi | Algarra
1983 |
| 97. | 6,18-dideoxiandalu sol | <u>ent</u> -8 α -hidroxilab-13(16),14-dieno | Hirsuta | G.Granados
1983-2 |
| 98. | ácido 6-desoxian-dalusoico | ácido <u>ent</u> -8 α -hidroxilab-13(16),14 -dien-19-oico | Varoi | G.Granados
1985 |
| 99. | Ribenona | <u>ent</u> -3-oxo-8 α ,13-epoxi-13-epi-labdeno | Canariensis | Fernandez
1985 |
| 100. | Gomerol | <u>ent</u> -15-hidroxi-8 α ,13 α -epoxilabdano | Mutans | Fernandez
1985 |
| 101. | 13-epigomerol | <u>ent</u> -15-hidroxi-8 α ,13 β -epoxilabdano | Mutans | Fernandez
1985 |

f) Esqueleto de ent-atisano:

Nombre trivial	Nomenclatura sistemática	Especie Referencia Sideritis Bibliogr.
102. Sideritol	<u>ent</u> -1 β ,16 α ,17-tri- hidroxiatis-13- eno	Tragori ganum Ayer 1974
103. Isosideri- tol	<u>ent</u> -7 α ,16 α ,17-tri- hidroxiatis-13- eno	Angusti folia Carrascal 1977
104. Serradiol	<u>ent</u> -16 α ,17-dihí- droxiatis-13-eno	Serrata G.Quesada 1975
105. 1,17-dia- cetilside- ritol	<u>ent</u> -1 β ,17-diaceto- xi-16 α -hidroxia- tis-13-eno	Pusilla G.Granados sp. 1981-2
106. 1-acetil sideritol	<u>ent</u> -1 β -acetoxi-16 17-dihidroxiatis-	Ang.Tra Carrascal goriga- 1978 num
107. Atisideri- tol	<u>ent</u> -11 β ,16 α ,17- trihidroxiatis-13 -eno	Pusilla G.Granados 1980-2

P A R T E I



1,2-dichloro-	anti-1,2-dichloro-	1,2-dichloro-
1,3-dichloro-	anti-1,3-dichloro-	1,3-dichloro-
1,4-dichloro-	anti-1,4-dichloro-	1,4-dichloro-
1,5-dichloro-	anti-1,5-dichloro-	1,5-dichloro-
1,6-dichloro-	anti-1,6-dichloro-	1,6-dichloro-
1,7-dichloro-	anti-1,7-dichloro-	1,7-dichloro-
1,8-dichloro-	anti-1,8-dichloro-	1,8-dichloro-
1,9-dichloro-	anti-1,9-dichloro-	1,9-dichloro-
1,10-dichloro-	anti-1,10-dichloro-	1,10-dichloro-

PARTE TEORICA

ARTS AND CRAFTS

I P A R T EAISLAMIENTO Y DETERMINACION DE
ESTRUCTURAS DE DITERPENOS DE
SIDERITIS ANDALUZAS

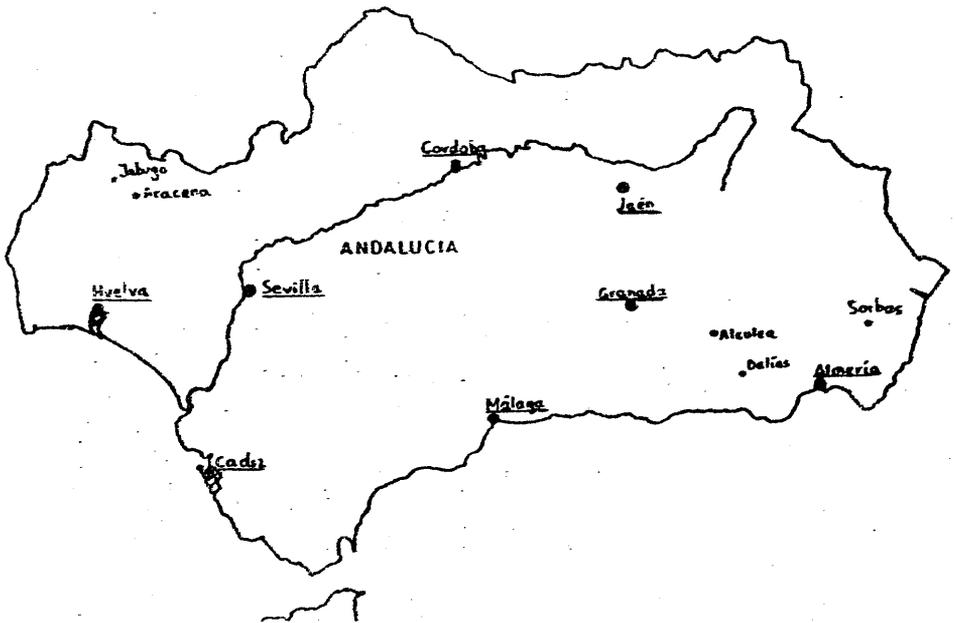
Dentro del estudio de Sideritis que se viene realizando en nuestro laboratorio, se ha procedido a realizar el estudio de una serie de poblaciones que crecen en distintas zonas geográficas de Andalucía y que no habían sido estudiadas hasta ahora.

El estudio fitoquímico de estas plantas es un dato más que puede ser utilizado para esclarecer la clasificación botánica de algunas de ellas, que a veces resulta problemática.

Otra consecuencia interesante del estudio que se viene desarrollando es poder disponer de una amplia variedad de plantas y seleccionar a aquellas que suministren determinados esqueletos

que consideremos interesantes para posteriormente realizar una serie de transformaciones químicas y microbiológicas de los mismos.

Las plantas estudiadas se recolectaron entre los meses de Mayo-Julio en estado de floración. Estas plantas crecen en distintas zonas de Andalucía: Sideritis almeriensis en Alcolea (Almería); Sideritis pusilla (Lange) Pau en Sorbas (Almería); Sideritis pusilla (Lange.) Pau var. litoralis en Dalías (Almería) y la Sideritis arborescens subs. paulii en Aracena (Huelva).



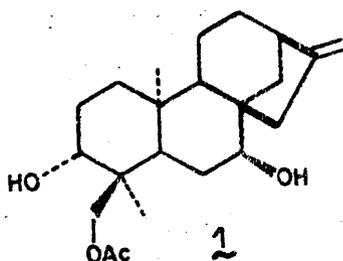
1.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS
ALMERIENSIS PAU

La Sideritis almeriensis Pau es una planta sufruticosa, verde con hojas espatulado cuneadas, aserradas y glandulosas. Los verticilastros se encuentran distantes y las brácteas ovadas, las inferiores igualando los calices, todas dentadas, con dientes aristados. Calices vellosos, campanulados, con dientes lanceolado-aristados, más cortos que el tubo. Corola blanca excediendo el cáliz. Se encuentra muy abundante en la parte occidental de la Sierra de Gádor en Alcolea (Almería) entre 800 y 900 metros de altitud en terrenos en los que predominan los fluvisoles calcáreos y los litosoles. Este taxón, en forma similar a lo sucedido con otras Sideritis, ha sufrido diversos tratamientos taxonómicos. A Pau, primeramente, le merece el rango de especie (Pau 1908), aunque posteriormente la considera variedad de la Sideritis hirsuta L. (Pau 1916). Font Quer la considera variedad de la Sideritis pusilla (Font Quer, 1924) y Malagarriga la eleva a nivel de subespecie (Malagarriga, 1968).

De esta planta se han estudiado los tres componentes diterpenicos mayoritarios que en ella se encuentran.

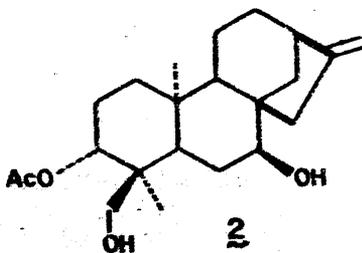
El primer compuesto (1) posee una fórmula molecular $C_{22}H_{34}O_4$. Su espectro de IR muestra bandas de hidroxilo, acetato y doble enlace. El estudio del espectro de 1H RMN revela la existencia de sólo dos señales de grupo metilo (singuletes a δ 1.07 y 0.77) y una señal a 4.80 de grupo metileno exocíclico. Esto sugiere que pueda tratarse de un esqueleto ent-kaur-16-énico funcionalizado en uno de los carbonos primarios. Esta funcionalización se trata de un grupo acetoximetilénico (sistema AB colapsado a 4.02 ppm) y que se encuentra en C-18. Entre 3.4 y 3.7 existen una señal compleja que integra por dos protones, que deben ser geminales a grupos hidroxilo sobre carbono secundario. La comparación de estos datos con los publicados para el ent-3 β ,7 α -dihidroxi-18-acetoxikaur-16-eno (linearol , Gade Quesada, 1972-1) muestra que se trata del mismo producto, lo cual se confirma comparando

además, sus datos con los de una muestra auténtica de linearol, producto que ha sido aislado por nosotros en el estudio de otras Sideritis (García-Granados, 1982-4, 1983-2, 1984-3; Algarra, 1983).

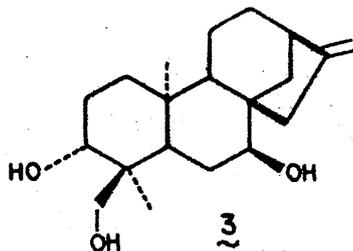


El segundo producto (2) aislado de esta planta es más polar que el producto 1 y presenta la misma fórmula molecular y las mismas señales en IR que el producto anterior. El estudio de su espectro de ^1H RMN muestra la existencia de dos señales de grupo metilo (singuletes a 1.10 y 0.70) y una señal de grupo metileno exocíclico superpuesta con otra señal debida a un protón sobre carbono secundario geminal a acetato (δ , 4.80, m, $W_{1/2} = 6$ Hz). En este caso se observa la existencia de un grupo hidroximetilénico (sistema AB con dobletes centrados a δ 3.35 y 3.00, $J =$

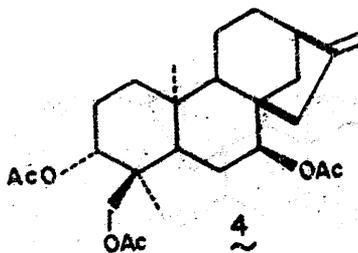
12 Hz, 2H-18) y otra señal a 3.52 ppm en forma de multiplete estrecho atribuible a un protón en disposición ecuatorial y geminal a un grupo hidroxilo sobre C-7. La comparación de este espectro con el del producto 1 indica que sólo difiere en la posición del grupo acetoxi, que en el producto 2 debe estar en C-3 en lugar de en C-18 como ocurría en el producto 1. Esto lo confirmamos comparando los datos obtenidos para el producto 2 con los obtenidos de una muestra auténtica de ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-kaur-16-eno (Sidel). Por tanto, el producto 2 se trata de un isómero del producto 1 que difieren en la posición del grupo acetoxi.

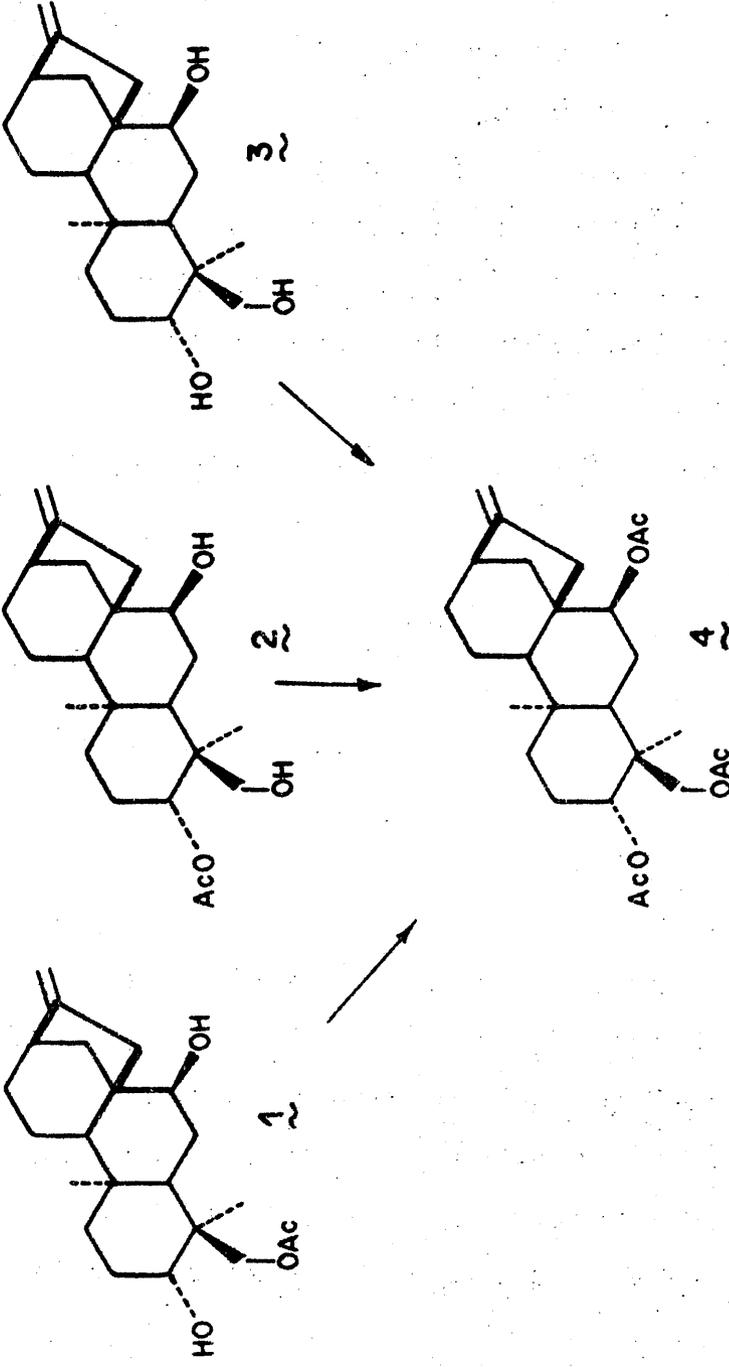


El último producto (3), muy polar no posee bandas de acetato en IR y sí de hidroxilo y doble enlace. En su espectro de ^1H RMN aparecen dos metilos singuletes (δ 1.07 y 0.75) junto con la señal de doble enlace exocíclico (δ 4.80) y una señal muy compleja que integra por cuatro protones (δ 3.8-3.2) debida a las señales de un grupo hidroximetilénico y dos protones sobre carbono secundario geminales a grupo hidroxilo. Teniendo en cuenta los productos 1 y 2 se podría esperar que, al igual que en estos productos, las posiciones hidroxiladas en el producto 3 sean C-3, C-7 y C-18. Según esto el producto 3 sería el ent-3 β ,7 α ,18-trihidroxicaur-16-eno (foliol), lo que se confirma comparando sus datos con los de una muestra auténtica.



La confirmación de la estructura de los productos 1, 2 y 3 también se realizó por vía química, correlacionandolos con el triacetato 4. La acetilación independiente de cada uno de estos productos origina el mismo producto triacetilado 4, en cuyo espectro de ^1H RMN aparecen entre 4.85-4.60 ppm las señales de los protones geminales a acetato sobre C-3 y C-7 y los protones vinílicos en C-17. Centrados a δ 3.89 y 3.47 ($J = 12 \text{ Hz}$) aparece un sistema AB producido por un grupo acetoximetilénico sobre C-18. La existencia de tres grupos acetato se pone de manifiesto por la señal a δ 2.00 (6H) y a δ 1.98 (3H). A δ 1.10 y 0.85 aparecen dos singuletes debidos a los grupos metilo sobre C-19 y C-20.





Sideritis almeriensis Pau

Estos productos: linearol (1), sidol (2) y foliol (3) fueron primeramente aislados de la Sideritis Leucantha cav. y Sideritis linearifolia (Ga de Quesada, 1972-1) y posteriormente también han sido aislados en otras Sideritis estudiadas en este laboratorio (García-Granados, 1982-4, 1983-2, 1984-3; Algarra, 1983).

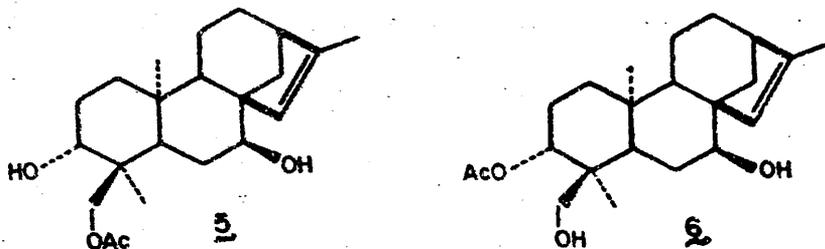
2.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS PUSILLA (Lange) Pau.

Esta Sideritis es una planta sufruticosa, blanco-tomentosa, con pelos largos patentes y cortos curvados o semipatentes. Hojas espatuladas con haz glabrescente, dentadas con dientes agudos. Verticilastros numerosos, distantes. Calices vellosos con dientes lanceolados subespinosos ó espinosos, más cortos que el tubo. Corola blanca, pequeña, con labios iguales, el superior entero.

Los compuestos encontrados en esta planta, al igual que en la Sideritis almeriensis anteriormente comentada, son de tipo ent-kaurénico. Así se identificaron los productos mayoritarios ya comentados linearol (1), sidol (2) y foliol (3), aislándose además tres productos (5, 6 y 8) en menor cantidad que los anteriores.

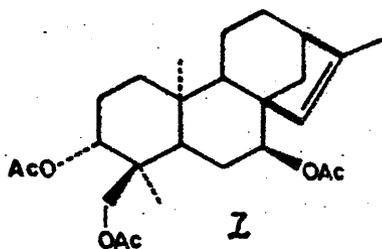
Los productos 5 y 6 presentan similares espectros de IR, con bandas de hidroxilo, acetato y doble enlace. El producto 5 posee un espectro de ^1H RMN que, comparado con el del linearol (1), sólo difiere en la desaparición de la señal de los protones vinílicos de C-17 (en el producto 1) y la aparición en el producto 5 de una señal a δ 5.50 (m, $W_{1/2} = 5$ Hz, 1H) y un metilo alílic (δ 1.7, d, $J = 1.5$ Hz). Esto sugiere la existencia de esqueleto isokaurénico para el producto 5 . Dada la concordancia de las demás señales con las observadas para el linearol (1), el producto 5 debe tratarse del ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxikaur-15-eno (isolinearol). La comparación de los datos del producto 5 con los pu-

blicados para el isolinearol (G^a de Quesada, 1972-1) demuestra que ambos son el mismo producto.



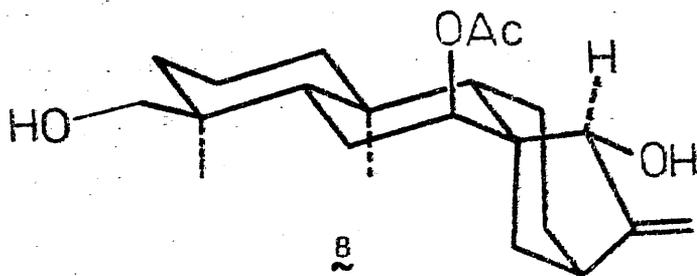
El producto 6 presenta señales de esqueleto isokaurénico similares a las del producto 5 (δ 5.70 (1H, sa, H-15); 1.80 (3H, d, J=1.5 Hz, 3H-17) mientras que las demás señales son análogas a las correspondientes señales encontradas en el espectro del sidol (2), lo que nos indica la posibilidad de que el producto 6 se trate del ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxikaur-15-eno (isosi dol), lo que comprobamos comparando sus datos con los publicados para este producto (G^a de Quesada, 1972-1).

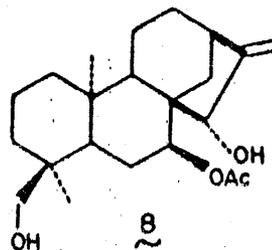
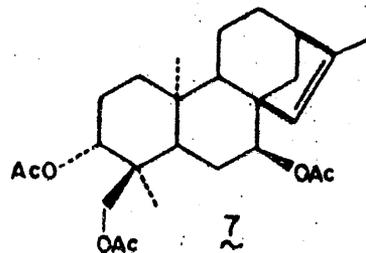
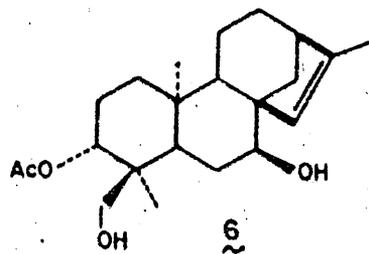
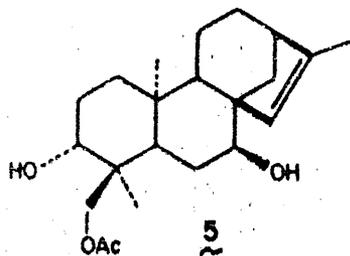
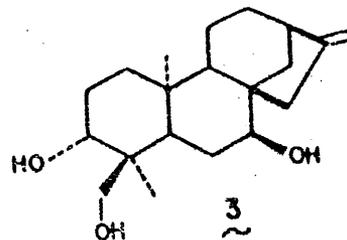
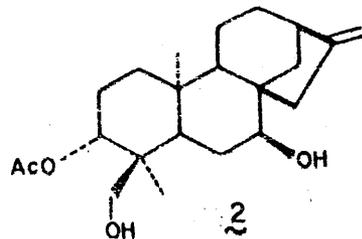
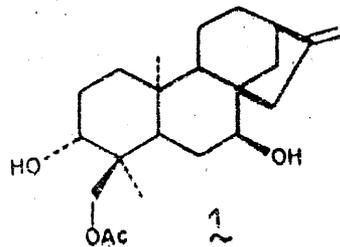
También se ha realizado la correlación química de estos productos a través del triacetato 7 (6ª de Quesada, 1972-1), obtenido por acetilación de los productos 5 y 6 .



El producto 8 presenta un pico molecular a 362 uma, acorde con una fórmula molecular $C_{22}H_{34}O_4$. con absorciones en IR debidas a grupos hidroxilo, acetato y doble enlace. En su espectro de 1H RMN aparecen dos señales a 5.22 y 5.07 que integran por un protón cada una y asignables a un grupo metileno exocíclico. En un sistema *ent*-kaur-16-énico, este desdoblamiento suele producirse cuando hay funcionalización en C-15. Además de dos metilos singuletes (δ 1.10 y 0.75) también aparece un sistema AB (con dobletes centrados a δ 3.35 y 3.00, $J = 12$ Hz) debido a un grupo hidroxilo metilénico sobre C-18. La existencia de un grupo

plete a δ 2.8 (1H, m, $W_{1/2} = 10$ Hz) nos indica la existencia de un protón en C-13 alílico al doble enlace en C-16. Además de estos datos, compatibles con un esqueleto *ent*-kaur-16-énico hidroxilado en C-18 también aparece otra señal debida a grupo hidroxilo a δ 4.03 que aparece como singlete ancho y que puede asignarse a un protón geminal a hidroxilo sobre C-15. Por último, este producto 8 posee una señal de grupo acetoxi a δ 2.07 ppm y otra señal estrecha a δ 4.97 ($W_{1/2} = 6$ Hz) y que es debida a un protón geminal a grupo acetoxi axial posiblemente sobre C-7. El comportamiento espectroscópico de este producto sugiere una estructura de *ent*-7 α -acetoxi-15 β ,18-dihidroxikaur-16-eno (Eubol, Venturella, 1977) lo que confirmemos comparando sus datos con los de una muestra auténtica (García-Granados, 1979)





Sideritis pusilla (Lange) Pau

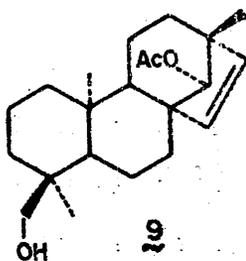
3.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS PUSILLA
(Lange) Pau var. LITTORALIS FONT QUER

Esta Sideritis difiere de la variedad típica (estudiada en el apartado 2.-) por sus hojas mayores largamente cuneadas, truncadas; brácteas igualando los cálices o poco más cortas y todas dentado-aristadas de 1 cm de longitud.

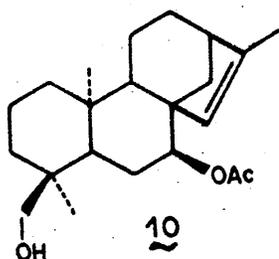
De esta planta se ha realizado un estudio preliminar de sus componentes mayoritarios (seis productos).

El producto más apolar (9) muestra absorciones en IR debidas a grupo hidroxilo, acetoxilo y doble enlace. En su espectro de ^1H RMN aparecen señales de protones olefínicos (sistema AB con dobletes centrados a δ 5.70 y 5.45; $J = 6$ Hz) y tres singuletes (δ 0.97, 0.82 y 0.80) debidos a grupos metilo. Estas señales son caracterís

ticas de un esqueleto ent-beyer-15-énico funcionalizado en C-18. Efectivamente, a δ 3.40 y 3.10 se aprecia la existencia de un nuevo sistema AB ($J = 12$ Hz) originado por este grupo hidroximetilénico en C-18. La existencia de un grupo acetoxi se pone demanifiesto por la señal a 2.02 ppm y la señal de un protón geminal a dicho grupo que aparece como singulete a δ 4.52 y que asumiendo la estructura del esqueleto ent-beyer-15-eno debe estar situado en C-14. Según estos datos, el producto 9 parece tratarse del ent-14 β -acetoxi-18-hidroxibeyer-15-eno (tartesol), lo que comprobamos por comparación de sus datos con los publicados para este producto (Rabanal 1974).

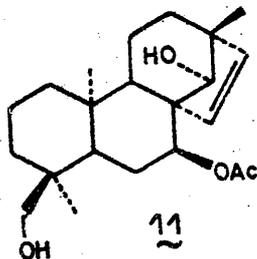


El segundo producto aislado de esta planta (producto 10) tiene una polaridad similar a la del producto 9. En su espectro de IR se observan bandas de hidroxilo, acetoxilo y doble enlace. En su espectro de ^1H RMN aparecen tres señales de grupo metilo (δ 1.70 (d, $J=1.5$ Hz, metilo alílico), 1.07 (s) y 0.70 (s)) junto con una señal debida a un protón vinílico (δ 5.25, m, $W_{1/2} = 5$ Hz). Estas señales nos inducen a pensar en la existencia de un esqueleto isokaurénico para este producto. Además de estas señales, puede apreciarse un grupo hidroximetilénico (sistema AB con dobletes centrados a δ 3.34 y 2.98, $J=12$ Hz), una señal de grupo acetoxi (δ 2.04 ppm) y una señal producida por un protón geminal a este grupo acetoxilo (δ 4.69, m, $W_{1/2} = 6$ Hz) que debe poseer una disposición ecuatorial. Los datos de este producto coinciden con los publicados para el ent-7 α -acetoxi-18-hidroxi-15-eno (Side rol) (Piozzi, 1968).



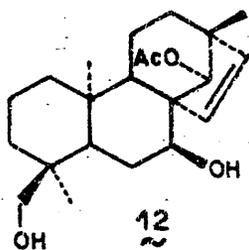
Otro producto aislado (11) pertenece a un grupo de polaridad media y posee un espectro de IR similar al del producto 9 . En su espectro de ^1H RMN se aprecian señales típicas de un esqueleto ent-beyer-15-énico funcionalizado en C-18; metilos singuletes a δ 1.07, 0.82 y 0.75; sistema AB colapsado (δ 5.53) debido a protones vinílicos acoplados entre sí y un sistema AB con dobletes centrados a δ 3.35 y 3.05 ($J=12$ Hz) producido por un grupo hidroximetilénico. Parcialmente solapado con este último sistema AB aparece un singlete ancho a 3.24 ppm producido por un protón geminal a grupo hidroxilo secundario sobre C-14 . También se observa una señal a 2.07 ppm de grupo acetato y la señal de un protón ecuatorial geminal a dicho grupo acetoxilo (δ 5.10, m, $W_{1/2}=7$

Hz). Según estos datos este producto puede tratarse del ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibeyer-15-eno (7-acetilpusillatriol), lo que se confirma por comparación con los datos publicados para él (G de Quesada, 1973) y por comparación con una muestra auténtica (García-Granados, 1984 -2 y -3).



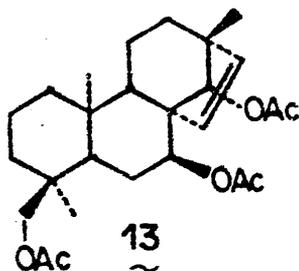
Dentro de este grupo de polaridad media también se aisló otro producto (12) que en IR presenta las mismas bandas que los productos 9 y 11. Su espectro de 1H RMN sólo difiere con respecto al del producto 11 en el desplazamiento del protón geminal al grupo acetoxi, que en este caso aparece como singulete a 4.65 ppm y en la aparición de un multiplete estrecho (δ 3.90, $W_{1/2}$ = 7 Hz) debido a un protón geminal a grupo hi-

droxi axial. Esto nos sugiere que los productos 11 y 12 son isómeros que se diferencian en la posición del grupo acetoxilo, que en el caso del producto 12 se encuentra sobre C-14, por lo que dicho producto sería el ent-14 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-15-eno (14-acetilpusillatriol) lo que se confirma comparando sus datos con los de una muestra auténtica (García-Granados, 1984-3)



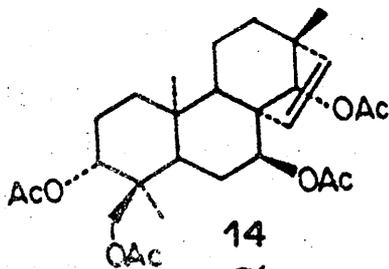
El estudio de los productos polares de esta planta se abordó realizando la acetilación de una mezcla de los mismos. Trás su purificación se aislaron dos productos mayoritarios. El primero de estos acetatos (13) posee un espectro de IR en el que no se observan bandas de grupos hidroxilo y sí de acetato y doble enlace. En su espec-

tro de ^1H RMN se aprecian tres señales de grupo acetato (δ 1.98, 1.92 y 1.90) junto con dos singuletes debidos a tres grupos metilo (δ 0.90 (3H) y 0.77 (6H)). También se observan dos sistemas AB colapsados, uno debido a los protones vinílicos (δ 5.48) y otro debido a un grupo acetoximetilénico (δ 3.62). A δ 5.02 (m, $W_{1/2} = 7$ Hz) y a δ 4.65 (sa) aparecen dos señales originadas por protones geminales a grupo acetoxi, probablemente sobre C-7 y C-14. respectivamente. Estos datos sugieren que este producto se trata del ent-7 α ,14 β ,18-triacetoxibeyer-15-eno. (triacetilpusillatriol), lo que se confirma por comparación con los datos publicados para este producto (G^a de Quesada, 1974) y por acetilación de los productos 11 y 12, que originan el mismo triacetato (13).

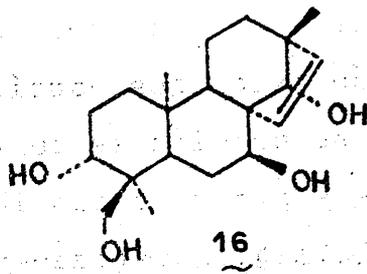
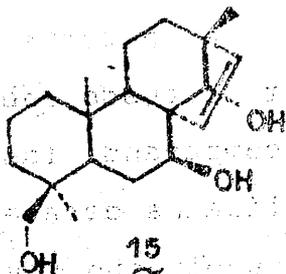


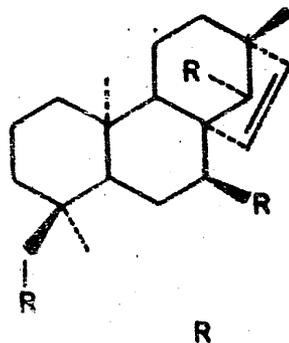
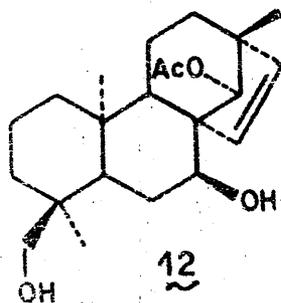
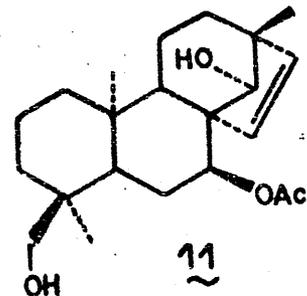
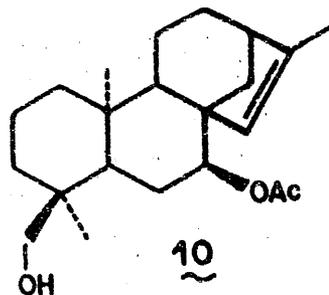
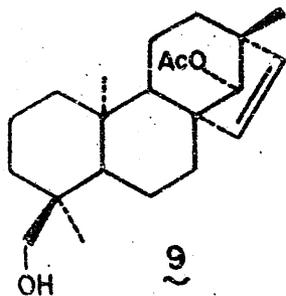
El segundo triacetato aislado (14) tampoco posee bandas de hidroxilo en IR, lo que indica que se encuentra totalmente acetilado. En su espectro de ^1H RMN se observa que se trata de un tetraacetato (δ 2.00 (3H), 1.98 (3H) y 1.92 (6H)) con un esqueleto ent-beyer-15-énico funcionalizado en C-18: Sistema AB colapsado (δ 5.50, H-15 y H-16), metilos singuletes a δ 0.92 (3H) y 0.80 (6H) y sistema AB con dobletes centrados a δ 3.90 y 3.50 ($J = 12$ Hz, grupo acetoximetilénico sobre C-18). Comparando este espectro con el del producto 13 se observa que además de las señales de protones geminales a acetato sobre C-7, C-14 (δ 5.07, m, $W_{1/2} = 7$ Hz y 4.67 (sa) respectivamente) y C-18, aparece una nueva señal (superpuesta a la señal a δ 4.67) y que es debida a un protón geminal a grupo acetoxilo sobre carbono secundario y que dada su anchura, sugiere que se trata de un protón axial que podría estar situado sobre C-3. Esta suposición se confirma comparando los datos de este producto con los publicados para el ent-3 β ,7 α ,14 β ,18-tetraacetoxibeyer-15-eno (tetraacetilpusillatetrol) (G^a de Quesada, 1974), resul-

tando ser ambos el mismo producto.

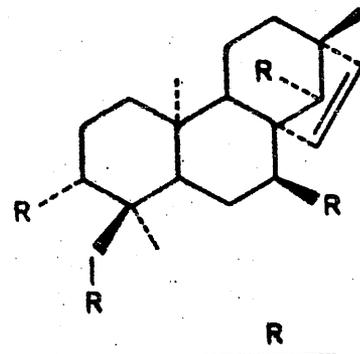


La obtención de los acetatos 13 y 14 a partir de la mezcla de productos polares nos indica que la fracción polar de los productos aislados de esta planta estaría constituida por ent-7 α ,14 β ,18-trihidroxibeyer-15-eno (pusillatriol, 15) y ent-3 β ,7 α ,14 β ,18-tetrahidroxibeyer-15-eno (pusillatetrol, 16) o algún derivado acetilado de este último, como se ha comprobado en un anterior estudio de la Sideritis pusilla ssp. flavovirens (García-Granados, 1984-2).





13 OAc
15 OH



14 OAc
16 OH

Sideritis pusilla var. *Littoralis*

Como puede observarse, estas plantas estudiadas han sido incluidas botánicamente como pertenecientes a la grex pusilla. El primer estudio de una Sideritis de esta grex (G^a de Quesada, 1974) reveló que su composición estaba formada por esqueletos ent-14 β -hidroxibeyer-15-enicos, lo que posteriormente se confirmó en el estudio de otra Sideritis de esta grex (García-Granados, 1984-1 y -2). Esto indujo a pensar que este tipo de productos parecían ser típicos de dicha grex. No obstante, ya se vió que un taxón considerado como subespecie de Sideritis pusilla y estudiado en nuestro laboratorio no poseía este tipo de productos, conteniendo por el contrario ent-beyerenos hidroxilados en C-12 y C-17 y ent-atis-13-enos (García-Granados, 1980-2, 1981-2 y -3).

De las Sideritis estudiadas en esta Memoria, sólo la Sideritis pusilla var. littoralis parece pertenecer al grupo de S. pusilla con esqueletos ent-14 β -hidroxibeyerénicos. Sin embargo, las demás Sideritis consideradas también como pu

sillas no poseen este tipo de esqueletos sino que los compuestos encontrados son de tipo ent-kauréniccs.

Estas especies pueden ser un ejemplo característico de un grupo de Sideritis que pueden constituir el punto de unión entre la grex de la Sideritis pusilla y la grex de la Sideritis hirsuta, teniendo, sin embargo, un comportamiento ecológico más afín a la Sideritis hirsuta.

Queda por tanto en manos de los botánicos especialistas en el tema, que son pocos, el realizar una revisión de la grex pusilla desde el punto de vista morfológico, cariológico y palinológico que junto con el estudio fitoquímico aclararán el estudio de dicha grex.

4.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS ARBORES-
CENS SALZM. EX BENTHAM SUBSP. PAU-
LII (PAU) P.W. BALL EX HEYWOOD

La Sideritis arborescens subsp. paulii es una planta perenne sufruticosa, hasta 70 cm. Verde, ramificada, ramas erectas, entrenudos de las ramas con pelos cortos, incurvados, con dos caras glandulosas puberulas y las otras dos subglabras, los de la inflorescencia con pelos más largos, incurvados y semipatentes. Hojas lineal-lanceoladas a oblongo-lanceoladas, adelgazadas en su base, crenado-dentadas en su mitad superior, subglabras a vellosas y glandulosas. Verticilastros 6-10 flores, distantes. Brácteas acorazonado-ovales, inciso-dentadas, subglabras a pubescentes y glandulosas, las superiores ocultando los cálices y dientes con espina de (0.5)1-2 mm. Cálices tubulosos, ventricosos, glandulosos y laxa o densamente vellosos, 9-10 mm en flor, hasta 11 mm en la fructificación, dientes con espina larga 1-2 mm. Corola amarillo-pálida, depasando el cáliz.

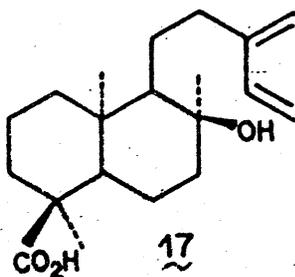
Esta planta crece en áreas muy restringidas en suelos ácidos y arenosos desde el centro hacia el suroeste de la Península Ibérica, especialmente en las provincias de Córdoba, Sevilla y Huelva.

Del estudio de la fracción ácida de la mezcla de diterpenoides aislados de esta Sideritis se aisló un único producto, mientras que de la fracción neutra se han podido aislar diez productos que se separan por cromatografía en columna y que paso a discutir a continuación.

Acido ent-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dien-18-oico (17).

El producto 17 aislado de la fracción ácida presenta absorción en UV (máximo a 227 nm) y en su espectro de IR aparecen bandas de grupo carboxilo (3000-2500 y 1720 cm^{-1}). En su espectro de ^1H RMN se aprecia un sistema vinílico $\text{A}_2\text{B}_2\text{X}$ similar al observado en los derivados labda-13(16),14-diénicos y dos señales de metilos

singuletes (δ 1.15 (6H) y 0.85 (3H)). En su espectro de ^{13}C RMN puede observarse la existencia del grupo carboxilo (δ 184.23) y una señal debida a carbono oxigenado totalmente sustituido a 74.81 ppm, además de las señales producidas por los carbonos del sistema diénico (δ 147.53, 138.96, 115.67 y 113.58). Todos estos datos coinciden con los del ácido ent-8 α -hidroxilabda-13(16), 14-dien-18-oico, un nuevo producto aislado recientemente en nuestro laboratorio (García-Granados, 1985)

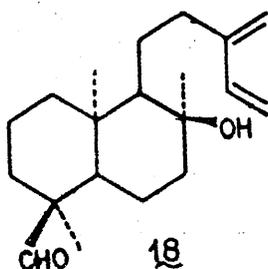


ent-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dien-
-18-al (18).

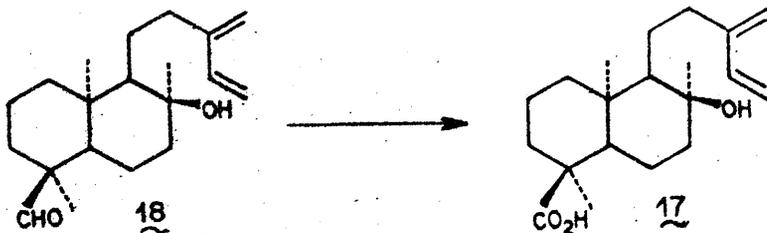
El primer producto (18) y más apolar de los aislados de la fracción neutra presenta, al igual que el producto 17, un máximo de absorción en UV a 226 nm. En su espectro de IR aparecen bandas de hidroxilo (3440 cm^{-1}), de grupo carbonilo (1720 cm^{-1}) y de doble enlace conjugado (1605 cm^{-1}). En su espectro de ^1H RMN se observa un singulete a δ 9.20 (1H) asignado a un grupo formilo ecuatorial (de Pascual Teresa, 1978) situado sobre un carbono cuaternario así como un sistema A_2B_2X similar al observado en el producto 17 producido por un sistema labda-13(16),14-diénico. Además de estas señales, existen tres metilos singuletes (δ 1.15, 1.02 y 0.87).

En su espectro de ^{13}C RMN se aprecia una señal asignada al carbono aldehídico (δ 206.23) y la existencia de un carbono oxigenado totalmente sustituido (δ 74.16, C-8). Estos datos sugieren que el producto 18 se trata del ent-8 α -hi

droxilabda-13(16),14-dién-18-al (6-desoxiandalu
sal), lo que se confirma por comparación con una
muestra auténtica (Algarra, 1933).

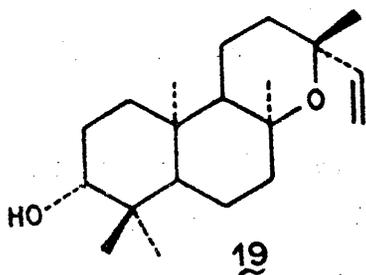


La confirmación de esta estructura también
se realiza correlacionando este producto con el
anteriormente comentado 17. La oxidación del pro-
ducto 18 con el reactivo de Jones origina un pro-
ducto con carácter ácido que resulta ser idéntico
al producto 17.

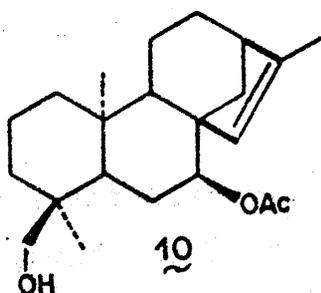


ent-3 β -hidroxi-13-epi-óxido de manoilo

El segundo producto aislado (19) posee una polaridad muy similar a la del producto 18 y presenta una formula molecular $C_{20}H_{34}O_2$. En su espectro de IR se aprecian bandas de grupo hidroxilo (3450 cm^{-1}) y doble enlace (3080 , 1645 y 890 cm^{-1}). En su espectro de ^1H RMN pueden apreciarse la existencia de cuatro singuletes debidos a cinco grupos metilo (δ 1.15, 1.05, 0.90 (3H cada uno) y 0.67 (6H)) y un sistema ABX caracteristico del esqueleto de óxido de manoilo. Además aparece una señal debida a un protón axial geminal a hidroxilo secundario a 3.13 ppm ($w_{1/2} = 18\text{ Hz}$) y que podría ser debida a un protón sobre C-3. Según estos datos, el producto 19 podría tratarse del ent-3 β -hidroxi-13-epi-óxido de manoilo (ribenol), lo que confirmamos comparando sus datos con los publicados para este producto (Gonzalez, 1973-4).



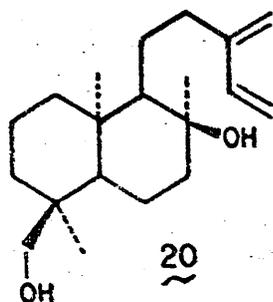
De este grupo apolar de sustancias, también se aisló un producto que poseía las mismas propiedades físicas y espectroscópicas que el anteriormente descrito ent-7 α -acetoxi-18-hidroxi-15-eno (siderol, 10) aislado de la Sideritis pusilla (Lange) Pau var. littoralis Font Quer (apartado 3.-).



ent-8 α ,18-dihidroxiabda-13(16),14-
-dieno (20)

El producto más apolar (20) de los aislados en la zona de polaridad media presenta una fórmula molecular de $C_{20}H_{34}O_2$ con absorciones en el UV (231 nm) y en el IR (3400, 1600, 910 y 890 cm^{-1}). En su espectro de 1H RMN se aprecian las señales típicas del sistema conjugado labda-13(16),14-dieno (sistema A_2B_2X) y tres metilos singuletes, uno de ellos geminal a grupo hidroxilo (δ 1.14, 0.82 y 0.72). También existe un sistema AB con dobletes centrados a δ 3.44 y 3.11 ($J= 12$ Hz) producido por un grupo hidroximetilénico ecuatorial. En su espectro de ^{13}C RMN se observan, además de las señales de carbonos olefinicos, la existencia de dos carbonos oxigenados, uno totalmente sustituido (δ 74.12, C-8) y otro con carácter metilénico (δ 71.82, C-18). El producto 20 parece tratarse del ent-8 α ,18-dihidroxiabda-13(16),14-dieno (6-desoxian-dalusol), lo que se confirma comparando sus datos con los publicados para este producto, aislado

do por primera vez de la Sideritis arborescens Salzm ssp (Rodriguez, 1979).



Al igual que en el producto 18, la oxidación del producto 20 con el reactivo de Jones origina el producto 17, lo que constituye una prueba adicional de que el producto 20 se trata del 6-desoxiandalusol.



ent-6 α ,8 α -dihidroxiabda-13(16),14-
-dieno (21).

El siguiente producto aislado (21) de esta zona de polaridad media presenta las mismas absorciones en UV y en IR que el producto 20. En su espectro de ^1H RMN se observa el mismo sistema A_2B_2X que en producto 20 (asignable a un sistema labda-13(16),14-diénico), sin embargo en el espectro de ^1H RMN del producto 21 aparecen cuatro singuletes debidos a grupos metilo (δ 1.21, 1.15, 0.99 y 0.82) y una señal a δ 3.86 (ddd, $J_1=10$, $J_2=10$, $J_3=4$ Hz) producida por un protón geminal a hidroxilo secundario ecuatorial que podría estar en las posiciones 6 u 11 .

La acetilación del producto 21 origina un monoacetato 22 en cuyo espectro de ^1H RMN se observa que sólo existe un grupo acetoxi (δ 2.05) y que el protón geminal al grupo hidroxilo en el producto 21 ha sido desplazado a campo bajo al producirse la acetilación del mismo (δ 5.07).

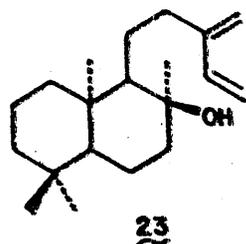
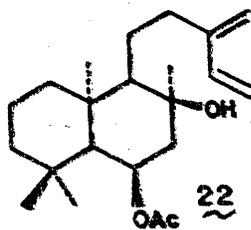
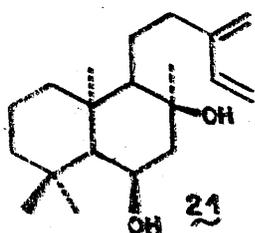
TABLA I

Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de los productos 17, 18, 20, 21, 22, 23 y 30

Carbono	<u>17</u>	<u>18</u>	<u>20</u>	<u>21</u>	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>30</u>
1	38.54	38.89	39.28	40.07	39.84	39.76	39.46
2	17.56	16.76	17.80	18.36	18.24	18.50	17.87
3	37.03	32.40	35.29	43.68	43.52	42.03	35.85
4	47.38	48.43	49.66	34.77	34.88	33.29	37.74
5	50.40	49.70	49.19	61.51	58.67	56.19	49.37
6	23.38	23.08	20.28	69.14	71.02	20.60	20.41
7	44.07	44.11	44.25	54.36	50.52	44.62	44.64
8	74.81	74.16	74.12	73.75	75.52	74.28	74.16
9	61.79	61.63	61.81	61.23	60.93	61.28	61.59
10	39.00	38.00	39.02	39.38	39.64	39.17	39.22
11	24.63	24.54	24.60	24.52	24.56	24.75	24.05
12	35.12	35.04	35.10	33.85	34.88	35.13	35.36
13	147.53	147.08	147.49	147.24	147.04	147.47	149.27
14	138.96	138.88	138.85	138.88	138.93	138.82	117.77
15	115.67	115.70	115.43	115.60	115.77	115.60	72.65
16	113.58	113.56	113.42	113.54	113.63	113.51	70.12
17	24.03	24.24	23.94	25.69	25.44	24.05	23.49
18	184.23	206.23	71.82	36.28	36.04	33.43	72.15
19	16.25	14.05	17.38	22.09	21.97	21.52	17.47
20	15.92	15.63	15.81	16.60	16.55	15.50	15.91
					21.97		
CH_3CO					171.08		
CH_3CO							

En los espectros de ^{13}C RMN de los productos 21 y 22 puede observarse que existen dos carbonos oxigenados: Uno secundario (δ 69.14 y 71.02 respectivamente) y otro terciario (δ 73.75 y 75.52 respectivamente, asignable a C-8).

Para determinar la posición de la hidroxilación secundaria realizamos la comparación de los espectros de ^{13}C RMN del producto 21 y del producto de referencia 23 (Garcia-Granados, 1983- 2). El desplazamiento químico de C-9 (de inequívoca asignación, 61.28 en el producto 23) no se ve afectado por la nueva hidroxilación en el producto 21 (δ 61.23), mientras que el desplazamiento químico de C-5 (δ 56.19 en el producto 23) sufre un desapantallamiento de + 5.32 ppm con respecto al mismo carbono en el producto 21. Según estos datos la hidroxilación sobre C-11 puede descartarse, siendo sin embargo compatibles con una hidroxilación sobre C-6. Por lo tanto, proponemos para el producto 21 la estructura de ent-6 α ,8 α -dihidroxiabda-13(16),14-dieno (18-desoxiandalusol) un nuevo producto natural.



ent-16,18-dihidroxi-13-epi-óxido de
manoilo (24).

Siguiendo dentro del grupo de productos con polaridad intermedia comentaré un producto (24) que posee una fórmula molecular $C_{20}H_{34}O_3$. En su espectro de IR se aprecian bandas de hidroxilo y doble enlace. En el espectro de 1H RMN de este producto existe un sistema ABX típico del esqueleto de óxido de manoilo y tres singuletes debidos a grupos metilo, uno de ellos geminal a función oxigenada (δ 1.25, 0.75 y 0.72) junto con dos sistemas AB con dobles dobles centrados a δ 3.44, 3.32, 3.09 y 2.95 (1H cada uno). La comparación de los espectros de 1H RMN de este producto y del producto 20 in-

dica que uno de estos sistemas AB (dobletes centrados a δ 3.09 y 3.44) corresponde al grupo hidroximetilénico sobre C-18. El otro grupo hidroximetilénico (dobletes centrados a δ 2.95 y 3.32) debe estar situado en C-16, C-17, C-19 ó C-20. La presencia de dos metilos singuletes a δ 0.75 y 0.72 indican que este grupo hidroximetilénico no está situado ni en C-19 ni en C-20. Así la localización más probable es sobre C-16 ó C-17.

El estudio del espectro de ^{13}C RMN de este producto comparado con los espectros de los productos de referencia 25 (óxido de manoilo) y 26 (13-epióxido de manoilo) (Buckwalter, 1975) revela que además de los dos carbonos oxigenados totalmente sustituidos (δ 75.97 y 76.40) existen dos carbonos oxigenados con carácter metilénico, uno de ellos asignado a C-18 (71.50 ppm) y otro que debe estar en C-16 ó C-17. Si analizamos los desplazamientos químicos para C-8 (δ 75.97 ó 76.40) observamos que presenta un valor acorde con los observados para el mismo car-

bono en los productos 25 (δ 74.8) y 26 (δ 76.1), lo que sugiere que el grupo hidroxilo primario no se encuentra sobre C-17. Por el contrario, el desplazamiento químico para C-13 (δ 75.97 ó 76.40) presenta más variación con respecto al mismo carbono de los productos 25 (δ 73.0) y 26 (δ 73.3), lo que indica que este grupo hidroxilo se encuentra en C-16.

La configuración de C-13 puede establecerse por comparación de los desplazamientos químicos de C-9 en los productos 24 (δ 58.20), 25 (δ 55.7) y 26 (δ 58.5). Así, el producto 24 posee una configuración 13-epi con hidroxilación sobre C-18 y C-16 y su estructura será la de ent-16,18-dihidroxi-13-epi-óxido de manoilo (13-epi-jabuodiol), un nuevo producto diterpénico natural.

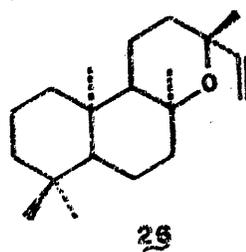
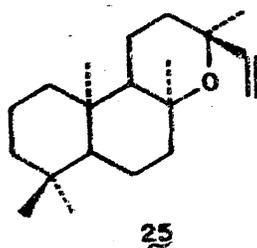
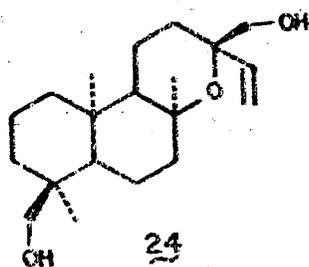
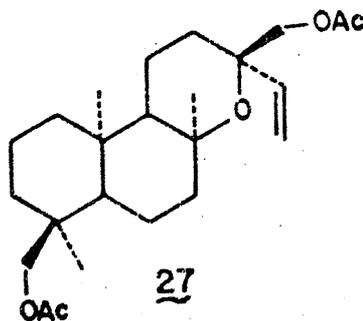


TABLA II

Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de los productos 24, 25, 26, 27 y 28.

Carbono	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>27</u>	<u>28</u>
1	38.70	39.0	39.4	38.83	38.53
2	17.80	18.6	18.7	17.83	17.88
3	35.20	42.1	42.2	35.97	35.37
4	37.50	33.2	33.4	36.89	37.25
5	49.41	56.4	56.5	50.68	49.77
6	19.41	19.9	19.9	19.82	20.00
7	42.50	43.2	43.1	42.61	43.42
8	75.97	74.8	76.1	76.11	75.50
9	58.20	55.7	58.5	58.29	52.86
10	36.60	36.9	36.9	36.60	37.66
11	15.12	15.4	15.9	15.26	14.65
12	28.30	35.8	34.9	30.09	27.23
13	76.40	73.0	73.3	74.34	76.33
14	144.02	147.8	147.8	143.54	144.03
15	113.10	110.1	109.5	113.58	113.64
16	69.60	28.5	32.7	71.40	68.71
17	23.80	25.5	24.0	24.00	25.83
18	71.50	33.4	33.3	72.92	72.14
19	16.97	21.3	21.3	17.11	17.38
20	16.02	15.3	15.9	16.19	15.58
CH_3CO				20.97	
CH_3CO				20.97	
CH_3CO				170.78	
CH_3CO				171.17	

La existencia de estas dos hidroxilaciones sobre carbono primario se comprobó por acetilación suave a 0 °C de estos grupos hidroxilo, obteniéndose un diacetato (27) que no presenta banda de hidroxilo en IR y en cuyo espectro de ^1H RMN se observa el desplazamiento a campo bajo de los dos sistemas AB que aparecían en el espectro del producto 24 y que ahora aparecen como un sistema AB colapsado (δ 3.82) y un sistema AB con dobletes centrados a δ 3.87 y 3.62 ($J=12$ Hz). Tanto estos datos como los de ^{13}C RMN están de acuerdo con la estructura de ent-16,18-diacetoxi-13-epi-óxido de manoil.



La confirmación de estas estructuras se realizó mediante la síntesis biomimética del producto 24 que comentaré en el siguiente apartado de esta Memoria.

ent-16,18-dihidroxi-óxido de manoilo (28)

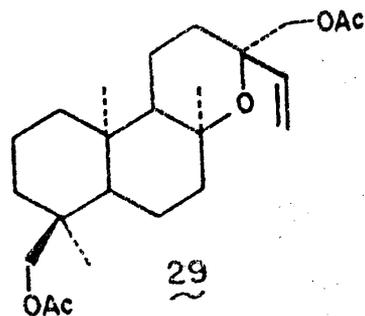
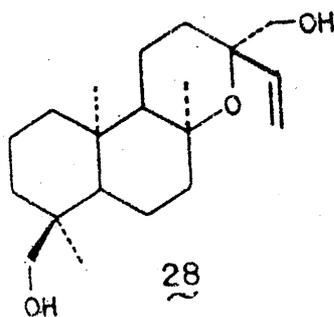
Otro producto aislado (28) posee idéntica fórmula molecular y similar espectro de IR que el producto 24. En su espectro de ^1H RMN se observa, al igual que en el del producto 24, un sistema ABX de óxido de manoilo y tres singletes debidos a grupos metilos (δ 1.29, 0.85 y 0.76) junto con un sistema AB (δ 3.45 y 3.10, $J=12$ Hz) debido a un grupo hidroximetilénico sobre C-18 . Además de estas señales, existe otro sistema AB, que en este caso está colapsado (δ 3.30) también producido por un grupo hidroximetilénico.

La acetilación del producto 28 origina un diacetato (29) cuyo espectro de ^1H RMN es muy parecido al del diacetato 27 salvo en el desplazamiento del segundo grupo hidroximetilénico, que aparece como un sistema AB colapsado a 3.95 ppm.

La similitud entre los espectros de ^1H RMN de los productos 24 y 28 y los de sus acetatos 27 y 29 nos hacen pensar en la posibilidad de que el

producto 28 sea un epímero en C-13 del producto 24 ya que las variaciones observadas están en relación con la señal del grupo hidroximetilénico que asignamos sobre C-16 en el producto 24.

El análisis de los espectros de ^{13}C RMN de los productos 25, 26 y 28 revela, al igual que en el producto 24, la existencia de una hidroxilación en C-16. El estudio del desplazamiento químico del carbono 9 (δ 52.86), comparado con el desplazamiento del mismo carbono en los productos de referencia 25 (δ 55.7) y 26 (δ 58.5) nos indica que el producto 28 posee una configuración en C-13 idéntica a la del óxido de manoilo 25, por lo que el producto 28 se trata del epímero en C-13 del producto 24 y su estructura será la de ent-16,18-dihidroxi-óxido de manoilo (jabugodiol), un nuevo diterpeno natural.

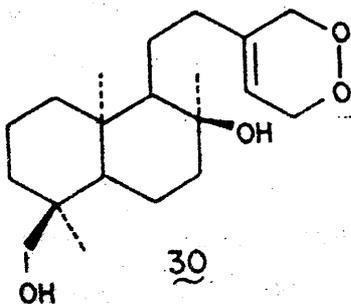


ent-8 α ,18-dihidroxi-15,16-peroxilabda-
-13-eno (30)

El último producto (30) aislado de este grupo posee un espectro de IR con bandas de hidroxilo y doble enlace. En su espectro de ^1H RMN aparece una señal debida a un protón olefínico (δ 5.70, m, $W_{1/2} = 7.5$ Hz). A δ 4.52 aparece una señal ancha que integra por cuatro protones ($W_{1/2} = 10$ Hz). También se observa un sistema AB con dobletes centrados a δ 3.45 y 3.10 ($J = 12$ Hz) y tres singuletes producidos por tres grupos metilo a δ 1.16, 0.85 y 0.75.

En su espectro de ^{13}C RMN aparecen dos señales debidas a carbonos olefínicos, uno de ellos totalmente sustituido (δ 149.27) y otro metileno vinílico (δ 117.22) además de cuatro señales de carbonos oxigenados. Como los desplazamientos de los demás carbonos son similares a los del producto 20, creemos que el producto 30 debe tratarse de un 15,16-peroxiderivado del producto 20

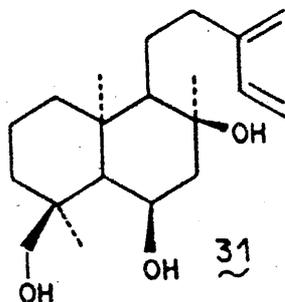
No sabemos si este producto es un producto natural de la planta o bien un artefacto producido por una fotooxidación que haya podido ocurrir durante los procesos de extracción. Quiero mencionar el hecho de que estas fotooxidaciones se han llevado a cabo, con buenos rendimientos, con esqueletos ent-labda-13(16),14-diénicos dentro de nuestro equipo de investigación, obteniéndose 15,16-peroxiderivados.



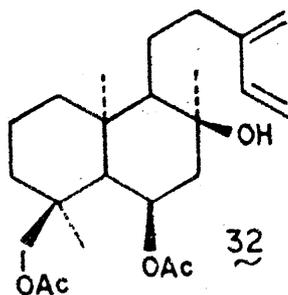
ent-6 α ,8 α ,18-trihidroxiabda-13(16),14-
-dieno (31)

De la zona polar de productos se han aislado dos. El primero de ellos (31) posee un fórmula molecular $C_{20}H_{34}O_3$ y presenta absorción en UV (225 nm ($\epsilon = 11000$) y en IR (3500, 1640, 1600, 920 y 895 cm^{-1}). En su espectro de 1H RMN aparece un sistema A_2B_2X similar al observado en los espectros de los productos 17, 18, 20 y 21 y tres metilos singuletes (δ 1.20, 0.90 y 0.85) uno de ellos (δ 1.20) geminal a grupo hidroxilo. También existe un sistema AB (dobletes centrados a δ 3.60 y 3.10, $J = 12$ Hz) producido por un grupo hidroximetilénico y otra señal originada por un protón geminal a hidroxilo ecuatorial (δ 3.86, ddd, $J_1 = J_2 = 10$, $J_3 = 4$ Hz) similar a la observada en el espectro del producto 21. Estos datos nos hacen pensar en la existencia de un esqueleto ent-labda-13(16),14-diénico hidroxilado en C-6, C-8 y C-18. La comparación de estos datos con los publicados para el ent-6 α ,8 α ,18-trihidroxiabda-13(16),14-dienc (andalusol)

(López, 1977) muestra que ambos se tratan del mismo producto.



La confirmación de la estructura del producto 31 también se realizó por acetilación, obteniéndose un diacetato (32) en cuyo espectro de ^1H RMN aparecen señales similares a las del producto 22 además de un sistema AB con dobletes centrados a δ 4.05 y 3.60 producidos por los protones geminales a grupo acetoxi sobre C-18 y una señal a δ 2.00 debida a un nuevo grupo acetoxi. Todos los datos de este diacetato 32 coinciden con los publicados para el ent-6 α ,8 α ,18-triacetoxilabda-13(16),14-dieno (López, 1977).

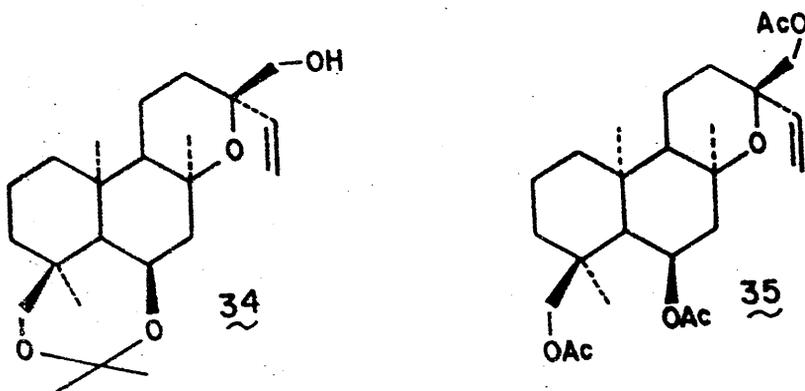


ent-6 α ,16,18-trihidroxi-13-epi-óxido
de manoilo (33).

El último producto aislado de esta planta (33) presenta una fórmula molecular $C_{20}H_{34}O_4$ y en su espectro de IR se aprecian bandas de hidroxilo y doble enlace. En su espectro de 1H RMN aparece un sistema ABX similar al observado en los productos 19 y 24. La comparación de su espectro con el del producto 24 muestra la existencia de una nueva hidroxilación en el producto 33 ya que a δ 3.83 aparece una nueva señal (ddd, $J_1 = J_2 = 10$, $J_3 = 4$ Hz) que es similar a la observada en los espectros de los productos 21 y 31 y que era originada por un protón geminal a hidroxilo ecuatorial sobre C-6. También se observan los dos sistemas AB debidos a grupos hidroximetilénicos que en el producto 24 se encontraban sobre C-16 y C-18.

La existencia de un grupo hidroxilo ecuatorial sobre C-6 y otro hidroxilo en C-18 se comprueba por la formación del isopropilidendioxido-

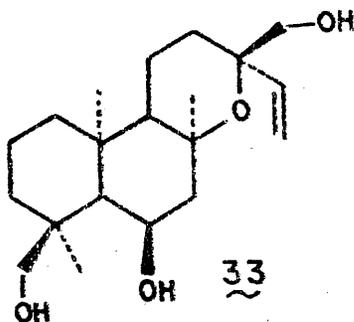
rivado (34) del producto 33.



La existencia de tres grupos hidroxilo se confirma por la acetilación del producto 33, que origina un triacetato (35) en cuyo espectro de IR no se observan señales de hidroxilo y su espectro de ^1H RMN es similar al del diacetato 27 si le añadimos la señal de un nuevo grupo acetoxi (δ 1.97) y la señal de un protón geminal a acetoxilo ecuatorial sobre C-6 (δ 5.05).

El producto 33 es muy insoluble en CDCl_3 por lo que en su espectro de ^{13}C RMN hay señales que no se han podido asignar, principalmente las debidas a carbonos cuaternarios. El producto 35 es más soluble en CDCl_3 y permite una total asignación de los carbonos para este esqueleto. No

obstante, la asignación del desplazamiento químico para el carbono 9 en ambos productos (δ 57.81 para 33 y 57.80 para 35) no es problemática, observando que ambos poseen una configuración en C-13 similar a la observada para los productos 24 y 27, deducida de los desplazamientos químicos de C-9 en 24 (δ 58.20) y 27 (δ 58.29) (teniendo en cuenta que el grupo acetoxi en C-6 tiene una débil influencia en el desplazamiento químico de C-9). Los demás datos de ^{13}C RMN están de acuerdo con la estructura de ent-6 α ,16,18-trihidroxi-13-epi-óxido de mancilo para el producto 33, un nuevo diterpeno natural (13-epijabugotriol).



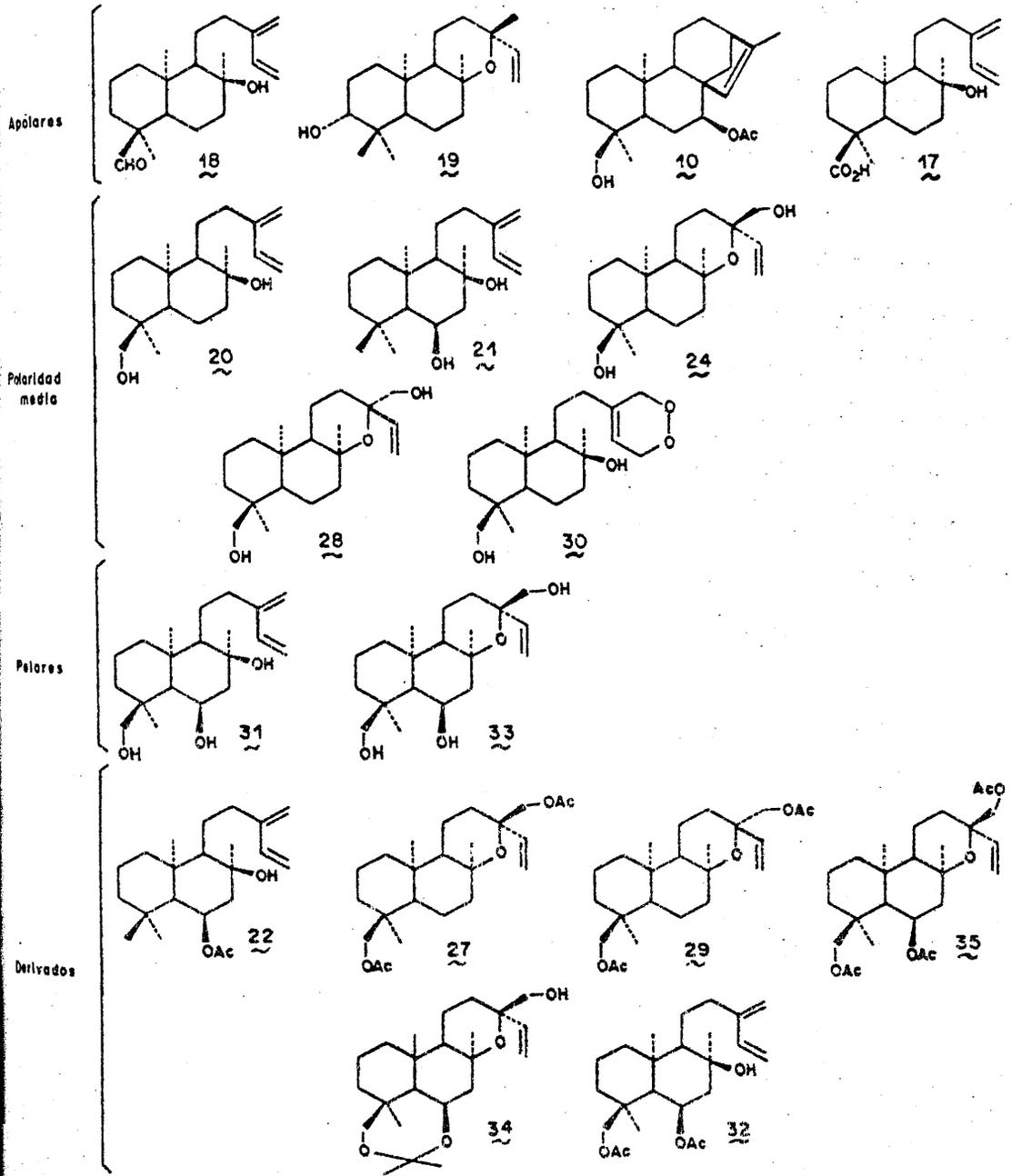
La confirmación de esta estructura, al igual que la del producto 24, se realizó mediante síntesis biomimética que pasaré a discutir a continuación.

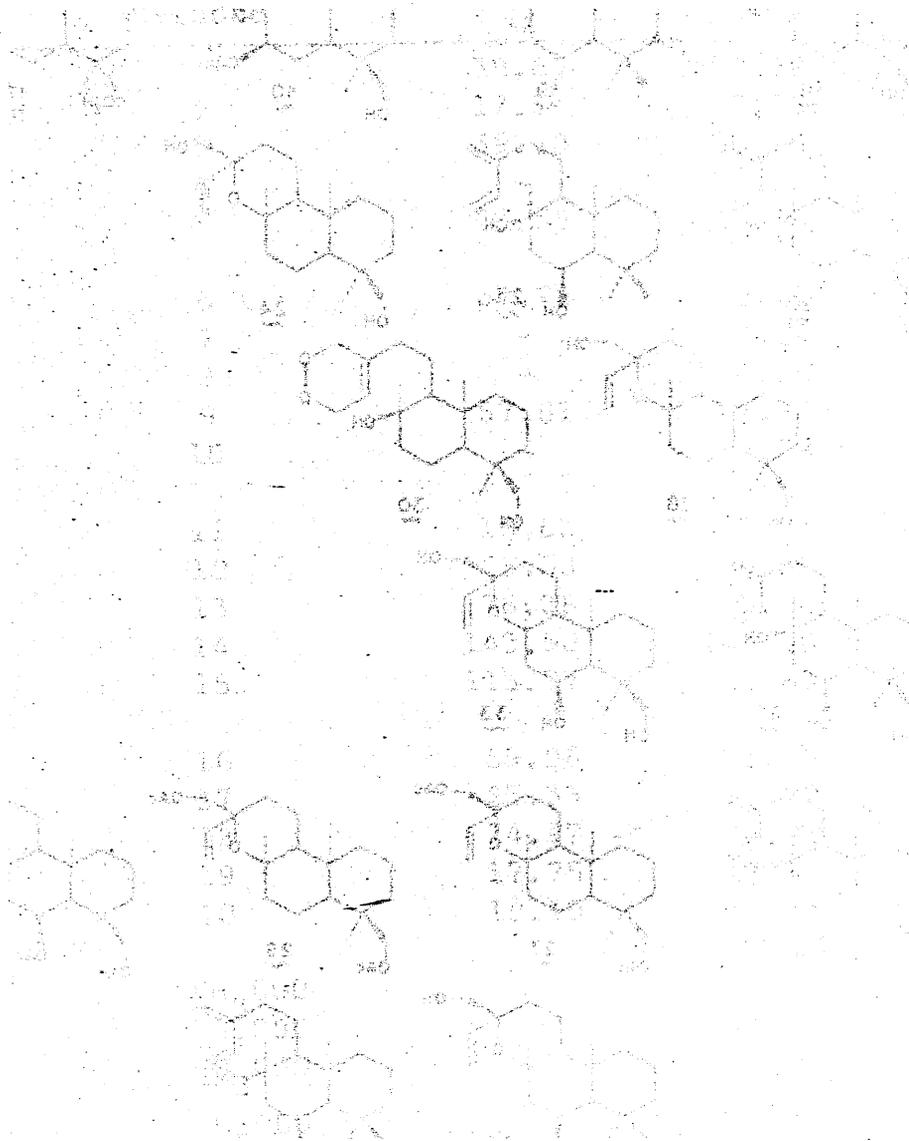
TABLA III

Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de los productos 33 y 35

Carbono	<u>33</u>	<u>35</u>
1	38.62	38.68
2	17.54	17.53
3	39.20	36.95
4	-	37.68
5	53.58	52.54
6	67.78	70.45
7	-	49.24
8	-	74.60
9	57.81	57.80
10	-	36.58
11	15.63	15.53
12	28.50	29.87
13	76.38	75.20
14	143.90	143.18
15	113.77	113.89
16	69.86	71.36
17	25.33	25.22
18	74.97	74.28
19	17.75	17.82
20	18.10	17.41
CH_3COO		21.72
CH_3COO		21.07
CH_3COO		21.07
CH_3COO		170.18
CH_3COO		171.19
CH_3COO		171.62

SIDERITIS ARBORESCENS SUBPS. PAULII.

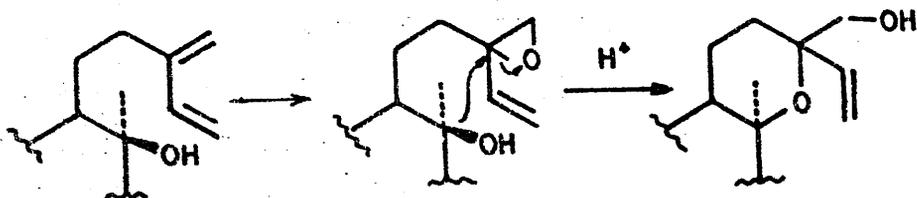




5.-REACCIONES BIOMIMETICAS SOBRE
SISTEMAS ent-LABDA-13(16),14-
-DIENICOS

Los productos mayoritarios aislados de la Sideritis arborescens sp paulii anteriormente estudiada son el 6-desoxiandalusol (20) y el andalusol (31), ambos con la agrupación 13(16),14-diénica.

Ya en nuestro laboratorio se han realizado una serie de reacciones biomiméticas sobre es queletos con esta agrupación (García-Granados, 1982-2 y 1983-1), obteniendo resultados satisfactorios, por lo que se pensó en utilizar los productos 20 y 31 para producir la ciclación a óxido de manoiló vía epoxidación del doble enlace 13/16 y posterior apertura del anillo oxiránico formado, que debe estar favorecida por la participación del grupo hidroxilo sobre C-8.



Con este fin se procedió a acetilar el 6-desoxiandalusol (20), obteniendo el correspondiente derivado acetilado en C-18 (36). Este producto se trató con ácido *m*-cloroperbenzoico durante 48 h a 0 °C. Al cabo de este tiempo se observó por cromatografía en capa fina que el producto de partida 36 había reaccionado por completo, originando una compleja mezcla de productos con bajo rendimiento. De esta mezcla no se logró aislar el derivado epoxidado en las posiciones 13/16, sino que un producto aislado (37) poseía un espectro de ¹H RMN en el que se observaba un sistema ABX típico del esqueleto de óxido de manilo, lo que nos indujo a pensar que en el medio de reacción se han producido los dos procesos (epoxidación y ciclación) que nosotros pretendíamos realizar. También en el espectro

del producto 37, además del sistema AB del grupo acetoximetilénico sobre C-18, se aprecia un nuevo sistema AB con dobletes centrados a 3.32 y 2.92 ($J=12$ Hz) y que teniendo en cuenta la apertura del anillo oxiránico debe corresponder a la señal de un grupo hidroximetilénico sobre C-16. En su espectro de ^{13}C RMN aparecen, además de los carbonos oxigenados δ y 13 totalmente sustituidos, otros dos carbonos oxigenados con carácter metilénico, uno debido a C-18 y otro que asignamos a C-16. La configuración del carbono 13 puede establecerse comparando los desplazamientos químicos del carbono 9 en los productos 37, 24 y 27 que son respectivamente de 58.42, 58.20 y 58.29 ppm, lo que nos indica que el producto 37 pertenece a la serie 13-epi y por tanto su estructura es de ent-18-acetoxi-16-hidroxi-13-epi óxido de manilo.

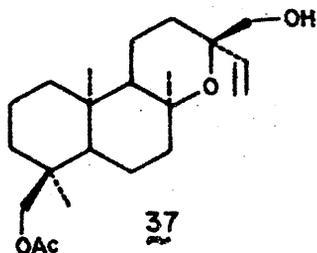
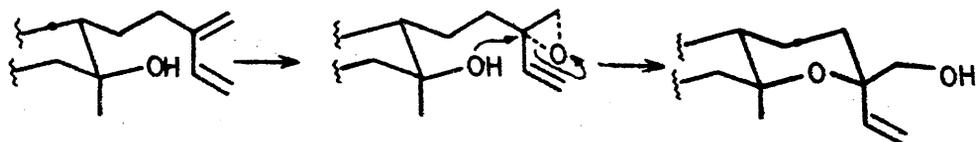


TABLA IV

Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de los productos 36 y 37

Carbono	<u>36</u>	<u>37</u>
1	38.87	38.76
2	17.51	17.80
3	35.69	35.90
4	36.41	36.83
5	50.00	50.47
6	20.33	19.70
7	44.10	42.60
8	73.69	76.31
9	61.62	58.42
10	39.09	36.50
11	24.52	15.28
12	34.95	28.49
13	147.37	76.10
14	138.76	144.14
15	115.22	113.38
16	113.25	69.75
17	23.94	23.91
18	72.71	72.73
19	17.17	17.10
20	15.66	16.22
CH_3COO	20.74	20.90
CH_3COO	170.91	171.12

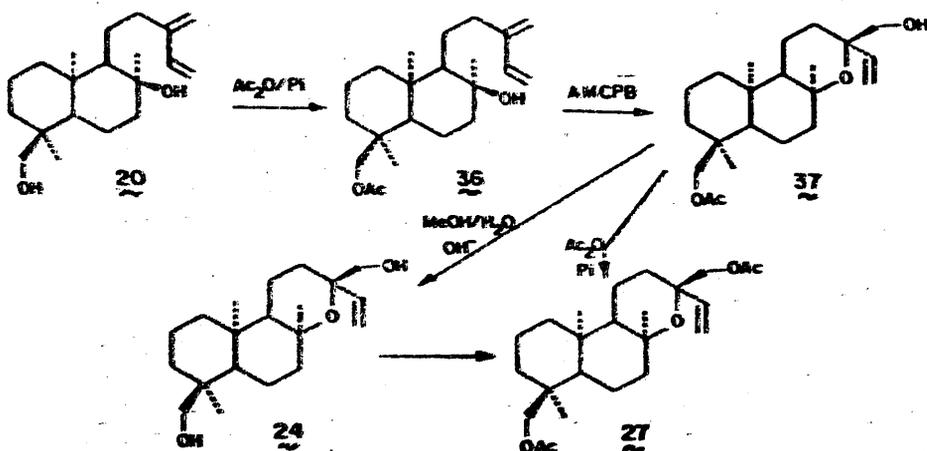
Esta ciclación podría explicarse mediante un proceso concertado en el que el epóxido formado sufre el ataque dorsal sobre C-13 del grupo hidroxilo situado en C-8, produciéndose la ciclación y apertura del epóxido, originando el producto 37.



Dado que el doble enlace entre los carbonos 13 y 16 puede epoxidarse por las dos caras, es posible esperar la mezcla de los dos epímeros en C-13. Sin embargo, en esta reacción, no se aisló el otro epímero, existiendo una mezcla compleja de productos que será objeto de posteriores estudios.

Puesto que el producto obtenido posee una estructura que puede correlacionarse con productos obtenidos en la Sideritis arborescens sp Pau-

lii, se procedió a realizar esta correlación mediante saponificación del producto 37 ó por acetilación del mismo. La saponificación del producto 37 origina un producto cuyas constantes físicas y espectroscópicas son idénticas a las observadas para el producto 24. La acetilación del producto 37 origina un producto totalmente idéntico al producto 27.



Esta misma reacción de ciclación también se realizó con el diacetato (32), obtenido por acetilación del andalusol (31). El tratamiento del producto 32 con ácido *m*-cloroperbenzoico durante 48 h a 0°C conduce, al igual que ocurría con el producto 36, a una compleja mezcla de productos de la que se logra purificar un producto (38) en cuyo espectro de ^1H RMN se aprecian señales de óxido de manoil. Además de las señales de los protones geminales a grupo acetoxilo en C-6 y C-18, aparece un nuevo sistema AB con dobletes centrados a δ 3.32 y 2.98 ($J = 12$ Hz) atribuible al grupo hidroximetilénico sobre el carbono 16. Del espectro de ^{13}C RMN del producto 38 se desprende que dicho producto posee un alcohol primario y que pertenece, al igual que el producto 33, a la serie 13-*epi*, por lo que su estructura será la de *ent*-6 α ,18-diacetoxi-16-hidroxi-13-*epi* óxido de manoil.

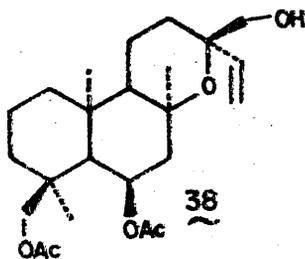


TABLA V

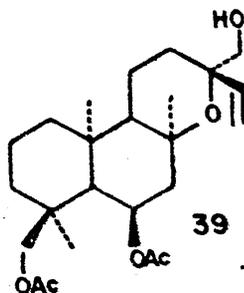
Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de los productos 32, 38 y 39

Carbono	<u>32</u>	<u>38</u>	<u>39</u>
1	39.10	38.59	38.35
2	17.30	17.40	17.35
3	37.00	36.90	36.85
4	36.30	37.59	37.95
5	51.80	52.29	51.98
6	70.50	70.33	70.61
7	50.10	49.14	49.88
8	73.10	75.41	75.52
9	60.80	57.93	52.75
10	39.30	36.49	36.48
11	24.50	15.52	14.71
12	34.70	28.32	27.09
13	146.90	76.33	76.75
14	138.50	143.68	143.73
15	115.60	113.68	114.33
16	113.50	69.65	68.75
17	25.20	25.06	26.51
18	74.10	74.12	74.42
19	17.90	17.74	17.88
20	16.70	17.40	16.44
CH_3COO	21.70	21.64	21.70
CH_3COO	21.00	20.99	21.04
CH_3COO	170.00	170.12	171.25
CH_3COO	170.90	170.12	171.25

La formación de este producto podría explicarse por un mecanismo análogo al formulado para la formación del producto 37: epoxidación del doble enlace 13/16 y participación del grupo hidroxí situado en C-8 produciendo la ciclación sobre C-13 y apertura del anillo oxiránico para producir el producto 38.

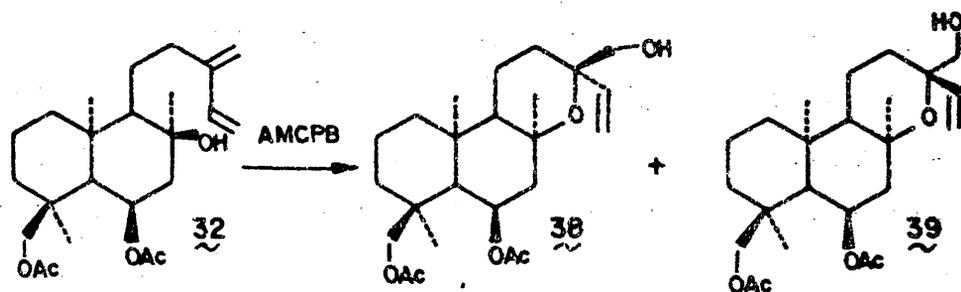
De esta reacción también se pudo aislar, aunque en pequeña cantidad, un producto (39) cuyo espectro de ^1H RMN es muy parecido al del producto 38, si bien la señal asignable al grupo hidroximetilénico sobre C-16 aparece, en el producto 39, como un sistema AB colapsado a δ 3.25. Un posterior estudio de esta reacción, que comentaré más adelante, permitió aislar más cantidad de este producto y poder así realizar su espectro de ^{13}C . La comparación de los espectros de ^{13}C RMN de los productos 38 y 39 indica que el producto 39 también posee un alcohol primario y el desplazamiento químico observado para el carbono 9 (52.75 ppm) revela que se trata del epímero en el carbono 13 del producto 38.

De acuerdo con estos datos, el producto 39 es el ent-6 α ,18-diacetoxi-16-hidroxi óxido de mancoilo.

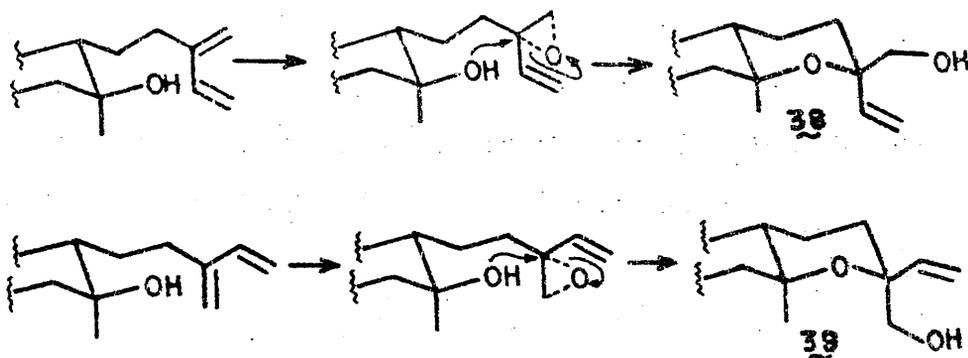


Con objeto de estudiar esta reacción, se procedió a la extracción de la Sideritis foetens, que posee esqueletos ent-labda-13(16),14-diénicos, más concretamente andalusol (31) y sus derivados acetilados en C-6 ó C-18 (G.Alvarez, 1980). La acetilación de estos tres productos origina el derivado diacetilado 32. Con cantidad suficiente de este producto se procedió a estudiar los productos de ciclación obtenidos en su reacción con ácido m-cloroperbenzoico, utilizando bajas concentraciones de reactivo y controlando el tiempo de reacción, se observó que a las 24 h se consiguen los mejores rendimientos en productos de ciclación, obteniendo un rendimiento del

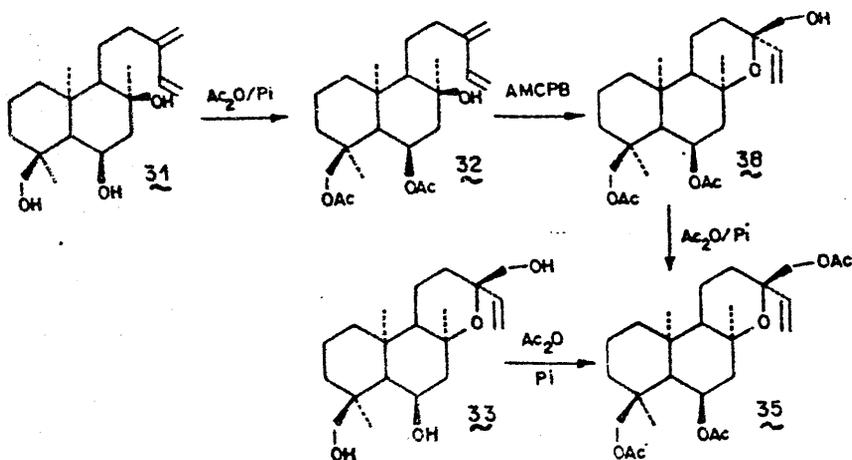
25 % para el producto 38 y del 12 % para el producto 39, además de una mezcla de otros productos que está siendo objeto de estudio en la actualidad.



La formación del producto 39 era de esperar ya que no hay motivos para pensar que la epoxidación sólo se produzca por una cara del doble enlace. El ataque del reactivo por las dos caras origina los productos 38 y 39, epímeros en C-13 .



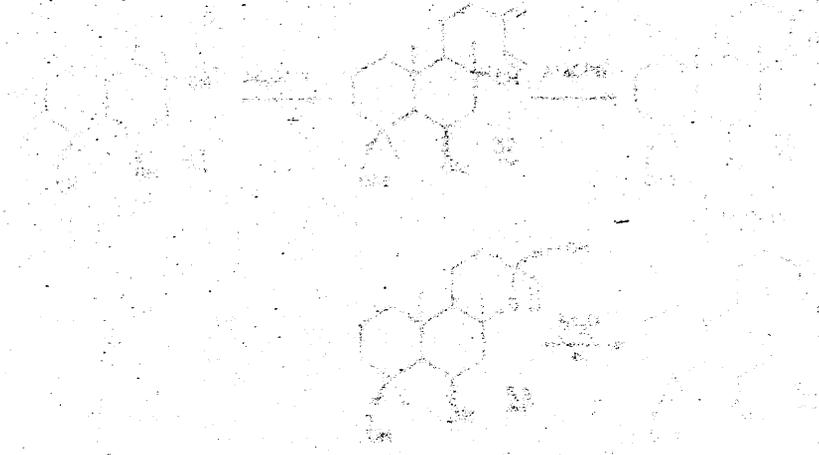
Al igual que con el producto 37, se realizó la correlación del producto 38 con el producto 33, obtenido de la Sideritis arborescens sp Paulii anteriormente comentada. La acetilación del producto 38 origina el mismo triacetato 35 obtenido por acetilación del producto natural 33.



El estudio de estas reacciones nos llevan a pensar que procesos análogos deben ocurrir en la planta ya que tanto los productos obtenidos en estas reacciones como los productos de partida utilizados coexisten en la misma planta.

The first reaction of the hydrolysis of the
 ester is the formation of the alcohol and the
 acid. The reaction is reversible and the
 equilibrium constant is given by the ratio of
 the concentrations of the products to the
 concentration of the reactants.

P A R T I E X P E R I M E N T A L



The results of these experiments show that
 the reaction is reversible and that the
 equilibrium constant is given by the ratio
 of the concentrations of the products to
 the concentration of the reactants.

P A R T E E X P E R I M E N T A L

1.- TECNICAS GENERALES UTILIZADAS

Los puntos de fusión microscópicos han sido determinados en un aparato tipo KOFLER , de la casa REICHERT y no están corregidos.

Las rotaciones específicas, $[\alpha]_D$, se nidieron a temperatura de laboratorio en un polarímetro automático Perkin-Elmer 141, en celula de 1 dm de longitud y en los disolventes y a las concentraciones que se indican en cada caso.

Los espectros de IR se han realizado entre cristales de NaCl ó en pastilla de KBr, según se indique, y en un Pye Unicam mod. SP-1000.

Los espectros de ^1H RMN se registraron en un espectrómetro Hitachi Perkin-Elmer R-208, de 60 MHz y en un espectrómetro Bruker WP80SY,

de 80 MHz, empleando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia interna.

Los espectros de ^{13}C RMN se han efectuado en un Bruker WP80SY a 20.13 MHz utilizando CDCl_3 como disolvente y TMS como referencia interna. Las asignaciones de los desplazamientos químicos de ^{13}C RMN se hicieron con la ayuda del espectro de DEPT (distortionless enhancement by polarization and transfer) usando un ángulo de "flip" de 135° .

Los espectros de masas se han registrado en un aparato Hewlett-Packard mod 5930 A, por inyección directa, a 70 eV, con registro óptico.

Los espectros de ultravioleta se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 124.

Los análisis elementales se hicieron en un aparato Carlo Erba mod 1106.

Las cromatografías en columna se han realizado con sílica gel como absorbente, mediante columnas clásicas de sílica gel Merck 7734 , ó bien con sílica gel Merck 7729, trabajando entre 1 y 1.2 atm. de presión. En ocasiones, este último sistema se ha empleado con gel de sílice 7729 conteniendo 10 % de NO_3Ag .

La cromatografía en capa fina se ha realizado con sílica gel Merck 7747, en capas de 0.25 mm de espesor. La visualización de productos se realizó con la mezcla usualmente denominada "oleum" ($\text{H}_2\text{O}/\text{SO}_4\text{H}_2/\text{AcOH}$, 32/8/160) y calefacción a 120 ° hasta aparición de manchas.

En todos los procedimientos cromatográficos se han empleado CHCl_3 , CH_2Cl_2 y acetona, sólo los o mezclados, como eluyentes. En la cromatografía en columna se utiliza un gradiente de polaridad creciente con mezclas de CH_2Cl_2 /acetona.

2.- FORMACION DE DERIVADOS

Acetilación en frío

100 mg de producto a acetilar se tratan con 2 ml de Ac_2O y 4 ml de piridina, a 0°C durante 2 horas. Al cabo de este tiempo se interrumpe la reacción, vertiendo sobre agua helada, extrayendo con CH_2Cl_2 y lavando con HCl acuoso y solución acuosa de CO_3HNa . La solución de CH_2Cl_2 se seca y se evapora a vacío.

Acetilación en caliente

100 mg de producto a acetilar se tratan con 2 ml de Ac_2O y 4 ml de piridina, manteniendo la mezcla durante 1 h a reflujo y sometida a agitación magnética. Al cabo de este tiempo se interrumpe la reacción, se vierte sobre agua helada, se extrae con CH_2Cl_2 , se lava con HCl acuoso y solución acuosa de CO_3HNa . La solución de CH_2Cl_2 se seca con MgSO_4 anhidro y se evapora a vacío.

Formación de acetónidos

100 mg de producto se disuelven en 10 ml de 2,2-dimetoxipropano y se añaden 5 mg de p-toluensulfonato de piridinio manteniendo la reacción durante 1 h a reflujo. pasado este tiempo se concentra la mezcla de reacción y se añaden 25 ml de H_2O y se extrae con CH_2Cl_2 . La solución de CH_2Cl_2 se seca con $MgSO_4$ anhidro y se evapora el disolvente a vacío.

Procedimiento de saponificación

El sustrato a saponificar se disuelve en potasa alcohólica (KOH (5%) en disolución hidrometanólica (70 %)), manteniendo la reacción a la temperatura que se indique en cada caso y controlando el tiempo de reacción por cromatografía en capa fina. Una vez finalizada la reacción, se diluye con agua y se neutraliza con HCl diluido hasta medio básico débil. Posteriormente se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con $MgSO_4$ anhidro y se concentra.

Reacción de epoxidación

En cada caso se indican las condiciones de reacción junto con las cantidades empleadas, el volumen de cloroformo, la temperatura y el tiempo de reacción (que se controla por cromatografía de capa fina). De una forma general se puede establecer que 100 mg de producto se disuelven en 10 ml de CHCl_3 , añadiendo 250 mg de ácido m-cloroperbenzoico (AMCPB) y manteniendo la reacción a 0°C ó a T° ambiente, según se indique, y controlando el tiempo de reacción por cromatografía en capa fina. Una vez dada por finalizada la reacción, se diluye con CHCl_3 (30 ml) y posteriormente se lava sucesivamente con SO_4Fe acuoso, CO_3HNa y H_2O . La fase clorofórmica se seca con MgSO_4 anhidro y se concentra a vacío.

Oxidación con el reactivo de Jones

(Curtis, 1953).

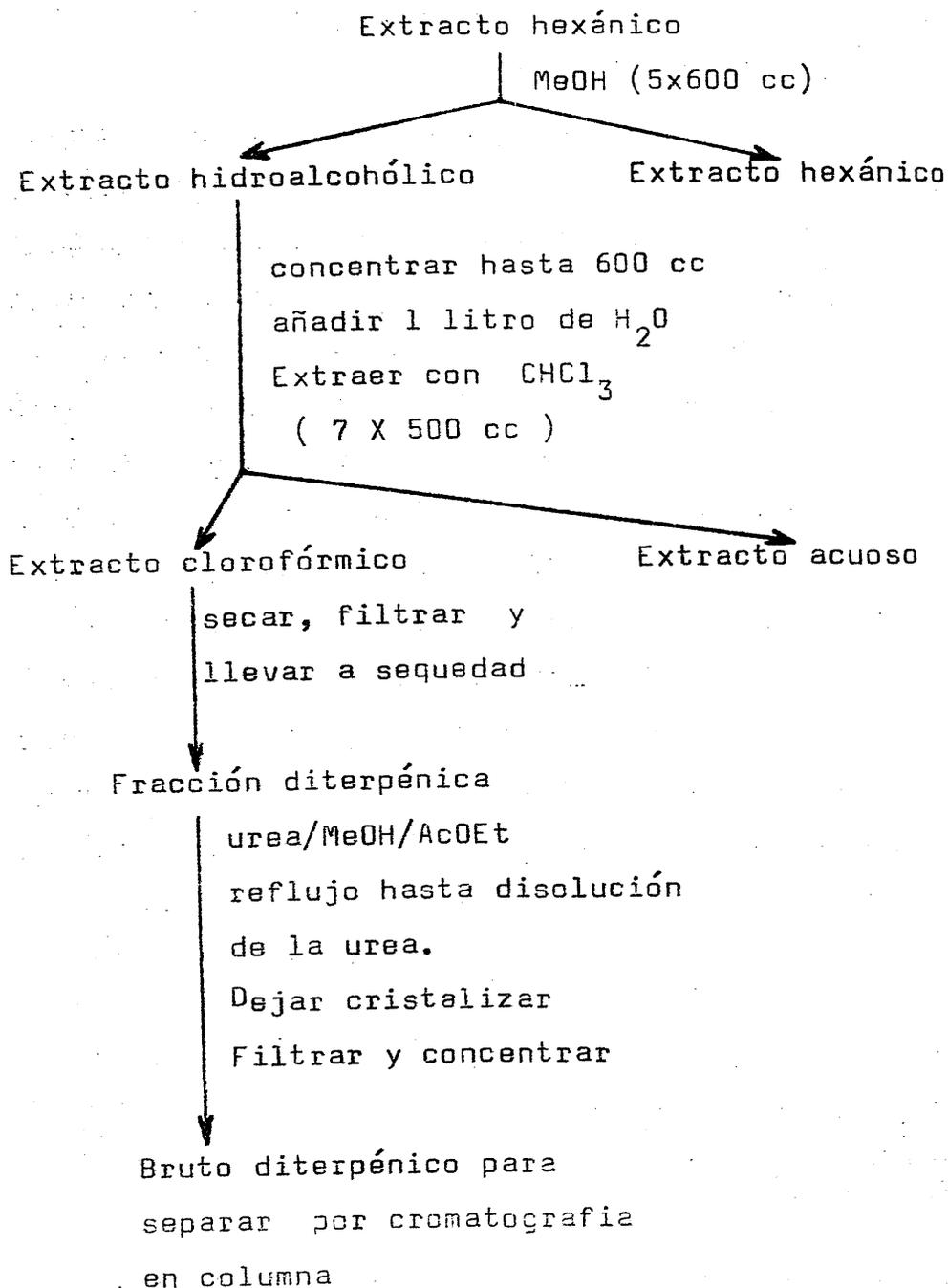
El producto a oxidar se disuelve en la mínima cantidad posible de acetona. En baño de hielo se van añadiendo poco a poco el reactivo de Jones hasta persistencia de color anaranjado, tras lo cual se añaden unas gotas de metanol, agua y se lava con una disolución de CO_3Na_2 y posteriormente con agua. Se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con SO_4Mg y se evapora el disolvente a vacío. El bruto obtenido se cromatografía en columna.

3.- EXTRACCION DEL MATERIAL VEGETAL Y
AISLAMIENTO DE LA FRACCION DITER-
PENICA.

Las plantas estudiadas han sido recolectadas en los meses de Mayo a Julio en estado de floración. Exicatas de las mismas se encuentran depositadas en el Herbario del Departamento de Botánica (Facultad de Farmacia) de la Universidad de Granada.

Las partes aereas de las plantas, una vez secadas al aire y finamente pulverizadas se extraen con n-hexano (4 litros) en un Soxhlet. El extracto se concentró hasta 1.5 litros y fué extraído repetidamente con metanol acuoso (90%). La fase hidroalcohólica se concentró hasta la tercera parte de su volumen y se diluyó con agua y se extrajo con cloroformo. La disolución cloroformica se secó con $MgSO_4$ anhidro, se filtró y se evaporó a vacío dando como resultado una masa siruposa que se sometió a un proceso de eliminación de ceras, mediante la formación de los com-

plejos de inclusión con urea (clatratos): La masa siruposa se disuelve en metanol/acetato de etilo y se añade urea manteniendo la proporción 100 g bruto / 1 g de urea/ 4 cc de MeOH/ / 2 cc de AcOEt. La mezcla se tiene a reflujo hasta la total disolución de la urea. Una vez conseguido esto, se deja enfriar y cristalizar. Posteriormente se filtran los clatratos y se elimina el disolvente, obteniendose una fracción formada mayoritariamente por compuestos diterpénicos, que se somete a separación por cromatografía en columna de gel de sílice trabajando a media presión y utilizando como eluyentes mezclas de polaridad creciente de CH_2Cl_2 / /acetona.



3.1.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS
ALMERIENSIS PAU.

Esta planta fué recogida en Alcolea (Almería) en el mes de de Mayo de 1981. De 1 Kg de partes aéreas procesadas se obtienen 28 g de bruto diterpénico del que tras repetidas cromatografías en columna se aislan tres productos mayoritarios: ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxi-kaur-16-eno (linearol, 1, 6 g), ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-kaur-16-eno (sidol, 2, 2.3 g) y ent-3 β ,7 α ,18-trihidroxi-kaur-16-eno (foliol, 3, 1.8 g).

ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxi-kaur-16-eno
(linearol, 1):

P.F. 216-8 °C

$[\alpha]_D = -66^\circ$ (c 1, EtOH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3450, 3080, 1730, 1660, 1270 y
890 cm^{-1} .

$^1\text{H RMN}$ (δ , 80 MHz): 4.80 (2H, sa, 2H-17);
4.02 (2H, S_{AB} colap., 2H-18); 3.4-3.7 (2H,
m, H-3 y H-7); 2.70 (1H, m, $J_{1/2} = 10$ Hz, H-
-13.); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.07 y 0.77 (3H

cada uno, s, C-Me).

EM, m/z, (%): 362 (M^+ , 10), 344 (21), 326 (60)
302 (15), 288 (80), 267 (100).

Análisis elemental: Encontrado: C, 72.47; H, 9.72. Calculado para $C_{22}H_{34}O_4$: C, 72.89; H, 9.45 % .

ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-kaur-16-eno
(sidol, 2):

P.F. 164-6 °C

$[\alpha]_D = -95^\circ$ (c 1, EtOH)

IR(ν_{\max}^{KBr}): 3380, 3080, 1725, 1660, 1255 y
885 cm^{-1} .

1H RMN (δ 60 MHz): 4.80 (2H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, 2H-17) y parcialmente superpuesto con él otro multiplete (1H, H-3); 3.62 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 3.35 y 3.00 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.10 y 0.70 (3H cada uno, s, C-Me).

Análisis elemental: Encontrado: C, 72.59; H, 9.63. Calculado para $C_{22}H_{34}O_4$: C, 72.89; H, 9.45 % .

ent-3 β ,7 α ,18-trihidroxikaur-16-eno(foliol, 3):

P.F. 198-200 °C

 $[\alpha]_D = -36^\circ$ (c 0.5, EtOH)IR(ν_{\max}^{KBr}): 3.300, 3080, 1655 y 890 cm^{-1} $^1\text{H RMN}$ (δ , 80 MHz): 4.80 (2H, m, $J_{1/2} = 6$ Hz, 2H-17); 3.8-3.2 (4H, H-3, H-7 y 2H-18); 1.07 y 0.75 (3H cada uno, s, C-Me).ent-3 β ,7 α ,18-triacetoxikaur-16-eno (4):

50 mg de los productos 1, 2 y 3 se disuelven (por separado) en 1 ml de Ac_2O y 2 ml de piridina, calentando a reflujo durante 1 h. En todos los casos se aísla el mismo producto: ent-3 β ,7 α ,18-triacetoxikaur-16-eno (4, 120 mg en total):

P.F. 127 °C

 $[\alpha]_D = -4^\circ$ (c 0.6, CHCl_3)IR(ν_{\max}^{KBr}): 1730, 1650, 1250 y 880 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.85-4.60 (4H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-3, H-7 y 2H-17); 3.39 y 3.47 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.00 (6H), 1.98 (3H) (s, grupos AcO-); 1.10 y 0.80 (3H cada uno, s, C-Me).

3.2.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS PUSILLA (Lange) Pau

Esta planta se recogió en Sorbas (Almería) en el mes de Mayo de 1980. Se procesaron 2.5 Kg de partes aéreas, obteniéndose 37 g de diterpenos de los que tras cromatografía en columna se aislan: linearol (1, 5 g), sidol (2, 6 g), ent-18-acetoxi- 3β , 7α -dihidroxi-kaur-15-eno (isolinearol, 5, 1.5 g), ent- 3β -acetoxi- 7α ,18-dihidroxi-kaur-15-eno (isosidol, 6, 1.8 g) y ent- 7α -acetoxi- 15β ,18-dihidroxi-kaur-16-eno (eubol, 8, 180 mg).

ent-18-acetoxi- 3β , 7α -dihidroxi-kaur-15-eno
(isolinearol, 5):

P.F. 186-7 °C

$[\alpha]_D = -13^\circ$ (c 0.3, EtOH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3400, 1720, 1250 y 820 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.50 (1H, m, $W_{1/2}=5$ Hz, H-15)
 4.00 (2H, Q_{AB} casi colap., 2H-18); 3.60 (1H,
 m, $W_{1/2}=6$ Hz, H-7); 3.50 (1H, m, H-3); 2.07
 (3H, s, AcO-); 1.70 (3H, d, $J=1.5$ Hz, 3H-17);
 1.07 y 0.75 (3H cada uno, s, C-Me).

ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-15-eno

(isosidol, 6):

P.F. 180-2 °C

$[\alpha]_D = -27^\circ$ (c 0.5, EtOH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3380, 1725, 1255 y 825 cm^{-1}

^1H RMN (δ 60 MHz): 5.70 (1H, sa, H-15);
 4.90 (1H, m, $W_{1/2}=7$ Hz, H-3); 3.65 (1H, m,
 $W_{1/2}=6$ Hz, H-7); 3.35 y 3.00 (2H, Q_{AB} , $J=12$
 Hz, 2H-18); 2.05 (3H, s, AcO-); 1.80 (3H, d ,
 $J=1.5$ Hz, 3H-17); 1.07 y 0.65 (3H cada uno ,
 s, C-Me).

ent-7 α -acetoxi-15 β ,18-dihidroxikaur-16-eno(eubol, 9):

P.F. 203-5 °C

 $[\alpha]_D = -37.6^\circ$ (c 1, EtOH)IR (ν_{\max}^{KBr}): 3450, 3050, 1720, 1650, 1260
y 900 cm^{-1} . $^1\text{H RMN}$ (δ 80 MHz): 5.22 y 5.07 (1H cada una, sa, 2H-17); 4.97 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-7); 4.03 (1H, sa, H-15); 3.35 y 3.00 (2H, Q_{AB} ; $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.80 (1H, m, $W_{1/2} = 10$ Hz, H-13); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.10 y 0.75 (3H cada uno, s, C-Me).

EM, m/z (%): 362 (M , 2), 360 (6), 345 (16), 302 (54), 285 (42), 271 (32).

ent-3 β ,7 α ,18-triacetoxikaur-15-eno (7):50 mg de los productos 5 y 6 se disuelven en 1 ml de Ac₂O y 2 ml de piridina y se mantienen las reacciones durante 1 h a reflujo, aislandose en cada caso el mismo triacetato: ent-3 β ,7 α ,18-triacetoxikaur-15-eno (7, 42 mg en total):

P.F. 134-5 °C

$[\alpha]_D = +46.2^\circ$ (c 0.8, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 1720, 1250 y 830 cm^{-1}

^1H RMN (δ 60 MHz): 5.25 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-15); entre 4.90 y 4.60 (2H, m, H-3 y H-7); 3.95 y 3.50 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.05, 2.03 y 2.00 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.70 (3H, sa, 3H-17); 1.10 y 0.80 (3H cada uno, s, C-Me).

3.3.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS PUSILLA (Lange) Pau var LITTORALIS FONT QUER

Esta planta se recogió en Dalías (Almería) en el mes de Junio de 1984. Se procesaron 2 Kg de partes aéreas, obteniéndose 42 g de bruto diterpénico que tras su purificación por cromatografía en columna se obtienen los siguientes productos mayoritarios: ent-14 β -acetoxi-18-hidroxibeyer-15-eno (tartesol, 9, 1 g), ent-7 α -acetoxi-18-hidroxikaur-15-eno (siderol, 10, 800 mg), ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibeyer-15-eno (7ace

tilpusillatriol, 11, 4.3 g), ent-14 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxibeyer-15-eno (14-acetilpusillatriol, 12, 2.6 g) y 1.2 g de productos polares de los que se acetilan 200 mg, obteniendose 40 mg del ent-7 α ,14 β ,18-triacetoxibeyer-15-eno (triacetilpusillatriol, 13) y 85 mg del ent-3 β ,7 α ,14 β ,18-tetracetoxibeyer-15-eno (tetraacetilpusillatetrol, 14).

ent-14 β -acetoxi-18-hidroxibeyer-15-eno
(tartesol, 9):

P.F. 189-191 °C

$[\alpha]_D = +18.3^\circ$ (c 0.7, CHCl₃)

IR($\mu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 3080, 1780, 1250 y 730 cm⁻¹

¹H RMN (δ 80 MHz): 5.70 y 5.45 (1H cada uno, Q_{AB}, J = 6 Hz, H-15 y H-16); 4.52 (1H, s, H-14); 3.40 y 3.10 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.02 (3H, s, AcO-); 0.97, 0.82 y 0.80 (3H cada uno, s, C-Me).

EM, m/z; (%): 346 (M⁺, 27), 315 (22), 304 (5), 286 (50), 271 (13), 255 (100), 243 (10), 227 (15).

Analisis elemental. Encontrado: C, 76.49; H, 9.95. Calculado para $C_{22}H_{34}O_3$: C, 76.26; H, 9.89 % .

ent-7 α -acetoxi-18-hidroxi-kaur-15-eno

(siderol, 10):

P.F. 150-2 °C

$[\alpha]_D = + 37^\circ$ (c 1, $CHCl_3$)

IR(ν_{max}^{KBr}): 3500, 3060, 1730, 1650, 1260 y 820 cm^{-1} .

1H RMN (δ 80 MHz): 5.25 (1H, m, $W_{1/2} = 5$ Hz, H-15); 4.69 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-7); 3.34 y 2.98 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.04 (3H, s, AcO-); 1.70 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, 3H-17); 1.07, y 0.70 (3H cada uno, s, C-Me).

Analisis elemental. Encontrado: C, 76.06; H , 10.25. Calculado para $C_{22}H_{34}O_3$: C, 76.26 ; H, 9.89 % .

ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxi-beyer-15-eno

(7-acetilpusillatriol, 11):

P.F. 210-12 °C

$[\alpha]_D = + 61^\circ$ (c 1, $CHCl_3$)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3400, 3080, 1720, 1655, 1250 y
740 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.53 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 5.10 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 3.35 y 3.05 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.24 (1H, s, H-14); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.07, 0.82 y 0.75 (3H cada uno, s, 3C-Me).

EM, m/z , (%): 362 (M^+ , 2), 346 (2), 344 (2), 331 (3), 315 (3), 302 (33), 284 (17), 273 (100).

Análisis elemental: Encontrado: C, 71.44; H, 9.54. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89; H, 9.45 %.

ent-14 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxibeyer-15-enc
(14-acetilpusillatriol, 12):

P.F. 157-9 ° C

$[\alpha]_{\text{D}} = +23.8$ (c 3.4, CFCl_3)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3400, 3080, 1720, 1655, 1250 y
740 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.52 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 4.65 (1H, s, H-14); 3.90 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 3.45 y 2.95 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.00, 0.80 y

0.72 (3H, s, 3C-Me).

EF, m/z, (%): 362 (M^+ , 2), 342 (2), 332 (15), 302 (4), 290 (5), 288 (3), 273 (9), 253 (100).

Analisis elemental. Encontrado: C, 72.52; H, 9.50. Calculado para $C_{22}H_{34}O_4$: C, 72.89; H, 9.45 %.

ent-7 α ,14 β ,18-triacetoxibeyer-15-eno (13) y
ent-3 β ,7 α ,14 β ,18-tetraacetoxibeyer-15-eno (14)

200 mg de productos polares se acetilan disolviendolos en 8 ml de piridina y 4 ml de Ac_2O , calentando a reflujo durante 1 h. Después de su purificación se obtienen 40 mg del ent-7 α ,14 β ,18-triacetoxibeyer-15-eno (13) y 85 mg del ent-3 β ,7 α ,14 β ,18-tetraacetoxibeyer-15-eno (14).

ent-7 α ,14 β ,18-triacetoxibeyer-15-eno
(triacetilpusillatriol, 13):

P.F. 206-8 °C

$[\alpha]_D^{20} = +52.6$ (c 0.71, $CHCl_3$)

IR (ν_{max}^{KBr}): 3045, 1745, 1255 y 745 cm^{-1} .

1H RMN (δ 80 MHz): 5.48 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 5.02 (1H, m, $\nu_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 4.65 (1H, sa, H-14); 3.62 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18);

1.98, 1.92 y 1.90 (3H cada uno, s, grupos AcO);
0.90 (3H) y 0.77 (6H)(s, 3C-Me).

EM, m/z, (%): 446 (M⁺, 7), 386 (10), 344(20),
326 (93), 315 (17), 284 (15), 267 (27), 253
(100).

Análisis elemental. Encontrado: C, 70.01. H,
8.78. Calculado para C₂₆H₃₈O₆: C, 69.93; H,
8.58 %.

ent-3 β , 7 α , 14 β , 18-tetraacetoxibeyer-15-eno
(tetraacetilpusillatetrol, 14):

P.F. 240-1 °C

[α]_D = +58.2 ° (c 0.52, CHCl₃)

IR(ν _{max}^{KBr}): 3080, 3060, 1745, 1620, 1250 y
740 cm⁻¹.

¹H RMN (δ 80 MHz): 5.50 (2H, Q_{AB} cclap., H-
15 y H-16); 5.07 (1H, m, J_{1/2} = 7 Hz; H-7);
4.67 (1H, sa, H-14) y superpuesta con esta se
ñal aparece una señal ancha (H-3); 3.90 y 3.50
(2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.00 (3H), 1.98
(3H) y 1.92 (6H)(s, grupos AcO-); 0.92 (3H) y
0.80 (6H)(s, 3 C-Me).

Acetilación de los productos 11 y 12

Se toman 50 mg de los productos 11 y 12 y se disuelven en 1 ml de Ac_2O y 2 ml de piridina, manteniendo la reacción a reflujo durante 1 hora. Después de su purificación, en ambos casos, se obtiene el mismo triacetato 13 (85 mg en total).

3.4.- ESTUDIO DE LA SIDERITIS ARBORESCENS
SALZM. EX BENTHAM SUBSP. PAULII
(PAU) P. W. BALL EX HEYWOOD

Esta planta se recogió en el mes de Julio de 1983 cerca de Aracena y Jabugillo (Huelva). Se procesaron 2 Kg de partes aéreas, rindiendo 26 gramos de bruto diterpénico. Este bruto se disolvió en Cl_2CH_2 y se lavó con una disolución de NaOH diluida (1%). La fase acuosa se aciduló con ClH diluido hasta medio ácido débil y se extrajo con Cl_2CH_2 . Esta disolución se secó y se concentró, aislándose el ácido ent-8 -hidroxilabda-13(16), ,14-dien-18-oico (17, 800 mg):

Sirupo

$[\alpha]_D = -25^\circ$ (c 1, EtOH)

IR(ν_{\max}^{film}): 3000-2500, 1720, 1610, 1465,
1390, 1250, 1160, 1120, 1090,
1080, 970, 935 y 905 cm^{-1} .

UV($\lambda_{\max}^{\text{hexano}}$) (ϵ): 227 nm (12000)

^1H RMN (δ 80 MHz): 6.37 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 5.70 (señal ancha cambiabile con D_2O); entre 4.90 y 5.50 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16); 1.15 (6H), 0.85 (3H) (s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

^{13}C RMN : Ver tabla I .

La fase de Cl_2CH_2 que quedó una vez eliminado el ácido 17 se cromatografió en columna, aislándose los siguientes productos: ent-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dien-18-al (18, 80 mg); ent-3 β -hidroxi-13-epi-óxido de manoil (19, 150 mg); ent-7 α -acetoxi-18-hidroxi-15-eno (10, 120 mg); ent-8 α ,18-dihidroxi-13(16),14-dieno (20, 5 g); ent-6 α ,8 α -dihidroxi-13(16),

,14-dieno (21, 40 mg); ent-16,18-dihidroxi-13-epi-óxido de manoilo (24, 50 mg); ent-16,18-dihidroxi-óxido de manoilo (28, 25 mg); ent-8 α ,18-dihidroxi-15,16-peroxilabda-13-eno (30, 20 mg); ent-6 α ,8 α ,18-trihidroxiabda-13(16),14-dieno (31, 3 g) y ent-6 α ,16,18-trihidroxi-13-epi-óxido de manoilo (33, 40 mg).

ent-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dien-18-al
(6-desoxiandalusal, 18):

Sirupo

$[\alpha]_D = -17^\circ$ (c 0.1, CHCl₃)

IR(ν_{\max}^{film}): 3440, 1720, 1605, 1460, 1390,
1250, 1160, 1120, 1090, 1080,
1035, 940 y 912. cm⁻¹

UV ($\lambda_{\max}^{\text{hexano}}$) (ϵ): 226 nm (10800)

¹H RMN (δ 80 MHz): 9.20 (1H, s, H-18); 6.38 (1H, parte X de un sistema A₂B₂X, J_{AX} + J_{BX} = 29 Hz, H-14); 5.42-4.95 (4H, parte A₂B₂ de un sistema A₂B₂X, 2H-15 y 2H-16); 1.15, 1.02 y 0.87 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

¹³C. RMN: Ver tabla I .

ent-3 β -hidroxi-13-epi-óxido de manoil(Ribenol, 19):

P.F. 83-4 °C

 $[\alpha]_D = -33.4^\circ$ (c 1.04, CHCl₃)IR (ν_{\max}^{KBr}): 3450, 3080, 1830, 1645, 1390,
1100, 990, 910 y 890 cm⁻¹.¹H RMN (δ 80 MHz): 5.95 (1H, parte X de un sistema ABX, J_{AX} + J_{BX} = 29 Hz, H-14); 5.00-4.70 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 3.13 (1H, m, W_{1/2} = 18 Hz, H-3); 1.15, 1.05, 0.90 (3H cada uno) y 0.57 (6H) (grupos metilo en C-16, C-17, C-18, C-19 y C-20).ent-7 α -acetoxi-18-hidroxi-15-eno(Siderol, 10):

Ver datos producto 10

ent-8 α ,18-dihidroxi-13(15),14-dieno(6-desoxiandalusol, 20):

P.F. 66-8 °C

 $[\alpha]_D = -17^\circ$ (c 1, CHCl₃)IR (ν_{\max}^{KBr}): 3400, 3100, 1600, 1450, 1390,
1260, 1160, 1110, 1060, 910 y
890 cm⁻¹.

UV ($\lambda_{\max}^{\text{hexano}}$) (ϵ) : 231 nm (12000)

^1H RMN (δ 80 MHz) : 6.37 (1H, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} - J_{BX} = 28$ Hz, H-14); 5.45-5.00 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16); 3.44 y 3.11 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.14, 0.82 y 0.72 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla I .

Analisis elemental. Encontrado: C, 78.13; H, 11.32. Calculado para $C_{20}H_{34}O_2$: C, 78.38; H, 11.18 % .

ent-6 α ,8 α -dihidroxiabda-13(16),14-dieno
(18-desoxiandelusol, 21):

Sirupo

$[\alpha]_D = -32.7^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR (ν_{\max}^{film}) : 3500, 3080, 1630, 1600, 1040,
995, 930 y 900 cm^{-1} .

UV ($\lambda_{\max}^{\text{hexano}}$) (ϵ) : 226 nm (10500)

^1H RMN (δ 80 MHz) : 6.37 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 28$ Hz, H-14) ;

4.85-5.45 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16); 3.86 (1H, ddd, $J_1=J_2=10$, $J_3=4$ Hz, H-6); 1.21, 1.15, 0.99 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-18, C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla I .

ent-16,18-dihidroxi-13-epi-óxido de manoilol
(13-epijabuodiol, 24):

P.F. 194-6 °C

$[\alpha]_D = -44.05$ (c 1, EtOH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3500, 3080, 1640, 1450, 1095,
1075, 1040, 1020, 990, 955,
930 y 915 cm^{-1} .

1H RMN (δ 80 MHz): 5.94 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 4.90-5.30 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); centrados a 3.44, 3.32, 3.09 y 2.95 (4H, d, $J=12$ Hz, dos sistemas AB, 2H-16 y 2H-18); 1.25 (3H, s, 3H-17); 0.75 y 0.72 (3H, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla II .

Análisis elemental. Encontrado: C, 74.35; H, 10.72. Calculado para $C_{20}H_{34}O_3$: C, 74.49; H, 10.63 % .

ent-16,18-dihidroxi-érido de manoilol

(Jabugodiol, 28):

Sirupo

$[\alpha]_D = -25.3^\circ$ (c 1, $CHCl_3$)

IR(ν_{\max}^{film}): 3450, 3080, 1450, 1380, 1095, 1075, 1040, 990 y 930 cm^{-1} .

1H RMN (δ 80 MHz): 5.85 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 5.0-5.40 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 3.45 y 3.10 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.30 (2H, s, 2H-16); 1.29 (3H, s, 3H-17); 0.85 y 0.76 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla II .

ent-8 α ,18-dihidroxi-15,16-peroxilabda-13-eno

(30):

Sirupo

 $[\alpha]_D = -13.70^\circ$ (c 0.33, CHCl₃)IR (ν_{\max}^{film}): 3450, 3070, 1660, 1450, 1150,
1090, 1070, 1040, 1020, 990,
970, 945, 910 y 850 cm⁻¹.¹H RMN (δ 80 MHz): 5.70 (1H, m, $W_{1/2} =$
7.5 Hz, H-14); 4.52 (4H, m, $W_{1/2} =$ 10 Hz, 2H-15
y 2H-16); 3.45 y 3.10 (2H, Q_{A β} , J = 12 Hz, 2H-
-18); 1.16, 0.85 y 0.75 (3H cada uno, s, gru-
pos metilo en C-17, C-19 y C-20).¹³C RMN: Ver tabla I .ent-6 α ,8 α ,18-trihidroxiabda-13(16),14-dieno(andalusol, 31):

P.F. 170-2 ° C

 $[\alpha]_D = -35^\circ$ (c 0.5, EtOH)IR (ν_{\max}^{KBr}): 3500, 3090, 1640, 1600, 920 y
895 cm⁻¹.UV ($\lambda_{\max}^{\text{hexano}}$) (ϵ): 225 nm (11000).

^1H RMN (δ 80 MHz): 6.37 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 28$ Hz, H-14); 4.95-5.40 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16); 3.86 (1H, ddd, $J_1=J_2=10$, $J_3=4$ Hz, H-6); 3.60 y 3.10 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); 1.20 (3H, s, 3H-17); 0.90 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).
 Analisis elemental: Encontrado: C, 74.27 H, 10.46. Calculado para $C_{20}H_{34}O_3$: C 74.49; H, 10.63%.

ent-6 α ,16,18-trihidroxi-13-epi-óxido de manoi-
lo (13-epijabugetriol, 33):

P.F. 227-228 °C

$[\alpha]_D = -51.34^\circ$ (c 0.5, EtOH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 3080, 1640, 1095, 1040,
 1020, 990 y 930 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.92 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 4.90-5.25 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 3.83 (1H, ddd, $J_1=J_2=10$, $J_3=4$ Hz, H-6); 3.56 y 2.94 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-16); 3.27 y 3.08

(2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.30 (3H, s, 3H-17)· 0.90 y 0.79 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla III .

Análisis elemental. Encontrado: C, 70.85; H, 10.10. Calculado para $C_{20}H_{34}O_4$: C, 70.97; H, 10.12 % .

FORMACION DE DERIVADOS

Oxidación de los productos 18 y 20 .-

La oxidación con el reactivo de Jones de los productos 18 (20 mg) y 20 (50 mg) conduce al mismo producto 17 en ambos casos

Acetilación del producto 21.-

15 mg del producto 21 se acetilan a temperatura ambiente con Ac_2O y piridina (0.5 ml y 1 ml respectivamente). Después de su purificación en cromatografía en columna se aislan 13 mg del ent-6 α -acetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno (22):

Sirupo

$[\alpha]_D = -47^\circ$ (c 0.25, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 3080, 1740, 1630, 1595,
1260, 1035, 990, 960, 925, 900
y 890 cm^{-1}

UV ($\lambda_{\text{max}}^{\text{hexano}}$) (ϵ): 226 (11000).

^1H RMN (δ 80 MHz): 6.37 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 28$ Hz, H-14); 4.85-5.54 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16) 5.07 (1H, ddd, $J_1 = J_2 = 10$ Hz, $J_3 = 4$ Hz, H-6); 2.05 (3H, s, grupo AcO -); 1.26 (3H, s, 3H-17); 1.02, 0.90 y 0.87 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-18, C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla I.

Acetilación del producto 24.-

25 mg del producto 24 se disuelven en 2 ml de piridina y 1 ml de Ac_2O y se mantiene la reacción durante 12 horas a temperatura ambiente. Después de cromatografía en columna se aislan 24 mg del ent-16,18-diacetoxi-13-epi-óxido de manoilo (27):

Sirupo

$[\alpha]_D = -48.4^\circ$ (c. 1, CHCl_3)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3100, 1740, 1650, 1380, 1250
1050, 990, 910 y 850 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.95 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{\text{AX}} + J_{\text{BX}} = 29 \text{ Hz}$, H-14); 4.90 - 5.25 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18), 3.82 (2H, Q_{AB} colap., 2H-16); 2.08 y 2.06 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.25 (3H, s, 3H-17); 0.82 y 0.78 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla II .

Acetilación del producto 28.-

7 mg de jabugodiol (28) se disuelven en 0.5 ml de Ac_2O y 1 ml de piridina y se mantiene la reacción durante 12 h a temperatura ambiente. Después de su cromatografía en columna se obtienen 5 mg del ent-16,18-diacetoxi-óxido de manoilo ((29):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -34.66 \text{ (c } 0.33, \text{ CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3080, 1745, 1350, 1250, 1080,
1050, 1020, 990, 970, 950, 920
y 850 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.85 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{\text{AX}} + J_{\text{BX}} = 29$ Hz, H-14); 5.00-5.45 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 3.93 y 3.65 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.95 (2H, Q_{AB} colap., 2H-16); 2.06 (6H, s, grupos AcO-); 1.27 (3H, s, 3H-17); 0.83 (6H, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

Acetilación del producto 31.-

50 mg de andalusol (31) se acetilan con Ac_2O /piridina (1ml/2ml) durante 12 h a temperatura ambiente. Después de su purificación se aislan 35 mg del ent-6 α ,18-diacetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno (32):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -42.59 \text{ (c } 1, \text{ CHCl}_3\text{)}$$

UV ($\lambda_{\text{max}}^{\text{hexano}}$) (ϵ): 224 (11000)

^1H RMN (δ 80 MHz): 6.35 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 4.80-5.40 (5H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X y señal del protón geminal a acetato en C-6, 2H-15, 2H-16 y H-6); 4.05 y 3.60 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.06 y 2.00 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.25 (3H, s, 3H-17); 0.90 y 0.83 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla V .

Acetilación del producto 33.-

10 mg de epi-jabugotriol (33) se acetilan con Ac_2O /Piridina (1 ml / 2 ml) durante 12 h a temperatura ambiente. Después de cromatografía en columna se aislan 8 mg del ent-6 α ,16,18-triacetoxi-13-epi-óxido de mancoilo (35):

Sirupo

$[\alpha]_D = -72.6^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3090, 1745, 1640, 1380, 1250, 1080, 1050, 1020, 995, 965, 950, 915 y 850 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.93 (1H, dd, parte X de un sistema ABX , $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 4.90

-5.24 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15);
 5.05 (1H, ddd, $J_1=J_2=10$, $J_3=4$ Hz, H-6); 4.05
 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); 3.83 (2H,
 Q_{AB} colap., 2H-16); 2.06, 2.02 y 1.97 (3H cada
 uno, s, grupos AcO-); 1.32 (3H, s, 3H-17);
 0.84 (6H, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

Acetonación del producto 33.-

15 mg de epi-jabugotriol se disuelven en 10 ml
 de 2,2-dimetoxipropano y 5 mg de p-toluensulfona-
 to de piridinio. La reacción se mantiene a refluj-
 o durante 5 horas, aislándose 14 mg del ent-6 α ,
 18-isopropilidendioxi-16-hidroxi-13-epi-óxido de
 manoilo (34):

P.F. 128-130 °C

$[\alpha]_D = -10.32$ (c 1, $CHCl_3$)

IR (ν_{max}^{KBr}): 3450, 3080, 1640, 1450, 1150
 1050, 1020, 990, 960, 950, 910
 y 850 cm^{-1} .

1H RMN (δ 80 MHz): 5.92 (1H, dd, parte X de
 un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 4.95-
 5.20 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15);
 3.82 (1H, ddd, $J_1=J_2=10$, $J_3=4$ Hz, H-6); 3.60

y 2.81 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-16); 3.32 y 2.95 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.35 (3H, s, 3H-17); 1.27 y 1.25 (3H cada uno, s, grupo isopropilidendioxi); 1.02 y 0.75 (3H cada uno, s, grupos metilo C-19 y C-20).

Analisis elemental. Encontrado: C, 72.95; H, 10.23. Calculado para $C_{23}H_{38}O_4$: C, 72.98; H, 10.12 % .

5.- REACCIONES BIOMIMETICAS SOBRE SISTEMAS ent-LAEDA-13(16),14 -DIENICOS

5.1.- OBTENCION DE LOS PRODUCTOS DE PARTIDA.

La materia prima utilizada en estas experiencias se aisló de la Sideritis arborescens subsp paulii anteriormente comentada (apartado 4) y se tratan del 6-desoxiandalusol (20) y el andalusol (31).

Acetilación del producto 20.-

1.5 g de 6-desoxiandalusol (20) se disuelven en 25 ml de piridina y se añaden 20 ml de Ac_2O , manteniendo la reacción a temperatura ambiente durante 12 h, aislándose 1 g del ent-18-acetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno (36):

Sirupo

$[\alpha]_D = -15.3^\circ$ (c 0.1, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3500, 3100, 1740, 1600, 1240, 910 y 890 cm^{-1}

UV ($\lambda_{\text{max}}^{\text{hexano}}$): 225 nm (11000)

^1H RMN (δ 80 MHz): 6.44 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 28$ Hz, H-14); 5.50-5.00 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16); 3.99 y 3.70 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.10 (3H, s, AcO); 1.18 (3H) y 0.85 (6H) (s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla IV .

Acetilación del producto 31.-

1.5 g de andalusol se acetilan con piridina/Ac₂O (25: 20 ml) a temperatura ambiente durante 12 h. Después de CC se aislan 1.3 g del ent-6 α ,18-diacetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno (32):

Sirupo

$$[\alpha]_D = - 42.5^\circ \quad (c \ 1, \text{CHCl}_3)$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3500, 3100, 1730, 1610, 1250, 1160, 1060, 940 y 890 cm^{-1}

UV ($\lambda_{\text{max}}^{\text{hexano}}$) (ϵ): 224 (11000)

¹H RMN (δ 80 MHz): 6.35 (1H, dd, parte X de un sistema A₂B₂X, J_{AX} + J_{BX} = 29 Hz, H-14); 4.80-5.40 (5H, parte A₂B₂ de un sistema A₂B₂X y señal del protón geminal a acetato en C-6, 2H-15, 2H-16 y H-6); 4.05 y 3.60 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.06 y 2.00 (3H cada uno, s, grupos AcO); 1.25 (3H, s, 3H-17); 0.90 y 0.83 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

¹³C RMN: Ver tabla V .

5.2.- CICLACION DEL PRODUCTO 36.

1 g del producto 36 se disuelven en 30 ml de cloroformo y se añaden 2.5 g de ácido m-cloroperbenzoico (AMCPB), manteniendo la reacción durante 48 h a 0 °C. Después de cromatografía en columna se aislan 150 mg del ent-18-acetoxi-16-hidroxi-13-epi-óxido de manoilo (37):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -34.16^\circ \text{ (c } 2, \text{ CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 3090, 1740, 1450 1250, 990
y 940 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.95 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 4.90 -5.25 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.32 y 2.92 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-16); 2.07 (3H, s, AcO); 1.25 (3H, s, 3H-17); 0.80 y 0.77 (3H, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla IV .

5.3.- CICLACION DEL PRODUCTO 32 .

1.5 g del producto 32 se disuelven en 40 ml de cloroformo y se añaden 2.5 g de AMCPB manteniendo la reacción durante 48 h a 0 °C . Después de CC se obtienen 180 mg del ent-6 α ,18-diacetoxi-16-hidroxi-13-epi-óxido de manoilo (38) y 5 mg del ent-6 α ,18-diacetoxi-16-hidroxi-óxido de manoilo (39) .

Producto 38:

Sirupo

$$[\alpha]_D = -59.54 \text{ }^\circ \text{ (c 2, CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 3090, 1745, 1640, 1380, 1260, 960, 920 y 550 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$ (δ 80 MHz): 5.93 (1H, dd, Parte X de un sistema ABX, $J_{\text{AX}} + J_{\text{BX}} = 29$ Hz, H-14); 4.90-5.25 (2H, Parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 5.05 (1H, ddd, $J_1 = J_2 = 10$, $J_3 = 4$ Hz, H-6); 4.05 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.32 y 2.98 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-16); 2.08 y 2.02 (3H cada uno, s, 2 AcO); 1.35 (3H, s, 3H-17) y 0.85 (6H, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

$^{13}\text{C RMN}$: Ver tabla V .

Con objeto de estudiar mejor esta reacción, se procedió a la obtención de más cantidad del producto 32. Para ello se procesaron 13 Kg de parte aéreas (previamente secadas y pulverizadas) de la Sideritis Foetens, recogida en el mes de septiembre en Alcolea (Almería). De esta planta se aislaron 6 g de andalusol y 30 g de una fracción que fué acetilada a temperatura ambiente en piridina/ Ac_2O (70:40 ml) durante 12 h. Trás CC se aislaron 19 g del producto 32. Con este producto se realizaron una serie de pruebas con objeto de buscar cuales eran las mejores condiciones para la ciclación del producto 32. Estas pruebas se realizaron con 500 mg de producto disueltos en 15 ml de cloroformo a 0 °C:

Cantidad de AMCPB (mg)	tiempo (h)	pp recuperado (mg)	productos reacción	% conversión
1000	48	-	170	34
500	12	84	56	14
215	48	170	140	28
250	24	130	260	52
200	24	112	290	58

A la vista de estos resultados se observa que el mayor porcentaje de conversión se obtiene en disoluciones más diluidas en AMCPB a las 24 h de reacción. Así, 5 g del producto 32 se disuelven en 100 ml de cloroformo y se añaden 2 g de AMCPB, manteniendo la reacción durante 24 h. Al cabo de este tiempo y tras CC, se aislan 1 g del producto de partida 32, 1250 mg del producto 38, 600 mg del producto 39 y 1240 mg de una mezcla compleja de productos.

Producto 39:

Sirupo

$$[\alpha]_D = -60.9^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 1740, 1240, 980, 960, 920
y 860 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$ (δ 80 MHz): 5.32 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 5.37-4.85 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 4.02 y 3.67 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.25 (2H, Q_{AB} colap., 2H-16); 2.05 y 2.00 (3H, s, 2 AcO); 1.37 (3H, s, 3H-17); 0.90 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

$^{13}\text{C RMN}$: Ver tabla V .

5.4.- CORRELACION QUIMICA DE LOS PRODUCTOS 37 Y 38 CON LOS AISLADOS DE LA SIDERITIS ARBORESCENS SUBSP. PAULII

Acetilación del producto 37.-

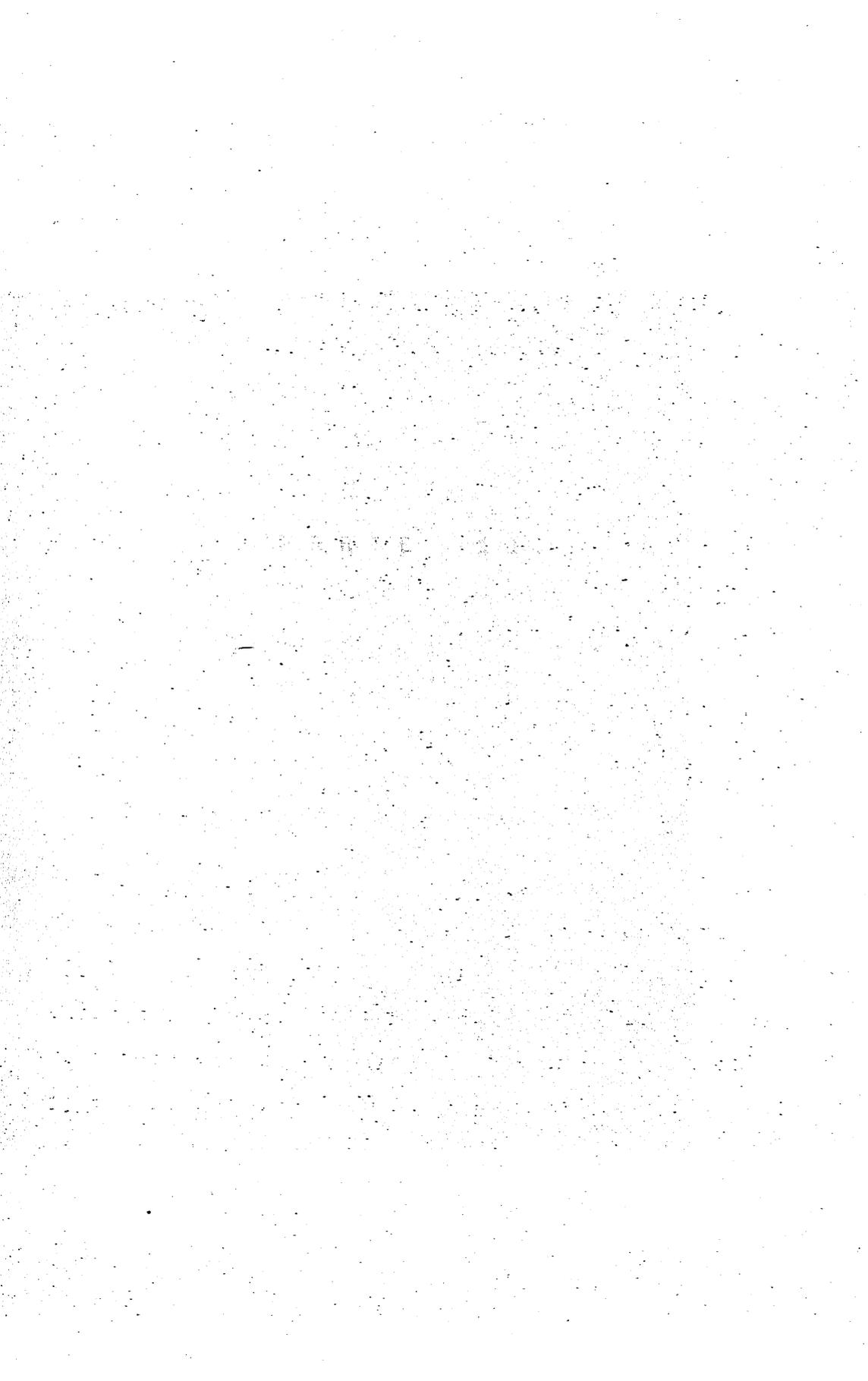
30 mg del producto 37 se acetilan con 1 ml de piridina y 0.5 ml de Ac_2O durante 12 h a temperatura ambiente. Trás CC se obtienen 23 mg de un producto que posee idénticas propiedades físicas y espectroscópicas que el producto 27.

Saponificación del producto 37.-

25 mg del producto 37 se saponifican con potasa alcohólica al 5 % (10 ml) durante 12 h a temperatura ambiente, obteniéndose 20 mg de un producto cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las del producto 24 .

Acetilación del producto 38.-

50 mg del producto 38 se disuelven en 2 ml de piridina y 1 ml de Ac_2O , manteniendo la reacción durante 12 h a temperatura ambiente. Después de CC se aislan 38 mg de un producto cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las del producto 35.



P A R T E I I

PARTE TEORICA

ACIADOT EFR

I I P A R T E

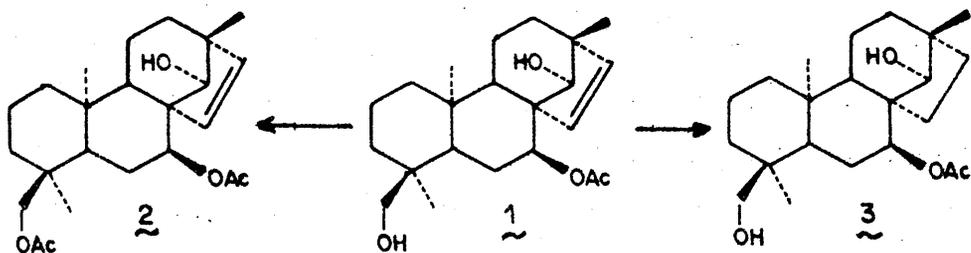
BIOTRANSFORMACION DE TERPENOIDES

En esta parte de la presente Memoria se incluyen una serie de biotransformaciones de algunos diterpenos tetracíclicos, obtenidos a partir de otros aislados de Sideritis andaluzas estudiadas por nosotros. Así, se describen las biotransformaciones de ent-beyerenos, ent-kaurenonas y ent-labdadienos.

También se ha iniciado el estudio de la biotransformación de sesquiterpenos. En este caso se han realizado las biotransformaciones de lactonas sesquiterpénicas con varios microorganismos.

1.- BIOTRANSFORMACION DE ent-BEYERENOS
Y ent-BEYERANOS

Con objeto de estudiar la acción del Rhizopus nigricans y del Aspergillus ochraceous sobre sistemas ent-beyeránicos, se han realizado una serie de incubaciones con sustratos obtenidos a partir del ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxi-beyer-15-eno (1), producto mayoritario de la Sideritis pusilla sp. flavovirens (García-Grana dos, 1984-2). La acetilación controlada de este producto conduce al ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyer-15-eno (2) y su hidrogenación origina el ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibeyera no (3), que son los sustratos utilizados en estas experiencias.



Cuando los sustratos (2) y (3) se incuban con Rhizopus nigricans, sólo se observa la transformación del sustrato (2), mientras que el sustrato (3) se recupera inalterado.

La incubación del sustrato (2) con Aspergillus ochraceus no origina ningún producto de transformación después de 96 horas.

TRANSFORMACION DE ent-7 α ,18 -DIACETOXI-
-14 β -HIDROXIBEYER-15-ENO POR RHIZOPUS
NIGRICANS

El sustrato (2) se incubaba con Rhizopus nigricans durante 30 horas. Al cabo de este tiempo se observa por cromatografía en capa fina que todo el sustrato ha sido metabolizado y la mezcla de productos obtenidos en esta incubación es separada por cromatografía en columna.

El principal metabolito (4) aislado en esta incubación es más apolar que el producto de partida (2). Su análisis elemental está de acuerdo con una fórmula molecular $C_{24}H_{36}O_6$. Tanto en sus espectros de IR como en 1H RMN puede apreciarse la ausencia del doble enlace entre los carbonos 15 y 16 y la presencia de un grupo epóxi en su lugar.

El estudio de su espectro de ^1H RMN revela que se mantienen las señales de los protones geminales a acetato a δ 5.42 (m, $W_{1/2} = 9$ Hz, H-7) y 3.75 (Q_{AB} colap., 2H-18), junto con la desaparición de la señal debida a los protones vinílicos del sustrato (2) (señal a δ 5.5, Q_{AB} colap., H-15 y H-16) y la aparición de dos señales a δ 3.66 y 3.33 debidas a los protones geminales al grupo epoxi sobre C-15 y C-16. El análisis de estas señales permite asignar una configuración ent-15 α ,16 α para el grupo epoxi ya que además de la constante de acoplamiento ve cinal de 3 Hz, puede apreciarse una constante de acoplamiento en W de 1.5 Hz para uno de los protones y de 2 Hz para el otro. La existencia de esta constante de acoplamiento entre H-14 con H-15 y H-16 sólo es posible para una disposición ent- β de estos hidrógenos.

El estudio del espectro de ^{13}C RMN del me tabolito 4 permite confirmar esta configuración ent- α para el grupo epoxi. Los efectos α , de-

TABLA 1

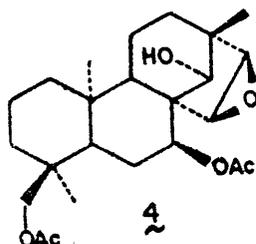
Desplazamientos químicos de ^{13}C RMN de los productos 2, 4, 5 y 6

Carbono	<u>2</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>
1	38.25	38.55	37.08	37.21
2	17.64	17.68	25.88	25.80
3	35.47	35.41	71.80	71.50
4	36.04	36.11	42.08	42.11
5	41.55	41.73	39.83	39.90
6	24.74	24.80	24.32	24.39
7	71.19	69.00	71.39	69.09
8	57.51	51.80	57.52	51.78
9	48.02	51.66	48.03	51.60
10	37.12	37.42	37.08	37.37
11	19.17	18.58	19.29	18.63
12	32.12	34.17	32.19	34.13
13	49.04	43.63	49.10	43.68
14	89.82	82.67	89.85	82.59
15	130.54	56.72	130.34	56.55
16	135.60	61.72	135.88	61.68
17	19.17	16.88	19.21	16.82
18	72.39	72.21	66.14	65.88
19	17.64	17.68	12.59	12.05
20	15.31	15.64	15.58	15.83
$\underline{\text{CH}}_3\text{COO}$	21.27	21.31	21.28	21.25
$\underline{\text{CH}}_3$	20.99	21.00	21.00	20.96
CH_3COO	170.87	170.82	171.65	171.55
CH_3	170.30	169.98	170.31	169.92

ducidos por comparación de los desplazamientos químicos de los carbonos 15 y 16 de los productos 2 y 4 son consistentes con una 15,16-epoxidación. Los efectos observados sobre los carbonos 8 y 13 son de la misma magnitud. Los efectos γ observados en C-7 y C-17 son indicativos de la existencia de un grupo ent-15 α ,16 α -epoxi. El efecto γ sobre C-14 es bastante apreciable. Los desplazamientos químicos observados para C-9, C-11 y C-12 están de acuerdo con los observados para el ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyerano (producto 17, parte III de esta Memoria), que posee carbonos tetrahédricos en C-15 y C-16. Por otro lado, el desplazamiento químico para C-20 es similar en el sustrato 2 y en metabolito 4, lo que indica que la configuración para el grupo epoxi en el metabolito 4 es la ya propuesta anteriormente.

La estructura del metabolito 4 también se ha confirmado por epoxidación del sustrato 2 con ácido *m*-cloroperbenzoico (AMCPB). Se ha demostrado que la epoxidación de este tipo de compuestos con AMCPB tiene lugar por la cara ent- α (G. Que

sada, 1974). Puesto que el producto aislado de la epoxidación de 2 resulta ser idéntico al metabolito 4, se puede asegurar que la estructura de este metabolito es de ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano.

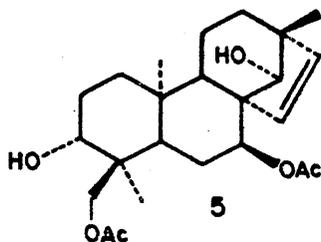


Otro de los metabolitos (5) aislado en esta incubación presenta una posible fórmula molecular $C_{24}H_{36}O_6$ (análisis elemental). En su espectro de IR pueden observarse bandas de hidroxilo, acetoxilo y doble enlace. En su espectro de 1H RMN puede apreciarse que se trata de un compuesto diacetilado (δ 2.12 y 2.10, s, 3H cada uno), con protones geminales a acetato (δ 5.18 (H-7) y 4.33 y 3.50 (Q_{AB} , d, $J=12$ Hz, 2H-18)). Observándose además, la presencia de dos protones vinílicos a δ 5.57 (Q_{AB} colap., H-15 y H-16) y dos señales debidas a

protones geminales a hidroxilo, una de ellas atribuible al protón sobre C-14 (δ 3.26) y otra, parcialmente solapada con ésta, centrada a 3.33 ppm. La comparación del espectro del metabolito 5 con el del ent-7 α ,18-diacetoxi-3 β ,14 β -dihidroxibeyer-15-eno, producto minoritario aislado de la Sideritis pusilla sp. flavovirens (García-Granados, 1984-2), muestra la concordancia existente entre ambos, debiéndose, por tanto, la señal ancha centrada a 3.33 ppm a un protón axial geminal a hidroxilo sobre C-3 .

El estudio del espectro de ^{13}C RMN del metabolito 5 comparado con el del sustrato 2 confirma que la nueva hidroxilación sobre C-3 posee una configuración ent- β ya que el efecto α está de acuerdo con una disposición ecuatorial del grupo hidroxilo (Chalmers, 1977), existiendo valores moderados de los efectos γ sobre C-1 y C-5 y efectos γ -gauche sobre C-18 y C-19 que confirman esta disposición.

En base a estos resultados, puede asignarse al metabolito 5 la estructura de ent-7 α , 18-diacetoxi-3 β ,14 β -dihidroxibeyer-15-eno.

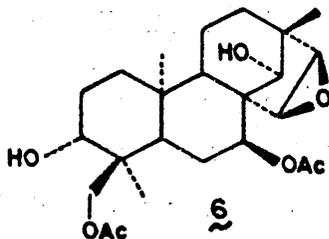


El último metabolito (6) aislado, presenta una fórmula molecular $C_{24}H_{36}O_7$. A partir de sus datos espectroscópicos puede observarse la existencia de un grupo epoxi y de un nuevo hidroxilo. El espectro de 1H RMN de este metabolito posee, además de las señales de protones geminales a acetoxilo (δ 5.43 (H-7) y Q_{AB} con dobletes centrados a 4.38 y 3.59 ppm (2H-18)), dos nuevas señales (δ 3.61 y 3.33) similares a las observadas en el metabolito 4 y debidas a los protones H-15 y H-16 geminales al grupo epoxi con una configuración ent-15 α ,16 α . También puede observarse una señal debida a protón geminal a hi-

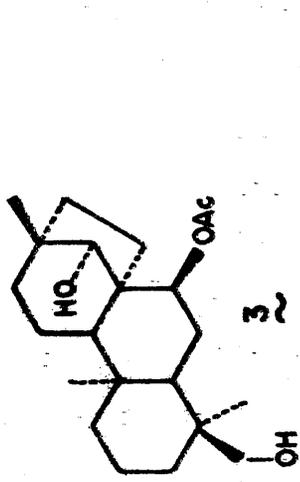
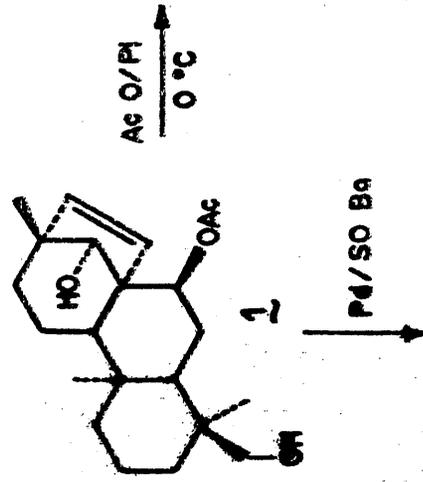
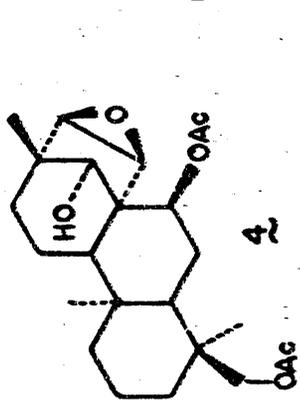
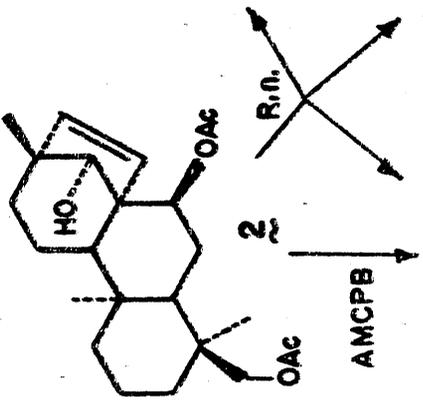
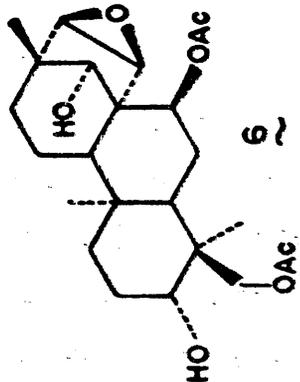
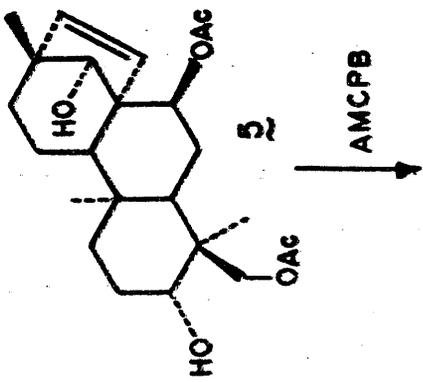
droxilo asignable a H-14 (δ 2.98, $W_{1/2} = 6$ Hz) y otra señal ancha parcialmente superpuesta a una de las señales debidas a H-15 ó H-16 centrada a 3.33 ppm. Esta señal ancha podría corresponder, al igual que en el metabolito 5 a un protón axial geminal a un grupo hidroxilo sobre C-3. Con objeto de comprobar esta suposición, se procedió a epoxidar el metabolito 5 con ácido m-cloroperbenzoico, obteniendose un producto idéntico al metabolito 5.

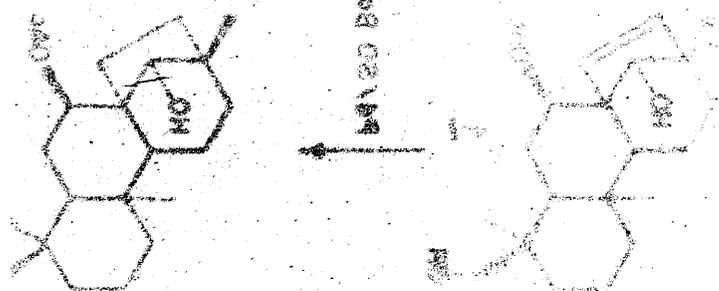
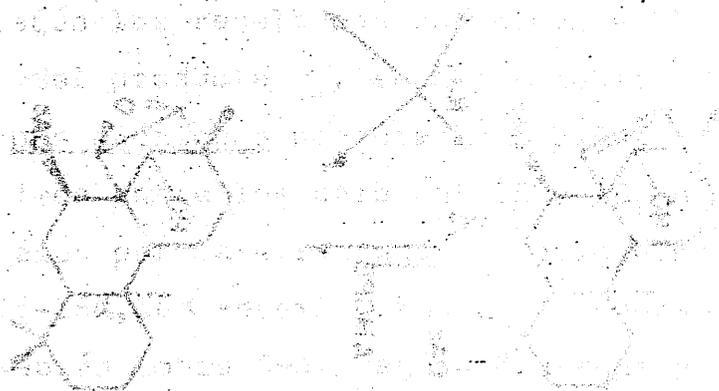
Los datos obtenidos del espectro de ^{13}C RMN para el metabolito 6 confirman la configuración ent-15 α ,16 α para el grupo epoxi así como la ent-3 β -hidroxilación ya comentadas en los metabolitos 4 y 5.

En vista de estos resultados, se puede decir que el metabolito 6 posee la estructura de ent-7 α ,18-diacetoxi-3 β ,14 β -dihidroxi-15 α ,16 α -epo xibeyerano



Según los resultados obtenidos en la incubación del producto 2, se puede decir que el Rhizopus nigricans produce la epoxidación del doble enlace entre los carbonos 15 y 16, mediante un ataque por la cara ent- α , originando un grupo ent-15 α ,16 α -epoxi y también produce una hidroxilación sobre C-3, según un ataque por la cara ent- β para dar un hidroxilo ecuatorial sobre C-3.

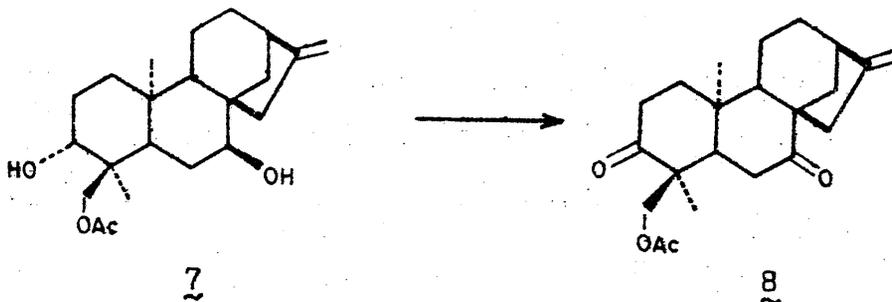




2.- BIOTRANSFORMACION DE ent-18-ACETOXI-
KAUR-16-EN-3,7-DIONA POR ASPERGILLUS
NIGER

Continuando con el estudio de biotransfor-
 mación de esqueletos ent-kaurénicos, se ha reali-
 zado la incubación del ent-18-acetoxikaur-16-en-
 -3,7-diona (8) con el Aspergillus niger.

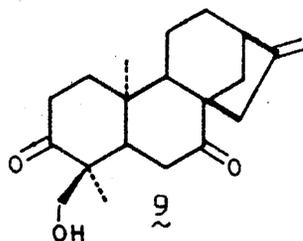
La oxidación con el reactivo de Jones del
ent-3 β ,7 α -dihidroxi-18-acetoxikaur-16-eno (linea-
 rol, 7) conduce al ent-18-acetoxikaur-16-en-3,
 7-diona (8), que es incubado con Aspergillus ni-
ger durante 48 h y durante 6 días.



La incubación del sustrato 8 durante 48 h origina un producto (9) más polar en cromatografía en capa fina que el sustrato de partida (8). Sus espectros de IR y ^1H RMN muestran la ausencia del grupo acetoxi sobre C-18 y además se observa que el doble enlace C-16-C-17 no ha sido atacado. En el espectro de ^1H RMN aparece a 4.90 ppm una señal debida a los protones vinílicos sobre C-17 (m , $W_{1/2} = 7$ Hz). Centrados a δ 3.69 y 3.30 aparecen los dobletes de un sistema AB, debidos al grupo hidroximetilénico sobre C-18. Los grupos metilo sobre C-19 y C-20 aparecen como singuletes a δ 1.35 y 1.02. Tanto por ^1H RMN como por ^{13}C RMN se observa que el metabolito 9 sólo difiere del sustrato 8 en la ausencia del grupo acetoxilo.

Se intentó correlacionar el producto 8 con el metabolito 9 mediante saponificación. Sin embargo, todos los intentos de saponificación conducían a mezclas de productos, por lo que se procedió a realizar la correlación química mediante

la acetilación del metabolito 9 . El acetato obtenido resultó ser idéntico al sustrato 8 , por lo que se puede afirmar que el metabolito 9 es el ent-18-hidroxikaur-16-en-3,7-diona.



Según estos resultados, se puede decir que el Aspergillus niger, después de 48 h de incubación, produce la desacetilación en C-18 del sustrato 8 ; desacetilación que no se ha podido realizar con los métodos usuales de saponificación.

Cuando la incubación del sustrato 8 se mantuvo durante 6 días, se obtiene una mezcla formada por cuatro metabolitos, que fué separada por cromatografía en columna.

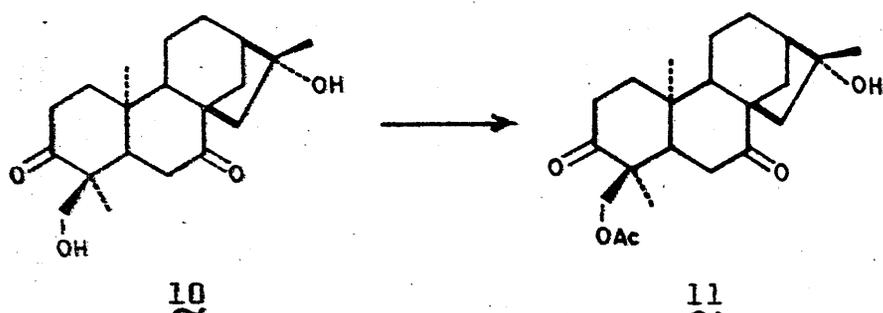
El metabolito más apolar (10) muestra un espectro de ^1H RMN en el que se observa la desaparición de la señal debida a los protones vinílicos en el producto 9 (señal a δ 4.90) y la presencia de un nuevo singulete a 1.41 ppm, cuyo desplazamiento es consistente con la presencia de un grupo metilo geminal a hidroxilo. El hecho de la ausencia de la señal a 2 ppm junto con la existencia de un sistema AB con dobletes centrados a 3.70 y 3.30 ppm indica la ausencia del grupo acetato sobre C-18. Según estos datos, puede pensarse en la hidratación del doble enlace, originando un grupo hidroxilo sobre C-16.

La acetilación del metabolito 10 produce un monoacetato (11). La comparación de los es-

pectros de ^{13}C RMN del sustrato 8 y el acetato 11, indica claramente que el nuevo grupo hidroxilo está situado sobre C-16 (δ 78.89), con efectos β sobre C-13 ($\Delta\delta = 5.25$) y C-15 ($\Delta\delta = 7.94$) y efectos γ en C-12 ($\Delta\delta = -6.35$) y C-14 ($\Delta\delta = -1.45$).

La configuración del carbono 16 se estableció de forma inequívoca ya que el monoacetato 11 es idéntico al ent-18-acetoxi-16 β -hidroxikauran-3,7-diona, producto obtenido a partir de uno de los metabolitos aislados de la incubación del ent-18-acetoxi-16(S)kauran-3,7-diona con Rhizopus nigricans (García-Granados, 1984-1). En este caso se demostró por vía química la ent-16 β -hidroxilación producida por el Rhizopus nigricans sobre este sustrato.

Según estos datos, la estructura del metabolito 10 es la de ent-16 β ,18-dihidroxikauran-3,7-diona.



Otro metabolito (12) fué aislado después de la acetilación de una mezcla de problemática separación, obteniéndose en forma de diacetato (13). Ambos grupos acetato se han introducido en la acetilación ya que la mezcla original no poseía señales de grupo acetato. El espectro de ^1H RMN del producto 13 posee dos señales singuletes de grupos metilo a δ 1.32 y 1.06. También se aprecia un sistema AB (dobletes centrados a 4.19 y 3.81 ppm, $J=12$ Hz, asignable a los protones geminales a acetato sobre C-18), parcialmente solapado con otra compleja señal que integra por dos protones junto con dos señales de grupo acetoxilo a 2.06 y 2.00 ppm. Este comportamiento espectroscópico sugiere la presencia de sendos acetatos sobre C-17 y C-18 en

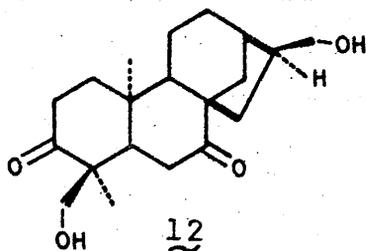
el compuesto 13 . El espectro de ^{13}C RMN de este producto confirma esta hipótesis ya que además de los dos grupos cetónicos (δ 211.43 y 212.43) aparecen dos carbonos oxigenados a δ 65.26 y 67.33, que tienen caracter metilénico (lo que se desprende del estudio del subespectro DEPT). Uno de estos carbonos (δ 67.33) puede ser asignado a C-18 por comparación con el mismo carbono en el sustrato 8 y en el acetato 11 . La otra señal (δ 65.26) puede asignarse a C-17 porque las señales asignadas a C-19 y C-20 son similares a las observadas para los mismos carbonos en los compuesto 8 y 11 .

La configuración en el carbono 16 es una cuestión problemática para ser establecida sólo por métodos espectroscópicos, por lo que se procedió a realizar la correlación del diacetato 13 con el sustrato 8 mediante procesos químicos de estereoquímica conocida. Así, la hidroboración del sustrato 8 conduce al producto 14 , en cuyo espectro de ^1H RMN pueden apreciarse algunas

señales similares a las descritas en el linealol para los protones en C-3 y C-18 (ver producto 1 parte I de esta Memoria) así como la presencia de un doblete a 3.75 ppm (2H, J = 8 Hz) atribuible a los protones hidroximetilénicos sobre C-17. Es sabido que en la reacción de hidroboración sobre este tipo de compuestos, el reactivo ataca por la cara menos impedida estericamente (Han-son, 1966; Murofushi, 1973), que en los esqueletos ent-kaur-16-enicos es la cara ent- β , originando una configuración S en el carbono 16. Así la estructura del producto de hidroboración será de ent-18-acetoxi-3 β ,17-dihidroxi-16(S)kauran-7-ona.

Puesto que en la reacción de hidroboración se ha producido la reducción del grupo ceto en C-3, se procede a acetilar suavemente el producto 14, obteniéndose el diacetato 15 que posteriormente se oxida, obteniéndose un producto idéntico al formado por acetilación del metabolito 12. Por tanto, puede asignarse al metabolito

12 la estructura de ent-17,18-dihidroxi-16(S)-kauran-3,7-diona.



El siguiente producto aislado (16) por orden de elución, es el principal metabolito de esta incubación. Su espectro de ^1H RMN y su comportamiento cromatográfico es muy similar al observado para el último metabolito aislado (17). La acetilación de los metabolitos 16 y 17 conduce a los diacetatos 18 y 19 respectivamente. El espectro de ^1H RMN para cada uno de estos metabolitos muestra la ausencia del doble enlace y en ambos aparece el sistema AB (dobletes centrados a δ 3.70 y 3.30, $J = 12$ Hz) asignable al grupo hidroximetilénico en C-18. También aparece un sistema AB colapsado (δ 3.50) en el espectro del metabolito 16 y un sistema AB (do

bletes centrados a δ 3.70 y 3.42, $J = 12$ Hz) en el caso del metabolito 17. Estos datos inducen a pensar en la posibilidad de una dihidroxilación en las posiciones 16 y 17 en ambos casos. Para comprobar esta suposición, se procede a formar el posible acetónido con estos hidroxilos . Así, el metabolito 16 se trata con 2,2-dimetoxipropano, obteniéndose un isopropilidendioxiderivado (20), que indica la presencia de los dos grupos hidroxí vecinales sobre C-16 y C-17.

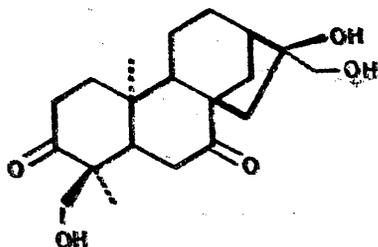
Los espectros de ^1H RMN de los diacetatos 18 y 19 muestran, en ambos casos, un sistema AB (dobles centrados a δ 4.17 y 3.81, $J = 12$ Hz) debido a la presencia de un grupo acetoximetilénico en C-18 pero difieren en los desplazamientos químicos del sistema AB del otro grupo acetoximetilénico: dobles centrados, a δ 4.11 y 3.94 ($J = 12$ Hz) en el diacetato 18 y a δ 4.37 y 4.17 ($J = 12$ Hz) para el diacetato 19.

Los espectros de ^{13}C RMN de los productos 18, 19 y 20 muestran, además del similar desplazamiento químico en todos los casos para C-18, la presencia de un carbono oxigenado totalmente sustituido que se asigna a C-16 (δ 78.38, 79.68 y 86.56 respectivamente) y otro carbono oxigenado de carácter metilénico que se asigna a C-17 (δ 70.81, 68.22 y 76.78 respectivamente).

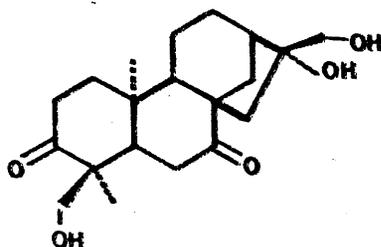
Parece obvio que los metabolitos 16 y 17 sólo difieren en la configuración en C-16. El desplazamiento químico del carbono 16 en el acetato 19 está de acuerdo con una ent-16 β -hidroxilación (Yamasaki, 1976). Igualmente, los desplazamientos químicos del carbono 13 pueden ser determinantes para esta asignación por comparación con los datos descritos, sin embargo se ha preferido realizar la correlación química para deducir la configuración sobre C-16. El sustrato 8 se trató con $\text{OsO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ (Daniels, 1963). Teniendo en cuenta que esta reacción origina

productos que resultan del ataque del reactivo por la cara menos impedida (en nuestro caso la cara ent- β), debe obtenerse un producto ent-16 β ,17-dihidroxiado. Así, el producto obtenido (21) en esta reacción será el ent-18-acetoxi-16 β ,17-dihidroxi-auran-3,7-diona. En su espectro de ^1H RMN puede apreciarse, además de las señales de los protones geminales a acetoxilo en C-18, la existencia de un nuevo sistema AB colapsado a δ 3.75, que integra por dos protones y que se asigna al grupo hidroximetilénico en C-17 que se ha originado en la reacción.

La acetilación del producto 21 produce un diacetato que es idéntico al obtenido en la anterior acetilación descrita del producto 17. Por lo tanto, la estructura del metabolito 17 es la de ent-16 β ,17,18-trihidroxi-aur-3,7-diona y el metabolito 16 se tratará del ent-16 α ,17,18-trihidroxi-auran-3,7-diona.



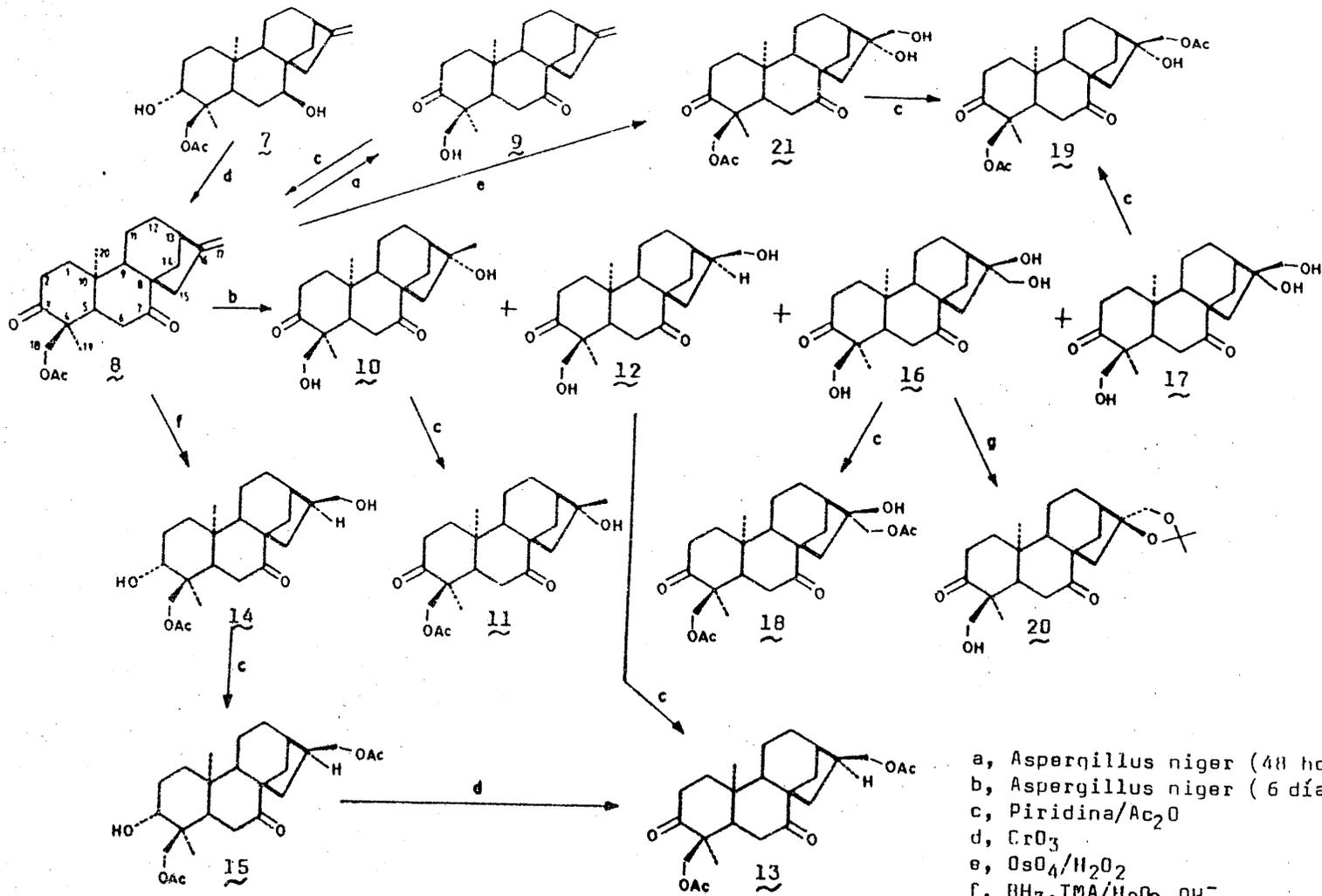
16



17

El metabolito 16 posee una funcionalización en C-16,17 similar a las descritas para los diterpenos ácidos aislados de semillas inmaduras del galán de noche (Calonyction aculeatum) (Murofushi, 1973).

El estudio de la incubación del ent-18-acetoxikaur-16-en-3,7-dione (8) con Aspergillus niger revela que el microorganismo produce en primer lugar una desacetilación en C-18 y posteriormente hidrataciones para dar ent-16 β -hidroxikauranos y ent-17-hidroxi-16(S)-kauranos así como las hidroxilaciones del doble enlace del sustrato, obteniendo 16,17-glicoles epimericos en C-16. No se han detectado productos procedentes del ataque a los grupos ceto en C-3 y en C-7.



- a, *Aspergillus niger* (48 horas)
- b, *Aspergillus niger* (6 días)
- c, Piridina/Ac₂O
- d, CrO₃
- e, OsO₄/H₂O₂
- f, BH₃.TMA/H₂O₂.OH⁻
- g, 2,2-dimetoxipropano

(1.)

(2.)

(3.)

(4.)

(5.)

(6.)

(7.)

(8.)

(9.)

(10.)

(11.)

(12.)

(13.)

(14.)

(15.)

(16.)

(17.)

(18.)

(19.)

(20.)

(21.)

(22.)

(23.)

(24.)

(25.)

(26.)

(27.)

(28.)

(29.)

(30.)

(31.)

(32.)

(33.)

(34.)

(35.)

(36.)

(37.)

(38.)

(39.)

(40.)

(41.)

(42.)

(43.)

(44.)

(45.)

(46.)

(47.)

(48.)

(49.)

(50.)

(51.)

(52.)

(53.)

(54.)

(55.)

(56.)

(57.)

(58.)

(59.)

(60.)

(61.)

(62.)

(63.)

(64.)

(65.)

(66.)

(67.)

(68.)

(69.)

(70.)

(71.)

(72.)

(73.)

(74.)

(75.)

(76.)

(77.)

(78.)

(79.)

(80.)

(81.)

(82.)

(83.)

(84.)

(85.)

(86.)

(87.)

(88.)

(89.)

(90.)

(91.)

(92.)

(93.)

(94.)

(95.)

(96.)

(97.)

(98.)

(99.)

(100.)

3. BIOTRANSFORMACION DEL ent-18-ACETOXI-
-8 α -HIDROXILABDA-13(16),14-DIENO POR
RHIZOPUS NIGRICANS

Ya que no conocemos precedentes de biotransformación de sistemas labdánicos y puesto que estos sistemas han sido aislados últimamente de Sideritis estudiadas por nosotros, hemos considerado interesante realizar un primer ensayo con objeto de observar la acción del Rhizopus nigricans sobre este tipo de esqueletos.

Con este fin, se procedió a la acetilación del ent-8 α ,18-dihidroxilabda-13(16),14-dieno (6-desoxiandalusol , 22), obteniéndose el ent-18-acetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno (23), que es el sustrato utilizado en esta incubación.

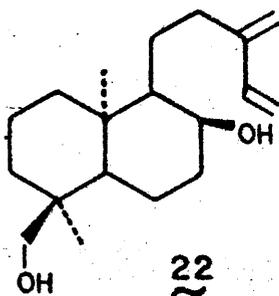
Después de tres días de incubación del sustrato 23 con Rhizopus nigricans, se aísla una

mezcla de varios productos con muy bajo rendimiento. De esta mezcla sólo pudo aislarse dos metabolitos con pureza suficiente como para ser identificados, aunque en tan pequeña cantidad que sólo permitió realizar su estudio por el análisis de sus espectros de ^1H RMN. También se obtuvieron mezclas de productos cuyas cantidades no permitieron su total purificación e identificación.

En el espectro de ^1H RMN de uno de los metabolitos aislados se observan las señales correspondientes a un sistema A_2B_2X similar al del producto de partida, lo que nos indica que se conserva el sistema ent-labda-13(16),14-diénico. Además se aprecia la ausencia de la señal debida al grupo acetoxi (δ 2.10 en el producto de partida 23) y en lugar del sistema AB del grupo acetoximetilénico en el sustrato 23 aparece un nuevo sistema AB con dobletes centrados a δ 3.44 y 3.11 ($J = 12 \text{ Hz}$) producidos por un grupo hidroximetilénico en C-18. También existe un singulete a 1.14 ppm asignado a un grupo metilo

geminal a hidroxilo (3H-17). A δ 0.82 y 0.72 aparecen dos singuletes de grupos metilo situados en C-19 y C-20.

Estos datos son compatibles con la pérdida del grupo acetoxi sobre C-18 en el sustrato de partida. Esto se confirma comparando el espectro de este metabolito con el del producto 22, observando que existe una total concordancia entre ambos, por lo que la estructura de este metabolito será la de ent-8 α ,18-dihidroxilabda-13(16),14-dieno.



El segundo metabolito aislado (24), posee un espectro de ^1H RMN cuyas señales indican que se trata de un óxido de manoilo que conserva el grupo acetoxi sobre C-13, pudiendo precisar además por los desplazamientos químicos del sistema ABX que se trata de un producto de la serie 13-epi (δ 5.97 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz), 5.25-5.00 (2H, parte AB del sistema ABX, 2H-15)). Parcialmente superpuesto al sistema AB del grupo acetoxi en C-18, aparece un nuevo sistema AB (dobletes centrados a 4.00 y 3.77, $J = 12$ Hz) y con dobletes centrados a 3.55 y 3.00 existe otro sistema AB. Estos dos nuevos sistemas AB se han originado en la transformación y son debidos a grupos hidroximetilénicos. Si se compara este espectro con el del ent-18-acetoxi-16-hidroxi-13-epi-óxido de manoilo (25) (obtenido a partir del producto 37 en la parte I de esta Memoria) se puede apreciar que los sistemas AB de los grupos acetoximetilénicos en C-16 y en C-18 producen señales superponibles en ambos espectros.

Por otra parte, puede observarse que en el espectro del metabolito 24 falta una de las señales debida a un grupo metilo en C-19 ó en C-20. A la vista de estos datos, se puede pensar que el Rhizopus nigricans produce la ciclación del esqueleto labdadiénico a óxido de manoilo, al igual que la hemos realizado nosotros químicamente (ver parte I de esta Memoria), originando óxidos de manoilo funcionalizados en C-16 y además introduce un nuevo hidroxilo en las posiciones 19 ó 20 .

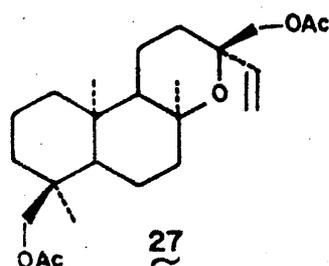
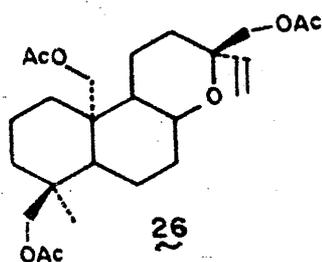
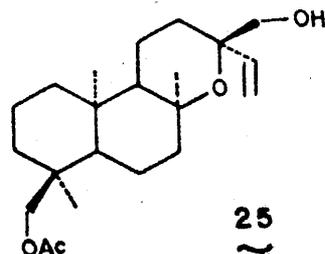
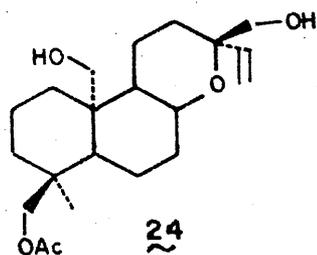
Con objeto de confirmar la existencia de estos dos nuevos hidroxilos y dado que la señal a 1.25 ppm (debida a compuestos de cadena lineal) enmascara la señal de uno de los metilos (H_3 -17), se realizó la acetilación suave del metabolito 24 (que produce un triacetato (26)) y tratamiento con urea/AcOEt/MeOH, lo que permitió obtener el triacetato 26 totalmente puro . En su espectro de 1H RMN se puede confirmar la existencia de tres grupos acetoximetilénicos (

(sistema AB colapsado a 3.82 ppm y dos sistemas AB con dobletes centrados a δ 3.87 y 3.64 y δ 4.49 y 4.02 (ambos con $J=12$ Hz)). En este caso, puede observarse perfectamente la existencia del grupo metilo geminal a hidroxilo (δ 1.29, 3H-17) y una única señal a 0.82 debida a un grupo metilo.

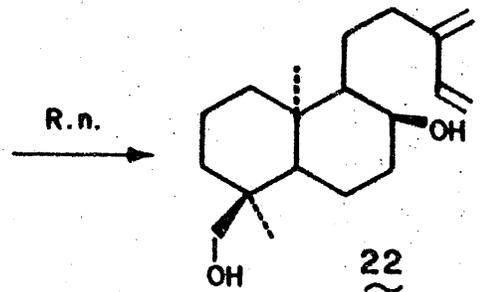
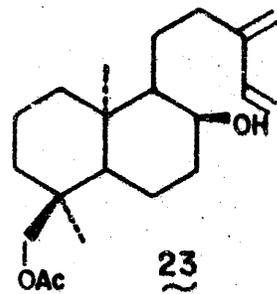
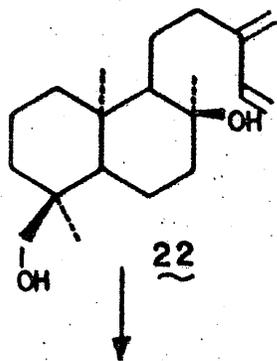
La comparación del espectro del triacetato 26 con el del diacetato del epijabugodiol (27) indica que sólo difieren en la existencia de un sistema AB con dobletes centrados a 4.49 y 4.02 ppm y en la ausencia de uno de los metilos sobre C-19 ó C-20 en el espectro del triacetato 26, mientras que las demás señales son totalmente superponibles en ambos espectros.

Teniendo en cuenta el paralelismo existente entre el metabolito 24 y el triacetato 26 con los productos 25 y 27 respectivamente, se puede asumir una estructura de ent-15,18-dihidroxi-13-epi-óxido de mancilo hidroxilado en C-19 ó C-20 para el metabolito 24.

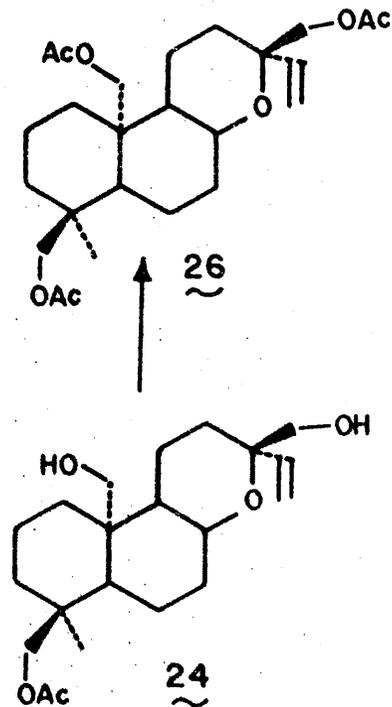
Por vía espectroscópica es presumible que la nueva hidroxilación esté situada sobre C-20, dada la similitud del desplazamiento químico del sistema AB sobre C-18 en el diacetato 27 y en el el triacetato 26. No obstante, se ha procedido a realizar una comprobación química que permita establecer cual es la posición de este hidroxilo. Así, el triacetato 26 se saponificó para dar un producto más polar que el metabolito 24 y posteriormente se trató con 2,2-dimetoxipropano con objeto de intentar formar acetónido en el caso de que la hidroxilación se encuentre sobre C-19. Por cromatografía en capa fina pudo observarse que el producto de saponificación no formaba acetónido, lo que se confirmó por el espectro de ^1H RMN del producto recuperado de la reacción. Esto descarta la hidroxilación en C-19. Por lo tanto la hidroxilación se encontrará sobre C-20 y la estructura del metabolito 24 será de ent-18-acetoxi-16,20-dihidroxi-13-epi-óxido de manoiló

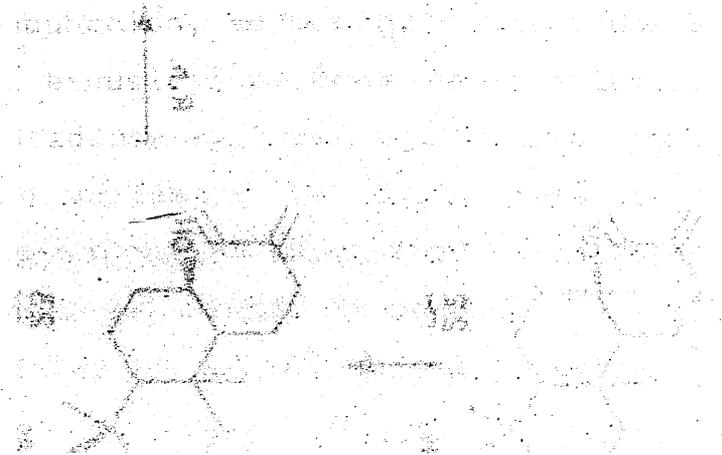
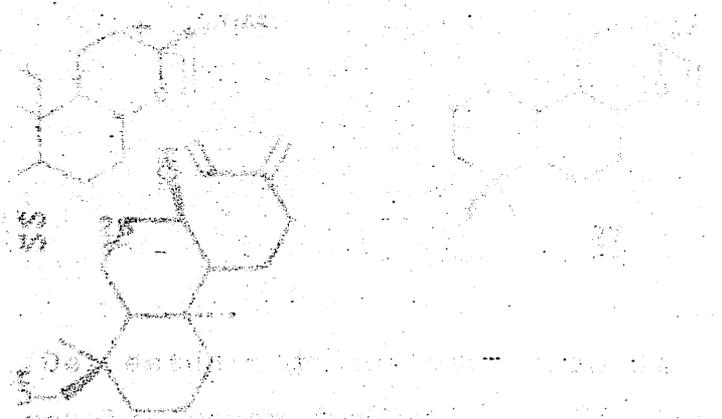


Del estudio de los espectros de ^1H RMN de las mezclas de productos, también aislados de esta incubación, se desprende que todos ellos poseen el esqueleto de óxido de manilo. Dado que las cantidades aisladas son insuficientes para permitir su identificación, se están realizando actualmente nuevas experiencias con este tipo de esqueletos con objeto de completar y ampliar, en lo posible el estudio de estas biotransformaciones.



+





4.- BIOTRANSFORMACIONES DE LA DEOXIVULGARINA CON ASPERGILLUS OCHRACEOUS Y CON RHIZOPUS NIGRICANS

En los últimos tiempos se ha observado un incesante incremento de la investigación relacionada con la búsqueda de nuevas rutas ó transformaciones sintéticas, conducentes a la obtención de lactonas sesquiterpénicas (Ando 1977, 1978, 1983; Grieco, 1975, 1976; Yamakawa, 1975-1 y -2, 1976, 1978; Schulz, 1976, 1979; El-Feraly, 1983, entre otros), debido, en gran parte, a su interés como sustancias biológicamente activas (Isakawa, 1980 ; Mitchell, 1975, 1976; Pickman, 1983 -1 y -2).

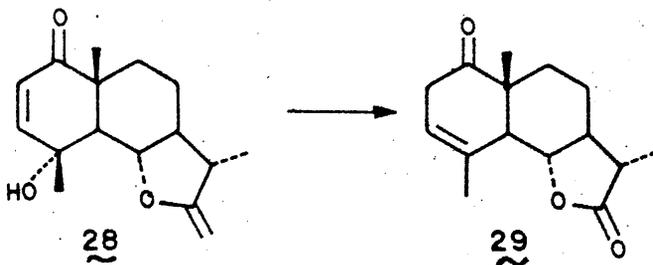
El uso de microorganismos para realizar transformaciones de interés sintético ha sido muy limitado. Con objeto de obtener distintos sustratos más o menos hidroxilados, se ha pensado

do en la utilización de microorganismos hidroxilantes como son el Aspergillus ochraceous y el Rhizopus nigricans.

En primer lugar se ha intentado biotransformar la vulgarina (28), cosa que no se pudo lograr ni con Aspergillus ochraceous ni con Rhizopus nigricans, posiblemente debido a que se trata de una molécula biológicamente muy evolucionada. Esta molécula tendría el interés de que puede dar lugar fácilmente a un grupo hidroxilo ecuatorial sobre C-1, que puede transformarse en un sistema guayánico, vía tosilato (Gonzalez, 1980). Sin embargo, tras largos intentos infructuosos, se pensó en la deoxivulgarina (29) como producto de partida.

El material usado en este estudio fué preparado a partir de la vulgarina (28), muy abundante en la Artemisia canariensis Lees (Gonzalez, 1973-5). El tratamiento de la vulgarina (28) con AcOH/Zn origina la deoxivulgarina (29)

(Geissman, 1962)



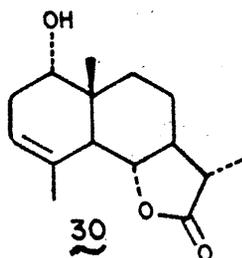
4.1 BIOTRANSFORMACION DE LA DEOXIVULGARINA POR ASPERGILLUS OCHRACEOUS

La incubación de la deoxivulgarina (29) con Aspergillus ochraceus durante 30 horas origina dos metabolitos que se separan por cromatografía en columna.

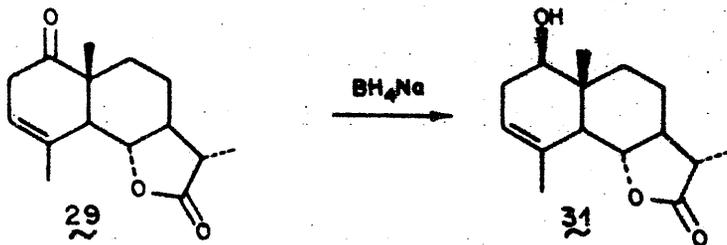
El primer metabolito (30), aislado con un rendimiento del 30 % presenta un pico molecular de 250 , acorde con una fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_3$. En su espectro de IR se observan bandas de hidroxilo (3600 cm^{-1}) y lactona (1760 y 1230 cm^{-1}). La comparación del espectro de ^1H RMN de este metabolito con el del sustrato de

partida (29) sólo difiere en la aparición de una señal estrecha a 3.40 ppm (d, $J = 4$ Hz) y en la desaparición de las señales de los protones en α con respecto al grupo ceto en C-1 en el producto de partida (29). Las demás señales existentes en el espectro de ^1H RMN del metabolito 30 coinciden con las del producto 29. Así a δ 5.33 aparece una señal (1H, m, $W_{1/2} = 9$ Hz) que puede ser debida al protón unido al doble enlace en C-3. El protón en C-6 geminal a la γ -lactona se presenta como un doble doblete ($J_1 = 11$, $J_2 = 9$ Hz) a 4.05 ppm. También existe un metilo alílico a 1.88 ppm (3H-15), un metilo doblete ($J = 7$ Hz) a δ 1.22 (3H-13) y un metilo singulete a δ 0.83 (3H-14). Estos datos están de acuerdo con la reducción del grupo ceto en C-1 del sustrato de partida 29 por Aspergillus ochraceous. Dada la forma de la señal del protón geminal a hidroxilo producido en esta reducción, se puede pensar que se trata de un protón axial. Según esto, el metabolito 30 debe tratarse de la 11,13-dihidrodouglanina, lo que se confirma por comparación de

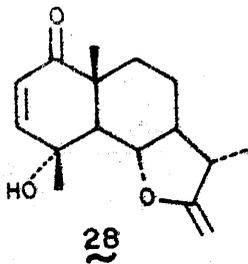
los datos del metabolito 30 con los descritos para la 11,13-dihidrodouglanina (Matsueda, 1967).



Cabe destacar que cuando la deoxivulgarina (29) se reduce con hidruros metálicos se obtiene muy mayoritariamente el producto de ataque del reactivo por la cara α , menos impedida, originando el 1/ β -alcohol (dihidrosantamarina, 31). En estas reducciones el 1/ α -alcohol (dihidrodouglanina, 30) se obtiene en cantidades variables y muy minoritarias.



El segundo metabolito aislado de esta incubación (11 %) presenta un espectro de ^1H RMN en el que se observa la existencia de un sistema AB con dobletes centrados a δ 6.55 y 5.82 ($J=10$ Hz) junto con un doblete a 4.09 ppm ($J_1=11$, $J_2=10$ Hz) y tres señales debidas a grupos metilo. Una de estas señales, a δ 1.50 indica la existencia de un metilo geminal a hidroxilo, mientras que las otras dos se tratan de un metilo doblete (δ 1.17, $J=7$ Hz) y otro singulete a 1.12 ppm. La comparación de este espectro con el de la vulgarina (28), muestra una total coincidencia entre ambos. Puesto que los espectros de UV y de IR también son idénticos, se puede afirmar que este metabolito se trata de la vulgarina (28)



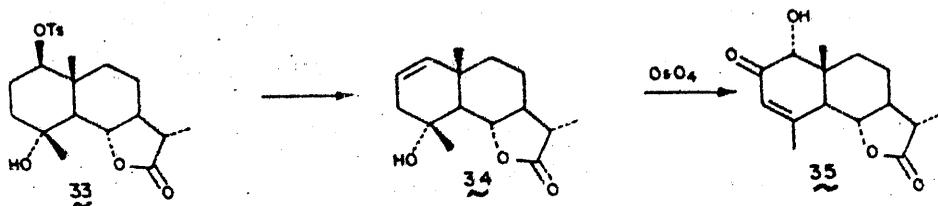
4.2.- BIOTRANSFORMACION DE LA DEOXIVULGARINA POR RHIZOPUS NIGRICANS

Después de 30 horas de incubación de la deoxivulgarina (29) con Rhizopus nigricans se aislan tres metabolitos.

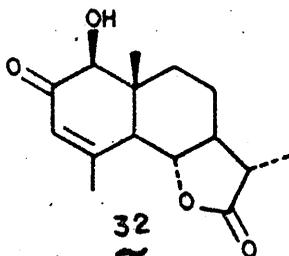
El metabolito más apolar (32, 8 %) posee una fórmula molecular $C_{15}H_{20}O_4$, estimada por espectrometría de masas. A partir de sus datos espectroscópicos se puede postular que posee una estructura de Δ^3 -eudesmanolida con un grupo ceto α, β -insaturado: Absorción en UV a 236 nm ($\epsilon = 5600$), bandas en IR a 1680-1620 cm^{-1} y señales en el espectro de 1H RMN debidas al protón etilénico en C-3 (δ 6.08 (m, $W_{1/2} = 6$ Hz) y metilo alílico a 2.20 ppm (d, $J = 2$ Hz).

Además de las señales ya mencionadas, se observa un singulete agudo a 3.96 ppm debido a un protón geminal a hidroxilo, que asumiendo la estructura de 2-ceto- Δ^3 -eudesmanolida sólo pue

de corresponder a un protón sobre C-1. Además del doble doblete del protón geminal a la γ -lactona (δ 4.03, $J_1 = 11$, $J_2 = 9$ Hz) también aparece un doblete ancho a 2.71 ppm ($J = 10$ Hz) que puede asignarse al protón 5α del esqueleto de eudesmanolida y dos señales debidas a grupos metilo (doblete a δ 1.27 ($J = 7$ Hz) y singulete a 0.85 ppm). Estos datos son muy parecidos a los del α -cetol 35, que posee una estereoquímica bien establecida (Gonzalez, 1976-2). Una similar agrupación cromófora puede también obtenerse por oxidación con OsO_4 del eudesmanolido 34, obtenido por solvolisis del triflato 33 (Gonzalez, 1978). La osmilación de 34 produce el α -cetol 35 con una hidroxilación sobre C-1 con configuración α ya que la cara β está impedida estericamente por los metilos axiales en C-4 y C-10.

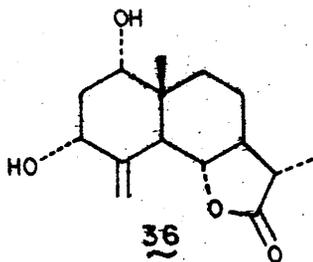


La comparación de los espectros de ^1H -RMN del α -cetol 35 y el metabolito 32 indica que la señal asignada al protón 5α en el producto 35 se encuentra desapantallada (δ 3.06, d, $J = 10$ Hz) con respecto a la misma señal en el metabolito 32 (δ 2.71, d, $J = 10$ Hz). Esto indica la existencia de una disposición sin-axial del grupo hidroxilo sobre C-1 y el hidrógeno 5α en el producto 35. Igualmente, los desplazamientos químicos del protón β en C-1 en el producto 35 (δ 3.43, s) y el protón sobre C-1 en el metabolito 32 (δ 3.98, s) son muy diferentes. La señal del protón 5α en el metabolito 32 presenta el mismo desplazamiento químico cuando el espectro de ^1H RMN se realiza en CDCl_3 y en C_6D_6 , lo cual excluye una disposición sin-axial entre el hidroxilo en C-1 y el protón 5α . Estas conclusiones nos llevan a afirmar que el producto 35 y el metabolito 32 deben ser epímeros en C-1. Por tanto, la estructura del metabolito 32 será la de 1 β -hidroxi-2-cetoeudesm-3-en-6 α ,12-olido.

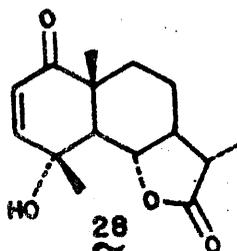


El metabolito mayoritario (36 , 14 %) aislado en esta incubación posee un pico molecular de 266, compatible con una fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_4$. En su espectro de IR aparecen bandas de hidroxilo (3600, 3500 cm^{-1}), -lactona (1770 cm^{-1}) y doble enlace (1645 cm^{-1}). En su espectro de 1H RMN puede apreciarse dos señales producidas por un grupo metileno exocíclico (δ 5.19 y 5.04, s, 1H cada uno). Además de la señal del protón en C-6 geminal a la γ -lactona (δ 4.07, dd, $J_1=J_2 = 11$ Hz) también existen dos señales debidas a protones geminales a hidróxilo sobre carbono secundario (δ 4.42 m, $w_{1/2} = 7$ Hz y 3.38, m, $w_{1/2} = 9$ Hz). La an

chura de estas señales sugiere que la disposición de los dos grupo hidroxilo debe ser axial. A δ 3.04 aparece un doblete ($J = 11 \text{ Hz}$) originado por el protón 5α , cuyo desplazamiento indica la existencia de una interacción 1,3-diaxial con un grupo hidroxilo, al igual que sucedía en el producto 35. También existe un metilodoblete ($J = 7 \text{ Hz}$, $3\text{H}-11$) y otro singulete a δ 0.80 ($3\text{H}-10$). Según estos datos espectrocópicos, el metabolito 36 podría tratarse de erivanina, eudesmanolida aislada de la Artemisia fragans Willd var erivanica Bess (Evstratova, 1969) y posteriormente del Tanacetum balsamita L. (Sámek, 1975). Esta suposición se confirma comparando los datos del metabolito 36 con los de una muestra auténtica de erivanina.

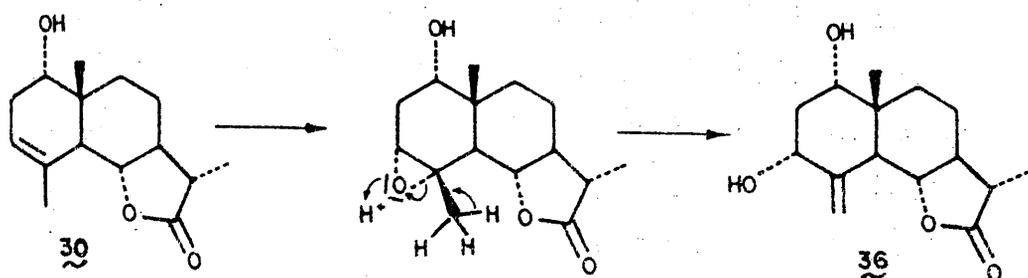


El último metabolito aislado de esta incubación (4%) posee unos datos espectroscópicos idénticos a los de la vulgarina (28), por lo que se identifica como tal.

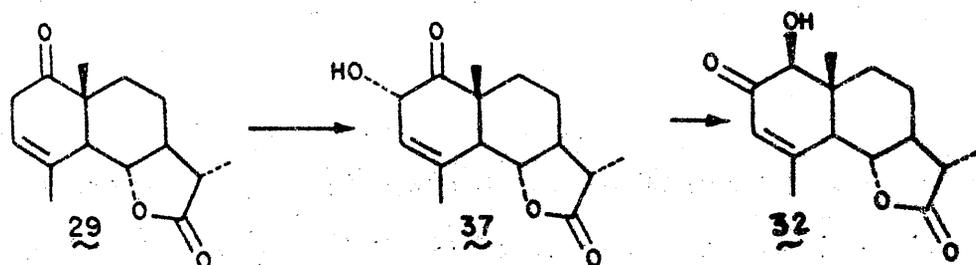


Con respecto a la actuación del Aspergillus ochraceus y del Rhizopus nigricans sobre la deoxivulgarina (29), se observa que ambos microorganismos producen la reducción del grupo ceto en C-1 para dar alcoholes con configuración S (orientación α) de acuerdo con los resultados obtenidos en las reducciones microbiológicas de cetonas (Johnson, 1978).

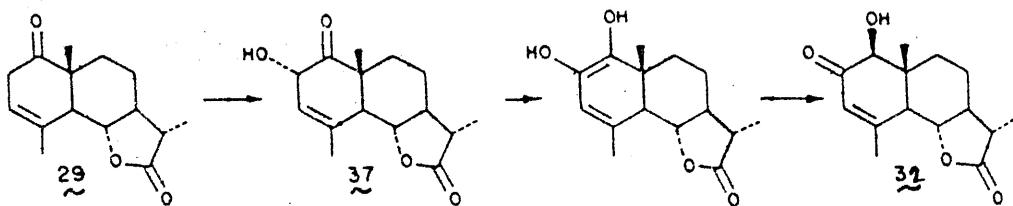
La formación de erivanina (36) puede ser explicada como resultado de la epoxidación de 11,13-dihidrodouglanina (30) y posterior evolución del anillo oxiránico.



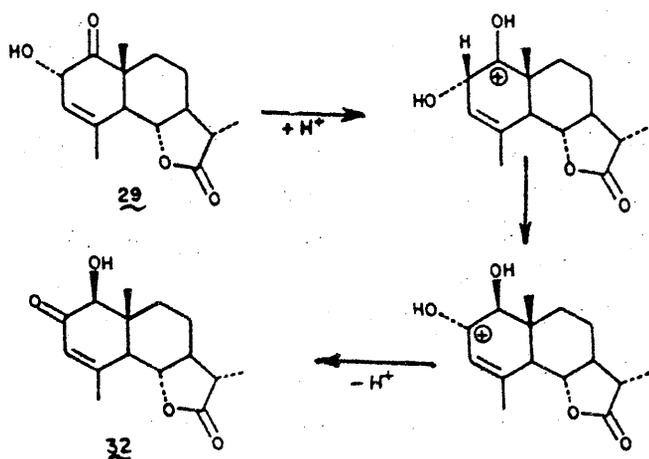
El α -ceto 32 podría haberse formado por α -hidroxilación del sustrato 29, produciéndose el cetol 37 que posteriormente evoluciona al α -ceto 32, vía un reagrupamiento Marker-Lawson.



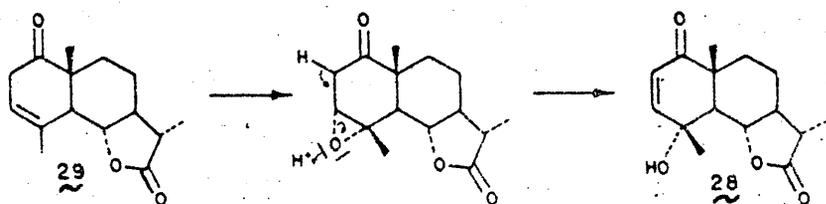
Existen varios precedentes de oxidación microbiológica de 17-cetoesteroides para dar 16,17-dioles (Dodson, 1962). Por otro lado, el reagrupamiento de 16 α -hidroxi-17-cetoesteroides a 17 β -hidroxi-16-cetoesteroides ha sido ampliamente estudiado (Fishman, 1960). Para su explicación, podemos postular, al igual que en el caso de los 17-cetoesteroides, la enolización de 37 y posterior evolución del enol al producto mas estable que, en nuestro caso, sería la cetona α, β -insaturada con el grupo hidroxilo en C-1 ecuatorial. O bien podría ocu-



rrir otra posibilidad que se ha sugerido para los 16 α -hidroxi-17-cetoesteroides, que consiste en la protonación del grupo ceto seguida de migración de hidruro de 16 β a 17 y posterior pérdida del protón para producir el grupo ceto en C-16.



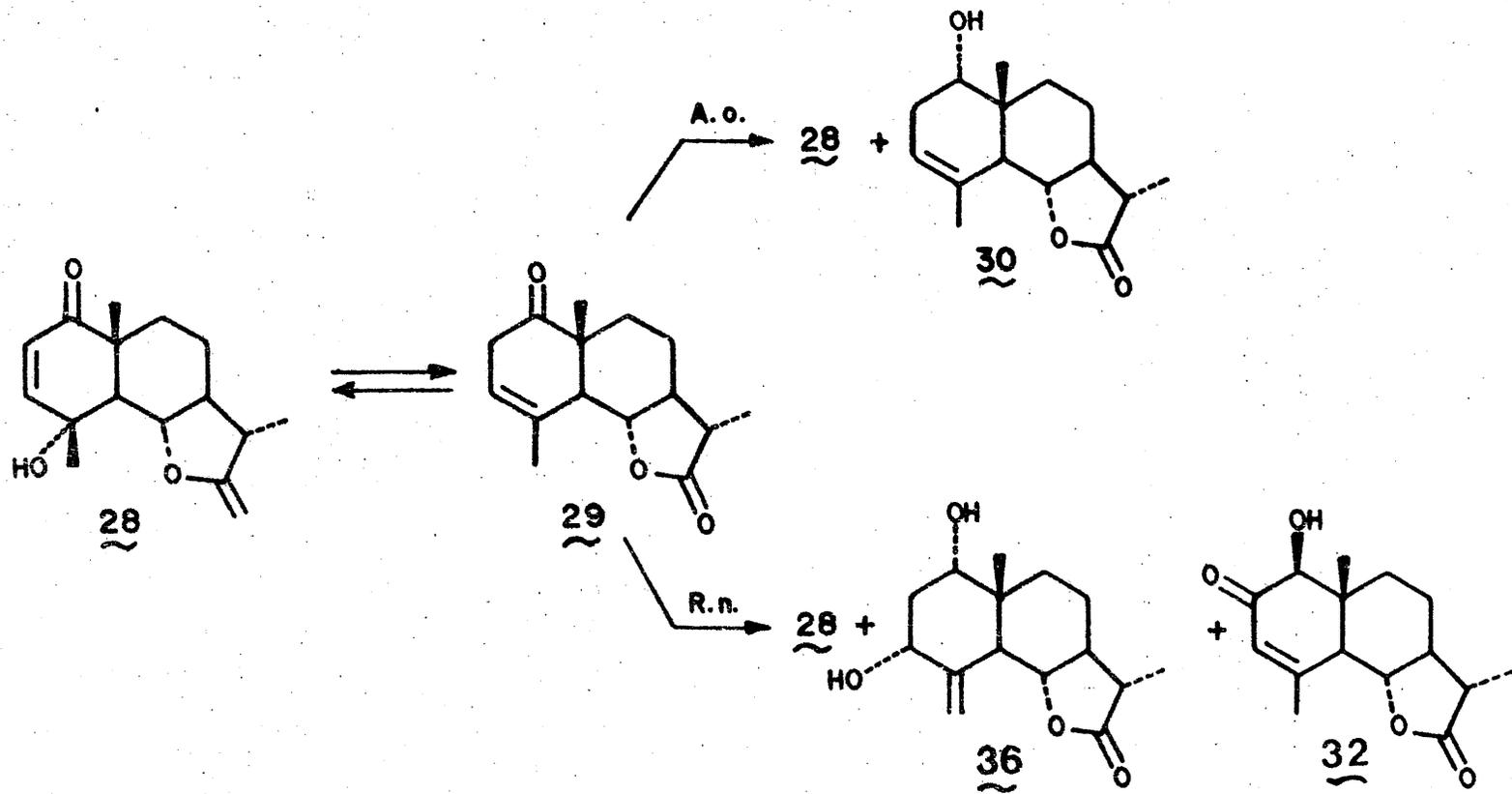
La biotransformación de deoxivulgarina (29) a vulgarina (28) puede haberse producido por una epoxidación del doble enlace por la cara α y posterior reagrupamiento del sistema oxiránico a vulgarina (28)

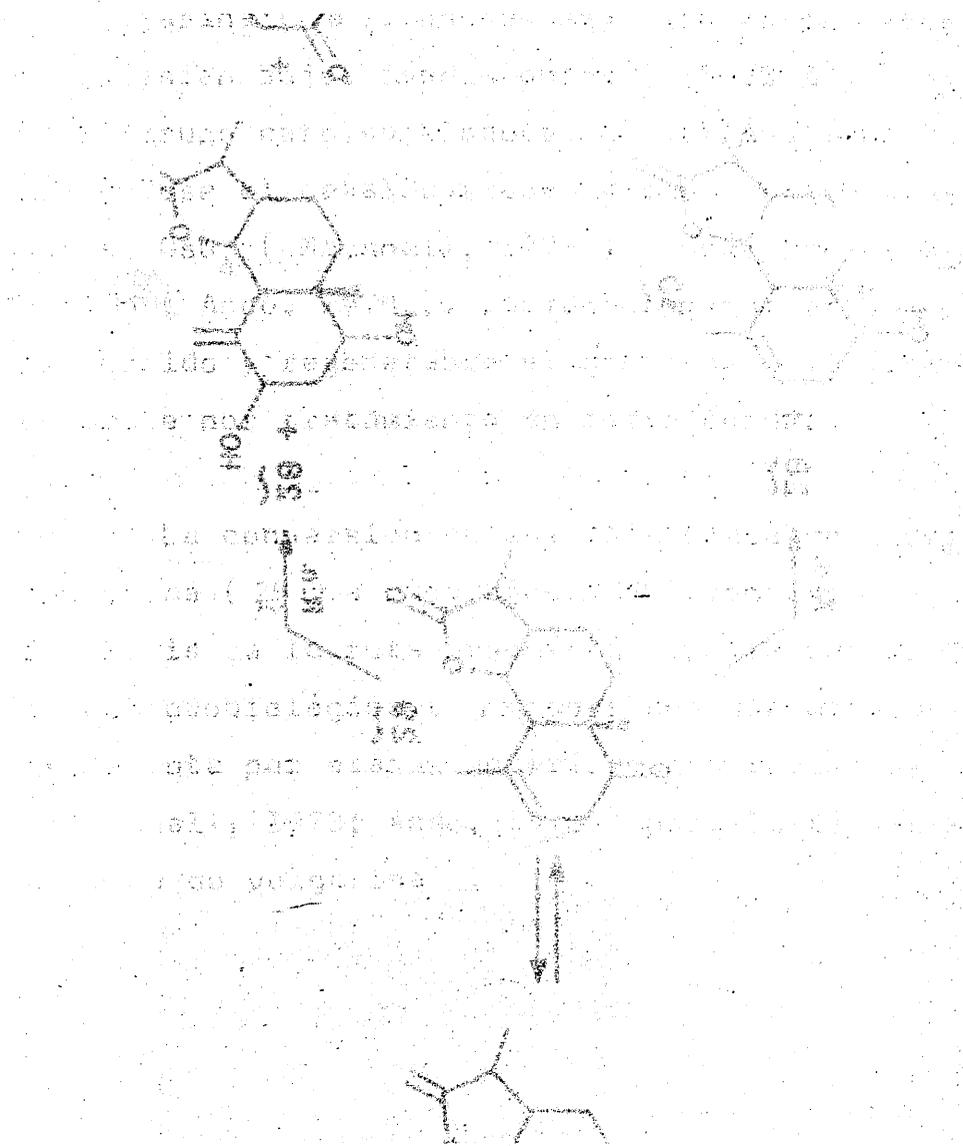


Esta suposición está apoyada por la transformación química que hemos estudiado con objeto de realizar dicha comprobación. La epoxidación de deoxivulgarina (29) con ácido m-cloroperbenzoico rinde casi cuantitativamente vulga-

rina (28). Existen algunos trabajos en los que se usa la deoxivulgarina (29) como precursor de la vulgarina (28). No obstante, en estos casos se obtenían bajos rendimientos (15-30 %) cuando el grupo ceto se bloquea con etilenglicol , formándose el cetal correspondiente que se trata con OsO_4 (Marshall, 1978) o mediante epoxidación (Ando, 1978), abriendo posteriormente el epóxido y regenerando el grupo ceto simultáneamente por tratamiento en medio ácido.

La conversión en una sólo etapa de deoxivulgarina (29) a vulgarina (28) confirma la hipótesis de la ruta propuesta para la conversión microbiológica y proporciona una mejora de la ruta por etapas anteriormente realizada (Marshall, 1978; Ando, 1978) para la síntesis química de vulgarina .





P A R T E E X P E R I M E N T A L

EXHIBIT 1

P A R T E E X P E R I M E N T A L

1.- OBTENCION DE LOS PRODUCTOS DE PARTIDA

Los productos de partida utilizados en estas experiencias se aislaron de Sideritis andaluzas estudiadas por nosotros. En cada una de las incubaciones realizadas se indican los productos utilizados y la Sideritis de la que se aislaron. La extracción y purificación de estos productos se realizó tal y como se explicó en la parte experimental de la parte I de esta Memoria.

2.- MICROORGANISMOS Y CONDICIONES DE CULTIVO

Los microorganismos utilizados en estas experiencias fueron: Rhizopus nigricans (CECT 2672), Aspergillus ochraceus (CECT 2069), Aspergillus niger (CECT 2091), todos ellos proce-

dentes de la Colección Española de Cultivos Tipo

Para la preparación del inóculo se ha empleado medio YEPGA conteniendo 1 % de extracto de levadura, 1 % de pectina, 2 % de glucosa y 2 % agar, manteniendo el medio a pH 5.

En todas las transformaciones realizadas se usó un medio de cultivo que responde a la siguiente composición: 0.1 % pectina, 0.1 % extracto de maiz , 0.1 % extracto de carne de vaca y 0.5 % glucosa, todos ellos en agua.

En matraces Erlenmeyer (250 cc) conteniendo 100 ml de medio de cultivo se realizó la inoculación con una densa suspensión de cada uno de los microorganismos utilizados. Estas incubaciones se mantuvieron a 28 °C con agitación orbital durante 6 días. Al cabo de este tiempo, se adiciona el sustrato al 5 % en etanol.

3.- RECUPERACION DE METABOLITOS

El contenido de los matraces Erlenmeyer se filtra en Büchner para separar el micelio, y la solución acuosa resultante se satura con ClNa y se extrae repetidas veces con Cl_2CH_2 . La fase orgánica se seca con Mg SO_4 anhidro y se lleva a sequedad, obteniendo una mezcla de metabolitos que se separan mediante cromatografía en columna (gel de sílice, Merck 7729), eluyendo con Cl_3CH conteniendo cantidades crecientes de Me_2CO . La visualización de los productos en cromatografía en capa fina (silica gel Merck 7747) se efectuó con la mezcla formada por $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{AcOH}$ (32/8/160) y posterior calefacción a 120 °C hasta aparición de manchas.

4.- BIOTRANSFORMACIONES DE ent-BEYERENOS Y ent-BEYERANOS

4.1.- ANALISIS FISICOS.- Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Kofler y están sin corregir. Los espectros de ^1H RMN se registraron en un espectrómetro Bruker WP80SY (80 MHz) ó

Bruker HX-90E (90 MHz). Los espectros de ^{13}C RMN se efectuaron en un espectrómetro Bruker WM-360 (90.6 MHz) ó en un Bruker WP80SY (20.13 MHz). Tanto en los espectros de ^1H como de ^{13}C RMN se utilizó TMS como patrón de referencia interna y Cl_3CD como disolvente. Las asignaciones de los desplazamientos químicos de ^{13}C se hicieron con la ayuda del espectro de "off resonance". Los espectros de masas se determinaron en un aparato Hewlett-Packard 5930A, por inyección directa, a 70 eV. Los espectros de IR se realizaron en pastilla de KBr en un Pye Unicam SP-1000. Las rotaciones específicas, $[\alpha]_D$, se midió a temperatura de laboratorio en un polarímetro automático Perkin-Elmer 141, en célula de 1 dm de longitud y en los disolventes y concentraciones que se indican en cada caso.

4.2.- AISLAMIENTO DEL ent-7 α -ACETOXI-14 β , 18-DIHIIDROXIBEYER-15-ENO (1)

El producto de partida utilizado en estas experiencias fué el ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidro xibeyer-15-eno (7-acetilpusillatriol, 1) aislado de la Sideritis pusilla sp flavovirens (García-Granados, 1984-2).

4.3.- OBTENCION DEL ent-7 α ,18-DIACETOXI-
-14 β -HIDROXIBEYER-15-ENO

3.5 g de 7-acetilpusillatriol (1) se acetilan con Ac₂O/Piridina (15/50 ml) durante 1 h a 0 °C. Al cabo de este tiempo se interrumpe la reacción, vertiendo sobre agua helada, extrayendo con Cl₂CH₂ y lavando con ClH acuoso y solución acuosa de CO₃HNa. La solución de Cl₂CH₂ se seca y se evapora. La mezcla de productos obtenida se separa por cromatografía en columna, obteniéndose 2 g de ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyer-15-eno (7,18-diacetilpusillatriol, 2):

P.F. = 156-58 °C

$[\alpha]_D^{20} = +58.10$ (c 1, CHCl₃)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3450, 1735, 1640, 1250 y 740 cm⁻¹

¹H RMN (δ , 80 MHz): 5.50 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 5.10 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 3.70 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 3.20 (1H, s, H-14); 2.07 (6H, s, 2AcO-); 1.07 (3H, s, C-Me); 0.86 (3H, s, C-Me) y 0.82 (3H, s, C-Me).

¹³C RMN (90.6 MHz): Ver tabla 1.

EM, m/z (%): 344 (36, M-60), 326 (39), 315 (93), 284 (33), 271 (20), 269 (51), 266 (30), 255 (100), 254 (66), 253 (67), 251 (34), 241 (26).

Análisis elemental. Encontrado: C, 71.43; H, 8.89. Calculado para $C_{24}H_{36}O_5$: C, 71.26; H, 8.97 %.

4.4.- OBTENCION DEL ent-7 α -ACETOXI-14 β , 18-DIHIIDROXIBEYERANO

1.1 g de 7-acetilbussillatriol (1) fué disuelto en 50 ml de EtOH y se añaden 500 mg de Pd al 5 % sobre SO_4Ba . La hidrogenación se lleva a cabo a 5 atm. de presión durante 5 h. La mezcla de reacción se filtra y se lava con EtOH. Trás evaporar el disolvente se obtiene 1 g de ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibeyerano (2):

P.F. 203-205 °C

$[\alpha]_D^{20} = +50.3^\circ$ (c 0.51, $CHCl_3$)

IR (ν_{max}^{BrK}): 3450, 1725 y 1260 cm^{-1}

1H RMN (δ , 30 MHz): 5.15 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz,

H-7); 3.37 y 3.05 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.24 (1H, sa, H-14); 2.12 (3H, s, AcO); 1.02 (6H, s) y 0.75 (3H, s) (grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.66; H, 10.01. Calculado para $C_{22}H_{36}O_4$: C, 72.49; H, 9.95 %.

4.5.- INCUBACION DEL ent-7 α -ACETOXI-14 β ,
18-DIHIIDROXIBEYERANO (3) CON
RHIZOPUS NIGRICANS

1 g del sustrato 3 fué disuelto en 20 ml de EtOH y distribuido en 20 matraces Erlenmeyer que contienen el cultivo de Rhizopus nigricans, manteniendo la incubación durante 96 horas, después de las cuales, el sustrato 3 se recuperó inalterado.

4.6.- INCUBACION DEL ent-7 α ,18-DIACETOXI-
-14 β -HIDROXIBEYER-15-ENO (2) CON
ASPERGILLUS OCHRACEOUS

540 mg del sustrato 2 se disolvieron en 10 ml de Etanol y distribuidos en 10 matraces Erlenmeyer que contenian el cultivo del Aspergillus ochraceous. La incubación se mantuvo durante 96 h, después de las cuales sólo se recuperó el sustrato 2.

4.7.- INCUBACIÓN DEL ent-7 α ,18-DIACETOXI-
-14 β -HIDROXIBEYER-15-ENO (2) CON
RHIZOPUS NIGRICANS

1 g del sustrato 2 fué disuelto en 20 ml de EtOH y se distribuye en 20 matraces Erlenmeyer que contienen el cultivo de Rhizopus nigricans, manteniendo la incubación durante 30 horas. Al cabo de este tiempo y, tras recuperar los metabolitos obtenidos, se obtienen 600 mg de una mezcla de productos que es sometida a cromatografía en columna, aislándose 44 mg del metabolito 4,

15 mg del metabolito 5 y 20 mg del metabolito 6.

ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxi
beyerano (metabolito 4):

P.F. 128-130 °C

$[\alpha]_D^{20} = +61.90^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3550, 1750, 1270, 1250, 880 y 870
cm⁻¹

¹H RMN (δ , 90 MHz): 5.42 (1H, m, $W_{1/2} = 9$ Hz, H-7); 3.75 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 3.66 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 1.5$ Hz) y 3.33 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 2$ Hz) (H-15 y H-16); 2.98 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-14); 2.09 y 2.06 (3H cada uno, s, 2AcO-); 1.21, 1.00 y 0.88 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

¹³C RMN (90.6 MHz): Ver tabla 1 .

EM, m/z (%): 360 (23, M-60), 345 (10), 342 (30), 332 (25), 327 (7), 314 (30), 300 (26), 289 (45), 285 (43), 282 (22), 272 (35), 270 (35), 268 (51), 253 (100).

Análisis elemental. Encontrado: C, 68.20; H, 8.93 . Calculado para C₂₄H₃₆O₆: C, 69.55; H, 8.63 % .

ent-7 α ,18-diacetoxi-3 β ,14 β -dihidroxi-beyer-
-15-eno (metabolito 5):

P.F. 144-5 °C

$[\alpha]_D = +88.80^\circ$ (c 0.5, CHCl₃)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3400, 3060, 1740, 1640, 1260 y
 740 cm⁻¹.

¹H RMN (δ , 90 MHz): 5.57 (Q_{AB} casi colap.,
 H-15 y H-16); 5.18 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-7);
 4.33 y 3.60 (1H cada uno, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-
 -18); 3.33 (1H, m, $W_{1/2} = 18$ Hz, H-3); 3.26 (1H, s,
 H-14); 2.12 y 2.10 (3H cada uno, s, 2 AcO-);
 1.12, 0.83 y 0.79 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17,
 C-19 y C-20)

¹³C RMN (20.13 MHz): Ver tabla 1.

EM, m/z (%): 360(15, M-60), 342 (9), 332 (17),
 327 (11), 313 (9), 300 (6), 292 (52), 267 (66),
 253 (100).

Análisis elemental. Encontrado: C, 68.31; H, 8.89.
 Calculado para C₂₄H₃₆O₆: C, 68.55; H, 8.63 %.

ent-7 α ,18-diacetoxi-3 β ,14 β -dihidroxi-15 α ,16 α -
-epoxibeyerano (metabolito 6):

P.F. 180-2 °C

$[\alpha]_D = +88.04^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3500, 1730, 1270, 1250 y 880 cm⁻¹

¹H RMN (δ , 90 MHz): 5.43 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-7); 4.38 y 3.59 (1H cada uno, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.61 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 1.5$ Hz), 3.33 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 2$ Hz) (H-15 y H-16); 2.98 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-14); 2.10 y 2.06 (3H cada uno, s, 2 AcO-); 1.19, 0.98 y 0.79 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

¹³C RMN (20.13 MHz): Ver tabla 1 .

EM, m/z (%): 376 (60, M-60), 358 (70), 348 (45), 347 (55), 343 (30), 331 (100), 303 (38), 302 (60), 298 (95), 283 (60), 298 (95), 283 (60).

Análisis elemental. Encontrado: C, 65.82; H, 8.43. Calculado para C₂₄H₃₆O₇: C, 66.03; H, 8.31 % .

4.8.- FORMACION DE DERIVADOS

Epoxidación del 7,18-diacetilpusilla- trio1 (2).-

100 mg del producto 2 fué disuelto en 10 ml de CHCl_3 y epoxidado con 250 mg de ácido m-cloroperbenzóico (AMCPB) durante 48 h a 0 °C. Después de su purificación se obtienen 92 mg del ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano, cuyas propiedades físicas y espectroscópicas son idénticas a las del metabolito 4, aislado de esta incubación.

Epoxidación del 7,18-diacetilpusillate- trol (metabolito 5)

50 mg de 7,18-diacetilpusillatetrol (5), aislado de la Sideritis pusilla sp. flavovirens (García-Granados, 1984-2), fué disuelto en 5 ml de CHCl_3 y epoxidado con AMCPB (125 mg). Después de cromatografía en columna se aislan 37 mg del ent-7 α ,18 -diacetoxi-3 β ,14 β -dihidroxi-15 α ,16 α -epo

xibeyerano, cuyas propiedades físicas y espectroscópicas coinciden con las del metabolito 6 aislado en esta incubación.

5.- BIOTRANSFORMACIONES DEL ent-18-ACETOXIKAU-16-EN-3,7-DIONA CON ASPERGILLUS NIGER.

5.1.- ANALISIS FISICOS.-

Los puntos de fusión, las rotaciones específicas y los espectros de IR se realizaron como se indicó en el apartado 4.1. Los espectros de ^1H RMN se realizaron en un espectrómetro Bruker WP80SY a 80 MHz. Los espectros de ^{13}C RMN se realizaron también en el mismo aparato (20.13 Mz) utilizando, al igual que en los espectros de protones, CDCl_3 como disolvente y usando TMS como patrón de referencia interna. Las asignaciones de los desplazamientos químicos de ^{13}C RMN se hicieron con la ayuda del espectro DEPT, usando un ángulo de flip de 135° .

5.2.- AISLAMIENTO DEL ent-18-ACETOXI-3 β ,
7 α -DIHIDROXIKAUR-16-ENO (7)

La materia prima usada en estas experiencias es el ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxi-
-16-eno (linearol, 7) aislado de la Sideritis
almeriensis Pau, estudiada en la parte I de la
presente Memoria.

5.3.- OBTENCION DEL ent-18-ACETOXIKAUR-
-16-EN-3,7-DIONA (8).

2 g de linearol (7) se disuelven en 60 ml de acetona y se oxida con reactivo de Jones en baño de hielo y hasta persistencia de tono anaranjado, tras lo cual se añaden unas gotas de metanol, agua y se extrae con Cl_2CH_2 . Tras cromatografía en columna se obtienen 1.9 g de ent-18-acetoxikaur-16-en-3,7-diona (8):

P.F. Sirupo

$$[\alpha]_D = -22.3 \quad (c \ 1.45, \text{CHCl}_3)$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3070, 1740, 1700, 1660, 1450,
1375, 1240, 1040 y 875 cm^{-1}

^1H RMN: δ , 4.90 (2H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, 2H-17);
 4.20 y 3.80 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18);
 2.00 (3H, s, AcO-); 1.35 (3H, s, C-Me); 1.07
 (3H, s, C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 2.

EM, m/z, (%): 358 (M^+ , 55), 316 (25), 298(40),
 285 (20), 270 (15), 255 (10), 247 (100)

5.4.- INCUBACION DEL ent-18-ACETOXIKAUR -
-16-EN-3,7-DIONA (8) CON ASPERGI -
LLUS NIGER

500 mg del sustrato 8 se disolvieron en 10 ml de EtOH y distribuidos en 10 matraces Erlenmeyer que contenian el cultivo de Aspergillus niger. La incubación se mantuvo durante 48 horas (4 Erlenmeyer) y durante 6 días (6 Erlenmeyer restantes).

a).- Incubación a 48 horas.- Cuando la incubación del sustrato 8 se mantiene durante 48 h sólo se aísla un metabolito (ent-18-hidroxikaur-16-en-3,7-diona, 9, 53 mg):

P.F. 148-150 °C

$[\alpha]_D = -25.7^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3400, 3060, 1695, 1030 y 750 cm^{-1}

^1H RMN (δ): 4.90 (2H, m, $w_{1/2} = 7$ Hz, 2H-17);
3.69 y 3.30 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.35
y 1.02 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19
y en C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla 2.

Análisis elemental. Encontrado: C, 75.63 ; H, 8.98; Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$: C, 75.91; H, 8.92 %).

b).- Incubación a los 6 días.- A los 6 días de incubación del sustrato 8 con Aspergillus niger se aislaron cuatro productos: 20 mg del metabolito 10, 70 mg del metabolito 16, 11 mg del metabolito 17 y 12 mg de una mezcla de productos, cuya acetilación y posterior purificación en cromatografía en columna rinde 6 mg del diacetato 13.

ent-16~~β~~,18-dihidroxicauran-3,7-diona (meta -
bolito 10) :

P.F. 202-4 °C

$[\alpha]_D = - 34.8 \text{ }^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3 \text{)}$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1710, 1360 y 1020 cm^{-1} .

$^1\text{H RMN (} \delta \text{)$: 3.70 y 3.30 (2H, Q_{AB} , $J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 1.41, 1.37 y 1.00 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

Análisis elemental. Encontrado: C, 71.51; H, 8.77. Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_4$: C, 71.82; H, 9.04 %.

ent-16 α ,17,18-trihidroxicauran-3,7-diona (me-
tabolito 16) :

P.F. 168-170 °C

$[\alpha]_D = - 41.6 \text{ }^\circ \text{ (c 1, EtOH)}$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1710, 1350 y 1020 cm^{-1}

$^1\text{H RMN (} \delta \text{)$: 3.70 y 3.30 (2H, Q_{AB} , $J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 3.50 (2H, Q_{AB} colap., 2H-17), 1.35 y 1.00 (3H, cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

Análisis elemental. Encontrado: C, 68.10; H, 8.77. Calculado para $C_{20}H_{30}O_5$: C, 68.54; H, 8.63 %.

ent-16^b,17,18-trihidroxi-kauran-3,7-diona (metabolito 17):

Sirupo

IR (ν_{\max}^{film}): 3560, 1710, 1360 y 1030 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$ (δ): 3.70 y 3.30 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); 3.70 y 3.42 (2H, Q_{AB} , $J.=12$ Hz, 2H-17); 1.25 y 1.00 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20.

Aislamiento del ent-17,18-diacetoxi-16(S)-kauran-3,7-diona (producto 13).- La acetilación de 12 mg de una mezcla de productos aislados en esta incubación con $\text{Ac}_2\text{O/Py}$ (0.5/1 ml) a temperatura ambiente durante 12 h, origina: 5 mg del producto 11 y 6 mg del producto 13:

Sirupo

IR (ν_{\max}^{film}): 3060, 1740, 1710, 1360, 1230
1020 cm^{-1} .

^1H RMN (δ): 4.19 y 3.81 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); centrado a 4.10 (2H, m, 2H-17); 2.06 y 2.00 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.32 y 1.05 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20)

^{13}C RMN: Ver tabla 2.

5.5.- FORMACION DE DERIVADOS Y CORRELACION QUIMICA

Acetilación del metabolito 9.

10 mg del metabolito 9 se disolvieron en 0.5 ml de piridina y 1 ml de Ac_2O manteniendo la reacción durante 2 horas a 0°C . Después de cromatografía en columna se aislaron 7 mg de un producto idéntico al sustrato 2.

Acetilación del metabolito 10.

12 mg del metabolito 10 se acetilaron con $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ (0.5/1 ml) durante 2 h a 0°C , aislándose 9 mg del ent-18-acetoxi-16 β -hidroxikauran-3,7-diona (11):

P.F. 146-8 °C

$[\alpha]_D = -11.32^\circ$ (c 1.08, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1730 y 1250 cm^{-1}

^1H RMN (δ): 4.18 y 3.80 (2H, q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.00 (3H, s, AcO-); 1.42, 1.36 y 1.05 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla 2.

EM, m/z (%): 376 (M^+ , 26), 362 (35), 359 (24), 344 (5), 334 (62), 319 (100), 298 (50), 278 (68), 259 (73).

Análisis elemental. Encontrado: C, 69,83; H, 8,72; Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_5$: C, 70,18; H, 8,57 %.

Acetilación del metabolito 16.

25 mg del metabolito 16 se acetilaron con $\text{Ac}_2\text{O/Py}$ (1/2 ml) durante 2 h a 0 °C. Después de su purificación por cromatografía en columna se aislaron 16 mg del ent-17,18-diacetoxi-16 α -hidroxikauran-3,7-diona (18):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -16.3^\circ \text{ (c } 1, \text{ CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3560, 3060, 1735, 1705, 1360,
1230, 1025 cm^{-1} .

^1H RMN (δ): 4.17 y 3.81 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 4.11 y 3.94 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-17); 2.10 y 1.98 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.33 y 1.04 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla 2 .

Acetilación del metabolito 17.

11 mg del metabolito 17 se acetilaron disolviendolo en 1 ml de piridina y 0.5 ml de Ac_2O , manteniendo la reacción durante 12 h a temperatura ambiente. Al cabo de este tiempo se extrae el producto y se purifica en cromatografía en columna, obteniendose 10 mg del ent-17,18-diacetoxi-16 β -hidroxikauran-3,7-diona (19):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -25^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3560, 3060, 1740, 1710, 1360,
1230 y 1020 cm^{-1} .

^1H RMN (δ): 4.37 y 4.17 (2H, C_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-17); 4.17 y 3.81 (2H, C_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.10 y 1.98 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.33 y 1.04 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

^{13}C RMN: Ver tabla 2.

Hidroboración del sustrato 8 .

100 mg del sustrato 8 se disolvieron en 5 ml de tolueno y se adicionó 80 mg de trimetilaminoborano, calentando en tubo cerrado a 120 $^\circ\text{C}$ durante 3 horas. Posteriormente, bajo agitación magnética y manteniendo la temperatura a 0 $^\circ\text{C}$, se le agregan 1 ml de NaOH 3M y 1 ml de H_2O_2 (30 %), continuando la reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente se lava con agua, $\text{H}_2\text{O}/\text{HCl}$ y H_2O , secando con MgSO_4 anhidro y concentrando a vacío. Posteriormente se disuelve la mezcla resultante en

Cl_2CH_2 y se procede a su purificación por cromatografía en columna, tras la cual se aislan 42 mg de un producto polar (ent-18-acetoxi-3 β ,17-dihidroxi-16(S)-kauran-7-ona, 14):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -53.2^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3540, 3060, 1730, 1700, 1450
1360, 1230 y 1020 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$ (δ): 4.05 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 3.75 (2H, d, $J = 8$ Hz, 2H-17); 3.46 (1H, m, $W_{1/2} = 16$ Hz, H-3), 2.02 (3H, s, AcO-); 1.11 y 1.02 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

Acetilación del producto 14 .

32 mg del producto 14 se disuelven en 0.7 ml de piridina y 1.5 ml de Ac_2O , manteniendo la reacción durante 1 h a 0°C . Después de su purificación en cromatografía en columna se aislan 18 mg del ent-17,18-diacetoxi-3 β -hidroxi-16(S)-kauran-7-ona (15):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -59^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR (ν_{\max}^{film}): 3500, 1730, 1710, 1450, 1360,
1230 y 1020 cm^{-1} .

^1H RMN (δ): 4.16 (2H, m, $W_{1/2} = 10$ Hz, 2H-17);
4.04 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 3.46 (1H, dd,
 $J_1 = 10$, $J_2 = 6$ Hz, H-3); 2.06 y 2.02 (3H cada
uno, s, grupos AcO-); 1.11 y 1.02 (3H cada
uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

Oxidación del producto 15 .

18 mg del producto 15 se disolvieron en
2 ml de acetona y se oxidan con reactivo de Jones.
Tras cromatografía se obtienen 13 mg de un produc
to idéntico al acetato 13:

Sirupo

$[\alpha]_D = -18.6^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR, ^1H RMN y ^{13}C RMN: Ver datos producto 13

Osmilación del sustrato 8 .

200 mg del sustrato 8 se disuelven en 4 ml
de acetona y 1 ml de eter etílico bien secos. A
continuación se añaden 0.5 ml de H_2O_2 (30 %) y 0.5
ml de alcohol ter-butílico conteniendo 0.5 % de
tetróxido de osmio (Daniels, 1963), manteniendo la

reacción con agitación durante 2 horas a temperatura ambiente. Al cabo de este tiempo la mezcla de reacción se concentra a vacío y se extrae varias veces con Cl_2CH_2 , se seca con MgSO_4 y se concentra a vacío. Después de su cromatografía en columna se aislan 96 mg del ent-18-diacetoxi-16 β ,17-dihidroxi-3,7-diona (21):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -11.2^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3560, 3060, 1740, 1700, 1370, 1230 y 1025 cm^{-1}

^1H RMN (δ): 4.17 y 3.81 (2H, Q_{AB} , $J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 3.75 (2H, Q_{AB} colap., 2H-17); 2.00 (3H, s, AcO-), 1.36 y 1.06 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-19 y C-20).

Purificación del alcohol t-butilico.- El alcohol se tiene durante 48 h con permanganato potásico bajo agitación. Posteriormente se filtra, se seca con MgSO_4 anhidro y se le añade de nuevo permanganato potásico y se destila, recogiendo el destilado en el recipiente que se va a utilizar para preparar la disolución catalítica de tetró-

xido de osmio (como las impurezas no se eliminan por este procedimiento, la disolución catalítica es inestable, se vuelve oscura y no es segura para las reacciones de hidroxilación).

Preparación de la disolución catalítica de tetróxido de osmio. - 0.5 g de tetróxido de osmio se disuelven en 100 ml de alcohol t-butílico recién purificado. Esta disolución verdosa es tratada, a continuación, con tres gotas de H_2O_2 (30 %) y se deja a temperatura ambiente durante 1 día. Si la disolución se vuelve oscura se añaden unas gotas de H_2O_2 hasta que persista el color verdoso de la disolución. Esta disolución es estable para al menos un año a temperatura ambiente. Cada ml contiene 2×10^{-5} moles de OsO_4 .

Acetilación del producto 20.

50 mg del producto 20 se acetilaron con Ac_2O/Py (1/2 ml) durante 2 h a $0^\circ C$. Después de su purificación se aislaron 40 mg de un diacetato que es idéntico al previamente descrito 19.

Acetonación del metabolito 16.

40 mg del metabolito 16 se disolvieron en 5 ml de 2,2-dimetoxipropano y se adicionaron 10 mg de p-toluensulfonato de piridinio, manteniendo la reacción durante 2 horas a reflujo. Al cabo de este tiempo se concentra a vacío, se añade Cl_2CH_2 y se lava con agua. Después de su purificación en cromatografía en columna se aislan 33 mg del ent-16 α ,17-isopropilidendioxi-18-hidroxi-kauran-3,7-diona (20):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -17.6 \quad (c \ 1, \text{CHCl}_3)$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 1710 y 1050 cm^{-1}

^1H RMN (δ): 3.85 y 3.71 (2H, Q_{AB} , $J = 8$ Hz, 2H-17); 3.70 y 3.30 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.39 (3H), 1.36 (6H) y 1.02 (3H) (s, grupos metilo en C-19, C-20 y grupo isopropilidendioxi).

^{13}C RMN: Ver tabla 2.

6.- BIOTRANSFORMACION DEL ent-18-ACETOXI-
-8 α -HIDROXILABDA-13(16),14-DIENO POR
RHIZOPUS NIGRICANS

6.1.- OBTENCION DE MATERIA PRIMA

El producto de partida utilizado en esta experiencia es el ent-8 α ,18-dihidroxiabda-13(16),,14-dieno (6-desoxiandalusol, 22), aislado de la Sideritis arborescens subsp Paulii (ver parte I de la presente Memoria).

6.2.- OBTENCION DEL ent-18-ACETOXI-8 α -
-HIDROXILABDA-13(16),14-DIENO (23)

500 mg del producto 22 se disuelven en 20 ml de piridina y 10 ml de Ac_2O y se dejan durante 12 h a temperatura ambiente. Después de su purificación en cromatografía en columna, se obtienen 350 mg del ent-18-acetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16), 14-dieno (23), que es el producto usado en la transformación con Rhizopus nigricans:

Sirupo

IR(ν_{\max}^{film}): 3500, 3100, 1740, 1602, 1245,
910 y 895 cm^{-1}

^1H RMN (80 MHz,): 6.44 (1H, dd, parte X de un sistema A_2B_2X , $J_{AX} + J_{BX} = 28$ Hz, H-14); entre 5.50 y 5.00 (4H, parte A_2B_2 de un sistema A_2B_2X , 2H-15 y 2H-16); 3.99 y 3.70 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.10 (3H, s, AcO^-); 1.18 (3H) y 0.85 (6H) (s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

6.3.- INCUBACION DEL PRODUCTO 23 CON RHIZOPUS NIGRICANS

200 mg del sustrato 23 se disuelven en 4 ml de EtOH y se distribuyen en 4 matraces Erlenmeyer que contienen el cultivo de Rhizopus nigricans. La incubación se mantiene durante 3 días. Al cabo de este tiempo se recuperan los metabolitos y se purifican en cromatografía en columna, obteniendo 15 mg del metabolito 22, 6 mg del metabolito 24 y 10 mg de una mezcla de otros metabolitos.

ent-8 α ,18-dihidroxi-13(16),14-dieno(metabolito 22):

Sirupo

 $[\alpha]_D = -17.5$ (c 0.76, CHCl₃)IR(ν_{\max}^{film}): 3400, 1600, 910 y 890 cm⁻¹.

¹H RMN (80 MHz, δ): 6.37 (1H, dd, parte X de un sistema A₂B₂X, J_{AX} + J_{BX} = 23 Hz, H-14); 5.45-5.00 (4H, parte A₂B₂ de un sistema A₂B₂X, 2H-15 y 2H-16); 3.44 y 3.11 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 1.14, 0.82 y 0.72 (3H cada uno, s, grupos metilo en C-17, C-19 y C-20).

ent-18-acetoxi-16,20-dihidroxi-13-epi-óxido de manoilo (24):

Sirupo

¹H RMN (80 MHz, δ): 5.97 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, J_{AX} + J_{BX} = 29 Hz, H-14); entre 5.25-5.00 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 4.00 y 3.77 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-20); 3.87 y 3.65 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 3.55 y 3.00 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-16); 2.10 (3H, s, AcO); 1.40 (3H, s, 3H-17) y 0.80 (3H, s, 3H-19).

6.4.- FORMACION DE DERIVADOS.

Acetilación del metabolito 24.

6 mg del metabolito 24 se acetilan en $\text{Ac}_2\text{O/Py}$ (0.5/1 ml) durante 12 h a 0°C , obtenien-
dose 4 mg del derivado triacetilado (26), cuyo
espectro de ^1H RMN revela, aún, la existencia del
pico a 1.30 ppm debido a compuestos de cadena li-
neal, por lo que se procede a la eliminación de
los mismos. Para ello, se disuelven los 4 mg del
producto 26 en 1 ml de MeOH y 0.5 ml de AcOEt y
0.25 mg de urea, calentando la mezcla a ebulli-
ción hasta que toda la urea esté disuelta, después
se deja cristalizar. Posteriormente se filtran los
clatratos, se lava con Cl_2CH_2 bien seco y se con-
centra a vacío. Tras su posterior cromatografía en
columna, se aislan 2 mg del producto 26 totalmen-
te purc:

Sirupo

^1H RMN (80 MHz, δ): 5.97 (1H, dd, parte X de
un sistema ABX, $J_{\text{AX}} + J_{\text{BX}} = 29$ Hz, H-14); 5.25-
-4.95 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15);
4.49 y 4.02 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-20); 3.87 y

3.64 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.82 (2H, Q_{AB} colap., 2H-16); 2.07, 2.05 y 2.02 (3H cada uno, s, grupos $AcO-$); 1.29 (3H, s, 3H-17) y 0.82 (3H, s, 3H-19).

Saponificación del producto 26 y acetación del producto de saponificación.

Los 2 mg del producto 26 se saponifican con 2 ml de $MeOH/H_2O$ (70 %) y 0.2 g de KOH durante 5 h a reflujo. Al cabo de este tiempo se observa por cromatografía en capa fina que todo el producto de partida se ha transformado a un producto muy polar cuyo espectro de 1H RMN indica que se trata del producto totalmente saponificado: (80 MHz, δ), 5.94 (1H, dd, parte X de un sistema ABX, $J_{AX} + J_{BX} = 29$ Hz, H-14); 5.25-4.95 (2H, parte AB de un sistema ABX, 2H-15); 4.00 y 3.75 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-20); 3.40 y 3.10 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.32 y 2.98 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-16); 1.42 (3H, s, 3H-17) y 0.72 (3H, s, 3H-19). El producto de saponificación obtenido se disuelve en 3 ml de 2,2-dimetoxipropano con p-toluen-sulfonato de piridinio como catalizador, calen-

tando durante 15 h a reflujo. Al cabo de este tiempo no se observa por cromatografía de capa fina ninguna variación, por lo que se procede a recuperar el producto de partida, indicando su espectro de ^1H RMN que se trata del producto totalmente saponificado que no ha reaccionado.

ent-16,18-dihidroxi-13-epi-óxido de manoilo (25)

Este producto se aisló a partir de la ciclación biomimética del ent-18-acetoxi-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dieno estudiada en la parte I de esta Memoria. Los datos de este producto se han tomado de los que allí figuran para el producto 37 .

ent-16,18-diacetoxi-13-epi-óxido de manoilo (27)

Este producto se obtuvo a partir del producto 25 en la parte I de la presente Memoria. Sus datos se han tomado de los que allí figuran para el producto 27 .

7.- BIOTRANSFORMACIONES DE LA DEOXIVUL-
GARINA CON ASPERGILLUS OCHRACEOUS Y
CON RHIZOPUS NIGRICANS

7.1.- ANALISIS FISICOS

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Koffler y están sin corregir. Los espectros de ^1H RMN se registraron en un espectrómetro Perkin Elmer R-32 a 90 MHz, usando CDCl_3 como disolvente y TMS como patrón de referencia interna. Los espectros de IR se han realizado en disolución de cloroformo en un espectrofotómetro Perkin Elmer 631. Los espectros de UV se realizaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer 402. Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro VG Micromass ZAB-2F a baja resolución, con ionización electrónica.

7.2.- AISLAMIENTO DE VULGARINA (28)

La materia prima utilizada en estas experiencias fué la vulgarina, aislada de la Artemisia canariensis Lees (Gonzalez, 1973-5).

1 Kg de planta fresca rinden 1 g de vulgarina (28):

P.F. 170 °C

$[\alpha]_D = + 40.3^\circ$

UV: λ_{\max} 215 nm ($\epsilon = 10.400$) y 320 nm
($\epsilon = 95$)

IR (ν_{\max}): 3480, 1770 y 1660 cm^{-1}

^1H RMN(90 MHz, δ): 6.55 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-2); 5.82 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-3); 4.09 (1H, dd, $J_1 = 11$ Hz, $J_2 = 10$ Hz, H-6); 1.50 (3H, s, 3H-14); 1.17 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-13); 1.12 (3H, s, 3H-15).

7.3.- OBTENCION DE LA DEOXIVULGARINA (29)

1 g de vulgarina (28) se disuelven en 30 ml de ácido acético y se calienta hasta ebullición. Entonces se añade Zn (activado previamente

te con HCl) (1.5 g) durante 20 minutos. Después se enfría y se filtra. El Zn se lava con CHCl_3 . La disolución resultante se concentra hasta la mitad y se lava con NaCO_3H y agua. Después de la separación de los productos obtenidos por cromatografía en columna, se aislaron 850 mg de deoxivulgarina (29):

P.F. 138-9 °C

$[\alpha]_D = +75^\circ$

IR(ν_{max}): 1775 y 1705 cm^{-1} .

^1H RMN (90 MHz, δ): 5.59 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-3); 4.09 (1H, dd, $J_1 = 11$, $J_2 = 10$ Hz, H-6); 1.96 (3H, sa, 3H-15); 1.24 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-13) y 1.13 (3H, s, 3H-14).

7.4.- INCUBACION DE LA DEOXIVULGARINA CON ASPERGILLUS OCHRACEOUS

300 mg del sustrato 29 se disuelven en 6 ml de EtOH y se distribuyen en 6 matraces Erlenmeyer que contienen el cultivo de Aspergillus ochraceus. El tiempo de incubación es de

30 horas. Pasado este tiempo se recuperan los metabolitos producidos y se purifican por cromatografía en columna, obteniéndose: 90 mg del metabolito 30 y 28 mg de vulgarina (28).

11,13-dihidrodouglanina (metabolito 30) :

P.F. sublima a 139 °

$[\alpha]_D = +119$ ° (c 1.85, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$): 3600, 3500, 1760 y 1230 cm^{-1}

^1H RMN (90 MHz, δ): 5.33 (1H, m, $W_{1/2} = 9$ Hz, H-3); 4.05 (1H, dd, $J_1 = 11$, $J_2 = 9$ Hz, H-6); 3.40 (1H, d, $J = 4$ Hz, H-1); 1.88 (3H, sa, 3H-15); 1.22 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-13); 0.83 (3H, s, 3H-14).

EM, m/z (%): 250 (M^+ , 2), 232 (100), 217 (29), 207 (8), 206 (7), 204 (3), 203 (4), 194 (2), 193 (2), 189 (3), 177 (2), 176 (5).

7.6.- INCUBACION DE LA DEOXIVULGARINA
CON RHIZOPUS NIGRICANS

300 mg del sustrato 29 se disolvieron en 5 ml de EtOH y se distribuyeron en 6 matraces Erlenmeyer que contenian el cultivo de Rhizopus nigricans. Pasadas 30 horas de incubación se recuperan los metabolitos producidos y se purifican por cromatografía en columna, aislándose : 24 mg del metabolito 32, 42 mg del metabolito 36 y 12 mg de vulgarina (28).

1 β -hidroxi-2-ceto-11(S)-eudesm-3-en-6 α ,13-olido (metabolito 32):

P.F. 130-2 °C

IR($\nu_{\max}^{\text{CHCl}_3}$): 3460, 1770, 1703, 1665, 1620 y
 1230 cm^{-1} .

^1H RMN (90 MHz, δ): 6.08 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-3), 4.03 (1H, dd, $J_1 = 11$, $J_2 = 9$ Hz, H-6); 3.96 (1H, s, H-1); 2.71 (1H, d, $J = 11$ Hz, H-5) 2.20 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, 3H-15); 1.27 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-13); 0.85 (3H, s, 3H-14).

EM, m/z (%): 264 (M, 4), 246 (14), 236(8),

218 (22), 191 (5), 176 (15), 165 (16), 153
 (19), 151 (16), 147 (10), 135 (21), 125(16),
 123 (13), 121 (9), 111 (100).

Erivanina (metabolito 36):

P.F. 202-3 °C

$[\alpha]_D = +104^\circ$ (c 0.2, CHCl_3)

IR($\mu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$): 3600, 3500, 3050, 1770, 1645 cm^{-1}

^1H RMN (90 MHz, δ): 5.19 y 5.04 (1H cada uno,
 s, 2H-15); 4.42 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-3) ;
 4.07 (1H, dd, $J_1 = 11$, $J_2 = 11$ Hz, H-6); 3.38 (
 (1H, m, $W_{1/2} = 9$ Hz, H-1); 3.04 (1H, d, $J = 11$
 Hz, H-5); 1.22 (3H, d, $J = 8$ Hz, 3H-13); 0.80
 (3H, s, 3H-14).

EM, m/z, (%): 266 (M^+ , 9); 248 (90), 233
 (42), 230 (33), 219 (48), 215 (30), 202 (27),
 187 (27), 175 (99), 165 (48), 157 (84), 151
 (73), 145 (100).

7.7.- REDUCCION DE LA DEOXIVULGARINA
CON BH₄Na.

50 mg de deoxivulgarina (29) se disuelven en 5 ml de EtOH y se añaden 10 mg de BH₄Na, manteniendo la reacción durante 30 minutos a temperatura ambiente. Trás recuperar los productos obtenidos y purificarlos por cromatografía en columna, se aislan 38 mg de dihidrosantamarina (31)

Sirupo

$[\alpha]_{\text{D}} = +47^{\circ}$ (c 1, CHCl₃)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3445, 3026, 1767 y 1226 cm⁻¹

¹H RMN (90 MHz, δ): 5.31 (1H, m, $W_{1/2} = 9$ Hz, H-3); 3.95 (1H, dd, $J_1 = 11$, $J_2 = 9$ Hz, H-6); 3.65 (1H, m, $W_{1/2} = 20$ Hz, H-1); 1.80 (3H, sa, 3H-15); 1.21 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-13); 0.89 (3H, s, 3H-14).

7.8.- TRANSFORMACION DE LA DEOXIVULGARINA (29) A VULGARINA (28).

250 mg de deoxivulgarina (29) se disuelven en 20 ml de CHCl_3 y se añaden 300 mg de ácido m-cloroperbenzoico, dejando la reacción a temperatura ambiente durante 8 horas. Al cabo de este tiempo recupero los productos de la reacción y los purifico en cromatografía en columna, obteniendo 45 mg del producto de partida (29) y 185 mg de vulgarina (28).

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..
... ..

P A R T E III

111 37009

P A R T E T E O R I C A

ADIRDT 1990

I I I P A R T E ^{13}C RMN DE ent-BEYERENOS Y ent-BEYERANOS
FUNCIONALIZADOS EN LOS CICLOS B, C y D

En esta parte de la Memoria se aborda el efecto de los sustituyentes en los desplazamientos químicos de ^{13}C relacionados con la estereoquímica de compuestos ent-beyer-15-énicos y ent-beyeránicos sustituidos en la parte biciclo [3.2.1]octánica del mismo.

La resonancia magnética nuclear de carbono trece es una técnica ya usual hoy día que permite las asignaciones de estructuras, naturalmente en combinación con otras técnicas. Aunque los modernos procedimientos de correlación Carbono-hidrógeno y otras técnicas bidimensionales permiten determinar conectividad en un esqueleto hidrocarbonado, no es menos cierto que, sobre to

do a nivel de conectividad, todavía existen problemas para la asignación de grupos metilénos del sistema carbocíclico.

Todavía es útil el cálculo mediante reglas de aditividad, de los desplazamientos químicos en ^{13}C RMN, siendo los datos bibliográficos muy escasos para sistemas carbocíclicos rígidos altamente funcionalizados. La pronunciada sensibilidad de los desplazamientos químicos en ^{13}C RMN a la geometría molecular es un hecho generalmente aceptado, lo que permite la asignación de las estereoquímicas en muchos sistemas. Usualmente los desplazamientos químicos de un compuesto monosustituido se pueden calcular, si es posible, basándose en los desplazamientos del hidrocarburo de origen siempre y cuando se conozcan los efectos producidos por un sustituyente.

Nuestro objetivo es, por una parte, comprobar el efecto de sustituyentes, no estudiados hasta ahora sobre el equivalente a un sistema biciclo[3.2.1] oct- Δ^6 -eno así como los efectos

en sistemas saturados en cuanto a tratar de ver si los efectos publicados sobre sistemas biciclo [3.2.1]octánicos aislados son transplantables, y viceversa, a la parte correspondiente de los sistemas beyeránicos.

Por tanto en nuestro caso trabajamos, en una primera etapa, con derivados disustituídos, si bien, uno de estos grupos sustituyentes, situado sobre C-18 del compuesto ent-beyeránico, no debe influir prácticamente nada en los desplazamientos químicos de los carbonos de los ciclos C y D. Así, los efectos de los sustituyentes para un grupo exo y endo sobre C-14 los hemos calculado por comparación directa de los desplazamientos químicos observados en el compuesto apropiado con difuncionalización sobre C-14 y C-18 respecto del hidrocarburo de base (von Carsten, 1975).

Las asignaciones para las señales de ^{13}C RMN tanto en ent-beyeranos como en ent-beyerenos se han realizado sobre todo con la ayuda de espectros de " off resonance " cuando se ha realizado en alta resolución (90 MHz). Con posterioridad algunas de estas asignaciones se ha comprobado mediante experimentos DEPT (Dodrell, 1982). En algún caso, tanto los espectros de BB como de DEPT, han sido realizados a 20.13 MHz. Las asignaciones se hicieron además basándose en consideraciones generales de efectos de sustituyentes , desplazamientos por acetilación y datos bibliográficos de estructuras relacionadas (Sthoters, 1975 , 1977 ; Lipmaa, 1976 ; Heuman, 1979; Kastury, 1982; Forrest, 1979 ; Chalmers, 1977; von Carsten, 1975, 1977; García-Granados, 1984-2) y argumentos generales de desplazamiento químico. De esta manera se pudieron asignar prácticamente todos los compuestos sin problemas excesivos y en caso de algunas ambigüedades, la asignación se realizó teniendo en cuenta el conjunto de la serie de productos estudiados. Es preciso señalar que confirmamos las asignaciones hechas con respecto al hidrocarburo base (von Carstenn, 1975).

Teniendo en cuenta el grán número de compuestos estudiados, y con objeto de realizar una discusión sistemática de los efectos de los sustituyentes, los resultados se dan presentados se paradamente por grupos homogéneos.

1.- ESTUDIO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR LA HIDROXILACION SOBRE C-14

En la tabla 1 aparecen reseñados los desplazamientos químicos, en ppm con respecto al TMS, de los 14-hidroxi-beyeranos y 14-hidroxi-beyerenos junto con algunos derivados acetilados y los sistemas de referencia (compuestos 2 y 4, von Carstenn, 1975, 1977).

1.1- HIDROXILACION SOBRE C-14 EN SISTEMAS ent-BEYERANICOS

En el caso de los compuestos 14-hidroxi-beyeránicos, podría existir un cierto paralelismo con los 8-hidroxi derivados de los sistemas biciclo[3.2.1]octánicos (Sthoters , 1977) aunque en el caso de los beyerenos, en cierto modo, la movilidad conformacional del ciclo C podría

TABLA 1

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>11</u>	<u>12</u>
C-1	39.12	39.70	39.42	39.30	38.57	38.70	39.54	39.50	39.30	38.87	38.88	38.40
2	17.64	18.50	17.67	18.70	17.86	17.71	17.85	17.69	17.61	18.00	17.92	17.51
3	35.85	42.00	35.74	42.20	35.93	35.75	35.30	35.13	35.52	35.29	35.24	35.45
4	36.45	33.10	36.39	33.30	36.52	36.35	37.53	37.46	36.27	37.56 ^c	37.17	36.15
5	50.02	56.50	49.96	56.10	49.47	49.27	49.01	48.99	49.46	48.47	48.53	48.80
6	19.85	20.40	19.71	20.30	19.76	19.32	19.80	19.57	19.44	19.24	19.51	19.23
7	38.12	41.20	35.21	37.40	33.21	31.44	35.23	34.90	34.76	31.52	30.76	32.19
8	45.19	44.90	48.73	49.10	49.55	53.75	48.81	48.42	48.27	53.91	52.85	47.80
9	46.70	56.90	56.05	52.00	44.55	52.97	55.99	55.80	55.71	53.00	52.73	52.42
10	37.21	37.60	37.52	37.40	36.88	37.12	37.62	37.57	37.55	37.19	37.51	36.96
11	19.23	20.20	19.46	20.50	18.83	19.55	19.28	19.06	19.13	19.67	19.17	18.90
12	32.37	40.00	38.68	33.70	25.85	32.71	38.74	38.37	38.26	32.81	32.46	30.44
13	40.06	39.20	43.65	43.60	44.71	48.92	43.72	43.36	43.26	49.06	48.13	47.80
14	83.63	57.70	91.99	61.30	85.16	93.72	92.15	93.06	92.79	93.89	94.82	94.27
15	29.46	33.60	31.07	135.20	134.56	132.06	31.20	31.66	31.53	133.00	132.64	132.24
16	31.84	37.60	35.21	136.10	134.64	133.96	35.23	35.64	35.52	134.03	133.55	133.20
17	25.00	27.10	21.53	25.00	22.12	19.32	21.61	21.72	21.64	19.43	19.06	18.90
18	73.33	33.70	73.12	33.80	73.24	72.92	72.26	72.33	72.65	72.17	72.27	72.37
19	17.64	21.90	17.67	22.00	17.76	17.71	17.85	17.69	17.61	17.85	17.75	17.51
20	15.88	15.10	15.73	15.10	16.27	15.75	15.86	15.76	15.63	15.93	15.82	15.47
CH ₃	20.96		20.93		21.13	20.89		20.93	20.80		20.93	20.70
CH ₃									20.80			20.60
CO	171.30		171.11		171.32	171.07		171.21	170.94		171.49	170.90
CO									170.85			170.95

estar restringida. Los ciclos B y C presentan una unión trans y, por tanto, el anillo C ciclohexánico debe adoptar fundamentalmente una conformación de silla. En cualquier caso, este anillo, está aplanado en C-9 y C-12, situación que debe acentuarse en los derivados Δ^{15} a causa de que el enlace 15,16 es más corto. De todas formas, es preciso tener en cuenta que ha sido previamente indicado por otros autores (Stho - ters, 1977) que en el esqueleto biciclo [3.2.1] octánico, las sustituciones 3-endo y 6-endo podrían introducir interacciones no enlazantes de magnitud suficiente como para alterar la confor mación del anillo de seis miembros de este es - queleto. Es posible que el sustituyente 14-endo del esqueleto beyeránico pudiera también alte - rar, en cierto grado, el anillo C del sistema beyeránico.

Los efectos producidos por un grupo hi - droxilo endo sobre C-14 pueden ser deducidos de la comparación del desplazamiento químico del producto 1 y el compuesto de referencia 2, des

pués de corregir los efectos debidos a un grupo acetoxilo sobre C-18, por lo que nosotros hemos tomado arbitrariamente los datos que pueden extraerse de la referencia (Gonzalez, 1977), y aparecen indicados en la tabla 2 junto con los que se han publicado para el biciclo[3.2.1]octano con un grupo hidroxilo endo sobre C-8, que es el equivalente a C-14 del sistema beyeránico.

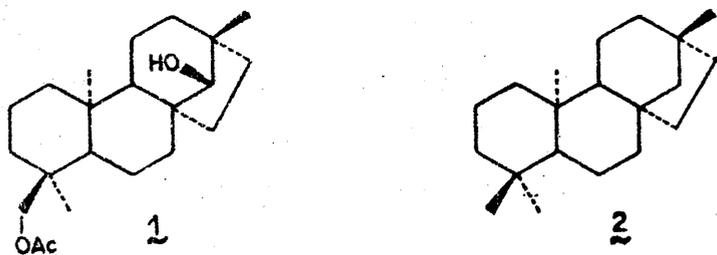
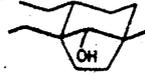
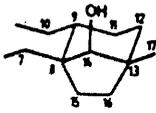


TABLA 2



$\delta(\tilde{1}) - \delta(\tilde{2})$

(a)

$\delta(\tilde{3}) - \delta(\tilde{2})$

(a)

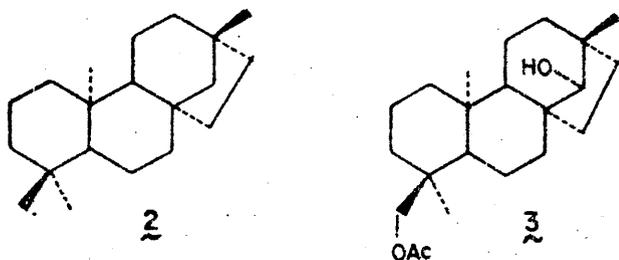
C-7	- 3.08		- 5.99	
8	+ 0.29	+ 2.60	+ 3.83	+ 7.00
9	-10.20	- 7.40	- 0.85	- 1.50
10	- 0.39		+ 0.02	
11	- 0.97	- 1.30	- 0.74	- 2.00
12	- 7.63	- 7.40	- 1.82	- 1.50
13	+ 0.86	+ 2.60	+ 4.45	+ 7.00
14	+ 25.93	+ 35.00	+ 34.29	+ 42.50
15	- 4.14	- 4.30	- 2.53	- 2.70
16	- 5.76	- 4.30	- 2.39	- 2.70
17	- 2.10		- 5.57	

(a) Sthoters 1977

En primer lugar, llama la atención el pequeño efecto α (~ 10 ppm por debajo del valor que podía preverse). Es posible que este bajo efecto α pudiera estar relacionado con el gran efecto γ que este grupo hidroxilo produce sobre C-9 ($\Delta\delta = -10.20$) y con el más moderado efecto γ observado sobre C-12 ($\Delta\delta = -7.63$). Quizás la moderación relativa del efecto γ sobre C-12 (al menos cuando se compara con el efecto γ sobre C-9) pudiera deberse a una deformación del anillo ciclohexánico precisamente en esta zona de C-12. Sin embargo, la zona de C-9 es más rígida por la unión trans con el ciclo B. Observese que el efecto γ para C-12 es parecido al observado para el endo-8-hidroxibiciclo[3.2.1]octano (Sthoters, 1977) y también con el descrito para un grupo acetoxi axial sobre C-12 respecto a C-14 en los compuestos ent-beyer-15-enos (von Carsten, 1977). Esto indicaría que cuando la deformación del ciclo es posible, la deformación ocurre y el efecto γ disminuye en cierto grado. Los efectos γ -anti observados para C-15

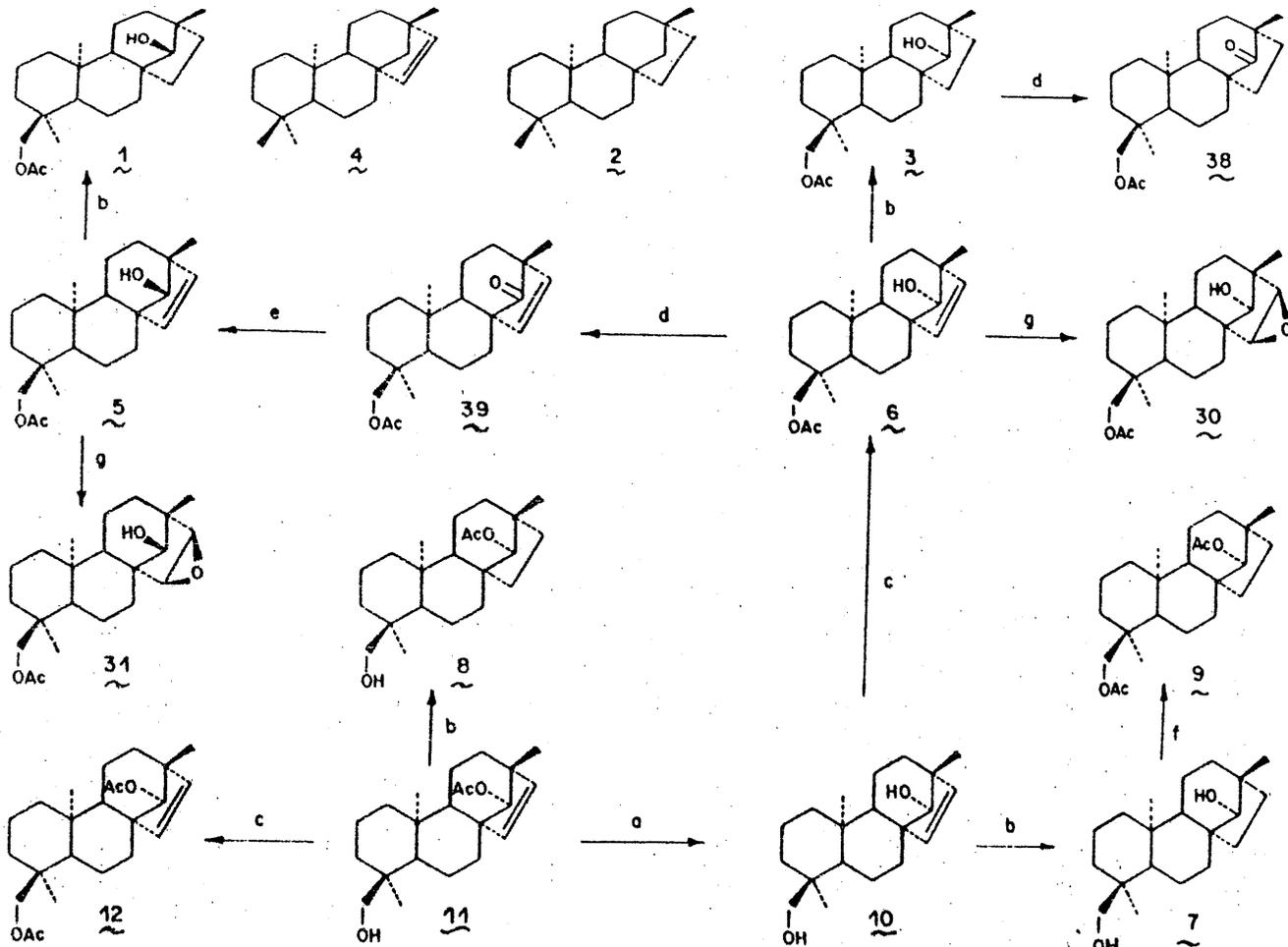
y C-16 tienen valores notables, cosa que por otra parte era de esperar ya que se trata de efectos γ -anti transmitidos a través de hidrógenos con una disposición aproximada 1,3-diaxial (Sthoters, 1977; Forrest, 1979). Sin embargo, es preciso señalar que estos efectos no son iguales para C-15 y C-16 , aunque teóricamente el grupo hidroxilo sobre C-14 debía de estar en un plano bisectriz con ambos protones . Esto quizás, sea otra indicación adicional de una deformación asimétrica de la parte biciclo [3.2.1] octánica del esqueleto beyeránico.

Los efectos producidos por un grupo hidroxilo en disposición exo sobre C-14 se han calculado por comparación de los desplazamientos asignados para el producto 3 con respecto al compuesto de referencia 2 y aparecen indicados en la tabla 2 junto con los datos de referencia (Sthoters , 1977).



Como puede comprobarse, en esta ocasión, el efecto α no es tan pequeño, posiblemente porque este tipo de sustitución de carácter ecuatorial con respecto al anillo de 6 miembros no deforma ningún anillo. Quizás la prueba de ello la tengamos en que los efectos γ observados para C-15 y C-16 son de una magnitud parecida como corresponde a una disposición aproximadamente equidistante del grupo hidroxilo en cuestión con respecto a los carbonos observados. Los efectos γ -anti observados para C-9 y C-12 son apantallantes ($\Delta\delta = -0.91$ y -1.26 respectivamente), lo que está de acuerdo con lo indicado en primer lugar por Sthoters (1977) y generalizado en posteriores trabajos (Forrest, 1979) debido al hecho de que existen interacciones 1,3-diaxiales que permiten el efecto γ apantallante.

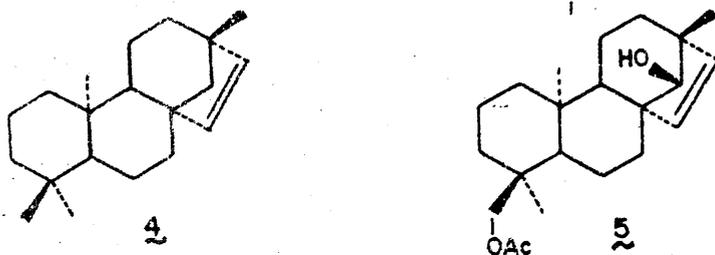
La acetilación de este grupo hidroxilo en C-14 (productos g y g') dá lugar a unos efectos apantallantes similares a los descritos para el exo-8-hidroxibiciclo[3.2.1]octano (Sthoters, 1977).



a) MeOH / H₂O / OH⁻ ; b) H₂ / Pd ; c) Ac₂O / PI, 0°C ; d) CrO₃ ; e) BH₄Na ;
 f) Ac₂O / PI refluxo ; g) AMCPB ; h) BH₃TMA ; i) H₂O₂ / OH⁻

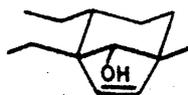
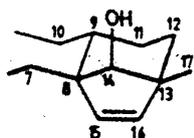
1.2.- HIDROXILACION SOBRE C-14 EN SISTEMAS ent-BEYERENICOS

Veamos ahora los efectos producidos por una hidroxilación sobre C-14 en compuestos con insaturación en C-15. Así, la diferencia entre el producto 5 y el producto de referencia 4 (von Carstenn, 1975), indican los efectos producidos por un grupo endo. y se indican en la tabla 3.



Como puede comprobarse, también en esta ocasión el efecto α es pequeño ($\Delta\delta = + 27.79$). Sin embargo, y a diferencia de lo que sucedía en sistemas saturados, el efecto γ sobre C-9 y C-12 tienen ahora un valor similar. Probablemente el acortamiento del enlace C-15-C-16, debido a su

TABLA 3

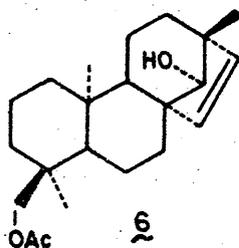
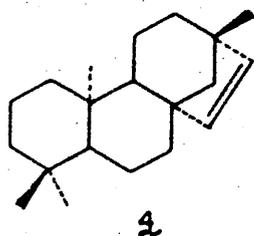


	$\delta(\underline{5}) - \delta(\underline{4})$	$\delta(\underline{6}) - \delta(\underline{4})$
C-7	- 4.19	- 5.86
8	+ 0.45	+ 4.97
9	- 8.45	+ 0.03
10	- 0.52	- 0.21
11	- 1.67	- 1.15
12	- 7.85	- 1.14
13	+ 1.11	+ 5.68
14	+ 23.85	+ 31.12
15	- 0.64	- 4.11
16	- 1.46	- 3.89
17	- 2.88	- 4.07

caracter de insaturado, produce un aplanamiento de ambos lados del ciclo C, por lo que el efecto apantallante producido en este caso es menor, acercándose al valor obtenido para C-12. De todas formas, y a pesar de la disminución de estos efectos γ , como el efecto α es más pequeño que en el caso de compuestos saturados, es preciso concluir que estos efectos no sólo son debidos a factores estéricos sino que, por supuesto, también dependen de otros factores como son la tensión en el anillo y el tipo de enlaces presentes en la molécula. Los efectos β sobre C-8 y C-13 son muy pequeños. Sin embargo los efectos γ -gauche sobre C-7 y C-17 son mayores que en los sistemas saturados y el efecto γ -anti sobre C-15 y C-16 es más pequeño, posiblemente debido a que, en este caso, C-15 y C-16 son planos y debe disminuir sustancialmente la compresión estérica.

Los efectos producidos por un grupo hidroxilo con disposición exo sobre C-14 en ent-beyer-15-enos se indican en la tabla 3, habiendo sido calculados estos valores por diferencia entre

los desplazamientos asignados al producto 6 y los del compuesto de referencia 4 (von Carstenn, 1975).



El efecto α observado para un grupo hidroxilo 14-exo, es también más pequeño que en el caso del correspondiente sistema saturado (producto 3). El efecto β producido por este grupo sobre C-8 y C-13 presenta valores que podemos considerar como normales y otro tanto cabe decir de los efectos γ observados sobre C-15 y C-16 . Sin embargo, los efectos γ -anti sobre C-9 y C-12 son muy bajos aunque en ambos casos sigue habiendo, lo mismo que en el sistema saturado, interacciones 1,3-diaxiales entre los protones, lo cual confirma la observación (Forrest, 1979) de que el desplazamiento a campo alto o a campo bajo producido por un sustituyente γ -anti depende en

gran medida de características estructurales, sobre todo de ángulos de enlace y tensiones en los anillos.

2.- ESTUDIO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR LAS HIDROXILACIONES SOBRE C-7 Y C-14

Las asignaciones realizadas sobre polihidroxicompuestos se presentan en las tablas 4 (sistemas saturados) y 5 (compuestos con in saturación en C-15). Con objeto de facilitar el comentario de los datos obtenidos, en las tablas 6 (sistemas saturados) y 7 (sistemas insaturados) se indican los efectos que se ha estimado que producen grupos hidroxilos situados sobre C-7, C-15 ó C-16, los cuales han sido calculados respectivamente por comparación de los 7, 14-dihidroxicompuestos respecto a los correspondientes 14-hidroxicompuestos o por comparación del 15 ó 16-hidroxiderivado (productos 20 y 21) con respecto al producto correspondiente sin tal tipo de sustitución (producto 17).

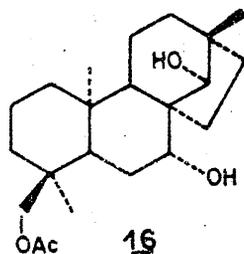
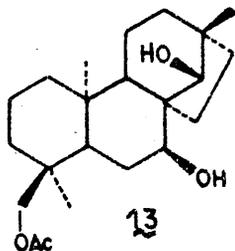
TABLA 4

	<u>13</u>	<u>14</u>	<u>15</u>	<u>16</u>	<u>17</u>	<u>18</u>	<u>19</u>	<u>20</u>	<u>21</u>
C-1	38.88	38.76	39.12	39.11	38.94	38.94	39.41	38.88	38.93
2	17.58	17.57	17.63	17.49	17.64	17.51	17.96	17.63	17.13
3	35.61	35.53	35.61	35.42	35.41	35.34	34.91	35.30	35.36
4	36.57	35.34	36.42	36.16	36.04	36.05	36.87	36.04	36.04
5	39.74	46.96	39.63	47.11	41.66	41.40	37.78	41.77	41.43
6	27.95	29.35	27.28	28.41	24.74	24.42	25.91	24.68	24.85
7	78.78	71.58	72.62	74.86	75.51	74.29	71.16	71.42	75.51
8	47.29	50.49	53.13	53.35	52.28	51.23	53.60	55.29	51.43
9	42.52	45.98	51.10	55.38	51.09	51.41	50.40	49.78	50.30
10	37.34	37.41	37.47	37.78	37.68	37.64	37.78	37.97	37.57
11	19.08	19.03	19.52	19.39	19.28	19.18	19.13	18.77	18.83
12	31.90	31.45	38.55	38.09	37.97	37.59	37.89	36.89	35.75
13	40.84	39.60	43.30	43.51	43.36	43.60	43.41	42.80	46.60
14	83.73	77.64	88.23	93.30	86.76	88.28	89.95	86.92	87.10
15	28.32	18.85	30.14	21.24	29.39	29.95	29.68	74.09	42.17
16	32.89	32.14	35.02	34.56	34.45	35.00	34.91	48.19	79.20
17	24.81	25.01	21.45	20.97	21.55	21.79	21.87	21.67	17.47
18	72.04	72.93	72.17	72.96	72.67	72.43	71.03	72.73	72.67
19	17.87	17.78	17.76	17.64	17.64	17.71	17.96	17.63	17.70
20	15.71	16.02	15.42	15.68	15.76	15.65	15.64	15.65	15.65
CH ₃	21.25	21.13	21.27	20.97	21.55	21.45	20.94	21.55	21.56
CH ₃					21.05	21.08		21.06	21.05
CH ₃						21.02			
CO	172.09	171.51	171.94	171.23	170.98	170.98	171.77	171.83	171.20
CO					170.98	170.85		171.09	170.98
CO						170.32			

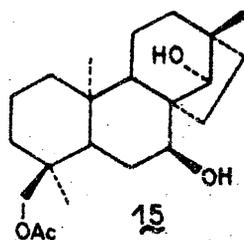
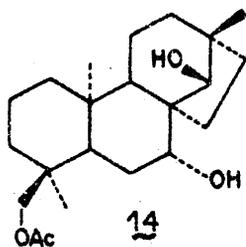
TABLA 5

	<u>22</u>	<u>23</u>	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>27</u>	<u>28</u>	<u>29</u>
C-1	38.38	38.24	38.57	38.57	38.31	38.25	38.30	38.07
2	17.75	17.77	17.81	17.77	17.64	17.64	17.64	17.75
3	35.69	35.64	35.82	35.59	35.70	35.47	35.48	35.68
4	36.70	36.40	36.37	36.36	36.15	36.04	36.12	36.43
5	39.91	46.25	40.16	46.50	42.23	41.55	41.57	46.72
6	28.37	29.38	26.92	28.42	25.30	24.74	24.61	25.82
7	74.99	70.28	68.57	73.77	75.68	71.19	70.84	72.86
8	52.13	55.90	58.71	59.39	52.79	57.51	56.14	54.56
9	39.91	43.08	47.54	51.86	47.91	48.02	47.95	43.38
10	36.96	36.74	37.03	37.15	37.17	37.12	37.25	36.72
11	18.61	18.71	19.29	19.47	19.85	19.17	19.11	18.74
12	25.77	25.52	32.52	32.37	32.80	32.12	31.70	25.23
13	45.24	44.64	48.65	48.83	43.88	49.04	48.54	43.97
14	84.75	79.23	90.87	95.62	56.54	89.82	90.60	79.55
15	131.86	130.03	131.30	129.84	132.42	130.54	129.97	130.33
16	136.39	136.82	135.03	134.71	138.10	135.60	135.18	135.76
17	22.00	22.10	19.08	18.92	24.73	19.17	19.02	22.31
18	71.99	72.87	72.37	72.82	72.61	72.39	72.33	72.71
19	17.87	17.77	17.67	17.77	17.64	17.64	17.73	17.82
20	15.68	16.17	15.21	15.64	15.08	15.31	15.32	16.18
CH ₃	21.26	21.13	21.21	21.08	21.27	21.27	21.27	21.30
CH ₃					21.05	20.99	21.04	21.08
CH ₃							20.96	
CO	172.12	171.48	171.75	171.28	170.98	170.87	171.21	171.74
					170.55	170.30	170.95	171.34
							170.22	

En el caso de los 7,14-dihidroxicompu-
 es interesante observar que los efectos α
 sobre C-7 dependen, en gran medida de la este-
 reoquímica del grupo hidroxilo situado sobre C-14
 (y que resulta ser una posición γ con respecto
 a C-7), Así, el efecto α para C-7 en compues-
 tos con dos grupos hidroxilo situados en dispo-
 sición sin (compuestos 13 y 16) son mayores

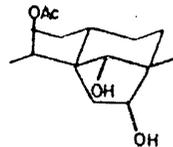
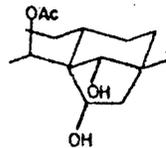
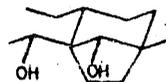
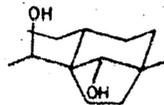
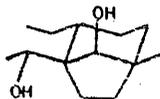
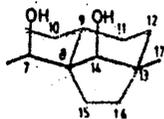


que los observados en el caso de compuestos que
 poseen grupos hidroxilo en disposición γ -gauche
 (compuestos 14 y 15). Los efectos γ -sin ob-



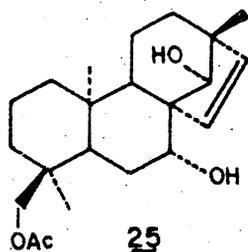
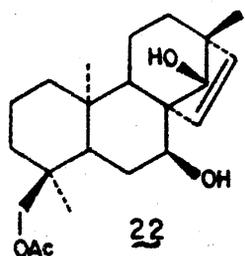
servados para los compuestos 7,14-dihidroxilados
 resultan ser muy interesantes (esta situación se

TABLE 6



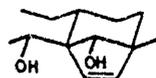
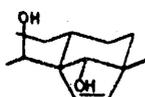
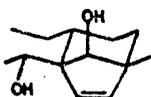
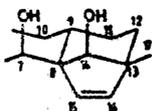
	$\delta(\underline{13}) - \delta(\underline{1})$	$\delta(\underline{14}) - \delta(\underline{1})$	$\delta(\underline{15}) - \delta(\underline{3})$	$\delta(\underline{16}) - \delta(\underline{3})$	$\delta(\underline{20}) - \delta(\underline{17})$	$\delta(\underline{21}) - \delta(\underline{17})$
C-7	+ 40.66	+ 33.41	+ 37.41	+ 39.65	- 4.09	0.00
8	+ 2.10	+ 5.30	+ 4.40	+ 4.67	+ 3.01	- 0.85
9	- 4.18	- 0.82	- 4.95	- 0.67	- 1.31	- 0.79
10	+ 0.13	+ 0.20	- 0.15	+ 0.16	+ 0.29	- 0.11
11	- 0.15	- 0.20	+ 0.06	- 0.07	- 0.51	- 0.45
12	- 0.47	- 0.92	- 0.13	- 0.59	- 1.08	- 2.22
13	+ 0.78	- 0.46	- 0.35	- 0.14	- 0.56	+ 3.24
14	+ 0.10	- 5.99	- 3.76	+ 1.31	+ 0.16	+ 0.34
15	- 1.14	-10.61	- 0.93	- 9.83	+ 44.70	+ 12.78
16	+ 1.05	+ 0.30	- 0.19	- 0.65	+ 13.74	+ 44.75
17	- 0.19	+ 0.01	- 0.08	- 0.30	+ 0.12	- 4.08

da en los productos 13, 16, 22 y 25). Ha sido pu



blicado (Sthoters, 1975) que los carbonos muy cercanos a un núcleo en posición γ (que no sea hidrógeno) con orientación sin-axial produce efectos desapantallantes en lugar de lo normal que es producir efectos γ apantallantes. Esta observación se cumple perfectamente para los compuestos 13 y 22, y nosotros hemos observado que este comportamiento es también aplicable para el caso de 7,14-dihidroxicompuestos con grupos hidroxilo sin-ecuatoriales, tales como los compuestos 16 y 25 que presentan efectos γ por valor de $\Delta\delta = +1.31$ y $+1.90$ respectivamente (vea-se tablas 6 y 7). Por otra parte, en los compuestos saturados 13 y 16, que poseen un grupo hidroxilo ecuatorial en C-7 se observa un potente efecto γ -gauche sobre C-15 ($\Delta\delta = -10.61$ y -9.83 respectivamente), mientras que para sis-

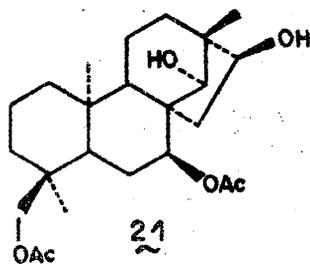
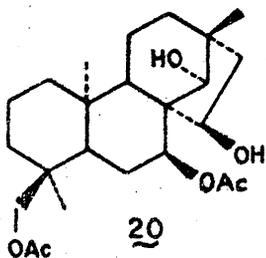
TABLA 7



	$\delta(22) - \delta(5)$	$\delta(23) - \delta(5)$	$\delta(24) - \delta(6)$	$\delta(25) - \delta(6)$
C-7	+ 41.78	+ 37.07	+ 37.13	+ 41.33
8	+ 2.58	+ 6.35	+ 4.96	+ 5.64
9	- 4.64	- 1.47	- 5.43	- 1.11
10	+ 0.08	- 0.14	- 0.09	+ 0.03
11	- 0.22	- 0.12	- 0.26	- 0.08
12	- 0.08	- 0.33	- 0.19	- 0.34
13	+ 0.53	- 0.07	- 0.27	- 0.09
14	- 0.41	- 5.93	- 2.85	+ 1.90
15	- 2.70	- 4.53	- 1.56	- 3.02
16	+ 1.75	+ 2.18	+ 1.07	+ 0.75
17	- 0.12	- 0.02	- 0.24	- 0.40

temas insaturados (productos 23 y 24) este efecto γ es considerablemente moderado, posiblemente debido al caracter plano de C-15 en los sistemas insaturados. Es curioso observar que los efectos δ producidos por los grupos hidroxilo en C-7 son más dependientes de la orientación del grupo hidroxilo en C-14 que de la orientación del propio grupo hidroxilo en C-7. Puede observarse que el efecto ϵ es considerablemente desapantallante cuando se transmite a través de un sistema π (productos 22-25), lo que está de acuerdo con datos que se han indicado previamente (von Carsten, 1977; Sthoters 1972).

Voy a comentar ahora, por su especial interés, los efectos γ producidos por un grupo hidroxilo en C-14 en compuestos con grupo hidroxilo exo sobre C-15 (producto 20) y C-16 (producto 21).



Se observa también que estos efectos son desapantallantes. Confirmamos de esta manera e independientemente de la disposición axial, ecuatorial o cualquier otra, que no puede llamarse ni de una forma ni de otra, que siempre y cuando existan dos grupos hidroxilo con disposición sin en un sistema carbocíclico rígido, los efectos γ son apantallantes. Por otra parte, los efectos γ -anti para C-9 (compuesto 20) en el caso de la presencia de un grupo hidroxilo exo sobre C-15 es apantallante incluso aunque no existe un hidrógeno γ sobre C-9 para la transmisión de este efecto , en contraposición de lo que ha sido publicado previamente (Forrest, 1979).

Como puede comprobarse del análisis de los efectos producidos en sistemas polihidroxilados, es preciso sacar la conclusión de que es muy arriesgado aplicar reglas generales de aditividad en sistemas altamente funcionalizados. Estas reglas sólo pueden aplicarse, y con mucho cuidado, cuando las características estructurales del producto de referencia y del producto a calcular

sean absolutamente iguales sobre todo en lo que se refiere al caso de que existan grupos polares que puedan interaccionar.

3.- ESTUDIO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR UN GRUPO EPOXI SITUADO EN C-15 Y C-16

No conocemos datos de ^{13}C RMN de epoxide-
rivados de biciclo[3.2.1] octanos, por lo que se
han estudiado este tipo de derivados obtenidos a
partir de ent-beyer-15-enos. De todas formas, só
lo hemos podido estudiar los derivados exo dado
que la cara endo está muy impedida estericamente
y no es posible su ataque. Sin embargo, dentro
de los exo-epoxiderivados hemos estudiado diver
sos productos que ofrecen varias combinaciones
de grupos funcionales y varias situaciones este-
reoquímicas distintas.

Los datos obtenidos de los epoxiderivados
se dan en la tabla 8 (desplazamientos químicos)
y en la tabla 9 (efectos producidos por este
grupo). El análisis de los resultados obtenidos

indica una serie de efectos interesantes que compararé con las referencias más cercanas encontradas en bibliografía, que son los datos descritos para grupos exo-epoxi en sistemas biciclo[2.2.1] heptánicos (Zimmermann , 1974).

En los derivados beyeránicos, los efectos producidos por un grupo epoxi dependen, en gran medida, de la presencia y de la disposición espacial de otros grupos funcionales en el sistema analizado. Los efectos α para C-15 y C-16 tienen una magnitud similar para ambos carbonos, siendo mayores que los descritos para los sistemas biciclo[2.2.1] heptánicos (Zimmermann, 1974).

La presencia de un grupo hidroxilo ecuatorial sobre C-7 (productos 33 y 35) influye sobre el hipotético efecto α producido por el grupo epoxi sobre C-15, pero con la experiencia pre

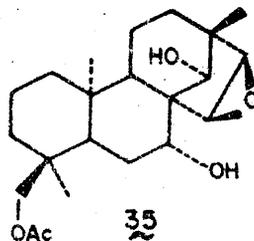
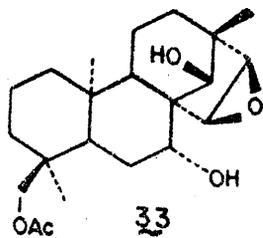
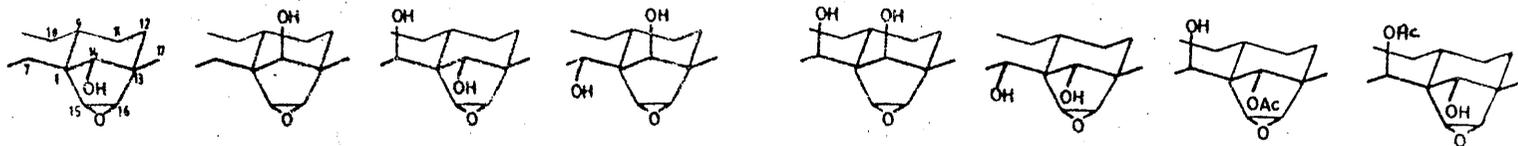


TABLA 9



	$\delta(\underline{30}) - \delta(\underline{3})$	$\delta(\underline{31}) - \delta(\underline{1})$	$\delta(\underline{32}) - \delta(\underline{15})$	$\delta(\underline{33}) - \delta(\underline{14})$	$\delta(\underline{34}) - \delta(\underline{13})$	$\delta(\underline{35}) - \delta(\underline{16})$	$\delta(\underline{36}) - \delta(\underline{19})$	$\delta(\underline{37}) - \delta(\underline{17})$
C-7	- 7.09	- 8.30	- 6.39	- 0.71	- 7.21	- 1.43	- 4.74	- 6.51
8	- 0.40	- 0.47	+ 0.14	+ 0.05	- 0.01	+ 0.46	+ 0.21	- 0.48
9	+ 0.44	- 0.56	0.00	- 0.75	- 0.31	+ 0.05	+ 0.81	+ 0.57
10	- 0.25	- 0.30	- 0.29	- 0.51	- 0.26	- 0.29	- 0.22	- 0.26
11	- 0.55	- 1.55	- 0.87	- 1.32	- 1.39	- 0.72	- 0.71	- 0.70
12	- 4.09	- 4.51	- 4.18	- 2.48	- 3.49	- 3.75	- 3.59	- 3.80
13	+ 0.13	+ 0.05	+ 0.48	+ 0.48	- 0.28	+ 0.04	+ 0.94	+ 0.27
14	- 5.83	- 7.78	- 4.49	- 5.90	- 8.15	- 5.95	- 7.85	- 4.09
15	+ 26.88	25.80	+ 27.31	+ 34.85	+ 26.42	+ 34.95	+ 25.00	+ 27.33
16	+ 26.87	27.08	+ 27.13	+ 25.11	+ 26.39	+ 24.71	+ 24.35	+ 27.27
17	- 3.90	- 5.86	- 4.75	- 5.76	- 5.72	- 4.32	- 5.16	- 4.67

via de los sistemas polihidroxilados que acaban de ser comentados, deben preverse que esta variación del efecto α debe estar relacionada con la " pérdida " del efecto γ -gauche apantallante, que sabemos que un grupo ecuatorial sobre C-7 produce sobre C-15. No podemos olvidar que este grupo epoxi y un grupo ecuatorial sobre C-7 son, en definitiva, dos grupos oxigenados con orientación sin. Así, el apantallamiento para el carbono 15 en el compuesto 14 ($\Delta\delta = -10.61$) es de la misma magnitud que la diferencia observada entre los efectos α producidos por el grupo epoxi para C-15 y para C-16. En forma paralela, la diferencia entre los efectos α para ambos carbonos en el producto 35 es también similar al efecto γ observado para C-15 en el producto 16, lo que confirma la interrelación de ambos efectos.

Los efectos β para C-8 y C-13 son muy pequeños, lo cual está de acuerdo con lo descrito para las moléculas relacionadas (Zimmermann , 1974).

Los efectos γ para C-17 son similares en todos los casos, aunque levemente menores en compuestos que poseen un grupo hidroxilo con disposición exo sobre C-14. Por el contrario, y como ya cabía esperar, los efectos γ para C-7 dependen fuertemente de la orientación del grupo hidroxilo que esté situado sobre C-7: Si el grupo hidroxilo es ecuatorial, el efecto γ es doblemente a pantallante, lo cual de acuerdo con los efectos γ -sin anteriormente discutidos para compuestos polihidroxilados y, en el mismo sentido, el efecto γ para C-14 es sensible a la disposición exo/endo de ambos grupos hidroxilo en C-7 y C-14.

Es interesante observar que el efecto γ -anti producido para C-9 y C-12 es de muy diferente entidad. De todas formas, es preciso tener en cuenta que, por lo que respecta a C-12, este efecto γ se transmite a través de sendos protones y tiene un considerable valor apantallante ($\Delta\delta = -4$). Sin embargo, el efecto γ -anti para C-9 es debilmente apantallante, e incluso desapantallante, para compuestos con grupo hidroxilo

exo sobre C-14, si bien, hay que tener en cuenta que en este caso no hay transmisión del efecto a través de protones.

4.- ESTUDIO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR UN GRUPO CETO SITUADO EN C-14

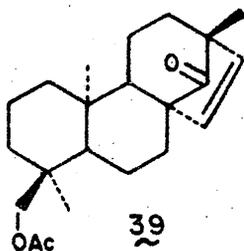
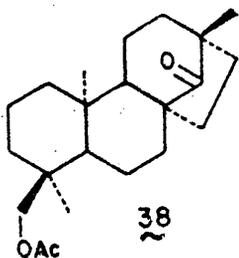
Los desplazamientos químicos de ^{13}C en compuestos con grupo ceto sobre C-14 se indican en la tabla 10 y los efectos producidos por este grupo ceto y los producidos por un grupo acetoxi sobre C-7 en un compuesto que previamente tenga un grupo ceto sobre C-14, así como los datos de referencia, se dan en la tabla 11. Como puede observarse, la presencia de un grupo ceto sobre C-14, dá lugar a efectos similares a los indicados para los correspondientes oxo-biciclo [3.2.1]octanos (Sthoters, 1975), aunque el efecto α sobre C-14 para compuestos beyeránicos (producto 38) es menor. Sin embargo, los otros efectos observados son similares a los previamente descritos, existiendo ciertas variaciones que, por otra parte, son previsibles en función del di

TABLA 10

	<u>38</u>	<u>39</u>	<u>40</u>	<u>41</u>
C-1	39.40	38.82	39.03	38.50
2	17.54	17.86	17.60	17.80
3	35.59	35.78	35.17	34.27
4	36.36	36.54	35.85	36.04
5	48.92	48.60	40.48	41.13
6	19.12	18.52	25.15	25.32
7	31.91	27.09	72.02	69.10
8	50.99	55.38	51.19	55.50
9	60.02	55.88	54.46	50.45
10	38.68	38.25	38.67	38.35
11	18.52	19.22	18.69	18.80
12	42.12	35.38	41.10	35.42
13	46.72	51.03	46.75	51.57
14	222.50	219.42	217.49	214.45
15	27.69	133.02	25.43	130.40
16	30.21	132.70	29.55	133.86
17	19.53	17.86	19.49	17.68
18	72.66	72.74	72.13	72.19
19	17.72	16.61	17.36	16.53
20	15.85	16.16	15.98	15.93
CH ₃	20.97	21.08	21.40	21.49
CH ₃			20.85	21.02
CO	171.10	171.30	170.72	170.90
CO			170.35	170.38

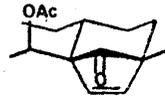
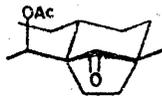
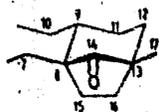
ferente grado de sustitución. C-9 y C-12 sufren un desapantallamiento y C-15 y C-16 un desplazamiento diamagnético.

En forma similar, hemos estudiado los efectos producidos por un grupo ceto en C-14 de un sistema ent-beyer-15-énico (producto 39). Como en el caso del compuesto saturado 38 hemos



comprobado que existe un paralelismo con los sistemas biciclo [3.2.1]octánicos. Creemos, por tanto, que los efectos que aquí observamos para el producto 39 puedan ser aplicados a otros 8-oxo- Δ^6 biciclo [3.2.1]octanos. Un desplazamiento paramagnético para C-9 y C-12 y un desplazamiento diamagnético para C-15 y C-16 se observa para estos Δ^{15} compuestos.

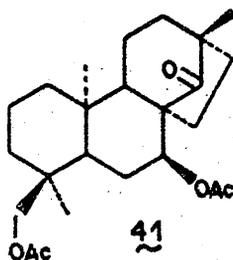
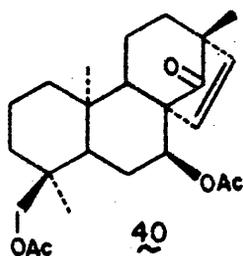
TABLA 11

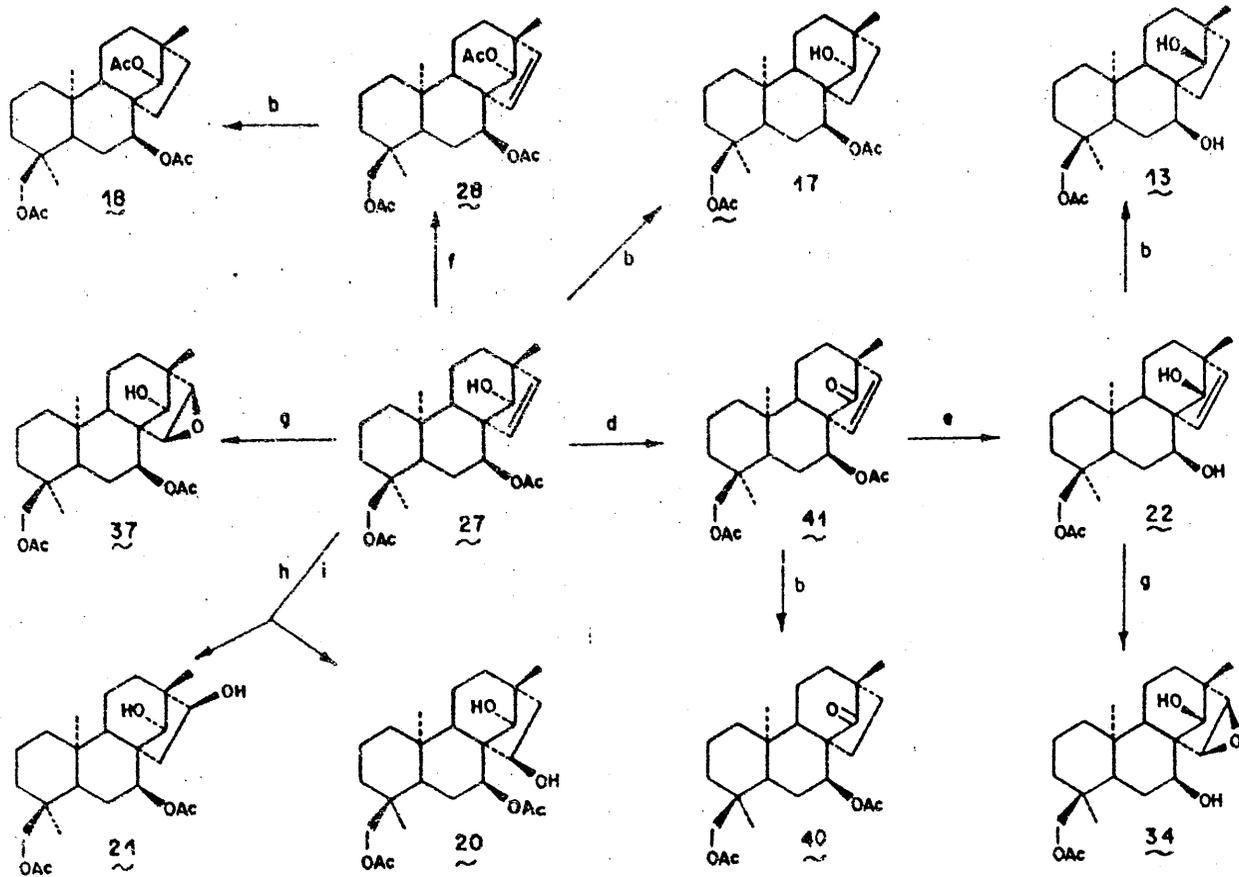


	$\delta(\underline{38}) - \delta(\underline{2})$	(a)	$\delta(\underline{39}) - \delta(\underline{4})$	$\delta(\underline{40}) - \delta(\underline{38})$	$\delta(\underline{41}) - \delta(\underline{39})$
C-7	- 9.29		-10.31	+ 40.11	+ 42.01
8	+ 6.09	+ 9.60	+ 6.28	+ 0.20	+ 0.12
9	+ 3.12	+ 4.20	+ 2.88	- 5.56	- 5.43
10	+ 1.08		+ 0.86	- 0.01	+ 0.10
11	- 1.60	- 1.70	- 1.20	+ 0.17	- 0.42
12	+ 2.12	+ 4.20	+ 1.68	- 1.02	+ 0.04
13	+ 7.52	+ 9.60	+ 7.43	+ 0.03	+ 0.54
14	+ 164.80	+ 182.30	+ 158.12	- 5.01	- 4.97
15	- 5.91	- 6.20	- 2.18	- 2.26	- 2.62
16	- 7.39	- 6.20	- 3.40	- 0.66	+ 1.16
17	- 7.57		- 7.14	- 0.04	- 0.18

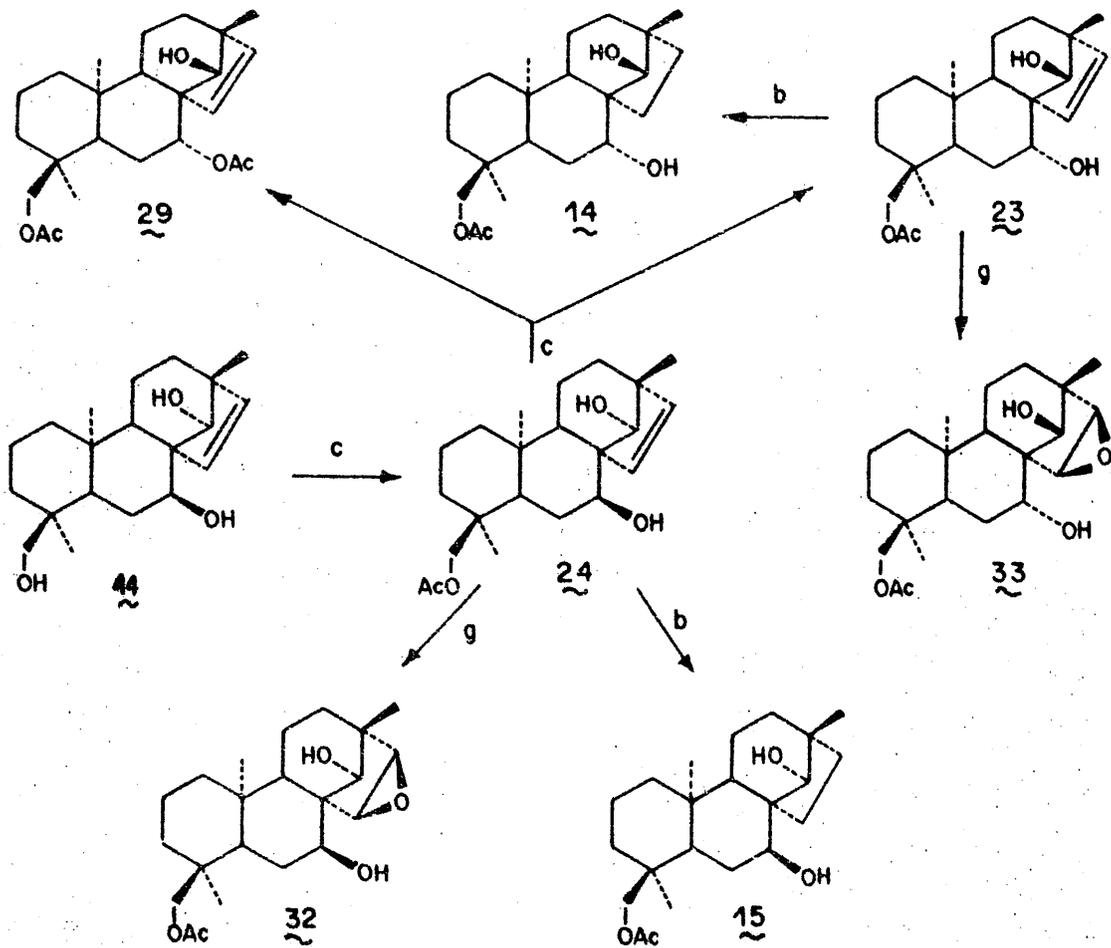
(a) Stholers 1977

Un grupo acetoxilo axialmente situado sobre C-7 (productos 40 y 41) produce efectos si milares a los indicados previamente para un grupo acetoxi situado en disposición exo sobre C-2 de la biciclo[3.2.1]octan-8-ona (Sthoters, 1977).

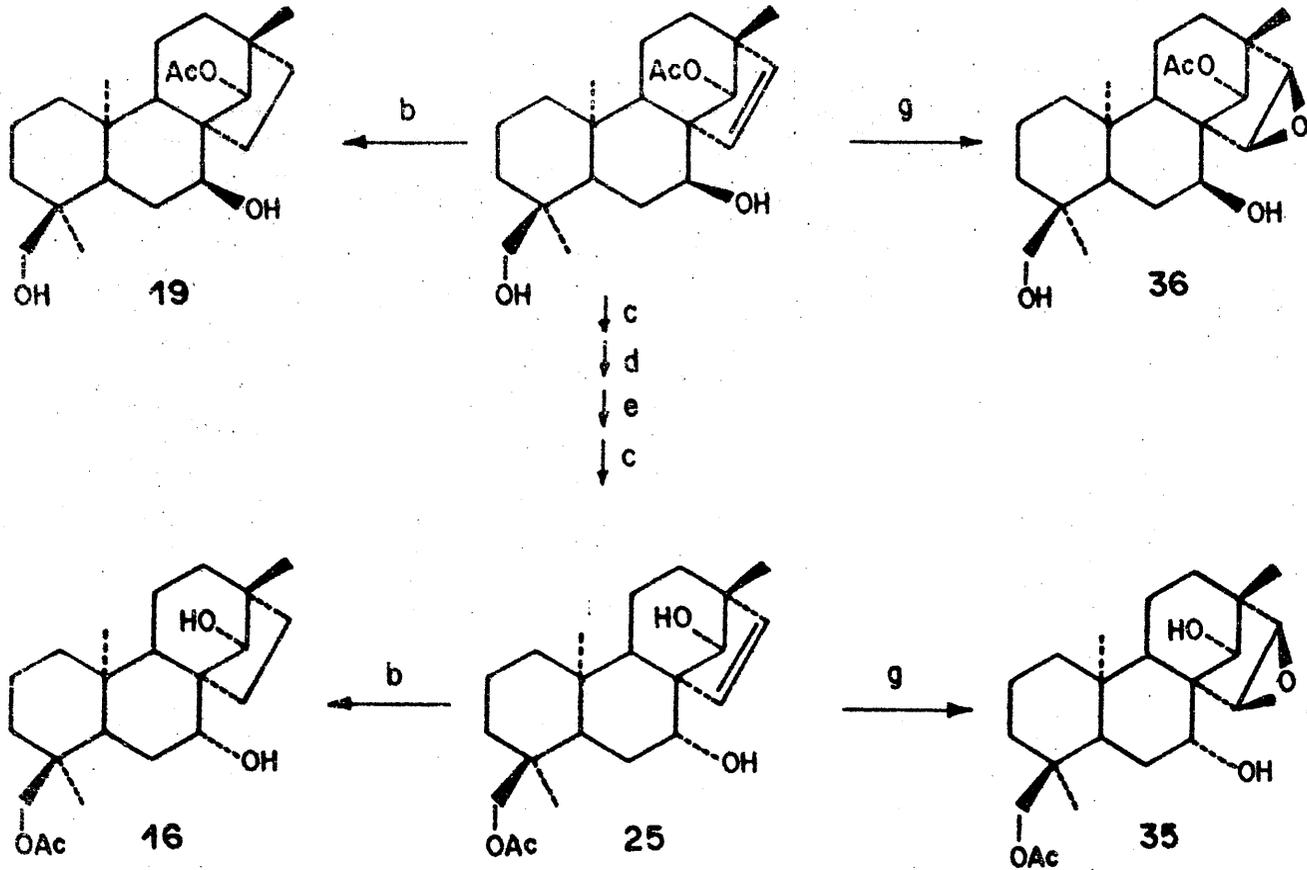




a) MeOH / H₂O / OH⁻ ; b) H₂ / Pd ; c) Ac₂O / PI, 0°C ; d) CrO₃ ; e) BH₄Na ;
 f) Ac₂O / PI refluxo ; g) AMCPB ; h) BH₃TMA ; i) H₂O₂ / OH⁻



a) MeOH / H₂O / OH⁻ ; b) H₂ / Pd ; c) Ac₂O / Pt, 0°C ; d) CrO₃ ; e) BH₄Na ;
 f) Ac₂O / Pt refluxo ; g) AMCPB ; h) BH₃TMA ; i) H₂O₂ / OH⁻



a) MeOH / H₂O / OH⁻ ; b) H₂/Pd ; c) Ac₂O/PI, 0°C ; d) CrO₃ ; e) BH₄Na ;
 f) Ac₂O/PI refluxo ; g) AMCPB ; h) BH₃TMA ; i) H₂O₂/OH⁻



ATMOSPHERIC CHEMISTRY



P A R T E I I IP A R T E E X P E R I M E N T A L1.- ANALISIS FISICOS

Los puntos de fusión, las rotaciones específicas, los espectros de IR, los espectros de ^1H RMN y los análisis elementales se efectuaron en las mismas condiciones y aparatos que se indican en la parte experimental I de la presente Memoria.

Los espectros de ^{13}C RMN se han efectuado en un Bruker HX 90 E ó en un Bruker WM-360, con una temperatura de sonda de 30° C. Las condiciones fueron de pulsos de 20 μs (angulo de flip de 90 ° , 32 μs), 50000 ó 20000 Hz "sweep width", 16 K y 1 sg de tiempo de reciclado. Para los espectros de desacoplamiento total (broad band) , se utilizó una potencia desacopliadora de 8 watts, así como en las experiencias SFOR, (en el primer

caso centrado el desacoplamiento en el centro de la banda protónica y dos ppm a la derecha del TMS en los off-resonance). Las experiencias de DEPT se realizaron en un Bruker WP 80 SY usando un ángulo de flip de 135° .

2.- REACCIONES UTILIZADAS

Las reacciones de acetilación, oxidación, saponificación y epoxidación se describieron en el apartado 2 de la parte experimenta de parte I.

Hidrogenación catalítica:

100 mg de producto a hidrogenar se disuelven en 5 ml de EtOH y se añaden 30 mg de Pd al 5 % sobre SO_4Ba . La hidrogenación se lleva a cabo a 5 atm de presión, controlando el tiempo de reacción por cromatografía en capa fina. Una vez dada por finalizada la reacción, la mezcla de reacción se filtra y se lava con EtOH. Trás evaporar el disolvente se realiza la purificación de los productos obtenidos mediante cromatografía en columna.

Reducción con borohidruro sódico

100 mg de producto se disuelven en 10 ml de EtOH y se añaden lentamente 50 mg de NaBH_4 , manteniendo la reacción a temperatura ambiente y controlandola por cromatografía en capa fina. Una vez finalizada se diluye con HCl diluido y se extrae con CH_2Cl_2 . Esta disolución se seca, se concentra y se purifica mediante cromatografía en columna

Reacción de hidrobioración

100 mg de producto se disuelven en 10 ml de tolueno y se agregan 100 mg de trimetilamino-borano, calentando en tubo cerrado a 150°C durante 2 horas. Posteriormente, bajo agitación magnética y manteniendo a 0°C se agregan 2 ml de NaOH 3M y 1 ml de H_2O_2 al 30 %, continuando la reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Posteriormente se lava con agua, HCl diluido y agua, secando con SO_4Mg anhidro y concentrando a vacío, obteniendo una mezcla de productos que se separan por cromatografía en columna.

3.- OBTENCION DE MATERIAS PRIMAS

El ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibe-
yer-15-eno (7-acetilpusillatriol, 42), ent-14 β -
-acetoxi-7 α ,18-dihidroxibeyer-15-eno (14-acetil
pusillatriol, 43), ent-7 α ,14 β ,18-trihidroxibe-
yer-15-eno (pusillatriol, 44), ent-14 β -acetoxi-
-18-hidroxibeyer-15-eno (tartesol, 11) y ent-7 α ,
,18-dihidroxibeyer-15-eno (flavovirol, 45) uti-
 lizados como materias primas han sido aislados
 de la Sideritis pusilla sp. flavovirens (García-
 -Granados, 1984-2).

7-acetilpusillatriol (42), 14-acetilpu-
sillatriol (43) y tartesol (11):

Ver datos físicos y espectroscópicos de
 dichos productos en parte experimental
 de parte I.

Pusillatriol (44):

P.F.: 198-202 °C

$[\alpha]_D = + 67.7$ ° (c 0.8, EtOH)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3340, 3065, 1660 y 740 cm^{-1}

Flavovirol (45):

P.F. 107-9 °C

 $[\alpha]_D = +52.8$ (c 1, CHCl₃)IR(μ_{\max}^{KBr}): 3400, 3060, 1650 y 740 cm⁻¹

¹H RMN (δ 60 MHz): 5.55 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 3.50 (1H, m, W_{1/2} = 7 Hz, H-7); 3.45 y 2.85 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 1.07, 0.81 y 0.73 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

4.- SEMISINTESIS DE PRODUCTOS ESTU-
DIADOS POR ¹³C RMN

4.1.- PRODUCTOS OBTENIDOS A PARTIR
DEL TARTESOL (11)

ent-14 β -acetoxi-18-hidroxibeverano (8):

170 mg del producto 11 se hidrogenan cata-
 líticamente durante 12 h disolviendolo en 5 ml de
 EtOH y añadiendo 50 mg de Pd/SO₄Ba al 5 %. Se ais-
 lan, previa purificación por cromatografía en co-
 lumna (c.c.) 150 mg de 8 :

P.F. 181-3 °C

 $[\alpha]_D = -16.3$ (c 1, Cl₃CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3500, 1710 y 1260 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.45 (1H, s, H-14); 3.37 y 3.09 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.07 (3H, s, AcO-); 0.99, 0.87 y 0.76 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN : Ver tabla 1 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 76.07; H, 10.65. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3$: C, 75.82; H, 10.41 % .

ent-14 β ,18-diacetoxibeyer-15-eno (12)

150 mg del producto 11 se acetilan a reflujo con 6 ml de piridina y 3 ml de Ac_2O durante 30 minutos. Se aíslan 113 mg de 12 :

P.F. 150-2 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = +25.4^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 1740, 1440, 1370, 1240, 1050 y 750 cm^{-1} .

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.67 y 5.44 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 4.51 (1H, s, H-14); 3.87 y 3.60 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.09 y 2.05 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 0.96, 0.85

y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 74.15 ; H, 9.40. Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$: C, 74.19; H, 9.34 % .

ent-14~~β~~.18-dihidroxi-beyer-15-eno (10)

850 mg de tartesol (11) se saponifican con potasa alcohólica al 5 % a temperatura ambiente durante 48 h. Tras su purificación por c.c. se obtienen 825 mg de 10 :

P.F. 183-5 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = + 15^{\circ}$ (c 1.88, Cl_3CH)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$) : 3400, 3060, 1645 y 740 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.45 y 5.70 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 3.10 y 3.42 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.95 (1H, s, H-14); 1.05, 0.81 y 0.77 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 78.72; H, 10.99. Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_2$: C, 78.90; H, 10.59 % .

ent-14 β ,18-dihidroxibeyerano (7)

170 mg del producto 10 se hidrogenan catalíticamente durante 12 h, aislándose 140 mg del producto 7 :

P.F. 207-9°C

$[\alpha]_D = +13.4^\circ$ (c 0.5, EtOH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3330 y 1060 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.42 y 3.07 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.96 (1H, s, H-14); 1.00 (6H, s, 2 C-Me); 0.77 (3H, s, C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 78.56; H, 11.32 . Calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_2$: C, 78.38; H, 11.18 % .

ent-18-acetoxi-14 β -hidroxibeyer-15-eno

(6):

600 mg del producto 10 se acetilan a 0 °C durante 2 h en 25 ml de piridina y 12 ml de Ac_2O . Se obtienen 475 mg de 6 :

P.F. 84-6 °C

$[\alpha]_D = +32^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3500, 3055, 1735, 1260 y 740 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.66 y 5.45 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 3.90 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.97 (1H, s, H-14); 2.06 (3H, s, AcO-); 1.05, 0.85 y 0.80 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1.

Análisis elemental. Encontrado: C, 75.92; H, 10.11. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3$: C, 76.26; H, 9.89 % .

ent-18-acetoxi-14 β -hidroxibeverano (3)

Se toman 150 mg del producto 6 y se hidrogenan catalíticamente, obteniéndose 138 mg del producto 3 :

P.F. 88-90 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = +2.70^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3450, 1730, 1250 y 1030 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.90 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.97 (1H, s, H-14); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.00 (6H, s, 2 C-Me) y 0.85 (3H, s, C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 75.67; H, 10.86. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3$: C, 75.82; H, 10.41 % .

ent-18-acetoxibeyer-15-en-14-ona (39)

200 mg del producto 6 se disuelven en 15 ml de acetona y se oxidan con el reactivo de Jones aislándose 180 mg de 39 :

P.F. 146-8 °C

$[\alpha]_D = +13.3^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$) : 3060, 1730, 1240, 1020 y 740 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 6.12 y 5.90 (2H, q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 3.87 y 3.62 (2H, q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.05, 0.92 y 0.85 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 10 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 76.33; H , 9.81 . Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_3$: C, 76.70; H , 9.36 % .

ent-18-acetoxibeyeran-14-ona (38)

Se oxidan con reactivo de Jones 100 mg del producto 3, aislándose 75 mg de 38:

P.F. 138-140 °C

$[\alpha]_D = -14^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 1730, 1230 y 1025 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.85 y 3.60 (2H, q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.06 (3H, s, AcO-); 1.07, 1.00 y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 10.

Análisis elemental. Encontrado: C, 75.87; H, 10.06. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3$: C, 76.26; H, 9.89 %.

ent-14 β ,18-diacetoxibeyerano (9)

100 mg del producto 7 se acetilan a refluxo con 4 ml de piridina y 2 ml de Ac_2O durante 30 minutos. Se aislan 76 mg del producto 9:

P.F. 74-6 °C

$[\alpha]_D = -13.3^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 1740, 1240 y 1025 cm^{-1} .

^1H RMN (δ , 80 MHz): 4.47 (1H, s, H-14); 3.85 y 3.60 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.06 (6H, s, 2 AcO-); 1.00, 0.87 y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1.

Análisis elemental. Encontrado: C, 73.95; H, 10.29. Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$: C, 73.81; H, 9.81 %.

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxibeyer-15-eno

(5)

Se disuelven 150 mg del producto 39 en 40 ml de EtOH y se reducen con 300 mg de BH_4Na durante 3 h a temperatura ambiente y 20 h a 0 °C. El bruto obtenido se somete a acetilación a 0°C con 3 ml de piridina y 1.5 ml de Ac_2O durante 2 h. Se obtienen 136 mg de 5:

P.F. 142-44 °C

$[\alpha]_D = +14.7^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1725, 1260 y 745 cm^{-1}

^1H RMN (δ , 80 MHz): 5.75 y 5.52 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 3.86 y 3.65 (2H, Q_{AB} ,

$J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 3.02 (1H, s, H-14); 2.05 (3H, s, AcO-); 0.95, 0.82 y 0.80 (3H cada uno, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1.

Análisis elemental. Encontrado: C, 76.30; H, 10.16. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_3$: C, 76.20; H, 9.89 %.

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxibeyerano (1)

70 mg del producto 5 se hidrogenan catalíticamente, aislándose 50 mg del producto 1:

P.F. 91-3 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = -4.9^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3520, 1720, 1260, 1105 y 1030 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.85 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 2.92 (1H, s, H-14); 2.05 (3H, s, AcO-); 0.96, 0.92 y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 1.

Análisis elemental. Encontrado: C, 76.18; H, 10.55. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_3$: C, 75.82; H, 10.41 %.

ent-18-acetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -
-epoxibeyerano (30)

80 mg del producto 6 se disuelven en 15 ml de Cl_3CH y se añaden 225 mg de ácido m-cloroperbenzoico (AMCPB), manteniendo la reacción durante 48 h a temperatura ambiente. Después de su purificación por c.c. se aislan 63 mg de 30:

P.F. 131-3 $^{\circ}$ C

$[\alpha]_D = +16.7^{\circ}$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3520, 1730, 1230, 1030, 865 y 810

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.92 y 3.65 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.67 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 5$ Hz) y 3.30 (1H, dd, $J_2 = 3$, $J_2 = 2$ Hz) (H-15 y H-16); 2.72 (1H, sa, H-14); 2.06 (3H, s, AcO-); 1.16, 0.97 y 0.87 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 3 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.77; H, 9.57. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89; H, 9.45 % .

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-15 α ,16 α -
-epoxibeyerano (31)

50 mg del producto 5 se epoxidan con 140 mg de AMCPB en 15 ml de Cl_3CH durante 48 h a 0 °C, aislándose 38 mg de 31 :

P.F. 157-9 °C

$[\alpha]_D = +5.4^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1735, 1240, 1030, 870 y 810 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.82 y 3.58 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.48 y 3.07 (2H, Q_{AB} , $J = 4$ Hz, H-15 y H-16); 2.87 (1H, s, H-14); 2.00 (3H, s, AcO-); 0.97, 0.92 y 0.80 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 8 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.80; H, 9.50. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89; H, 9.45 % .

4.2.- PRODUCTOS OBTENIDOS A PARTIR
DEL 7-ACETILPUSILLATRIOL (42)

ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyer-
-15-eno (27)

7 g del producto 42 se disuelven en 150 ml de piridina y 80 ml de Ac₂O, manteniendo la reacción durante 2 horas a 0 °C. Tras su purificación se obtienen 5 g del producto 27 :

Ver datos físicos y espectoscópicos de este producto en parte experimental de parte II .

ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyerano
(17)

170 mg del producto 27 se hidrogenan catalíticamente para dar 165 mg del producto 17 :

P.F. 174-6 °C

[α]_D = + 55.2 ° (c 1, Cl₃CH)

IR (ν _{max}^{KBr}): 3520, 1745, 1720, 1270 y 1025 cm⁻¹

¹H RMN (δ 80 MHz): 5.15 (1H, m, $w_{1/2}$ =

= 7 Hz, H-7); 3.70 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 3.18 (1H, s, H-14); 2.10 y 2.05 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 1.00 (6H, s, 2 C-Me); 0.82 (3H, s, C-Me).

¹³C RMN: Ver tabla 4 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 71.16; H, 9.75 . Calculado para C₂₄H₃₃O₅ : C, 70.9; H, 9.75 % .

ent-7 α , 14 β , 18-triacetoxibeyer-15-eno
(28)

La acetilación del producto 27 (300 mg) a reflujo en piridina/Ac₂O (12ml/6 ml) durante 5 horas origina 245 mg del triacetato 28 :

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 28 en parte experimental de parte I.

¹³C RMN: Ver tabla 5 .

ent-7 α , 14 β , 18-triacetoxibeyerano (18)

La hidrogenación catalítica de 200 mg del producto 28 rinde 178 mg del producto 18:

P.F. 150-2 °C

$[\alpha]_D = + 56.6^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 1750, 1260 y 1045 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.98 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 4.65 (1H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz, H-14); 3.65 (2H, Q_{AB} casi colapsado, 2H-18); 2.00, 1.98 y 1.96 (3H cada uno, s, grupos AcO-); 0.98 , 0.85 y 0.80 (3H cada uno, s, 3 C-Me) .

^{13}C RMN: Ver tabla 4 .

análisis elemental. Encontrado: C, 69.90 ; H , 9.25 . Calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{O}_6$: C, 69.61; H, 8.99 % .

ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (37)

170 mg del producto 27 se disuelven en 15 ml de cloroformo y se añaden 465 mg de AMCPB. La reacción se mantiene durante 48 h a 0°C. Después de purificar por c.c. se obtienen 140 mg del producto 37:

Ver datos físicos y espectroscópicos de este producto en parte experimental de parte II .

ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β ,15 α -dihidroxibeyerano (20) y ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β ,16 α -dihidroxibeyerano (21)

1 g del producto 27 se disuelven en 30 ml de tolueno y se añade 1 g de trimetilamino borano, manteniendo la reacción durante 2 h a 150 °C. El tratamiento con H₂O₂ al 30 % (8 ml) y 20 ml de NaOH 3M durante 1 hora origina una mezcla de dos productos que se purifican por c.c., obteniéndose 210 mg del producto 20 y 282 mg del producto 21.

Producto 20:

P.F. 164-6 °C

$[\alpha]_D = + 42.5^\circ$ (c 1, CCl₃CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3500, 1735 y 1250 cm⁻¹

¹H RMN (δ 80 MHz): 5.67 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-7); 4.27 (1H, m, $W_{1/2} = 18$ Hz, H-15); 3.70 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 3.15 (1H, sa, H-14); 2.10 y 2.06 (3H cada uno, s, 2 AcO-); 1.06, 1.02 y 0.85 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

¹³C RMN: Ver tabla 4.

EM, m/z, (%): 442 (M^+ , 0.5), 362 (100), 344 (15), 318 (45), 302 (23), 284 (45), 279 (100).

Producto 21:

P.F. 193-5 °C

$[\alpha]_D = + 62.5^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{max}^{KBr}): 3500, 1735 y 1250 cm^{-1}

1H RMN (δ 80 MHz): 5.20 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-7); 3.70 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18) sobre señal ancha (1H, H-16); 3.20 (1H, s, H-14), 2.10 y 2.05 (3H cada uno, s, 2 AcO-); 1.10, 1.00 y 0.85 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 4 .

EM, m/z, (%): 422 (M^+ , 0.5), 404 (5), 379 (5), 376 (5), 362 (30), 344 (70), 325 (30), 318 (45), 302 (40), 284 (40), 269 (100).

ent-7 α ,18 -diacetoxibeyer-15-en-14-ona

(41)

La oxidación con el reactivo de Jones del producto 27 (870 mg) origina 652 mg del producto 41 :

P.F. 163-5 °C

$[\alpha]_D = + 40.3^\circ$ (c 0.64, Cl_3CH)

IR(ν_{max}^{KBr}): 1745, 1240, 1030 y 720 cm^{-1}

1H RMN (δ 80 MHz): 5.97 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 5.30 (1H, s, H-7); 3.80 y 3.62 (2H, Q_{AB} , J = 12 Hz, 2H-18); 2.15 y 2.07 (3H cada uno, s, 2 AcO-); 1.02, 0.95 y 0.87 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 10 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 71.50 ; H, 8.56 . Calculado para $C_{24}H_{34}O_5$: C, 71.61; H, 8.51 % .

ent-18 -acetoxi-7 α ,14 α -dihidroxibeyer-
-15-eno (22)

500 mg del producto 41 se disuelven en 50 ml de EtOH y se agregan lentamente 800 mg de BH_4Na durante 3 h a T a ambiente y 21 h a 0°C, obteniéndose 120 mg del producto 22 y 176 mg de un producto más polar que se acetila en 5 ml de piridina y 3 ml de Ac_2O a 0°C durante 2 h, aislándose

123 mg más del producto 22, lo que dan un total de 243 mg de este producto 22 :

P.F. 123-5 °C

$$[\alpha]_D = + 31.5^\circ \text{ (c } 1, \text{Cl}_3\text{CH)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3195, 1740, 1245, 1035 y 740 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.50 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 4.12 y 3.42 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.82 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-7); 3.45 (1H, s, H-14); 2.08 (3H, s, AcO); 1.02, 0.84 y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 5 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.51; H, 9.35. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89 ; H, 9.45 % .

ent-18-acetoxi-7 α ,14 α -dihidroxibeyerano

(13)

La hidrogenación catalítica del producto 22 (168 mg) origina 115 mg del producto 13 :

P.F. 163-5 °C

$$[\alpha]_D = + 16.4^\circ \text{ (c } 1.2, \text{Cl}_3\text{CH)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3170, 1740, 1245 y 1035 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.10 y 3.42 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.79 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 3.37 (1H, s, H-14); 2.07 (3H, s, AcO-); 0.98 (6H, s, 2 C-Me) y 0.82 (3H, s, C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 4 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.55 ; H , 10.33 . calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$: C, 72.49; H, 9.95 % .

ent-18-acetoxi-7 α ,14 α -dihidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (34)

La epoxidación del producto 22 (60 mg) con AMCPB (130 mg) en Cl_3CH (15 ml) durante 12 h a temperatura ambiente conduce a 54 mg del producto 34 :

P.F. 220-2 $^{\circ}\text{C}$

$[\alpha]_{\text{D}} = + 26.6^{\circ}$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3480, 1730, 1240, 920 y 850 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.20 y 3.41 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 4.20 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz ;

H-7); 3.42 y 3.14 (2H, Q_{AB} , $J = 4$ Hz, H-15 y H-16); 3.42 (1H, s, H-14); 2.10 (3H, s, AcO-); 1.10, 1.00 y 0.87 (3H cada uno, s, 3C-Me)

^{13}C RMN: Ver tabla 8 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 69.54; H , 9.03. c calculado para $C_{22}H_{34}O_5$: C, 69.81; H , 9.05 % .

ent-7 α ,18-diacetoxibeyeran-14-ona (40)

La hidrogenación catalítica del producto 41 origina 90 mg del producto 40 :

P.F. 151-3 °C

$[\alpha]_D = + 52.6$ ° (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{max}^{KBr}): 1735, 1250 y 1035 cm^{-1}

1H RMN (δ 80 MHz): 5.22 (1H, dd, $J_1 = 3$ Hz, $J_2 = 3$ Hz, H-7); 3.70 (2H, Q_{AB} colap., 2H-18); 2.15 y 2.07 (3H cada uno, s, 2 AcO-); 1.12 , 0.95 y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 10 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 71.34; H, 9.19. Calculado para $C_{24}H_{36}O_5$: C, 71.26; H , 8.97 % .

4.3.- PRODUCTOS OBTENIDOS A PARTIR
DEL PUSILLATRIOL (44)

ent-18-acetoxi-7 α .14 β -dihidroxibever-
-15-eno (24)

1.8 g de pusillatriol (44) se acetilan en 30 ml de piridina y 15 ml de Ac₂O durante 1 h y 30 minutos a 0°C, aislándose 1.27 g del producto 24 :

P.F. 120-2 °C

[α]_D = + 47.3 ° (c 1, Cl₃CH)

IR (ν _{max}^{KBr}): 3460, 1745, 1250, 1040 y 740 cm⁻¹

¹H RMN (δ 80 MHz): 5.40 (2H, Q_{AB} colap., H-15 y H-16); 4.00 y 3.43 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 3.92 (1H, m, W_{1/2} = 6 Hz, H-7); 3.27 (1H, sa, H-14); 2.00 (3H, s, AcO-); 1.00, 0.77 y 0.70 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

¹³C RMN: Ver tabla 5 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.48; H, 9.58. Calculado para C₂₂H₃₄O₄: C, 72.89; H, 9.45 % .

ent-18-acetoxi-7 α ,14 β -dihidroxi-beyerano
(15)

La hidrogenación catalítica del producto 24 (160 mg) durante 12 h originó el producto 15 (145 mg):

P.F. 127-9 °C

[α]_D = +38.5 °C (c 1, Cl₃CH)

IR (ν _{max}^{KBr}): 3540, 1720, 1240 y 1030 cm⁻¹

¹H RMN (δ 80 MHz): 4.10 y 3.42 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 3.98 (1H, m, W_{1/2} = 6 Hz, H-7); 3.35 (1H, sa, H-14); 2.06 (3H, s, AcO-); 1.00, 0.92 y 0.80 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

¹³C RMN: Ver tabla 4 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.18; H, 10.45. Calculado para C₂₂H₃₆O₄: C, 72.49 ; H, 9.95 % .

ent-18-acetoxi-7 α ,14 β -dihidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (32)

La epoxidación del producto 24 (60 mg) con AMCPB (200 mg) en 15 ml de Cl₃CH durante 3 h a temperatura ambiente conduce al producto 32

(53 mg):

P.F. 173-5 °C

$[\alpha]_D = + 39.7^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3510, 1735, 1250, 1035 y 820 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.20 (1H, dd, $J_1 = 4$, $J_2 = 2$ Hz, H-7); 4.00 y 3.57 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.50 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz superpuesto con el doblete del Q_{AB} anterior centrado a 3.57) y 3.30 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 2$ Hz) (H-15 y H-16); 3.05 (1H, sa, H-14); 1.14. 0.90 y 0.84 (3H cada uno, s, 3 C-Me);

^{13}C RMN: Ver tabla 8 .

Análisis elemental. Encontrado : C, 69.50; H , 9.30 . Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$: C, 69.81; H , 9.05 % .

ent-18-acetoxi-7 β ,14 α -dihidroxibeyer-15-eno (23) y ent-7 β ,18-diacetoxi-14 α -hidroxibeyer-15-eno (29).

1 g del producto 24 se oxidan con el reactivo de Jones, obteniendose 730 mg del producto dioxidado, que se reduce con BH_4Na , obteniendose

233 mg del producto 23 y 310 mg de un producto más polar que se acetila a 0 °C con 10 ml de piridina y 5 ml de Ac₂O, obteniéndose 197 mg del producto 23 y 94 mg del producto 29. El total obtenido del producto 23 es de 430 mg.

Producto 23:

P.F. 173-5 °C

$[\alpha]_D = +11.9^\circ$ (c 1, Cl₃CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3400, 1735, 1260 y 730 cm⁻¹

¹H RMN (δ 80 MHz): 5.80 y 5.65 (2H, Q_{AB}, J = 6 Hz, H-15 y H-16); 3.91 y 3.58 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 3.57 (1H, s, H-14); y superpuesta a él (1H, m, $W_{1/2} = 18$ Hz, H-7); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.00, 0.87 y 0.82 (3H cada uno, s, 3 C-Me) .

¹³C RMN: Ver tabla 5 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.61; H, 9.75. Calculado para C₂₂H₃₄O₄: C, 72.89; H, 9.45 %.

Producto 29 :

P.F. 183-5 °C

 $[\alpha]_D = + 22.4^\circ$ (c 1.1, Cl_3CH)IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3460, 1735, 1715, 1260 y 730 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.78 y 5.55 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 4.72 (1H, dd, $J_1 = 10$, $J_2 = 6$ Hz, H-7); 3.82 y 3.65 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.10 (1H, sa, H-14); 2.07 y 2.05 (3H cada uno, s, 2 AcO-); 0.97, 0.85 y 0.84 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

 ^{13}C RMN: Ver tabla 5.

Análisis elemental. Encontrado: C, 71.05; H, 9.18. Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_5$: C, 71.26; H, 8.97 %

ent-18-acetoxi-7 β ,14 α -dihidroxibeyerano

(14)

150 mg del producto 23 se hidrogenan catalíticamente durante 12 h para dar 120 mg del producto 14 :

P.F. 158-160 °C

 $[\alpha]_D = - 0.45^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3455, 1735, 1270 y 1060 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.96 y 3.61 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18), parcialmente solapada con una señal a 3.55 (1H, m, $W_{1/2}=10$ Hz, H-7) ; 3.43 (1H, s, H-14); 2.07 (3H, s, AcO-); 0.97, 0.95 y 0.83 (3H cada uno, s, 3 C-Me) .

^{13}C RMN: Ver tabla 4 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.22; H , 10.08. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$: C, 72.49; H , 9.95 % .

ent-18-acetoxi-7 β ,14 α -dihidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (33)

123 mg del producto 23 se epoxidan con 335 mg de AMCPB en 15 ml de cloroformo durante 48 h a 0 °C, aislándose 117 mg del producto 33 :

P.F 221-3 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = + 4.9^{\circ}$ (c 1, Cl_3CH)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3440, 1735, 1240, 990 y 860 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.92 y 3.65 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); parcialmente solapada con otro sistema AB con dobletes centrados a 3.62

y 3.15 (2H, Q_{AB} , $J = 3.5$ Hz, H-15 y H-16);
 3.52 (1H, s, H-14) sobre señal ancha debida
 a H-7; 2.09 (3H, s, AcO-); 1.08, 1.00 y 0.90
 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 8 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 69.46; H,
 9.01 . Calculado para $C_{22}H_{34}O_5$: C, 69.81; H,
 9.05 % .

4.4.- PRODUCTOS OBTENIDOS A PARTIR DEL
14-ACETILPUSILLATRIOL (43)

ent-14 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-beyerano
 (19)

200 mg del producto 43 se hidrogenan
 catalíticamente durante 12 h, aislándose 172 mg
 del producto 19:

P.F. Sublima a 210 °C

$$[\alpha]_D = -1.4^\circ \text{ (c } 1, \text{Cl}_3\text{CH)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3340, 1740, 1250 y 1035 cm^{-1}

1H RMN (δ 80 MHz): 4.60 (1H, s, H-14);
 3.70 (1H, dd, $J_1 = 4$, $J_2 = 3$ Hz, H-7); 3.47 y

2.92 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.10 (3H, s, AcO-); 1.00, 0.92 y 0.70 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 4 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.37; H, 9.95. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$: C, 72.49; H, 9.95 % .

ent-14 α -acetoxi-7 α ,13-dihidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (36)

170 mg del producto 43 se epoxidan con 455 mg de AMCPB, en 15 ml de Cl_3CH durante 48 h a 0 °C, obteniéndose 115 mg del producto 36 :

P.F. 197-9 °C

$[\alpha]_D^{25} = + 23.4^\circ$ (c 1.05, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1740, 1250, 1030, 880, 745 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 4.32 (1H, sa, H-14); 4.17 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-7); 3.40 y 2.87 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.40 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz) y 3.07 (1H, m, $W_{1/2} = 5$ Hz) (H-15 y H-16); 2.00 (3H, s, AcO-); 0.96, 0.90 y 0.67 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 8 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 69.47; H , 8.86 . Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$: C, 69.81; H , 9.05 % .

ent-18-acetoxi-7 β ,14 β -dihidroxi-beyer-
-15-eno (25)

350 mg del producto 43 se acetilan a 0°C en 12 ml de piridina y 6 ml de Ac_2O . El diacetato obtenido (336 mg) se oxida con el reactivo de Jones y después se reduce con BH_4Na , aislándose un producto muy polar que se acetila a 0 °C durante 2 h , obteniéndose un monoacetato que corresponde al producto 25 (164 mg):

P.F. 82-4 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = + 27.1^\circ$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\mu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3380, 1735, 1245, 1040, 990 y 740 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 5.80 y 5.47 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 3.91 y 3.65 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18) superpuesta a esta la señal de H-7 ; 3.32 (1H, sa, H-14); 2.07 (3H, s, AcO-) 1.07, 0.87 y 0.82 (3H cada unc, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 5.

Análisis elemental. Encontrado: C, 73.10; H, 9.76. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89; H, 9.45 %.

ent-18-acetoxi-7 β ,14 β -dihidroxi-beyerano
(16)

90 mg del producto 25 se hidrogenan catalíticamente durante 24 h, obteniéndose 78 mg del producto 16:

P.F. 150-2 °C

$[\alpha]_D = + 8.1^\circ$ (c 1, C_{13}CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3450, 1740, 1245 y 1035 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.87 y 3.67 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18) colapsada con la señal de H-7 a 3.82; 3.27 (1H, sa, H-14); 2.10 (3H, s, AcO-); 1.00 (6H, s, 2 C-Me) y 0.87 (3H, s, C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 4.

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.09; H, 10.23. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$: C, 72.49; H, 9.95 %.

ent-18-acetoxi-7 β ,14 β -dihidroxi-15 α ,16 α -
-epoxibeyerano (35)

50 mg del producto 25 se epoxidan en 10 ml de Cl_3CH y 100 mg de AMCPB durante 12 h a temperatura ambiente, obteniendose 46 mg del producto 35 :

P.F. 165-7 °C

$[\alpha]_D = + 8.7$ (c 1, Cl_3CH)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3500, 1730, 1245, 1040 y 850 cm^{-1}

^1H RMN (δ 80 MHz): 3.99 (1H, dd, $J_1 = 10$, $J_2 = 6$ Hz, H-7); 3.90 y 3.69 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.77 y 3.29 (2H, Q_{AB} , $J = 4$ Hz, H-15 y H-16); 3.08 (1H, s, H-14); 2.07 (3H, s, AcO-); 1.18, 1.00 y 0.92 (3H cada uno, s, 3 C-Me).

^{13}C RMN: Ver tabla 3 .

Análisis elemental. Encontrado: C, 69.72; H, 9.23 . Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$: C, 69.81; H, 9.05 %.

Содержание работы

1. Введение

2. Описание объекта исследования

3. Методика исследования

4. Результаты исследования

5. Заключение

6. Литература

7. Приложение

8. Заключение

9. Заключение

10. Заключение

11. Заключение

12. Заключение

13. Заключение

14. Заключение

15. Заключение

16. Заключение

17. Заключение

18. Заключение

19. Заключение

20. Заключение

P A R T E I V

MI 3189

PARTE TEORICA

PART B. TERRORISM

I V P A R T EREACCIONES DE REAGRUPAMIENTO DE EPOXI-
BEYERANOS FUNCIONALIZADOS EN C-14

Comentaré a continuación una serie de reacciones realizadas con epóxidos beyeránicos funcionalizados en C-14. Se eligió un ácido de Lewis muy suave (acetilacetato de rutenio) con objeto de producir reacciones lo más suavemente posibles y también con la curiosidad de comprobar el efecto de complejos de metales de transición sobre sistemas epoxídicos. En este caso, se ha empleado un complejo de rutenio, aunque estas reacciones han abierto la vía del estudio de la reactividad de complejos de otros metales.

Tal como se se señaló en la introducción, en la década de los setenta se realizaron una serie de trabajos tendentes a la confirmación de las hipótesis biogenéticas de Wenkert. Sin embar-

go, estas reacciones partían de diterpenos muy pobremente funcionalizados. En nuestra opinión, la presencia de grupos funcionales en áreas próximas a las del reagrupamiento podrían influir, y a veces decisivamente, en el curso de la reacción. En ocasiones estas reacciones más complejas quizás pudieran explicar satisfactoriamente la biogénesis de productos naturales altamente funcionalizados.

1.- REACCION DE REAGRUPAMIENTO DEL ent-18-ACETOXI-14 α -HIDROXI-15 α ,16 α -EPOXIBEYERANO CON ACETILACETONATO DE RUTENIO

La reacción del ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (1) con cantidades catalíticas de acetilacetato de rutenio dió, tras calentar en recipiente cerrado durante 1 h a 140 °C sólo un producto (2) que en el infrarrojo presentaba bandas de grupo hidroxilo, acetoxilo y cetona. El estudio de su espectro de ^1H RMN indica la presencia de una señal simple a δ 4.65 (1H) y una señal doblete a δ 1.12

(3H, $J = 7$ Hz). Además de estas señales, puede también observarse un sistema AB ($J = 12$ Hz) que dada la estructura del producto de partida puede asignarse si problemas a los protones en C-18 del grupo acetoximetilénico y dos señales de metilo singulete, que integra cada una por tres protones y que pueden asignarse a los metilos de C-19 y C-20, sea cual sea el esqueleto de que se trate. Es realmente importante la presencia del anteriormente mencionado metilo doblete ya que, y sólo considerando los esqueletos relacionados con el producto de partida, podría indicar que el producto 2 posee un esqueleto ent-kauránico, o bien un esqueleto ent-atisánico . Si tenemos en cuenta que ya no existe el esqueleto ent-beyeránico de partida y los precedentes bibliográficos de reagrupamiento de epóxidos de beyerenos (Kapadi, 1965; Hanson, 1967, 1970; Yoshikoshi, 1967) se hace necesario pensar que el producto en cuestión (2) posee un esqueleto ent-kauránico. En los anteriores trabajos se obtenía o bien los correspondientes sistemas insaturados ent-

-kaur-15-enos ó ent-kaur-16-enos o bien ent-kau-
ranos funcionalizados en C-16, concretamente con
sustituyentes ent- β de tipo oxigenado (Yoshiko-
shi, 1967; Murray, 1974).

Si seguimos analizando el espectro de ^1H
RMN del producto 2 podemos comprobar que a δ
2.72 aparece un quintuplete que integra por un
protón y que posee una constante de acoplamiento
de 7 Hz, y que puede atribuirse perfectamen-
te a H-16 del esqueleto ent-kauránico. Esta se-
ñal indicaría que H-16 está acoplado con el gru-
po metilo en C-17 (c, $J = 7 \text{ Hz}$) y también po-
see otro acoplamiento ($J_{13/16} = 7 \text{ Hz}$) lo que se
comprobó por experiencias de doble resonancia .
Así, la irradiación a δ 1.12 transforma la se-
ñal de δ 2.72 en un doblete ($J = 7 \text{ Hz}$). Cuan-
do la probable molécula se observa hecha en mo-
delos se puede deducir perfectamente que este va-
lor de $J_{13/16}$ es compatible con una disposición
ent-16 para este hidrógeno ya que el caso con-
trario, es decir disposición ent-16 α , presenta-
ría un ángulo diedro con H-13 de 90 °, y un va-

lor, por tanto, de constante de acoplamiento nulo o al menos muy pequeño.

Las experiencias de ^{13}C RMN confirman que el producto 2 debe ser un ent-18-acetoxi-14 α -hidroxikauran-15-ona, con configuración 16(S) ó 16(R). Aunque esta configuración hemos visto que puede deducirse sin problemas a partir de los datos anteriormente analizados de ^1H RMN, tanto el análisis de su mecanismo de reacción como los datos de ^{13}C RMN sugieren también una configuración 16(R). Teniendo en cuenta que sólo se obtiene el producto 2, con buen rendimiento, y puesto que la molécula de 1 posee una estructura adecuada para formular un proceso concertado (vease esquema I), puede esperarse una configuración 16 (R).

Por otra parte, el desplazamiento químico considerable en ^1H RMN de H-16 (δ 2.72) así como el moderado desplazamiento químico del grupo metilo en C-17, evidencia la proximidad de este protón en C-16 al grupo hidroxilo en C-14, que debe ser ent-14 α si tenemos en cuenta el proce-

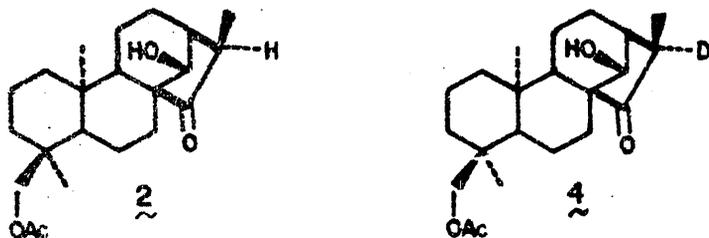
TABLA I

Carbono	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>11</u>
1	38.71	38.93	38.85	38.92	38.94
2	17.82	17.78	17.80	17.76	17.68
3	35.75	35.64	35.85	35.62	35.69
4	36.39	36.51	36.54	36.49	36.49
5	49.57	49.36	49.65	49.36	50.30
6	19.48	18.37	19.55	18.37	18.21
7	29.82	25.67	29.93	25.66	24.86
8	44.72	58.04	44.75	58.04	60.86
9	46.14	54.87	46.32	54.86	63.68
10	36.91	39.79	37.07	39.76	39.99
11	17.68	17.79	17.90	17.76	17.51
12	27.86	25.67	27.94	29.28	25.66
13	40.11	42.53	40.16	42.43	48.48
14	75.85	73.73	75.11	73.66	214.52
15	55.26	223.29	55.36	223.50	219.94
16	58.92	41.83	58.99		48.48
17	19.14	9.32	19.20	9.22	8.60
18	73.20	72.66	73.24	72.67	72.62
19	17.45	18.23	17.62	18.21	17.51
20	16.02	17.46	16.16	17.44	15.76
CH ₃ COO	20.89	21.10	21.05	21.07	21.06
CH ₃ COO	171.25	171.43	171.41	171.42	171.22

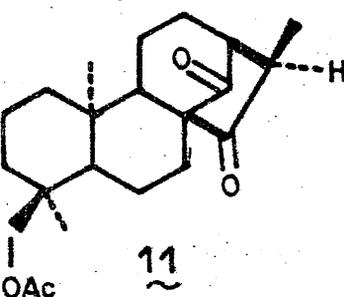
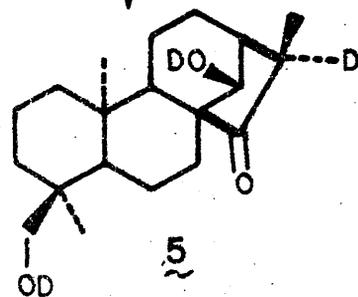
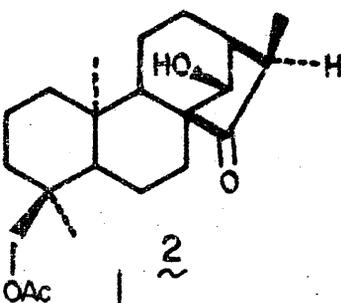
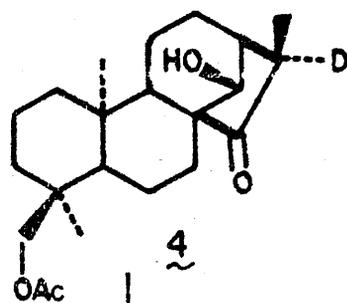
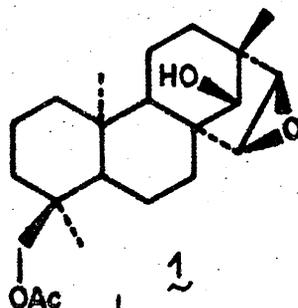
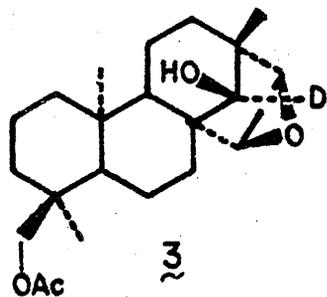
so de reagrupamiento seguido. Asimismo, y tal como anunciamos anteriormente, el análisis del espectro de ^{13}C RMN también confirma esta configuración 16(R), ya que el desplazamiento químico del grupo metilo en C-17 (δ 9.32) en el caso del producto 2 está de acuerdo con los datos publicados recientemente para algunos alcaloides ent-kauránicos (δ , 10.1 para 16 (R) y 15.9 para 16(S), Pelletier, 1981).

Aunque todas estas consideraciones permiten asignar estructura en forma razonable, hemos confirmado que este protón que aparece en C-16 del producto 2 es el protón en C-14 del producto de partida 1 , para ello hemos obtenido un compuesto deuterado en C-14 (producto 3, vease parte experimental) con el que hemos hecho un proceso de reagrupamiento análogo al descrito para el producto 1 . El proceso transcurre en forma paralela, obteniéndose un producto (4) que presenta el mismo espectro de ^1H RMN que el descrito anteriormente para el producto 2, aunque con un grupo metilo de C-17 que ahora presenta una

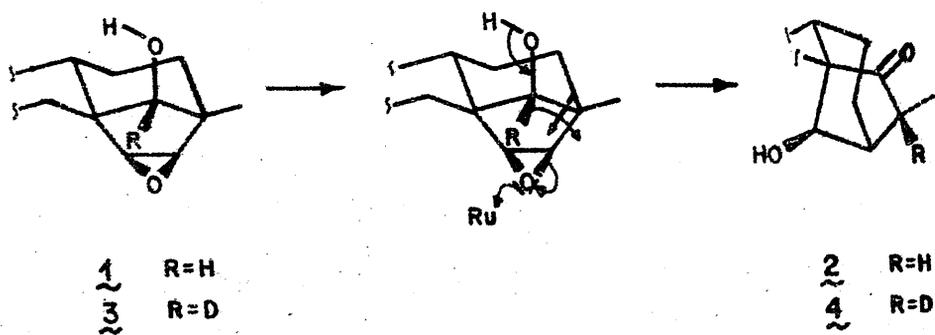
señal singulete a δ 1.12 y en el que falta, naturalmente, la señal quintuplete que habíamos atribuido al protón en C-16 en el caso del producto 2.



El espectro de ^{13}C RMN del producto 4 confirma que unicamente existe deuteración en el carbono 16. Por otra parte, el tratamiento del producto 2 con un medio básico deuterado sólo origina un producto (5) que resulta ser idéntico a su vez al producto de saponificación de 4. Es preciso hacer notar que en este último proceso no se detectó epímero en C-16. Aunque el grupo metilo adopte una disposición endo, usualmente menos estable que la disposición exo, probablemente, en este caso, la presencia del hidroxilo en C-14 haga más estable la disposición endo que la exo, con suficiente diferencia de energía como para que el exocompuesto sea detectado.



Como puede observarse, la apertura del grupo epoxi, en forma concertada con la migración del enlace transperiplanar (que produce el reagrupamiento de beyerano a kaurano), la migración, también transperiplanar, del protón exo de C-14 a C-16 del nuevo compuesto kauránico y la pérdida del protón situado originalmente en el grupo hidroxilo de C-14 es, para el producto 1, una vía más favorable de reagrupamiento que la que conduce a productos ent-kaur-16-énico obtenidos en los ya mencionados precedentes bibliográficos.



Esquema I

Como puede observarse, la participación del grupo hidroxilo en C-14 (con configuración ent-14 α) es decisiva para que la reacción transcurra a través del camino indicado.

Creemos que la estereoquímica de C-14 es fundamental para el control de la reacción y la mejor manera de comprobarlo es realizar una experiencia paralela con el correspondiente producto de partida epímero en C-14 y que comento a continuación.

2.- REACCION DE REAGRUPAMIENTO DEL ent -
-18-ACETOXI-14 β -HIDROXI-15 α ,16 α -EPO-
XIBEYERANO CON ACETILACETONATO DE RU
TENIO.

Se ha llevado a cabo una reacción similar a la descrita para los productos 1 y 3 pero en este caso con el producto ent-18-acetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (6). Para que la reacción ocurra, se observa que en lugar de un calentamiento de 1 h, es preciso realizar esta

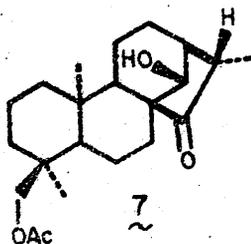
operación durante 3 horas. Cuando la reacción se detiene al cabo de este tiempo, queda todavía un (20 %) del producto de partida 6, aislándose una serie de productos 7 a 10 cuya determinación de estructura abordaré a continuación.

El producto 7, que constituye el 28 % de los productos aislados, tiene la misma fórmula molecular y es pectro de IR que el producto 2. Su espectro de ^1H RMN sólo difiere del correspondiente al producto 2 en los desplazamientos químicos del metilo doblete (en este caso a δ 1.27, $J = 7$ Hz) y la señal de lo que consideramos, como hipótesis de trabajo del metino de H-16, que ahora está parcialmente solapada con otras a 2.20 ppm. El comportamiento espectroscópico de este producto parece indicar que el producto 7 es el epímero en C-16 del producto 2, estando basada esta hipótesis, particularmente en los desplazamientos químicos de estos hidrógenos de C-16 y C-17 del supuesto sistema ent-kauránico.

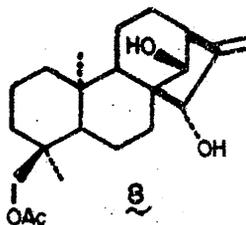
Esta hipótesis se ve también apoyada por el análisis de su espectro de ^{13}C RMN, teniendo en cuenta las observaciones hechas anteriormente para el producto 2. Así, el desplazamiento químico de C-17 en el producto 7 es 18.01 ppm lo que está de acuerdo con los datos encontrados en la bibliografía anteriormente mencionada de los alcaloides ent-kauránicos de la misma configuración (Pelletier, 1981) y es un desplazamiento muy diferente del asignado anteriormente para el carbono equivalente del producto 2 (δ 9.32). Por otra parte, el desplazamiento químico de C-12 para este producto 7 (δ 31.07) es mayor que el correspondiente desplazamiento químico para C-12 en el producto 2 (δ 25.67), lo que está también de acuerdo con un efecto γ sobre C-12. En estas estructuras, cuando el grupo metilo sobre C-16 es exo (producto 7) el efecto γ -anti sobre C-12 debe ser muy pequeño y cuando el grupo metilo sea endo (producto 2) el efecto γ -sin sobre C-12 debe ser considerablemente mayor. Estas asignaciones de C-11 y C-12 son contrarias a las indicadas por Pelletier (1981) en análogo metilo exo.

C	$\underline{2}$	$\underline{7}$	(Pelletier 1981)	
			17-Me <u>endo</u>	17-Me <u>exo</u>
11	17.78	17.84	22.30	30.10
12	25.67	31.07	24.90	22.30
17	9.32	18.01	10.10	15.90

Desafortunadamente, no hemos podido realizar pruebas concluyentes en doble resonancia en ^1H RMN para obtener la constante de acoplamiento entre H-13 y H-16 debido a que nuestro aparato (80 MHz) y tal como se ha descrito anteriormente la señal de H-16 está suficientemente solapada como para no poder ser apreciada con claridad. Este punto será confirmado posteriormente con un derivado suyo tal y como se describirá con posterioridad. De todas formas puede concluirse que el producto $\underline{7}$ tiene una estructura de ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-kauran-15-ona.



Otro producto aislado de esta reacción (18 %, δ) presenta bandas en el IR de grupos hidroxilo, acetoxilo y exometileno, descartándose la presencia de grupos ceto. De su espectro de ^1H RMN puede deducirse la presencia de un grupo exometilénico (multipletes estrechos a δ 5.41 y 5.21, 1H cada uno) así como un sistema AB (dobletes centrados a δ 3.91 y 3.65, $J = 12$ Hz, 2H-18), dos protones geminales a sendos grupos hidroxilo (δ , (4.22, 1H, sa) y (3.80, 1H, sa)) y señales de metilo singulete a δ 2.07 (3H, grupo acetoxilo sobre C-18), 1.03 y 0.85 (3H cada uno, grupos metilo en C-19 y C-20). Este comportamiento espectroscópico sugiere una estructura de ent-kaur-16-eno, que podría justificar la señal observada a δ 2.82 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz) como debida a H-13 de este esqueleto, que debe estar funcionalizado, en este caso, por sendos grupos hidroxilo ent-14 α y ent-15 β .

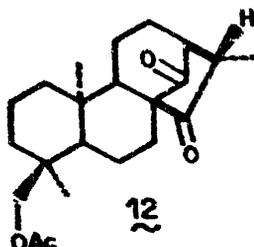
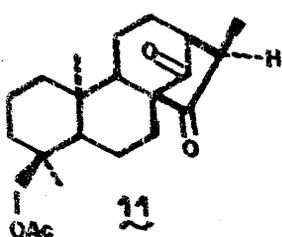


Las experiencias de ^{13}C RMN realizadas con el producto 8 confirman tal estructura, descartando la estructura de ent-atisireno. La configuración de los carbonos que soportan los grupos hidroxilo además de poder ser justificada mediante ^{13}C RMN, tras un detallado estudio de biciclo [3.2.1] octanos que se realiza en otro capítulo de esta Memoria, están de acuerdo con las configuraciones que cabe deducirse en función de las que poseían los átomos de carbono correspondientes en el producto de partida 6. Estas configuraciones fueron confirmadas después de la elucidación de la estructura de otros compuestos epiméricos que resultan de otros procesos de reagrupamiento que se discutirán posteriormente en este mismo capítulo de la Memoria. Además, cabe señalar que las asignaciones de los desplazamientos químicos de los carbonos del producto 8 están de acuerdo con las descritas para ent-kaurenos con igual funcionalización en los ciclos C y D aislados de la Pteris plumbaea ((Tanaka, 1978)).

TABLA II

Carbono	<u>6</u>	<u>7</u>	<u>8</u>	<u>9</u>	<u>10</u>	<u>12</u>	<u>18</u>
1	38.94	39.27	39.92	39.11	38.65	39.24	39.42
2	17.74	17.84	18.01	17.62	17.60	17.73	17.67
3	35.65	35.60	35.68	35.66	35.72	35.69	35.74
4	36.35	36.48	36.54	36.42	36.36	36.49	36.39
5	49.28	49.25	50.81	50.00	49.20	49.34	49.96
6	19.00	18.44	19.01	19.32	17.60	18.10	19.71
7	28.12	25.20	27.37	28.64	28.86	24.90	35.21
8	48.33	59.04	52.34	50.00	51.63	60.89	48.73
9	56.49	53.77	56.39	55.59	45.94	63.51	56.05
10	37.37	39.98	39.52	37.98	35.72	40.18	37.62
11	18.91	17.84	17.64	18.75	25.40	17.59	19.46
12	34.59	31.07	32.70	33.45	32.99	34.64	38.68
13	43.78	44.89	50.00	46.86	32.38	53.63	43.65
14	86.16	76.32	77.10	90.83	67.35	214.64	91.99
15	57.95	224.47	83.02	81.46	217.30	219.95	31.07
16	62.08	44.52	157.75	77.79	46.92	48.46	35.21
17	17.63	18.01	111.68	19.32	15.16	17.59	21.53
18	72.62	72.67	72.89	73.19	72.55	72.64	73.12
19	16.91	18.01	18.30	17.71	17.60	16.63	17.67
20	15.84	17.55	17.64	15.28	14.07	15.86	15.73
CH ₃ COO	20.84	21.09	21.05	21.11	21.04	21.06	20.93
CH ₃ COO	171.30	171.39	171.32	171.33	171.29	171.24	171.11

Se ha realizado otra prueba para comprobar el carácter epimérico en C-16 de los productos 2 y 7. La oxidación de estos productos produce respectivamente los dicetoderivados 11 y 12, que poseen unos espectros de ^1H RMN que



en este caso son bastante significativos. Así, las señales de H-13 (δ 2.72 frente a 2.54), H-16 (δ 2.57 frente a 2.80) y H-17 (δ 1.32 frente a 1.05) pueden ser analizadas convenientemente. Concretamente, por lo que respecta a la señal de H-16, en el caso del producto 12 dá lugar a un cuarteto de señales muy limpio con $J=7$ Hz, lo que indica que no hay acoplamiento apreciable entre este protón y H-13 (ángulo diedro de 90° aproximadamente). Sin embargo, en el caso

del producto 11, la señal de H-16 es un quintuplete parcialmente solapado con la señal de H-13. La irradiación a δ 1.05 produce en el espectro del producto 12 un colapso del cuartete (H-16) en un singlete. Como puede comprobarse, en este caso se ha hecho una irradiación complementaria a la que anteriormente se describió para los productos sin oxidar, haciéndose experiencias de doble resonancia en cada caso en el producto que presenta la señal de H-16 limpia, sin solapar con ninguna otra y que afortunadamente para los productos antes de oxidar y después de oxidados son los de configuraciones contrarias los que pueden verse satisfactoriamente.

Los espectros de ^{13}C RMN de las dicetonas 11 y 12 también delatan su carácter epimérico. Así, los desplazamientos químicos de los correspondientes átomos de carbono en ambos productos son similares, con la excepción de C-12 y C-17 ya que en el producto 11 existe un gran efecto γ para C-12 y una disposición endo para C-17 (δ 25.66 y 8.60 respectivamente). Por otra parte, los desplazamientos químicos de estos carbo-

nos en el producto 12 (δ 34.64 y 15.86) indican claramente la ausencia de un efecto γ notable para C-12 y una disposición exo para C-17.

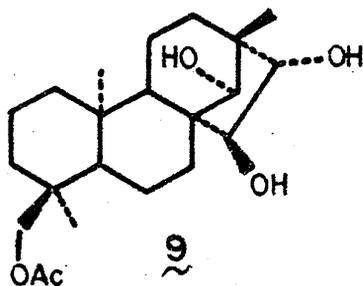
La correlación química de los productos 8, 11 y 12 se llevó a cabo por hidrogenación del producto insaturado 8, que dió lugar a un par de compuestos epiméricos (13 y 14) que por oxidación conducen respectivamente a los productos 11 y 12. Usualmente la hidrogenación de los ent-kaur-16-enos se produce por la cara ent- β , que es la cara exo del sistema biciclo[3.2.1]octánico (Briggs, 1963; Pelletier, 1981). Sin embargo, los sustituyentes de C-14 y C-15 en el producto 8 introducen obstáculos considerables en la vía usual de reacción, de forma que, en esta ocasión, los productos 13 y 14 se obtienen aproximadamente en la misma proporción. Como he indicado anteriormente, ya que la oxidación de los productos 13 y 14, productos epiméricos en C-16 sin lugar a dudas, dan respectivamente los productos 11 y 12, lo cual constituye una prueba adicional de que los productos discutidos tienen carácter epimérico en C-16.

Un producto aislado de la mezcla de reagrupamiento del producto 6 (9, 13 %) resultó ser un ent-beyerano cuya estructura se determinó en la forma en que se describe a continuación: El espectro de ^1H RMN de 9 indica claramente que este producto presenta tres señales de metilo sin gulete a δ 1.05, 1.01 y 0.85 (3H cada uno) . Los desplazamientos químicos de estos grupos metilos descarta la posibilidad de que estos metilos sean geminales a ninguna función oxigenada , por lo que deben estar situados sobre carbonos cuaternarios. Esto significa que, salvo pruebas en contra, el esqueleto continúa siendo de ent-beyerano.

El grupo acetoximetilénico sobre C-18 continúa inalterado pero además de este sistema AB, puede pareciarse la presencia de otros tres protones unidos a carbono oxigenado. Una de estas señales (δ 3.22, d, $J = 2$ Hz) puede ser asignada a H-14. Las otras dos señales pueden ser descritas en su conjunto como un sistema AB (dobletes centrados a δ 4.05 y 4.25, $J = 3.5$ Hz) con el

doblete de 4.25 ppm presentando, además del acoplamiento descrito, otro de débil entidad, posiblemente un acoplamiento en W. Este acoplamiento puede quizás ser similar al acoplamiento descrito para H-14. Parece pues tratarse de un sistema beyeránico con funcionalización oxigenada sobre C-14, C-15 y C-16, lo cual sería el resultado simplemente de la apertura del grupo epoxi original por ataque de un grupo hidroxilo sobre C-16, lo que daría lugar a un ent-14 β , 15 α , 16 β -trihidroxiderivado. El ataque dorsal sobre C-15 es difícil de asumir ya que es bien sabido el impedimento estérico que la cara ent- β presenta en este tipo de compuestos. Por otra parte, las experiencias de ^{13}C RMN confirman la estructura propuesta para el producto 9. Con este objeto, el ent-14 β -acetoxi-18-hidroxibeyer-15-eno (15) fué saponificado para dar el dihidroxiderivado 16 y posteriormente acetilado selectivamente sobre C-18, obteniéndose el monoacetato 17 que se hidrogenó dando lugar al dihidroderivado 18. La comparación de los desplazamientos químicos de C-12 en los espectros de ^{13}C RMN de los produc-

tos 9 y 18 (δ 33.45 y 38.68 respectivamente) indican un efecto γ para C-12 en el producto 9 que es sólo compatible con la disposición ent-del grupo hidroxilo en C-16 del producto 9. Por otra parte, el desplazamiento químico de C-7 para el producto 9 (δ 28.64) indica claramente la presencia de un efecto γ -gauche debido a un grupo hidroxilo con disposición ent-15 α (δ 35.21 en el caso del producto 18). Estos datos espectroscópicos comparados nos permiten asignar al producto 9 la estructura de ent-18-acetoxi-14 β ,15 α ,16 β -trihidroxibeyerano.

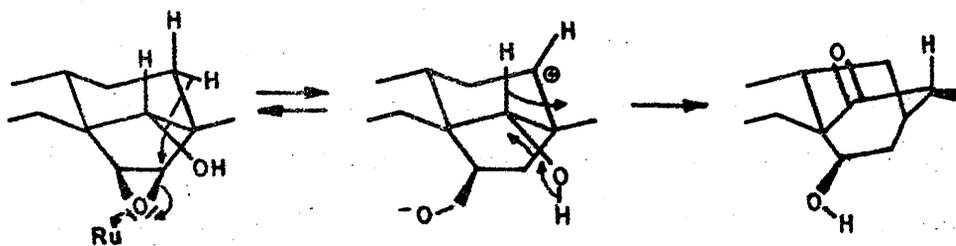
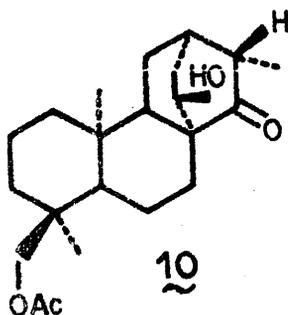


El producto minoritario (10, 8 %) aislado de la reacción fué un compuesto cetónico, lo que se dedujo de su espectro de IR. El análisis de su espectro de ^1H RMN indica que hay dos señales de metilo singulete (δ 0.97 y 0.86, 3H cada uno) y una señal de metilo doblete (δ 1.19, $J = 7$ Hz, 3H). Aunque, en principio, los metilos descritos podrian pensarse que pertenecen a un producto ent-kauránico, es preciso indicar que este espectro es bastante diferente del que presenta el producto ent-kauránico 7, también aislado de este proceso. Así, se observa la presencia de un protón perteneciente a un alcohol secundario (presumiblemente el que proviene de la apertura del grupo epoxi original) cuyo protón geminal dá una señal bastante ancha a δ 4.30 (1H, da, $J = 8$ Hz). El tratamiento del producto 10 con NaOD/D₂O produce la transformación de la señal del metilo doblete en una señal singulete (producto 19), lo que indica que por tautomería ceto-enólica el protón que desdobra al metilo se encuentra en posición α con respecto al grupo cetónico.

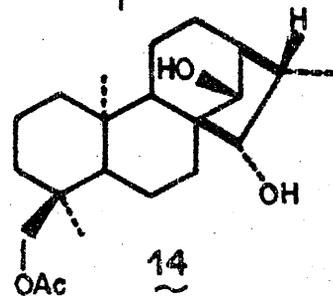
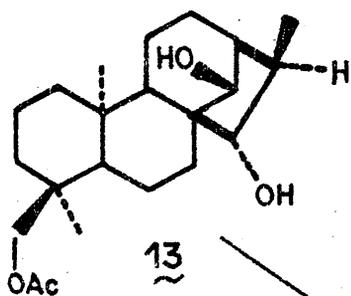
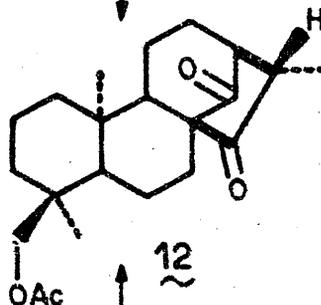
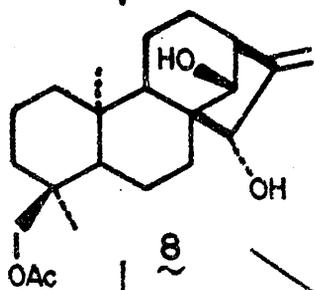
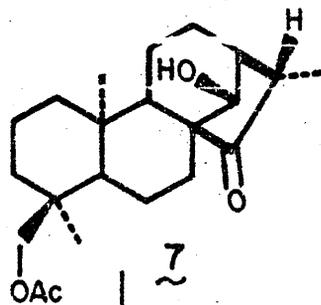
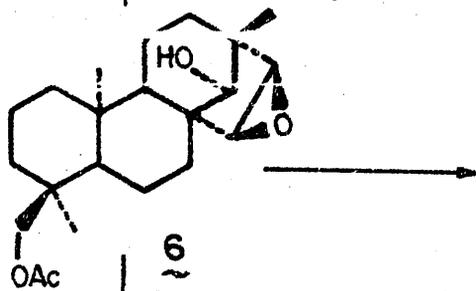
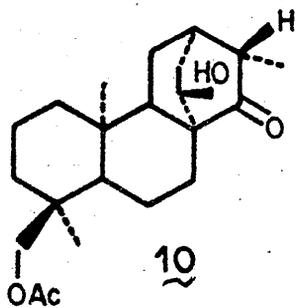
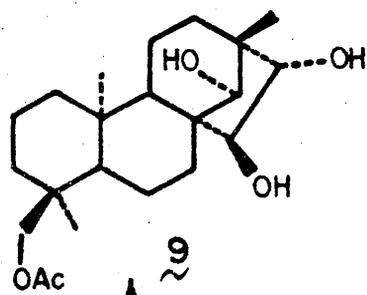
Como es bien conocido, los sistemas ent-kauránicos y ent-beyeránicos están relacionados con los ent-atisánicos (Coates, 1971; McAlees, 1975), en la forma en que se indica en las hipótesis biogenéticas de Wenkert (1955). Como la señal del protón geminal al alcohol secundario indica un acoplamiento con más de un protón, es muy probable que el producto 10 tenga una estructura ent-atisánica cuya formación (explicada en el esquema II) sea el resultado de un desplazamiento de hidruro $12 \rightarrow 16$ y posterior evolución a un ent-16(S)-atisano si se asume un reagrupamiento concertado en el que participaría el protón originalmente en C-14 del sistema ent-beyeránico de partida, así como el protón del hidroxilo sobre este mismo C-14.

Las experiencias de ^{13}C RMN llevadas a cabo con el producto 12 están también de acuerdo con la estructura propuesta de ent-18 -acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-atisan-15-ona. La formación de compuestos atisánicos no ha sido indicada en anteriores trabajos de reagrupamiento de epoxibe

yeranos (Kapadi, 1965; Hanson, 1967 y 1970 ; Yoshikoshi, 1967; Murray, 1974), aunque en este caso es perfectamente explicable debido a la movilidad del protón en C-14 del producto 6, lo que constituye una interesante variación.



Esquema II

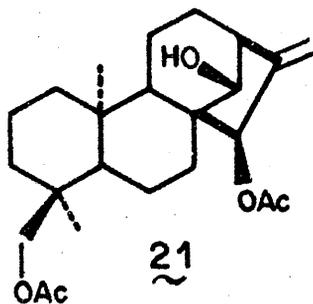


11

3.- REACCION DE REAGRUPAMIENTO DEL ent-
-14 α ,18-DIACETOXI-15 α ,16 α -EPOXIBE-
YERANO CON ACETILACETONATO DE RUTE-
NIO

Se ha realizado otra experiencia de reagrupamiento tomando ahora como producto de partida el ent-14 α ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (20). Cuando este producto se trata con acetilacetato de rutenio en condiciones similares a las descritas para los productos 1, 3 y 6 se obtiene una mezcla compleja de reacción de la que se aislan cinco productos. Uno de estos productos (12%) resultó ser idéntico al producto 2 anteriormente discutido. Otro producto (21, 12%) presentaba señales, en su espectro de ^1H RMN. de un grupo exometileno y de dos metilos singuletes, estos últimos a δ 1.05 y 0.85 (3H cada uno). Estas señales parecen indicar que el esqueleto de este producto 21 se trata de un ent-kaur-16-eno o bien de un ent-atis-16-eno. Además de las mencionadas señales, pueden observarse otra serie de

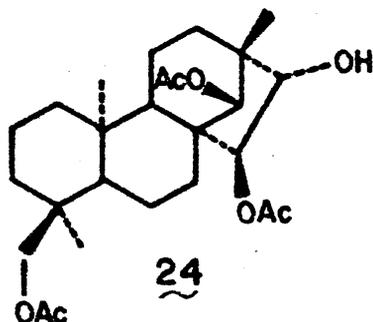
ellas atribuibles a un protón alílico geminal a un grupo acetoxilo (δ 5.52, 1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz) que debe estar situada sobre C-15 de ambos posibles esqueletos. Podemos también observar una señal singulete a δ 4.27 (1H) que es similar a la encontrada para 4-14 en los productos 2, 4, 5, 7, 8, 13 y 14. Como esta señal es característica de un protón geminal a un grupo ent-14 α -hidroxi de un esqueleto ent-kauránico, creemos que el producto 21 es un ent-18-Acetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno acetilado también sobre C-15. El notable desapantallamiento de H-15 indica, por otra parte, que este protón está espacialmente muy cercano al grupo hidroxilo sobre C-14, dato que es útil para deducir ambas configuraciones de C-14 y C-15. Por otra parte, estos ent-14 α -hidroxilos y ent-15 α -acetoxilos pueden ser esperados en un proceso de reagrupamiento de la materia de partida. El espectro de ^{13}C RMN del producto 21 confirmó la estructura propuesta por comparación con los datos espectrales anteriormente publicados para algunos ent-15 α -acetoxi-kaur-16-enos (Pelletier, 1981).



En la mezcla de reacción pudo comprobarse que había una pareja de sustancias (22 y 23) que no pudieron ser separadas por los procedimientos utilizados por nosotros, por lo que, tras realizar el espectro de ^1H RMN para ver, dentro de lo posible, los grupos funcionales que éstos tenían, se procedió a acetilar y separar los correspondientes acetatos. De esta forma se lograron aislar los productos 24 y 25, que constituyen el 5 y 10 % respectivamente del producto de partida 20. puede comprobarse que el producto 24 mantiene el esqueleto ent-bayeránico original ya que en su espectro de ^1H RMN aparecen tres señales de metilo singuletes junto con tres grupos acetoxilos. Dos de los protones geminales a estos grupos acetoxilo aparecen como un doblete agudo a δ 5.58 (1H, J = 4 Hz)

y un singulete agudo a δ 4.65 (1H). Además de estas señales puede verse fácilmente un sistema Q_{AB} (grupo acetoximetilénico de C-18) parcialmente solapado con otra señal doblete a δ 3.70 (1H, $J = 4$ Hz). Sobre esta sustancia se hicieron una serie de experiencias de doble resonancia, con firmándose que los dobletes a 5.58 y 3.60 corresponden a un sistema Q_{AB} . Trás estas consideraciones y teniendo en cuenta la estructura del producto de partida (20) creemos que el producto 24 se trata del ent-14 α ,15 α ,18-triacetoxi-16 β -hidroxibeyerano, un producto resultante de la hidratación del grupo epoxi original que se abre como consecuencia de un ataque dorsal sobre C-16 en la forma en que ya se encontró en el caso del producto 9. El acoplamiento en W que se describió entre H-14 y H-15 del producto 9 no se observa ahora en el caso del producto 24, lo cual es una prueba del carácter epimérico en C-14 de ambos productos, además el notable desapantallamiento de H-14 en el caso del producto 24 indica la proximidad espacial de este protón al grupo acetoxilo sobre C-15. El espectro de ^{13}C RMN de 24 está también de acuerdo

con la estructura asignada.



El otro triacetato (25) que se aisló de la mezcla junto con 24 posee un espectro de ^1H RMN que fué posible asignar tras una serie de experiencias de doble resonancia. Este producto 25 posee dos metilos singuletes y una señal de metilo doblete que indican que se trata de un esqueleto ent-kauránico o de un esqueleto ent-atisánico. Un detallado estudio de las experiencias de doble resonancia permitieron eliminar la posibilidad del esqueleto ent-atisánico y asignar completamente todas las señales importantes correspondientes a un esqueleto ent-kaur-11-énico. A δ 6.07 puede observarse una señal (1H, ddd, $J_1 = 10$, $J_2 = 7.5$, $J_3 = 2$ Hz) que puede ser atribuida a un protón vinílico en H-11. La irradiación a δ 2.30 (1H, presumi-

blemente debida a H-13) eliminaba la tercera de estas constantes de acoplamiento descritas y que debía estar producida por un acoplamiento en W entre H-1 y H-13, lo que se confirma observando un modelo molecular. Esta misma irradiación también afecta a una señal que aparece a δ 5.40 (1H, dd, $J_1 = 10$, $J_2 = 3.5$ Hz) a la que transforma en un agudo doblete con $J = 10$ Hz, y que puede asignarse a H-12. Además de lo indicado, esta misma irradiación también transforma un estrecho multiplete que aparece a δ 5.51 (1H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz) a la que transforma en un singulete, y que se asigna a H-14.

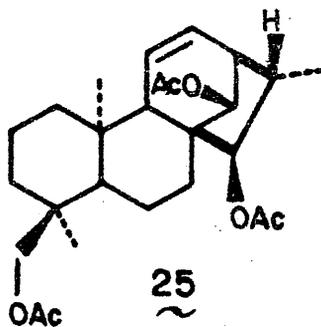
A δ 4.70 puede observarse una señal doblete (1H, $J = 4$ Hz) que resulta inalterada por la irradiación de H-13 y que se asigna a H-15 , que debe ser un protón geminal a un grupo ent-15 α -acetoxilo. Esta estereoquímica se indica teniendo en cuenta, naturalmente, que este grupo acetoxilo debe ser el original ent-14 α -acetoxi presente en el producto de partida 20. El valor de la constante de acoplamiento ($J = 4$ Hz) indica que

TABLA III

Carbono	<u>20</u>	<u>21</u>	<u>24</u>	<u>25</u>	<u>26</u>	<u>30</u>
1	38.81	40.09	39.12	39.40	37.25	38.57
2	17.99	17.99	17.63	17.79	18.22	17.73
3	35.69	35.79	35.82	35.74	35.80	35.91
4	36.34	36.60	36.45	36.51	36.82	36.43
5	50.07	50.49	50.64	49.14	45.64	50.06
6	19.28	19.48	19.36	19.85	19.42	19.65
7	29.83	29.78	29.51	30.67	32.83	33.17
8	44.91	51.17	48.15	54.15	48.88	49.30
9	47.53	50.32	47.28	47.92	151.68	45.34
10	36.98	39.10	37.29		38.65	36.89
11	17.58	17.56	18.29	133.38	115.68	19.04
12	28.77	33.55	27.70	125.50	31.41	26.65
13	40.18	49.48	45.06	50.72	42.75	44.47
14	77.10	75.00	78.68	78.33	82.52	83.50
15	54.73	79.36	78.68	89.69	142.29	133.95
16	58.65	151.93	70.59	46.66	132.24	134.17
17	19.10	109.38	22.13	20.78	22.24	22.10
18	73.21	73.51	73.49	73.47	73.06	73.48
19	17.41	18.44	17.71	17.44	17.76	17.57
20	16.00	17.46	15.03	17.44	25.44	16.05
CH ₃ COO	21.10	21.36	21.05	21.27	21.29	21.24
CH ₃ COO	20.75	21.01	20.95	21.00	20.89	20.88
CH ₃ COO			20.95	20.78		
CH ₃ COO	170.91	171.25	171.13		171.48	171.04
CH ₃ COO	170.34	171.25	170.43		171.48	170.75
CH ₃ COO			169.61			

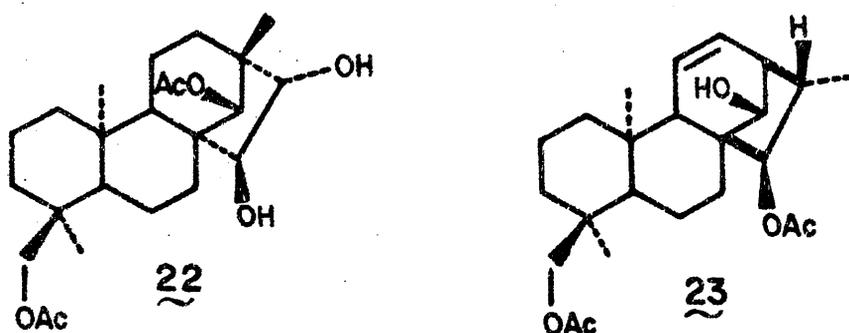
el protón en H-15 es ent- β , el protón de H-16 al cual está acoplado debe ser ent- α ya que después de considerar la influencia de la electronegatividad del grupo acetoxilo, el ángulo diedro de 120 ° está más de acuerdo con este valor de la constante de acoplamiento que en el caso de un ángulo próximo a 0 °, como sería el caso contrario.

Las experiencias de ^{13}C RMN llevadas a cabo para este producto 25 confirman la presencia de los grupos anteriormente mencionados (Herz , 1983), lo cual nos permite proponer para el producto 25 la estructura de ent-14 α ,15 α ,18-triacetoxi-16(S)kaur-11-eno.



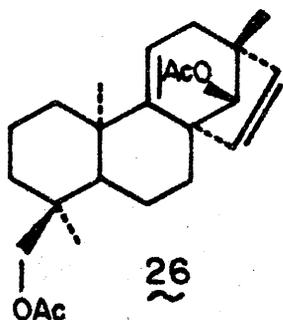
Una vez deducidas las estructuras de los triacetatos 24 y 25, la observación del espectro de ^1H RMN de la mezcla original de productos antes

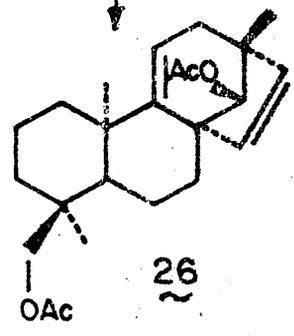
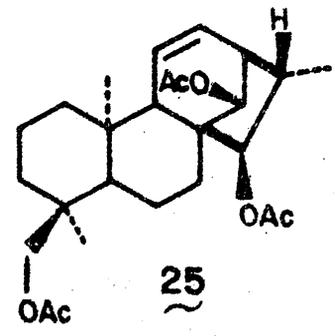
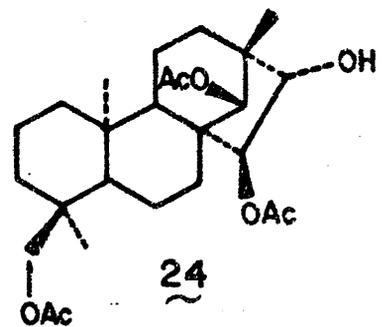
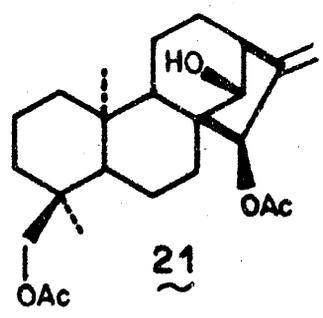
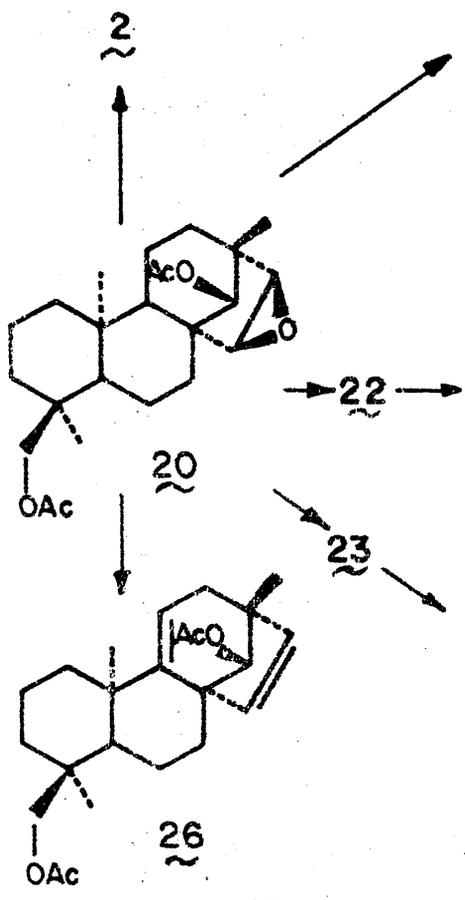
de la acetilación nos permite afirmar que los nuevos grupos acetoxilos introducidos artificialmente son los situados sobre C-15 en el producto 22 y C-14 en el producto 23 .



El producto minoritario aislado del reagrupamiento de 20 pudo comprobarse que se trataba de un diacetato (26) que se aisló con un rendimiento del 8 % . El espectro de ^{13}C RMN indicaba que el producto en cuestión poseía cuatro carbonos etilénicos, tres de los cuales estaban unidos a un protón y el otro es un carbono cuaternario. Asimismo , y como dato interesante, puede observarse que la molécula posee cuatro carbonos cuaternarios alifáticos . Si añadimos a estos datos el hecho de que su espectro de ^1H RMN revela la presencia de tres metilos singuletes, creemos

que este producto 26 es un ent-beyer-9(11),15-dieno, lo cual se confirma por el análisis detallado de su espectro de ^1H RMN. Así, por ejemplo, además de las señales vinílicas reseñadas se observa un singulete a δ 4.66 (1H) y un sistema Q_{AB} (δ , 3.90 y 3.65, $J=12$ Hz) que indica la presencia de funciones oxigenadas similares a las que poseía el producto de partida 20. Por tanto, proponemos para el producto 26 la estructura de ent-14 α ,18-diacetoxibeyer-9(11),15-dieno.





4.- REACCION DE REAGRUPAMIENTO DEL ent-
-14 β ,18-DIACETOXI-15 α ,16 α -EPOXIBE -
YERANO CON ACETILACETONATO DE RUTE-
NIO

Se ha realizado la epoxidación del ent-14 β ,18-diacetoxibeyer-15-eno (27) para obtener su epóxido 28 y proceder a estudiar su reagrupamiento en condiciones similares a las descritas para los productos 1, 3, 6 y 20. De la mezcla de reacción se logra aislar con dificultad los productos 29 (10 %), 30 (9 %) y el producto 31 en forma de un triacetato (32, 7 %).

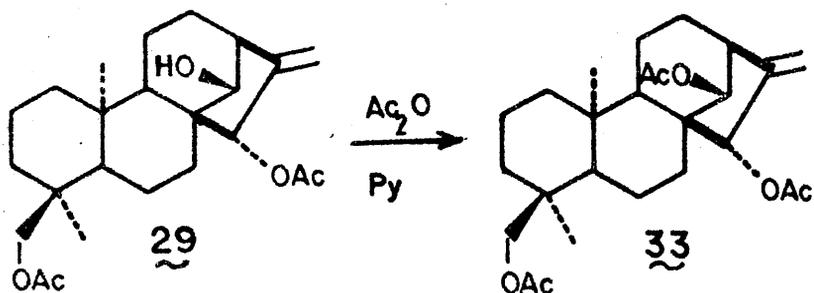
El producto 29 presenta en el IR bandas de grupo hidroxilo, acetato y doble enlace exometilénico. En su espectro de ^1H RMN se confirman estas funciones, observándose señal del vinilideno a δ 5.25. Esta señal puede ser indicativa de un sistema ent-kaur-16-eno lo que se confirma con la presencia del protón de C-13 a δ 2.83 (1H, m, $w_{1/2} = 8$ Hz). Además del sistema AB correspondiente al grupo acetoximetilénico sobre C-18 (do

bletes centrados a δ 3.85 y 3.62, $J = 12$ Hz) se observa un multiplete estrecho a δ 4.12 (1H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz) y una señal de singulete ancho a δ 5.37 (1H). Teniendo en cuenta el producto del que proviene (28), el producto 29 debe tratarse del ent-15 β ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno. La acetilación del producto 29 conduce al producto 33, en cuyo espectro de IR se observa la desaparición de la banda de hidroxilo y en su espectro de ^1H RMN la señal de H-14 (δ 4.12 en 29) se desplaza a δ 5.37, superponiéndose a la señal de H-15.

El espectro de ^{13}C RMN del producto 29 confirma la estructura propuesta, observándose desplazamientos químicos paralelos a los de su epímero en C-15 (producto 21) salvo en lo que respecta a C-9 y C-7 en los que se observa, respectivamente, un desapantallamiento y un apantallamiento como corresponde a la estereoquímica propuesta.

TABLA IV

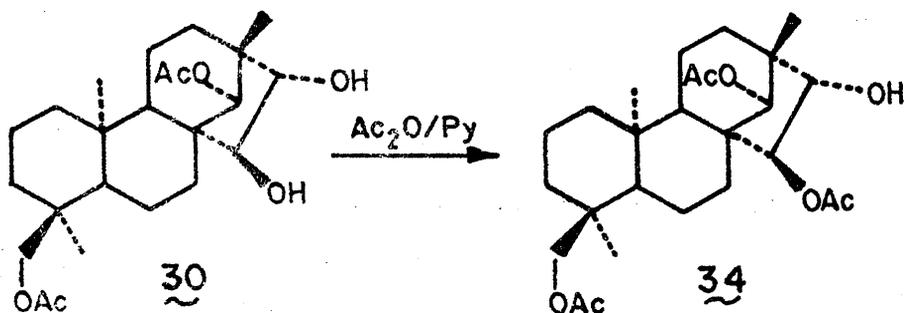
Carbono	<u>28</u>	<u>29</u>	<u>30</u>	<u>32</u>
1	38.76	39.81	39.07	39.17
2	17.45	17.52	17.53	17.75
3	35.69	35.61	35.55	35.62
4	36.19	36.53	36.40	36.48
5	49.13	49.98	49.47	49.04
6	18.56	18.81	18.48	19.20
7	27.38	26.31	27.77	27.36
8	48.53	52.64	49.09	50.46
9	56.53	56.66	55.87	63.11
10	37.29	39.58	36.00	38.77
11	18.56	18.35	19.04	133.77
12	34.62	33.06	33.15	124.35
13	44.00	51.32	46.60	46.18
14	34.56	76.70	91.01	76.82
15	54.79	82.33	80.80	84.92
16	59.15		77.10	47.39
17	17.44	113.96	19.34	15.67
18	72.36	72.93	72.83	73.02
19	16.42	17.86	17.78	17.60
20	15.76	17.86	15.12	17.60
CH_3COO	20.75	21.31	21.11	21.12
CH_3COO	20.75	21.11	20.86	21.12
CH_3COO				20.89
CH_3COO	171.52	171.95	171.34	171.35
CH_3COO	170.76			170.88
CH_3COO				170.56



El producto 30, a diferencia del producto 29 no presenta evidencias de insaturación en IR, ^1H RMN y ^{13}C RMN. Como su IR no indica la presencia de cetona, tan sólo de hidroxilos y acetato, y en su espectro de ^1H RMN se aprecian tres metilos singuletes, parece poseer esqueleto ent-beyeránico con un grupo acetoxilo sobre carbono primario (C-18) y señal de un protón singulete , aunque desdoblado por un acoplamiento en W ($J = 2 \text{ Hz}$), también geminal a grupo acetoxilo. Teniendo en cuenta que parece tratarse de un ent-beyerano, las funciones descritas deben corresponder a las originales. Además de estas señales se aprecian dos multipletes, uno de ellos limpio doblado a δ 3.95 (1H, $J= 4 \text{ Hz}$) que se modifica muy poco en el espectro de su acetato (34 , δ 4.02). El otro multiplete aparece a δ 4.30 (1H, m, $W_{1/2}$

= 8 Hz) y se desplaza a δ 5.60 en el acetato 34, presentándose ahora como un doble doblete ($J_1=4$, $J_2=2$ Hz). El acoplamiento entre las tres últimas señales descritas se comprobó mediante experiencias de doble resonancia, por lo que se aprecia claramente que se trata de un ent-beyerano 14,15,16 trifuncionalizado. Como en anteriores ocasiones (producto 24) debe tratarse de la apertura trans, invirtiendo configuración posiblemente en C-16. Que es trans lo demuestra el valor limitado de $J_{15/16}$ (4 Hz), además de que uno de ellos, muy impedido estericamente no se acetila. Como el que se acetila es el que posee los acoplamientos en W con H-14, la observación de un modelo indica que se trata de H-15, protón que está presionado por el metilo de C-20 y obligado a adoptar una posición de W con H-15. Por otra parte, aunque se abriese el epóxido por H-15, el ataque dorsal estaría totalmente impedido, por lo que se obtendría un cis-15,16-dihidroxiderivado, no compatible con su espectro de ^1H RMN y de ^{13}C RMN. Este último espectro, comparado con el del tria-

acetato 24, epímero en C-14 de 30 y ya asignado anteriormente, presenta las variaciones lógicas de acuerdo con la diferencia de configuración en C-14, particularmente en lo que se refiere al propio C-14, C-9 y C-12. En estos dos últimos carbonos se aprecia un desapantallamiento respecto a los valores de 24 que delatan la eliminación del gran efecto γ que el acetoxilo axial de 24 ejerce sobre los mismos.

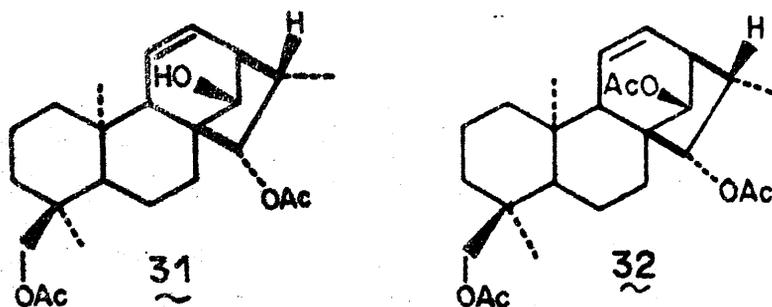


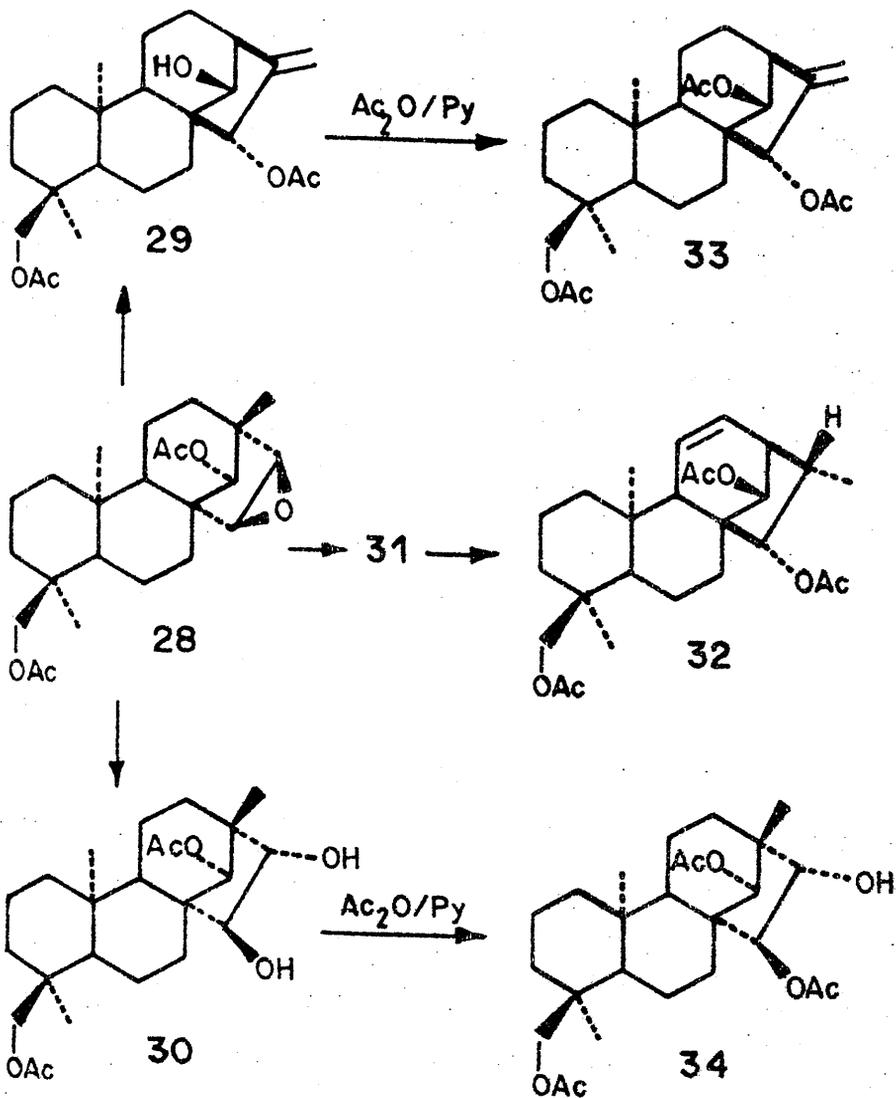
El producto 32 se logró aislar suficientemente puro tras acetilar el producto 31, obtenido en la reacción de reagrupamiento. Para estudiar la estructura de este compuesto 32 procedemos a estudiar su espectro de ^1H RMN comparándolo con el del producto 25, ya descrito anteriormente. Como puede observarse, se aprecian señales de protones de un doble enlace entre C-11 y C-12 de un

esqueleto ent-kauránico que posee, igual que en el caso del producto 25, un grupo acetoxilo sobre C-14, otro sobre C-15 y un metilo doblete de C-17, centrándose las diferencias entre 32 y 25 en la configuración de C-15, cosa normal si se tiene en cuenta el producto (28) del que procede.

Con el análisis de una serie de experiencias de doble resonancia puede apreciarse que el protón de H-15 de 32 se presenta un poco más desapantallado (δ 4.95) pero sobre todo como un doblete mucho más ancho ($J = 8$ Hz frente a $J = 4$ Hz en el producto 25), lo que indica que, en este caso, H-15 y H-16 son cis. El resto de señales son paralelas, si exceptuamos que en el espectro de 32 pueden asignarse las señales de H-16 y H-9, pero no la de H-13, y en el de 25 solamente H-13 de las tres enumeradas, quedando el resto bajo las señales de los grupos acetoxilo. En el producto 32, H-9 se presenta como un doblete a δ 2.35 ppm ($J_{9/11} = 8$, $J_{9/12} = 1.5$ Hz) y H-16 a δ 2.60 (falso quintuplete, $J_{16/17} = J_{15/16} = 8$, $J_{13/16} = 0$ Hz).

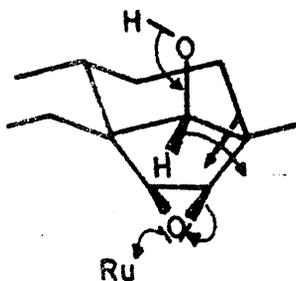
Puede concluirse por tanto que el producto 32 se trata del ent-14 α ,15 β ,18-triacetoxi-16(S)-kaur-11-eno y el producto 31 el correspondiente 14-hidroxicompu^osto, grupo que proviene de la apertura del epóxido original y que por tanto no se encontraba originalmente acetilado. Las experiencias de ¹³C RMN confirman la estructura propuesta observándose, con respecto a 25 un desapantallamiento adecuado en C-9 y apantallamiento en C-7 y C-17, como corresponde a la variación de la configuración en C-15.



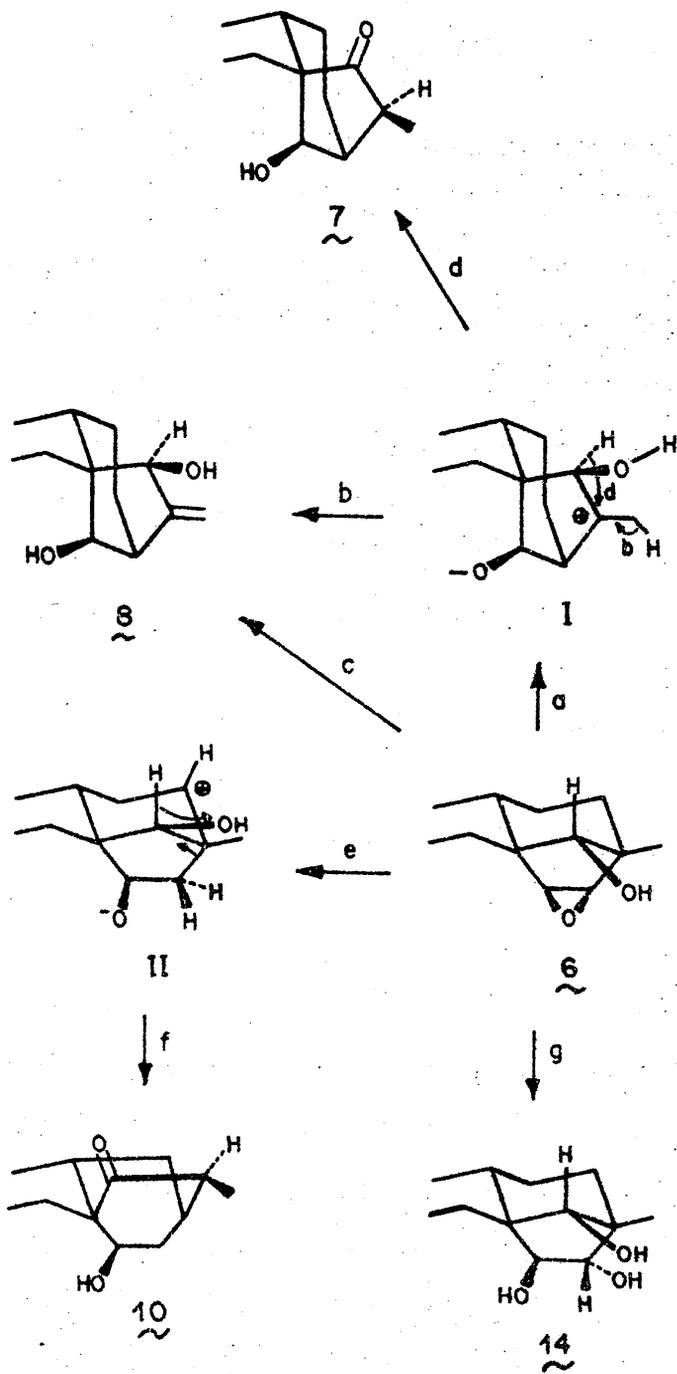


5.- DISCUSION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTAS REACCIONES DE REAGRUPAMIENTO.

Como puede observarse, el reagrupamiento del producto 1 parece que ocurre de una forma concertada ya que puede verse que se trata de un sistema todo trans, en lo que se refiere a los enlaces que presumiblemente emigran.



Cuando se trata del producto de partida 6, la configuración en C-14 no es la adecuada para un reagrupamiento tan extenso e inequívoco y por tanto se abren una serie de posibilidades que conducen a productos muy diferentes:



Así, presumiblemente la apertura catalizada del anillo oxiránico da lugar a un carbocatión que llamaremos (I). Sería la vía a descrita en el esquema III, el cual puede evolucionar hacia el compuesto insaturado 8, vía b si bien la formación de este producto 8 puede formularse perfectamente en un proceso de etapa única (vía c) a partir del producto de partida 6.

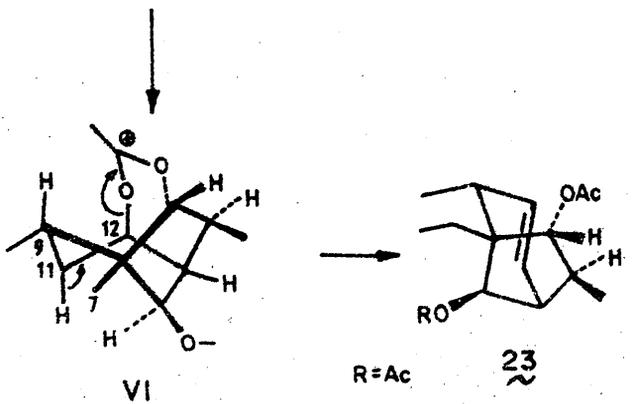
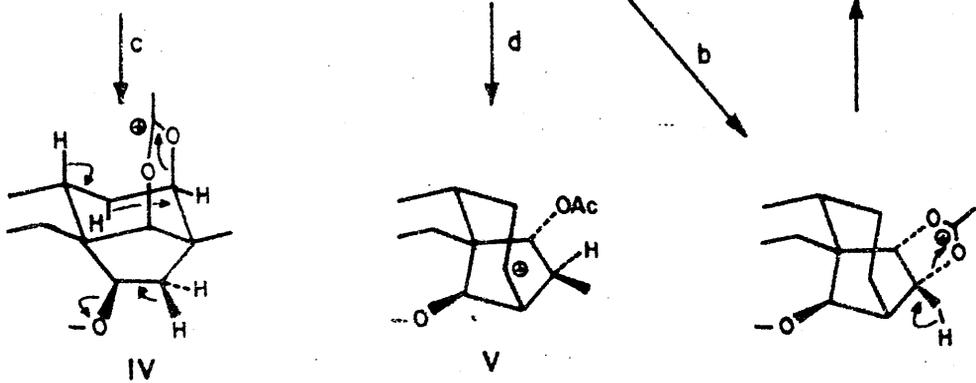
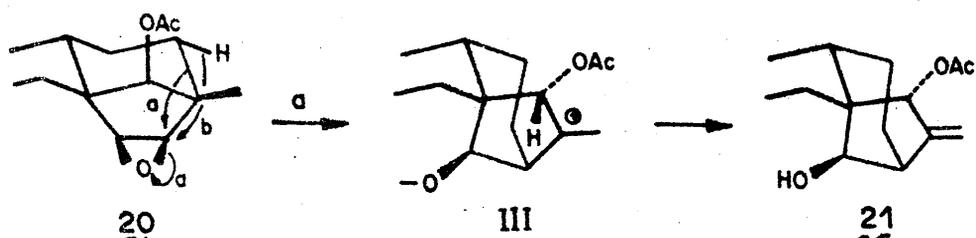
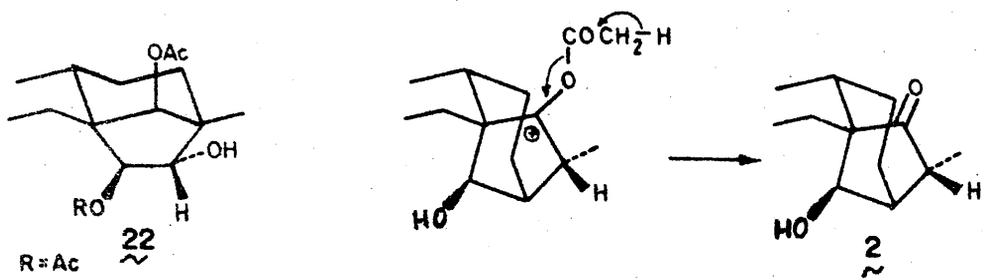
Por otra parte, el carbocatión I puede también justificar la formación del producto 7 (vía d) por migración del protón de H-15, lo que es esencial para formular la configuración en C-16 de este producto 7.

Otra vía previsible la constituye la apertura del anillo oxiránico y la migración de hidruro de la posición 12 a la 16, lo que daría lugar al carbocatión II, en forma parecida a lo propuesto en reacciones solvolíticas anteriormente publicadas (Coates, 1971 y Mc Alees 1975). El cual puede evolucionar (vía f) hacia el producto 10 por una migración concertada del enlace (16 → 13)

a (16 \rightarrow 12) que tendría lugar por la cara ent- , en forma simultánea a la de el H-14 a C-16 por la cara ent- β y pérdida del protón hidroxílico. Todo ello conduciría a la ent-atisan-15-ona (10) . El proceso concertado descrito en esta vía f es decisivo para la configuración que resulta en C-16. Es interesante observar que la formación de compuestos ent-atisánicos a partir de ent-beyeranos funcionalizados en C-16 fué predicha (Coates 1971 y Mc Alees 1975) pero no conseguida.

El producto 9 puede justificarse como obtenido a partir de 6 por ataque dorsal sobre C-16 (vía g) por una especie hidroxílica.

Los productos aislados a partir de la reacción de reagrupamiento del producto 20 están también de acuerdo, en lo que a sus estructuras se refiere, con la formulación de un carbocación similar al II del esquema III aunque en este caso se vislumbraba una interesante participación del grupo ent-14 α -acetoxilo, lo que se intenta explicar en el esquema IV :



La apertura del anillo oxiránico (vía a) puede dar el carbocatión III, el cual puede evolucionar con (vía b) o sin participación del grupo acetoxilo hacia el producto 21.

El producto 22 es el resultado de un ataque dorsal sobre C-16 del producto de partida 20 por parte de una especie hidroxílica.

Además de reagrupamientos esqueléticos y adiciones nucleófilicas, el producto 20 dá lugar al 26, cuya formación puede ser explicada como sigue: La apertura del anillo oxiránico produce en este caso un desplazamiento de hidruro de C-12 a C-16 (vía c) para dar un carbocatión en C-12, que podría estar estabilizado por el grupo acetoxilo axial sobre C-14 a través de un catión 1,3-dioxolan-2-ilio (IV), el cual puede evolucionar hacia un derivado $\Delta^{9(11)}$, debido a que en el intermedio descrito los grupos salientes quedan en disposición trans-periplanar. Por otra parte, ocurre un proceso de eliminación para dar el grupo Δ^{15} en forma similar a lo que se encontró en

el caso de reacciones sovolíticas de 15-tosiloxibeyranos (Murray, 1974).

De todas formas, la formación de este producto 26 también podría ser explicada si se supone la apertura del anillo oxiránico por C-15 (Murray, 1974) y eliminación de H-9, aunque esto es menos probable ya que no se aislan diterpenos funcionalizados sobre C-12, cosa que en este supuesto debería suceder (Murray, 1974). Por otra parte, la formación de 1,3-dioxolan-2-ilio y cationes relacionados es conocida así como su participación en procesos similares a los aquí descritos.

La participación del grupo acetoxilo en C-14 del producto 20 podría también explicar la formación del producto 23. Así, el producto 20 dá lugar al carbocation III a partir del cual se puede suponer un desplazamiento de hidruro de C-12 a C-16 (vía d, dando lugar a V) lo que explicaría, en primer lugar, la configuración en C-16 del producto 23 y también la eliminación del ent-11 β H ya que el anillo C de esta especie ent-kaurénica

(V) posee una cierta movilidad, permitiendo así su estabilización por medio de un nuevo catión 1,3-dioxetan-2-ilio (VI) en el cual existe una disposición trans-periplanar del grupo saliente y del ent-11^H, por lo que la formación de un Δ^{11} -derivado (23) se explica fácilmente. Sin embargo hay que hacer notar que para la formación de la especie VI es preciso que se deforme el anillo C antes de estabilizarse de otra forma el carbocatión V, por ejemplo dando directamente el Δ^{11} del producto 23. Tengase en cuenta que debe ser el 12-H ecuatorial el que migre a C-16 y la asistencia de acetoxilo sobre C-15 debe producirse por esa misma cara, lo que obliga a pasos sucesivos en el proceso.

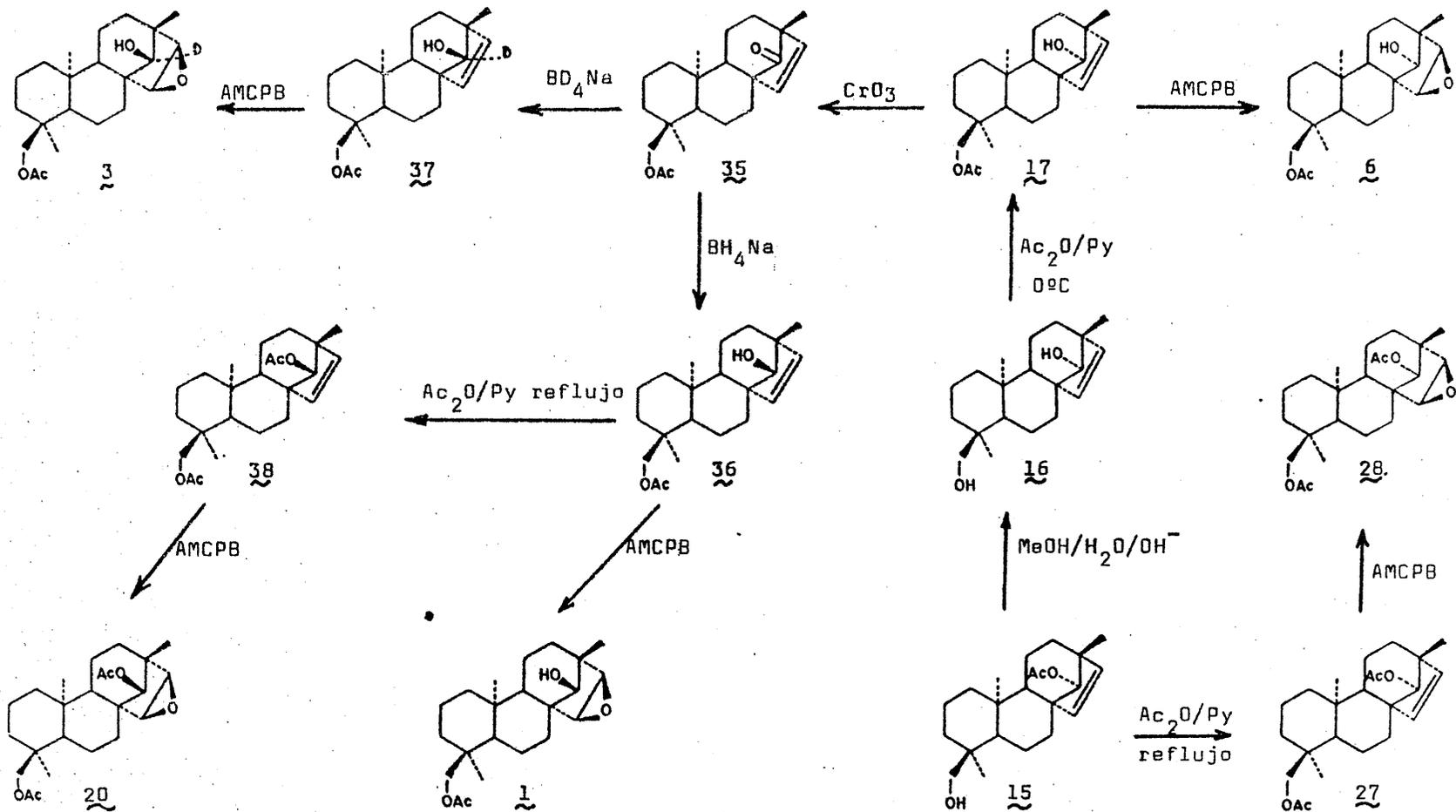
La formación del producto 2 podría explicarse en forma similar a lo explicado en la vía e a partir del carbocatión III en el esquema IV, lo que explicaría la configuración en C-16 de este producto 2.

Como puede comprobarse, los productos aislados del reagrupamiento del producto 28 se corresponden con otros tantos del reagrupamiento de su epímero en C-14 (producto 20), por lo que poco cabe añadir a la discusión ya efectuada. En base a los resultados obtenidos, cabe se ñalar que cuando existe un grupo ent-14 α -hidroxí su participación determina el curso de la reacción, cosa que no ocurre cuando existe un grupo ent-14 β -hidroxí o con los derivados acetilados de ambos, que presentan todos ellos un comportamiento paralelo entre sí, si bien, va ría la proporción de productos obtenidos.

Finalmente, es preciso indicar que los pro cesos de reagrupamiento de epoxibeyeranos sustituidos en C-14, permiten obtener varios derivados (Δ^9 -beyerenos, Δ^{11} -kaurenos y ent-16(S)-ati sanos) no obtenidos en reagrupamientos precedentes (Kapadi, 1965; Hanson, 1967 y 1970; Yoshikoshi, 1967; Buchanan, 1967; Gunn, 1971; Murray, 1974; Appleton, 1966 y 1970; Coates, 1971 y McAlees, 1975). Algunos de estos productos están

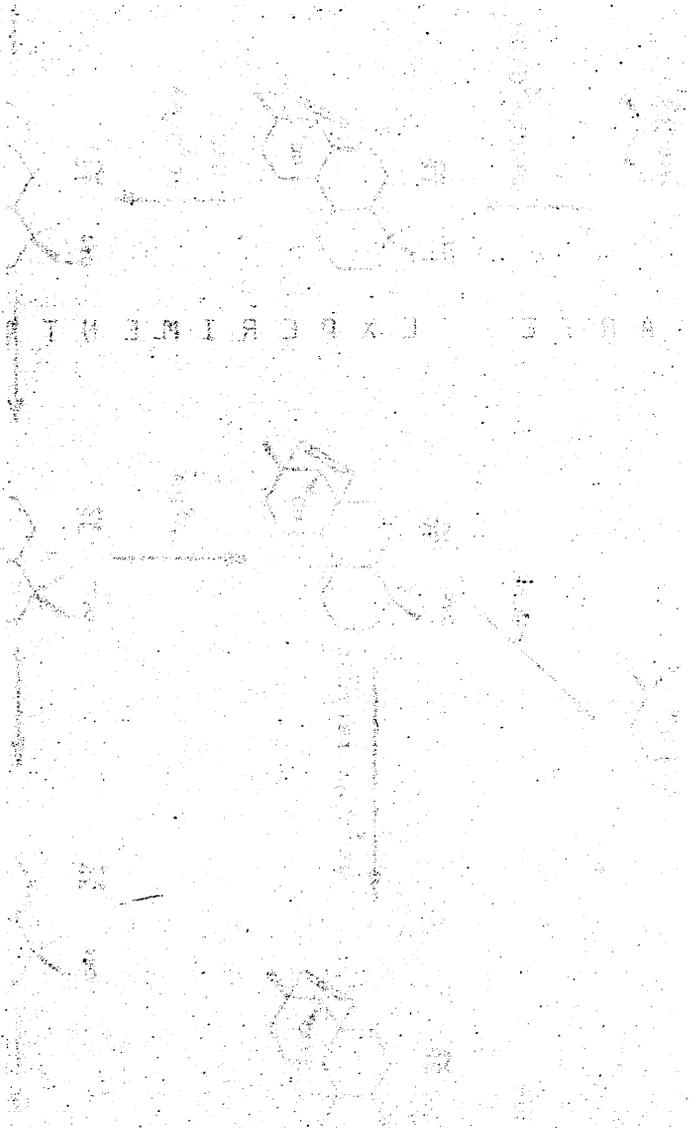
funcionalizados similarmente en los anillos C y D a los ent-kaurenoides del tipo de los rastros-
noles (Nomoto, 1976), grayanatoxinas (Iwasa, 1961)
y de los aislados de los Isodon japoneses (Fuji-
ta, 1976; Kubo, 1977) y de la Pteris plumbaea
(Tanaka, 1978). También se obtiene un beyer-9(11),
,15-dieno similar al aislado de la Dimorphoteca
aurantica, aunque en nuestro caso con funcionaliz-
ación sobre C-14 (Bohlmann, 1977).

En algunas ocasiones la funcionalización
es tan parecida que pudiera pensarse que el cami-
no seguido por nosotros podría tratarse de una
posible ruta biogénica para los mencionados
productos naturales.



SECUENCIA DE REACCIONES PARA LA OBTENCION DE LOS PRODUCTOS DE PARTIDA 1, 3, 6, 20 y 28

PARTE EXPERIMENTAL



P A R T E I VP A R T E E X P E R I M E N T A L1.- ANALISIS FISICOS

Los puntos de fusión, las rotaciones específicas, los espectros de ^1H RMN (80 MHz) y ^{13}C RMN y los análisis elementales se efectuaron en las mismas condiciones y aparatos que se indican en la parte experimental I de la presente Memoria.

Los espectros de IR se realizaron en cristales de NaCl o en pastillas de KBr, según se indique, en un espectrofotómetro Perkin Elmer 983.

2.- REACCIONES UTILIZADAS

Las reacciones de saponificación, acetilación, oxidación, epoxidación, hidrogenación y re-

ducción con borohidruro sódico se describieron en el apartado 2 de la parte experimental de parte I y parte III.

Reagrupamiento con acetilacetato de rutenio

100 mg de producto se disuelven en 5 ml de cloroformo y se adicionan 10 mg de acetilacetato de rutenio. La mezcla se calienta a 140° en tubo cerrado, controlando el tiempo de reacción por cromatografía en capa fina hasta desaparición del producto de partida o bien hasta que no se observe evolución de la mezcla resultante. Cuando la reacción se da por finalizada, el inicial color rojo anaranjado se ha transformado en un color purpura intenso.

Reacción de deuteración

15 mg de producto se disuelven en 0.5 ml de $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ y 0.5 ml de $\text{D}_2\text{O}/\text{DO}^-$, manteniendo la mezcla de reacción con agitación durante 2 h. Al cabo de este tiempo la mezcla de concentra a va-

cío y se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con MgSO_4 anhidro y el disolvente se elimina a vacío. El producto obtenido se purifica por cromatografía en columna.

3.- AISLAMIENTO DEL PRODUCTO DE PARTIDA

El producto de partida utilizado en estas experiencias fué el ent-14 β -acetoxi-18-hidroxi-15-eno (tartesol, 15), que fué aislado de la Sideritis pusilla subsp. flavovirens (García-Granados, 1984-2) y de la Sideritis pusilla var. litoralis estudiada en la parte I de la presente Memoria.

Ver datos físicos y espectroscopicos del producto 15 en parte experimental de parte I.

4.- SEMISINTESIS DE LOS PRODUCTOS UTILIZADOS EN ESTAS EXPERIENCIAS

4.1.- Preparación del ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (1)

Saponificación del producto 15.- 3 g del producto 15 se disuelven en potasa alcohólica (

(5 %) (100 ml) y la mezcla se mantiene a reflujo durante 5 horas. Después de cromatografía en columna (CC) se aislaron 2.7 g del ent-14 β , 18-dihidroxybeyer-15-eno (16):

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 16 en parte experimental de parte III.

Acetilación del producto 16.- El producto 16 (2.7 g) se acetiló con piridina/Ac₂O (50:25 ml) durante 2 h a 0 °C, aislándose 1.89 g del ent-18-acetoxi-14 β -hidroxibeyer-15-eno (17):

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 17 en parte experimental de parte III.

Oxidación del producto 17.- 1.4 g del producto 17 se disolvieron en 50 ml de acetona y oxidados con el reactivo de Jones, obteniéndose 1.2 g del ent-18-acetoxibeyer-15-en-14-ona (35):

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 35 en parte experimental de parte III.

Reducción del producto 35.- El producto 35 (850 mg) fué disuelto en EtOH (20 ml) y se añadió NaBH₄ (200 mg). La mezcla se mantuvo con agitación a T° ambiente durante 12 h, aislándose

577 mg del ent-18-acetoxi-14 α -hidroxibeyer-15-eno (36):

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 36 en parte experimental de parte III.

Epoxidación del producto 36. - El producto 36 (150 mg) se disolvió en cloroformo (20 ml) y epoxidado con ácido m-cloroperbenzoico (AMCPB) (150 mg) durante 12 h a 0°C. Después de CC se aislaron 135 mg del ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-15 α , 16 α -epoxibeyerano (1):

P.F. 157-9 °C

$[\alpha]_D = +5.4^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR(ν_{\max}^{KBr}): 3520, 1730, 1455, 1380, 1230, 1030, 865 y 810 cm⁻¹.

¹H RMN : 3.82 y 3.58 (2H, q_{AB}, J = 12, Hz , 2H-18); 3.48 y 3.07 (2H, q_{AB}, J = 4 Hz, H-15 y H-16); 2.89 (1H, s, H-14); 2.00 (3H, s, AcO); 0.97, 0.92 y 0.80 (3H cada uno, s, grupos Me).

¹³C RMN: Ver tabla I .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.80; H , 9.50. calculado para C₂₂H₃₄O₄: C, 72.89 ; H , 9.45 % .

4.2.- Preparación del ent-18-acetoxi-
-14 β -deutero -14 α -hidroxi-15 α ,
,16 α -epoxibeyerano (3)

Reducción del producto 35.- 310 mg del producto 35 se disolvieron en 10 ml de EtOH y se adicionaron 150 mg de NaBD₄, manteniendo la mezcla de reacción con agitación durante 2 h a temperatura ambiente. Después de CC se aislaron 175 mg del ent-18-acetoxi-14 β -deutero -14 α -hidroxibeyer-15-eno (37):

P.F. 140-2 °C

$[\alpha]_D = +16.3^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3500, 3050, 1725, 1380, 1260 y 745 cm⁻¹

¹H RMN : 5.67 y 5.45 (2H, Q_{AB}, J = 6 Hz, H-15 y H-16); 3.80 y 3.57 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.00 (3H, s, AcO); 0.90, 0.79 y 0.75 (3H cada uno, s, grupos Me).

Análisis elemental. Encontrado: C, 76.08; H, 10.32. Calculado para C₂₂H₃₃DO₃: C, 76.04; H, 10.15 %.

Epoxidación del producto 37.- 100 mg del producto 37 se disolvieron en 10 ml de cloroformo y epoxidados con 100 mg de AMCPB durante 12 h a temperatura ambiente, obteniéndose 73 mg del ent-18-acetoxi-14 β -deutero-14 α -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (3) :

P.F. 156-8 °C

$[\alpha]_D = +4.5^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR \leftarrow $\begin{matrix} \text{KBr} \\ \text{max} \end{matrix}$: 3500, 1735, 1450, 1380, 1240, 1075, 1030, 870 y 810 cm⁻¹.

¹H RMN: 3.88 y 3.65 (2H, q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18) 3.65 y 3.15 (1H cada uno, d, J = 3 Hz, H-15 y H-16); 2.06 (3H, s, AcO); 1.03 0.97 y 0.87 (3H cada uno, s, grupos Me).

¹³C RMN: Ver tabla I .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.50; H, 9.83. Calculado para C₂₂H₃₃DO₄: C, 72.69; H, 9.70 % .

4.3.- Preparación del ent-18-acetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (6)

270 mg del producto 17 se disolvieron en 25 ml de cloroformo y se adicionaron 200 mg de

AMCPB. Después de 2 h a temperatura ambiente y tras CC se obtienen 230 mg del ent-18-acetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (6):

P.F. 131-3 °C

$$[\alpha]_D = +16.7^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$: 3520, 1730, 1455, 1380, 1230
1085, 1030, 865 y 810 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$: 3.92 y 3.65 (2H, q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18);
3.67 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 5$ Hz) y 3.30
(1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 2$ Hz) (H-15 y H-16);
2.72 (1H, sa, H-14); 2.06 (3H, s, AcO);
1.16, 0.97 y 0.87 (3H cada uno, s, grupos Me).

$^{13}\text{C RMN}$: Ver tabla II.

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.77; H, 9.57. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 72.89; H, 9.45 %.

4.4.- Preparación del ent-14 α ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (20)

Acetilación del producto 36.- El producto 36 (350 mg) se acetiló con piridina/ Ac_2O (6:3 ml)

a reflujo durante 2 h. Después de CC se aislaron 332 mg del ent-14 α ,18-diacetoxibeyer-15-eno (38):

P.F. 118-120 °C

$$[\alpha]_D = +25^\circ \text{ (c } 1, \text{CHCl}_3\text{)}$$

IR $\begin{matrix} \text{KBr} \\ \text{max} \end{matrix}$: 1740, 1240, 1045 y 755 cm^{-1} .

^1H RMN: 5.76 y 5.52 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 4.45 (1H, s, H-14); 3.86 y 3.68 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); 2.12 y 2.05 (3H cada uno, s, 2 AcO); 0.90, 0.86 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos Me).

^{13}C RMN: Ver Tabla III.

Análisis elemental. Encontrado: C, 74.02; H, 9.48. Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$: C, 74.19; H, 9.34 %.

Epoxidación del producto 38.- 325 mg del producto 38 se epoxidaron con 300 mg de AMCPB en 20 ml de cloroformo durante 2 días a temperatura ambiente. Después de CC se obtuvieron 300 mg del ent-14 α ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (20):

P.F. sirupo

$[\alpha]_D = +13.3^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 1730, 1430, 1360, 1230, 1030
880, 820 y 730 cm^{-1}

^1H RMN: 4.41 (1H, s, H-14); 3.90 y 3.67 (2H, Q_{AB} , $J=12$ Hz, 2H-18); 3.59 y 3.16 (1H cada uno, d, $J=3$ Hz, H-15 y H-16); 2.14 y 2.06 (3H cada uno, s, 2AcO); 1.00 (6H, s, 2 grupos metilo) y 0.90 (3H, s, grupo metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla III .

4.5.- Preparación del $\text{ent-14}\beta, 18$ -diacetoxi- $15\alpha, 16\alpha$ -epoxibayerano (28)

Acetilación del producto 15.- 300 mg del producto 15 se acetilan con piridina/ Ac_2O (4:2 ml) a reflujo durante 2 h. Tras cromatografía en columna se aislan 275 mg del $\text{ent-14}\beta, 18$ -diacetoxibayerano (27):

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 27 en parte experimental de parte III.

Epoxidación del producto 27. - 250 mg del producto 27 se disuelven en 20 ml de cloroformo y se añaden 250 mg de AMCPB, manteniendo la reacción a temperatura ambiente durante 48 h. Después de CC se obtienen 215 mg del ent-14 β ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano (28):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -7.2^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 1735, 1430, 1360, 1230, 1030, 870
820 y 720 cm^{-1} .

^1H RMN: 4.40 (1H, sa, H-14); 3.85 y 3.60 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.50 (1H, superpuesta a una de las señales del Q_{AB}) y 3.10 (1H, dd, $J_1 = 3$, $J_2 = 1.5$ Hz) (H-15 y H-16); 2.02 (6H, s, 2AcO); 1.00, 0.95 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla IV .

5.- REAGRUPAMIENTO DEL PRODUCTO 1

100 mg del producto 1 se disuelven en 5 ml de CHCl_3 y se añaden 10 mg de acetilacetato de rutenio, dejando la reacción durante 1 h en tubo cerrado a 140 °C. Después de CC se obtienen 72 mg del ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(R)-kauran-15-ona (2):

P.F. sublima

$[\alpha]_D^{25} = -82.3^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR (KBr max): 3480, 1735, 1713, 1244 y 1043 cm^{-1}

^1H RMN: 4.65 (1H, s, H-14); 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.72 (1H, q, $J_1 = J_2 = 7$ Hz, H-16), 2.47 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-13); 2.09 (3H, s, AcO); 1.12 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 1.07 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos Me).

^{13}C RMN: Ver tabla I.

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.94; H, 9.61. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$: C, 78.89; H, 9.45 %.

6.- REAGRUPAMIENTO DEL PRODUCTO 3

El producto 3 (50 mg) se disolvió en 5 ml de cloroformo y se añadieron 5 mg de acetil acetato de rutenio, manteniendo la reacción a 140 °C durante 1 h. Después de CC se obtienen 32 mg del ent-18-acetoxi-16 β -deutero-14 α -hidroxi-kauran-15-ona (4):

P.F. sublima

$[\alpha]_D = -84.8^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR(ν_{\max}^{KBr}): 3480, 1735, 1713, 1245 y 1045 cm⁻¹

¹H RMN : 4.62 (1H, s, H-14); 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.10 (3H, s, AcO); 1.12, 1.07 y 0.84 (3H cada uno, s, grupos metilo)

¹³C RMN: Ver tabla I.

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.76; H, 9.77. Calculado para C₂₂H₃₄DO₄ : C, 72.69; H, 9.70 % .

7.- REAGRUPAMIENTO DEL PRODUCTO 6

200 mg del producto 6 se disuelven en

10 ml de cloroformo y se añaden 20 mg de acetil-acetonato de rutenio, manteniendo la reacción a 140 °C durante 3 h. Después de CC se aislaron los siguientes productos: ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-kauran-15-ona (7, 55 mg), ent-18-acetoxi-14 α ,15 β -dihidroxi-16-eno (8, 36 mg), ent-18-acetoxi-14 α ,15 α ,16 β -trihidroxi-16-eno (9, 25 mg), ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-atisan-15-ona (10, 16 mg) y 40 mg del producto de partida 6.

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-kauran-15-ona (7):

P.F. 178-9 °C

$[\alpha]_D = -66.6^\circ$ (c 1, CHCl₃)

IR (ν_{\max}^{KBr}): 3450, 1730, 1720, 1245 y 1040 cm⁻¹

¹H RMN: 4.55 (1H, sa, H-14); 3.87 y 3.66 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.20 (1H, m, W_{1/2} = 10 Hz, H-13); 2.09 (3H, s, AcO); 1.27 (3H, d, J = 7 Hz, 3H-17); 1.06 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos Me).

¹³C RMN: Ver tabla II.

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.57 ; H, 9.73. Calculado para $C_{22}H_{34}O_4$: C, 72.89 ; H, 9.45 % .

ent-18-acetoxi-14 α ,15 β -dihidroxikaur-16-eno (8):

P.F. Sirupo

$$[\alpha]_D = -40.3^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3400, 1737, 1640, 1240 y 890 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$: 5.41 y 5.21 (1H cada uno, s, 2H-17);
4.22 (1H, sa, H-14); 3.91 y 3.65 (2H,
 \bar{q}_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.80 (1H, sa,
H-15); 2.82 (1H, m, $\omega_{1/2} = 8$ Hz, H-13);
2.07 (3H, s, AcO); 1.03 y 0.85 (3H ca
da uno, s, grupos Me).

$^{13}\text{C RMN}$: Ver tabla II

ent-18-acetoxi-14 β ,15 α ,16 β -trihidroxibeyerano
(9):

P.F. 145-7 $^\circ\text{C}$

$$[\alpha]_D = -3.2^\circ \text{ (c 1, CHCl}_3\text{)}$$

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3479, 1720, 1254 y 1039 cm^{-1}

$^1\text{H RMN}$: 4.25 (1H, m, $\omega_{1/2} = 6$ Hz, H-15); 4.05

(1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-16); 3.89 y 3.36 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.22 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-14); 2.06 (3H, s, AcO); 1.05, 1.01 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos Me).

^{13}C RMN: Ver tabla II .

Análisis elemental. Encontrado: C, 69.53; H, 9.73. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_5$: C, 69.44 ; H, 9.53 % .

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-atisan-15-ona (10):

P.F. 173-5 °C

$[\alpha]_D = -10$ ° (c 1, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 3450, 1736, 1721, 1246 y 1033 cm^{-1}

^1H RMN: 4.30 (1H, da, $J = 8$ Hz, H-14); 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18), 2.07 (3H, s, AcO); 1.19 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 0.97 y 0.86 (3H cada uno, s, grupos Me).

^{13}C RMN: Ver tabla II .

Análisis elemental. Encontrado: C, 72.52; H, 9.58. Calculado para $C_{22}H_{34}O_4$: C, 72.89; H, 9.45 %.

8.- REAGRUPAMIENTO DEL PRODUCTO 20

300 mg del producto 20 se disuelven en 15 ml de $CHCl_3$ y se añaden 30 mg de acetilacetato de rutenio, manteniendo la reacción a 140 °C durante 1 hora. Después de CC se aislaron los siguientes productos: ent-15 α ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno (21, 35 mg), ent-14 α ,18-diacetoxibeyer-9(11),15-dieno (26, 10 mg), ent-18-acetoxi-14 α -hidroxici-16(R)-kauran-15-ona (2, 36 mg) y una mezcla de dos productos que, después de acetilar y purificar por CC, rinde el ent-14 α ,15 α ,18-triacetoxi-16 β -hidroxibeyerano (24, 15 mg) y el ent-14 α ,15 α ,18-triacetoxi-16(S)-kaur-11-eno (25, 30 mg).

ent-15 α ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno

(21):

Sirupo

$[\alpha]_D = -53.9^\circ$ (c 0.75, $CHCl_3$)

IR (ν_{\max}^{film}): 3454, 1738, 1665, 1250 y 890 cm^{-1}

^1H RMN : 5.52 (1H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz, H-15); 5.07 (2H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz, 2H-17); 4.27 (1H, sa, H-14); 3.86 y 3.67 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.17 y 2.05 (3H cada uno, s, 2 AcO); 1.05 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos metilo).

^{13}C RMN : Ver tabla III.

ent-14 α ,18-diacetoxibeyer-9(11),15-dieno (26):

Sirupo

$[\alpha]_D = +38.7^\circ$ (c 1, CHCl_3)

IR (ν_{\max}^{film}): 3080, 1738, 1238, 1045 y 796 cm^{-1}

^1H RMN : 6.17 y 5.30 (2H, Q_{AB} , $J = 6$ Hz, H-15 y H-16); 5.25 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-11); 4.66 (1H, s, H-14), 3.90 y 3.65 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.10 y 2.05 (3H cada uno, s, 2 AcO); 1.10, 0.96 y 0.87 (3H cada uno, s, grupos metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla III.

60 mg de una mezcla (productos 22 y 23) de difícil separación por CC se acetilan con piridina/Ac₂O (2:1 ml) a rflujo durante 3 h, obteniéndose 15 mg del producto 24 y 30 mg del producto 25.

ent-14 α ,15 α ,18-triacetoxi-16 β -hidroxibeyerano

(24):

Sirupo

$$[\alpha]_D = - 9.5^\circ \text{ (c } 1, \text{ CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 1744 , 1228 y 1100 cm⁻¹

¹H RMN: 5.58 (1H, d, J= 4 Hz, H-15); 4.65 (1H, s, H-14); 3.85 y 3.60 (2H, q_{AB}, J= 12 Hz, 2H-18); 3.70 (1H, d, J= 4 Hz, H-16); 2.17, 2.14 y 2.05 (3H cada uno, s, 3 AcO); 1.09, 0.90 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos metilo).

¹³C RMN: Ver tabla III .

ent-14 α ,15 α ,18-triacetoxi-16(S)-kaur-11-eno

(25):

Sirupo

$$[\alpha]_D = - 76^\circ \text{ (c } 1, \text{ CHCl}_3\text{)}$$

IR (ν_{\max}^{film}): 3060, 1738, 1234, 1042 y 910 cm^{-1}

^1H RMN: 6.07 (1H, ddd, $J_1 = 10$ Hz, $J_2 = 7.5$ Hz, $J_3 = 2$ Hz, H-11); 5.51 (1H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz, H-14); 5.40 (1H, dd, $J_1 = 10$ Hz, $J_2 = 3.5$ Hz, H-12); 4.70 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-15); 3.87 y 3.64 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.30 (1H, ddd, $J_1 = 3.5$ Hz, $J_2 = 2.5$ Hz, $J_3 = 1.5$ Hz, H-13); 2.10 (6H, s, 2 AcO), 2.06 (3H, s, AcO); 1.22 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 1.06 y 0.85 (3H, s, grupos metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla III .

9.- REAGRUPAMIENTO DEL PRODUCTO 28

200 mg del producto 28 se disuelven en 15 ml de cloroformo y se añaden 20 mg de acetil acetonato de rutenio, manteniendo la reacción a 140 °C durante 2h. Después de CC se aislaron los siguientes productos: ent-15 β ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno (29, 20 mg), ent-14 β ,18-diacetoxi-15 α ,16 β -dihidroxibeyerano (30, 18 mg) y tras acetilación de una de las fracciones obtenida en la separación por CC de los productos de reacción se logra aislar el ent-14 α ,15 β ,18-triacetoxi-16(S)-kaur-11-eno (32, 14 mg).

ent-15 β ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno

(29)

Sirupo

$$[\alpha]_D = -27.8^\circ \text{ (c } 0.5, \text{CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3450, 3060, 1736, 1454, 1369, 1242, 1032, 904 y 829 cm^{-1} .

$^1\text{H RMN}$: 5.37 (1H, sa,) y 5.25 (2H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz) (H-15 y 2H-17); 4.12 (1H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz, H-14); 3.85 y 3.62 (2H, Q_{AB} ,

$J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 2.83 (1H, m, $W_{1/2} = 8 \text{ Hz}$, H-13); 2.08 y 2.05 (3H cada uno, s, 2 AcO); 1.02 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla IV

ent-14 β ,18-diacetoxi-15 α ,16 β -dihidroxibeyerano

(30)

Sirupo

$[\alpha]_D = -16^\circ$ (c 0.5, CHCl_3)

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3455, 1737, 1454, 1378, 1241
y 1033 cm^{-1} .

^1H RMN: 4.69 (1H, sa, H-14); 4.30 (1H, m, $W_{1/2} = 8 \text{ Hz}$, H-15); 3.95 (1H, d, $J = 4 \text{ Hz}$, H-16); 3.85 y 3.60 (2H, Q_{AB} , $J = 12 \text{ Hz}$, 2H-18); 2.10 y 2.06 (3H cada uno, s, 2 AcO); 1.00, 0.90 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla IV .

ent-14 α ,15 β ,18-triacetoxi-16(S)-kaur-11-eno

(32)

Sirupo

$$[\alpha]_D = -33.8 \text{ (c } 0.5, \text{CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3065, 1740, 1235, 1042 y
910 cm^{-1} .

^1H RMN: 6.00 (1H, ddd, $J_1 = 10$ Hz, $J_2 = 8$ Hz, $J_3 = 2$ Hz, H-11); 5.40 (1H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz, H-14) superpuesto en parte con el doble doblete centrado a 5.34 ($J_1 = 10$, $J_2 = 3.5$, $J_3 = 1.5$ Hz, H-12); 4.95 (1H, d, $J = 8$ Hz, H-15); 3.85 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18) 2.60 (1H, q, $J_{16/17} = J_{15/16} = 8$, $J_{13/16} = 0$ Hz, H-16); 2.35 (1H, dd, $J_{9/11} = 8$ $J_{9/12} = 1.5$ Hz, H-9); 2.06 (9H, s, 3 AcO); 1.05 (3H, s, grupo metilo); 0.95 (3H, d, $J = 8$ Hz, 3H-17) y 0.82 (3H, s, grupo metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla IV .

10.- CORRELACION QUIMICA Y DERIVADOS

Deuteración de los productos 2 y 10.-

15 mg del producto 2 se disolvieron en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ (0.5 ml) y $\text{D}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}^-$ (0.5 ml), manteniendo la mezcla de reacción bajo agitación durante 2 h. Después de CC se aislaron 9 mg del ent-16 β -deutero-14 α ,18-dihidroxiakaur-15-ona (5):

Sublima

$$[\alpha]_{\text{D}} = -35.4^\circ \quad (c \ 0.5, \text{EtOH})$$

$$\text{IR}(\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}): 3437, 1715 \text{ y } 1047 \text{ cm}^{-1}$$

^1H RMN: 4.65 (1H, d, $J = 2$ Hz, H-14); 3.68 y 3.11 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.10, 1.07 y 0.77 (3H cada uno, s, grupos metilo).

En las mismas condiciones que para el producto 2, el producto 10 (10 mg) origina el ent-16 α -deutero-14 α ,18-dihidroxiatisan-15-ona (19, 6 mg):

^1H RMN: 4.35 (1H, da, $J = 8$ Hz, H-14); 3.42 y 3.12 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 1.12 (3H, s, 3H-17); 0.97 y 0.80 (3H cada uno, s, grupos metilo).

Saponificación del producto 4.-

10 mg del producto 4 se saponifican en un medio formado por $(\text{CD}_3)_2\text{CO}/(\text{D}_2\text{O}/\text{DO}^-)$ durante 2 h con agitación. Después de CC se obtienen 7 mg del producto 7.

Hidrogenación de los productos 8 y 17.-

La hidrogenación catalítica del producto 8 (15 mg) en EtOH (5 ml) con $\text{Pd}/\text{SO}_4\text{Ba}$ (5%) a 5 atm. durante 12 h conduce a una mezcla formada por el ent-18-acetoxi-14 α ,15 β -dihidroxi-16(R)-kaurano (13, 6 mg) y el ent-18-acetoxi-14 α ,15 β -dihidroxi-16(S)-kaurano (14, 7 mg):

Producto 13: ^1H RMN: 4.24 (1H, sa, H-14); 3.90 y 3.64 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.02 (1H, da, $J = 4$ Hz, H-15); 2.07 (3H, s, AcO); 1.18 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 1.02 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos metilo).

Producto 14: ^1H RMN: 4.12 (1H, sa, H-14); 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 3.57 (1H, da, $J = 8$ Hz, H-15); 2.07 (3H, s, AcO); 1.12 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 0.97 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos metilo).

En las mismas condiciones, el producto 17 (100 mg) origina el ent-18-acetoxi-14 β -hidroxibeyerano (18):

Ver datos físicos y espectroscópicos del producto 18 en parte experimental de parte III.

Oxidación de los productos 2, 7, 13 y 14.-

El producto 2 (28 mg) se disuelve en 5 ml de acetona y se oxida con el reactivo de Jones. Después de CC se aísla el ent-18-acetoxi-16(R)-kauren-14,15-diona (11, 25 mg):

P.F. 204-6 °C

$[\alpha]_D = -98.7$ ° (c 1, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 1761, 1723, 1246 y 1027 cm^{-1}

^1H RMN: 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18);
2.67 (1H, q, $J_1 = J_2 = 7$ Hz, H-16);
2.72 (1H, m, $W_{1/2} = 7$ Hz, H-13); 2.07 (

(3H, s, AcO); 1.32 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 0.95 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos metilo).

^{13}C RMN: Ver tabla I .

Análisis elemental. Encontrado: C, 73.05; H, 9.10. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$: C, 73.30; H, 8.95 % .

La oxidación del producto 7 (20 mg) conduce al ent-18-acetoxi-16(S)-kauran-14,15-diona (12, 16 mg):

P.F. 178-180 °C

$[\alpha]_{\text{D}} = -68.7$ ° (c 1, CHCl_3)

IR ($\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$): 1760, 1725, 1250 y 1030 cm^{-1}

^1H RMN: 3.87 y 3.62 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18); 2.80 (1H, c, $J = 7$ Hz, H-16); 2.54 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-13); 2.07 (3H, s, AcO); 1.05 (3H, d, $J = 7$ Hz, 3H-17); 0.95 y 0.85 (3H cada uno, s, grupos Me).

^{13}C RMN: Ver tabla II .

Análisis elemental. Encontrado: C, 73.21; H, 9.27. Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$: C, 73.30; H, 8.95 % .

La oxidación del producto 13 (6 mg) origina el producto 11 y la oxidación del producto 14 (7 mg) da el producto 12 (4 mg).

Acetilación del producto 29.-

El producto 29 (8 mg) se disuelve en 1 ml de piridina y 0.5 ml de Ac_2O , calentando la reacción a reflujo durante 2 h. Después de CC se aislan 6 mg del ent-14 α ,15 β ,18-triacetoxikaur-16-eno (33)

Sirupo

$$[\alpha]_D = -29.6^\circ \text{ (c 0.5, CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3065, 1732, 1630, 1370, 1238, 1034, 905 y 320 cm^{-1} .

$^1\text{H RMN}$: 5.37 (2H, m, $W_{1/2} = 4$ Hz) y 5.16 (2H, m, $W_{1/2} = 6$ Hz)(H-14, H-15 y 2H-17); 3.85 y 3.57 (2H, Q_{AB} , $J = 12$ Hz, 2H-18) 2.80 (1H, m, $W_{1/2} = 8$ Hz, H-13); 2.10 (3H), 2.06 (6H) (s, 3 AcO); 1.12 y 0.82 (3H cada uno, s, grupos metilo).

Acetilación del producto 30

10 mg del producto 30 se acetilan con piridina/Ac₂O (1: 0.5 ml) a reflujo durante 2 h. Tras CC se obtienen 8 mg del ent-14 β ,15 α ,18-triacetoxi-16 β -hidroxibeyerano (34):

Sirupo

$$[\alpha]_D = -9.4 \text{ (c 0.5, CHCl}_3\text{)}$$

IR($\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$): 3400, 1739, 1453, 1372, 1232
y 1024 cm⁻¹.

¹H RMN: 5.60 (1H, dd, J₁ = 4, J₂ = 2, Hz, H-15)
4.70 (1H, d, J = 2 Hz, H-14); 4.02 (1H, d, J = 4 Hz, H-16); 3.85 y 3.56 (2H, Q_{AB}, J = 12 Hz, 2H-18); 2.12, 2.10 y 2.06 (3H cada uno, s, 3 AcO); 1.08, 0.92 y 0.80 (3H cada uno, s, grupos metilo).

CONFIDENTIAL - SECURITY INFORMATION

1. The following information was obtained from a confidential source:

(a) On 10/15/68, [redacted] advised that [redacted]

was in contact with [redacted] and [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

advised that [redacted] was in contact with [redacted]

and [redacted] on 10/15/68. [redacted]

CONCLUSIONES

CONFIDENTIAL

C O N C L U S I O N E S

- 1^a El estudio de la Sideritis almeriensis Pau ha dado lugar al aislamiento e identificación de los diterpenos conocidos ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxi-kaur-16-eno (linearol), ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-kaur-16-eno (sidol) y ent-3 β ,7 α ,18-trihidroxi-kaur-16-eno (foliol).
- 2^a De la Sideritis pusilla (Lange) Pau se han aislado y caracterizado los siguientes diterpenos conocidos:
- ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxi-kaur-16-eno (linearol).
- ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-kaur-16-eno (sidol).
- ent-18-acetoxi-3 β ,7 α -dihidroxi-kaur-15-eno (isolinearol).
- ent-3 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxi-kaur-15-eno (isosidol).

ent-7 α -acetoxi-15 β ,18-dihidroxikaur-15-eno (Eubol).

- 3^a El estudio de la Sideritis pusilla var. littoralis ha dado lugar al aislamiento e identificación de los siguientes diterpenos conocidos:

ent-14 β -acetoxi-13-hidroxibeyer-15-eno (tartesol).

ent-7 α -aceto-13-hidroxikaur-15-eno (siderol)

ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibeyer-15-eno (7-acetilpusillatriol).

ent-14 β -acetoxi-7 α ,18-dihidroxibeyer-15-eno (14-acetilpusillatriol).

ent-7 α ,14 β ,18-trihidroxibeyer-15-eno (pusillatriol).

ent-3 β ,7 α ,14 β ,18-tetrahidroxibeyer-15-eno (pusillatetrol).

- 4^a Estas Sideritis estudiadas pueden ser un ejemplo característico de un grupo de Sideritis que pueden constituir el punto de

unión entre la grex de la Sideritis pusilla y la grex de la Sideritis hirsuta, teniendo un comportamiento ecológico más afin a la Sideritis hirsuta. Queda, por tanto, en manos de los botánicos especialistas en el tema, el realizar una revisión de la grex pusilla desde el punto de vista morfológico, cariológico y palinológico, que junto con el estudio fitoquímico aclararán el estudio de dicha grex.

5ª El estudio de la Sideritis arborescens subsp. paulii permite aislar e identificar los siguientes diterpenos conocidos:

Acido ent-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dien-18-oico (ácido 6-desoxiandalusico).

ent-8 α -hidroxilabda-13(16),14-dien-18-al (6-desoxiandalusal).

ent-3 β -hidroxi-13-epi-óxido de mancilo (Ribencil).

ent-8 α ,18-dihidroxilabda-13(16),14-dieno (6-desoxiandalusol).

ent-6 α ,8 α ,18-trihidroxilabda-13(16),14-
-dieno (andalusol).

6^a De la Sideritis arborescens subsp. paulii
se han aislado y caracterizado los siguien
tes nuevos diterpenos:

ent-6 α ,8 α -dihidroxilabda-13(16),14-die-
no (18-desoxiandalusol).

ent-16,18-dihidroxi-13-epi-óxido de ma-
noilo (13-epijabugodiol).

ent-16,18-dihidroxi-óxido de manoilo (jabugodiol).

ent-8 α ,18-dihidroxi-15,16-peroxilabda-
-13-eno

ent-6 α ,16,18-trihidroxi-13-epi-óxido de
manoilo (13-epijabugotriol).

Se realiza la hipótesis biogenética de
que algunos de estos productos pueden pro-
venir de la epoxidación del doble enlace
13(16) del sistema ent-labda-13(16),14-dié
nico, lo que se ha confirmado por síntesis
química, que además constituye un procedi-
miento para la confirmación de las estruc-
turas propuestas.

7^a Se ha realizado la biotransformación del ent-7 α , 18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyer-15-eno con cultivos de Rhizopus nigricans, aislándose los siguientes productos:

ent-7 α , 18-diacetoxi-14 β -hidroxi-15 α , 16 α -epoxibeyerano.

ent-7 α , 18-diacetoxi-3 β , 14 β -dihidroxibeyer-15-eno

ent-7 α , 18-diacetoxi-3 β , 14 β -dihidroxi-15 α , 16 α -epoxibeyerano

A la vista de estos resultados, este hongo produce la epoxidación del doble enlace entre los carbonos 15 y 16 por la cara menos impedida estéricamente (ent- α), dando lugar a productos análogos a los obtenidos en la epoxidación por vía química. Asimismo, también produce la ent-3 β hidroxilación del sustrato, dando lugar a una función análoga a la que poseen otros productos naturales aislados de Sideritis.

- 8ª Los intentos de biotransformación del ent-7 α -acetoxi-14 β ,18-dihidroxibeyerano con Rhizopus nigricans resultaron infructuosos.
- 9ª La incubación del ent-7 α ,18-diacetoxi-14 β -hidroxibeyer-15-eno con Aspergillus ochraceus no origina productos de transformación.
- 10ª La biotransformación del ent-18-acetoxi - kaur-16-en-3,7-diona con Aspergillus niger durante 48 horas, conduce a la desacetilación en C-18 del sustrato. Esta desacetilación no ha sido posible llevarla a cabo, sin embargo, por métodos químicos.
- 11ª La biotransformación del ent-18-acetoxi - kaur-16-en-3,7-diona con Aspergillus niger durante 6 días produce los siguientes productos:
- ent-16 β ,18-dihidroxikauran-3,7-diona
 - ent-17,18-dihidroxi-16(S)kauran-3,7-diona

ent-16 α ,17,18-trihidroxi-1,6-diona
ent-16 β ,17,18-trihidroxi-1,6-diona

La determinación de estructura de estos me-
 tabolitos se ha llevado a cabo por métodos
 espectroscópicos y procedimientos de corre-
 lación química, demostrando que, en este
 caso, el Rhizopus nigricans produce, además
 de la desacetilación en C-18, hidrataciones
 del doble enlace entre C-16 y C-17 para dar
 ent-16 β -hidroxi-1,6-dionas y ent-17-hidroxi-
 1,6-dionas así como hidroxilaciones del
 doble enlace, obteniéndose 16,17-glicoles
 epímeros en C-16, no detectándose productos
 procedentes del ataque a los grupos ceto en
 C-3 y C-7.

12^a La biotransformación del ent-18-acetoxi-
-8 α -hidroxi-1,6-diona con Rhizo-
pus nigricans origina, con mal rendimiento,
 una compleja mezcla de productos de la que
 se ha logrado aislar tan solo el producto
 de desacetilación en C-18 del sustrato y
 un metabolito cuya estructura es ent-18-

-acetoxi-16,20-dihidroxi-13-epi-óxido de manoil, determinada por procedimientos químicos y espectroscópicos. El microorganismo, por comparación con los resultados expuestos en la conclusión 6ª, parece epoxidar el doble enlace 13(16) del sustrato, ocurriendo espontáneamente la ciclación hacia un 13-epi-óxido de manoil funcionalizado en C-16, teniendo lugar, además, la hidroxilación sobre C-20.

13ª La biotransformación de la deoxivulgarina durante 30 h con Aspergillus ochraceus conduce a la formación de vulgarina y otro metabolito que se identifica como 11,13-dihidrodouglanina, producto procedente de la reducción por la cara β (más impedida estéricamente), al contrario de lo que ocurre cuando la deoxivulgarina se reduce por procedimientos químicos , obteniéndose el epímero (dihidrosantamarina).

- 14^a La biotransformación de la deoxivulgarina durante 30 h con Rhizopus nigricans origina vulgarina, 1 β -hidroxi-2-cetoeudesm-3-en-6 α ,12-ólido y erivanina. La determinación de sus estructuras se realizó por métodos espectroscópicos y por comparación con los datos publicados para la erivanina y para el epímero en C-1 del α -cetol, obtenido químicamente.
- 15^a Se ha realizado la transformación de la deoxivulgarina a vulgarina en una única etapa, confirmando la hipótesis propuesta para la conversión microbiológica de la deoxivulgarina en vulgarina y proporcionando una mejora de la ruta por etapas, realizada anteriormente, para la síntesis de vulgarina.
- 16^a Se ha realizado un detallado estudio de efectos de desplazamiento químico producido por diversos sustituyentes sobre la parte biciclo [3.2.1]octánica del esqueleto ent-beyeránico y ent-beyerénico.

- 17^a Particularmente interesante han sido los resultados obtenidos en los efectos γ -anti y γ -sin, habiéndose ampliado el conocimiento del papel desempeñado por los hidrógenos en la transmisión del efecto γ .
- 18^a El reagrupamiento del ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano con acetil acetonato de rutenio conduce a un único producto que se identifica como ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(R)kauran-15-ona, proponiéndose un mecanismo para la formación de dicho producto, comprobado por marcaje con deuterio.
- 19^a El reagrupamiento del ent-18-acetoxi-14 β -hidroxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano con acetil acetonato de rutenio origina los siguientes productos:
- ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)kauran-15-ona.
 - ent-18-acetoxi-14 α ,15 β -dihidroxikaur-16-eno.

ent-18-acetoxi-14 β ,15 α ,16 β -trihidroxi-beyerano.

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-atisan-15-ona.

La determinación de sus estructuras se ha realizado por métodos espectroscópicos y en algún caso, además, por correlación química entre los productos aislados. También se postula un posible mecanismo para explicar la formación de dichos productos.

20^a El reagrupamiento del ent-14 α ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano con acetilacetato de rutenio origina los siguientes productos:

ent-15 α ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno.

ent-14 α ,18-diacetoxibeyer-9(11),15-dieno.

ent-18-acetoxi-14 α -hidroxi-16(R)kauran-15-ona.

ent-14 α ,18-diacetoxi-15 α ,16 β -dihidroxi-beyerano.

ent-15 α ,18-diacetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-kaur-11-eno.

Las estructuras de estos productos se determinaron por métodos espectroscópicos, postulándose un posible mecanismo para explicar su formación.

21^a El reagrupamiento del ent-14 β ,18-diacetoxi-15 α ,16 α -epoxibeyerano conduce a los siguientes productos:

ent-15 β ,18-diacetoxi-14 α -hidroxikaur-16-eno.

ent-14 β ,18-diacetoxi-15 α ,16 β -dihidroxibeyerano.

ent-15 β ,18-diacetoxi-14 α -hidroxi-16(S)-kaur-11-eno.

Las estructuras de estos productos se determinaron por métodos espectroscópicos, postulando el posible mecanismo para su formación.

22^a En base a los resultados obtenidos, cabe señalar que cuando existe un grupo ent-14 α -hidroxi, su participación determina el curso de la reacción, cosa que no ocurre

cuando existe un grupo ent-14/ β -hidroxilo con los derivados acetilados de ambos, que presentan todos ellos un comportamiento paralelo entre sí, si bien varía la proporción de productos obtenidos.

- 23^a Del estudio de estas reacciones puede, además, concluirse que el reagrupamiento de estos sustratos, catalizado con acetilacetato de rutenio, dá lugar, además de productos análogos a los descritos en bibliografía para reagrupamientos de 15,16-epoxibeyeranos, a Δ^9 -beyerenos, Δ^{11} -kaurenos y ent-16(S)-atisanos.
- 24^a El estudio de ^{13}C RMN de los compuestos obtenidos en estos procesos de reagrupamiento complementa a los indicados en la conclusión 15^a, ya que se trata también de sistemas biciclo [3.2.1]octánicos y biciclo [2.2.1]octánicos multisustituídos, permitiendo, además, establecer criterios para la determinación de configuración re

lativa en C-16 de esqueletos ent-kauránicos.

25^a Finalmente, estos procesos de reagrupamiento permiten obtener varios derivados con funcionalización idéntica en los anillos C y D a la de algunos productos naturales del tipo de los rastronoles, grayanatoxinas y ent-kaurenoides aislados de los Isodon japoneses y de la Pteris plumbaea, lo que nos hace pensar en que el camino seguido por nosotros pueda tratarse de una posible ruta biogénica para la formación de los mencionados productos naturales.

BIBLIOGRAFIA

1. K. Takara, *Yakara*, K.
Takara, 33, 190 (1903).
2. K. Takara, *Yakara*, K.
Takara, 33, 190 (1903).
3. K. Takara, *Yakara*, K.
Takara, 33, 190 (1903).
4. K. Takara, *Yakara*, K.
Takara, 33, 190 (1903).

B I B L I O G R A F I A

Algarra, J.L., García-Granados, A., Saenz de Buruega, A. y Saenz de Buruega, J.M.
Phytochem., 22 (8), 1779 (1983).

Anderson, A.B., McCrindle, R. y Turnbull, J.K.
J.C.S. Chem. Commun., 143 (1973).

Ibid
Can. J. Chem., 1181 (1975-1).

Ibid
J.C.S. Perkin I, 1202 (1975-2).

Ando, M. y Takare, K.
Tetrahedron, 33, 2785 (1977).

Ando, M., Akahana, A. y Takare, K.
Bull. Chem. Soc., Japan, 51, 283 (1978).

Ando, M., Tajima, K. y Takare, K.
J.Org. Chem., 48, 1210 (1983).

Appleton, R.A., McAlees, A.J., McCormick, A., McCrindle, R. y Murray, R.D.H.
J. Chem. Soc. (C), 2319 (1966).

Appleton, R.A., Gunn, P.A. y MacCrindle, R.
J.Chem. Soc. (C), 1148 (1970).

Ayer, W.A., Ball, J.A., Rodriguez, B. y
Valverde, S.
Can.J. Chem., 52, 2792 (1974).

Bearder, J.R., MacMillan, J. y Phinney, B.O.
J.C.S. Perkin I, 721 (1975-1).

Bearder, J.R., Dennis, F.G. y MacMillan, J.
Tetrahedron Letters, 9, 669 (1975-2).

Bearder, J.R., MacMillan, J., Wels, C.M. y
Phinney, B.O.
Phytochem., 14, 1741 (1975-3).

Bearder, J.R., Frydman, V.M., Gaskin, P.,
Hatton, J.K., Harvey, W.E. y MacMillan, J.
J.C.S. Perkin I, 178 (1976-1)

Bearder, J.R., Frydman, V.F., Gaskin, P.,
MacMillan, J., Wels, C.M. y Phinney, B.O.
J.C.S. Perkin I, 173 (1976-2).

Beilby, J.P. Ghisalbertu, E.L. Jefferies, P.R.
Sefton, M.A. y Sheppard, P.N.
Tetrahedron Letters, 28, 2589 (1973).

Bell, A.M., Browne, J.W., Denny, W.A.,
Jones, E.R.H., Kosal, A. y Meakins, G. D.
J.C.S. Perkin I, 2930 (1972).

- Bentham, G.
" Labiatarum Genera et Species ", 1834 .
- Bhattacharyya, P.K. y Ganapathy, B.O.
Ind. J. Biochem., 2, 137 (1965).
- Bohlmann, F., Zdero, C. y Mahanta, P.
Phytochem., 16, 1073 (1977).
- Bory, S. y Collin-Asselinou, C.
Bull. Soc. Chim. France, 1355, (1961).
- Bory, S., Manh, D.D., Fetizon, M., Kone, M.
y Anh, N.T.
Bull. Soc. Chim. France, 2347 (1975).
- Soya, M. y Valverde, S.
12 Simp. Interr. de Química de Productos
Naturales., pg 129 (1980).
- Buchanan, J.G. St. C y Davis, B.R.
J.C.S. Chem. Commun., 1142 (1967).
- Buckwalter, B.L., Burfitt, I.R., Nagel, A.A.
Wenkert, E. y Näf, F.
Helv. Chim. Acta, 58, 1567 (1975).
- Bretón, J.L., Gonzalez, A., de León, G.
Anal. Quim., 65 (6), 621 (1969-1).
- Bretón, J.L., Gonzalez, A., Rocha, J.M.,
Panizo, F., Rodriguez, B. y Valverde, S.
Tetrahedron Letters, 7, 599 (1969-2).

Bretón, J.L., Gonzalez, A. y de León, G.
Anal. Quim., 66 (3), 293 (1970).

Brieskorn, R.C.
Pharmac. Acta. Helv., 41, 343 (1966).

Briggs, L.H., Cain, B.F., Cambie, R.C.,
Davis, B.R., Rutledge, P.S. y Wilmshurst, J.K.
J. Chem. Soc., 1345 (1963).

Briquet, J.I.
" Les Labiées des Alpes Maritimes ", 1893.

Cambie, R.C., Joblin, K.N. y Preston, A.F.
Aust. J. Chem., 2365 (1971).

Cambie, R.C., Preston, A.F. y Woodgates, P.D.
Aust. J. Chem., 26, 1821 (1973).

Camps, F., Coll, J. y Cortel, A.
12 Simp. Intern. de Química de Productos
Naturales, pg 136 (1980).

Camps, F., Coll, J. y Dargallo, O.
XI Reunión Bienal del grupo especializado de
Química Orgánica de la R.S.E.Q., pg 315 ,
comunicación 112, Valladolid (1985).

Carrascal, M.I., Rodriguez, B. y Valverde, S.
Anal. Quim., 73, 442 (1977).

Carrascal, M.I., Rabanal, R.M., Márquez, C. y
Valverde, S.,
Anal. Quim., 74 (12), 1547 (1978).

Clark, A.M. y Hufford, C.D.
J.C.S. Perkin I, 3022 (1979).

Coates, R.M. y Bertram, E.F.
J. Org. Chem., 36, 2625 (1971-1)

Ibid
J. Org. Chem., 36, 3722 (1971-2)

Connolly, J.D., Gunn, D.M., McCrindle, R.,
Murray, R.D.H. y Overton, K.H.
Tetrahedron Letters, 2109 (1966).

Croft, K.D., Ghisalberti, E.L., Jefferies,
P.R., Knox, J.R., Mahoney, T.J. y Sheppard, P.N.
Tetrahedron, 30, 3663 (1974).

Cross, B.E., Galt, R.H.B. y Hanson, J.R.
J. Chem. Soc., 295 (1964).

Cross, B.E., Norton, K. y Stewart, J.C.
J. Chem. Soc. (C), 1054 (1968).

Curtis, R.G., Heilbron, I., Jones, E.H.R. y
Woods, Q.F.
J. Chem. Soc., 457 (1953).

Chalmers, A.A., Gorst-Allman, C.P. y Piacenza,
L.P.L.
Tetrahedron Letters, 19, 1665 (1977).

Chambers, V.E.M., Denny, W.A., Evans, J.M.,
Jones, E.R.H., Kosal, A., Meakins, G.D. y
Pragnell, J.
J. C. S. Perkin I, 1500 (1973).

Chapman, P.J., Meerman, G. y Gunsalus, I.C.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 20, 104 (1965).

Charney, W. y Herzog, H.L.
"Microbial transformations of steroids"
Academic Press, New York, 1967 .

Daniels, R. y Fisher, J.
J. Org. Chem., 28, 320 (1963).

Dodrell, D.M., Pegg, D.T. y Bendall, M.R.
J. Mag. Reson., 48, 323 (1982).

Dodson, R. y Mizuba, S.
J. Org. Chem., 27, 698 (1962).

Eagle, G.A., Kaplan, E.R., Naidu, C. y
Pirett, D.E.A.
J. Chem. Soc. Perkin trans. I, 9, 994 (1978).

Eguren, L., Perales, A., Fayos, J., Savona, G.
Paternostro, M., Piozzi, F. y Rodriguez, B.
J. Org. Chem., 46 (16), 3364 (1981).

El-Ferally, F.S., Benigni, D.A. y McPhail, A.T.
J. Chem. Soc. Perkin I, 355 (1983).

Ellanes, G. y Hanson, J.R.
J.C.S. Perkin I, 1666 (1976).

Eustratova, R.I., Scheichenko, V.I., Bankows-
kii, A.I. y Rybalko, K.S.
Khim. Prir. Soedin., 5, 239 (1969).

Fernandez, C., Fraga, B.M., Hernandez, M.G.,
Arteaga, J.M. y Díaz, C.E.

XI Reunión Bienal del grupo especializado de
Química Orgánica de la R.S. E. Q., pg 396,
comunicación 141. Valladolid (1985).

Fetizon, M. y Ragoussis, N.
Tetrahedron, 34, 287 (1978).

Fishman, J.
J. Am. Chem. Soc., 82, 6143 (1960).

Font Quer, P.
Treb. Mus. Cienc. Nat. Barcelona, 5, 3 (1924).

Forrest, T.P. y Webb, J.G.K.
Organic Magnetic Resonance, 12 (6), 371 (1979).

Fraga, B.M., Hanson, J.R. y Hernandez, M.G.
Phytochem., 17, 812 (1978).

Fraga, B.M., Hanson, J.R., Sarah, F.Y. y Her-
nández, M.G.
Phytocher. 18, 1875 (1979).

Fraga, B.M., González, A.G., Hernández, M.G.,
Hanson, J.R. y Hitchcock, P.B.
J. Chem. Soc. Chem. Commun., 594 (1982).

Fraga, B.M., González, A. G., Hernández, M.G.
y San Martín, A.
Tetrahedron Letters, 24 (18), 1945 (1983).

Fraga, B.M., Díaz, C.E., Gonzáles, A.G., Hanson,
J.R., Hernández, M.G. y San Martín, A.
Phytochem., 24 (7), 1489 (1985-1).

Fraga, B.M., Hernández, M.G., Tellado, F. y González, P.

XI Reunión Bienal del grupo especializado de Química Orgánica de la R.S.E.C., pg 427 ,
comunicación 152. Valladolid (1985-2).

Fujita, E.

Bull. Inst. Chem. Res., 43, 111 (1970-1).

Fujita, E.

Bull. Inst. Chem. Res., 43, 294 (1970-2).

Fujita, E., Fujita, T., Katayama, H. y Shibuya, M.

J. Chem. Soc (C), 1674 (1970-3).

Fujita, E.

Bull. Inst. Chem. Res., 49, 423 (1971).

Fujita, E., Nagao, I. y Node, N.

Heterocycles, 5, 793 (1976).

Funke, E., Tozyo, T., Ishii, H. y Taked, K.

J. Chem. Soc (C), 2584 (1970).

García Alvarez, M.C. y Rodriguez, B.

Phytochem., 15 (22), 1994 (1976).

García Alvarez, M.C., Panizo, M. y Rodriguez, B.

Anal. Quim., 75, 752 (1979).

García Alvarez, M.C. y Rodriguez, B.

Phytochem., 19, 2405 (1980).

García-Granados, A., Garrido, J.A., Parra, A.
y Peña, A.

Anales de Química, 75, 780 (1979).

García-Granados, A., Parra, A., Peña, A. y
Valverde, S.

Anales de Química, 76, 178 (1980-1).

García-Granados, A., Parra, A., Peña, A.,
Sáenz de Buruaga, A. y Sáenz de Buruaga, J.M.

Tetrahedron Letters, 21, 3611 (1980-2).

García-Granados, A., Parra, A. y Peña, A.

Anales de Química, 77C, 239 (1981-1).

García-Granados, A., Parra, A., Peña, A., Sáenz
de Buruaga, A. y Sáenz de Buruaga, J.M.

Anales de Química, 77C, 19 (1981-2).

García-Granados, A. y Parra, A.

Anales de Química, 77C, 291 (1982-1).

García-Granados, A., López Caballero, F. y
Sáenz de Buruaga, A.

XIX Reunión Bienal de la R.S.E.Q., pg 399,
comunicación 38-54, Santander (1982-2).

García-Granados, A., Onorato, E., Sáenz de
Buruaga, A. y Arias, J.M.

Anales de Química, 78C, 287 (1982-3).

García-Granados, A., Martínez, P.A. y Parra, A.
Anales de Química, 78C, 410, (1982-4).

García-Granados, A., López Caballero, F. y
Sáenz de Buruaga, A.
ESOC III, P.B. 36, Canterbury (1983-1).

García-Granados, A., Cabrera, E., Sáenz de
Buruaga, A. y Sáenz de Buruaga, J.M.
Phytochem., 22 (12), 2779 (1983-2).

García-Granados, A., Martínez, A., Onorato, E.
y Arias, J.M.
Journal of Natural Products, 47(1), 59 (1984-1).

García-Granados, A., Martínez, A., Onorato, M.E.
y Socorro, O.
Phytochem., 23(3), 607 (1984-2).

García-Granados, A., Parra, A., Peña, A. y
Socorro, O.
Anales de Química, 80C, 175, (1984-3).

García-Granados, A., Martínez, A., Molina, A.,
Onorato, M.E., Rico, M., Sáenz de Buruaga, A.
y Sáenz de Buruaga, J.M.
Phytochem., 24, 8, 1789 (1985).

García Quesada, T.G., Rodríguez, B., Valverde,
S. y Huneck, S.
Tetrahedron Letters, 2187 (1972-1).

García Quesada, T.G., Rodríguez, B. y Valverde, S.
Anales de Química, 68, 1467 (1972-2).

García Quesada, T.G., Rodríguez, B. y Valverde, S.
Experientia, 69, 1201 (1973).

Ibid
Anales de Química, 70, 239 (1974).

Ibid
Phytochem., 14, 517 (1975).

Geissman, T.A. y Ellestad, G.A.
J. Org. Chem., 27, 1855 (1962).

Geissman, T.A., Verbixcar, A.J., Phinney, B.O. y Cragg, G.
Phytochem., 5, 933 (1966).

Ghisalberti, E.L., Jefferies, P.R., Sefton, M.A. y Sheppard, P.N.
Tetrahedron, 33, 2451 (1977).

Ghisalberti, E.L., Jefferies, P.R. y Sefton, M.A.
J. Chem. Research (S), 8, (1982).
J. Chem. Research (M), 166 (1982).

González, A., Bretón, J.L., Fraga, B.M. y Luis, J.L.
Tetrahedron Letters, 3097 (1971-1).

González, A., Bretón, J.L., Fraga, B.M. y Luis, J.G.

Anales de Química, 67, 1245 (1971-2).

González, A., Bretón, J.L. y Fagundo, C.R.
Anales de Química, 69 (9-10), 1059 (1973-1).

González, A., Fraga, B.M., Hernández, M.G. y Luis, J.G.

Tetrahedron, 29, 561 (1973-2).

Ibid

Phytochem., 12, 2721 (1973-3).

González, A., Bretón, J.L., Fraga, B.M. y Luis, J.G.

Phytochem., 12, 1113 (1973-4).

González, A.G., Bermejo, J., Bretón, J.L. y Fajardo, M.

Anales de Química, 69, 667 (1973-5).

González, A., Fraga, B.M., Hernández, M.G., Larruga, F. y Luis, J.G.

Phytochem., 14, 2655 (1975).

González, A., Bretón, J.L., Fagundo, C.R. y Trujillo, J.M.

Anales de Química, 72 (1), 65 (1976-1).

González, A.G., Bretón, J.L., Galindo, A. y Cabrera, I.

Rev. Latinoam. Quim., 7, 37 (1976-2).

González, A.G., Arteaga, J.M., Bretón, J.L.
y Fraga, B.M.

Phytochem., 16, 107 (1977).

González, A.G., Bretón, J.L. y Gavin, J.
Resumen Simposium 30 a 32, 75 aniversario
R.S.E.F.Q., pg 21, Madrid (1978).

González, A.G., Galindo, A. y Mansilla, H.
Tetrahedron, 36, 2015 (1980).

González, A.G., Luis, J.G., Ravelo, A.G.,
Herrera, J.R., González, C.M., Bazzochi, I.L.,
Ferro, E.A., Mendoza, J.J., Dorta, L.R. y
Fraga, B.M.

XI Reunion Bienal del grupo especializado de
Química Orgánica de la R.S.E.F.Q., pg 402,
comunicación 143, Valladolid (1985).

Grant, P.K. y Lai, C.K.

Austral. J. Chem., 31, 1977 (1978-1).

Ibid

Austral. J. Chem., 31, 1785 (1978-2).

Grieco, P.A.

Revision. Synthesis, 67 (1975).

Grieco, P.A. y Nishizawa, M.

J.C.S. Chem. Commun., 582 (1976).

Grutzner, J.B., Jautelat, M., Dence, J.B.,
Smith, R.A. y Roberts, J.D.

J. Am. Chem. Soc., 92, 7107 (1970).

Gunn, P.A., McCrindle, R. y Roy, R.G.
J. Chem. Soc (C), 1018 (1971).

Hall, S.F. y Oehlschager, A.C.
Tetrahedron, 3155 (1972).

Hanson, J.R.
Tetrahedron, 22, 1453 (1966).

Hanson, J.R.
Tetrahedron, 23, 793 (1967).

Hanson, J.R. y White, A.F.
Tetrahedron Letters, 24, 6291 (1968).

Hanson, J.R.
Tetrahedron, 26, 2711 (1970-1)

Hanson, J.R., Evans, R. y White, A.F.
J. Chem. Soc (C), 2601 (1970-2).

Hanson, J.R., Savona, G. y Siverns, M.
J.C.S. Perkin I, 2001 (1974).

Hedden, P., McMillan, J. y Phinney, B.O.
J.C.S. Perkin I, 587 (1974)

Hegnauer, R.
"Chemitaxonomie der Pflanzen", tomo IV,
pg 316, Birkhauser Verlag Basel, (1966).

Henderson, M.S. y McCrindle, R.
J. Chem. Soc. C, 2014 (1969).

- Heumann, A. y Kolshorn, H.
J. Org. Chem., 44(9), 1575 (1979) .
- Herz, W. y Sundararaman, P.
J. Org. Chem., 42, 806 (1977).
- Herz, W. y Kulanthaivel, P.
Phytochem., 22, 2543 (1983).
- Hikino, H., Tokuoka, Y., Hikino, Y. y Takemoto, T.
Tetrahedron, 24, 3147 (1968-1).
- Hikino, H., Aota, K., Tokuoka, Y. y Takemoto, T.
Chem. Pharm. Bull., 1088 (1968-2).
- Hikino, H., Kohama, T. y Takemoto, T.
Chem. Pharm. Bull., 17(8), 1659 (1969).
- Hovijuchi, S. y Yamada, K.
Agric. Biol. Chem., 32, 555 (1968).
- Huynh, K.L.
Bull. Nation. Hist. Nat., 3º 45Bot.1. 1 (1972).
- Isakawa, Y., Matsuda, R. y Takemoto, T.
Phytochem., 19, 567 (1980).
- Ishii, H., Tozyo, T. y Minato, H.
J.C.S. Chem. Commun., 649 (1968)
- Ishii, H., Tozyo, T., Nakamura, M. y Minato, H.
Tetrahedron, 26(11), 2751 (1970).

Ishii, H., Tozyo, T. y Nakamura, M.
Tetrahedron, 27(18), 4263 (1971).

Ito, S., Matsuki, Y. y Kodama, M.
Tetrahedron Letters, 31, 2901 (1979-1).
Tetrahedron Letters, 42, 4081 (1979-2).

Iwasa, J., Kumazawa, Z. y Kakajima, M.
Chem. Ind., 511 (1961).

Jhonson, R.A.
"Oxygenations with microorganism in Oxidation
in Organic Chemistry". Academic Press, N. York,
vol C, pg 131 (1978).

Jones, E.R.H., Meakins, G.D., O'Miners, J. ,
Mington, R.N. y Wilkins, A.L.
J.C.S. Perkin I, 1842 (1976) y referencias
allí citadas.

Jones, E.R.H.
Pure, Appl. Chem., 33, 39 (1973).

Joulain, D., Ronessac, F. y Garnerro, J.
Tetrahedron Letters, 3585 (1977).

Kapadi, A.H. y Dev, S.
Tetrahedron Letters, 18, 1255 (1965)

Kaplan, E.R., Naidu, K. y Rivett, D.E.A.
J. Chem. Soc. C, 1656 (1970).

Kasturi, T.R., Reddy, S. M. y Murthy, P.S.
Org. Mag. Resonance, 20, 42, (1982).

- Kubo, I., Miura, I., Nakanishi, K., Kamikawa, T., Isobe, T. y Kubota, T.
J.C.S. Chem. Commun., 555 (1977).
- Kusumi, T., Col, T., Hayashi, T. y Kakisawa, H.
Phytochem., 24, 2118 (1985).
- Laonigro, J., Lanzetta, R., Panilli, M., Adinolfi, M. y Mangoni, L.
Gazz. Chim. Ital., 109, 145 (1979).
- Lassack, E.V. y otros.
Aust. J. Chem., 26, 845 (1973).
- Lippmaa, E., Pehk, T., Belikova, N.A., Bobyleva, A.A., Kalinichenko, A.N., Ordubadi, M.D. y Platé, A.F.
Organic Magnetic Resonance, 8, 74 (1976).
- López, M.A., von-Carstenn, C., Rodríguez, B., Fayos, J. y Ripoll, M.
J. Org. Chem., 42, 2517 (1977).
- Lunnon, M.W., McMillan, J. y Phinney, B.O.
J.C.S. Perkin I, 2308 (1977).
- Malagarriga, H.T.
Collect. Bot., 7, 677 (1968).
- Márquez, C., Panizo, M., Rodríguez, B. y Valverde, S.
Phytochem., 14, 2713 (1975).
- Márquez, C., Rabanal, R.M., Valverde, S., Eguren, L., Perales, A. y Fayos, J.
Tetrahedron Letters, 22, 2823 (1981).

Marshall, J.A. y Wuts, P.G.M.
J. Org. Chem., 43, 1086 (1978).

Matsueda, S. y Geissman, T.A.
Tetrahedron Letters, 2013, (1967).

McAlees, A.J. y McCrindle
J.C.S. Perkin I, 861, (1975).

Mendoza-Heuer, L.
Botánica Macaronésica 3, 61 (1977).

Mitchell, J.C.
Recent. Advances in Phytochemistry, V.C. Run
e cles. Ed. Plenum Press, New York, vol 9 ,
pg 119 (1975).

Mitchell, J.C., Rodriguez, E. y Towers, G.H.N.
Phytochemistry, 15, 1573 (1976).

Morofushi, N., Yokota, T y Takahashi, N.
Tetrahedron Letters, 10, 789 (1973).

Murray, R.D.H., Mills, R.W., McAlees, A.J. y
McCrindle, R.
Tetrahedron, 30, 3399 (1974).

Node, M., Sai, M. y Fujita, E.
Phytochem., 20, 5757 (1981).

Noma, Y., Nonomura, S. y Sakan, H.
Agr. Biol. Chem., 38, 1637 (1974).

Nomoto, K., Ruedi, P. y Eugster, C.H.
Helv. Chim. acta, 59, 772 (1976).

Ourisson, G.

"Chemistry in Botanical Classification "
Nobel symposia, ed, Benz, C. y Santesson ,
Academic Press, pg 129, Uppsala (1974).

Panizo, F., Rodriguez, B. y Valverde, S.
Anales de Química, 70, 164 (1974).

Papanov, G., Malakov, P. y Bohlmann, F.
Phytochem., 20, 170 (1981).

Papanov, G. y Malakov, P.
Z. Naturforsch B, 37, 519 (1982).

Ibid
Phytochem., 22, 2787 y 2791 (1983).

Ibid
Phytochem., 24, 297 y 301 (1985).

de Pascual Teresa, J., Feliciano, A., Tabernerero,
N.L. y Barrero, A.F.
Anales de Química, 74, 467 (1978).

de Pascual Teresa, J., Barrero, A.F., Mateos,
A.F. y Pollos, P.
XIX Reunión Bienal de la R.S.E.Q., pg 357 ,
comunicación 38-33, Santander (1982).

de Pascual Teresa, J., García, M.B., Mateos,
A.F., Gutierrez, L.A.G. y Almena, C.M.
Anales de Química, 80, 280 (1984).

Pau, C.

Bol. Soc. Araq. Nat., 7, 71 (1908).

Pau, C.

Treballs Inst. Cat. Hist. Nat., 195 (1916).

Pelletier, S.W., Mody, N.V. y Desai, M.K.

J. Org. Chem., 46, 1840 (1981).

Pickman, A.K.

Biochem. and Sistematics, 11, 183 (1983-1).

Pickman, A.K. y Towers, G.H.N.

Biochem. and Sistematics, 11, 321 (1983-2).

Piozzi, F., Venturella, P., Bellino, A. y
Mondelli, R.

Tetrahedron, 24, 4073 (1968-1).

Ibic

Ric. Sci (Roma), 38, 462 (1968-2).

Piozzi, F.

Gazz. Chim. Ital., 99, 582 (1969).

Piozzi, F., Venturella, P., Bellino, A. y
Mondelli, R.

Att. Acad. Sci. Lett. Arti. (Palermo), 77,
140331 (1972).

Piozzi, F.

Heterocycles, 15, 1489 (1981).

Prema, B.R. y Bhattacharyya, P.K.
Appl. Microbiol., 10, 529 (1964).

Rabanal, R.M., Rodriguez, B. y Valverde, S.
Experientia, 30, 977 (1974).

Rivett, D.E.A.
Joernal van die suid-afrikaanse Chemiese Insti-
tuut., 305 (1975).

Rivett, D.E.A.
Chem. Abs., 85, 33193 (1976).

Rodriguez, B. , Valverde, S. y Rocha, J.M.
Anales de Química, 66, 503 (1970).

Rodriguez, B. y Valverde, S.
Tetrahedron, 29, 2837 (1973).

Ibid
Anales de Química, 70, 749 (1974-1).

Ibid
Chim. Ind. (London), 1010 (1974-2).

Ibid
Anales de Química, 72, 189 (1976).

Ibid
Phytochem., 16(11), 1841 (1977).

Ibid
Phytochem., 17(2), 281 (1978).

Rodríguez, B. y von Carsten, C.
Anales de Química, 72(2), 110 (1979).

Rowe, J.W.
"The Common and Systematic nomenclature of Cyclic Diterpenes". 3rd revision (1968).

Sarek, Z., Holub, M., Bloszyk, E. y Herout, V.
Cell. Czechoslov. Chem. Commun., 40, 2676 (1975).

Schulz, A.G. y Godfrey, J.D.
J. Org. Chem., 41, 3494 (1976).

Schulz, A.G., Godfrey, J.D., Arnold, E.W. y Clardy, J.
J. Am. Chem. Soc., 101, 1276 (1979).

Shteters, J.B., Swenson, J.R. y Tan, C.T.
Can. J. Chem., 53, 581 (1975).

Shteters, J.B., Ayer, W.A., Browne, L.M. y Fung, S.
Can. Chem., 54, 3272 (1976).

Shteters, J.B. y Tan, C.T.
Can. J. Chem., 55, 841 (1977).

Tanaka, N., Nakatani, K., Murakami, T., Saiki, Y. y Chen, C.M.
Chem. Pharm. Bull., 26, 3260 (1978).

de la Torre, M.C., Michavila, A. y Rodríguez, B.
XI Reunión Bienal del grupo especializado de Química Orgánica de la R.S.E.Q., pg 410 ,
comunicación 146, Valladolid (1985).

- Toshio, M. y otros
Chem. Pharm. Bull., 29, 356 (1981).
- Ulubelen, A., Miski, M., Johanson, C., Lee, E.,
Mabryt, J. y Matlin, S.A.
Phytochem., 24, 1386 (1985).
- Venturella, P., Bellino, A. y Piozzi, F.
Phytochem., 14, 1451 (1975).
- Venturella, P. y Bellino, A.
Experientia, 33, 107, 1270 (1977).
- Venturella, P., Bellino, A. y Manno, M.L.
Phytochem., 17(4), 812 (1978).
- von Carstenn-Lichterfelde, C., Valverde, S. y
Rodriguez, B.
Aust. J. Chem., 27, 517 (1974).
- von Carstenn-Lichterfelde, Pascual, C., Pons, J.,
Rabanal, R.M., Rodriguez, B. y Valverde, S.
Tetrahedron Letters, 3569 (1975).
- von Carstenn-Lichterfelde, C., Pascual, C.,
Rabanal, R.M., Rodriguez, B. y Valverde, S.
Tetrahedron, 33, 1989 (1977).
- Wenkert, E.
Chem. Ind. (London), 282 (1955).
- White, J.D. y Manchand, P.S.
J. Amer. Chem. Soc., 92, 5527 (1970).

Willdenow,
"Species Plantarum de Linneo", tomo 3 , 5ª
edición, pg 63 (1980).

Willkomm, H.M.
"Prodromus Florae Hispanicae ", (1968).

Yamakawa, K., Nishitani, K. y Tominaga, T.
Tetrahedron Letters, 2829 (1975-1).

Ibid
Tetrahedron Letters, 4137 (1975-2).

Ibid
Chemistry Letters, 1772 (1976).

Yamakawa, K., Nishitani, K. y Azusawa, K.
Heterocycles, 9, 499 (1978).

Yamasaki, K., Kohda, H., Kobayashi, T., Kasai,
R. y Tanaka, D.
Tetrahedron Letters, 13, 1005 (1976).

Yoshikoshi, A., Kitadani, M. y Kitahara, Y.
Tetrahedron, 23, 1175 (1967).

Zimmermann, D., Reisse, J., Coste, J., Plenat,
F. y Cristol, H.
Org. Mag. Resonance, 492 (1974).