

H-FC
AG-Q
859

C.1

METABOLITOS SECUNDARIOS DE GLOSSOPHORA KUNTII (ALGA PARDA),
SHOTTERA NICAENSIS (ALGA ROJA) Y APLYSIA SP.
(MOLUSCO OPISTOBRANQUIO)

TESIS
ENTREGADA A LA
UNIVERSIDAD DE CHILE
EN CUMPLIMIENTO PARCIAL DE LOS REQUISITOS
PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGISTER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA

FACULTAD DE CIENCIAS

POR

LUIS A. ASTUDILLO SAAVEDRA

PATROCINANTE : DR. MARIANO CASTILLO V.
DIRECTOR : DR. PATRICIO RIVERA L.

02280



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS

INFORME DE APROBACION
TESIS DE MAGISTER

Se informa a la Escuela de Postgrado de la
Facultad de Ciencias que la Tesis de Magis-
ter presentada por el Candidato :

LUIS A. ASTUDILLO SAAVEDRA

ha sido aprobada por la Comisión Informante
Tesis como requisito de Tesis para optar al
Grado de Magister en Ciencias con mención
en Química

Patrocinante de Tesis :

Prof. Dr. Mariano Castillo V.

Director de Tesis :

Prof. Dr. A. Patricio Rivera L.

Comisión Informante de Tesis :

Prof. Dra. Juana Roviroso R.

Prof. Dra. Luz María Pérez R.

Prof. Dr. Manuel Cortés



A mis padres :

María y Juan

y a mis

hermanos

INDICE

	PAG.
RESUMEN	
INTRODUCCION	1
Generalidades	1
Monoterpenos marinos	3
Sesquiterpenos marinos	11
Diterpenos marinos	14
Diterpenos de biogénesis mixta	19
MATERIALES Y METODOS	24
Procedimientos generales de extracción	25
Propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos aislados	28
RESULTADOS Y DISCUSIONES	33
<u>Glossophora kuntii</u>	33
<u>Shottera nicaensis</u>	49
<u>Aplysia sp.</u>	57
CONCLUSIONES	64
TABLAS	66
BIBLIOGRAFIA	93

INDICE DE ESQUEMAS

ESQUEMA		PAG.
I	SECUENCIA BIOSINTETICA ILUSTRANDO EL CONTRASTE ENTRE UN PROTON E ION BROMONIO	5
II	BIOGENESIS DE MIRCENOS Y OCIMENOS HALOGENADOS	6
III	BIOSINTESIS DE MONOTERPENOS CICLICOS	7
IV	GRUPO A : DERIVADOS DE XENICANO	15
V	GRUPO B	16
VI	GRUPO C : DITERPENOS DERIVADOS DEL DOLLABELANO	17
VII	DITERPENOS DE BIOGENESIS MIXTA	21
VIII	BIOGENESIS DE DITERPENOS MIXTOS	23
IX	FRACCIONAMIENTO DE MASAS DEL DICTYOTRIOL-A MONOACETATO	55
X	MONOTERPENOS HALOGENADOS DE <u>S. NICAENSIS</u>	51

INDICE DE TABLAS

TABLA		PAG.
1	MONOTERPENOS MARINOS	66
2	ESQUELETOS SESQUITERPENICOS DE ALGAS DEL GENIRO LAURENCIA	13
3	SESQUITERPENOS DE MOLUSCOS (APLYSIAS)	71
4	DITERPENOS MARINOS	81
5	ASIGNACION DEL RMN- ¹³ C DEL DICTYOTRIOL-A MONOACETATO	42
6	DATOS DEL RMN- ¹ H DE LOS COMPUESTOS <u>14</u> , <u>15</u> Y <u>16</u>	43
7	DITERPENOS CON ESQUELETO PERHIDROAZULENO	44

AGRADECIMIENTOS

Mis más sinceros agradecimientos a los Drs. Mariano Castillo y Patricio Rivera por su patrocinio y dirección en esta Tesis, quienes contribuyeron enormemente a mi desarrollo y formación profesional.

Quisiera agradecer en forma muy especial al Doctor Aurelio San Martín por su desinteresada entrega de conocimientos y su apoyo constante en lo personal y en lo profesional.

Mis agradecimientos a los Profesores y a todo el grupo de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias; en forma muy especial a: Jessica, María Inés, Margarita, María Luz, Roxana, Mauricio, Osman, Jorge, Arturo, Rubén. Hago extensivo este agradecimiento a la Sra. Loreto Contreras, a quién debo la presentación de esta Tesis.

Agradezco también al Instituto de Productos Naturales Orgánicos Dr. Antonio González de Tenerife, España, por el registro de los espectros de masa y RMN-H¹.

RESUMEN

Entre una gran variedad de algas bentónicas estudiadas, las rojas y pardas han evidenciado una mayor productividad en metabolitos secundarios. En nuestras costas, especialmente en la Zona Central y Sur, las algas pardas, familia Dictyotaceae, están representadas por el género Glossophora, cuya única especie es la G.kuntii. Por otro lado, las algas rojas están ampliamente distribuidas en la costa chilena. De todas las estudiadas, sólo algunas especies de los géneros Laurencia y Plocamium han producido resultados de interés. Entre los géneros menos informados en la literatura científica, tenemos el género Shottera. En Chile, esta especie corresponde a S.nicaensis.

Las liebres de mar (Aplysias) no son habitantes comunes de las costas chilenas; sólo se detectaron en 1982 con la aparición del fenómeno de la Corriente del Niño en el litoral del Norte Grande de Chile y hace muy poco tiempo se han recolectado algunos ejemplares de estos moluscos en la Isla de Pascua, registrada como Aplysia sp.

Como parte de la investigación "Química de los Productos Naturales Marinos", se realizó el estudio químico del extracto acetónico de: G.kuntii, S.nicaensis y Aplysia sp.

Mediante técnicas espectroscópicas convencionales, fueron identificados los siguientes compuestos:

a) cinco diterpenos de Glossophora kuntii

- Pachydictyol A
- Dictyol D
- Dictyol E
- Dictyotriol A
- Dictyotriol A monoacetato

b) cinco monoterpenos de Shottera nicaensis

- (1S*,2S*,4R*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ciclohexano
- (1S*,2S*,4S*)-1-E-clorovinil-2-metil-2,4-dicloro-5-metilenciclohexano

- (1S*,2S*,4S*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ci
clohexano
- (1S*,2R*,4R*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ci
clohexano
- (1R*,2R*,4R*,5S*)-1E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-triclorohexa
no

c) dos sesquiterpenos de Aplysia sp.

- Pacifenol
- Desoxiprepacifenol

Se propone una nueva interacción planta-planta (Plocamium cartila-
gineum - Shottera nicaensis).

GENERALIDADES

Desde que Takaoka y Audo en 1951 realizan una de las primeras publicaciones científicas en metabolitos secundarios de origen marino, hasta la fecha, se han aislado miles de productos naturales. A modo de ejemplo, K.L.Erickson (1) en el último volumen (quinto) del Marine Natural Product informa que sólo en el género Laurencia se han aislado y caracterizado sobre 250 productos naturales. Esto nos permite hacer nos una idea aproximada del vertiginoso avance de la química orgánica en este campo.

Lo que en sus inicios tuvo una motivación puramente estructural, al transcurrir de las investigaciones fué adquiriendo las más diversas aplicaciones; es así como a partir de observaciones de la antibiosis propia del mar, se buscó moléculas en los distintos organismos marinos que fueran responsables de estas posibles actividades; observando organismos que utilizan sustancias como mecanismo defensivo contra otros organismos del medio, fué posible aislar interesantes moléculas, a las cuales se les ha dado variadas aplicaciones. El creciente conocimiento de nuevas y variadas moléculas, condujo al grandioso desarrollo de la investigación en este campo, el cual alrededor de los años 1970-75 logra captar gran parte del total de fondos que a química orgánica se destina, tanto en lo que corresponde a investigación universitaria como lo correspondiente a los laboratorios industriales de investigación, incluso se crean institutos dedicados exclusivamente a este tema. Todas estas promisorias esperanzas satisfacen a algunos y dejan frustrados a quienes piensan obtener dividendos más pronto. El tiempo y el alto costo de la investigación juegan un importante papel, a tal punto que muchas industrias que surgieron para producir a gran escala productos naturales que demostraron marcada actividad, se vieron en la necesidad de cerrar.

No obstante, el mar sigue siendo la fuente más importante de productos naturales, tanto en cantidad de biomasa elaborada como en variedad de estructuras. Es por mucho el principal elaborador de moléculas

orgánicas halogenadas. Las observaciones realizadas en el medio marino y las interacciones que se producen entre los organismos que cohabitan dicho medio, constituye la temática de la ecología marina que también se desarrolla en la medida que crece el conocimiento de las substancias del mar.

MONOTERPENOS MARINOS

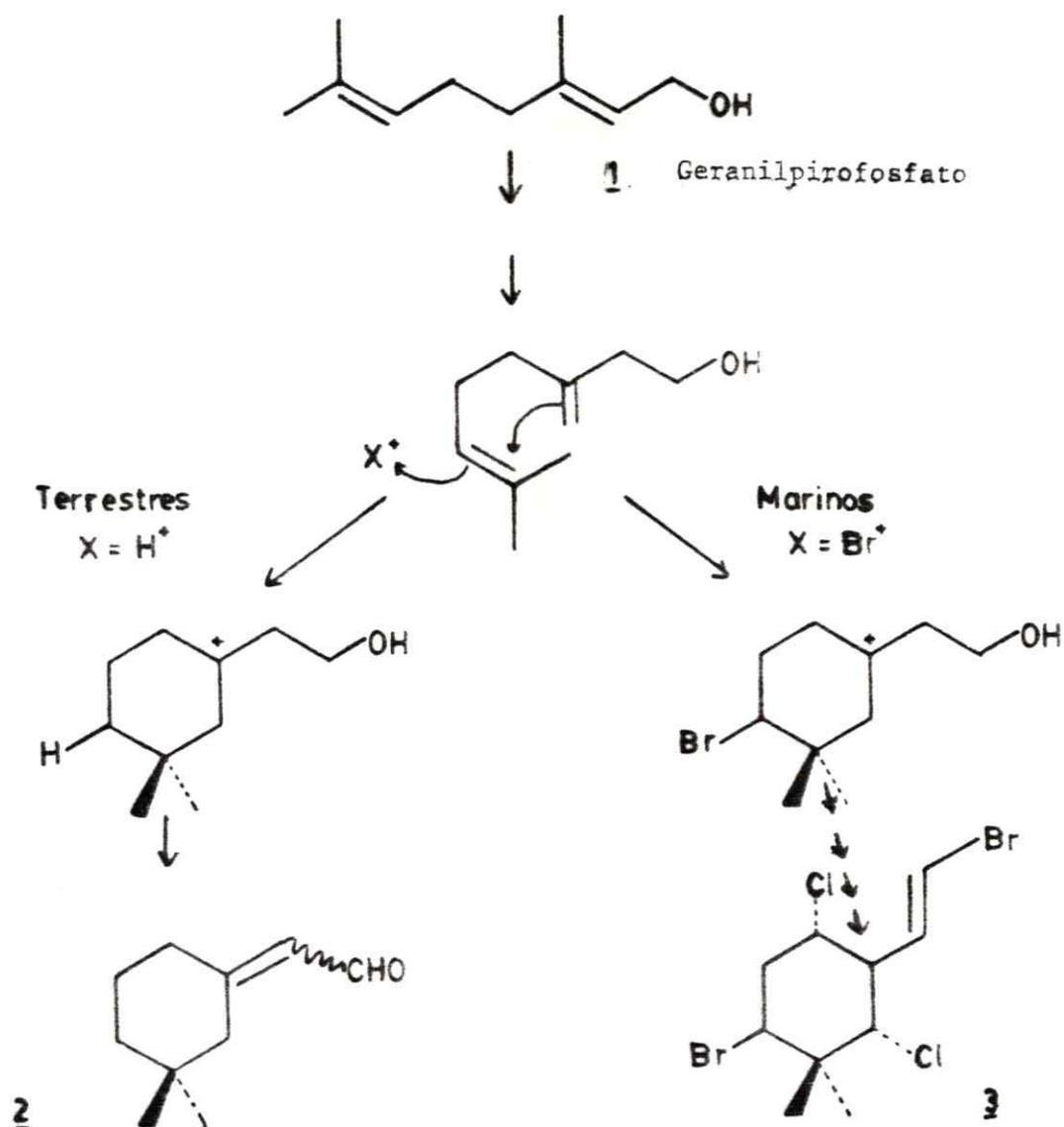
Los monoterpenos marinos son compuestos de diez átomos de carbono que se biosintetizan a partir de la reacción de una molécula isopente nil pirofosfato (IPP) + dimetilalil pirofosfato (DMAP), Son abundantes en plantas terrestres y algas marinas.

La química de los monoterpenos marinos es conocida más recientemente que la de los monoterpenos terrestres. Los primeros compuestos de este tipo informados en alga datan de 1955 cuando Katayama aisló siete de estos monoterpenos como constituyentes comunes del alga verde Ulva pertusa (2). Estudios posteriores demuestran que estos compuestos son constituyentes comunes de algas pardas, verdes, y rojas, como así mismo de algunas liebres de mar del género Aplysia (3).

La variación estructural de los monoterpenos es de dos tipos: los compuestos lineales y los cíclicos; en contraste con los terrestres, los monoterpenos marinos presentan un alto contenido de cloro y bromo, a consecuencia de las elevadas concentraciones de cloruro (1.99×10^7 mg/l) y bromuro (6.8×10^4 mg/l) (4), en el agua de mar, concentraciones de halógeno que no encontramos en el medio terrestre.

Los monoterpenos regulares marinos (dímeros teóricos del isopreno) son clasificados en cuatro categorías estructurales. Estas consisten en un esqueleto lineal (A) y tres esqueletos monocíclicos (B, C y D); los cuatro esqueletos carbonados se muestran en la Fig.1.

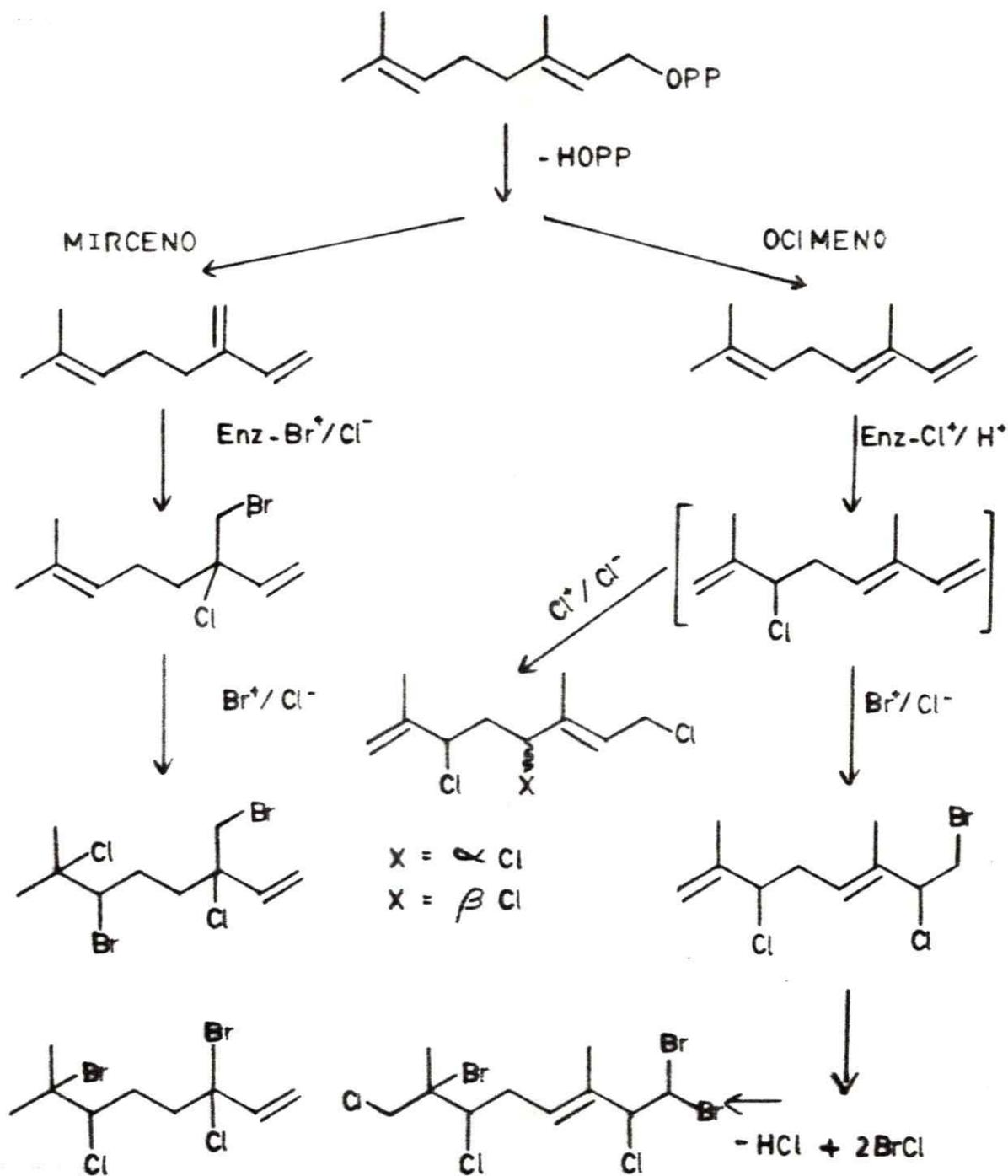
Los esqueletos carbonados A y B se encuentran representados por metabolitos marinos y terrestres, en cambio los esqueletos C y D, han sido aislados exclusivamente desde algas del género Plocamium.



Esquema I. Secuencia biosintética ilustrando el contraste entre un protón e ión Bromonio.

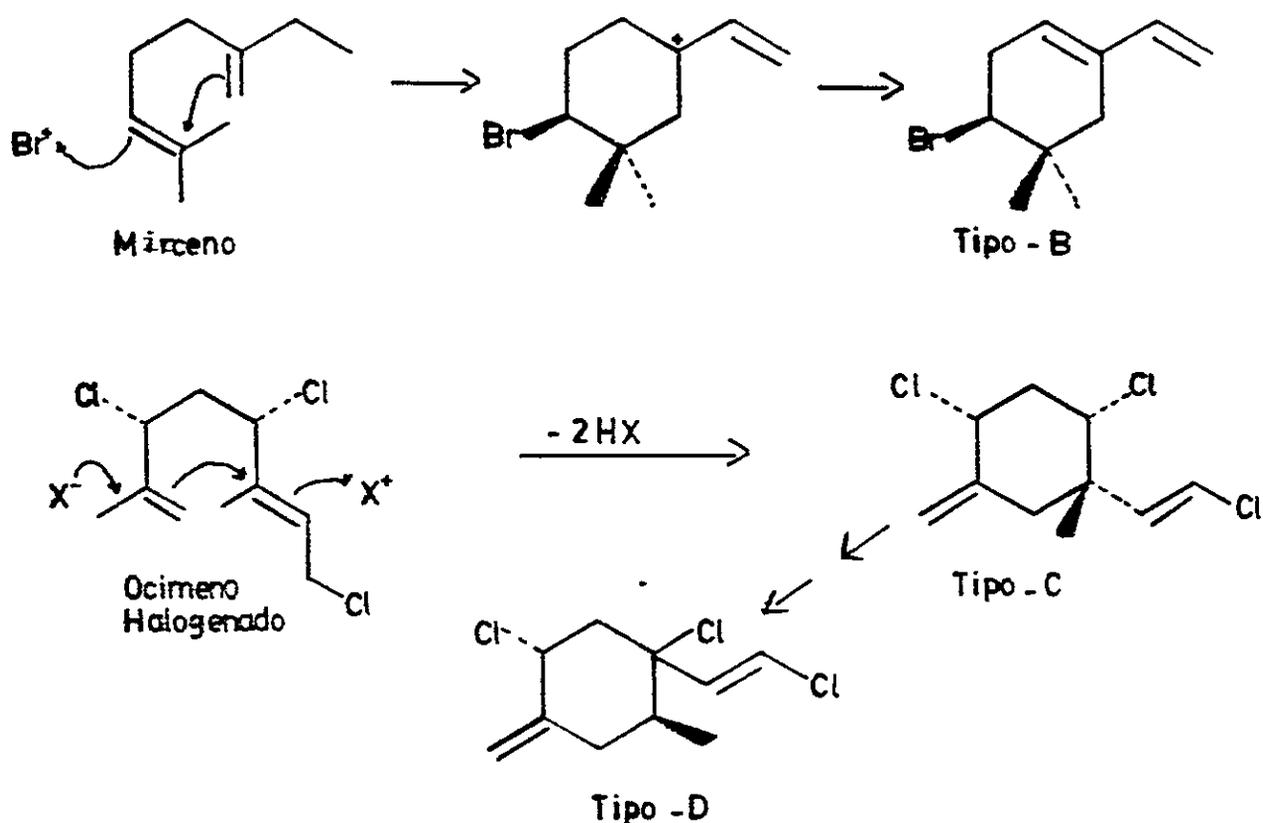
En el esquema II, se muestra la biogénesis de monoterpenos acíclicos (lineales), los cuales se clasifican en dos categorías: los esqueletos tipo "Mirceno" y los tipo "Ocimeno". Los derivados halogenados Mirceno son aislados desde algas rojas de la familia Rhizophyllidaceae y los derivados halogenados Ocimeno son encontrados en algas rojas de

la familia Plocamiaceae. Ambos esqueletos tienen como precursor común al geranil pirofosfato.



Esquema II. Biogénesis de Mircenos y Ocimenos halogenados,

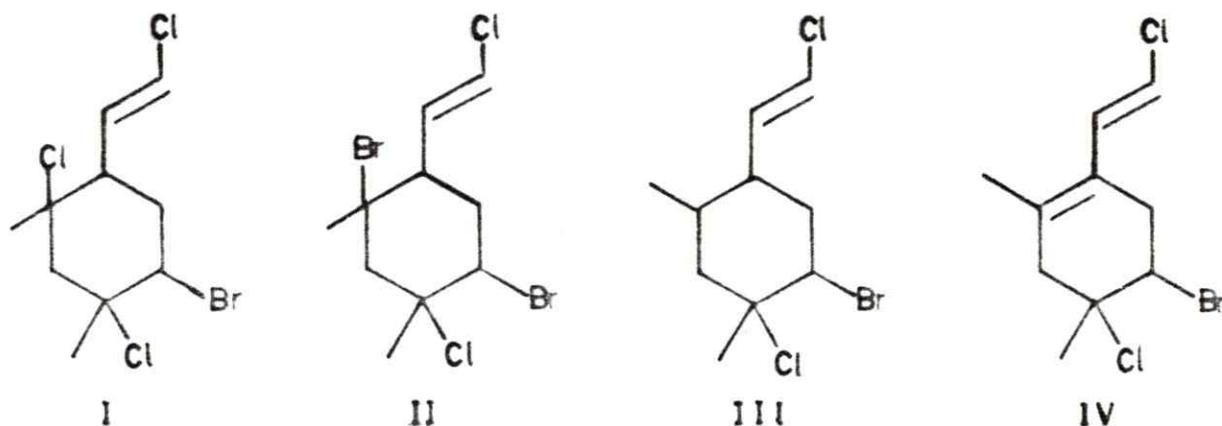
Los monoterpenos cíclicos (esqueleto B, C y D) tienen como precursor a un monoterpeneo lineal; los compuestos que contienen el esqueleto tipo-B, tienen como precursor a un derivado del Mirceno, en cambio los compuestos monocíclicos tipo-C tienen como precursor un derivado del Ocimeno, los que posteriormente pueden sufrir una trasposición dando origen a los esqueletos tipo-D, lo que se ilustra en el esquema III.



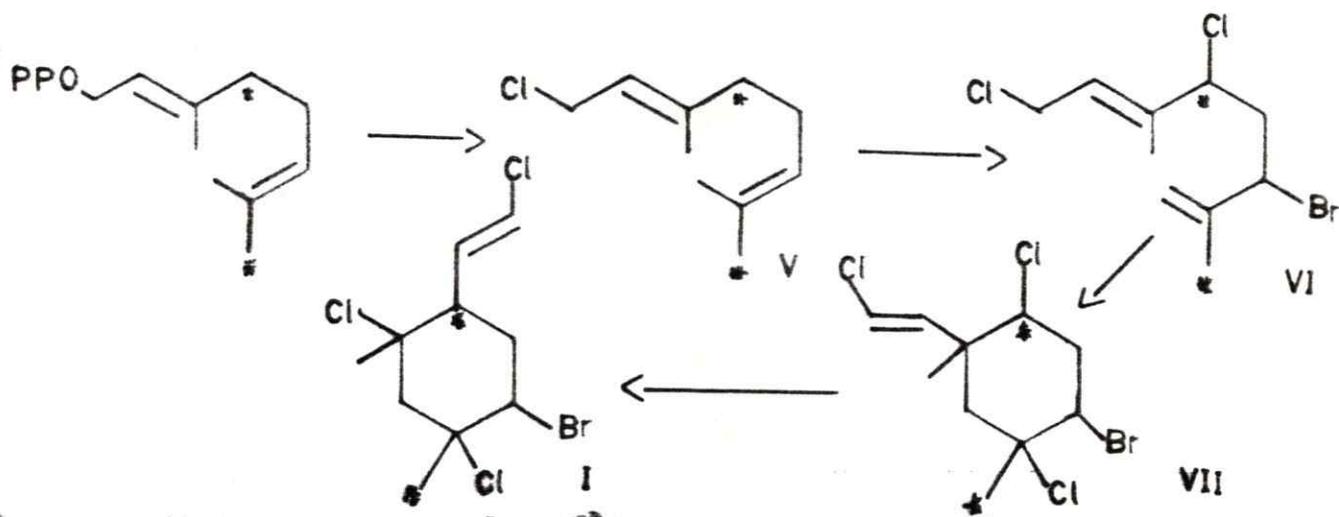
Esquema III. Biogénesis de monoterpenos cíclicos.

Con el objeto de comprobar la validez de esta hipótesis del origen de los C_{10} marinos, Temple y Barrw (1979) agregaron a Plocamium cartilagineum, manteniendo en agua de mar aireada, precursores biogénéticos marcados [mevalonato (^{14}C), (1- ^{14}C) acetato de H^{14}CO_3]. . Esto condujo a que después de dos semanas se obtuvieron cantidades importantes de

un producto mayoritario (I) y tres minoritarios (II, III y IV), todos marcados en las posiciones predecibles (todas tipo-D).



Partiendo de geranil pirofosfato (V) doblemente marcado por sus sustituciones y halogenaciones, es posible comprender el paso a el derivado acíclico (VII), posterior ciclación y reordenamiento nos conduciría al compuesto mayoritario (I) con un marcaje satisfactorio.

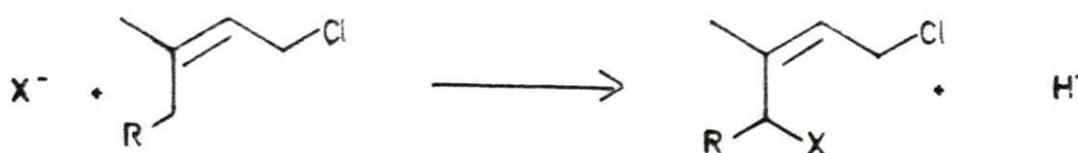


No obstante lo dicho anteriormente, las halogenaciones en terpenoides marinos se producen por alguna de las siguientes vías:

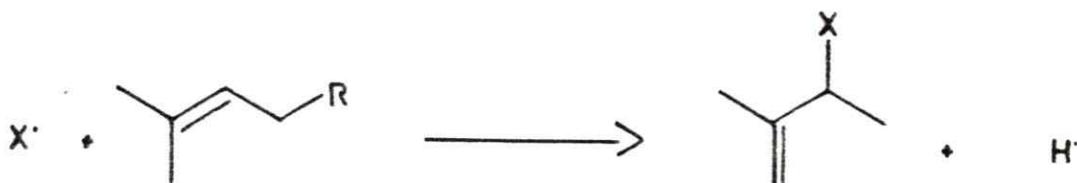
1. Halogenación alílica por desplazamiento nucleofílico sobre oxígeno.



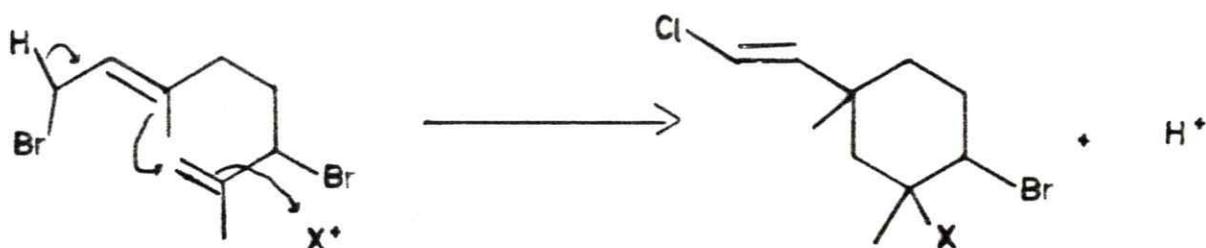
2. Halogenación alílica.



3. Halogenación alílica con desplazamiento del doble enlace.



4. Ciclaciones inducidas por iones halonios.



Observando los productos naturales aislados se comprueba que todas las ciclaciones como las halogenaciones alílicas son procesos totalmente estereoespecíficos y lo más probable es que sean catalizados

enzimáticamente, teniendo estas algas complejos sistemas de halogeno peroxidasa. En todo caso, éstas son áreas aún inexploradas.

Los compuestos monoterpénicos que se informan en esta Tesis, son de naturaleza cíclica, esqueleto tipo-D. En la Tabla 1 se muestra una revisión bibliográfica de monoterpenos cíclicos, clasificados por esqueletos, indicando al pie de cada compuesto el nombre vulgar, cuando éste se ha dado; la especie marina que lo produce y la referencia bibliográfica, la Tabla 1 se muestra en la pág. 66.

SESQUITERPENOS MARINOS

Los sesquiterpenos marinos son compuestos que contienen quince átomos de carbono (C_{15}) en una estructura tipo isoprenoide. Estos metabolitos están entre los más frecuentes obtenidos de fuentes naturales, así por ejemplo, en especies marinas, tanto en algas como en invertebrados (moluscos, celentereos y esponjas) se aislan en cantidades importantes y la variabilidad estructural que poseen es considerable, la que se ha visto incrementada día a día por la intensa investigación desarrollada en este campo.

Biogénicamente se postula que ellos provienen del pirofosfato de farnesilo, el cual mediante una ciclación inducida por ión bromonio (21), en la mayoría de los productos naturales marinos, daría origen a estos distintos esqueletos carbonados.

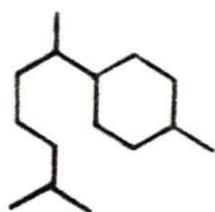
En una revisión bibliográfica efectuada en 1977 por J.D.Martin y J.Darias (22), describieron alrededor de sesenta sesquiterpenoides, los cuales se agrupan en dieciocho esqueletos. Hoy día, diez años más tarde, el número de estos metabolitos sobrepasa muy lejos esa cantidad, de los cuales más de un centenar son sesquiterpenoides que se aislan exclusivamente de algas marinas del género Laurencia (23) y agrupados en cerca de treinta esqueletos distintos. Hay que reconocer no obstante, que el mencionado género de algas es excepcionalmente productor de terpenoides a la vez que ha sido el más y mejor estudiado. En la Tabla 2 se muestran los distintos esqueletos sesquiterpénicos aislados; hay que señalar que no todos los esqueletos ocurren con la misma frecuencia. Los esqueletos representados por un mayor número de ejemplares de compuestos son el Chamigrano, Bisabolano y monociclofarnesano; otros esqueletos tales como el Kyliano, perforatano o Brasilano, junto con otros varios, están representados por un único ejemplar de metabolito.

En la Tabla 3 se agrupan los metabolitos sesquiterpénicos aislados a la fecha en los moluscos del género Aplysia. Es bien conocido que tales animales tienen a las algas del género Laurencia en su dieta alimentaria y en la mayoría de los casos se ha podido comprobar que el

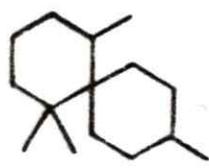
compuesto es elaborado por el alga y almacenado intacto por el animal o con mínimas modificaciones. Los compuestos se han ordenado por tipo de esqueleto; además se indica la fuente vegetal (alga) de la cual estos productos se han reportado, la Tabla 3 se muestra en la pág. 72.

Hay que hacer notar que en Aplysias no sólo se han encontrado sesquiterpenos, también se han informado monoterpenos, como es el caso de la Aplysia limacina (24), en otros géneros se han reportado diterpenos e incluso compuestos no-terpenoides.

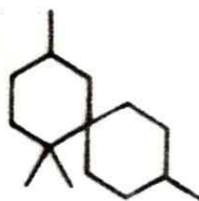
Tabla 2. Esqueletos sesquiterpénicos aislados de algas del género *Laurencia*



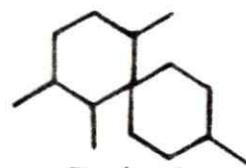
Bisabolano



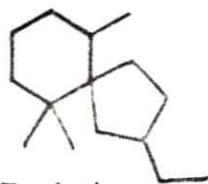
Chamigrano



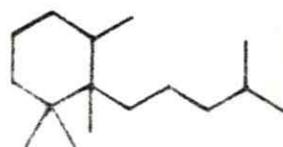
Kylinano



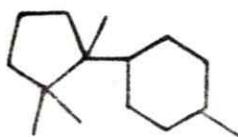
Espironipano



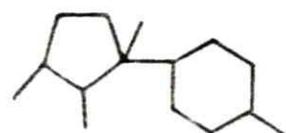
Espirdaurano



Lauracetalano



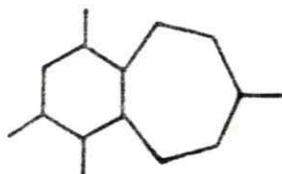
Cuparano



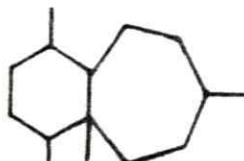
Laurano



Ciclolaurano



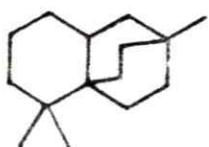
Perforeno



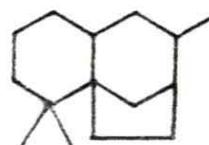
Perforano



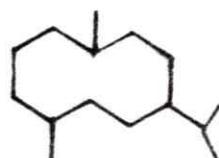
Perforatano



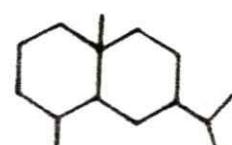
Rhodolaurano



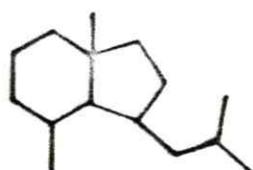
Guimarano



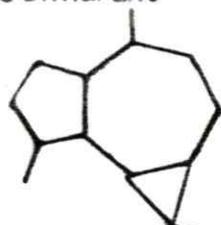
Germacrano



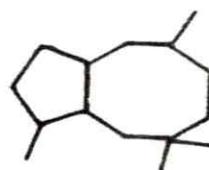
Eudesmano



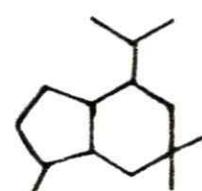
Opositano



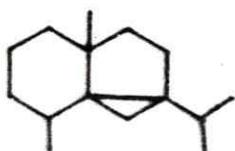
Aramadendrano



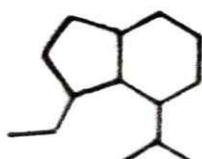
Poitano



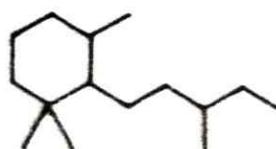
Brasilano



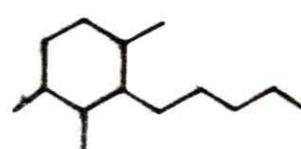
Cicloeudesmano



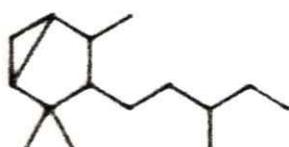
Oplapano



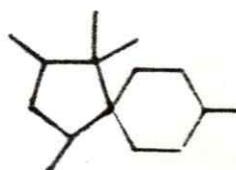
Monociclofarnesano



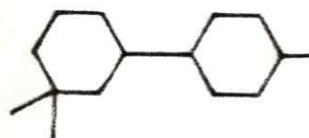
Dactylosano



Biciclolaurancano



Laurenciano



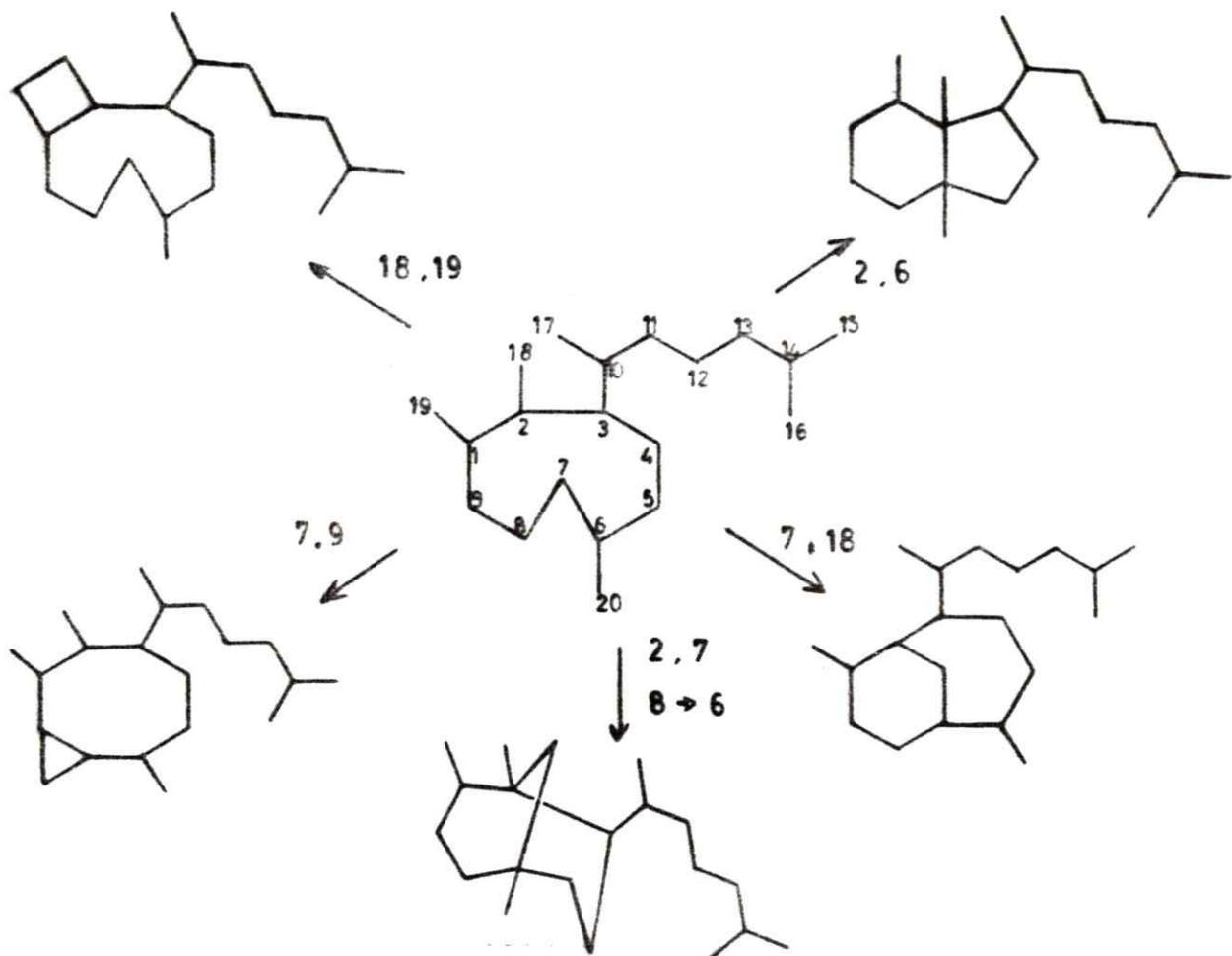
DITERPENOS MARINOS

Los diterpenos son compuestos de veinte átomos de carbono (C_{20}), en los cuales se puede reconocer cuatro unidades de isopreno (2-metil-2,3-butadieno), unidos por una fusión cabeza-cola generalmente. Esta constante estructural constituye la base de la "Regla Biogenética del isopreno" propuesta por Ruzicka (37) en 1959 que presupone al polieno acíclico geranil-geraniol como el precursor biogenético común a todos ellos.

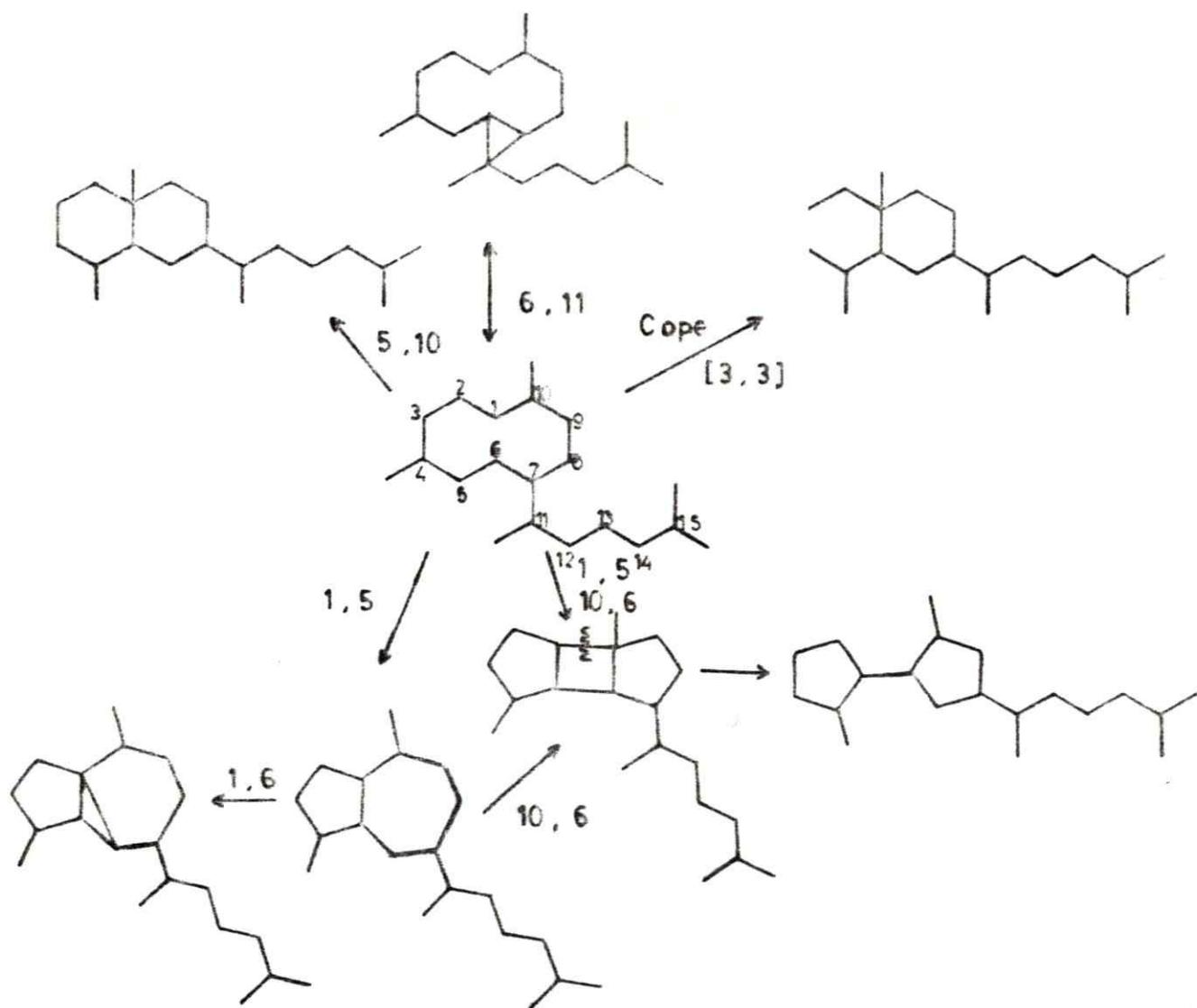
Hasta hace muy pocos años, las sustancias diterpénicas han sido consideradas como componentes raros del ambiente marino. En el libro "Chemistry of Marine Natural Products" publicado en 1973, se hace referencia solamente a cuatro ejemplos de esta clase de compuestos. Cinco años más tarde, el Dr. W.Fenical publicó, en 1978, en el segundo volumen de la serie del mismo libro, una recopilación de unos noventa diterpenoides marinos que podían ser agrupados en unos veinte esqueletos carbonados diferentes, siendo algunos de estos esqueletos diferentes a los encontrados en especies no marinas. Hoy día, nueve años más tarde, la cantidad de compuestos diterpénicos que puede encontrarse en la literatura científica sobrepasa muy lejos el número de compuestos acumulados por el Dr. W.Fenical y el número de esqueletos carbonados observados pasan de los cuarenta. Obviamente, estas cifras hacen cambiar la idea de que los diterpenoides son raros componentes en el mar.

Estas sustancias diterpénicas marinas se han aislado de animales y plantas. Los celentéreos (gorgonaceae y Aloyonacea), los moluscos del género Aplysia, algunas especies de esponjas, las algas tropicales y subtropicales, tanto rojas, verdes y pardas, son los principales organismos productores de este ya abundante grupo de compuestos.

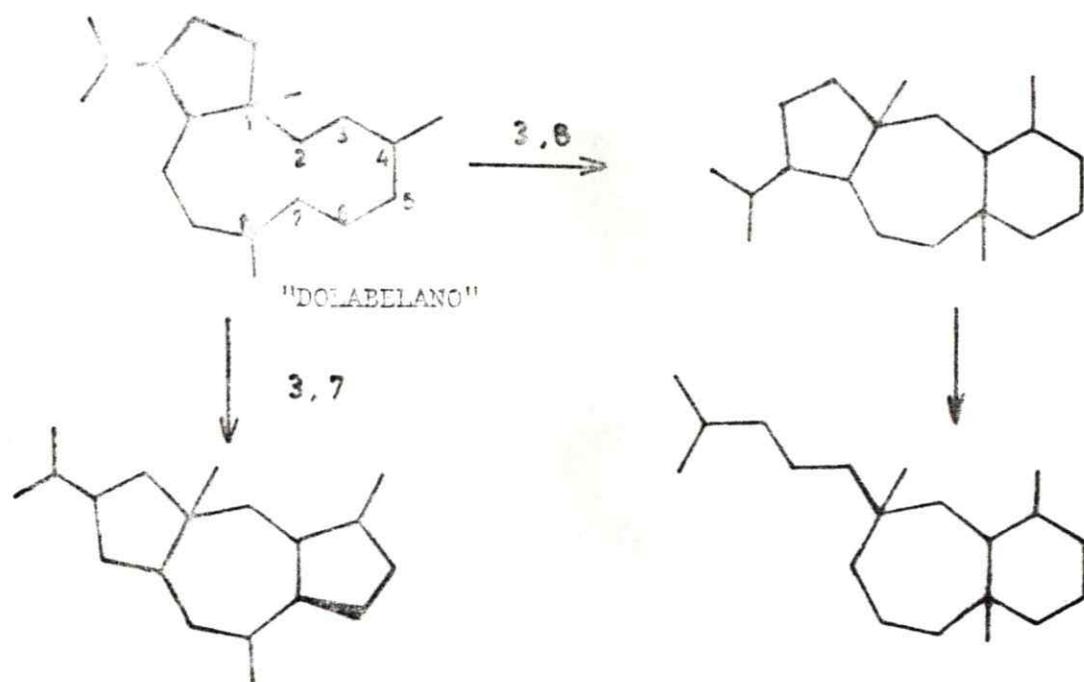
Los diterpenos marinos pueden ser divididos en tres grupos, basándose en el tipo de esqueleto: Grupo-A (esquema IV) los cuales se consideran derivados de un anillo de nueve miembros, esqueleto "xenicano"; Grupo-B (esquema V) son esqueletos derivados desde una extensión de los sesquiterpenos; Grupo-C (esquema VI) son los compuestos que derivan del esqueleto "dolabelano".



Esquema IV. Grupo-A derivados de "xenicano"



Esquema V. Grupo-B



Esquema VI. Grupo-C diterpenos derivados del "dolabelano".

Los primeros compuestos del grupo A y C fueron aislados desde un coral blando y un molusco opistobranquio, respectivamente (10). Los metabolitos del grupo B han sido aislados desde varias especies de algas pertenecientes a los géneros Dictyota y Dilophus y desde la liebre de mar, Aplysia depilans.

Los compuestos diterpénicos que se estudian en esta Tesis son de naturaleza bicarbocíclica, razón por la cual hemos considerado conveniente realizar una revisión bibliográfica de este tipo de esqueletos, indicando al pié de cada estructura el nombre vulgar del compuesto, cuando éste se ha dado, la especie marina que lo produce y la referencia bibliográfica, todo lo cual se muestra en la Tabla 4, página 81.

Concluyendo, podemos decir que el número de esqueletos diterpénicos bicarbocíclicos que se conocen de fuentes marinas es de diez, donde se agrupan ochenta compuestos y que éstos han sido aislados tanto de algas como de invertebrados marinos. No obstante, son las algas pardas las que, tanto por el número de compuesto como por la diversidad de los esqueletos, pueden ser consideradas como la principal fuente de producción hasta ahora encontrada.

DITERPENOS DE BIOGENESIS MIXTA

En general estos metabolitos son el producto de la unidad de un diterpenoide que está enlazado (generalmente a través de C₁) a otra parte aromática. En casi todos estos diterpenos descritos, el componente diterpenoide es un grupo geranil-geranil o un diterpenoide p- cíclico tipo taondiol, muy relacionado biogenéticamente con los acíclicos. Estos productos se han aislado principalmente de algas pardas (familia Sargassae).

De las algas pardas se han aislado una serie de compuestos de biogénesis mixta que poseen una parte diterpénica y otra aromática caracterizada por un sistema metil-p-hidroxiquinona (esquema VII). Los compuestos reseñados en dicho esquema pueden considerarse derivados de la geranil-geranil-toluhidroxiquinona 4, mediante oxidación y/o ciclación parcial o total del resto isoprenoide con intervención del núcleo aromático. El compuesto 4 puede también considerarse como el precursor biogenético del δ -tocotrienol, compuesto conocido de fuente terrestre.

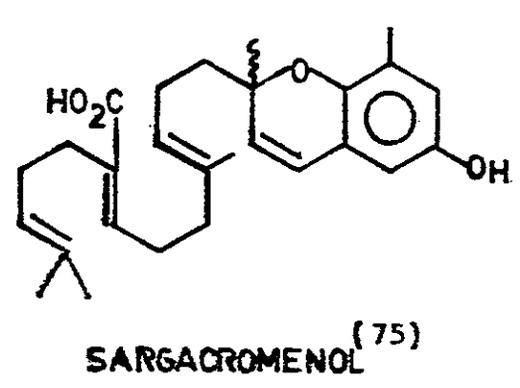
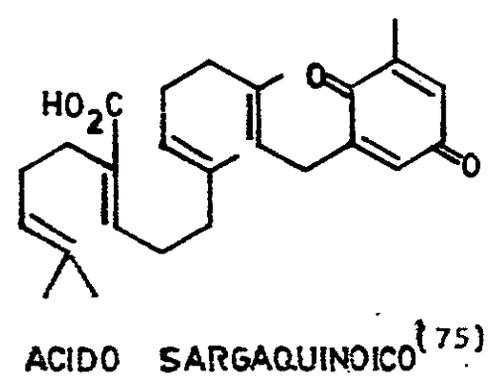
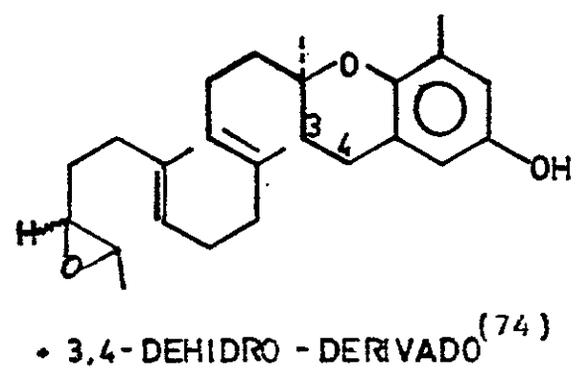
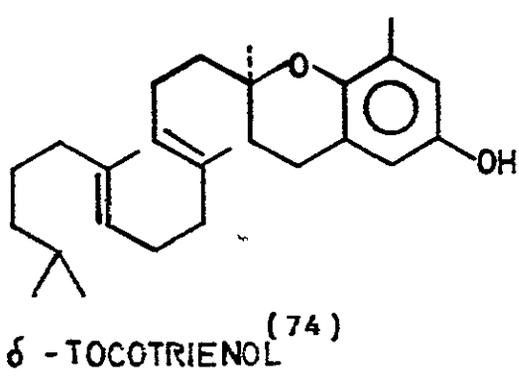
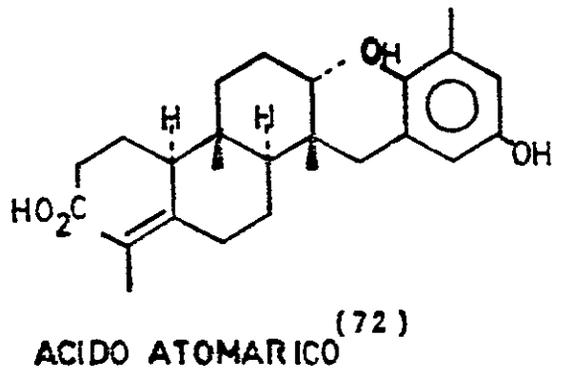
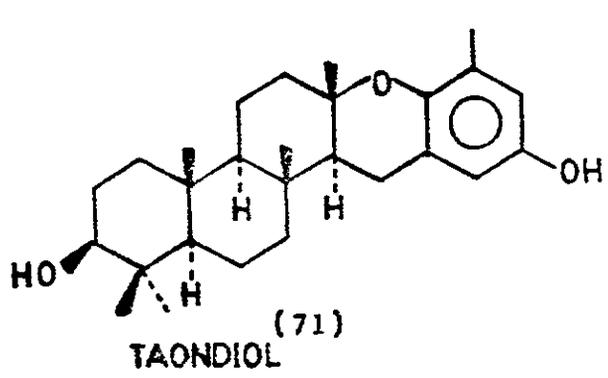
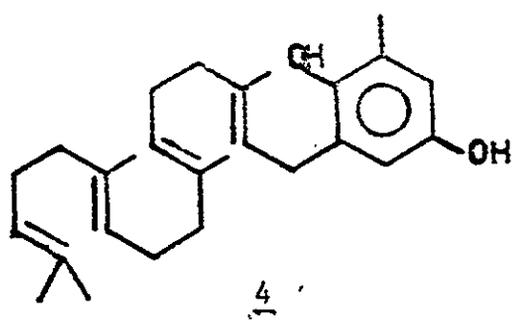
Es interesante observar en un primer análisis comparativo como la evolución de un mismo precursor biogenético puede en un ambiente, en este caso el marino, evolucionar dando una variedad de esqueletos carbonados, mientras en el otro, las posibilidades de transformación parecen muy limitadas.

Un análisis de la variedad de esqueletos encontrados en algas pardas permite, en una primera aproximación, elaborar un posible esquema de biogénesis que explique la diversidad de esqueletos encontrados (70) (esquema VIII).

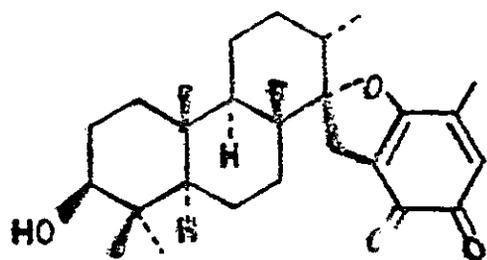
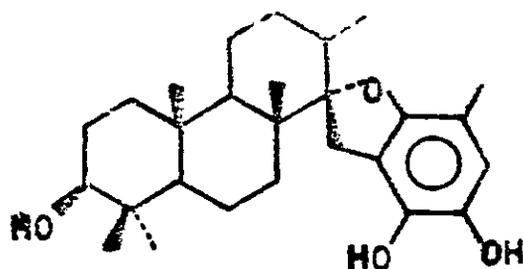
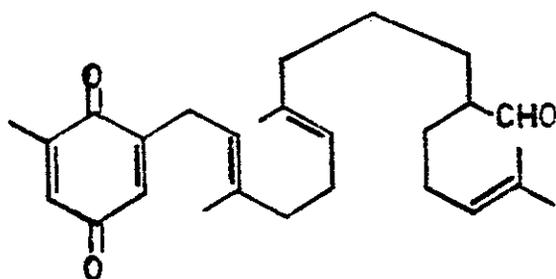
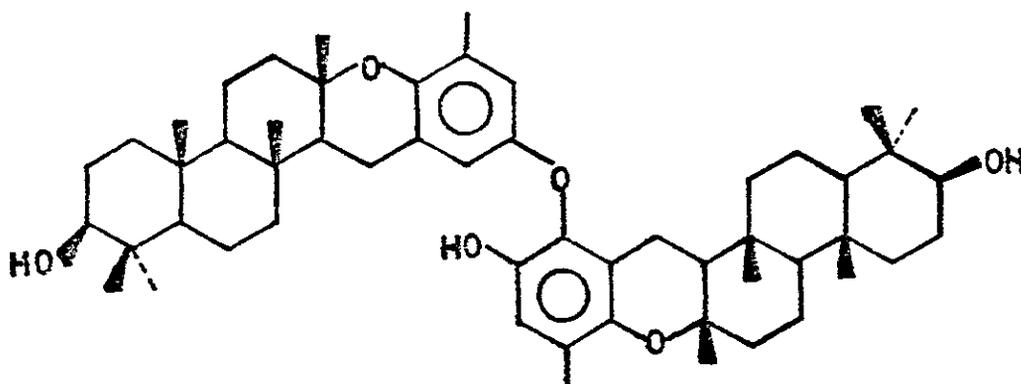
Evidentemente, es posible suponer una oxidación enzimática en el doble enlace terminal de 4 para dar el epóxido 5 cuya apertura enzimática conduciría al intermediario ión carbonio 6, el cual puede ser entendido como el precursor inmediato de los compuestos: taondiol e iso taondiol. Desprotonación sobre C-14 conduciría a la olefina 7, cuya protonación y atrape del C-14 carbonio conduce al compuesto 8, el cual puede considerarse el precursor del stypotriol, compuesto al que se

llegaría por una posterior hidroxilación. El posible intermedio 8 dispone de las orientaciones antipleriplanares necesarias para entender su evolución a 9 por apertura del anillo de dihidrofurano seguida de una emigración 1,2 de hidrógeno y metilos hasta llevar la carga positiva al C_6 . Una apertura heterolítica en 9 conduciría al aldehído 10 cuya oxidación explicaría la formación del ácido atomárico.

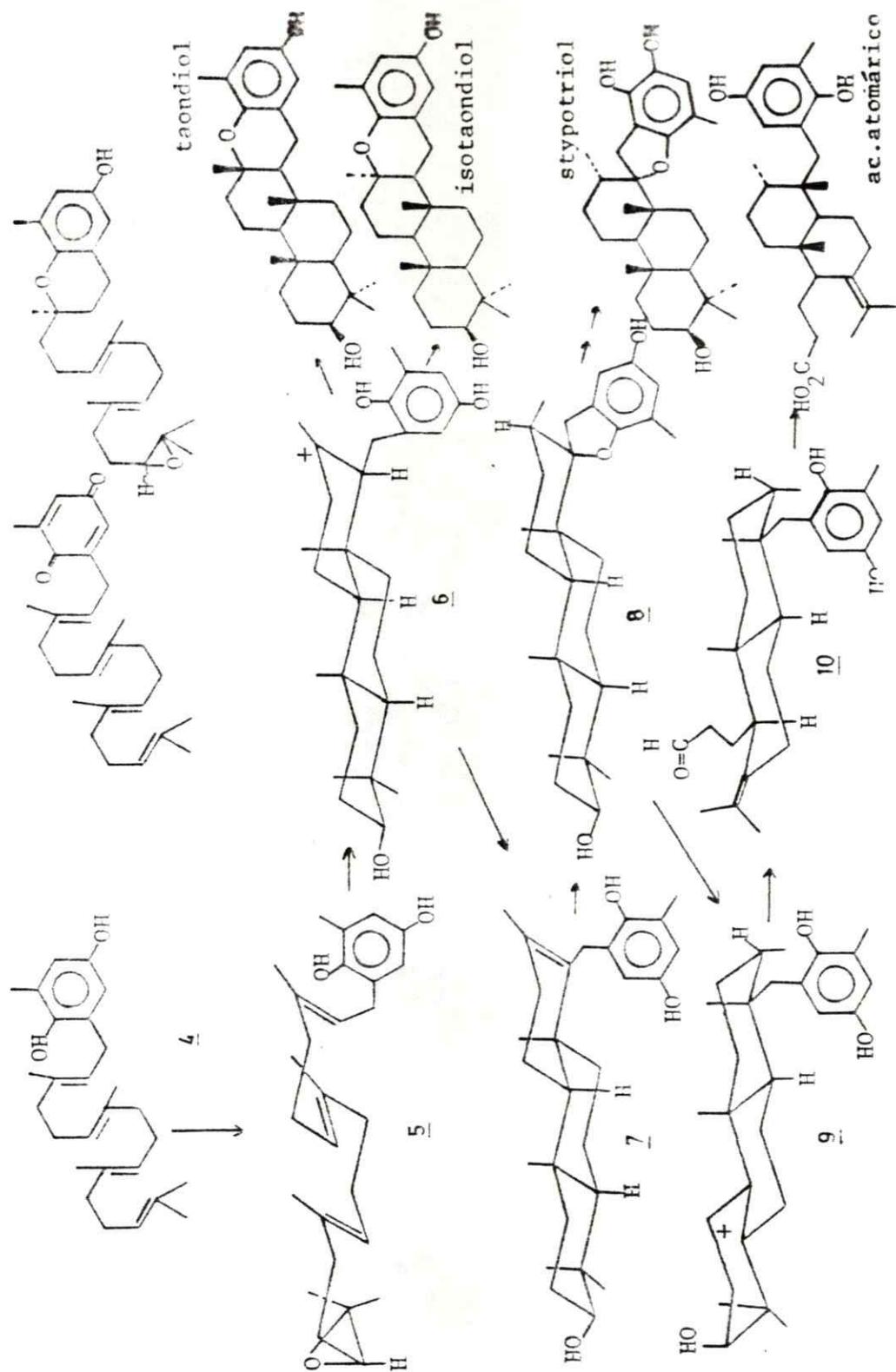
Las primeras reacciones que se postulan en este esquema, han sido demostradas en el epóxido de escualeno (83).



Esquema VII. Diterpenos de biogénesis mixta

STYPOLDIONA⁽⁷⁶⁾STYPTRIOL⁽⁷⁶⁾SARGAQUINAL⁽⁷⁵⁾TAONDIOL-DIMERO⁽⁷³⁾

Esquema VII. Diterpenos de biogénesis mixta (Continuación)



Esquema VIII. Biogénesis de diterpenos mixtos.

MATERIALES Y METODOS

El material vegetal formado por las algas Glossophora kuntii y Shottera nicaensis, fue recolectado en la localidad de Horcones (V Región) y en La Boca (VI Región) respectivamente. Su clasificación la realizó la Profesora M.E.Ramírez del Museo de Historia Natural. El molusco Aplysia sp fue recolectado en la localidad de Isla de Pascua. Su identificación la realizó la Profesora C.Osorio, de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

Los espectros de infrarrojo (IR) fueron tomados entre placas de NaCl o en pastillas de KBr, en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 700.

Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica y de ^{13}C fueron registrados en instrumentos de diferentes frecuencias, como se señala en cada caso. En esta espectroscopía se usaron CCl_4 y cloroformo- D_1 como solventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los valores de J están informados en Hertz y figuran entre paréntesis en los espectros y tablas.

Los espectros de masas fueron tomados en los siguientes espectrómetros: Hewlett-Packard 5930-A, Varian MAT CH-7-A-MS incorporado a un computador Data System 166, en alta resolución, un micromass ZAD-2F (gentileza del CSIC, Tenerife, España).

Las cromatografías de gases se realizaron en un aparato Perkin Elmer, Sigma 3B, usando una columna capilar de metil silicona de 25 metros.

Los valores de rotación óptica fueron obtenidos en un polarímetro 141, Perkin Elmer.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Fisher-Jones y no fueron corregidos.

En cromatografía de capa fina (ccf) se emplearon cromatoplasmas de gel de sílice 60 F₂₅₄ (Merck).

En cromatografía de columna (cc) se utilizó gel de sílice (SiO_2) 60 (Merck) como soporte.

Los solventes utilizados en cc y los procesos extractivos fueron de grado técnico y purificados por destilación fraccionada.

En ccf y cristalizaciones, se emplearon solventes para análisis (Merck).

En los revelados de ccf se empleó reactivo de Liebermann-Burchard como revelador general.

Las acetilaciones se llevaron a cabo en anhídrido acético y piridina, de acuerdo al siguiente método: La muestra se disuelve en el mínimo de volumen de piridina y se adiciona un exceso de agente acetilante; se sigue el curso de la reacción por medio de ccf. Una vez finalizada, se agrega hielo y solución acuosa de HCl 0.1 M. Se extrae en éter etílico, posteriormente se lava la fase orgánica con solución de NaHCO_3 al 3% (P/V), se seca en MgSO_4 anhidro y se evapora el solvente.

Las hidrólisis de acetatos se realizaron disolviendo la muestra en acetona y agregando K_2CO_3 , primero una punta de espátula y una vez disuelta, una punta de espátula en exceso. El producto es purificado en cc, usando hexano:acetato de etilo.

PROCEDIMIENTOS GENERALES DE EXTRACCION

ALGAS

a) Glossophora kuntii

Alga parda (Phaeophyta), familia Dictyotaceae, género Glossophora, especie Glossophora kuntii. Esta alga es de distribución subantártica registrada desde Arica a Cabo de Hornos.

El alga fué recolectada en la bahía de Horcones, en Noviembre de 1983 (V Región, Chile). Se dejó secar en la sombra, fué finamente molida y se sometió a extracción con acetona en un soxhlet hasta total agotamiento. De la extracción de 5 Kg de alga seca se obtienen alrededor de 300 g de extracto acetónico.

Cromatografía del extracto

El extracto acetónico (300 g) fué cromatografiado en columna de gel de sílice, montada en éter de petróleo, utilizándose como eluyentes

éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo con polaridad creciente.

Descripción de la cromatografía

1. Fracciones eluídas con éter de petróleo: Mediante el análisis cromatográfico (ccf) y espectroscópico (RMN-¹H) se comprobó que estas fracciones sólo contenían ceras y ácidos grasos, los cuales no son de interés en nuestro estudio.
2. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (3%): Permitieron aislar el compuesto Gk-I, el cual a temperatura ambiente se presentó como un aceite.
3. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (5%): Permitieron aislar el compuesto Gk-II, el cual a temperatura ambiente se presentó como un aceite.
4. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (10%): Se aislaron mezclas de los compuestos Gk-II y Gk-III. Por cromatografías rápidas se pudo aislar el compuesto Gk-III en forma pura, el cual después de concentrar, también se presentó como un aceite.
5. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (20%): Permitieron aislar el compuesto Gk-IV, el cual, después de concentrar las fracciones, se presentó como un sólido amorfo.
6. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (30%): Se aisla una mezcla de compuestos: por cromatografía en placa preparativa (cpp) se pudo aislar en forma pura el compuesto Gk-V, el cual resultó ser un aceite.
7. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (40%): Permitieron aislar una mayor cantidad del compuesto Gk-V.
8. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (50%): De estas fracciones se aisló un producto aceitoso denominado Gk-VI.
9. Fracciones eluídas en éter de petróleo-acetato de etilo (70%): Se dió por finalizada la partición cromatográfica del extracto y los productos de esta elución se reunieron y no se trabajaron ya que las cantidades obtenidas no eran suficientes para realizar la purificación

y el correspondiente estudio.

b) Shottera nicaensis

Alga roja (Rhodophyta), familia Phylloporaceae; género Shottera, especie Shottera nicaensis. Esta alga está registrada en la costa de Chile Central, Valparaíso, 33° latitud Sur, hasta la región de Concepción, 37° latitud Sur.

El alga fué recolectada en la localidad de La Boca, en Julio de 1984 (VI Región, Chile). El material botánico fué llevado a sequedad a la sombra, fué finamente molido y se sometió a extracción con acetona como solvente, en un soxhlet, hasta agotamiento total. De la extracción de 750 g de alga seca, se obtienen alrededor de 20 g de extracto acetónico.

El extracto acetónico obtenido fué cromatografiado en columna de gel de sílice, utilizándose como eluyentes éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo en polaridad creciente, obteniéndose 12 fracciones. De la fracción 4 (15%) se aisló un producto mayoritario (30 mg) denominado Sn-I. Las fracciones restantes mostraban en ccf productos minoritarios, los cuales no fueron aislados, debido a las bajas cantidades de compuestos en las fracciones.

MOLUSCO

Aplysia sp

Molusco opistobranquio, orden Anaspidea, especie Aplysia sp.

La Aplysia sp fué recolectada en la Isla de Pascua, siendo la primera vez que se reportan estos moluscos en la isla. Se le extrajo la glándula digestiva (Hepatopáncrea) la cual fué extraída con acetona como solvente, obteniéndose un crudo de 8 g.

Cromatografía del extracto

El extracto acetónico obtenido (8 g) fué cromatografiado en columna de gel de sílice, montada en éter de petróleo, utilizándose como eluyentes éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de

etilo en distintas proporciones, obteniéndose un total de 14 fracciones.

Descripción de la cromatografía

1. Las primeras cuatro fracciones eluidas con éter de petróleo y mezclas de éter de petróleo-acetato de etilo 5, 10 y 15%, respectivamente, se reunieron previo análisis en ccf y se cromatografiaron en columna rápida, aislándose ceras y ácidos grasos, los cuales no son de interés en este estudio.
2. De las fracciones 5 y 6 eluidas con éter de petróleo-acetato de etilo 20 y 25% respectivamente, se aisló un producto cristalino denominado AP-I.
3. De la fracción 7 (35%) cristalizó un producto mayoritario denominado AP-II (1.0 g).
4. Las fracciones de mayor polaridad se reunieron previo análisis en ccf y no fueron trabajadas por presentar compuestos minoritarios.

Propiedades físicas y espectroscópicas de los compuestos aislados

ALGAS

a) Glossophora kuntii

Pachidictyol-A (Gk-I)

- Aceite incoloro
- $[\alpha]_D^{25} = +106^\circ$ (C = 1.0, CHCl_3)
- IR $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ (cm^{-1}): 3484, 2900, 1630, 1440, 875
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, CDCl_3):
 152,5 (s), 141,5 (s), 131,2 (s), 129,9 (d), 124,0 (d),
 170,2 (t), 17,4 (d), 60,8 (d), 47,8 (d), 46,5 (d), 40,5
 (t), 35,2 (d), 34,3 (t), 25,6 (q), 23,8 (t), 17,6 (q),
 17,6 (q), 15,7 (q).
- RMN- ^1H , δ (80 MHz, CDCl_3):
 0,97 (3H,d,J=7), 1,60 (3H,s), 1,67 (3H,s), 1,75 (3H,s),
 3,85 (1H,s), 4,72 (2H,s), 5,10 (1H,t,J=7), 5,30 (1H,m).

- E.M. (m/z):
288 (M^+) $C_{20}H_{32}O$; 270 ($M^+ - H_2O$), $C_{20}H_{30}$; 203 ($M^+ - H_2O - C_5H_9$),
 $C_{15}H_{24}$

Dictyol-E (Gk-II)

- Aceite incoloro
- $[\alpha]_D^{25} = +27,1$ (c = 1,0, $CHCl_3$)
- IR ν_{max}^{film} (cm^{-1}): 3500, 2900, 880
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, $CDCl_3$):
151,9 (s), 140,9 (s), 131,7 (s), 124,4 (d), 124,2 (d),
107,5 (t), 76,2 (s), 74,4 (d), 60,3 (d), 48,7 (d), 46,2
(d), 41,0 (t), 40,5 (t), 33,8 (t), 25,7 (q), 24,4 (q),
23,3 (t), 21,7 (t), 17,6 (q), 15,8 (q)
- RMN- 1H , δ (80 MHz, $CDCl_3$)
1,20 (3H,s), 1,60 (3H,s), 1,68 (3H,s), 1,82 (3H,s), 4,20
(1H,d,J=9), 4,77 (2H,s), 5,16 (1H,t,J=6)
- E.M. (m/z):
 M^+ (no se observa); 286 ($M^+ - H_2O$, $C_{20}H_{30}O$); 268 ($M^+ - 2H_2O$),
 $C_{20}H_{28}$; 197 ($M^+ - 2H_2O - C_5H_9$), $C_{15}H_{17}$.

Dictyol-D (Gk-III)

- Aceite incoloro
- $[\alpha]_D^{25} = -80^\circ$ (c = 1,0, $CHCl_3$)
- IR $\nu_{max}^{film} = 3430, 1620, 883$
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, $CDCl_3$)
150,3 (s), 147,8 (s), 131,4 (s), 125,6 (d), 124,6 (d),
111,8 (t), 75,1 (d), 74,5 (d), 52,6 (d), 52,4 (d), 44,4
(d), 35,6 (t), 35,1 (t), 34,3 (d), 25,7 (q), 25,5 (t),
17,7 (t), 17,3 (q), 15,8 (q)
- RMN- 1H , δ (80 MHz, $CDCl_3$)
0,98 (1H,d,J=6), 1,61 (3H,s), 1,70 (3H,s), 1,82 (3H,s),
2,62 (1H,s), 2,94 (1H,t,J=10), 3,86 (1H,d,J=9), 4,50 (1
H,d), 4,86 (1H,s), 5,11 (1H,s), 5,36 (1H,s)

- RMN-¹H, δ(60 MHz, CDCl₃):
0,97 (3H,d,J=7), 1,59 (3H,s), 1,69 (3H,s), 1,74 (3H,d,J=1),
2,94 (1H,q,J=1), 3,63 (1H,m), 3,81 (1H,dd,J=2 y 7,7), 4,43
(1H,dd,J=5 y 2), 4,88 (1H,s), 4,93 (1H,s), 5,16 (1H,t,J=6),
5,29 (1H,s)
- E.M. (m/z):
M⁺ (no se observa); 302 (M⁺-H₂O) 17% C₂₀H₃₀O₂; 284 (M⁺-2H₂O)
1,5% C₂₀H₂₈O; 233 (M⁺-H₂O-C₅H₉) 27,5% C₁₅H₁₀O₂; 215 (M⁺-2H₂O-
C₅H₉) 32,2% C₁₅H₁₉O; 157 (M⁺-3H₂O-C₈H₁₅) 100% C₁₂H₁₃

b) Shottera nicaensis

(1S*, 2S*, 4R*, 5S*)-1-E-clorovonil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro-ciclohexano (Sn-I)

- Sólido cristalino
- Punto de fusión: 57-58 °C
- $[\alpha]_D^{20} = +7,7$ (c, 1, CHCl₃)
- IR ν_{\max}^{KBr} : 1610, 865, 830 cm⁻¹
- RMN-¹H, δ(60 MHz, CDCl₃):
1,24 (3H,s), 1,64 (3H,s), 2,14 (1H,d,J=14,5), 2,23 (1H,
m,J=12,6 y 14,6), 2,50 (1H,d,J=14,5), 2,51 (1H,dt,J=13,9
y 4,1), 3,71 (1H,dd,J=12,6 y 4), 4,14 (1H,dd,J=12,6 y 4,3),
6,15 (1H,d,J=13), 6,16 (1H,d,J=13)
- RMN-¹³C δ(CDCl₃):
26,1 (q), 29,0 (q), 40,3 (t), 43,6 (s), 55,1 (t), 64,4
(d), 66,5 (d), 70,7 (s), 120,7 (d), 134,5 (d)
- E.M. (m/z):
274, 276, 278 (M⁺), C₁₀H₁₄Cl₄; 239, 241 (M⁺-Cl), C₁₀H₁₄Cl₃;
200, 198 (M⁺-Cl-C₃H₅), C₁₀H₉Cl₃; 127 (M⁺-3Cl-C₃H₅)

Pacifenol (AP-II)

- Sólido cristalino
- Punto de fusión: 145-147 °C

- E.M. (m/z):
 M^+ (no se observa); 286 ($M^+ - H_2O$), $C_{20}H_{30}O$; 268 ($M^+ - 2H_2O$),
 $C_{20}H_{28}$; 197 ($M^+ - 2H_2O - C_5H_9$), $C_{15}H_{17}$

Dictyotriol A monoacetato (Gk-IV)

- Aceite incoloro
- $[\alpha]_D^{25} = +7,8^\circ$ (c = 0,017, $CHCl_3$)
- IR ν_{max}^{film} (cm^{-1}): 3660, 3470, 3000, 2920, 1730, 1640, 1220, 920
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, $CDCl_3$)
 172,17 (s), 154,34 (s), 141,87 (s), 134,28 (s), 123,60 (d), 119,87 (d), 110,22 (t), 76,57 (d), 74,31 (d), 74,26 (d), 59,60 (d), 41,40 (d), 37,15 (d), 35,86 (d), 33,76 (t), 29,90 (t), 27,65 (t), 25,77 (q), 21,29 (q), 17,91 (q), 15,78 (q), 12,48 (q)
- RMN- 1H , δ (60 MHz, $CDCl_3$)
 0,99 (3H,d,J=6,7), 1,58 (3H,s), 1,65 (3H,s), 2,02 (3H,s), 1,78 (3H,d,J=1,0), 2,85 (1H,q,J=9), 3,82 (1H,dd,J=2 y 7,7), 4,43 (1H,dd,J=2 y 5), 4,85 (1H,m), 4,89 (1H,s), 4,94 (1H,s), 5,06 (1H,t,J=6,5), 5,29 (1H,s)
- E.M. (m/z):
 362 (M^+ , $C_{22}H_{34}O_4$), 302 ($M^+ - HOAc$) 30,79% $C_{20}H_{30}O_2$, 284 ($M^+ - HOAc - H_2O$) 39,13% $C_{20}H_{28}O$; 215 ($M^+ - HOAc - H_2O - C_5H_9$) 51,18% $C_{15}H_{19}O$; 157 ($M^+ - 2H_2O - C_8H_{15}OAc$) 100% $C_{12}H_{13}$

Dictyotriol-A (Gk-V)

- Aceite incoloro
- $[\alpha]_D^{25} = +24,9$ (c = 0,47, $CHCl_3$)
- IR ν_{max}^{film} (cm^{-1}) = 3510, 3480, 2900, 890
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, $CDCl_3$)
 14,9 (q), 15,8 (q), 18,2 (q), 26,1 (q), 29,1 (t), 33,6 (t), 34,2 (t), 34,9 (d), 41,0 (d), 42,0 (d), 61,2 (d), 75,5 (d), 76,9 (d), 77,4 (d), 110,3 (t), 120,7 (d), 124,1 (d), 135,7 (s), 141,4 (s), 154,4 (s)

- IR ν_{\max}^{KBr} : 3600
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, CDCl_3):
134,3 (d), 132,4 (d), 99,7 (s), 77,1 (s), 74,1 (d), 69,1 (s), 59,4 (d), 53,3 (s), 52,0 (s), 46,1 (t), 34,2 (t), 33,6 (q), 25,1 (q), 24,7 (q), 23,5 (q)
- RMN- ^1H , δ (80 MHz, CDCl_3):
1,18 (3H,s), 1,30 (3H,s), 1,45 (3H,s), 1,68 (3H,s), 2,05-2,50 (4H,m), 2,68 (1H,dd,J= y), 4,68 (1H,dd,J=13,5 y 4), 5,20 (2H,m), 6,20 (1H,d,J=
- E.M. (m/z):
426, 428, 430 (M^+ , M^++2 , M^++4) $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{O}_2\text{Br}_2\text{Cl}$: 408, 410, 412 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}$) 0,77% $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{OBr}_2\text{Cl}$; 293, 295, 297 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}-\text{Br}-\text{Cl}$) 2,58%, $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{BrO}$; 249, 251, 253 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}-2\text{Br}$) 0,90% $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{OCl}$; 214 ($\text{M}^+-\text{H}_2\text{O}-2\text{Br}-\text{Cl}$) 3,05% $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}$; 197 ($\text{M}^+-2\text{H}_2\text{O}-\text{Br}-\text{Cl}-\text{C}_6\text{H}_9$) 8,50% $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Br}$

Desoxiprepacifenol (AP-I)

- Sólido cristalino
- Punto de fusión: 123-124 °C
- IR ν_{\max}^{KBr} (cm^{-1}): 2950, 1620, 1450, 800
- RMN- ^1H , δ (60 MHz, CDCl_3):
1,17 (3H,s), 1,19 (3H,s), 1,60 (3H,s), 1,68 (3H,s), 2,05-2,50 (6H,m), 2,95 (1H,d,J=3), 4,68 (1H,dd,J=13,5), 6,20 (1H,d,J=3)
- RMN- ^{13}C δ (80 MHz, CDCl_3):
143,7 (s), 124,2 (d), 72,0 (s), 64,0 (d), 56,3 (d), 49,0 (s), 45,0 (s), 39,6 (t), 39,1 (t), 25,9 (t), 24,8 (q), 24,3 (q), 23,7 (q), 23,5 (q)

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Glossophora kuntii

Del estudio del extracto acetónico del alga Glossophora kuntii, se aisló isofucoesterol y cinco diterpenoides.

Los diterpenos aislados son bicarbocíclicos, con un esqueleto perhidroazuleno; este tipo de esqueleto es frecuentemente aislado desde algas pardas (fam. Dictyotaceae). W.Fenical determinó la configuración absoluta de el diterpeno monohidroxilado, con este tipo de esqueleto, llamado Pachydictiol-A y otros compuestos relacionados como el Dyctiol-B, Dyctiol-D y Dyctiol-E (40,43,46). De los cinco diterpenos aislados en este trabajo, tres de ellos resultaron ser conocidos en la literatura científica y dos de ellos son diterpenos nuevos.

Identificación de los compuestos aislados

Pachydictiol-A 11

La información espectroscópica descrita en la sección anterior y la comparación con los datos bibliográficos, permitió identificar el compuesto Gk-I como Pachydictiol-A 11. Este producto es idéntico al aislado anteriormente de las algas P.coriaceum (40), D.dichotoma (42) y la Aplysia vaccaria (41).

Dictyol-E 12

El compuesto Gk-II, previo análisis de su información espectroscópica y comparada con los de la literatura científica, resultó ser el Dictyol-E 12, el cual había sido aislado anteriormente desde el alga D.ligulatus (48).

Dictyol-D 13

El análisis de la información espectroscópica descrita en la sección anterior, permitió identificar al compuesto Gk-III como el Dictyol-D 13, el cual había sido aislado desde al alga D.dichotoma (46).

Los espectros de RMN-¹H y las asignaciones de Pachydictiol-A 11,

Dictyol-E 12 y Dictyol-D 13, se ilustran en los espectros números 1, 2 y 3, en las páginas siguientes.

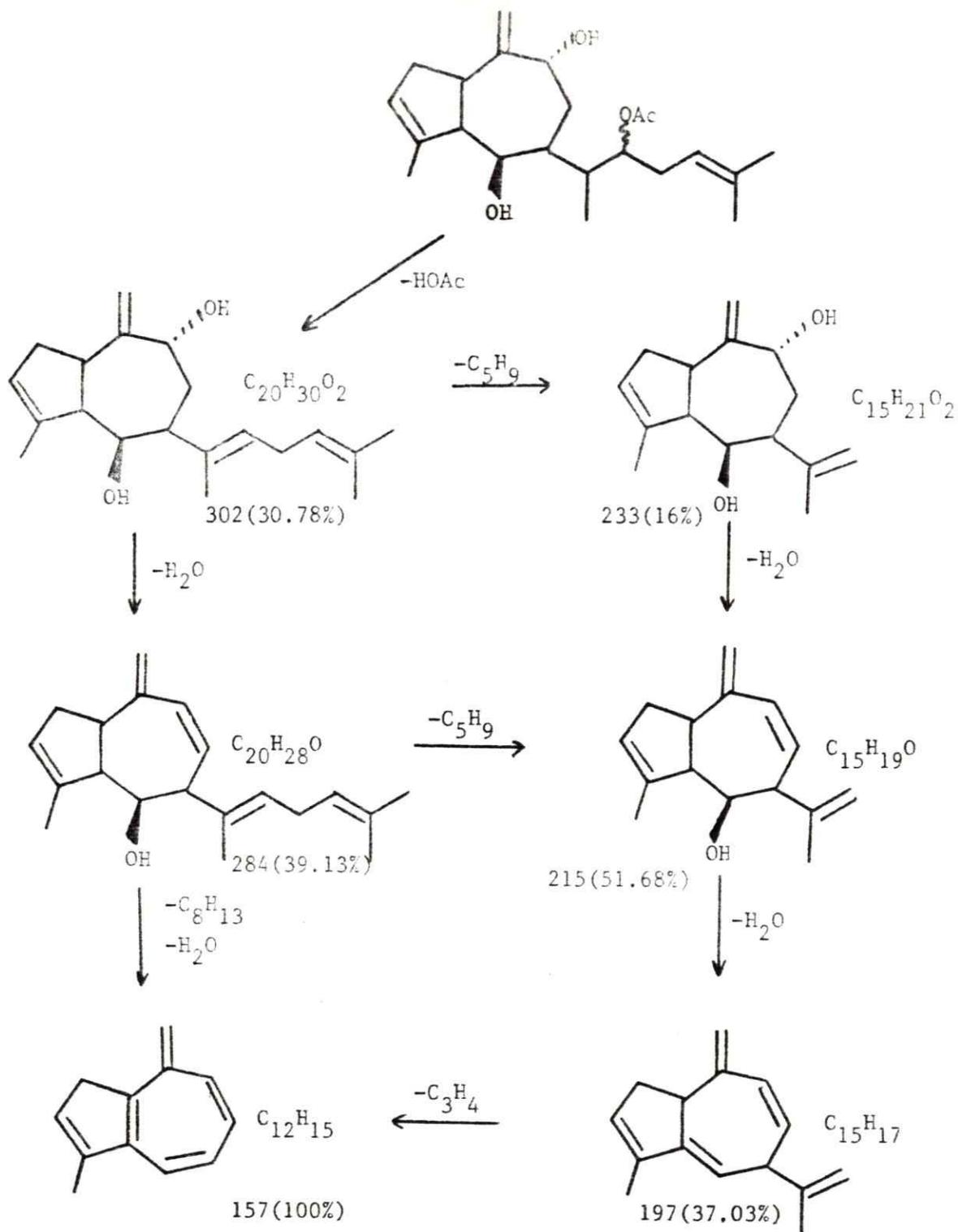
Dictyotriol-A monoacetato 14

El espectro IR muestra la presencia de grupos hidroxilos ($3600-3470\text{ cm}^{-1}$) y un grupo carbonilo de acetato (1730 cm^{-1}). El espectro de RMN- ^{13}C (espectro número 5, página 76) muestra señales a 110,2 (t), 119,9 (d), 123,6 (d), 134,3 (s), 144,9 (s), 154,3 (s) y 172,2 (s), desplazamientos que pueden asociarse a tres dobles enlaces y un carbono de carbonilo, respectivamente.

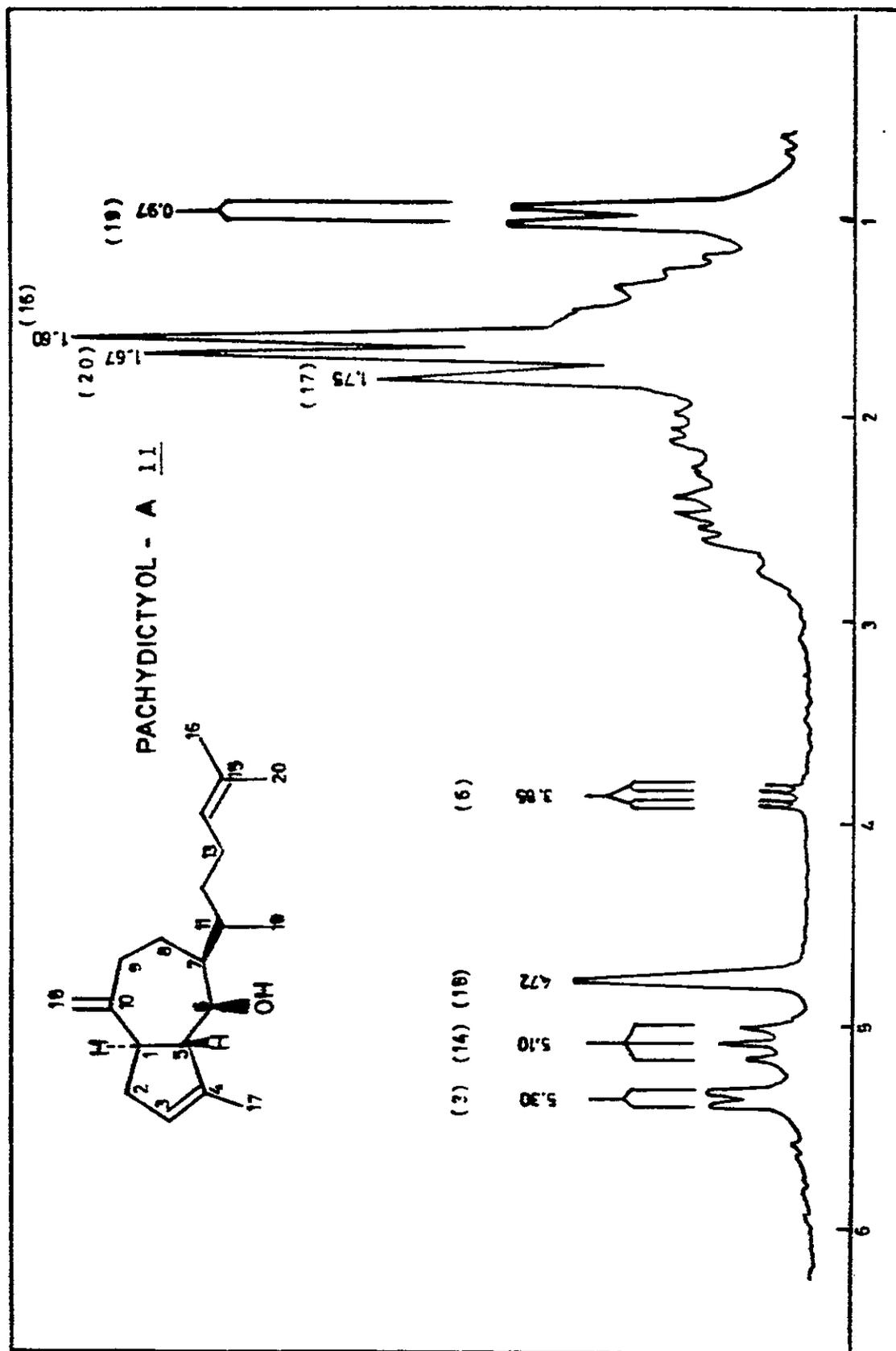
El espectro de masas a 15 e.V. muestra un ión molecular a 362 m/z con fórmula global $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_4$. Considerando esta información, el compuesto debería tener seis insaturaciones, de las cuales una es de acetato y tres de dobles enlaces; se puede inferir entonces que Gk-IV es un diterpeno bicíclico monoacetato. El resto del espectro de masas es interpretado en el esquema IX, página siguiente.

El espectro de RMN- ^1H muestra un singlete a 2,02 ppm asignable al metilo del acetato, también se observan señales a 1,58 (s), 1,65 (s), 1,78 (s) y 0,99 (d, $J=6,7\text{ Hz}$), correspondientes a cuatro grupos metilos; el resto del espectro sugiere que nuestro compuesto monoacetato es de igual esqueleto carbonado que pachydictyol A, con insaturaciones en $\Delta^{3,4}$, $\Delta^{16,18}$, $\Delta^{14,15}$ y el C-6 funcionalizado con un grupo hidroxilo. Las asignaciones del RMN- ^1H se muestran en el espectro número 4 y se discuten en la Tabla 6.

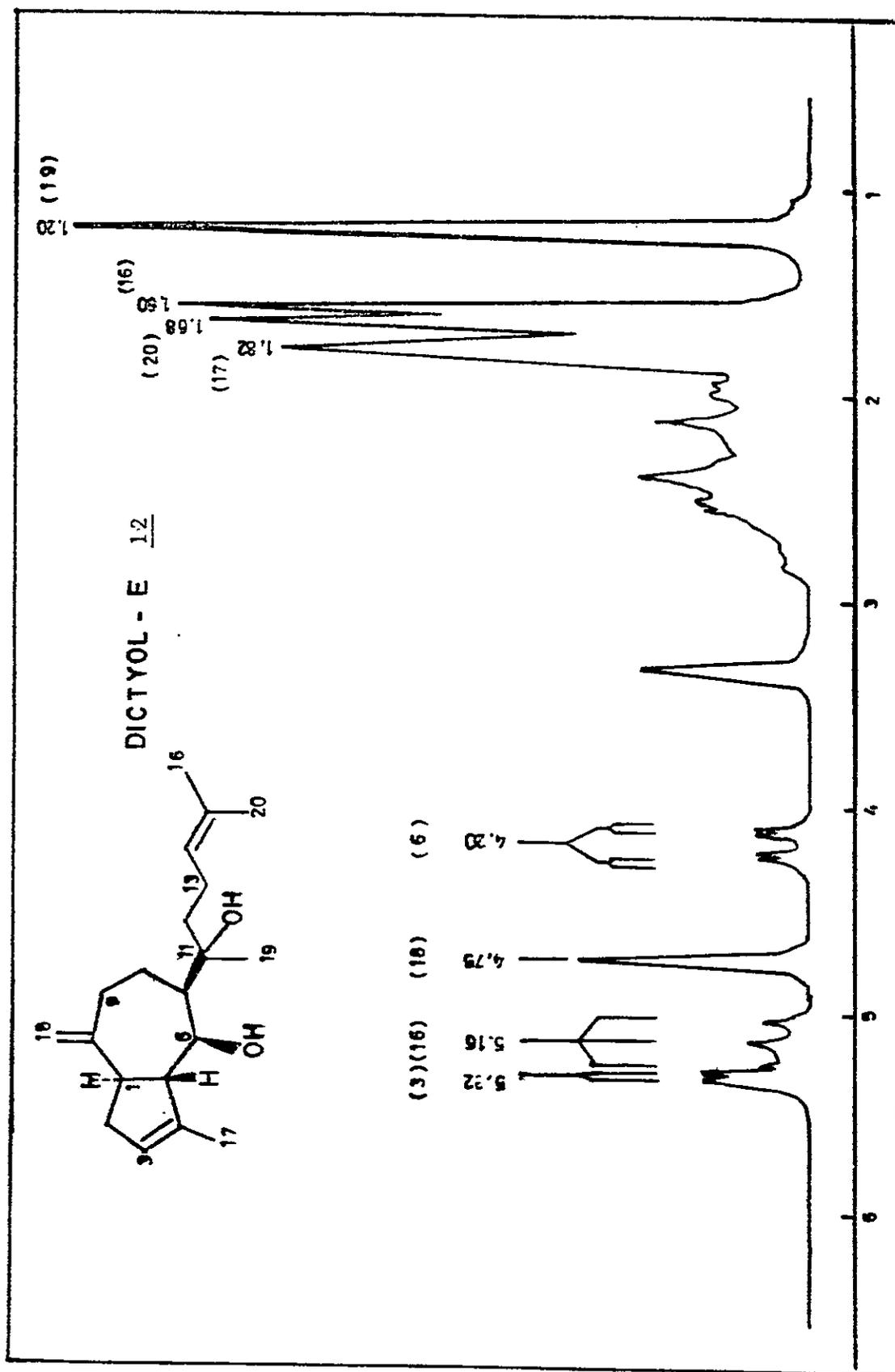
Recientemente Anderson informó un dictyotriol-A diacetato 16, aislado desde el alga Dictyota binghamiae (52), los dos grupos acetatos de su compuesto los asignó en C-9 y C-12 respectivamente. La principal diferencia entre su compuesto y los informados con relación a pachydictyol era la configuración del C-9. En el dictyol-B acetato 19 (43), la configuración del C-9 acetato es α ; Anderson, para determinar la estereoquímica del C-9 en su compuesto, realizó experiencias en espectros copia de RMN- ^1H ("NOE") lo que le permitió asignar al grupo acetato en C-9 una configuración β . Alcomparar los datos de RMN- ^1H (Tabla 6) de



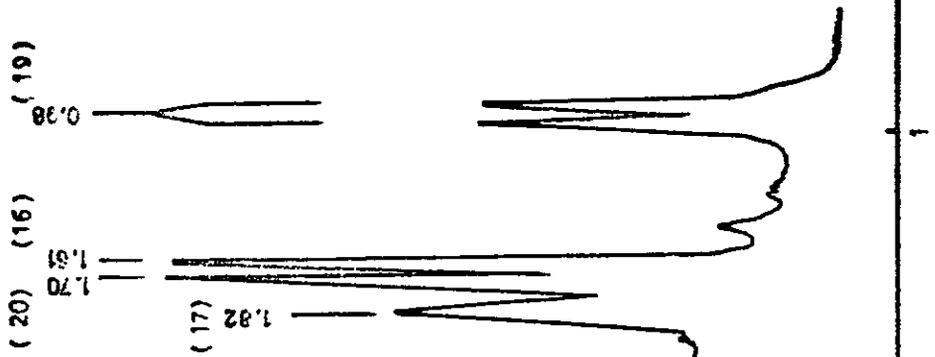
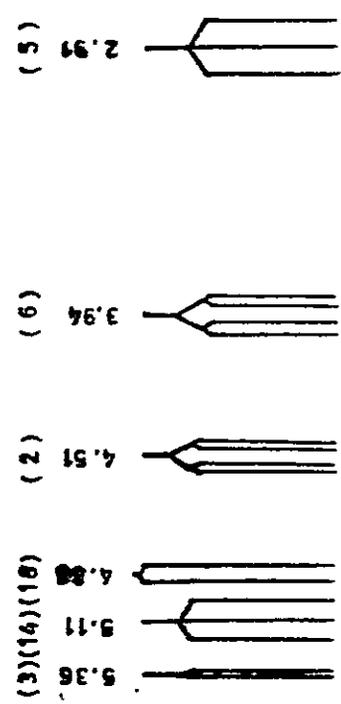
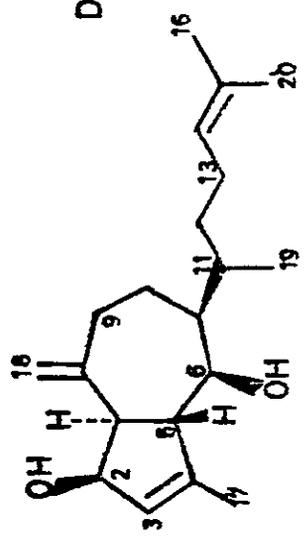
Esquema IX. Fraccionamiento de masa del dictyotriol-A monoacetato.



Espectro N° 1



DICTYOL - D 13



Espectro N° 3

dictyotriol-A diacetato 19 con nuestro compuesto nos permite proponer que nuestro compuesto es el dictyotriol-A C-12 monoacetato 14.

Las asignaciones de RMN-¹³C de 14 se muestran en el espectro número 5 y se discuten en la Tabla 5, junto a otros compuestos relacionados.

Todos los datos anteriormente expuestos para el compuesto Gk-IV, nos permiten decir que el dictyotriol-A monoacetato es un producto natural nuevo no informado anteriormente en la literatura científica.

Dictyotriol-A 15

El espectro IR sólo muestra la presencia de grupos hidroxilos (3600-3500 cm⁻¹). El espectro de RMN-¹H muestra las mismas señales que para el dictyotriol-A monoacetato, excepto la señal del protón en C-12; en el compuesto anterior, el H-C-12 sale a 4,85 ppm, en cambio en este compuesto la misma señal tiene un desplazamiento de 3,43 ppm. Las asignaciones de ambos compuestos se muestran en la Tabla 6.

El espectro de RMN-¹³C muestra señales para veinte átomos de carbono, las asignaciones se muestran en la Tabla 5, en la página 42.

El espectro de masas (15 e.V.) permitió establecer que la fórmula molecular era C₂₀H₃₄O₃. Es decir, 60 unidades de masa menos que el dictyotriol-A monoacetato. Estas deben corresponder a la ausencia del grupo acetato en la molécula.

Del análisis de la información anterior, podemos inferir que en el C-12 de este compuesto, se encuentra ubicado un grupo hidroxilo en vez de un acetato, lo que se justificaría por los desplazamientos químicos en los espectros de ¹H y ¹³C. Por lo tanto, el compuesto Gk-V debe ser el dictyotriol-A 15.

La proposición del dictyotriol-A no fue confirmada al realizar la hidrólisis alcalina del dictyotriol-A monoacetato 14, obteniéndose los mismos datos espectroscópicos que para el dictyotriol-A 15.

En la Tabla 6 se muestran los datos de RMN-¹H del dictyotriol-A diacetato, dictyotriol-A monoacetato y dictyotriol-A, observándose claramente correspondencia en los desplazamientos. Cuando se realizó la

acetilación del dictyotriol-A se obtuvo un compuesto idéntico que el dictyotriol-A diacetato, según se puede observar al comparar los espectros de RMN-¹H en la página 48. El dictyotriol-A no había sido informado anteriormente en la literatura científica como producto natural.

Al realizar una confrontación de nuestros resultados con los informados en la literatura para algas pardas de la familia Dictyotaceae, se puede considerar que los diterpenos bicarbocíclicos de esqueleto perhidroazuleno son representativos de esta familia, los cuales se han obtenido desde los géneros Dictyota, Pachydictyol, Dilophus y Glossophora

El género más estudiado a la fecha es Dictyota, habiéndose informado diterpenos con este esqueleto en cinco especies de algas: D.dentata (50), D.flagelata (47), D.indica (78), D.binghamiae (52) y D.dichotoma (42); de esta última especie se han informado diterpenos en ejemplares recolectados en distintas localidades (Mediterráneo, Gran Bretaña y Japón). De los géneros Pachydictyol, Dilophus y Glossophora, sólo se han informado trabajos en una especie de cada género.

Del género Glossophora se habían informado este tipo de compuestos en la especie G.galapagensis (60). En nuestro trabajo informamos cinco diterpenos con esqueleto perhidroazuleno aislados de G.kuntii (79), con lo cual se confirma la tendencia a la acumulación de este tipo de metabolitos secundarios en la familia Dictyotaceae.

En la Tabla 7 se ilustran las algas estudiadas a la fecha y los compuestos diterpénicos con esqueleto perhidroazuleno que presentan.

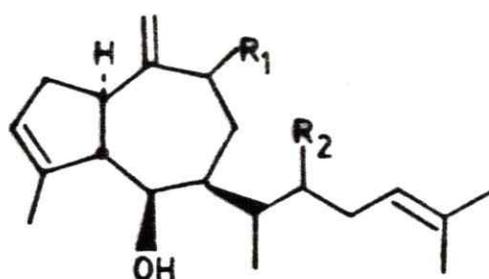
ENSAYO BIOLÓGICO PRELIMINAR

Estudios preliminares con el compuesto de estructura diterpénica, dictyotriol-A monoacetato, han demostrado una significativa acción antibacteriana a concentraciones de 10^{-6} M. sobre dos cepas bacterianas en estudio. De interés resulta que no haya sido observado efecto alguno sobre fibroplastos de embrión de pollo, sugiriéndose toxicidad selectiva de este compuesto para bacterias (77).

Para el estudio de los compuestos con eventual actividad antibacteriana se observa el efecto inhibitor sobre el crecimiento "in vitro" de cepas bacterianas Gram⁺ (Staphilococcus aureus) y Gram⁻ (Escherichia coli) crecidas en placa y en medio líquido. Para la determinación del posible efecto citotóxico se utilizan células Hela y/o Fibroblastos de embrión de pollo, donde se determina la intensidad del efecto a través de 24 horas de observación, siguiendo una escala arbitraria basada en síntomas progresivos de degeneración celular, frecuentemente observados con sustancias citotóxicas.

Tabla 6. Datos del RMN-¹H de los compuestos 14, 15 y 16.

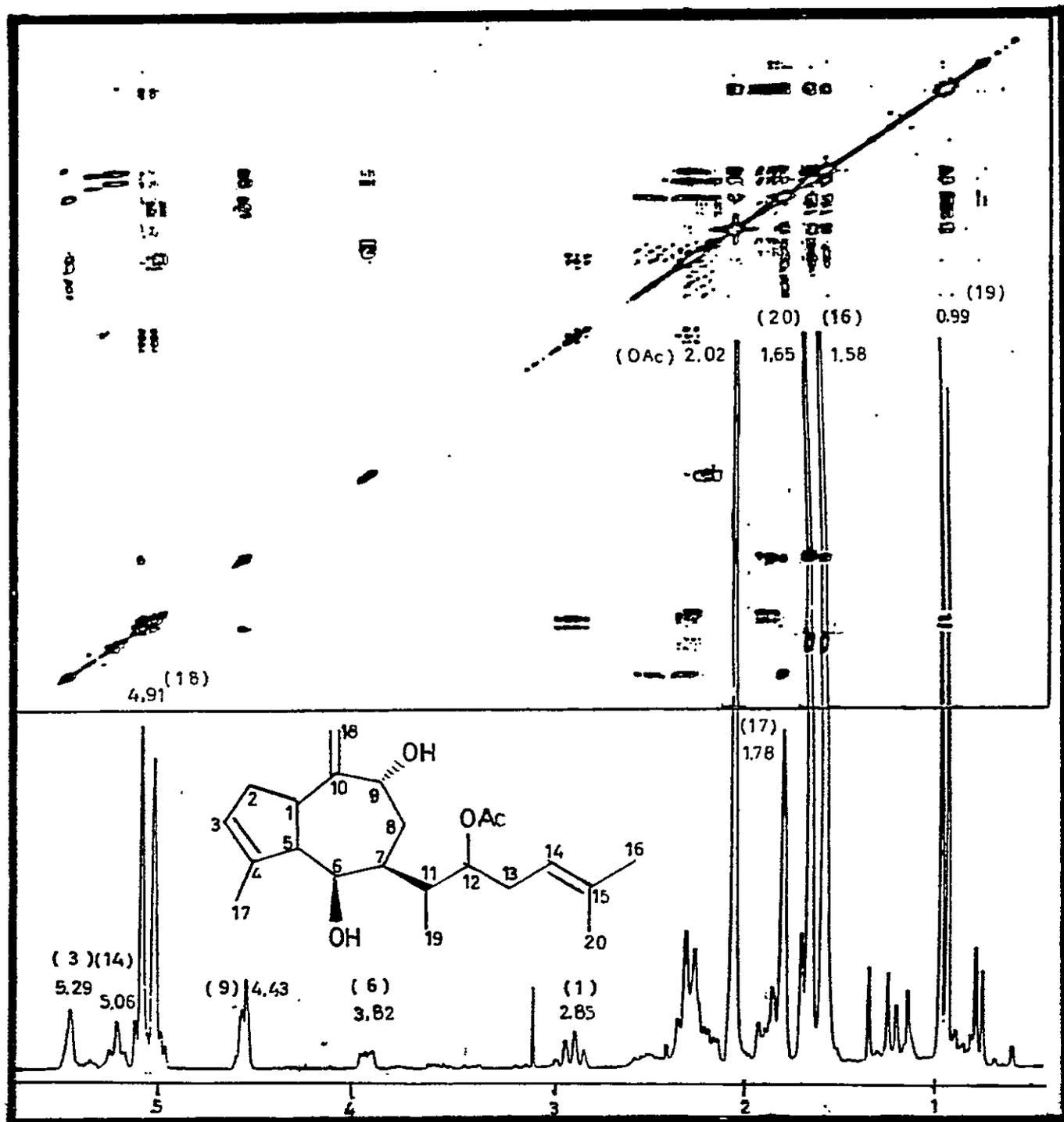
Carbon	Dictyotriol A diacetato <u>16</u> (56)	Dictyotriol A monoacetato <u>14</u>	Dictyotriol A <u>15</u>
1	2.79 (q, J=10Hz)	2.85 (q, J=9.7Hz)	2.94 (q, J=10Hz)
3	5.34 (br, s)	5.29 (br, s)	5.29 (br, s)
5	2.33 (m)	2.30 (m)	2.30 (m)
6	3.87 (dd, J=3 & 8Hz)	3.82 (dd, J=2 & 7.7Hz)	3.81 (dd, J=2 & 7.7Hz)
9	5.59 (dd, J=6 & 2Hz)	4.43 (dd, J=5 & 2Hz)	4.43 (dd, J=5 & 2Hz)
12	4.92 (m)	4.85 (m)	3.43 (m)
14	5.10 (t, J=7Hz)	5.06 (t, J=6.5Hz)	5.16 (t, J=6.5Hz)
16	1.64 (s)	1.58 (s)	1.59 (s)
17	1.82 (d, J=1Hz)	1.78 (d, J=1Hz)	1.74 (d, J=1Hz)
18	5.10 (s) 5.03 (s)	4.89 (s) 4.94 (s)	4.88 (s) 4.93 (s)
19	0.94 (d, J=7Hz)	0.99 (d, J=7Hz)	0.97 (d, J=7Hz)
20	1.70 (s)	1.65 (s)	1.69 (s)



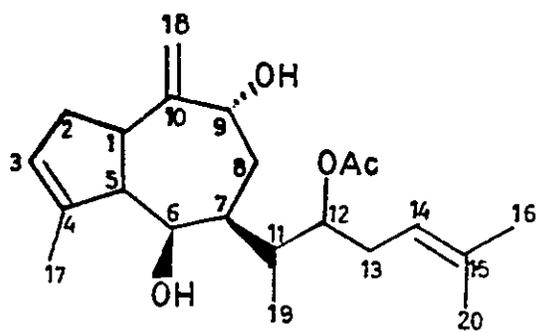
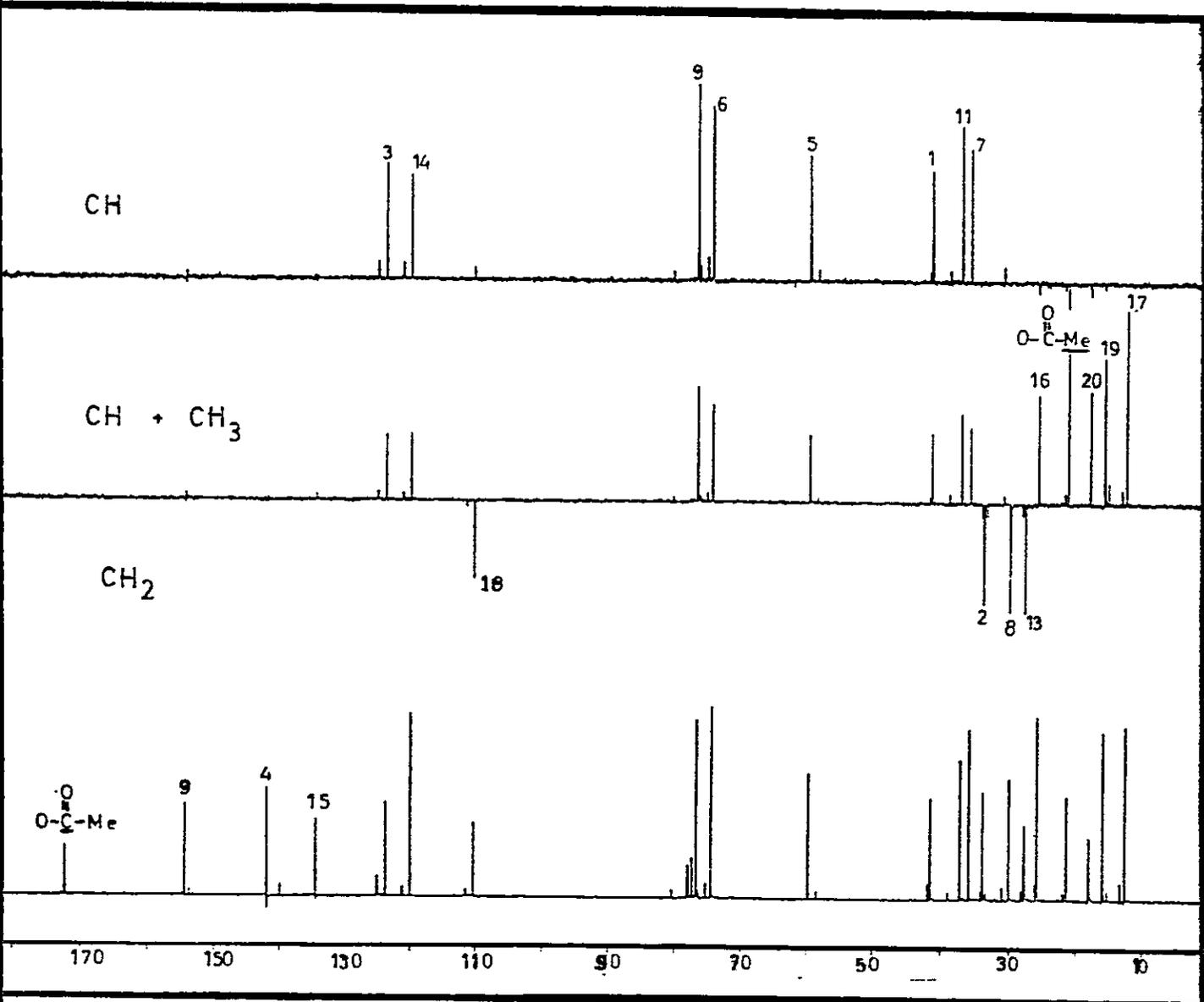
16 R₁ = R₂ = OAc

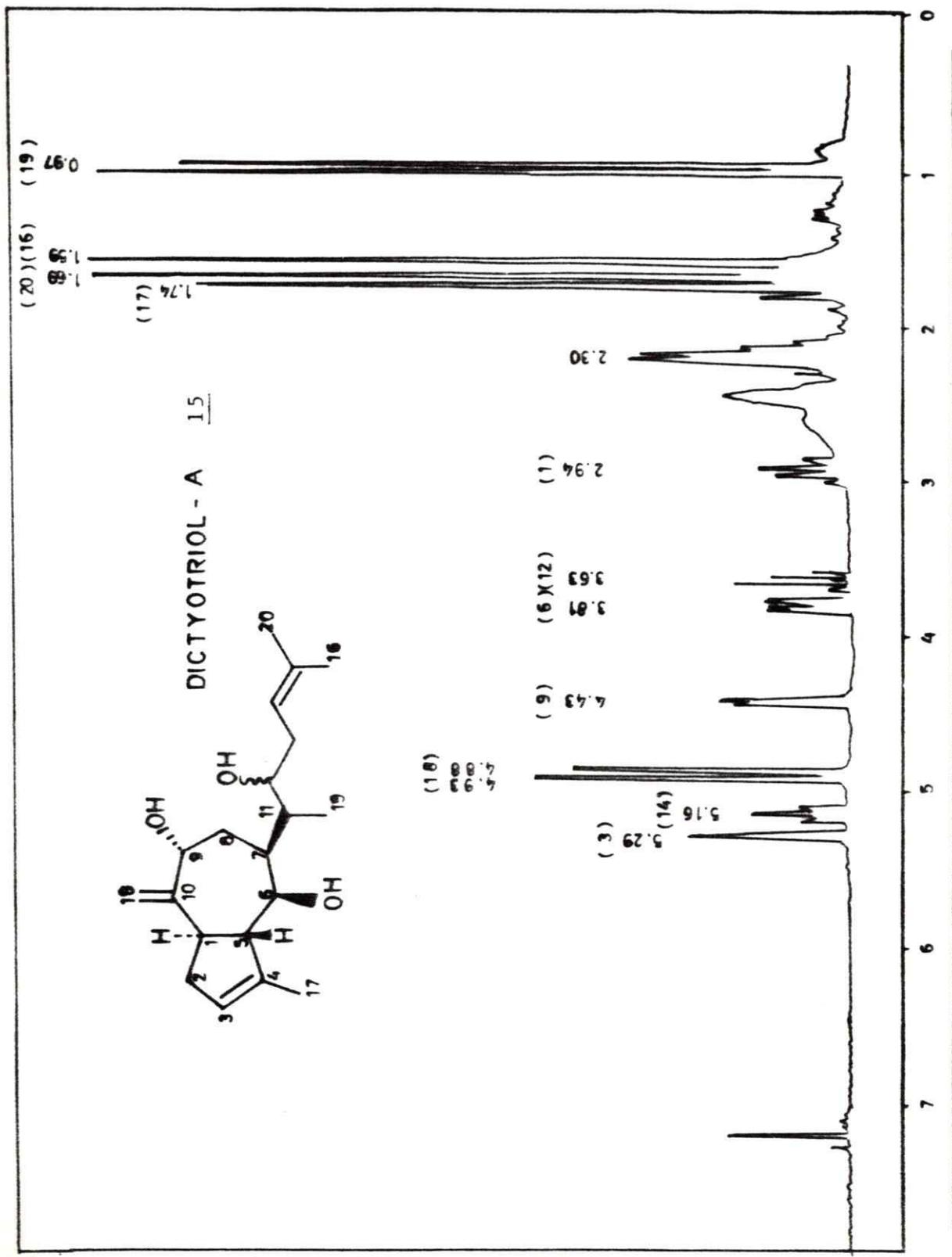
14 R₁ = OH, R₂ = OAc

15 R₁ = R₂ = OH

DICTYOTRIOL - A MONOACETATO 14

Espectro N° 4

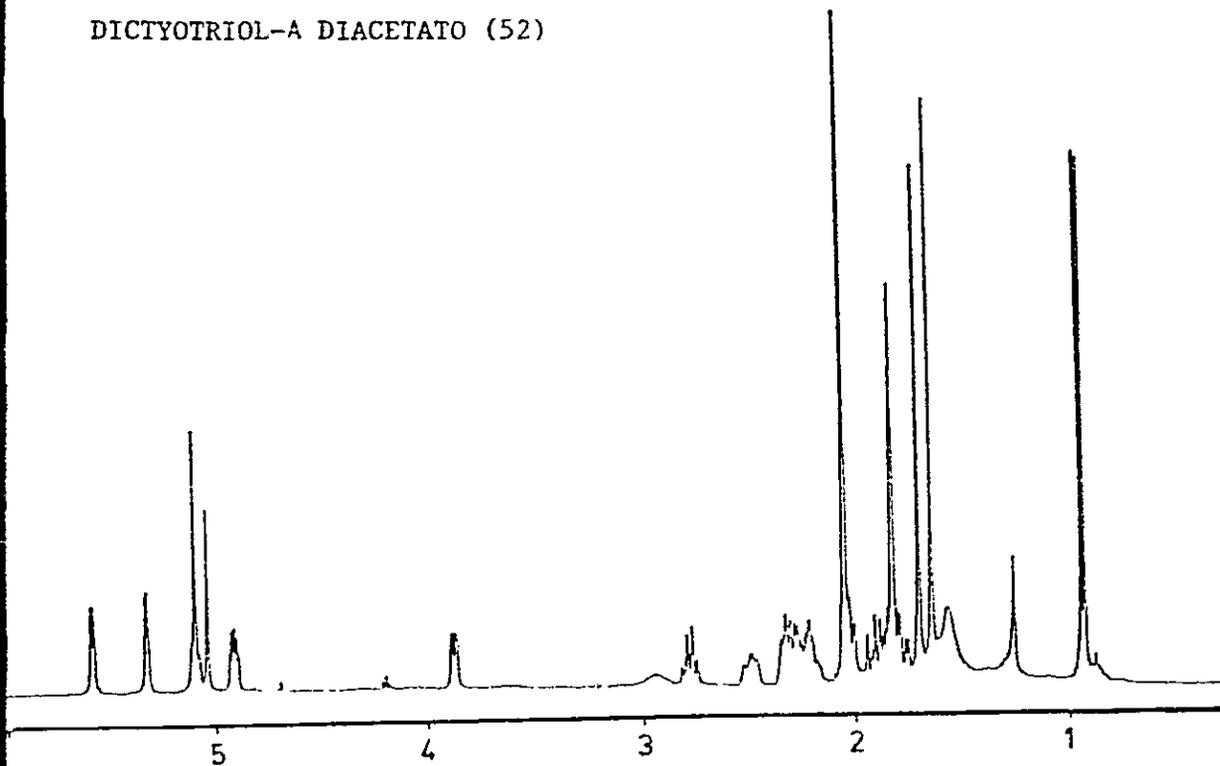
DICTYOTRIOL-A MONOACETATO 14



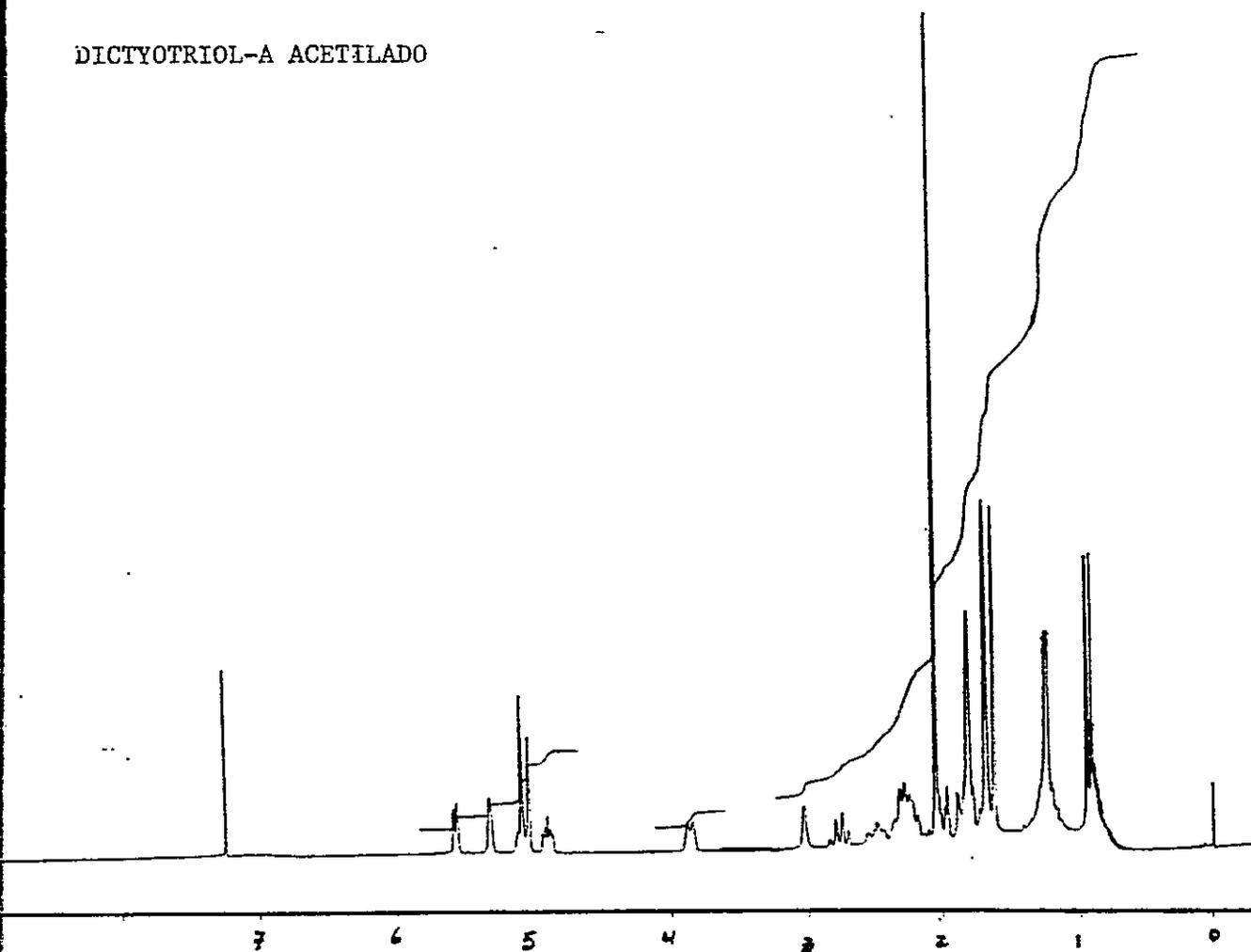
Espectro N° 6

PATHIRANA AND ANDERSEN

DICTYOTRIOL-A DIACETATO (52)



DICTYOTRIOL-A ACETILADO



Shottera nicaensis

Del estudio del extracto acetónico del alga S.nicaensis se aisló y se caracterizó un producto mayoritario, resultando ser idéntico a un monoterpeno halogenado aislado anteriormente de Plocamium cartilagineum (80). Desde P.cartilagineum se habían informado cinco monoterpenos halogenados, los cuales fueron identificados mediante métodos espectroscópicos de análisis orgánico y se compararon mediante cromatografía de gases con patrones provenientes desde P.cartilagineum en el alga S.nicaensis.

Identificación del compuesto aislado

(1S*, 2S*, 4R*, 5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ciclohexano 20 .

El espectro de masas a 70 e.V. muestra un ión molecular a 274, 276 y 278 m/z (M^+ , M^+2 , M^+4); mediante espectroscopía de masas de alta resolución se determinó la fórmula global como $C_{10}H_{14}Cl_4$, lo que nos indica que nuestro compuesto presenta dos insaturaciones.

El espectro de RMN- 1H muestra las siguientes señales: dos singletes a 1,24 y 1,64 ppm los que integran para tres protones cada uno asignables a dos grupos metilos. Se observan señales entre 2,0-3,0 ppm, pertenecientes a cuatro protones metilénicos. En 3,70 y 4,15 ppm se observan dos dobles dobletes asignables a dos protones geminales a halógeno, en este caso cloro. Finalmente se observa una señal singlete a 6,2 ppm asignable a dos protones olefínicos. Las asignaciones se muestran en el espectro N° 8.

El análisis del espectro de RMN- ^{13}C muestra señales para diez átomos de carbono. Se observan dos señales dobletes a 120,6 y 134,4 ppm desplazamientos que pueden asociarse a carbonos participantes en doble enlace, conteniendo un protón cada uno. Entre 40-70 ppm se observan seis señales que pueden asociarse a un ciclohexano; la multiplicidad de las señales indica que el ciclo es tetra sustituido (40,3 (t), 43,5 (s), 55,1 (t), 64,3 (d), 66,4 (d) y 70,4 (s)). Finalmente se observan dos cuartetos en 25,9 y 28,9 ppm asignables a dos grupos metilos. El espectro de RMN- ^{13}C se muestra en la página 54.

Cuando se hace el análisis de la información anteriormente descrita, se puede deducir que existe un par de protones olefínicos (6,2 ppm). Al confrontar nuestros datos con los de la literatura, se puede concluir por los valores de las constantes de acoplamiento que dichos protones corresponden a un grupo clorovinil; además, se deduce que los cloros en los carbonos 2 y 4 están en posición ecuatorial. La configuración relativa del C-1 y C-5 fueron asignados básicamente por la absorción del protón en C-9 (6,2 ppm) el cual es consistente con el grupo clorovinil axial y un metilo ecuatorial respectivamente en el C-1. Todo nuestro análisis se basa en la comparación de nuestros datos espectroscópicos con los obtenidos para monoterpenos halogenados del mismo tipo desde Plocamium cartilagineum (80).

Se deduce que SN-I es (1S*, 2S*, 4R*, 5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-triclorociclohexano 20, lo que se confirma por comparación con muestra auténtica (cocromatografía en capa fina, punto de fusión mixto) obtenida desde P. cartilagineum.

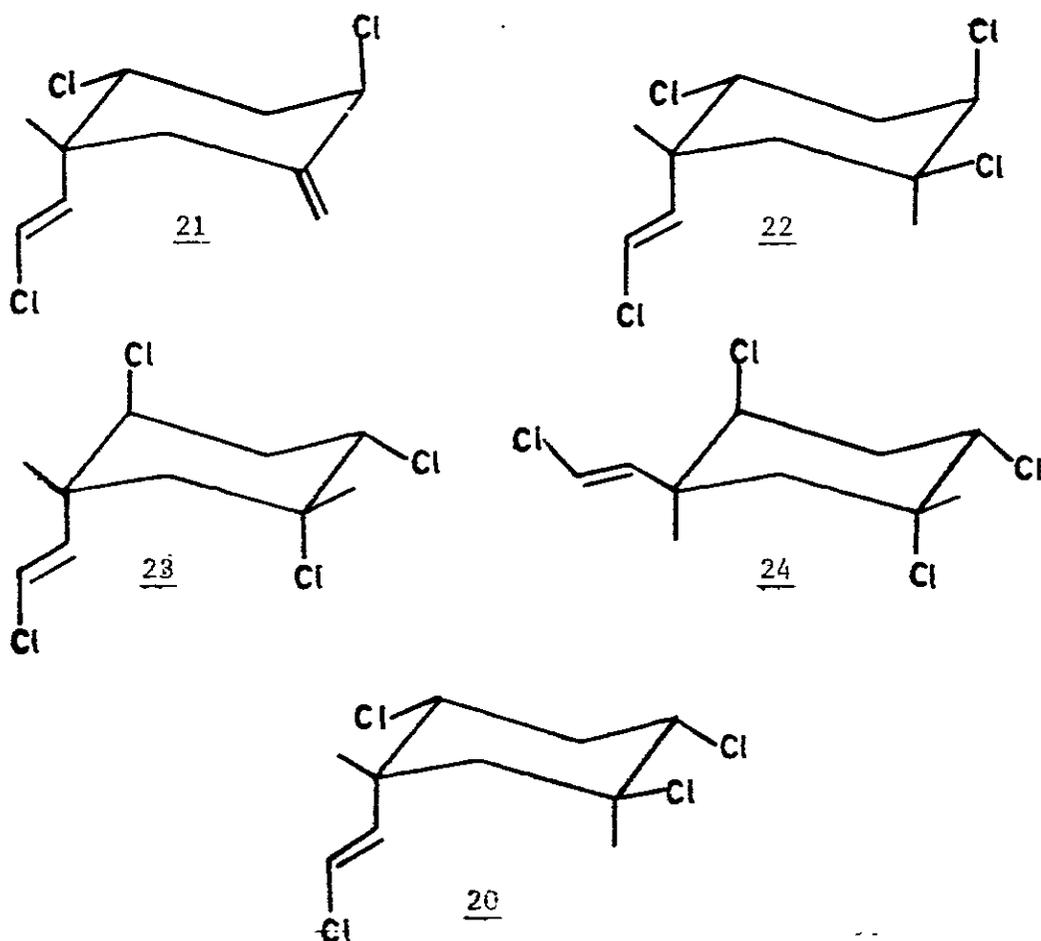
Los monoterpenos halogenados constituyen un grupo no muy difundido de metabolitos secundarios provenientes de organismos marinos: Ellos se encuentran en algas del género: Plocamium, Chondrococcus y Microcladia, también se han informado en moluscos opisthobranchios (Aplysia californica y A. limacina) y Laurencia.

La coocurrencia del mismo terpeno halogenado en dos algas que pertenecen a grupos taxonómicamente distintos y que crecen juntos, se ha atribuido frecuentemente a interacciones planta-planta (81) en la cual uno de los organismos es el productor y un segundo aprovecha el beneficio, usando las sustancias químicas como un mecanismo de defensa contra la depredación por herbívoros, contra el ataque de Epifitos y Endoepifitos. Ejemplos de estas interacciones se han reportado en el hemisferio norte entre las algas: Plocamium cartilagineum/Microcladia coulterii; Plocamium cartilagineum/Microcladia californica; Plocamium violaceum/Microcladia borealis y Plocamium oregonium/Microcladia borealis (81).

Primero se realizó el análisis cromatográfico de los extractos acéticos de P. cartilagineum y S. nicaensis, recolectadas en la misma localidad; se

observó cierta concordancia según se aprecia en los cromatogramas N° 1 y 2 de la página 55. El extracto de S.nicaensis se cromatografió en columna y se realizó la identificación de los productos por comparación con compuestos puros aislados de P.cartilagineum. Al inyectar en el cromatógrafo el extracto en estudio más producto patrón, se observó un incremento en una señal del cromatograma del extracto (véase cromatogramas N° 3 y 4, página 56). Esta operación se repitió con cada una de las fracciones que presentaban señales del mismo tiempo de retención que los compuestos patrones usados.

De esta forma fue posible identificar la totalidad de los compuestos, los cuales se muestran en el Esquema X y sus señales con sus respectivos tiempos de retención se observan en los cromatogramas N° 1 y 2, página 55.

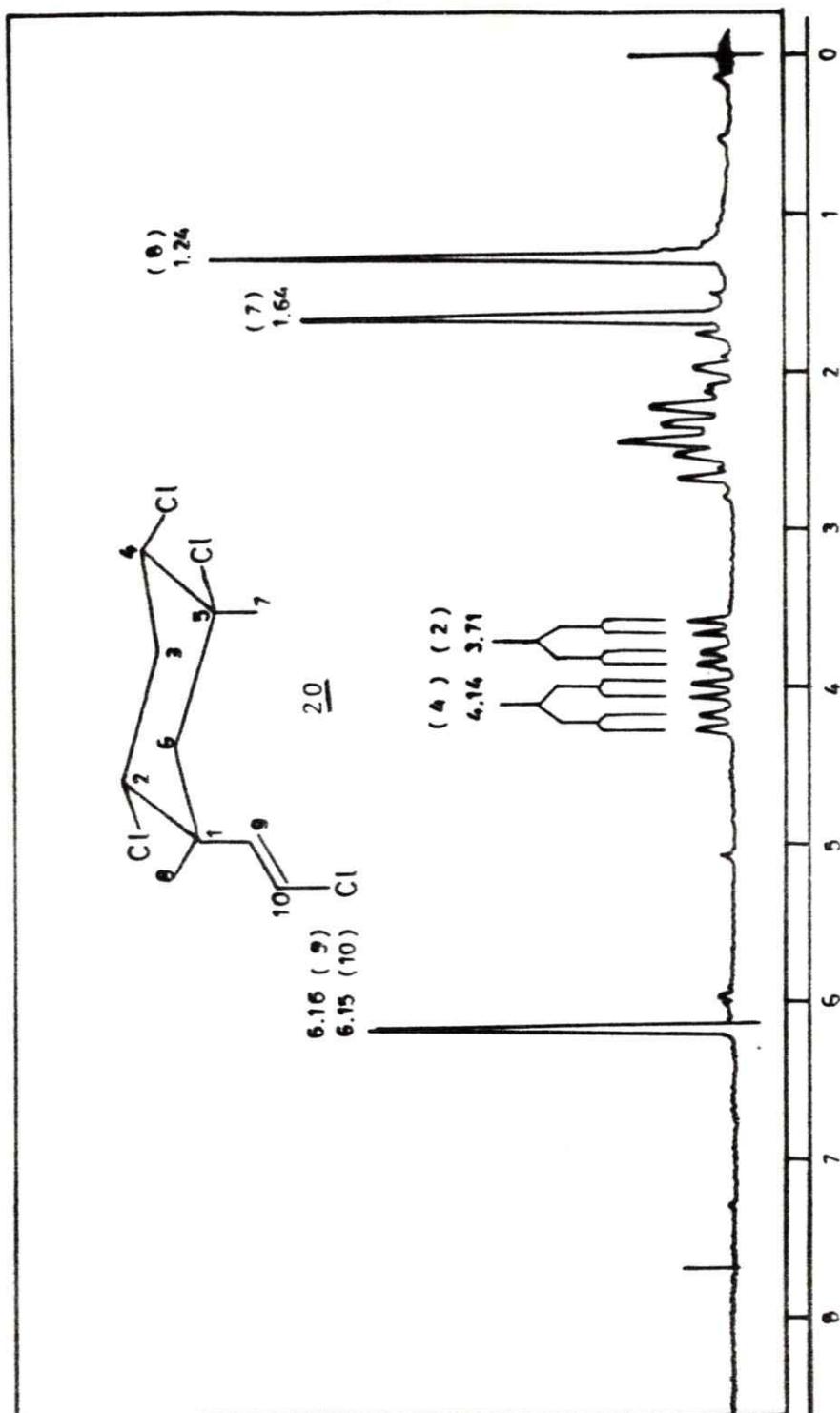


Esquema X

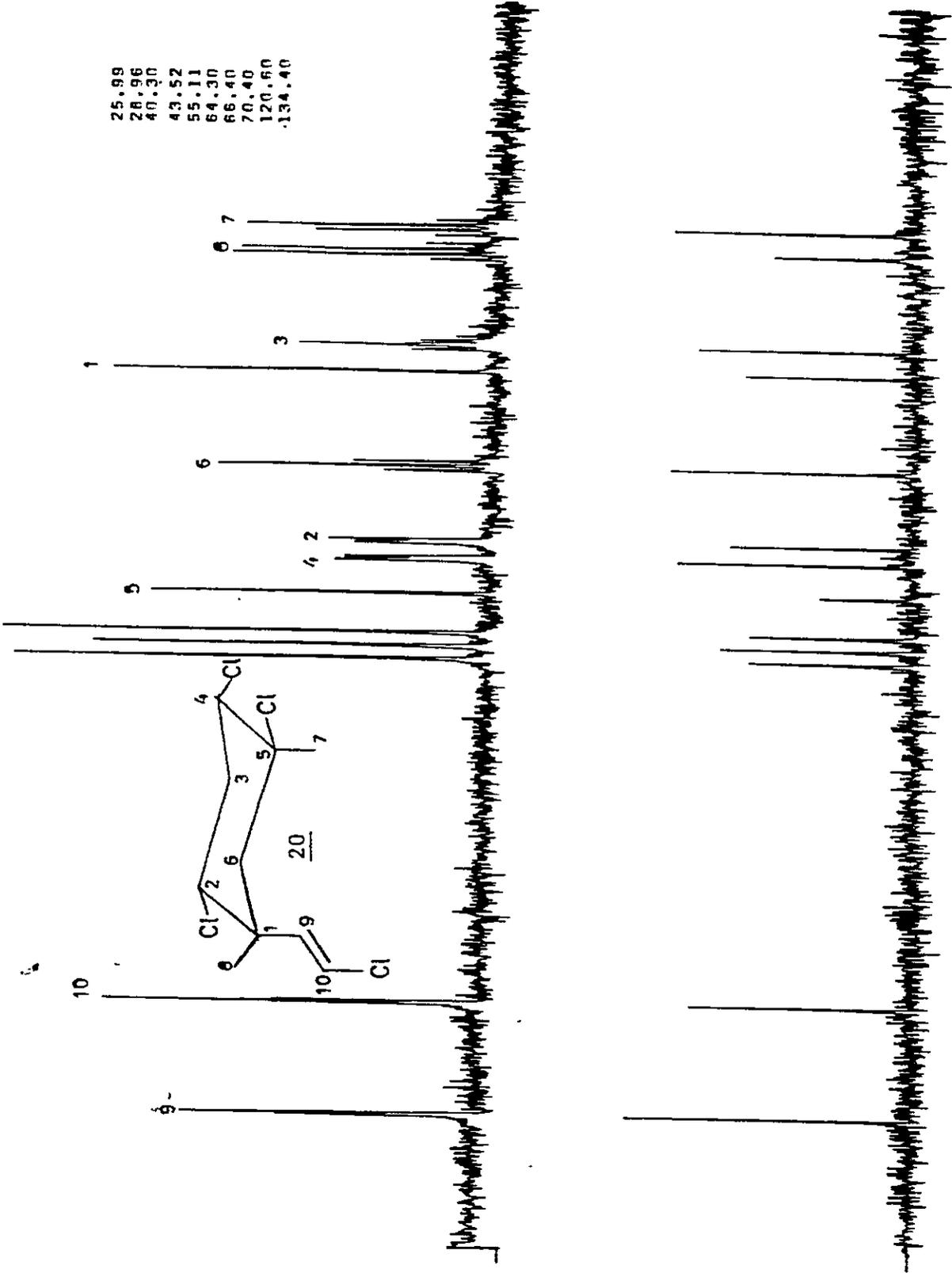
Compuestos identificados en S.nicaensis y P.cartilagineum

Se informan de esta manera por primera vez monoterpenos halogenados en el género Shottera, considerando que S.nicaensis y P.cartilagineum son dos algas que crecen juntas pero son morfológicamente muy diferentes como para confundirlas y además taxonómicamente tan dispares como para suponer un sistema biológico que les permitan elaborar idénticos compuestos. S.nicaensis parece concentrar los metabolitos halogenados producidos por Plocamium, al igual que lo hacen las Microcladias en el otro hemisferio.

En base a esta información, nos permitimos proponer una interacción de tipo planta-planta entre una especie de la familia Plocamiaceae y otra de la familia Phyllophoraceae, no referida anteriormente (82).

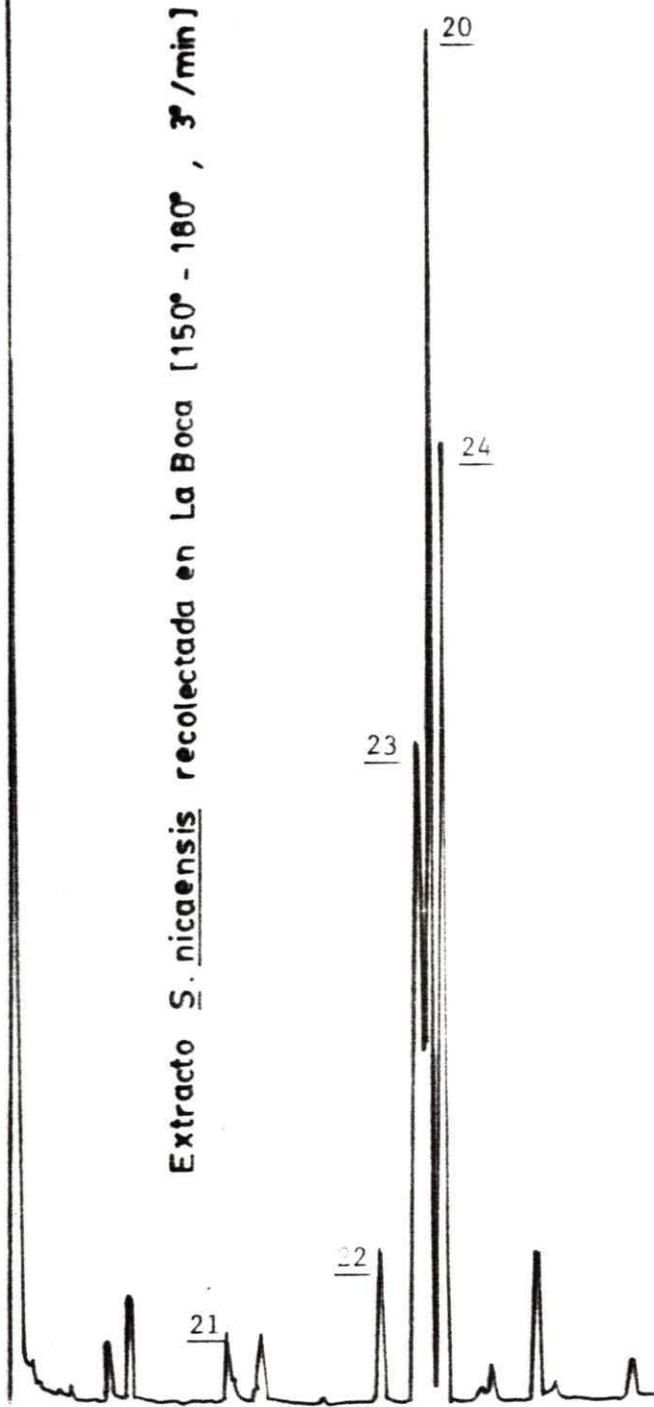


Espectro N° 8



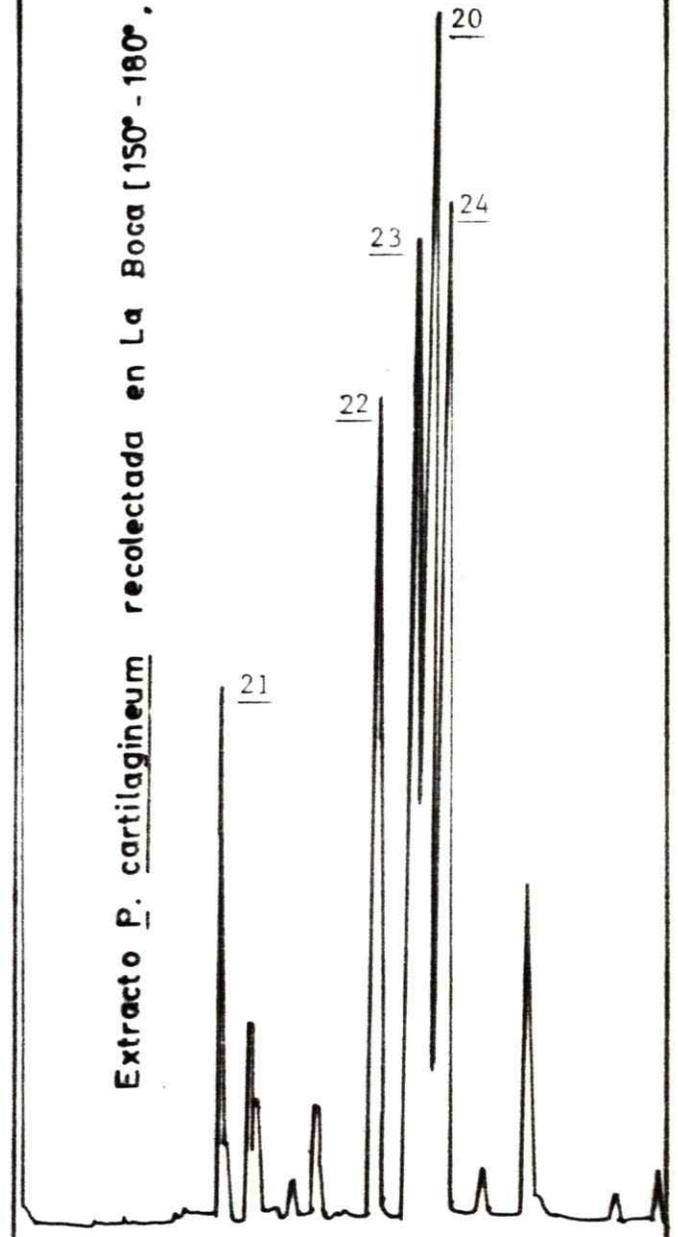
Espectro N° 9

Extracto S. nicaensis recolectada en La Boca [150° - 180° , 3'/min]



Cromatograma N° 1

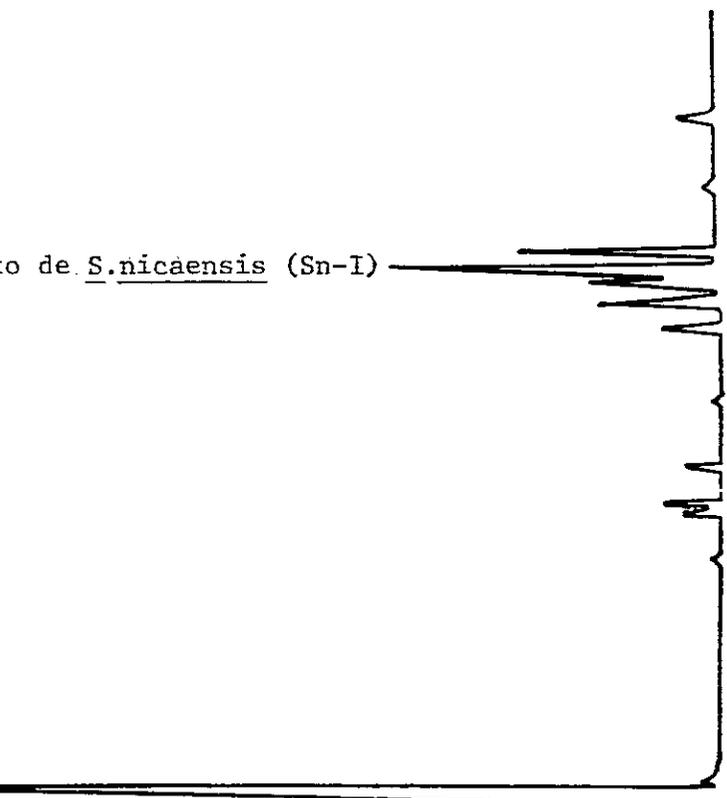
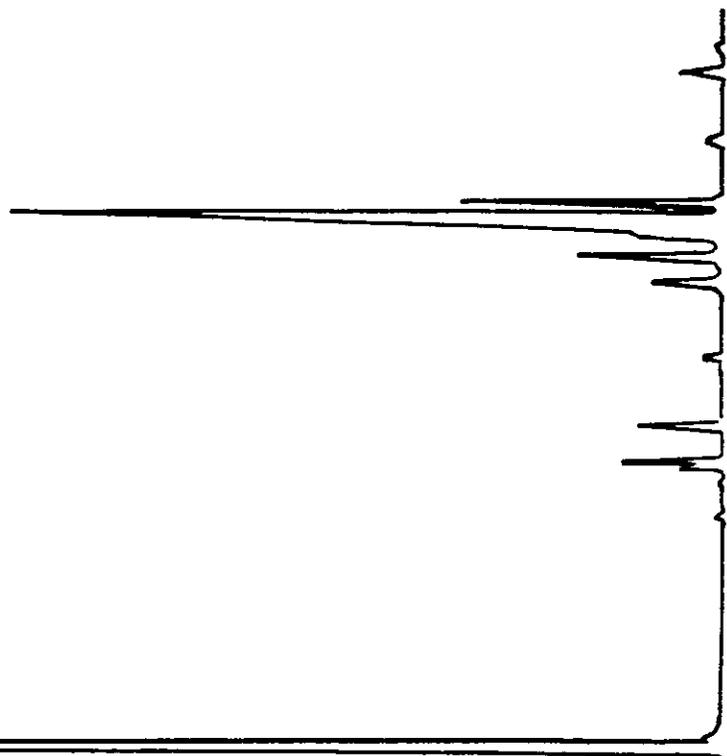
Extracto P. cartilagineum recolectada en La Boca [150° - 180° , 3'/min]



Cromatograma N° 2

Sn-1 + Patrón (PLB-I)

Producto de S.nicaensis (Sn-I)



Aplysia sp.

Del estudio del extracto acetónico de la Aplysia sp. se aislaron y se caracterizaron dos sesquiterpenos halogenados,

El estudio químico de los moluscos marinos conocidos como liebres de mar (Opisthobranchios, Aplysidae), ha revelado que estos animales concentran en su glándula digestiva los metabolitos secundarios producidos por varias algas marinas, las cuales forman parte de su dieta alimentaria. Estudios de su comida y observaciones en el medio han mostrado que las liebres de mar tienen marcada preferencia específica por las algas marinas de los géneros Laurencia, Plocamium, Dictyota y Lyngbya (33), las que producen grandes cantidades de metabolitos secundarios en forma de terpenoides, terpenoides funcionalizados, compuestos halogenados y productos derivados del metabolismo del acetato. En la Tabla 2 se muestra un resumen de compuestos aislados desde estos animales indicando el alga en el cual se han informado.

Se piensa que la concentración de los compuestos por las Aplysias tiene relación con algún mecanismo de defensa. Se cree que estos metabolitos son liberados a voluntad, aunque el mecanismo de liberación no ha sido precisamente definido, así la Aplysia expulsaría un fluido con estas sustancias como mecanismo de defensa cuando se ve amenazada por depredadores.

Identificación de los compuestos aisladosPacifenol 25

El espectro de masas de alta resolución muestra un ión molecular a 426, 428 y 430 m/z correspondiente al M^+ , M^+2 y M^+4 , con fórmula global $C_{15}H_{21}ClBr_2O_2$, lo que nos permite deducir que el compuesto presenta cuatro insaturaciones.

El análisis del espectro de RMN- ^{13}C permite establecer que hay dos carbonos olefínicos en 122 y 124 ppm, ambos dobletes. Se observan unos cuatro cuartetos en 14, 15, 16 y 23 ppm que deben corresponder a grupos metilos. En 42, 44, 58 y 90 ppm se distinguen cuatro singletes que deben corresponder a carbonos cuaternarios. En 24 y 37 ppm hay

dos tripletes que deben corresponder a carbonos metilénicos. Finalmente observamos en 49 y 65 dos dobletes correspondientes a metilos; en el espectro N° 11 se muestran las asignaciones.

El análisis del espectro de RMN-¹H confirma la presencia de protones olefínicos, por la señal doblete a 6,05 ppm la cual integra para dos protones; por lo tanto, se puede deducir que las restantes insaturaciones deben corresponder a ciclaciones. Se observan cuatro singletes a 1,08, 1,27, 1,48 y 1,76 ppm, dos de las cuales son geminales entre sí, el tercero geminal a oxígeno y el cuarto geminal a cloro. La señal a 4,66 ppm, doble doblete, sugiere la presencia de un protón geminal a halógeno, en este caso bromo. En 2,70 ppm se observa un segundo doblete assignable a un protón geminal a oxígeno. Finalmente la señal múltiple a 2,30 ppm es assignable a cuatro protones metilénicos. El espectro N° 10 muestra las correspondientes asignaciones.

La confrontación de nuestros datos espectroscópicos con los informados en literatura para compuestos sesquiterpénicos nos permiten deducir que estamos frente a un esqueleto chamigrano y que nuestros datos se corresponden con los informados para pacifenol, compuesto anteriormente aislado desde el alga roja Laurencia pacifica (28) y Aplysia californica (27). Por lo tanto el compuesto AP-II debe ser pacifenol.

Desoxiprepacifenol 26

El espectro de masas de alta resolución muestra señales a 410, 412 y 414 m/z correspondientes al M⁺, M⁺+2 y M⁺+4. Para el M⁺ se determinó que la fórmula global es C₁₅H₂₁OBr₂Cl.

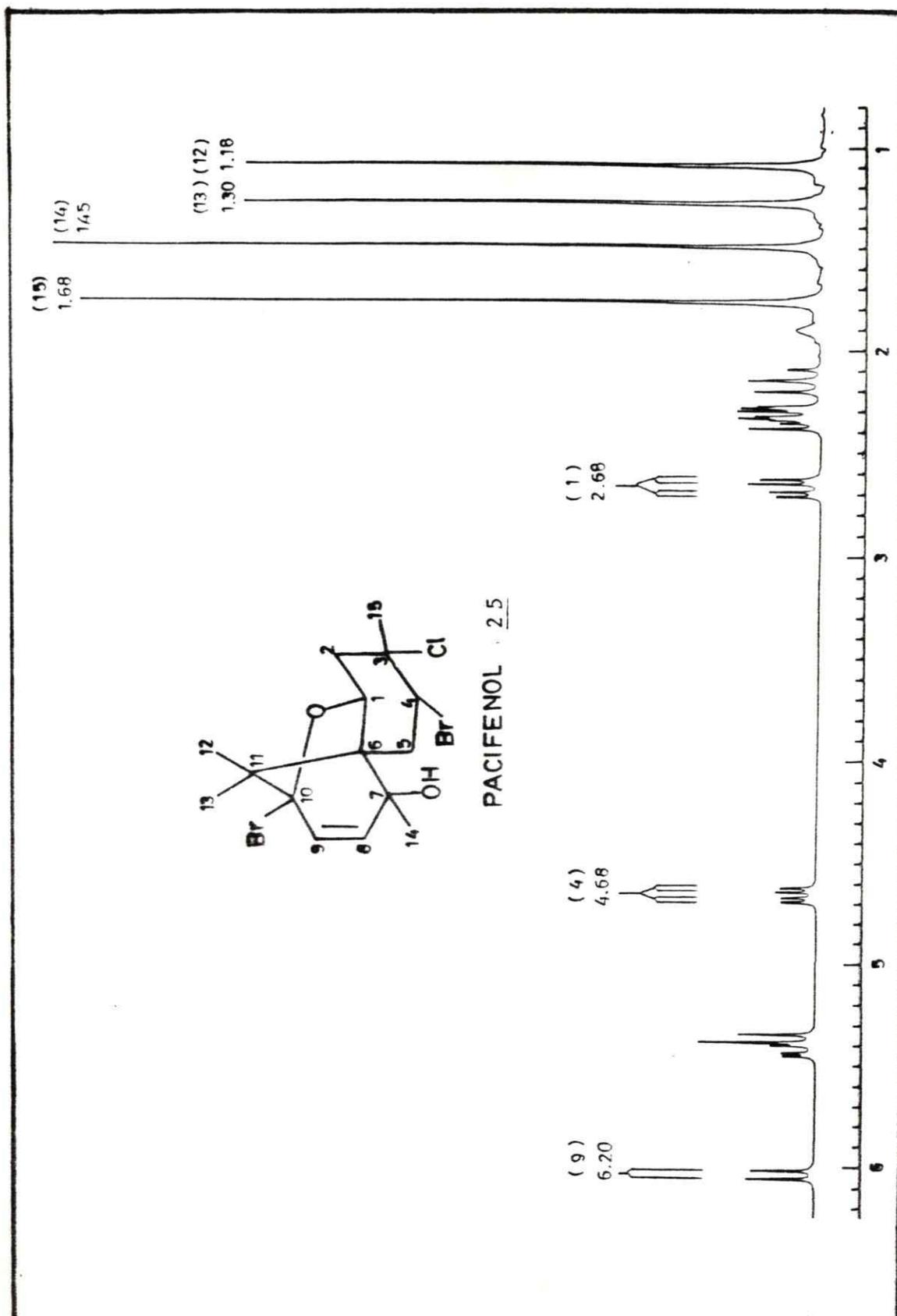
El espectro de RMN-¹H muestra señales singletes en 1,17, 1,20, 1,70 y 1,76 ppm asignables a cuatro grupos metilos. Un multiplete a 2,4 ppm que integra para cuatro protones metilénicos, se observa una señal doblete en 2,95 ppm assignable a un protón geminal a oxígeno (epóxido). En 4,68 ppm se observa un doblete correspondiente a un protón geminal a bromo y finalmente un doblete a 6,30 ppm correspondiente a un protón olefínico. En el espectro N° 12 se muestran

pondiente a un protón olefínico. En el espectro N° 12 se muestran las correspondientes asignaciones.

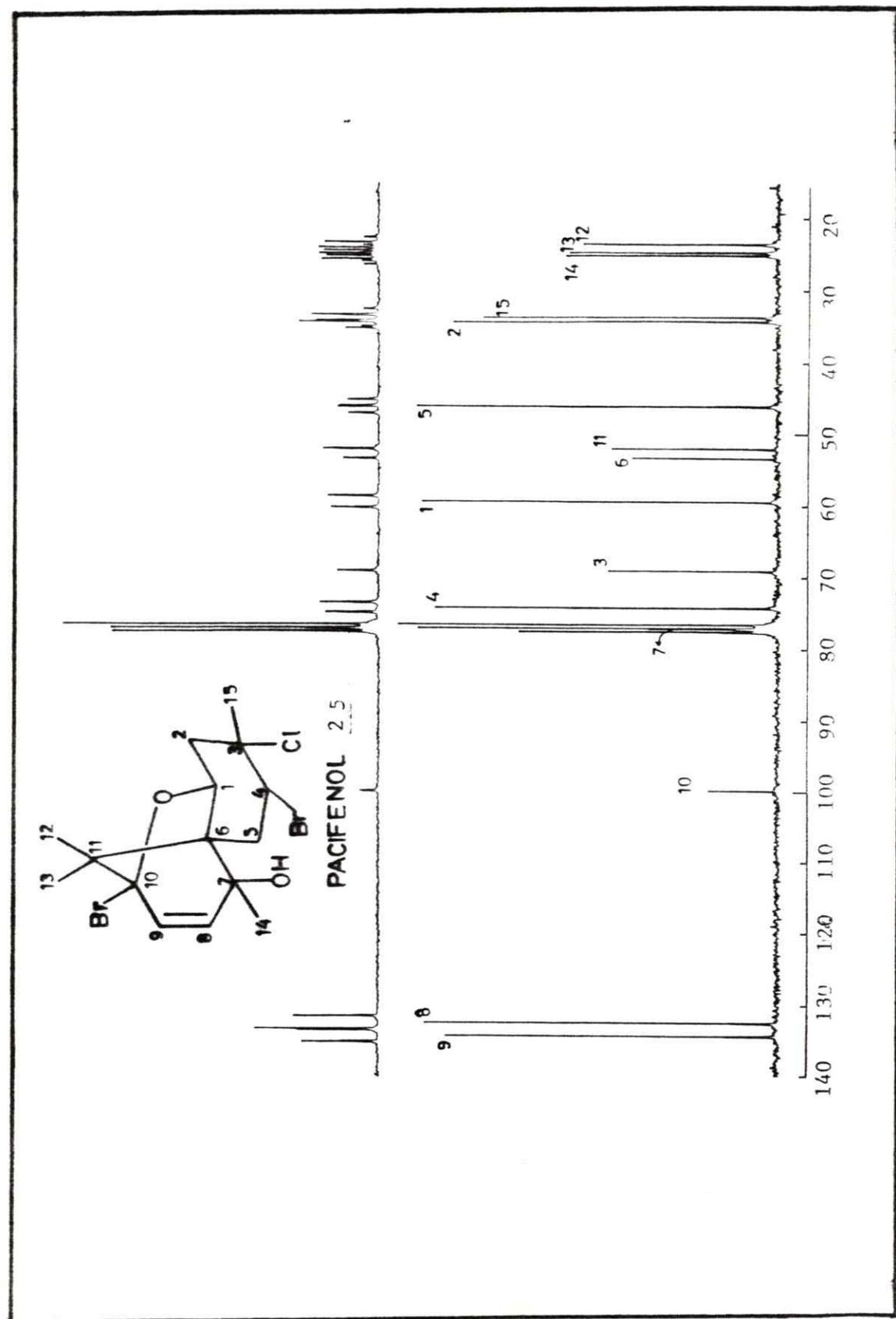
El análisis del espectro de RMN-¹³C permite establecer la presencia de dos carbonos olefínicos en 134,7 (s) y 124,2 (d) ppm. Se observan cuatro señales en 23,5, 23,9, 24,3 y 24,8 ppm que deben corresponder a grupos metilos. En 25,9, 39,0 y 39,6 ppm se distinguen tres señales que deben corresponder a carbonos secundarios. En 56,3 y 63,1 ppm hay dos señales correspondientes a carbonos metílicos. Finalmente observamos en 46,0, 49,0 y 71,0 ppm señales correspondientes a carbonos cuaternarios. En el espectro N° 13 se muestran las asignaciones correspondientes.

Al analizar la información espectroscópica de este compuesto con el anteriormente descrito, se puede deducir que estamos frente a un compuesto estrechamente relacionado con el anterior, es decir un sesquiterpeno halogenado con esqueleto tipo chamigrano. La confrontación de nuestros datos con los de la literatura científica, nos permiten deducir que el compuesto AP-I corresponde al epóxido 26, compuesto previamente aislado desde Aplysia californica (27). El punto de fusión de literatura es 125 °C, el punto de fusión de nuestro compuesto es 123-125 °C

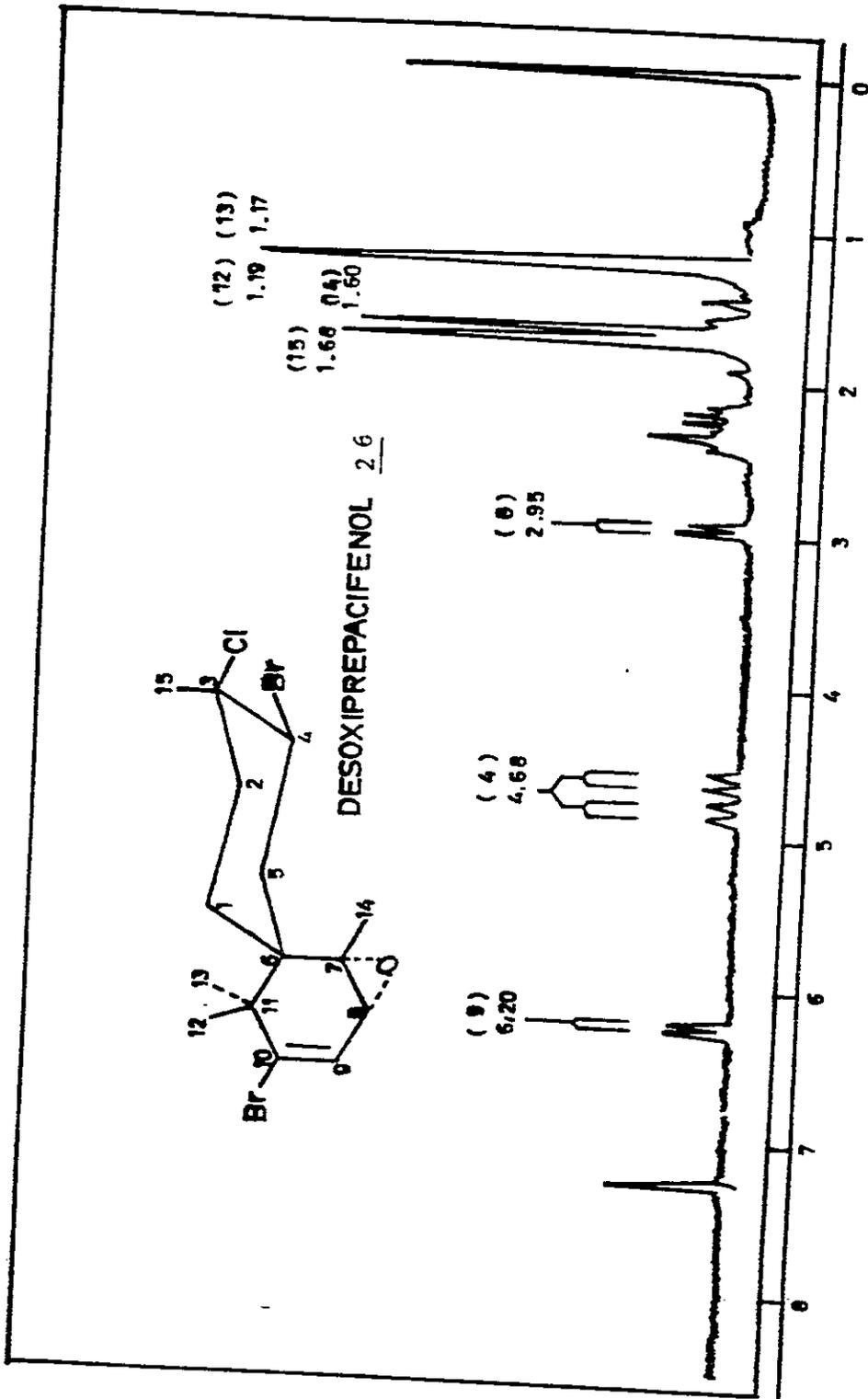
Lo que en esta Tesis se informa corresponde al estudio preliminar de la glándula digestiva de Aplysia sp. Sería interesante abordar un nuevo estudio de este animal en conjunto con las algas que forman parte de su dieta alimentaria, lo que sería de bastante interés debido a la posible interacción animal-alga que podría existir, al igual que las informadas en la literatura.



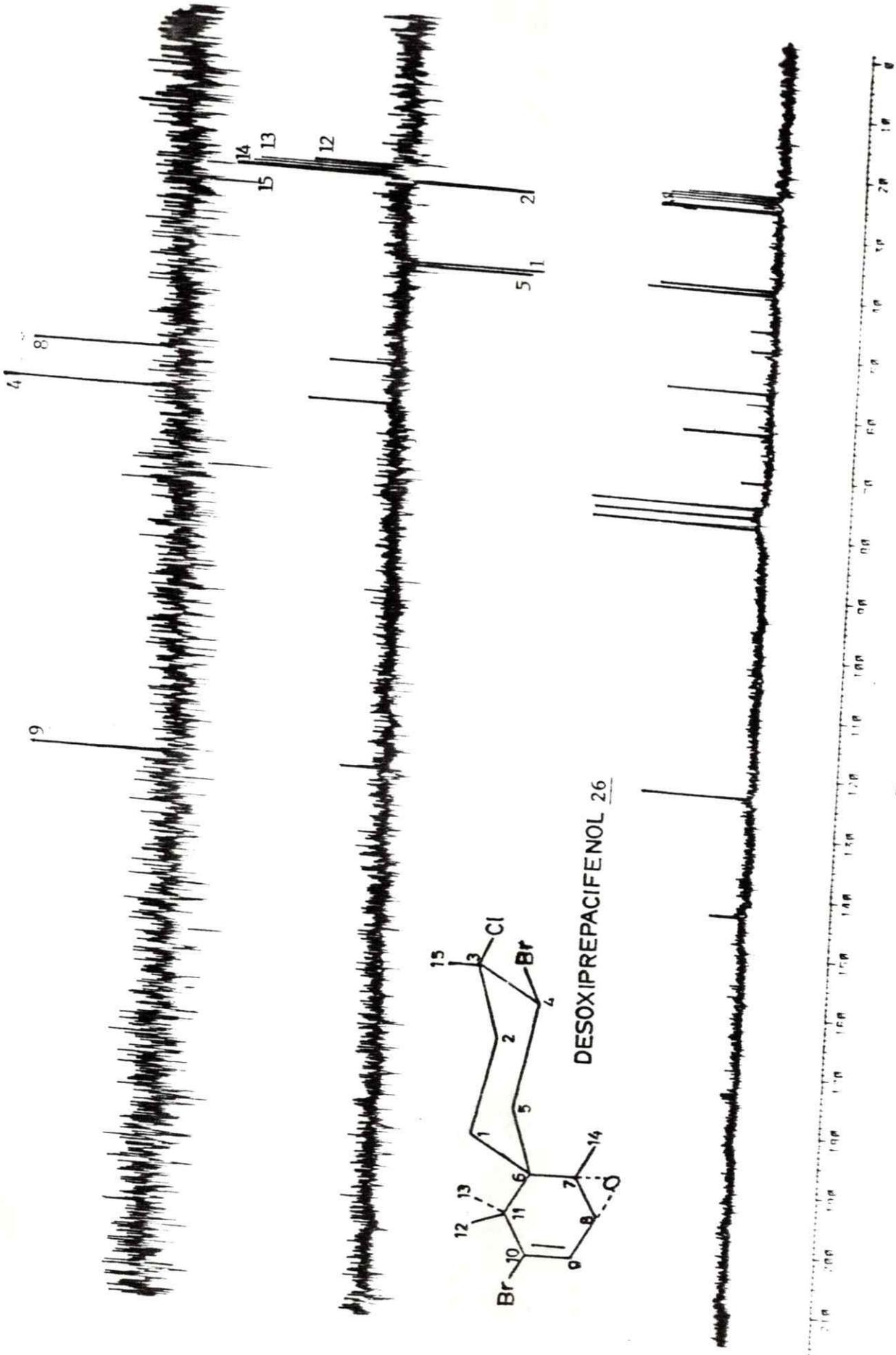
Espectro N° 10



Espectro N° 11



Espectro N° 12



Espectro N° 13

CONCLUSIONES

Se realizó el estudio químico del extracto acetónico de dos algas: Glossophora kuntii (alga parda) y Shottera nicaensis (alga roja) y del molusco Aplysia sp., aislándose e identificándose los siguientes compuestos:

a) Glossophora kuntii

Cinco diterpenos

- Pachydictiol-A 11
- Dictyol-E 12
- Dictyol-D 13
- Dictyotriol-A monoacetato 14
- Dictyotriol-A 15

b) Shottera nicaensis

Cinco monoterpenos halogenados

- (1S*,2S*,4R*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ciclohexano 20
- (1S*,2S*,4S*)-1-E-clorovinil-2-metil-2,4-dicloro-5-metilen ciclohexano 21
- (1S*,2S*,4S*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ciclohexano 22
- (1S*,2R*,4R*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-1,4,5-tricloro ciclohexano 23
- (1R*,2R*,4R*,5S*)-1-E-clorovinil-1,5-dimetil-2,4,5-tricloro ciclohexano 24

c) Aplysia sp.

Dos sesquiterpenos halogenados

- Pacífenol 25
- Desoxiprepacífenol 26

De los diterpenos informados, 14 y 15 no tienen antecedentes en literatura y se informan como nuevos.

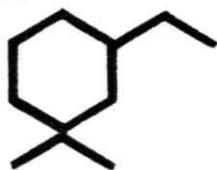
La elucidación estructural de todos los compuestos se realizó mediante el análisis combinado de sus datos espectroscópicos, donde

fué posible, se comparó con muestra auténtica. La identificación final de casi todos los compuestos se basó en la comparación de sus propiedades espectroscópicas con las informadas en la literatura.

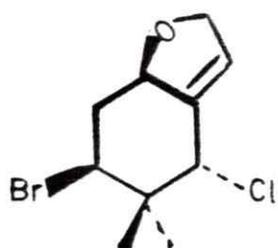
Se realizó la identificación de cinco monoterpenos halogenados presentes en Plocamium cartilagineum y Shottera nicaensis. Se identificaron mediante técnicas espectroscópicas y se relacionaron con otros conocidos por cromatografía de gases, lo que permitió proponer en la literatura científica, una nueva interacción planta-planta.

Se informa el estudio químico preliminar de los constituyentes presentes en la glándula digestiva de Aplysia sp. Los resultados obtenidos demuestran que sería de interés abordar un nuevo estudio de este animal.

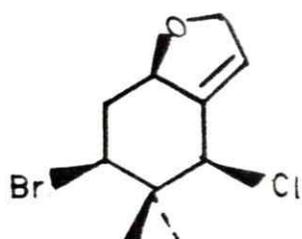
TABLA 1. Monoterpenos marinos



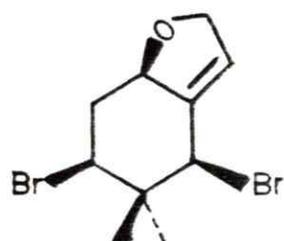
Esqueleto - Tipo - B



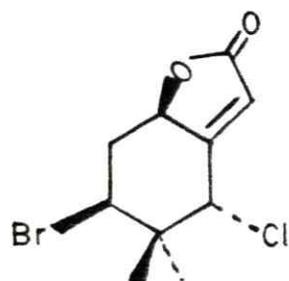
Chondrocole-A
C.hornemanni (5)
O.crockeri (6)



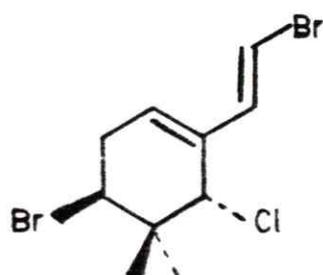
Chondrocole-B
C.hornemanni (5)



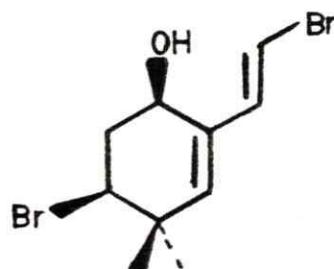
Chondrocole-C
O.crockeri (6)



Chondrocolactone
C.hornemanni (7)

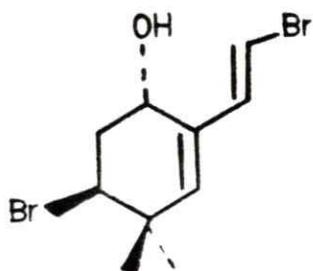


O.crockeri (6)

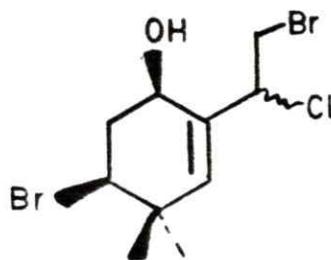


O.crockeri (6)

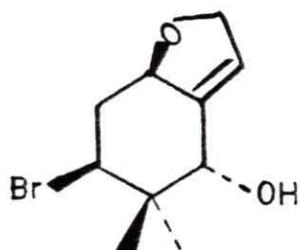
Cont. Tabla 1.



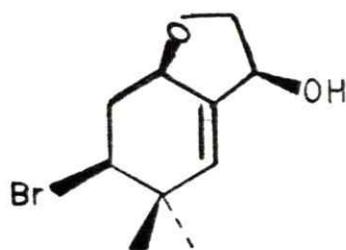
O.crockeri (6)



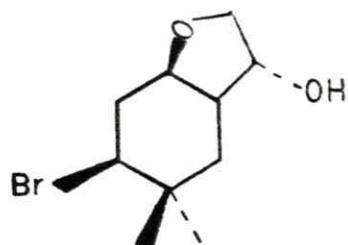
O.crockeri (6)



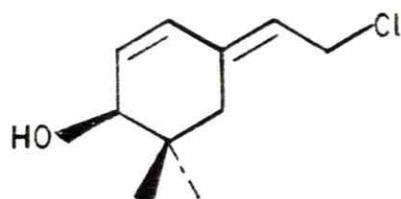
O.crockeri (6)



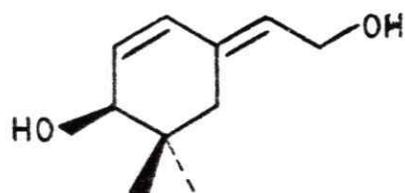
O.crockeri (6)



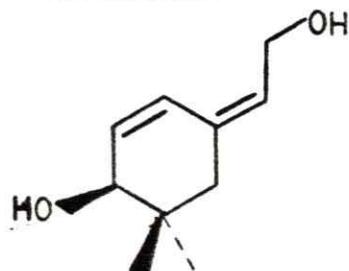
O.crockeri (6)



O.crockeri (6)

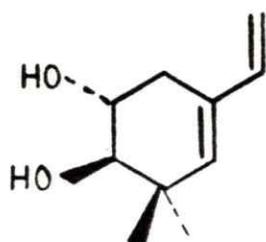


O.crockeri (6)

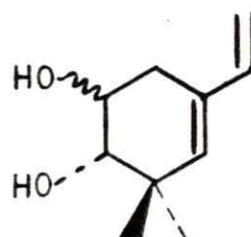


O.crockeri (6)

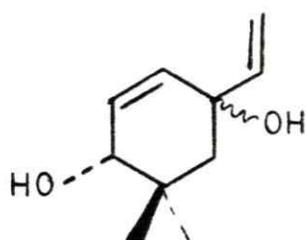
Cont. Tabla 1.



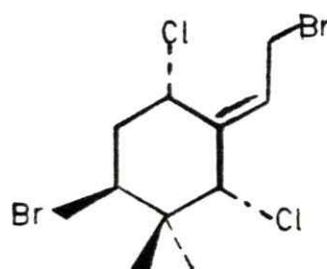
O. crockeri (6)



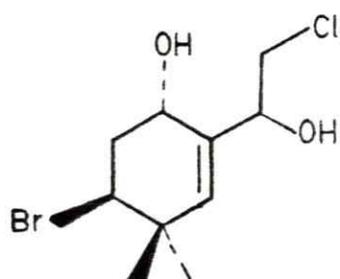
O. crockeri (6)



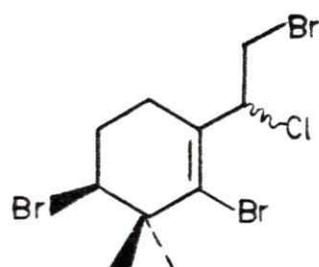
O. crockeri (6)



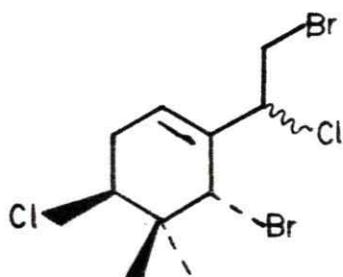
Ochtodene
O. secundiramea (8)



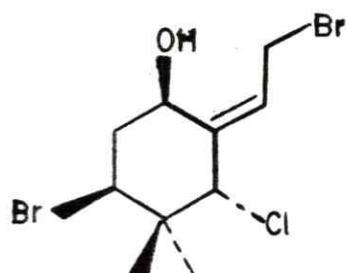
Ochtodiol
O. secundiramea (8)



O. secundiramea (9)



C. hornemanni (10)

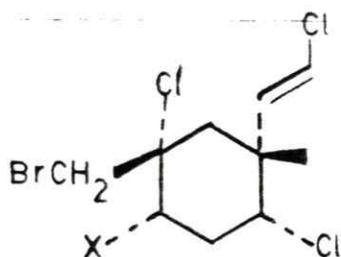


O. secundiramea (9)

Cont. Tabla 1.



Esqueleto - Tipo - C

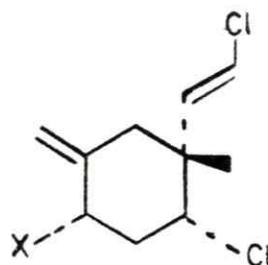


X = Cl violaceno

P.violaceum (11)

X = Br

P.cartilagineum (12)

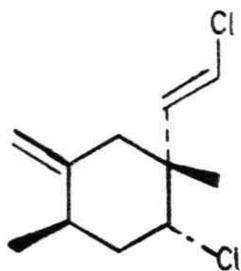


X = Cl plocameno-D

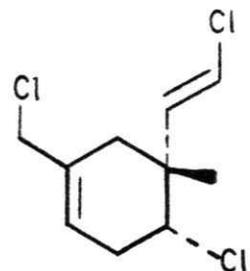
P.violaceum (13)

X = Br plocameno-D'

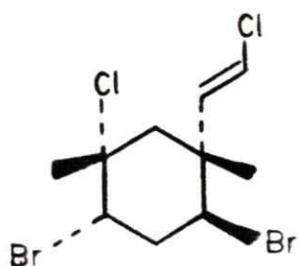
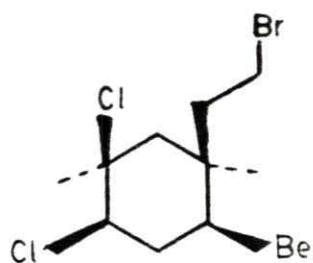
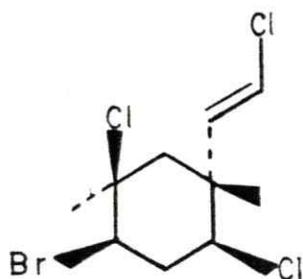
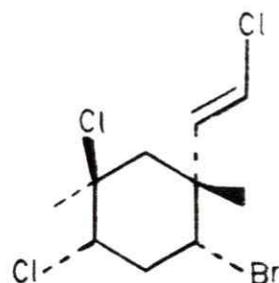
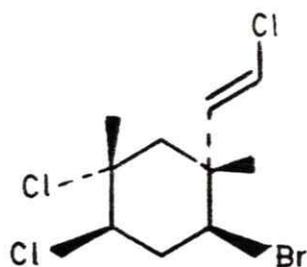
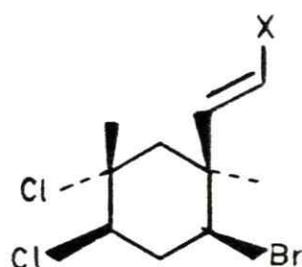
P.cartilagineum (12)



P.cartilagineum (14)



P.cartilagineum (14)

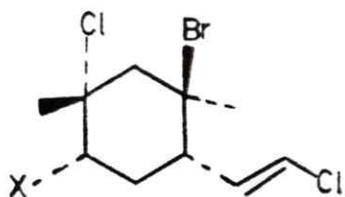
P. cartilagineum (14)P. violaceum (15)P. cartilagineum (16)P. mentensii (17,18)P. meutensii (18)P. mertensii (19)

X = Cl C. ocrinine (16)

X = Br
P. coccineum (20)

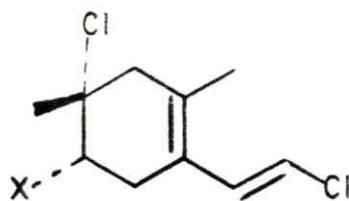


Esqueleto -Tipo -D



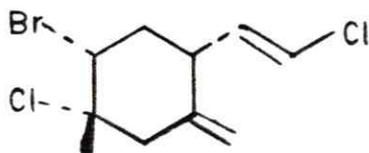
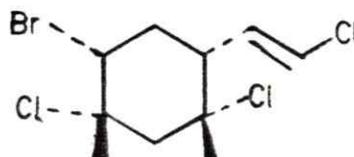
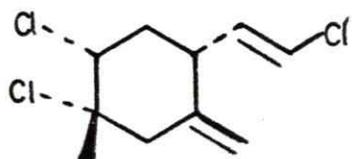
X = Br

X = Cl | Plocameno-C |

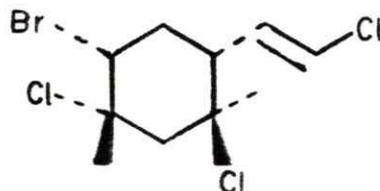
P.cartilagineum (14)

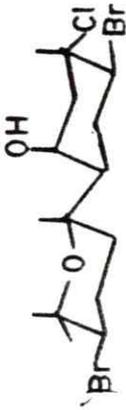
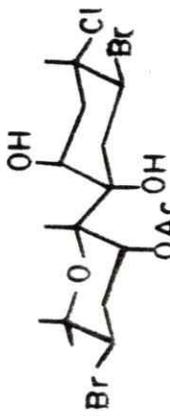
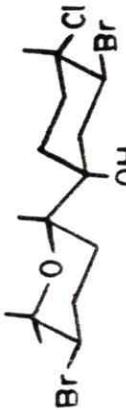
X = Br

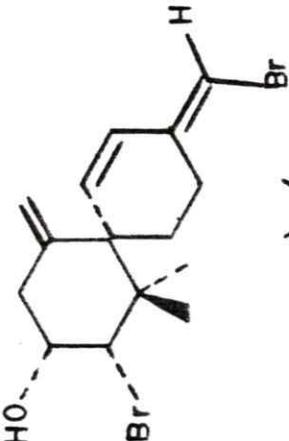
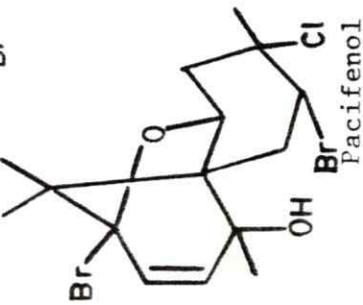
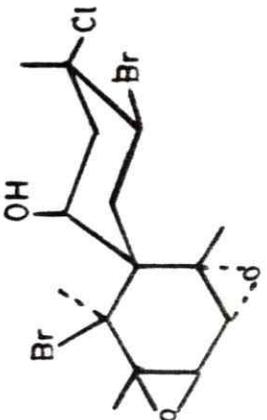
X = Cl | Plocameno-B |

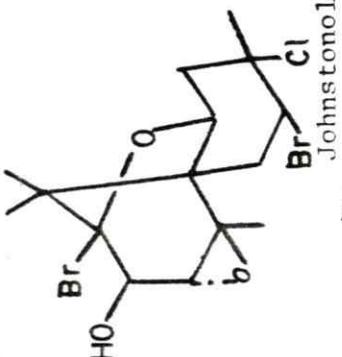
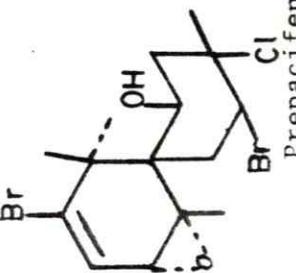
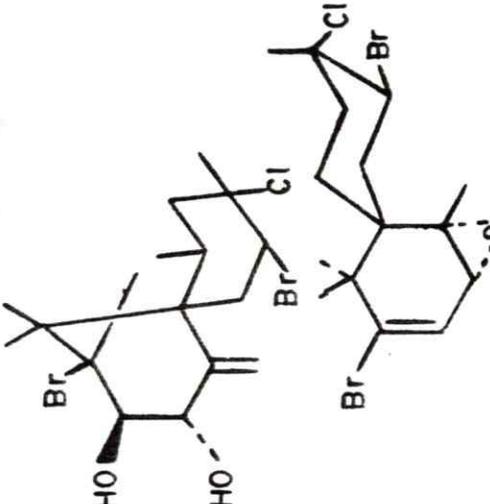
P.violaceum (15)P.cartilagineum (14)P.mertensii

Plocameno-E ()

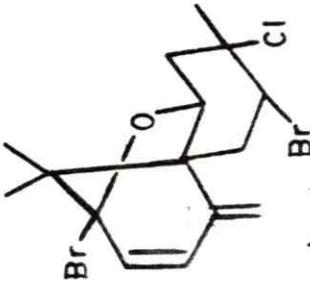
P.violaceum (13)P.mertensii (18)

Especie de <u>Aplysia</u> y lugar de recolección	Compuesto aislado, ordenado según esqueleto	Fuente vegetal de donde proviene el compuesto	Referencia
<p><u>Aplysia dactylomela</u> Bimini, Las Bahamas</p>	<p><u>ESQUELETO BISABOLANO</u></p>  <p>deodactol</p>  <p>dihidroxi-deodactol monoacetato</p>  <p>Isodeodactol</p>	<p><u>Laurencia caespitosa</u></p>	<p>25, 26</p> <p>25</p> <p>26</p>

<p><u>Aplysia sp.</u> Puerto Rico</p>	<p><u>ESQUELETO CHAMIGRANO</u></p> 	<p><u>Laurencia sp.</u></p>	<p>27</p>
<p><u>Aplysia californica</u> La Jolla, California, USA.</p>	 <p>Pacifenol</p>	<p><u>Laurencia pacifica</u></p>	<p>28</p>
	 <p>Prepacifenol epóxido</p>	<p><u>Laurencia johnstonii</u></p>	<p>27</p>

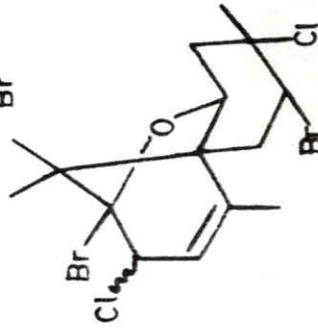
27	<u>Laurencia johntonii</u>	 <p>Johnstonol</p>	
28	<u>Laurencia pacifica</u>	 <p>Prepacifenol</p>	
27	<u>Laurencia sp.</u>		
27		 <p>Desoxiprepacifenol</p>	
27			

29

Laurencia pacifica

30

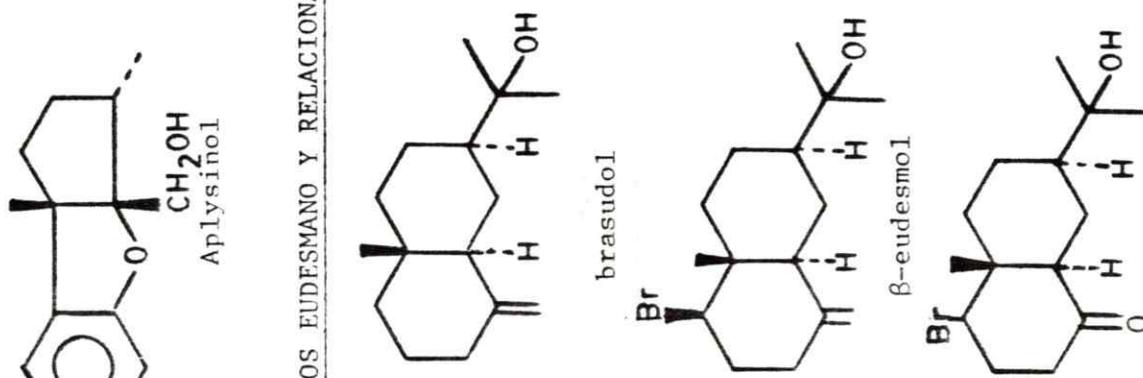
30

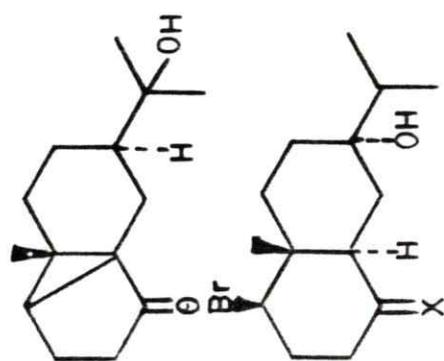
Laurencia okamuraiLaurencia deciduaESQUELETO LAURANO

R = Br aplysin

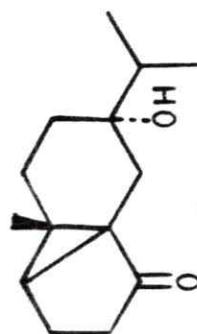
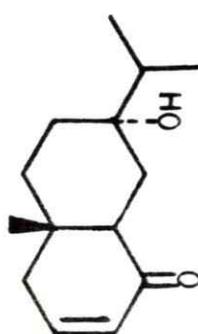
R = H debromoaplysin

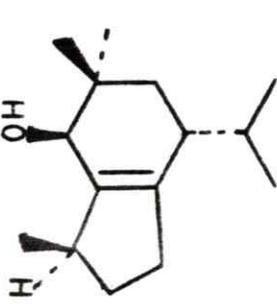
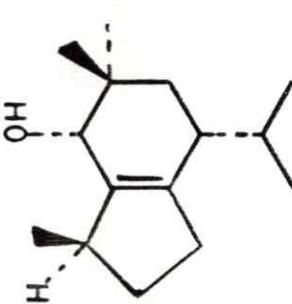
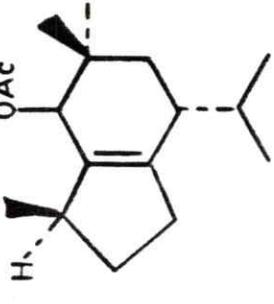
Aplysia kurodai

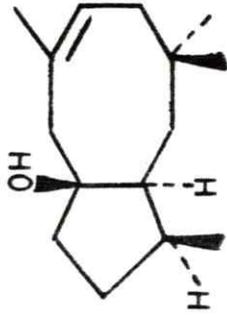
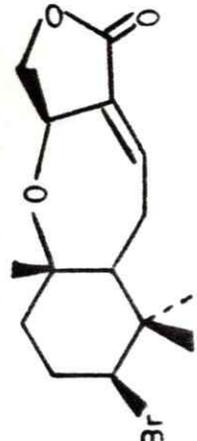
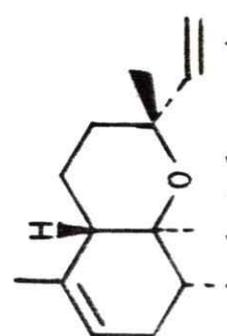
<p><u>Aplysia brasiliana</u></p>	<p>ESQUELETOS EUDESMANO Y RELACIONADOS</p>  <p>The image shows four chemical structures. The first is Aplysinol, a bicyclic structure with a bromine atom on a benzene ring fused to a cyclohexane ring, which is further fused to a five-membered ring containing a hydroxyl group and a hydroxymethyl group. The second structure is the eudesman skeleton, a tricyclic system with a methyl group, a hydroxyl group, and a hydrogen atom at the bridgehead. The third is brasudol, which has a bromine atom at the bridgehead. The fourth is beta-eudesmol, which has a bromine atom at the bridgehead and a carbonyl group at the other bridgehead position.</p>	<p><u>Laurencia okamurai</u> <u>Laurencia decidua</u></p>	30
		<p><u>Laurencia sp.</u></p>	31
		<p><u>Chondria enicophylla</u></p>	31

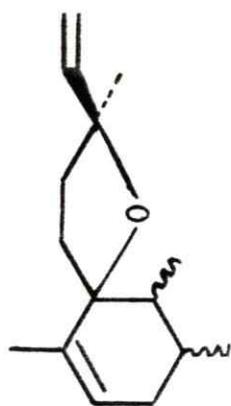
Chondria enicophyllaChondria enicophyllaChondria enicophyllaChondria enicophyllaChondria enicophyllaX = CH₂ isobrasudol

X = O

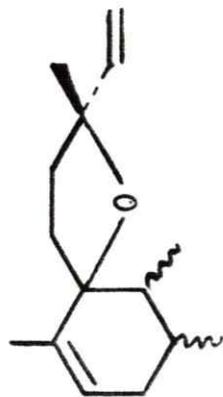
Aplysia brasiliana

<p><u>Aplysia brasiliana</u> Texas, USA.</p>	<p><u>ESQUELETO BRASILIANO</u></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Brasilienol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Epibrasilienol</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Brasilienol acetato</p> </div> </div>	<p><u>Laurencia obtusa</u></p>	<p>32 33</p>
		<p><u>Laurencia obtusa</u></p>	<p>33</p>
		<p><u>Laurencia obtusa</u></p>	<p>33</p>

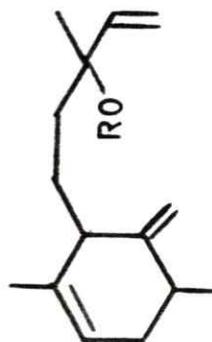
<p><u>Aplysia dactylomela</u> El Caribe</p>	<p><u>ESQUELETO POITANO</u></p>  <p>Dactyol</p>	<p><u>Laurencia poilei</u></p>	34
<p><u>Aplysia angasi</u> Australia</p>	<p><u>ESQUELETO MONOCICLOFARNESANO</u></p>  <p>Aplysistatin</p>	<p><u>Laurencia cf. palisada</u> <u>Yamada</u></p>	35
<p><u>Aplysia dactylomela</u></p>	<p><u>ESQUELETO DACTYLOXANO</u></p>  <p>dactyloxene-A</p>		36

Aplysia dactylomela

dactyloxene-B



dactyloxene-C



R = H dactylenol

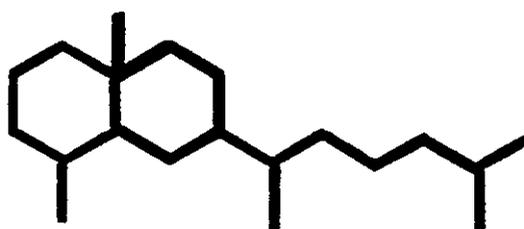
R = Ac dactylenol-acetato

36

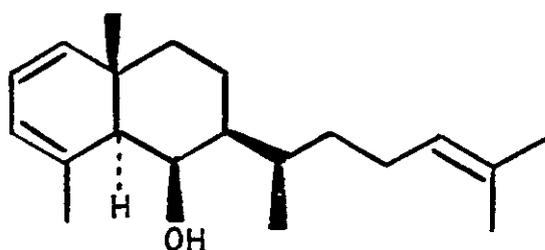
36

36

Tabla 4. Diterpenos marinos bicarbocíclicos

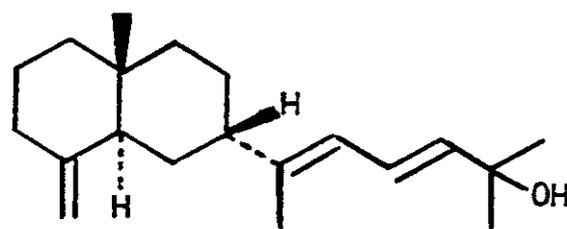


DICTYANO

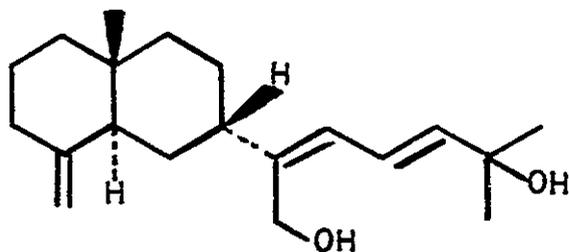


dictyolene

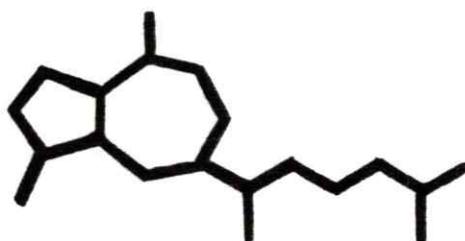
alga (D.acutiloba) (38)



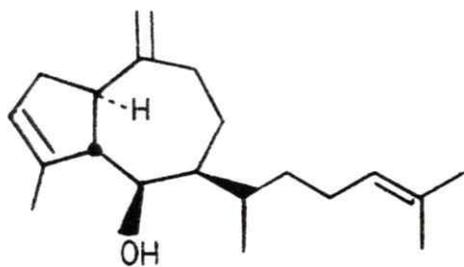
coral (L.hedleyi) (39)



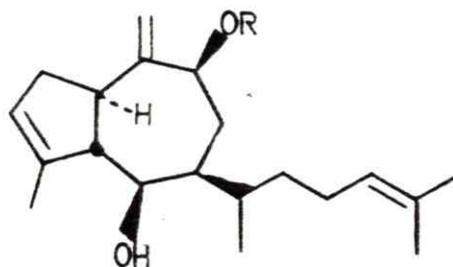
coral (L.hedleyi) (39)



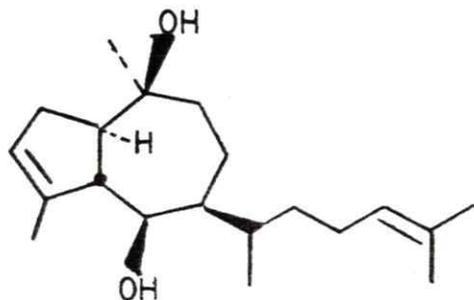
PERHIDROAZULENO



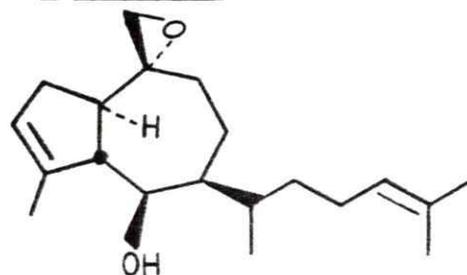
pachidictyol-A
 alga (*P.coriaceum*) (40)
aplysia vaccaria (41)
 alga (*D.dichotoma*) (42)



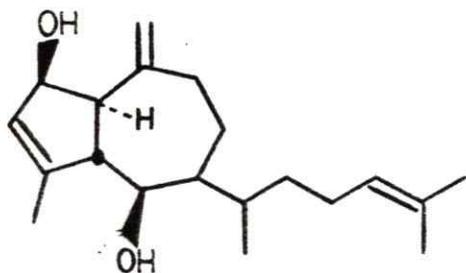
R = H dictyol-B
 alga (*D.dichotoma*) (43)
aplysia depilans (44)
R = Ac dictyol-B acetato
 alga (*D.dichotoma*) (45)



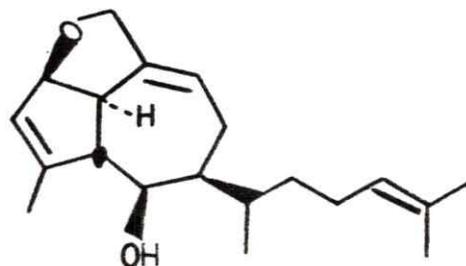
dictyol-C
 alga (*D.dichotoma*) (46)



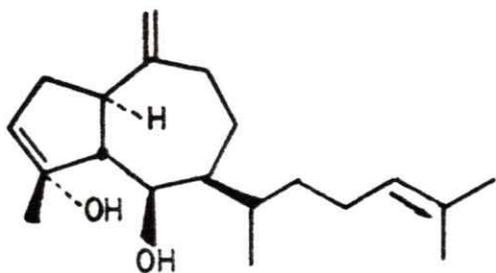
pachidictyol-A epóxido
 alga (*D.flagelata*) (47)



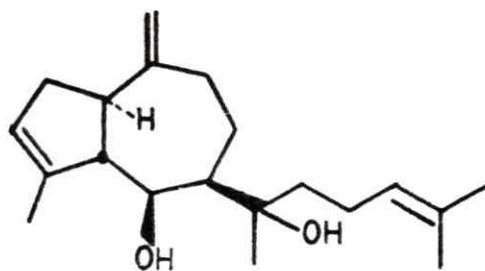
dictyol-D
 alga (*D.dichotoma*) (46)



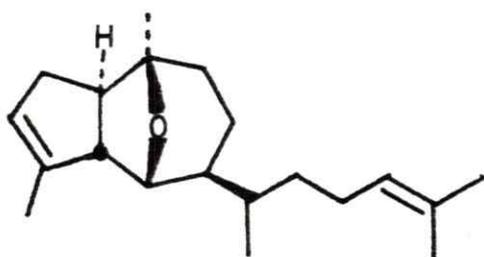
dictyol
 alga (*D.dichotoma*) (43)
aplysia (depilans) (44)



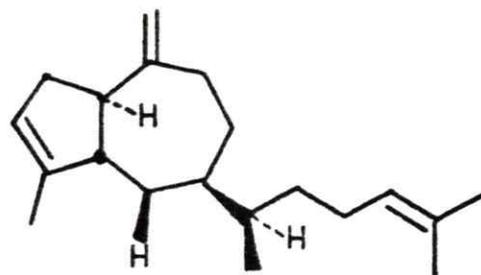
dictotadiol
alga (D.dichotoma) (45)



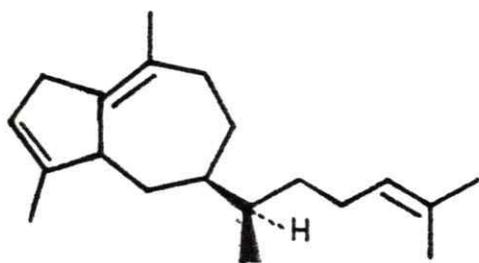
dictyol-E
alga (Dilophus ligulatus) (48)



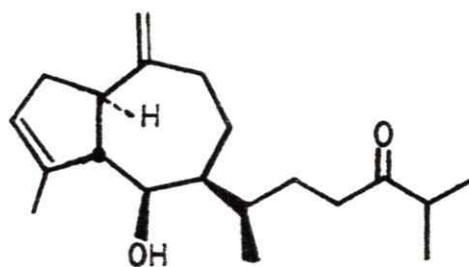
dictyoxido
alga (Dilophus ligulatus) (48)



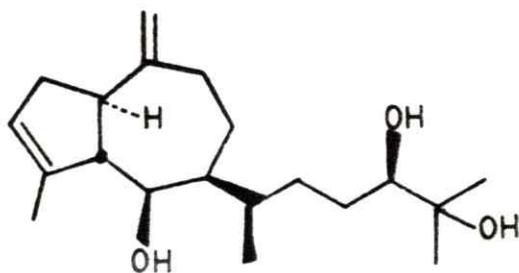
dictyone
alga (D.dichotoma) (49)



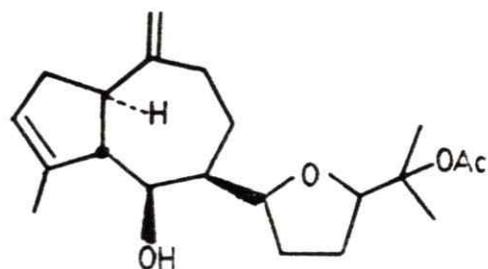
dictyone
alga (D.dichotoma) (49)



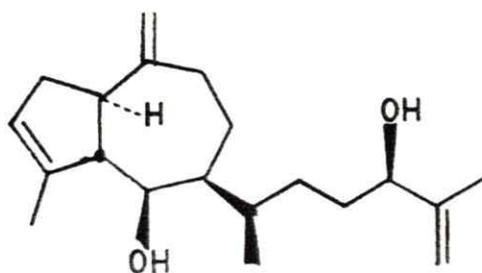
dictyone
alga (D.dichotoma) (49)



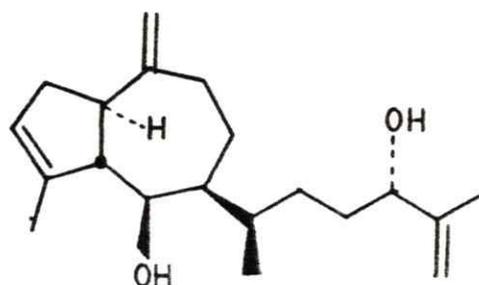
dictytriol
alga (*D.dichotoma*) (49)



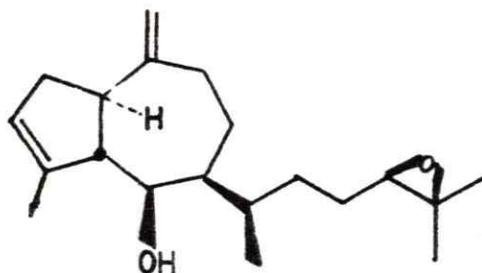
dictyol-H
alga (*D.dentata*) (50)



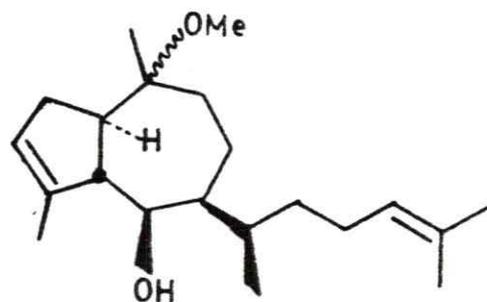
dictyol-F
alga (*D.dichotoma*) (51)



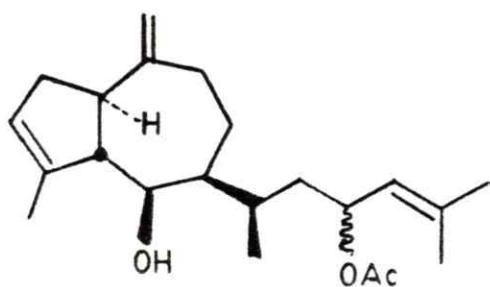
epidictyol-F
alga (*D.dichotoma*) (51)



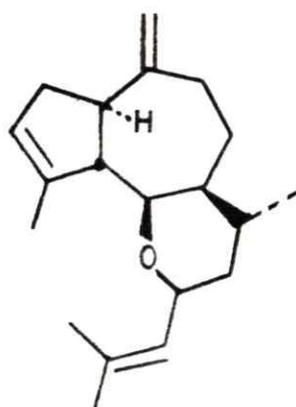
epoxydictyol-A
alga (*D.dichotoma*) (51)



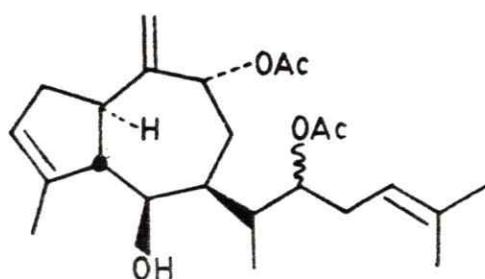
metoxydictydieno
alga (*D.dichotoma*) (51)



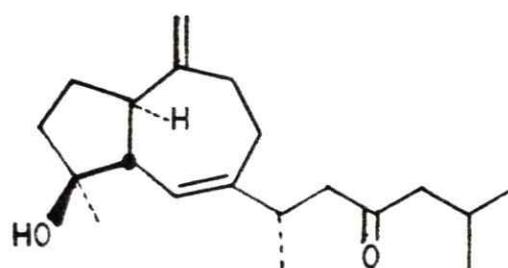
dictyol-G-acetato
alga (*D.binghamiae*) (52)



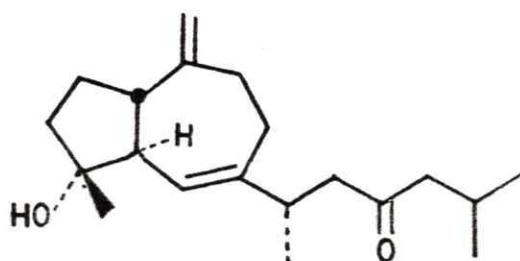
dictyoxido-A
alga (*D.binghamiae*) (52)



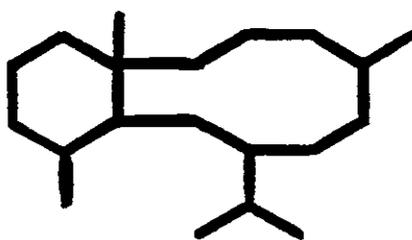
dictyotriol-A-diacetato
alga (*D.binghamiae*) (52)



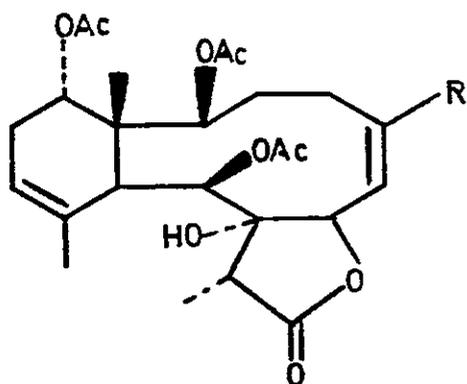
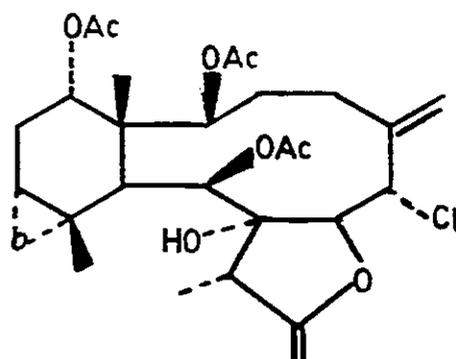
xeniolone
coral (*Xenia* sp.) (53)



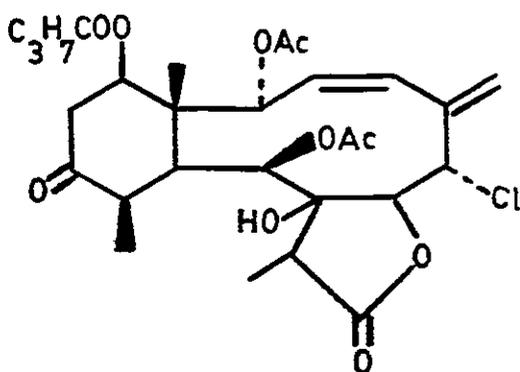
isoxeniolone
coral (*Xenia* sp.) (53)



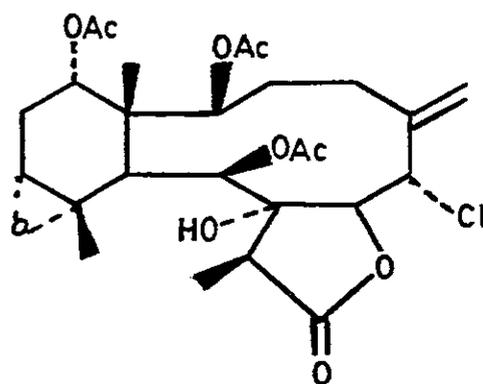
BRIERANO

R = CH₂OHR = COOCH₃R = CH₃gorgonea (*Stylatula* sp.) (54)

stylatilide

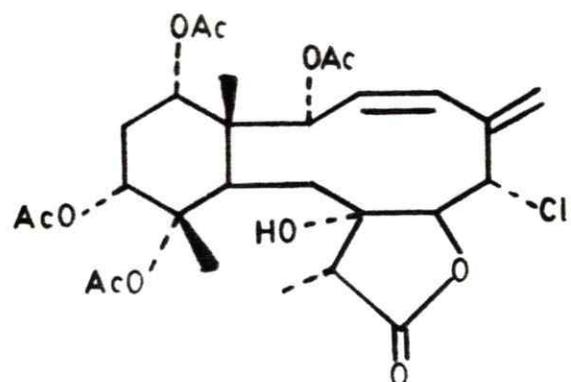
gorgonia (*Stylatula* sp.) (55)

ptilosarcone

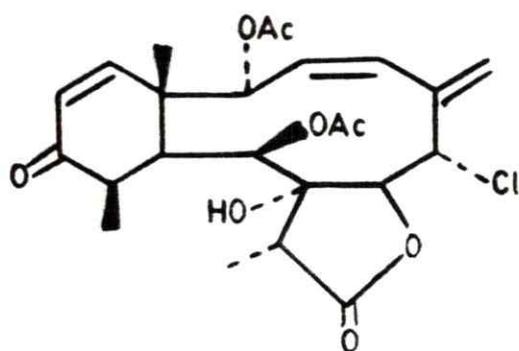
coral (*P. guarneyi*) (56)

17-epi-stylatulide

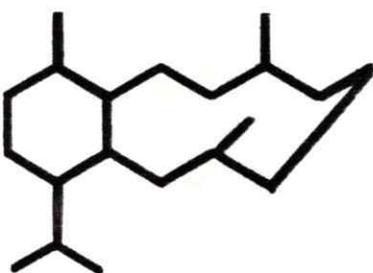
gorgonia (*Stylatula* sp.) (56)



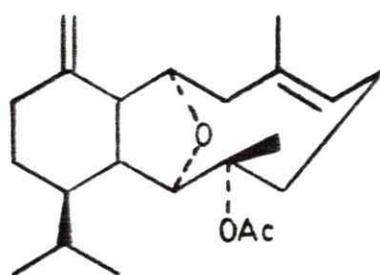
briarein-A
gorgonia (*B.asbestylum*) (55)



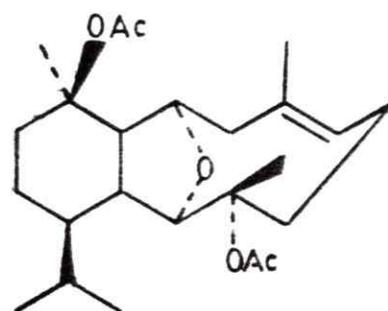
ptilosarcenone
coral (*P.guarneyi*) (56)



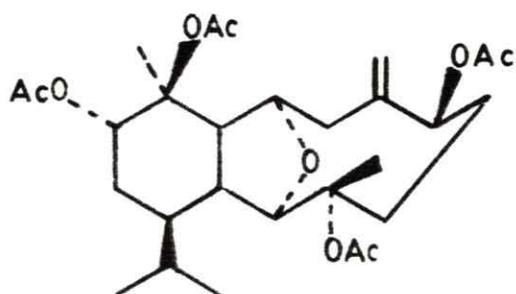
EUNICELLANO



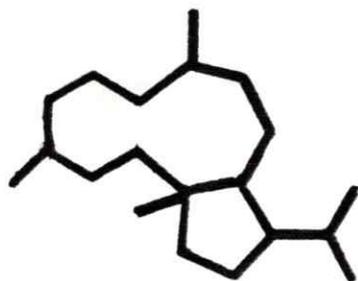
cladiellin
coral (*Cladiella* sp.) (57)



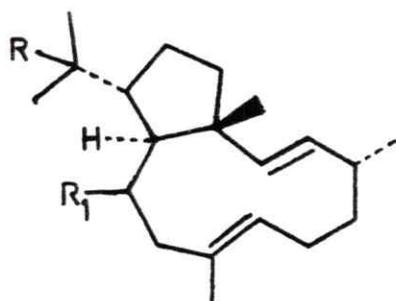
acetoxycladiellin
coral (*Cladiella* sp.) (57)



eunicellin
gorgonia (*E.stricta*) (58)



DOLLABELLANO



$R = H, R_1 = OH$

$R = OH, R_1 = OAc$

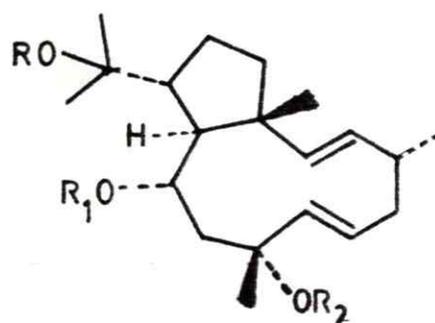
$R = R_1 = OAc$

$R = R_1 = OH$

alga (*D.dichotoma*) (59)

alga (*G.galapagensis*) (60)

aplysia (*D.californica*) (61, 62)



$R = R_1 = R_2 = H$

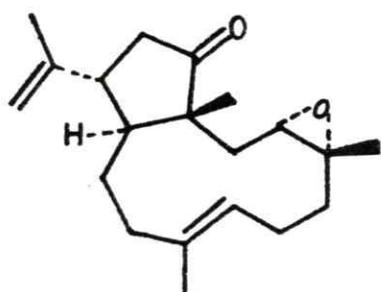
$R = Ac, R_1 = R_2 = H$

$R = R_1 = Ac, R_2 = H$

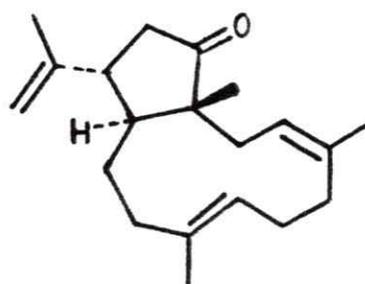
$R = H, R_1 = R_2 = Ac$

$R = R_1 = R_2 = Ac$

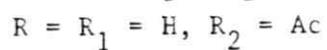
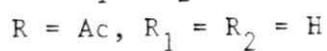
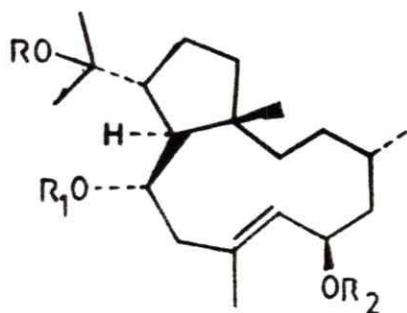
aplysia (*D.californica*) (61, 62)



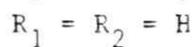
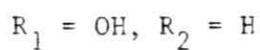
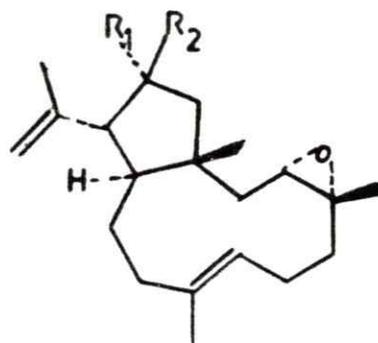
alga (*Dictyota* sp.) (63)



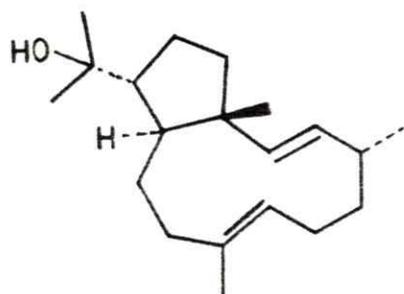
alga (*Dictyota* sp.) (63)



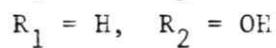
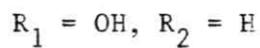
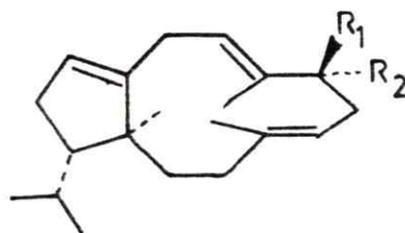
aplysia (D.californica) (61, 62)



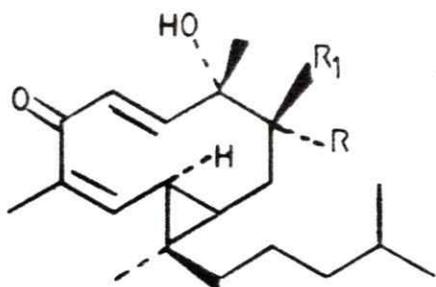
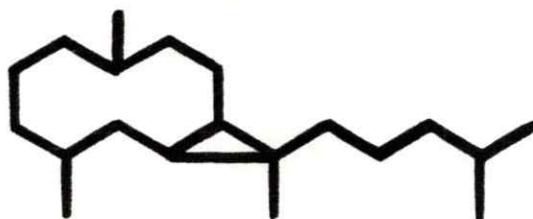
alga (Dictyota sp.) (63)



Aplysia (D.californica) (61)



coral (64)

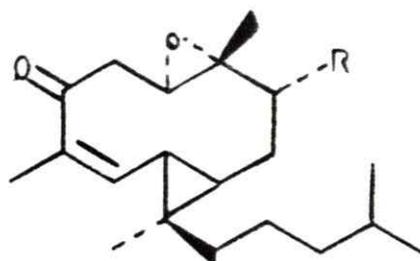


$R_1 = H, R = OAc$

$R_1 = R = H$

$R_1 = OAc, R = H$

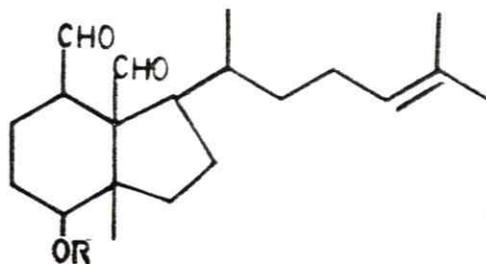
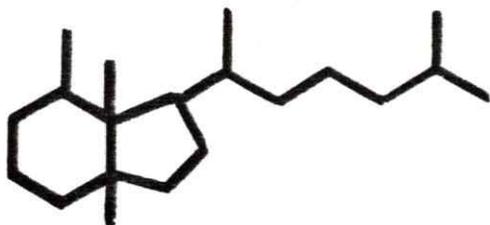
alga (*D.prolificans*) (65)



$R = H$

$R = OAc$

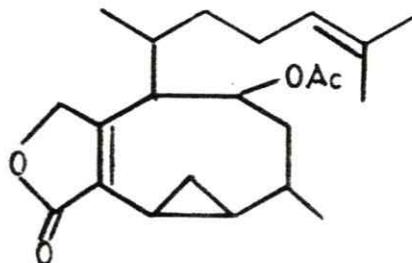
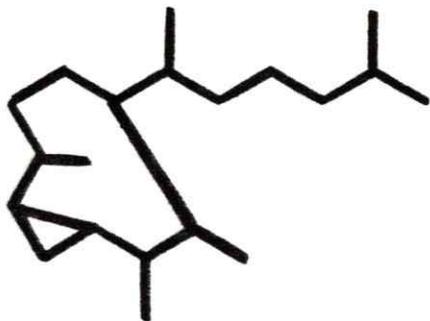
alga (*D.prolificans*) (65)



$R = H$

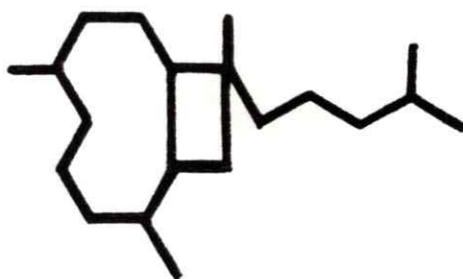
$R = Ac$

alga (*Dictyota* sp.) (66)

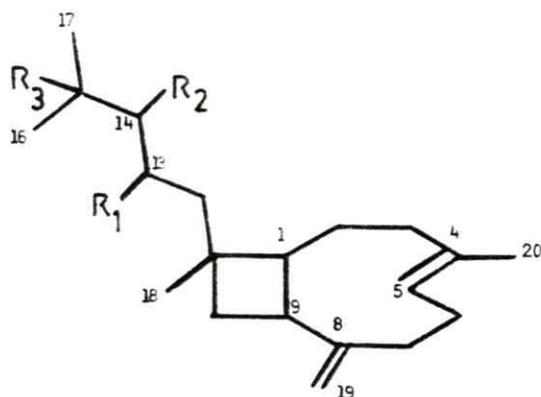


acetoxycrenulatin

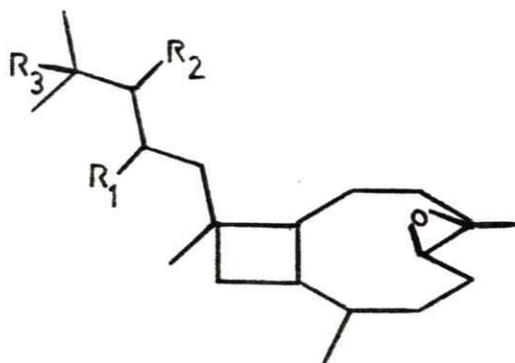
alga (*D.crenulata*) (47)



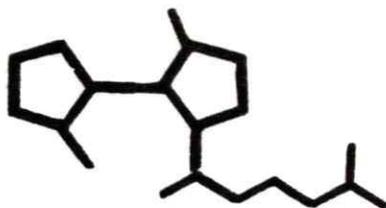
XENIAPHYLLANO



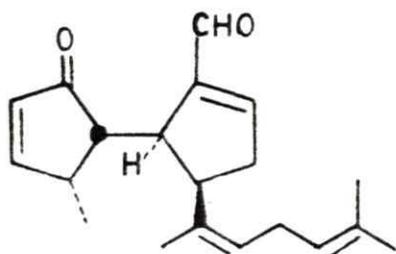
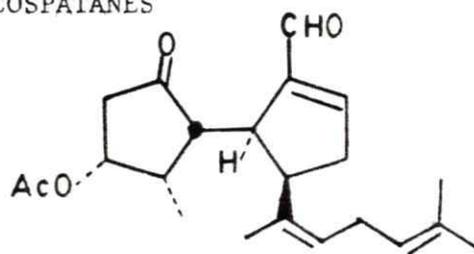
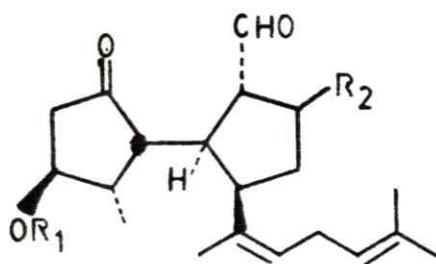
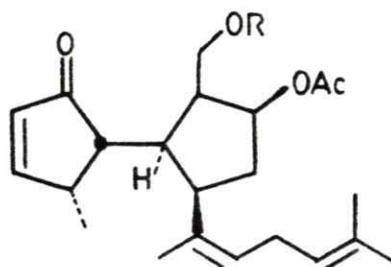
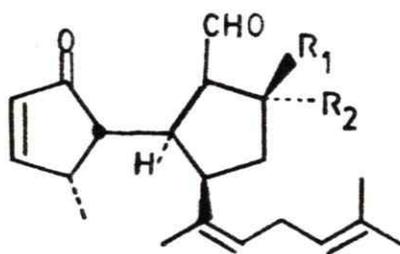
- $\Delta^{4,8} (19), 14$ $R_1 = \text{OH}, R_2 = R_3 = \text{H}$ Xenia phyllenol
 $\Delta^{4,8} (19), 14$ $R_3 = \text{OH}, R_1 = R_2 = \text{H}$
 $\Delta^{4,8} (19)$ $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OAc}, R_3 = \text{OH}$
 coral (Xenia macrspiculata) (67, 68)



- $\Delta^8 (19), 14$ $R_1 = \text{OH}, R_2 = R_3 = \text{H}$
 $\Delta^8 (19), 13$ $R_3 = \text{OH}, R_2 = R_1 = \text{H}$
 $\Delta^8 (19)$ $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OAc}, R_3 = \text{OH}$
 coral (Xenia macrspiculata) (67, 68)



SECOSPATANES

alga (D.marginatus) (69)alga (D.marginatus) (69)
 $R_1 = \text{Ac}, R_2 = \alpha\text{-OH}$
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \beta\text{-OAc}$
alga (D.marginatus) (69)
 $R = \text{H}$
 $R = \text{Ac}$
alga (D.marginatus) (69)
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OAc}$
 $R_1 = \text{H}, R_2 = \text{OH}$
 $R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$
alga (D.marginatus) (69)

BIBLIOGRAFIA

1. K.L.Erickson, "Marine Natural Products", Vol. 5, Ed. Acad.Press, New York (1982)
2. T.Katayama. The volatile constituents of Seaweed III. The terpenes of volatile constituents of Ulva pertusa. Bull.Japan Soc.Sci. Fisheries 21, 412 (1955)
3. D.J.Faulkner and M.O.Stallard. Tetrahedron Letters, 1171 (1973)
4. W.Fenical. Science, 215, 923 (1982)
5. B.J.Burreson, F.Woolard and R.E.Moore. Tetrahedron Letters, 26, 2155-2158 (1975)
6. V.L.Paul, O.L.McConnell and W.Fenical. J.Org.Chem., 45, 3401 (1980)
7. F.Woolard, R.E.Moore, D.V.Engen and J.Clardy. Tetrahedron Letters, 27, 2367 (1978)
8. O.J.McConnell and W.Fenical. J.Org.Chem., 43, 4238 (1978)
9. W.H.Gerwick. Phytochemistry, 23, 1323 (1984)
10. D.J.Faulkner. Nat.Prod.Reports, 3 (1), 10 (1986)
11. D.V.Engen, J.Clardy, E.Kho-Wiseman, P.Crews, M.D.Higgs and J. Faulkner. Tetrahedron Letters, 1, 29-32 (1978)
12. D.B.Stierle, R.M.Wing and J.Sims. Tetrahedron, 35, 2855 (1979)
13. P.Crews, E.Kho-Wiseman and P.Montana. J.Org.Chem., 43, 716 (1978)
14. M.D.Higgs, D.J.Vanderah and D.J.Faulkner. Tetrahedron, 33, 2775 (1977)
15. J.S.Mynderse, D.J.Faulkner, J.Finer and J.Clardy. Tetrahedron Letters, 2175 (1975)
16. A.G.González, J.M.Arteaga, J.D.Martín, L.Rodríguez, J.Fayos and M.Martínez-Ripoll. Phytochemistry, 17, 947 (1978)
17. R.S.Norton, R.G.Warren and R.J.Wells. Tetrahedron Letters, 1905 (1977)
18. R.S.Norton, R.G.Warren and R.J.Wells. Tetrahedron Letters, 3905 (1977)

19. R.J.Capon, L.M.Engelhardt, E.L.Ghisalberli, P.R.Jefferies, V.A. Patrick and A.H.White, *Aust.J.Chem.*, 37, 537 (1984)
20. L.Castedo, M.L.García, E.Quinoa and R.Riguera. *J.Nat.Prod.*, 47, 742 (1984)
21. T.A.Grissman and D.H.R.Groust. "Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism", Freeman, Cooper and Co., San Francisco, California (1969)
22. J.Darias and J.D.Martín. "Alga/Sesquiterpenoids on Marine Natural Products". Vol.1, Ed.Acad.Press, New York (1978)
23. R.Pérez A. Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna, Tenerife, España (1981)
24. E.Imperato, L.Minale and R.Riccio. *Experientia*, 33, 1273 (1977)
25. F.J.Schmitz, D.P.Michaud and K.H.Hollenbeak. *J.Org.Chem.*, 45, 1525 (1980)
26. Y.Gopichand, F.J.Schmitz and J.Shelly. *J.Org.Chem.*, 46, 5192 (1981)
27. C.Ireland, M.O.Stanard and D.J.Faulkner. *J.Org.Chem.*, 41 (14), 2461 (1976)
28. D.J.Faulkner, M.O.Starllard and C.Ireland. *Tetrahedron Letters*, 40, 3571 (1974)
29. K.H.Hollenbeak and F.Schmitz. *Tetrahedron*, 33, 541 (1979)
30. S.Yamamura and Y.Hirata. *Tetrahedron*, 19, 1485 (1963)
31. R.K.Dieter, R.Kinnel, J.Meinwald and T.Eisner. *Tetrahedron Letters*, 19, 1645 (1979)
32. M.O.Stallard and W.Fenical. *Tetrahedron*, 34, 2077 (1978)
33. M.O.Stallard, W.Fenical and J.S.Kitredge. *Tetrahedron*, 34, 2077 (1978)
34. F.J.Schmitz, K.H.Hollenbeak and D.J.Vanderah. *Tetrahedron*, 34, 2719 (1978)
35. G.R.Pettit, C.H.Herald, M.Allen and R.Von-Dreelc. *J.Am.Chem.Soc.*, 99 (1977)
36. F.J.Schmitz, F.J.McDonald and D.J.Vanderah. *J.Org.Chem.*, 43, 4220 (1978)

37. L.Ruzicka. "History of the isoprene rule". Chem.Soc. London (1959)
38. H.H.Sun, S.M.Warasckiewicz, K.L.Erickson, J.Finer and J.Clardy. J.Am.Chem.Soc., 99, 3516 (1977)
39. B.F.Bonden, J.C.Coll, N.Liyanage, S.J.Mitchell, G.I.Stokie and J.A.Van-Aitena. Aust.J.Chem., 31, 163 (1978)
40. D.R.Hirschfeld, W.Fenical, G.H.Y.Lin, R.M.Wing, P.Radlick and J.J.Sims. J.Am.Chem.Soc., 95, 4049 (1973)
41. D.Vanderah and D.J.Faulkner. (1976) (sin publicar)
42. J.F.Blount, R.W.Dunlop, K.L.Erickson and R.J.Wells. Aust.J.Chem., 35, 145 (1982)
43. E.Fattorusso, S.Magno, L.Mayol, C.Santocroce, D.Sica, V.Amico, G.Oriente, M.Piattelli and C.Tringali. J.Chem.Soc. Chem.Comm., 575 (1976)
44. L.Minale and R.Riccio. Tetrahedron Letters, 2711 (1976)
45. D.J.Faulkner, B.M.Ravi, J.Finer and J.Clardy. Phytochemistry, 16, 991 (1977)
46. B.Danise, L.Minale, R.Riccio, V.Amico, G.Oriente, M.Piattelli, C.Tringali, E.Fattorusso, S.Magno and L.Mayol. Experientia, 33, 413 (1977)
47. F.J.McEnroe, K.J.Robertson and W.Fenical. "Marine Natural Products Chemistry" (1977)
48. V.Amico, G.Oriente, M.Piattelli and C.Tringali. Phytochemistry, 18, 1895 (1979)
49. N.Enoki, R.Ishida, S.Urano, M.Ochi, T.Tokoroyama and T.Matsumoto. Chem.Letters, 1837 (1982)
50. A.B.Alvarado and W.H.Gerwich. J.Nat.Prod., 48, 132 (1985)
51. N.Enoki, K.Tsuzuki, S.Omuna, R.Ishida and T.Matsumoto. Chem. Letters, 1627 (1983)
52. C.Pathirana and R.J.Anderson. Can.J.Chem., 62, 1666 (1984)
53. M.Kobayashi, C.Zheng, C.Yang, Y.Kyogoku and I.Kitagana. Chem. Pharm.Bull., 33, 1309 (1985)
54. S.I.Wratten and D.J.Faulkner. Tetrahedron, 35, 1907 (1979)

55. S.I.Wratten, D.J.Faulkner, K.Hirotsu and J.Clardy. *J.Am.Chem.Soc.*, 99, 2824 (1977)
56. S.I.Wratten, W.Fenical, D.J.Faulkner and J.C.Wekell. *Tetrahedron Letters*, 1559 (1977)
57. R.Kazlauskas, P.T.Murphy and R.J.Wells. *Tetrahedron Letters*, 4643 (1977)
58. O.Kennard, D.G.Watson, L.Riva-Sanseverino, B.Tursch, R.Bosmans and C.Djerassi. *Tetrahedron Letters*, 2879 (1968)
59. V.Amico, G.Oriente, M.Piattelli, C.Tringali, E.Fattorusso, S.Magno and L.Mayol. *Tetrahedron*, 18, 340 (1979)
60. H.H.Sun and W.Fenical. *Phytochemistry*, 18, 340 (1979)
61. C.Ireland, D.J.Faulkner, J.Finer and J.Clardy. *J.Am.Chem.Soc.*, 98, 4664 (1976)
62. C.Ireland and D.J.Faulkner. *J.Org.Chem.*, 42, 3157 (1977)
63. V.Amico, G.Oriente, M.Piattelli, C.Tringali, E.Fattorusso and S.Magno. *Tetrahedron*, 36, 1409 (1979)
64. B.F.Bowden, J.C.Coll, S.J.Mitchell, G.J.Stokie and J.F.Blount. *Aust.J.Chem.*, 81, 2039 (1978)
65. R.Kazlauskas, P.T.Murphy and R.S.Wells. *Tetrahedron Letters*, 4155 (1978)
66. W.Fenical. "Marine Natural Products", Chapter 3, "Diterpenoids". Acad.Press. (1978)
67. Y.Kashman and A.Groweiss. *Tetrahedron Letters*, 4833 (1978)
68. A.Groweiss and Y.Kashman. *Tetrahedron Letters*, 2205 (1978)
69. B.N.Ravi and R.J.Wells. *Aust.J.Chem.*, 35, 129 (1982)
70. J.Roviroso. Tesis Doctoral, Universidad de La Laguna, Tenerife, España (1980)
71. A.G.González, J.Darias and J.D.Martín. *Tetrahedron Letters*, 2799 (1971)
72. A.G.González, J.Darias, J.D.Martín and M.Norte. *Tetrahedron Letters*, 3951 (1974)
73. A.G.González, J.Darias and J.D.Martín. *Anales de Quím.*, 68, 1183 (1972)

74. T.Kato, A.S.Kumanireng, J.Ichinose, Y.Kitahara, Y.Kakimuna and Y.Kato. Chem.Lett., 335 (1975)
75. T.Kusumi, Y.Shibata, M.Ishitsuka, T.Kinoshita and H.Kakisawa. Chem.Lett., 277 (1979)
76. W.H.Gerwich, W.Fenical, N.Fritsch and J.Clardy. Tetrahedron Letters, 145 (1979)
77. P.Rivera, M.Castillo, H.Dözl y F.Ahumada. Simposio de Química y Desarrollo Nacional. Concepción, Chile, pp. 186-188 (1985)
78. L.N.Li and H.Xue. Hydrobiologia, 116-117, 168 (1984)
79. P.Rivera, L.Astudillo, A.G.González, E.Manta and F.Cataldo. J. Nat.Prod. (en prensa)
80. A.San-Martín, J.Roviroso, R.Negrete and M.Castillo. XVI Congreso Latinoamericano de Química. Rio de Janeiro, Brasil, pp. 418 (1984)
81. P.Crews, P.Ng, E.Kho-Wiseman and C.Pace. Phytochemistry, 15, 1707 (1976)
82. P.Rivera, L.Astudillo, J.Roviroso and A.San-Martín. Biochemical Systematics and Ecology, 15 (1), 3 (1987)
83. C.Walsh. Enzymatic reaction mechanisms. W.H.Freeman and Co. San Francisco (1979)