

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 693 177**

21 Número de solicitud: 201830049

51 Int. Cl.:

C07C 69/738 (2006.01)

C07D 317/30 (2006.01)

C07C 67/327 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

10.03.2017

43 Fecha de publicación de la solicitud:

07.12.2018

62 Número y fecha presentación solicitud inicial:

P 201700241 10.03.2017

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA (100.0%)
PABELLON DE BRASIL PO. DE LAS DELICIAS S/N
41013 Sevilla ES**

72 Inventor/es:

**FERNÁNDEZ-BOLAÑOS GUZMÁN, José María;
MAYA CASTILLA, Inés y
GONZÁLEZ BENJUMEA, Alejandro**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **Procedimiento para la obtención de secoiridoides dialdehídicos**

57 Resumen:

Procedimiento para la obtención de secoiridoides dialdehídicos.

Esta invención se refiere un procedimiento para la obtención de secoiridoides dialdehídicos, tales como la oleaceína y oleocantal mediante el uso de DMSO. Este procedimiento permite doblar el rendimiento de la reacción de Krapcho con la que se obtiene oleaceína a partir de oleuropeína, presente en la hoja de olivo. La oleaceína, un secoiridoide dialdehídico presente en el aceite de oliva virgen y virgen extra posee muy interesantes propiedades biológicas como antiinflamatorio y antiasmático. Se utiliza por primera vez la reacción de Krapcho a la conversión de los aglicones monoaldehídicos de oleuropeína y ligstrósido, presentes en extractos fenólicos del AOVE, en los correspondientes derivados dialdehídicos oleocantal y oleaceína, con lo que se consigue un método muy eficaz de enriquecer los extractos fenólicos en los secoiridoide dialdehídicos, de alto valor añadido.

ES 2 693 177 A2

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la obtención de secoiridoides dialdehídicos

5 Objeto de la invención

Esta invención permite doblar el rendimiento de la reacción de Krapcho con la que se obtiene oleaceína a partir de oleuropeína, presente en la hoja de olivo. La oleaceína, un secoiridoide dialdehídico presente en el aceite de oliva virgen y virgen extra, posee muy interesantes propiedades biológicas como antiinflamatorio y antiasmático. Se ha extendido por primera vez la reacción de Krapcho a la conversión de los aglicones monoaldehídicos de la oleuropeína y del ligstrósido, presentes en extractos fenólicos del AOVE, en los correspondientes derivados dialdehídicos oleocantal y oleaceína, con lo que se consigue un método muy eficaz de enriquecer los extractos fenólicos en los secoiridoides dialdehídicos, de alto valor añadido. También se describe un nuevo procedimiento para estabilizar y aumentar la biodisponibilidad de la oleaceína y el oleocantal mediante reacciones de acilación y acetalización.

Esta invención se encuadra en la producción en las áreas de la Agricultura, Alimentación, Química y Farmacia.

El Sector de Actividad en el que la invención puede ser utilizada corresponde al área de Alimentación y de la Industria Farmacéutica.

Estado de la técnica

Los componentes mayoritarios de la fracción fenólica de los aceites de oliva virgen extra (AOVE) son los dialdehídos oleaceína y oleocantal, los aglicones monoaldehídicos de la oleuropeína y del ligstrósido, y los correspondientes aglicones dialdehídicos (1).

Se ha descrito que el oleocantal posee propiedades beneficiosas tales como actividad antiinflamatoria (2;3) y antitumoral (4;5). Además, el oleocantal ejerce un papel neuroprotector en el cerebro (6;7), siendo efectivo en la disminución de las placas β -amiloides, lo que contribuye a la prevención de la enfermedad de Alzheimer (8).

Por otro lado, la oleaceína es un potente antioxidante y un buen inhibidor de la enzima 5-lipoxigenasa implicada en la biosíntesis de leucotrienos, por lo que la oleaceína puede ser de utilidad en el tratamiento del asma y de la rinitis alérgica (9). Ha demostrado ser un fármaco efectivo contra enfermedades relacionadas con la degradación de las placas ateroscleróticas (10), y presenta propiedades antiproliferativas (11).

Recientemente, se ha descrito un procedimiento para transformar la oleuropeína, el principal compuesto fenólico presente en la hoja de olivo, en oleaceína utilizando la reacción de Krapcho basada en el calentamiento en DMSO conteniendo NaCl y agua. El
 5 rendimiento publicado para esta reacción es del 20.5%. También se ha descrito que la oleaceína se descompone significativamente durante la purificación cromatográfica tanto en gel de sílice como en fase reversa (12).

El oleocantal puede ser aislado del AOVE (13) o puede prepararse a partir de D-lixosa (14). La oleaceína también puede sintetizarse a partir de D-lixosa (14).

10

Referencias

- (1) Diamantakos P et al. *Oleokoronol and oleomissional: new major phenolic ingredients of extra virgin olive oil. Olivae* 2015, 122, 23
- (2) Parkinson L & Keast R. *Oleocanthal, a phenolic derived from virgin olive oil: a review of the beneficial effects on inflammatory disease. Int J Mol Sci* 2014, 15, 12323
 15
- (3) Peyrot Des Gachons C et al. *Use of the irritating principal oleocanthal in olive oil, as well as structurally and functionally similar compounds, WO2006122128 A2*
- (4) Hodge AM et al. *Foods, nutrients and prostate cancer. Cancer Cause Control* 2004, 15, 11
- 20 (5) LeGendre O et al. *(-)-Oleocanthal rapidly and selectively induces cancer cell death via lysosomal membrane permeabilization, Mol Cell Oncol* 2015, 2, e1006077-1-8
- (6) Heneka et al. *Neuroinflammation in Alzheimer's disease, Lancet Neurol* 2015, 14, 388
- (7) Theoharides TC, *Anti-inflammatory compositions for treating neuro-inflammation, US2013115202 A1*
- 25 (8) Abuznait et al. *Olive oil-derived oleocanthal enhances β -amyloid clearance as a potential neuroprotective mechanism against Alzheimer's disease: In vitro and in vivo studies, ACS Chem Neurosci* 2013, 4, 973
- (9) Vougiannopoulou et al. *One-step semisynthesis of oleacein and the determination as a 5-lipoxygenase inhibitor, J Nat Prod* 2014, 77, 441
- 30 (10) Czerwinska ME et al. *Oleacein for treating or preventing diseases resulting from atherosclerotic plaques, US20160008311*
- (11) Corona et al. *Inhibition of p38/CREB phosphorylation and COX-2 expression by olive oil polyphenols underlies their anti-proliferative effects. Biochem Biophys Res Commun* 2007, 362, 606

(12) Karkoula et al. *Direct measurement of oleocanthal and oleacein levels in olive oil by quantitative ¹H NMR. Establishment of a new index for the characterization of extra virgin olive oils.* *J Agric Food Chem* 2012, 60, 11696

(13) Fogli S et al. *Cytotoxic activity of oleocanthal isolated from virgin olive oil on human melanoma cells.* *Nutr Cancer* 2016, 68, 873

(14) Smith III AB et al. *Syntheses of (-)-oleocanthal, a natural NSAID found in extra virgin olive oil, the (-)-deacetoxy-oleuropein aglycone, and related analogues.* *J Org Chem* 2007, 72, 6891.

10 Figuras

Figura 1.- Estructuras de la oleaceína diacilada 2 y del aglicón del oleurósido deshidratado (DOA) diacilado 3.

Figura 2.- Reacción de desmetoxicarbonilación de Krapcho sobre oleuropeína 1 seguida de acilación, separación cromatográfica y posterior desacilación

Figura 3.- Reacción de desmetoxicarbonilación de Krapcho sobre los aglicones monoaldehídicos de la oleuropeína 7 y ligstrósido 6 seguido de acilación.

Figura 4. .- Reacciones de monoacetalización quimiosselectivas sobre el carbonilo no conjugado del oleocantal acilado 9 y la oleaceína diacilada 2.

20

Descripción de la invención

Se ha llevado a cabo una mejora del procedimiento original de transformación de oleuropeína en oleaceína mediante la reacción de desmetoxicarbonilación de Krapcho en DMSO húmedo. Con esta invención, basada en la ausencia de haluro alcalino, mejoramos el proceso descrito previamente disminuyendo sustancialmente el tiempo de calentamiento y aumentando el rendimiento de oleaceína a más del doble. En el curso de la reacción se puede aislar un segundo producto, el aglicón deshidratado del oleurósido (DOA, Dehydrated Oleuroside Aglycone), del que no existen antecedentes.

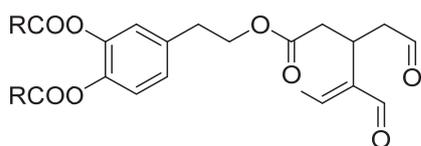
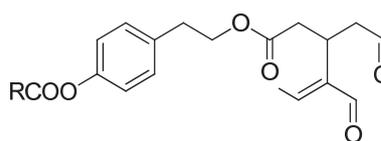
La mezcla de reacción se acila in situ consiguiendo estabilizar tanto a la oleaceína como al DOA y permitir la purificación cromatográfica de ambos. No existen antecedentes de oleaceína diaciladas; (Figura 1, R = Me).

Usando el mismo procedimiento se consigue la conversión de los aglicones monoaldehídicos de oleuropeína y ligstrósido en oleaceína y oleocantal, respectivamente, mediante calentamiento en DMSO humedo. La transformación se puede llevar a cabo con los aglicones monoaldehídicos por separado, o bien con mezclas fenólicas, como por ejemplo las mezclas de fenoles aisladas de aceite de oliva. Este procedimiento permite enriquecer la mezcla de fenoles en los secoiridoides dialdehídicos oleaceína y oleocantal, facilitando el aislamiento cromatográfico de ambos al reducir el número de componentes de la mezcla.

- 10 Luego, es objeto de la presente invención un procedimiento para la obtención de los secoiridoides dialdehídicos oleaceína y/o oleocantal caracterizado porque comprende el tratamiento del aglicón monoaldehídico de la oleuropeína y/o del aglicón monoaldehídico del ligstrósido, respectivamente, con dimetilsulfóxido (DMSO) o dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d6) húmedo a temperaturas por encima de 90 °C, usando
15 calentamiento convencional o microondas y en ausencia de sal inorgánica.

El aglicón monoaldehídico de la oleuropeína y/o el aglicón monoaldehídico del ligstrósido pueden estar por separado o mezclados con otros compuestos fenólicos.

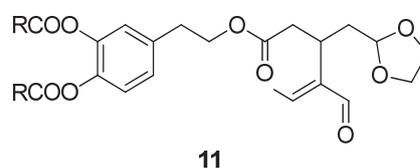
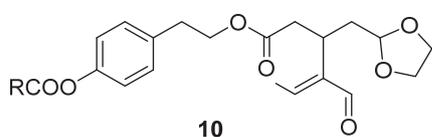
- 20 La acilación de esta mezcla enriquecida en los dialdehídos fenólicos estabiliza ambos compuestos para la etapa de purificación cromatográfica. Tanto la oleaceína diacilada **2** como el oleocantal acilado **9** se pueden desacilar utilizando lipasa o catalizador básico en alcohol.
- 25 Luego, el procedimiento de la presente invención comprende además una etapa de acilación de la oleaceína y/o el oleocantal obtenidos para obtener así la oleaceína diacilada (2) y/o el oleocantal acilado (9),

**2****9**

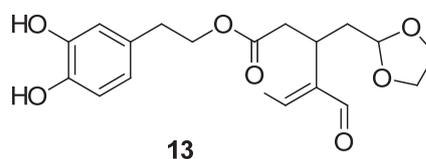
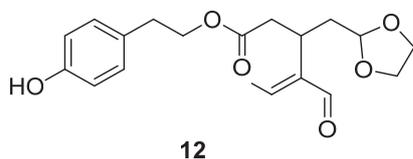
- 30 donde R se selecciona entre hidrógeno (H), alquilo (C₁-C₂₂), fenilo sustituido o sin sustituir.

Los derivados dialdehídicos diacilados también se han estabilizado mediante su transformación en los derivados monoacetálicos-monoaldehídicos mediante acetalización regioselectiva con etilenglicol sobre el grupo formilo no conjugado, manteniendo los grupos acilo sobre los hidroxilos fenólicos. De esta manera se pueden obtener derivados
5 más estables y lipófilos, y por tanto más biodisponibles. La posterior desacilación conduce a los 3-etilideno acetales de oleaceína y de oleocantal.

Luego, la presente invención también comprende la acetalización regioselectiva con etilenglicol de la oleaceína diacilada (2) y/o el oleocantal acilado (9), obtenidos para
10 obtener así los compuestos 11 y/o 10.



donde R se selecciona entre hidrógeno (H), alquilo (C1-C22), fenilo sustituido o sin
15 sustituir, así como su posterior desacilación para obtener los compuestos compuestos 13 y/o 12.



20

En resumen, en la presente invención se describe el procedimiento de conversión de diferentes compuestos secoiridoides en oleocantal y oleaceína mediante una variante de la desmetoxicarbonilación de Krapcho en DMSO húmedo a alta temperatura en ausencia de haluro (sal inorgánica). Esta reacción se puede llevar a cabo sobre oleuropeína
25 aislada, sobre extractos ricos en oleuropeína, sobre fracciones fenólicas extraídas de aceite de oliva virgen y virgen extra, y sobre aglicones monoaldehídicos de oleuropeína y ligstrósido aislados.

Esta invención permite enriquecer extractos fenólicos procedentes de aceite de oliva en oleaceína y oleocantal a expensas de sus precursores monoaldehídicos, y facilitar la
30 separación cromatográfica de dichos derivados dialdehídicos.

Reacción de Krapcho sobre la oleuropeína

La reacción de Krapcho sobre la oleuropeína **1**, o extractos ricos en oleuropeína, en DMSO o DMSO-d₆ húmedos a temperatura superior a 140 °C en ausencia de haluro (sal inorgánica) conduce a oleaceína y al aglicón deshidratado del oleurósido (DOA). La purificación cromatográfica (gel de sílice, entre otros adsorbentes) de esta mezcla sólo
 5 permite aislar DOA debido a la descomposición sustancial de la oleaceína durante el proceso. La acilación de la mezcla permite que ambos compuestos se estabilicen y que además puedan ser purificados con mayor eficacia mediante separación cromatográfica (gel de sílice, entre otros adsorbentes), lo que conduce al aislamiento de los nuevos compuestos **2** y **3** (Figura 2). La desacilación de **2** llevada a cabo por ejemplo con lipasa
 10 o base en alcohol (MeOH, entre otros alcoholes alifáticos) conduce a oleaceína **4** cuyos datos espectroscópicos coinciden con los de la oleaceína natural; igualmente, la desacilación de **3** conduce al aglicón deshidratado del oleurósido (DOA) **5**, no descrito previamente. Esta reacción de Krapcho sobre el ligstrósido conduce al oleocantal **8**.

15 *Reacción de Krapcho sobre mezclas fenólicas procedentes de aceite de oliva virgen o virgen extra*

La reacción de Krapcho con mezclas fenólicas procedentes de aceite de oliva virgen o virgen extra, conteniendo entre otros compuestos fenólicos los aglicones monoaldehídicos de ligstrósido **6** y oleuropeína **7**, llevada a cabo calentando en DMSO o
 20 DMSO-d₆ a temperaturas por encima de 90 °C conduce a la transformación de éstos monoaldehídos en los correspondientes dialdehídos **8** (oleocantal) y **4** (oleaceína), por lo que la mezcla se enriquece en dichos dialdehídos (Figura 3). La separación cromatográfica de ambos dialdehídos permite la obtención de oleocantal puro **8** con buen rendimiento. La acilación de la mezcla de **8** y **4** seguida de separación cromatográfica
 25 permite obtener puros oleocantal acilado **9** y oleaceína diacilada **2**. No existen antecedentes de **2**, ni de la síntesis de **9** mediante acilación del oleocantal **8**, aunque **9** sí ha sido preparado por una ruta alternativa (Smith, III et al. *J Org Chem* 2007, 72, 6891). La desacilación de **9** para regenerar **8** se lleva a cabo por ejemplo con lipasa o base en alcohol (MeOH, entre otros alcoholes alifáticos).

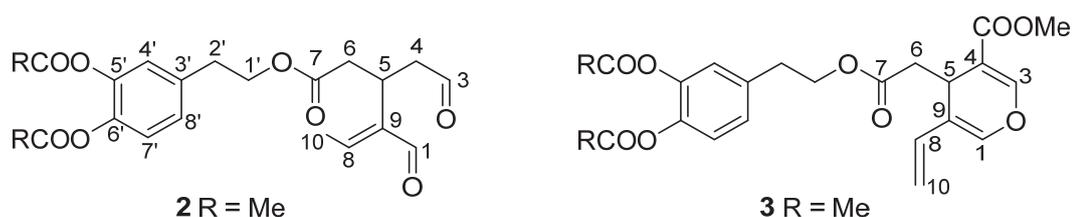
30 La reacción de Krapcho sobre el aglicón monoaldehídico de ligstrósido **6** aislado, o sobre el aglicón monoaldehídico de oleuropeína **7** aislado, nos permite tras eliminación del DMSO obtener directamente oleocantal **8** u oleaceína **4**, respectivamente.

35 *Derivatización quimioselectiva sobre el carbonilo no conjugado del oleocantal acilado 9 o la oleaceína acilada 2 mediante reacción de acetalización*

El tratamiento de los derivados acilados **2** **9** y **9** **2** con etilenglicol en presencia de un ácido fuerte como catalizador, por ejemplo el ácido trifluoroacético, conduce a **10** y **11**, respectivamente, acetalizados en el carbonilo no conjugado (Figura 4). La desacilación de estos compuestos se lleva a cabo con los métodos anteriormente citados que usan por ejemplo lipasa o base como catalizador en presencia de alcohol alifático, lo que permite la obtención de oleaceína monoacetalizada **12** y oleocantal monoacetalizado **13**. Los compuestos **12** y **13** también se pueden obtener por acetalización de oleocantal **8** y oleaceína **4**, respectivamente, con etilenglicol y catálisis ácida.

10 Modo de realización de la invención

Preparación de oleaceína diacetilada (2, R = Me) y aglicón deshidratado del oleurosidio acetilado (3, R = Me), a partir de oleuropeína (1)



15

Se calienta una disolución de oleuropeína **1** (110 mg, 0.20 mmol) en DMSO húmedo (3 ml) a 150 °C durante 5 h. Se acetila la mezcla de reacción sin eliminar el disolvente empleando Ac₂O (0.4 ml) y una cantidad catalítica de DMAP (2 mg). Una vez completada la reacción (8 h, a temperatura ambiente) se hidroliza el exceso de Ac₂O y se concentra a sequedad a baja presión. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna usando como eluyente AcOEt-ciclohexano (1:3 → 1:1), obteniéndose el DOA acetilado como sirope incoloro (mayor R_F) y la oleaceína diacetilada (menor R_F) como un sirope incoloro.

20

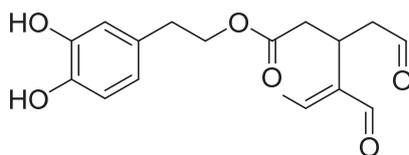
Datos de la oleaceína acetilada **2** (R = Me). Rendimiento: 38 mg, 42% R_F 0.4 (AcOEt-ciclohexano 1:1), $[\alpha]_D^{24} +103$. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.63 (m, 1H, H-3), 9.21 (d, 1H, J= 2.0 Hz, H-1), 7.12 (d, 1H, J= 8.3 Hz, H-7'), 7.06 (dd, 1H, J= 8.3 Hz, J= 1.9 Hz, H-8'), 7.02 (d, 1H, J= 1.9 Hz, H-4'), 6.62 (c, 1H, J= 7.1 Hz, H-8), 4.29□4.19 (m, 2H, H-1'), 3.63□3.55 (m, 1H, H-5), 2.97 (ddd, 1H, J= 18.7 Hz, J= 8.5 Hz, J= 1.2 Hz, H-4a), 2.89 (t, 2H, J= 6.7 Hz, H-2'), 2.74 (ddd, 1H, J= 18.7 Hz, J= 6.3 Hz, J= 0.9 Hz, H-4b), 2.68 (dd, 1H, J= 15.8 Hz, J= 8.5 Hz, H-6a), 2.60 (dd, 1H, J= 15.8 Hz, J= 6.5 Hz, H-6b), 2.28 y 2.27 (2 s,

30

3H cada uno, 2 Ac), 2.04 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz, H-10). ^{13}C -RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 200.6 (C-3), 195.3 (C-1), 172.0 (C-7), 168.5, 168.4 (2 OCOMe), 154.5 (C-8), 143.3 (C-9), 142.1, 140.9 (C5', C-6'), 136.8 (C-3'), 127.1 (C-8'), 124.0 (C-4'), 123.5 (C-7'), 64.5 (C-1'), 46.3 (C-4), 37.0 (C-6), 34.5 (C-2'), 27.4 (C-5), 20.8 (2 OCOMe), 15.4 (C-10). HRLSI-MS: calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{NaO}_8$ ($[\text{M} + \text{Na}]^+$): 427.1363, encontrado: 427.1362.

Datos de aglicón deshidratado del oleurósido (DOA) acetilado **3** (R = Me). Rendimiento: 12.5 mg, 15%, R_F 0.6 (AcOEt-ciclohexano 1:1), $[\alpha]_D^{24}$ -26. ^1H -RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 7.49 (s, 1H, H-3), 7.10 (m, 2H, H-7', H-8'), 7.04 (m, 1H, H-4'), 6.53 (s, 1H, H-1), 6.14 (dd, 1H, $J = 17.6$ Hz, $J = 11.0$ Hz, H-8), 5.30 (d, 1H, $J = 17.6$ Hz, H-10_{trans}), 5.07 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, H-10_{cis}), 4.23 (m, 2H, $J = 6.9$ Hz, H-1'), 3.93 (t, 1H, $J = 4.8$ Hz, H-5), 3.73 (s, 3H, COOMe), 2.90 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, H-2'), 2.63 (dd, 1H, $J = 14.4$ Hz, $J = 4.1$ Hz, H-6a), 2.54 (dd, 1H, $J = 14.4$ Hz, $J = 5.5$ Hz, H-6b), 2.29 y 2.28 (2 s, 3H cada uno, 2 Ac). ^{13}C -RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 171.3 (C-7), 168.5, 168.4 (OCOMe), 166.9 (COOMe), 151.5 (C-3), 142.1 (C-5'), 141.2 (C-1), 140.8 (C-6'), 137.1 (C-3'), 127.2 (C-8), 123.9 (C-8'), 123.4 (C-4'), 123.4 (C-7'), 117.7 (C-4), 112.7 (C-10), 108.9 (C-9), 64.5 (C-1'), 51.7 (COOMe), 39.3 (C-6), 34.4 (C-2'), 27.2 (C-5), 20.8 (OCOMe). HRLSI-MS: calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{NaO}_9$ ($[\text{M} + \text{Na}]^+$): 467.1313, encontrado: 467.1310.

Oleaceína (4)

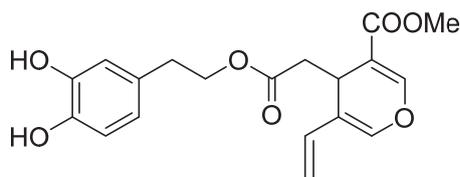


20

Se disuelve **2** R = Me (12 mg, 0.038 mmol) en MeOH (1 ml) y se añade lipasa procedente de *Candida antarctica* Novozyme 435 (12 mg). La mezcla se calienta a 40 °C durante 3 h. Una vez terminada la reacción, se microfiltra y se concentra a sequedad obteniéndose el producto como un sirope naranja. Rendimiento: cuant. R_F 0.1 (AcOEt-ciclohexano 1:1). ^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 9.64 (m, 1H, H-3), 9.22 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H-1), 6.78 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 6.71 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H-4'), 6.64 (c, 1H, $J = 7.0$ Hz, H-8), 6.54 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H-8'), 4.17 (m, 2H, H-1'), 3.69 (m, 1H, H-5), 2.92 (ddd, 1H, $J = 19.2$ Hz, $J = 8.5$ Hz, $J = 1.2$ Hz, H-6a), 2.81□2.62 (m, 5H, H-4, H-2' y H-6b), 2.05 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz, H-10).

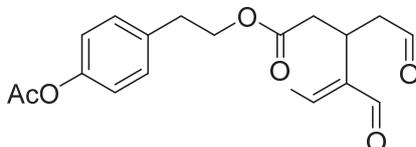
30

Aglicón deshidratado del oleurósido (DOA, 5)



Se disuelve **3** R = Me (32 mg, 0.072 mmol) en MeOH (1 ml) y la lipasa procedente de *Candida antarctica* Novozyme 435 (32 mg). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 4 h. Una vez terminada la reacción, se microfiltra y se concentra a sequedad obteniéndose el producto como un sirope naranja. Rendimiento: cuant. R_f 0.45 (AcOEt-ciclohexano 1:1). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7.52 (s, 1H, H-3), 6.78 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 6.77 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H-4'), 6.61 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H-8'), 6.57 (s, 1H, H-1) 6.15 (dd, 1H, $J = 17.6$ Hz, $J = 11.1$ Hz, H-8), 5.35 (d, 1H, $J = 17.6$ Hz, H-10_{trans}), 5.08 (d, 1H, $J = 11.1$ Hz, H-10_{cis}), 4.14 (m, 2H, H-1'), 3.95 (dd, 1H, $J = 4.1$ Hz, $J = 5.5$ Hz H-5), 3.77 (s, 3H, COOMe), 2.80 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, H-2'), 2.58 (dd, 1H, $J = 14.4$ Hz, $J = 4.1$ Hz, H-6a), 2.54 (dd, 1H, $J = 14.4$ Hz, $J = 5.5$ Hz, H-6b).

Oleocantal acetilado (9 R = Me)



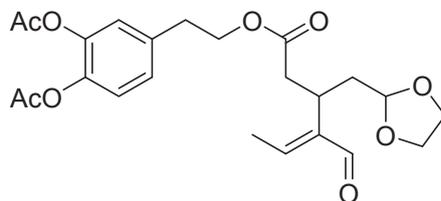
15

Se disuelve **8** (100 mg, 0.33 mmol) en una mezcla de $\text{Ac}_2\text{O/Py}$ 1:1 (v/v) enfriada a 0 °C. Tras 15 min se deja en agitación a temperatura ambiente una noche. Se hidroliza el Ac_2O y se concentra a sequedad a baja presión y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt-ciclohexano 1:2) obteniéndose un sirope incoloro. Rendimiento: cuant. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 9.63 (m, 1H, H-3), 9.21 (d 1H, $J = 2.0$ Hz, H-1), 7.19 (m, 2H, H-4', H-8'), 7.01 (m, 2H, H-5', H-7'), 6.61 (c, 1H, $J = 7.1$ Hz, H-8), 4.24 (m, 2H, H-1'), 3.61 (m, 1H, H-5), 2.97 (ddd, 1H, $J = 18.3$ Hz, $J = 8.5$ Hz, $J = 1.1$ Hz, H-4a), 2.89 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, H-2'), 2.74 (dd, 1H, $J = 18.3$ Hz, $J = 8.5$ Hz, H-4b), 2.70 (dd, 1H, $J = 15.8$ Hz, $J = 8.4$ Hz, H-6a), 2.60 (dd, 1H, $J = 15.8$ Hz, $J = 6.6$ Hz, H-6b), 2.29 (s, 3H, Ac), 2.05 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz, H-10). $^{13}\text{C-RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): δ 200.5 (C-3), 195.3 (C-1), 172.0 (C-7), 169.7 (COOMe), 154.4 (C-8), 149.5 (C-6'), 143.4 (C-9), 135.5 (C-3'), 130.0 (C-4', C-8'), 121.8 (C-5', C-7'), 64.9 (C-1'), 46.4 (C-4), 37.0 (C-6), 34.5 (C-2'), 27.4 (C-5), 21.3 (COOMe),

25

15.3 (C-10). HRESI: calculado para $C_{19}H_{22}O_6Na$ ($[M + Na]^+$): 369.1309, encontrado: 369.1309.

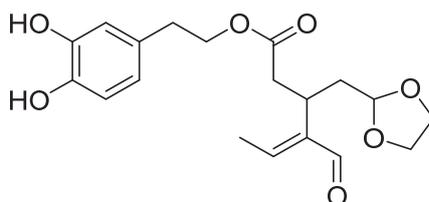
5,6-Di-O-acetiloleaceína 3-etilideno acetal (11 R = Me)



5

Se disuelve **2** R = Me (115 mg, 0.28 mmol) en $CDCl_3$ (2 ml) y se añaden etilenglicol (31 μ l, 0.56 mmol) y TFA (10.7 μ l, 0.14 mmol). La mezcla se calienta a 50 °C durante 3 h, hasta la desaparición del producto de partida monitorizada mediante 1H -RMN. Por último, se neutraliza el medio con $NaHCO_3$ y el producto se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt-ciclohexano 1:2). Rendimiento: 86 mg, 68% R_F 0.4 (AcOEt-ciclohexano 1:1). 1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ 9.20 (d, 1H, J = 2.0 Hz, H-1), 7.09 (d, 1H, J = 8.2 Hz, H-7'), 7.06 (dd, 1H, J = 8.2 Hz, J = 1.9 Hz, H-8'), 6.99 (d, 1H, J = 1.9 Hz, H-4'), 6.56 (c, 1H, J = 7.1 Hz, H-8), 4.68 (dd, 1H, J = 6.1 Hz, J = 3.6 Hz, H-3), 4.19 (m, 2H, H-1'), 3.89 y 3.76 (2 m, 2 H cada uno, OCH_2CH_2O), 3.28 (m, 1H, H-5), 2.85 (t, 2H, J = 6.8 Hz, H-2'), 2.81 (dd, 1H, J = 15.6 Hz, J = 9.6 Hz, H-6a), 2.60 (dd, 1H, J = 15.6 Hz, J = 5.5 Hz, H-6b), 2.26 y 2.25 (2 s, 3H cada uno, 2 Ac), 2.10 (m, 1H, H-4a), 1.96 (d, 3H, J = 7.1 Hz, H-10), 1.83 (dt, 1H, J = 14.0 Hz, J = 5.9 Hz, H-4b). ^{13}C -RMN (75.5 MHz, $CDCl_3$): δ 195.2 (C-1), 172.4 (C-7), 168.3, 168.2 (OCOMe), 153.0 (C-8), 144.1 (C-9), 141.9, 140.7 (C-5', C-6'), 136.8 (C-3'), 127.0 (C-8'), 123.8 (C-4'), 123.3 (C-7'), 103.2 (C-3), 64.8 y 64.7 (OCH_2CH_2O), 64.3 (C-1'), 20 37.5 (C-6), 36.0 (C-4), 34.3 (C-2'), 29.3 (C-5), 20.6 (OCOMe), 14.0 (C-10). HRESI-MS: calculado para $C_{23}H_{28}NaO_9$ ($[M + Na]^+$): 471.1626, encontrado: 471.1613.

Oleaceína 3-etilideno acetal (13)

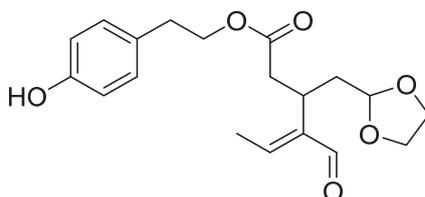


25 Se disuelve **11** (87 mg, 0.19 mmol) en MeOH (1 ml), se añade lipasa de *Candida antarctica* Novzyme 435 (30 mg) y se agita a temperatura ambiente durante 4 h. La

mezcla se microfiltra y se concentra a sequedad obteniéndose el producto como un sirope naranja. Rendimiento: cuant. R_F 0.3 (AcOEt-ciclohexano 1:1)

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 9.21 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H-1), 6.76 (d, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-7'), 6.67 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, H-4'), 6.57 (c, 1H, $J = 7.1$ Hz, H-8), 6.50 (dd, 1H, $J = 8.0$ Hz, $J = 1.5$ Hz, H-8'), 4.67 (dd, 1H, $J = 6.0$ Hz, $J = 3.6$ Hz, H-3), 6.19 (sa, 2H, OH), 4.11 (m, 2H, H-1'), 3.89 y 3.75 (2 m, 2 H cada uno, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.31 (m, 1H, H-5), 2.77 (dd, 1H, $J = 15.5$ Hz, $J = 9.4$ Hz, H-6a), 2.68 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz, H-2'), 2.59 (dd, 1H, $J = 15.5$ Hz, $J = 5.6$ Hz, H-6b), 2.12 (m, 1H, H-4a), 1.97 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz, H-10), 1.83 (dt, 1H, $J = 14.1$ Hz, $J = 5.8$ Hz, H-4b). $^{13}\text{C-RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): δ 195.7 (C-1), 172.6 (C-7), 153.8 (C-8), 144.4 (C-5'), 144.1 (C-9), 143.3 (C-6'), 129.9 (C-3'), 120.7 (C-8'), 116.4 (C-4'), 116.0 (C-7'), 103.3 (C-3), 65.3 (C-1'), 64.9, 64.8 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 37.7 (C-6), 36.1 (C-4), 34.4 (C-2'), 29.3 (C-5), 15.1 (C-10). HRLSI-MS: calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{NaO}_7$ ($[\text{M} + \text{Na}]^+$): 387.1414, encontrado 387.1401.

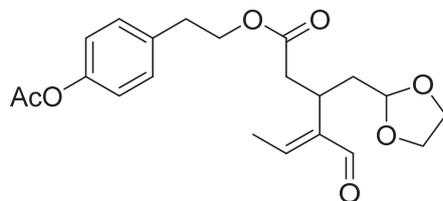
15 Oleocantal 3-etilideno acetal (12)



Se disuelve **8** (33 mg, 0.11 mmol) en CDCl_3 (1ml) y se añaden etilenglicol (0.22 mmol) y TFA (0.054 mmol). La mezcla se calienta a 50 °C y se monitoriza mediante $^1\text{H-RMN}$ hasta conversión total. La mezcla se neutraliza con NaHCO_3 y se concentra a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (AcOEt- ciclohexano 1:2) obteniéndose un sirope incoloro. Rendimiento: 31 mg, 84%. $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 9.23 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H-1), 7.02 (m, 2H, H-4', H-8'), 6.75 (m, 2H, H-5', H-7'), 6.57 (c, 1H, $J = 7.1$ Hz, H-8), 6.04 (sa, 1H, OH), 4.70 (dd 1H, $J = 6.0$ Hz, $J = 3.7$ Hz, H-3), 4.16 (m, 2H, H-1'), 3.86, 3.78 (2 m, 2H cada uno, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.31 (m, 1H, H-5), 2.79 (t, 2H, $J = 7.0$ Hz, H-2'), 2.78 (dd, 1H, $J = 15.7$ Hz, $J = 9.3$ Hz, H-6a), 2.62 (dd, 1H, $J = 15.7$ Hz, $J = 5.8$ Hz, H-6b), 2.14 (ddd, 1H, $J = 14.0$ Hz, $J = 9.3$ Hz, $J = 3.7$ Hz, H-4a), 1.98 (d, 3H, $J = 7.1$ Hz, H-10), 1.84 (dt, 1H, $J = 14.0$ Hz, $J = 6.0$ Hz, H-4b). $^{13}\text{C-RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): δ 195.3 (C-1), 172.0 (C-7), 154.8 (C-6'), 153.5 (C-8), 143.2 (C-9), 130.1 (C-4', C-8'), 129.6 (C-3'), 115.5 (C-5', C-7'), 103.4 (C-3), 65.3 (C-1'), 64.8, 64.9 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 37.7 (C-6), 36.1 (C-

4), 34.3 (C-2'), 29.3 (C-5), 15.1 (C-10). HRCI: calculado para C₁₉H₂₄NaO₆ ([M+Na]⁺): 371.1465, encontrado: 371.1456.

4-O-Acetiloleocantal 3-etilideno acetal (10 R = Me)



5

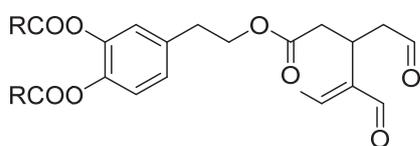
Se disuelve **12** (31 mg, 0.108 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) y se añade Ac₂O (12.2 μl, 0.16 mmol) y una cantidad catalítica de DMAP. Se agita a temperatura ambiente durante una noche y se hidroliza con agua. Se separan las fases y se lava la fase orgánica con 2x5 ml de agua. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄ y se concentra a sequedad. Rendimiento: 10 cuant. ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 9.23 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, H-1), 7.17 (m, 2H, H-4', H-8'), 7.00 (m, 2H, H-5', H-7'), 6.55 (c, 1H, *J* = 7.1 Hz, H-8), 4.69 (dd, 1H, *J* = 6.1 Hz, *J* = 3.6 Hz, H-3), 4.17 (m, 2H, H-1'), 3.85, 3.77 (2 m, 2H cada uno, OCH₂CH₂O), 3.30 (m, 1H, H-5), 2.86 (t, 2H, *J* = 6.9 Hz, H-2'), 2.80 (dd, 1H, *J* = 15.7 Hz, *J* = 9.5 Hz, H-6a), 2.62 (dd, 1H, *J* = 15.7 Hz, *J* = 5.6 Hz, H-6b), 2.28 (s, 3H, Ac), 2.14 (ddd, 1H, *J* = 13.9 Hz, *J* = 9.2 Hz, *J* = 3.6 Hz, H-4a), 1.97 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz, H-10), 1.84 (dt, 1H, *J* = 14.0 Hz, *J* = 5.9 Hz, H-4b). ¹³C-RMN (75.5 MHz, CDCl₃): δ 195.2 (C-1), 172.5 (C-7), 169.7 (OCOMe), 153.0 (C-8), 149.5 C-6'), 144.2 (C-9), 135.6 (C-3'), 130.0 (C-4', C-8'), 128.7 (C-5', C-7'), 103.4 (C-1), 64.9 (OCH₂CH₂O), 64.8 (C-1'), 64.7 (OCH₂CH₂O), 37.6 (C-6), 36.1 (C-4), 34.5 (C-2'), 29.4 (OCOMe), 21.2 (C-5), 15.0 (C-10). HRESI: calculado para C₂₃H₂₈NaO₉ ([M+Na]⁺): 20 471.1626, encontrado: 471.1613.

REIVINDICACIONES

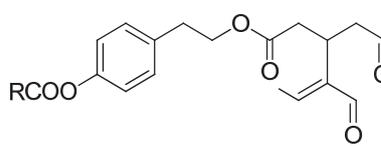
1. Procedimiento para la obtención de los secoiridoides dialdehídicos oleaceína y/o oleocantal caracterizado porque comprende el tratamiento del aglicón monoaldehídico de la oleuropeína (7) y/o del aglicón monoaldehídico del ligstrósido (6), respectivamente, con dimetilsulfóxido (DMSO) o dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO-d₆) húmedo a temperaturas por encima de 90 °C, usando calentamiento convencional o microondas y en ausencia de sal inorgánica.

2. Procedimiento según reivindicación 1 donde el aglicón monoaldehídico de la oleuropeína y/o el aglicón monoaldehídico del ligstrósido de partida se encuentran mezclados con otros compuestos fenólicos.

3. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1-2 caracterizado porque comprende además una etapa de acilación de la oleaceína y/o el oleocantal obtenidos para obtener así la oleaceína diacilada (2) y/o el oleocantal acilado (9),



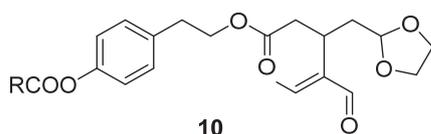
2



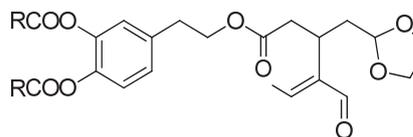
9

donde R se selecciona entre hidrógeno (H), alquilo (C₁-C₂₂), fenilo sustituido o sin sustituir.

4. Procedimiento según reivindicación 3 caracterizado porque comprende la acetalización regioselectiva con etilenglicol de la oleaceína diacilada (2) y/o el oleocantal acilado (9), obtenidos para obtener así los compuestos 11 y/o 10,



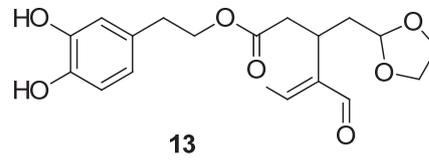
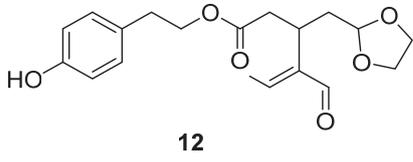
10



11

donde R se selecciona entre hidrógeno (H), alquilo (C₁-C₂₂), fenilo sustituido o sin sustituir.

5. Procedimiento según reivindicación 4 caracterizado porque comprende la desacilación de los compuestos 11 y/o 10 para dar los compuestos 13 y/o 12.



5

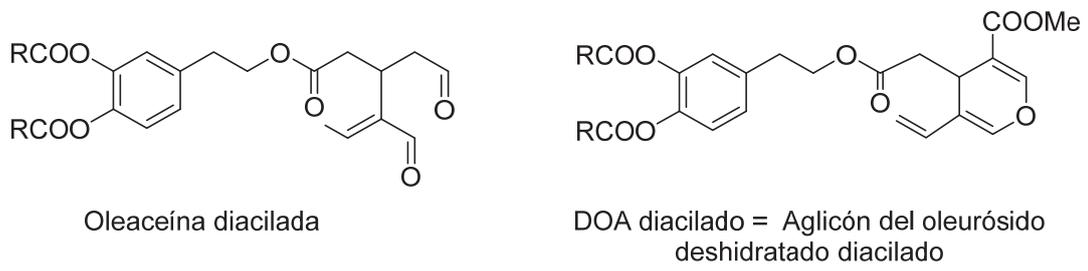


Figura 1

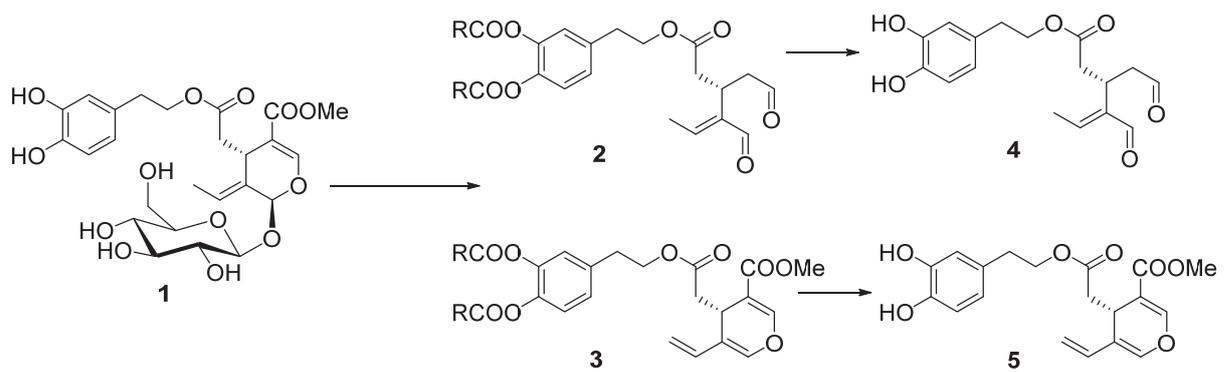


Figura 2

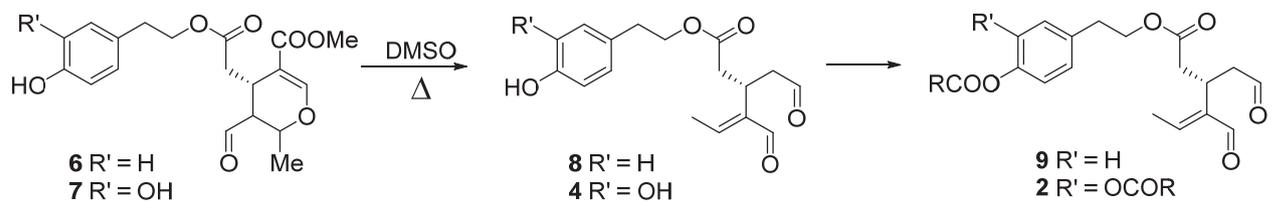


Figura 3

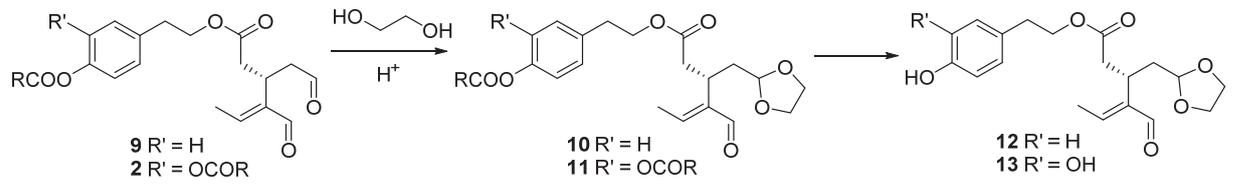


Figura 4