

**FACULTAD QUIMICA  
BIBLIOTECA**

Cat.

Encuad.

Ent. 3137 Q

Mat. 549 (043)

Sell.

Test. T. D

Top. 219

Ri. 18692114

245

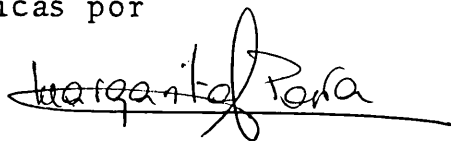
R. 3137



UNIVERSIDAD DE VALENCIA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS  
DEPARTAMENTO DE QUIMICA ORGANICA

COMPONENTES QUIMICOS DE CENTAURIUM LINARI-  
FOLIUM (LAMARK) G. BECK

Memoria presentada para optar  
al Grado de Doctor en ciencias  
Químicas por



Fdo: MARGARITA PARRA ALVAREZ



UMI Number: U603119

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U603119

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.  
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against  
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC  
789 East Eisenhower Parkway  
P.O. Box 1346  
Ann Arbor, MI 48106-1346





D. ELISEO SEOANE BARDANCA, Catedrático Numerario de Química Orgánica y Dña. AMPARO TORTAJADA LOPEZ, Profesor Titular de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Valencia.

CERTIFICAN:

Que MARGARITA PARRA ALVAREZ ha realizado en los Laboratorios del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Valencia y bajo nuestra dirección, el trabajo que para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas presenta con el título de: "Componentes químicos de *Centaurium linarifolium* (Lamark) G.Beck".

Y para que de ello quede constancia, firmamos la presente en Burjasot a cinco de Febrero de mil novecientos ochenta y seis.



Fdo: Eliseo Seoane      Fdo: Amparo Tortajada

AGRADECIMIENTOS

Al finalizar el presente trabajo, quiero expresar mi mas sincero agradecimiento:

Al Dr.D. Eliseo Seoane Bardanca, Catedrático de Química Orgánica, por su ayuda y colaboración como director de esta tesis.

A la Dra.D<sup>a</sup>. Amparo Tortajada López, Profesor Titular del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Valencia por su dirección, y por la ayuda y estímulo que de ella he recibido, tanto científica como personalmente.

Al Dr.D. José Mansanet, Catedrático de Botánica de la Universidad de Valencia, por la elección de la planta.

A los Drs. D. Rafael Currás y D. Juan Alcober, Profesores Ayudantes del Departamento de Botánica de esta Universidad, por la clasificación de la planta.

Al Dr. Gerald Sullivan, de la Universidad de Texas (EEUU), por la muestra de 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona, que tuvo la amabilidad de proporcionarnos.

Al Dr. W.G. Van der Sluis, de la Universidad de Utrecht (Holanda), por la muestra de decentapicrina A que amablemente nos envió.

Al Dr. K. Hosttetmann del Instituto de Farmacognosia y Fitoquímica de Lausana (Suiza), por la muestra de decusatina, que fué tan amable de proporcionarnos.

Al Dr.D. Luis Castedo, Catedrático de Química Orgánica de la Universidad de Santiago de Compostela, por la realización de los espectros de resonancia magnética nuclear de los compuesto F y H.

Al Ministerio de Educación y Ciencia por la Beca de Formación de Personal Investigador, bajo cuyo disfrute se ha realizado el presenta trabajo.

A la Dra. D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Teresa Picher Uribes, por su valiosa y eficaz colaboración en la realización de esta Tesis, y a Salvador Gil Grau, un estupendo compañero, con cuya ayuda siempre he contado, y sobre todo, por haber tenido la suerte de compartir con ambos estos años de trabajo.

A Cristina Noguera y a Alfonso Salvador por la ayuda prestada en la recogida de planta.

A Isabel Solana Juan por su colaboración y por las horas que ha perdido en esta tesis.

A todos mis compañeros de laboratorio, por su amable y desinteresada colaboración en todas las ocasiones en que los he necesitado.

A Vicen García, Secretaria de este Departamento, por su trabajo mecanográfico.

Finalmente, quiero recordar aquí a mi familia y amigos que son los que, fuera de este Departamento, han tenido que soportar mi buen y mal humor, mis progresos y mis fracasos, y han sido siempre mi estímulo para terminar esta tesis.

A mis padres



COMO FRUTO DEL PRESENTE TRABAJO SE HAN REALIZADO  
LAS SIGUIENTES:

PUBLICACIONES

- "New xanthenes isolated from Centaurium linarifolium"  
Journal of Natural Products, 47, 123-6 (1984).
- "Additional new xanthenes isolated from Centaurium linarifolium"  
Journal of Natural Products, 47, 868-71 (1984).
- "Xanthenes and secoiridoids isolated from methanolic extract  
of Centaurium linarifolium"  
Journal of Natural Products, en prensa.

COMUNICACIONES A CONGRESOS

- "New xanthenes isolated from Centaurium linarifolium"  
third European Symposium on Organic Chemistry (ESOC III)  
Canterbury (Inglaterra), Septiembre 1983.
- "Otras nuevas xantonas en Centaurium linarifolium (Lamark) G.  
Beck"  
XX Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química  
Castellón, Septiembre 1984.
- "Xanthenes from methanolic extract of Centaurium linarifolium"
- "Secoiridoids from methanol extract of Centaurium linarifolium"  
Fourth European Symposium on Organic Chemistry (ESOC IV)  
Aix-en-Provence (Francia), Septiembre 1985.

INDICE



1. INTRODUCCION .....	1
2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS .....	4
2.1. Caracteres botánicos .....	5
2.2. El género Centaurium .....	6
3. <u>PARTE TEORICA</u>	
3.1. Características de los espectros IR de xantonas.	32
3.2. Características de los espectros U.V. de xantonas .....	34
3.2.a. Determinación de los coeficientes de extinción	34
3.2.b. Espectro en metanol (MeOH) .....	35
3.2.c. Espectro en metóxido sódico (NaOMe) .....	38
3.2.d. Espectro en acetato sódico (NaOAc) .....	38
3.2.e. Espectro en acetato sódico y ácido bórico (NaOAc/H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ) .....	40
3.2.f. Espectro en tricloruro de aluminio (AlCl <sub>3</sub> ) y tricloruro de aluminio y ácido clorhídrico (AlCl <sub>3</sub> /HCl) .....	41
3.2.g. Test de Gibbs .....	42
3.3. Características de los espectros de RMN de xantonas .....	45
3.4. Características de los espectros de masas de xantonas .....	48
3.4.a. Cálculo de la fórmula empírica a partir del a partir del espectro de masas de baja resolución .....	48
3.4.b. Cálculo de la fórmula empírica a partir del espectro de masas de alta resolución .....	49
3.4.c. Rupturas características de los espectros de masas de las xantonas .....	50
4. ESTUDIO DEL EXTRACTO HEXANICO. Separación y fraccionamiento. Cromatografía de columna de los componentes fenólicos .....	54
4.1. Estudio de la fracción X <sub>I</sub> : Separación de A y B .	57
4.1.1. Estudio del compuesto A: 1,8-DIHIDROXI-2,3,4,6-TETRAMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	58

4.1.1.a. Estudio del derivado acetilado de A. Análisis espectroscópico .....	63
4.1.1.b. Estudio del derivado dimetilado de A. Análisis espectroscópico .....	64
4.1.2. Estudio del compuesto B: 1,8-DIHIDROXI-3,4,6-TRIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico ....	74
4.1.2.a. Estudio del derivado acetilado de B. Análisis espectroscópico .....	77
4.2. Estudio de la fracción X <sub>II</sub> : Separación de A y C..	85
4.2.1. Estudio del compuesto C: 1,8-DIHIDROXI-2,6-DIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	86
4.2.1.a. Estudio del derivado acetilado de C. Análisis espectroscópico .....	90
4.3. Estudio de la fracción X <sub>III</sub> . Compuesto D: 1,6-DIHIDROXI-3,5-DIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	97
4.4. Estudio de la fracción X <sub>IV</sub> . Separación de E y F..	106
4.4.1. Estudio del compuesto E: 1,3,8-TRIHIDROXI-2,4,6-TRIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico...	107
4.4.1.a. Estudio del derivado acetilado de E. Análisis espectroscópico .....	111
4.4.1.b. Estudio del derivado permetilado de E. Análisis espectroscópico .....	113
4.4.2. Estudio del compuesto F: 1,3,8-TRIHIDROXI-2-METOXI ó 1,3,8-TRIHIDROXI-4-METOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	119
4.5. Estudio de la fracción X <sub>V</sub> . Compuesto G: 1,6-DIHIDROXI-3,5,7,8-TETRAMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	127
4.5.a. Estudio del derivado acetilado de G. Análisis espectroscópico .....	131
4.5.b. Estudio del derivado monometilado de G. ....	133
4.5.c. Estudio del derivado dimetilado de G .....	133
4.6. Estudio de la fracción X <sub>VI</sub> . Compuesto H: 1,6-DIHIDROXI-5,8-DIMETOXI ó 1,6-DIHIDROXI-7,8-DIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	141

5. ESTUDIO DEL EXTRACTO METANOLICO. Separación y fraccionamiento. Marcha de Clark: separación por extracción líquido-líquido en parte etérea y parte de acetato de etilo .....	150
5.1. Estudio de la <u>parte etérea</u> del extracto metanólico. Cromatografía de columna .....	151
5.1.1. Estudio de la fracción X <sub>VII</sub> . Separación de I, J y G .....	153
5.1.1.1. Estudio del compuesto I: 1-HIDROXI-3,5,6,7,8-PENTAMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico.	154
5.1.1.1.a. Estudio del derivado acetilado de I. Análisis espectroscópico .....	158
5.1.1.2. Estudio del compuesto J: 1-HIDROXI-3,7,8-TRIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico.....	166
5.1.1.3. Estudio del compuesto G: 1,6-DIHIDROXI-3,5,7,8-TETRAMETOXIXANTONA .....	174
5.1.2. Estudio del compuesto R: ERITROCENTAURINA. Análisis espectroscópico .....	175
5.1.2.a. Transformación de R en 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopirán-5-carboxilato de metilo. Análisis espectroscópico .....	181
5.1.3. Estudio de la fracción X <sub>VIII</sub> . Compuesto K: 1,3-DIHIDROXI-5,6-DIMETOXIXANTONA. Análisis espectroscópico .....	191
5.1.4. Estudio del compuesto GI <sub>I</sub> : DECENTAPICRINA A. Análisis espectroscópico .....	200
5.1.4.a. Estudio del derivado acetilado de GI <sub>I</sub> . Análisis espectroscópico .....	205
5.1.4.b. Estudio del espectro de <sup>13</sup> C-RMN de GI <sub>I</sub> .....	206
5.1.4.c. Estudio por c.c.f. de GI <sub>I</sub> .....	210
5.1.5. Estudio de la fracción GS: GLUCOSIDO DE β-SITOSTEROL, CAMPESTEROL y STIGMASTEROL. Análisis espectroscópico y cromatográfico .....	218
5.1.5.a. Estudio del derivado acetilado de GS. Análisis espectroscópico .....	219

5.1.5.b. Hidrólisis ácida de GS .....	220
5.1.5.c. Aislamiento e identificación de la parte glicosídica de GS .....	222
5.1.5.d. Aislamiento e identificación de la aglicona de GS .....	223
5.1.5.e. Determinación del tipo de unión glicosídica en GS .....	224
5.2. Estudio de la <u>parte de acetato de etilo</u> del extracto metanólico. Cromatografía de columna ....	228
5.2.1. Estudio del compuesto GI <sub>II</sub> : SWERTIAMARINA. Análisis espectroscópico .....	230
5.2.1.a. Estudio del derivado acetilado de GI <sub>II</sub> . Análisis espectroscópico .....	232
6. <u>PARTE EXPERIMENTAL</u>	
6.1. Técnicas generales .....	241
6.2. Estudio del <u>extracto hexánico</u> . Separación de sus componentes .....	243
Estudio de los componentes fenólicos del extracto hexánico. Fraccionamiento por cromatografía de columna .....	244
6.2.1. Estudio de la fracción X <sub>I</sub> . Separación de los componentes A y B .....	245
6.2.1.1. Estudio del compuesto A: 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona .....	245
Cálculo de la fórmula empírica de A a partir del espectro de masas.....	245
Cálculo de los coeficientes de extinción de A .....	245
Preparación del derivado acetilado de A ....	246
Preparación del derivado dimetilado de A ...	246
6.2.1.2. Estudio del compuesto B: 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona .....	247
Cálculo de la fórmula empírica de B a partir del espectro de masas .....	247



Cálculo de los coeficientes de extinción de B	248
Preparación del derivado acetilado de B	248
6.2.2. Estudio de la fracción X <sub>II</sub> . Separación de los compuestos A y C	249
6.2.2.1. Estudio del compuesto C: 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona	249
Cálculo de la fórmula empírica de C a partir del espectro de masas	249
Cálculo de los coeficientes de extinción de C	250
6.2.3. Estudio de la fracción X <sub>III</sub> . Compuesto D: 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona	251
Cálculo de la fórmula empírica de D a partir del espectro de masas	251
Cálculo de los coeficientes de extinción de D.	251
6.2.4. Estudio de la fracción X <sub>IV</sub> . Separación de los compuesto E y F	252
6.2.4.1. Estudio del compuesto E: 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona	252
Cálculo de la fórmula empírica de C a partir del espectro de masas	252
Cálculo de los coeficientes de extinción de E	252
Preparación del derivado acetilado de E	253
Preparación del derivado permetilado de E	253
6.2.4.2. Estudio del compuesto F: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona	253
Cálculo de la fórmula empírica de F a partir del espectro de masas	254
Cálculo de los coeficientes de extinción de F	254
6.2.5. Estudio de la fracción X <sub>V</sub> . Compuesto G: 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona	255
Cálculo de la fórmula empírica de G a partir del espectro de masas	255

Cálculo de los coeficientes de extinción de G.	255
Preparación del derivado acetilado de G.....	256
Preparación del derivado monometilado de G ...	256
Preparación del derivado dimetilado de G .....	256
6.2.6. Estudio de la fracción X <sub>VI</sub> . Compuesto H: 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxi ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona .....	258
Cálculo de la fórmula empírica de H a partir del espectro de masas .....	258
6.3. Estudio del <u>extracto metanólico</u> . Separación de sus componentes. Marcha de Clark: separación por extracción líquido-líquido en parte etérea y parte de acetato de etilo .....	259
6.3.1. Estudio de la <u>parte etérea</u> . Fraccionamiento por cromatografía de columna .....	260
6.3.1.1. Estudio de la fracción X <sub>VII</sub> . Separación de los compuestos I, J y G .....	261
6.3.1.1.1. Estudio del compuesto I: 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona.....	262
Cálculo de la fórmula empírica de I a partir del espectro de masas de alta resolución .....	262
Cálculo de los coeficientes de extinción de I .....	262
Preparación del derivado acetilado de I ..	263
6.3.1.1.2. Estudio del compuesto J: 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona.....	264
Cálculo de la fórmula empírica de J a partir del espectro de masas de alta resolución .....	264
Cálculo de los coeficientes de extinción de J .....	264
6.3.1.1.3. Estudio del compuesto G: 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona .....	265

6.3.1.2.	Estudio del compuesto R: eritrocenaurina .....	266
	Cálculo de los coeficientes de extinción de R .	266
	Transformación de R en 1-hidroxi-3,4-dihidro- 1H-2-benzopirán-5-carboxilato de metilo .....	266
6.3.1.3.	Estudio de la fracción X <sub>VIII</sub> . Compuesto K: 1,3- dihidroxi-5,6-dimetoxixantona.....	268
	Cálculo de la fórmula empírica de K a partir del espectro de masas .....	268
	Cálculo de los coeficientes de extinción de K..	268
6.3.1.4.	Estudio del compuesto GI <sub>I</sub> : decentapicrina A ...	270
	Cálculo de los coeficientes de extinción de GI <sub>I</sub>	270
	Poder rotatorio de GI <sub>I</sub> .....	270
	Preparación del derivado acetilado de GI <sub>I</sub> .....	271
6.3.1.5.	Estudio del compuesto GS: glucósido de β-sitos- terol, campesterol y stigmasterol .....	272
	Test de Liebermann-Burchardt de GS .....	272
	Preparación del derivado acetilado de GS .....	272
	Hidrólisis ácida de GS .....	272
	Cromatografía de gases del azúcar de GS .....	273
	Cromatografía de gases de la aglicona de GS ...	274
6.3.2.	Estudio de la <u>parte de acetato de etilo</u> del ex- tracto metanólico. Fraccionamiento por cromatogra- fía de columna .....	275
6.3.2.1.	Estudio del compuesto GI <sub>II</sub> : swertiamarina .....	276
	Preparación del derivado acetilado de GI <sub>II</sub> .....	276
7.	CONCLUSIONES .....	277
8.	BIBLIOGRAFIA .....	280

## 1. INTRODUCCION



Dentro del campo del aislamiento e identificación de productos naturales, se ha procedido al estudio de la Centaurium linarifolium (Lamark) G. Beck.

Esta planta, que pertenece a la familia de las Gentianáceas, era conocida como *Erithraea barrelieri*, antes de producirse un cambio en la nomenclatura del género *Centaurium*. Es usada en medicina popular como digestiva, antipirética y activante de la circulación sanguínea. Fué elegida por ser endémica del Levante español y no conocerse ninguna referencia a su estudio.

Nuestro trabajo se ha enfocado al aislamiento e identificación de los componentes químicos de la *Centaurium linarifolium*, por dos motivos. Por una parte, buscar aquellas sustancias químicas que son responsables del uso que de la planta se hace en medicina popular, y por otra, realizar una pequeña contribución a la quimiotaxonomía de la familia de las Gentianáceas.

El uso de caracteres químicos en taxonomía y filogenética ha jugado, hasta hace pocos años, un papel minoritario. La observación de que, plantas relacionadas taxonómicamente, contienen compuestos idénticos o muy relacionados, ha sido el motivo del nacimiento de la quimiotaxonomía o taxonomía molecular.

Según Harbone (1) las principales características que deben reunir los compuestos químicos, para ser usados como marcadores taxonómicos, son: variabilidad estructural, estabilidad fisiológica, amplia distribución y fácil y rápida identificación.

Hay que tener en cuenta, que el valor taxonómico no es el mismo para todos los tipos de compuestos, y puede variar, incluso dentro de una misma clase de ellos.

Variaciones en el grado de hidroxilación, metoxilación y glicosidación, así como la aparición de sustituyentes, elevan el valor de los compuestos, como marcadores taxonómicos.

Consultada la bibliografía, se vio que las propiedades farmacológicas, atribuidas a las plantas de esta familia son debidas a distintos compuestos.

La medicina popular viene utilizando, desde antiguo, infusiones de distintas plantas del género *Centaurium* en el tratamiento contra la hipertensión. La actividad antihipertensiva ha sido atribuida a sus componentes glicosídicos (2,3). Estas plantas poseen, así mismo, efecto sedante, atribuido a la presencia, en ellas, de alcaloides (4).

Por todo ello, se encontró que existían valiosas justificaciones para el estudio de los componentes químicos de *Centaurium linarifolium*.

## 2. ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

## 2.1. CARACTERES BOTANICOS.

Centaureum linarifolium es una planta bienal de 20 a 40 cm de altura. Tiene una curiosa simetría: cada hoja posee su opuesta, cada tallo otro igual al otro lado y cada flor su paralela naciendo del mismo punto.

El tallo es único, ramificándose desde o a partir de la mitad hacia arriba.

Las hojas inferiores tienen figura entre aovada y elíptica y forman una roseta en la base de la planta. Las hojas de estas rosetas son de 1-5x0.3 cm, carecen de rabillo, obtusas y con tres nervios; las que nacen en el tallo son lineales ó lineales-lanceoladas y disminuye su tamaño a medida que surgen de más alto.

Las flores estan dispuestas en ramilletes terminales, de 20-30 mm, son numerosas y se situan en cimas corimbiformes sueltas. El cáliz es 3/4 partes de la longitud de tubo de la corola. Los lóbulos de la corola son cinco, de color rosado y tienen de 10-12 mm, oblongo-elípticos, y posee 5 estambres amarillentos.

Florece en el mes de Junio.

Se cria en lugares secos, calcáreos y abiertos, siendo muy frecuente en el Levante español (5,6).

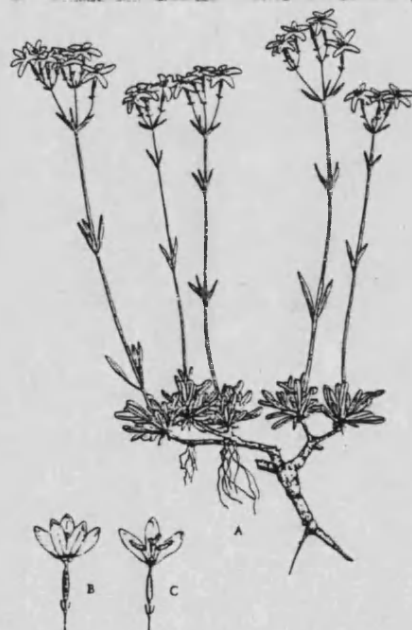


Fig. 1.—A, habitus; B, detalle de una flor; C, flor abierta mostrando el cáliz, corola y estambres.



## 2.2. EL GENERO CENTAURIUM.

No se han encontrado antecedentes bibliográficos referentes a la composición química de Centaurium linarifolium, si bien, se han hallado citas acerca de otros representantes de su mismo género.

Del conjunto de tipos de compuestos, objeto de estudio, en el mencionado género, podemos hacer las siguientes agrupaciones.

### TERPENOS Y ESTEROIDES

En 1950, Poethke y col. (7), en estudios verificados sobre Centaurium umbellatum, aislan e identifican de su extracto de éter etílico, ácido oleanólico.

Los mismos autores, un año más tarde (8), y de la misma planta aislan e identifican, de su extracto de éter de petróleo,  $\beta$ -Sitosterol y Erythrosterol.

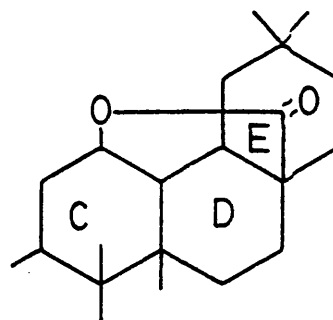
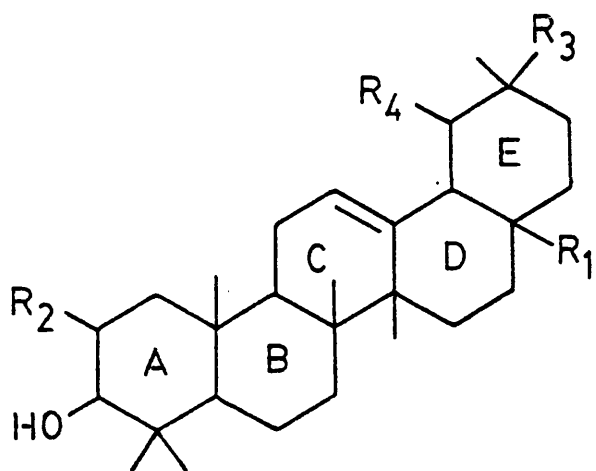
Popov, en 1969, estudiando el extracto metanólico de Erythraea Centaurium, aisla cinco esteroides, y entre ellos,  $\alpha$ -Espinasterol y Stigmas-7-enol (9).

Estudios verificados con Centaurium pulchella, por Khafagy y col. en 1970 (10), permiten identificar Erythrosterol,  $\beta$ -Sitosterol y ácido oleanólico, los dos primeros en el extracto hexánico y el último en el de éter etílico.

En estudios más recientes, Popov y col. con Erythraea Centaurium aislan Erythrodiol y  $\alpha$ -amirina (11). En 1973, y sobre la misma planta, Lacroix y col. (12) identifican, entre otros terpenos, uno no aislado hasta el momento en el género Centaurium, la Erythrorina.

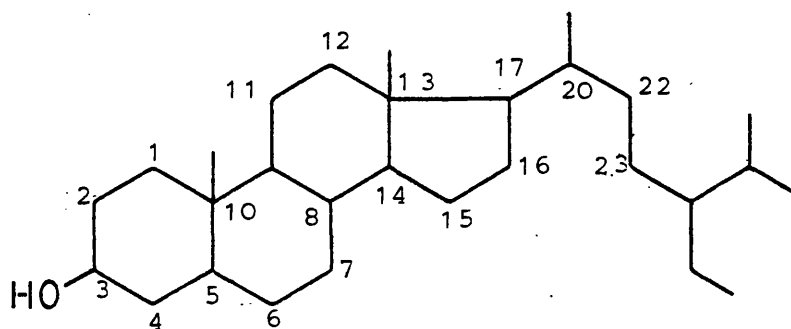
Por último, en 1974, Bellavita y col. (13), estudian triterpenos en Centaurium erythraea, y de su extracto de éter etílico, aislan e identifican  $\beta$ -Sitosterol,  $\beta$ -Amirina, Erythro-

diol, Acido Oleanólico, Acido Maslínico y una lactona del ácido oleanólico.



LACTONA ACIDO  
OLEANOLICO

	<u>R<sub>1</sub></u>	<u>R<sub>2</sub></u>	<u>R<sub>3</sub></u>	<u>R<sub>4</sub></u>
α-amirina	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>
β-amirina	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H
Erythrodiol	CH <sub>2</sub> OH	H	CH <sub>3</sub>	H
Ac. Oleanólico	CO <sub>2</sub> H	H	CH <sub>3</sub>	H
Ac. Máslínico	CO <sub>2</sub> H	OH	CH <sub>3</sub>	H



Δ<sup>5,6</sup> ≡ β-Sitosterol

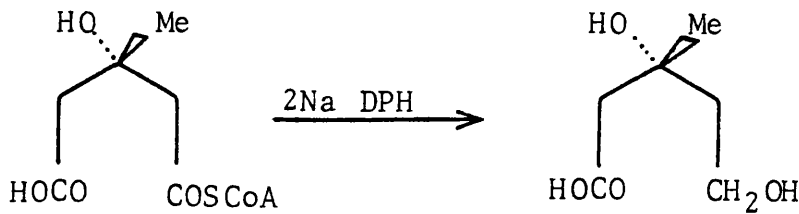
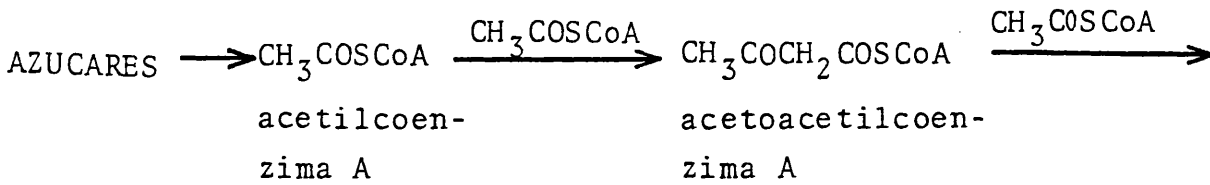
Δ<sup>7,8</sup> ≡ Stigmas-7-en-3-ol

Δ<sup>7,8</sup>, Δ<sup>22,23</sup> ≡ α-Spi-  
nasterol

En el estudio del extracto metanólico de Centaurium lina-  
narifolium, hemos aislado e identificado una saponina esteroidal:  
Glucósido de β-sitosterol, campesterol y stigmasterol.

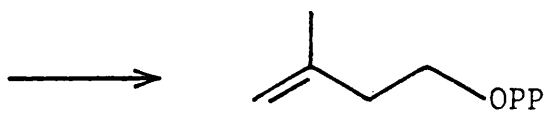
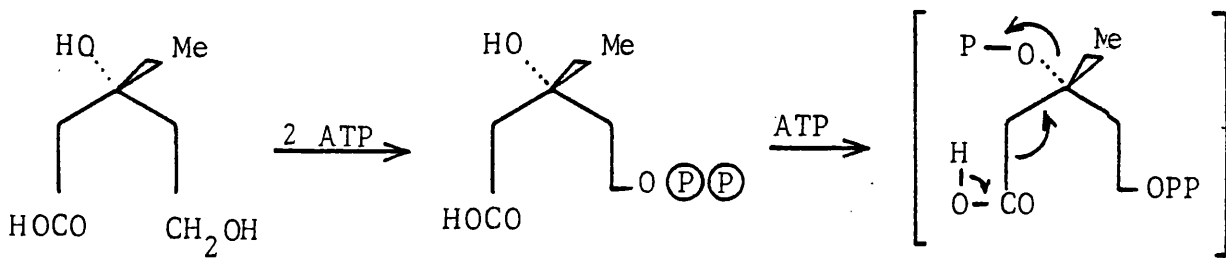
Biosíntesis de esteroides

El precursor de todos los terpenos y esteroides es el ácido mevalónico (14,15), obtenido a partir de la acetoacetilcoenzima A, procedente de la condensación de dos moléculas de acetilcoenzima A, que a su vez viene de los carbohidratos, según se describe a continuación:

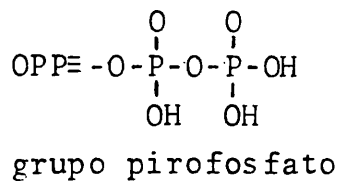


3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA                      Ac. (R) mevalónico

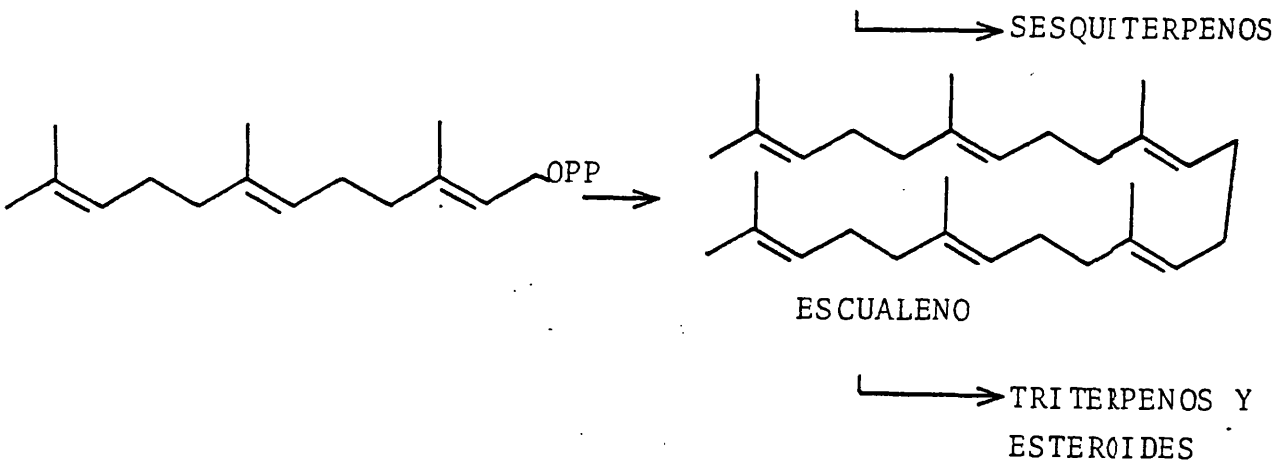
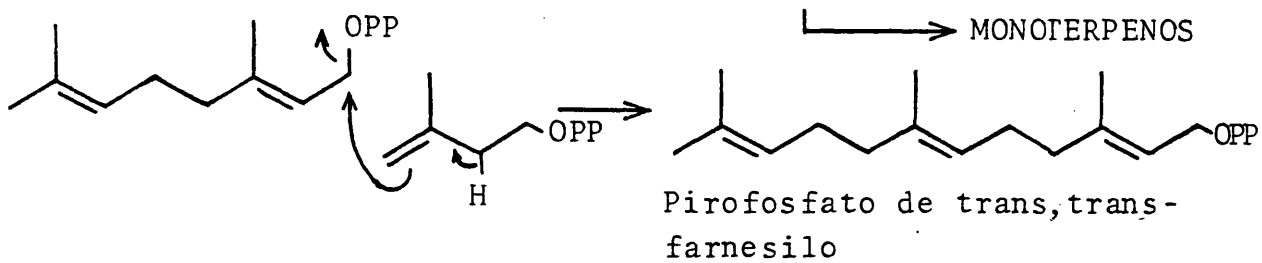
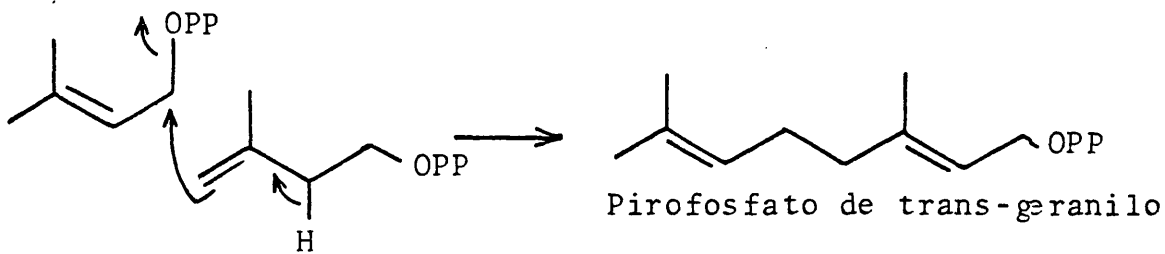
Fosforilación con ATP y descarboxilación del mevalonato, lo transforma en pirofosfato de isopentenilo.



Pirofosfato de 3-metilbut-3-enilo ó isopentenilo



Este es el "isopreno activo" en el que el grupo OPP (como desplazable) activa el C que lo sustenta, frente a reacciones con nucleófilos. Se produce una isomerización, dando lugar al pirofosfato de 3-metilbut-2-enilo que lleva un grupo pirofosfato alílico muy reaccionable. De esta forma se obtienen los distintos pirofosfatos, precursores de terpenos y esteroides.

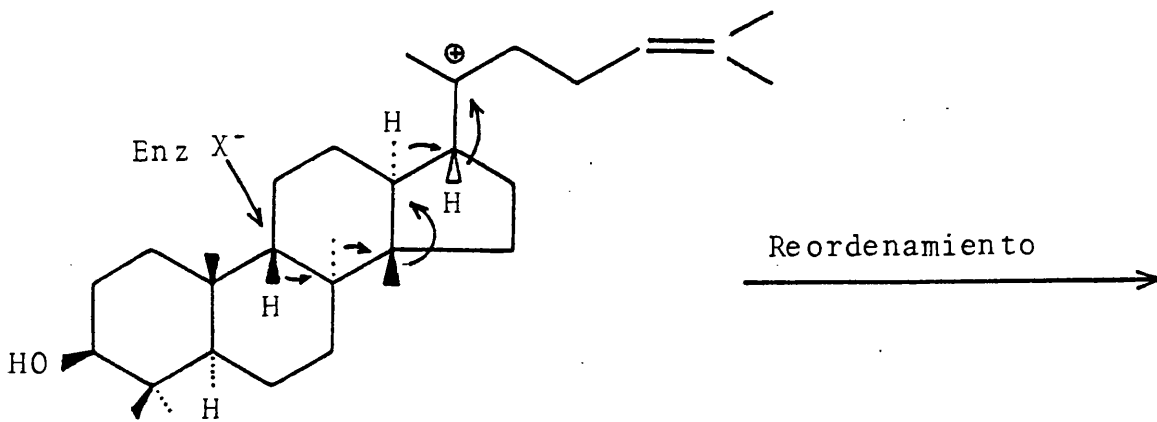
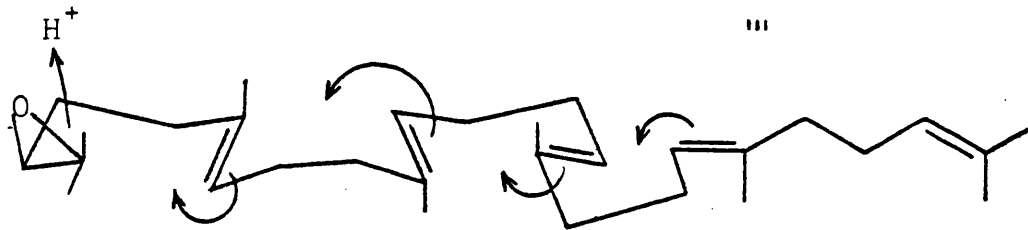
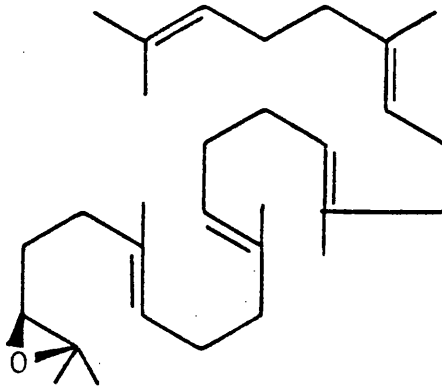
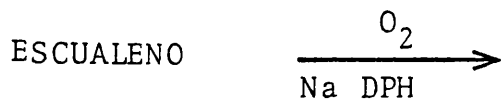


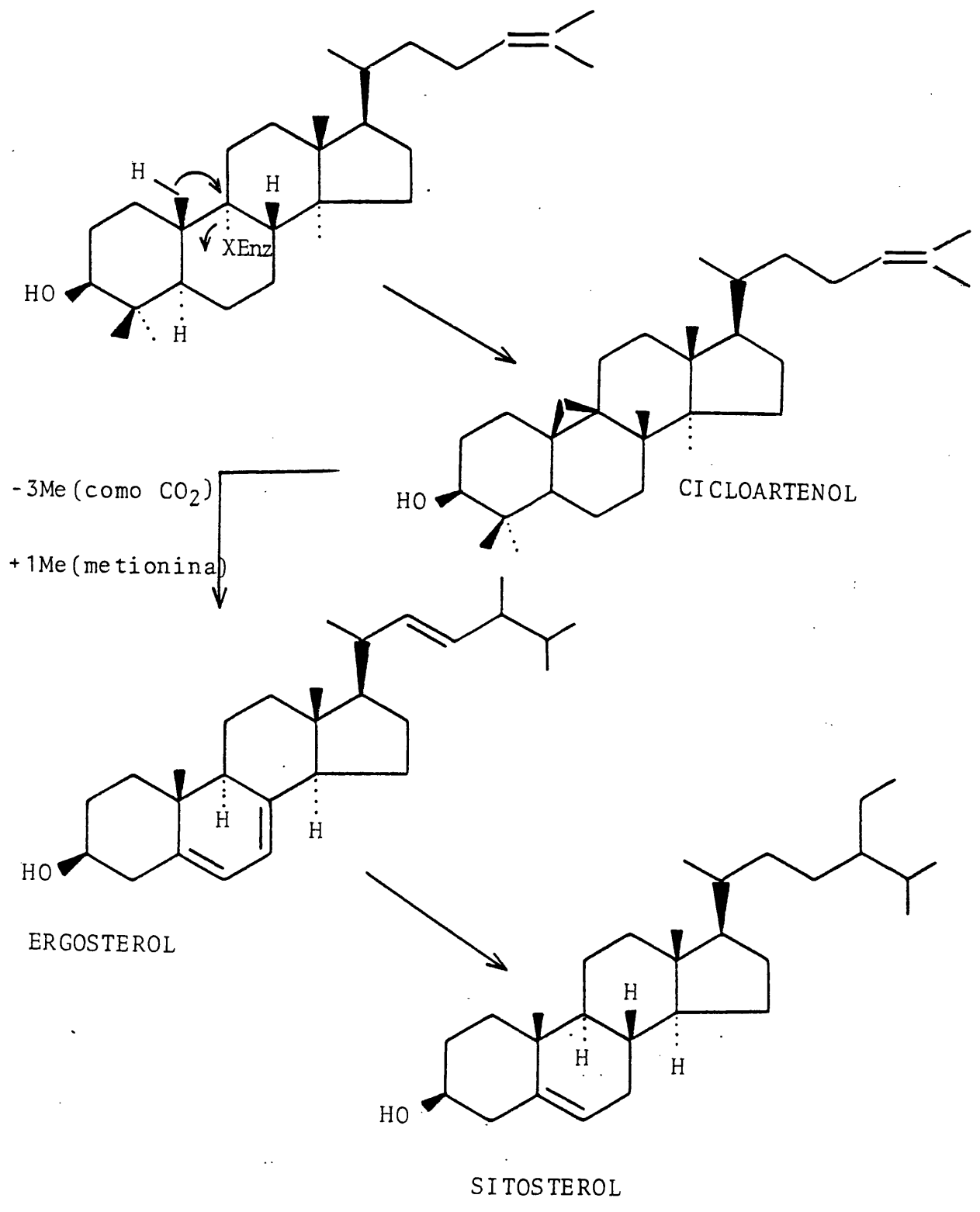
El escualeno, por epoxidación del doble enlace 2-3, inicia una policiclación, que en reordenamientos posteriores de los metilos, pérdidas de algunos de ellos (en forma de CO<sub>2</sub>) y metilaciones debidas a la metionina, dará lugar al Sitosterol





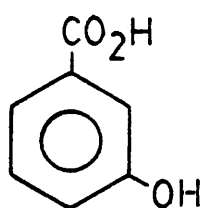
( y otros fitosteroles) a través del cicloartenol y ergosterol.



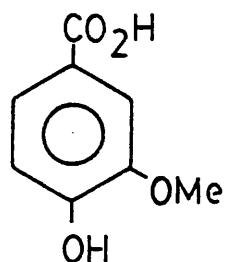


## FENOLES

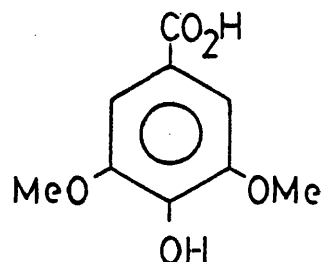
Algunos estudios han estado encaminados al aislamiento e identificación de fenoles, y entre ellos podemos citar el trabajo realizado por Hatjimanoli y col. en 1977 (16), que estudiando los ácidos fenólicos de Centaurium umbellatum, identifican los siguientes:



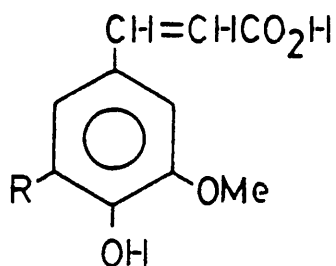
Ac. Protocateico



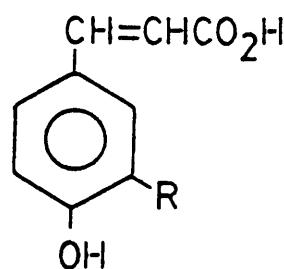
Ac. Vainillico



Ac. Siríngico



R=H Ac. Ferúlico  
R=OCH<sub>3</sub> Ac. Sinápico



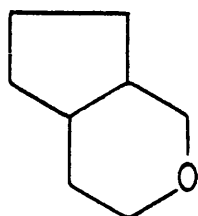
R=H Ac. Cumárico  
R=OH Ac. Caféico

En Centaurium linarifolium no han sido aislados, este tipo de compuestos.

## GLICOSIDOS IRIDOIDALES

Los iridoideos son un grupo de metabolitos monoterpénicos, caracterizados por esqueletos en los cuales, un anillo de seis miembros conteniendo un átomo de oxígeno está fusionado a un anillo ciclopentánico (17).



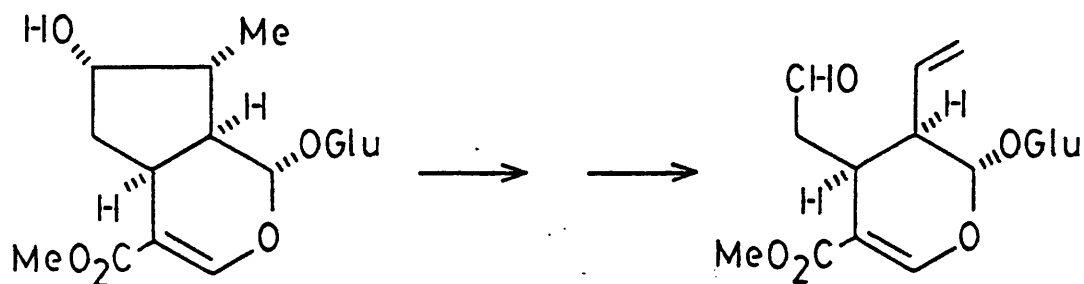


núcleo base iridoidal

El término "Iridoide" es derivado de una especie de hormigas (Iridomyrmex), que los utiliza en secreciones defensivas.

Aparte de sus aplicaciones defensivas e insecticidas, los Iridoides han sido objeto de numerosos estudios, puesto que son fuente de otros importantes metabolitos.

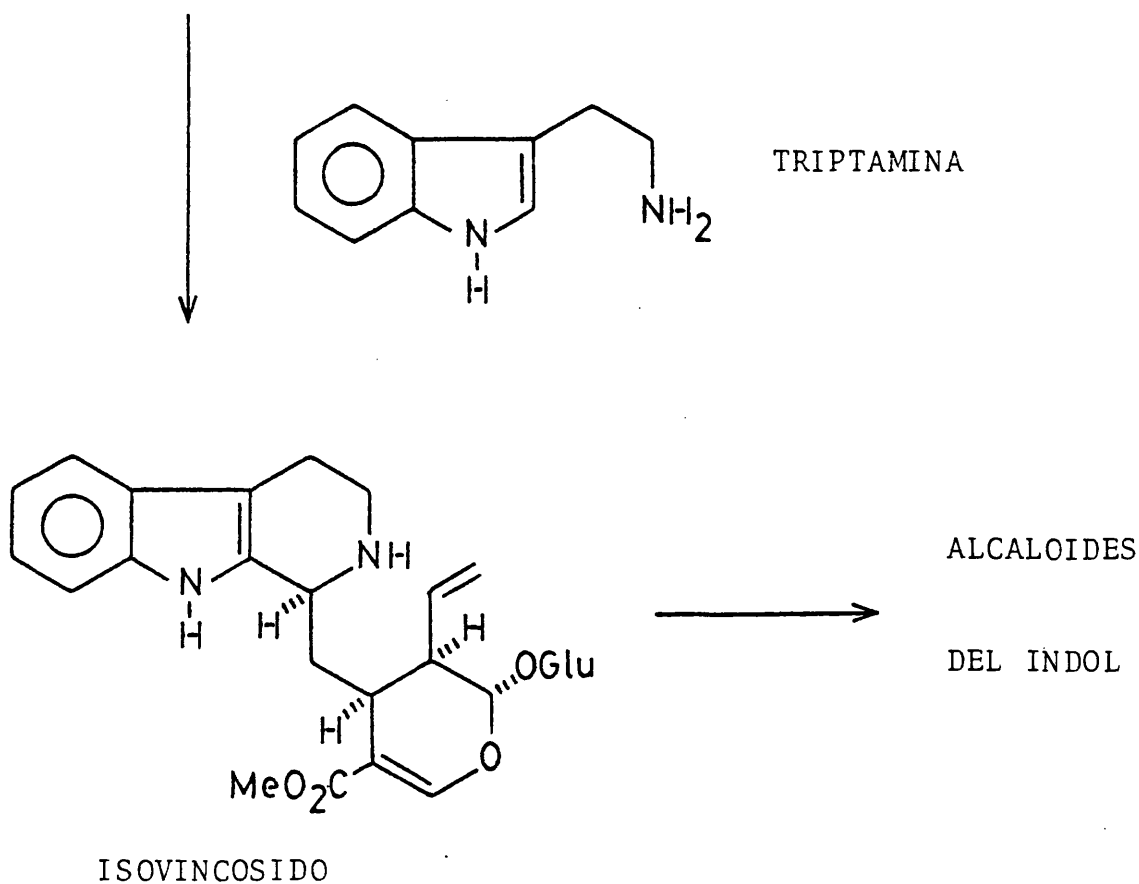
La loganina es transformada en Secologanina, la cual por condensación con la triptamina da lugar al isovincósido, que es el inmediato precursor de los alcaloides del Indol.



LOGANINA

SECOLOGANINA





En distintas plantas del género *Centaurium*, han sido objeto de estudio el aislamiento e identificación de glicósidos iridoidales:

Zwaring, en 1966 (18), realizando una revisión de compuestos aislados en las Gentianáceas, dice que la Swertiamarina es de frecuente aparición en *E. centaurium*. En ese momento no se conoce la estructura de dicho glicósido iridoidal.

Khafagy y Muajed aislan, en 1967 (19), un nuevo glicósido de *Centaurium spicatum*, al que llaman Kantaurina, pero no determinan su estructura. Estos mismos autores vuelven a aislarla, en 1970, en forma de tetraacetato, del extracto clorofórmico de *Centaurium pulchella* (10).

En un estudio de los Iridoides de *E. Centaurium*, Popov

y col. (11), en 1972, determinan las estructuras de la Swertiamarina y del Gentioflavósido, y llegan a la conclusión de que los iridoides considerados puros, hasta el momento, pueden ser impurezas de otros.

Sakina y Aota (20), en 1976, trabajando con E. centaurium, aislan Swertiamarina y Swerósido y un nuevo glucósido iridoidal, al que dan el nombre de Centapicrina, y cuya estructura determinan como un 2'-(m-hidroxy)benzoil-3'-acetilswerósido.

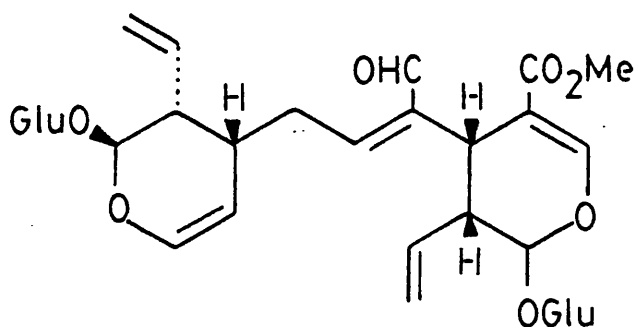
En trabajos realizados con Centaurium spicatum Bishay e Hylands (21), en 1978, aislan Swertiamarina y Kantaurina, dando, por primera vez, una estructura para esta última. Los vuelven a aislar, junto a otros compuestos, en un trabajo posterior (22).

Van der Sluis y Labadie (23), en 1978, aislan e identifican, por primera vez, un nuevo glicósido, que resulta ser el compuesto desacetilado de la Centapicrina.

Estos mismos autores, aislan en 1981, de Centaurium spicatum (24): Swerósido, Swertiamarina y Gentiopicrina. Este último compuesto estiman que es el mismo que el Gentiopicrosido, ambos diferentes para otros autores anteriores.

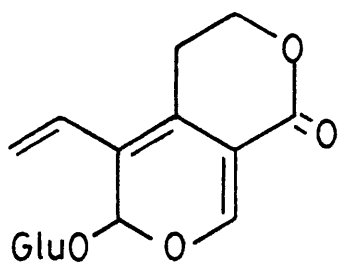
En 1981, son de nuevo Van der Sluis y Labadie (25), los que de Centaurium littorale aislan e identifican tres m-hidroxibenzoilésteres del Swerósido, nombrándolos como Decentapicrinas A, B y C.

El último trabajo en glicósidos iridoidales del género Centaurium, lo han llevado a cabo Tagaki y Yamaki, en 1982 (26), aislando e identificando de E. Centaurium, un nuevo glicósido-bis secoiridoidal, que han nombrado Centaurósido.

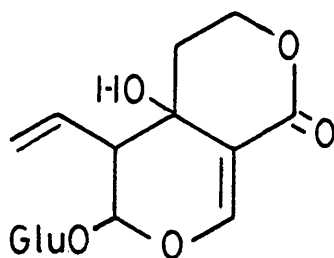


CENTAURÓSIDO

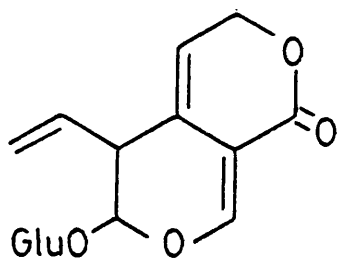




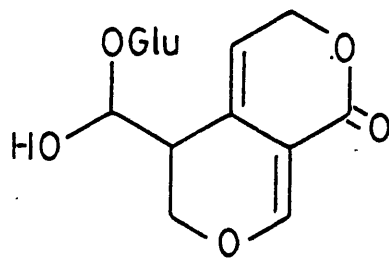
KANTOURINA



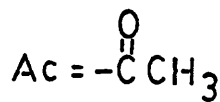
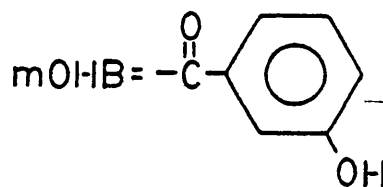
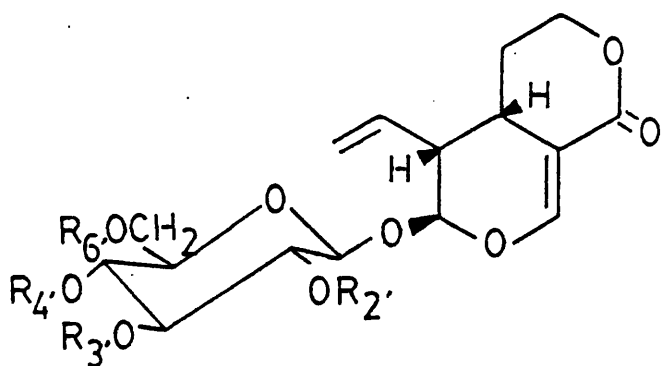
SWERTIAMARINA



GENTIOPICRINA



GENTIOFLAVINA

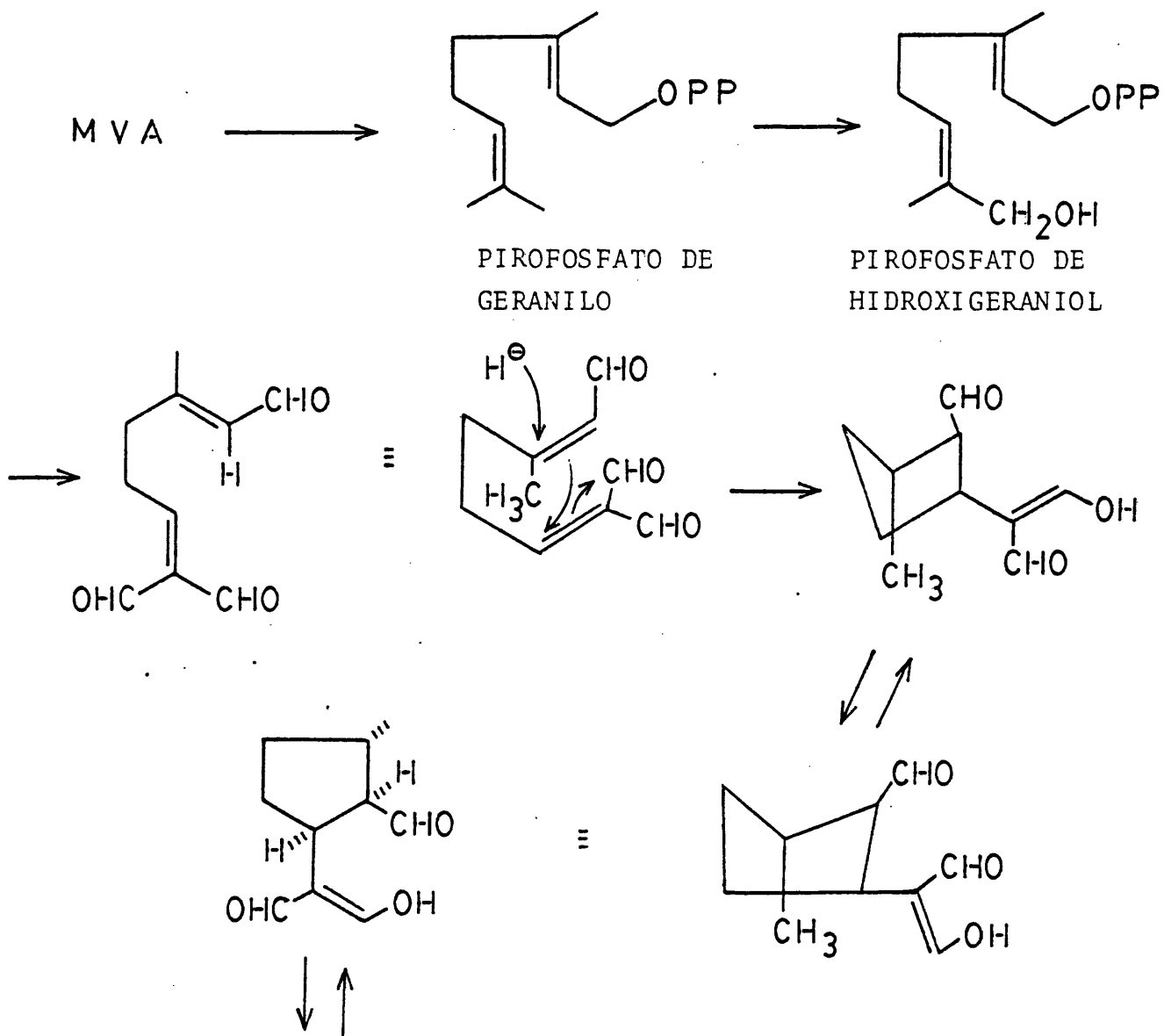


	<u>R<sub>2</sub>'</u>	<u>R<sub>3</sub>'</u>	<u>R<sub>4</sub>'</u>	<u>R<sub>6</sub>'</u>
SWEROSIDO	H	H	H	H
CENTAPICRINA	mOHB	Ac	H	H
DESACETILCENTAPICRINA	mOHB	H	H	H
DECENTAPICRINA A	H	mOHB	H	H
DECENTAPICRINA B	H	H	mOHB	H
DECENTAPICRINA C	H	H	H	mOHB

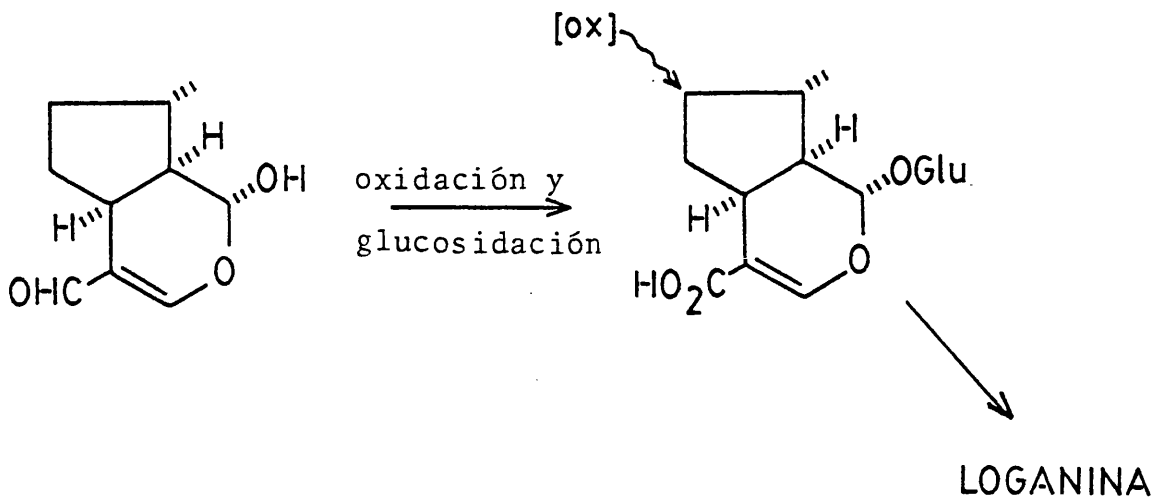
En el estudio del extracto metanólico de Centaureum linarifolium, hemos aislado e identificado dos glucósidos secoiridoidales: la Decentapicrina A y la Swertiamarina.

Biosíntesis de Iridoides

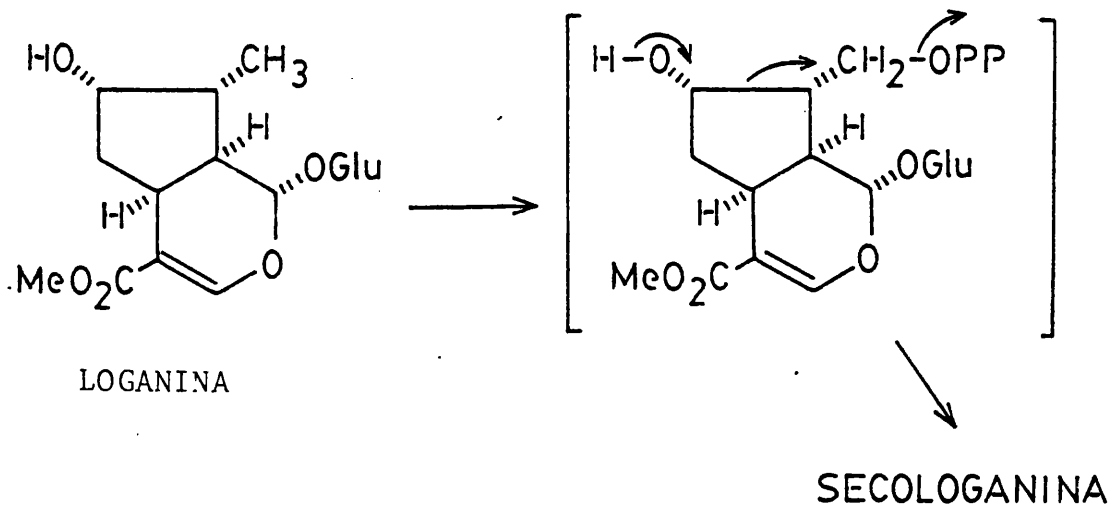
El ácido mevalónico es transformado en pirofosfato de geraniol, como hemos indicado anteriormente (biosíntesis de esteroides) y, tras oxidación del carbono 10 en pirofosfato de hidroxigeraniol, cicla a loganina, según el esquema propuesto por Arigoni y Battersby (17).



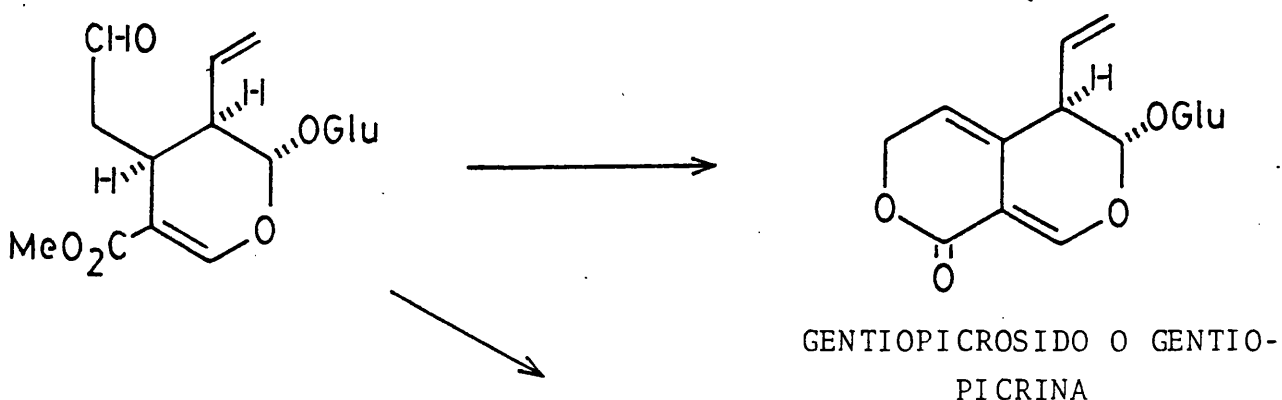


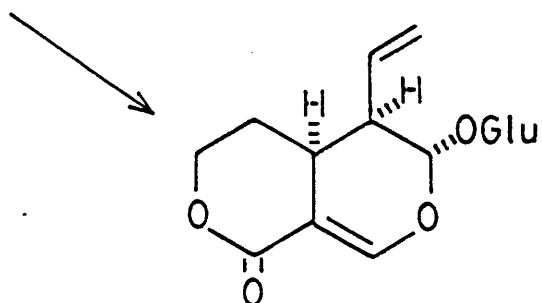


Por un mecanismo desconocido, la loganina oxida su metilo y se transforma en un pirofosfato para, tras ruptura del anillo, dar lugar a la secologanina, según el esquema propuesto.



La secologanina, como hemos comentado, es precursor de los alcaloides del Indol (a través del isovincósido), y, así mismo, de los secoiridoides, entre los cuales, Gentiopicrosido y Swerósido, son ejemplos representativos:





SWEROSIDO

### ALCALOIDES

Los alcaloides son metabolitos secundarios de aminoácidos generalmente, son compuestos nitrogenados de origen vegetal y cuya actividad farmacológica deriva de su actuación en el sistema nervioso: analgésico, tranquilizante, etc. (14).

Los alcaloides, en distintas plantas del género *Centaurium*, poseen un núcleo nitrogenado, estrechamente relacionado con los iridoides presentes en dichas plantas. Los hay piridínicos y los hay etoxi o metoxiderivados de la amida derivada de la Swertiamarina.

La primera revisión fué realizada por Zwaring, en 1966 (19), llegando a la conclusión de que la Gentianina es un alcaloide de frecuente aparición en *E. Centaurium*.

Popov y Marekov, en 1967, aislan de *E. Centaurium*, Gentianina y Gentianidina, y un nuevo alcaloide, al que nombran Gentiolavina, pero que no identifican (27).

En 1968, Khafagy y Muajed aislan, de *Egyptian Centaurium spicatum*, un nuevo alcaloide: la Spicatina (5).

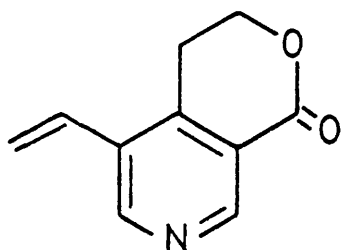
Son de nuevo Popov y Marekov quienes, en 1970, trabajando con plantas de la familia de las Gentianáceas, aislan Gentiocrucina y un hemiacetal, al que no dan nombre. Así mismo,

aislan y determinan la estructura de la Gentioflavina (28).

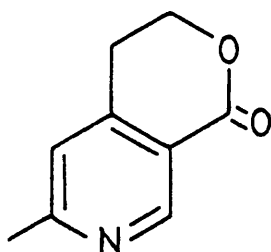
Khafagy y Muajed, en 1970, en una investigación fitoquímica de Centaureum pulchella (10) aislan gentianina, en el extracto de éter de petróleo de la planta objeto de estudio.

Rulko, en 1976 (29), estudiando plantas de las gentianáceas aisla ocho nuevos alcaloides, de los cuales identifica: Gentialutina, Isogentialutina y Gentiabatina, coincidiendo, este último compuesto, con el hemiacetal que aislaron Popov y Marekov en 1970.

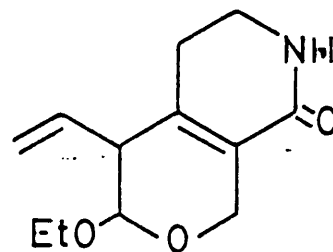
Los últimos trabajos en alcaloides del género Centaureum, son debidos a Bishay y col. (30) de forma que, en 1978, estudiando los alcaloides de E. Centaureum, dan por primera vez la estructura de la Gentianina. En 1978, estudiando componentes de Centaureum spicatum, aislan e identifican Gentianina, Gentianidina y dos derivados nitrogenados de la Swertiamarina (I y II). Aislan la Spicatina y dan su estructura por primera vez (21,22).



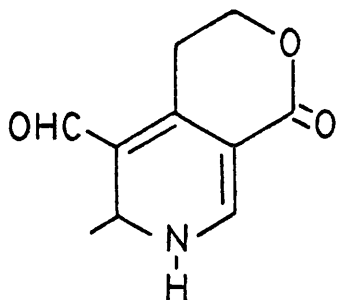
GENTIANINA



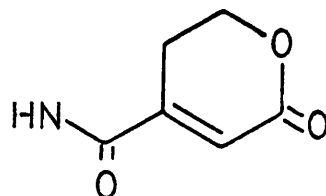
GENTIANIDINA



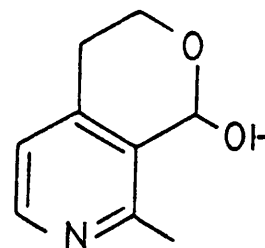
SPICATINA



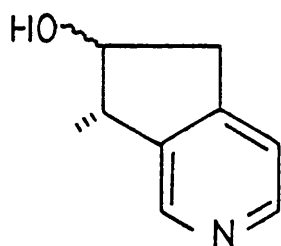
GENTIOFLAVINA



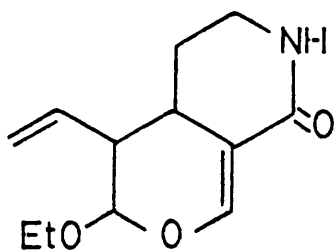
GENTIOCRUCINA



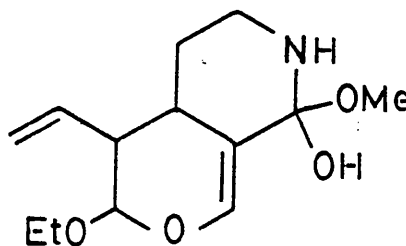
GENTIABATINA



6 $\beta$  (trans) ISOGENTIALUTINA  
6 $\alpha$  (cis) GENTIALUTINA



I

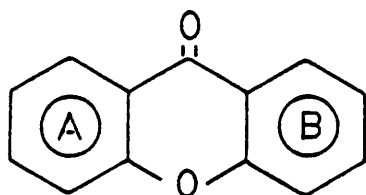


II

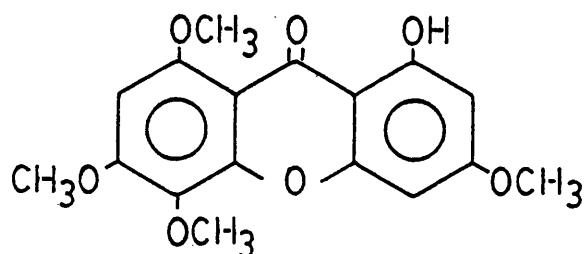
Los alcaloides presentes en Centaurium linarifolium, fueron, separados del extracto clorofórmico, pero su estudio ha sido pospuesto para trabajos futuros.

### XANTONAS

Las xantonas poseen dos anillos bencénicos unidos entre sí por un carbono carbonílico y una unión éter.



La numeración (dado que ambos anillos son, a falta de sustituyentes, equivalentes) parte de uno de los dos carbonos orto al carbonilo, y para algunos autores se orienta para dar el localizador más bajo posible al hidroxilo más próximo al carbonilo, mientras que otros autores prefieren empezar a numerar el anillo más sustituido. De esta forma, una misma xantona puede venir nombrada de dos maneras diferentes, en dos trabajos distintos. Ej.:



6 1-hidroxi-3,5,6,8-tetrametoxixantona  
8-hidroxi-1,3,4,6-tetrametoxixantona

En el presente trabajo hemos optado por el primer sistema de nomenclatura: localizador más bajo al hidroxilo más próximo al carbonilo, se sitúe o no en el anillo más sustituido.

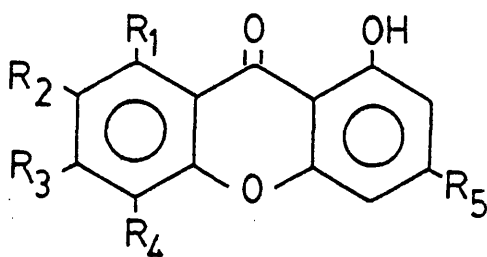
La localización de las xantonas en la naturaleza se reduce al reino vegetal, y dentro de éste, casi exclusivamente, a cuatro familias de plantas superiores: Guttiferae, Gentianaceae, Moraceae y Polygalaceae (31).

Suelen actuar como pigmentos en la coloración de las flores y poseen unas propiedades farmacológicas que van, desde ser antialérgicos y broncodilatadores, a poseer una actividad antituberculosa (31). En ocasiones la mayor actividad se consigue con la xantona libre, mientras que, otras veces, son sus glicósidos los que poseen actividad biológica.

Pese a que el género *Centaurium* pertenece a la familia de las Gentianaceas, hasta 1983 no aparece ningún trabajo

(C.A.) que haga referencia al estudio de xantonas en plantas de este género.

El presente trabajo constata el hecho de que Centaureium linarifolium es una planta rica en xantonas, y en sus distintos extractos hemos aislado e identificado once (compuestos de A a K), con un alto grado de oxidación (de tetraoxigenadas a hexaoxigenadas).



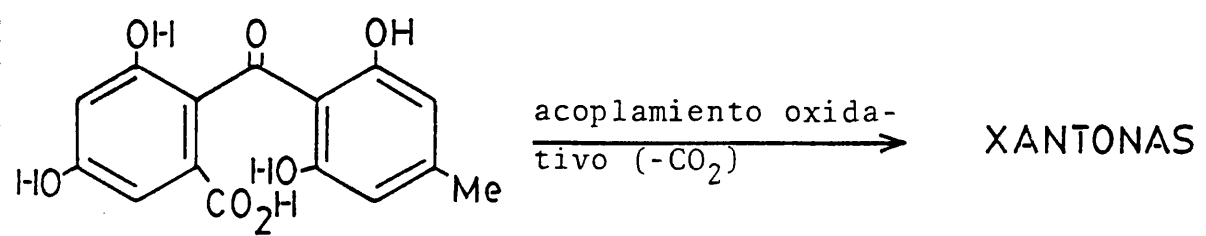
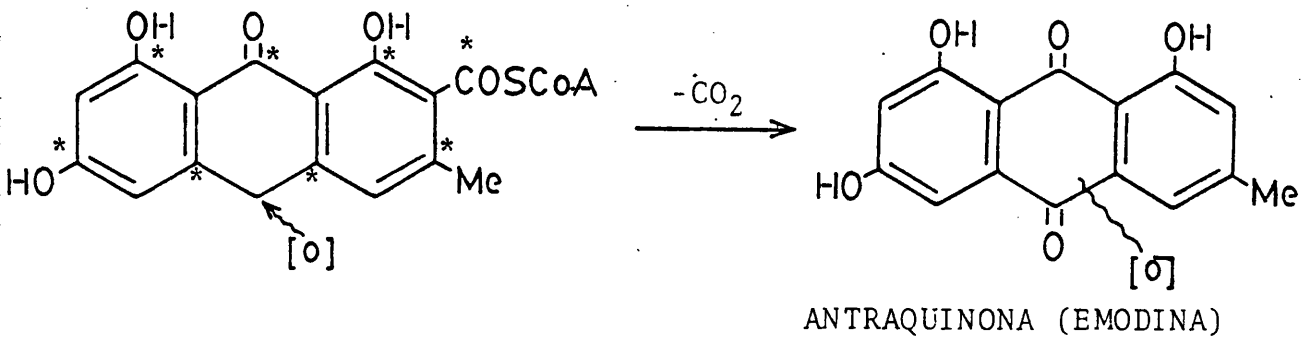
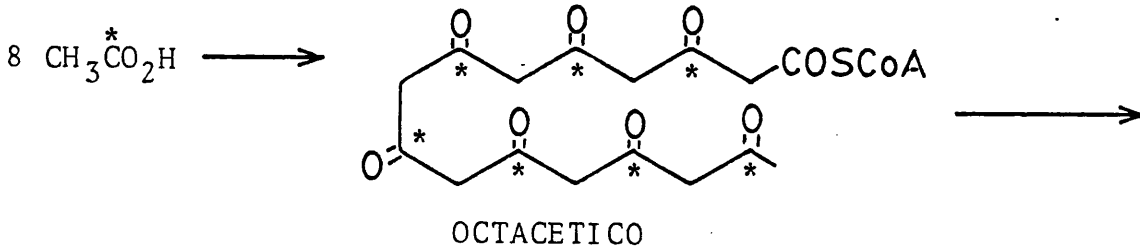
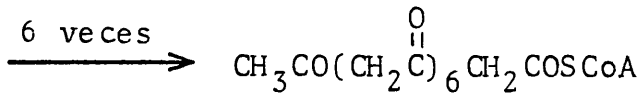
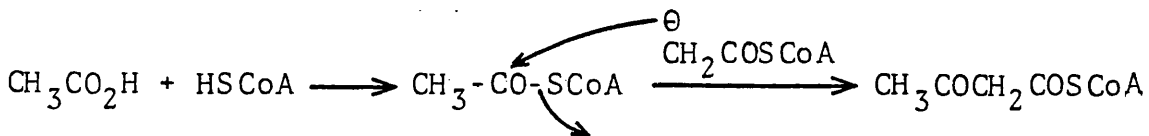
- A  $R_1=OH; R_2=R_3=R_4=R_5=OCH_3$
- B  $R_1=OH; R_2=H; R_3=R_4=R_5=OCH_3$
- C  $R_1=OH; R_2=R_5=OCH_3; R_3=R_4=H$
- D  $R_1=R_2=H, R_3=OH; R_4=R_5=OCH_3$
- E  $R_1=R_3=OH; R_2=R_4=R_6=OCH_3$
- F  $R_1=R_3=OH; R_2 \text{ ó } R_4=OCH_3; R_4 \text{ ó } R_2=R_6=H$
- G  $R_1=R_2=R_4=R_5=OCH_3; R_3=OH$
- H  $R_1=R_2 \text{ ó } R_4=OCH_3; R_3=OH; R_4 \text{ ó } R_2=R_5=H$
- I  $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=OCH_3$
- J  $R_1=R_2=R_5=OCH_3; R_3=R_4=H$
- K  $R_1=R_2=H; R_3=R_4=OCH_3; R_5=OH$

Biosíntesis de Xantonas

Uno de los dos anillos aromáticos, presentes en las xantonas, como se ha demostrado por experiencias mediante marcaje isotópico, se considera proveniente del ácido acético (vía policétida acetato-malonato), pero el otro anillo, para algunas xantonas, ha mostrado su origen, así mismo, en el ácido acético, mientras que otros estudios, han propugnado su origen en el ácido sikímico (17).

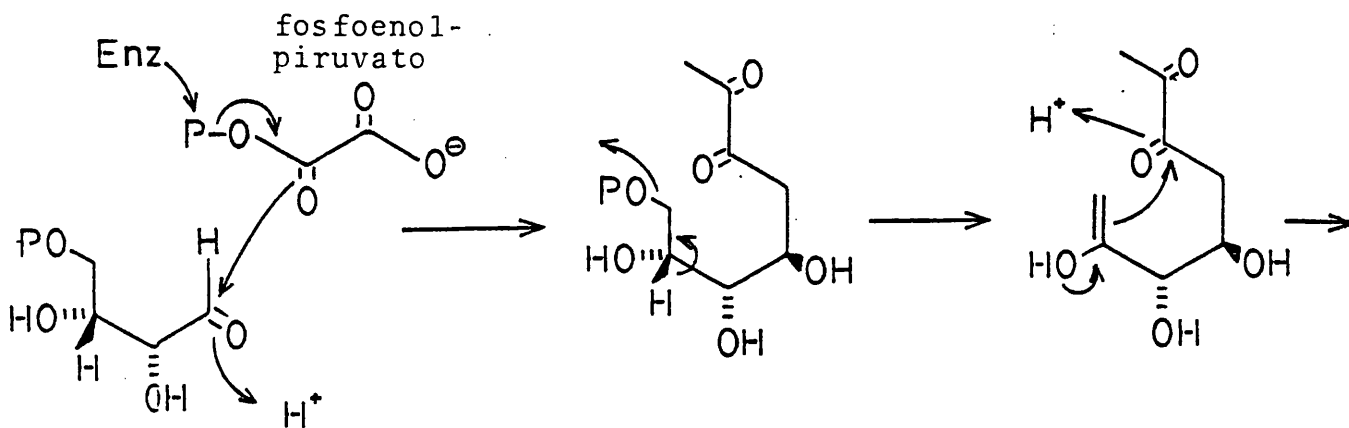
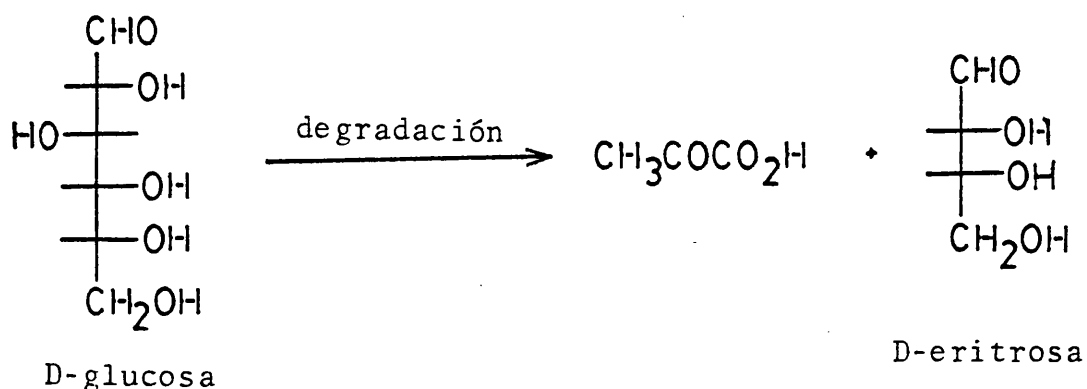
a) Por ruptura y acoplamiento oxidativo de antraquinonas vía acil-polimalonato.

Las antraquinonas se originan por triciclación de un progenitor octacético (ocho unidades de acético-malónico):

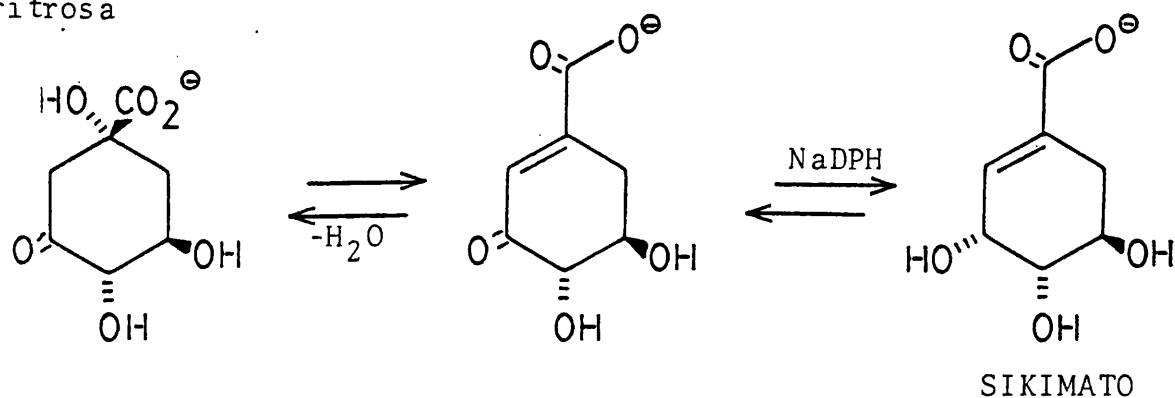


b) Por acoplamiento oxidativo de benzofenonas. Via ácido Sikímico.

El ácido Sikímico proviene del fosfato de D-eritrosa y fosfoenolpiruvato, compuestos derivados de la D-glucosa por degradación. Estos dos compuestos se combinan mediante una reacción de condensación aldólica, donde una enzima se adiciona primero al fosfoenolpiruvato (32,33):



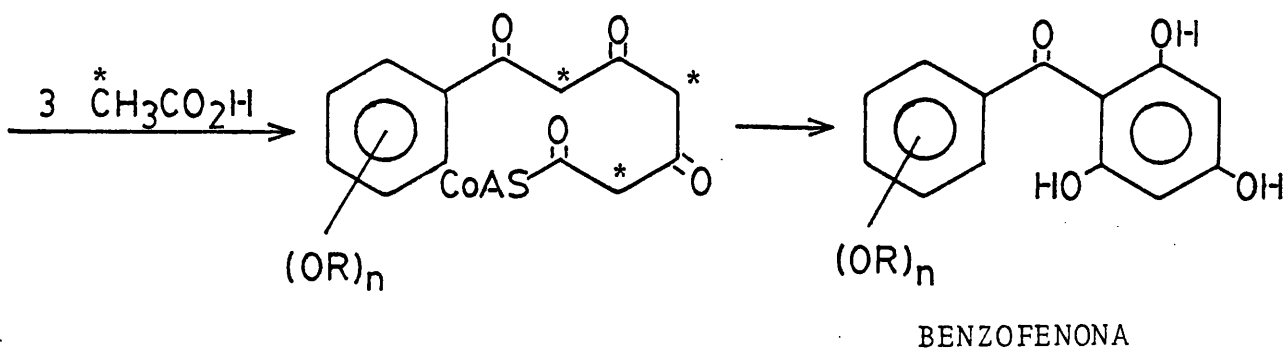
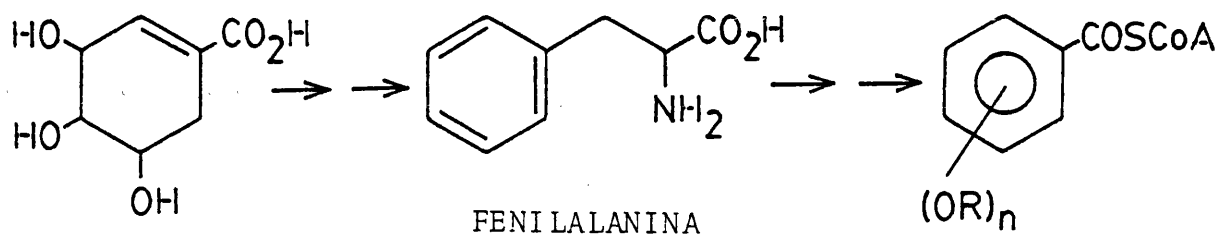
4-fosfato de D-eritrosa



SIKIMATO

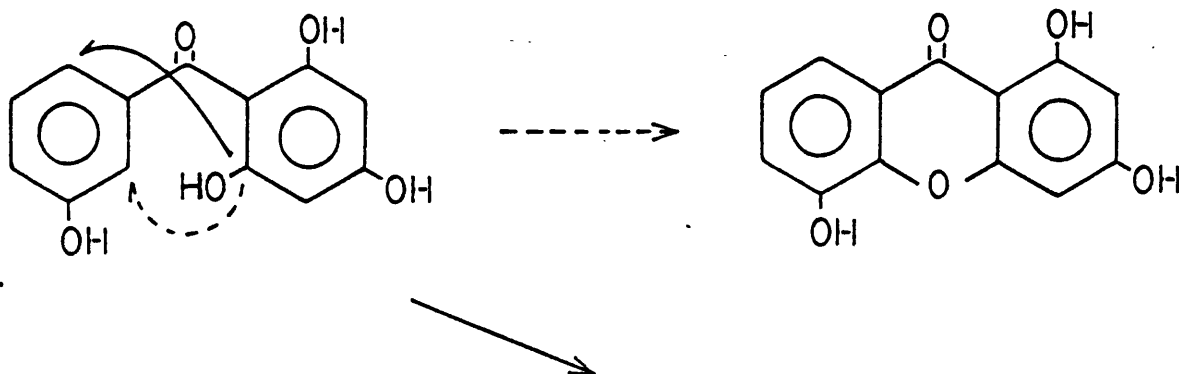


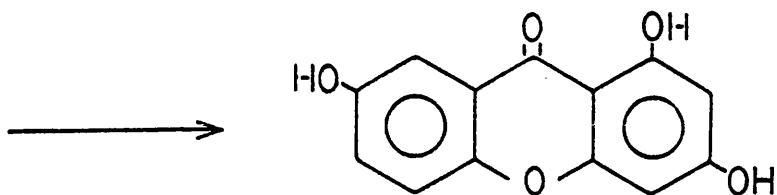
El ácido sikímico puede combinarse con tres unidades de acetato para dar lugar a benzofenonas (17):



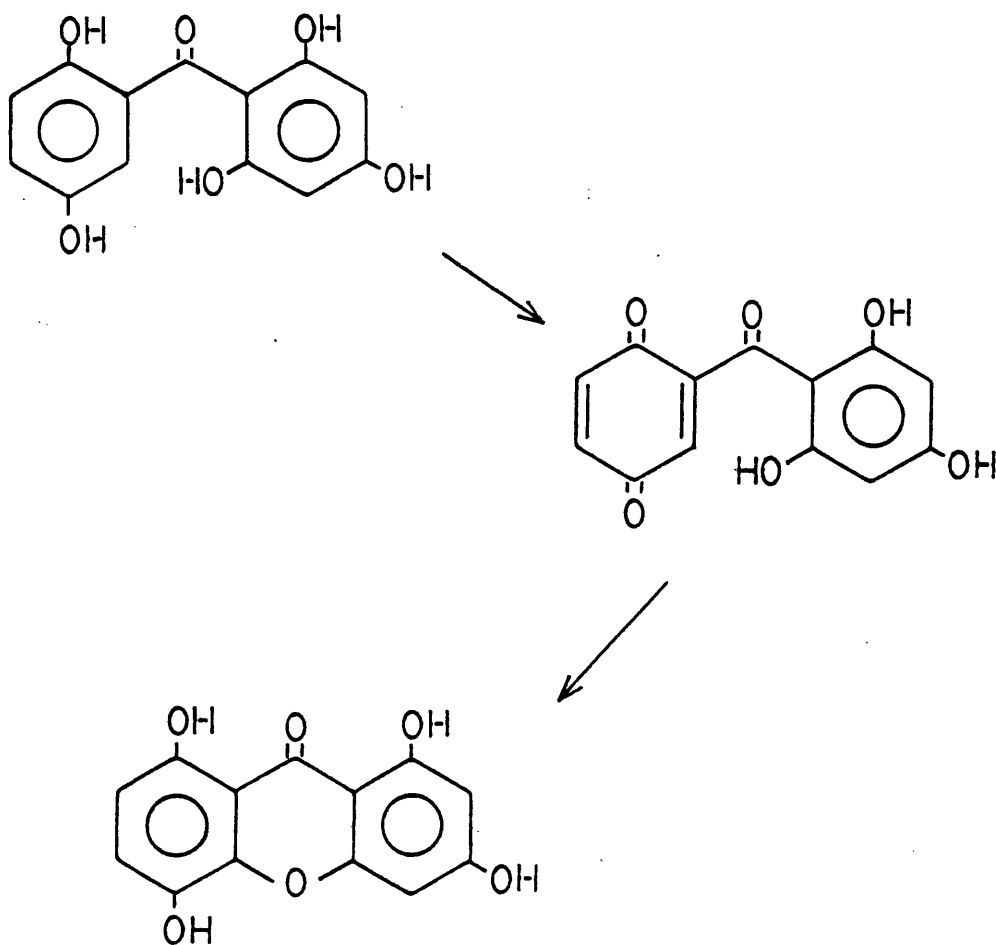
Dependiendo del grado de oxidación y de las posiciones que ocupen los oxígenos, en el anillo originado por el ácido sikímico, se han postulado diferentes caminos de ciclación de la benzofenona intermedia (31,34-36):

1. Copulación oxidativa de 2,3'-dihidroxibenzofenonas. Vía radical intermedio.

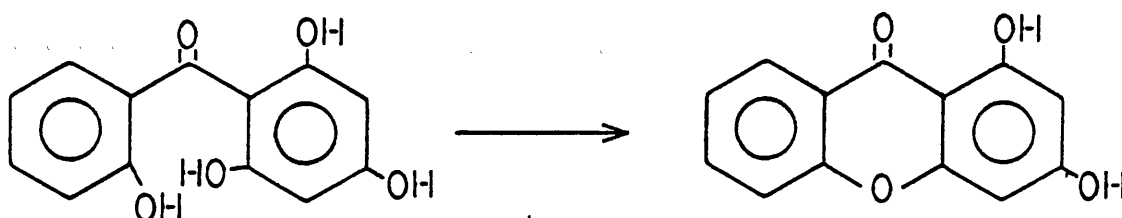




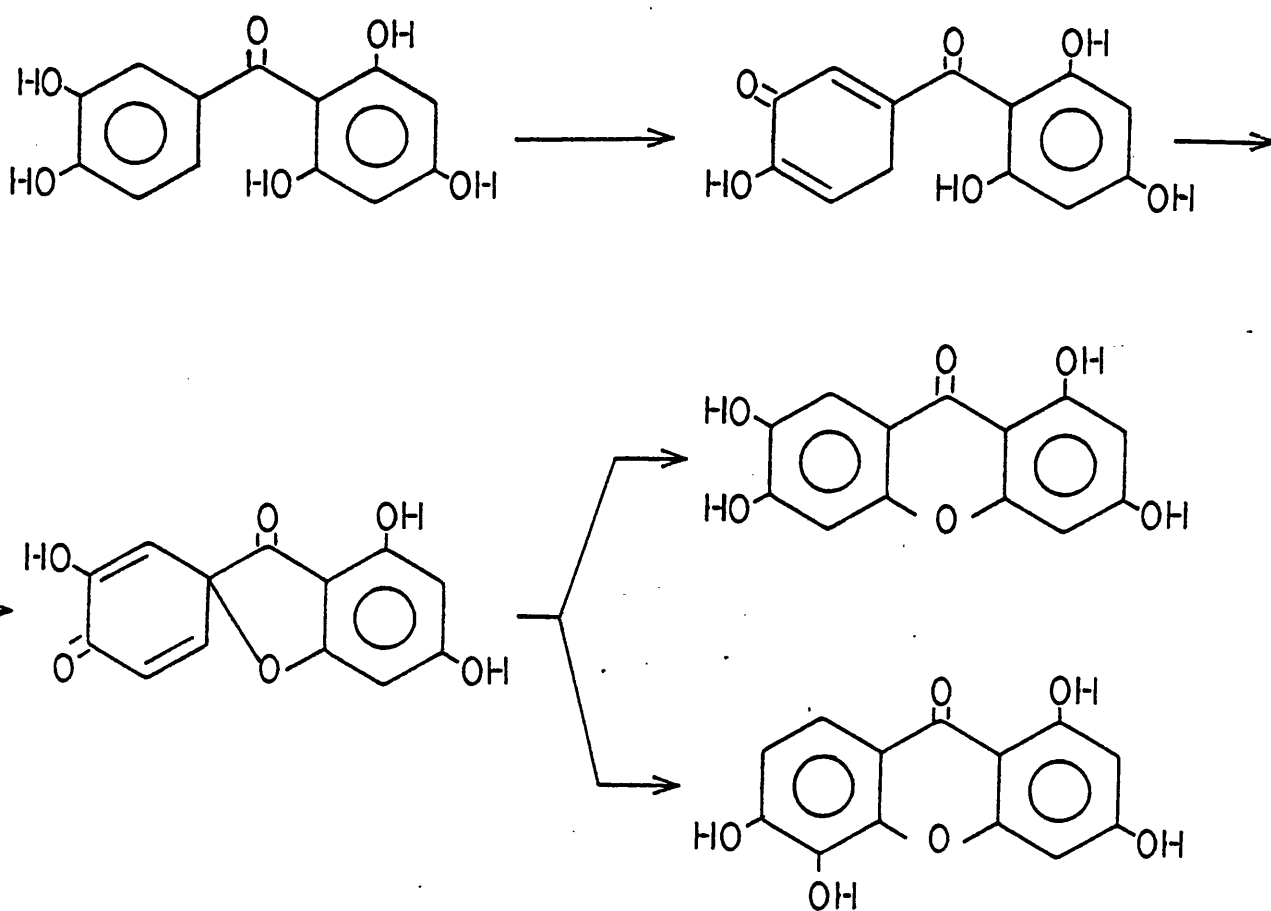
2. Adición intramolecular de grupos hidroxilo en intermedios de tipos quinoideo.



3. Deshidratación entre grupos hidroxilo de la 2,2'-dihidroxibenzofenona, mediante su apropiado intermedio activado (como un pirofosfato):



4. Mediante un intermedio tipo spirociclohexadienona.



Constante común en todas las xantonas biosintetizadas por la vía acético-sikímico, es la aparición de ese anillo 1,3-dioxigenado, y cuyo origen está en el ácido acético y en ocasiones puede aparecer como mono- o dioxigenado, pero difícilmente tri o tetraoxigenado. El segundo anillo, obtenido a partir del ácido sikímico puede aparecer con una enorme variedad de posiciones oxigenadas.

### 3. PARTE TEORICA

CARACTERISTICAS ESPECTRALES  
DE LOS COMPUESTOS XANTONICOS

### 3.1. CARACTERISTICAS DE LOS ESPECTROS IR DE XANTONAS

La espectroscopía infrarroja no es muy utilizada en el estudio de este tipo de compuestos, ya que es poca la información que puede suministrar sobre las características estructurales de estas moléculas. Casi todos los estudios sobre xantonas centran la atención sobre el estudio de la banda de absorción correspondiente al carbonilo y las posibles influencias de determinados sustituyentes sobre dicha frecuencia (37). Recientemente aparecen otros trabajos centrandó su atención en otras frecuencias del espectro (38).

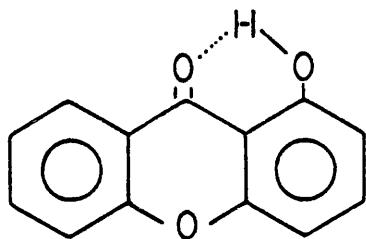
El espectro de IR de los compuestos xantónicos presenta bandas típicas entre 1667 y 1538  $\text{cm}^{-1}$ . La banda en la región de 1667  $\text{cm}^{-1}$  se asigna a la frecuencia de tensión del carbonilo situado entre los dos anillos bencénicos. Dicha frecuencia puede sufrir desplazamientos a mayores longitudes de onda (de 14 a 28  $\text{cm}^{-1}$ ) según la sustitución de la molécula, sobre todo por la presencia de grupos hidroxilo en orto al carbonilo.

Las bandas (generalmente dos o tres) situadas entre 1626 y 1538  $\text{cm}^{-1}$  son debidas a las vibraciones de los enlaces C=C de los anillos aromáticos.

Por lo tanto la aparición de 3 ó 4 bandas en la región antes mencionada, es típica de compuestos xantónicos, destacando como más interesante la frecuencia de absorción del carbonilo, claramente inferior a lo que es frecuente.

La ausencia de banda en la región hidroxílica puede indicar la no existencia de grupos hidroxilo en la molécula, o si existen, lo serán en posición 1 y/o 8, ya que se forma un enlace por puente de hidrógeno con el carbonilo situado en orto y su presencia no se refleja en el espectro, salvo por el hecho, que antes hemos indicado, de un desplazamiento de la frecuencia del carbonilo a longitudes de onda más altas.





La xantona sin ningún sustituyente presenta una banda de absorción, para la tensión C=O, a  $1689\text{ cm}^{-1}$ , las 1-hidroxixantonas a  $1645\text{ cm}^{-1}$  y las 2- y 3-hidroxixantonas la presentan a  $1639\text{ cm}^{-1}$ .



### 3.2. CARACTERISTICAS DE LOS ESPECTROS DE U.V. DE XANTONAS

La espectroscopia U.V. es muy utilizada en la identificación de compuestos xantónicos, ya que proporciona valiosa información acerca de la sustitución y la naturaleza de dicha sustitución en un núcleo de xantona.

El desplazamiento que sufren las bandas del espectro (realizado en metanol) al añadirse los reactivos que a continuación estudiaremos, localiza las posiciones ocupadas por los grupos hidroxilo en la molécula de xantona (39,40). También hay estudios que relacionan la posición de las tres o cuatro bandas características de una xantona, en su espectro en metanol, con el tipo de sustitución oxigenada que posee la misma, tanto si lo es por grupos hidroxilo o metoxilo (41-44).

La preparación y obtención de los espectros se lleva a cabo según el método descrito por Mabry y col. (45), estudiándose la modificación sufrida por el espectro original tras añadir los siguientes reactivos: NaOMe, NaOAc, NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub>/HCl.

#### 3.2.a. Determinación de los coeficientes de extinción

En el espectro de U.V. obtenemos dos datos directamente: la longitud de onda de absorción de una molécula y las absorbancias que cada una de esas absorciones conlleva. En términos de espectroscopía ultravioleta-visible, los datos que acompañan a las longitudes de onda de absorción vienen dados por el logaritmo del coeficiente de extinción de forma sistematizada.

La fórmula que relaciona las absorbancias con los coeficientes de extinción es la siguiente (46):

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot l$$

A = Absorbancia

$I_0$  = Intensidad de la luz incidente

I = Intensidad de la luz transmitida

$\epsilon$  = Coeficiente de extinción molar

c = Concentración del producto, en moles/litro

l = Espesor de la cubeta (1 cm).

En cada uno de los productos obtenidos, se especificarán los coeficientes de extinción así obtenidos para las longitudes de onda del espectro en metanol.

### 3.2.b. Espectro en metanol (MeOH)

El espectro en MeOH se obtiene registrando una disolución del producto en MeOH (especial para espectroscopía de la casa Merck) y utilizando una cubeta con metanol como referencia.

Las xantonas suelen mostrar tres o cuatro bandas entre las longitudes de onda: 225-245, 245-270, 300-345 y 335-410.

Diversos estudios relacionan las posiciones O-sustituídas de una xantona, con los valores concretos de los máximos de su espectro U.V.

Las Tablas I y II reflejan la variación de los máximos de absorción en el U.V. para xantonas tetra o penta-O-sustituídas en función de la diferente localización de los sustituyentes sobre el anillo xantónico (47-61).

No es un estudio completo, pero sirva de ejemplo.

Tomemos los valores obtenidos para algunas xantonas: la 1,3,5,6-tetrahidroxixantona presenta los siguientes máximos: 253, 281 y 326 nm y la 5-hidroxi-1,3,6-trimetoxixantona: 248, 285 y 311 nm (62) que se encuentran dentro de los rangos que se exponen en la tabla I. Tomando un ejemplo de xantonas pentaoxigenadas: la 1-hidroxi-2,3,4,7-tetrametoxixantona muestra las siguientes absorciones: 234, 270, 301 y 387 nm (49) y la 1,7-dihidroxi-2,3,4-trimetoxixantona: 236, 268, 301 y 392 nm (48), que se encuen

TABLA I

Máximos de absorción en el U.V. de xantonas tetra-O-sustituidas, en metanol

<u>Tipo de sustitución</u>	<u>Máximos en U.V. (nm)</u>				
1,2,3,5	240-245	249-255	263-265(h)	300-314	365-375(h)
1,2,3,7	238		262	300-301	363-376
1,2,3,8		249-252	285-296		361-371
1,2,6,7		256	280	321	384
1,3,4,5	242	260	282		347 380
1,3,4,7	232-236	259-268		300-319	369-388
1,3,4,8	236 242			313 340	
1,3,5,6	241-253		280-287	310-338	
1,3,5,8	250-255	275-280		330-335	390-400
1,3,6,7	235-240	250-255		305-310	350-365
1,3,6,8	240 246		274	305	
1,3,7,8	238-242	258-268		310-330	370-380
1,5,6,7	230-250	253-260		290-315	360-380
2,3,4,6	246-247		272-274	312-313	

TABLA II

Máximos de absorción en el U.V. de xantonas penta-O-sustituidas, en metanol

<u>Tipo de sustitución</u>	<u>Máximos en U.V. (nm)</u>					
1,2,3,4,5	243-246		252	295		355
1,2,3,4,7	234-243		260-268	270-288	301-310	370-392
1,2,3,4,8	240	248		290	305	350
1,2,3,5,8	237	242		273		360
1,2,3,6,7		244-259		270-274	313-315	345-365
1,2,3,6,8	232		254	273	333	
1,2,3,7,8	231-242			260-264	307-325	380-396
1,3,4,5,8	225-231		254-256	276-280		330-347
1,3,4,7,8	235			266	308	341
1,3,5,6,7	230-242		250-260		315-317	350-355

tran dentro de los rangos que se exponen en la tabla II.

Ghosal y col. dan estos datos como concluyentes para la localización de las posiciones oxigenadas en una xantona pero no diferenciando, en ningún caso, que la influencia sea diferente según el sustituyente sea hidroxilo o metoxilo.

### 3.2.c. Espectro en metóxido sódico (NaOMe)

El espectro se registra después de añadir una gota de una solución de NaOMe (2.5 gr de Na metálico en 10 ml de MeOH) a la solución de la xantona en MeOH. Se registra de nuevo al cabo de 5-10 minutos de la adición para ver si hay descomposición.

El metóxido sódico, por ser una base fuerte, ioniza todos los grupos hidroxilo de la xantona, produciendo cambios en la intensidad de las bandas y en sus longitudes de onda. Xantonas sin grupos hidroxilo se identificarán por ausencia de variación entre este espectro y el registrado en MeOH.

Las 1-hidroxixantonas producen cambios en los que destaca la reducción de la intensidad del segundo pico principal.

Las 3-hidroxixantonas destacan por dar una intensa banda entre 345-365 nm en medio alcalino, donde las otras xantonas absorben débilmente. Las xantonas que poseen orto o para sistemas quinólicos se descomponen en medio básico. Las 1,2- y 1,4-dihidroxixantonas tienen una alta velocidad de descomposición, mayor que las 3,4-dihidroxixantonas. Las 2,3-dihidroxixantonas son sorprendentemente estables.

### 3.2.d. Espectros en acetato sódico (NaOAc)

El espectro se registra inmediatamente después de añadir un exceso de NaOAc anhidro, en polvo, a la cubeta que contiene la solución metanólica de la xantona.

Se vuelve a registrar al cabo de 5-10 minutos de la adición, para ver si hay descomposición.

La adición de acetato sódico a la disolución en metanol

dá información más selectiva que con metóxido sódico.

Por ser una base débil, ioniza los hidroxilos más ácidos. La acidez relativa de los hidroxilos fenólicos de cada uno de las cuatro diferentes posiciones del esqueleto de xantona puede distinguirse por comparación de este espectro con el realizado en metanol (40).

Las 1-hidroxixantonas presentan el mismo espectro en MeOH y en NaOAc.

Las 2-hidroxixantonas presentan prácticamente el mismo espectro en MeOH y NaOAc, si no tiene sustituyentes en orto. Si los tiene, ambos espectros pueden considerarse muy parecidos pero no idénticos.

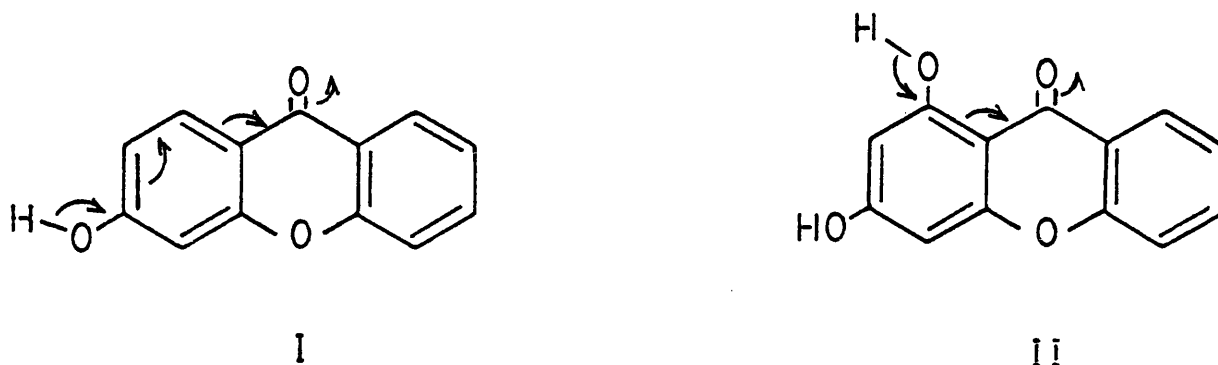
Las 3-hidroxixantonas presentan el mismo espectro en NaOMe y NaOAc, ya que son los hidroxilos más ácidos.

Las 4-hidroxixantonas presentan una acidez intermedia, y su espectro en NaOAc es diferente, aunque próximo, al realizado en MeOH, pero muy distinto al realizado en NaOMe.

Las 1,8-dihidroxixantonas no se ven afectadas por la adición de NaOAc, por lo que este registro será idéntico al de metanol.

Las 1,6-dihidroxixantonas presentan el mismo efecto que las 3-hidroxixantonas.

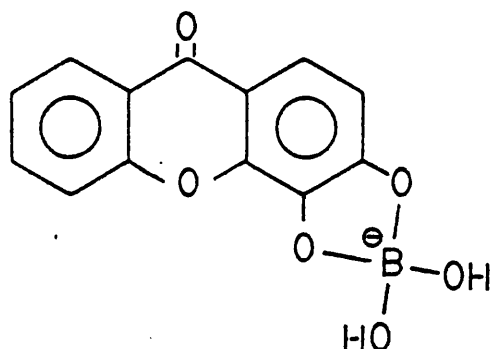
Las 1,3-dihidroxixantonas no presentan el mismo espectro en NaOMe y NaOAc, por lo que deben ser menos ácidas. Lins Mesquita y col. (39) atribuyen el fenómeno al hecho de que la pronunciada acidez de los hidroxilos en posición 3, debida a la carga de estabilidad (fórmula I), se ve disminuida si un efecto mesomérico semejante, de retirar electrones, incluye un grupo hidroxilo orto al carbonilo situado en el mismo anillo (fórmula II).



3.2.e. Espectro en acetato sódico y ácido bórico (NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)

El espectro se registra después de la adición de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> anhidro, en polvo, en suficiente cantidad para conseguir una solución saturada, a la cubeta que contiene la solución metanólica de la xantona, saturada de NaOAc.

En presencia de acetato sódico, el ácido bórico forma complejos quelados con los grupos hidroxilo situados en posiciones orto en una xantona, luego, si los hay, se producirá un registro con máximos en distintas longitudes de onda que los anteriormente descritos.



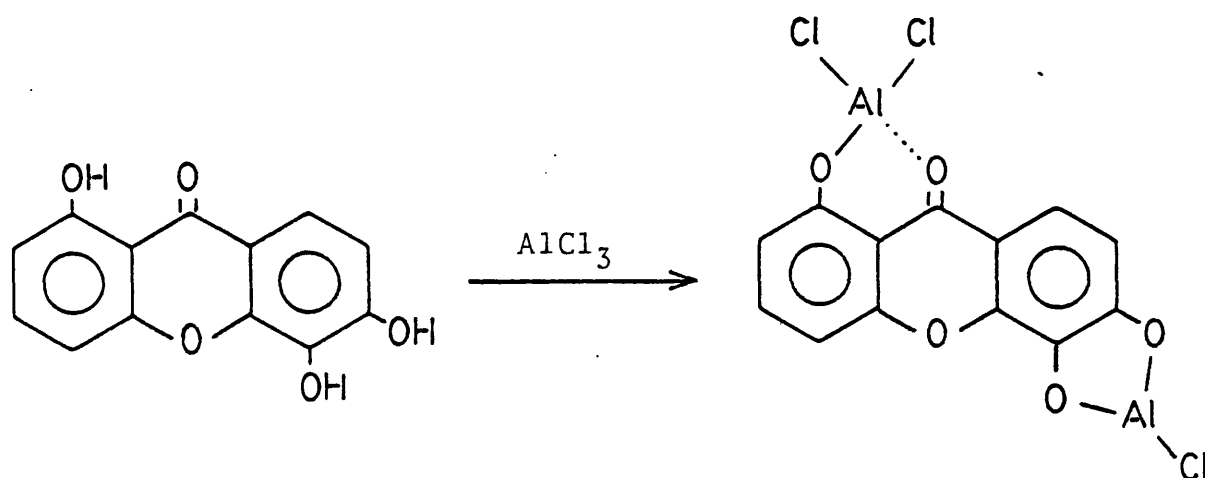
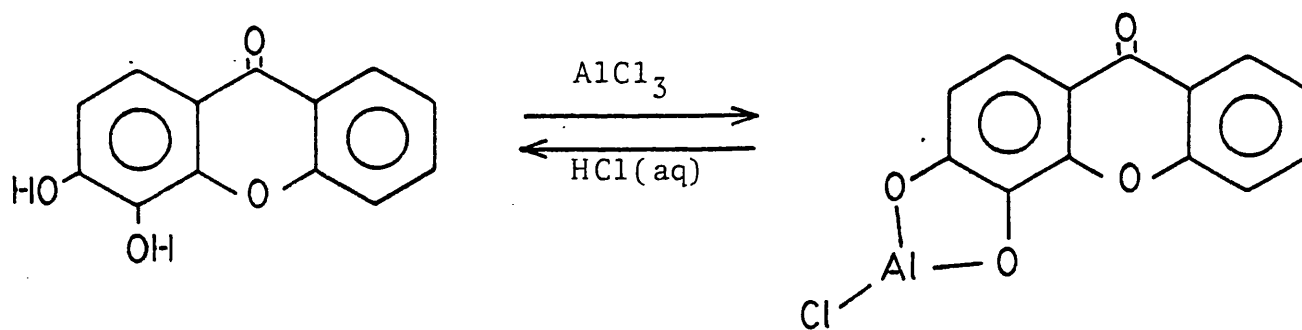
3.2.f. Espectro en tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) y en tricloruro de aluminio y ácido clorhídrico ( $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ )

El espectro se registra, en primer lugar, tras agregar dos gotas de una disolución metanólica de  $\text{AlCl}_3$  al 5%, a la solución de xantona en MeOH. A continuación, se hace un nuevo registro después de haber agregado dos gotas de una solución de HCl al 50% a la cubeta que contiene la solución metanólica de la xantona con  $\text{AlCl}_3$ .

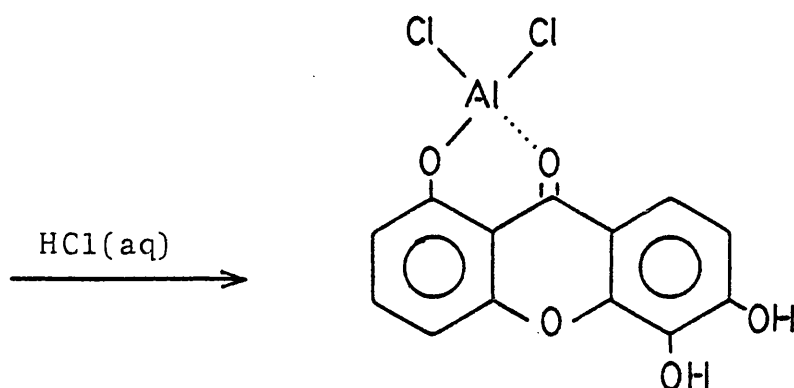
El tricloruro de aluminio forma complejos estables en medio ácido, con grupos hidroxilo situados en la posición 1 (y/o 8) de un anillo de xantona.

Si existen dos grupos hidroxilo en orto también se forman estos complejos, pero son inestables en medio ácido.

Las reacciones que se producen se detallan a continuación:



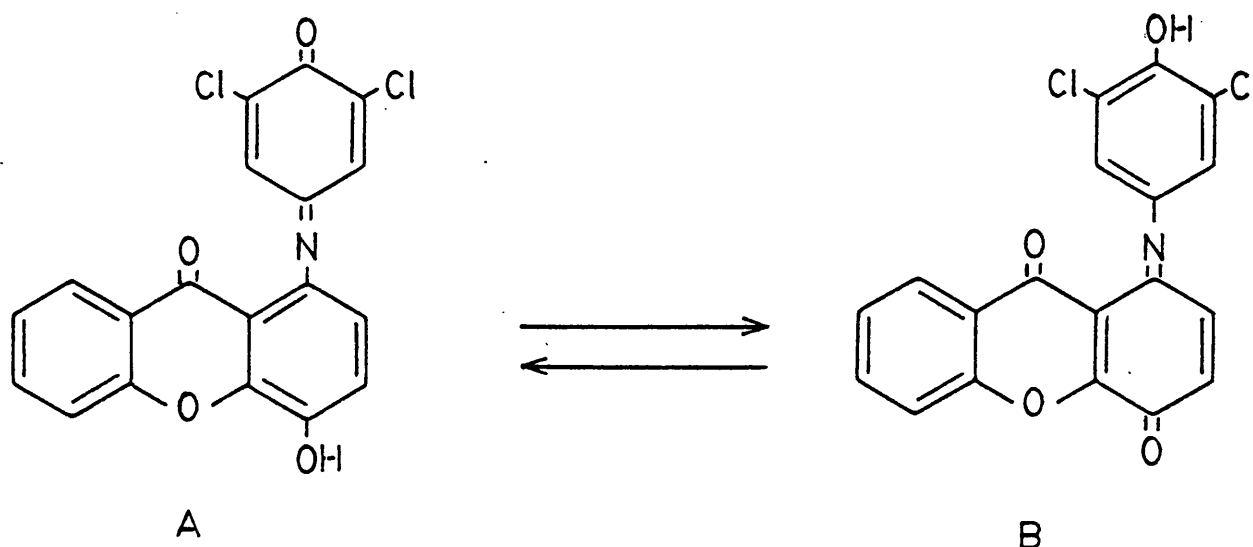


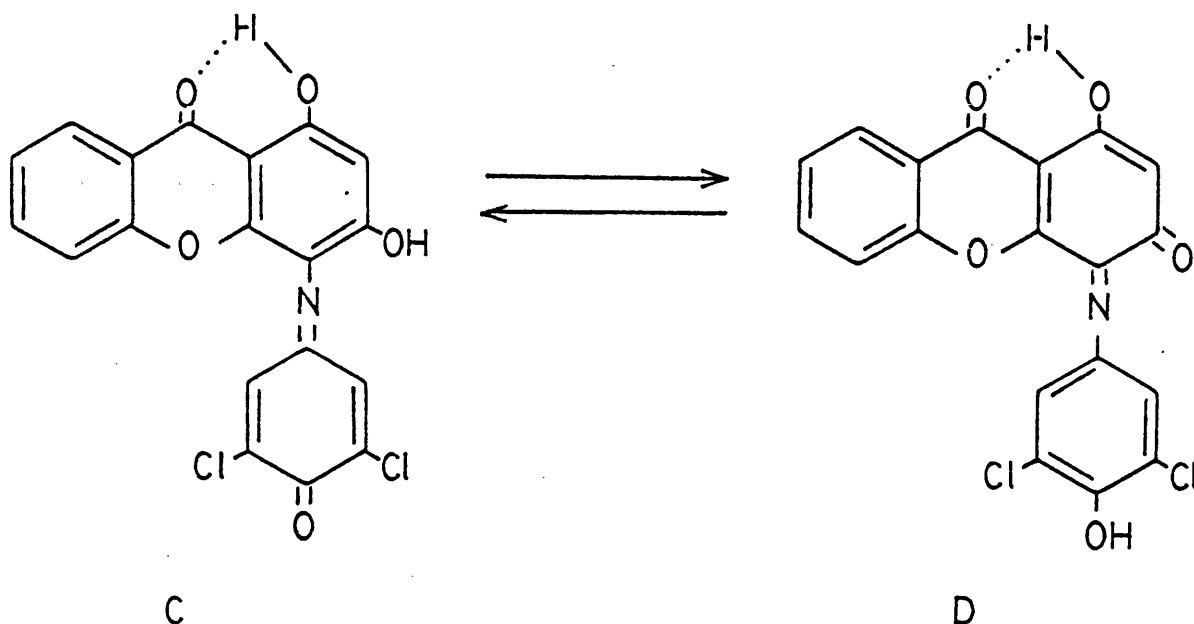


Las 1-hidroxixantonas y las orto-dihidroxixantonas presentan un efecto batocrómico del segundo pico principal de, aproximadamente, 20 nm, diferenciándose unas de otras por la estabilidad del complejo en medio ácido, de las primeras frente a las segundas; es decir, las 1-hidroxixantonas presentarán el mismo espectro en  $\text{AlCl}_3$  y en  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ .

### 3.2.g. Test de Gibbs

King y col. (63) estudiaron la formación de indofenoles con 2,6-diclorobenzoquinona clorimida (reactivo de Gibbs) usado para detectar posiciones para libres a un OH fenólico, a través de una banda de absorción, en su espectro de U.V. entre 500 y 700 nm debido al cromóforo azul del indofenol.





Aunque se ha indicado que en ciertos casos el test no es aplicable (64), Lins-Mesquita y col. (39) remarcan su fiabilidad, al menos en el campo de las xantonas. En las xantonas los grupos hidroxilo con posiciones para no-sustituidas pueden situarse en C-1 y C-4.

Las 1-hidroxixantonas presentan un máximo de absorción entre 660-700 nm y las 4-hidroxixantonas entre 710-750 nm.

Las 4-hidroxi (A  $\rightleftharpoons$  B) y las 1,3-dihidroxixantonas (C  $\rightleftharpoons$  D) incluyen una absorción adicional, de baja intensidad, debida al equilibrio entre las dos formas tautómeras que se muestran en la figura anterior.

Las 2- y 3-hidroxixantonas no absorben en la región entre 350-750 nm, bajo las condiciones de este test.

El procedimiento a seguir para realizar el test de Gibbs es el siguiente:

Se preparan cuatro disoluciones:

SOLUCION A: Se disuelve 1 mgr de compuesto en 6 ml de piridina y se añaden 14 ml de un tampón de borato pH=9.2.

SOLUCION B: Se mezclan 6 ml de piridina con 14 ml del tampón anterior.

SOLUCION C: Se disuelve 1 mgr de 2,6-diclorobenzoquinona clorimida en 10 ml de solución A.

SOLUCION D: Se disuelve 1 mgr de 2,6-diclorobenzoquinona clorimida en 10 ml de solución B.

Se registra el espectro de la solución A, usando la solución B como blanco.

Después de 10 minutos de preparadas las soluciones C y D, se registrará el espectro de la solución C, usando la solución D como blanco.

### 3.3. CARACTERISTICAS DE LOS ESPECTROS DE RMN DE XANTONAS

Numerosas investigaciones se han desarrollado en el estudio de esta técnica para la elucidación estructural de las xantonas (65-67).

a) En cuanto a los sustituyentes en el anillo xantónico, cabe destacar, como más interesante la señal de los hidrógenos de los hidroxilos situados en posiciones 1 y/o 8, que aparecen a  $\delta$  11-13 ppm. Este valor, a campo tan bajo, es debida al puente de hidrógeno intramolecular que forma con el grupo carbonilo en orto (68).

Los hidroxilos que no forman puente de hidrógeno con el carbonilo (posiciones distintas a la 1 y 8) pueden sufrir interconversión con el agua que acompaña al disolvente utilizado para registrar el espectro (69).

Si su localización se hace necesaria se deberá utilizar DMSO- $d_6$  sacado de ampollas recién abiertas, como comenta Mabry (45), y en este caso, los datos bibliográficos los sitúa de 9 a 11 ppm (70).

b) El estudio de la zona aromática en su espectro de RMN puede darnos mucha información sobre la posición de los protones aromáticos en una xantona. Martin y col. (71) indican que los protones en posición 1 y 8 de un anillo de xantona dan señales a campo más bajo, debido al desapantallamiento provocado por el grupo carbonilo situado en orto. Las señales de estos protones siempre aparecen a  $\delta > 8$  ppm.

El efecto de anisotropía magnética provocado por el grupo carbonilo implica que los protones en posición 1 y 3 se ven muy influenciadas por el disolvente utilizado, mientras que para los protones 2 y 4 esta influencia es mínima (66).

Análogamente se relaciona la naturaleza del solvente con los valores de las constantes de acoplamiento (72). Las constantes de acoplamiento orto aumentan con el aumento de la constante dieléctrica del disolvente.

Acoplamientos complejos de los protones aromáticos en xantonas poco sustituidas pueden ser resueltas por su espectro de RMN a 200 MHz y por estudios de doble resonancia.

El efecto diamagnético de los grupos hidroxilo y alcoxi provocan desplazamientos adicionales a cada protón según su situación orto, meta o para de cada sustituyente a un protón determinado (66), según se refleja en la Tabla III.

TABLA III

Desplazamiento (ppm) de las señales de los protones aromáticos, en un anillo de xantona, por la introducción de grupos hidroxilo o alcoxi.

<u>Solvente</u>	<u>Posición relativa de H/OR</u>		
	<u>orto</u>	<u>meta</u>	<u>para</u>
CDCl <sub>3</sub>	0.55	0.15	0.50
(D <sub>3</sub> C) <sub>2</sub> CO	0.60	0.20	0.55
(D <sub>3</sub> C) <sub>2</sub> SO	0.65	0.15	0.60

Según Barraclough y col. (66) usando, como base, los parámetros fundamentales que indican, e incrementando los valores, en ppm, con los desplazamientos causados por cada sustituyente oxigenado, es posible calcular el campo donde aparecerán los protones aromáticos de las xantonas que posean solo grupos hidroxilo y/o alcoxi, como sustituyentes.

En general, parece que cada uno de los anillos aromáticos, en este tipo de moléculas, no interfiere en el otro, en los espectros de resonancia magnética nuclear de protón, salvo en casos muy particulares y siempre son efectos de poca intensidad.

c) También se han realizado estudios sobre la variación que se provoca en los desplazamientos químicos de los protones aromáticos por la acetilación de grupos hidroxilo. Massicot y col. (73,74) dan unas reglas para las variaciones que se



producen en los desplazamientos químicos:

1°) Los acetoxilos situados en posiciones 1 y 8 de un anillo xantónico dan una señal entre 2.40-2.50 ppm. Para todas las demás posiciones la señal es inferior a 2.40 ppm, generalmente entre 2.30 y 2.35 ppm.

2°) Las variaciones de los protones aromáticos provocadas por la introducción de uno o varios grupos acetoxilo, son:

- Si el acetoxilo no está en orto a otro acetoxilo:

-0.23 a -0.35 ppm para protones en orto al acetoxilo

+0.02 a +0.11 ppm para protones en meta al acetoxilo

-0.02 a -0.15 ppm para protones en para al acetoxilo

- Si el acetoxilo está en orto a otro acetoxilo:

-0.07 a -0.15 ppm para protones en orto al acetoxilo

-0.03 a +0.16 ppm para protones en meta al acetoxilo

-0.10 a -0.14 ppm para protones en para al acetoxilo

3°) La variación de los protones aromáticos, provocada por la acetilación de un hidroxilo en posición 1, son:

$\Delta\delta = +(0.22 \text{ a } 0.29)$  ppm para H-2 (orto al hidroxilo que pasa a ser acetoxilo).

$\Delta\delta = -(0.03 \text{ a } 0.10)$  ppm para H-3 (meta al hidroxilo que pasa a ser acetoxilo).

$\Delta\delta = +(0.33 \text{ a } 0.49)$  ppm para H-4 (para al hidroxilo que pasa a ser acetoxilo).

Por lo tanto, pueden determinarse posiciones hidroxiladas en una xantona estudiando la variación del espectro de RMN del compuesto tras la acetilación.

Sin embargo, la metilación de un hidroxilo prácticamente no modifica el valor del desplazamiento químico de los hidrógenos aromáticos, situados en el mismo anillo.

### 3.4. CARACTERISTICAS DE LOS ESPECTROS DE MASAS DE XANTONAS

En el campo de las xantonas se han hecho pocos estudios sistemáticos de sus espectros de masas. Arens (75), en 1973, hace un estudio exhaustivo de las principales rupturas en algunas hidroxí y metoxixantonas.

El ión molecular suele ser un pico de gran porcentaje, llegando en algunos casos a ser el pico base. Se observan los picos  $(M+1)^+$  y  $(M+2)^+$ .

#### 3.4.a. Cálculo de la fórmula empírica a partir del espectro de masas de baja resolución.

Para obtener la fórmula empírica de estos compuestos, se observan los porcentajes de los picos correspondientes a los iones  $M^+$ ,  $(M+1)^+$  y  $(M+2)^+$ .

En la abundancia del ión molecular isotópico  $(M+1)^+$  influyen:  $C^{13}$  (abundancia en la naturaleza 1.1%),  $N^{15}$  (abundancia 0.36%) y D (despreciable). En  $(M+2)^+$  influyen  $O^{18}$  (abundancia 0.20%) y  $C^{13}$  (76).

Las fórmulas que relacionan dichas abundancias son las siguientes:

$$\frac{(M+1)^+}{M^+} \times 100 = 1.1 n + 0.36 l$$

$$\frac{(M+2)^+}{M^+} \times 100 = \frac{(1.1 n)^2}{200} + 0.20 m$$

donde:  $n = n^\circ$  de átomos de carbono  
 $m = m^\circ$  de átomos de oxígeno  
 $l = l^\circ$  de átomos de nitrógeno.

Aplicando los datos de la abundancia relativa de los picos isotópicos en cada caso, podemos obtener la fórmula empírica del compuesto.

Este método no siempre da buen resultado puesto que en la abundancia del pico  $(M+1)^+$  puede englobarse al del ión de protonación.

3.4.b. Cálculo de la fórmula empírica a partir del espectro de masas de alta resolución.

Los espectrógrafos de masas de alta resolución (enfoco doble) determinan la masa exacta del ión molecular o fragmentaria hasta con cuatro cifras decimales, de cuyo dato puede obtenerse, directamente, la composición elemental.

Los pesos atómicos monoisotópicos no son números enteros exactos en relación al carbono  $C^{12} = 12.000000$  (Tabla IV), por lo que una medición de masa suficientemente exacta puede distinguir entre los iones isobáricos, entendiéndose por iones isobáricos los que tienen el mismo peso, redondeando al número entero más próximo.

TABLA IV

Masas nucleares exactas

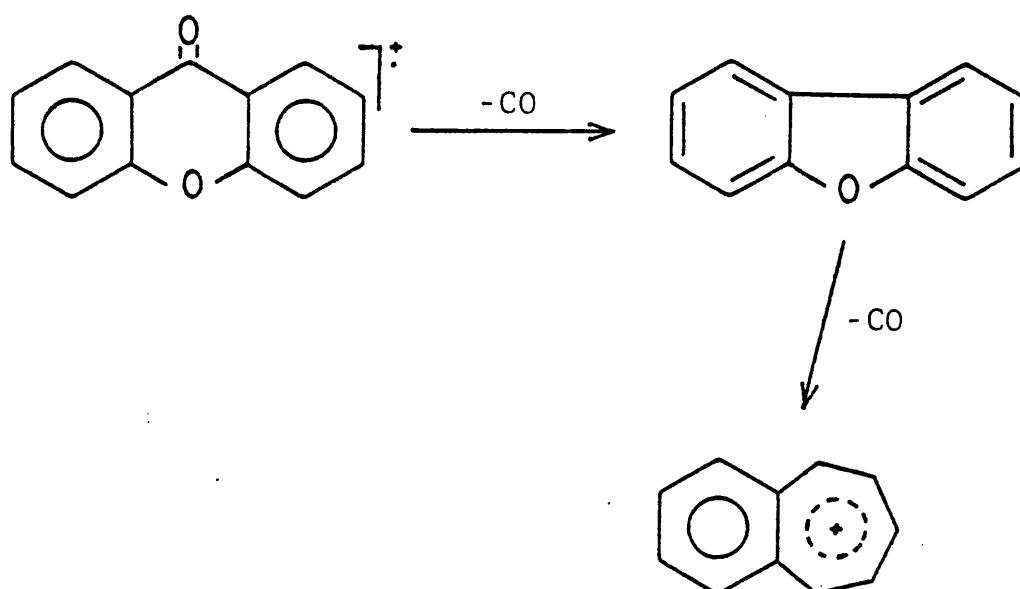
<u>Isótopo</u>	<u>Peso Atómico</u>
H <sup>1</sup>	1.007825
H <sup>2</sup>	2.014102
C <sup>12</sup>	12.000000
C <sup>13</sup>	13.003354
N <sup>14</sup>	14.003074
O <sup>16</sup>	15.994915
O <sup>18</sup>	17.999160
F <sup>19</sup>	18.998405
Si <sup>28</sup>	27.976929
P <sup>31</sup>	30.973765
S <sup>32</sup>	31.972073
Cl <sup>35</sup>	34.968851
Br <sup>79</sup>	78.918329
I <sup>127</sup>	126.904470



McLafferty (77) ha constituido una extensa tabla de composiciones elementales frente a masas para usar en espectrometría de masas de alta resolución.

### 3.4.c. Rupturas características en los E.M. de las xantonas

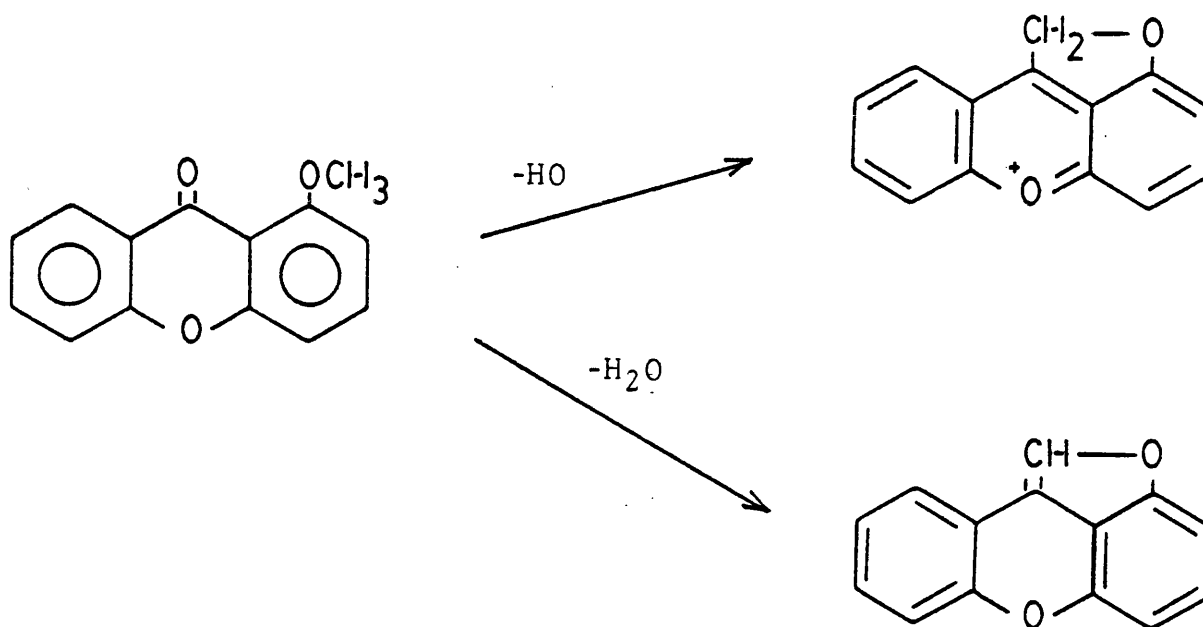
Lo más característico de un anillo de xantona son las sucesivas pérdidas de CO (28 uma) que se observan en el espectro.



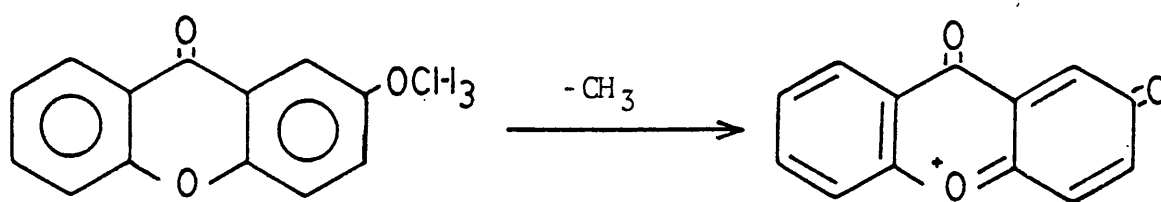
La posición de un metoxilo en un anillo xantónico puede deducirse de los siguientes datos:

a) La ausencia de picos correspondientes a la pérdida de OH y H<sub>2</sub>O ( $M^+ - 17$  y  $M^+ - 18$ ) del ión molecular excluye la existencia de un grupo metoxilo en la posición 1 (u 8) del núcleo de xantona. Según la bibliografía (78-80) pérdidas de elementos de agua del ión molecular sugieren la presencia de un grupo metoxilo adyacente al carbonilo y el pico de mayor intensidad en las 1-metoxixantonas corresponde a la pérdida de CHO del ión molecular (75).





b) Las 2- y 4-metoxixantonas presentan como ruptura más característica la pérdida de radicales metilo a partir del ión molecular (81-82). Estas pérdidas dan lugar a la obtención de quinonas:



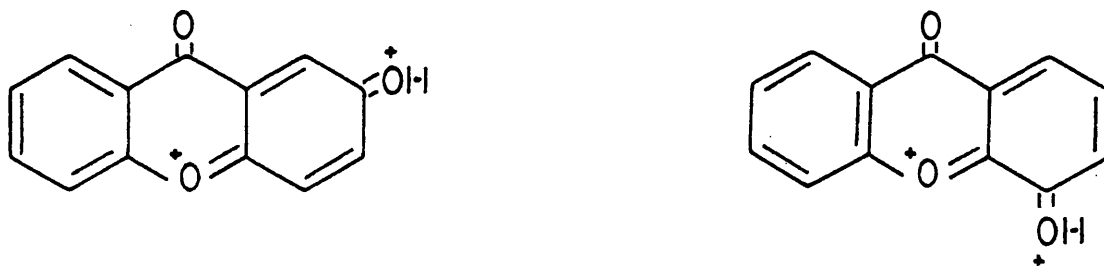
c) Las 1- y 3-metoxixantonas eliminan los grupos metoxilos como formaldehído (30 uma) preferentemente (78).

d) La bibliografía (75) indica que las 2- y 4-metoxixantonas carecen del pico de carga doble (M-CO)<sup>++</sup>, siendo para las 3-metoxixantonas más importante el pico (M-CO)<sup>+</sup> que el M<sup>++</sup>

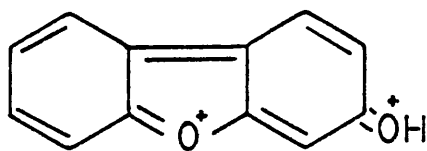
y esta importancia mucho más acusada para las 1-metoxixantonas.

Respecto de las xantonas monohidroxiladas sólo las 3-hidroxixantonas presentan un ión  $(M-OH)^+$  suficientemente importante para poder apreciarse en el espectro (75).

De forma análoga que con las xantonas monometoxiladas para las 1- y 3-hidroxixantonas es más abundante al ión  $M^{++}$ , mientras que para las 2- y 4-hidroxixantonas es más abundante el ion  $(M-CO)^{++}$ . Esto es debido a que el ión  $M^{++}$  está estabilizado por conjugación para las 2- y 4-hidroxixantonas:



Mientras que las 1- y 3-hidroxixantonas no pueden formar sistemas conjugados similares, para la eliminación de una molécula de CO conduce a la formación de iones de carga doble, las cuales pueden ser estabilizadas por conjugación, en estructuras tales como:



Cuando se tienen xantonas polihidroxi o polimetoxi-sustituidas, se entrecruzan todos estos factores, resultando mucho más difícil la asignación de los sustituyentes, siendo la fórmula empírica casi el único dato que es posible obtener de su estudio, con fiabilidad.

#### 4. ESTUDIO DEL EXTRACTO HEXANICO.

Tallos, hojas y flores de Centaurium linarifolium (Lamark)G. Beck fueron recogidos y secados al aire.

Una vez secos, se muelen finamente y se extraen en continuo, con hexano, en un extracto Soxhlet, hasta agotamiento.

De esta manera se obtiene el extracto hexánico.

##### Separación y fraccionamiento

El extracto hexánico de Centaurium linarifolium se concentra a sequedad, por eliminación total del disolvente, dando una masa semisólida de color marrón oscuro.

El residuo se reedisuelve en etanol caliente. Tras enfriamiento de la disolución, queda insolubilizada la parte cérea del extracto, que se separa por filtración.

La parte del extracto soluble en etanol frío se concentra a sequedad y se interpone, en primer lugar, con una disolución acuosa de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 5% y después con una disolución acuosa de NaOH al 5%. De esta forma obtenemos el extracto hexánico, libre de ceras, dividido en tres partes: componentes neutros, ácidos y fenólicos.

El presente trabajo ha abordado el estudio de los componentes fenólicos.

##### Cromatografía de columna de los componentes fenólicos

Los componentes fenólicos del extracto hexánico presentan las siguientes bandas características en su espectro de IR (fig.1):

3400 $\text{cm}^{-1}$	tensión O-H alcohol
3040-2850 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1720 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O

1650, 1625 y 1600 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C esqueleto aromático
1460 $\text{cm}^{-1}$	deformación $-\text{CH}_2-$
1290, 1210 y 1160 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O

La mezcla bruta de los componentes fenólicos se fraccionó por cromatografía de columna sobre sílica-gel, eluyéndola con mezclas de hexano-éter etílico, de polaridad creciente, y recogiendo fracciones de 100 ml. El estudio de las distintas fracciones se realizó por c.c.f., utilizando como revelador  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 50%, y agrupándose aquellas fracciones de comportamiento análogo.

Han sido obtenidas seis agrupaciones de fracciones, como se indica en la tabla V.

TABLA V

Columna cromatográfica de los componentes fenólicos del extracto hexánico

<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Compuestos cristalinos aislados</u>
$X_I$	(20-25)	A - 1,8-Dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona.
		B - 1,8-Dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona.
$X_{II}$	(26-40)	A - 1,8-Dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona.
		C - 1,8-Dihidroxi-2,6-dimetoxixantona
$X_{III}$	(57-75)	D - 1,6-Dihidroxi-3,5-dimetoxixantona
$X_{IV}$	(80-85)	E - 1,3,8-Trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona.
		F - 1,3,8-Trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-Trihidroxi-4-metoxixantona





#### 4.1. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN $X_I$ : SEPARACION DE A Y B.

De la reunión de fracciones 20-25, eluidas de la columna con hexano-éter etílico (80:20), se obtiene la agrupación  $X_I$ .

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que intensifica su color amarillo, cuando la placa se somete a vapores de amoníaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  50%.

Por cristalización de  $X_I$  en  $CHCl_3/MeOH$  se obtienen unos cristales amarillos, que estudiamos como compuesto A.

Las aguas madres del  $X_I$ , por cristalización en acetona, dan lugar a un sólido amarillo, de comportamiento físico y espectral diferente al compuesto A, que estudiamos como compuesto B.



4.1.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO A: 1,8-DIHIIDROXI-2,3,4,6-TETRAME-TOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

El compuesto A, obtenido como se ha indicado, mostr6 un aspecto cristalino, que revelaba pureza cromatogr6fica y cuyo punto de fusi6n es 173-174°C.

Interpretaci6n del espectro IR de A

El espectro de IR del compuesto A (fig.2) presenta las siguientes bandas caracteristicas:

3100-2850 cm <sup>-1</sup>	tensi6n C-H olef6nica y alif6tica
1655 cm <sup>-1</sup>	tensi6n C=O de carbonilo de xantona
1615, 1595 y 1565 cm <sup>-1</sup>	vibraci6n C=C del anillo arom6tico
1210 cm <sup>-1</sup>	deformaci6n C-O-C del puente et6reo de los dos anillos benc6nicos de la xantona(38)
1160 cm <sup>-1</sup>	vibraci6n C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>

Este espectro de IR y la coloraci6n en c.c.f. debida a los vapores amoniacaes, indica la presencia de un n6cleo de xantona.

Es de destacar la ausencia de banda hidroxilica en este espectro, que indica la inexistencia de grupos hidroxilo o su situaci6n en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> (38).

Interpretaci6n del espectro de RMN de A

El espectro de RMN de A (fig.3) realizado en Cl<sub>3</sub>CD, presenta las siguientes se6ales:

<u>Desplaza-</u> <u>miento δ</u>	<u>Integra-</u> <u>ci6n</u>	<u>Desdobra-</u> <u>miento</u>	<u>Posible</u> <u>asignaci6n</u>
11.9	1	singlete	-OH
11.8	1	singlete	-OH
6.4	1	doblete (J=1.3 Hz)	1 H-Ar acopla- do en meta
6.3	1	doblete (J=1.3 Hz)	1 H-Ar acopla- do en meta

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
4.2	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
4.0	6	singlete	2-OCH <sub>3</sub>
3.9	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN de A se deducen las siguientes conclusiones:

Posee dos hidroxilos en C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub>, como lo demuestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta \sim 12$  ppm) característico de OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo xantónico (68) y la ausencia de banda hidroxílica en el IR.

Posee dos hidrógenos aromáticos con acoplamiento meta ( $J=1.3$  cps) que deberá estar situados en C<sub>2</sub> y C<sub>4</sub> (dado que las posiciones C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> están ocupadas por sendos grupos OH).

Las otras cuatro posiciones, asequibles de sustitución en el núcleo xantónico, están ocupadas por grupos metoxilo (3 singletes, que integran 12 H de 4.2 a 3.9  $\delta$ ).

Estos datos serían concordantes con una estructura para A de 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona, compuesto no citado por la bibliografía (84). Para la asignación correcta se procedió al estudio de su espectro UV y EM así como al estudio de los derivados acetilado y metilado de A, con las conclusiones que a continuación se detallan.

#### Interpretación de los espectros UV de A

La localización de los dos OH de A, detectados en el RMN, se confirma por el estudio de su UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:



	$\lambda_{\max}$	nm	(log $\epsilon$ )	
MeOH	234(h)	259(4.05)	333(4.16)	380(h)
NaOMe	243	270	337	392(h)
NaOAc	234	259	333	
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	234	259	333	
AlCl <sub>3</sub>	277	330(h)	372	
AlCl <sub>3</sub> + HCl	277	330(h)	372	

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto A, en metanol (fig.4) presenta cuatro bandas, características de un anillo xantónico.

- Espectros en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.4), indica la existencia de grupos hidroxilo. Al no modificarse con NaOAc (fig.5), me indica que estos hidroxilos no son ácidos (C<sub>3</sub> y/o C<sub>6</sub>).

Hidroxilos en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> se pueden deducir por el efecto hipocrómico observado en el segundo pico principal, tras añadir NaOMe.

El espectro no se modifica con el tiempo, lo que demuestra la inexistencia de agrupaciones orto-dihidroxílicas.

- Espectros en AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub>+HCl

Al añadir AlCl<sub>3</sub> (fig.6) la banda de 234 nm sufre un fuerte efecto batocrómico, característico de grupos hidroxilo en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> o agrupaciones orto-dihidroxílicas.

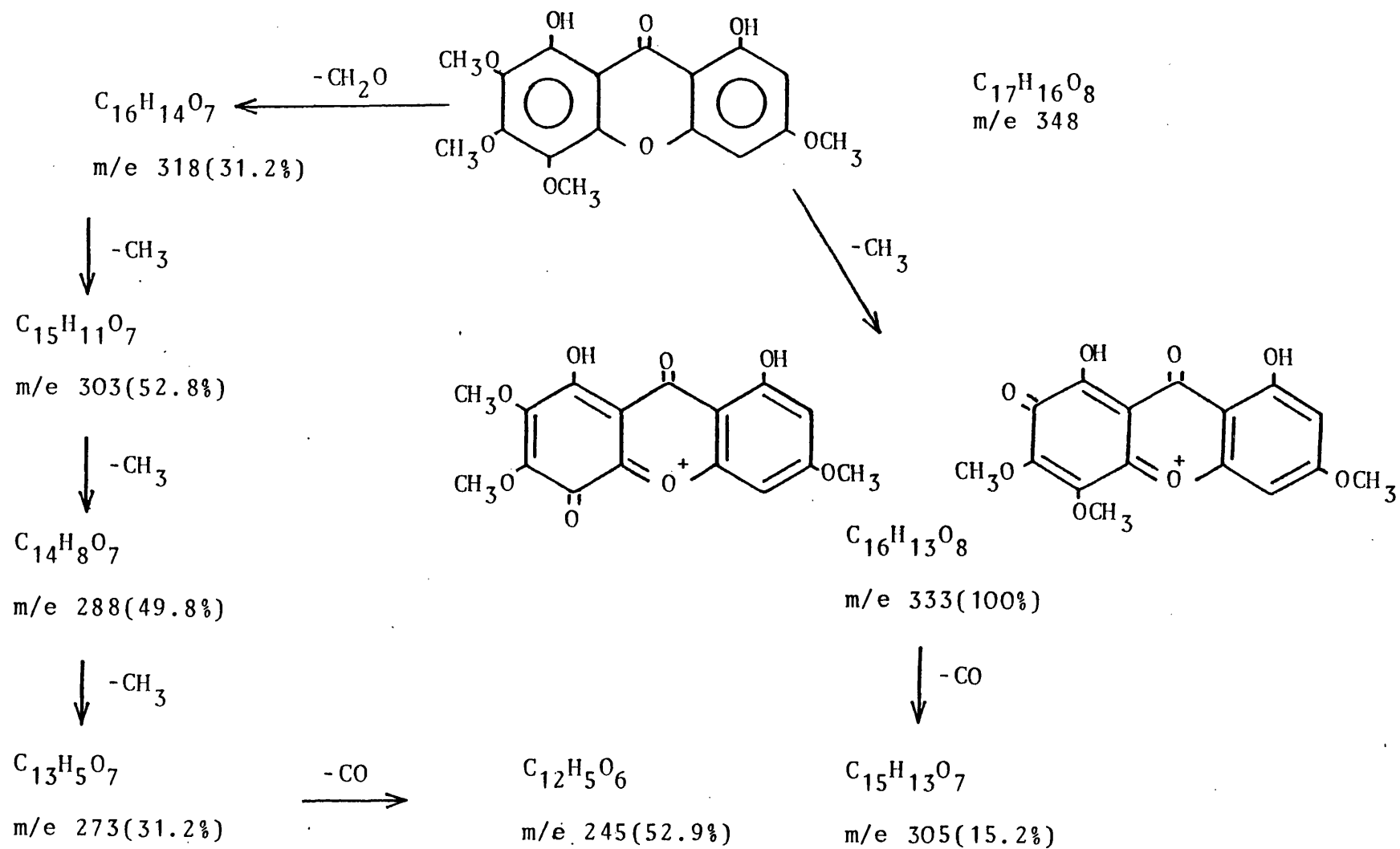
Al añadir HCl el espectro no sufre modificación lo que descarta las agrupaciones orto-dihidroxílicas.

Interpretación del espectro de masas de A

Del ión molecular y los picos isotópicos del EM (fig.7) se deduce para A una fórmula molecular de  $C_{17}H_{16}O_8$ .

El resto de picos confirma para A la estructura de 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona, con un conjunto de iones que pueden ser explicados según el siguiente esquema de fragmentación:

FRAGMENTOS PRINCIPALES EN EL EM DE A: 1,8-DIHIDROXI-2,3,4,6-TETRAMETOXIXANTONA



#### 4.1.1.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE A. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Con el fin de comprobar la estructura de A de forma inequívoca y debido a que se trata de un producto no citado en la bibliografía se procedió a su acetilación con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág.246). El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de metanol, rindiendo un sólido blanco de punto de fusión 144-145°C.

##### Interpretación del espectro de IR de A acetilado

El espectro de IR de A acetilado (fig.8) muestra las siguientes bandas características:

3040-2860 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1760 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O ester fenólico
1630, 1600, 1560 $\text{cm}^{-1}$	bandas características de xantonas
1205 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O ester fenólico
1160 $\text{cm}^{-1}$	vibración C-O-C de grupos C-O-CH <sub>3</sub>
1050 $\text{cm}^{-1}$	tensión Ar-O-C simétrica
835 $\text{cm}^{-1}$	flexión C-H aromático

Lo mas característico de este espectro, aparte de confirmar la existencia de un núcleo xantónico, es la presencia del carbonilo del acetato lo que indica la presencia de grupos hidroxilo en A, que no mostraba su existencia en el IR original.

##### Interpretación del espectro de RMN de A acetilado

El espectro de RMN de A acetilado (fig.9), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, muestra las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.87	1	doblete (J=2 Hz)	H-Ar acoplado en meta
6.59	1	doblete (J=2 Hz)	H-Ar acoplado en meta
4.10-3.85	12	4 singletes	4-OCH <sub>3</sub>
2.45-2.40	6	2 singletes	2-OCOCH <sub>3</sub>

La presencia de dos acetatos nos refleja la existencia de dos hidroxilos en el compuesto A. La variación en la resonancia de los HAR del compuesto original A a su derivado acetilado nos permite su correcta asignación. El compuesto A posee un anillo monohidroxilado ya que, tras acetilación, los HAR aromáticos se han desplazado 0.29 y 0.47 ppm, desplazamientos característicos de HAR orto y para respectivamente a la posición hidroxilada que pasa a ser acetilada. El H-7 será el que resonaba a 6.3  $\delta$  (0.29 ppm de desplazamiento) y el H-5 el lo hace a 6.4  $\delta$  (0.47 ppm de desplazamiento) (74).

#### 4.1.1.b. ESTUDIO DEL DERIVADO DIMETILADO DE A. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se obtiene el derivado dimetilado de A para dar lugar a la 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona, compuesto conocido, cuyos datos podemos comparar (85). Se hace reaccionar A con Me<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, según se describe en la parte experimental (pág.246). El producto así obtenido se purifica por cromatografía de capa fina preparativa, obteniéndose un producto pulverulento de punto de fusión 156-158°C.

#### Interpretación del espectro de IR de A dimetilado.

El espectro de IR de A dimetilado (fig.10) muestra las siguientes bandas características:

3040-2820 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1665 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O anillo xantónico
1620, 1590, 1565 $\text{cm}^{-1}$	vibración del anillo aromático (características de xantonas)
1405 $\text{cm}^{-1}$	flexión simétrica (C-H) de $-\text{OCH}_3$
1130 $\text{cm}^{-1}$	vibración C-O-C de $\text{C-OCH}_3$
815 $\text{cm}^{-1}$	flexión C-H aromática

Podemos observar un IR típico de una xantona, sin grupos hidroxilo, con las bandas características alrededor de  $1600 \text{ cm}^{-1}$ .

#### Interpretación del espectro de RMN de A dimetilado

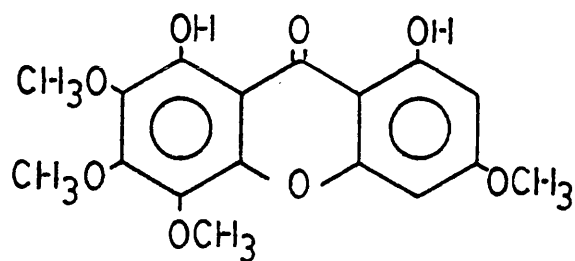
El espectro de RMN de A dimetilado (fig.11), realizado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.58	1	doblete ( $J=2 \text{ Hz}$ )	H-Ar acoplado en meta
6.40	1	doblete ( $J=2 \text{ Hz}$ )	H-Ar acoplado en meta
4.12-3.93	18	5 singletes	6- $\text{OCH}_3$

Los datos físicos y espectrales del derivado dimetilado de A fueron del todo concordantes con los dados por la bibliografía para 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona (85).

Del conjunto de datos obtenidos para A y sus derivados confirmamos para este compuesto la estructura de 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona, compuesto no citado en la bibliografía.





A. 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona

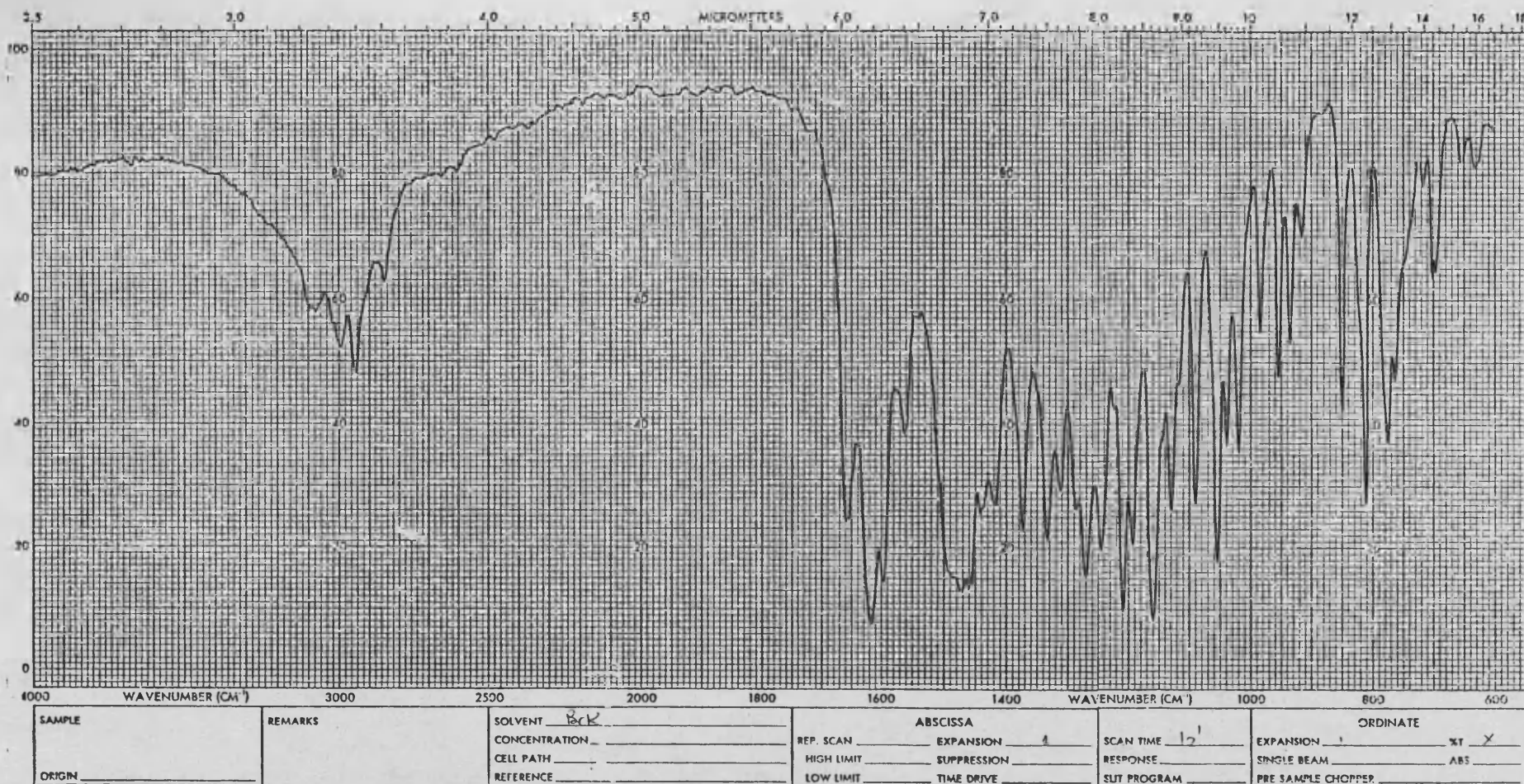


FIGURA 2: Espectro de IR de A: 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona

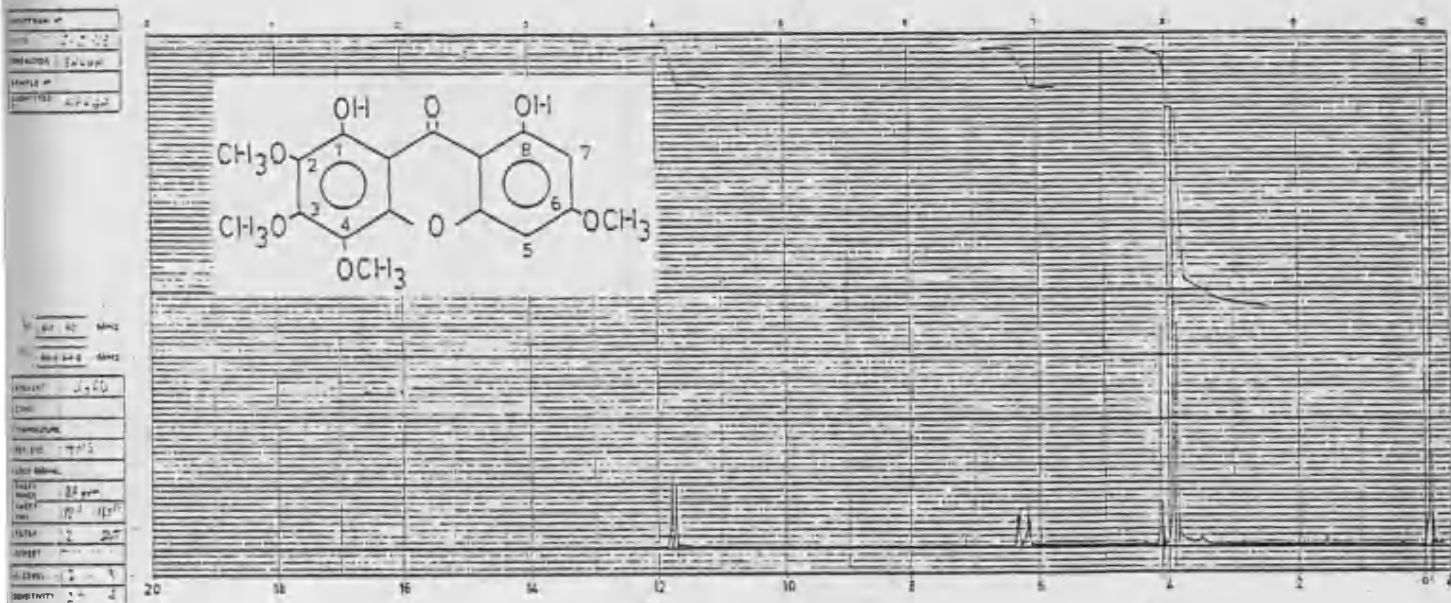


FIGURA 3: Espectro de RMN de A: 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxi-xantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
11.9	1	singlete	OH-1
11.8	1	singlete	OH-8
6.4	1	doblete (J=1.3 Hz)	H-5
6.3	1	doblete (J=1.3 Hz)	H-7
4.2	3	singlete	4-OCH <sub>3</sub>
4.0	6	singlete	
3.9	3	singlete	

FIGURA 4

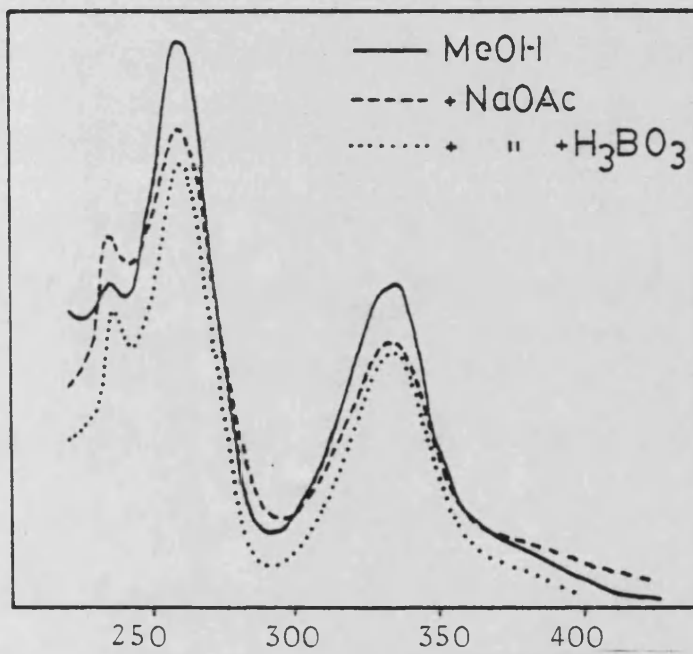
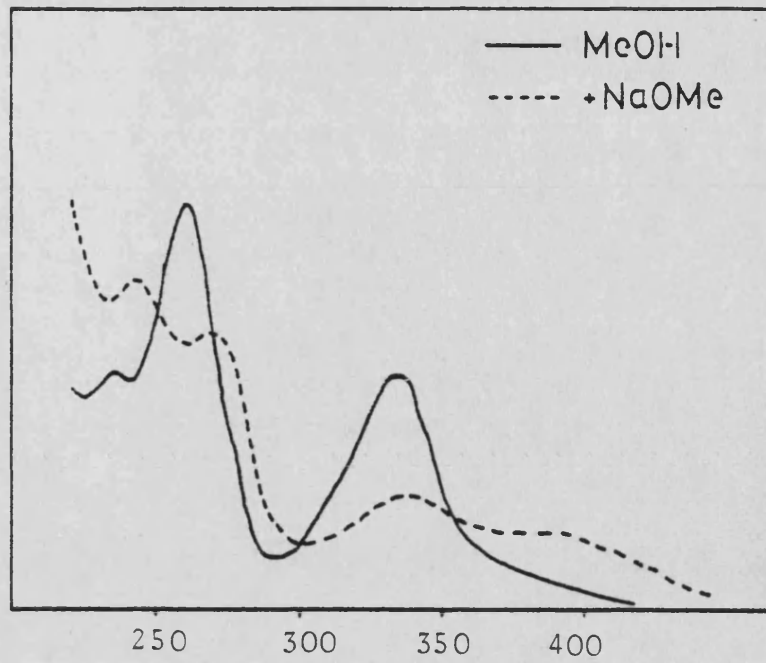
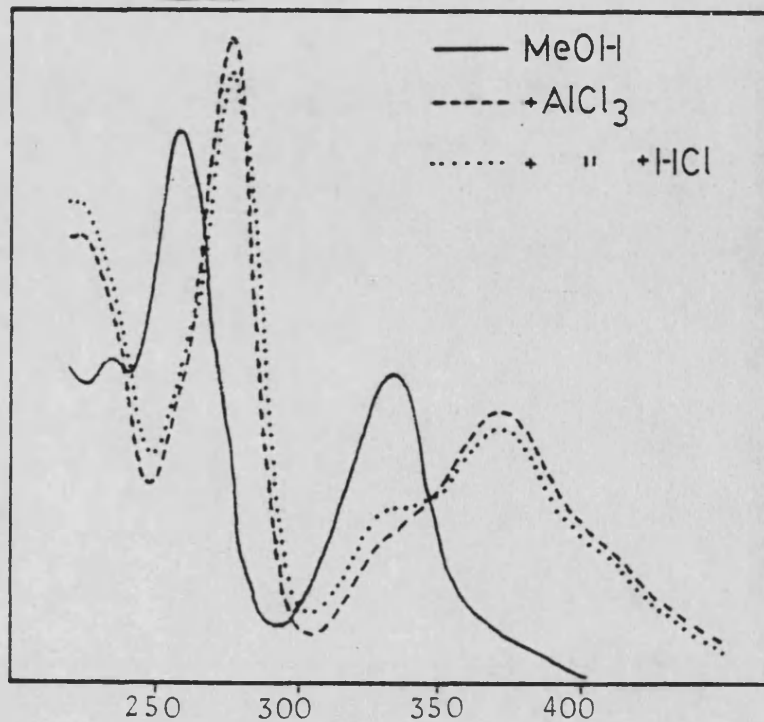


FIGURA 5

Espectros U.V. de A: 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona.

FIGURA 6



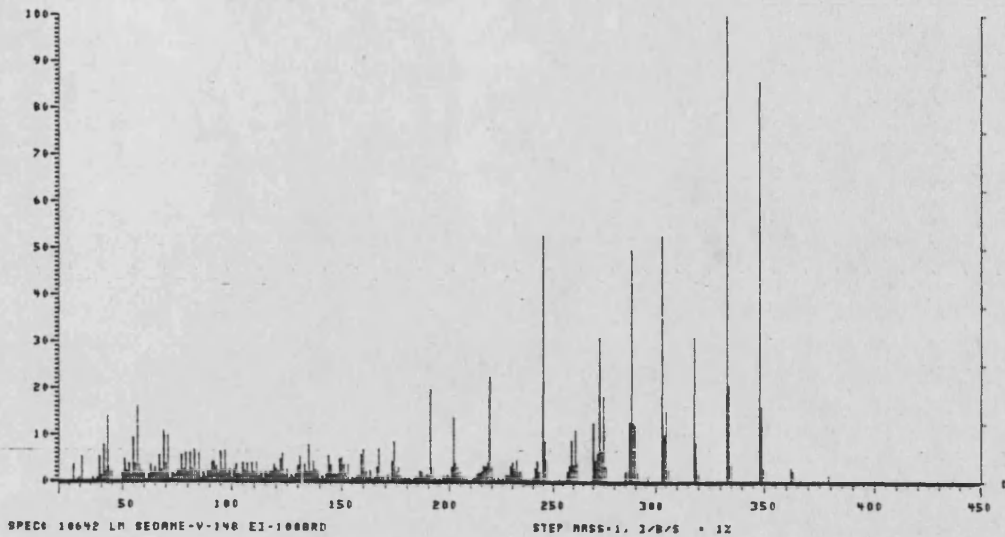


FIGURA 7: Espectro de masas de A: 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
4	294	0.04X	30.0	75	57	0.17X	100.6	1639	5.00X	150.1	168	0.51X	211.1		
5	1775	5.41X	31.1	76	804	2.64X	101.1	154	25	0.18X	151.4	238	295	0.90X	212.1
6	84	0.25X	31.1	77	1174	3.59X	102.1	155	1194	3.67X	151.4	239	557	1.70X	213.1
7	317	0.94X	35.6	78	642	1.95X	103.1	156	264	0.80X	151.4	240	25	0.07X	213.4
8	92	0.28X	36.7	79	479	1.46X	104.1	157	582	1.77X	152.1	241	443	1.36X	214.1
9	263	0.80X	37.8	80	1200	3.68X	105.1	158	1195	3.65X	152.1	242	693	2.11X	215.1
10	1775	5.42X	38.8	81	811	2.47X	106.1	159	562	1.71X	153.1	243	112	0.34X	216.0
11	121	0.36X	39.8	82	1275	3.89X	107.1	160	148	0.45X	154.1	244	125	0.38X	217.1
12	416	1.26X	41.0	83	82	0.25X	107.6	161	271	0.82X	155.2	245	135	0.41X	218.0
13	2516	7.98X	42.0	84	598	1.82X	108.1	162	217	0.66X	156.1	246	743	2.27X	219.0
14	733	2.23X	43.0	85	164	0.50X	108.6	163	367	1.12X	157.1	247	1025	3.12X	220.0
15	4624	14.14X	43.0	86	1230	3.75X	109.1	164	54	0.16X	157.6	248	269	0.81X	221.0
16	1034	3.15X	44.0	87	163	0.49X	109.5	165	487	1.48X	158.1	249	370	1.12X	222.0
17	478	1.42X	45.0	88	663	2.02X	110.1	166	52	0.15X	158.6	250	110	0.32X	223.0
18	53	0.16X	46.0	89	1373	4.19X	111.1	167	745	2.28X	159.1	251	1025	3.12X	224.0
19	624	1.90X	50.1	90	31	0.09X	111.3	168	265	0.80X	159.6	252	464	1.42X	225.0
20	1622	4.95X	51.1	91	404	1.23X	112.1	169	2271	6.97X	160.1	253	1112	3.39X	226.0
21	742	2.26X	52.1	92	42	0.12X	112.5	170	640	2.01X	161.1	254	1369	4.17X	227.0
22	1709	5.19X	53.1	93	605	1.84X	113.1	171	171	0.51X	161.1	255	910	2.77X	228.0
23	354	1.07X	54.1	94	54	0.16X	113.5	172	289	0.88X	162.1	256	1499	4.57X	229.0
24	3040	9.19X	55.1	95	233	0.71X	114.0	173	798	2.43X	163.1	257	706	2.16X	230.0
25	39	0.11X	55.2	96	55	0.16X	114.5	174	183	0.55X	164.1	258	252	0.76X	231.0
26	1244	3.74X	57.1	97	733	2.23X	115.0	175	321	0.97X	165.1	259	193	0.58X	232.0
27	5322	16.24X	57.1	98	464	1.42X	116.0	176	1042	3.18X	166.0	260	146	0.44X	233.0
28	87	0.26X	57.3	99	666	2.03X	117.0	177	745	2.28X	166.0	261	146	0.44X	234.0
29	1160	3.54X	58.1	100	666	2.03X	118.0	178	2322	7.10X	167.0	262	116	0.35X	235.0
30	811	2.47X	59.1	101	1189	3.62X	119.0	179	71	0.21X	167.0	263	27	0.08X	236.0
31	549	1.67X	60.1	102	904	2.75X	120.0	180	300	0.91X	168.0	264	914	2.79X	237.0
32	158	0.48X	61.1	103	613	2.42X	121.0	181	367	1.12X	169.0	265	1462	4.46X	238.0
33	465	1.41X	62.1	104	54	0.16X	122.0	182	449	1.36X	170.0	266	152	0.46X	239.0
34	1146	3.50X	63.1	105	122	0.37X	122.0	183	162	0.49X	170.0	267	1732	5.28X	240.0
35	602	1.84X	64.1	106	136	0.41X	122.5	184	158	0.48X	172.0	268	2205	6.55X	241.0
36	1003	3.06X	65.1	107	2023	6.22X	123.0	185	1393	4.25X	173.0	269	1523	4.64X	242.0
37	608	1.85X	66.1	108	51	0.15X	123.5	186	226	0.68X	174.0	270	217	0.64X	243.0
38	1036	3.11X	67.1	109	26	0.08X	123.5	187	374	1.14X	174.5	271	265	0.79X	244.0
39	553	1.66X	68.1	110	25	0.08X	124.1	188	718	2.19X	175.0	272	266	0.79X	245.0
40	2594	7.87X	69.1	111	852	2.60X	125.1	189	1021	3.11X	176.0	273	1145	3.48X	246.0
41	51	0.15X	69.2	112	240	0.72X	126.1	190	32	0.09X	176.3	274	268	0.79X	247.0
42	811	2.47X	70.1	113	423	1.32X	127.1	191	456	1.39X	177.0	275	2611	7.83X	248.0
43	3224	9.84X	71.1	114	288	0.87X	128.0	192	194	0.56X	178.0	276	1276	3.81X	249.0
44	204	0.62X	72.1	115	64	0.21X	128.5	193	332	1.01X	179.1	277	4114	12.56X	250.0
45	616	1.88X	73.0	116	563	1.71X	129.0	194	204	0.62X	180.1	278	1489	4.54X	251.0
46	410	1.25X	74.0	117	146	0.45X	129.5	195	257	0.78X	181.1	279	197	0.59X	252.0
47	603	1.85X	75.0	118	1146	3.49X	130.0	196	153	0.46X	182.1	280	1023	3.12X	253.0
48	742	2.26X	76.0	119	112	0.34X	130.5	197	231	0.70X	183.0	281	275	0.82X	254.0
49	1804	5.50X	77.0	120	1759	5.36X	131.0	198	323	1.07X	184.1	282	4026	12.36X	255.0
50	856	2.61X	78.0	121	141	0.43X	131.5	199	323	1.07X	185.1	283	1129	3.44X	256.0
51	1982	6.06X	80.0	122	481	1.46X	132.0	200	768	2.34X	186.1	284	674	2.05X	257.0
52	574	1.75X	81.1	123	1165	3.55X	133.1	201	252	0.77X	186.3	285	4254	12.68X	258.0
53	2036	6.21X	82.1	124	44	0.13X	134.3	203	32	0.10X	187.1	286	16321	49.21X	259.0
54	466	1.41X	83.1	125	44	0.13X	134.3	203	32	0.10X	188.1	287	4194	12.60X	260.0
55	2230	6.80X	84.1	126	2552	7.72X	135.1	204	544	1.66X	189.1	288	222	0.68X	261.0
56	742	2.26X	85.1	127	79	0.24X	135.3	205	27	0.08X	189.4	289	729	2.22X	262.0
57	2000	6.10X	86.1	128	20	0.09X	135.5	206	445	1.41X	190.1	290	138	0.42X	263.0
58	197	0.60X	86.1	129	677	2.06X	136.0	207	6506	19.85X	191.1	291	397	1.21X	264.0
59	561	1.77X	87.1	130	200	0.61X	136.5	208	110	0.33X	191.5	292	3345	10.22X	265.0
60	250	0.76X	88.1	131	1435	4.38X	137.1	209	1054	3.21X	192.1	293	4997	15.25X	266.0
61	740	2.25X	89.1	132	104	0.31X	137.5	210	286	0.87X	193.1	294	870	2.62X	267.0
62	722	2.20X	90.1	133	864	2.60X	138.1	211	141	0.43X	194.2	295	870	2.62X	268.0
63	1355	4.13X	91.1	134	215	0.65X	138.6	212	407	1.24X	195.1	296	1821	5.52X	269.0
64	1429	4.36X	92.1	135	256	0.78X	139.1	213	188	0.58X	196.2	297	2704	8.22X	270.0
65	1105	3.27X	93.1	136	215	0.65X	140.1	214	407	1.24X	197.1	298	604	1.84X	271.0
66	324	0.96X	93.6	137	395	1.20X	141.1	215	172	0.52X	198.3	299	109	0.33X	272.0
67	506	1.54X	94.1	138	205	0.61X	142.1	216	414	1.26X	199.1	300	65	0.19X	273.0
68	2104	6.42X	95.1	139	513	1.55X	143.1	217	313	0.95X	200.1	301	124	0.38X	274.0
69	847	2.58X	96.1	140	212	0.64X	143.6	218	1012	3.10X	201.1	302	3270	10.00X	275.0
70	2155	6.58X	97.2	141	1809	5.52X	144.1	219	4517	13.70X	202.1	303	6820	20.51X	276.0
71	577	1.73X	98.1	142	26	0.07X	144.3	220	1228	3.72X	203.1	304	124	0.37X	277.0
72	632	1.92X	99.2	143	327	0.99X	144.6	221	1056	3.21X	204.1	305	124	0.37X	278.0
73	56	0.17X	100.1	144	1155	3.52X	145.1	222	300	0.94X	204.4	306	300	0.91X	279.0
74	274	0.83X	100.1	145	54	0.16X	145.6	223	70	0.21X	205.1	307	132	0.40X	280.0
				146	54	0.16X	146.1	224	53	0.16X	205.4	308	28212	86.12X	281.0
				147	554	1.69X	146.1	225	424	1.29X	206.1	309	2844	8.61X	282.0
				148	55	0.16X	147.1	226	33	0.10X	206.4	310	948	2.89X	283.0
				149	46	0.14X	147.4	227	397	1.21X	207.3	311	115	0.35X	284.0
				150	497	1.51X	148.1	228	182	0.55X	208.1	312	1006	3.07X	285.0
				151	1436	4.49X	149.1	229	29	0.08X	208.6	313	70	0.21X	286.0
				152	38	0.11X	149.6	230	75	0.22X	210.2				



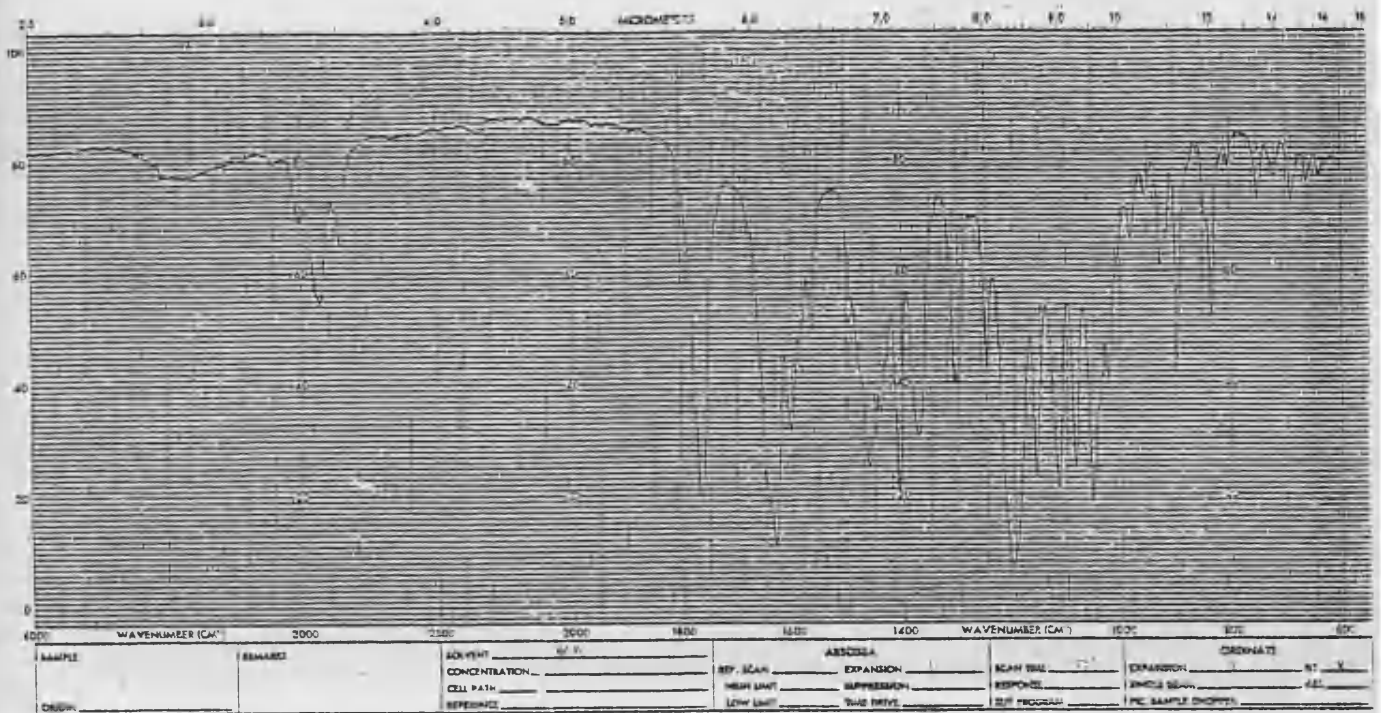


FIGURA 8: Espectro de IR de A acetilado: 1,8-diacetoxy-2,3,4,6-tetrametoxixantona.

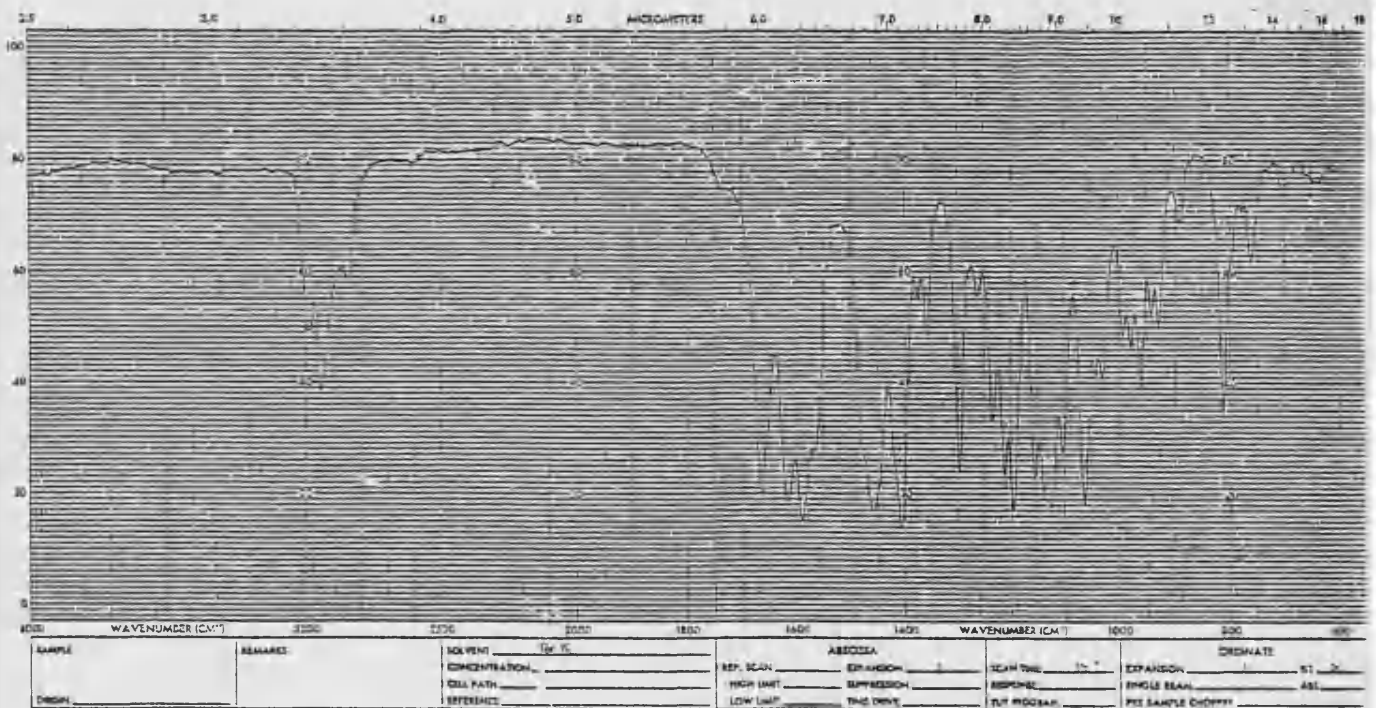


FIGURA 10: Espectro de IR de A dimetilado: 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona.

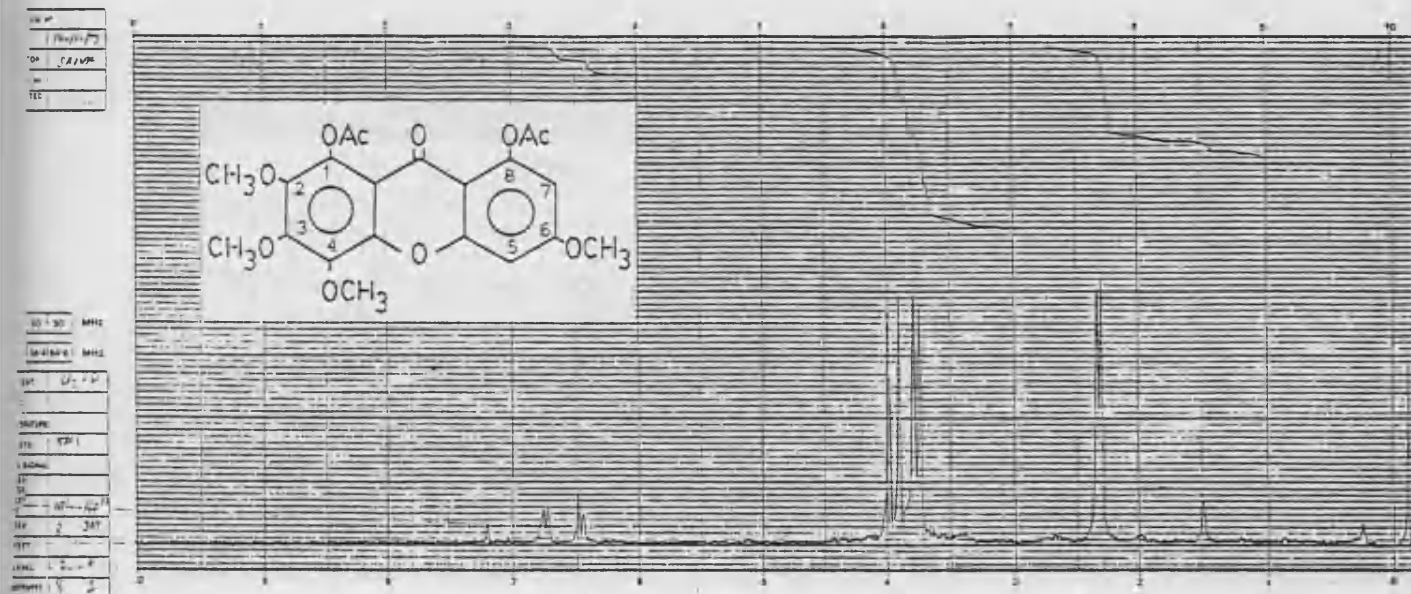


FIGURA 9: Espectro de RMN de A acetilado: 1,8-diacetoxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
6.87	1	doblete (J=2 Hz)	H-5
6.59	1	doblete (J=2 Hz)	H-7
4.10	3	singlete	4-OCH <sub>3</sub>
4.02	3	singlete	
3.90	3	singlete	
3.85	3	singlete	
2.45	6	singlete	2-OCOCH <sub>3</sub>
2.40		singlete	

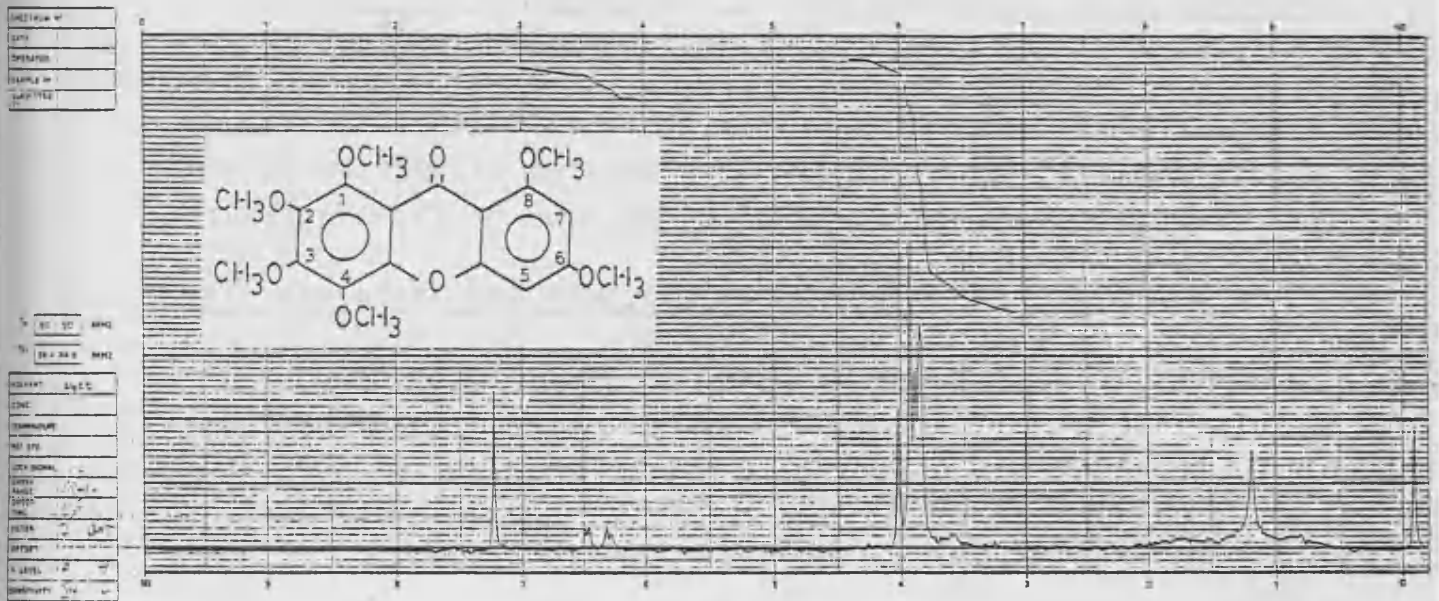


FIGURA 11: Espectro de RMN de A dimetilado: 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
6.58	1	doblete (J=2 Hz)	H-5
6.40	1	doblete (J=2 Hz)	H-7
4.12	3	singlete	6-OCH <sub>3</sub>
4.02	6	singlete	
3.98	9	singlete	
3.94		singlete	
3.93		singlete	

<u>Desplazamiento</u>	<u>Integración</u>	<u>Resolución</u>	<u>Posible asignación</u>
6.58	1.00	singlete	-OH
6.40	1.00	singlete	-OH
4.12	3.00	doblete (J=2 Hz)	1 H-Az acoplado en meta



4.1.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO B: 1,8-DIHIDROXI-3,4,6-TRIMETOXI-XANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

El compuesto B, obtenido como se ha indicado (pág. 57) mostró un aspecto pulverulento amarillo, que revelaba pureza cromatográfica, y cuyo punto de fusión es 225-227°C.

Interpretación del espectro de IR de B

El espectro de IR del compuesto B (fig.12) presenta las siguientes bandas características:

3100-2850 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1670 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1630, 1605,	
1570 y 1515 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1210 $\text{cm}^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1170 $\text{cm}^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>

El espectro de IR y la coloración en c.c.f., debida a vapores amoniacales, indica la presencia de un núcleo de xantona. La ausencia de banda hidroxílica, en la región de 3400  $\text{cm}^{-1}$ , indica ó la inexistencia de grupos -OH o su situación en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> (38).

Interpretación del espectro de RMN de B

El espectro de RMN de B (fig.13), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
11.95	2	singlete	-OH
11.90		singlete	-OH
6.50	1	doblete (J=2 Hz)	1 H-Ar acoplado en meta

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.38	1	singlete	1 H-Ar no acoplado
6.33	1	doblete (J=2 Hz)	1 H-Ar acoplado en meta
3.96	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.86	6	singlete	2-OCH <sub>3</sub>

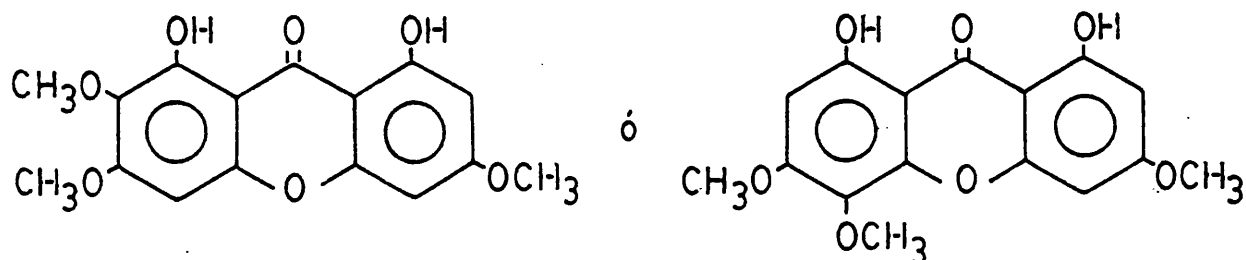
Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee dos grupos hidroxilo que se sitúan en C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub>, como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta \sim 12$  ppm), característico de -OH que forma puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta (J=2 Hz), que deberán estar situados en C<sub>2</sub> (ó C<sub>7</sub>) y C<sub>4</sub> (ó C<sub>5</sub>) (dado que las posiciones C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> ya están ocupadas). El otro hidrógeno aromático deberá estar situado en el otro anillo debido a que no acopla. Este hidrógeno no puede estar situado en posición C<sub>3</sub> ya que saldría a campo bastante más bajo luego, deberá estar situado en C<sub>2</sub> (ó C<sub>7</sub>) ó C<sub>4</sub> (ó C<sub>5</sub>).

Las otras tres posiciones asequibles de sustitución corresponden a sendos grupos metoxilo (2 singletes, que integran 9 H de 3.96 a 3.86  $\delta$ ).

Estos datos son concordantes con dos posibles estructuras para el compuesto B (43,86).



Para la asignación final del compuesto B, se procedió al estudio de su espectro de UV y EM, así como el estudio de su derivado acetilado, con las conclusiones que a continuación se indican.

Interpretación de los espectros UV de B.

La localización de los dos OH de B, detectados en el RMN, se confirma por el estudio de su UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\max}$ nm (log $\epsilon$ )				
MeOH	232(3.72)	254(3.76)	273(h)	333(3.38)	
NaOMe	241(h)	268	377		
NaOAc	232	254	273(h)	333	
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	232	254	273(h)	333	
AlCl <sub>3</sub>	265	272	282(h)	320(h)	368
AlCl <sub>3</sub> + HCl	265	272	282(h)	320(h)	368

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto B, en metanol (fig.14), presenta tres bandas, características de un anillo xantónico.

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.14), indica la existencia de grupos hidroxilo. Al no modificarse con NaOAc (fig.15) me indica que estos hidroxilos no son ácidos (C<sub>3</sub> y/o C<sub>6</sub>).

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen grupos orto-hidroxílicos.

- Espectros en AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub> + HCl

Al añadir AlCl<sub>3</sub> (fig.16) la banda de 232 nm sufre un

fuerte efecto batocrómico, característico de grupos hidroxilo en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> o agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadir, HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta las agrupaciones orto-hidroxílicas, puesto que los complejos que forman con AlCl<sub>3</sub> son inestables en medio ácido.

#### Interpretación del espectro de masas de B

Del ión molecular y los picos isotópicos del espectro (fig.17), se deduce para B una fórmula molecular de C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>, concordante con una xantona dihidroxilada y trimetoxilada.

El resto de los picos confirma para B la estructura de una xantona polioxigenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
318	49.1	M <sup>+</sup>
303	100	M-CH <sub>3</sub>
275	11.3	M-CH <sub>3</sub> -CO
273	9.8	M-CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> O

#### 4.1.2.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE B. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar el producto B con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág. 248). El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de acetona, rindiendo un sólido blanco de punto de fusión 177-178°C.

#### Interpretación del espectro de IR de B acetilado

El espectro de IR de B acetilado (fig.18) muestra las siguientes bandas características:



1760 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O ester fenólico
1630, 1605 y 1560 cm <sup>-1</sup>	bandas características de xantonas
1200 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ester fenólico
1155 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C de grupos C-OCH <sub>3</sub>
1055 cm <sup>-1</sup>	tensión Ar-O-C simétrica

Lo más característico de este espectro es la aparición del carbonilo de grupos acetato, lo que confirma la existencia en B de grupos hidroxilo orto al carbonilo xantónico (ausencia de banda hidroxílica en el IR de B).

Interpretación del espectro de RMN de B acetilado

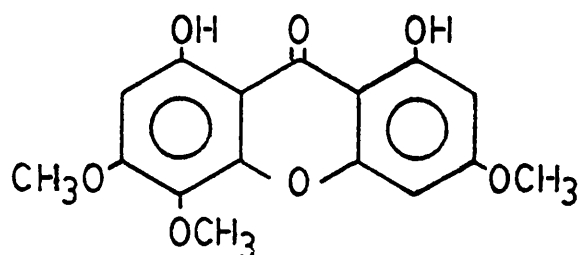
El espectro de RMN de B acetilado (fig.19), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, muestra las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.88	1	doblete (J=2.4 Hz)	H-Ar acoplado en meta
6.61	1	singlete	H-Ar no acoplado
6.57	1	doblete (J=2.4 Hz)	H-Ar acoplado en meta
3.99	6	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.96		singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.90		singlete	1-OCH <sub>3</sub>
2.40	6	singlete	2-OCOCH <sub>3</sub>

La aparición de los acetoxilos en δ ~ 2.40 indica que estos se sitúan en posiciones 1 y 8, ya que las demás posiciones darían señales a campos algo más altos (73). La variación en la resonancia de los HAr del compuesto original B a su derivado acetilado, nos permite su correcta asignación. El H-C<sub>5</sub> se desplaza 0.38 ppm, características de un protón situado en para al grupo hidroxilo que pasa a ser acetoxilo. Los otros dos desplazamientos son de 0.23 y 0.24 ppm, que corresponden a hidrógenos en orto

al hidroxilo que pasa a ser acetoxilo (74). Este dato espectral permite fijar para B, el HAR no acoplado en C<sub>2</sub> (y no en C<sub>4</sub>) (73).

Del conjunto de datos físicos y espectrales de B y su derivado acetilado, asignamos para este producto la estructura de 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona, datos del todo concordantes con los bibliográficos (86), siendo ésta la segunda vez que se describe su aislamiento en la naturaleza.



B 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona

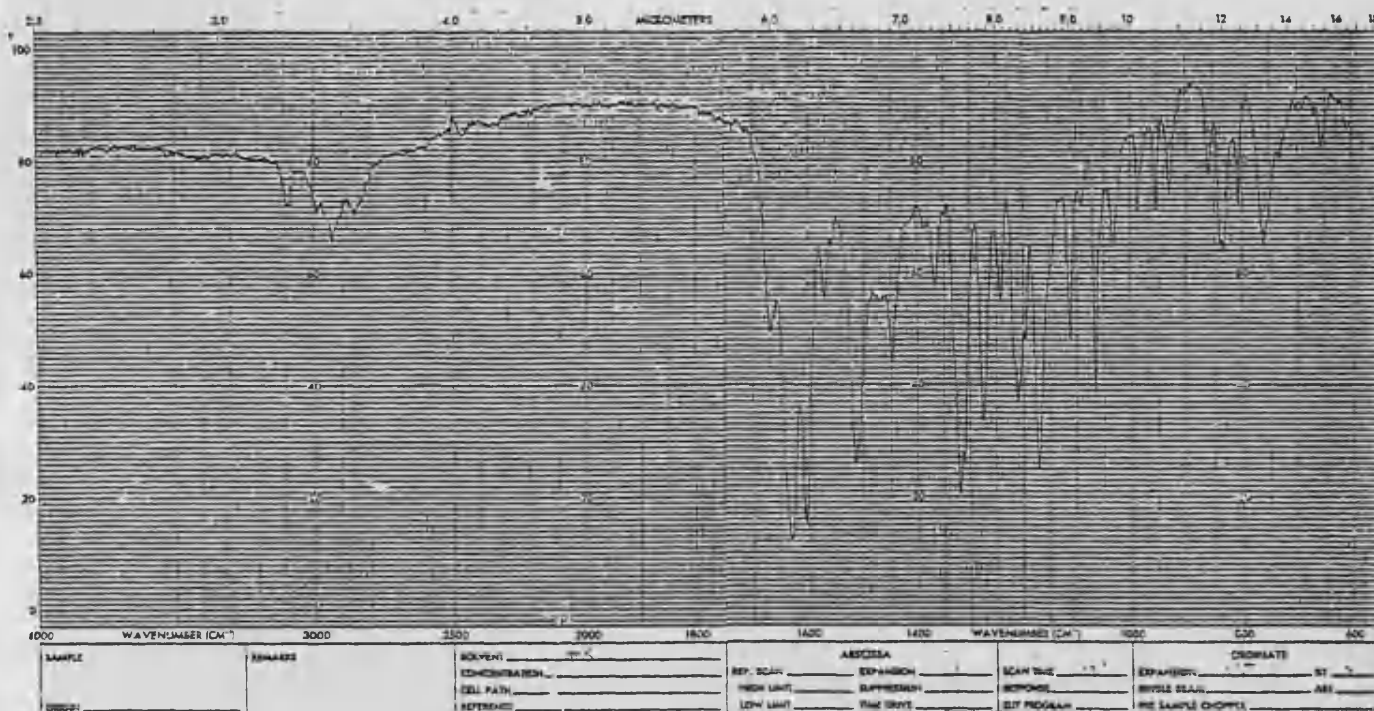


FIGURA 12: Espectro de IR de B: 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona.

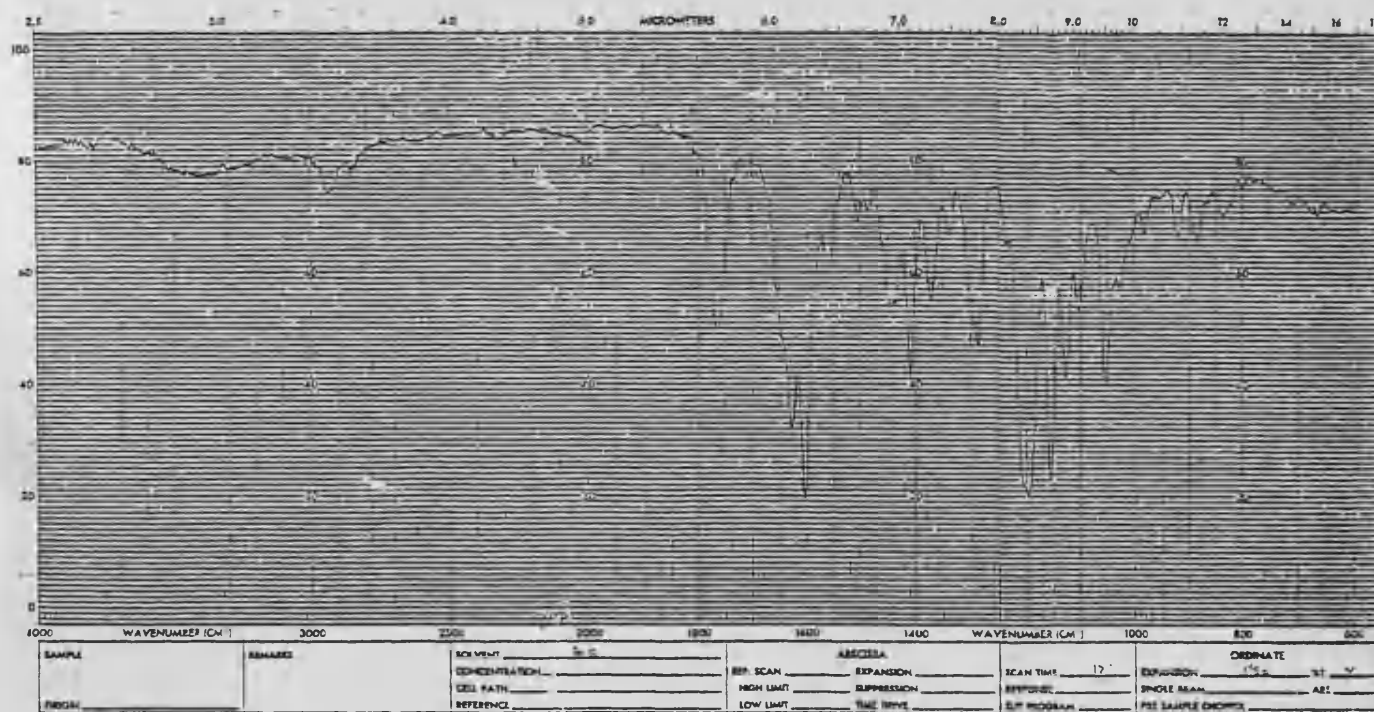


FIGURA 18: Espectro de IR de B acetilado: 1,8-diacetoxi-3,4,6-trimetoxixantona.

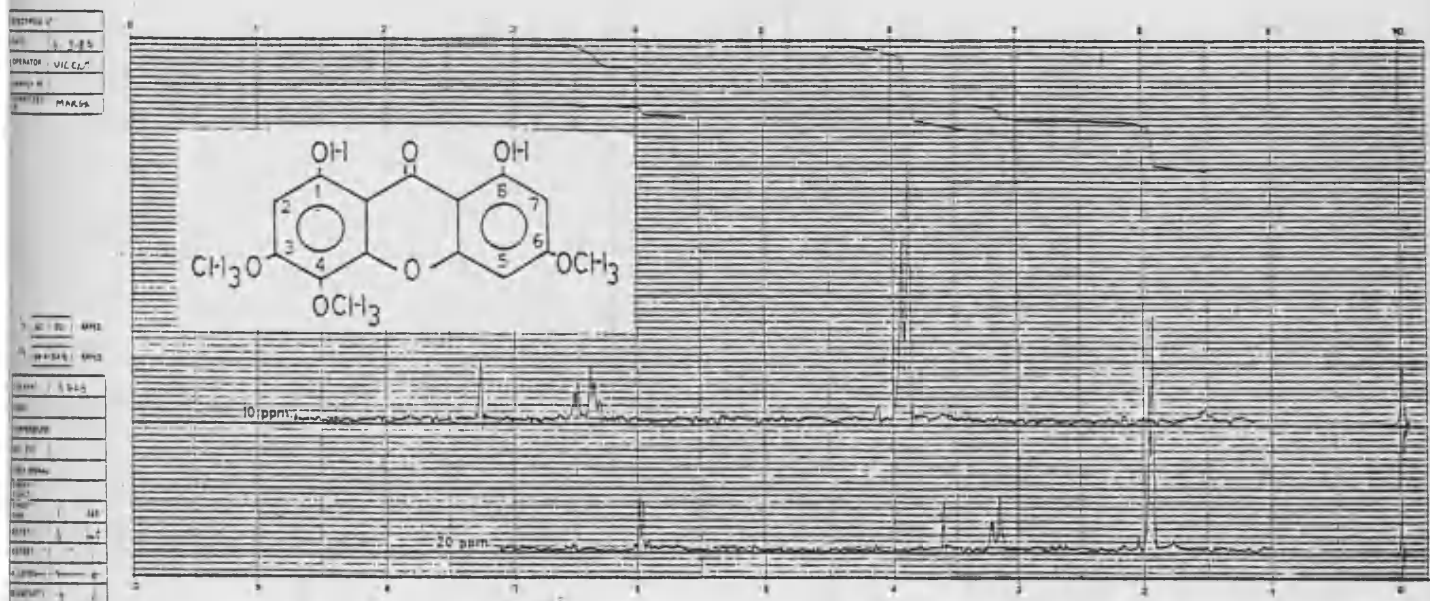


FIGURA 13: Espectro de RMN de B: 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
11.95	2	singlete	OH-1
11.90		singlete	OH-8
6.50	1	doblete (J=2 Hz)	H-5
6.38	1	singlete	H-2
6.33	1	doblete (J=2 Hz)	H-7
3.96	3	singlete	3-OCH <sub>3</sub>
3.86	6	singlete	



FIGURA 14

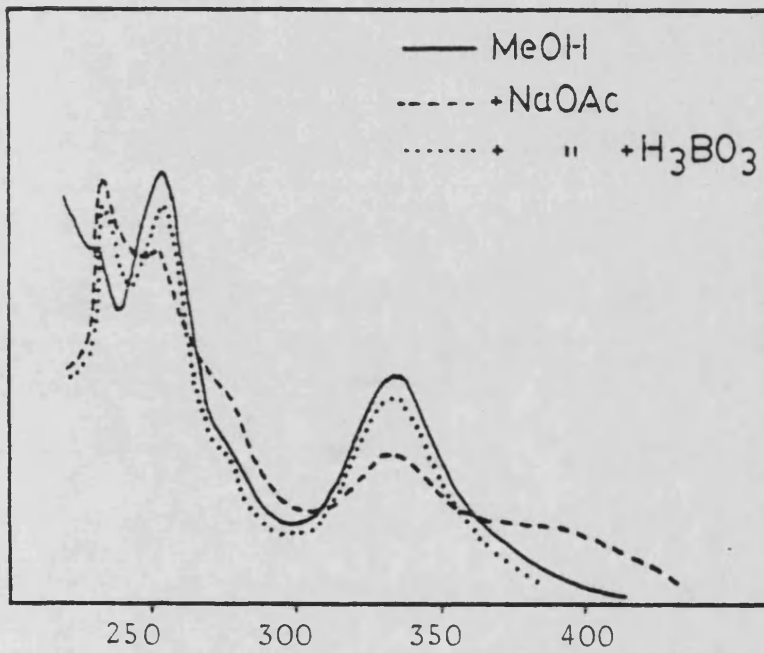
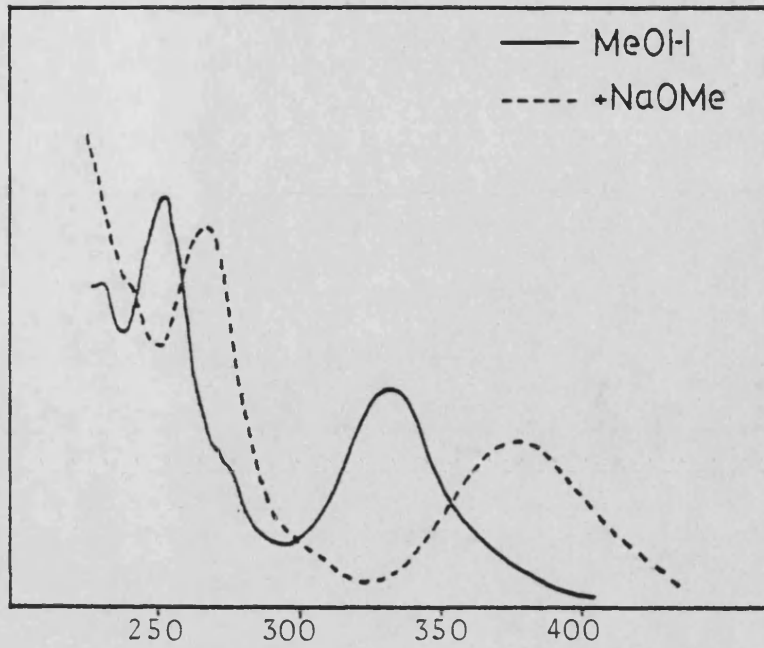
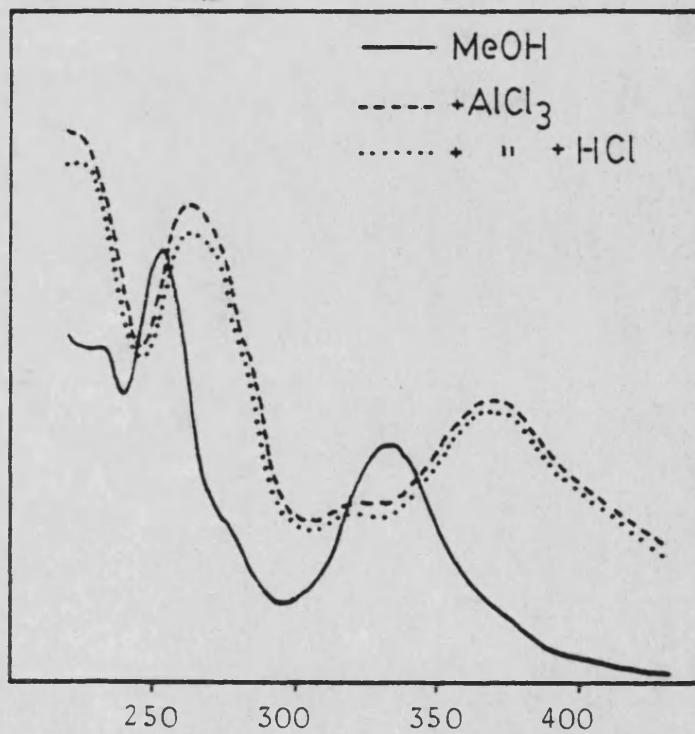


FIGURA 15

Espectros U.V. de B:  
1,8-dihidroxi-3,4,6-  
trimetoxixantona.

FIGURA 16



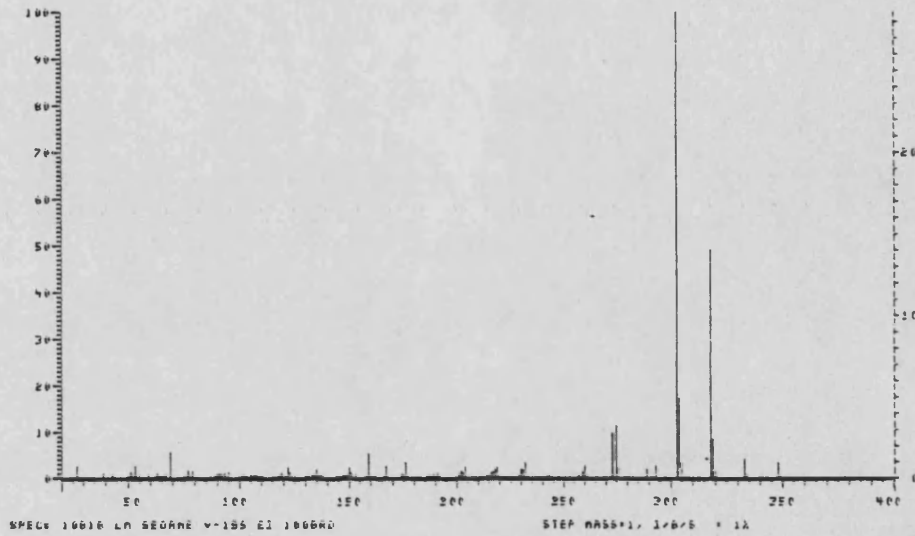


FIGURA 17: Espectro de masas de B: 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	51	0.18%	51	144	0.55%	104.0	104.0	151	21	0.08%	151.0
2	121	0.46%	121	146	0.15%	109.5	109.5	151	43	0.16%	151.0
3	686	2.65%	686	157	0.60%	110.0	110.0	152	33	0.12%	152.0
4	32	0.12%	32	23	0.32%	111.0	111.0	153	173	0.66%	153.0
5	110	0.42%	110	21	0.08%	112.0	112.0	154	159	0.61%	154.0
6	25	0.09%	25	44	0.17%	113.0	113.0	155	116	0.45%	155.0
7	123	0.47%	123	22	0.80%	114.0	114.0	156	216	0.83%	156.0
8	44	0.17%	44	78	0.28%	114.5	114.5	157	141	0.53%	157.0
9	41	0.15%	41	80	0.30%	115.0	115.0	158	300	1.16%	158.0
10	271	1.04%	271	82	0.31%	117.0	117.0	159	144	0.55%	159.0
11	45	0.17%	45	83	0.31%	118.0	118.0	160	84	0.31%	160.0
12	45	0.17%	45	85	0.31%	118.0	118.0	161	20	0.07%	161.0
13	45	0.17%	45	85	0.31%	118.0	118.0	162	27	0.10%	162.0
14	214	0.82%	214	85	0.31%	118.0	118.0	163	24	0.09%	163.0
15	94	0.36%	94	86	0.32%	119.0	119.0	164	25	0.09%	164.0
16	101	0.39%	101	87	0.33%	122.0	122.0	165	40	0.15%	165.0
17	346	1.33%	346	87	0.33%	122.0	122.0	166	30	0.11%	166.0
18	102	0.39%	102	89	0.34%	123.0	123.0	167	234	0.89%	167.0
19	102	0.39%	102	89	0.34%	123.0	123.0	167	404	1.56%	167.0
20	65	0.25%	65	90	0.35%	123.5	123.5	168	358	1.38%	168.0
21	194	0.75%	194	91	0.35%	124.0	124.0	169	588	2.28%	169.0
22	32	0.12%	32	92	0.35%	125.0	125.0	170	155	0.59%	170.0
23	100	0.38%	100	93	0.35%	127.0	127.0	171	52	0.20%	171.0
24	57	0.22%	57	94	0.35%	128.0	128.0	172	50	0.19%	172.0
25	251	0.97%	251	95	0.36%	129.0	129.0	173	160	0.61%	173.0
26	122	0.47%	122	96	0.36%	130.0	130.0	174	146	0.57%	174.0
27	264	1.02%	264	97	0.36%	131.0	131.0	175	317	1.22%	175.0
28	156	0.61%	156	98	0.37%	132.0	132.0	176	363	1.40%	176.0
29	172	0.66%	172	99	0.37%	133.0	133.0	177	482	1.86%	177.0
30	154	0.60%	154	100	0.38%	134.0	134.0	178	614	2.37%	178.0
31	235	0.92%	235	101	0.38%	135.0	135.0	179	90	0.34%	179.0
32	60	0.23%	60	102	0.38%	136.0	136.0	180	41	0.15%	180.0
33	145	0.55%	145	103	0.39%	136.5	136.5	181	54	0.20%	181.0
34	56	0.21%	56	104	0.40%	137.0	137.0	182	140	0.53%	182.0
35	26	0.10%	26	105	0.39%	137.5	137.5	183	493	1.89%	183.0
36	56	0.21%	56	106	0.40%	138.0	138.0	184	457	1.77%	184.0
37	157	0.60%	157	107	0.40%	139.0	139.0	185	843	3.26%	185.0
38	115	0.44%	115	108	0.40%	140.0	140.0	186	151	0.58%	186.0
39	44	0.17%	44	109	0.40%	143.0	143.0	187	38	0.14%	187.0
40	123	0.47%	123	110	0.41%	144.0	144.0	188	25	0.09%	188.0
41	42	0.16%	42	111	0.41%	144.5	144.5	189	42	0.16%	189.0
42	67	0.26%	67	112	0.42%	145.0	145.0	190	111	0.42%	190.0
43	113	0.43%	113	113	0.43%	146.0	146.0	191	210	0.81%	191.0
44	61	0.23%	61	114	0.43%	147.0	147.0	192	168	0.65%	192.0
45	52	0.20%	52	115	0.43%	147.5	147.5	193	351	1.35%	193.0
46	52	0.20%	52	116	0.43%	148.0	148.0	194	679	2.62%	194.0
47	42	0.16%	42	117	0.44%	149.0	149.0	195	257	0.99%	195.0
48	56	0.21%	56	118	0.44%	150.0	150.0	196	51	0.20%	196.0
49	161	0.62%	161	119	0.45%	151.0	151.0	197	254	0.98%	197.0
50	206	0.79%	206	120	0.45%	151.5	151.5	198	2407	9.30%	198.0
51	206	0.79%	206	121	0.46%	152.0	152.0	199	520	2.01%	199.0
52	203	0.77%	203	122	0.46%	153.0	153.0	200	468	1.81%	200.0
53	200	0.77%	200	123	0.46%	154.0	154.0	201	448	1.75%	201.0
54	21	0.08%	21	124	0.47%	155.0	155.0	202	2590	10.00%	202.0
55	35	0.13%	35	125	0.47%	156.0	156.0	203	442	1.73%	203.0
56	84	0.32%	84	126	0.48%	157.0	157.0	204	867	3.35%	204.0
57	361	1.39%	361	127	0.48%	158.0	158.0	205	104	0.40%	205.0
58	48	0.18%	48	128	0.48%	159.0	159.0	206	12695	49.12%	206.0
59	34	0.13%	34	129	0.49%	160.0	160.0	207	2240	8.74%	207.0
60	64	0.24%	64	130	0.50%	161.0	161.0	208	380	1.47%	208.0
61	70	0.27%	70	131	0.50%	162.0	162.0	209	77	0.30%	209.0
62	36	0.14%	36	132	0.51%	163.0	163.0	210	1053	4.05%	210.0
63	76	0.29%	76	133	0.51%	164.0	164.0	211	218	0.84%	211.0
64	247	0.95%	247	134	0.52%	165.0	165.0	212	46	0.18%	212.0
65	135	0.51%	135	135	0.52%	166.0	166.0	213	64	0.25%	213.0
66	75	0.29%	75	136	0.52%	167.0	167.0	214	164	0.63%	214.0
67	214	0.82%	214	137	0.53%	168.0	168.0	215	45	0.17%	215.0
68	136	0.51%	136	138	0.53%	169.0	169.0				
69	194	0.75%	194	139	0.53%	170.0	170.0				
70	161	0.62%	161	140	0.53%	171.0	171.0				
71	136	0.51%	136	141	0.53%	172.0	172.0				
				142	0.53%	173.0	173.0				
				143	0.53%	174.0	174.0				
				144	0.53%	175.0	175.0				
				145	0.53%	176.0	176.0				
				146	0.53%	177.0	177.0				
				147	0.53%	178.0	178.0				
				148	0.53%	179.0	179.0				
				149	0.53%	180.0	180.0				
				150	0.53%	181.0	181.0				
				151	0.53%	182.0	182.0				
				152	0.53%	183.0	183.0				
				153	0.53%	184.0	184.0				
				154	0.53%	185.0	185.0				
				155	0.53%	186.0	186.0				
				156	0.53%	187.0	187.0				
				157	0.53%	188.0	188.0				
				158	0.53%	189.0	189.0				
				159	0.53%	190.0	190.0				
				160	0.53%	191.0	191.0				
				161	0.53%	192.0	192.0				
				162	0.53%	193.0	193.0				
				163	0.53%	194.0	194.0				
				164	0.53%	195.0	195.0				
				165	0.53%	196.0	196.0				
				166	0.53%	197.0	197.0				
				167	0.53%	198.0	198.0				
				168	0.53%	199.0	199.0				
				169	0.53%	200.0	200.0				
				170	0.53%	201.0	201.0				
				171	0.53%	202.0	202.0				
				172	0.53%	203.0	203.0				
				173	0.53%	204.0	204.0				
				174	0.53%	205.0	205.0				
				175	0.53%	206.0	206.0				
				176	0.53%	207.0	207.0				
				177	0.53%	208.0	208.0				
				178	0.53%	209.0	209.0				
				179	0.53%	210.0	210.0				
				180	0.53%	211.0	211.0				
				181	0.53%	212.0	212.0				
				182	0.53%	213.0	213.0				
				183	0.53%	214.0	214.0				
				184	0.53%	215.0	215.0				
				185	0.53%	216.0	216.0				
				186	0.53%	217.0	217.0				
				187	0.53%	218.0	218.0				
				188	0.53%	219.0	219.0				
				189	0.53%	220.0	220.0				
				190	0.53%	221.0	221.0				
				191	0.53%	222.0	222.0				
				192	0.53%	223.0	223.0				
				193	0.53%	224.0	224.0				
				194	0.53%	225.0	225.0				
				195	0.53%	226.0	226.0				
				196	0.53%	227.0	227.0				
				197	0.53%	228.0	228.0				
				198	0.53%	229.0	229.0				
				199	0.53%	230.0	230.0				
				200	0.53%	231.0	231				

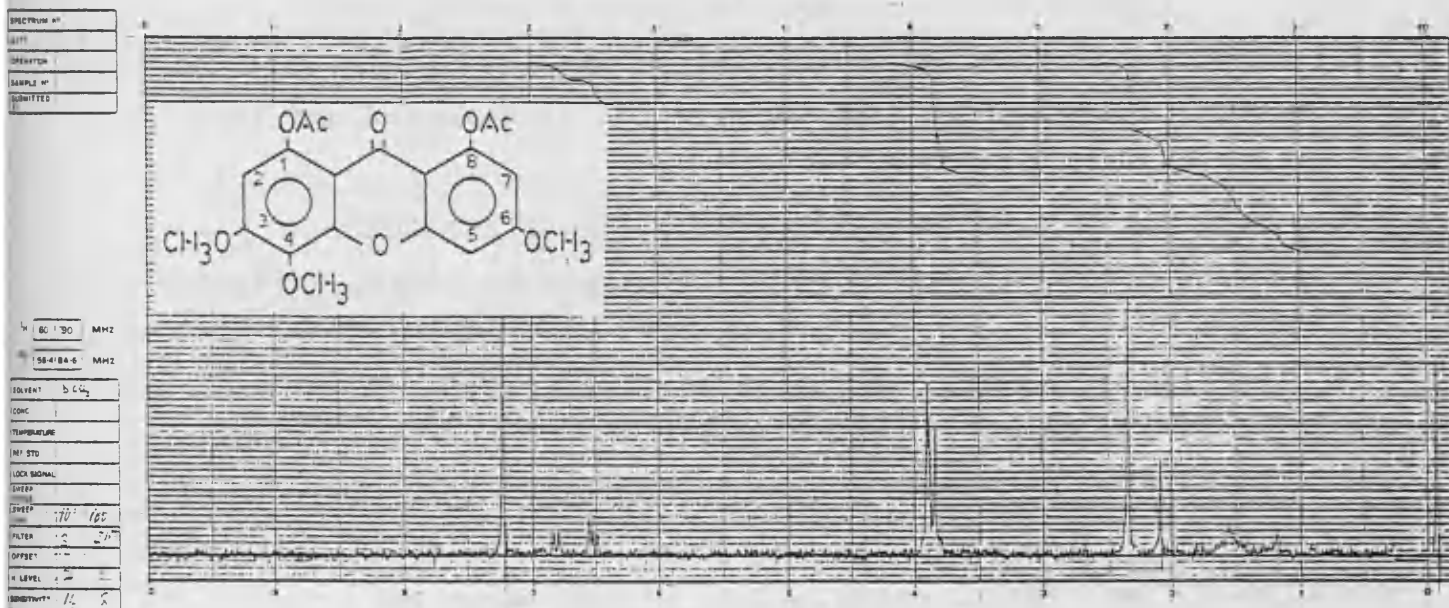


FIGURA 19: Espectro de RMN de B acetilado: 1,8-diacetoxi-3,4,6-trimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (δ)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
6.88	1	doblete (J=2.4 Hz)	H-5
6.61	1	singlete	H-2
6.57	1	doblete (J=2.4 Hz)	H-7
3.99	6	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.96		singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.90	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
2.40	6	singlete	2-OCOCH <sub>3</sub>



#### 4.2. ESTUDIO DE LA FRACCION $X_{II}$ . SEPARACION DE A Y C.

---

De la reunión de fracciones 26-40, eluidas de la columna con hexano-éter etílico (80:20), se obtiene la agrupación  $X_{II}$ .

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere color amarillo cuando la placa se somete a vapores de amoníaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  50%.

Por cristalización de  $X_{II}$  en acetona, se obtiene un producto cristalino amarillo de punto de fusión y caracteres espectroscópicos idénticos al compuesto A descrito en el apartado 4.1.1.

Las aguas madres de  $X_{II}$ , tras cristalización de acetona, dan lugar a unas agujas amarillo-naranja de comportamiento físico y espectral diferente a los compuestos A y B, que vamos a estudiar como compuesto C.

4.2.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO C: 1,8-DIHIDROXI-2,6-DIMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

El compuesto C, obtenido como se ha indicado (pág. 85) mostró un aspecto cristalino, que revelaba pureza cromatográfica y cuyo punto de fusión es 187-189°C.

Interpretación del espectro de IR de C

El espectro de IR del compuesto C (fig.20) presenta las siguientes bandas características:

3100-2840 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1660 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1630, 1600 y 1565 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1240 $\text{cm}^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38)
1150 $\text{cm}^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>

El espectro de IR y la coloración en c.c.f., debida a vapores amoniacales, indica la presencia de un núcleo de xantona, la ausencia de banda hidroxílica, en la región de 3400  $\text{cm}^{-1}$ , indica ó la inexistencia de grupos -OH, o su situación en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> (38).

Interpretación del espectro de RMN de C

El espectro de RMN de C (fig.21), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
11.90	1	singlete	-OH
11.78	1	singlete	-OH
7.23	1	doblete (J=9.3 Hz)	1H-Ar acoplado en orto

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.80	1	doblete ( $J=9.3$ Hz)	1H-Ar acoplado en orto
6.36	1	doblete ( $J=2$ Hz)	1H-Ar acoplado en meta
6.28	1	doblete ( $J=2$ Hz)	1H-Ar acoplado en meta
3.88	6	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.83		singlete	1-OCH <sub>3</sub>

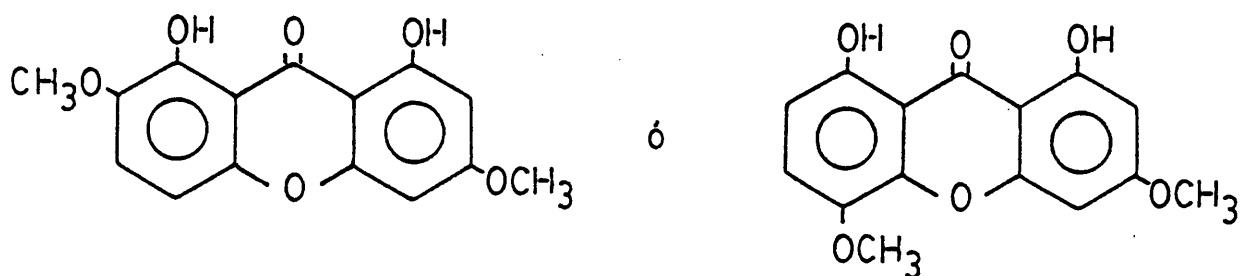
Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee dos grupos hidroxilo que se sitúan en C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub>, como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta \sim 12$  ppm), característico de -OH que forma puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta ( $J=2$  Hz), que deberán estar situados en C<sub>2</sub> (ó C<sub>7</sub>) y C<sub>4</sub> (ó C<sub>5</sub>) (dado que las posiciones C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> ya están ocupadas) y otros dos hidrógenos aromáticos, acoplados en orto ( $J=9.3$  Hz), que deberán situarse en C<sub>7</sub> (ó C<sub>2</sub>) y C<sub>6</sub> (ó C<sub>3</sub>) ó C<sub>6</sub> (ó C<sub>3</sub>) y C<sub>5</sub> (ó C<sub>4</sub>).

Las otras dos posiciones asequibles de sustitución, corresponden a sendos grupos metoxilo (2 singletes, que integran 6H a 3.88 y 3.83  $\delta$ ).

Según estos datos, podemos deducir dos posibles estructuras para C: la 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona (73) ó la 1,8-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona (87).



Para la total asignación de la estructura del compuesto C, se procedió al estudio de su espectro de UV y EM, así como el estudio de su derivado acetilado, con las conclusiones que a continuación se indican.

Interpretación de los espectros de UV de C

La localización de los dos -OH de C, detectados en el RMN, se confirma por el estudio de su UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación.

	$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )			
MeOH	240(4.61)	263(4.68)	330(4.44)	380(h)
NaOMe	244(h)	276	315	374 450
NaOAc	240	263	330	380
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	240	263	330	380
AlCl <sub>3</sub>	237	269	329	367
AlCl <sub>3</sub> + HCl	237	269	329	367

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto C, en metanol (fig.22), presenta tres bandas, características de un anillo xantónico. Según Ghosal y col (41-44) este espectro es característico de xantonas 1,2,6,8-tetra-O-sustituidas (equivalente a 1,3,7,8-, ver tabla I), mientras que si la sustitución fuera 1,3,5,8 las bandas de este espectro deberían salir:

250-255    275-280    330-335    390-400

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.22), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. Al no modificarse con NaOAc (fig.23), me indica que

estos hidroxilos no son ácidos ( $C_3$  y/o  $C_6$ ).

El espectro no se modifica con el tiempo, lo que indica la no existencia agrupaciones orto-hidroxílicas.

- Espectros en  $AlCl_3$  y  $AlCl_3 + HCl$

Al añadir  $AlCl_3$  (fig.24), se produce una modificación con respecto al registrado en MeOH, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en  $C_1$  y/o  $C_8$  ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadir HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta las agrupaciones orto-hidroxílicas, puesto que los complejos que forman con  $AlCl_3$  son inestables en medio ácido.

Interpretación del espectro de masas de C

Del ión molecular y los picos isotópicos del espectro (fig.25), se deduce para C una fórmula molecular de  $C_{15}H_{12}O_6$ , concordante con una xantona dihidroxilada y dimetoxilada.

El resto de los picos confirma para C, la estructura de una xantona polioxigenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
288	86.5	$M^+$
273	35.4	$M-CH_3$
270	16.6	$M-H_2O$
259	10.0	$M-CHO$
245	100	$M-CH_3-CO$
202	25.0	$M-2 CH_3-2 CO$



4.2.1.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE C. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar el producto C con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág.250). El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de acetona, rindiendo un sólido blanco de punto de fusión 205-207°C.

Interpretación del espectro de IR de C acetilado.

El espectro de IR de C acetilado (fig.26) muestra las siguientes bandas características:

1765 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O ester fenólico
1650, 1630 y 1585 cm <sup>-1</sup>	bandas características de xantonas
1200 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ester fenólico
1150 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C de grupos C-OCH <sub>3</sub>
1055 cm <sup>-1</sup>	tensión Ar-O-C simétrica

Lo más característico del espectro es la aparición del carbonilo de los grupos acetato, lo que confirma la existencia en C de grupos hidroxilo.

Interpretación del espectro de RMN de C acetilado

El espectro de RMN de C acetilado (fig.27), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, muestra las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.25	2	singlete	2H-Ar
6.68	1	doblete (J=2 Hz)	H-Ar acoplado en meta
6.49	1	doblete (J=2 Hz)	H-Ar acoplado en meta
3.81	6	singlete	1-OCH <sub>3</sub>

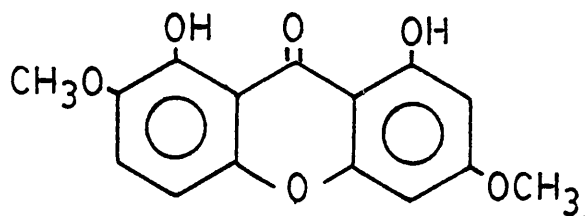


<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
3.79	6	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
2.45		singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>
2.43		singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>

La aparición de los acetoxilos a  $\delta \leq 2.40$  indica que estos se sitúan en posiciones C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub>, ya que los demás darían señales a campos mas altos (73). El H-C<sub>5</sub> (ó C<sub>4</sub>) se desplaza 0.32 ppm, característico de un protón situado en para al grupo hidroxilo. El H-C<sub>7</sub> (ó C<sub>2</sub>) se desplaza 0.13 ppm, característico de un protón situado en orto al hidroxilo (74).

La señal a 6.80  $\delta$  (para C) ha sufrido un desplazamiento de 0.45 ppm, tras acetilación. Esta variación es la característica de H en para a posiciones hidroxiladas (H-C<sub>4</sub>). La otra señal de los HAr acoplados en orto (7.23  $\delta$ ) casi no ha sufrido modificación al acetilar C (7.25  $\delta$ ) hecho concordante en una posición, para este protón, en meta al hidroxilo (H-C<sub>3</sub>).

Del conjunto de datos obtenidos para C y su derivado acetilado, asignamos para este producto la estructura de 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona (73, 88).



C 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona

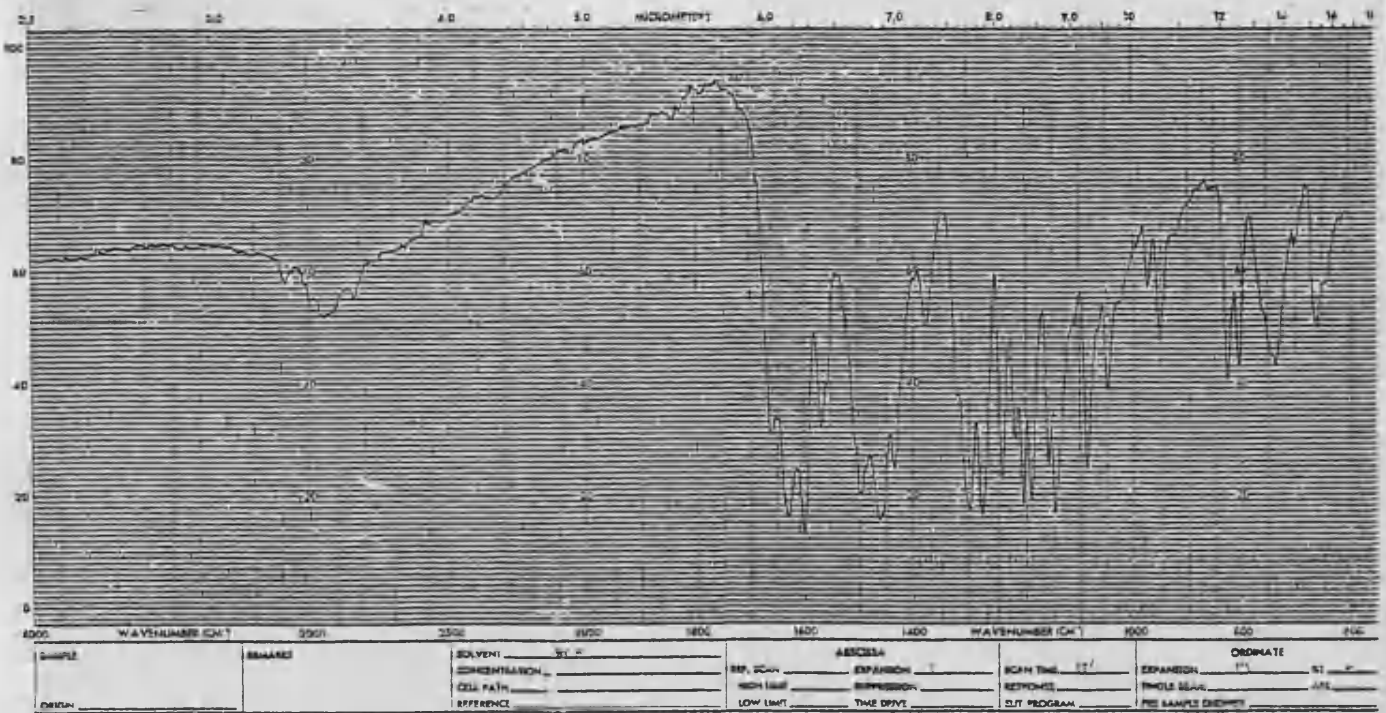


FIGURA 20: Espectro de IR de C: 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona.

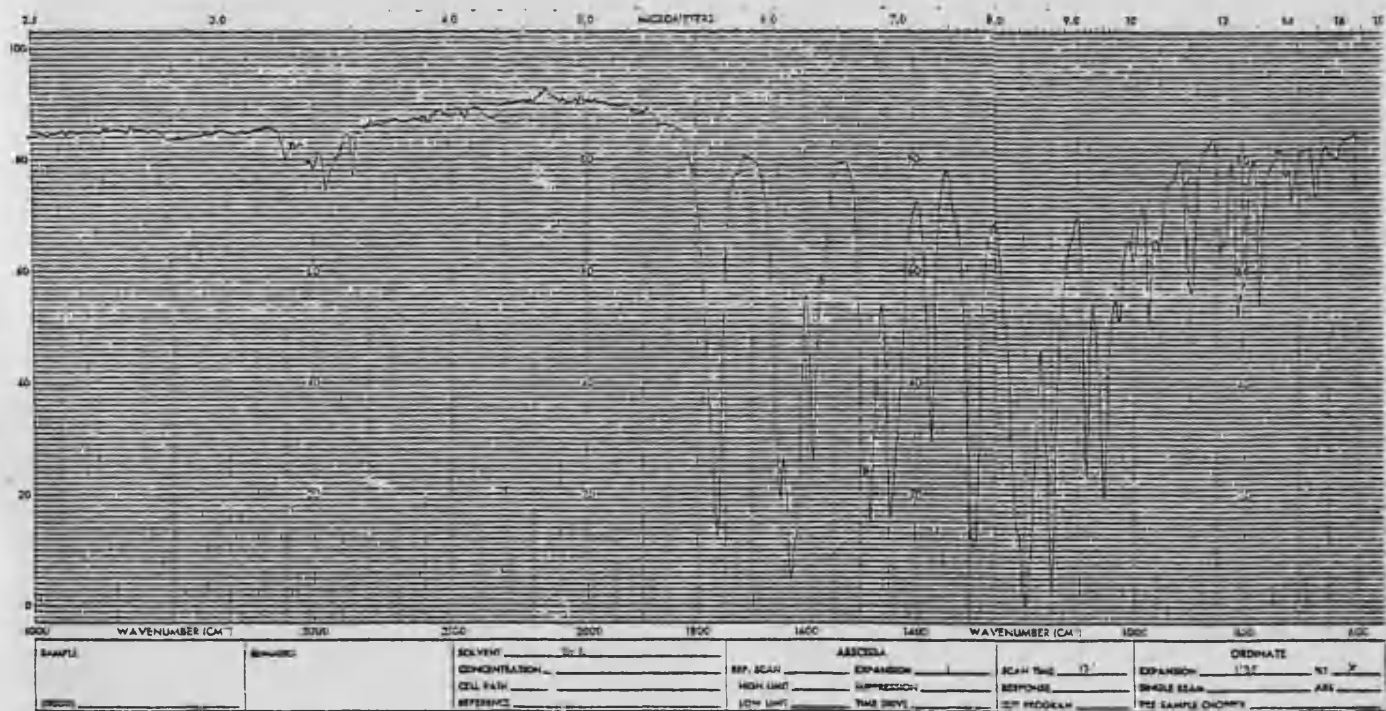


FIGURA 26: Espectro de IR de C acetilado: 1,8-diacetoxi-2,6-dimetoxi-xantona.

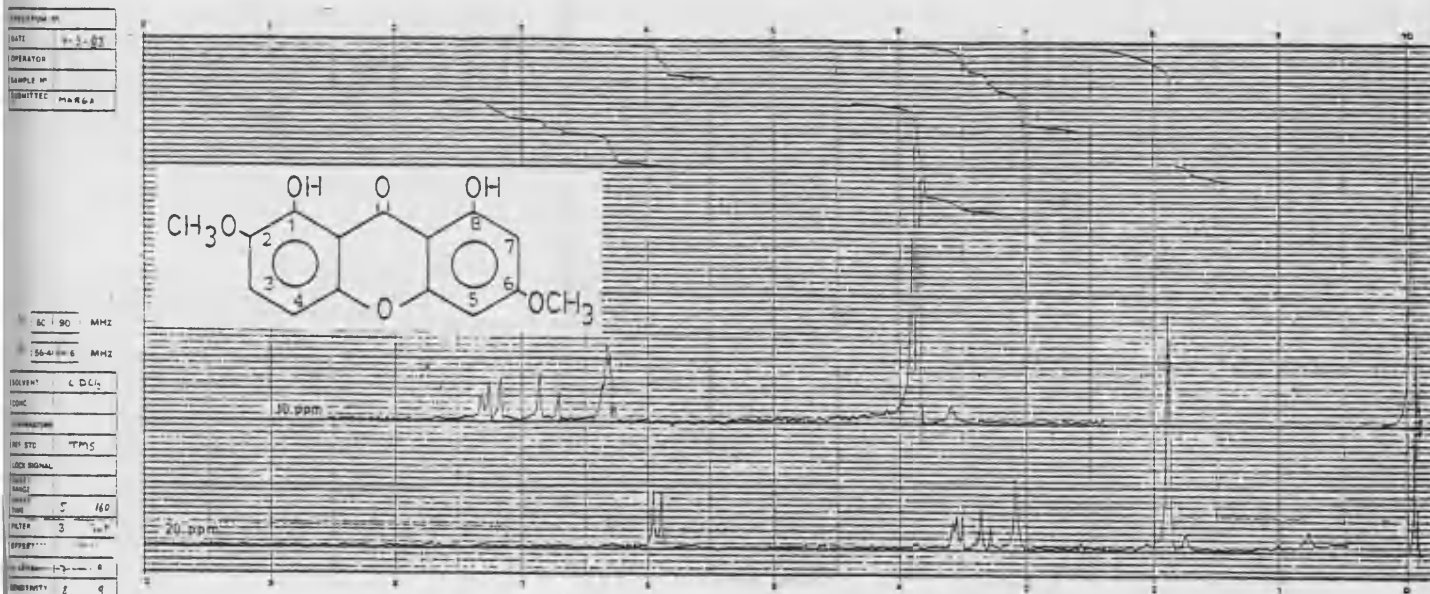


FIGURA 21: Espectro de RMN de C: 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup> H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
11.90	1	singlete	OH-1
11.78	1	singlete	OH-8
7.23	1	doblete (J=9.3 Hz)	H-3
6.80	1	doblete (J=9.3 Hz)	H-4
6.36	1	doblete (J=2 Hz)	H-5
6.28	1	doblete (J=2 Hz)	H-7
3.88	6	singlete	2-OCH <sub>3</sub>
3.83		singlete	

FIGURA 22

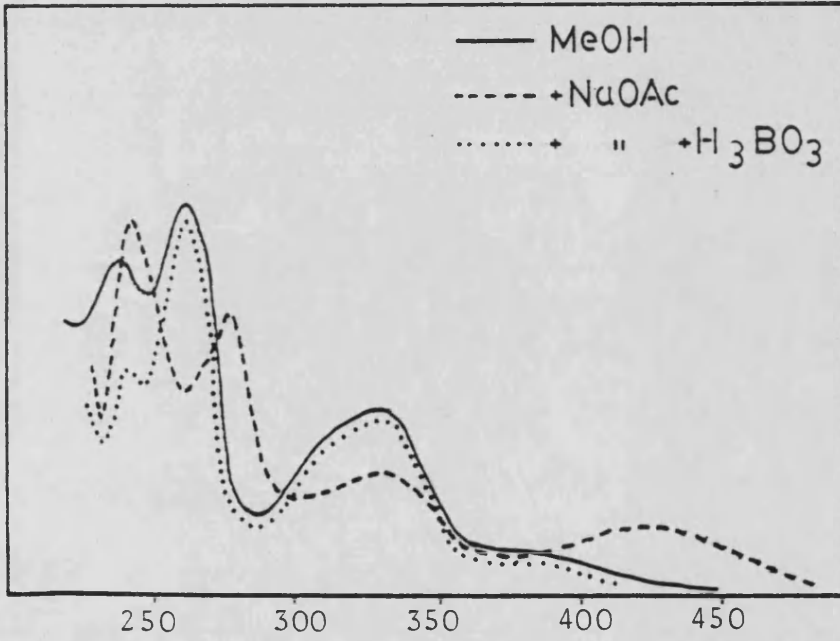
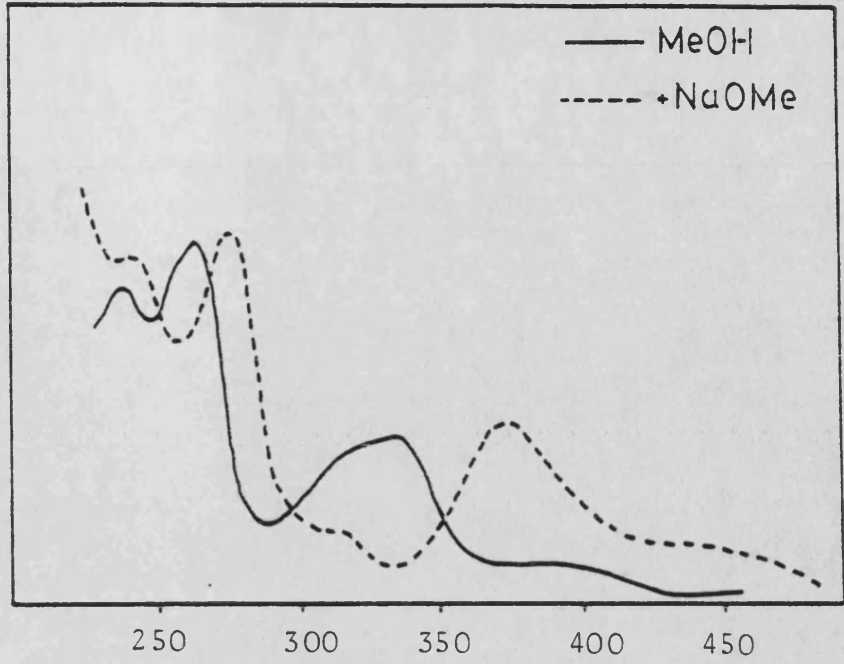
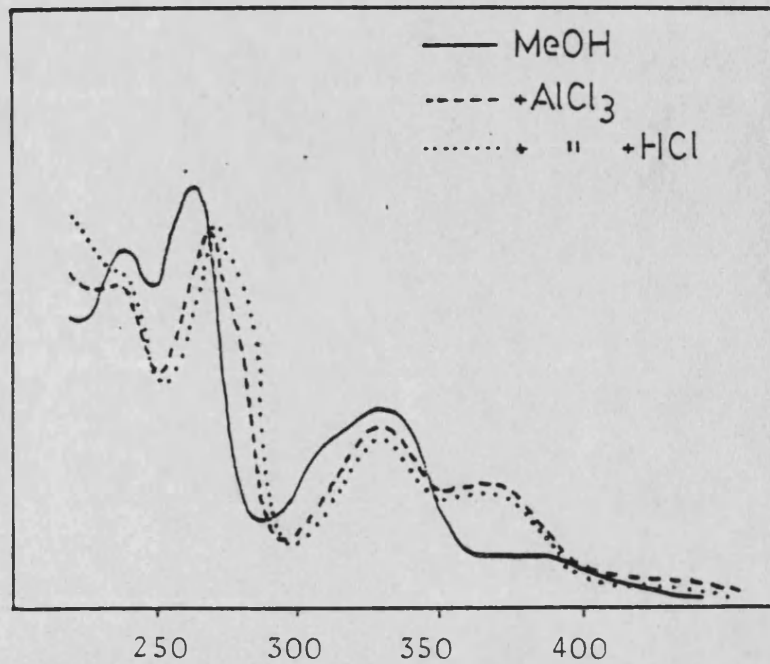


FIGURA 23

Espectros U.V. de C:  
1,8-dihidroxi-2,6-  
dimetoxixantona.

FIGURA 24



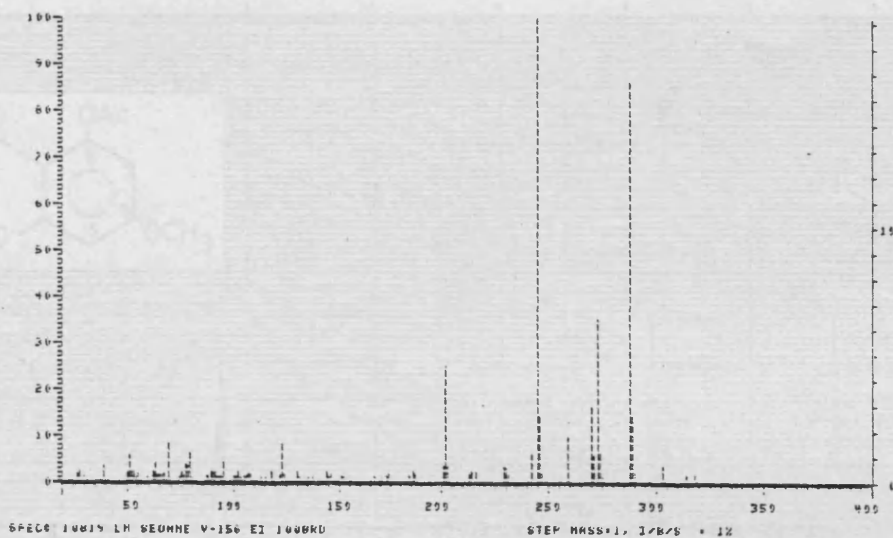


FIGURA 25: Espectro de masas de C: 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
81	0.24%	0.24%	81	72	0.15%	0.15%	72	150	528	1.90%	174
83	0.86%	0.86%	83	73	0.20%	0.20%	73	151	480	1.74%	184
85	1.47%	1.47%	85	74	1.83%	0.45%	74	152	704	2.55%	186
87	0.14%	0.14%	87	75	0.22%	0.22%	75	153	511	1.84%	187
89	0.75%	0.75%	89	76	3.44%	1.24%	76	154	256	0.92%	188
91	0.15%	0.15%	91	77	0.25%	0.25%	77	155	923	3.35%	189
93	1.37%	1.37%	93	78	3.66%	1.33%	78	156	6924	25.02%	190
95	0.06%	0.06%	95	79	3.0	0.10%	79	157	973	3.51%	191
97	0.07%	0.07%	97	80	6.84%	2.47%	80	158	268	0.97%	192
99	0.08%	0.08%	99	81	3.41%	1.23%	81	159	511	1.84%	193
101	3.73%	3.73%	101	82	1.58%	0.57%	82	160	641	2.32%	194
103	0.41%	0.41%	103	83	3.44%	1.24%	83	161	754	2.72%	195
105	0.44%	0.44%	105	84	4.63%	1.67%	84	162	930	3.38%	196
107	0.28%	0.28%	107	85	5.21%	1.88%	85	163	951	3.43%	197
109	0.13%	0.13%	109	86	9.2	0.33%	86	164	511	1.84%	198
111	0.13%	0.13%	111	87	5.05%	1.82%	87	165	1713	6.19%	199
113	0.07%	0.07%	113	88	14.8	0.51%	88	166	27445	100.00%	200
115	0.66%	0.66%	115	89	13.0	0.46%	89	167	3483	12.69%	201
117	2.94%	2.94%	117	90	2.12%	0.74%	90	168	545	1.95%	202
119	0.24%	0.24%	119	91	1.54%	0.55%	91	169	2754	9.95%	203
121	1.12%	1.12%	121	92	1.21%	0.43%	92	170	4617	16.68%	204
123	1.76%	1.76%	123	93	3.10%	1.12%	93	171	1646	5.94%	205
125	0.27%	0.27%	125	94	4.7	0.16%	94	172	9784	35.36%	206
127	0.15%	0.15%	127	95	1.44%	0.49%	95	173	1788	6.46%	207
129	0.41%	0.41%	129	96	3.37%	1.21%	96	174	402	1.45%	208
131	0.15%	0.15%	131	97	2.17%	0.78%	97	175	2302	8.45%	209
133	0.15%	0.15%	133	98	7.39%	2.67%	98	176	4083	14.75%	210
135	0.24%	0.24%	135	99	2.64%	0.95%	99	177	856	3.09%	211
137	0.08%	0.08%	137	100	2.64%	0.95%	100	178	856	3.09%	212
139	0.08%	0.08%	139	101	2.44%	0.88%	101	179	80	0.29%	213
141	1.45%	1.45%	141	102	4.44%	1.60%	102	180	1020	3.69%	214
143	0.37%	0.37%	143	103	2.55%	0.92%	103	181	1020	3.69%	215
145	0.13%	0.13%	145	104	5.24%	1.91%	104	182	44	0.15%	216
147	0.74%	0.74%	147	105	1.63%	0.58%	105	183	185	0.67%	217
149	1.82%	1.82%	149	106	8.9	0.32%	106	184	541	1.95%	218
151	0.81%	0.81%	151	107	1.20%	0.43%	107	185	131	0.47%	219
153	0.74%	0.74%	153	108	1.65%	0.59%	108	186	44	0.15%	220
155	0.44%	0.44%	155	109	2.31%	0.83%	109	187	107	0.38%	221
157	0.64%	0.64%	157	110	4.23%	1.53%	110	188	82	0.31%	222
159	0.07%	0.07%	159	111	7.7	0.27%	111	189	82	0.31%	223
161	0.15%	0.15%	161	112	3.44%	1.24%	112	190	82	0.31%	224
163	0.15%	0.15%	163	113	1.93%	0.69%	113	191	82	0.31%	225
165	0.06%	0.06%	165	114	1.44%	0.53%	114	192	82	0.31%	226
167	0.06%	0.06%	167	115	1.71%	0.61%	115	193	82	0.31%	227
169	0.12%	0.12%	169	116	2.03%	0.72%	116	194	82	0.31%	228
171	1.66%	1.66%	171	117	1.77%	0.63%	117	195	82	0.31%	229
173	3.87%	3.87%	173	118	2.93%	1.05%	118	196	82	0.31%	230
175	0.87%	0.87%	175	119	2.63%	0.95%	119	197	82	0.31%	231
177	0.55%	0.55%	177	120	5.1	0.18%	120	198	82	0.31%	232
179	0.64%	0.64%	179	121	1.11%	0.40%	121	199	82	0.31%	233
181	0.86%	0.86%	181	122	1.85%	0.67%	122	200	82	0.31%	234
183	0.30%	0.30%	183	123	1.61%	0.58%	123	201	82	0.31%	235
185	0.16%	0.16%	185	124	8.05%	2.90%	124	202	82	0.31%	236
187	0.16%	0.16%	187	125	1.13%	0.40%	125	203	82	0.31%	237
189	0.10%	0.10%	189	126	5.24%	1.89%	126	204	82	0.31%	238
191	0.75%	0.75%	191	127	1.63%	0.58%	127	205	82	0.31%	239
193	0.10%	0.10%	193	128	1.49%	0.53%	128	206	82	0.31%	240
195	1.30%	1.30%	195	129	1.38%	0.49%	129	207	82	0.31%	241
197	0.07%	0.07%	197	130	3.57%	1.26%	130	208	82	0.31%	242
199	0.24%	0.24%	199	131	1.51%	0.54%	131	209	82	0.31%	243
201	0.24%	0.24%	201	132	1.25%	0.45%	132	210	82	0.31%	244
203	0.07%	0.07%	203	133	0.52%	0.18%	133	211	82	0.31%	245
205	0.24%	0.24%	205	134	0.97%	0.35%	134	212	82	0.31%	246
207	0.24%	0.24%	207	135	2.59%	0.91%	135	213	82	0.31%	247
209	1.30%	1.30%	209	136	1.91%	0.69%	136	214	82	0.31%	248
211	0.15%	0.15%	211	137	0.10%	0.34%	137	215	82	0.31%	249
213	0.74%	0.74%	213	138	2.37%	0.85%	138	216	82	0.31%	250
215	0.74%	0.74%	215	139	2.95%	1.07%	139	217	82	0.31%	251
217	0.80%	0.80%	217	140	2.71%	0.97%	140	218	82	0.31%	252
219	0.80%	0.80%	219	141	2.37%	0.85%	141	219	82	0.31%	253
221	0.80%	0.80%	221	142	2.71%	0.97%	142	220	82	0.31%	254
223	0.80%	0.80%	223	143	2.71%	0.97%	143	221	82	0.31%	255
225	0.80%	0.80%	225	144	4.07%	1.47%	144	222	82	0.31%	256



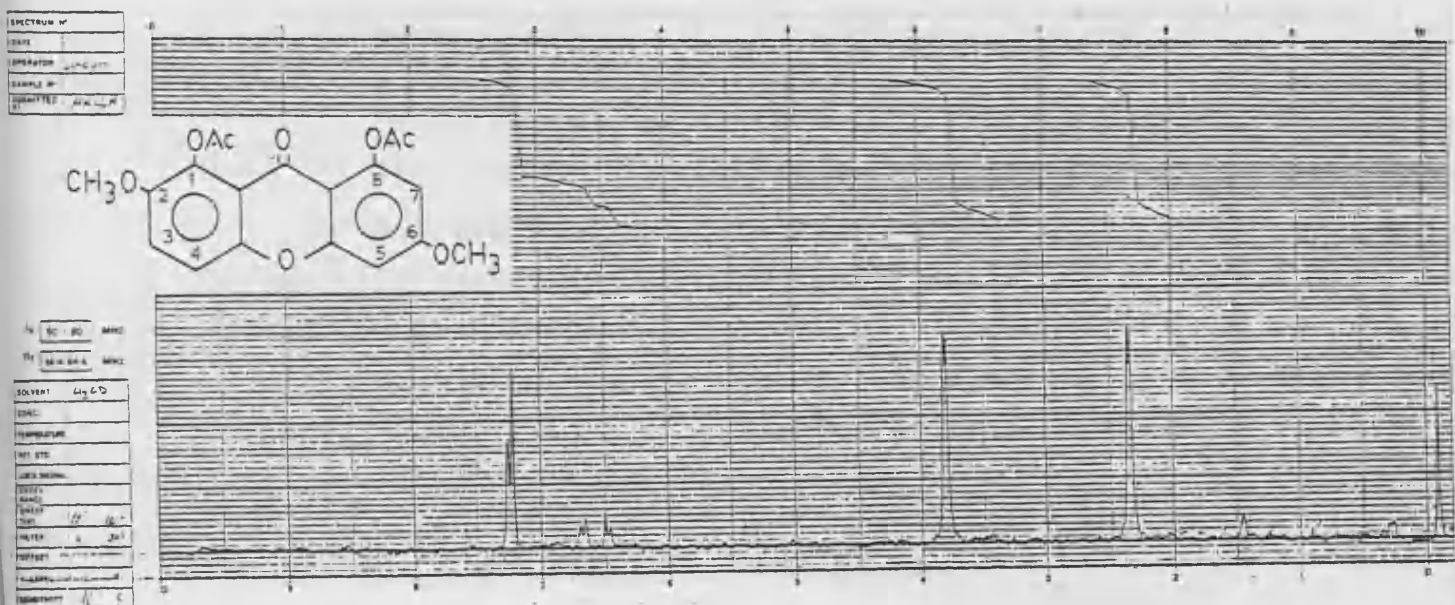


FIGURA 27: Espectro de RMN de C acetilado: 1,8-diacetoxi-2,6-dimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
7.25	2	singlete	H-3 y H-4
6.68	1	doblete (J=2 Hz)	H-5
6.49	1	doblete (J=2 Hz)	H-7
3.81	6	singlete >	2-OCH <sub>3</sub>
3.79		singlete >	
2.45	6	singlete >	2-OCOCH <sub>3</sub>
2.43		singlete >	

#### 4.3. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN X<sub>III</sub>. COMPUESTO D: 1,6-DIHIDROXI- 3,5-DIMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De la reunión de fracciones 57-75, eluidas de la columna con hexano-éter (75:25), se obtiene la agrupación X<sub>III</sub>.

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere color amarillo cuando la placa se somete a vapores de amoniaco y cuando se revela con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50%.

Por cristalización de X<sub>III</sub> en acetona, se obtienen unas agujas amarillas, que revelan pureza cromatográfica y cuyo punto de fusión es 194-196°C.

##### Interpretación del espectro de IR de D

El espectro de IR del compuesto D (fig.28) presenta las siguientes bandas características:

3440 cm <sup>-1</sup>	tensión O-H fenólico
3070-2850 cm <sup>-1</sup>	tensión C-H olefínica y alifática
1655 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O de carbonilo de xantona
1610, 1585 y 1510 cm <sup>-1</sup>	vibración C=C del anillo aromático
1210 cm <sup>-1</sup>	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38)
1155 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C del grupo C-OCH <sub>3</sub>

El espectro de IR y la coloración en c.c.f., debida a vapores amoniacales, indica la presencia de un núcleo de xantona. La aparición de una banda hidroxílica, en la región de 3400 cm<sup>-1</sup>, indica la existencia de, al menos, un grupo hidroxilo en posición distinta a C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> en el anillo de xantona.(38).

##### Interpretación del espectro de RMN de D

El espectro de RMN de D (fig.29), realizado en acetona deuterada, presenta las siguientes señales:



<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
13.05	1	singlete	-OH
7.85	1	doblete (J=9.3 Hz)	1H-Ar acoplado en orto
6.95	1	doblete (J=9.3 Hz)	1H-Ar acoplado en orto
6.55	1	doblete (J=2.6 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
6.30	1	doblete (J=2.6 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
4.00	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.90	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un grupo hidroxilo en posición C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta \sim 13$ ppm), característicos de -OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en orto, uno de ellos muestra un desplazamiento químico a 7.85  $\delta$ , significativo de protones situados en orto al carbonilo (C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>) los cuales resuenan a campo más bajo que los demás ( $\sim 8 \delta$ ) (71).

Posee, también, dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta, que tendremos que situar en posiciones C<sub>2</sub> y C<sub>4</sub>, que son las únicas que admiten ese acoplamiento, teniendo las posiciones C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> ocupadas.

Las otras tres posiciones, asequibles de sustitución, (C<sub>3</sub>, C<sub>5</sub> y C<sub>6</sub>) corresponden a dos grupos metoxilos (4.0 y 3.9  $\delta$ ) y a un grupo hidroxilo que fue detectado en el IR y que no aparece en este espectro por interconversión con el agua que acompaña al disolvente utilizado para obtener su registro (ver pág. 45) (69,70).



Para la total asignación de la estructura del compuesto D, se procedió al estudio de su espectro de UV y EM, con las conclusiones que a continuación se indican.

### Interpretación de los espectros de UV de D

La localización de los dos -OH de D, detectados en IR y RMN, se determina por el estudio de su UV, en distintos medios, con los valores que se recogen a continuación.

	$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )			
MeOH	242 (3.73)	280 (3.79)	313 (3.84)	
NaOMe	241	263	293	373
NaOAc	241	263	293	373
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	242	280	313	
AlCl <sub>3</sub>	254	262 (h)	285 (h)	342
AlCl <sub>3</sub> + HCl	254	262 (h)	285 (h)	342

#### - Espectro en MeOH

El espectro del compuesto D, en metanol (fig.30), presenta tres bandas, características de un anillo xantónico. Según Ghosal y col. (89) este espectro es característico de xantonas 1,3,5,6-tetra-O-sustituidas (ver tabla I).

#### - Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.30), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. La modificación del espectro original, tras añadir NaOAc (fig.31), indica la existencia de hidroxilos ácidos (C<sub>3</sub> ó C<sub>6</sub>).

El espectro en MeO<sup>⊖</sup> y AcO<sup>⊖</sup> son superponibles (fig.30 y 31), lo que indica que se trata de una 1,6-dihidroxixantona y no 1,3-dihidroxixantona, donde ambas modificaciones no son idénticas (pág. 39) (39).

El espectro no se modifica con el tiempo indicando la ausencia de agrupaciones orto-hidroxílicas.

- Espectros en  $\text{AlCl}_3$  y  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$

Al añadir  $\text{AlCl}_3$  (fig.32), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en  $\text{C}_1$  y/o  $\text{C}_8$  ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadirse  $\text{HCl}$ , el espectro no sufre modificación, lo que descarta el segundo supuesto, ya que los complejos que forman las agrupaciones orto-hidroxílicas con  $\text{AlCl}_3$ , son inestables en medio ácido.

Interpretación del espectro de masas de D

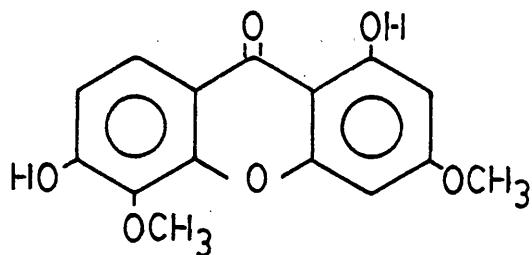
El ión molecular del EM (288 uma) es concordante con una fórmula molecular de  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$  para el compuesto D, que corresponde a una xantona dihidroxilada y dimetoxilada (fig. 33).

El resto de los picos, confirma para D, la estructura de una xantona polioxigenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
288	100	$\text{M}^+$
273	13.7	$\text{M}-\text{CH}_3$
259	19.3	$\text{M}-\text{CHO}$
258	7.6	$\text{M}-\text{CH}_2\text{O}$
245	49.2	$\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}$
217	14.1	$\text{M}-\text{CH}_3-2\text{CO}$
202	7.1	$\text{M}-2\text{CH}_3-2\text{CO}$

Del conjunto de datos obtenidos para D, asignamos para este producto la estructura de 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxi-

xantona, siendo sus características físicas y espectroscópicas totalmente concordantes con los datos por la bibliografía para este compuesto (44,89).



D 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona

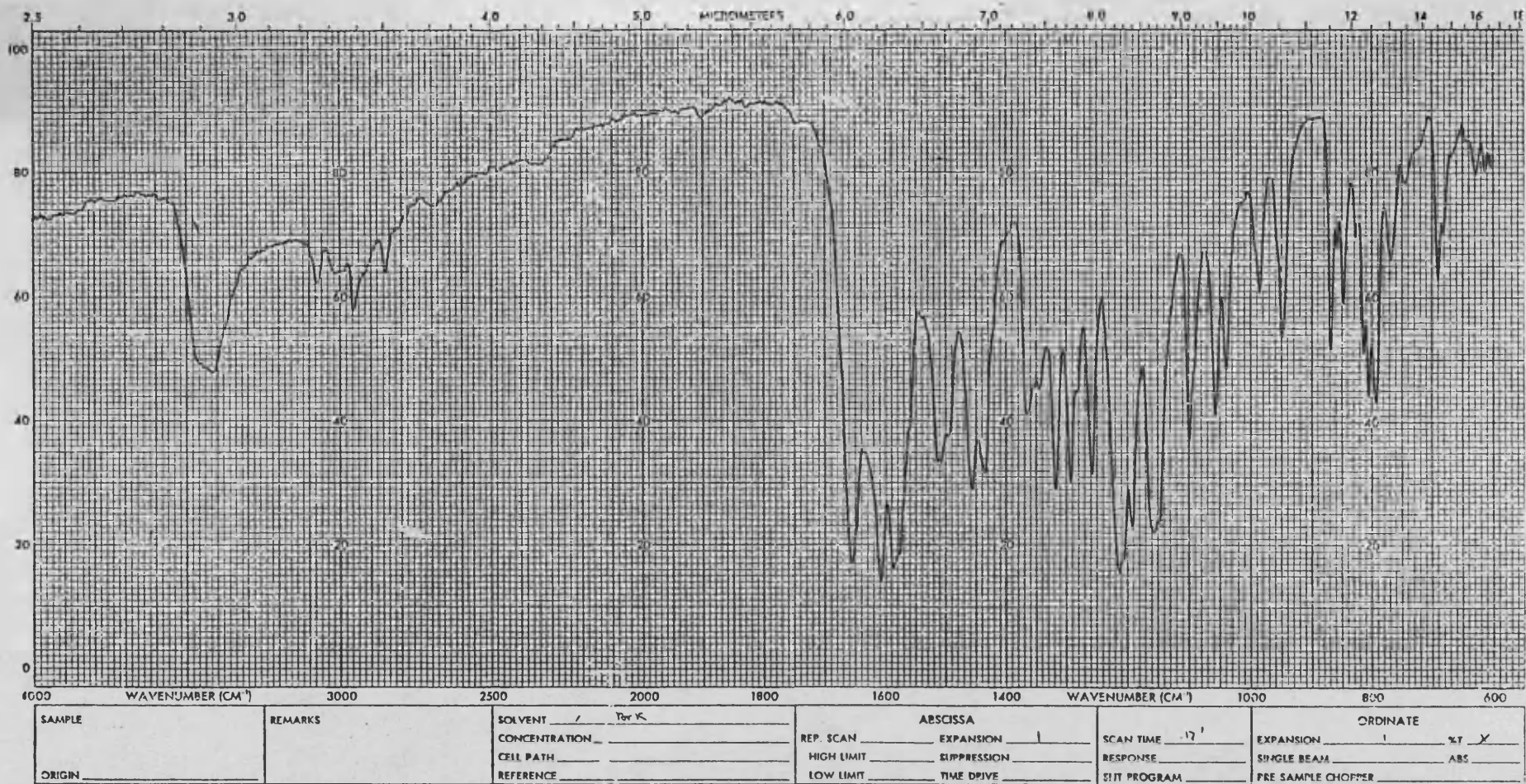


FIGURA 28: Espectro de IR de D: 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona.

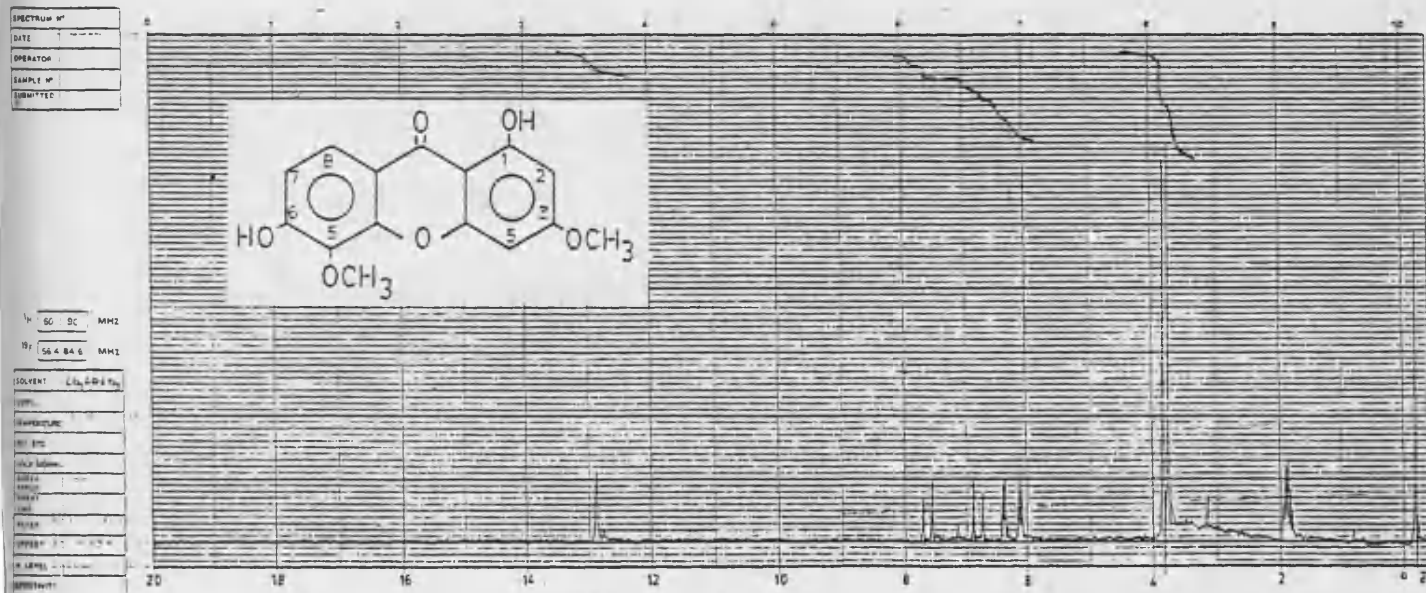


FIGURA 29: Espectro de RMN de D: 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
13.05	1	singlete	OH-1
7.85	1	doblete (J=9.3 Hz)	H-8
6.95	1	doblete (J=9.3 Hz)	H-7
6.55	1	doblete (J=2.6 Hz)	H-4
6.30	1	doblete (J=2.6 Hz)	H-2
4.00	3	singlete	2-OCH <sub>3</sub>
3.90	3	singlete	

FIGURA 30

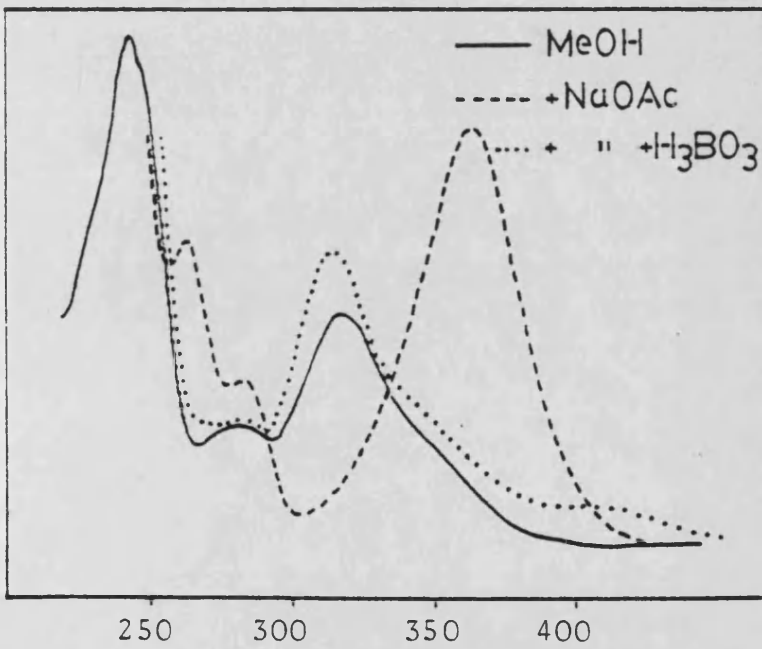
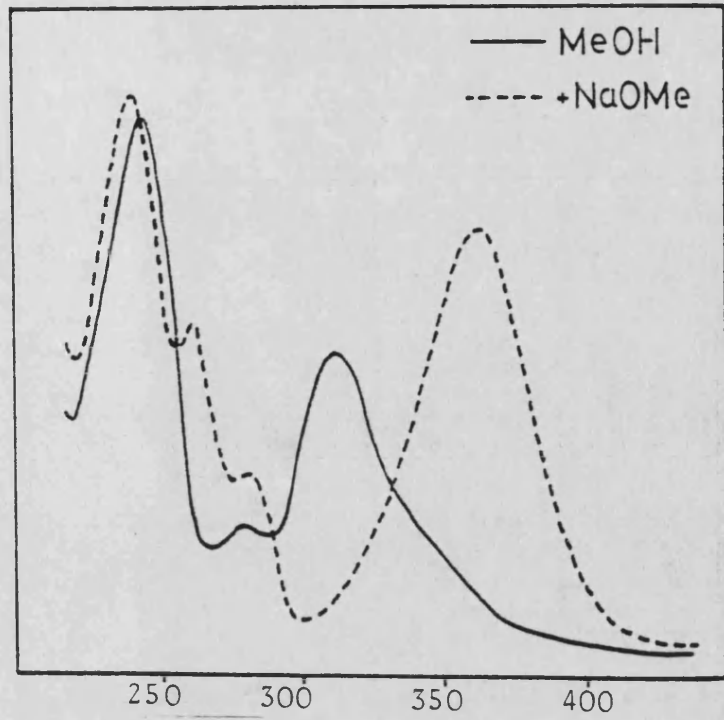
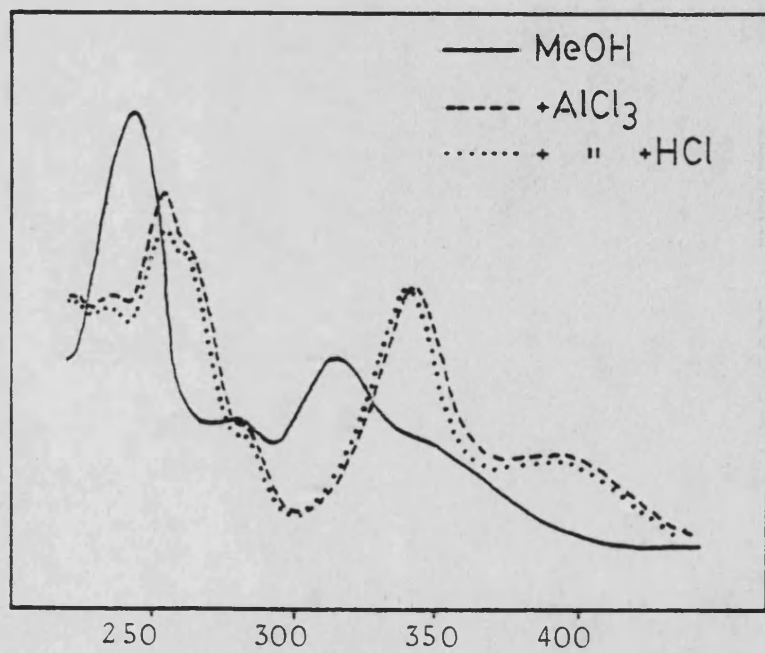


FIGURA 31

Espectros U.V. de D:  
1,6-dihidroxi-3,5-  
dimetoxixantona.

FIGURA 32



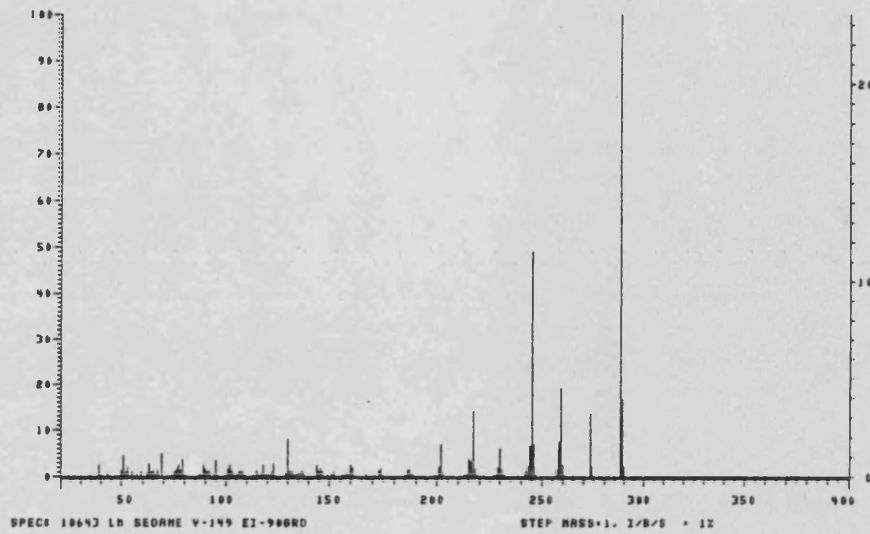


FIGURA 33: Espectro de masas de D: 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	304	0.46X	27.9	72	236	2.70X	116	150	1904	6.16X	220.2
2	100	0.32X	36.0	73	224	0.72X	115	151	614	1.98X	221.2
3	64	0.20X	37.0	74	162	0.54X	120	152	105	0.59X	222.2
4	843	2.72X	38.9	75	226	0.73X	121	153	26	0.09X	223.2
5	84	0.27X	46.0	76	72	0.23X	121	154	77	0.24X	241.2
6	154	0.49X	41.0	77	306	1.04X	122	155	371	1.20X	242.2
7	70	0.22X	42.0	78	273	0.88X	122	156	20	0.06X	242.5
8	204	0.61X	43.0	79	292	0.89X	123	157	761	2.46X	243.2
9	11	0.03X	44.0	80	150	0.48X	124	158	2052	6.78X	244.2
10	40	0.15X	45.1	81	24	0.08X	125	159	15205	49.21X	245.2
11	414	1.24X	50.1	82	22	0.16X	127	160	2174	7.03X	246.2
12	1204	3.52X	51.1	83	67	0.21X	128	161	270	0.87X	247.2
13	360	1.16X	52.1	84	245	0.79X	128	162	49	0.15X	256.2
14	654	2.12X	53.1	85	2519	8.15X	130	163	472	1.52X	257.2
15	37	0.11X	54.1	86	290	0.92X	130	164	2336	7.56X	258.2
16	266	1.18X	55.1	87	423	1.34X	131	165	5944	19.30X	259.2
17	22	0.07X	56.2	88	461	1.49X	135	166	915	2.96X	260.2
18	155	0.50X	57.2	89	216	0.69X	133	167	191	0.61X	261.2
19	225	1.05X	59.1	90	156	0.50X	134	168	42	0.13X	262.2
20	245	0.74X	62.1	91	293	0.94X	135	169	146	0.47X	265.2
21	694	2.09X	63.1	92	362	1.17X	136	170	38	0.12X	269.2
22	371	1.08X	64.1	93	71	0.22X	136	171	30	0.09X	270.2
23	444	1.32X	65.1	94	410	1.28X	137	172	54	0.17X	271.2
24	43	0.13X	65.6	95	247	0.86X	138	173	4244	13.73X	273.2
25	254	0.82X	66.1	96	26	0.08X	145	174	768	2.48X	274.2
26	412	1.22X	67.1	97	55	0.17X	142	175	43	0.13X	275.2
27	152	0.45X	68.1	98	11	0.03X	144	176	21	0.06X	285.1
28	1555	4.63X	69.1	99	60	0.22X	144	177	2002	6.04X	286.1
29	33	0.10X	70.1	100	451	1.45X	148	178	5210	16.64X	289.1
30	20	0.06X	72.1	101	253	0.78X	146	179	744	2.40X	290.1
31	115	0.37X	74.1	102	407	1.21X	147	180	31	0.10X	291.1
32	376	1.12X	75.1	103	26	0.11X	146	181	47	0.15X	314
33	466	1.50X	76.1	104	105	0.33X	149	182	58	0.18X	323.2
34	776	2.31X	77.1	105	35	0.11X	150				
35	529	1.57X	78.1	106	150	0.51X	151				
36	1222	3.68X	79.1	107	342	1.10X	152				
37	264	0.86X	80.1	108	91	0.29X	150				
38	132	0.42X	81.1	109	100	0.32X	157				
39	24	0.07X	83.1	110	249	0.80X	158				
40	43	0.13X	86.1	111	102	0.32X	159				
41	227	0.73X	87.1	112	842	2.72X	160				
42	136	0.44X	88.1	113	680	2.20X	161				
43	611	1.82X	89.1	114	46	0.14X	162				
44	560	1.67X	90.1	115	60	0.19X	165				
45	417	1.24X	91.1	116	273	0.87X	167				
46	430	1.29X	92.1	117	35	0.11X	170				
47	306	0.93X	93.1	118	144	0.47X	171				
48	238	0.77X	93.6	119	30	0.09X	172				
49	131	0.42X	94.1	120	427	1.36X	173				
50	1134	3.48X	95.1	121	586	1.89X	174				
51	97	0.31X	96.2	122	86	0.28X	175				
52	31	0.10X	99.2	123	90	0.29X	185				
53	145	0.44X	100.2	124	512	1.65X	186				
54	566	1.68X	101.6	125	510	1.65X	187				
55	774	2.31X	102.3	126	276	0.89X	188				
56	402	1.20X	102.2	127	136	0.44X	189				
57	152	0.46X	104.2	128	44	0.14X	191				
58	231	0.74X	105.2	129	23	0.07X	193				
59	355	1.04X	106.1	130	26	0.08X	198				
60	414	1.24X	107.1	131	126	0.40X	199				
61	71	0.22X	107.6	132	25	0.08X	200				
62	447	1.34X	108.1	133	619	2.00X	201				
63	161	0.50X	109.6	134	26	0.08X	201				
64	112	0.34X	109.1	135	2210	7.15X	202				
65	41	0.12X	110.1	136	211	0.67X	203				
66	34	0.10X	111.1	137	32	0.10X	204				
67	143	0.43X	112.1	138	81	0.26X	213				
68	108	0.32X	114.1	139	176	0.54X	214				
69	461	1.38X	115.1	140	160	0.52X	215				
70	126	0.38X	116.1	141	42	0.13X	215				
71	265	0.85X	117.1	142	1045	3.38X	216				
				143	4356	14.10X	217				
				144	607	1.94X	218				
				145	125	0.41X	219				
				146	47	0.15X	225				
				147	124	0.41X	227				
				148	177	0.57X	222.2				
				149	643	2.06X	224.2				



#### 4.4. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN $X_{IV}$ . SEPARACIÓN DE E Y F.

---

De la reunión de fracciones 80-85, eluidas de la columna con hexano-éter etílico (50:50), se obtiene la agrupación  $X_{IV}$ .

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere un color amarillo, cuando la placa se somete a vapores de amoníaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de  $X_{IV}$  en metanol, se obtiene un sólido amarillo pulverulento, que estudiamos como compuesto E.

Las aguas madres de  $X_{IV}$ , sometidas a cromatografía de capa fina preparativa y posterior cristalización en acetona-hexano, dan lugar a unos cristales amarillos, de comportamiento físico y espectral diferente al compuesto E, que estudiamos como compuesto F.

4.4.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO E: 1,3,8-TRIHIDROXI-2,4,6-TRIMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

El compuesto E, obtenido como se ha indicado, mostró un aspecto pulverulento, que revelaba pureza cromatográfica y de punto de fusión 215-217°C.

Interpretación del espectro de IR de E

El espectro de IR del compuesto E (fig.34) presenta las siguientes bandas características:

3400 cm <sup>-1</sup>	tensión O-H fenólico
3030-2840 cm <sup>-1</sup>	tensión C-H olefínica y alifática
1665 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O de carbonilo de xantona
1635, 1610 y 1575 cm <sup>-1</sup>	vibración C=C del anillo aromático
1250 cm <sup>-1</sup>	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1145 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>

El espectro de IR y la coloración en c.c.f., debida a vapores amoniacales, indica la presencia de un núcleo de xantona. La aparición de una banda hidroxílica, en la región de 3400 cm<sup>-1</sup>, indica la existencia de, al menos, un grupo hidroxilo en posición distinta a C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub>(38).

Interpretación del espectro de RMN de E

El espectro de RMN de E (fig.35), realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>		<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
11.98	}	2	singlete	-OH
11.95			singlete	-OH
6.48		1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.33	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
3.98	6	singlete	-OCH <sub>3</sub>
3.95		singlete	-OCH <sub>3</sub>
3.87		singlete	-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee dos grupos hidroxilo, que se sitúan en C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub>, como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta \sim 12$  ppm), característico de -OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta (J=2 Hz), que deberán estar situados en C<sub>2</sub>(ó C<sub>7</sub>) y C<sub>4</sub>(ó C<sub>5</sub>) (dado que las posiciones C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> ya están ocupadas).

De las cuatro posiciones, que restan, asequibles de sustitución, tres corresponderán a sendos grupos metoxilo que se observan en este espectro y la última posición corresponderá al grupo hidroxilo detectado en el IR y que no aparece en este espectro por interconversión con el agua que acompaña al disolvente utilizado para obtener su registro (ver pág.45).

Para la asignación de la posición del tercer hidroxilo en E, se procedió al estudio de sus espectros de UV y EM, así como al estudio de su derivado acetilado, con las conclusiones que a continuación se indican.

#### Interpretación de los espectros de UV de E

La localización de los tres hidroxilos de E, detectados en el IR y RMN, se confirma por el estudio de su UV, en distintos medios, con los valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )			
MeOH	235 (h)	264 (3.61)	335 (3.42)	378 (h)
NaOMe	243	254	271 (h)	370
NaOAc	243	254	271 (h)	370
NaOAc + H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	235	264	335	
AlCl <sub>3</sub>	226	275	332 (h)	373
AlCl <sub>3</sub> + HCl	226	275	332 (h)	373

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto E, en metanol (fig. 36), presenta cuatro bandas, características de un anillo xantónico. La 1,2,3,4,6,8-hexa-O-sustitución se muestra clara por comparación de este espectro con el obtenido para A, fig. 4.

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig. 36), indica la existencia de grupos hidroxilo. Se produce la misma modificación al añadir NaOAc (fig. 37) a la disolución original, lo que indica la presencia de hidroxilos ácidos (C<sub>3</sub> ó C<sub>6</sub>). Esto está confirmado por la presencia de una banda intensa entre 345-370 nm, en medio básico, que es típico de 3-hidroxixantonas (39).

El espectro no se modifica con el tiempo (ausencia de agrupaciones orto-hidroxílicas).

- Espectro en AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub> + HCl

Al añadir AlCl<sub>3</sub> (fig. 38), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, características de grupos hidroxilo en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Tras añadir HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los

complejos que forman con  $\text{AlCl}_3$  son inestables en medio ácido.

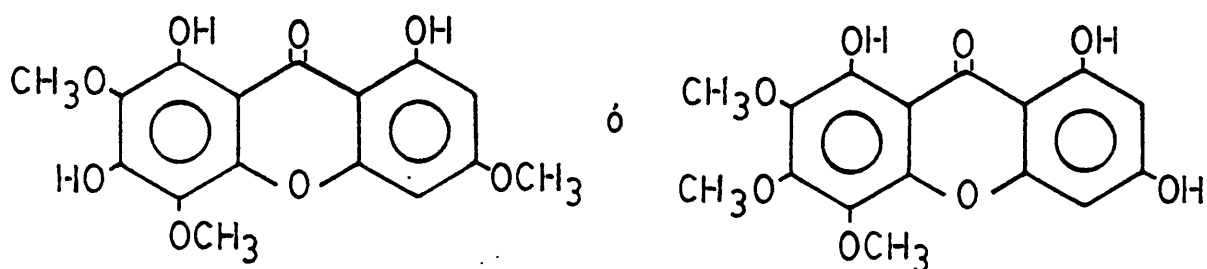
Interpretación del espectro de masas de E

El ion molecular del espectro (fig.39), es concordante con una fórmula molecular de  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_8$ , para el compuesto E.

El resto de los picos, confirma para E, la estructura de una xantona polioxygenada.

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
334	79.0	$\text{M}^+$
319	100	$\text{M}-\text{CH}_3$
291	47.9	$\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}$
276	25.8	$\text{M}-2\text{CH}_3-\text{CO}$

Del conjunto de los datos físicos y espectroscópicos, deducimos dos posibles estructuras para E: la 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona ó la 1,6,8-trihidroxi-2,3,4-trimetoxixantona. La comprobación total de su estructura se obtiene por el estudio de su derivado acetilado.



4.4.1.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE E. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar el producto E, con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág.253). El producto así obtenido, se purifica por cristalización de acetona, rindiendo unos cristales amarillo pálido, de punto de fusión 213-216°C.

Interpretación del espectro de IR de E acetilado

El espectro de IR de E acetilado (fig.40) muestra las siguientes bandas características:

1770 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O ester fenólico
1645, 1625 y 1590 cm <sup>-1</sup>	bandas características de xantonas
1195 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ester fenólico
1160 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C de grupos C-O-CH <sub>3</sub>
1055 cm <sup>-1</sup>	tensión Ar-O-C simétrica.

Con este espectro se confirma la total acetilación de la xantona, por desaparición de la banda hidroxílica.

Interpretación del espectro de RMN de E acetilado

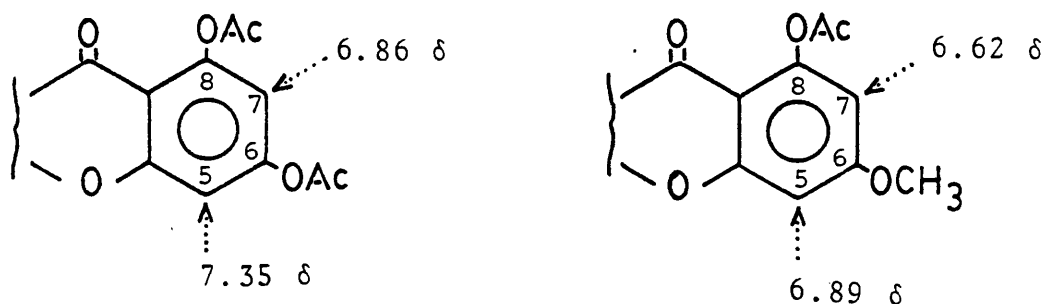
El espectro de RMN de E acetilado (fig.41), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, muestra las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.82	1	doblete (J=2 Hz)	H-Ar acoplado en meta
6.57	1	doblete (J=2 Hz)	H-Ar acoplado en meta
4.00	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.92	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
3.82	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
2.45	9	singlete	3-OCOCH <sub>3</sub>
2.42		singlete	

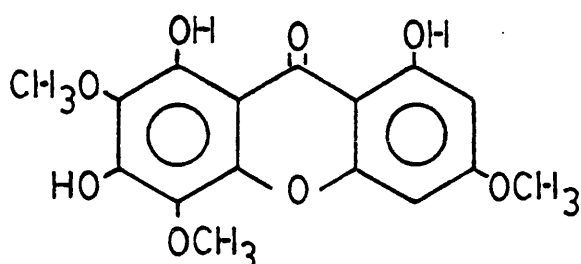
La primera información que podemos sacar es la confirmación de la existencia de tres hidroxilos en E, ya que muestra tres acetatos.

Los H-Ar acoplados en meta ( $J=2$  Hz) deben estar en un anillo monohidroxilado puesto que su desplazamiento ha sido de tan solo 0.25 ppm (H-C<sub>7</sub>) y de 0.34 ppm (H-C<sub>5</sub>), valores característicos (como ya se ha comentado) para un protón orto y para, respectivamente, a un hidroxilo que pasa a acetoxilo. De haber estado en un anillo 1,3-dihidroxilado estos protones hubieran resonado teniendo en cuenta la actividad doblemente orto a hidroxilos (para H-C<sub>7</sub>) y orto, para a hidroxilos (para H-C<sub>5</sub>) según indica Massicot y col. (74):



Del conjunto de datos obtenidos para E y su derivado acetilado, asignamos a este producto la estructura de 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona (88,90), siendo ésta la segunda vez que se describe su aislamiento en la naturaleza.





E 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona

#### 4.4.1.b. ESTUDIO DEL DERIVADO PERMETILADO DE E.

Se obtiene el derivado trimetilado de E, para dar lugar a la 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona, compuesto conocido (85) y obtenido por nosotros al permetilar el compuesto A (84). Se hace reaccionar E con  $\text{Me}_2\text{SO}_4$  y  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , según se describe en la parte experimental (pág.253).

Los datos físicos y espectroscópicos del derivado trimetilado de E, son del todo concordantes con los dados por la bibliografía para la 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona (85) y con los obtenidos por nosotros para el derivado dime-tilado del compuesto A (84).



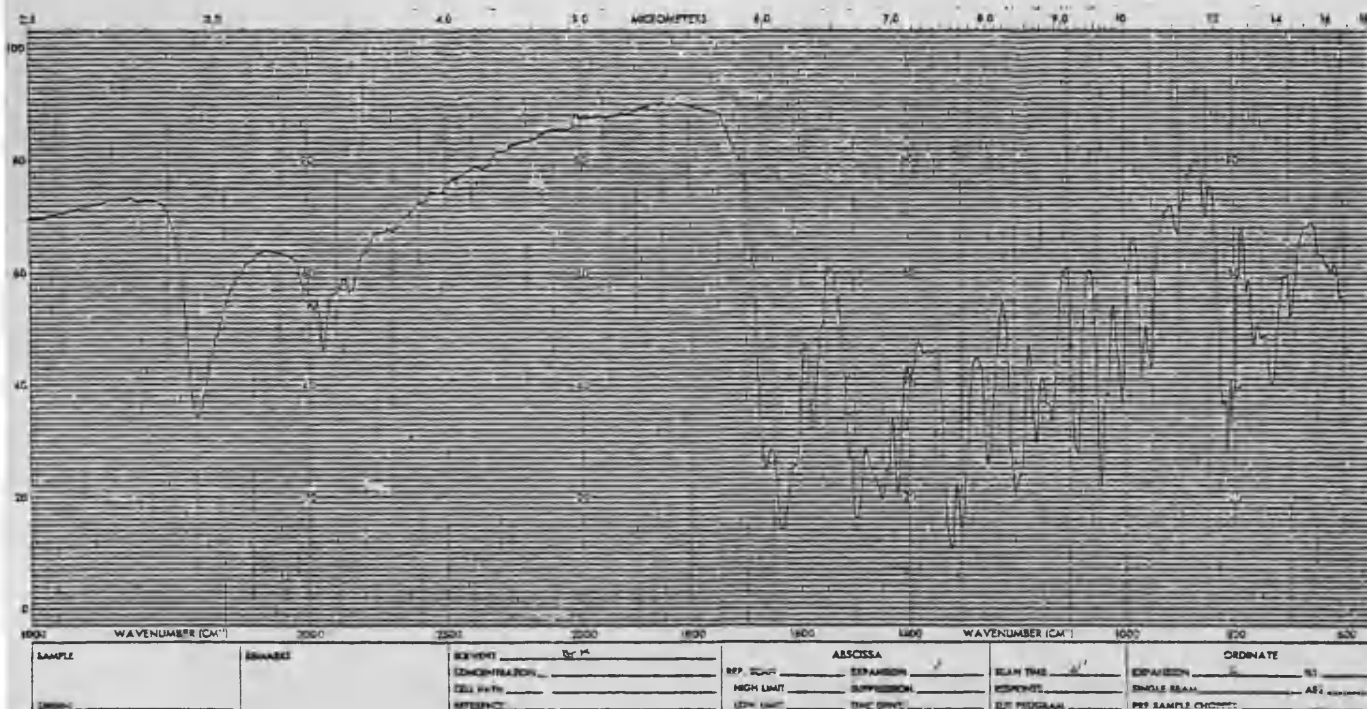


FIGURA 34: Espectro de IR de E: 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona.

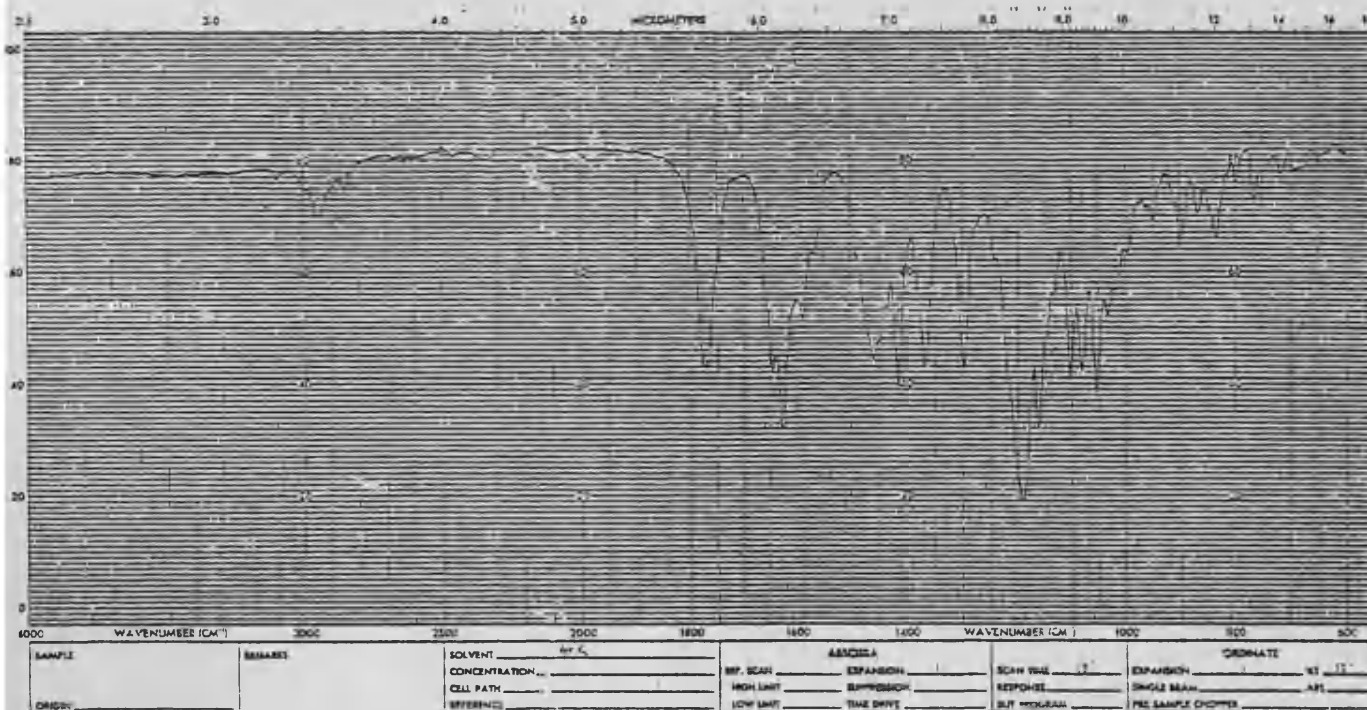


FIGURA 40: Espectro de IR de E acetilado: 1,3,8-triacetoxi-2,4,6-trimetoxixantona.

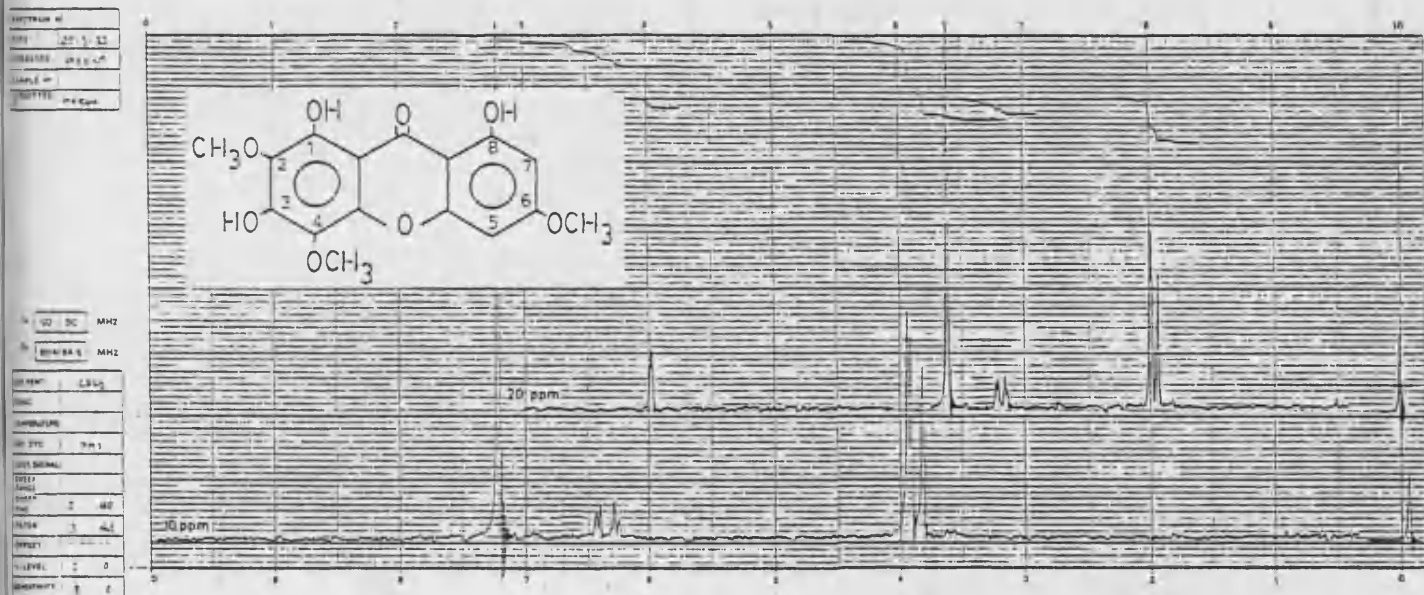


FIGURA 35: Espectro de RMN de E: 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxi-xantona.

<u>Desplazamiento químico (δ)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
11.98	2	singlete	OH-1
11.95		singlete	OH-8
6.48	1	doblete (J=2 Hz)	H-5
6.33	1	doblete (J=2 Hz)	H-7
3.98	6	singlete	3-OCH <sub>3</sub>
3.95		singlete	
3.87		singlete	

FIGURA 36

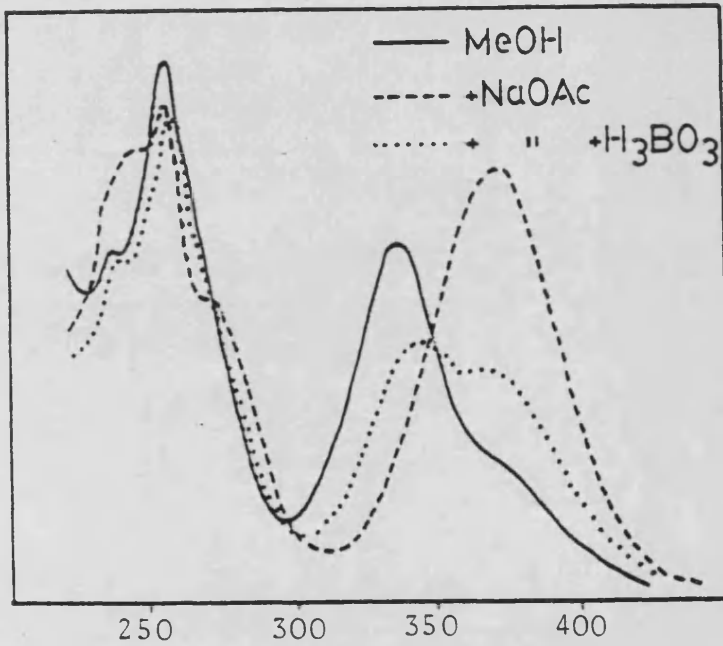
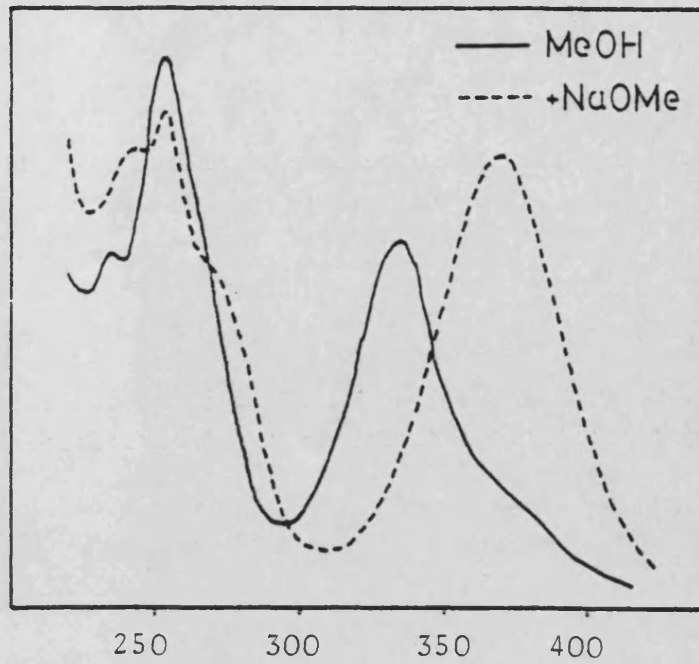
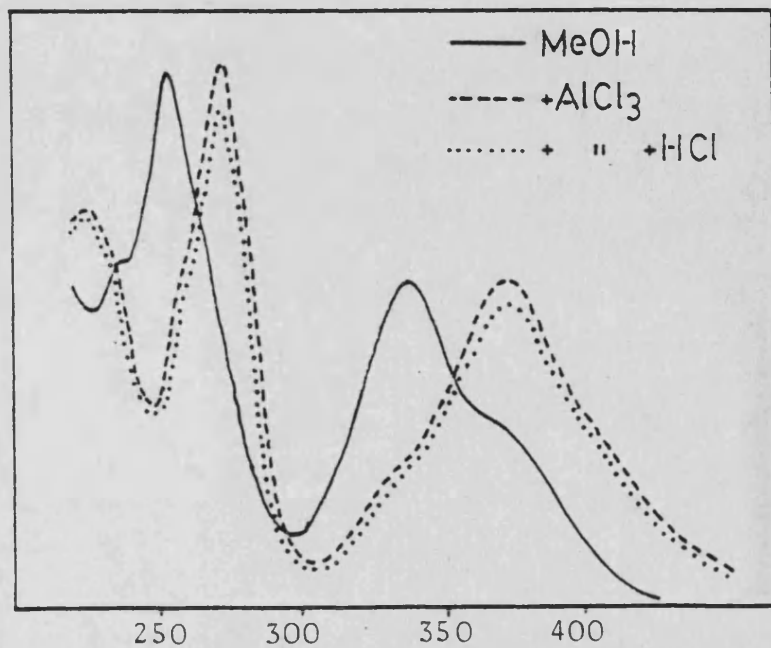


FIGURA 37

Espectros U.V. de E:  
1,3,8-trihidroxi-2,4,6-  
trimetoxixantona.

FIGURA 38



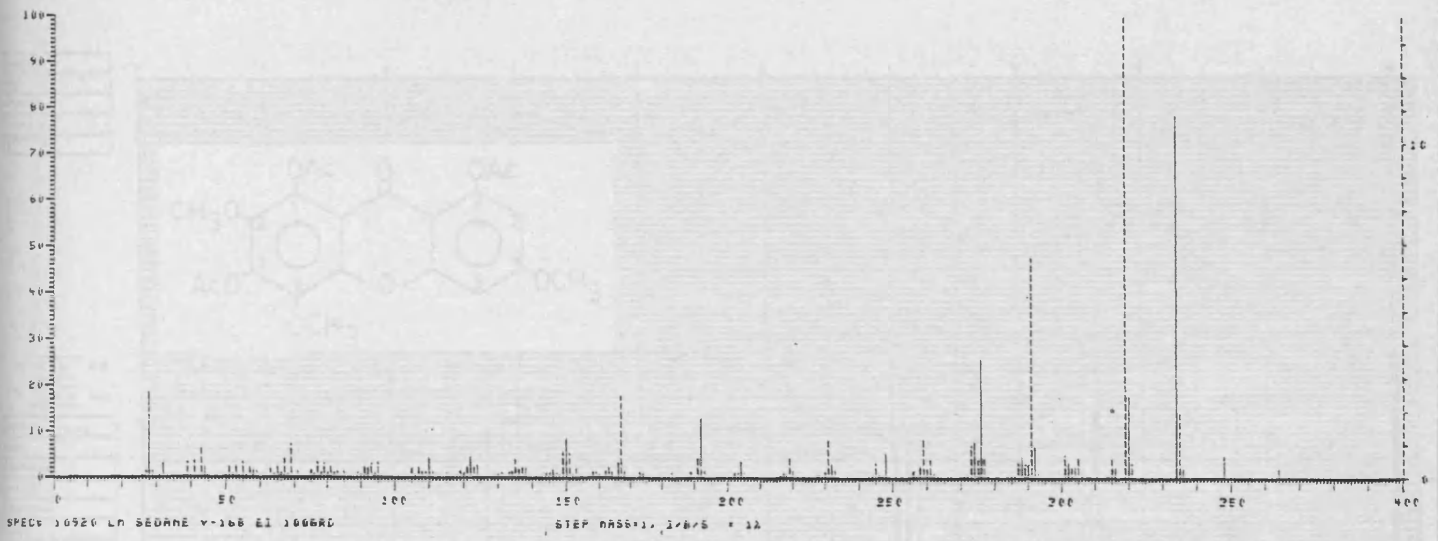


FIGURA 39: Espectro de masas de E: 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxi-xantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
158	0.44%	0.44%	158	72	0.63%	102	1	150	201	0.62%	181	222	53	0.16%	281
47	1.47%	1.47%	47	84	2.78%	107	1	151	237	0.73%	182	229	85	0.07%	282
59	18.48%	18.48%	59	74	4.10%	108	0	152	380	1.17%	183	0	84	0.26%	284
42	1.46%	1.46%	42	75	4.61%	109	1	153	24	0.09%	184	147	0.45%	285	
87	0.84%	0.84%	87	76	1.33%	110	0	154	30	0.09%	185	203	0.63%	286	
100	3.10%	3.10%	100	77	1.96%	110	5	155	150	0.46%	186	187	1066	3.37%	287
56	0.16%	0.16%	56	78	4.77%	111	1	156	50	0.15%	187	234	1602	4.97%	288
37	0.011%	0.011%	37	79	4.57%	112	1	157	404	1.27%	188	235	464	3.07%	289
49	0.089%	0.089%	49	80	1.30%	112	1	158	137	0.42%	189	236	1087	2.18%	290
105	10.54%	10.54%	105	81	5.2%	114	1	159	1584	4.92%	191	237	18430	47.51%	291
95	0.022%	0.022%	95	82	3.94%	115	1	160	4211	13.07%	192	238	6.42%	292	
111	1.55%	1.55%	111	83	2.87%	116	1	161	588	1.73%	193	239	346	1.08%	293
134	0.41%	0.41%	134	84	2.76%	117	1	162	44	0.13%	194	240	27	0.08%	294
207	6.44%	6.44%	207	85	2.13%	118	1	163	25	0.07%	195	241	290	0.86%	295
155	7.51%	7.51%	155	86	4.90%	119	1	164	98	0.30%	197	242	5.24%	301	
111	1.55%	1.55%	111	87	3.52%	120	1	165	31	0.09%	198	243	3.48%	302	
232	0.072%	0.072%	232	88	7.7%	121	1	166	84	0.26%	199	244	274	2.71%	303
16	0.64%	0.64%	16	89	14.77%	122	1	167	38	0.11%	200	245	787	2.44%	304
72	2.24%	2.24%	72	90	6.04%	123	1	168	117	0.36%	201	246	1456	4.52%	305
111	1.55%	1.55%	111	91	9.7%	124	1	169	395	1.22%	202	247	6.72%	306	
237	0.073%	0.073%	237	92	2.27%	125	1	170	400	1.22%	203	248	84	0.26%	307
1116	3.477%	3.477%	1116	93	1.67%	127	1	171	1186	3.68%	204	249	73	0.22%	313
238	0.073%	0.073%	238	94	9.2%	128	1	172	366	1.13%	205	250	112	0.34%	314
77	2.39%	2.39%	77	95	2.24%	129	1	173	24	0.07%	206	251	153	4.53%	315
49	1.54%	1.54%	49	96	4.9%	130	1	174	37	0.11%	207	252	41	0.12%	315
42	1.44%	1.44%	42	97	3.16%	131	1	175	68	0.21%	209	253	795	2.47%	316
35	0.44%	0.44%	35	98	2.8%	132	1	176	177	0.54%	210	254	100	0.31%	319
161	1.75%	1.75%	161	99	1.24%	133	1	177	67	0.18%	211	255	17	0.05%	320
56	0.86%	0.86%	56	100	3.23%	133	1	178	135	0.41%	215	256	1085	3.36%	321
87	0.84%	0.84%	87	101	4.73%	134	1	179	184	0.58%	216	257	36	0.11%	322
327	0.71%	0.71%	327	102	13.44%	135	1	180	375	1.16%	217	258	63	0.19%	324
131	1.01%	1.01%	131	103	6.37%	136	0	181	293	0.90%	218	259	80	0.24%	325
81	4.07%	4.07%	81	104	1.82%	136	5	182	1504	4.68%	219	0	41	0.12%	331
335	0.77%	0.77%	335	105	7.37%	137	0	183	737	2.27%	220	1	2545	76.66%	334
237	7.38%	7.38%	237	106	6.66%	138	1	184	523	1.59%	221	1	4606	14.20%	335
129	0.40%	0.40%	129	107	2.07%	139	1	185	70	0.21%	223	1	200	0.62%	336
49	1.27%	1.27%	49	108	5.2%	140	0	186	35	0.10%	224	1	200	0.62%	337
83	0.8%	0.8%	83	109	2.54%	141	1	187	40	0.12%	225	1	200	0.62%	338
158	0.44%	0.44%	158	110	9.7%	142	0	188	311	0.96%	229	1	1533	4.76%	339
163	0.33%	0.33%	163	111	2.73%	143	0	189	403	1.25%	230	1	267	0.82%	340
59	1.64%	1.64%	59	112	3.91%	144	0	190	277	0.86%	231	1	65	0.12%	341
268	0.63%	0.63%	268	113	4.6%	144	5	191	987	3.06%	232	1	65	0.12%	342
1106	3.44%	3.44%	1106	114	3.24%	145	0	192	616	1.91%	233	1	82	0.27%	343
323	1.12%	1.12%	323	115	5.35%	145	0	193	106	0.32%	234	1	0	0	0
1043	3.23%	3.23%	1043	116	3.50%	146	0	194	46	0.14%	235	1	0	0	0
336	1.04%	1.04%	336	117	2.57%	147	0	195	62	0.19%	236	0	0	0	0
622	2.57%	2.57%	622	118	1.86%	148	0	196	178	0.55%	237	0	0	0	0
232	1.00%	1.00%	232	119	1.86%	149	0	197	306	0.95%	238	0	0	0	0
463	1.43%	1.43%	463	120	2.74%	150	0	198	1072	3.32%	239	0	0	0	0
116	0.36%	0.36%	116	121	17.13%	151	0	199	264	0.82%	240	0	0	0	0
403	1.25%	1.25%	403	122	2.97%	152	0	200	276	0.86%	241	0	0	0	0
82	0.15%	0.15%	82	123	6.97%	153	0	201	1770	5.44%	242	0	0	0	0
214	0.66%	0.66%	214	124	7.3%	154	1	202	243	0.75%	243	0	0	0	0
50	0.15%	0.15%	50	125	1.22%	155	1	203	113	0.35%	244	0	0	0	0
326	1.04%	1.04%	326	126	1.8%	155	1	204	487	1.51%	245	0	0	0	0
836	2.59%	2.59%	836	127	4.41%	156	1	205	301	0.93%	246	0	0	0	0
658	0.8%	0.8%	658	128	4.37%	157	1	206	844	2.62%	247	0	0	0	0
495	0.8%	0.8%	495	129	1.71%	158	1	207	2712	8.45%	248	0	0	0	0
660	1.8%	1.8%	660	130	2.02%	159	1	208	661	2.05%	249	0	0	0	0
661	1.8%	1.8%	661	131	2.02%	161	1	210	1361	4.22%	250	0	0	0	0
662	1.8%	1.8%	662	132	4.89%	162	0	211	84	0.26%	251	0	0	0	0
663	1.8%	1.8%	663	133	3.33%	163	0	212	24	0.07%	252	0	0	0	0
664	1.8%	1.8%	664	134	4.2%	164	0	213	165	0.51%	253	0	0	0	0
665	1.8%	1.8%	665	135	2.16%	165	0	214	64	0.19%	254	1	1	1	1
666	1.8%	1.8%	666	136	5.08%	166	0	215	65	0.2%	255	1	1	1	1
667	1.8%	1.8%	667	137	1.7%	167	5	216	38	0.11%	256	1	1	1	1
668	1.8%	1.8%	668	138	5.1%	168	0	217	20	0.06%	257	1	1	1	1
669	1.8%	1.8%	669	139	2.1%	169	0	218	22	0.07%	258	1	1	1	1
670	1.8%	1.8%	670	140	0.26%	170	0	219	161	0.49%	259	1	1	1	1
671	1.8%	1.8%	671	141	1.1%	171	0	220	121	0.37%	260	1	1	1	1
672	1.8%	1.8%	672	142	4.2%	172	0	221	20	0.06%	261	1	1	1	1
673	1.8%	1.8%	673	143	0.4%	173	0	222	14	0.04%	262	1	1	1	1
674	1.8%	1.8%	674	144	0.4%	174	0	223	7	0.02%	263	1	1	1	1
675	1.8%	1.8%	675	145	0.4%	175	0	224	2540	7.7%	264	1	1	1	1
676	1.8%	1.8%	676	146	0.7%	176	0	225	1310	4.03%	265	1	1	1	1
677	1.8%	1.8%	677	147	0.4%	177	0	226	7	0.02%	266	1	1	1	1
678	1.8%	1.8%	678	148	0.4%	178	0	227	1457	4.4%	267	1	1	1	1
679	1.8%	1.8%	679	149	0.1%	179	0	228	172	0.52%	268	1	1	1	1





4.4.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO F: 1,3,8-TRIHIDROXI-2-METOXI ó 1,3,8-TRIHIDROXI-4-METOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

El compuesto F, obtenido como se ha indicado (pág.106) mostró un aspecto cristalino, que revelaba pureza cromatográfica y cuyo punto de fusión es 262-264°C.

Interpretación del espectro de IR de F

El espectro de IR del compuesto F (fig. 42) presenta las siguientes bandas características:

3470 cm <sup>-1</sup>	tensión O-H libre
3260 cm <sup>-1</sup>	tensión O-H asociado
1655 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O de carbonilo de xantona
1615 y 1580 cm <sup>-1</sup>	vibración C=C del anillo aromático
1265 cm <sup>-1</sup>	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1155 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>

El espectro IR y la coloración en c.c.f., debido a vapores amoniacales, indica la presencia de un núcleo de xantona. La aparición de banda hidroxílica, en la región de 3400 cm<sup>-1</sup>, indica la existencia de, al menos, un grupo hidroxilo en posición distinta a C<sub>1</sub> y C<sub>8</sub> de un anillo de xantona. (38).

Interpretación del espectro de RMN de F

El espectro de RMN de F (fig.43), realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.68	1	doble doblete (J <sub>1</sub> =6.6 Hz; J <sub>2</sub> =4.8 Hz)	1H-Ar (protón X, sistema ABX)

<u>Desplazamiento</u> $\delta$	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.33-7.24	2	multiplete	2H-Ar (protones AB, sistem.ABX)
6.54	1	singlete	1H-Ar no acopl.
3.88	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee tres hidrógenos aromáticos acoplados entre sí formando un sistema ABX, correspondiente a tres hidrógenos contiguos en uno de los anillos de la xantona. Debido a que el desplazamiento químico del hidrógeno que sale a campo más bajo es de 7.68  $\delta$ , podemos concluir que no existen H-Ar en C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, ya que los situados en estas posiciones salen a  $\delta \geq 8$  (71).

Posee también un hidrógeno aromático, no acoplado, a 6.54  $\delta$ , que se sitúa sobre el otro anillo, en cualquier posición, menos la C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, por lo anteriormente argumentado.

Por último solo posee un grupo metoxilo, que todavía no podemos situar.

#### Interpretación de los espectros de UV de F

La localización de los hidroxilos, detectados en el IR, se efectúa por el estudio de su UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\max}$ nm (log $\epsilon$ )					
MeOH	222(h)	247(3.87)	274(h)	316(3.57)	368(3.15)	
NaOMe	233	254	292	350		
NaOAc	233	254	291	350		
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	222(h)	247	274(h)	316	368	
AlCl <sub>3</sub>	221	245	266	280	340	420
AlCl <sub>3</sub> +HCl	221	245	266	280	340	420



- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto F en metanol (fig.44), presenta tres bandas, característico de un anillo xantónico.

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original tras añadir NaOMe (fig.44), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. Se produce la misma modificación al añadir NaOAc (fig.45) a la disolución original, lo que indica la presencia de hidroxilos ácidos ( $C_3$  y/o  $C_6$ ). Esto viene confirmado por la presencia de una banda intensa entre 345-370 nm, en medio básico, que es típico de 3-hidroxixantonas (39).

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen agrupaciones orto-hidroxílicas.

- Espectro en  $AlCl_3$  y  $AlCl_3 + HCl$

Al añadir  $AlCl_3$  (fig.46), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en  $C_1$  y/o  $C_8$  ó agrupaciones orto-hidroxílicos.

Al añadirle HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta, de nuevo, las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los complejos que forman con  $AlCl_3$  son inestables en medio ácido.

Interpretación del espectro de masas de F

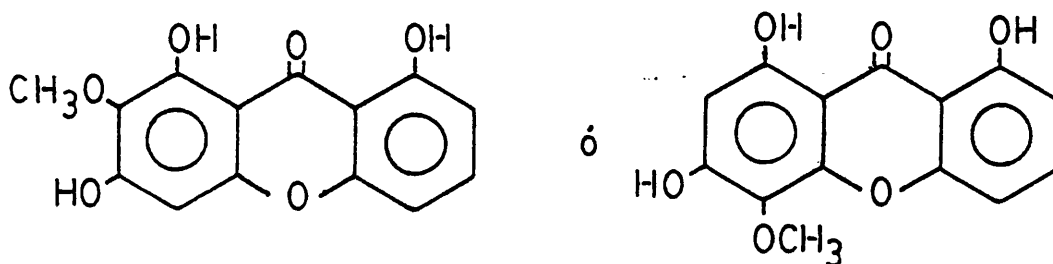
El ión molecular del espectro de masas (fig.47), es concordante con una fórmula molecular de  $C_{14}H_{10}O_6$  para el compuesto F, correspondiente a una xantona trihidroximonometoxilada.

El resto de los picos, confirma para F, la estructura de una xantona polioxigenada:



<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
274	71.9	M <sup>+</sup>
259	75.7	M-CH <sub>3</sub>
256	20.8	M-H <sub>2</sub> O
231	100	M-CH <sub>3</sub> -CO
228	12.4	M-H <sub>2</sub> O-CO
202	15.0	M-CH <sub>3</sub> -CO-CHO

Del conjunto de los datos espectroscópicos, deducimos para F, dos posibles estructuras: la 1,3,8-trihidroxi-2-metoxixantona ó la 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona, ninguna de las cuales ha sido descrita en la bibliografía. Debido a la inexistencia de producto, no se pudieron realizar derivados, que confirmaran una de las dos posibles estructuras, y, por lo tanto, damos para F la estructura alternativa de: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona (88).



Posibles estructura para el compuesto F

1,3,8-trihidroxi-2-metoxixantona ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona.

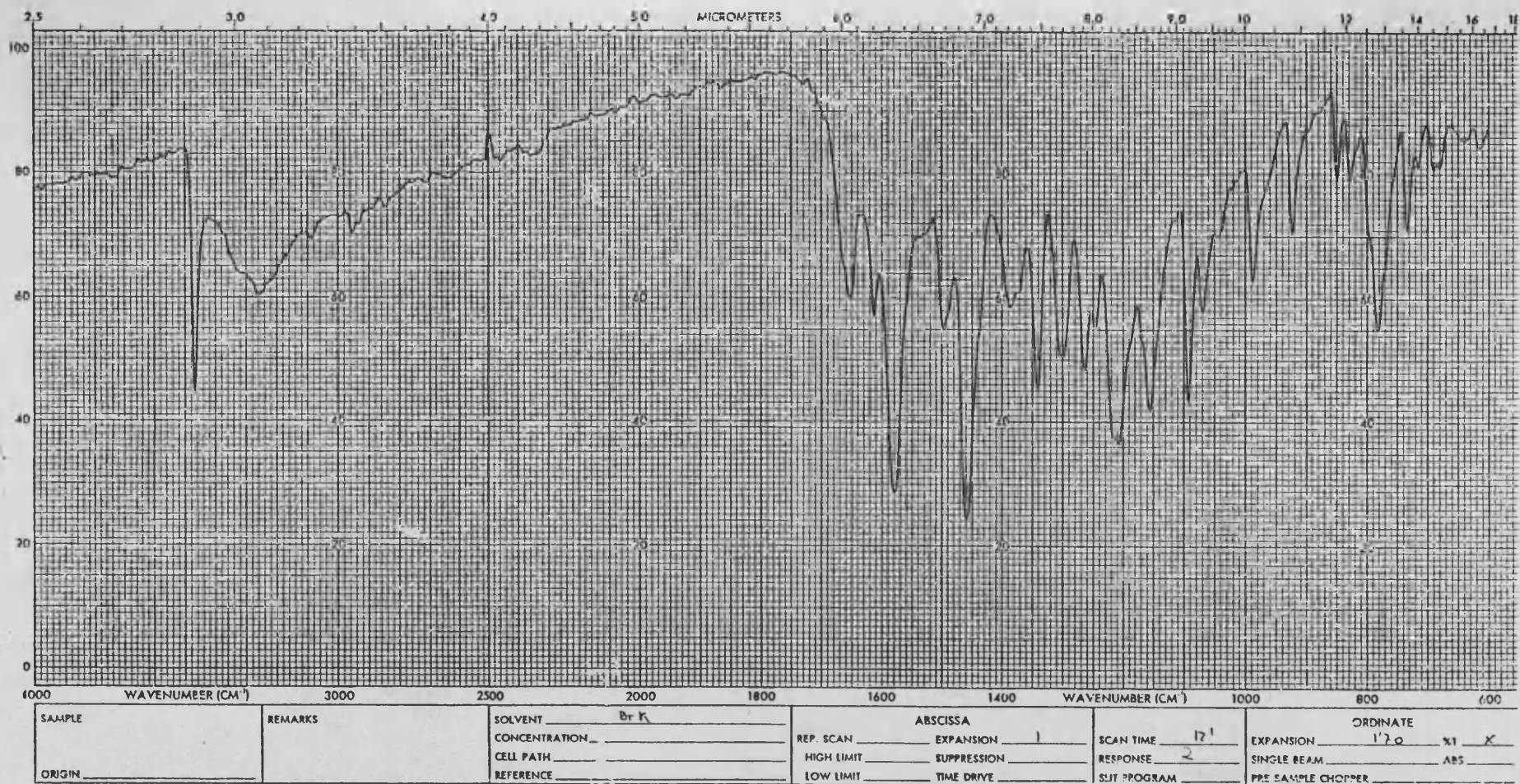


FIGURA 42: Espectro de IR de F: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona.

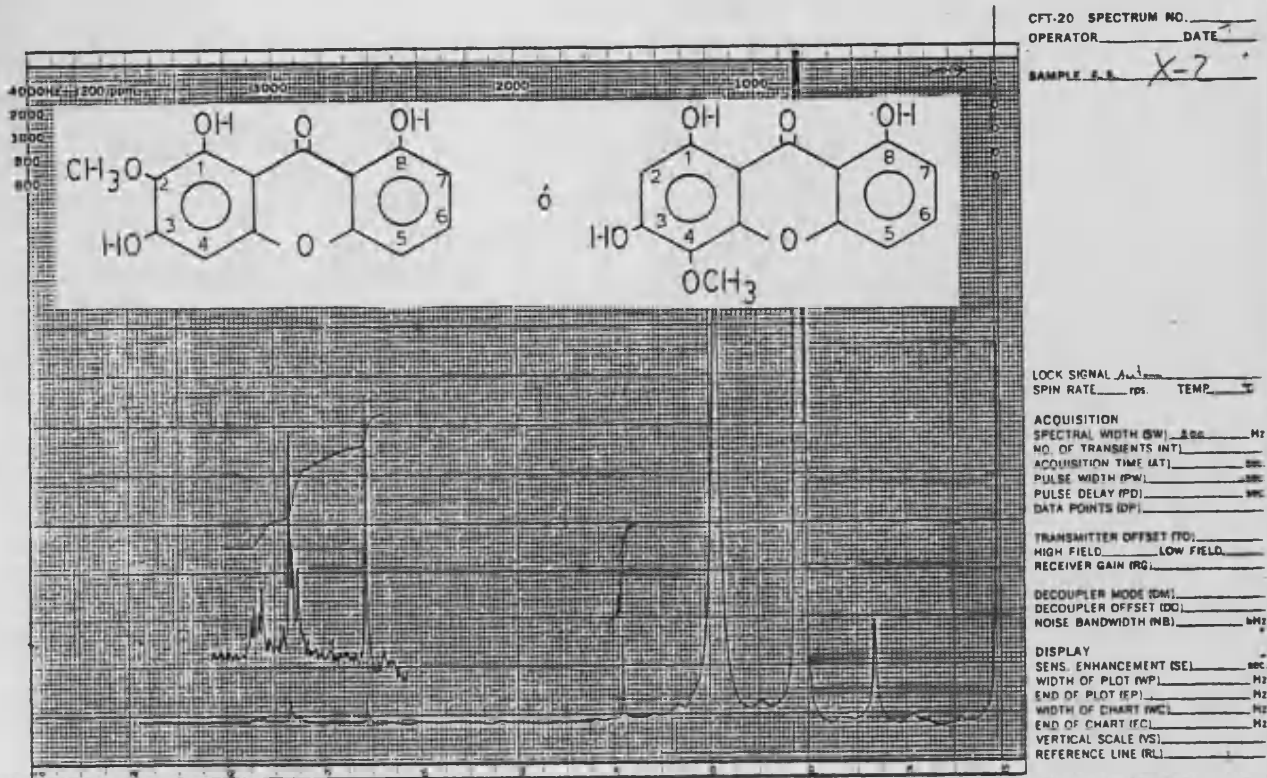


FIGURA 43: Espectro de RMN de F: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona.

Desplazamiento

<u>químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
7.68	1	doble doblete ( $J_1=6.6$ Hz; $J_2=4.8$ Hz)	H-6
7.33-7.24	2	Multiplete	H-5 y H-7
6.54	1	singlete	H-2 ó H-4
3.88	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>

FIGURA 44

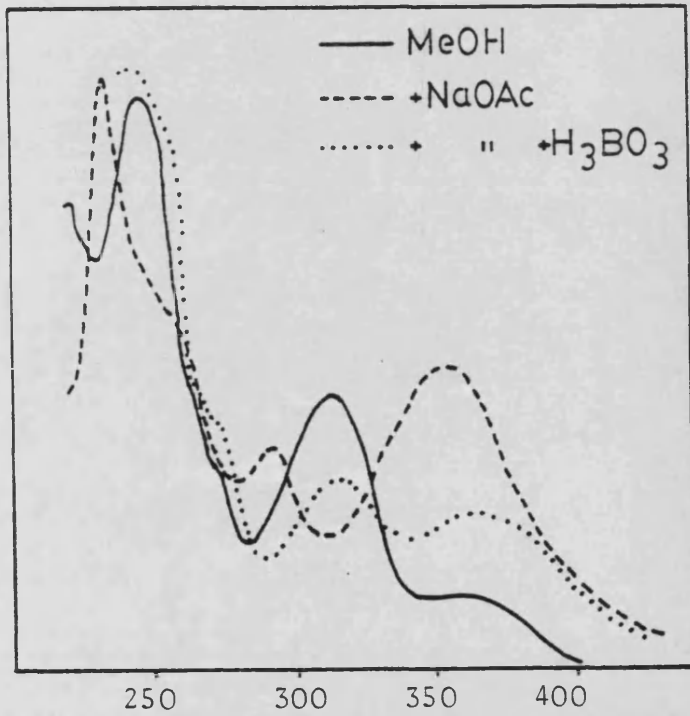
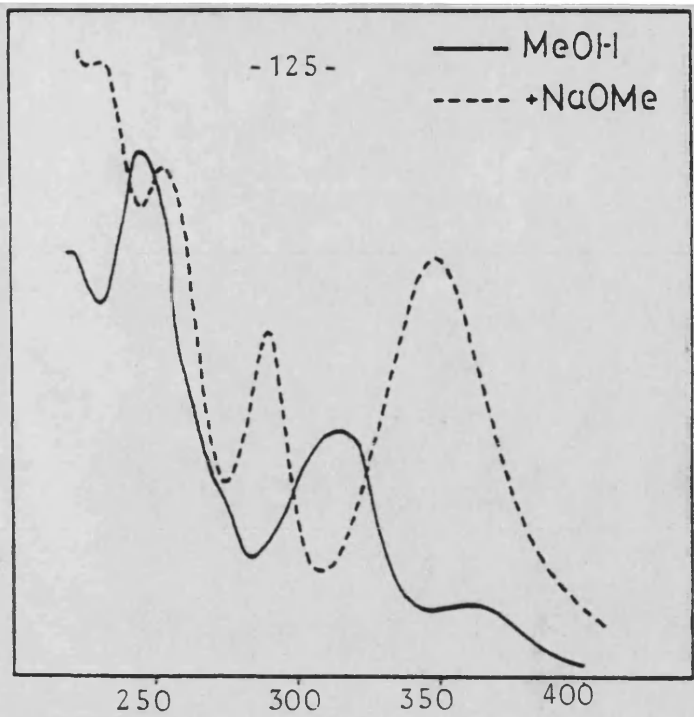
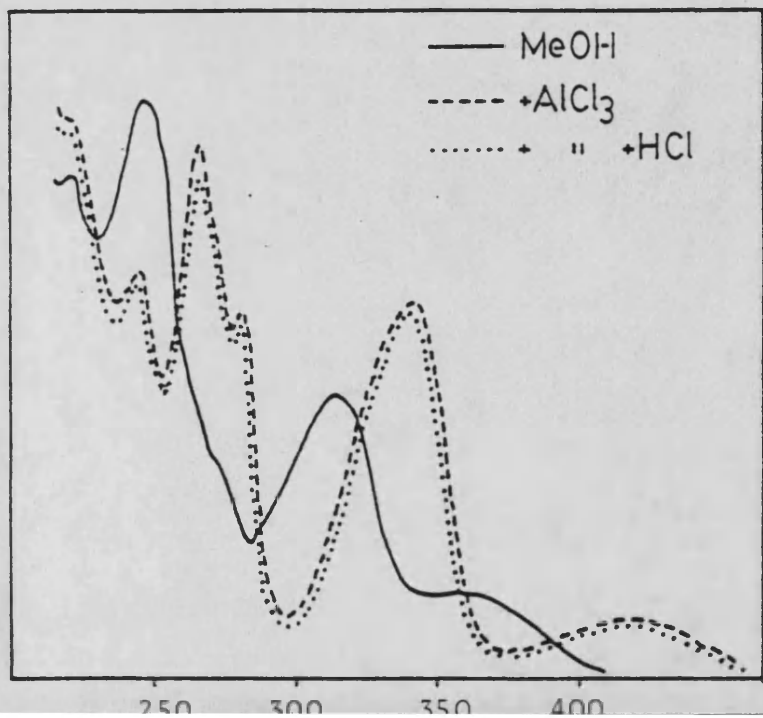


FIGURA 45

Espectros U.V. de F: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona.

FIGURA 46



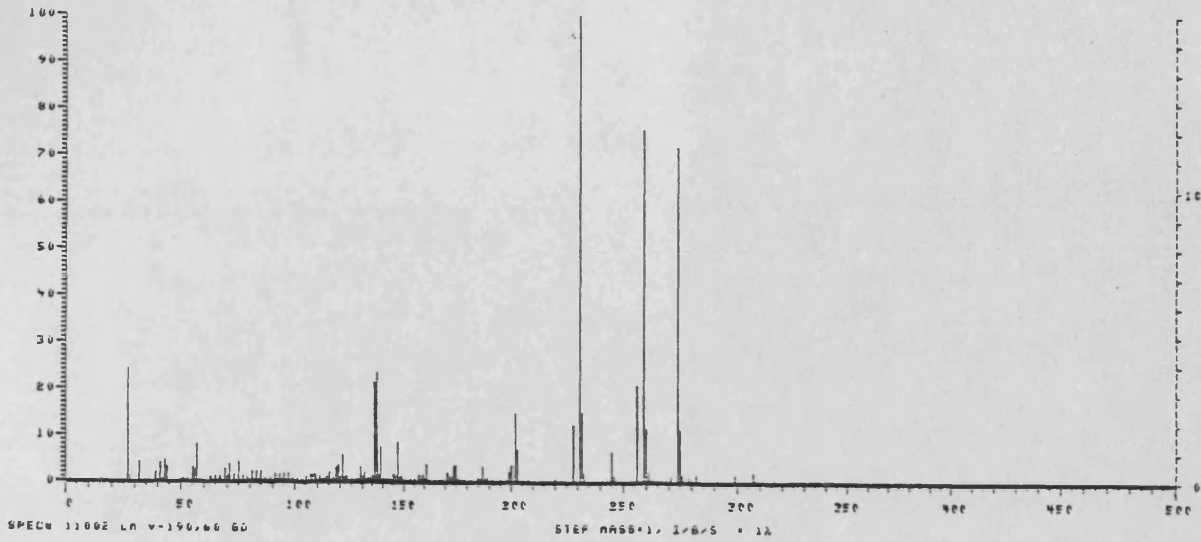


FIGURA 47: Espectro de masas de F: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	79666	100.00%	112.0	22	175	0.53%	112.0	150	60	0.18%	194.0
2	214	0.46%	26.1	79	844	0.74%	113.0	151	60	0.22%	195.0
3	459	1.40%	28.2	74	331	1.01%	113.0	152	109	0.33%	196.0
4	1450	4.42%	31.7	75	475	2.66%	114.0	153	57	0.17%	197.0
5	84	0.27%	33.0	76	581	1.77%	115.0	154	109	0.33%	198.0
6	51	0.15%	33.1	77	218	0.66%	116.0	155	694	2.11%	199.0
7	674	2.05%	39.2	78	317	0.96%	116.0	156	1193	3.64%	199.0
8	474	1.46%	40.2	79	1000	3.05%	117.0	157	4902	14.96%	200.0
9	87	0.26%	41.2	80	1161	3.54%	118.0	158	2304	7.03%	202.0
10	231	0.70%	42.2	81	346	1.03%	119.0	159	130	0.34%	206.1
11	1592	4.85%	43.2	82	1440	5.92%	120.0	160	303	0.92%	220.0
12	1119	3.41%	44.1	83	352	1.07%	121.0	161	87	0.26%	222.0
13	146	0.44%	44.2	84	475	1.44%	122.0	162	4051	12.36%	227.0
14	71	0.21%	45.1	85	84	0.27%	124.0	163	32760	100.00%	230.0
15	1119	3.41%	46.1	86	241	0.73%	125.0	164	4447	15.10%	231.0
16	263	0.80%	51.1	87	146	0.44%	126.0	165	667	2.03%	232.0
17	161	0.49%	52.1	88	213	0.65%	127.0	166	72	0.21%	234.0
18	232	0.70%	53.1	89	81	0.24%	131.0	167	52	0.15%	235.0
19	927	2.81%	55.1	90	305	0.94%	128.0	168	2130	6.50%	244.0
20	660	2.02%	56.1	91	1107	3.27%	129.0	169	432	1.33%	245.0
21	2696	8.28%	57.1	92	329	1.00%	130.0	170	6003	18.74%	255.0
22	126	0.38%	57.1	93	705	2.15%	131.0	171	24794	75.68%	258.0
23	104	0.31%	59.0	94	219	0.66%	132.0	172	3772	11.51%	259.0
24	23	0.07%	60.0	95	312	0.95%	133.0	173	62	0.19%	261.0
25	32	0.09%	62.0	96	246	0.75%	134.0	174	145	0.44%	262.0
26	23	0.07%	64.0	97	454	1.40%	135.0	175	72	0.21%	267.0
27	425	1.30%	65.0	98	6991	21.24%	136.0	176	340	1.03%	273.0
28	425	1.30%	66.0	99	7747	23.54%	137.0	177	23558	71.91%	274.0
29	479	1.46%	67.0	100	232	0.70%	137.0	178	3190	9.76%	275.0
30	102	0.31%	68.0	101	567	1.73%	138.0	179	514	1.56%	276.0
31	426	1.30%	69.0	102	2463	7.51%	139.0	180	256	0.78%	277.0
32	404	1.23%	70.0	103	226	0.68%	140.0	181	64	0.19%	278.0
33	1220	3.75%	71.1	104	202	0.61%	141.0	182	535	1.63%	282.1
34	52	0.16%	72.0	105	164	0.51%	142.0	183	70	0.21%	284.0
35	572	1.74%	72.0	106	285	0.86%	143.0	184	70	0.21%	285.0
36	180	0.55%	74.0	107	198	0.60%	144.0	185	566	1.72%	290.0
37	1410	4.30%	75.0	108	613	1.87%	145.0	186	70	0.21%	290.0
38	150	0.45%	75.0	109	464	1.41%	146.0	187	674	2.07%	294.0
39	442	1.34%	77.0	110	2002	6.55%	147.0	188	122	0.37%	307.0
40	77	0.23%	78.0	111	345	1.05%	148.0				
41	312	0.97%	79.0	112	476	1.45%	149.0				
42	155	0.47%	80.0	113	135	0.41%	150.0				
43	755	2.30%	81.0	114	129	0.39%	151.0				
44	243	0.74%	82.0	115	107	0.32%	152.0				
45	741	2.25%	83.0	116	186	0.56%	153.0				
46	230	0.70%	84.1	117	165	0.50%	154.0				
47	230	0.70%	85.1	118	70	0.21%	155.0				
48	135	0.41%	86.0	119	534	1.63%	156.0				
49	250	0.76%	87.0	120	220	0.67%	157.0				
50	246	0.75%	89.0	121	525	1.60%	158.0				
51	65	0.19%	90.0	122	260	0.79%	159.0				
52	640	1.95%	91.0	123	1302	3.97%	160.0				
53	184	0.56%	92.0	124	152	0.46%	161.0				
54	496	1.52%	93.0	125	104	0.31%	162.0				
55	227	0.69%	94.0	126	82	0.25%	163.0				
56	635	1.93%	95.0	127	157	0.47%	164.0				
57	211	0.64%	96.0	128	92	0.28%	167.0				
58	544	1.62%	97.0	129	157	0.47%	168.0				
59	151	0.46%	98.0	130	75	0.22%	170.0				
60	302	0.92%	99.0	131	736	2.24%	170.0				
61	176	0.54%	101.0	132	352	1.07%	171.0				
62	52	0.17%	101.0	133	355	1.08%	172.0				
63	72	0.21%	102.0	134	1172	3.57%	172.0				
64	102	0.31%	103.0	135	1151	3.50%	174.0				
65	371	1.12%	105.0	136	169	0.51%	174.0				
66	107	0.32%	106.0	137	107	0.32%	177.0				
67	526	1.61%	106.0	138	84	0.25%	178.0				
68	512	1.55%	107.0	139	107	0.32%	181.0				
69	624	1.90%	108.0	140	104	0.31%	182.0				
70	150	0.45%	110.0	141	71	0.21%	182.0				
71	421	1.28%	111.0	142	274	0.83%	185.0				
				143	165	0.50%	185.0				
				144	1085	3.21%	187.0				
				145	257	0.78%	188.0				
				146	184	0.56%	188.0				
				147	130	0.39%	191.0				
				148	87	0.26%	192.0				
				149	77	0.23%	193.0				

4.5. ESTUDIO DE LA FRACCION  $X_V$ . COMPUESTO G: 1,6,-DIHIDROXI-3,5,7,8-TETRAMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De la reunión de fracciones 88-92, eluidas de la columna con hexano-éter etílico (45:55), se obtiene la agrupación  $X_V$ .

Muestra en c.c.f. una sola mancha que adquiere un color amarillo, cuando la placa se somete a vapores de amoníaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de  $X_V$  en acetona, se obtiene unos cristales amarillos, de punto de fusión 178-179°C.

Interpretación del espectro de IR de G

El espectro de IR del compuesto G (fig.48) presenta las siguientes bandas características:

3240 $cm^{-1}$	tensión O-H fenólico
3005-2840 $cm^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1655 $cm^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1600, 1565 y 1555 $cm^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1210 $cm^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1130 $cm^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O- $CH_3$

El espectro de IR y la coloración en c.c.f. debida a vapores amoniacaes, indica la presencia de un núcleo de xantona. La aparición de una banda hidroxílica a 3240  $cm^{-1}$  indica la existencia de, al menos, un grupo hidroxilo en posición distinta a  $C_1$  y  $C_8$  (38).

Interpretación del espectro de RMN de G

El espectro de RMN de G (fig.49), realizado en  $CD_3COCD_3$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
13.50	1	singlete	-OH
6.50	1	doblete (J=1.3 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
6.30	1	doblete (J=1.3 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
4.00-3.90	12	2 singletes	4-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un grupo hidroxilo, que se situará en C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta=13.5$  ppm) característico de -OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos, acoplados en meta (J=1.3 Hz), que deberán situarse en C<sub>2</sub> y C<sub>4</sub> ya que los H-C<sub>1</sub> resuenan a  $\delta \geq 8$  (71).

De las cinco posiciones que restan, asequibles de sustitución, cuatro corresponden a grupos metoxilo, que se observan en este espectro y la última posición deberá ser un grupo hidroxilo detectado en el IR y que no aparece en este espectro por interconversión con el agua que acompaña al disolvente utilizado para obrenar su registro (ver pág. 45)(69,70).

Para la asignación de la posición de este hidroxilo, se procedió al estudio de sus espectros de UV y EM, así como al estudio de distintos derivados, con las conclusiones que a continuación se indican.

#### Interpretación de los espectros de UV de G

La localización de los hidroxilos de G, detectados en el IR y RMN, se confirma por el estudio de su UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:



	$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )				
MeOH	238(h)	253(4.09)	321(4.19)	360(h)	
NaOMe		247	265(h)	368	
NaOAc		247	265(h)	368	
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>		253	321	360	
AlCl <sub>3</sub>		256(h)	268	347	409
AlCl <sub>3</sub> + HCl		256(h)	268	347	409

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto G, en metanol (fig.50), presenta tres bandas, características de un anillo xantónico. La 1,2,3,4,6,8-hexa-O-sustitución se muestra clara por comparación de este espectro en el obtenido para A (fig.4) y E (fig.35).

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.50), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. Se produce la misma modificación al añadir NaOAc (fig.51) a la disolución original, lo que indica la presencia de hidroxilos ácidos (C<sub>3</sub> ó C<sub>6</sub>). Esto se confirma por la existencia de una banda intensa entre 345-370 nm, en medio básico, que es típica de 3-hidroxixantonas (39).

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen agrupaciones orto-hidroxílicas.

Debido a que ambos espectros son idénticos se tratará de una 1,6-dihidroxixantona, ya que las 1,3-dihidroxixantonas los dan distintos al de MeOH, pero no superponibles.

- Espectro en AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub> + HCl

Al añadir AlCl<sub>3</sub> (fig.52), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> ó agrupaciones orto-hidroxílicas.



Al añadir HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta, de nuevo, las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los complejos que forman con AlCl<sub>3</sub> son inestables en medio ácido.

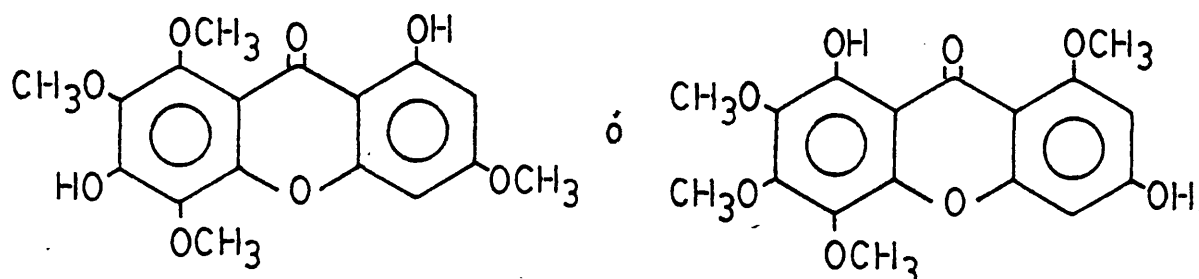
Interpretación del espectro de masas de G

Del ión molecular y de los picos isotópicos del espectro (fig.53), se deduce para G una fórmula molecular de C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>.

El resto de los picos, confirma para G, la estructura de una xantona polioxygenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
348	58.1	M <sup>+</sup>
333	100	M-CH <sub>3</sub>
305	40.1	M-CH <sub>3</sub> -CO
290	50.8	M-2CH <sub>3</sub> -CO
288	19.0	M-2CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> O
273	14.8	M-3CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> O
245	14.9	M-3CH <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> O-CO

Del conjunto de los datos físicos y espectroscópicos, asignamos dos posibles estructuras para G: la 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona ó la 1,6-dihidroxi-2,3,4,8-tetrametoxixantona, ninguna de las cuales ha sido descrita en la bibliografía



Para la asignación final de la estructura del compuesto G se procedió al estudio del test de Gibbs y a la preparación, y estudio espectroscópico, de sus derivados: acetilado, monometilado y permetilado.

#### Test de Gibbs del compuesto G

Como se ha señalado en la pág. 42 , el test de Gibbs permite detectar posiciones para libres a un grupo hidroxilo.

Debido a que las dos posibles estructuras que hemos deducido para G muestran esta diferencia, se procedió a realizar este test. Mientras que la 1,6-dihidroxi-2,3,4,8-tetrametoxixantona debe dar negativa esta prueba, la 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona debe darla positiva, y como se trata de una 1-hidroxixantona, la banda de absorción debida al cromóforo azul del indofenol debe aparecer entre 660 y 700 nm (39,63).

La preparación de las disoluciones se realiza según se indica en la pág. 44.

Se registró el espectro (fig. 54), tanto de los reactivos solos (curva A. ) como de los mismos con el compuesto problema (curva B). La curva resultante se obtiene por sustracción de ambas, ya que el reactivo absorbe sobre 450 nm.

El resultado es una respuesta positiva, presentando una banda de absorción a 687 nm (fig. 54).

#### 4.5.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE G. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar el producto G, con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág.256). El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de MeOH, rindiendo unos cristales blancos, de punto de fusión 135-136°C.

Interpretación del espectro de IR de G acetilado

El espectro de IR de G acetilado (fig.55) muestra las siguientes bandas características:

1770 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O ester fenólico
1660 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O carbonilo de xantona
1630, 1590 y 1570 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1220 $\text{cm}^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona(38)
1200 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O ester fenólico
1155 $\text{cm}^{-1}$	vibración C-O-C de grupos C-O-CH <sub>3</sub>
1060 $\text{cm}^{-1}$	tensión Ar-O-C simétrica

Con este espectro se confirma la total acetilación de la xantona, por desaparición de la banda hidroxílica

Interpretación del espectro de RMN de G acetilado

El espectro de RMN de G acetilado (fig.56), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, muestra las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.85	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
6.60	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
4.00-3.90	12	2 singletes	4-OCH <sub>3</sub>
2.50	3	singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>
2.45	3	singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>

La primera información que podemos sacar es la confirmación de la existencia de dos hidroxilos en G, ya que muestra dos acetatos.



La variación en la resonancia de los HAR del compuesto original G a su derivado acetilado, nos permite su correcta asignación. Tras acetilación, los HAR aromáticas se han desplazado 0.30 y 0.35 ppm, desplazamientos característicos de HAR orto y para, respectivamente, a la posición hidroxilada que pasa a ser acetilada. El H-2 será el que resonaba a 6.3  $\delta$  (0.30 ppm de desplazamiento) y el H-4 será el que lo hace a 6.5  $\delta$  (0.35 ppm de desplazamiento).

#### 4.5. b. ESTUDIO DEL DERIVADO MONOMETILADO DE G.

Se obtiene el derivado monometilado de G, para dar lugar a la 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona, compuesto conocido (91) para lo que se hace reaccionar G con diazometano, según se describe en la parte experimental (pág.256).

El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de metanol, dando lugar a unos cristales amarillos de punto de fusión 107-108°C.

La estructura del producto de monometilación de G fue comprobada totalmente por comparación con patrón auténtico, cedido por el Dr. G. Sullivan (91) (poseen idénticos datos espectrales, punto de fusión y punto de fusión mixto).

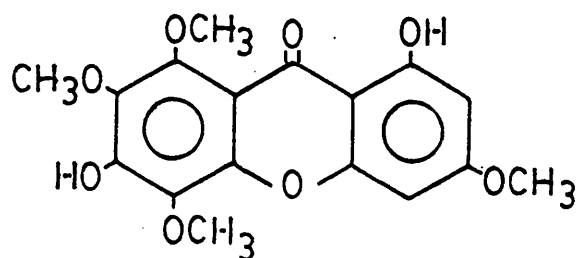
#### 4.5. c. ESTUDIO DEL DERIVADO DIMETILADO DE G.

Se obtiene el derivado dimetilado de G, para dar lugar a la 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona, compuesto conocido (85) y obtenido por nosotros al permetilar el compuesto A (84) y E (88); para ello se hace reaccionar el derivado de G monometilado con  $\text{Me}_2\text{SO}_4$  y  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , según se describe en la parte experimental (pág. 256).

El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de acetona, dando lugar a un sólido pulverulento.

Los datos físicos y espectroscópicos del derivado dimetilado de G, son del todo concordantes con los dados por la bibliografía para la 1,2,3,4,6,8-hexametoxixantona (85) y con los obtenidos por nosotros para los derivados permetilados de A(84) y E(88).

Del conjunto de datos físicos y espectrales obtenidos para G y sus derivados, le asignamos a este compuesto la estructura de 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona, siendo ésta la primera vez que se describe su aislamiento en la naturaleza (84).



G 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona

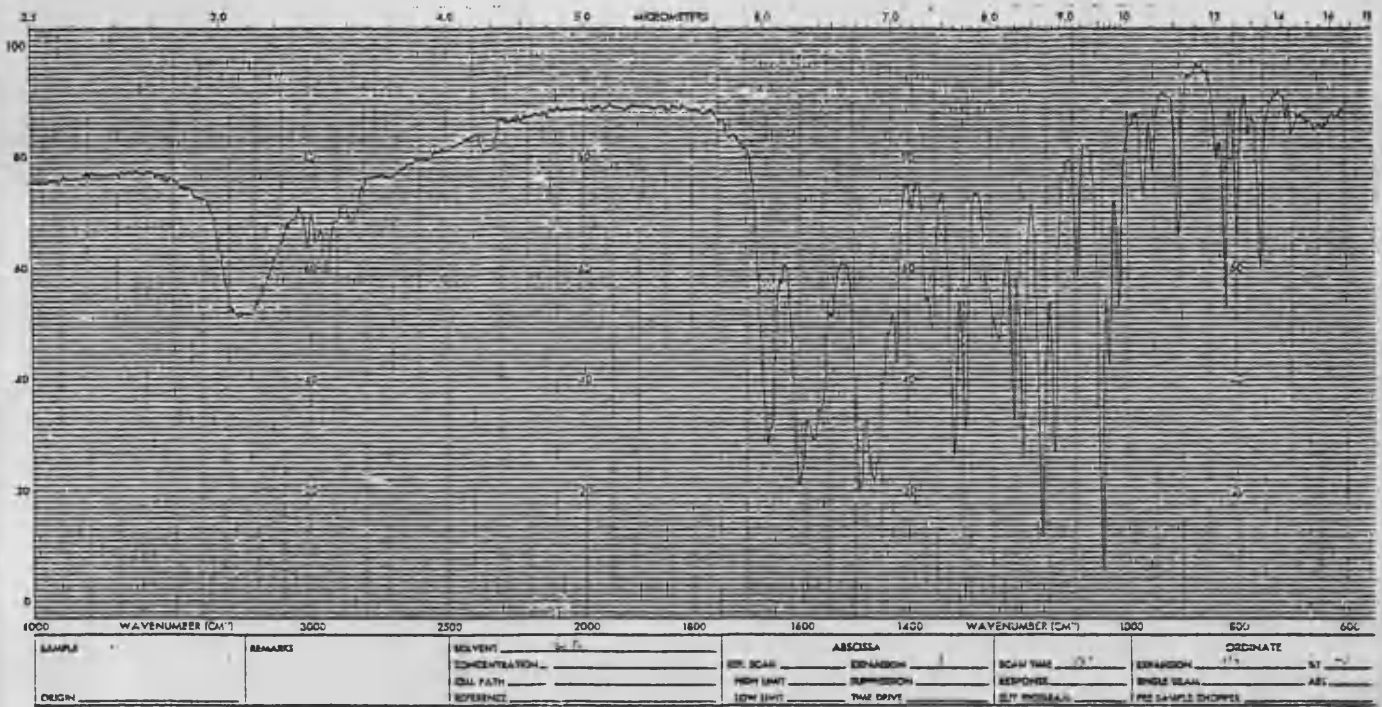


FIGURA 48: Espectro de IR de G: 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.

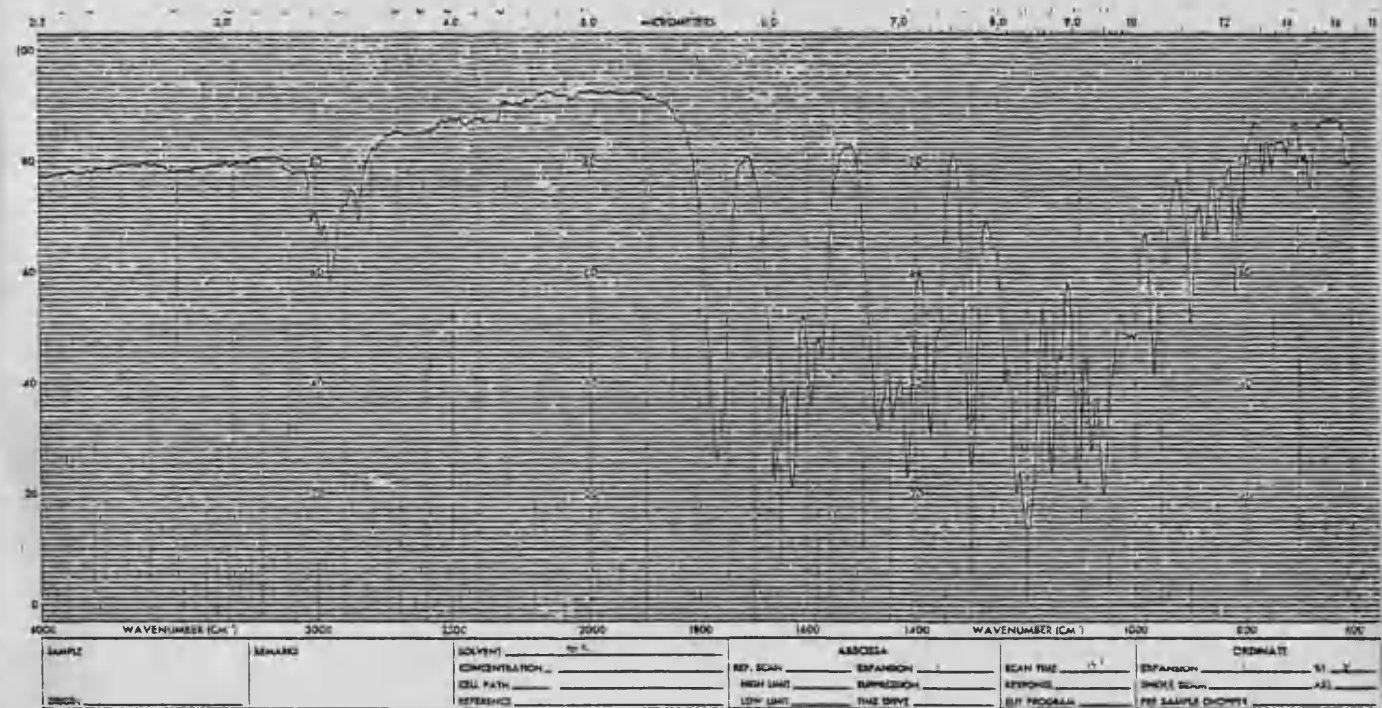


FIGURA 55: Espectro de IR de G acetilado: 1,6-diacetoxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.

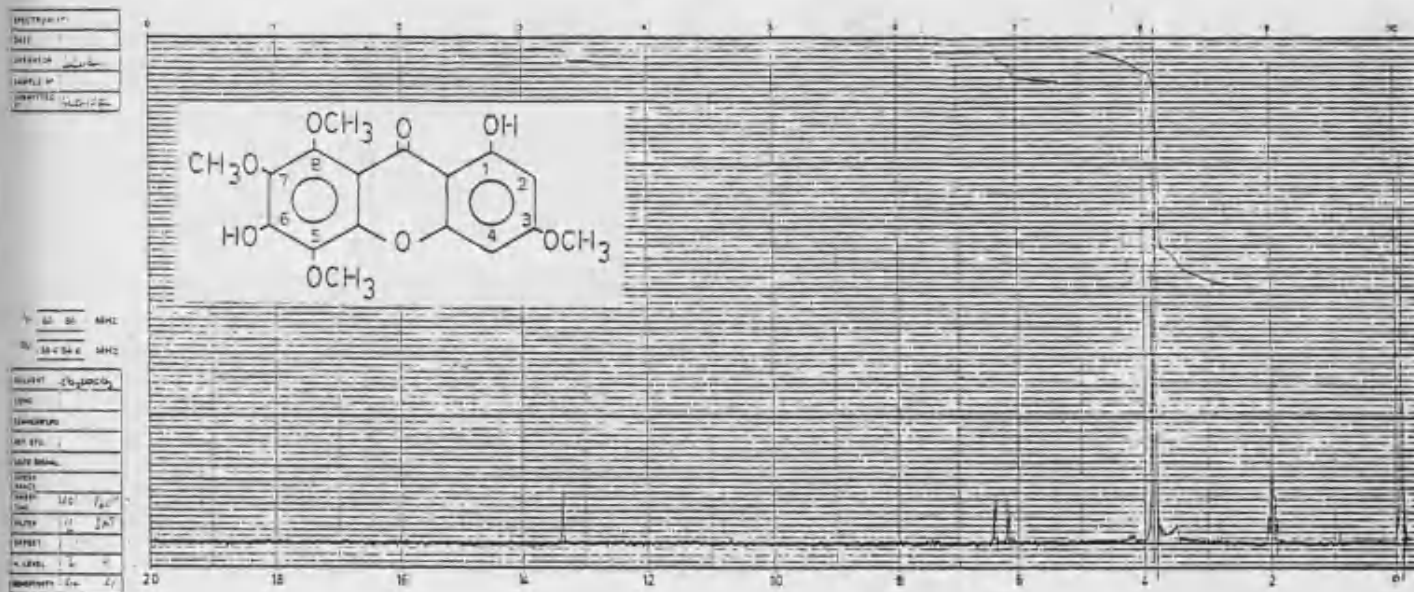


FIGURA 49: Espectro de RMN de G: 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxi-xantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
13.50	1	singlete	OH-1
6.50	1	doblete (J=1.3 Hz)	H-4
6.30	1	doblete (J=1.3 Hz)	H-2
4.00-3.90	12	2 singletes	4-OCH <sub>3</sub>

FIGURA 50

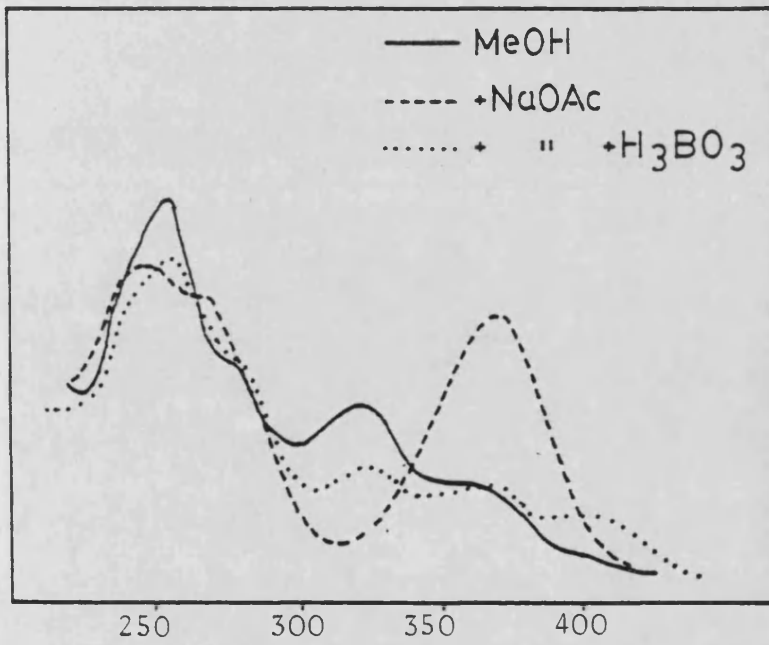
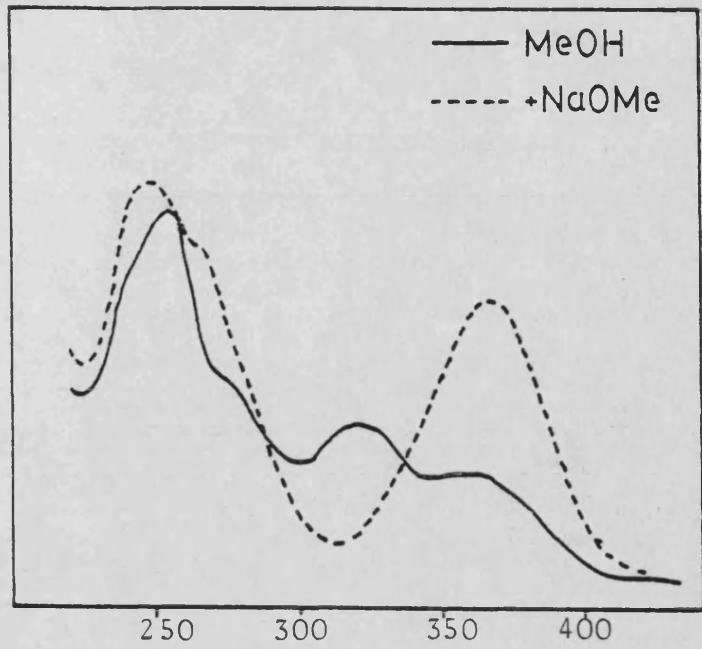
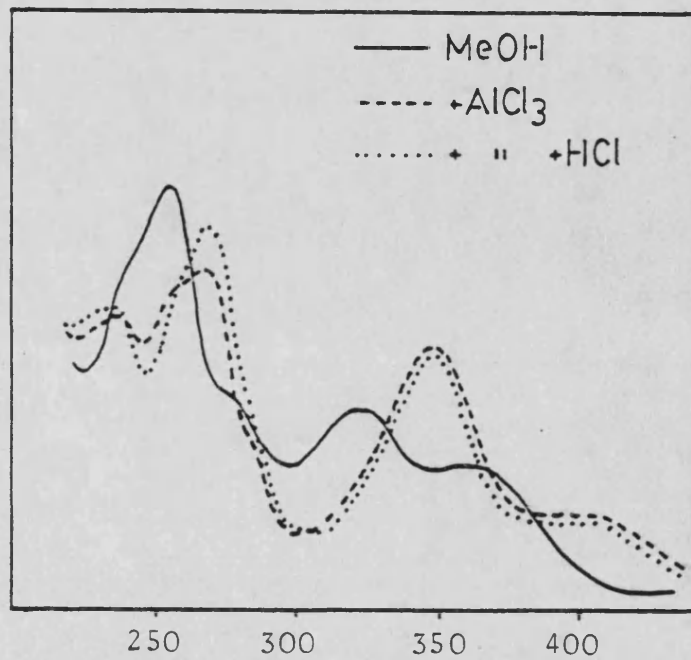


FIGURA 51

Espectros de U.V. de G:  
1,6-dihidroxi-3,5,7,8-  
tetrametoxixantona.

FIGURA 52





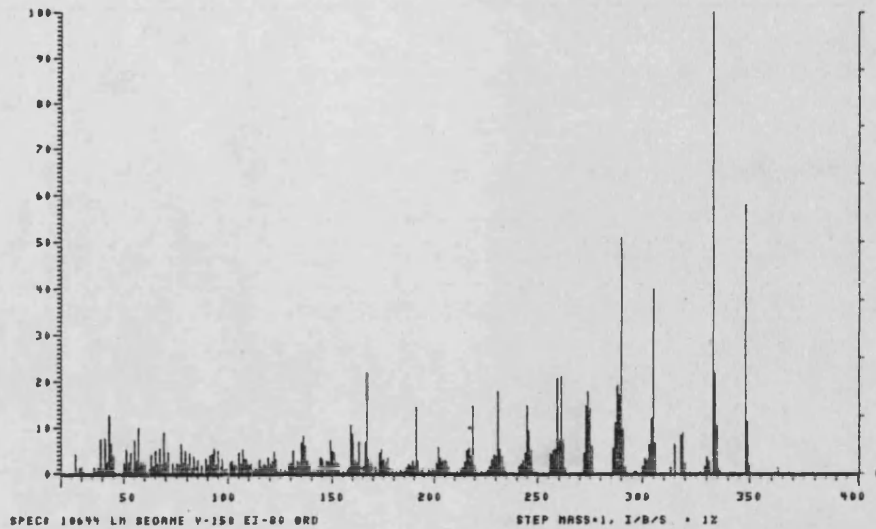


FIGURA 53: Espectro de masas de G: 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	1284	4.44X	27.4	72	26	0.08X	92	150	105E	3.65X	144.0	220	89	0.30X	141.3	206	1383	4.68X	271.9
2	34	0.12X	27.5	73	164E	5.69X	93	151	142	0.56X	144.6	221	86E	2.98X	142.0	207	429E	14.85X	272.4
3	41E	1.44X	28.7	74	33	0.11X	93	152	944	3.33X	145.1	222	80	0.28X	142.3	208	5180	17.82X	272.9
4	63	0.21X	28.7	75	77	0.28X	93	153	87	0.30X	145.6	223	80	0.29X	142.3	209	4181	14.26X	273.4
5	49E	1.70X	30.0	76	690	2.30X	94	154	407	1.40X	146.1	224	309	1.06X	144.9	210	1844	6.39X	273.9
6	48	0.16X	30.0	77	1809	5.82X	95	155	88E	2.94X	147.1	223	99	0.34X	145.1	211	1610	5.57X	274.4
7	150	0.51X	31.1	78	441	1.52X	96	156	57	0.19X	147.3	224	47	0.16X	146.3	212	2196	11.04X	274.9
8	56	0.20X	32.3	79	963	3.40X	97	157	817	2.82X	146.1	225	340	1.17X	147.0	213	549E	19.01X	275.4
9	80	0.28X	34.5	80	311	1.07X	98	158	32	0.11X	146.3	226	26	0.09X	147.2	214	4957	17.19X	275.9
10	263	1.88X	35.6	81	339	1.17X	99	159	47	0.16X	146.4	227	162	0.56X	146.9	215	1462E	50.78X	276.4
11	179	0.61X	36.7	82	234	0.80X	100	160	2098	7.26X	149.1	230	313	1.08X	149.0	216	888E	3.97X	276.9
12	41E	1.48X	37.8	83	56	0.19X	100	161	46	0.15X	149.3	229	259	0.89X	148.1	217	463	1.60X	277.4
13	217E	7.51X	38.6	84	773	2.67X	101	162	1484	5.14X	149.4	230	22	0.07X	148.2	218	121	0.41X	277.9
14	25E	0.67X	39.6	85	116E	0.42X	101	163	74	0.25X	150.3	231	670	2.31X	148.1	219	193	0.66X	278.4
15	42E	1.49X	39.9	86	834	2.80X	102	164	1409	4.87X	151.1	232	1667	5.74X	148.2	220	15E	0.53X	278.9
16	288E	7.91X	41.0	87	624	2.15X	103	165	293	1.01X	151.6	233	82	0.28X	148.4	221	474	1.64X	279.4
17	42	0.14X	43.0	88	64	0.22X	103	166	704	2.71X	152.1	234	1089	3.64X	148.5	222	954	3.31X	279.9
18	731	5.52X	43.0	89	508	1.75X	104	167	707	2.44X	152.6	235	44	0.16X	148.6	223	804	2.78X	280.4
19	3713	1E 8E	45.0	90	668	2.31X	105	168	53	0.18X	152.8	236	866	2.88X	148.7	224	1884	6.41X	280.9
20	74	0.26X	45.1	91	131E	4.54X	106	169	430	1.48X	153.1	237	46	0.15X	148.8	225	3504	12.14X	281.4
21	2011	6.95X	44.0	92	152E	5.28X	107	170	47	0.16X	153.4	238	924	3.23X	148.9	226	11E4	40.13X	281.9
22	402E	4.40X	45.0	93	96	0.33X	107	171	102	0.35X	154.1	239	58	0.20X	149.0	227	1944	6.79X	282.4
23	201	0.71X	46.1	94	96E	3.33X	108	172	191	0.66X	155.1	240	798	2.74X	149.0	228	41E	1.42X	282.9
24	161	0.26X	49.9	95	56	0.20X	108	173	111	0.38X	156.1	241	429	1.51X	149.0	229	184	0.63X	283.4
25	69E	2.41X	50.1	96	959	3.31X	109	174	277	0.95X	157.1	242	31	0.10X	149.1	230	230	0.82X	283.9
26	157E	5.45X	51.1	97	107	0.37X	109	175	57	0.19X	157.6	243	103	0.35X	149.2	231	2596	8.98X	284.4
27	770	5.64X	51.1	98	583	2.01X	110	176	42E	1.46X	158.1	244	31	0.10X	149.3	232	661	2.28X	284.9
28	1344	4.84X	55.1	99	70E	2.47X	111	177	123	0.42X	158.5	245	104	0.35X	149.4	233	92	0.31X	285.4
29	346	1.19X	54.1	100	592	2.09X	112	178	3093	10.70X	159.5	246	44	0.15X	149.5	234	89	0.31X	285.9
30	2161	7.47X	55.1	101	316	1.09X	113	179	47E	1.64X	159.5	247	177	0.61X	149.6	235	44	0.30X	286.4
31	38	0.13X	55.1	102	243	0.84X	114	180	2544	8.82X	160.2	248	112	0.38X	149.7	236	442	1.52X	286.9
32	414	3.16X	56.1	103	113	0.39X	114	181	221	1.14X	160.7	249	34E	1.18X	149.8	237	10E4	3.64X	287.4
33	2657	10.62X	57.1	104	880	3.04X	115	182	416	3.17X	161.1	250	26	0.08X	149.9	238	60E	2.74X	287.9
34	840	2.40X	58.1	105	21	0.07X	115	183	734	2.54X	162.1	261	36E	1.25X	150.0	239	28844	100.00X	288.4
35	73E	2.58X	59.1	106	118	0.44X	116	184	2067	7.13X	163.1	262	76E	2.63X	150.0	240	6323	21.62X	288.9
36	590	2.04X	60.1	107	461	1.59X	116	185	410	1.41X	164.1	263	145E	4.82X	150.1	241	3141	10.87X	289.4
37	160	0.55X	61.1	108	640	2.21X	117	186	36	0.12X	164.2	264	1603	5.54X	150.2	242	301	1.04X	289.9
38	493	1.01X	62.1	109	571	1.97X	118	187	444	1.53X	165.1	265	66	0.22X	150.3	243	24	0.08X	290.4
39	115E	4.00X	63.1	110	107E	3.72X	119	188	37	0.12X	165.2	266	121E	4.20X	150.4	244	1627	5.09X	290.9
40	3E	0.12X	63.1	111	69E	2.40X	120	189	2034	7.33X	166.1	267	4233	14.99X	150.5	245	330E	11.43X	291.4
41	5E2	1.91X	64.1	112	41	0.14X	120	190	6204	21.74X	166.1	268	134	0.46X	150.6	246	619	2.14X	291.9
42	23	0.07X	64.6	113	85E	2.95X	121	191	4973	17.21X	167.1	269	574	1.98X	150.7	247	3E	0.13X	292.4
43	1507	5.21X	65.1	114	67	0.23X	121	192	35E	1.22X	167.1	270	33	0.11X	150.8	248	374	1.31X	292.9
44	181	0.25X	66.1	115	1404	4.85X	122	193	977	3.45X	168.1	271	13	0.04X	150.9	249	61	0.21X	293.4
45	162E	5.62X	67.1	116	67	0.23X	122	194	84	0.30X	168.1	272	3E	0.12X	151.0	250	104	0.35X	293.9
46	68E	2.37X	68.1	117	37	0.12X	123	195	679	2.34X	169.1	273	10E	0.34X	151.1	251	24	0.08X	294.4
47	2650	9.17X	69.0	118	444	1.53X	124	196	76	0.26X	169.1	274	53	0.18X	151.2	252	24	0.08X	294.9
48	9E	0.31X	69.2	119	286E	9.98X	125	197	148	0.52X	170.1	275	40	0.14X	151.3	253	24E	0.82X	295.4
49	74E	2.56X	70.1	120	343	1.16X	126	198	444	1.53X	171.1	276	219	0.75X	151.4	254	619	2.14X	295.9
50	41E2	4.86X	71.1	121	248	0.85X	127	199	24E	0.84X	172.1	277	467	1.61X	151.5	255	0	0.00X	296.4
51	11E	0.40X	72.0	122	191	0.66X	128	200	1341	4.84X	173.1	278	933	3.22X	151.6	256	0	0.00X	296.9
52	64E	2.34X	73.0	123	108	0.37X	128	201	80	0.27X	173.1	279	1200	4.15X	151.7	257	0	0.00X	297.4
53	430	1.46X	74.0	124	108	0.37X	129	202	1E18	5.85X	174.1	280	1087	3.74X	151.8	258	0	0.00X	297.9
54	673	2.32X	75.0	125	1E2	0.52X	129	203	117	0.40X	174.1	281	5134	17.74X	151.9	259	0	0.00X	298.4
55	49E	3.40X	76.0	126	1E2	0.52X	130	204	870	2.94X	175.1	282	1E70	5.43X	152.0	260	0	0.00X	298.9
56	1647	6.56X	77.0	127	710	2.45X	130	205	24	0.08X	175.1	283	11E4	3.99X	152.1	261	0	0.00X	299.4
57	704	2.71X	78.0	128	2E	0.28X	131	206	2E	0.07X	175.1	284	484	1.68X	152.2	262	0	0.00X	299.9
58	1480	5.1E2	79.0	129	1467	5.07X	131	207	21	0.07X	175.1	285	171	0.59X	152.3	263	0	0.00X	300.4
59	47E6	16.7E2	80.0	130	117	0.40X	132	208	731	2.64X	176.1	286	503	1.74X	152.4	264	0	0.00X	300.9
60	1267	4.73X	81.1	131	46E	1.54X	132	209	1063	3.67X	177.1	287	593	2.05X	152.5	265	0	0.00X	301.4
61	494	1.70X	82.1	132	7E4	2.60X	134	210	34	0.11X	177.1	288	644	2.29X	152.6	266	0	0.00X	301.9
62	1104	3.8E2	83.1	133	83E	2.88X	135	211	37E	1.30X	178.1	289	1E24	4.59X	152.7	267	0	0.00X	302.4
63	4E0	1.5E2	84.1	134	4E	0.15X	135	212	24	0.08X	179.1	290	436E	14.97X	152.8	268	0	0.00X	302.9
64	494	3.09X	85.1	135	19E3	6.7E2	135	213	16E	0.56X	180.1	291	2687	9.29X	152.9	269	0	0.00X	303.4
65	183	0.62X	86.0	136	2E2	0.69X	136	214	161	0.55X	181.1	292	1E21	5.24X	153.0	270	0	0.00X	303.9
66	5E1	1.40E2	87.1	137	4E	0.15X	136	215	71	0.24X	182.1	293	3E11	1.11X	153.1	271	0	0.00X	304.4
67	204	0.72X	88.1</																

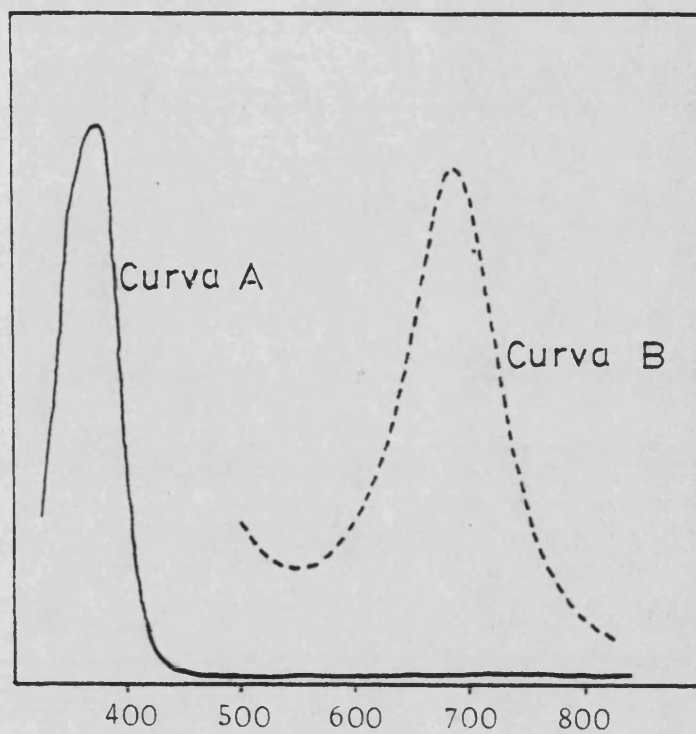


FIGURA 54

Test de Gibbs de G: 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.

SPECTRUM #  
 DATE 12-1-52  
 OPERATOR J. W. H.  
 SAMPLE #  
 SUBMITTED # 4022

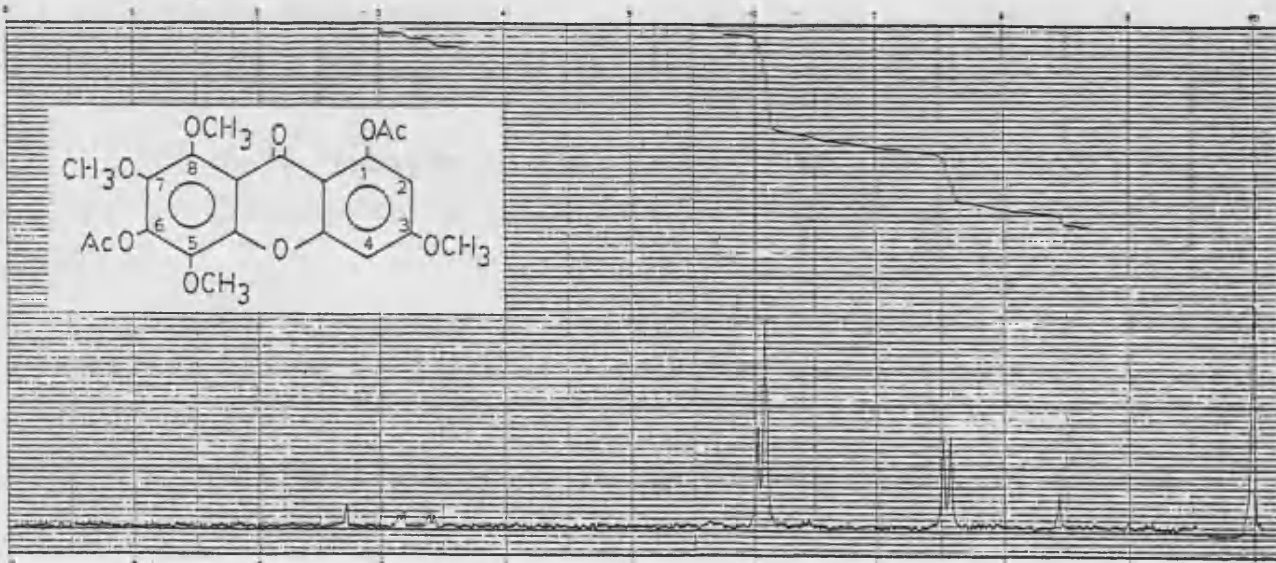


FIGURA 56: Espectro de RMN de G acetilado: 1,6-diacetoxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
6.85	1	doblete (J=2 Hz)	H-4
6.60	1	doblete (J=2 Hz)	H-2
4.00-3.90	12	2 singletes	4-OCH <sub>3</sub>
2.50	3	singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>
2.45	3	singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>

4.6. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN  $X_{VI}$ . COMPUESTO H: 1,6-DIHIDROXI-5,8-DIMETOXI 6 1,6-DIHIDROXI-7,8-DIMETOXIXANTONA

De la reunión de fracciones 93-95, eluidas de la columna con hexano-éter etílico (45: 55), se obtiene la agrupación  $X_{VI}$ .

Muestra en c.c.f. una sola mancha que adquiere color amarillo, cuando la placa se somete a vapores de amoniaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de  $X_{VI}$  en cloroformo, se obtiene sólido pulverulento amarillo, de punto de fusión 170-172°C.

Interpretación del espectro de IR de H

El espectro de IR del compuesto H (fig.57), presenta las siguientes bandas características:

3440 $cm^{-1}$	tensión O-H fenólico
3110-2830 $cm^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1650 $cm^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1610, 1570 y 1540 $cm^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1225 $cm^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1160 $cm^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O- $CH_3$
1070 $cm^{-1}$	tensión Ar-O-C simétrica

El espectro de IR y la coloración en c.c.f., debido a vapores amoniacales, indica la presencia de un núcleo de xantona. La aparición de banda hidroxílica, en la región de 3400  $cm^{-1}$ , indica la existencia de, al menos, un grupo hidroxilo en posición distinta a  $C_1$  y  $C_8$ , de un anillo de xantona (38).

Interpretación del espectro de RMN de H

El espectro de RMN de H (fig.58), realizado en  $CD_3SOCD_3$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
12.79	1	singlete	-OH
10.52	1	singlete	-OH
7.60	1	doble doblete ( $J_1=6.2$ Hz; $J_2=3.3$ Hz)	1H-Ar (protón X, sistema ABX)
7.35-7.27	2	multiplete	2H-Ar(protones AB, sistem.ABX)
6.82	1	singlete	1H-Ar no acopl.
3.99	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>
3.77	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un hidroxilo en C<sub>1</sub>(ó C<sub>8</sub>), como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta \sim 13$  ppm), característico de -OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo xantónico (68).

Posee otro grupo hidroxilo, detectado en el IR, en posición distinta de C<sub>1</sub>(ó C<sub>8</sub>), que resuena a 10.52  $\delta$ . En esta ocasión es detectado este OH por utilizar como disolvente CD<sub>3</sub>SOCD<sub>3</sub> y no CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> (ver pág. 45).

Posee tres hidrógenos aromáticos acoplados entre sí formando un sistema ABX, correspondientes a tres hidrógenos contiguos en uno de los anillos de la xantona. Debido a que el desplazamiento químico del hidrógeno que sale a campo más bajo es de 7.60  $\delta$ , podemos concluir que no existen H-Ar en C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, ya que los situados en estas posiciones salen a  $\delta \geq 8$  (71).

Posee un hidrógeno aromático, no acoplado, a 6.82  $\delta$ , que se sitúa en el otro anillo, en cualquier posición menos la C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, por lo anteriormente argumentado.

Por último posee dos grupos metoxilo, uno de los cuales deberá situarse en C<sub>8</sub>(ó C<sub>1</sub>) ya que, como hemos visto, no hay

grupo hidroxilo ó hidrógeno aromático que pueda ocupar esa posición.

Interpretación de los espectros de UV de H

La localización de los hidroxilos, detectados en el IR y RMN, se efectua por el estudio de su UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )					
MeOH	222	252	275(h)	312	370	
NaOMe	244	268	287	323(h)	404(h)	
NaOAc	244	268	287	323(h)	404(h)	
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	222	252	275(h)	312	370	
AlCl <sub>3</sub>	222	246	267	283	335	420
AlCl <sub>3</sub> +HCl	222	246	267	283	335	420

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto H en metanol (fig.59), presenta cuatro bandas características de un anillo xantónico.

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.59), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. Se produce la misma modificación al añadir NaOAc (fig.60) a la dilución original, lo que indica la presencia de hidroxilos ácidos (C<sub>3</sub> ó C<sub>6</sub>).

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen agrupaciones orto-hidroxílicas.

Debido a que ambos espectros son idénticos, se tratará de una 1,6-dihidroxixantona (equivalente a 3,8-), ya que las 1,3-dihidroxixantonas los dan distintos al de MeOH, pero no superponibles entre sí.

- Espectro en  $\text{AlCl}_3$  y  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$

Al añadir  $\text{AlCl}_3$  (fig.61), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en  $\text{C}_1$  y/o  $\text{C}_8$  ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadirle  $\text{HCl}$ , el espectro no sufre modificación, lo que descarta, de nuevo, las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los complejos que forman con  $\text{AlCl}_3$  son inestables en medio ácido.

Interpretación del espectro de masas de H

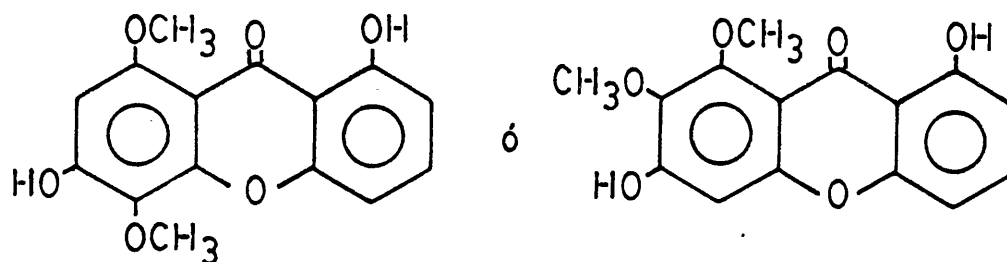
Del ion molecular y los picos isotópicos del espectro de masas (fig.62), se deduce para H una fórmula molecular de  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ , concordante con una xantona dihidroxilada y dimetoxilada.

El resto de los picos, confirma para H, la estructura de una xantona polioxigenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
288	88.6	$\text{M}^+$
273	100	$\text{M}-\text{CH}_3$
259	15.2	$\text{M}-\text{CHO}$
245	78.3	$\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}$
202	23.6	$\text{M}-2\text{CH}_3-2\text{CO}$

Del conjunto de datos espectroscópicos, deducimos para H, dos posibles estructuras: la 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxixantona ó la 1,6-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona, ninguna de las cuales ha sido descrita en la bibliografía. Debido a la inexistencia de producto, no se pudieron realizar derivados, que confirmaran una

de las dos posibles estructuras, y, por lo tanto, damos para H la estructura alternativa de 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxixantona ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona (88).



H 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxixantona ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimeto-  
xixantona.



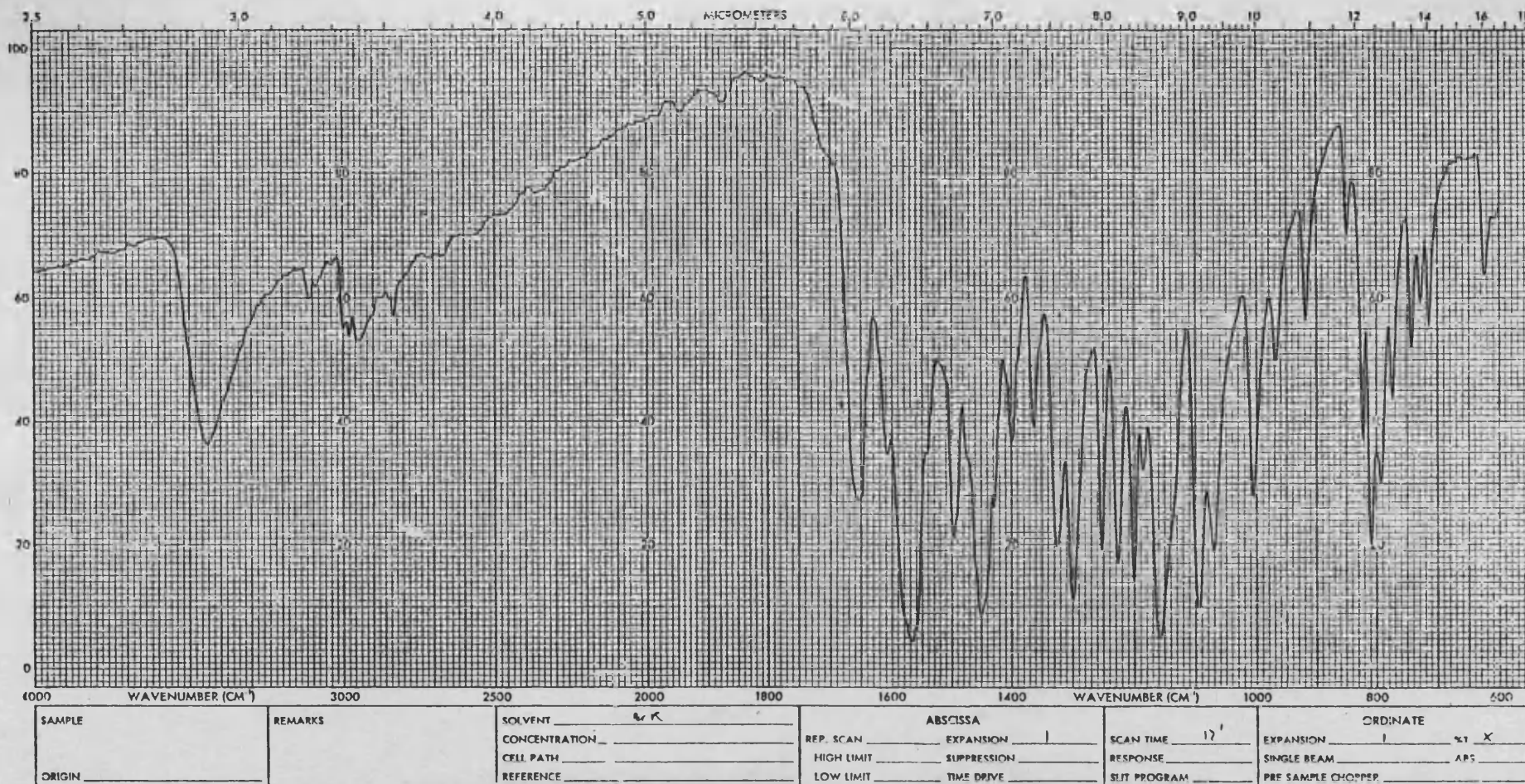


FIGURA 57: Espectro de IR de H: 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxi ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona.



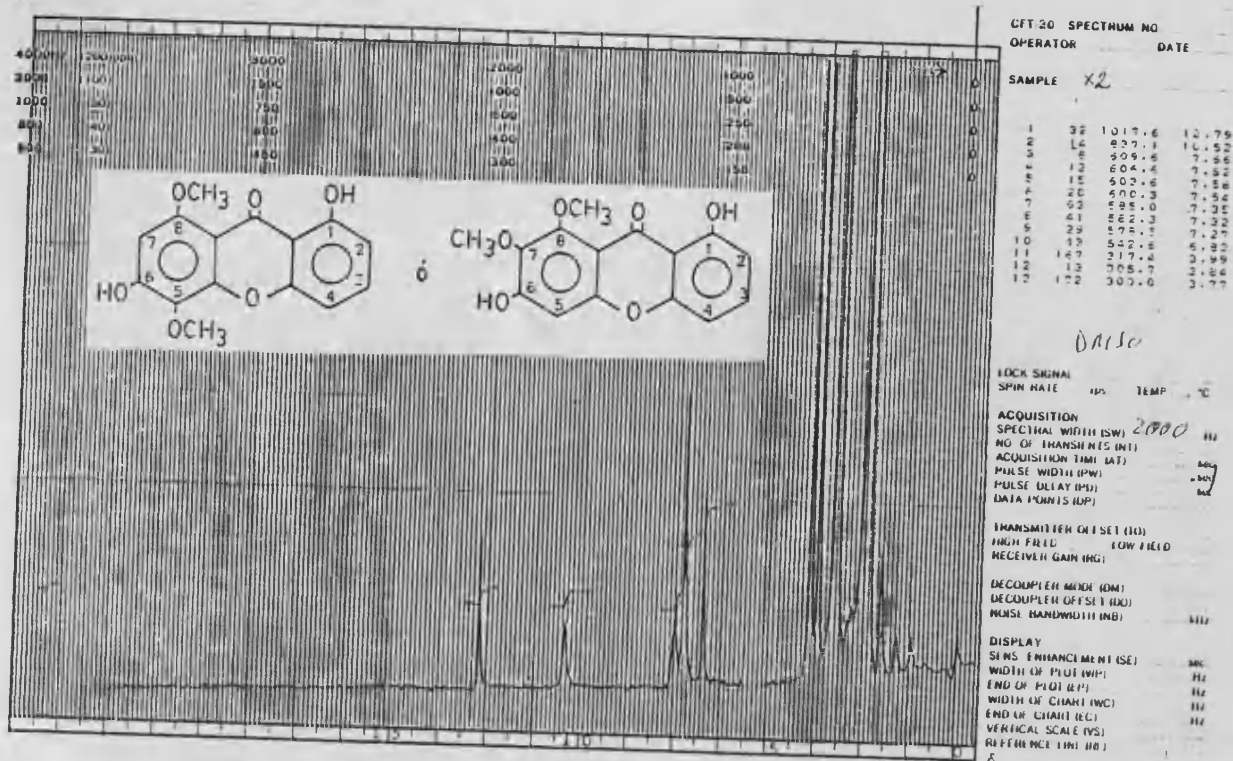


FIGURA 58: Espectro de RMN de H: 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxi ó 16-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona.

Desplazamiento químico (δ)	n°H	Acoplamiento	Asignación
12.79	1	singlete	OH-1
10.52	1	singlete	OH-6
7.60	1	doble doblete	H-3
7.35-7.27	2	( $J_1=6.2$ Hz; $J_2=3.3$ Hz) multiplete	H-2 y H-4
6.82	1	singlete	H-5 ó H-7
3.99	3	singlete	
3.77	3	singlete	2-OCH <sub>3</sub>

FIGURA 59

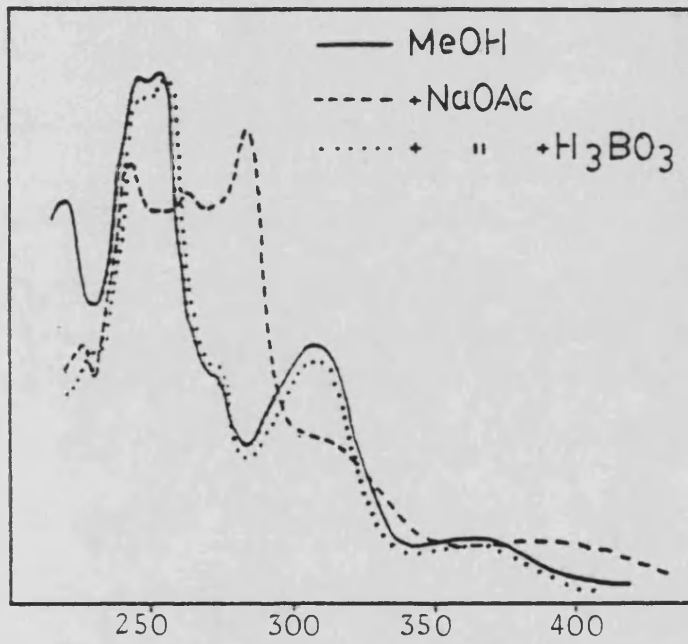
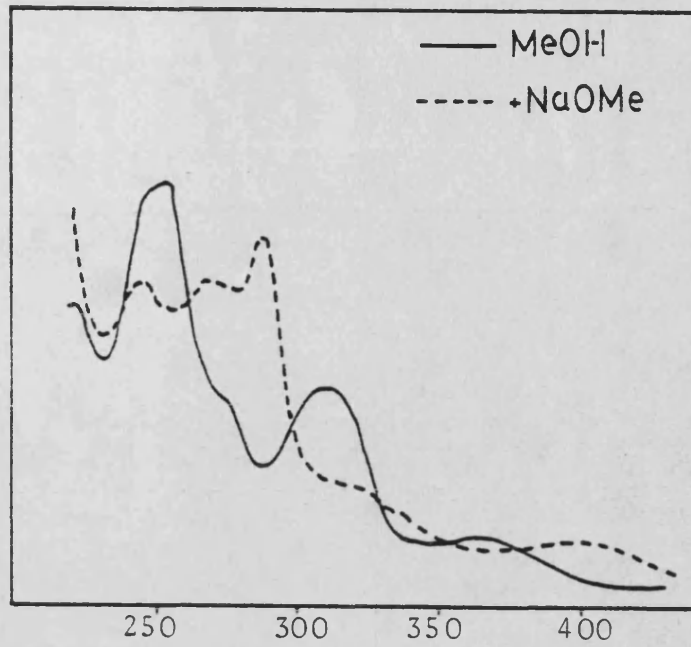
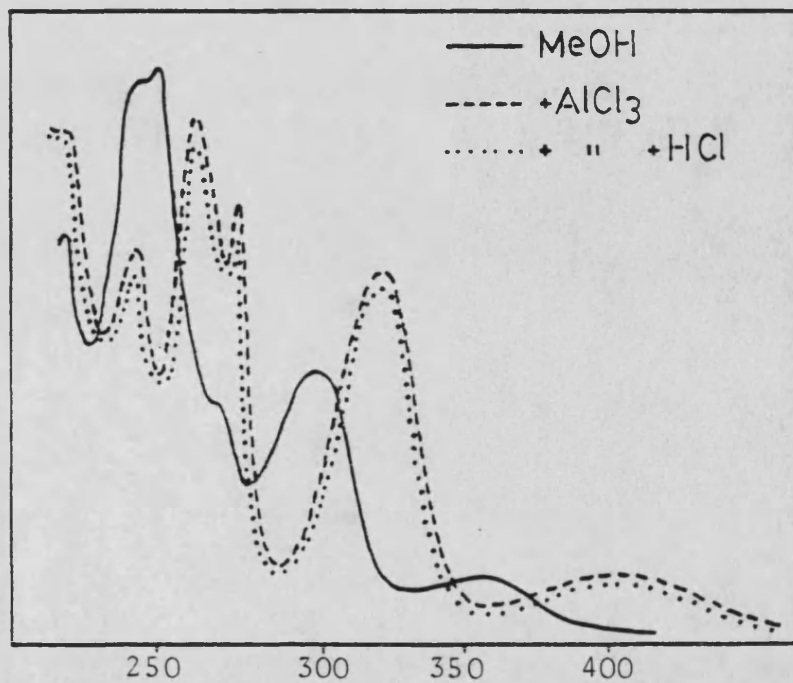


FIGURA 60

Espectros de U.V. de H:  
1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxi  
ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimeto-  
xixantona.

FIGURA 61





## 5. ESTUDIO DEL EXTRACTO METANOLICO.

Tallos, hojas y flores de Centaurium linarifolium (Lamark) G.Beck, una vez secas, fueron extraídas, en continuo, en un extractor soxhlet, hasta agotamiento, primero con hexano, después con cloroformo y por último con metanol.

De esta manera se obtiene el extracto metanólico.

### Separación y fraccionamiento

El extracto metanólico de Centaurium linarifolium se concentra a sequedad, por eliminación total del disolvente, dando una masa semisólida de color marrón oscuro.

El residuo redisuelto en 1 litro de etanol es tratado según la marcha de Clark (pág.259, parte experimental), que tiene como finalidad eliminar, en forma de sus sales de plomo, que precipitan en la disolución, colorantes y otras impurezas.

Seguidamente se filtra y el filtrado se le elimina la mayor parte de etanol a vacío.

El concentrado, en medio acuoso, se extrae en un extractor líquido-líquido, primero con éter etílico y después con acetato de etilo.

De esta forma obtenemos dos partes de este extracto que van a ser objeto de estudio: la parte etérea y la parte de acetato de etilo.



5.1. ESTUDIO DE LA PARTE ETÉREA DEL EXTRACTO METANOLICO. CROMATOLOGRAFIA DE COLUMNA.

La parte etérea del extracto metanólico, presenta las siguientes bandas características en su espectro de IR (fig.63 ):

3380 $\text{cm}^{-1}$	tensión O-H
3020-2860 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1700 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O
1300-1100 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O

La separación de los distintos componentes de la parte etérea del extracto metanólico, se lleva a cabo por cromatografía de columna, sobre sílica-gel, utilizando como eluyentes hexano, acetato de etilo y metanol, en distintas proporciones.

Se recogen 160 fracciones de 100 ml, agrupándose las fracciones según su comportamiento análogo por c.c.f., e ignorándose el estudio de aquellas que, por su complejidad y/o escasa cantidad, se consideran faltas de interés.

Se obtienen así cinco agrupaciones de fracciones, como se indica en la tabla VII:

TABLA VII

Columna cromatográfica de la parte etérea del extracto metanólico

<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Compuestos cristalinos aislados</u>
X <sub>VII</sub>	(19-26)	{ I - 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona. J - 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona. G - 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.
R	(27)	Eritrocentaurina
X <sub>VIII</sub>	(28-41)	K - 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona



<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Compuestos cristalinos aislados</u>
GI <sub>I</sub>	(83-90)	Decentapicrina A
GS	(91-93)	Glucósido de $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol.

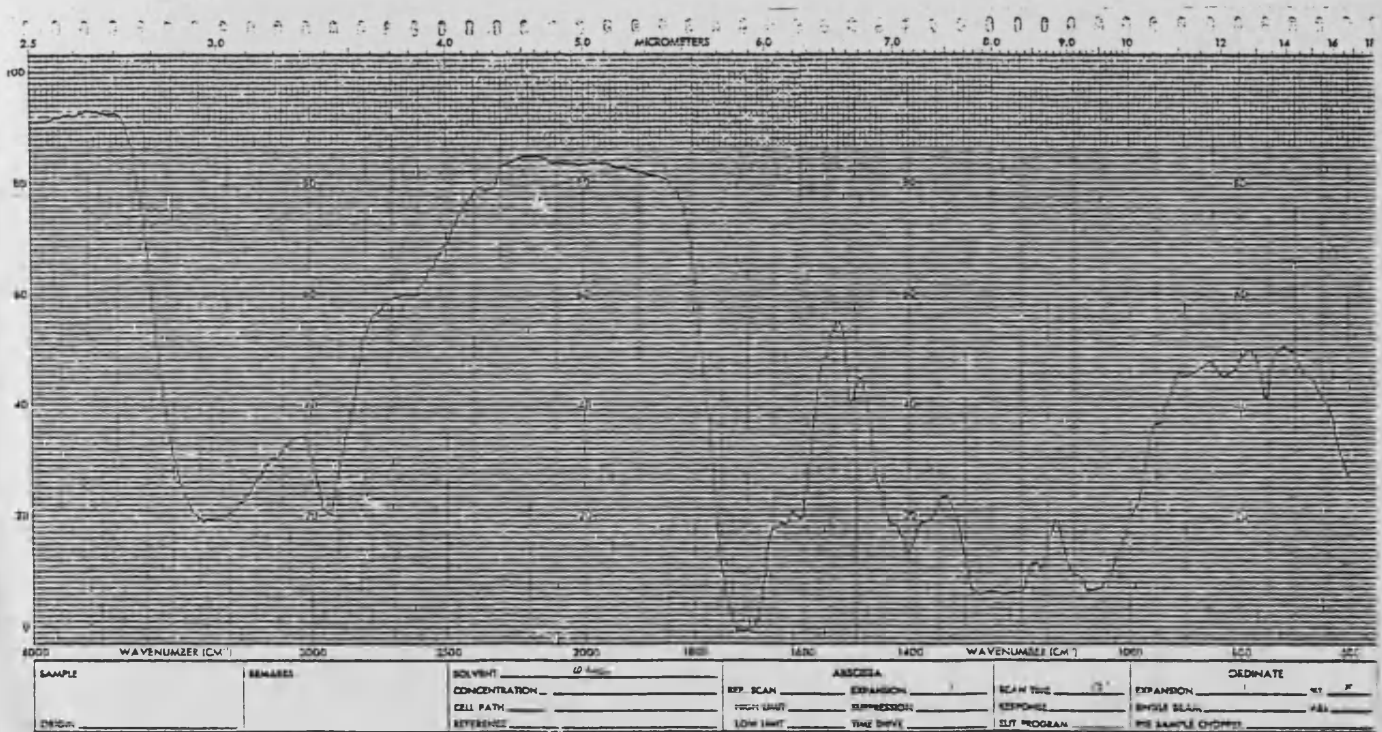


FIGURA 63: Espectro de IR de la parte etérea del extracto metanólico.

5.1.1. ESTUDIO DE LA FRACCION X<sub>VII</sub>: SEPARACION DE I, J y G.

De la reunión de fracciones 19-26, eluidas de la columna con hexano-acetato de etilo (60:40), se obtiene la agrupación X<sub>VII</sub>.

Esta agrupación es sometida a una nueva recromatografía de columna, sobre sílica-gel, utilizando como eluyentes hexano y acetato de etilo, en distintas proporciones.

Se recogen 122 fracciones de 10 ml, agrupándose aquellas fracciones según su comportamiento análogo por c.c.f., e ignorándose el estudio de aquellas que, por su complejidad y/o escasa cantidad, se consideran faltas de interés.

Se obtienen así tres agrupaciones de fracciones, como se indica en la tabla VIII.

TABLA VIII

<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Compuestos cristalinos aislados</u>
I	(17-22)	I - 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentameto- xixantona.
II	(23-38)	J - 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona
III	(51-70)	G - 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrameto- xixantona.

Cada una de las agrupaciones mostró una mancha mayoritaria en c.c.f., que revela con vapores de NH<sub>3</sub>, intensificando su primitivo color amarillo, prueba característica de componentes xantónicos.



5.1.1.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO I: 1-HIDROXI-3,5,6,7,8-PENTAMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De la reunión de fracciones 17-22, eluidas de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (95:5), se obtiene el compuesto I.

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere color amarillo, cuando la placa se somete a vapores de amoniaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de la fracción I en acetona-metanol, se obtienen unos cristales amarillos de punto de fusión 112-114°C.

Interpretación del espectro de IR de I

El espectro de IR del compuesto I (fig.64 ), presenta las siguientes bandas características:

3020-2850 $cm^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1655 $cm^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1610, 1590 y 1565 $cm^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1210 $cm^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1125 $cm^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>
1060 $cm^{-1}$	tensión Ar-O-C simétrica

El espectro de IR indica la presencia de un núcleo de xantona, la ausencia de banda hidroxílica, en la región de 3400  $cm^{-1}$ , indica la inexistencia de grupos hidroxilo, o su situación en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub>(38).

Interpretación del espectro de RMN de I

El espectro de RMN de I (fig.65 ), realizado en  $CD_3COCD_3$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplaza-</u> <u>miento <math>\delta</math></u>	<u>Integra-</u> <u>ción</u>	<u>Desdobra-</u> <u>miento</u>	<u>Posible</u> <u>asignación</u>
13.25	1	singlete	-OH
6.55	1	doblete (J=2.67 Hz)	1H-Ar acoplado en meta.
6.30	1	doblete (J=2.67 Hz)	1H-Ar acoplado en meta.
4.13	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>
4.00	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>
3.90	9	singlete	3-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un grupo hidroxilo, que se situará en C<sub>1</sub> ó C<sub>8</sub>, como lo muestra su resonancia a campo tan bajo (13.25  $\delta$ ), característico de -OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta (J=2.67 Hz), que situaremos en posiciones C<sub>2</sub>(ó C<sub>7</sub>) y C<sub>4</sub>(ó C<sub>5</sub>), ya que un hidrógeno en C<sub>1</sub>(ó C<sub>8</sub>) resuena a campo bastante más bajo (71).

Las cinco posiciones asequibles de sustitución, que restan, corresponden a los 5 grupos metóxilos que se detectan en el espectro.

#### Interpretación de los espectros de UV de I

La localización del hidroxilo de I, detectado en el RMN, se confirma por el estudio de su espectro de UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )			
MeOH	238(h)	256(4.26)	315(3.93)	362(h)
NaOMe	244	257(h)	272(h)	317
NaOAc		256	315	362
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>		256	315	362
AlCl <sub>3</sub>	237	260(h)	272	346
AlCl <sub>3</sub> +HCl	237	260(h)	272	346

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto I, en metanol (fig. 66), presenta cuatro bandas características de un anillo xantónico. La 1,2,3,4,6,8-hexa-O-sustitución se muestra clara por comparación de este espectro con el obtenido para A (fig.4),E(fig.35) y G(fig.49).

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig. 66), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. Al no producirse variación al añadir NaOAc (fig. 67) a la disolución original indica la ausencia de hidroxilos ácidos (posiciones 3 y 6).

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen agrupaciones orto-hidroxílicas.

- Espectro en AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub> + HCl

Al añadir AlCl<sub>3</sub> (fig. 68), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub>. ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadir HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta, de nuevo, las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los complejos que forman con AlCl<sub>3</sub> son inestables en medio ácido.

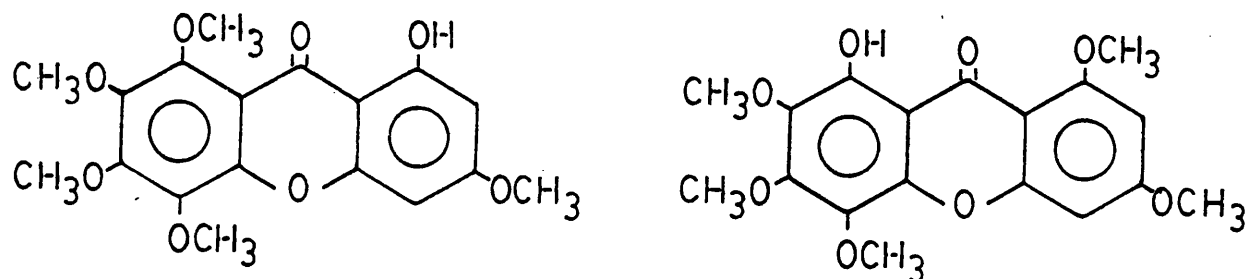
Interpretación del espectro de masas de I

Del espectro de masas de alta resolución (fig. 69), se deduce para I una fórmula molecular, de  $C_{18}H_{18}O_8$ , que concuerda con una xantona monohidroxilada y pentametoxilada.

El resto de los picos, confirma para I la estructura de una xantona polioxigenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
362	65.9	$M^+$
347	100	M- $CH_3$
319	17.3	M- $CH_3$ -CO
304	14.4	M-2 $CH_3$ -CO
289	11.2	M-3 $CH_3$ -CO
261	23.4	M-3 $CH_3$ -2CO

Del conjunto de datos físicos y espectroscópicos asignamos para I dos posibles estructuras: la 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona (91) o la 1-hidroxi-2,3,4,6,8-pentametoxixantona. La confirmación de la estructura de I se obtiene por el estudio del test de Gibbs y la obtención y análisis espectroscópico de su derivado acetilado.



Posibles estructuras para el compuesto I

### Test de Gibbs del compuesto I

Como se ha señalado en la pág. 42, el test de Gibbs permite detectar posiciones para libres a un grupo hidroxilo.

Podría servirnos para distinguir entre la 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona, que lo daría positivo, y la 1-hidroxi-2,3,4,6,8-pentametoxixantona, que lo daría negativo y como se trata de una 1-hidroxixantona, la banda de absorción debida al cromóforo azul del indofenol, debe aparecer entre 660 y 700 nm (39,63).

La preparación de las disoluciones se realiza según se indica en la pag.44.

Se registró el espectro (fig. 70 ), tanto de los reactivos solos (curva A) como de los mismos con el compuesto problema (curva B), la curva resultante se obtiene por sustracción de ambas, ya que el reactivo absorbe sobre 450 nm.

El resultado es una respuesta positiva, presentando una banda de absorción a 685 nm (fig. 70 ).

#### 5.1.1.1.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE I. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar el producto I, con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág.263). El producto, así obtenido, es estudiado por métodos espectroscópicos.

#### Interpretación del espectro de IR de I acetilado

El espectro de IR de I acetilado (fig.71 ) muestra las siguientes bandas características:

1760 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O ester fenólico
1665 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1630, 1595 y 1560 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático

1220 cm <sup>-1</sup>	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona.
1195 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ester fenólico
1120 cm <sup>-1</sup>	vibración C-O-C de grupos C-O-CH <sub>3</sub>
1060 cm <sup>-1</sup>	tensión Ar-O-C simétrica.

Lo más característico de este espectro es la aparición del carbonilo de los grupos acetato, lo que confirma la existencia, en I, de grupos hidroxilo.

Interpretación del espectro de RMN de I acetilado

El espectro de RMN de I acetilado (fig. 72), realizado en CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, muestra las siguientes señales:

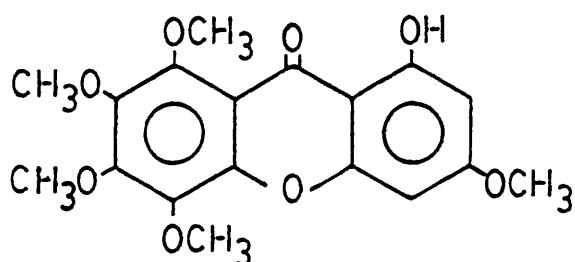
<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
6.95	1	doblete (J=2.67 Hz)	1H-Ar acoplado en meta.
6.60	1	doblete (J=2.67 Hz)	1H-Ar acoplado en meta.
4.06	3	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.95	6	singlete	2-OCH <sub>3</sub>
3.85	6	singlete	1-OCH <sub>3</sub>
3.82		singlete	1-OCH <sub>3</sub>
2.35	3	singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>

La primera información que obtenemos es la confirmación de la existencia de un hidroxilo en I, ya que muestra un solo acetato.

La variación en la resonancia de los HAR del compuesto original I, a su derivado acetilado, nos permite su correcta asignación. Tras acetilación, los H-Ar aromáticos se han desplazado 0.30 y 0.40 ppm, desplazamientos característicos de HAR orto y para, respectivamente, a la posición hidroxilada que pasa a ser acetilada. El H-2 será el que resonaba a 6.30 δ (0.30

ppm de desplazamiento) y el H-4 será el que lo hace a 6.55  $\delta$  (0.40 ppm de desplazamiento).

Del conjunto de datos físicos y espectrales obtenidos para I y su derivado, le asignamos a este compuesto la estructura de 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona, siendo esta la segunda vez que se describe su aislamiento en la naturaleza (91). La comprobación total de la estructura se realizó por comparación con patrón auténtico y con el derivado monometilado del compuesto G.



I 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona

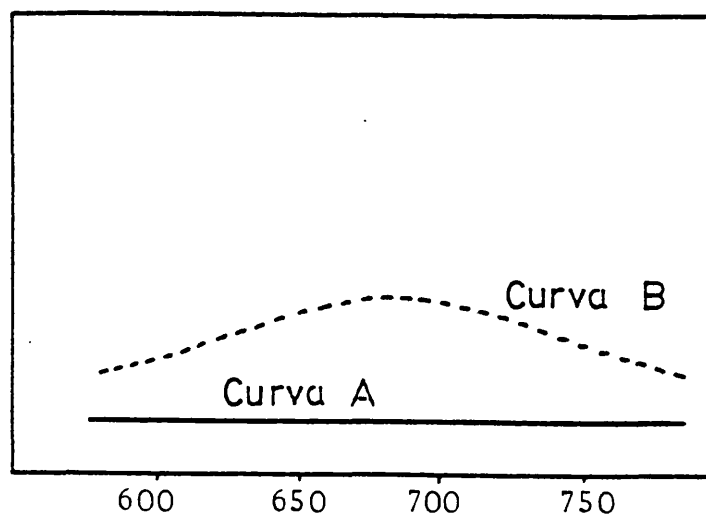


FIGURA 70

Test de Gibbs de I: 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona.

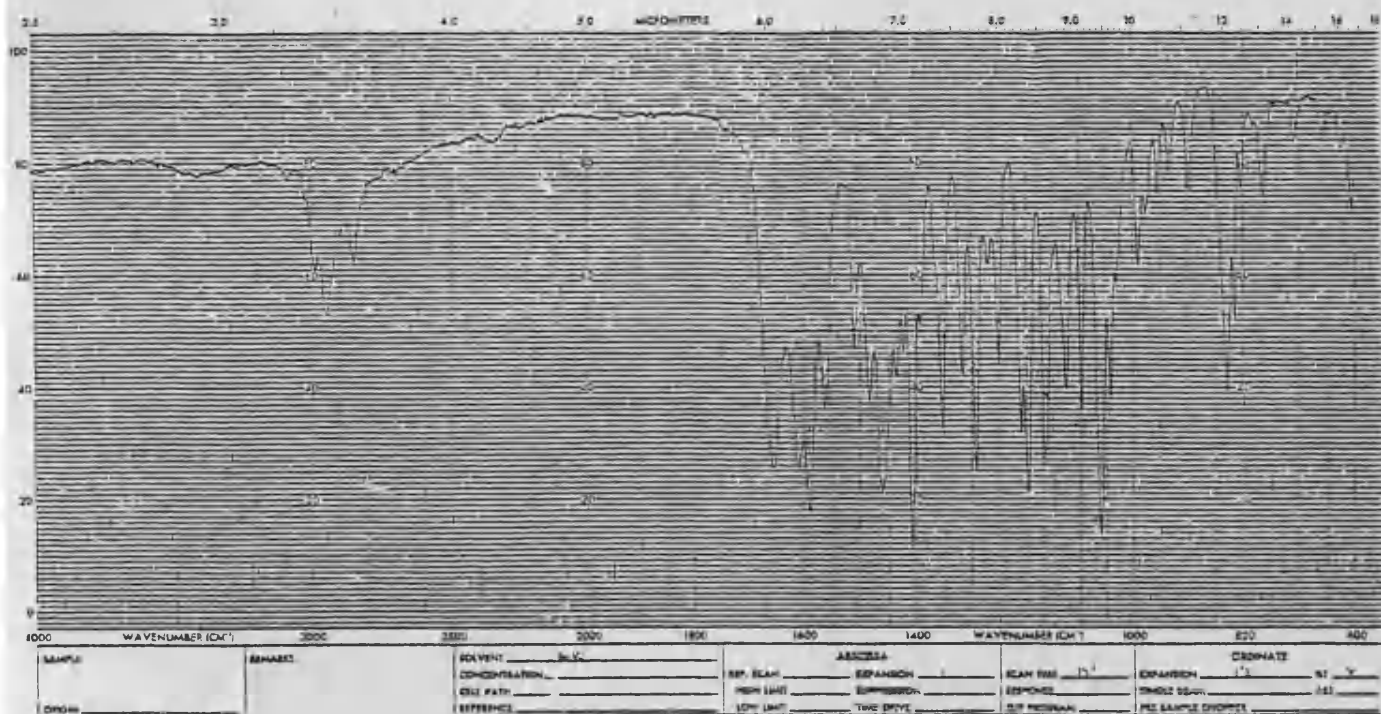


FIGURA 64: Espectro de IR de I: 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoixantona.

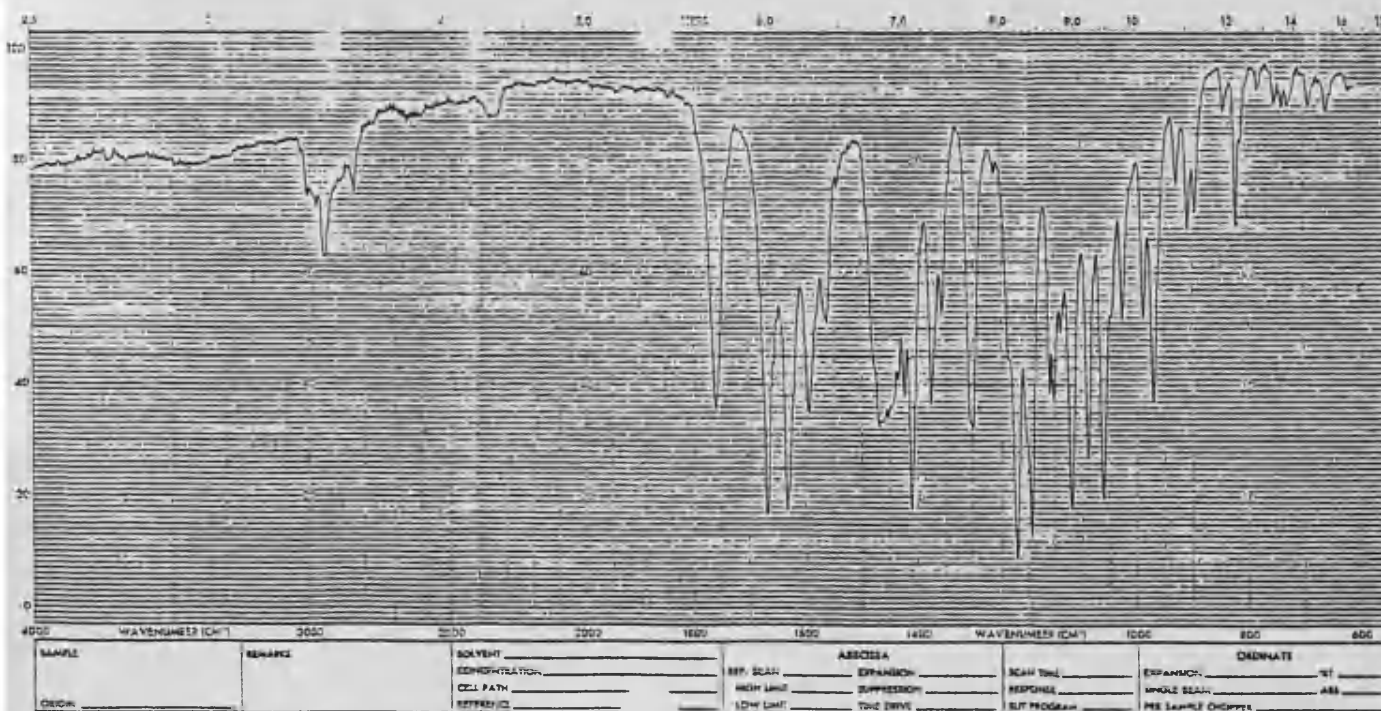


FIGURA 71: Espectro de IR de I acetilado: 1-acetoxi-3,5,6,7,8-pentametoixantona.



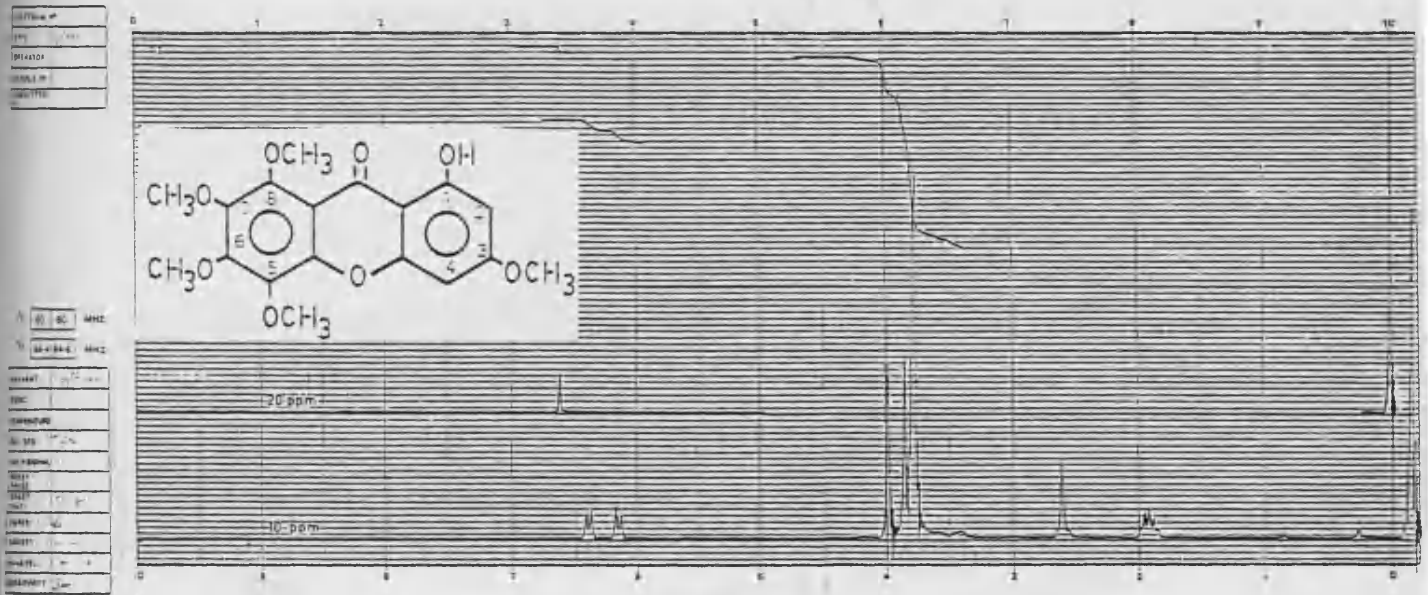


FIGURA 65: Espectro de RMN de I: 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentameto-xantona.

<u>Desplazamiento químico (δ)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
13.25	1	singlete	OH-1
6.55	1	doblete (J=2.67 Hz)	H-4
6.30	1	doblete (J=2.67 Hz)	H-2
4.13	3	singlete	5-OCH <sub>3</sub>
4.00	3	singlete	
3.90	9	singlete	

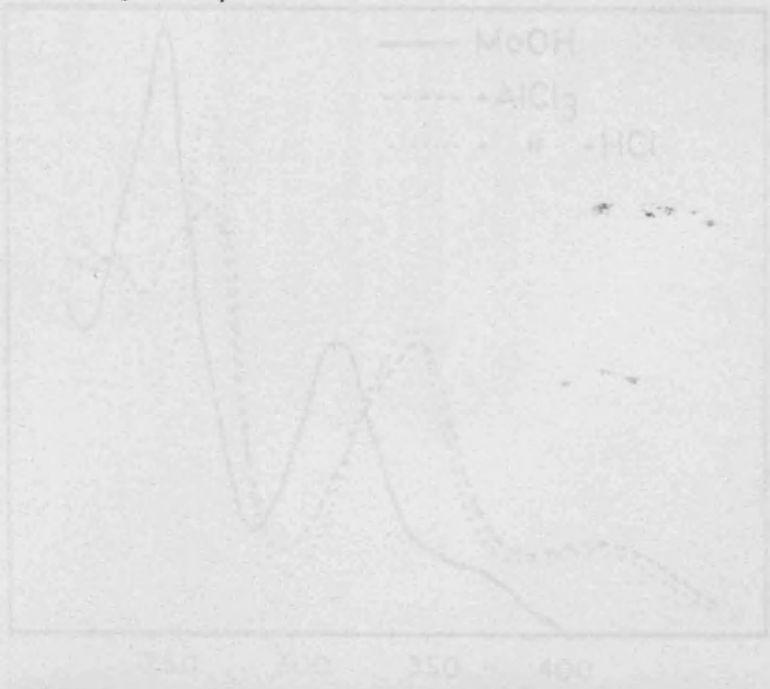


FIGURA 66

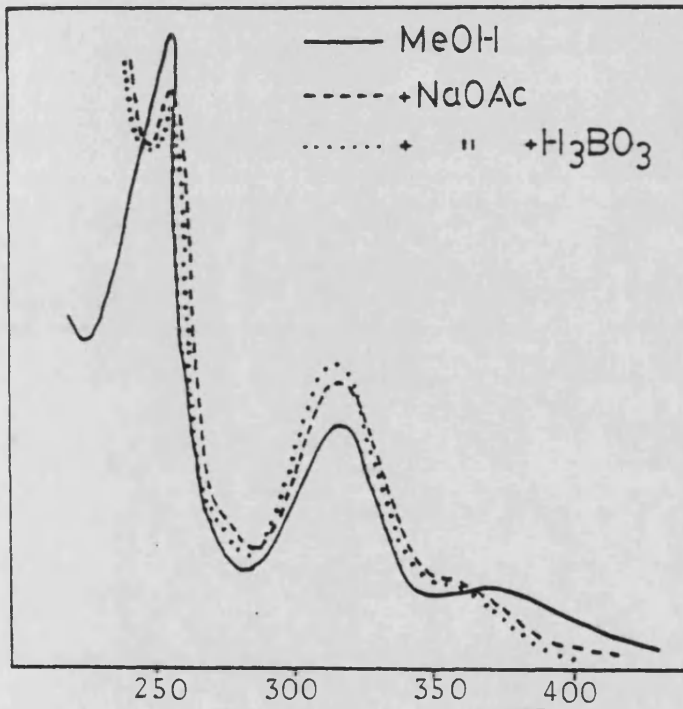
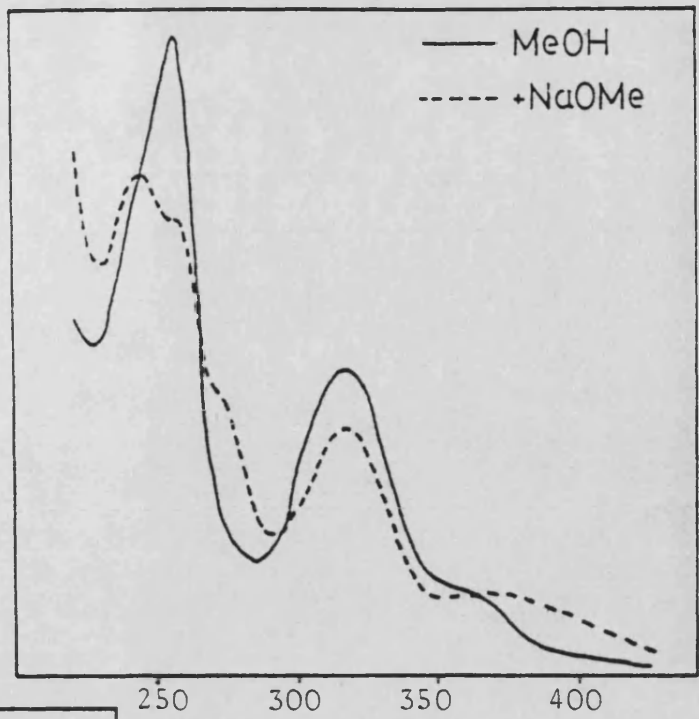
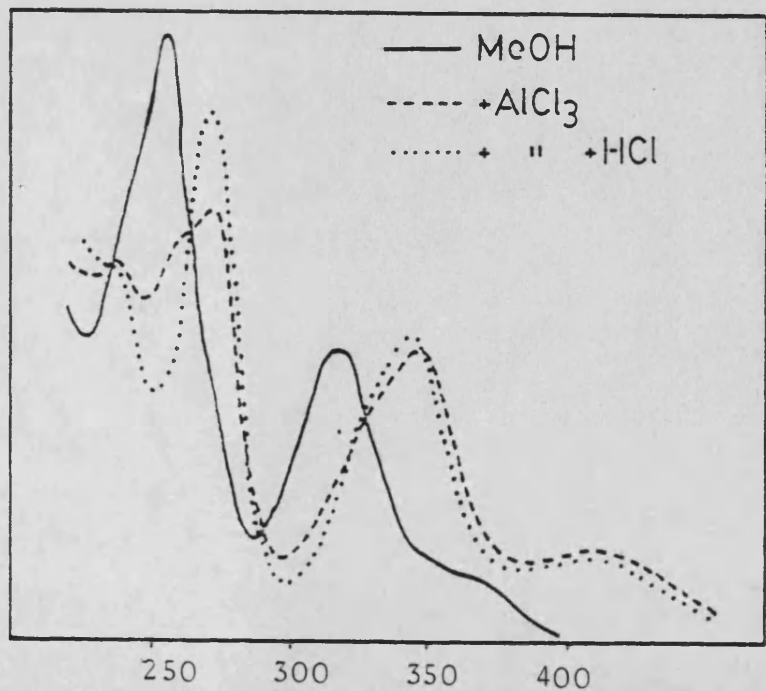


FIGURA 67

Espectros de U.V. de 1:1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona.

FIGURA 68





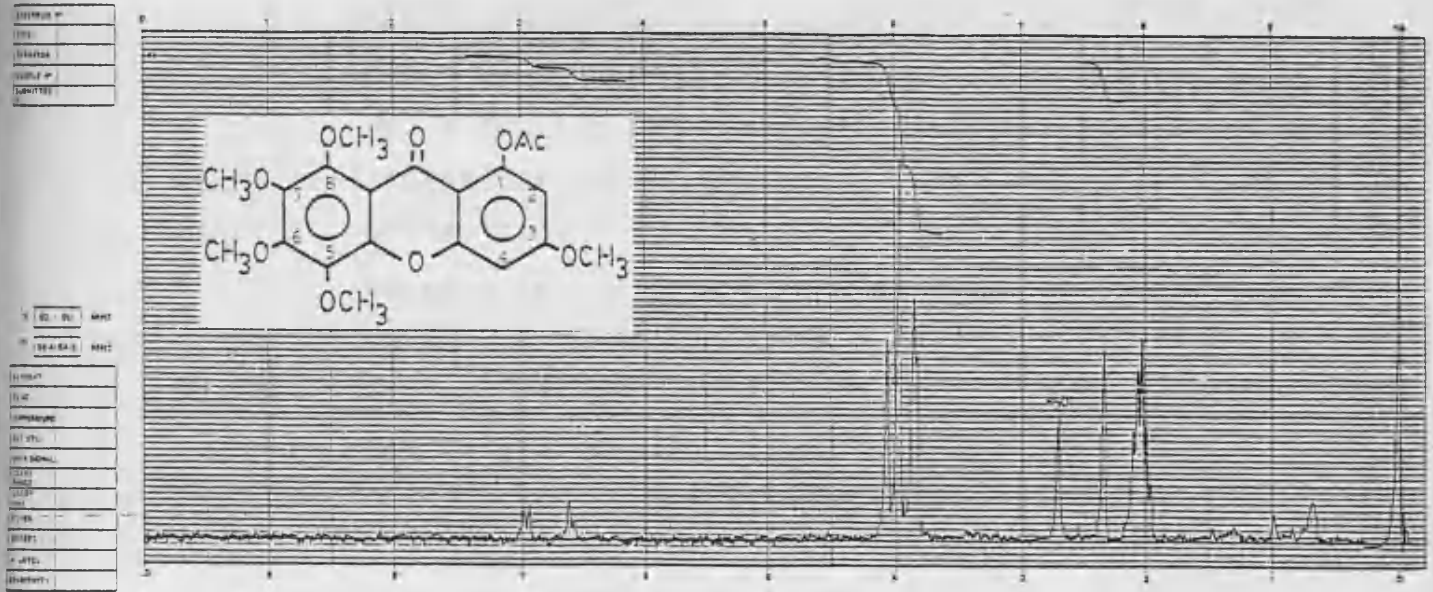


FIGURA 72: Espectro de RMN de I acetilado: 1-acetoxi-3,5,6,7,8-pentametoixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
6.95	1	doblete ( $J=2.67$ Hz)	H-4
6.60	1	doblete ( $J=2.67$ Hz)	H-2
4.06	3	singlete	5-OCH <sub>3</sub>
3.95	6	singlete	
3.85	6	singlete	
3.82		singlete	
2.35	3	singlete	1-OCOCH <sub>3</sub>

5.1.1.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO J: 1-HIDROXI-3,7,8-TRIMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De la reunión de fracciones 23-38, eluidas de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (95:5), se obtiene el compuesto J.

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere color amarillo, cuando la placa se somete a vapores de amoníaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de la fracción J en hexano-éter etílico, se obtienen unos cristales amarillos de punto de fusión 157-159°C.

Interpretación del espectro de IR de J

El espectro de IR del compuesto J (fig.73), presenta las siguientes bandas características:

3020-2830 $cm^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1660 $cm^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1610, 1570 y 1560 $cm^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1230 $cm^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1160 $cm^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O-CH <sub>3</sub>
1070 $cm^{-1}$	tensión Ar-O-C simétrica

El espectro de IR y la coloración en c.c.f. me indica la presencia de un núcleo de xantona. La ausencia de banda hidroxílica, en la región de  $3400\ cm^{-1}$ , indica la inexistencia de grupos hidroxilo, ó su situación en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub>. (38).

Interpretación del espectro de RMN de J

El espectro de RMN de J (fig.74), realizado en  $CD_3COCD_3$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.62	1	doblete (J=8 Hz)	1H-Ar acoplado en orto.
7.25	1	doblete (J=8 Hz)	1H-Ar acoplado en orto.
6.48	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta.
6.30	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta.
3.92	9	2 singletes	3-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en orto (J=8 Hz), que situaremos en uno de los anillos xantónicos, en posiciones C<sub>7</sub>(ó C<sub>2</sub>) y C<sub>6</sub>(ó C<sub>3</sub>) ó C<sub>6</sub>(ó C<sub>3</sub>) y C<sub>5</sub> (ó C<sub>4</sub>), ya que un hidrógeno en posición C<sub>1</sub>(ó C<sub>8</sub>), resuena a campo mas bajo ( $\delta \sim 8$  ppm) (71).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta (J=2 Hz), que situaremos en posiciones C<sub>2</sub>(ó C<sub>7</sub>) y C<sub>4</sub>(ó C<sub>5</sub>) del otro anillo xantónico, por la razón anteriormente indicada.

De las cuatro posiciones restantes, asequibles de sustitución, tres estarán ocupadas por grupos metoxilo ya que se detectan a 3.92  $\delta$ .

#### Interpretación de los espectros de UV de J

La localización del posible hidroxilo de J y la verdadera sustitución de la xantona, se realiza por el estudio de su espectro de UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\max}$ nm (log $\epsilon$ )			
MeOH	238(4.45)	259(4.52)	311(4.10)	385(h)
NaOMe	239 262	273(h)	320	390
NaOAc	238	259	311	385(h)
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	238	259	311	385(h)
AlCl <sub>3</sub>	235	273	330	425
AlCl <sub>3</sub> +HCl	235	273	330	425

#### - Espectro en MeOH

El espectro del compuesto J en metanol (fig.75 ), presenta cuatro bandas, características de un anillo xantónico. Corresponde al espectro UV característico de xantonas 1,3,7,8-tetraoxigenadas (ver tabla I).

#### - Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig.75 ), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. La no variación del espectro al añadir NaOAc (fig.76 ) a la disolución original, indica la ausencia de hidroxilos ácidos (posiciones 3 y 6).

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen agrupaciones orto-hidroxílicas.

#### - Espectro en AlCl<sub>3</sub> y AlCl<sub>3</sub>+HCl

Al añadir AlCl<sub>3</sub> (fig.77 ), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en C<sub>1</sub> y/o C<sub>8</sub> ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadir HCl, el espectro no sufre modificación, lo que descarta, de nuevo, las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los complejos que forman con AlCl<sub>3</sub> son inestables en medio ácido.



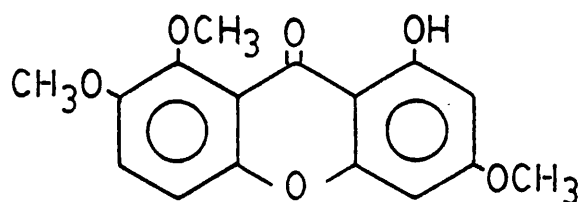
### Interpretación del espectro de masas de J

Del espectro de masas de alta resolución (fig.78 ), se deduce para J una fórmula molecular de  $C_{16}H_{14}O_6$ , que es concordante para una xantona monohidroxilada y trimetoxilada.

El resto de los picos, confirma para J la estructura de una xantona polioxigenada.

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
302	87.4	$M^+$
287	100	$M-CH_3$
284	17.9	$M-H_2O$
273	23.1	$M-CHO$
269	10.7	$M-CH_3-H_2O$
259	37.9	$M-CH_3-CO$
255	10.0	$M-CHO-H_2O$
245	10.2	$M-CHO-CO$
216	16.1	$M-2CH_3-2CO$
201	20.7	$M-3CH_3-2CO$

Del conjunto de datos físicos y espectroscópicos asignamos para J, dos posibles estructuras: la 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona (Decusatina) ó la 1-hidroxi-2,6,8-trimetoxixantona (Isodecusatina) (92). La confirmación de la estructura se realizó por comparación con patrón auténtico de decusatina (93), que resultó del todo concordante con el compuesto J.



J 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona



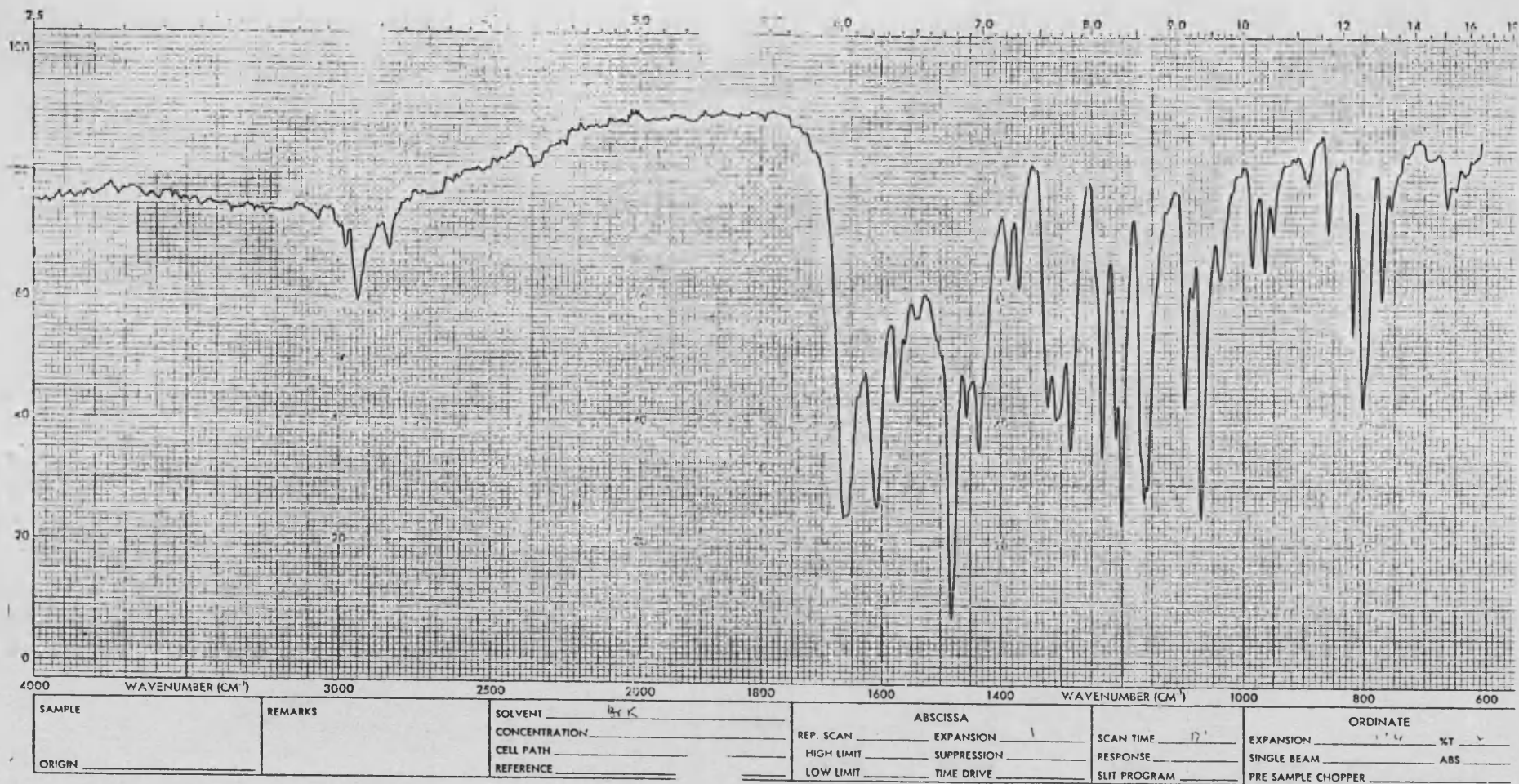


FIGURA 73: Espectro de IR de J: 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona.

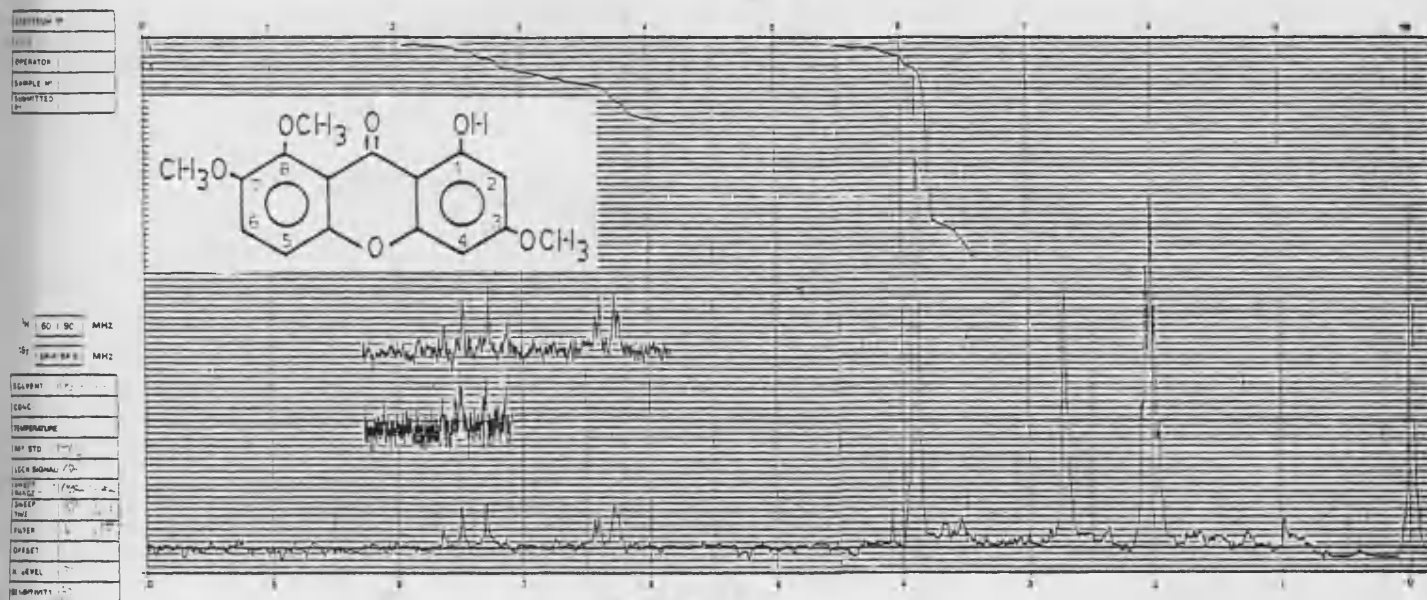


FIGURA 74: Espectro de RMN de J: 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
7.62	1	doblete (J=8 Hz)	H-5
7.25	1	doblete (J=8 Hz)	H-6
6.48	1	doblete (J=2 Hz)	H-4
6.30	1	doblete (J=2 Hz)	H-2
3.92	3	2 singletes	3-OCH <sub>3</sub>

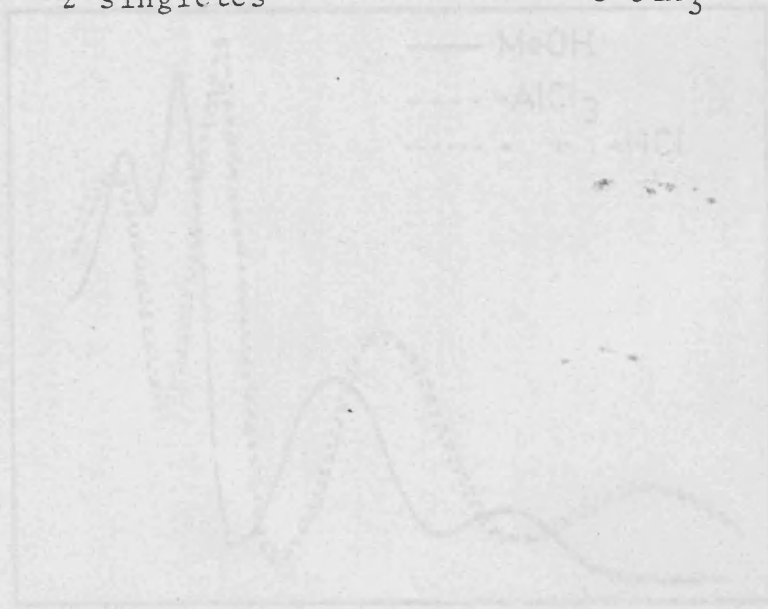


FIGURA 75

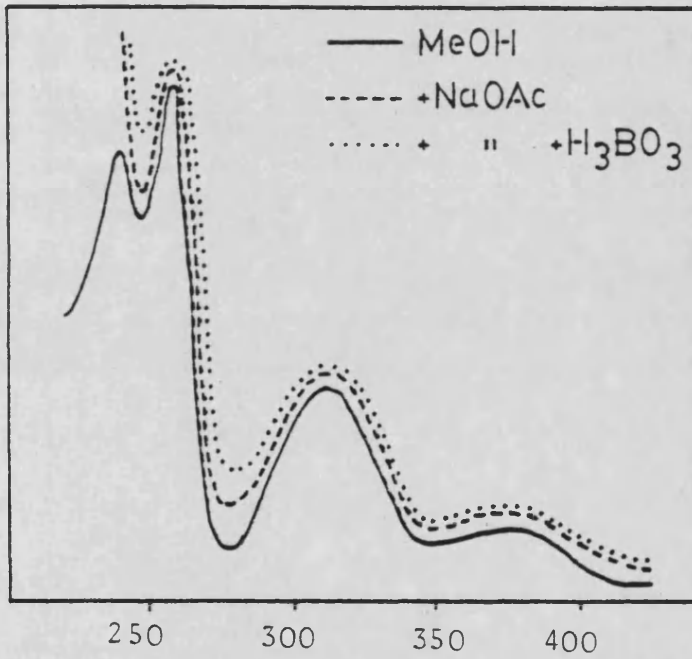
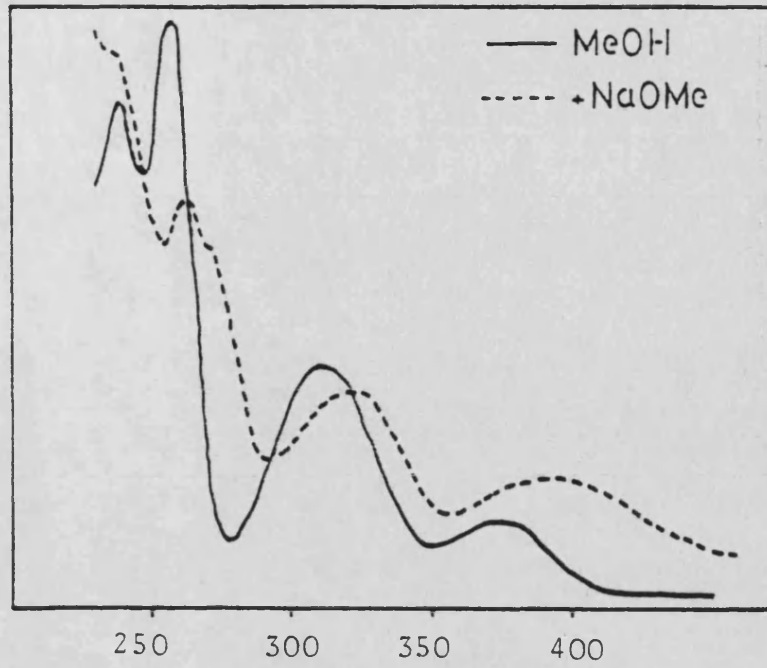
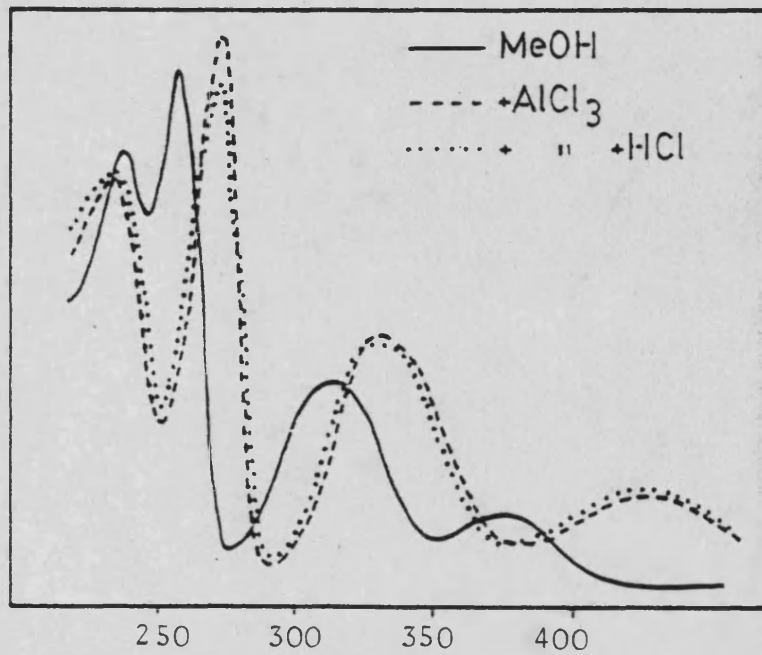


FIGURA 76

Espectros de U.V. de J:  
1-hidroxi-3,7,8-trimeto-  
xixantona.

FIGURA 77





5.1.1.3. ESTUDIO DEL COMPUESTO G: 1,6-DIHI-DROXI-3,5,7,8-TETRA-METOXIXANTONA.

De la reunión de fracciones 51-70, eluidas de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (90:10), se obtiene el compuesto G.

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere color amarillo cuando la placa se somete a vapores de amoniaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de la fracción G en acetona-hexano, se obtiene un producto cristalino amarillo, de punto de fusión y características espectroscópicas idénticas al compuesto G, obtenido en el extracto hexánico y descrito en el apartado 4.5.

### 5.1.2. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN R: ERITROCENTAURINA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De la fracción 27, eluida de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (60:40), se obtiene el compuesto R.

Muestra en c.c.f. una sola mancha y por cristalización de acetona, rinde unos cristales naranja, de punto de fusión 132-135°C.

#### Interpretación del espectro de IR de R

El espectro de IR de R (fig.79 ), muestra las siguientes bandas características:

3080-2840 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1730 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O $\delta$ -lactona conjugada
1700 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O aldehido conjugado
1580 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C de anillo aromático
1470 $\text{cm}^{-1}$	vibración $-\text{CH}_2-$
1200 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O esteres ó lactonas
1050 $\text{cm}^{-1}$	vibración sistemas cíclicos.
760 $\text{cm}^{-1}$	déformación C-H fuera del plano para bencenos 1,2,3-trisustituidos.

El espectro IR del compuesto R posee como más característico: absorciones de anillo aromático y absorciones carbonílicas de aldehido y carbonilo de  $\delta$ -lactona conjugados.

En conjunto es el espectro típico de una isocumarina (o dihidroisocumarina) formilada en el anillo aromático (37).

#### Interpretación del espectro de RMN de R

El espectro de RMN de R (fig.80 ), realizado en  $\text{Cl}_3\text{CD}$ , presenta las siguientes señales:



<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
10.1	1	singlete	-CHO
8.40	1	doble doblete ( $J_1=7.33$ y $J_2=1.33$ Hz)	1H-Ar acoplado en orto-meta
8.05	1	doble doblete ( $J_1=7.33$ y $J_2=1.33$ Hz)	1H-Ar acoplado en orto-meta
7.62	1	triplete ( $J=7.33$ Hz)	1H-Ar doblemen- te acoplado en orto
4.57	2	triplete ( $J=6$ Hz)	OOC- $\underline{\text{CH}_2}$ - $\underline{\text{CH}_2}$ -
3.67	2	triplete ( $J=6$ Hz)	- $\underline{\text{CH}_2}$ - $\underline{\text{CH}_2}$ -Ar

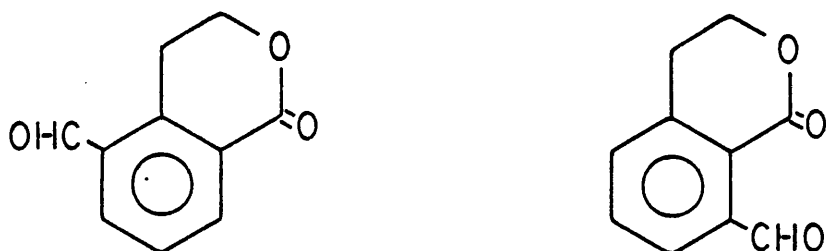
Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un grupo aldehído, detectado en el espectro de infrarrojo, cuyo hidrógeno resuena a  $\delta=10.1$  ppm.

Posee tres hidrógenos aromáticos contiguos, como lo muestra su acoplamiento: dos de ellos acoplado en orto y meta y el tercero acoplado doblemente en orto (anillo bencénico 1,2,3-trisustituido).

Por último, tenemos dos grupos  $-\text{CH}_2-$  acoplados entre sí (triplete,  $J=6$  Hz) que corresponderán al anillo de  $\delta$ -lactona, detectado en el espectro de infrarrojo.

De los datos espectrales obtenidos de R, se le puede asignar, a este compuesto, dos posibles estructuras de: 5-formil u 8-formildihidroisocumarina.



posibles estructuras de R

#### Espectro de UV de R

El espectro de UV de R (fig.81 ), realizado en metanol, presenta los siguientes máximos de absorción:

$\lambda_{\text{max}}$  nm (log  $\epsilon$ ) 223(3.90); 240(h); 291(2.78)

No presenta ninguna variación al añadir NaOMe, por lo que la molécula carece de grupos hidroxilo fenólicos.

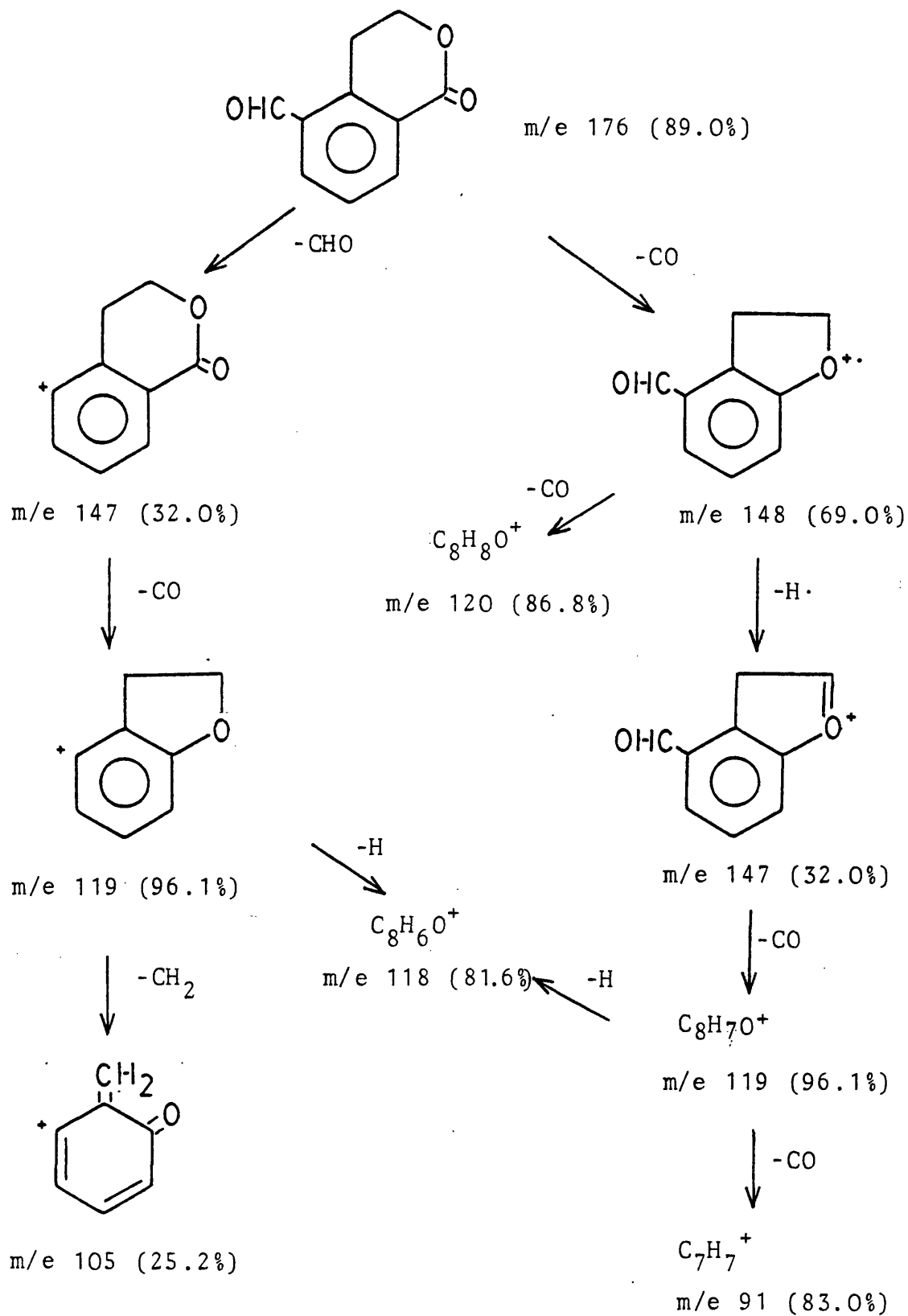
#### Interpretación del espectro de masas de R

En el espectro de masas de R (fig.82 ), el ión molecular es 176, concordante con la fórmula molecular:  $C_{10}H_8O_3$ .

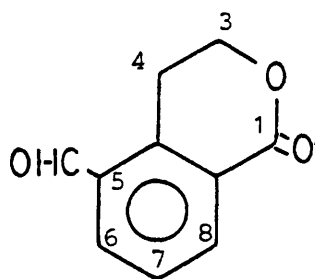
El conjunto de picos significativos, son explicables según el siguientes esquema de fragmentación (94).



FRAGMENTOS PRINCIPALES EN EL EM DE R



Del conjunto de datos físicos y espectroscópicos, asignamos para R la estructura de 5-formil-3,4-dihidroisocumarina, conocida como eritrocenaurina (95-97).

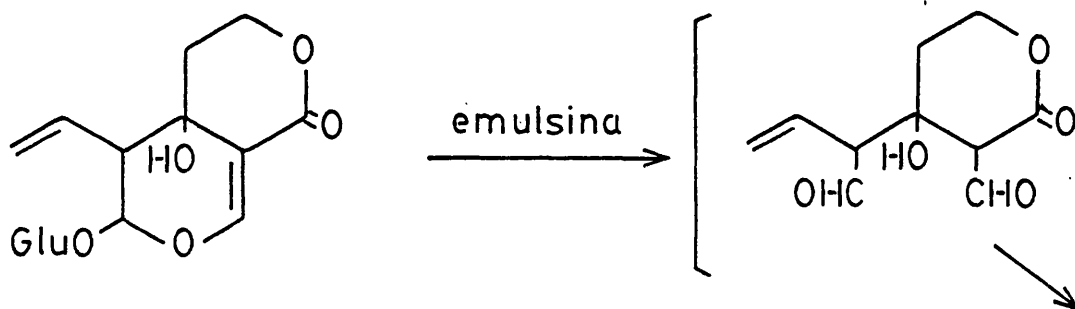


R Eritrocenaurina

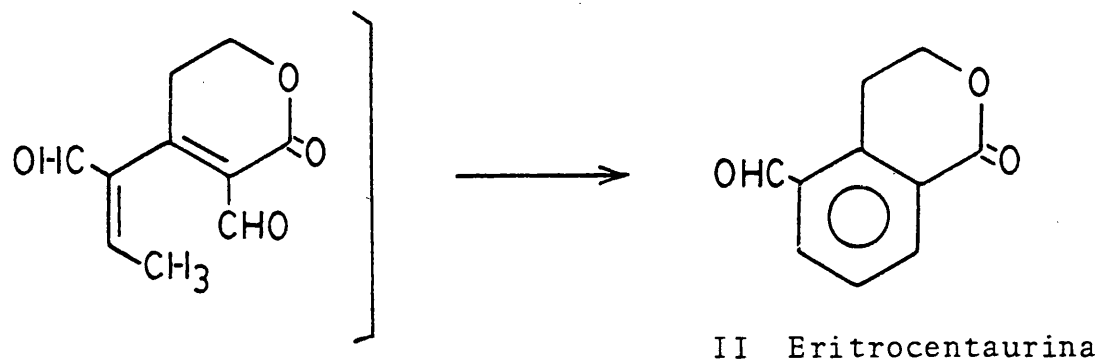
Comentario final

La eritrocenaurina es un producto muy controvertido en los estudios científicos del género *Centaureum*.

Es aislado, por primera vez, en 1927 por Kariyone y col. (95) de *Centaureum umbellatum*, como un producto natural aislado e identificado junto a algunos glicósidos. En 1958, Kubota y col. (96) obtienen pequeñas cantidades de eritrocenaurina a partir de algunos glicósidos como la Swertiamarina por tratamiento de hidrólisis con emulsina. En un principio pensaron que se trataría de la aglicona de este glicósido, pero determinada la estructura de la Swertiamarina, dieron el siguiente proceso de transformación (98):



I Swertiamarina



Más recientemente, en 1979, Bishay y col. (22) obtienen eritrocantaurina con un tratamiento ácido de la Swertiamarina aislada de Centaurium spicatum.

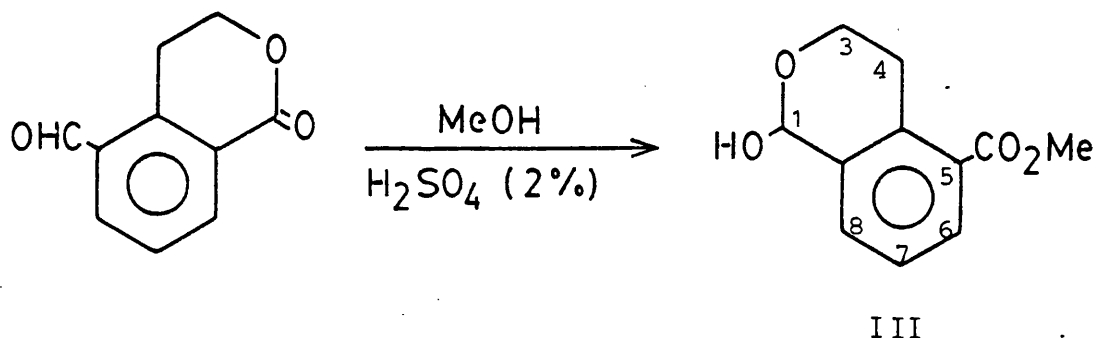
Parece deducirse de todo ello que la eritrocantaurina no es un producto natural, sino un artefacto provocado por la transformación de algunos glicósidos en medio ácido.

En nuestro proceso de aislamiento del compuesto R no ha intervenido el medio ácido (ver parte experimental).

No obstante para asegurar la existencia de la eritrocantaurina como tal en la planta, sometimos dos iridoides patrones (Decentapicrina A y Swertiamarina) al proceso que se sigue en la mancha de Clarck (ver parte experimental pág.259). Ambos glicósidos iridoidales fueron recuperados inalterados, lo que nos permite asegurar que la Eritrocantaurina aislada por nosotros de C. Linarifolium debe ser un producto natural y no un artefacto producido por la hidrólisis de los iridoides presentes en la planta (99 ).

Para completar el estudio de R se procedió a su hidrólisis con metanol y  $H_2SO_4$  al 2% (ver parte experimental, pág. 266). El anillo lactónico se abre, metilándose la parte carboxílica y formándose el hemiacetal entre el 5-formil y la parte alcohólica de la  $\delta$ -lactona, para dar el 1-hidroxi-3,4-dihidro-

1H-2-benzopiran -5-carboxilato de metilo (III), siendo esta la primera vez que se describe este compuesto (99).



5.1.2.a. TRANSFORMACION DE R EN 1-HIDROXI-3,4-DIHIDRO-1H-2-BENZOPIRAN-5-CARBOXILATO DE METILO. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a tratar el compuesto R en medio ácido con MeOH y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, según se describe en la parte experimental pág. 266.

El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de acetona, rindiendo unas agujas blancas de punto de fusión 199-202°C.

Interpretación del espectro IR del derivado de R

El espectro de IR del derivado de R (fig.83 ), muestra las siguientes bandas características:

3040-2840 cm <sup>-1</sup>	tensión C-H olefínica y alifática
1720 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O ester

1590 cm <sup>-1</sup>	vibración C=C de anillo aromático
1460 y 1435 cm <sup>-1</sup>	vibración -CH <sub>2</sub> -
1270 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ésteres
1140 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O alcoholes secundarios y terciarios
970 cm <sup>-1</sup>	tensión C=C antisimétrica
750 cm <sup>-1</sup>	deformación C-H fuera del plano para bencenos 1,2,3-trisustituidos.

El anillo aromático permanece, pero ha desaparecido al carbonilo de aldehído conjugado. Parece ser que la lactona se ha abierto y el carbonilo δ-lactónico conjugado (1730 cm<sup>-1</sup>) ha dado lugar a otro de éster conjugado (1720 cm<sup>-1</sup>).

#### Interpretación del espectro de RMN del derivado de R

El espectro de RMN del derivado de R (fig.84 ), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento(δ)</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.94	1	doble doblete (J <sub>1</sub> =6.7 y J <sub>2</sub> =2.7 Hz)	Hidrógeno X, sistema ABX
7.55-7.35	2	multiplete	Hidrógenos AB, sistema ABX
6.15	1	singlete	-CH <sup>-O</sup> \O
4.23-4.10	2	triplete deformado	O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -
3.86	3	singlete	-CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
3.22	2	doble doblete (J <sub>1</sub> =8.0 y J <sub>2</sub> =4.0 Hz)	-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -Ar

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Presenta una sola agrupación carboxílica (s, 3.86 δ).

Permanece el anillo aromático 1,2,3-trisustituido, con tres hidrógenos aromáticos contiguos que resuenan en forma de un sistema ABX.

Muestra la presencia de un fragmento de molécula  $O-CH_2-CH_2-Ar$ .

Aparece un  $-CH \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow O \end{matrix}$  (s, 6.15  $\delta$ ), como parte nueva e inexistente en R.

Según el IR y el RMN del derivado de R, el grupo  $-CHO$  ha desaparecido y el anillo lactónico se ha abierto para metilarse la parte carbonílica.

Este hidrógeno, tan desapantallado y sin acoplar, que resuena a 6.15  $\delta$ , hace sospechar la obtención del acetal ó hemiacetal del grupo formilo. La ausencia de  $-OH$  en IR y RMN y la presencia de su único metoxilo en el RMN, no permite decidimos por una de las dos alternativas.

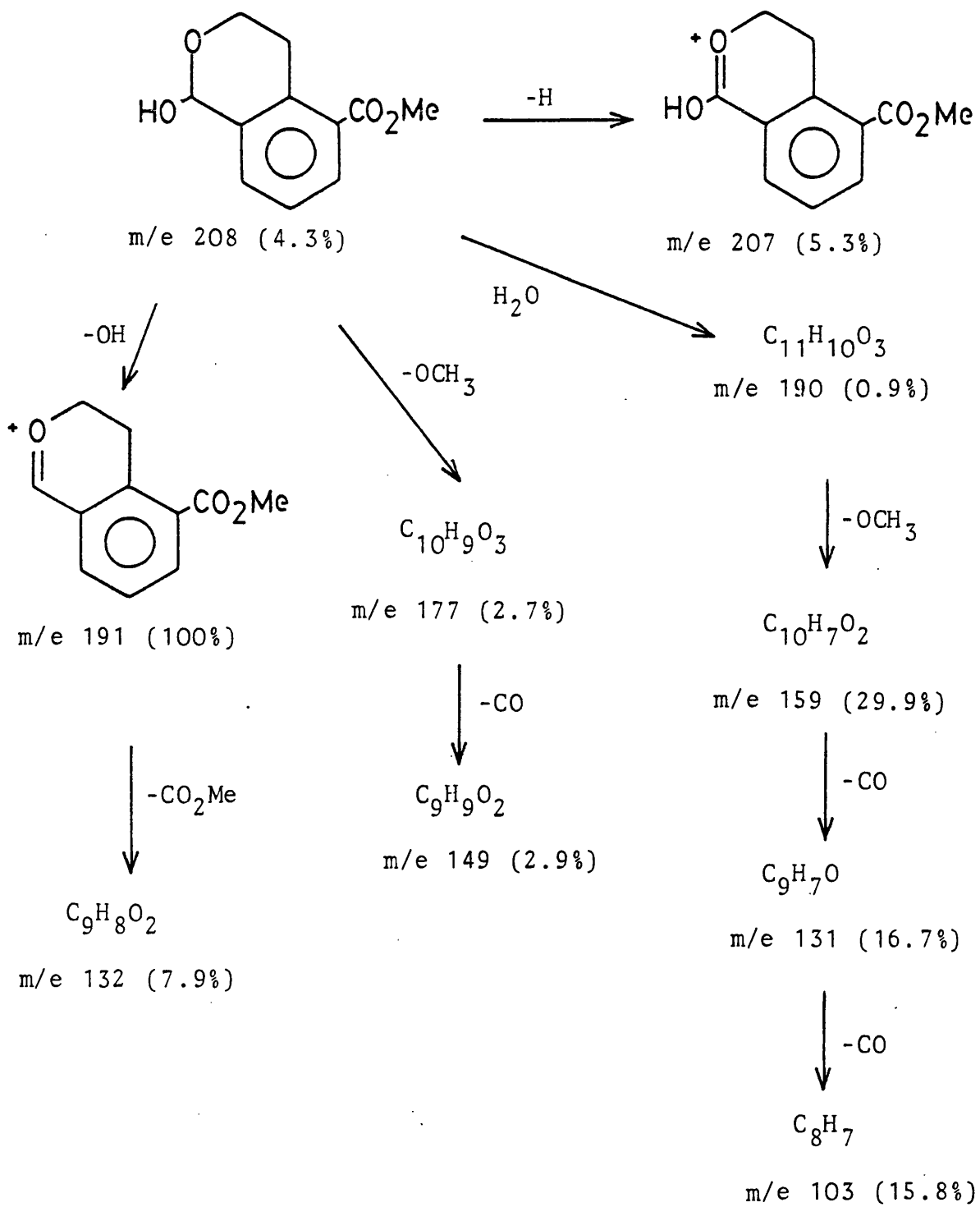
La asignación final de la estructura, para el derivado metilado de R, se obtuvo mediante el estudio de su E.M. de alta resolución, con los datos que a continuación se detallan:

#### Interpretación del espectro de masas del derivado de R

En el espectro de masas de alta resolución (fig.85 ), se deduce para el derivado de R una fórmula molecular de  $C_{11}H_{12}O_4$ , concordante con el metilester-hemiacetal obtenible por apertura de la  $\delta$ -lactona de R.

El conjunto de los picos significativos, son explicables según el siguiente esquema de fragmentación:

FRAGMENTOS PRINCIPALES EN EL EM DEL DERIVADO DE R



Del conjunto de datos espectroscópicos, para el derivado de R, le asignamos a este compuesto la estructura de 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopirán-5-carboxilato de metilo, compuesto descrito por primera vez en la bibliografía (99)

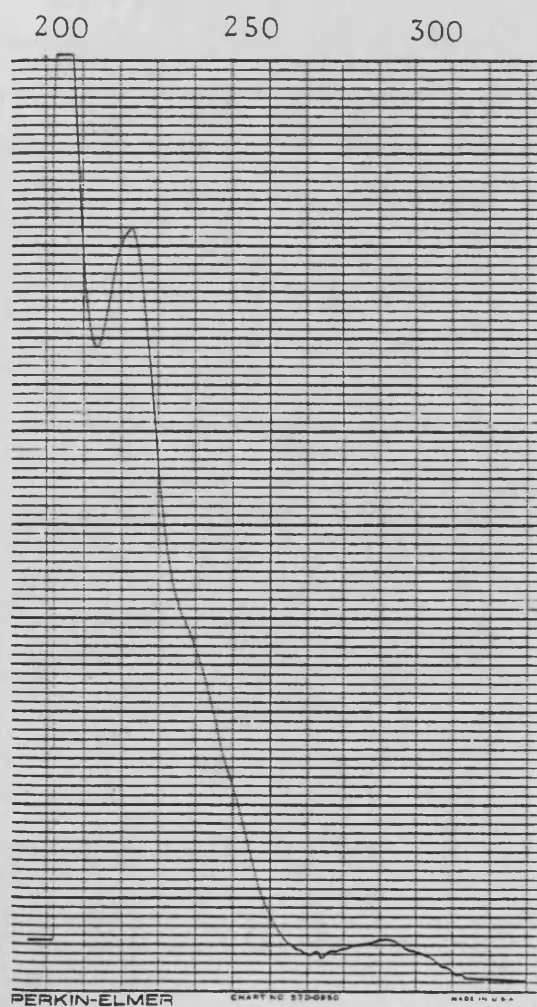
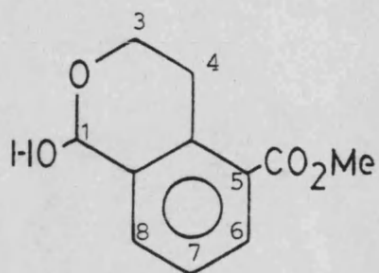


FIGURA 81

Espectro UV de R: eritrocenaurina.





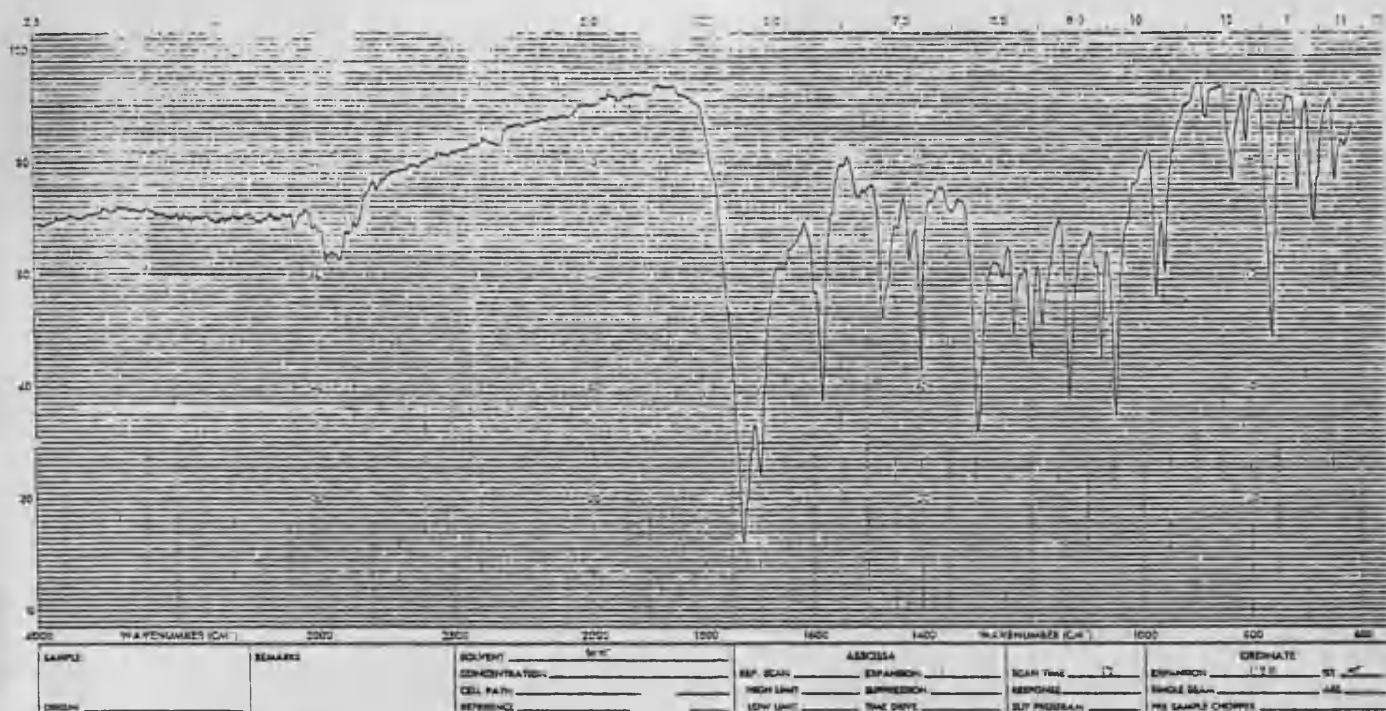


FIGURA 79: Espectro de IR de R: Eritrocentaurina.

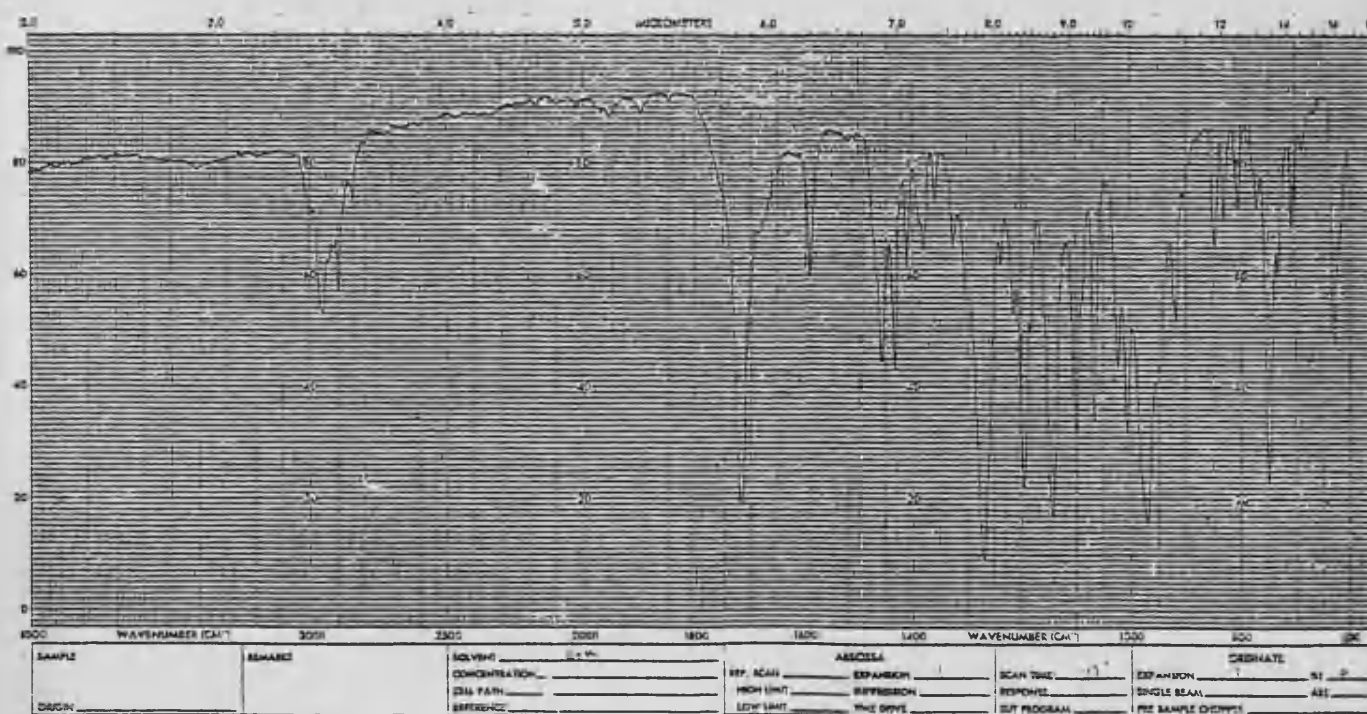


FIGURA 83: Espectro de IR del 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopiran-5-carboxilato de metilo.

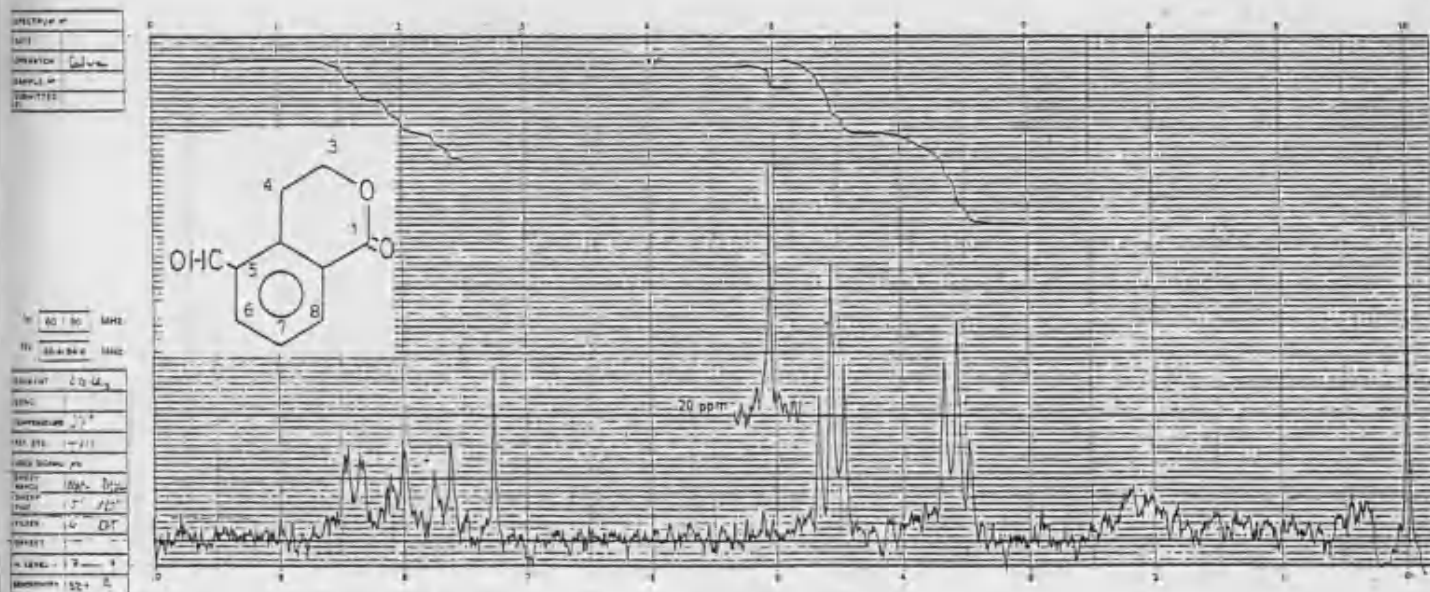


FIGURA 80: Espectro de RMN de R: Eritrocentaurina.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
10.10	1	singlete	-CHO
8.40	1	doble doblete ( $J_1=7.33$ y $J_2=1.33$ Hz)	H-6
8.05	1	doble doblete ( $J_1=7.33$ y $J_2=1.33$ Hz)	H-8
7.62	1	triplete ( $J=7.33$ Hz)	H-7
4.57	2	triplete ( $J=6$ Hz)	2H-3
3.67	2	triplete ( $J=6$ Hz)	2H-4

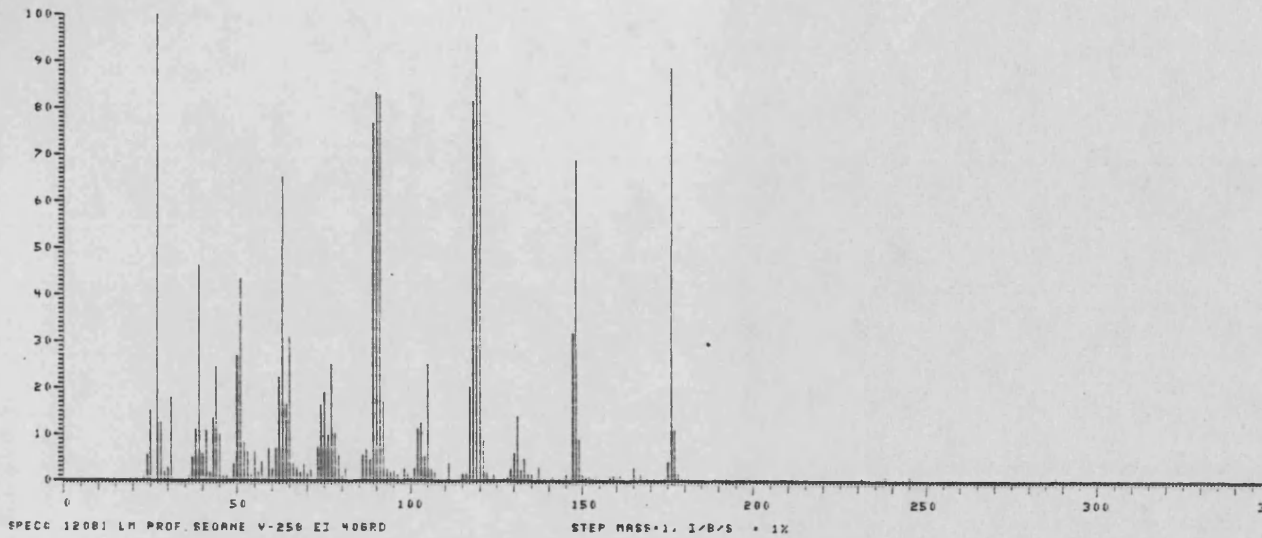


FIGURA 82: Espectro de masas de R: Eritrocentaurina.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	33	0.28%	21.3	72	825	7.17%	59.0	150	167	1.45%	134.0
2	112	0.97%	22.8	73	297	2.58%	60.0	151	161	1.40%	135.0
3	30	0.26%	24.0	74	631	5.48%	61.0	152	327	2.84%	137.0
4	24	0.21%	25.2	75	52	0.45%	61.1	153	101	0.87%	141.0
5	22	0.19%	26.4	76	2567	22.32%	62.0	154	76	0.67%	143.0
6	640	5.56%	24.2	77	40	0.34%	62.1	155	22	0.19%	144.4
7	24	0.21%	25.2	78	7516	65.38%	63.0	156	155	1.34%	145.0
8	22	0.19%	26.4	79	31	0.26%	63.1	157	3675	31.96%	147.0
9	1748	15.20%	25.5	80	1907	16.58%	64.0	158	64	0.56%	146.0
10	14496	100.00%	25.6	81	56	0.48%	64.5	159	66	0.57%	148.2
11	1440	12.52%	27.4	82	22	0.19%	64.7	160	1044	9.07%	144.0
12	27	0.23%	28.2	83	3546	30.84%	65.0	161	170	1.47%	150.0
13	215	1.86%	29.0	84	24	0.20%	65.3	162	105	0.91%	151.0
14	26	0.22%	30.0	85	277	2.40%	65.5	163	91	0.79%	152.0
15	324	2.83%	30.1	86	455	3.95%	66.0	164	64	0.60%	153.0
16	2077	18.06%	31.2	87	337	2.93%	67.0	165	110	0.95%	154.0
17	78	0.67%	31.3	88	222	1.93%	68.0	166	54	0.46%	155.0
18	22	0.19%	32.4	89	422	3.67%	69.1	167	53	0.46%	156.1
19	21	0.18%	33.4	90	194	1.73%	70.1	168	101	0.87%	158.0
20	21	0.18%	33.6	91	282	2.45%	71.1	169	134	1.20%	154.0
21	112	0.97%	35.5	92	220	1.91%	72.5	170	23	0.20%	154.1
22	57	0.49%	36.6	93	232	2.02%	73.1	171	74	0.64%	160.0
23	30	0.26%	36.2	94	126	1.09%	73.5	172	121	1.05%	160.9
24	26	0.22%	36.2	95	1646	14.48%	74.1	173	322	2.80%	165.0
25	57	0.49%	36.6	96	36	0.31%	74.1	174	167	1.45%	167.0
26	33	0.28%	37.2	97	2191	19.05%	75.1	175	58	0.50%	168.0
27	1322	11.49%	37.7	98	1131	9.83%	76.1	176	64	0.55%	169.0
28	57	0.49%	36.6	99	262	2.28%	77.1	177	77	0.67%	171.0
29	5344	46.47%	38.8	100	32	0.27%	77.3	178	27	0.23%	172.0
30	20	0.17%	39.1	101	1174	10.25%	78.1	179	43	0.37%	172.9
31	662	5.75%	39.8	102	652	5.72%	79.1	180	67	0.58%	174.0
32	31	0.27%	40.3	103	137	1.19%	80.1	181	462	4.01%	175.0
33	1255	10.91%	40.6	104	292	2.53%	81.1	182	10230	88.97%	176.0
34	42	0.36%	41.3	105	656	5.70%	86.0	183	1280	11.13%	177.0
35	22	0.19%	41.9	106	777	6.75%	87.0	184	107	0.92%	176.1
36	22	0.19%	42.2	107	46	0.41%	87.1	185	70	0.60%	174.0
37	24	0.20%	42.4	108	520	4.52%	88.0	186	50	0.43%	180.0
38	1566	13.63%	42.4	109	8834	76.83%	89.0	187	77	0.66%	181.0
39	88	0.76%	43.4	110	9546	82.90%	90.0	188	77	0.66%	182.6
40	262	2.28%	43.4	111	9534	82.96%	91.0	189	34	0.29%	183.0
41	45	0.39%	44.0	112	40	0.34%	91.2	190	24	0.21%	182.0
42	480	4.15%	44.5	113	1465	12.78%	92.0	191	25	0.21%	186.0
43	1166	10.14%	45.0	114	245	2.14%	93.0	192	27	0.23%	187.0
44	136	1.18%	45.5	115	24	0.21%	93.1	193	22	0.19%	187.4
45	83	0.72%	46.0	116	215	1.86%	94.0	194	42	0.36%	189.0
46	24	0.20%	46.3	117	240	2.08%	95.0	195	24	0.20%	190.0
47	134	1.16%	46.7	118	153	1.33%	96.0	196	24	0.20%	190.0
48	66	0.57%	47.0	119	316	2.74%	98.0	197	24	0.20%	190.0
49	22	0.19%	47.5	120	163	1.41%	99.0	198	24	0.20%	190.0
50	21	0.18%	48.6	121	40	0.34%	99.3	199	24	0.20%	190.0
51	41	0.35%	49.1	122	74	0.64%	100.0	200	24	0.20%	190.0
52	30	0.26%	49.1	123	31	0.26%	100.3	201	24	0.20%	190.0
53	317	2.75%	50.1	124	300	2.60%	101.1	202	24	0.20%	190.0
54	84	0.73%	50.6	125	30	0.26%	101.2	203	24	0.20%	190.0
55	5017	43.63%	51.1	126	1302	11.37%	102.1	204	24	0.20%	190.0
56	24	0.20%	51.7	127	1452	12.62%	103.1	205	24	0.20%	190.0
57	164	1.42%	51.9	128	615	5.34%	104.1	206	24	0.20%	190.0
58	977	8.49%	52.1	129	2546	22.18%	105.1	207	24	0.20%	190.0
59	60	0.52%	52.1	130	204	1.78%	106.1	208	24	0.20%	190.0
60	22	0.19%	52.1	131	207	1.80%	107.1	209	24	0.20%	190.0
61	61	0.52%	52.1	132	207	1.80%	108.1	210	24	0.20%	190.0
62	737	6.40%	53.1	133	192	1.66%	109.1	211	24	0.20%	190.0
63	146	1.26%	54.1	134	187	1.62%	110.1	212	24	0.20%	190.0
64	723	6.28%	55.1	135	234	2.03%	111.1	213	24	0.20%	190.0
65	37	0.32%	55.3	136	4363	37.92%	112.1	214	24	0.20%	190.0
66	24	0.20%	55.5	137	11054	96.13%	113.1	215	24	0.20%	190.0
67	212	1.84%	56.1	138	4463	38.82%	114.1	216	24	0.20%	190.0
68	23	0.20%	56.4	139	1027	8.94%	115.1	217	24	0.20%	190.0
69	43	0.37%	56.4	140	1027	8.94%	116.1	218	24	0.20%	190.0
70	43	0.37%	56.4	141	1027	8.94%	117.1	219	24	0.20%	190.0
71	246	2.13%	56.5	142	1027	8.94%	118.1	220	24	0.20%	190.0

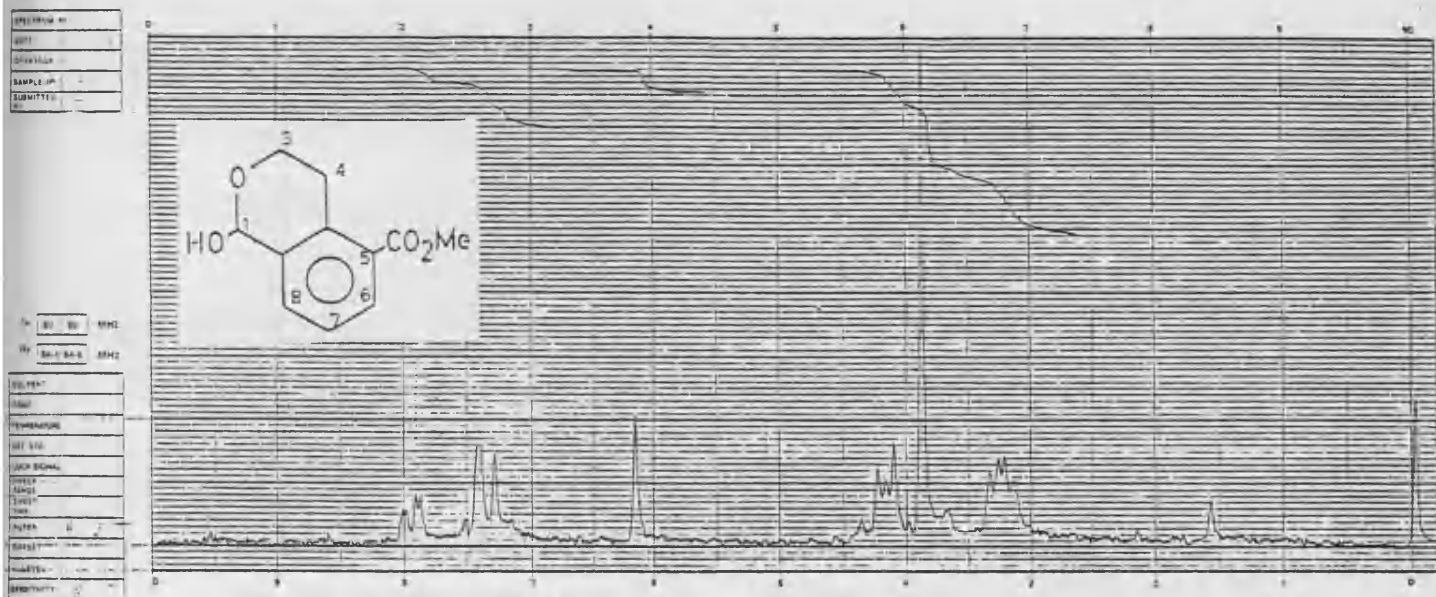


FIGURA 84: Espectro de RMN del 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopiran-5-carboxilato de metilo.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
7.94	1	doble doblete ( $J_1=6.7$ y $J_2=2.7$ Hz)	H-6
7.55-7.35	2	multiplete	H-7 y H-8
6.15	1	singlete	H-1
4.23-4.10	2	triplete deformado	2H-3
3.86	3	singlete	-CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
3.22	2	doble doblete ( $J_1=8.0$ y $J_2=4.0$ Hz)	2H-4





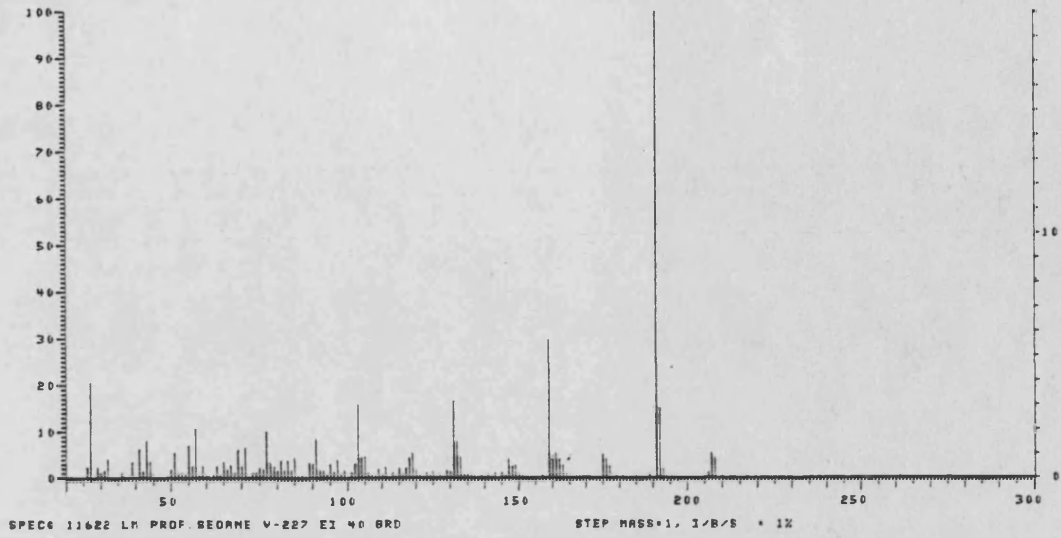


FIGURA 85: Espectro de masas del 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopiran-5-carboxilato de metilo.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	614	2.432X	26.0	72	2525	10.012X	77.0	95	0.372X	141.9	
2	5190	20.572X	27.5	73	825	3.282X	76.0	151	266	1.122X	142.9
3	20	0.072X	28.2	74	640	2.532X	74.0	152	287	1.122X	143.9
4	591	2.342X	28.6	75	76	0.302X	74.5	153	175	0.692X	145.0
5	30	0.112X	28.8	76	407	1.612X	80.0	154	1030	4.082X	146.9
6	291	1.152X	29.9	77	990	3.922X	81.0	155	691	2.722X	147.9
7	31	0.122X	30.5	78	65	0.252X	15.5	156	733	2.902X	148.6
8	414	1.642X	31.0	79	424	1.742X	82.0	157	309	1.222X	149.9
9	1065	4.222X	32.1	80	1002	3.972X	82.0	158	131	0.512X	151.0
10	23	0.092X	34.2	81	396	1.562X	84.0	159	98	0.382X	152.0
11	38	0.152X	35.3	82	32	0.122X	84.1	160	107	0.422X	153.0
12	275	1.092X	36.3	83	1115	4.422X	85.0	161	72	0.282X	154.0
13	90	0.352X	37.4	84	28	0.112X	85.1	162	121	0.472X	155.0
14	156	0.612X	38.4	85	87	0.342X	86.0	163	40	0.152X	155.9
15	25	0.092X	39.4	86	136	0.522X	87.0	164	148	0.582X	156.9
16	924	3.682X	39.4	87	117	0.462X	88.0	165	7543	29.902X	158.0
17	164	0.652X	40.4	88	24	0.112X	88.2	166	1017	4.032X	159.9
18	1617	6.412X	41.4	89	872	3.452X	89.0	167	1344	5.322X	161.9
19	324	1.282X	42.4	90	756	3.002X	90.0	168	1034	4.092X	161.9
20	2033	8.052X	43.4	91	2115	8.382X	91.0	169	714	2.852X	162.0
21	895	3.542X	44.2	92	20	0.072X	91.1	170	279	1.102X	162.0
22	180	0.712X	44.3	93	487	1.932X	92.0	171	124	0.492X	164.9
23	55	0.212X	44.8	94	412	1.632X	92.0	172	60	0.232X	165.9
24	296	1.152X	45.2	95	193	0.762X	94.0	173	92	0.362X	166.9
25	35	0.132X	45.2	96	25	0.092X	94.4	174	86	0.342X	167.9
26	22	0.082X	46.2	97	771	3.052X	95.0	175	108	0.422X	169.0
27	33	0.132X	47.1	98	166	0.652X	95.4	176	86	0.342X	170.9
28	67	0.262X	48.0	99	347	1.372X	96.0	177	47	0.182X	171.9
29	467	1.932X	50.5	100	982	3.892X	97.0	178	1266	5.012X	174.8
30	20	0.072X	50.5	101	844	0.962X	98.0	179	1022	4.052X	175.8
31	1404	5.562X	51.0	102	434	1.722X	99.0	180	682	2.702X	176.8
32	136	0.542X	51.0	103	47	0.182X	99.4	181	154	0.612X	178.9
33	291	1.152X	52.0	104	280	1.112X	100.9	182	78	0.302X	181.0
34	311	1.232X	53.0	105	777	3.082X	101.9	183	65	0.252X	182.0
35	195	0.772X	54.1	106	3977	15.762X	102.9	184	77	0.302X	183.0
36	1805	7.152X	55.1	107	1116	4.422X	103.9	185	66	0.262X	185.0
37	34	0.132X	55.1	108	23	0.132X	104.0	186	60	0.232X	187.0
38	643	2.542X	56.1	109	1170	4.632X	104.9	187	239	0.942X	188.9
39	2724	10.612X	57.1	110	21	0.082X	105.1	188	2524	10.002X	190.9
40	34	0.132X	57.1	111	21	0.082X	105.4	189	3796	15.042X	191.9
41	182	0.722X	58.1	112	218	0.862X	107.0	190	464	1.822X	192.9
42	20	0.072X	58.1	113	137	0.542X	108.0	191	101	0.402X	193.9
43	24	0.112X	58.5	114	472	1.872X	109.0	192	57	0.222X	196.0
44	64	0.252X	59.0	115	246	0.972X	110.0	193	62	0.242X	197.0
45	151	0.592X	60.0	116	20	0.072X	110.1	194	27	0.102X	198.0
46	28	0.112X	60.1	117	623	2.462X	111.6	195	23	0.132X	199.0
47	67	0.262X	61.0	118	307	1.212X	113.0	196	42	0.162X	200.9
48	197	0.782X	62.0	119	71	0.282X	113.9	197	23	0.092X	201.9
49	33	0.132X	62.2	120	553	2.192X	114.9	198	54	0.212X	202.9
50	673	2.662X	62.8	121	197	0.772X	115.9	199	55	0.212X	203.6
51	175	0.692X	64.0	122	531	2.102X	116.9	200	71	0.282X	204.0
52	40	0.152X	64.5	123	1117	4.422X	117.9	201	276	1.092X	205.8
53	892	3.532X	65.0	124	1361	5.472X	118.9	202	1327	5.262X	206.8
54	806	3.222X	65.5	125	32	0.122X	119.1	203	1042	4.382X	207.6
55	456	1.812X	66.0	126	503	1.992X	119.9	204	130	0.512X	211.0
56	34	0.132X	66.5	127	232	0.912X	120.9	205	20	0.072X	211.8
57	741	2.932X	67.0	128	314	1.212X	122.0				
58	289	1.142X	67.0	129	146	0.572X	124.0				
59	1543	6.112X	69.1	130	335	1.322X	125.0				
60	632	2.502X	70.1	131	20	0.072X	125.2				
61	1692	6.702X	71.1	132	116	0.462X	126.0				
62	31	0.122X	71.1	133	146	0.572X	127.0				
63	117	0.462X	72.1	134	120	0.472X	127.4				
64	43	0.162X	72.5	135	437	1.732X	128.9				
65	233	0.912X	73.5	136	376	1.492X	129.4				
66	24	0.112X	73.5	137	4214	16.722X	130.9				
67	296	1.172X	74.0	138	1964	7.882X	131.9				
68	532	2.102X	75.0	139	1165	4.612X	132.9				
69	31	0.112X	75.0	140	36	0.152X	133.1				
70	484	1.932X	76.0	141	217	0.862X	133.9				
71	20	0.072X	76.3	142	237	0.932X	134.9				
				143	24	0.102X	135.2				
				144	241	0.952X	135.9				
				145	216	0.852X	137.0				
				146	46	0.182X	138.0				
				147	184	0.712X	139.0				
				148	103	0.402X	140.0				
				149	213	0.842X	141.0				

5.1.3. ESTUDIO DE LA FRACCION  $X_{VIII}$ . COMPUESTO K: 1,3-DIHIDROXI-  
5,6-DIMETOXIXANTONA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De la reunión de fracciones 28-41, eluidas de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (60:40), se obtiene la agrupación  $X_{VIII}$ .

Esta agrupación es sometida a nueva recromatografía de columna, sobre sílica-gel. De la reunión de fracciones 44-73, eluidas de la columna con hexano-acetato de etilo (85:15), se obtiene el compuesto K con mayor pureza.

Muestra en c.c.f. una sola mancha, que adquiere color amarillo cuando la placa se somete a vapores de amoniaco y cuando se revela con  $H_2SO_4$  al 50%.

Por cristalización de acetona, se obtienen unos cristales amarillos, de punto de fusión 255-257°C.

Interpretación del espectro de IR de K

El espectro de IR del compuesto K (fig. 86), presenta las siguientes bandas características:

3400 $cm^{-1}$	tensión O-H
3020-2840 $cm^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1655 $cm^{-1}$	tensión C=O de carbonilo de xantona
1605, 1580 y 1510 $cm^{-1}$	vibración C=C del anillo aromático
1220 $cm^{-1}$	deformación C-O-C del puente etéreo de los dos anillos bencénicos de la xantona (38).
1160 $cm^{-1}$	vibración C-O-C del grupo C-O- $CH_3$
1070 $cm^{-1}$	tensión Ar-O-C simétrica

El espectro de IR y la coloración en c.c.f. indican la presencia de un núcleo de xantona. La aparición de una banda hidroxílica a 3400  $cm^{-1}$ , indica la existencia de grupos hidroxilo en posiciones distintas a  $C_1$  y  $C_8$  (38).

### Interpretación del espectro de RMN de K

El espectro de RMN del compuesto K (fig.87 ), realizado en  $CD_3COCD_3$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
13.00	1	singlete	-OH
7.85	1	doblete (J=8.7 Hz)	1H-Ar acoplado en orto
7.02	1	doblete (J=8.7 Hz)	1H-Ar acoplado en orto
6.72	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
6.33	1	doblete (J=2 Hz)	1H-Ar acoplado en meta
4.01	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>
3.92	3	singlete	-OCH <sub>3</sub>

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un grupo hidroxilo, que se situará en  $C_1$  ó  $C_8$ , como lo muestra su resonancia a campo tan bajo ( $\delta=13$  ppm), característico de -OH que forman puentes de hidrógeno con el carbonilo en orto (68).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en orto (J=8.7 Hz), que situaremos en uno de los anillos xantónicos en posiciones  $C_8$  y  $C_7$ , ya que el hidrógeno situado en  $C_8$  resuena a campo bastante bajo ( $\delta \sim 8$  ppm) (71).

Posee dos hidrógenos aromáticos acoplados en meta (J=2 Hz), que situaremos en el otro anillo. Debido a que ya tenemos un hidroxilo en  $C_1$ , se situaran en posiciones  $C_2$  y  $C_4$ , lo que está de acuerdo con los valores del desplazamiento químico para esas posiciones ( $\delta$  6.72 y 6.33 ppm).

De las tres posiciones restantes, asequibles de sustitución, dos estarán ocupadas por grupos metoxilo y la otra deberá ser un grupo hidroxilo, detectado en el espectro de infrarrojos, y que no aparece en este espectro por interconversión con el agua que acompaña el disolvente utilizado para obtener su registro (ver pág. 45 ) (69,70).

Interpretación de los espectros de UV de K

La localización de los hidroxilos de K, se realiza por el estudio de sus espectros de UV, en distintos medios, con valores que se recogen a continuación:

	$\lambda_{\max}$ nm (log $\epsilon$ )	
MeOH	243(3.78)	282(3.37) 312(3.48)
NaOMe	240 262	283 373
NaOAc	241 265	284 365
NaOAc+H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	243	282 312
AlCl <sub>3</sub>	254 262(h)	283(h) 344 390(h)
AlCl <sub>3</sub> +HCl	254 262(h)	283(h) 344 390(h)

- Espectro en MeOH

El espectro del compuesto K en metanol (fig. 88), presenta tres bandas, características de un anillo xantónico. Corresponde al espectro de UV característico de xantonas 1,3,5,6-tetraoxigenadas (ver tabla I), lo que confirma la sustitución que habíamos deducido de su espectro de RMN.

- Espectro en NaOMe y NaOAc

La modificación del espectro original, tras añadir NaOMe (fig. 88), indica la existencia de grupos hidroxilo en la molécula. Al modificarse, también, al añadir NaOAc (fig. 89) a la disolución original, indica la existencia de hidroxilos ácidos (posiciones C<sub>3</sub> y/o C<sub>6</sub>). Dado que el espectro en NaOMe y NaOAc no son superponibles (fig. 88, 89), se trata de una 1,3-dihidroxixantona y no de una 1,6-dihidroxixantona, donde



ambos espectros serían idénticos.

El espectro no se modifica con el tiempo, por lo que no existen agrupaciones orto-hidroxílicas.

- Espectro en  $\text{AlCl}_3$  y  $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$

Al añadir  $\text{AlCl}_3$  (fig.90 ), se produce una modificación con respecto al registrado en metanol, indicando la formación de complejos, característicos de grupos hidroxilo en  $\text{C}_1$  y/o  $\text{C}_8$  ó agrupaciones orto-hidroxílicas.

Al añadir  $\text{HCl}$ , el espectro no sufre modificación, lo que descarta, de nuevo, las agrupaciones orto-hidroxílicas, ya que los complejos que forman con  $\text{AlCl}_3$  son inestables en medio ácido.

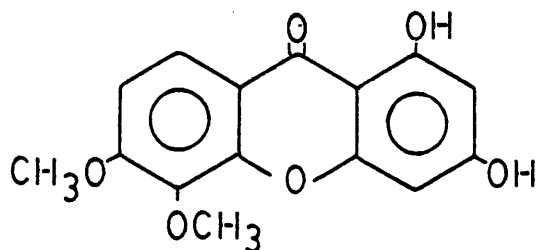
Interpretación del espectro de masas de K

En el espectro de masas del compuesto K (fig.91 ), el ión molecular es concordante con la fórmula molecular de  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_6$ , indicando que K es una dihidroxi-dimetoxixantona.

El resto de los picos, confirma para K, la estructura de una xantona polioxigenada:

<u>m/e</u>	<u>Intensidad relativa (%)</u>	<u>Asignación</u>
288	100	$\text{M}^+$
273	17.8	$\text{M}-\text{CH}_3$
259	20.0	$\text{M}-\text{CHO}$
258	9.6	$\text{M}-\text{CH}_2\text{O}$
245	52.0	$\text{M}-\text{CH}_3-\text{CO}$
244	10.9	$\text{M}-\text{CH}_3-\text{CHO}$
230	8.2	$\text{M}-2 \text{CH}_3-\text{CO}$
217	22.6	$\text{M}-\text{CH}_3-2 \text{CO}$
202	9.6	$\text{M}-2 \text{CH}_3-2 \text{CO}$

Del conjunto de datos físicos y espectroscópicos, deducimos para K, la estructura de 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona, aislada en varias ocasiones, y cuyos datos resultaron del todo concordantes con los dados por la bibliografía (100).



K 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona

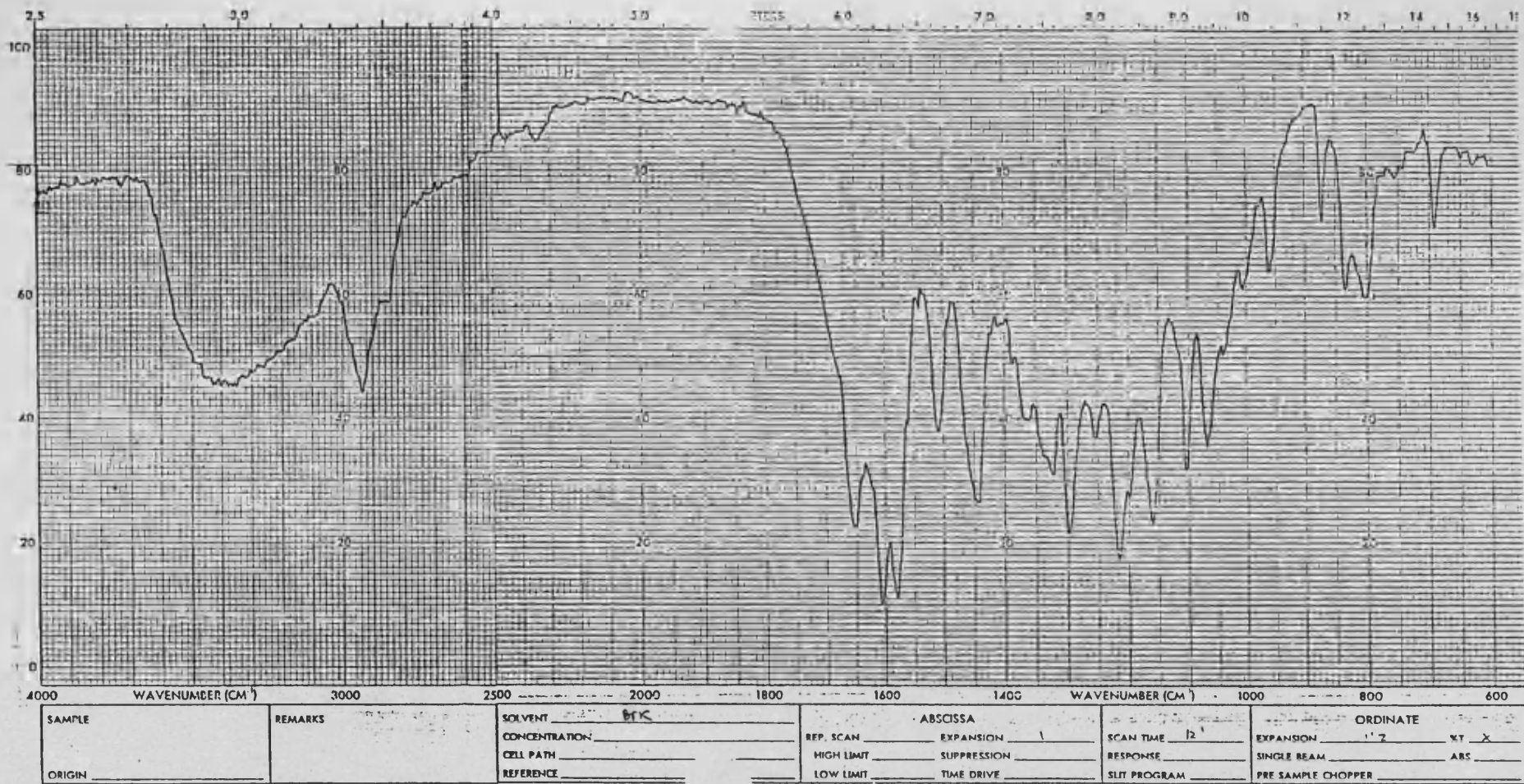


FIGURA 86: Espectro de IR de K: 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona.

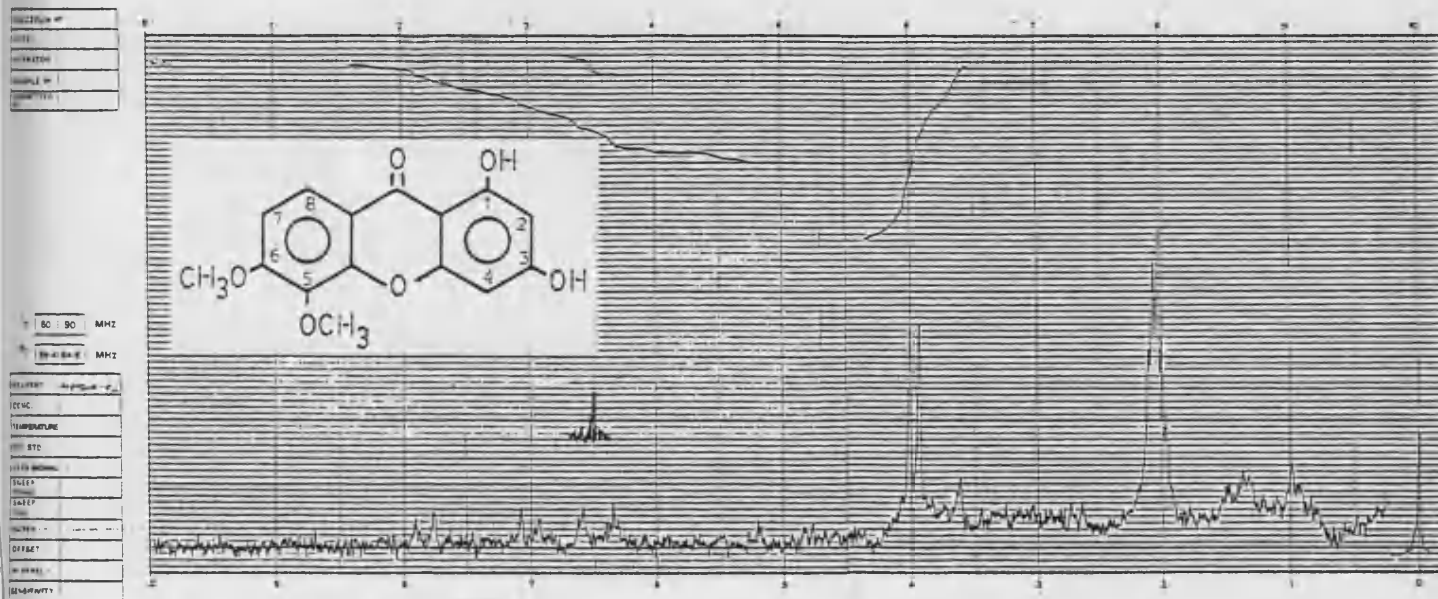


FIGURA 87: Espectro de RMN de K: 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona.

<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
13.00	1	singlete	OH-1
7.85	1	doblete (J=8.7 Hz)	H-8
7.02	1	doblete (J=8.7 Hz)	H-7
6.72	1	doblete (J=2 Hz)	H-4
6.33	1	doblete (J=2 Hz)	H-2
4.01	3	singlete	2-OCH <sub>3</sub>
3.92	3	singlete	

FIGURA 88

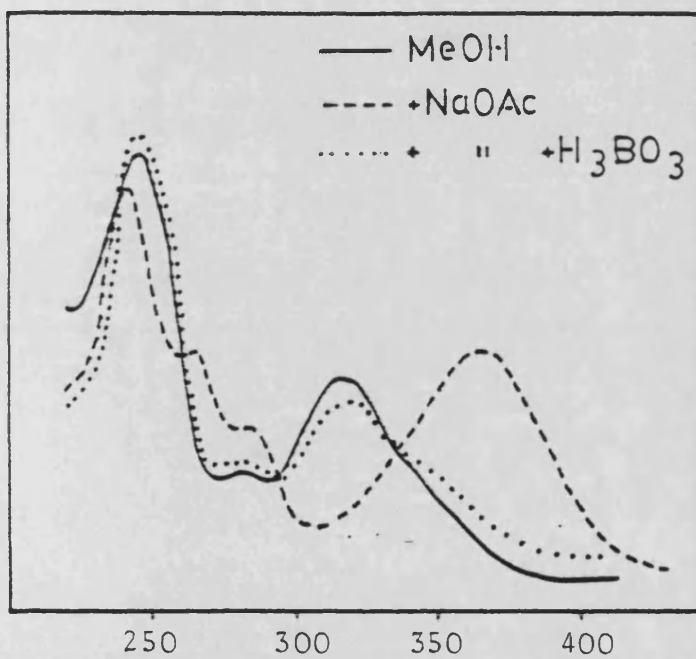
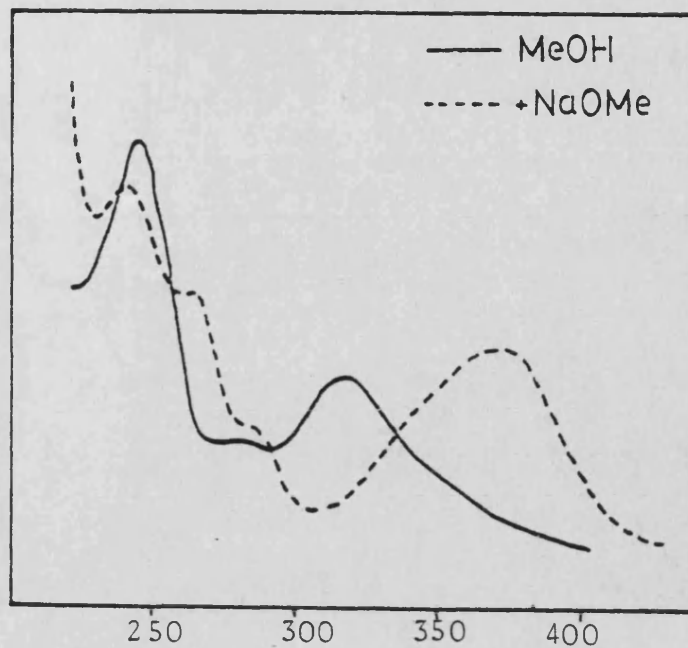
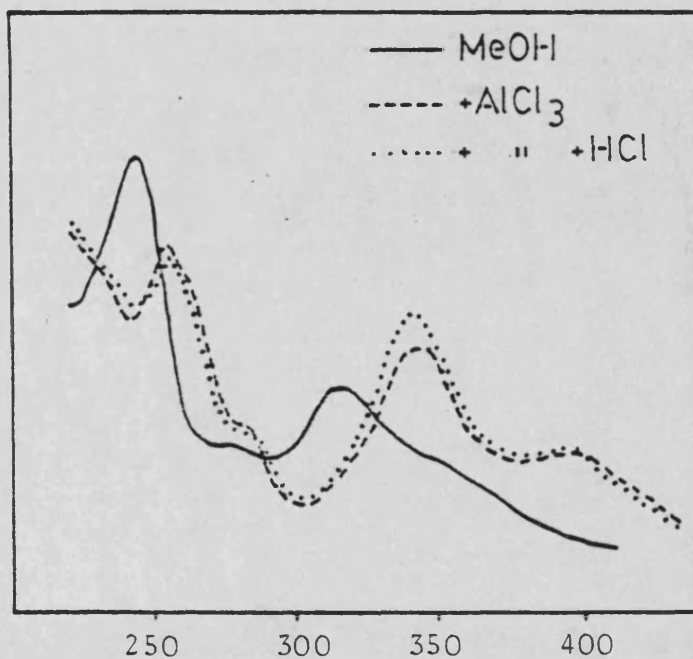


FIGURA 89

Espectros de U.V. de K:  
1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxi-  
xantona.

FIGURA 90



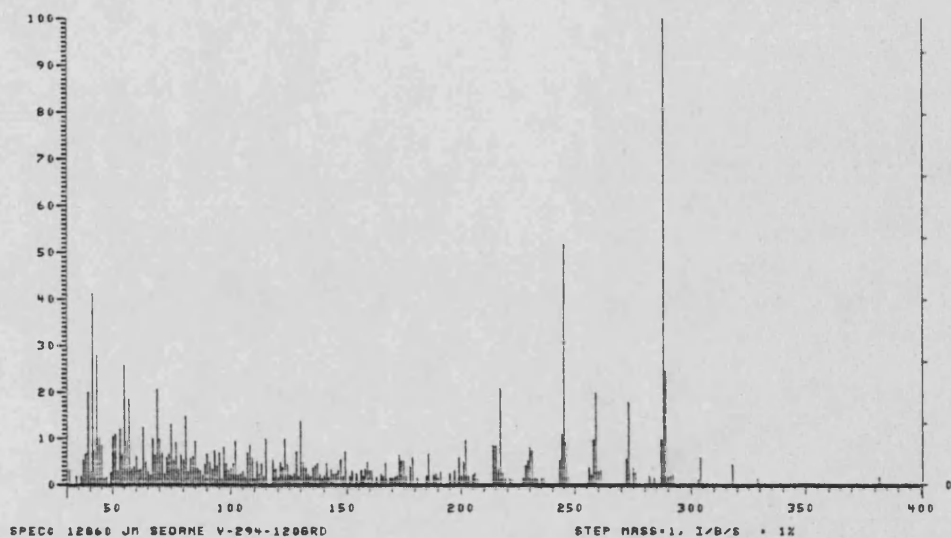


FIGURA 91: Espectro de masas de K: 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	83	3.34%	31.2	22	162	6.52%	90.1	150	86	3.46%	158.1	228	40	1.61%	296.1
2	45	1.81%	33.6	72	124	4.99%	91.1	151	118	4.75%	159.1	229	44	1.77%	297.1
3	44	1.77%	36.0	79	182	7.22%	92.1	152	79	3.18%	160.1	230	51	2.05%	298.1
4	134	5.40%	38.1	85	187	7.49%	93.1	153	79	3.18%	161.1	231	30	1.20%	303.1
5	163	6.56%	38.1	76	108	4.28%	93.5	154	39	1.57%	163.1	232	143	5.76%	304.0
6	501	20.19%	39.1	77	164	6.64%	94.1	155	56	2.25%	165.1	233	111	4.47%	318.1
7	485	19.45%	40.1	76	163	6.52%	95.1	156	45	1.81%	166.1	234	35	1.41%	329.2
8	9	0.37%	40.2	79	35	1.39%	96.1	157	113	4.55%	167.1	235	31	1.24%	332.0
9	10	0.41%	41.1	80	204	8.22%	97.1	158	35	1.41%	169.1	236	41	1.65%	332.0
10	1024	41.27%	41.1	81	113	4.55%	98.0	159	33	1.33%	169.2	237	30	1.20%	424.4
11	184	7.41%	42.1	82	97	3.88%	98.1	160	32	1.28%	171.3				
12	695	28.01%	43.1	83	90	3.62%	99.2	161	40	1.61%	171.1				
13	250	10.07%	44.1	84	85	3.40%	100.1	162	45	1.81%	172.1				
14	153	6.16%	44.2	85	113	4.55%	101.1	163	156	6.28%	173.1				
15	63	2.53%	44.3	86	113	4.55%	101.6	164	38	1.53%	173.2				
16	215	8.66%	45.1	87	233	9.39%	102.1	165	130	5.23%	174.1				
17	33	1.33%	45.1	88	46	1.81%	103.1	166	128	5.15%	175.1				
18	16	0.65%	47.1	89	16	0.65%	103.6	167	46	1.81%	176.1				
19	19	0.77%	49.1	90	55	2.21%	104.1	168	96	3.88%	178.1				
20	47	1.89%	49.6	91	45	1.81%	105.1	169	144	5.80%	179.2				
21	256	10.24%	50.1	92	45	1.81%	106.1	170	34	1.39%	181.1				
22	268	10.71%	51.1	93	168	6.77%	107.1	171	47	1.89%	181.2				
23	70	2.82%	51.2	94	215	8.66%	108.1	172	166	6.69%	181.1				
24	58	2.33%	51.6	95	146	5.80%	108.6	173	507	20.10%	188.1				
25	3	0.13%	52.1	96	14	0.57%	109.1	174	357	14.29%	189.1				
26	301	12.15%	53.1	97	38	1.53%	109.6	175	36	1.45%	191.1				
27	162	6.52%	54.1	98	33	1.33%	110.2	176	71	2.86%	191.1				
28	64	2.57%	55.1	99	126	5.08%	111.2	177	57	2.29%	195.1				
29	23	0.94%	55.7	100	146	5.80%	112.2	178	72	2.86%	197.1				
30	459	18.50%	57.1	101	114	4.59%	115.2	179	148	5.96%	199.1				
31	82	3.30%	58.1	102	145	5.80%	113.6	180	44	1.77%	200.1				
32	86	3.44%	59.0	103	28	1.14%	115.1	181	162	6.49%	201.1				
33	15	0.59%	61.0	104	19	0.77%	118.1	182	9	0.37%	202.1				
34	81	3.30%	62.0	105	86	3.44%	119.1	183	40	1.61%	203.2				
35	81	3.30%	62.0	106	42	1.69%	120.1	184	52	2.09%	205.1				
36	310	12.49%	63.0	107	115	4.75%	121.1	185	65	2.61%	206.1				
37	50	2.01%	63.5	108	44	1.77%	121.6	186	36	1.45%	207.0				
38	60	2.45%	64.0	109	95	3.88%	122.1	187	206	8.30%	214.0				
39	123	4.97%	64.1	110	61	2.45%	122.7	188	206	8.30%	215.1				
40	16	0.65%	64.5	111	246	9.91%	123.2	189	65	2.61%	215.3				
41	71	2.86%	65.1	112	61	2.45%	123.5	190	66	2.61%	216.1				
42	54	2.19%	66.1	113	108	4.28%	124.3	191	517	20.83%	217.1				
43	245	9.83%	66.6	114	55	2.19%	125.5	192	67	2.77%	217.2				
44	136	5.44%	67.1	115	45	1.81%	126.5	193	67	2.77%	218.1				
45	160	6.44%	68.1	116	44	1.77%	127.1	194	32	1.28%	219.0				
46	511	20.59%	69.0	117	57	2.21%	127.3	195	34	1.39%	221.2				
47	480	19.34%	69.1	118	174	7.01%	128.2	196	31	1.24%	222.1				
48	243	9.79%	70.1	119	44	1.77%	129.2	197	34	1.39%	223.2				
49	173	6.97%	71.1	120	344	13.86%	130.2	198	101	4.07%	228.1				
50	57	2.33%	72.1	121	97	3.88%	130.6	199	127	5.11%	229.1				
51	144	5.80%	73.1	122	125	5.08%	131.2	200	203	8.16%	230.1				
52	164	6.51%	74.1	123	82	3.30%	132.1	201	180	7.25%	231.1				
53	324	12.84%	75.1	124	60	2.45%	133.3	202	37	1.49%	232.3				
54	228	9.16%	76.1	125	96	3.88%	135.2	203	37	1.49%	233.3				
55	228	9.16%	77.1	126	96	3.88%	135.9	204	37	1.49%	235.4				
56	64	2.57%	78.1	127	86	3.44%	135.3	205	33	1.33%	236.1				
57	60	2.45%	78.6	128	105	4.28%	136.2	206	125	5.03%	243.1				
58	161	6.44%	79.1	129	114	4.75%	137.2	207	107	4.28%	244.1				
59	63	2.53%	80.0	130	57	2.21%	138.5	208	1204	51.95%	245.1				
60	133	5.33%	81.1	131	34	1.39%	139.3	209	224	9.02%	246.0				
61	368	14.84%	81.1	132	112	4.59%	140.3	210	45	1.81%	247.2				
62	71	2.86%	82.1	133	38	1.53%	142.2	212	53	2.13%	257.1				
63	140	5.64%	83.1	135	63	2.53%	143.3	213	234	9.63%	258.0				
64	150	6.06%	84.1	136	35	1.39%	144.3	215	74	3.01%	259.0				
65	66	2.66%	85.1	138	60	2.45%	145.1	216	75	3.02%	261.0				
66	196	7.84%	86.1	139	40	1.61%	145.1	217	134	5.40%	272.5				
67	69	2.77%	87.1	140	35	1.39%	146.1	218	40	1.61%	272.2				
68	52	2.09%	88.1	141	31	1.24%	146.3	219	441	17.77%	273.0				
69	70	2.82%	89.1	142	125	5.08%	147.1	220	92	3.76%	275.1				
70	109	4.36%	90.1	143	17	0.65%	148.1	221	40	1.61%	276.6				
71				144	45	1.81%	148.3	222	41	1.65%	277.5				

5.1.4. ESTUDIO DE LA FRACCION  $GI_I$ : DECENTAPICRINA A. ANALISIS  
ESPECTROSCOPICO.

De las fracciones 83-90, eluidas de la columna cromatográfica, con acetato de etilo-metanol (90:10), se obtiene la agrupación  $GI_I$ .

Muestra una sola mancha por c.c.f., y por cristalización de acetona, rinde unos cristales blancos, de punto de fusión 252-255°C y poder rotatorio  $\{\alpha\}_D^{18.5} = -177.42$  (MeOH).

Interpretación del espectro de IR de  $GI_I$

El espectro de IR de  $GI_I$  (fig.92 ), muestra las siguientes bandas características:

3560-3080 $cm^{-1}$ (muy intensa)	tensión O-H
3020-2850 $cm^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1710 y 1690 $cm^{-1}$	tensión C=O $\delta$ -lactona conjugada y ester benzoico.
1620 $cm^{-1}$	vibración C=C de anillo aromático
1455 $cm^{-1}$	vibración -CH <sub>2</sub> -
1410 $cm^{-1}$	deformación C=C-H en el plano
1280, 1240 y 1205 $cm^{-1}$	tensión C-O ésteres
1090 y 1065 $cm^{-1}$	tensión C-O alcohol secundario
1040 $cm^{-1}$	vibración de sistemas cíclicos
995 y 925 $cm^{-1}$	deformación C-H grupos vinilo
840 $cm^{-1}$	deformación -CH=C fuera del plano
900 y 755 $cm^{-1}$	deformación C-H fuera del plano para bencenos meta-disustituidos.

Es un espectro característico de un compuesto glicosidado, con una fuerte absorción hidroxílica (3560-3080 y 1090- -1060  $cm^{-1}$ ). Presenta dos bandas carbonílicas debidas posiblemente a una  $\delta$ -lactona conjugada y un ester benzoico. Muestra bandas aromáticas y olefínicas, con la presencia de un grupo vinilo (dos bandas a 995 y 925  $cm^{-1}$ ).

Interpretación del espectro de RMN de GI<sub>I</sub>

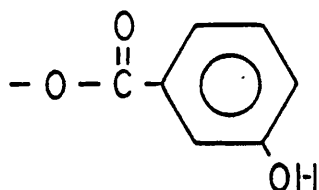
El espectro de RMN de GI<sub>I</sub> (fig.93 ), realizado en CD<sub>3</sub>OD, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.65-7.40	3	multiplete	3H-Ar
7.32	1	doblete (J=2 Hz)	$\text{>C=CH-O}$
7.10	1	triplete (J=6.7 Hz)	1H-Ar doblemente acop.en orto
5.60	1	doblete (J=2 Hz)	$\begin{array}{l} \text{O} \\ \diagdown \\ \text{CH-CH} \\ \diagup \\ \text{O} \end{array}$
5.50-5.30	2	multiplete	CH= y H-C-azúcar   OCOAr
5.16	2	doble doblete (J <sub>1</sub> =8.7 y J <sub>2</sub> =2 Hz)	-CH=CH <sub>2</sub> parte B <sub>2</sub> de un sist.AB <sub>2</sub>
4.90	1	doblete (J=8 Hz)	$\begin{array}{l} \text{O} \\ \diagdown \\ \text{CH-CH} \\ \diagup \\ \text{O} \end{array}$ C anomérico
4.30-4.00	2	multiplete	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OCO
4.00-3.70	3	multiplete	3 H-COH-glicósido.
3.70-3.40	2	multiplete	HO-CH <sub>2</sub> -azúcar
3.40-3.20	1	multiplete	$\begin{array}{l} \text{CH}_2 \\ \diagdown \\ \text{CH-C=} \\ \diagup \\ \text{CH} \end{array}$
2.70	1	triplete ancho (J=6 Hz)	$\begin{array}{l} \text{CH} \\   \\ \text{=CH-CH-C} \\ \quad \quad \quad \diagup \quad \diagdown \\ \quad \quad \quad \text{O} \quad \quad \text{O} \end{array}$
1.95-1.50	2	multiplete	$\text{>CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$

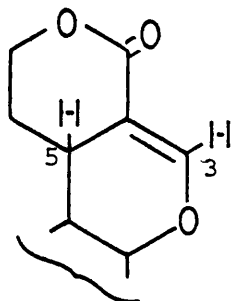


Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un anillo bencénico meta disustituido, como lo demuestra la resonancia de cuatro protones aromáticos, uno de los cuales acopla doblemente en orto. La presencia de un carbonilo benzoico, en el IR y fuerte banda hidroxílica, junto con los datos del RMN, hace proponer un anillo 3-hidroxibenzoato:



La señal a  $\delta=7.32$  ppm es típica de un protón en  $C_3$  de un anillo secoiridoidal, con sustituyentes electronegativos en posiciones contiguas y que acopla con un protón situado en el carbono  $\beta$ , a través de un doble enlace (11,21,24,25).



Aparecen, también, un grupo de señales, correspondientes a los grupos CH de un azúcar, destacando:

a) Un multiplete a  $\delta$  5.5-5.3 ppm asignable a un CH unido a un O-sustituido, debiendo tratarse de un grupo desapantallante, ya que su resonancia se ve desplazada a campo bastante más bajo que las demás. Posiblemente esté esterificado formando parte del benzoato detectado.

b) Un multiplete a  $\delta$  4.00-3.70 ppm, que integra tres

protones, que corresponden a tres  $\text{>CH-OH}$  del azúcar.

c) Un multiplete a  $\delta$  3.70-3.40 ppm, que integra dos protones, que corresponderán a los hidrógenos del carbono 6 de una hexosa ( $-\text{CH}_2-\text{OH}$ ).

d) Un doblete a  $\delta$  4.90 ppm, que corresponde al protón sobre el carbono anomérico de un azúcar. El tipo de unión se determina por la constante de acoplamiento ( $J=8$  Hz), característico de su acoplamiento transdiaxial, lo que demuestra la naturaleza  $\beta$  de la unión glicosídica.

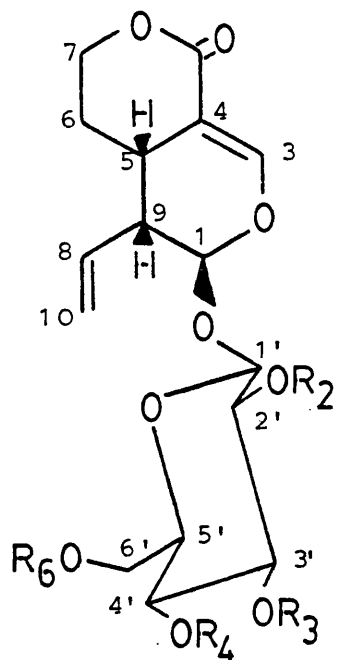
Aparece, también, un grupo vinilo que resuena como sistema  $\text{AB}_2$ , y cuyas señales aparecen a  $\delta$  5.16 ppm (dd, parte  $\text{B}_2$  del sistema  $\text{AB}_2$ ) y a  $\delta$  5.5-5.3 (multiplete, parte A del sistema  $\text{AB}_2$ ).

Las demás señales que se observan serán las debidas a grupos CH y  $\text{CH}_2$  del anillo secoiridoidal.

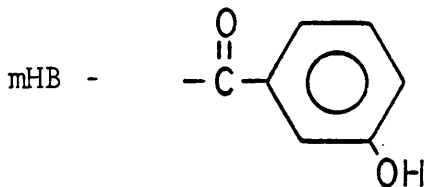
Los datos espectrales obtenidos hasta el momento, apuntan al hecho de que  $\text{GI}_1$  sea un glicósido secoiridoidal con un sustituyente m-hidroxibenzoilo en el azúcar.

Van der Sluis y col. (25) han aislado recientemente, de Centaurium littorale, varios glicósidos secoiridoidales con un sustituyente m-hidroxibenzoilo, diferentes unos de otros por la posición de anclaje de dicho grupo benzoilo a la parte glicosídica de la molécula, y derivados todos ellos del Swerósido (ver pág.15 y 16).

FIGURA 94



	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>
Centapicrina	mHB	Ac	H	H
Desacetilcentapicrina	mHB	H	H	H
Decentapicrina A	H	mHB	H	H
Decentapicrina B	H	H	mHB	H
Decentapicrina C	H	H	H	mHB
Swerosido	H	H	H	H



Espectro de UV de GI<sub>I</sub>

El espectro de UV de GI<sub>I</sub> (fig. 95), realizado en metanol, presenta los siguientes máximos de absorción:

$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )	240(3.86)	300(3.11)
---	-----------	-----------

Cuando se le añade metóxido sódico, las bandas sufren un desplazamiento batocrómico de 3 y 28 nm respectivamente confirmando la existencia de grupos hidroxilo fenólico en la molécula.

Para obtener más información acerca de la estructura de GI<sub>I</sub>, se llevó a cabo la acetilación de éste, con los resultados que a continuación se detallan.

5.1.4. a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE GI<sub>I</sub>. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar el producto GI<sub>I</sub>, con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág. 271). El producto, así obtenido, se purifica por cromatografía de columna, usando como eluyente hexano-cloroformo (1:1), y rindiendo una masa semisólida de color blanco.

Interpretación del espectro de IR del acetato de GI<sub>I</sub>

El espectro de IR del derivado acetilado de GI<sub>I</sub> (fig. 96 ), muestra las siguientes bandas características:

3020-2850 cm <sup>-1</sup>	tensión C-H olefínica y alifática
1750 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O ester alifático
1730 y 1710 cm <sup>-1</sup>	tensión C=O δ-lactona conjugada y ester benzoico.
1620 cm <sup>-1</sup>	vibración C=C de anillo aromático
1260, 1210 y 1100-1010 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ésteres.

Lo más característico de este espectro es la aparición de un carbonilo ancho, debido a la tensión C=O de los grupos acetato a 1750 cm<sup>-1</sup>.

La tensión C-O debida a los ésteres y lactonas, en la región de 1200-1000 cm<sup>-1</sup>, produce una absorción tan intensa que deja enmascaradas otro tipo de bandas características.

Interpretación del espectro de RMN del acetato de GI<sub>I</sub>

El espectro de RMN del acetato de GI<sub>I</sub> (realizado en Cl<sub>3</sub>CD), mostró escasa resolución (fig.97 ) y del mismo se puede concluir que presenta cuatro señales correspondientes a los grupos acetato, lo que confirma, la existencia de cuatro hidroxilos en GI<sub>I</sub>.

Los valores del desplazamiento químico para estos grupos son muy distintos por lo que podemos asignarles:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Asignación</u>
2.23	3	singlete	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-Ar}$
2.02	3	singlete	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-C}_6'$
1.87	3	singlete	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-C}_{2'}$ y $4'$
1.82	3	singlete	

#### Espectro de UV del acetato de GI<sub>I</sub>

El espectro UV del derivado acetilado de GI<sub>I</sub> (fig. 98), realizado en metanol, presenta los siguientes máximos de absorción:

$\lambda_{\text{max}}$ nm (log $\epsilon$ )	232(4.00)	280(2.78)
---	-----------	-----------

No presenta ninguna variación al añadir NaOMe, por lo que la molécula carece de grupos hidroxilo fenólicos.

La identificación final de la estructura de GI<sub>I</sub> se ha conseguido realizando su espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN, que distingue inequívocamente qué carbono glicosídico (2',3',4' ó 6') forma unión ester con el grupo m-hidroxibenzoato. Así podremos determinar si nuestro compuesto es Desacetilcentapicrina, Decentopicrina A, B ó C, respectivamente.

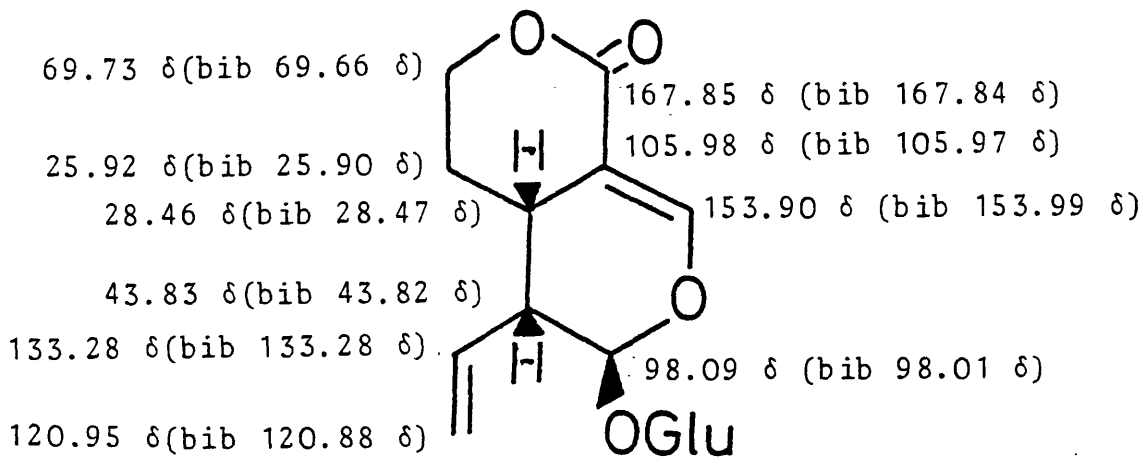
#### 5.1.4.b. ESTUDIO DEL ESPECTRO DE $^{13}\text{C}$ RMN DE GI<sub>I</sub>

El espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN de GI<sub>I</sub> (fig. 99), realizado en  $\text{CD}_3\text{OD}$  y usando TMS como patrón standar, presenta señales debidas a 23 carbonos diferentes con las siguientes posibles asignaciones:

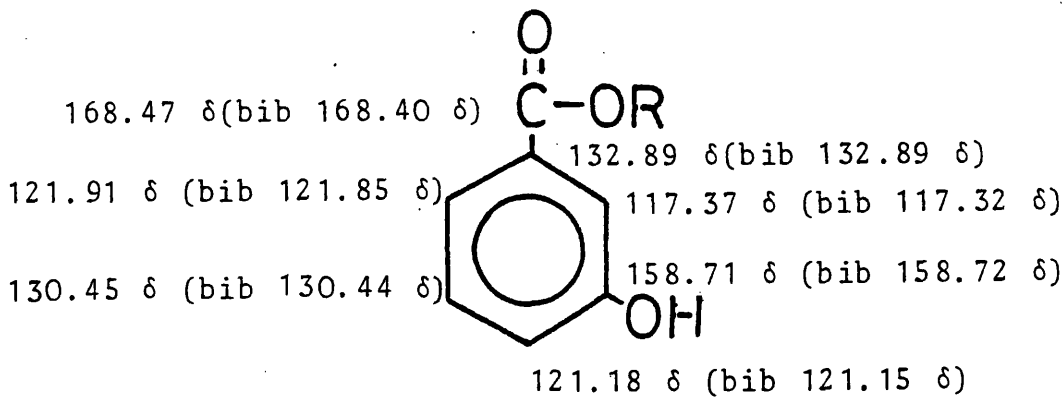


<u>Desplazamiento</u> <u>químico δ</u>	<u>Posible</u> <u>asignación</u>
168.47	$\text{Ph}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$
167.85	$\text{C}=\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$
158.71	$\text{Ar}-\text{C}-\text{OH}$
153.90	$\text{RO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{C}=\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OR}$
133.28	$\text{C}=\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{R}$
132.89	$\text{Ar}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CO}_2\text{R}$
130.45	$\text{ArC} \begin{cases} \text{OH (m)} \\ \text{CO}_2\text{R (m)} \end{cases}$
121.91	$\text{ArC} \begin{cases} \text{OH (o/p)} \\ \text{CO}_2\text{R (o/p)} \end{cases}$
121.18	
120.95	$\text{CH}_2=\text{C}$
117.37	$\text{ArC} \begin{cases} \text{OH (o)} \\ \text{CO}_2\text{R (o)} \end{cases}$
105.98	$\text{ROCO} \begin{cases} \text{C}=\text{C}-\text{OR} \\ \text{R} \end{cases}$
99.71	$\text{H}-\text{C} \begin{cases} \text{OR} \\ \text{OR} \\ \text{R} \end{cases}$
98.09	
79.33	$\text{C} \begin{cases} \text{C}=\text{OR} \\ \text{R}' \\ \text{H} \end{cases} \quad \text{R y R}'\equiv\text{H ó Alquil}$
78.24	
73.16	
69.73	
69.73	$\text{R}-\text{CH} \begin{cases} \text{C}=\text{C} \\ \text{C} \begin{cases} \text{O} \\ \text{O} \end{cases} \end{cases}$
62.35	
43.83	
28.46	$\text{R}_2\text{CH}-\text{C}=\text{C}$
25.92	$\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}$

El espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN muestra las señales debidas a un núcleo secoiridoidal, presente en el swerósido, con datos experimentales concordantes del todo con los bibliográfico (25):



Aparecen así mismo las señales del fragmento m-hidroxibenzoato:



Del resto de señales, debidas a la parte glicosidada de la molécula debemos obtener información sobre la posición en que la agrupación benzoílica esterifica el azúcar.

En los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de glicósidos monoacilados, la señal del carbono del azúcar que soporta el sustituyente, sufre un desplazamiento o campo más bajo de unas pocas ppm, y la señal del carbono contiguo a éste, sufre un desplazamiento a campo más alto del mismo orden (efecto orto) (101-103). Por



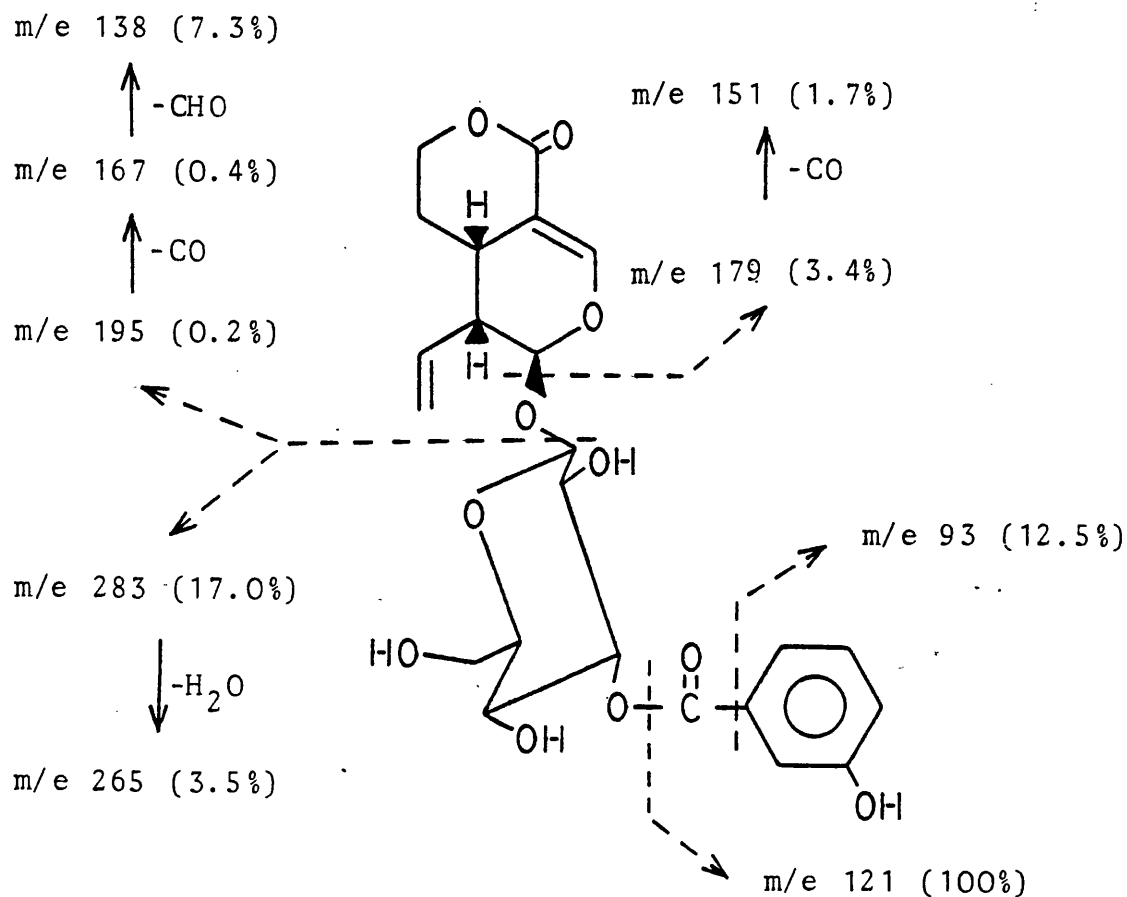
este motivo podemos deducir que el grupo m-hidroxibenzoato está unido al carbono 3' en GI<sub>I</sub>, ya que si comparamos con los datos del Swerósido (25):

	Desplazamiento químico (ppm)				
	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-6'
Swerósido	74.73	78.40	71.54	77.90	62.67
	↑ 1.57	↓ 0.93	↑ 1.81		
GI <sub>I</sub>	73.16	79.33	69.73	78.24	62.35

Interpretación del espectro de masas de GI<sub>I</sub>

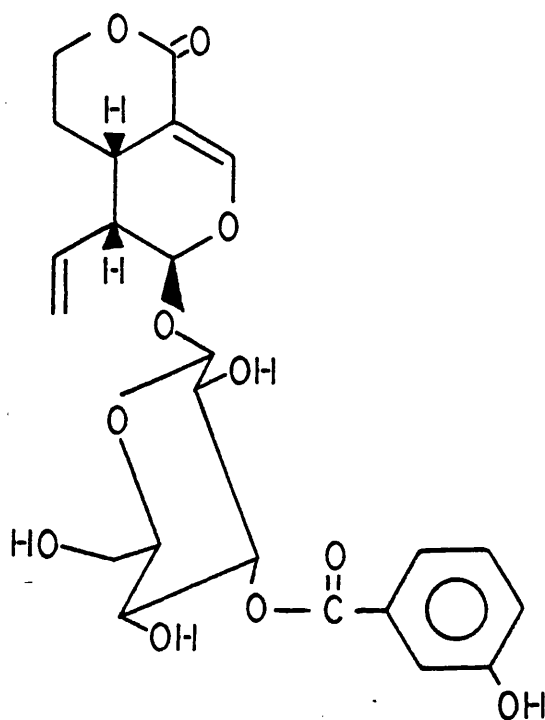
En el espectro de masas de GI<sub>I</sub> (fig.100), el ión molecular, es 478., concordante con la fórmula molecular C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>O<sub>11</sub>.

El conjunto de los picos significativos, son explicables según el siguiente esquema de fragmentación:





Del conjunto de datos físicos y espectroscópicos y por comparación con patrón auténtico (25 ), determinamos para GI<sub>I</sub> la estructura de Decentapirina A, siendo la segunda vez que se aísla en la naturaleza (99) y la primera que se dan sus datos de espectro de masas y del derivado acetilado.



GI<sub>I</sub> 3'-(m-hidroxibenzoil)swerósido ≡ Decentapicrina A

#### 5.1.4.c. ESTUDIO POR CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA DE GI<sub>I</sub>

Se puede obtener mucha información sobre la naturaleza química de estos compuestos por su estudio en cromatografía de capa fina de los productos de reacción bajo tratamiento básico (NH<sub>3</sub>).

Se desarrollan cromatografías unidimensionales, usando como soporte sílica-gel. El eluyente utilizado fué acetato de etilo al 100%, realizando dos desarrollos. Como visualizador de las placas se utilizó luz UV de 254 nm y pulverización con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50%.

Se trató  $GI_I$  bajo condiciones de hidrólisis básica con amoniaco y se registraron resultados al cabo de 5, 30 y 120 minutos. Para comparar se dispuso de patrones auténticos de Decentapicrina A y Swertiamarina. El resultado del cromatograma se muestra en la figura 101.

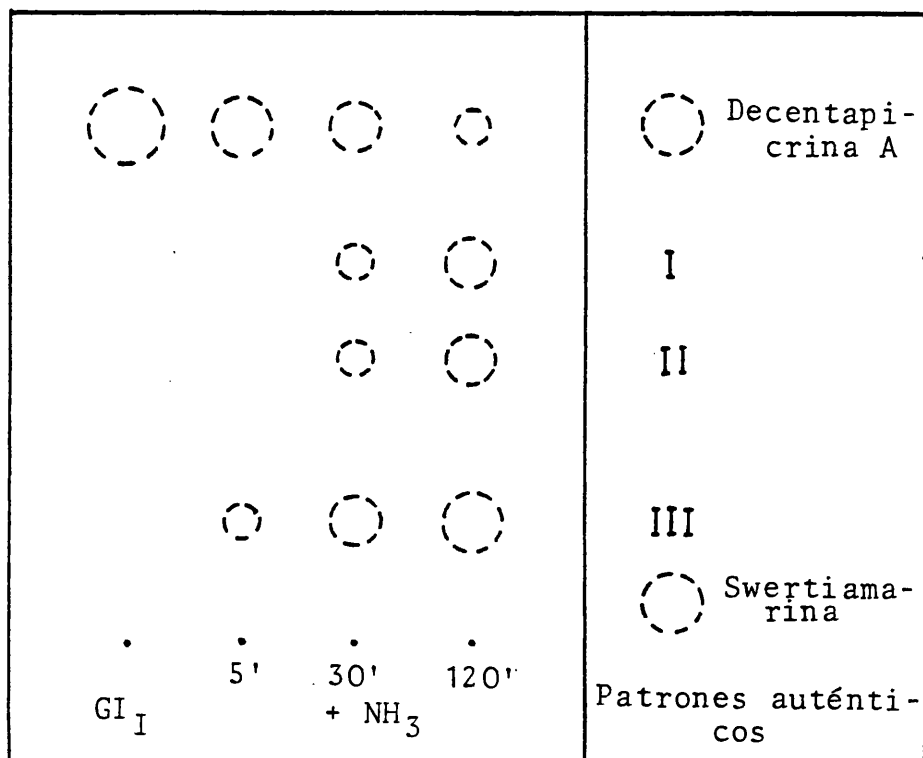


FIGURA 101

Estudio por c.c.f. de  $GI_I$  bajo tratamiento básico.

Por comparación con los desarrollos que realizan Van de Sluis y col. (25) podemos decir que la decentapicrina A se hidroliza a Swerósido (III), que ya es detectada al cabo de 5' de tratamiento. Se trata, en realidad, de la hidrólisis de un ester.

A partir de los 30' se detectan dos nuevas manchas de polaridad intermedia y que deben corresponder a la desacetilcentapicrina (I) y decentapicrina C (II). Estas transformaciones pueden ser explicadas por la migración del grupo m-hidroxibenzoil a otras posiciones del azúcar.

Este tipo de conversiones ha sido muy estudiada (104-106) en la química de carbohidratos, indicando que siempre se tiende a la migración del grupo hacia la posición terminal (C-6'), donde el grupo hidroxilo es primario, y la estabilidad es mayor.

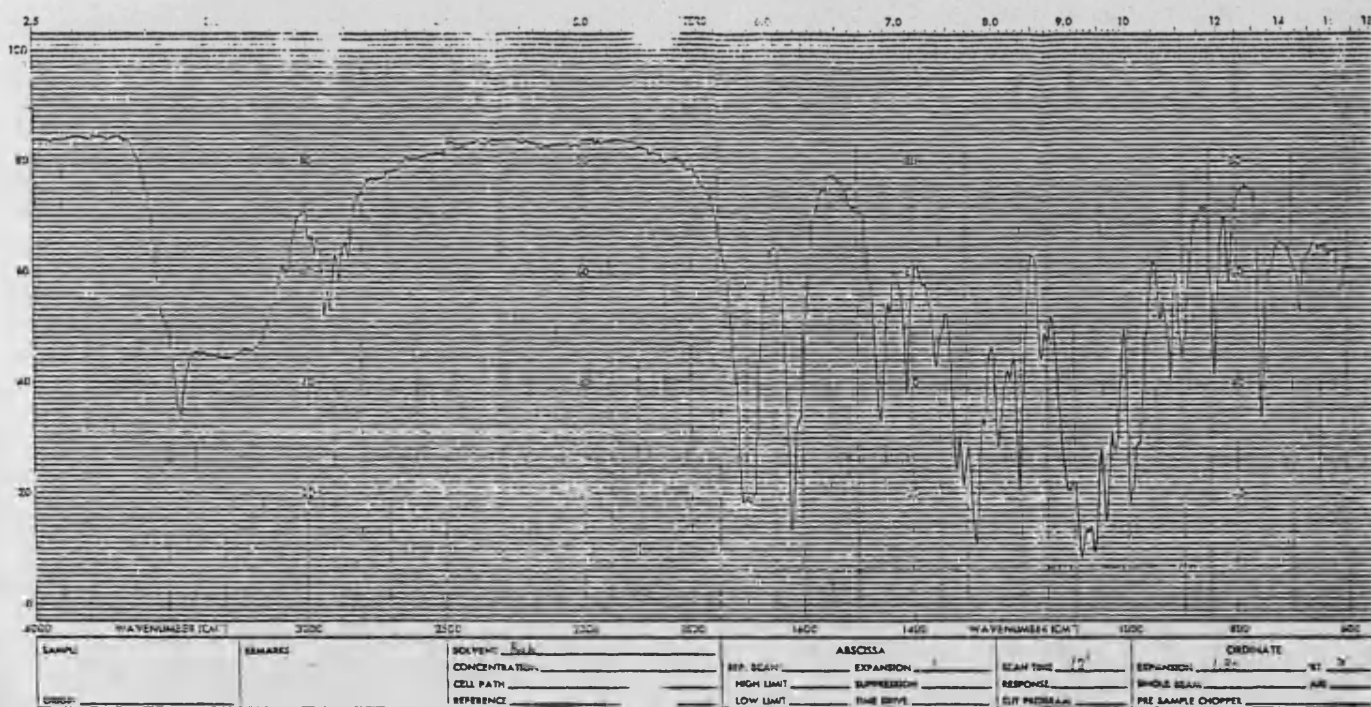


FIGURA 92: Espectro de IR de GI<sub>I</sub>: Decentapicrina A.

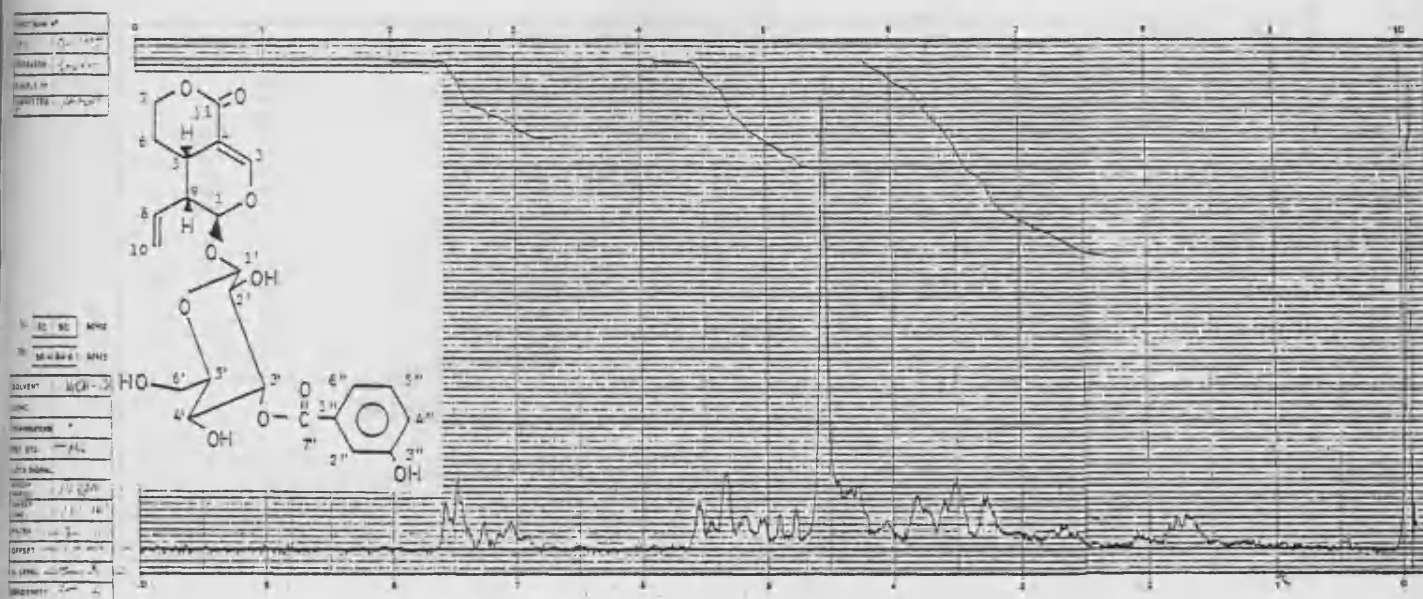


FIGURA 93: Espectro de RMN de  $GI_I$ : Decentapicrina A.

Desplazamiento químico $\delta$	n <sup>o</sup> H	Acoplamiento	Asignación
7.65-7.40	3	multiplete	H-2'', H-4'' y H-6''
7.32	1	doblete (J=2 Hz)	H-3
7.10	1	triplete (J=6.7 Hz)	H-5''
5.60	1	doblete (J=2 Hz)	H-1
5.50-5.30	2	multiplete	H-3' y H-8
5.16	2	doble doblete (J <sub>1</sub> =8.7 y J <sub>2</sub> =2 Hz)	H-10
4.90	1	doblete (J= 8 Hz)	H-1'
4.30-4.00	2	multiplete	2H-7
4.00-3.70	3	multiplete	H-2', H-4' y H-5'
3.70-3.40	2	multiplete	2H-6'
3.40-3.20	1	multiplete	H-5
2.70	1	triplete ancho (J=6 Hz)	H-9
1.95-1.50	2	multiplete	2H-6

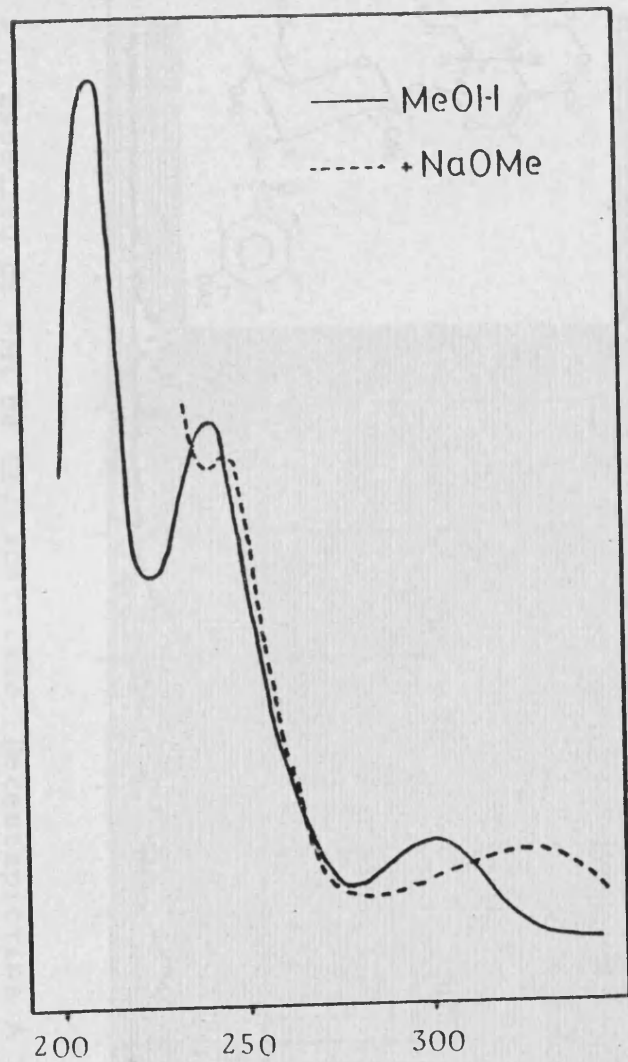


FIGURA 95

Espectro de UV de GI<sub>I</sub>: Decentapicrina A

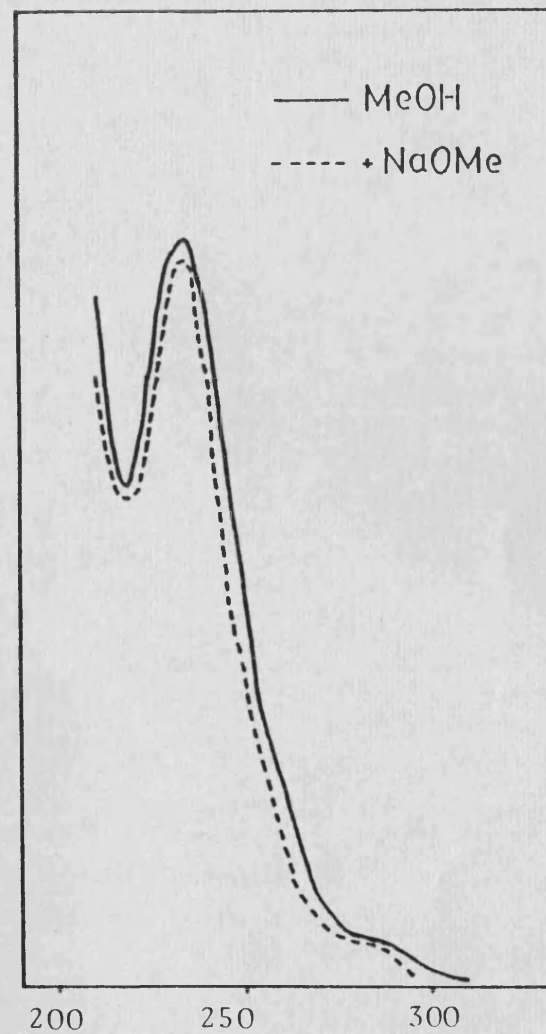


FIGURA 98

Espectro de UV de GI<sub>I</sub> acetylado

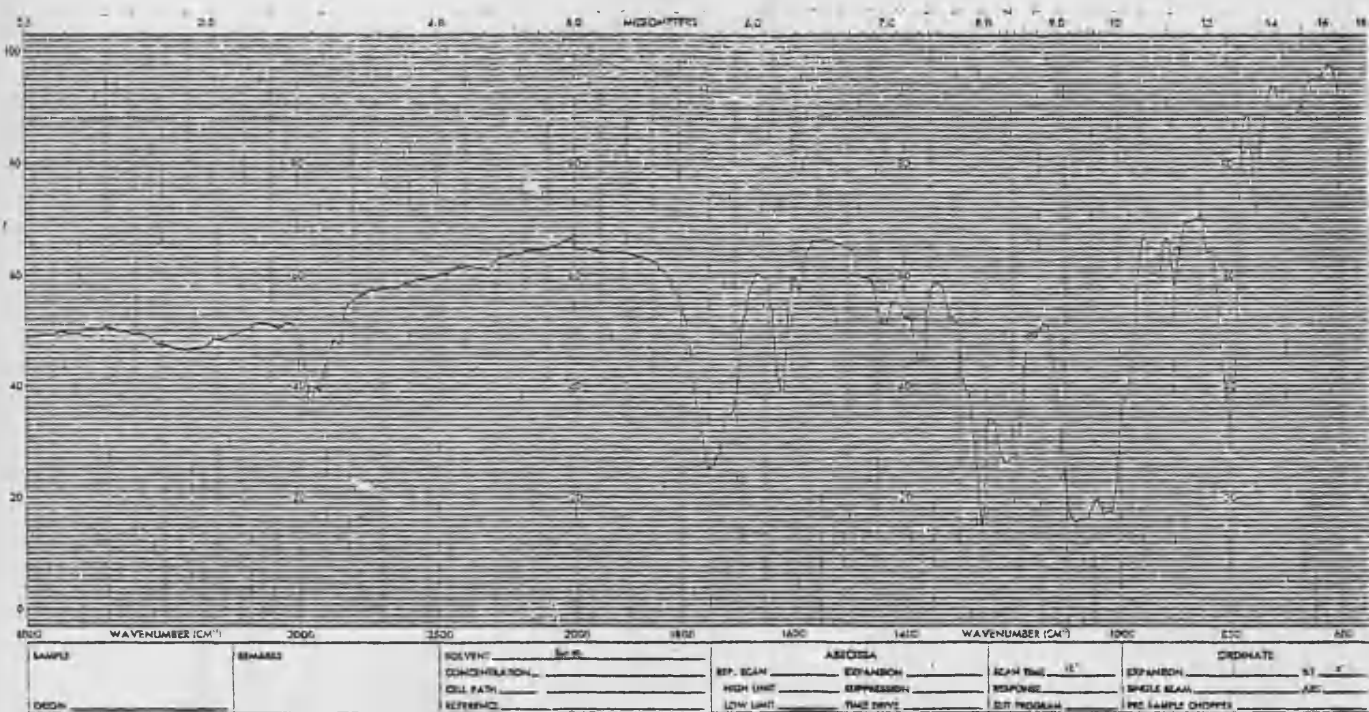


FIGURA 96: Espectro de IR de GI<sub>I</sub> acetilado: Decentapicria A acetilada.

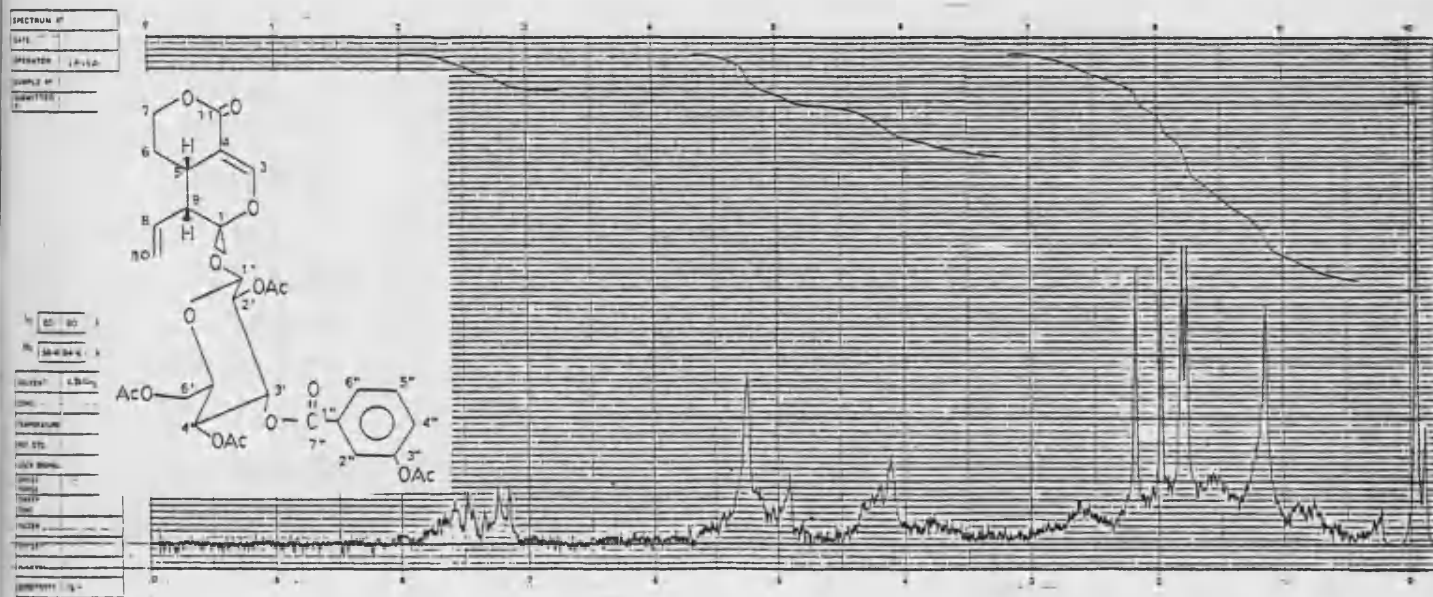
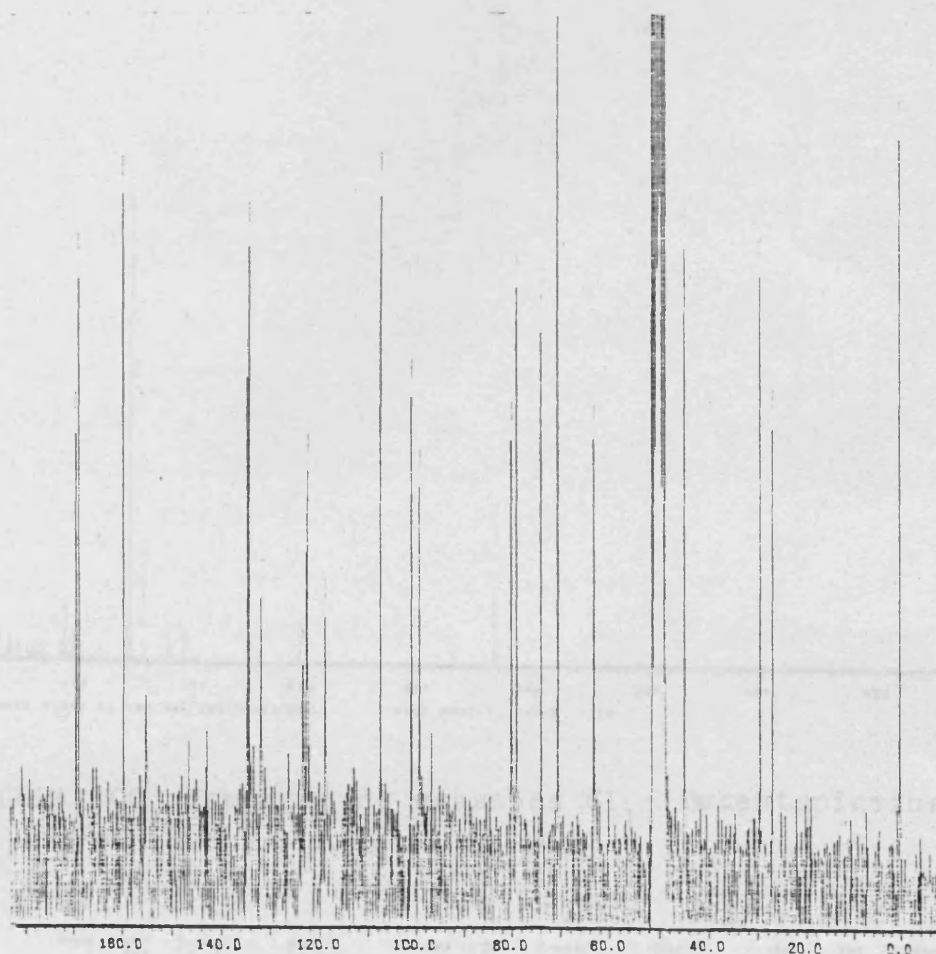


FIGURA 97: Espectro de RMN de GI<sub>I</sub> acetilado: Decentapicrina A acetilada.







```

BRUKER
FID 13CTR1.001
DATE 2-6-88
SF 50.323
ST 50.323
AQ 0.000
AQ1 0.000
AQ2 0.000
AQ3 0.000
AQ4 0.000
AQ5 0.000
AQ6 0.000
AQ7 0.000
AQ8 0.000
AQ9 0.000
AQ10 0.000
AQ11 0.000
AQ12 0.000
AQ13 0.000
AQ14 0.000
AQ15 0.000
AQ16 0.000
AQ17 0.000
AQ18 0.000
AQ19 0.000
AQ20 0.000
AQ21 0.000
AQ22 0.000
AQ23 0.000
AQ24 0.000
AQ25 0.000
AQ26 0.000
AQ27 0.000
AQ28 0.000
AQ29 0.000
AQ30 0.000
AQ31 0.000
AQ32 0.000
AQ33 0.000
AQ34 0.000
AQ35 0.000
AQ36 0.000
AQ37 0.000
AQ38 0.000
AQ39 0.000
AQ40 0.000
AQ41 0.000
AQ42 0.000
AQ43 0.000
AQ44 0.000
AQ45 0.000
AQ46 0.000
AQ47 0.000
AQ48 0.000
AQ49 0.000
AQ50 0.000
AQ51 0.000
AQ52 0.000
AQ53 0.000
AQ54 0.000
AQ55 0.000
AQ56 0.000
AQ57 0.000
AQ58 0.000
AQ59 0.000
AQ60 0.000
AQ61 0.000
AQ62 0.000
AQ63 0.000
AQ64 0.000
AQ65 0.000
AQ66 0.000
AQ67 0.000
AQ68 0.000
AQ69 0.000
AQ70 0.000
AQ71 0.000
AQ72 0.000
AQ73 0.000
AQ74 0.000
AQ75 0.000
AQ76 0.000
AQ77 0.000
AQ78 0.000
AQ79 0.000
AQ80 0.000
AQ81 0.000
AQ82 0.000
AQ83 0.000
AQ84 0.000
AQ85 0.000
AQ86 0.000
AQ87 0.000
AQ88 0.000
AQ89 0.000
AQ90 0.000
AQ91 0.000
AQ92 0.000
AQ93 0.000
AQ94 0.000
AQ95 0.000
AQ96 0.000
AQ97 0.000
AQ98 0.000
AQ99 0.000
AQ100 0.000

```

<u>Desplazamiento químico (δ)</u>	<u>Asignación</u>	<u>Desplazamiento químico (δ)</u>	<u>Asignación</u>
168.47	C-7''	99.71	C-1'
167.85	C-11	98.09	C-1
158.71	C-3''	79.33	C-3'
153.90	C-3	78.24	C-5'
133.28	C-8	73.16	C-2'
132.89	C-1''	69.73	C-4'
130.45	C-5''	69.73	C-7
121.91	C-6''	62.35	C-6'
121.18	C-4''	43.83	C-9
120.95	C-10	28.46	C-5
117.37	C-2''	25.92	C-6
105.98	C-4		

FIGURA 99: Espectro de <sup>13</sup>C RMN de GI<sub>I</sub>: Decentapicrina A.

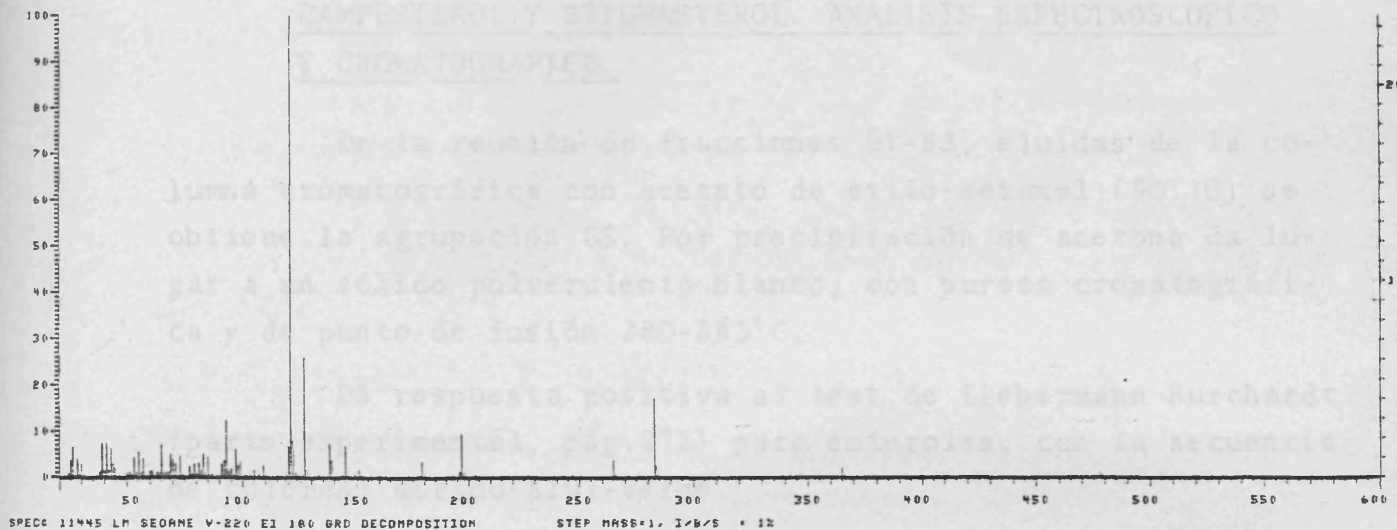


FIGURA 100: Espectro de masas de GI<sub>I</sub>: Decentapicrina A.

PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS	PEAK	INT	I/BASE	MASS
1	258	0.91%	23 E	72	1740	6.15%	97.0	150	215	0.76%	180.0
2	1054	3.56%	25.1	73	714	2.52%	98.0	151	159	0.56%	181.0
3	1893	6.69%	26.3	74	949	3.35%	99.0	152	32	0.11%	182.0
4	1193	4.22%	27.6	75	114	0.40%	100.0	153	21	0.07%	183.1
5	203	0.71%	28.6	76	213	0.75%	101.0	154	23	0.08%	184.0
6	30	0.10%	29.6	77	71	0.25%	102.0	155	29	0.10%	187.0
7	792	2.80%	30.0	78	171	0.60%	103.0	156	45	0.15%	189.0
8	179	0.60%	31.1	79	71	0.25%	104.0	157	33	0.11%	190.0
9	26	0.11%	32.5	80	489	1.73%	105.0	158	56	0.17%	191.0
10	116	0.41%	33.6	81	134	0.47%	106.0	159	27	0.09%	192.0
11	323	1.14%	37.7	82	279	0.98%	107.0	160	41	0.12%	193.0
12	2187	7.72%	38.8	83	123	0.43%	108.0	161	46	0.16%	194.0
13	420	1.48%	39.8	84	771	2.72%	109.0	162	305	1.07%	196.0
14	2122	7.55%	40.9	85	172	0.62%	110.0	164	2633	9.31%	197.0
15	430	1.52%	41.4	86	164	0.58%	111.0	165	301	1.06%	198.0
16	1822	6.44%	42.9	87	147	0.52%	112.0	166	92	0.32%	199.0
17	876	3.09%	43.9	88	54	0.19%	114.0	167	43	0.15%	201.0
18	425	1.49%	44.0	89	202	0.71%	115.0	168	147	0.52%	203.0
19	122	0.43%	46.0	90	87	0.30%	116.0	169	55	0.19%	204.0
20	27	0.09%	46.5	91	177	0.62%	117.0	170	196	0.69%	205.0
21	109	0.38%	47.0	92	71	0.25%	118.0	171	31	0.10%	206.0
22	43	0.15%	49.0	93	184	0.65%	119.0	172	24	0.08%	207.0
23	215	0.76%	50.1	94	1941	6.86%	120.0	173	69	0.24%	209.0
24	336	1.16%	51.1	95	2824	10.00%	121.0	174	43	0.15%	211.0
25	237	0.83%	52.1	96	2307	8.16%	122.0	175	107	0.37%	215.0
26	1236	4.37%	53.1	97	331	1.17%	123.0	176	21	0.07%	217.0
27	238	0.84%	54.1	98	71	0.25%	124.0	177	34	0.12%	218.0
28	1625	5.74%	55.1	99	141	0.49%	125.0	178	22	0.07%	219.0
29	345	1.22%	56.1	100	183	0.64%	126.0	179	42	0.14%	221.0
30	1136	4.01%	57.1	101	7350	24.00%	127.0	180	60	0.21%	223.0
31	92	0.32%	58.1	102	547	1.93%	128.0	181	47	0.16%	225.0
32	115	0.40%	60.1	103	156	0.55%	129.0	182	166	0.58%	227.0
33	414	1.46%	61.1	104	31	0.10%	130.0	183	32	0.11%	228.0
34	48	0.16%	60.0	105	122	0.43%	131.0	184	52	0.19%	229.0
35	466	1.64%	61.1	106	266	0.94%	132.0	185	27	0.09%	230.0
36	135	0.48%	62.1	107	141	0.49%	134.0	186	30	0.10%	233.0
37	344	1.21%	63.1	108	193	0.69%	135.0	187	46	0.16%	235.0
38	345	1.22%	64.1	109	51	0.18%	136.0	188	24	0.08%	241.0
39	1423	5.01%	65.1	110	126	0.45%	137.0	189	49	0.17%	245.0
40	394	1.37%	66.1	111	2074	7.33%	138.0	190	22	0.07%	246.0
41	336	1.18%	67.1	112	1622	5.76%	139.0	191	207	0.73%	247.0
42	382	1.36%	68.1	113	124	0.44%	140.0	192	7	0.02%	248.0
43	1473	5.21%	69.1	114	42	0.15%	141.0	193	82	0.31%	251.0
44	1119	3.95%	70.1	115	26	0.09%	142.0	194	34	0.12%	253.0
45	893	3.15%	71.1	116	76	0.27%	143.0	195	946	3.33%	255.0
46	140	0.49%	72.1	117	183	0.64%	144.0	196	156	0.55%	256.0
47	1325	4.68%	72.1	118	1926	6.82%	145.0	197	47	0.16%	257.0
48	24	0.07%	73.1	119	161	0.54%	146.1	198	410	1.46%	258.0
49	164	0.59%	74.1	120	113	0.39%	147.1	199	720	2.54%	260.0
50	81	0.28%	75.1	121	64	0.22%	148.1	200	120	0.42%	265.0
51	44	0.15%	76.1	122	259	0.91%	149.0	201	106	0.36%	267.0
52	691	2.44%	77.1	123	114	0.42%	150.1	202	72	0.25%	268.0
53	255	0.89%	78.1	124	490	1.73%	151.0	203	34	0.12%	270.0
54	786	2.78%	79.1	125	165	0.59%	152.0	204	151	0.53%	274.0
55	231	0.81%	80.1	126	51	0.18%	153.0	205	26	0.09%	276.0
56	857	3.03%	81.1	127	21	0.07%	154.0	206	32	0.11%	278.0
57	424	1.50%	82.1	128	44	0.15%	155.0	207	525	1.85%	285.0
58	1453	5.14%	83.1	129	22	0.07%	156.0	208	107	0.37%	286.0
59	154	0.56%	84.1	130	20	0.07%	157.0	209	21	0.07%	287.0
60	1204	4.27%	85.1	131	41	0.14%	159.0	210	41	0.14%	288.0
61	154	0.54%	86.1	132	105	0.37%	160.0	211	225	0.79%	297.0
62	222	0.78%	87.1	133	105	0.37%	161.0	212	72	0.25%	298.0
63	27	0.09%	88.1	134	57	0.20%	162.0				
64	73	0.25%	89.1	135	42	0.15%	163.0				
65	46	0.14%	90.1	136	45	0.15%	164.0				
66	747	2.61%	91.1	137	76	0.26%	165.0				
67	1036	3.66%	92.1	138	34	0.13%	166.0				
68	2521	8.87%	93.1	139	126	0.44%	167.0				
69	423	1.49%	94.1	140	67	0.23%	168.0				
70	534	1.90%	95.1	141	36	0.12%	169.0				
71	42	0.14%	96.0	142	20	0.07%	171.0				
				143	20	0.07%	172.0				
				144	22	0.07%	174.0				
				145	97	0.34%	175.0				
				146	70	0.24%	176.0				
				147	112	0.41%	177.0				
				148	157	0.54%	178.0				
				149	956	3.38%	179.0				



5.1.5. ESTUDIO DE LA FRACCION GS: GLUCOSIDO DE  $\beta$ -SITOSTEROL, CAMPESTEROL Y STIGMASTEROL. ANALISIS ESPECTROSCOPICO Y CROMATOGRAFICO.

De la reunión de fracciones 91-93, eluidas de la columna cromatográfica con acetato de etilo-metanol (90:10) se obtiene la agrupación GS. Por precipitación de acetona da lugar a un sólido pulverulento blanco, con pureza cromatográfica y de punto de fusión 280-283°C.

Dá respuesta positiva al test de Liebermann-Burchardt (parte experimental, pág.272) para esteroides, con la secuencia de colores: morado-azul-verde.

Es bastante insoluble en los disolventes orgánicos habituales llegando a solubilizarse solo en alcohol etílico caliente.

Interpretación del espectro de IR de GS

El espectro de IR de GS (fig.102), presenta las siguientes bandas:

3400 $\text{cm}^{-1}$ (muy intensa)	tensión O-H alcohol
2960, 2930 y 2860 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H alifática
1460 $\text{cm}^{-1}$	deformación $-\text{CH}_2-$
1380 y 1370 $\text{cm}^{-1}$	deformación C- $\text{CH}_3$ simétrica
1070 y 1025 $\text{cm}^{-1}$ (intensa)	vibración de tensión C-O de alcoholes primarios y secundarios.
800 $\text{cm}^{-1}$	deformación C=C-H fuera del plan

El espectro indica que pudiera tratarse de un glicósido debido a la intensa banda hidroxílica en la región de 3400  $\text{cm}^{-1}$  y de tensión C-O alcohólico (1070 y 1025  $\text{cm}^{-1}$ ).

Debido a su gran insolubilidad, se procedió a su estudio a través de su derivado acetilado.

5.1.5.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE GS. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar GS con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág. 272).

El producto así obtenido mostró pureza cromatográfica, con los resultados espectroscópicos que a continuación se detallan.

Interpretación del espectro de IR del acetato de GS

El espectro de IR de GS acetilado (fig.103), presenta las siguientes bandas características:

2980-2840 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H alifática
1755 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O ester
1460 y 1440 $\text{cm}^{-1}$	deformación -CH <sub>2</sub> -
1380 y 1370 $\text{cm}^{-1}$	deformación C-CH <sub>3</sub> simétrica
1230 y 1055 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O ester
805 $\text{cm}^{-1}$	deformación C=C-H fuera del plano

Lo más significativo de este espectro es que demuestra la total acetilación del compuesto GS, por la desaparición de la banda hidrofílica a 3400  $\text{cm}^{-1}$  y la aparición de la tensión de los carbonilos de los acetatos (1755  $\text{cm}^{-1}$ ).

Interpretación del espectro de RMN del acetato de GS

El espectro de RMN de GS acetilado (fig.104), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento</u> ( $\delta$ )	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
5.55-5.00	1	multiplete	C=C-H
5.00-3.00	8	multiplete	H-C-O
4.60	1	doblete (J=8 Hz)	(C <sub>1</sub> -H <sub>ax</sub> ) de carbohidrato
2.05-2.00	12	3 singletes	4 CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> -
1.00-0.70	18	4 singletes	6 CH <sub>3</sub> - angulares

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Posee un doble enlace trisustituido, como lo muestra la aparición de un solo hidrógeno olefínico.

Posee cuatro acetoxilos, lo que indica la existencia de cuatro grupos hidroxilo en GS, que deberán corresponder al azúcar.

Los datos espectrales de GS y su derivado acetilado, y la respuesta positiva al test de Lieberman-Burchard, indican que este compuesto debe ser un glicósido de esteroide por lo que para la asignación final de la estructura procederemos a verificar los siguientes ensayos:

- Hidrólisis ácida de GS
- Identificación del azúcar
- Identificación de la aglicona
- Determinación del tipo de unión ( $\alpha$  ó  $\beta$ ) entre el azúcar y la aglicona.

#### 5.1.5.b. HIDROLISIS ACIDA DE GS.

La hidrólisis de glicósidos, que está destinada a romper la unión entre la aglicona y el azúcar, puede llevarse a cabo tanto en medio ácido como enzimático.

Para llevar a cabo la hidrólisis en medio ácido se utiliza, normalmente, HCl 2N, sin embargo, para hidrólisis parciales de di- y triglicósidos, se requiere el uso de ácidos más diluidos, por ejemplo, ácido fórmico en ciclohexano ó ácido acético al 10%. En los casos en que el glicósido no sea totalmente soluble, en la solución ácida, se recomienda añadir unas gotas de alcohol.

La aglicona se recupera de la solución acuosa mediante filtración ó extracción con un disolvente orgánico adecuado (éter, acetato de etilo...). Algunos autores usan columna de poliamida (45).. Los azúcares son eluidos de la columna con agua

y, posteriormente, la aglicona con soluciones alcohólicas.

Para la neutralización de la solución acuosa, en la que quedan los azúcares, se indica el uso de columnas de intercambio iónico aniónicas, como la Dowex 1 o la Dowex 2, o bien la formación del clorhidrato con d-n-octilmetilamina(107).

La aglicona se identificó por los métodos espectroscópicos ó químicos adecuados y el azúcar, mediante cromatografía gaseosa de sus trimetilsililéteres ó cromatografía de papel ó de capa fina.

Cuando las cantidades a hidrolizar son muy pequeñas ó para un ensayo previo, puede hacerse una hidrólisis directa sobre capa fina con sílica-gel H, según la técnica descrita por Kartrig y Wegschaider (108).

La hidrólisis enzimática está limitada a la disponibilidad de enzimas adecuadas. La enzima más utilizada es la  $\beta$ -glucosidasa, que hidroliza la glucosa, únicamente cuando está en posición terminal. Por ello se utiliza esta hidrólisis, junto con la ácida, para el estudio de di- y triglicósidos.

Trabajos realizados por Harborne (109) indican que la velocidad de hidrólisis ácida depende, tanto del azúcar unido a la aglicona como de la posición que ocupa en la misma, mientras que la naturaleza de la aglicona influye poco en el tiempo necesario para la hidrólisis. El mismo autor establece una relación de las velocidades de hidrólisis según el tipo de azúcar presente.

L- Rhamnosa  $\sim$  L-Arabinosa  $\triangleright$  D-glucosa  $\sim$  D-galactosa  $\gg$  ácido glucurónico.

#### Hidrólisis de GS

La hidrólisis ácida del compuesto GS se lleva a cabo con HCl 2N, calentando la mezcla de reacción a reflujo. Para



solubilizar totalmente el compuesto es necesario añadir unas gotas de EtOH. El transcurso de la reacción se sigue por c.c.f. y una vez finalizada, la aglicona se aísla, de la solución acuosa, por extracción con  $\text{Cl}_3\text{CH}$ .

La solución acuosa ácida, en la que queda el azúcar, se neutraliza usando la resina de intercambio iónico Lewatit M500 G2 (parte experimental, pág.272) y el azúcar se obtiene por eliminación total del agua a temperatura ambiente.

#### 5.1.5.c. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LA PARTE GLICOSIDICA DE GS.

La identificación definitiva del azúcar se realiza por CGL, previa transformación en su correspondiente trimetilsililéter (fig.105).

Los derivados sililados de los azúcares anoméricamente puros presentan un solo pico (110). Sin embargo, a causa de las condiciones de hidrólisis y las de trimetilsililación, pueden aparecer picos adicionales. Concretamente, en piridina, caliente, los azúcares anoméricamente puros, se equilibran, rápidamente, dando dos picos asignados a las formas  $\alpha$  y  $\beta$  del azúcar.

Además en el caso particular de la arabinosa, xilosa y galactosa aparece un tercer pico, correspondiente a la forma " $\gamma$ " del azúcar, atribuida al aldehído libre ó a la forma furanósica.

Por todo ello, los azúcares patrones se sometieron al mismo proceso de hidrólisis y trimetilsililación, dando lugar a los resultados que se detallan en la tabla VIII.

TABLA VIII

Resultados de la C.G.L. del azúcar de GS y los azúcares patrones

Azúcar problema			Glucosa patrón		
Pico	$t_{ret}$ (seg)	%	Pico	$t_{ret}$ (seg)	%
1( $\alpha$ )	7.36	69.84	1( $\alpha$ )	7.37	66.03
2( $\beta$ )	9.27	30.16	2( $\beta$ )	9.28	33.97

Nuestro azúcar problema presenta idéntico comportamiento cromatográfico que la glucosa.

5.1.5.d. AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LA AGLICONA DE GS.

La identificación de la aglicona de GS, obtenida por extracción con  $Cl_3CH$  tras la hidrólisis ácida, se realiza mediante comparación por C.G.L. con esteroides patrones.

Los patrones utilizados son: una mezcla de  $\beta$ -sitosterol y stigmasterol (111) y una mezcla de  $\beta$ -sitosterol y campesterol Fluka. Dichos patrones fueron sometidos al mismo procedimiento de hidrólisis que la aglicona problema.

La aglicona de GS exhibe 3 picos (fig.106), cuyos tiempos de retención y porcentajes relativos, se detallan en la tabla IX.

TABLA IX

Resultados de la C.G.L. de la aglicona de GS y los esteroides patrones.

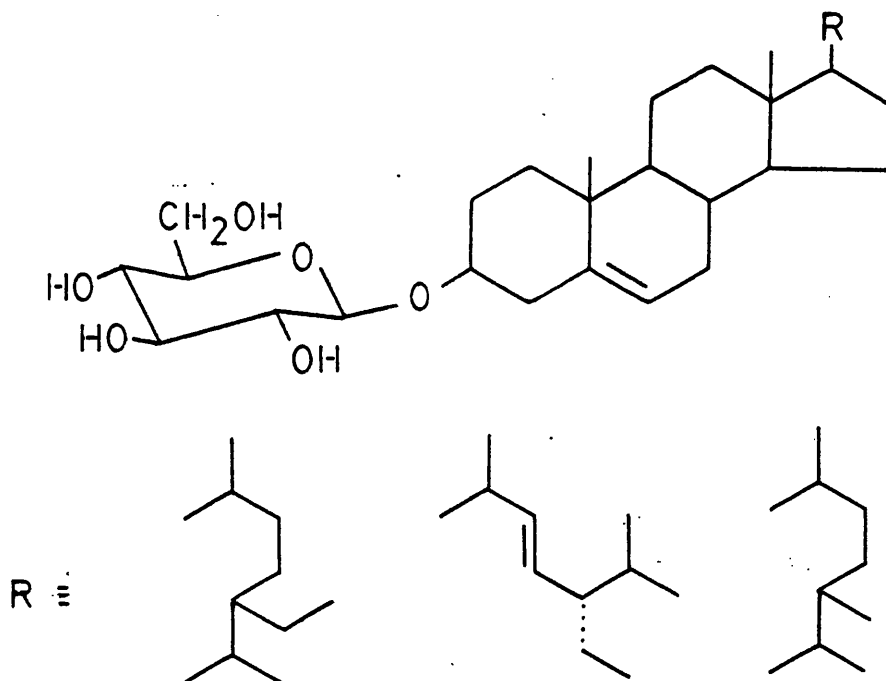
Pico	Aglicona problema		Patrones esteroides			
	$t_{ret}$ (seg)	%	$t_{ret}$ (seg)	%	$t_{ret}$ (seg)	%
Campesterol	6.32	20.13	6.29	44.05		
Stigmasterol	6.64	18.96			6.64	33.08
$\beta$ -Sitosterol	7.35	55.61	7.35	53.48	7.36	66.92

De esta forma concluimos que la aglicona presente en GS es una mezcla de  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol y campesterol.

5.1.5.e. DETERMINACION DEL TIPO DE UNION GLICOSIDICA EN GS

El tipo de unión ( $\alpha$  ó  $\beta$ ) se determina por el estudio del espectro de RMN del derivado acetilado del compuesto GS (fig.104), en el que aparece un doblete a  $\delta=4.60$  ppm, correspondiente al H del C anómero del azúcar (C-1'), con una constante de acoplamiento  $J=8$  Hz, característico de un acoplamiento trans-diaxial (entre los H en C-1' y C-2'), lo que demuestra la naturaleza  $\beta$  de la unión glicosídica (112-113), ya que, caso de tratarse de una unión  $\alpha$ , los H en C-1' y C-2' presentarían un acoplamiento cis-axial-ecuatorial, con  $J=2-3$  Hz, notablemente distinta de la obtenida en nuestro caso.

Del conjunto de datos físicos y espectrales (114-118), se le asigna al compuesto GS la estructura de glucósido de  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol y campesterol.



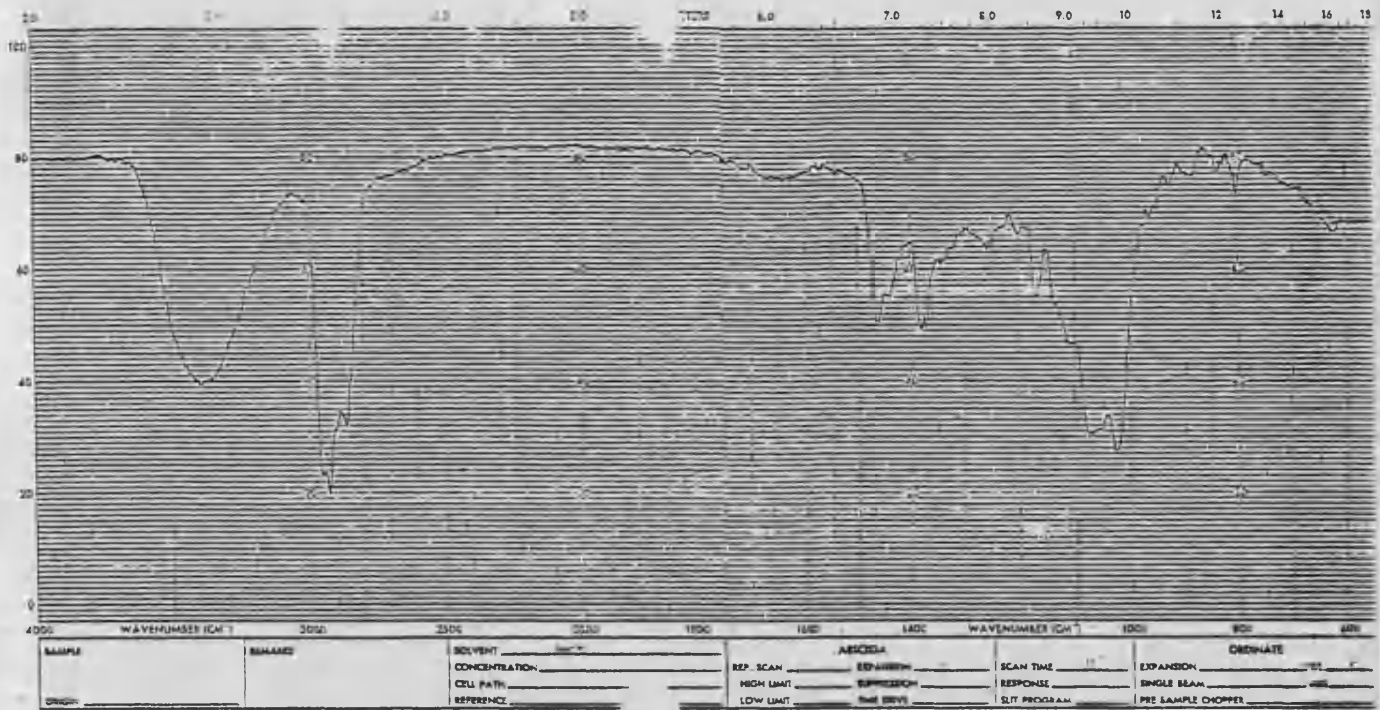


FIGURA 102: Espectro de IR de GS: Glucósido de  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol.

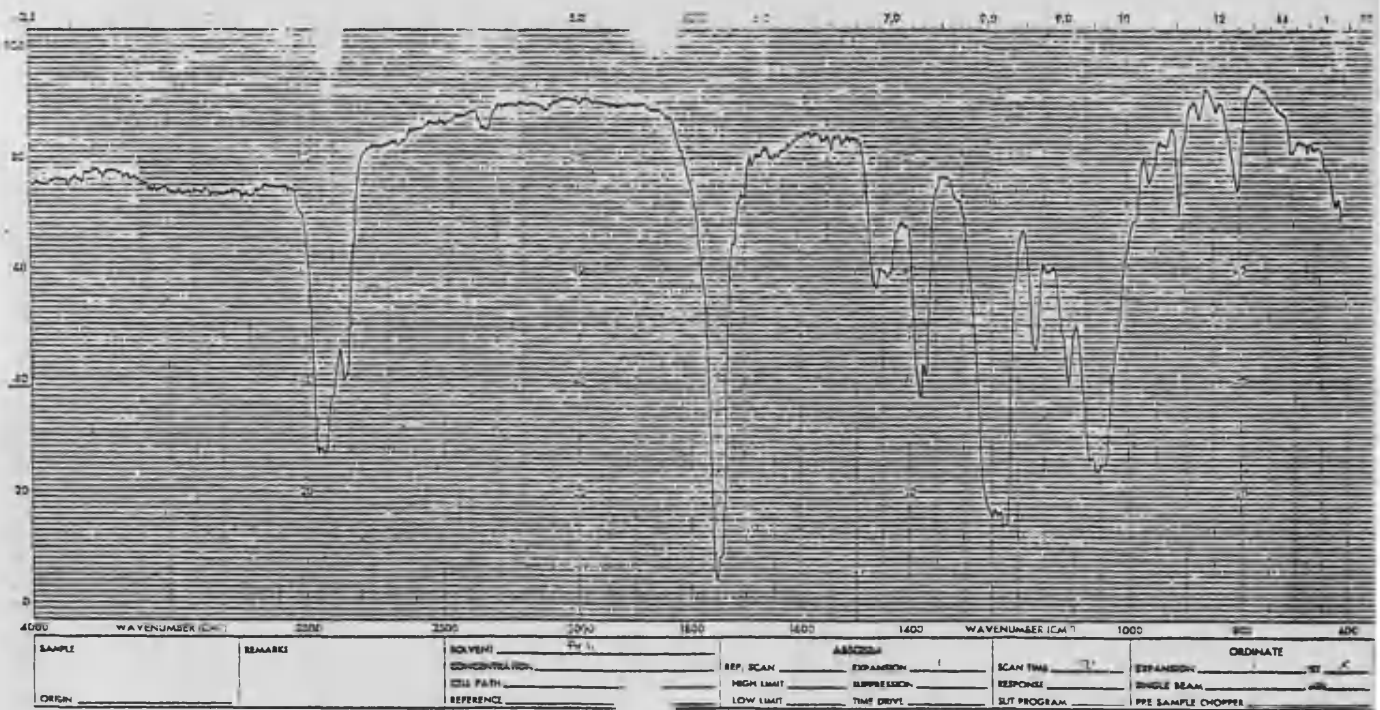


FIGURA 103: Espectro de IR de GS acetilado: Glucósido de  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol acetilado.



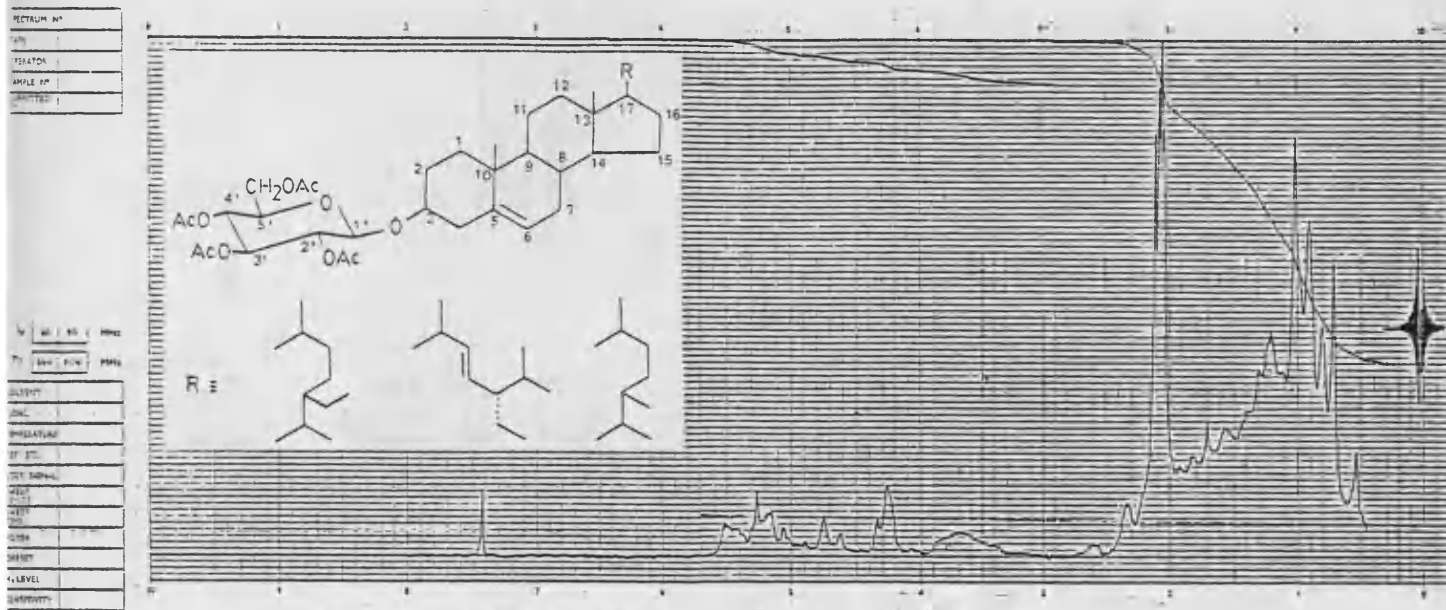
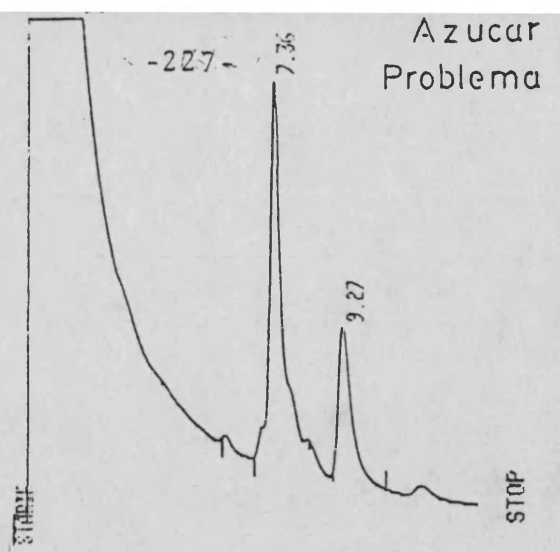
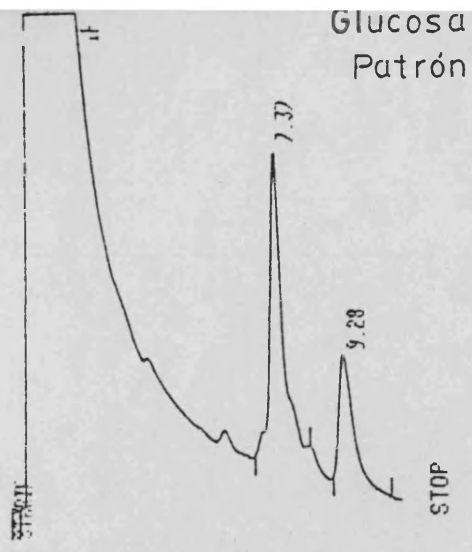


FIGURA 104: Espectro de RMN de GS acetilado: Glucósido de  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol acetilado.

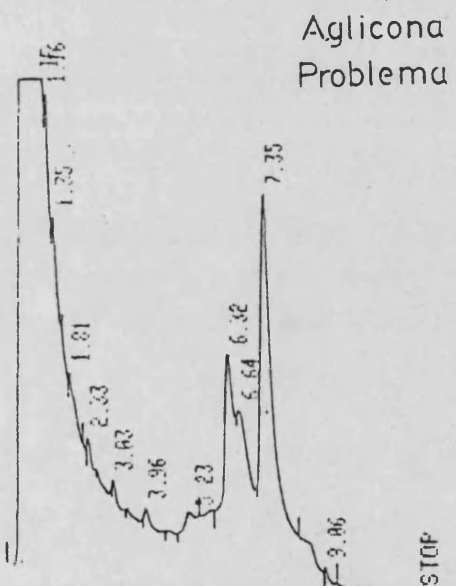
<u>Desplazamiento químico (<math>\delta</math>)</u>	<u>n<sup>o</sup>H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
5.55-5.00	1	multiplete	C=C-H
5.00-3.00	8	multiplete	H-C-O
4.60	1	doblete (J=8 Hz)	H <sub>ax</sub> -C <sub>1'</sub>
2.05-2.00	12	3 singletes	4 CH <sub>3</sub> -CO <sub>2</sub> -
1.00-0.70	18	4 singletes	6 CH <sub>3</sub> - angulares.





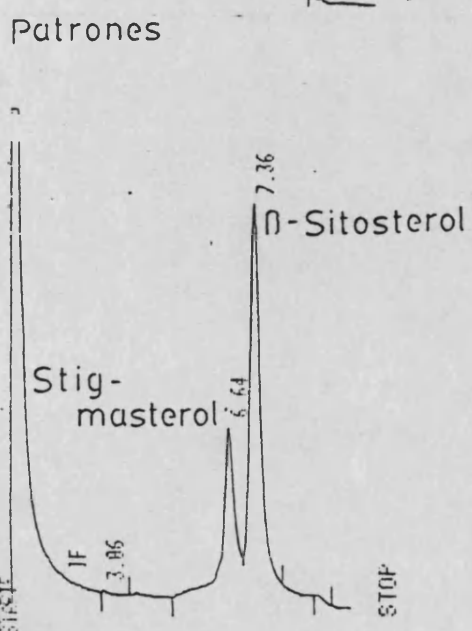
AREA%	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%	AREA%	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
	7.37	114730	PB	0.390	66.034		7.36	160070	EV	0.431	69.842
	9.28	59013	BB	0.462	33.966		9.27	69120	PB	0.456	30.158

FIGURA 105: Cromatografía gas-líquido de la parte glicosídica de GS: Glucosa.

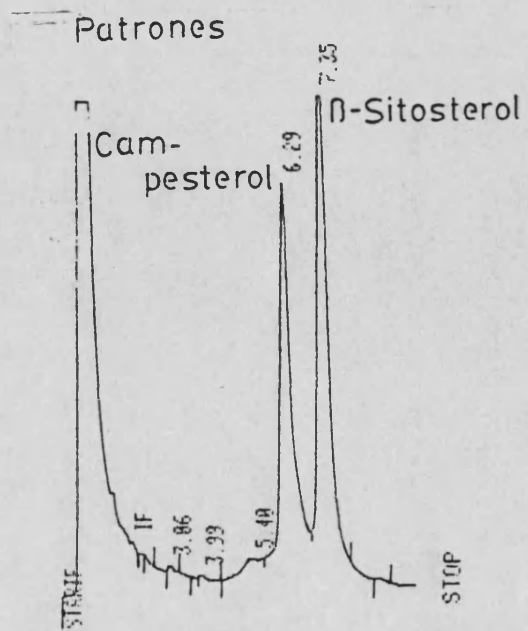


AREA%	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
	1.16	2600	BP	0.037	0.612
	1.35	2784	PB	0.048	0.655
	1.81	2299	BB	0.101	0.541
	2.33	2332	BP	0.081	0.666
	3.03	3573	PP	0.105	0.941
	3.96	4676	PP	0.155	1.100
	5.23	3759	PB	0.171	0.894
	6.32	85576	EV	0.276	20.131
	6.64	80605	VV	0.383	18.962
	7.35	236290	VB	0.370	55.600
	9.06	0	BD	0.000	0.000

FIGURA 106: Cromatografía gas-líquido de la aglicona de GS:  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol.



AREA%	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
	3.06	0	BB	0.000	0.000
	6.64	502320	PV	0.396	57.079
	7.36	1016200	VB	0.343	65.921



AREA%	RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
	3.06	2710	BB	0.124	2.207
	3.99	1549	PB	0.101	2.118
	5.40	28055	EV	0.416	7.142
	6.29	576910	VV	0.383	44.052
	7.35	260400	VB	0.349	53.481

5.2. ESTUDIO DE LA PARTE DE ACETATO DE ETILO DEL EXTRACTO METANOLICO. CROMATOGRAFIA DE COLUMNA.

La parte de acetato de etilo del extracto metanólico, presenta las siguientes bandas características en su espectro de IR (fig.107).

3360 $\text{cm}^{-1}$	tensión OH alcohol
3020-2840 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1700 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O
1610 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C de anillo aromático
1050 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O

La separación de los distintos componentes de la parte de acetato de etilo del extracto metanólico, se lleva a cabo por cromatografía de columna, sobre sílica-gel, utilizando como eluyentes hexano, acetato de etilo y metanol, en distintas proporciones.

Se recogen 251 fracciones de 100 ml, agrupándose las fracciones de comportamiento análogo por c.c.f., e ignorándose el estudio de aquellas que, por su complejidad y/o escasa cantidad, se consideran faltas de interés.

Es objeto de estudio del presente trabajo una sola agrupación, la constituida por el conjunto de fracciones 93-106, estudiada como GI<sub>II</sub> y ha resultado estar compuesta por Swertiamarina.

La identificación del resto de productos presentes en este extracto constituyen objeto de futuros trabajos.

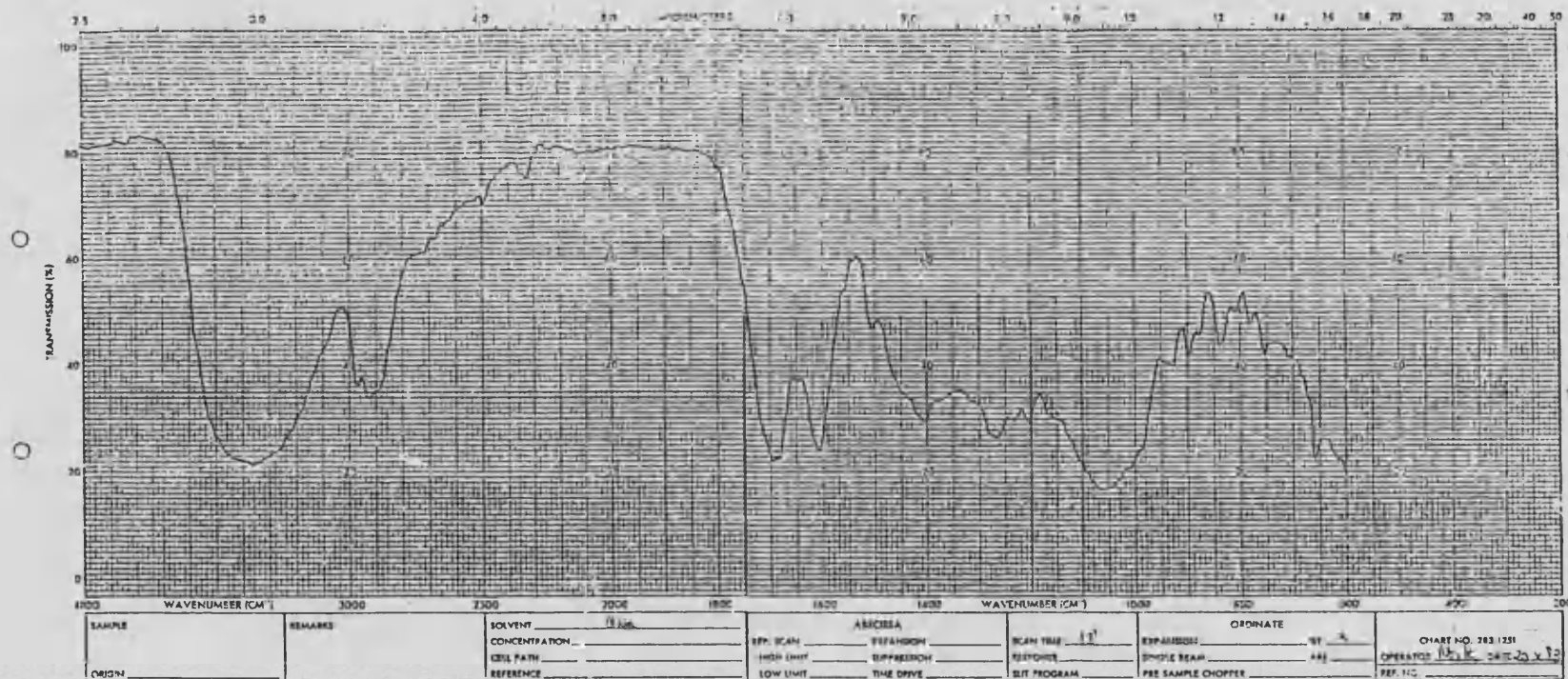


FIGURA 107: Espectro de IR de la parte de acetato de etilo del extracto metanólico.

### 5.2.1. ESTUDIO DE LA FRACCION $GI_{II}$ : SWERTIAMARINA. ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

De las fracciones 93-106, eluidas de la columna cromatográfica con acetato de etilo-metanol (90:10), se obtiene la agrupación  $GI_{II}$ .

Muestra una sola mancha en c.c.f. y tras purificación por nueva cromatografía de columna, con acetato de etilo como eluyente, rinde un sólido pulverulento blanco.

#### Interpretación del espectro de IR de $GI_{II}$

El espectro de IR de  $GI_{II}$  (fig.108), muestra las siguientes bandas características:

3400 $\text{cm}^{-1}$ (muy intensa)	tensión O-H alcohol
3020-2860 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1695 $\text{cm}^{-1}$ (ancha)	tensión C=O $\delta$ -lactona conjugada
1615 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C
1470 $\text{cm}^{-1}$	vibración $-\text{CH}_2-$
1410 $\text{cm}^{-1}$	deformación C=C-H en el plano
1270, 1235 y 1205 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O ésteres
1070 y 1010 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-O alcohol secundario
945 y 930 $\text{cm}^{-1}$	deformación C-H grupos vinilo
840 $\text{cm}^{-1}$	deformación $-\text{CH}=\text{C}'$ fuera del plano

Es un espectro característico de un glicósido con una fuerte absorción hidrofílica (3400, 1070 y 1010  $\text{cm}^{-1}$ ). Posee un solo carbonilo y varios dobles enlaces, de los que, por lo menos uno, debe tratarse de un grupo vinilo (dos bandas a 945 y 930  $\text{cm}^{-1}$ ).

Este espectro posee características análogas al de  $GI_I$  con una marcada diferencia: ausencia de bandas aromáticas y presencia de un solo carbonilo a 1695  $\text{cm}^{-1}$ .

#### Interpretación del espectro de RMN de $GI_{II}$

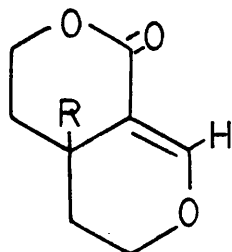
El espectro de RMN de  $GI_{II}$  (fig.109), realizado  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.57	1	singlete	$\text{>C=CH-O}$
5.79	1	doblete ( $J=1.3$ Hz)	$\text{CH-CH}$ $\diagup$ O $\diagdown$ O
5.52-5.34	3	multiplete	$\text{CH}_2=\text{CH-}$
5.43	1	doblete ( $J=10$ Hz)	$\text{O}$ $\diagdown$ CH-CH carbono $\diagup$ O anomérico
4.89-3.99	6	multiplete	{ 4 H-C- glicósido   do OH -CH <sub>2</sub> -OCO
3.84	2	singlete ancho	HO-CH <sub>2</sub> -glicósido do
3.13-2.99	1	multiplete	CH $\diagdown$ CH-CH=
1.78	2	triplete ( $J=3.3$ Hz)	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> OCO

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

No posee protones aromáticos.

La señal a  $\delta=7.57$  ppm corresponde al protón de C<sub>3</sub> de un anillo de iridoide, con sustituyentes electronegativos en posiciones contiguas y que no acopla con ningún otro protón (11,24,25).



$R \neq H$

Aparecen un grupo de señales correspondientes a los grupos  $\text{CH-}$  de un azúcar, destacando a 5.43 ppm un doblete con  $J=10$  Hz que corresponderá al hidrógeno que sostiene el carbono anomérico. Debido a esa constante podemos decir que la unión del azúcar es  $\beta$ , ya que el acoplamiento es transdiaxial (112,113 ).

Posee, también, un grupo vinilo, que resuena dando un multiplete no resuelto.

Las demás señales que se observan son debidas a grupos CH y  $\text{CH}_2$  de un anillo iridoidal.

#### Espectro de U.V. de $\text{GI}_{II}$

El espectro de U.V. de  $\text{GI}_{II}$  (fig.110), realizado en metanol, presenta un solo máximo de absorción a  $\lambda_{\text{max}}(\text{nm})=238$ .

El estudio completo del compuesto  $\text{GI}_{II}$  se llevó a cabo por la obtención de su derivado acetilado con los datos que a continuación se detallan.

#### 5.2.1.a. ESTUDIO DEL DERIVADO ACETILADO DE $\text{GI}_{II}$ . ANALISIS ESPECTROSCOPICO.

Se procedió a acetilar  $\text{GI}_{II}$ , con anhídrido acético y piridina, según se describe en la parte experimental (pág.<sup>276</sup>). El producto, así obtenido, se purifica por cristalización de metanol, rindiendo un sólido cristalino blanco, de punto de fusión 170-173°C.

#### Interpretación del espectro de IR del acetato de $\text{GI}_{II}$

El espectro de IR del derivado acetilado de  $\text{GI}_{II}$  (fig. 111), muestra las siguientes bandas características:

3550 $\text{cm}^{-1}$	tensión O-H (no asociado)
3080 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H de grupo vinilo
3040-2850 $\text{cm}^{-1}$	tensión C-H olefínica y alifática
1750 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O ester alifático
1705 $\text{cm}^{-1}$	tensión C=O $\delta$ -lactona insaturada
1620 $\text{cm}^{-1}$	vibración C=C

1480 cm <sup>-1</sup>	deformación -CH <sub>2</sub> -
1430 y 1410 cm <sup>-1</sup>	deformación C=C-H en el plano
1375 cm <sup>-1</sup>	deformación C-CH <sub>3</sub> simétrica
1265, 1230 y 1210 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O ésteres
1075, 1055 y 1030 cm <sup>-1</sup>	tensión C-O alcohol secundario
1000 cm <sup>-1</sup>	vibración de sistemas cíclicos
945 y 925 cm <sup>-1</sup>	deformación C-H grupos vinilo
845 cm <sup>-1</sup>	deformación -CH=C fuera del plano

Lo más característico de este espectro es la aparición de una intensa banda carbonílica, debida a la tensión C=O de los grupos acetato (1750 cm<sup>-1</sup>) y la persistencia de una aguda banda hidroxílica (3550 cm<sup>-1</sup>), lo que indica la posible existencia en GI<sub>II</sub> de un hidroxilo terciario.

Interpretación del espectro de RMN del acetato de GI<sub>II</sub>

El espectro de RMN del derivado acetilado de GI<sub>II</sub> (fig. 112), realizado en Cl<sub>3</sub>CD, presenta las siguientes señales:

<u>Desplazamiento δ</u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
7.56	1	singlete	$\text{>C=CH-O-}$
5.53	1	doblete (J=1.3 Hz)	$\text{CH-CH} \begin{matrix} \diagup \text{O} \\ \diagdown \text{O} \end{matrix}$
5.48-4.97	4	multiplete	$\left\{ \begin{array}{l} \text{CH}_2=\text{CH-} \\ \text{O} \diagdown \text{CH-CH} \text{ carbono} \\ \text{O} \diagup \text{O} \text{ anomérico} \end{array} \right.$
4.89-4.27	8	multiplete	$\left\{ \begin{array}{l} 4 \text{ H-C-glicósido} \\ \text{OCOCH}_3 \\ \text{-CH}_2\text{OCO} \\ \text{H}_2\text{-C-glicósido} \\ \text{OCOCH}_3 \end{array} \right.$
3.78	1	singlete ancho	$\text{HO-C} \begin{matrix} \diagup \\ \diagdown \end{matrix}$



<u>Desplazamiento <math>\delta</math></u>	<u>Integración</u>	<u>Desdoblamiento</u>	<u>Posible asignación</u>
2.99	1	multiplete	$\begin{array}{c} \text{CH} \\ \diagdown \\ \text{CH}-\text{CH}=\end{array}$
2.10	12	singlete	$\text{CH}_3\text{COO}-$
2.04		singlete	$\text{CH}_3\text{COO}-$
2.01		singlete	$\text{CH}_3\text{COO}-$
2.00		singlete	$\text{CH}_3\text{COO}-$
1.82	2	multiplete	$\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OCO}$

Del espectro de RMN se deducen las siguientes conclusiones:

Se hace presente, de nuevo, el singlete a 7.56 ppm, señal característica para el protón en  $\text{C}_3$  de un anillo secoiridoidal que no da acoplamiento como lo hacía en la Decentapicrina A (ver pág. 206).

A 3.78 ppm aparece un singlete ancho asignable a un OH (posiblemente terciario) que no ha sido acetilado.

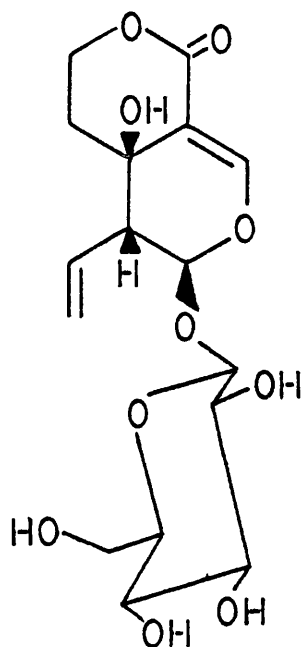
De 2.0 a 2.1 ppm resuenan cuatro acetoxilos correspondientes a la parte glicosidada de  $\text{GI}_{\text{II}}$ .

#### Espectro de U.V. del acetato de $\text{GI}_{\text{II}}$

El espectro U.V. del derivado acetilado de  $\text{GI}_{\text{II}}$  (fig. 113), realizado en metanol, presenta un solo máximo de absorción a  $\lambda_{\text{max}}$  (nm)=233.

Los datos obtenidos para  $\text{GI}_{\text{II}}$  y su derivado acetilado son del todo concordantes con los dados por la bibliografía para la Swertiamarina (5-hidroxiswerósido) (11,119,120), siendo los datos más característicos para su identificación (frente a otros posibles glicósidos secoiridoidales) la presencia de ese hidroxilo terciario que no se acetila y que hace que el  $\text{C}_3$ -H no acople alilícamente como lo hacía en la Decentapricina A y la existen-

cia de un sólo máximo de absorción en su espectro U.V.



GI<sub>II</sub> Swertiamarina

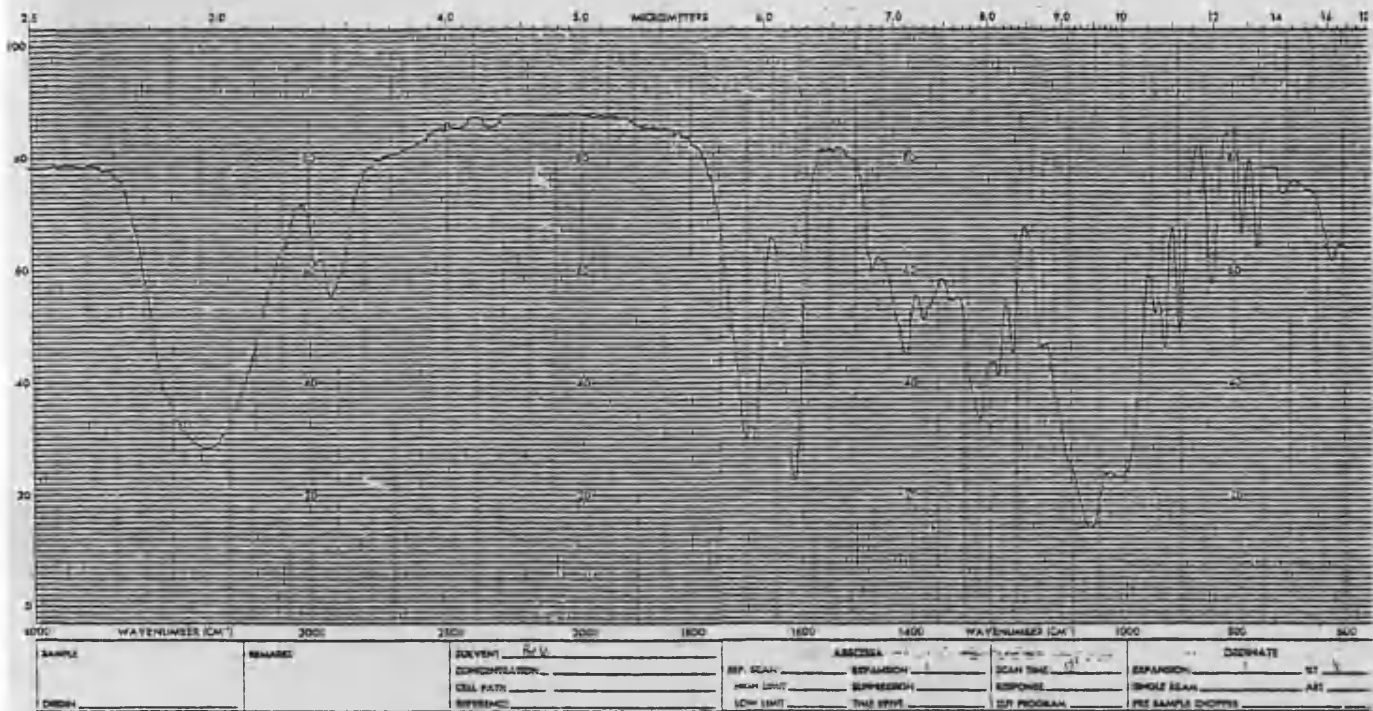


FIGURA 108: Espectro de IR de GI<sub>II</sub>: Swertiamarina.

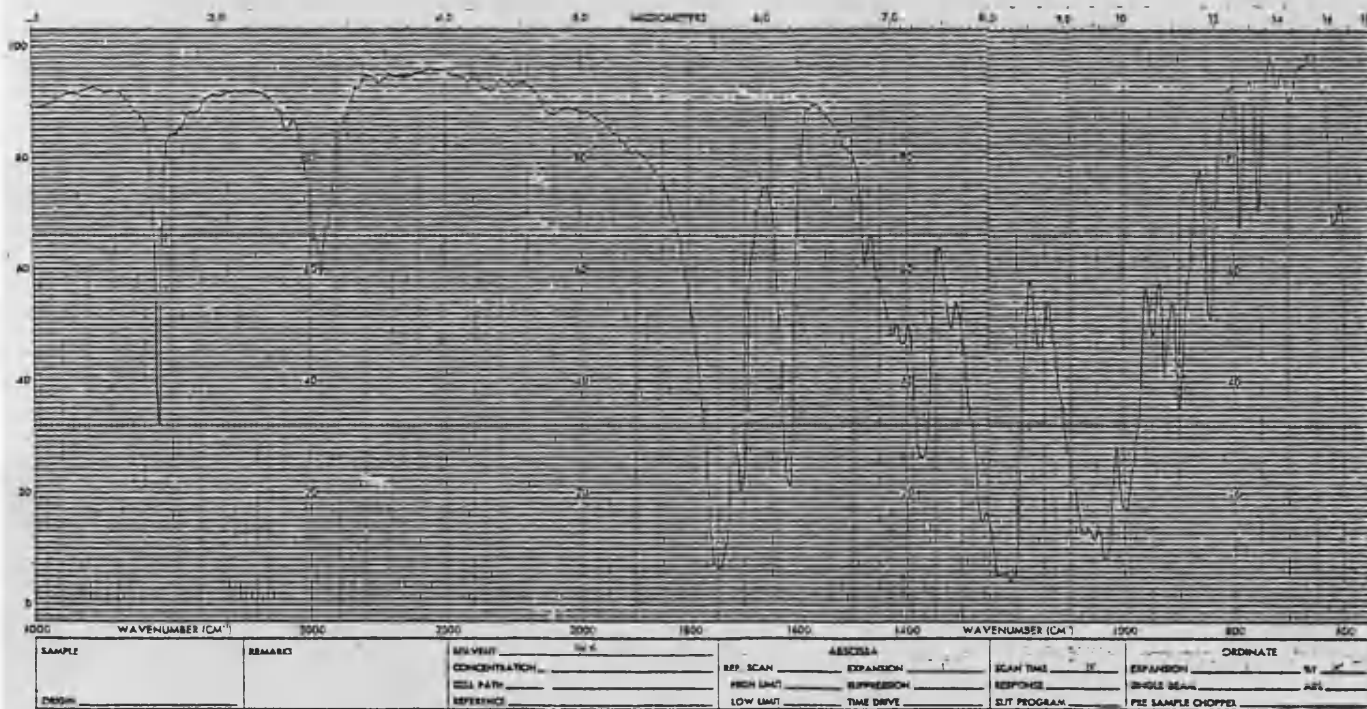


FIGURA 111: Espectro de IR de GI<sub>II</sub> acetilada: Swertiamarina acetilada.

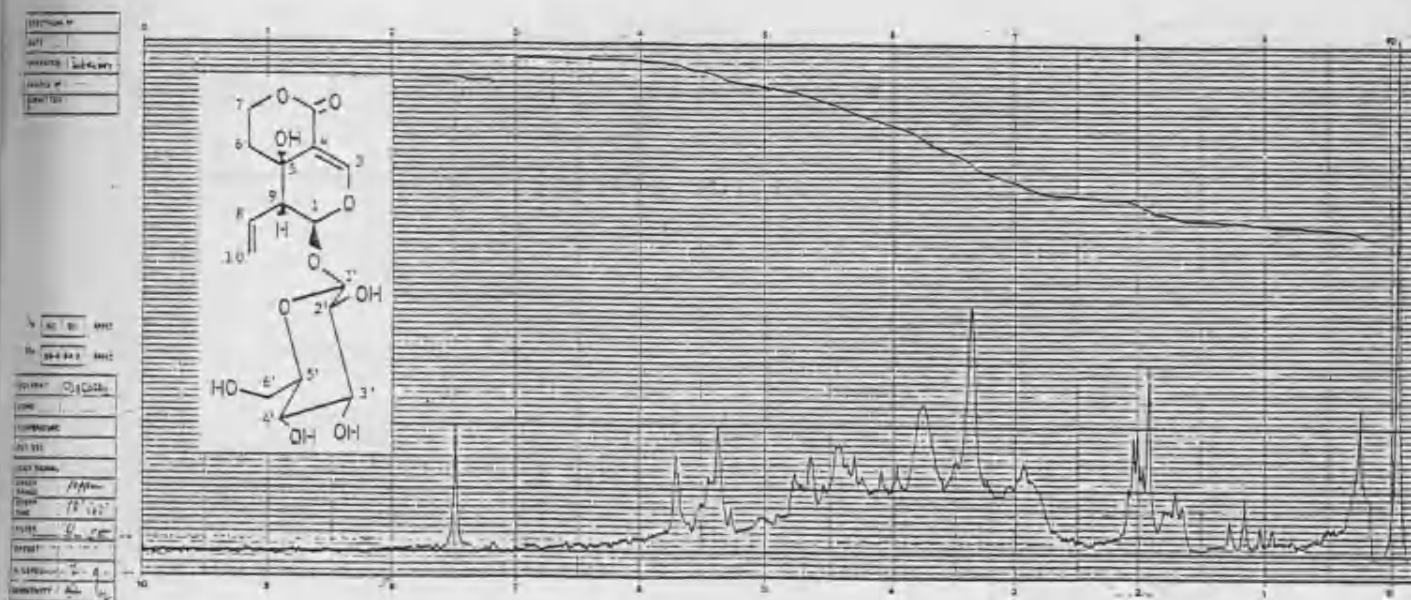


FIGURA 109: Espectro de RMN de GI<sub>II</sub>: Swertiamarina.

<u>Desplazamiento químico (δ)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
7.57	1	singlete	H-3
5.79	1	doblete (J=1.3 Hz)	H-1
5.52-5.34	3	multiplete	H-8 y 2H-10
5.43	1	doblete (J=10 Hz)	H-1'
4.89-3.99	6	multiplete	H-2', H-3', H-4', H-5'
3.84	2	singlete ancho	2 H-6'
3.13-2.99	1	multiplete	H-9
1.78	2	triplete (J=3.3 Hz)	2H-6



FIGURA 110  
Espectro de UV de GI<sub>II</sub>: Swertiamarina.

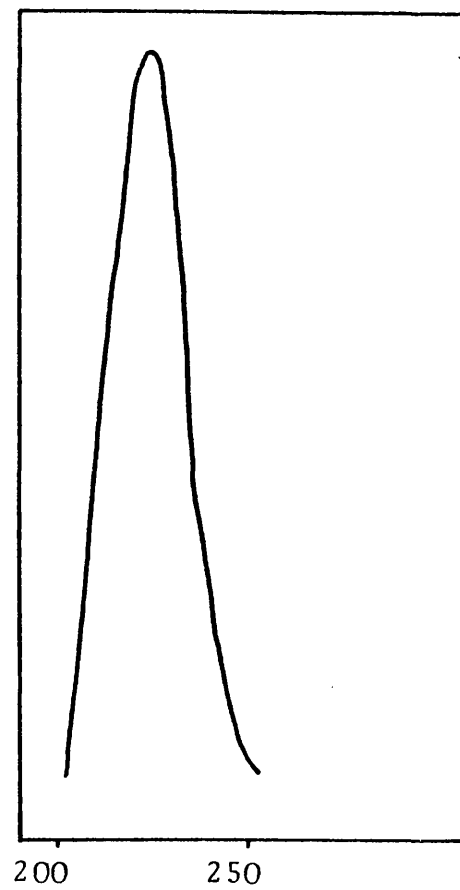


FIGURA 113  
Espectro de UV de GI<sub>II</sub> acetilada:  
Swertiamarina acetilada.

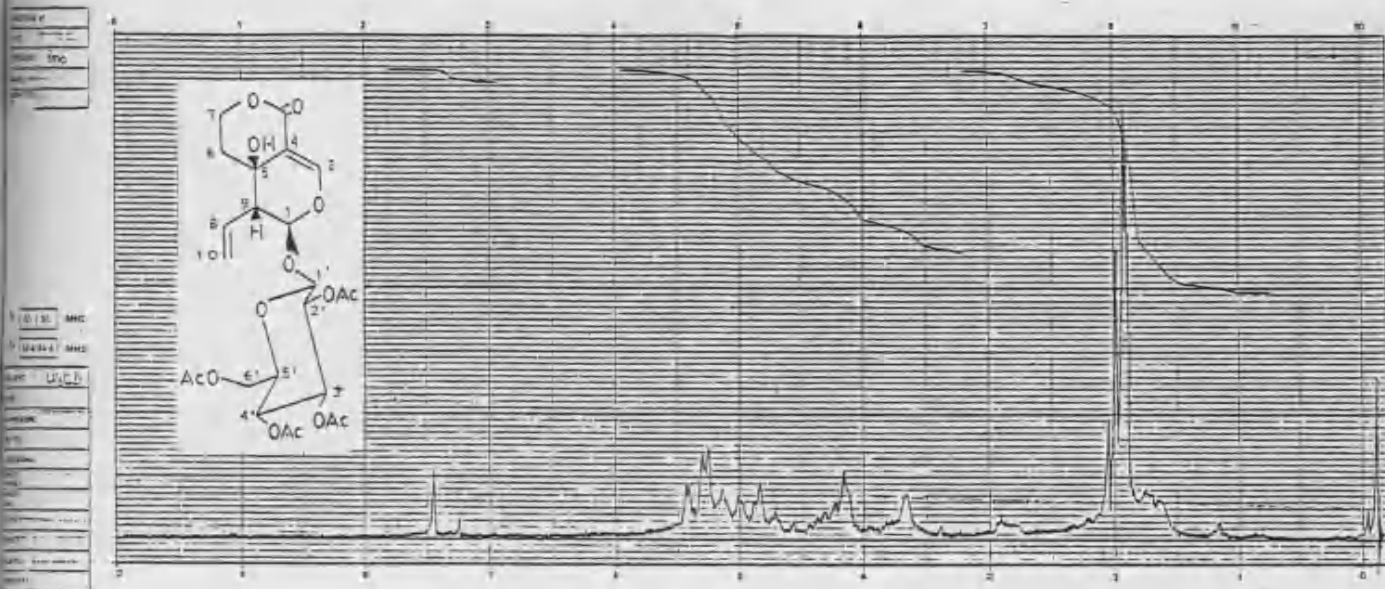


FIGURA 112: Espectro de RMN de GI<sub>II</sub> acetilada: Swertiamarina acetilada.

<u>Desplazamiento- químico (δ)</u>	<u>n°H</u>	<u>Acoplamiento</u>	<u>Asignación</u>
7.56	1	singlete	H-3
5.53	1	doblete (J=1.3 Hz)	H-1
5.48-4.97	4	multiplete	H-8, 2H-10, H-1'
4.89-4.27	8	multiplete	H-2', H-3', H-4', H-5', H-6' y 2H-7
3.78	1	singlete ancho	OH-5
2.99	1	multiplete	H-9
2.10	12	singlete	4-OCOCH <sub>3</sub>
2.04		singlete	
2.01		singlete	
2.00		singlete	
1.82	2	multiplete	2H-6

## 6. PARTE EXPERIMENTAL

## 6.1. TECNICAS GENERALES

Para las cromatografías cualitativas de capa fina se utilizó sílica-gel HF<sub>254+366</sub> (ref. 7741 Merck), con un espesor de 0.25 mm, preparadas en el laboratorio con un aplicador Desaga. Para las cromatografías preparativas se utilizó sílica-gel PF<sub>254+366</sub> (ref. 7748 Merck), con un espesor de 1 mm sobre una superficie de placa de 20x20 cm, preparadas de forma análoga a las anteriores (121).

Las placas se visualizan empleando los siguientes reveladores:

- a) Observadas bajo la luz de 254 y 366 nm.
- b) Como revelador universal se utiliza H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50%, calentando a 110°C.
- c) Para detectar la presencia de xantonas se somete la placa a vapores de amoníaco, observándose luego a la luz visible.
- d) Para revelar azúcares se utiliza una solución de timol (0.5 gr de timol en 95 ml de etanol), a la que se añaden 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (122).

Para la cromatografía en columna se utiliza sílica-gel 60 de 0.063-0.200 mm (ref. 7734 Merck).

Los cromatogramas de gases se realizan en un cromatógrafo Perkin-Elmer 3920b, con detector de llama de ionización y utilizando helio como gas portador. La columna utilizada fue la OV-15% sobre chromosorb W-AW, DMCS.

Las condiciones de temperatura de columna, inyector y detector y flujo de gas portador se indican en cada uno de los cromatogramas.

Los puntos de fusión se determinaron en un microscopio de platina calefactora tipo Kofler, de la casa Reichert, y en un aparato de determinación de puntos de fusión según el Dr. Tottoli, de la casa Buchi. Los puntos de fusión están sin corregir.



Los espectros de I.R. se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 281, que abarca la región de 4.000 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , utilizándose pastillas de KBr para las sustancias sólidas y en película de líquido puro entre cristales de NaCl para líquidos ó sólidos pastosos, siendo la velocidad de recorrido de 12 minutos.

Los espectros de U.V. se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Coleman 575, con una velocidad de registro de 10 nm/cm y 50 cm/min. Se utilizaron cubetas de cuarzo de 1 cm de espesor y 3 ml de capacidad.

Las actividades ópticas se obtuvieron en un polarímetro Perkin-Elmer mod. 141.

Los espectros de  $^1\text{H}$  R.M.N. se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer R-12B (60 MHz), utilizándose disolventes deuterados y siendo el tetrametilsilano la referencia interna. Solo los espectros de los compuestos F y H de las fracciones  $X_{IV}$  y  $X_{VI}$ , respectivamente, se realizaron en un espectrofotómetro Varian Aerograph CFT-20 (80 MHz), del departamento de Química Orgánica de la Facultad de Químicas de Santiago de Compostela (España). La posición de las señales se dá en valores  $\delta$ . El espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN del compuesto  $GI_I$  se ha relizado en un espectrofotómetro Bruker AC-200 (200 MHz).

Los espectros de masas se relizaron en un aparato Varian-160, operando con una energía de ionización de 70 eV, del Organisch Chemischen Institut der Universiten Wien (Austria).

## 6.2. ESTUDIO DEL EXTRACTO HEXANICO. SEPARACION DE SUS COMPONENTES.

La planta, Centaureum linarifolium (Lamark) G. Beck, fue recogida en Simat de Valldigna (Valencia) en los meses de Junio y Julio, rindiendo, tras secar y triturar, un peso de 3.356 Kg.

Una vez seca y finamente molida se extrajo exhaustivamente, en un soxhlet con hexano. Este extracto hexánico, concentrado a sequedad, da lugar a un sólido pastoso de color marrón oscuro, que pesó 191.80 gr (5.72% respecto a la cantidad de planta seca extraída).

Este sólido se redisuelve en alcohol etílico caliente y se deja reposar. Por enfriamiento precipita la parte cerosa, que se separa por filtración. El peso de esta parte fue de 6.77 gr, que corresponde a un 3.53% del extracto hexánico y a un 0.20% respecto a la planta seca extraída.

La parte disuelta en alcohol caliente se concentra a sequedad, se interpone en una disolución acuosa de NaOH al 5% y se extrae varias veces, con éter etílico. Esta fase orgánica, conteniendo los productos neutros, se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra a sequedad, rindiendo 87.36 gr (45.0% del extracto hexánico y 2.6% respecto a la cantidad de planta seca extraída).

La fase acuosa se acidifica con HCl hasta pH ácido, liberando así los productos ácidos y fenólicos, y es reextraída con éter etílico. Esta fase orgánica se interpone con una disolución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 5%. La fase orgánica, conteniendo ahora solo los productos fenólicos, se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra a sequedad, rindiendo 3.502 gr, que corresponden a un 1.83% del extracto hexánico y un 0.10% respecto a la cantidad de planta seca extraída.

La fase acuosa alcalina, que contiene los productos ácidos fuertes, se acidifica con HCl hasta pH ácido para li-

berarlos, y se extrae con éter etílico. La fracción ácida, una vez seca y concentrada, rindió 17.26 gr, correspondiendo a un 9.0% del extracto hexánico y a un 0.51% respecto al total de planta seca extraída.

Mediante el estudio por cromatografía de capa fina de las distintas agrupaciones obtenidas del extracto hexánico, se eligió la parte fenólica, como más interesante, para proceder a su estudio.

Estudio de los componentes fenólicos del extracto hexánico.

Fraccionamiento por cromatografía de columna.

3.502 gr de compuestos fenólicos se cromatografían en columna sobre sílica-gel, eluyendo con mezclas de hexano-éter etílico de polaridad creciente.

Se recogen 115 fracciones de 100 ml, que se reagrupan según su similar comportamiento en c.c.f.; de este modo se obtienen seis agrupaciones de fracciones, según se resume en la tabla X.

El resto de fracciones, que no se indican, presentaron gran complejidad y/o escasa cantidad.

TABLA X

Fraccionamiento por cromatografía de columna de los componentes fenólicos del extracto hexánico.

<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Eluyente</u>	<u>Compuestos (Peso)</u>
X <sub>I</sub>	20-25	H:E(80:20)	A(118 mgr.) + B(24 mgr.)
X <sub>II</sub>	26-40	H:E(80:20)	A(63 mgr.) + C(11 mgr.)
X <sub>III</sub>	57-75	H:E(75:25)	D(43 mgr.)
X <sub>IV</sub>	80-85	H:E(50:50)	E(43 mgr.) + F(6 mgr.)
X <sub>V</sub>	88-92	H:E(45:55)	G(208 mgr.)
X <sub>VI</sub>	93-95	H:E(45:55)	H(4 mgr.)

### 6.2.1. ESTUDIO DE LA FRACCION X<sub>I</sub>: SEPARACION DE LOS COMPUESTOS A Y B.

El conjunto de fracciones 20-25, eluidas con hexano-éter(80:20) dá lugar, tras cristalización con CHCl<sub>3</sub>/EtOH, a un compuesto cristalino amarillo al que denominamos A. Las aguas madres, reedisueltas en acetona, dieron lugar a un producto cristalino amarillo, de características físicas y espectrales diferentes a las del anterior, que denominamos B.

#### 6.2.1.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO A: 1,8-DIHIDROXI-2,3,4,6-TETRAMETOXIXANTONA.

El compuesto A, obtenido de la forma antes indicada, mostró un aspecto cristalino de color amarillo, de punto de fusión 173-174°C, con un peso de 118 mgr, que corresponde a un 0.6% respecto al extracto hexánico y a un 0.0035% respecto al total de planta seca extraída.

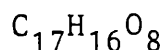
#### Cálculo de la fórmula empírica de A a partir del espectro de masas.

En el espectro de masas del compuesto A (fig. 7) los porcentajes de los picos correspondientes a los iones M<sup>+</sup>, (M+1)<sup>+</sup> y (M+2)<sup>+</sup> son respectivamente 86.12, 16.17 y 2.89.

Por aplicación de las fórmulas detalladas en la parte teórica (pág. 48) se obtienen para A los siguientes datos:

$$\begin{aligned} n &= 17 \text{ átomos de carbono} \\ m &= 8 \text{ átomos de oxígeno} \end{aligned}$$

Dado que el peso molecular es 348, el número de hidrógenos, calculado por diferencia, es 16, con lo que la fórmula empírica resultó ser:



#### Cálculo de los coeficientes de extinción de A

La preparación y obtención de los espectros de U.V. de A se realiza como hemos descrito en la parte teórica (pág. 34)

0.32 mgr. de la xantona A, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{\max}$ (nm)	234	259	333
A	0.264	0.381	0.246
$\log \epsilon$	4.01	4.05	4.16

#### Preparación del derivado acetilado de A.

30 mgr de A se disuelven en 3 ml de piridina anhidra, agregando a continuación 1 ml de anhídrido acético y dejándola a temperatura ambiente durante 40 horas. Pasado este tiempo se vierte la mezcla de reacción sobre agua, se acidifica con HCl 2N y se extrae varias veces con cloroformo. Las capas orgánicas unidas se lavan, primero con solución acuosa de bicarbonato sódico y luego con agua, hasta pH neutro, se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentra a sequedad.

El residuo que se purifica por cristalización de metanol, da 24 mgr. de un producto blanco de punto de fusión 144-145°C.

#### Preparación del derivado dimetilado de A.

30 mgr de A se disuelven en 15 ml de acetona seca, a la que se añade 60 mgr de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro y 0.6 ml de  $\text{Me}_2\text{SO}_4$ . La mezcla de reacción se mantiene a reflujo durante 16 horas. Pasado este tiempo se filtra la mezcla para eliminar el  $\text{K}_2\text{CO}_3$  que permanece insoluble. Se deja que la disolución se evapore casi a sequedad para posteriormente, hidrolizar con amoníaco

acuoso durante una hora. Se extrae con cloroformo, se seca con  $MgSO_4$  y se concentra a sequedad (57, 123).

El residuo que se obtiene se purifica por cromatografía de capa fina preparativa, eluida con hexano-éter etílico (25:75), dando lugar a 19 mgr de un producto pulverulento de punto de fusión 156-158°C.

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de A y de sus derivados, se le asigna la estructura 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona.

#### 6.2.1.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO B: 1,8-DIHIDROXI-3,4,6-TRIMETOXIXANTONA.

El compuesto B, obtenido de la forma indicada en el apartado 6.2.1. mostró un aspecto pulverulento amarillo, de punto de fusión 225-227°C, con un peso de 24 mgr, que corresponde a un 0.013% respecto al extracto hexánico y un 0.0007% respecto al total de planta seca extraída.

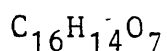
#### Cálculo de la fórmula empírica de B a partir del espectro de masas.

En el espectro de masas del compuesto B (fig. 17) los porcentajes de los picos correspondientes a los iones  $M^+$ ,  $(M+1)^+$  y  $(M+2)^+$  son respectivamente 49.12, 8.74 y 1.47.

El número de carbonos y oxígenos calculados a partir de las fórmulas anteriormente descritas (pág. 48) resultan ser:

$$\begin{aligned}n &= 16 \text{ átomos de carbono} \\m &= 7 \text{ átomos de oxígeno.}\end{aligned}$$

Dado que el peso molecular es de 318, el número de hidrógenos, calculado por diferencia, es 14, con lo que la fórmula empírica resultó ser:



Cálculos de los coeficientes de extinción de B.

La preparación y obtención de los espectros de U.V. de B se realiza como ya hemos descrito (pág. 34 ). 0.19 mgr de la xantona B, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34 , dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	232	254	333
A	0.127	0.137	0.059
$\log \epsilon$	3.72	3.76	3.39

Preparación del derivado acetilado de B.

El derivado acetilado de B, se obtiene haciendo reaccionar 10 mgr de B con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina según el método descrito con anterioridad (pág. 246).

Por cristalización de acetona obtenemos 9 mgr de un sólido blanco de punto de fusión 177-178°C.

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de B y su derivado acetilado, se le asigna la estructura de 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona.

6.2.2. ESTUDIO DE LA FRACCION X<sub>II</sub>: SEPARACION DE LOS COMPUESTOS A Y C.

El conjunto de fracciones 26-40, eluidas con hexano-éter (80:20) da lugar, tras cristalización de acetona a un producto cristalino amarillo, de punto de fusión y caracteres espectroscópicos idénticos al compuesto A, descrito en el apartado 6.2.1.1. Se obtuvieron 63 mgr que con los 118 mgr de la fracción X<sub>I</sub> hacen un total de 181 mgr, lo que corresponde a un 0.094% del extracto hexánico y a un 0.0054% respecto al total de planta seca extraída.

Las aguas madres de esta fracción, reedisueltas en acetona, rindieron unas agujas amarillo-naranja, con características físicas y espectrales distintas a las del compuesto A y que denominamos C.

6.2.2.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO C: 1,8-DIHIDROXI-2,6-DIMETOXIXANTONA.

El compuesto C, obtenido de la forma anteriormente indicada, mostró un aspecto cristalino en forma de agujas amarillo-naranja, de punto de fusión 187-189°C con un peso de 11 mgr, que corresponde a un 0.006% respecto al extracto hexánico y a un 0.0003% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de C a partir del espectro de masas.

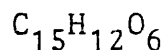
En el espectro de masas del compuesto C (fig. 25), los porcentajes de los picos correspondientes a los iones  $M^+$ ,  $(M+1)^+$  y  $(M+2)^+$  son respectivamente 86.45, 14.75 y 2.35.

El número de carbonos y oxígenos calculados a partir de las fórmulas anteriormente descritas (pág. 48) resultan ser:

$$\begin{aligned}n &= 15 \text{ átomos de carbono} \\m &= 6 \text{ átomos de oxígeno.}\end{aligned}$$



Dado que el peso molecular es de 288, el número de hidrógenos, calculado por diferencia, es 12, con lo que la fórmula empírica resultó ser:



Cálculo de los coeficientes de extinción de C.

La preparación y obtención de los espectros U.V. de C se realiza como ya hemos descrito (pág. 34). 0.08 mgr, de la xantona C, disueltos en 10 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{max}$ (nm)	240	263	330
A	1.144	1.320	0.763
log $\epsilon$	4.61	4.68	4.44

Preparación del derivado acetilado de C.

El derivado acetilado de C se obtiene haciendo reaccionar 10 mgr de C con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método descrito en la pág. 246.

Por cristalización de acetona obtenemos 9 mgr de un producto blanco de punto de fusión 205-207°C.

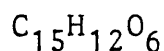
Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de C y su derivado acetilado, se le asigna la estructura de 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona.

6.2.3. ESTUDIO DE LA FRACCION  $X_{III}$ . COMPUESTO D: 1,6-DIHIDRO-  
XI-3,5-DIMETOXIXANTONA.

El conjunto de fracciones 57-75, eluidas con hexano-éter (75:25) da lugar, tras cristalización con acetona, a unas agujas amarillas, de punto de fusión 194-196°C, con un peso de 43 mgr, que corresponde a un 0.022% respecto al extracto hexánico y a un 0.0013% respecto del total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica a partir del espectro de masas.

En el espectro de masas del compuesto D (fig. 32), el ión molecular es 288, concordante con la fórmula empírica:



Cálculo de los coeficientes de extinción de D.

La preparación y la obtención de los espectros se realiza como ya hemos descrito (pág.34 ). 0.52 mgr de la xantona D, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales aplicados a la fórmula de la pág. 34 , dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{max}$ (nm)	242	280	313
A	2.365	0.536	1.273
log $\epsilon$	3.73	3.79	3.84

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de B se le asigna la estructura de 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona.

6.2.4. ESTUDIO DE LA FRACCION X<sub>IV</sub>: SEPARACION DE LOS COMPUESTOS E Y F.

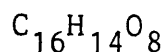
El conjunto de fracciones 80-85, eluidas con hexano-éter (50:50) da lugar, tras cristalización de metanol, a un sólido pulverulento amarillo al que denominamos E. Las aguas madres, sometidas a una cromatografía de capa fina preparativa eluida con hexano-éter etílico dos veces y tras recristalización de acetona/hexano, rinden unos cristales amarillos de características físicas y espectrales distintas a E y que denominamos F.

6.2.4.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO E: 1,3,8-TRIHIDROXI-2,4,6-TRIMETOXIXANTONA.

El compuesto E, obtenido de la forma antes indicada, mostró un aspecto pulverulento de color amarillo, de punto de fusión 215-217°C, con un peso de 43 mgr, que corresponde a un 0.022% respecto al extracto hexánico, y a un 0.0013% del total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de E a partir del espectro de masas.

En el espectro de masas del compuesto E (fig.38), el ión molecular es 334, concordante con la fórmula empírica:



Cálculo de los coeficientes de extinción de E

La preparación y la obtención de los espectros se realiza como ya hemos descrito (pág. 34 ). 0.24 mgr de la xantona E, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34 , dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	235	264	335
A	0.075	0.118	0.074
$\log \epsilon$	3.42	3.61	3.42

#### Preparación del derivado acetilado de E

El derivado acetilado de E se obtiene haciendo reaccionar 15 mgr de E con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método descrito en la pág.246. En este caso el tiempo de reacción fue de 96 horas.

Por cristalización de acetona obtenemos 13 mgr de un producto amarillo pálido de punto de fusión 213-216°C.

#### Preparación del derivado permetilado de E

El derivado permetilado de E se obtiene haciendo reaccionar 12 mgr de E con 0.3 gr de  $K_2CO_3$  anhidro y 0.3 ml de  $Me_2SO_4$  en 5 ml de acetona seca, según el método descrito en la pág. 246.

Se obtienen 8 mgr de un producto que mostró características físicas espectrales idénticas al obtenido por metilación del compuesto A (pág.246).

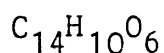
Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de E y de sus derivados acetilado y permetilado, se le asigna la estructura de 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona

#### 6.2.4.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO F: 1,3,8-TRIHIDROXI-2-METOXI ó 1,3,8-TRIHIDROXI-4-METOXIXANTONA.

El compuesto F, obtenido de la forma indicada en el apartado 6.2.4. mostró un aspecto cristalino amarillo de acetona/hexano, de punto de fusión 262-264°C, con un peso de 6 mgr, que corresponde a un 0.0031% del extracto hexánico y un 0.00018% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de F a partir del espectro de masas.

En el espectro de masas del compuesto F (fig. 46), el ión molecular es 274, concordante con la fórmula empírica:



Cálculo de los coeficientes de extinción de F.

La preparación y obtención de los espectros se realiza como ya hemos descrito (pág. 34 ). 0.34 mgr de la xantona F, disueltos en 10 ml de MeOH (Merck) dieron un espectro de U.V., con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34 , dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	247	316	368
A	0.920	0.461	0.175
log $\epsilon$	3.87	3.57	3.15

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de F y en ausencia de cantidad para obtener sus derivados acetilado o metilado, se le asignan dos posibles estructuras: 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona.

6.2.5. ESTUDIO DE LA FRACCION X<sub>v</sub>. COMPUESTO G: 1,6-DIHIDROXI-3,5,7,8-TETRAMETOXIXANTONA.

El conjunto de fracciones 88-92, eluidas con hexano-éter etílico (45:55) da lugar, tras cristalización con acetona, a unas agujas amarillas, de punto de fusión 178-179°C, con un peso de 208 mgr, que corresponden a un 0.11% respecto al extracto hexánico y a un 0.0062% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de G a partir del espectro de masas.

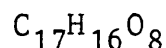
En el espectro de masas del compuesto G (fig. 52) los porcentajes de los picos correspondientes a los iones M<sup>+</sup>, (M+1)<sup>+</sup> y (M+2)<sup>+</sup> son respectivamente 58.09, 11.43 y 2.14.

El número de carbonos y oxígenos calculados a partir de las fórmulas anteriormente descritas (pág. 48 ) resultan ser:

n = 17 átomos de carbono

m = 8 átomos de oxígeno

Dado que el peso molecular es de 348, el número de hidrógenos, calculado por diferencia, es de 16, con lo que la fórmula empírica resultó ser:



Cálculo de los coeficientes de extinción de G.

La preparación y obtención de los espectros se realiza como ya hemos indicado (pág.34 ). 0.29 mgr de xantona G, disueltos en 25 ml.de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág.34 dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:



$\lambda_{\text{max}}$ (nm)	253	321	360
A	1.302	0.630	0.493
log $\epsilon$	4.09	4.19	4.24

#### Preparación del derivado acetilado de G.

El derivado acetilado de G se obtiene haciendo reaccionar 30 mgr de G con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método ya descrito (pág.246).

El residuo que se obtiene, purificado por cristalización de metanol, rinde 25 mgr de un producto blanco, de punto de fusión 135-136°C.

#### Preparación del derivado monometilado de G.

30 mgr de G se disuelven en la mínima cantidad de éter etílico y se añade, gota a gota, una disolución etérea de diazometano ( $\text{CH}_2\text{N}_2$ ) hasta que el color amarillo del  $\text{CH}_2\text{N}_2$  persista. Se tapa y se deja reaccionar durante 12 horas aproximadamente ( una noche). Transcurrido el tiempo se deja evaporar el éter, obteniendo así el producto metilado: 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona (las posiciones 1 y 8 de una xantona no se metilan bajo estas condiciones).

Este compuesto, recristalizado en metanol, dió lugar a 24 mgr de un sólido amarillo de punto de fusión 107-108°C, que no decreció en la obtención de su punto de fusión mixto con patrón auténtico (91).

#### Preparación del derivado dimetilado de G.

El derivado dimetilado de G se obtiene haciendo reaccionar 25 mgr del derivado monometilado de G con 0,5 gr de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro y 0.5 ml de  $\text{Me}_2\text{SO}_4$  en 10 ml de acetona seca, según el método descrito en la pág.246.

El producto así obtenido (16 mgr) mostró características físicas y espectrales idénticas al obtenido por metilación del compuesto A (pág.246).

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de G y de sus derivados, se le asigna la estructura de 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona.



6.2.6. ESTUDIO DE LA FRACCION X<sub>VI</sub>: COMPUESTO H: 1,6-DIHIDROXI-5,8-DIMETOXI ó 1,6-DIHIDROXI-7,8-DIMETOXIXANTONA.

El conjunto de fracciones 93-95, eluidas con hexano-éter etílico (45:55) da lugar, tras precipitación con cloroformo, a un producto pulverulento amarillo, de punto de fusión 170-172°C, con un peso de 4 mgr, que corresponde a un 0.0021% del extracto hexánico y a un 0.00012% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de H a partir del espectro de masas.

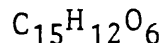
En el espectro de masas del compuesto H (fig. 61) los porcentajes de los picos correspondientes a los iones M<sup>+</sup>, (M+1)<sup>+</sup> y (M+2)<sup>+</sup> son respectivamente 88.63, 14.88 y 2.42.

El número de carbonos y oxígenos calculados a partir de las fórmulas anteriormente descritas (pág. 48) resultan ser:

n = 15 átomos de carbono

m = 6 átomos de oxígeno

Dado que el peso molecular es de 288, el número de hidrógenos, calculado por diferencia, es 12, con lo que la fórmula empírica resultó ser:



Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de H, y en ausencia de cantidad para obtener sus derivados acetilado o metilado, se le asignan dos posibles estructuras: 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxi ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona.

### 6.3. ESTUDIO DEL EXTRACTO METANOLICO. SEPARACION DE SUS COMPONENTES.

3.356 Kg de Centaureum linarifolium, una vez extraídos con hexano y cloroformo sucesivamente, se someten a posterior extracción, en Soxhlet, utilizando metanol. Este extracto se concentra a sequedad, rindiendo un sólido pastoso, de color marrón oscuro que pesó 859.85 gr (25.62% respecto a la cantidad de planta seca extraída).

509.27 gr de extracto metanólico se reedisuelven en un litro de etanol y se trata según la marcha de Clark (124) con la finalidad de eliminar colorantes, taninos, etc, que precipitan en forma de sus sales de plomo.

#### Marcha de Clark

Al extracto, disuelto en 1 l de etanol caliente, se le añade un litro de una disolución acuosa de acetato de plomo al 1% a ebullición.

Se deja reposar durante 48 horas y luego se filtra.

Al filtrado se le elimina la mayor parte de etanol a vacío, para que la temperatura no suba de 60°C.

#### Extracción líquido-líquido

El concentrado en medio acuoso, se somete a extracción, en un extracto líquido-líquido, primero con éter etílico y después con acetato de etilo. Ambas partes obtenidas se secan con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentran a sequedad. La parte etérea rindió 14.66 gr, que corresponde a un 2.88% respecto al total del extracto alcohólico y a un 0.74% respecto al total de planta seca extraída.

La parte correspondiente a la extracción con acetato de etilo rindió 60.50 gr, que corresponde a un 11.88% respecto al total del extracto y a un 3.04% respecto al total de planta seca extraída.

6.3.1. ESTUDIO DE LA PARTE ETÉREA. FRACCIONAMIENTO POR CROMATOLOGRAFIA DE COLUMNA.

14.66 gr de la parte etérea se cromatografían en columna sobre sílica-gel, eluyéndola con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol de polaridad creciente.

Se recogen 160 fracciones de 100 ml, que se reagrupan según su similar comportamiento en c.c.f., así se obtienen cinco agrupaciones de fracciones, según se resume en la tabla XI.

El resto de fracciones, que no se indican, presentaron gran complejidad y/o escasa cantidad.

TABLA XI

Fraccionamiento por cromatografía de columna de la parte etérea del extracto alcohólico.

<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Eluyente</u>	<u>Compuesto (peso)</u>
X <sub>VII</sub>	19-26	H:AcEt(60:40)	I (44 mgr)+ J ( 4 mgr)+ G ( 5 mgr)
R	27	H:AcEt(60:40)	R (15 mgr)
X <sub>VIII</sub>	28-41	H:AcEt(60:40)	K ( 3 mgr)
GI <sub>I</sub>	83-90	AcEt-MeOH(90:10)	GI <sub>I</sub> (136 mgr).
GS	91-93	AcEt-MeOH(90:10)	GS (27 mgr)

6.3.1.1. ESTUDIO DE LA FRACCIÓN X<sub>VII</sub>: SEPARACION DE LOS COM-  
PUESTOS I, J y G.

La fracción X<sub>VII</sub> (729 mgr) se cromatografía en columna sobre sílica-gel, eluyendo con mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente.

Se recogen 122 fracciones de 10 ml, que se reagrupan según su similar comportamiento en c.c.f., así se obtienen tres agrupaciones de fracciones según se resume en la tabla XII.

El resto de fracciones, que nose indican, presentaron gran complejidad y/o escasa cantidad.

TABLA XII

Recromatografía de columna de la fracción X<sub>VII</sub>

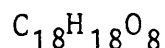
<u>Agrupación</u>	<u>Fracciones</u>	<u>Eluyente</u>	<u>Compuesto (peso)</u>
I	17-22	H:AcEt(95:5)	I (44 mgr)
II	23-38	H:AcEt(95:5)	J ( 4 mgr)
III	51-70	H:AcEt(90:10)	G ( 5 mgr)

6.3.1.1.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO I: 1-HIDROXI-3,5,6,7,8-PENTAMETOXIXANTONA.

Del conjunto de fracciones 17-22, eluídas de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (95:5), se obtienen, tras repetidas cristalizaciones de acetona-metanol, 44 mgr de un sólido amarillo cristalino, de punto de fusión 112-114°C, que corresponde a un 0.0086% respecto al extracto alcohólico y a un 0.0022% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de I a partir del espectro de masas de alta resolución.

El espectro de masas de alta resolución (fig. 83), para el pico 362, nos dá un valor encontrado de  $362.100^1 \pm 0.002$ . El valor calculado para la fórmula  $C_{18}H_{18}O_8$  fué  $362.100^3$ . Con estos resultados podemos decir que la fórmula empírica de I es:



Cálculo de los coeficientes de extinción de I.

La preparación y obtención de los espectros de U.V. de I se realiza como hemos descrito en la parte teórica (pág. 34). 0.45 mgr de la xantona I, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan.

$\lambda_{\max}$ (nm)	256	315	362
A	0.901	0.429	0.112
log $\epsilon$	4.26	3.93	4.60

Preparación del derivado acetilado de I.

El derivado acetilado de I se obtiene haciendo reaccionar 22 mgr de I con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método ya descrito (pág. 246).

El producto que se obtiene (19 mgr), sin purificar, es estudiado por métodos espectroscópicos.

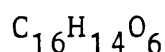
Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de I y de su derivado acetilado, se le asigna la estructura de 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona. La total confirmación de la estructura se produce por comparación con patrón auténtico obtenido al metilar con  $\text{CH}_2\text{N}_2$  el producto G, aislado del extracto hexánico (84).

6.3.1.1.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO J: 1-HIDROXI-3,7,8-TRIMETOXI-XANTONA.

Del conjunto de fracciones 23-38, eluidas de columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (95:5), se obtienen, tras repetidas cristalizaciones de acetona-metanol, 4 mgr de un sólido amarillo, de punto de fusión 157-159°C, que corresponde a un 0.0008% respecto al extracto alcohólico y a un 0.0002% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de J a partir del espectro de masas de alta resolución.

El espectro de masas de alta resolución (fig. 92) para el pico 302, nos dá un valor encontrado de  $302.078^1 + 0.0015$ . El valor calculado para la fórmula  $C_{16}H_{14}O_6$  fue  $302.079^{04}$  con estos resultados podemos decir que la fórmula empírica de J es:



Cálculo de los coeficientes de extinción de J.

La preparación y obtención de los espectros se obtiene de la forma ya indicada (pág. 34). 0.49 mgr de la xantona J, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro con los tres máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{\max}$ (nm)	238	254	311
A	0.906	1.082	0.412
log $\epsilon$	4.45	4.52	4.10

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de J, se le asigna la estructura de 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona, conocida como Decusatina. La confirmación de la estructura se produce por comparación con patrón auténtico (93), cuyo punto de fusión mixto fue de 154-156°C.

6.3.1.1.3. ESTUDIO DEL COMPUESTO G: 1,6-DIHIDROXI-3,5,7,8-TETRA-METOXIXANTONA.

Del conjunto de fracciones 51-70, eluidas de la columna cromatográfica con hexano-acetato de etilo (90:10), se obtienen, tras cristalización de acetona-hexano, 5 mgr de un sólido amarillo de punto de fusión y caracteres espectroscópicos idénticos al compuesto G del extracto hexánico. Dicha cantidad de producto, que corresponde a un 0.00098% respecto al extracto alcohólico, da un total respecto a la cantidad de planta extraída de un 0.0064%.



### 6.3.1.2. ESTUDIO DEL COMPUESTO R: ERITROCENTAURINA.

La fracción 27, eluída con hexano-acetato de etilo (60:40), da lugar, tras cristalización de acetona, a unas agujas de color naranja, de punto de fusión 132-135°C, con un peso de 15 mgr, que corresponde a un 0.0029% respecto al extracto alcohólico y a un 0.00076% respecto a la cantidad de planta seca extraída.

#### Cálculo de los coeficientes de extinción de R.

La preparación y obtención del espectro, en MeOH espectroscópico (Merck), se realiza como indicamos en la parte teórica (pág. 35). 0.36 mgr del producto R, disueltos en 25 ml de metanol, dieron un espectro de U.V., con los dos máximos de absorción y las absorbancias anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{\max}$ (nm)	223	291
A	0.661	0.049
log $\epsilon$	3.90	2.78

#### Transformación de R en 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopirán-5-carboxilato de metilo.

30 mgr de las aguas madres de R se disuelven en 2 ml de alcohol metílico, agregando a continuación 0.1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y manteniéndolo a reflujo durante 2 horas.

Pasado este tiempo, se vierte la reacción sobre 40 ml de agua y se extrae con éter etílico varias veces. La reunión de las capas orgánicas, lavadas con agua hasta pH neutro, secadas con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y concentradas a sequedad, da lugar a 21 mgr de una mezcla de productos, que por cristalización de acetona, da lugar a unas agujas blancas, de punto de fusión 199-202°C.

De los datos físicos y espectroscópicos de este derivado de R, se le asigna la estructura de 1-hidroxi-3,4-dihidro-1H-2-benzopirán-5-carboxilato de metilo, compuesto del que no existen datos bibliográficos.

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de R, se le asigna la estructura de Eritrocentaurina (5-formil-3,4-dihidroisocumarina).

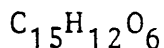
6.3.1.3. ESTUDIO DE LA FRACCION  $X_{VIII}$ . COMPUESTO K: 1,3-DIHI-DROXI-5,6-DIMETOXIXANTONA.

La fracción  $X_{VIII}$  se purifica por nueva cromatografía de columna sobre sílica-gel, eluyendo con mezclas de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente.

Del conjunto de fracciones 44-73, eluidas con hexano-acetato de etilo (85:15), se obtienen, tras repetidas cristalizaciones de acetona, 3 mgr de un sólido amarillo cristalino, de punto de fusión 255-257°C, que corresponde a un 0.00059% respecto al extracto alcohólico y a un 0.00015% respecto al total de planta seca extraída.

Cálculo de la fórmula empírica de K a partir del espectro de masas.

En el espectro de masas del compuesto K (fig. 105), el ión molecular es 288, concordante con la fórmula empírica:



Cálculo de los coeficiente de extinción de K.

La preparación y obtención de los espectros de U.V. de K, se realiza como hemos descrito en la parte teórica (pág. 34). 0.42 mgr de la xantona K, disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V., con los tres máximos de absorción y las absorbancia anotadas.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los coeficientes de extinción que a continuación se detallan:

$\lambda_{max}$ (nm)	243	288	312
A	0.355	0.136	0.176
log $\epsilon$	3.88	3.37	3.48

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de K, se le asigne la estructura de 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona.

#### 6.3.1.4. ESTUDIO DEL COMPUESTO $GI_I$ : DECENTAPICRINA A.

Del conjunto de fracciones 83-90, eluidas de la columna cromatográfica con acetato de etilo-metanol (90:10), se obtienen, tras cristalización de acetona, 136 mgr de un sólido cristalino blanco, de punto de fusión 252-255°C, lo que corresponde a un 0.027% respecto al extracto alcohólico y a un 0.0068% respecto al total de planta seca extraída.

#### Cálculo de los coeficientes de extinción de $GI_I$ .

La preparación y obtención de los espectros de U.V. de  $GI_I$  se realiza como hemos descrito en la parte teórica (pág. 35). 0.56 mgr del compuesto  $GI_I$ , disueltos en 25 ml de MeOH (Merck), dieron un espectro de U.V. con los dos máximos de absorción y las absorbancias anotadas a continuación.

Estos valores experimentales, aplicados a la fórmula de la pág. 34, dan lugar a los siguientes coeficientes de extinción:

$\lambda_{\max}$ (nm)	240	300
A	0.345	0.062
log $\epsilon$	3.86	3.11

#### Poder rotatorio de $GI_I$ .

El poder rotatorio se ha obtenido pesando una cantidad exacta del producto  $GI_I$ , disolviéndola en metanol y aforando la disolución hasta 5 ml, en un baño termostataado a 18.5°C. La cubeta utilizada tiene un espesor de 1 dm y la medida del poder rotatorio se realiza a una longitud de onda de 589 nm.

El cálculo del poder rotatorio se efectúa aplicando la siguiente fórmula:

$$\{\alpha\}_D = \frac{\alpha_{\text{obs.}}}{l \times c} \quad \begin{array}{l} l = 1 \text{ dm} \\ c = \text{gr/cc} \end{array}$$

En nuestro caso se obtiene el siguiente resultado:

$$GI_I \quad \{\alpha\}_D^{18.5} = -177.42 \text{ (MeOH)}$$

Preparación del derivado acetilado de GI<sub>I</sub>.

El derivado acetilado de GI<sub>I</sub> se obtiene, haciendo reaccionar 15 mgr de GI<sub>I</sub> con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método ya descrito (pág. 246).

El residuo obtenido (14 mgr) se purifica por nueva cromatografía de columna, usando como eluyentes: hexano-cloroformo, de polaridad creciente.

El espectro de U.V., de este derivado acetilado de GI<sub>I</sub>, se realizó de idéntica manera a GI<sub>I</sub>, usando como concentración 0.68 mgr de producto en 10 ml de metanol para espectroscopía (Merck), obteniéndose los siguientes valores para los coeficientes de extinción:

$\lambda_{\max}$ (nm)	232	280
A	1.060	0.063
log $\epsilon$	4.00	2.78

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de GI<sub>I</sub> y su derivado acetilado, se le asigna la estructura de 3'-(m-hidroxibenzoil)swerósido, también llamado Decentapicrina A. La confirmación de la estructura se realiza por comparación con patrón auténtico (25), cuyo punto de fusión mixto fue de 250-253°C.

6.3.1.5. ESTUDIO DEL COMPUESTO GS: GLUCOSIDO DE  $\beta$ -SITOSTEROL, CAMPESTEROL Y STIGMASTEROL.

De la reunión de fracciones 91-93, eluidas de la columna cromatográfica con acetato de etilo-metanol (90:10) se obtienen, tras precipitación de acetona, 27 mgr de un sólido pulverulento de punto de fusión 280-283°C, que corresponde a un 0.0053% respecto al extracto alcohólico y a un 0.0014% respecto al total de planta seca extraída.

Test de Liebermann-Burchardt de GS.

Unos pocos miligramos de producto se disuelven en 1 cc de cloroformo, añadiendo a la disolución 10 gotas de anhídrido acético y 1 gota de ácido sulfúrico concentrado (ambos reactivos recién sacados de la nevera) (125). Color violeta que cambia, a través de azul, a verde, identifica esteroides en GS.

Preparación del derivado acetilado de GS.

El derivado acetilado de GS se obtiene haciendo reaccionar 17 mgr de GS con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método habitual (pág. 246).

El producto que se obtiene (15 mgr), sin purificar, es estudiado por métodos espectroscópicos.

Hidrólisis ácida de GS.

10 mgr de GS en 1 ml de HCl 2N se mantiene a reflujo durante 13 horas, se añaden unas gotas de EtOH para la total solubilización del glicósido (45).

Terminada la reacción se deja enfriar y la aglicona se separa por extracción con  $\text{CHCl}_3$ . La capa orgánica se lava con agua, se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtra y concentra obteniendo así la aglicona de GS.

La solución acuosa ácida se neutraliza pasándola a través de 1 gr de resina de Intercambio Iónico Lewatit M500 G2 (Panreac), que se trata previamente según se describe a

continuación: (107)

1°) Se deja toda la noche en agua destilada para que se hinche.

2°) Se coloca en la columna y se lava: primero con agua destilada y luego con 10 ml de NaOH al 4% para asegurar su basicidad.

3°) Se lava con agua destilada hasta que las aguas de lavado tengan pH neutro.

El azúcar se aísla por eliminación total del agua a temperatura ambiente.

#### Cromatografía de gases del azúcar de GS.

Para el estudio del azúcar de GS por cromatografía gaseosa, se prepara su derivado sililado según se describe a continuación (110,126).

5 mgr del azúcar obtenido de la hidrólisis de GS, se disuelven en la mínima cantidad de piridina, se calienta ligeramente en un baño de agua, termostataado a 70°C y se añaden 6 gotas de trimetilclorosilano y 12 gotas de hexametildisilazano. Se deja tapado 5 min. a temperatura ambiente, se centrifuga durante 20 minutos y se inyecta en el cromatógrafo.

Con los azúcares patrones se procede de la misma forma: primero bajo las condiciones de hidrólisis y después bajo las de sililación.

Se estudian por C.G.L. usando las siguientes condiciones:

Columna:	OV-1	5%
Temperatura:	Columna	185°C
	Detector	250°C
	Inyector	250°C
Flujo:	20 cc/min.	



Cromatografía de gases de la aglicona de GS

El estudio por cromatografía gaseosa de la aglicona de GS muestra tres picos, cuyos tiempos de retención son idénticas a los de una muestra de  $\beta$ -sitosterol y campesterol patrón (Fluka) y otra de  $\beta$ -sitosterol y stigmasterol patrón (127).

Las condiciones de la cromatografía se detallan a continuación:

Columna:	OV-1	5%
Temperatura:	Columna	300°C
	Detector	350°C
	Inyector	350°C
Flujo:	20 cc/min.	

Del estudio de los datos físicos, espectroscópicos y cromatográficos de GS y de su derivado acetilado, se le asigna la estructura de Glucósido de  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol. La confirmación de la estructura se realiza por comparación con patrón auténtico (111).

6.3.2. ESTUDIO DE LA PARTE DE ACETATO DE ETILO. FRACCIONAMIENTO  
POR CROMATOGRAFIA DE COLUMNA.

60.50 gr de la parte AcEt se cromatografía en columna sobre sílica-gel, eluyendo con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol, de polaridad creciente.

Se recogen 251 fracciones de 100 ml, que se reagrupan según su similar comportamiento en c.c.f. y de los cuales solo una es objeto de estudio en el presente trabajo.

### 6.3.2.1. ESTUDIO DEL COMPUESTO $GI_{II}$ : SWERTIAMARINA.

---

Del conjunto de fracciones 93-106, eluidas de la columna cromatográfica con acetato de etilo-metanol (90:10) se obtienen, tras purificación por nueva columna cromatográfica con AcEt como eluyente, 322 mgr de un sólido pulverulento blanco, que corresponde a un 0.063% del extracto alcohólico y a un 0.0162% respecto al total de planta seca extraída.

#### Espectroscopía U.V. de $GI_{II}$ .

La preparación y obtención del espectro, en MeOH espectroscópico (Merck), se realiza como indicamos en la pág. 35 , usando 0.58 mgr de  $GI_{II}$  y aforando a 25 ml.

#### Preparación del derivado acetilado de $GI_{II}$ .

La obtención del derivado acetilado de  $GI_{II}$  se realiza haciendo reaccionar 30 mgr de  $GI_{II}$  con 1 ml de anhídrido acético y 3 ml de piridina, según el método ya descrito (pág. 246).

El residuo, así obtenido, es cristalizado de metanol, obteniendo un sólido blanco de punto de fusión 170-173°C.

Del estudio de los datos físicos y espectroscópicos de  $GI_{II}$  y de su derivado acetilado, se le asigna la estructura de Swertiamarina.

## 7. CONCLUSIONES

- 1.- Se ha efectuado un estudio de los componentes químicos de la Centaurium linarifolium (Lamark) G. Beck.
- 2.- Del extracto hexánico se han estudiado los componentes fenólicos, aislándose e identificándose ocho xantonas.
- 3.- Cuatro de ellas han sido aisladas por primera vez en la naturaleza: la 1,8-dihidroxi-2,3,4,6-tetrametoxixantona, la 1,6-dihidroxi-3,5,7,8-tetrametoxixantona y dos de las que damos estructuras alternativas: la 1,3,8-trihidroxi-2-metoxi ó 1,3,8-trihidroxi-4-metoxixantona y la 1,6-dihidroxi-5,8-dimetoxi ó 1,6-dihidroxi-7,8-dimetoxixantona.
- 4.- Otras dos han sido aisladas por segunda vez de fuente natural: la 1,8-dihidroxi-3,4,6-trimetoxixantona y la 1,3,8-trihidroxi-2,4,6-trimetoxixantona.
- 5.- Las dos restantes se encuentran, ampliamente difundidas en la naturaleza: la 1,8-dihidroxi-2,6-dimetoxixantona y la 1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona.
- 6.- Se ha efectuado un estudio de los componentes del extracto metanólico de Centaurium linarifolium.
- 7.- Se han aislado e identificado tres xantonas de las cuales la 1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona es la segunda vez que se aísla en la naturaleza y la primera dentro del género Centaurium.
- 8.- Las otras dos, de más amplia difusión, son la 1-hidroxi-3,7,8-trimetoxixantona ó Decusatina y la 1,3-dihidroxi-5,6-dimetoxixantona.
- 9.- Se han aislado e identificado la 5-formil-3,4-dihidroisocumarina, mas conocida como Eritrocentaurina, compuesto muy difundido dentro del género Centaurium.
- 10.- Se ha contribuido a la aclaración de la controversia que mantenía este compuesto, pudiendo afirmar que se trata de un producto natural y no de un artefacto producido por el tratamiento de ciertos glicósidos iridoidales.

- 11.- Se ha obtenido como derivado de la eritrocenaurina el 1-hidroxí-3,4-dihidro-1H-2-benzopirán-5-carboxilato de metilo, siendo esta la primera vez que se sintetiza y que se dan sus datos físicos y espectrales.
- 12.- Se han aislado e identificado dos glicósidos iridoidales: el 3'-(m-hidroxibenzoil)swerósido ó decentapicrina A y 5-hidroxiswerósido ó swertiamarina.
- 13.- La Decentapicrina A es la segunda vez que se aísla de fuente natural y ambas dentro del género Centaurium, siendo ésta la primera vez que se dan los datos de su espectro de masas y de su derivado acetilado.
- 14.- Por último, se ha aislado e identificado una saponina esteroidal, cuyo azúcar es la glucosa y cuya aglicona está formada por los esteroides:  $\beta$ -sitosterol, campesterol y stigmasterol.



## 8. BIBLIOGRAFIA

1. J.B. HARBONE  
"Comparative Biochemistry of the Flavonoids"  
Academic Press. London and New York (1967).
2. H.F. FARRAG y M.A. SHERIF  
J.Pharm.Pharmacol, 1, 219 (1949).
3. S.M. KHAFAGY y H.K. MUAJED  
Acta Pharm.Suecica, 5, 135-42 (1968).
4. S.K. BHATTACHARGA, S. GHOSAL  
J.Amer.Chem.Soc. 63(8), 1341-2 (1974).
5. G. LOPEZ GONZALEZ  
"Anales del Jardín Botánico de Madrid" TOMO 36  
(Anales del Instituto Botánico A.J. Cavanilles)  
C.S.I.C. (1979).
6. T.G. TUTIN y col.  
"Flora Europaeae" Volúmenes 1-5  
Cambridge University Press (1964-80).
7. W. POETHKE, A. WILHEM y W. ARNOLD  
Arch.Pharm., 283, 269-75 (1950).
8. W. POETHKE, W. ARNOLD y A. WILHEM  
Arch.Pharm., 284, 385-99 (1951).
9. S.S. POPOV  
C.R.Acad.Bulg.Sci., 22, 293-6 (1969).
10. J.M. KHAFAGY y H.K. MUAJED  
Acta Pharm.Suecica, 7, 667-72 (1970).
11. S.S. POPOV, I.C. IVANOV y P.P. PANOV  
C.R. Acad.Bulg.Sci., 25, 1225-8 (1972).
12. R. LACROIX, Mrs. R. MERAD, Mrs. J. LACROIX, N. ABTROUN y  
Mrs. M.F. SCHOEBEL  
Tunisie Med., 51, 327-31 (1973).
13. V. BELLAVITA, F. SCHIAFFELLA y T. MEZZETTI  
Phytochemistry, 13, 289-90 (1974).



14. J.M. TEDDER, A. NECHVATAL, A.W. MURRAY y J. CARNDUFF  
Química Orgánica (Vol.4)  
"Los productos naturales"  
Ediciones Urmo (1974).
15. I.L. FINAR  
Química Orgánica II  
"Estereoquímica y química de los productos naturales"  
Editorial Alhambra (1980).
16. M. HATJIMANOLI y Mrs. A.M. DEBELMAS  
Ann. Pharm. Fr., 35, 107-11 (1977).
17. J. MANN  
Secondary Metabolism  
Oxford Chemistry Series, Clarendon Press (1978).
18. J.H. ZWARING  
Pharm.Weekbl., 101, 605-19 (1966).
19. S.M. KAFAGY y H.K. MUAJED  
J.Pharm.Sci., 8, 187-99 (1967).
20. K. SAKINA y K. AOTA  
Yakugaku Zasshi, 96, 683-8 (1976).
21. D. BISHAY y P.J. HYLANDS  
J.Pharm.Pharmacol, 30 (suppl.), 80P (1978).
22. D. BISHAY, S.A. ROSS y P.J. HYLANDS  
Planta Médica, 37, 253-8 (1979).
23. W.G. VAN der SLUIS y R.P. LABADIE  
Pharm.Weekbl., 113, 21-32 (1978).
24. W.G. VAN der SLUIS y R.P. LABADIE  
Planta Médica, 41, 221-31 (1981).
25. W.G. VAN der SLUIS y R.P. LABADIE  
Planta Médica, 41, 150-60 (1981).
26. S. TAGAKI y M. YAMAKI  
Yakugaku Zasshi, 102, 313-7 (1982).

27. N. MAREKOV y S. POPOV  
C.R. Acad.Bulg. Sci., 20, 441-4 (1967).
28. N. MAREKOV y S. POPOV  
Izv.Otd.Khim.Nauki Bulg.Akad.Nauk., 2, 575-82 (1970).
29. F. RULKO  
Pr.Nauk.Akad.Med.Wrodawin, 8, 3-36 (1976).
30. D.W. BISHAY, W.H. SHELVER y S.K.W. KHALIL  
Planta Médica, 33, 422-3 (1978).
31. M.U.S. SULTANBAWA  
Tetrahedron, 36, 1465-1506 (1980).
32. E. WONG  
"Biosynthesis of Flavonoids in Chemistry and Biochemistry  
of plant pigments" (T.W. Goodwin ed)  
Acad.Press. London and New York (1976).
33. K. HOSTETTMANN y H. WAGNER  
Phytochemistry, 16, 821 (1977).
34. I. CARPENTER, H.D. LOCKSLEY y F. SCHEINMANN  
Phytochemistry, 8, 2013-26 (1969).
35. O.R. GOTTLIEB  
Phytochemistry, 7, 411-21 (1968).
36. C.M.A. REZENDE y O.R. GOTTLIEB  
Biochemical Systematics, 1, 111 (1973).
37. F.M. DEAN  
"Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds"  
Butterworths, London (1963).
38. F. SCHEINMANN  
Tetrahedron, 18, 853-8 (1962).
39. A.A. LINS MESQUITA, D. DE BARROS CORREA, O.R. GOTTLIEB  
y M. TAVEIRA MAGALHAES  
Anal.Chím.Acta, 42, 311-23 (1968).

40. D. DE BARROS CORREA, L.G. FONSECA e SILVA, D.R. GOTTLIEB  
y S. JANOS GONCALVES  
Phytochemistry, 9, 447-51 (1970).
41. S. GHOSAL, P.V. SHARMA y R.K. CHAUDHURI  
Phytochemistry, 14, 2671-5 (1975).
42. S. GHOSAL y R.K. CHAUDHURI  
Phytochemistry, 12, 2035-8 (1973).
43. R.K. CHAUDHURI y S. GHOSAL  
Phytochemistry, 10, 2425-32 (1971).
44. S. GHOSAL, D.K. JAISWAL y K. BISWAS  
Phytochemistry, 17, 2119-23 (1978).
45. T.J. MABRY, K.R. MARKHAM y M.B. THOMAS  
"The Systematic Identification of Flavonoids"  
Springer-Verlag, New-York-Heidelberg-Berlin (1970).
46. D.J. PASTO y C.R. JOHNSON  
"Determinación de estructuras orgánicas"  
Ed. Reverté S.A. (1974).
47. M. MASSIAS, J. CARBONNIER y D. MOLHO  
Phytochemistry, 20, 1577-8 (1981).
48. K.M. HOSTETTMANN, K. HOSTETTMANN y O. STICHER  
Phytochemistry, 20, 493-5 (1981).
49. S. GHOSAL y K. BISWAS  
Phytochemistry, 18, 1029-31 (1979).
50. S. GHOSAL, K. BISWAS y R.K. CHAUDHURI  
J.Pharm.Sci., 67, 721-2 (1978).
51. D.K. BHARDWAJ, T.R. SESHADRI y R. SINGH  
Phytochemistry, 16, 1616-7 (1977).
52. S. UEDA y K. KUROSAWA  
Bull.Chem.Soc.Jpn., 50, 193-6 (1977).

53. S.D. GUNASEKERA, K. SIVOPALAN, M.U.S. SULTANBAWA y W.D. OLLIS  
J.Chem.Soc.Perkin Trans I, 11-14 (1977).
54. M. KALDAS, K. HOSTETTMANN y A. JACOT-GUILLARMOD  
Helv.Chim.Acta, 58, 2188-92 (1975).
55. M. KALDAS, K. HOSTETTMANN y A. JACOT-GUILLARMOD  
Helv.Chim.Acta, 57, 2557-61 (1974).
56. A.J. QUILLINAN y F. SCHEINMANN  
J.Chem.Soc.Perkin Trans I, 1329-37 (1973).
57. R. SOMANATHAN y M.U.S. SULTANBAWA  
J.Chem.Soc. Perkin Trans I, 1935-43 (1972).
58. T. TOMIMORI y M. KOMATSU  
Yakugaku Zasshi., 89, 410-7 (1969).
59. D.L. DREYER  
Tetrahedron, 25, 4415-20 (1969).
60. G.H. STOUT y W.J. BALKENHOL  
Tetrahedron, 25, 1945-60 (1969).
61. M. KOMATSU, T. TOMIMORI y N. MIKURIYA  
Chem.Pharm.Bull., 17, 155-62 (1969).
62. B. JACKSON, H.D. LOCKSLEY y F. SCHEINMANN  
J.Chem.Soc. (C), 178-81 (1966).
63. F.E. KING, T.J. KING y L.C. MANNIG  
J.Chem.Soc. (C), 563 (1957).
64. E.D. BURLING, A. JEFFERSON y F. SCHEINMANN  
Tetrahedron, 21, 2653 (1965).
65. R.A. FINNEGAN y K.E. MERKEL  
J.Pharm.Sci., 66, 884-6 (1977).
66. D. BARRACLOUGH, H.D. LOCKSLEY, F. SCHEINMANN, M. TAVEIRA  
MAGALHAES y O.R. GOTTLIEB  
J.Chem.Soc (C), 603-12 (1970).

67. L.J. HAYNES y D.R. TAYLOR  
J.Chem.Soc. (C), 1685-7 (1966).
68. H.D. LOCKSLEY, I. MOORE y F. SCHEINMANN  
J.Chem.Soc. (C), 430-32 (1966).
69. T.J. BATTERHAM y R.J. HIGHET  
Austr.J.Chem., 17, 428 (1964).
70. P. ARENDS y P. HELBOE  
Acta Chem.Scand., 26, 4180-2 (1972).
71. R.H. MARTIN, N. DEFAY, F. GEERTS-EVRARD, P.H. GIVEN,  
J.R. JONES y R.W. WEDEL  
Tetrahedron, 21, 1833 (1965).
72. J. ELGUERO, R. JACQUIER y C. MARZIN  
Bull.Soc.Chim.France, 3005 (1967).
73. P. RIVAILLE, J. MASSICOT, M. GUYOT y V. PLOUVIER  
Phytochemistry, 8, 1533-41 (1969).
74. J. MASSICOT, J.P. MARTHE y S. HEITZ  
Bull.Soc.Chim.France, 2712-21 (1963).
75. P. ARENDS, P. HELBOE y J. MOLLER  
Org.Mass .Spectrom, 7, 667-81 (1973).
76. F.W. McLAFFERTY  
"Interpretación de los espectros de Masas"  
Ed. Reverté S.A.
77. F.W. McLAFFERTY  
"Mass Spectral Correlations, Advances in Chemistry Series  
No 40"  
American Chemical Society. Washington D.C. (1963).
78. O.R. GOTTLIEB, A.A. LINS MESQUITA, G.G. OLIVEIRA y  
M. TEXEIRA DEMELO  
Phytochemistry, 9, 2537-44 (1970).
79. O.R. GOTTLIEB, A.A. LINS MESQUITA y T.J. NAGEM  
Phytochemistry, 10, 2253-5 (1971).

80. J.H. BOWIE y P.Y. WHITE  
J.Chem.Soc. (B), 89-93 (1969).
81. A.A. LINS MESQUITA, R. ALVES DE LIMA y O.R. GOTTLIEB  
Phytochemistry, 11, 2307-9 (1972).
82. H.D. LOCKSLEY y I.G. MURRAY  
Phytochemistry, 10, 3179-83 (1971).
83. H.D. LOCKSLEY, I. MODRE y F. SCHEINMANN  
J.Chem.Soc. (C), 430-2 (1966).
84. M. PARRA, M.T. PICHER, E. SEOANE y A. TORTAJADA  
J.Nat.Prod., 47, 123-6 (1984).
85. S. GHOSAL, R.K. CHAUDHURI y A. NATH  
J.Indian Chem.Soc., 48, 589-90 (1971).
86. S. TAKAGI y M. YAMAKI  
Yakugaku Zasshi, 102, 546-8 (1982).
87. G.H. STOUT, E.N. CHRISTENSEN, W.J. BALKENHOL y K.L. STEVENS  
Tetrahedron, 25, 1961-73 (1969).
88. M. PARRA, E. SEOANE y A. TORTAJADA  
J.Nat.Prod., 47, 868-71 (1984).
89. S. GHOSAL, R.K. CHAUDHURI y A. NATH  
J.Pharm.Sci., 62, 137-9 (1973).
90. N.M. NESTA y G.G. NIKOLAEVA  
Khim.Prir.Soedin, 258 (1982). (C.A. 97, 123930p).
91. G. SULLIVAN, F.D. STILES y K-H. A. ROSLER  
J.Pharm.Sci., 66, 828-31 (1977).
92. M. GOETZ, F. MANILIHO y A. JACOT-GUILLARMOD  
Helv.Chim.Acta, 61, 1549-54 (1978).
93. K. HOSTETTMANN, R. TABACCHI y A. JACOT-GUILLARMOD  
Helv.Chim.Acta, 57, 294-301 (1974).
94. H. BUDZIKIEWICZ y C. DJERASSI  
"Structural Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry" Vol. II (1964).

95. T. KARIYONE y Y. MATSUSHIMA  
J.Pharm.Soc.Japan, 47, 25 (1927).
96. T. KUBOTA y Y. TOMITA  
Chem.Ind., 230 (1958).
97. T. KUBOTA, Y. TOMITA y K. SUZUKI  
Tetrahedron Letters, 6, 223 (1961).
98. T. KUBOTA y Y. TOMITA  
Tetrahedron Letters, 5, 176 (1961).
99. M. PARRA, M.T. PICHER, E. SEOANE y A. TORTAJADA  
J.Nat.Prod., en prensa.
100. S.K. BHATTACHARYA, S. GHOSAL, R.K. CHAUDHURI y A.K. SANYAL  
J.Pharm.Sci., 61, 1838 (1972).
101. O. STICHER, S. MEIER, D. LOHMANN y L. SWIATEK  
Planta Médica, 38, 246 (1980).
102. K. HOSTETTMANN, A. JACOT-GUILLARMOD y V.M. CHARI  
Helv.Chim.Acta, 59, 2592 (1976).
103. V.M. CHARI, M. JORDAN, H. WARNER y P. THIES  
Phytochemistry, 16, 1110 (1977).
104. J.M. HASLAN, M.O. NAUMAN y G. BRITTON  
J.Chem.Soc., 5649 (1964).
105. G. ENTLICHER y J. KOCOUREK  
Arch.Biochem.Biophys., 118, 305 (1967).
106. T. KONISHI, A. TADA, J. SHOJI, R. KASAI y O. TANAKA  
Chem.Pharm.Bull., 26, 668 (1978).
107. P. RIBEREAN-GAYON  
"Les composés Phénoliques des Vegetaux"  
(Dunot, ed.) París (1968).
108. T. KARTRIG y O. WEBSCHAIDER  
J.Chromatogr., 61, 375-7 (1971).
109. J.B. HARBORNE  
Phytochemistry, 4, 107 (1965).

110. C.C. SWEELEY, R. BENTLEY, M. MAKITA y W.W. WELLS  
J. Am. Chem. Soc., 85, 2497-507 (1963).
111. M.T. PICHER, E. SEOANE y A. TORTAJADA  
Phytochemistry, 23, 1995-8 (1984).
112. M. NISHIZAWA, H. NISHIDA y Y. HAYOSHI  
Tetrahedron Letters, 1349 (1982).
113. F. MARTIN PANIZO, B. RODRIGUEZ, S. VALVERDE y H. MARTIN  
LONAS  
Anales de Química, 68, 211 (1972).
114. A. GONZALEZ, B.M. FRAGA, M.G. HERNANDEZ, J.G. LUIS y  
A. Nuñez  
Anales de Química, 70, 730-2 (1974).
115. A. GONZALEZ, R. MORENO ORDOÑEZ y F. RODRIGUEZ LUIS  
Anales de Química, 70, 234-8 (1974).
116. S. TANDON y R.P. RASTOGI  
Planta Médica, 29, 190-2 (1976).
117. W. FENICAL y O. McCONNELL  
Phytochemistry, 15, 435-6 (1976).
118. N.R. KRISHNASWANY y S. PRASANNA  
Phytochemistry, 14, 1663 (1975).
119. S. POPOV y N. MAREKOV  
Chem. Ind., 655 (1971).
120. M. KOCH, M. PLAT, J. LE MEN y M.M. JANOT  
Bull. Soc. Chim. France, 403-6 (1964).
121. E. STAHL  
"Thin-layer Chromatography"  
Ed. Springer-Verlag (1969).
122. S. ADACHI  
J. Chromatogr., 17, 295-9 (1965).



123. H.D. LOCKSLEY e I.G. MURRAY  
J.Chem.Soc. (C), 1332-40 (1971).
124. A. GONZALEZ, J. BERMEJO, J.L. BRETON y J. TRIANA  
Anales de Química, 67, 797-99 (1971).
125. R.P. COOK  
Analyst., 86, 373 (1961).
126. J. KAGAN y T.J. MABRY  
Anal.Chem., 37, 288 (1965).
127. MARGARITA PARRA ALVAREZ  
Tesis de Licenciatura (1982).

UNIVERSIDAD DE VALENCIA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Resolvido el Tribunal de Examen superior, en el día de la fecha,  
acordó por unanimidad, a esta Tesis doctoral de  
D. MARGARITA PARRA ALVAREZ

la calificación de APTO "CUM LAUDE"

Valencia, a 4 de Mayo de 1986

El Secretario,

El Presidente

V. S.

