Revista Científica
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

VOL. 4 No. 1 REVISTA CIENTÍFICA
EDICION ESPECIAL 2008
ISSN: 2070-8246 ISSN-e: 2224-5545

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL POR RMN DE UNA Y DOS DIMENSIONES DEL ESQUELETO DE BRIARELLINA.

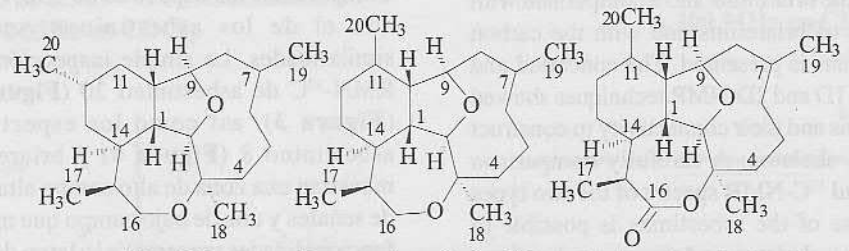
STRUCTURAL ELUCIDATION BY NMR OF THE BRIARELLIN CARBON SKELETON.

Cóbar O.
Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Laboratorio de Investigación en Productos Naturales -LIPRONAT-
Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala, Centro América.
Tel. 24439522, Fax. 24769808, ocobar@usac.edu.gt

DOI: https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.EdicionEspecial2008.183
Licencia: CC-BY 4.0

TÍTULO ABREVIADO;
ELUCIDACIÓN ESTRUCTURAL POR RMN DEL ESQUELETO DE BRIARELLINA.

Graphical abstract



The concerted application of ID and 2D NMR techniques in the total structural assignment of the Briarellin-type diterpenoids is deeply discussed. The strategies and hints for the differentiation by 'H-NMR and LuC-NMR between asbestinins, oxepane-type briarellins and e-lactone-type briarellis are revealed.

RESUMEN

Gorgonios caribeños del género *Briareum* (Cnidaria, Gorgonaceae), son una fuente importante de metabolites secundarios bioactivos.

Biosintetizan tres tipos básicos de diterpenos; asbestininos, briarellinas y briareinas. Las briarellinas A-R y las briarellinas D y K peróxidos, son los únicos metabolites que poseen el esqueleto de briarellina, que han sido aislados de un organismo marino de la región del Caribe.

Estos diterpenos altamente funcionalizados forman parte de la familia de Cembranoides 2,11 ciclizados, cuyo origen biosintético se propone deriva del esqueleto carbonado del cembrano, vía diversas ciclizaciones oxidativas y transposiciones de metilo.

En este trabajo se discuten ampliamente las propiedades de Resonancia Magnética Nuclear -RMN- del esqueleto carbonado de Briarellina y la comparación entre los dos tipos de briarellinas existentes, y de éstas, con el de los asbestininos.

Mediante la aplicación concertada y exhaustiva de técnicas de RMN de una y dos dimensiones, se muestran sus cuatro sub-sistemas de espín y la conectividad entre ellos para estructurar el esqueleto carbonado de las Briarellinas.

Mediante comparación de los espectros de RMN-'H y RMN-^{13}C entre asbestininos y los distintos tipos de briarellinas, se documentan diferencias claras que permiten diferenciar entre estos tipos de metabolites secundarios e inclusive, la estereoquímica sobre determinados centros quinales al rededor del esqueleto carbonado de estos compuestos.

Palabras Clave: octocorales gorgonias; *Briareum*; metabolitos secundarios; resonancia magnética nuclear; diterpenos; briarelinas; asbestininas; RMN 2D; sistema de giro secundario

ABSTRACT

Caribbean gorgonian corals of the genus *Briareum* (Cnidaria, Gorgonaceae), have proven to be an important source of bioactive secondary metabolites. The gorgonian produces mainly three type of diterpenes: asbestinins, briarellins and briareins. Briarellins A-R and briarellin-peroxydes D and K are the first and unique compounds with the Briarellin-type carbon skeleton isolated from a Caribbean marine organism. This highly functionalized diterpenes are members of 2,11-cyclized family of marine secondary metabolites, which biogenetic pathway is proposed derived by sequential oxidative cyclizations and 1,2-methyl shift migrations from the cembrane carbon skeleton. In this work the NMR properties of the briarellins and a comparison with those of the two types of briarellins and with the carbon skeleton of the asbestinins is presented. The concerted and extensive application of 1D and 2D-NMR techniques showed the four sub-spin systems and their connectivity to construct the Briarellane carbon skeleton. A carefully comparison between de ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectra of the two types of briarellins with those of the asbestinins is possible to assign the type of carbon skeleton and the stereochemistry around the chiral centers of the molecule.

KEY WORDS

Gorgonian octocorals, *Briareum*, secondary metabolites, nuclear magnetic resonance, diterpenes, briarellins, asbestinins, 2D-NMR, sub-spin system.

INTRODUCCIÓN

Las briarellinas A-R y las briarellinas D y K peróxidos (1,2,3,4), son los únicos metabolitos secundarios que poseen el esqueleto de briarellina aislados de un organismo marino de la región del Caribe.

Estos veinte compuestos, contienen un anillo adicional de siete miembros, ausente en todas las eunicellinas previamente reportadas, a excepción de las aisladas de *Pachyclavularia violacea* del Indopacífico y reportadas por Sheu y colaboradores (5,6) en 2001 y 2002. Diez y seis briarellinas (A-D, H, J-R, D-peróxido y K-peróxido), poseen funcionalidad e-lactona, conectando a los carbonos C-3 y C-16, mientras que cuatro briarellinas (E-G e I), poseen el mismo anillo de oxepano típico de los asbestininos (**Figura 1**).

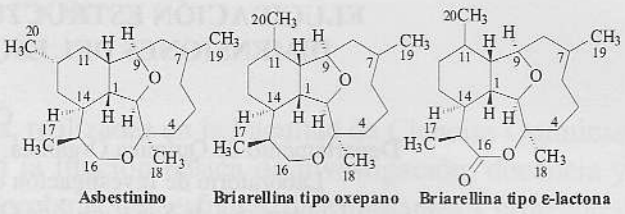


Figura 1. Estructura de asbestininos y briarellinas tipo e-lactona y oxepano

Adicionalmente, quince briarellinas (A-D, J-R, D-peróxido y K-peróxido) se caracterizan por poseer el grupo metilo sobre C-11 con una inusual configuración absoluta. Comparando los espectros de RMN de estos compuestos con el de los asbestininos, se observan muchas similaridades. La simple inspección de los espectros de RMN-^{13}C de asbestinino 20 (**Figura 2**) y briarellina C (**Figura 3**), así como los espectros de RMN-^{1}H de asbestinino 8 (**Figura 4**) y briarellina A (**Figura 5**), muestran una zona de alto campo altamente congestionada de señales y una de bajo campo que muestra claramente las funcionalidades presentes a lo largo del sistema tetracíclico, así como las posiciones 2, 9, 3 y 16, claves para la asignación rápida del esqueleto de estos metabolitos secundarios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el esqueleto de las briarellinas, los protones oximetinos adscritos a H-2 (d @ 3.8, d) y H-9 (d @ 4.2, dd), que correlacionan vía el espectro de correlación heteronuclear (HETCOR) (7) con las señales de RMN-^{13}C adscritas a C-2 (d @ 92, d) y C-9 (d @ 81, d), respectivamente, establecen la presencia del éter de cinco miembros (**Figura 6**).

En el ciclo de seis miembros de las briarellinas, el Me20 está ubicado sobre C-11 en lugar del usual C-12 en los asbestininos (8,9,10).

Las absorciones en el espectro de RMN-^{13}C relacionadas con las "cabezas de puente" C-10 y C-1 son similares en ambos sistemas, sin embargo, los desplazamientos químicos observados en el espectro de RMN-^{1}H asignados a H-1 y H-10, aparecen en las briarellinas desplazados hacia campo bajo (Δ @ 0.3 ppm).

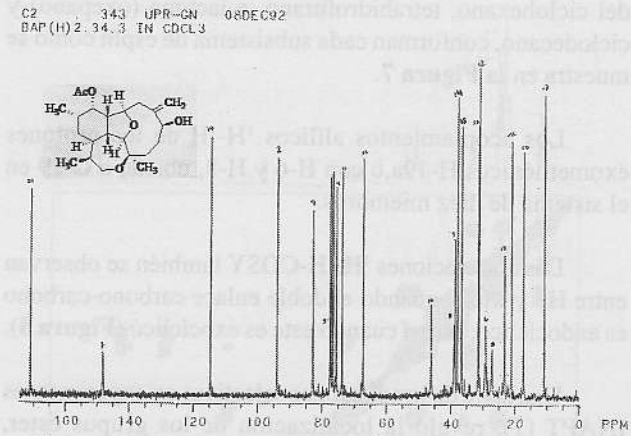


Figura 2. Espectro de RMN-^{13}C de Asbestinino 20 a 300 MHz en $CDCl_3$.

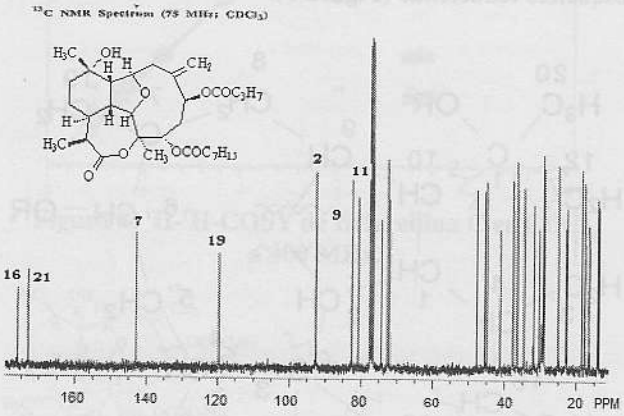


Figura 3. Espectro de RMN-^{13}C de Briarellina C a 300 MHz en $CDCl_3$.

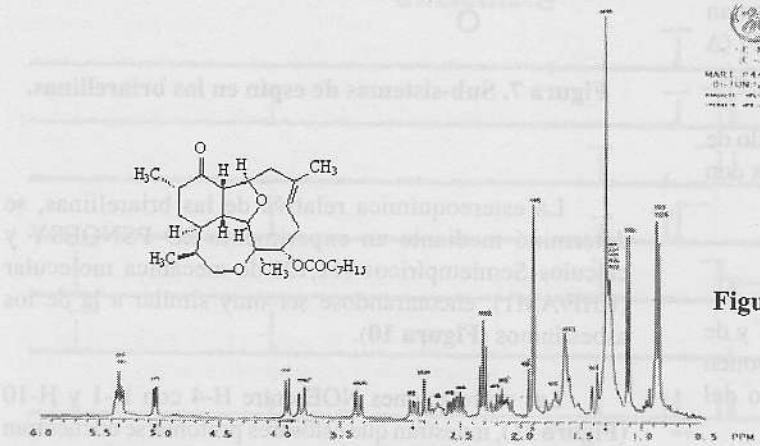


Figura 4. Espectro de RMN-^{1}H de Asbestinino 8 a 300 MHz en $CDCl_3$.

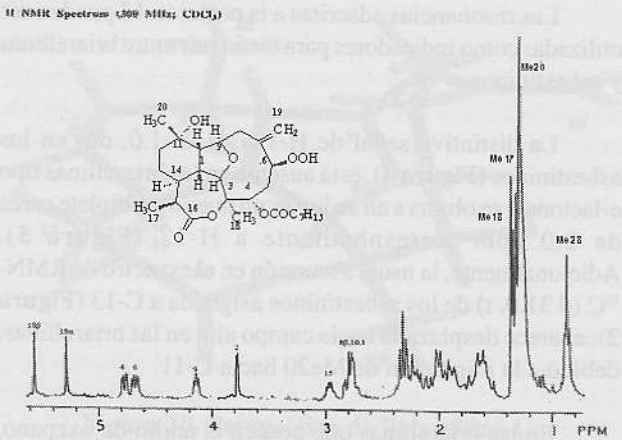


Figura 5. Espectro de RMN-^{1}H de Briarellina A a 300 MHz en $CDCl_3$.

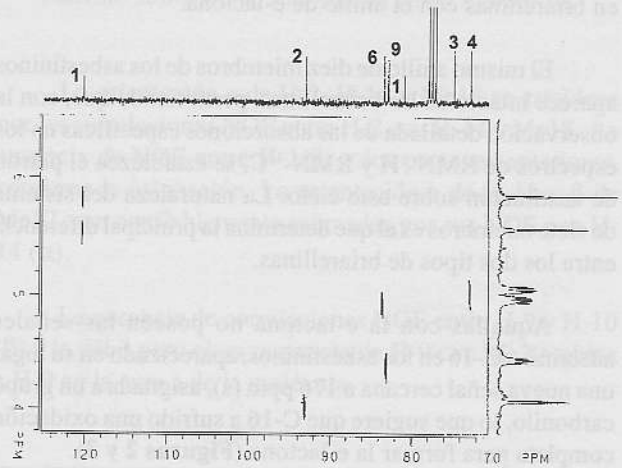


Figura 6. HETCOR ^{1}H-^{13}C de Briarellina A en $CDCl_3$ a 300 MHz.

Las resonancias adscritas a la posición 13 pueden ser utilizadas como indicadores para distinguir entre briarellinas y asbestininos.

La distintiva señal de H-13a (d @ 1.0, dd) en los asbestininos (**Figura 4**), está ausente en las briarellinas tipo e-lactona y se observa en su lugar, un nuevo multiplete cerca de 2.0 ppm correspondiente a H-12 (**Figura 5**). Adicionalmente, la usual absorción en el espectro de RMN-^{13}C (d 31.0, t) de los asbestininos asignada a C-13 (**Figura 2**), aparece desplazada hacia campo alto en las briarellinas, debido a la migración de Me20 hacia C-11.

En las briarellinas que poseen el anillo de oxepano, se observa en el espectro de RMN-^{13}C, un triplete entorno a 24 ppm., mientras un triplete cerca de 16 ppm es indicativo en briarellinas con el anillo de e-lactona.

El mismo anillo de diez miembros de los asbestininos aparece intacto en las briarellinas, permitiendo que, con la observación detallada de las absorciones específicas en los espectros de RMN-^{1}H y RMN-^{13}C, se establezca el patrón de sustitución sobre este ciclo. La naturaleza del sistema de siete miembros es el que determina la principal diferencia entre los dos tipos de briarellinas.

Aquellas con la e-lactona no poseen las señales adscritas a C-16 en los asbestininos, apareciendo en su lugar una nueva señal cercana a 176 ppm (s), asignada a un grupo carbonilo, lo que sugiere que C-16 a sufrido una oxidación completa para formar la e-lactona (**Figuras 2 y 3**).

El desplazamiento a campo bajo que experimentan C-15, C-17 (Δ @ 8.5 ppm), H-15 (Δ @ 1.3 ppm) y H-17 (Δ @ 0.5 ppm) apoyan esta aseveración.

Por otro lado, las briarellinas que poseen el anillo de oxepano, muestran las mismas absorciones asociadas con dicho sistema en los asbestininos.

Sub-sistemas de espín en las briarellinas.

Exhaustivos experimentos de 2D ^{1}H-^{1}H-COSY y de Desacoplamiento Homonuclear Protónico (7), exponen claramente los cuatro subsistemas de espín dentro del esqueleto tetracíclico de las briarellinas.

La secuencia de H-4 a H-6 y los protones remanentes del ciclohexano, tetrahidrofurano, e-lactona (oxepano) y ciclodecano, conforman cada subsistema de espín como se muestra en la **Figura 7**.

Los acoplamientos alílicos ^{1}H-^{1}H de los protones exometilénicos H-19a,b con H-6 y H-8, ubican a C-19 en el sistema de diez miembros.

Las correlaciones ^{1}H-^{1}H-COSY también se observan entre H6 y Me19 cuando el doble enlace carbono-carbono es endocíclico, no así cuando este es exocíclico (**Figura 8**).

Una serie de irradiaciones selectivas en experimentos INAPT (7), reveló la localización de los grupos éster, hidroxilo, ceto y lactona en la molécula, incluyendo los grupos metilo C-17, C-18 y C-20 a lo largo de todo el esqueleto tetracíclico (**Figura 9**).

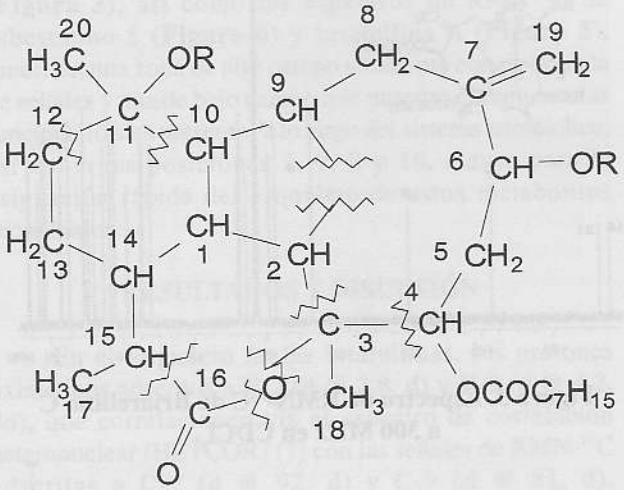


Figura 7. Sub-sistemas de espín en las briarellinas.

La estereoquímica relativa de las briarellinas, se determinó mediante un experimento 2D PSNOESY y cálculos Semiempíricos (11,12) de mecánica molecular (RHF/AM1), encontrándose ser muy similar a la de los asbestininos (**Figura 10**).

Las correlaciones NOE entre H-4 con H-1 y H-10 (**Figura 11**), muestran que estos tres protones se encuentran del mismo lado de la molécula (arbitrariamente asignada como la cara α).

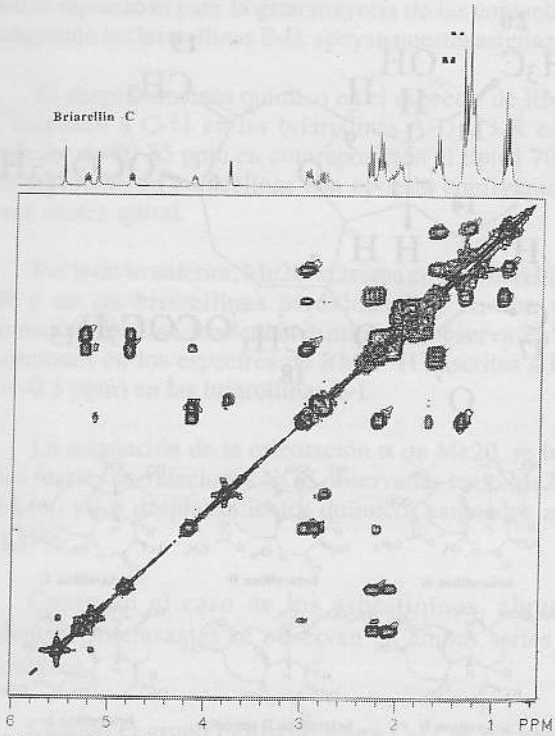
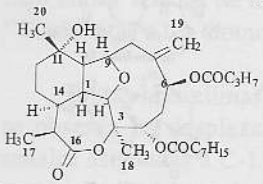


Figura 8. ^{1}H-^{1}H-COSY de Briarellina C en $CDCl_3$ a 300 MHz.



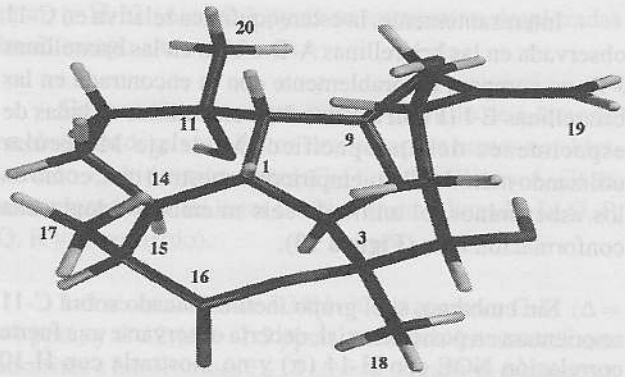


Figura 10. Perspectiva de Briarellina C.

Por facilidad los grupos éster caprilato sobre C4 y butirato sobre C6 se simplifican como hidroxilos.

La orientación a de H-2, H-14 y Me18 se establece por las correlaciones NOE entre H-2 con H-14 y Me18. La ausencia de NOE entre H-1(β) y los protones anteriores, confirma la asignación. La orientación a de H-15 y β de Me17, son confiablemente asignadas por sus NOE con H-14 (α).

La ausencia de correlaciones NOE entre H-9 y H-10 (β) y la débil pero clara respuesta de H-9 con Me20, ubica a H-9 en la cara a de la molécula.

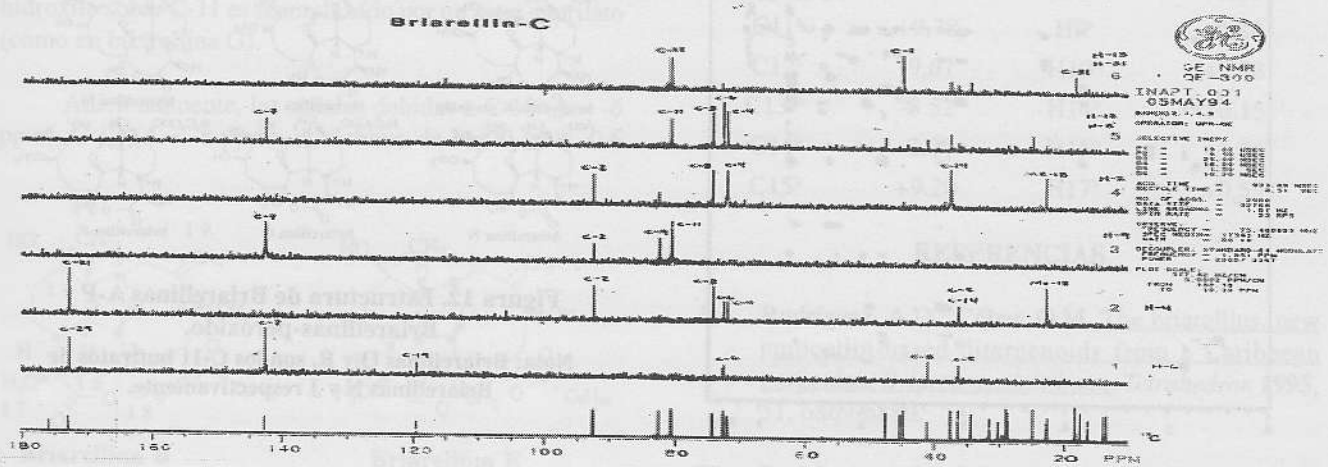


Figura 9. INAPT de Briarellina C a 300 MHz en $CDCl_3$.

Interesantemente, la estereoquímica relativa en C-11 observada en las briarellinas A-D o bien en las briarellinas J-R, no compara favorablemente con la encontrada en las briarellinas E-I (**Figura 12**), o las eunicellinas aisladas de especimenes del Indopacífico. Modelaje Molecular utilizando métodos Semiempíricos, muestran que, como en los asbestininos, el anillo de seis miembros adopta una conformación bote (**Figura 10**).

Sin embargo, si el grupo metilo ubicado sobre C-11 se orientara en posición axial, debería observarse una fuerte correlación NOE con H-14 (α) y no mostrarla con H-10 (β), sin embargo en las briarellinas A-D, los protones adscritos a Me20 muestran una fuerte correlación NOE con H-10 (β) y H-9 (α), pero no se observa con H-14 (α).

Mientras la observación del NOE con H-9 (α) pareciera ser mas consistente con una configuración a de Me20, no es consistente con la estereoquímica relativa sobre C-11 (correlaciones NOE entre Me20 y H-9 y H-10 se esperarían en ambos epímeros α y β sobre C-11).

Adicionalmente, el hecho de que las absorciones adscritas a H-9 y C-11 aparecen desplazadas de sus valores

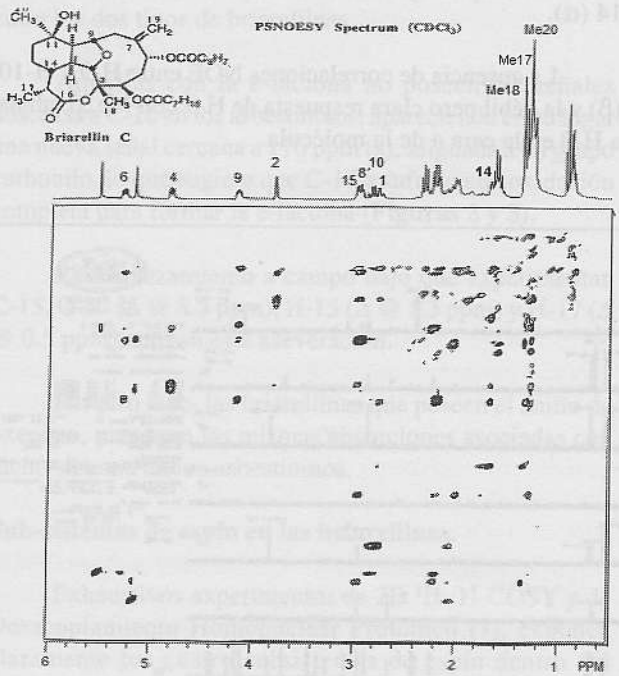


Figura 11. 2D PSNOESY de Briarellina C en $CDCl_3$ a 300 MHz

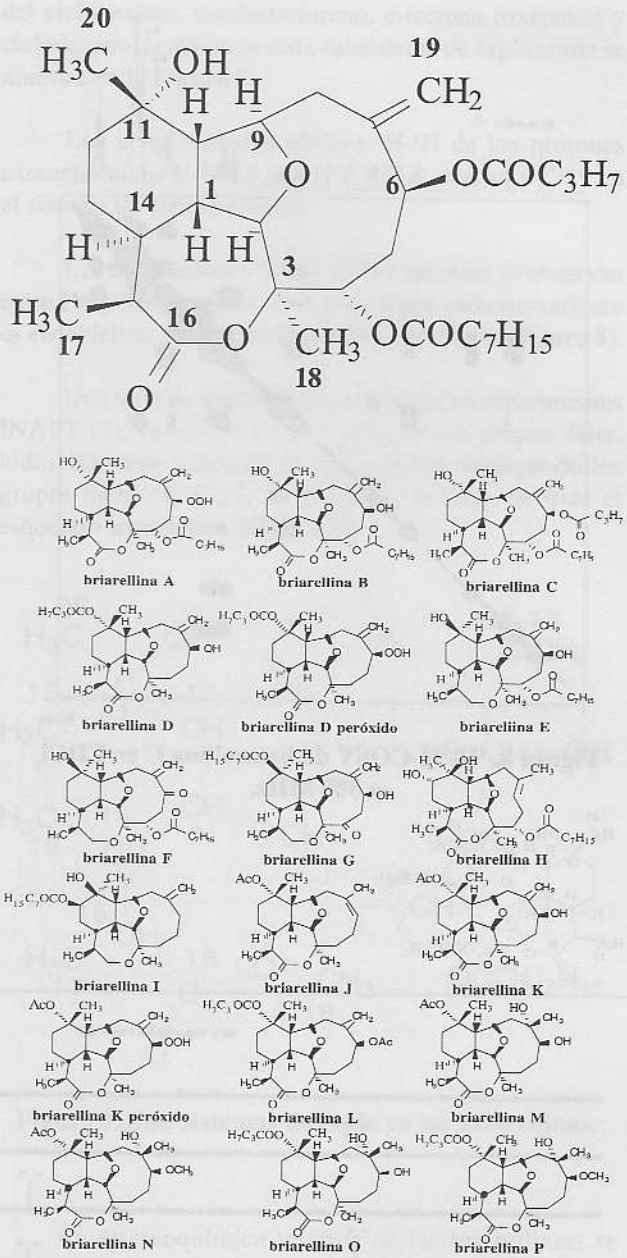


Figura 12. Estructura de Briarellinas A-P y Briarellinas-peróxido.
Nota: Briarellinas Q y R, son los C-11 butiratos de Briarellinas N y J respectivamente.

usuales reportadas para la gran mayoría de las eunicelinas (incluyendo las briarellinas E-I), apoyan nuestra asignación.

El desplazamiento químico en el espectro de RMN-^{13}C asignado a C-11 en las briarellinas A-D y J-R es de alrededor de 80-85 ppm en contraposición al típico 70-73 ppm reportado en eunicelinas con opuesta configuración en ese centro quiral.

Por todo lo anterior, Me20 se asigna en las briarellinas A-R y en las briarellinas peróxidos D y K, con una orientación β. Una tendencia similar se observa en las absorciones en los espectros de RMN-^{1}H adscritas a H-9 (Δ = -0.3 ppm) en las briarellinas E-I.

La asignación de la orientación α de Me20, se basa en las fuertes correlaciones NOE observadas entre Me20 y H-14 (α) y los desplazamientos químicos asignados a C-11 y H-9.

Como en el caso de los asbestininos, algunas tendencias interesantes se observan en ambas series de briarellinas.

Cuando el grupo hidroxilo sobre C-11 se encuentra esterificado, se observa un desplazamiento hacia campo bajo en las señales de los espectros de RMN-^{1}H y RMN-^{13}C adscritas a los átomos cercanos a dicha posición.

En las briarellinas que poseen el anillo de oxepano, se observa un desplazamiento hacia campo bajo de las señales asignadas a C-11 (Δ = +10 ppm), H-10 (Δ = +1.0 ppm) y los protones de Me20 (Δ = +0.1 ppm) si el grupo hidroxilo sobre C-11 es reemplazado por un éster caprilato (como en briarellina G).

Adicionalmente, las señales debidas a C-10 (Δ = -6 ppm), C-12 (Δ = -8 ppm), el carbono de Me20 (Δ = -0.6 ppm) y H-12 (Δ = -0.3 ppm) se encuentran desplazadas hacia campo alto.

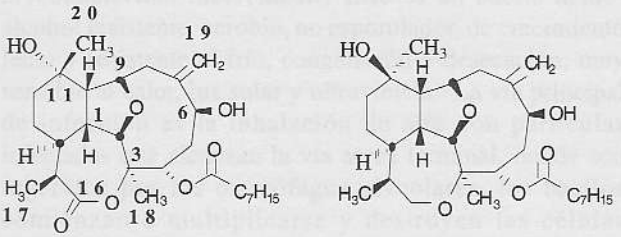


Figura 13. Estructura de briarellinas B y E.

En las briarellinas que poseen el anillo de e-lactona, se observan desplazamientos similares pero menos notables, cuando el hidroxilo sobre C-11 (briarellinas A-C) es reemplazado por un éster butírico (briarellinas D, L, O, P, Q, R y D peróxido).

Las resonancias de RMN-^{13}C asignadas a C-11 (Δ = +4 ppm) y C-12 (Δ = -1.5 ppm), así como las absorciones adscritas a los protones H-12 (Δ = -0.5 ppm) se encuentran también desplazadas.

Estas tendencias se observan en la **Tabla 1**, que compara los desplazamientos químicos tanto de carbono trece como de protón para briarellinas B y E.

Tabla 1. Comparación de Algunos Desplazamientos Químicos entre Briarellinas B y E.

Los valores de Δ (ppm) fueron calculados restando el correspondiente d RMN-^{1}H o d RMN-^{13}C en briarellina E (tipo oxepano) de aquellos de briarellina B (tipo ε-lactona).

[a]El efecto puede ser debido al cambio en la estereoquímica sobre C-11.

[b]El efecto puede ser debido al grado de oxidación sobre C-16.

Átomo	Δ (ppm)	Átomo	Δ (ppm)
C1[a,b]	+5.22	C17[b]	+7.51
C3[b]	-2.80	H1[a,b]	+0.22
C10[a]	-4.47	H4[b]	-0.53
C11[a]	+9.78	H9[a]	-0.28
C12[a]	-9.67	H10[a]	+0.78
C13[a,b]	-8.52	H14[b]	+0.15
C14[b]	-2.00	H15[b]	+1.34
C15[b]	+9.20	H17[b]	+0.55

REFERENCIAS

1. Rodríguez, A.D.; Cóbar, O.M. The briarellins, new eunicellin-based diterpenoids from a Caribbean gorgonian, *Briareum asbestinum*. *Tetrahedron* **1995**, 51, 6869-6880.
https://doi.org/10.1016/0040-4020(95)00339-A
2. Rodríguez, A.D.; Cóbar, O.M. Studies on the minor constituents of the Caribbean gorgonian octocoral

Briareum ashestinum Pallas. Isolation and structure determination of the eunicclin-based diterpenoids briarellins E-I. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin of Japan*. **1995,** 43, 1853-1858, https://doi.org/10.1248/cpb.43.1853

3. Ospina. C.; Rodríguez, A.D.; Ortega-Barria, E.; Capson, T. Briarellins J-P and polyanthellin A: a new eunicellin-based diterpenes from the gorgonian coral *Briareum polyanthes* and their antimalarial activity. *Journal of Natural Products*. **2003,** 66, 357-363, https://doi.org/10.1021/np0204500

4. Ospina, C.; Rodríguez, A.D. Bioactive Compounds from the Gorgonian *Briareum polyanthes*. *Journal of Natural Products*. **2006,** 69, 1721-1727, https://doi.org/10.1021/np060317y

5. Wang, G.H.; Shen, J.H.; Chiang, M.Y; Lee, T.S. Pachyclavulariaenones A-C, three novel diterpenoids from the soft coral *Pachyclavularia violácea*. *Tetrahedron Letters*. **2001,** 42, 2333-2336, https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)00180-0

6. Wang, G.H.; Sheu, J.H.: Chiang, Y.D.; Chiang, M.Y, Pachyclavulariaenones D-G. new diterpenoids from the soft coral *Pachyclavularia violácea*. *Journal of Natural Products*. **2002,** 65, 1475-1478, https://doi.org/10.1021/np020095d

7. Claridge, T.D. High Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry. Pergamon, London, U.K. **1999.**

8. Morales, J.J.; Lorenzo, D.; Rodríguez, A.D. Application of two-dimensional NMR spectroscopy in the structural determination of marine natural products. Isolation and total structural assignment of 4-deoxysbcstinin diterpenes from the Caribbean gorgonian *Briareum asbestinum*. *Journal of Natural Products*. **1991,** 54, 1368-1382, https://doi.org/10.1021/np50077a021

9. Rodríguez, A.D. Two-dimensional NMR spectra of asbestinin diterpenes isolated from *Briareum asbestinum* ÍPallas). Total stereochemical assignment by two-dimensional NMR techniques. *Magnetic Resonance in Chemistry*. **1992,** 30, 977-986, https://doi.org/10.1002/mrc.1260301012

10. Rodríguez, A.D.; Cóbar, O.M.; Martínez, N. Isolation and structures of sixteen new asbestinin diterpenes from the Caribbean gorgonian *Briareum ashestinum*. *Journal of Natural Products*. **1994,** 57, 1638-1655, https://doi.org/10.1021/np50114a005

11. Dewar, M.L; Zoebisch, E.G.; Healy, E.F.; Stewart, J.J. Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AMI: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *Journal of the American Chemical Society*. **1985,** 107, 3902-3909, https://doi.org/10.1021/ja00299a024

12. G.B. Rocha, R.O. Freire, A. Simas and J.J.P. Stewart RM1: A reparameterization of AMI for H. C, N, O, P. S. F. CL Br, and I, *Journal of Computational Chemistry*. **2006,** 27, 1101-1111, https://doi.org/10.1002/jcc.20425

Copyright (c) 2008 O. Cóbar

Este texto está protegido por una licencia *CreativeCommons 4.0*.

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, , incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

Resumen de licencia - *Texto completo de la licencia*