

*La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.*

*El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castello, 77. Madrid-6).*

*La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.*

*Estos trabajos abarcan las siguientes especialidades: Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas; Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales; Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía; Física; Geología; Historia; Ingeniería; Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina, Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología. A ellas corresponden los colores de la cubierta.*

Edición no venal de 300 ejemplares, que se reparte gratuitamente a investigadores, Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

*Este trabajo fue realizado con una Beca de la Convocatoria de Extranjero, 1976, individual.*

*Departamento de CIENCIAS AGRARIAS.*

*Centro de trabajo: University of Sussex. Brighton. Inglaterra.*

**Fundación Juan March**



FJM-Uni 79-Fra

Las Giberelinas : aportaciones al estudio de su ruta biosintética/Braulio M. Fraga González, Braulio M.

1031615



Biblioteca FJM

Fundación Juan March (Madrid)

**SERIE UNIVERSITARIA**



**Fundación Juan March**

# Las Giberelinas. Aportaciones al estudio de su ruta biosintética

**Braulio M. Fraga González**

FJM  
Uni-  
79  
Fra

79

Las Giberelinas. Aportaciones al estudio de su ruta biosintética/Braulio M. Fraga González

79



Fundación Juan March

Serie Universitaria



79

Las Giberelinas.  
Aportaciones al estudio  
de su ruta biosintética

Braulio M. Fraga González



Fundación Juan March  
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55  
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

*La Fundación Juan March no se solidariza necesariamente con las opiniones de los autores cuyas obras publica.*

Depósito Legal: M - 6422 - 1979  
I.S.B.N. 84 - 7075 - 114 - X.  
Ibérica, Tarragona, 34. - Madrid -

## INDICE

	Página
1. LAS GIBERELINAS. GENERALIDADES .....	5
2. BIOSINTESIS DE LAS GIBERELINAS .....	11
3. TRANSFORMACIONES MICROBIOLÓGICAS PRODUCIDAS POR LA GIBBERELLA FUJIKUROI .....	25
4. BIBLIOGRAFIA .....	41



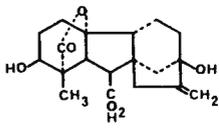
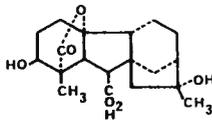
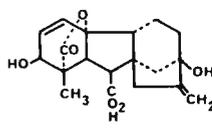
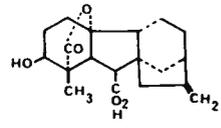
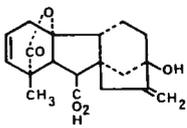
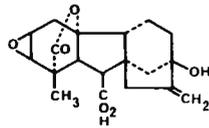
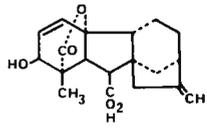
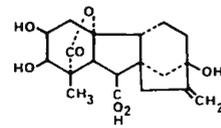
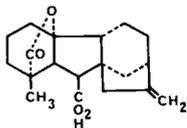
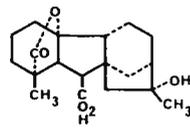
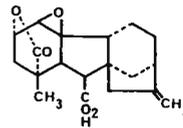
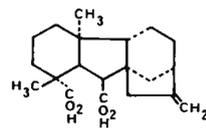
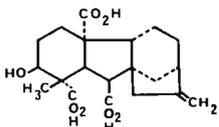
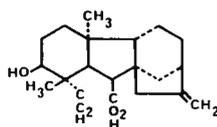
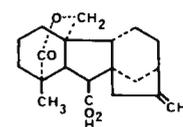
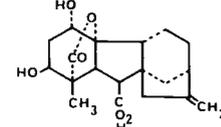
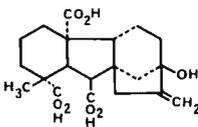
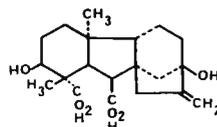
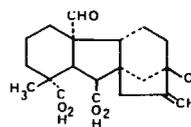
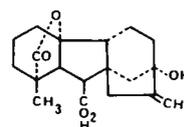
Las giberelinas forman una gran familia de ácidos diterpénicos, que fueron aislados inicialmente a partir del hongo causante de la enfermedad "bakanae" del arroz. La primera publicación que habla de esta enfermedad se remonta a 1898 en el Japón. Sawada en 1912 sugirió que este mal debía ser causado por un hongo, que más tarde fue identificado como la *Gibberella fujikuroi*, modernamente denominado *Fusarium moniliformis*. En 1935 Yabuta llamó al principio activo giberelina y este mismo autor en 1938 llamó giberelinas A y B a dos de las sustancias aisladas del hongo<sup>1</sup>. En 1955 Takahashi<sup>2</sup> encontró que la primera de ellas estaba formada por una mezcla de GA<sub>1</sub>, GA<sub>2</sub> y GA<sub>3</sub> y más tarde Cross<sup>3</sup> descubrió que la segunda correspondía a lo que hoy se conoce con el nombre de ácido allogibérico.

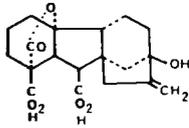
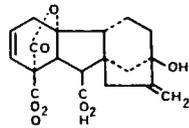
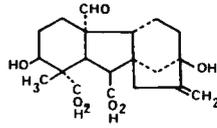
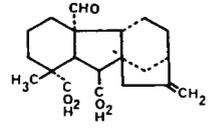
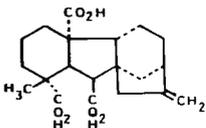
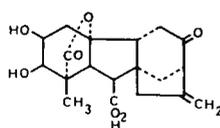
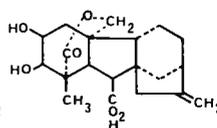
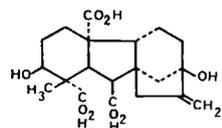
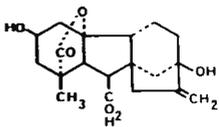
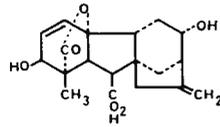
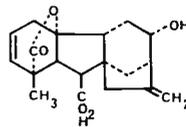
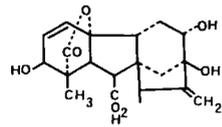
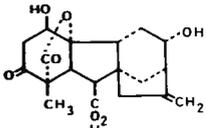
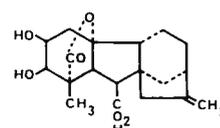
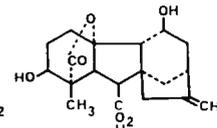
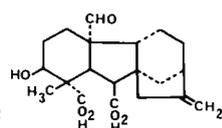
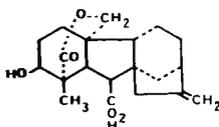
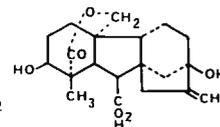
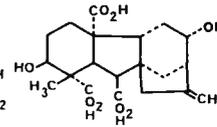
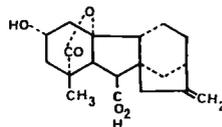
Hasta el momento son conocidas 52 gi-

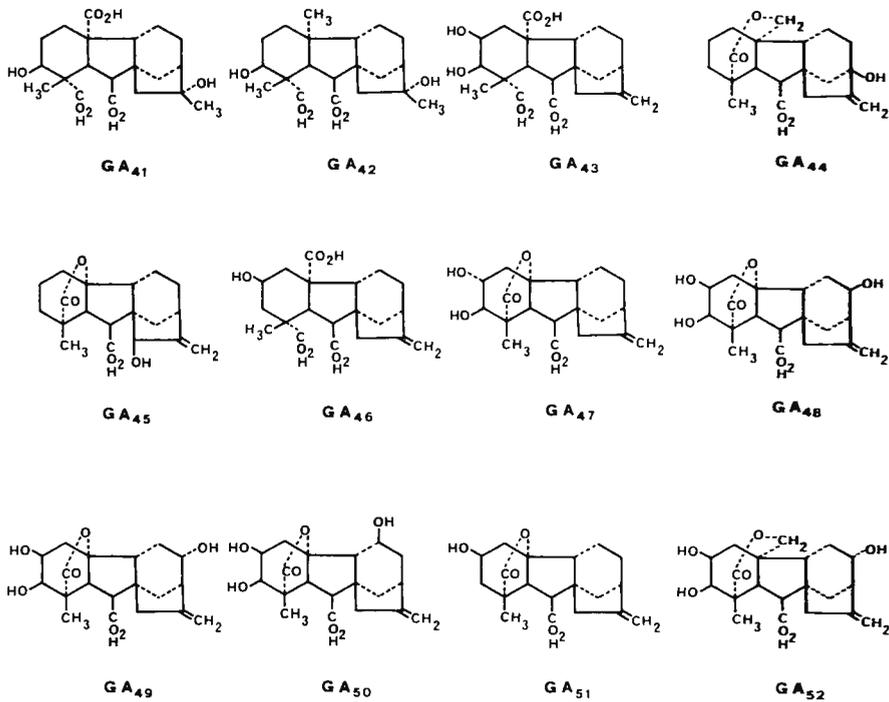
berelinas, cuyas estructuras se dan en las figuras. También se han aislado una serie de derivados glucosídicos de algunas de estas sustancias.

Las giberelinas se clasifican en dos grandes grupos, las  $C_{20}$  giberelinas que contienen los veinte átomos de carbono característicos de un diterpeno y las  $C_{19}$  giberelinas, las cuales han perdido el carbono veinte y presentan el típico grupo lactónico  $C_{19}-C_{10}$ . Por conveniencia y siguiendo la nomenclatura de Takahashi las giberelinas se nombran como  $GA_1, GA_2 \dots GA_n$ .

Antes de seguir adelante describiremos algunas de las características estructurales de estas hormonas. Las  $C_{20}$  giberelinas se caracterizan, como ya hemos dicho anteriormente, por la presencia del carbono veinte que puede estar en forma de metilo, alcohol, aldehído o ácido. Los C-7 y C-19 están siempre presentes como grupos ácidos y los carbonos 2, 3, 13 y 16, son los que pueden poseer alguna hidroxilación. Las  $C_{19}$  gibe-

GA<sub>1</sub>GA<sub>2</sub>GA<sub>3</sub>GA<sub>4</sub>GA<sub>5</sub>GA<sub>6</sub>GA<sub>7</sub>GA<sub>8</sub>GA<sub>9</sub>GA<sub>10</sub>GA<sub>11</sub>GA<sub>12</sub>GA<sub>13</sub>GA<sub>14</sub>GA<sub>15</sub>GA<sub>16</sub>GA<sub>17</sub>GA<sub>18</sub>GA<sub>19</sub>GA<sub>20</sub>

GA<sub>21</sub>GA<sub>22</sub>GA<sub>23</sub>GA<sub>24</sub>GA<sub>25</sub>GA<sub>26</sub>GA<sub>27</sub>GA<sub>28</sub>GA<sub>29</sub>GA<sub>30</sub>GA<sub>31</sub>GA<sub>32</sub>GA<sub>33</sub>GA<sub>34</sub>GA<sub>35</sub>GA<sub>36</sub>GA<sub>37</sub>GA<sub>38</sub>GA<sub>39</sub>GA<sub>40</sub>



relinas se caracterizan porque poseen un puente lactónico entre C-19 y C-20, como hemos dicho anteriormente, y además pueden presentar las hidroxilaciones en todos los átomos de carbono a excepción de C-5, C-9 y C-14. El C-7 también en esta serie está siempre en forma de grupo ácido.

Las giberelinas son responsables principalmente de los procesos de elongación celular y por lo menos tres mecanismos han sido propuestos para explicar su modo de acción<sup>4</sup>:

1.- Las giberelinas interaccionan con el DNA en el núcleo de la célula y estimulan la síntesis de RNA mensajero. Este último promueve luego la formación de las diferentes enzimas que más tarde serán responsables de la actividad celular que permite el crecimiento.

2.- De alguna forma las giberelinas incrementan la permeabilidad de las membranas, enlazando las enzimas a las paredes celulares. Esta enzima se difunde luego dentro de la célula y es-

timula los diferentes procesos de crecimiento.

3.- Las giberelinas incrementan la producción de otro regulador del crecimiento vegetal, el ácido indol-acético (IAA), estimulando de alguna forma la producción de enzimas hidrolizantes, las cuales convierten las proteínas en aminoácidos. El triptofano, que se produce de esta forma, es como sabemos el precursor del IAA.

#### Biosíntesis de las giberelinas.-

Si queremos conocer mejor la función de las giberelinas en las plantas superiores, es necesario conocer su vía biosintética. En un primer paso lo que se estudió fue la secuencia de transformaciones e intermedios que producen en su biosíntesis, pero sería más interesante conocer las características de las enzimas que producen estas transformaciones. Cuando tengamos a nuestro alcance esta última información, tendremos, sin duda, el conocimiento necesario para entender otros aspectos del papel que juegan las giberelinas co-

mo hormonas reguladoras del crecimiento vegetal.

Hoy día ya tenemos un modelo global de las rutas biosintéticas de las giberelinas y se conocen también algunas características generales de las enzimas involucradas en ellas, especialmente de aquellas que actúan en los primeros estadios de la vía biosintética.

Hoy se saben algunos de los lugares de biosíntesis de estas hormonas en las plantas superiores como son el endospermo y los cotiledones de las semillas verdes, las raíces y los brotes de los ápices.

Las giberelinas se encuentran en pequeñas cantidades en las plantas y por esta razón es muy difícil realizar experimentos biosintéticos empleando la planta intacta. Los estudios de la biosíntesis de estas hormonas se han realizado utilizando el micelio del hongo o el endospermo de las semillas, en forma de sistemas enzimáticos libres de células o también empleando el hongo.

Fue Cross el que primero sugirió que el ácido giberélico era de origen terpenoide<sup>5</sup>. Esta hipótesis fue comprobada más tarde por Birch y col.<sup>6</sup>, los cuales por incubación de 1-<sup>14</sup>C acetato y 2-<sup>14</sup>C mevalonato, con una fermentación de *G. fujikuroi*, obtuvieron en ambos casos ácido giberélico marcado, y por degradación de su molécula demostraron los átomos de ésta que estaban marcados.

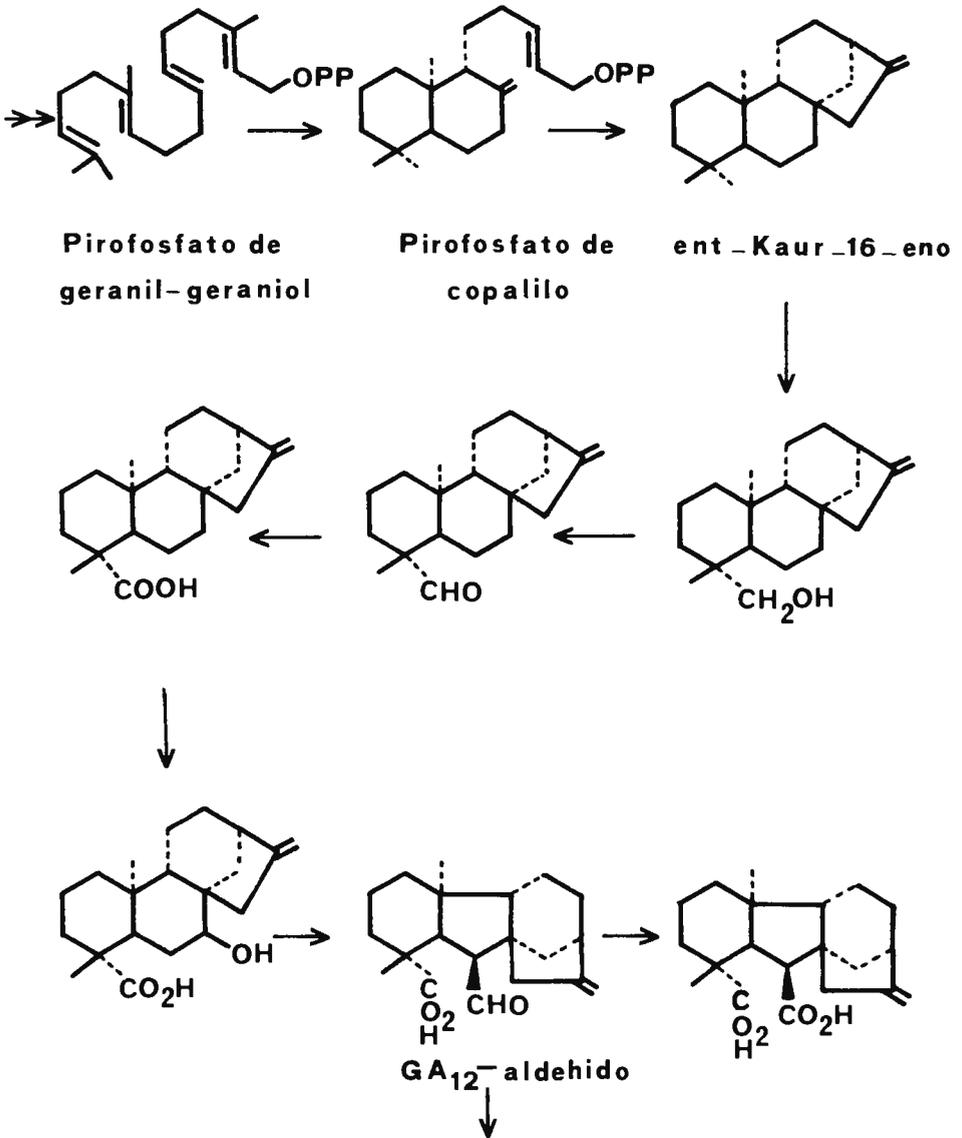
Podemos considerar en la biosíntesis de las giberelinas cinco etapas: 1º La formación del geranil-geraniol a partir del acetato, vía mevalonato. 2º La ciclación del geranil-geraniol pirofosfato para formar el ent-kaur-16-eno. 3º Las etapas oxidativas que transforman este último en ent-7 $\alpha$ -hidroxi-kaur-16-en-19-oico. 4º La contracción del anillo de este hidroxi-ácido para dar el aldehído de la GA<sub>12</sub> y 5º Las rutas que relacionan las giberelinas entre sí.

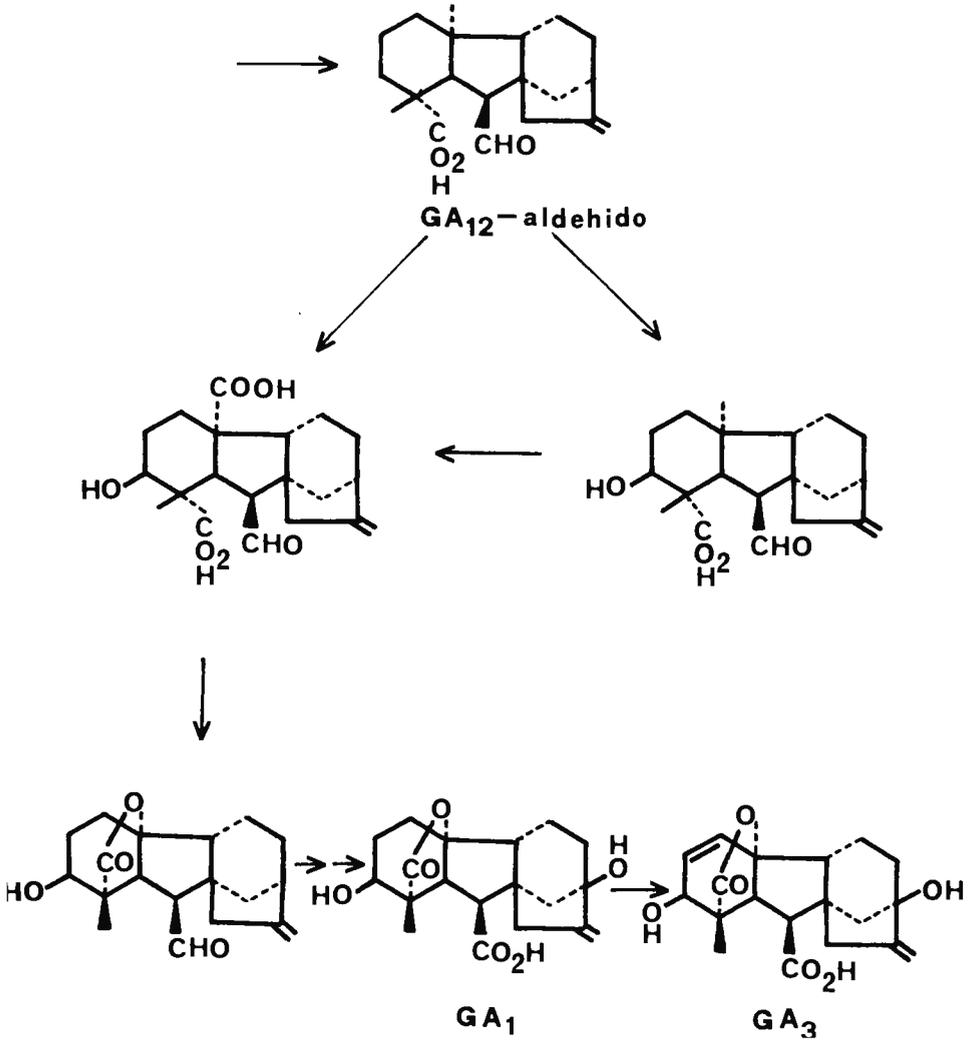
Como la primera secuencia es común a

todos los diterpenos y es generalmente conocida, comenzaremos describiendo la segunda etapa.

West y col<sup>7</sup> utilizando un sistema enzimático libre de células obtenido de la *Echinocystis macrocarpa*, convirtieron con muy buen rendimiento el pirofosfato de <sup>14</sup>C-geranil-geraniol en <sup>14</sup>C-ent-kaur-16-eno. Sin embargo el alcohol libre geranil-geraniol no era metabolizado en las mismas condiciones. Estos autores no pudieron detectar ningún intermedio entre el pirofosfato de geranil-geraniol y el ent-kaur-16-eno. Pero cuando emplearon un preparado enzimático obtenido a partir del micelio del hongo, lograron convertir el pirofosfato de geranil-geraniol en el copalol y en el pirofosfato de copalilo<sup>8</sup>. Asimismo esta última sustancia era transformada por incubación en el mismo sistema en ent-kaur-16-eno.

Pasando a la tercera etapa tenemos que fueron Graebe<sup>9</sup> y West<sup>10</sup> separadamente, los que utilizando sistemas enzimáticos de la *Echinocystis*





lograron transformar ent-kaur-16-eno a ent-kaur-16-en-19-ol, -19-al, -19-oico y al ent-7 $\alpha$ -hidroxi-kaur-16-en-19-oico. También estos productos han sido aislados de cultivos del hongo, lo que asimismo prueba que estas sustancias son intermediarios biosintéticos. Utilizando un sistema libre de células, obtenido de semillas verdes de la Cucurbita pepo, 2-<sup>14</sup>C-mevalonato fue incorporado en ent-kaur-16-eno, ent-kaur-16-en-19-ol y -19-oico. Recientemente utilizando el mismo sustrato y sistema lograron la incorporación en ent-7 $\alpha$ -hidroxi-kaur-16-en-19-oico y en el aldehído de la GA<sub>12</sub><sup>11</sup>.

Veamos ahora los conocimientos que tenemos de la etapa de la contracción del anillo. Como hemos dicho anteriormente Birch y col.<sup>6</sup> demostraron que el C-7 de la GA<sub>3</sub> derivaba del C-2 del ácido mevalónico y del C-7 del ent-kaur-16-eno. Mas tarde se demostró que el aldehído de la GA<sub>12</sub> era un producto del hongo y que actuaba como precursor de la GA<sub>3</sub>. Hanson y col.<sup>12</sup> mostraron

que el hidrógeno  $6\alpha$  del precursor kaurénico era retenido en la posición 6 en el ácido giberélico y que el  $6\beta$  se perdía. Estos resultados sugirieron que la contracción del anillo transcurría a partir del ácido ent- $7\alpha$ -hidroxi-kaurén-19-oico, que luego era hidroxilado en la posición  $6\beta$ . Se pensó que la solvolisis de este grupo hidroxilo, quizás en forma de ester pirofosfórico, debía dar lugar a un reagrupamiento que condujera al aldehído de la  $GA_{12}$ . Mas tarde se encontró que el ácido ent- $6\alpha,7\alpha$ -dihidroxi-kaur-16-en-19-oico era un producto del hongo, pero que no era metabolizado a las giberelinas<sup>13,14</sup>.

Ya hemos dicho anteriormente que una preparación enzimática, obtenida del endospermo de una Cucurbita, transforma el ácido ent- $7\alpha$ -hidroxi-kaurén-19-oico en el aldehído de la  $GA_{12}$  y en el ácido ent- $6\alpha,7\alpha$ -dihidroxi-kaurén-19-oico. Pues bien, cuando se realizó este estudio se demostró que ambas sustancias se formaban al mismo

tiempo y con rendimientos del mismo orden, siendo por lo tanto una reacción unimolecular, que además no era afectada por la presencia de ATP, lo que indicaba la existencia de un intermedio distinto de un ester fosfórico.

Graebe<sup>15</sup> ha demostrado, utilizando asimismo el sistema enzimático de la Cucurbita, que cuando el ácido ent-7 $\alpha$ -hidroxi-kauren-19-oico, marcado con dos átomos de tritio en posición 6, se transforma en el aldehído de la GA<sub>12</sub> y en el ácido ent-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -dihidroxi-kaur-16-en-19-oico, ambos pierden la mitad de la radiactividad, lo que sugirió que la contracción del anillo se efectúa por abstracción del hidrógeno en C-6 del ácido ent-7 $\alpha$ -hidroxi-kaur-16-en-18-oico para dar un ion carbonio que luego puede ser hidroxilado por la cara  $\beta$  para dar ent-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -dihidroxi-kaur-16-en-19-oico o sufre un desplazamiento de tipo Meerwein con pérdida de un protón para dar el aldehído de la GA<sub>12</sub>.

En cuanto a la etapa quinta antes mencionada, o sea a las transformaciones de las giberelinas entre sí, tenemos que Cross y col.<sup>16</sup>, tomando en consideración el porcentaje comparativo de incorporación del aldehído de la  $GA_{12}$  y del correspondiente 'diol, y de la  $GA_{14}$  y del correspondiente triol, llegaron a la conclusión que la hidroxilación en C-3 del aldehído de la  $GA_{12}$  ocurre antes de la oxidación de este grupo aldehídico. Incluso podría ocurrir que todas las transformaciones que se verifican después lo hicieran a nivel de oxidación de aldehído en C-7. Siendo por lo tanto las giberelinas productos de oxidación de los verdaderos intermedios de la biosíntesis de  $GA_3$ .

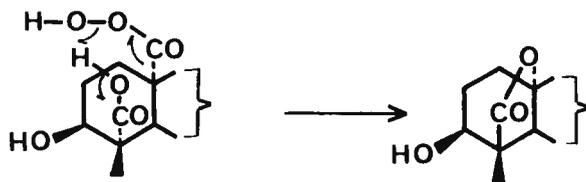
Cross<sup>16</sup> demostró también que la  $GA_{13}$  no actuaba como precursor de la  $GA_3$ , pero sí lo era el aldehído de la  $GA_{12}$  y la  $GA_{14}$ . Más tarde se demostró asimismo que la  $GA_{14}$  no era transformada en ninguna de las  $C_{19}$  giberelinas.

Por incubación de la *G. fujikuroi* con las lactonas del ácido mevalónico marcado (4R)-(4T,2<sup>14</sup>C) y (2T<sub>2</sub>,2<sup>14</sup>C) Hanson y col<sup>17</sup> demostraron que el tritio era retenido en C-1, C-5 y C-9 en las C<sub>19</sub> giberelinas, lo que eliminaba el mecanismo propuesto anteriormente por Cross y col<sup>17</sup> de que el C-20 se perdía por descarboxilación de un ácido β,γ-insaturado. Como alternativa Hanson propuso otro mecanismo<sup>17</sup> que involucraba una oxidación tipo Baeyer-Villiger de una función carbonílica en C-10 y solvólisis del ester formado.

Recientemente Bearder y col<sup>19</sup> incubaron GA<sub>12</sub> en forma de alcohol en C-7 y marcada en C-19 con <sup>18</sup>O y obtuvieron GA<sub>3</sub> la cual retenía los dos átomos de oxígeno en C-19. Esto les indicó que debía de existir un intermedio de reacción que tuviese un centro electrofílico en C-10 y propusieron como intermedio el ión carbonio. También la GA<sub>9</sub>, GA<sub>24</sub> y GA<sub>25</sub> retienen el <sup>18</sup>O, sin embargo la GA<sub>15</sub> ha perdido la mitad de la radio-

actividad, lo que fue indicativo de que la  $GA_{15}$  se forma por una simple lactonización y no por el ataque nucleofílico del ácido en C-19 sobre C-20. De aquí asimismo se pudo deducir que la  $GA_{15}$  no es un intermedio en la conversión de  $GA_{12}$  en  $GA_9$ , y por analogía que tampoco la  $GA_{37}$  es un intermedio en la formación de la  $GA_4$ .

Muy recientemente Hanson<sup>20</sup> ha demostrado que el C-20 se pierde en forma de dióxido de carbono en la transformación de las  $C_{20}$  en las  $C_{19}$  giberelinas, para lo cual incubaron ent-kaur-16-eno, marcado en C-20, atrapando el  $CO_2$  desprendido. Hanson postula el siguiente mecanismo para esta descarboxilación:



Finalmente diremos, que estos mismos autores han identificado, pero con reservas, los aldehidos en C-7 de la  $GA_{13}$  y de la  $GA_{14}$ , en un sistema libre de células obtenido de la *G. fujikuroi*. El primero de ellos fue incorporado por un cultivo de dicho hongo, transformándose en ácido gibberélico<sup>20</sup>.

Hasta aquí hemos descrito brevemente los conocimientos actuales sobre la biosíntesis de las giberelinas. Como se ve en todas las transformaciones estudiadas se han utilizado sustratos que produce el hongo o que se creían que lo eran. Otra forma de abordar el estudio de la vía biosintética sería conocer, como ya hemos dicho anteriormente, las propiedades de las enzimas involucradas en estas transformaciones. Uno de los métodos a nuestro alcance es estudiar las transformaciones microbiológicas de sustratos no obtenidos del hongo, pero que tengan ciertas características estructurales semejantes a los metabolitos producidos por éste. De esta forma, además de estudiar la es-

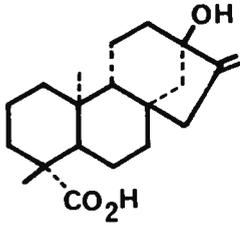
pecificidad de las enzimas, se pueden obtener sustancias análogas a las giberelinas, que tengan actividad biológica.

Transformaciones microbiológicas producidas por la G. fujikuroi de sustratos no obtenidos de este hongo.-

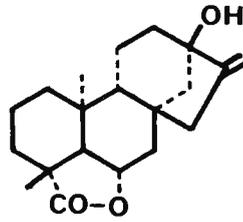
Las transformaciones microbiológicas con sustratos artificiales por hongos puede dividirse en dos grupos. Uno de ellos es tipificado por la hidroxilación de esteroides y utiliza sistemas inducidos enzimáticamente con una regiospecificidad definida pero al mismo tiempo de baja especificidad en el sustrato. Mientras que el otro del cual hay relativamente pocos ejemplos, utiliza la vía biosintética natural y sustratos parecidos a los metabolitos que produce el hongo. Describiremos a continuación ejemplos de este último tipo utilizando como sistema inductor la G. fujikuroi.

El steviol (1) es un diterpeno del tipo del kaureno que se encuentra en forma de glucósido en la Stevia rebaudiana y que posee un grupo ácido en C-19 y un hidroxilo en C-13. Estas dos últimas características son típicas del ácido giberélico, GA<sub>3</sub>

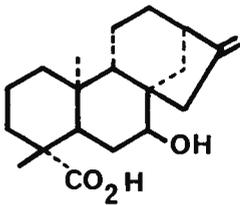
Como hemos visto anteriormente en la biosíntesis de la GA<sub>3</sub>, la oxidación en C<sub>19</sub> se verifica inmediatamente después de que se forma el ent-kaureno, pero la hidroxilación en C-13 se verifica en etapas posteriores. Estos hechos llevaron a Hanson<sup>21</sup> a incubar el steviol con la *G. fujikuroi*. Estos autores aislaron de la parte neutra del extracto obtenido, un metabolito que identificaron con la 7β,13-dihidroxi-kaurenolida. McMillan y col<sup>22</sup> ampliaron más tarde este estudio incubando el steviol con el mutante Bl-41 de la *G. fujikuroi*. Esta cepa tiene la característica de que en ella la biosíntesis de las giberelinas está bloqueada en la etapa entre ent-kaur-16-en-19-al y ent-kaur-16-en-19-oico. El producto inicial que se obtiene es el ent-7α-hidroxi-kaur-16-en-19-oico (3), que luego es metabolizado a las giberelinas A<sub>1</sub>, A<sub>18</sub>, A<sub>19</sub>, A<sub>20</sub>, 13-OH-GA<sub>12</sub> (4), el ácido ent-6α,7α,13-trihidroxi-kaur-16-en-19-oico (5), la 7β,13-dihidroxi-kaurenolida (2) y un diácido.



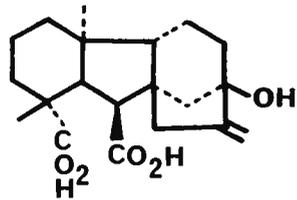
(1)



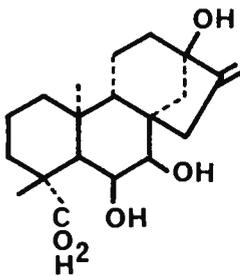
(2)



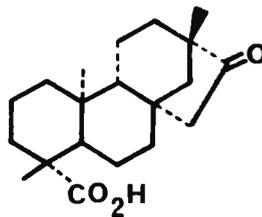
(3)



(4)



(5)



(6)

También utilizando el mismo mutante de la *Gibberella*, incubaron isosteviol (ácido ent-16-oxo-beyeran-19-oico)(6) y el acetato del steviol (7)<sup>23</sup>. El isosteviol fue transformado en los correspondientes derivados de la GA<sub>17</sub>, GA<sub>19</sub> y GA<sub>20</sub> teniendo los ciclos C y D reagrupados. El acetato de steviol fue metabolizado principalmente a su 7 $\beta$ -hidroxi y 6 $\beta$ ,7 $\beta$ -dihidroxi derivados, (8) y (9), y a los acetatos de la GA<sub>17</sub> y GA<sub>20</sub>.

Los resultados anteriores indicaron que las enzimas en el hongo, que intervienen en la biosíntesis de las giberelinas, han perdido especificidad en el sustrato, a partir de las secuencias posteriores a la formación del ácido kaurenoico. También es interesante que la presencia de un grupo acetato en C-13 inhiba la hidroxilación en C-3. Así tenemos que mientras las giberelinas obtenidas en mayor cantidad por incubación del steviol fueron las GA<sub>18</sub> y GA<sub>1</sub>, aquéllas que se obtienen a partir del acetato del steviol son, como hemos dicho antes,

la GA<sub>17</sub> y GA<sub>20</sub>. Este hecho es de importancia práctica pues le permitió obtener a Mac Millan y col. estas últimas giberelinas en escala preparativa y también GA<sub>20</sub> tritiada con una actividad específica alta.

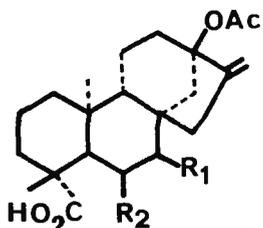
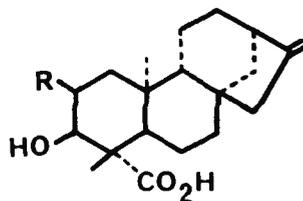
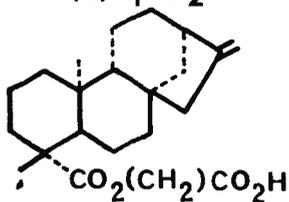
Asimismo Mac Millan y col.<sup>24</sup> incubaron ent-3 $\alpha$ -hidroxi y ent-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ -dihidroxi-kaur-16-en-19-oico, (10) y (11), con el mutante Bl-41a de la G.F. y ent-2 $\alpha$ -hidroxi-, ent-2 $\beta$ -hidroxi- y ent-3 $\alpha$ -hidroxi-kaur-16-en-19-ol con la cepa GF-1a, en presencia, esta última, de un inhibidor que bloquea la biosíntesis de las giberelinas en la etapa de formación de ent-kaur-16-eno. Así llegaron a las siguientes conclusiones: 1 $^{\circ}$  Que los productos hidroxilados en ent-3 $\alpha$  de los intermedios en la biosíntesis de las giberelinas ent-kaur-16-en-19-ol y -19-oico, son transformados en las correspondientes 3-hidroxi-giberelinas y 2 $^{\circ}$  Que la conversión de productos de tipo ent-kaur-16-eno en giberelinas se reduce por la presencia en dicha

molécula de grupos ent-2 $\alpha$  y ent-2 $\beta$ -hidroxi.

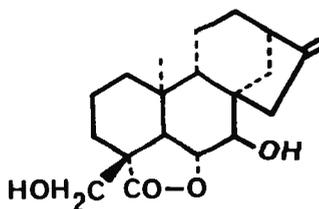
Jefferies y col<sup>25</sup> han preparado el 2'-carboxi-etil ester del ácido ent-kaur-16-en-19-oico (12) y lo incubaron con la *G. fujikuroi* obteniendo el 7 $\beta$ -hidroxi-ester correspondiente. Por posterior saponificación de este último llegaron al ácido 7 $\beta$ -hidroxi-kauren-19-oico, que es un intermedio en la biosíntesis de las giberelinas, como ya hemos visto anteriormente. Este es un buen procedimiento para obtener dicho metabolito en cantidad suficiente para realizar estudios biosintéticos, pues el aislarlo directamente del hongo no es fácil, debido a que se transforma en el aldehído de la GA<sub>12</sub>.

Ahora nosotros hemos incubado con la *G. fujikuroi*, algunos diterpenos de tipo kaurénico, aislados del género *Sideritis* (Labiadas) y los resultados obtenidos han sido los que describimos a continuación:

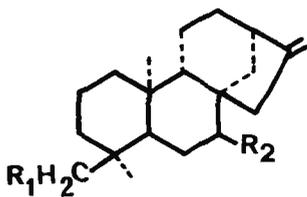
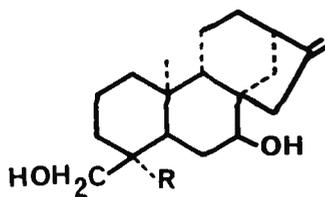
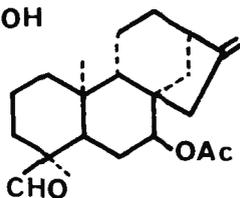
La 7 $\beta$ ,18-dihidroxi-kaurenolida (13) es la sustancia mayoritaria entre las kaurenolidas

(7)  $R_1 = R_2 = H$ (8)  $R_1 = OH$   $R_2 = H$ (9)  $R_1 = R_2 = OH$ (10)  $R = H$ (11)  $R = OH$ 

(12)



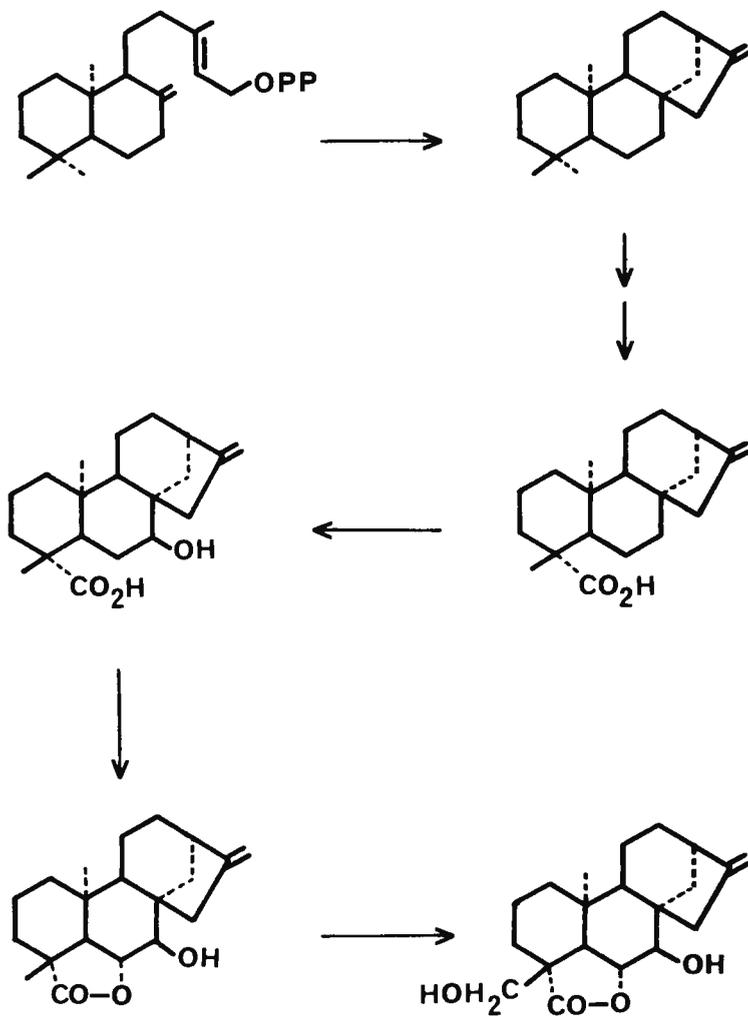
(13)

(14)  $R_1 = R_2 = OH$ (18)  $R_1 = R_2 = OAc$ (19)  $R_1 = OH$   $R_2 = OH$ (15)  $R = CH_2OH$ (16)  $R = CO_2H$ (17)  $R = CO_2CH_3$ 

(20)

producidas por la *G. fujikuroi*<sup>26</sup>. Este producto se forma vía el ácido ent-kaur-16-en-19-oico y posterior hidroxilación en C-7, luego conversión a la lactona 7-hidroxi-kaurenolida y finalmente hidroxilación en el carbono dieciocho<sup>27</sup> (véase esquema). El epicandicandiol (ent-7 $\alpha$ ,18-dihidroxi-kaur-16-eno)(14), aislado de la *Sideritis candidans* y de otras especies canarias de *Sideritis* 28,29, contiene los últimos estadios de esta biosíntesis, pero no contiene la lactona 19-6. Pareció interesante, por lo tanto, estudiar la transformación microbiológica de este compuesto.

La incubación del epicandicandiol (14) con la *G. fujikuroi* ACC 917, durante cuatro días, dio un triol de fórmula empírica C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub> (15). El espectro de resonancia magnética nuclear protónica muestra la presencia de un grupo metilo, dos agrupamientos hidroximetilénicos, un protón geminal a un grupo alcohólico y un doble enlace exocíclico. Esto nos indicó que uno de los metilos



había sido oxidado al nivel de un grupo alcoholíco primario.

La localización del grupo hidroxilo adicional en C-19 y no en C-20, se realizó en base a que este triol forma un acetónido al tratarlo con acetona y sulfato de cobre. Un agrupamiento de este último tipo no se puede formar entre los carbonos 18 y 20. De acuerdo con lo esperado, en RMN los protones sobre C-20, muestran entre el epicandicandiol y el triol un desplazamiento de 0.2 ppm (piridina-d<sub>5</sub>).

Cuando la incubación del hongo se realizó en presencia de AMO 1618, sustancia sintética que inhibe la formación endógena de productos de tipo kaurenoide<sup>30</sup>, se obtuvo un metabolito ácido, además del triol anterior. Este ácido (16), que fue aislado como su metil ester (17), fue relacionado con el triol (15) por reducción del metil ester con hidruro de aluminio y litio. Al grupo carbonilo se le asignó la posición 19 porque

la señal de los hidrógenos en C-20, en el espectro de RMN del ester metílico coinciden con aquellas del ent-7 $\alpha$ -hidroxi-kaur-16-en-19-oato de metilo (0.87 y 0.86 ppm respectivamente). Además no muestra el desplazamiento a bajo campo, que debe ser asociado con una interacción diaxial con el -CH<sub>2</sub>OH.

Es de resaltar que el metil ester 17 tiene un R<sub>f</sub> en capa fina comparable a aquél que posee el giberelato de metilo. Esto impidió el aislamiento del producto ácido en la fermentación no inhibida por AMO.

También se realizó la transformación microbiológica anterior utilizando epicandicandiol marcado. Así el epicandicandiol se tritizó en C-18 de la siguiente forma: Por acetilación del epicandicandiol, con anhídrido acético en piridina, se obtuvo el 7,18-diacetato (18). La hidrogenolisis controlada de éste dio el monoacetato en C-7 (19) el cual fue oxidado por el método de Jones al aldehído (20)<sup>31</sup>. Este se redujo primeramente con boro-

tritiuro de sodio y luego con hidruro de aluminio y litio, para dar 18-<sup>3</sup>H-epicandicandiol (20).

La incubación del epicandicandiol tritiado con *G. fujikuroi*, utilizando un cultivo inhibido por AMO, dio el triol (15) (16.5% de incorporación) y el ácido (16) aislado como su ester metílico (14.8% de incorporación). La retención del tritio en el metil ester es una prueba adicional de que el grupo carboxílico está localizado en C-19 y no en C-18.

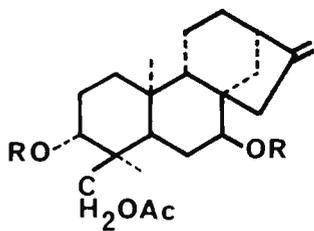
La fracción neutra fue ensayada por análisis de dilución con objeto de ver si contenía la lactona 7,18-dihidroxi-kaurenolida (13), comprobándose la no existencia de esta sustancia en dicha fracción.

Es interesante hacer notar que aunque la hidroxilación y oxidación ocurren en C-19, la lactonización y la posterior contracción del anillo B no se verifica. Estas reacciones involucran una abstracción de hidrógeno en C-6 y de acuerdo

con nuestras experiencias probablemente son inhibidas por el grupo hidroxilo adicional en C-18. Aunque también podrían actuar otros factores de acuerdo con otros resultados obtenidos por nosotros recientemente.

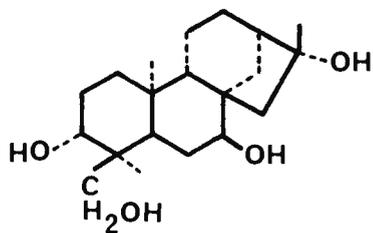
La posterior oxidación en el C-6 en la serie de las kaurenolidas conduce al anhídrido fujenal y también parece que esto no ocurre con la 7 $\beta$ ,18-dihidroxi-kaurenolida<sup>32</sup>.

Asimismo incubamos con la *G. fujikuroi* al diterpeno foliol (ent-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,18-trihidroxi-kaur-16-eno)(22), un producto que se aísla de especies del género *Sideritis*<sup>33</sup>, endémicas de la Península Ibérica. En este último caso no se obtuvo hidroxilación en C-19, quizás debido a la presencia en esta sustancia de un grupo alcohólico en posición 3 $\alpha$ . Sólo se obtuvo la hidratación del doble enlace 15-17, para dar en muy bajo rendimiento (5%) el ent-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,15 $\beta$ ,18-tetrahidroxi-kaurano (23). Este producto se sintetizó a partir del foliol de

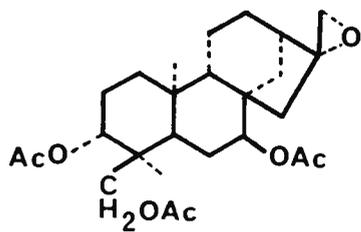


(22) R H

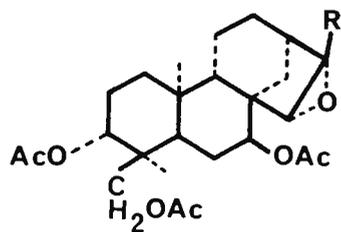
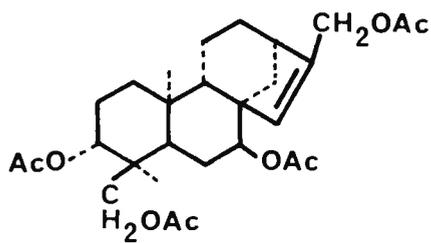
(24) R Ac



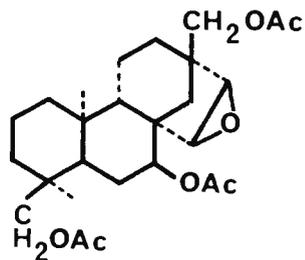
(23)



(25)

(26) R=CH<sub>3</sub>(27) R=CH<sub>2</sub>OH

(28)



(29)

la siguiente forma: Por epoxidación del triacetato del foliol (24) con ácido m-cloro-perbenzoico se obtuvo una mezcla de sustancias que fueron separadas por cromatografía en columna seca de gel de sílice. Por orden de elución se aislaron el ent-16,17 $\beta$ -epoxi-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,18-triacetoxi-kaurano (25) y el ent-15,16 $\beta$ -epoxi-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,18-triacetoxi-kaurano (26). La reducción del primero de ellos con hidruro de aluminio y litio nos dió una sustancia de P.F. 226-8, idéntica al producto (23) obtenido en la incubación del foliol.

Cuando se realizó la reacción anterior utilizando otra marca de ácido m-cloro-perbenzoico (FLUKA) y con mayor tiempo de reacción, se obtuvieron los siguientes resultados: El producto bruto de reacción fue una mezcla de compuestos que se separaron por cromatografía en columna, dando por orden de elución ent-16,17 $\beta$ -epoxi-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,18-triacetoxi-kaurano (25), una mezcla de dos componentes y ent-15,16 $\beta$ -epoxi-17-hidroxi-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,18-triacetoxi-

-kaurano (27). Por acetilación de la mezcla de sustancias y posterior cromatografía, se lograron separar sus dos componentes, que se identificaron, por sus espectros de RMN, como el ent-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,17,18-tetra-acetoxi-kaur-15-eno (28) y el ent-15,16-epoxi-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ ,17,18-tetra-acetoxi-beyerano (29).

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- T. Yabuta e Y. Sumiki; J. Agr. Chem. Soc. Jap-  
14, 1526 (1938).
- 2.- N. Takahashi, H. Kitamura, A. Kawarada, T. Se-  
ta, M. Takai, S. Tamura e Y. Sumiki; Bull.  
Agr. Chem. Soc. Japan 19, 267 (1955).
- 3.- B.E. Cross; J. Chem. Soc. 4670 (1954).
- 4.- Y. Leshem; "The Molecular and Hormonal Basis  
of Plant Growth Regulation", Pergamon, Lon-  
dres, 1973.
- 5.- B.E. Cross, J.F. Grove, J. Mac Millan y T.P.  
C. Mulholland; Chem. Ind. 954 (1956).
- 6.- A.J. Birch, R.W. Richards, H. Smith, A. Harris  
y W.B. Whalley; Tetrahedron 7, 241 (1959).
- 7.- C.D. Upper y C.A West; J. Biol. Chem. 242,3285  
(1967).
- 8.- I. Shechter y C.A. West; J. Biol. Chem. 244,  
3200 (1969).
- 9.- J.E. Graebe, D.T. Dennis, C.D. Upper y C.A.

- West; J. Biol. Chem. 240, 1847 (1965).
- 10.- M. Oster y C.A. West; Archs. Biochem. Biophys  
133, 395 (1969).
- 11.- J.E. Graebe, D.H. Bowen y J. Mac Millan; Plan  
ta 102, 261.(1972).
- 12.- R. Evans, J.R. Hanson y A.F. White; J. Chem.  
Soc. C 2601 (1970).
- 13.- J.R. Hanson y J. Hawker; Tetrahedron Lett.  
4299 (1972).
- 14.- B.E. Cross, J.C. Stewart y J.L. Stoddart;  
Phytochem. 9, 1065 (1970).
- 15.- J.E. Graebe, P. Hedden y J. Mac Millan; J.C.  
S. Chem. Comm. 161 (1975).
- 16.- B.E. Cross, K. Norton y J.C. Stewart; J.Chem.  
Soc. C 1054 (1968).
- 17.- J.R. Hanson y A.F. White; Chem. Comm. 1689,  
(1968).
- 18.- B.E. Cross y K. Norton; Tetrahedron Latt.  
6003 (1966).

- 19.- J.R. Bearder, J. Mac Millan y B.O. Phinney;  
J.C.S. Chem. Comm. 834 (1976).  
J.R. Bearder and V.M. Sponsel; Biochem. Soc.  
Trans. 5, 570 (1977).
- 20.- B. Dockerill, R. Evans y J.R. Hanson; J.C.S.  
Chem. Comm. 919 (1978).
- 21.- J.R. Hanson y A.F. White; Tetrahedron 24,  
6291 (1968).
- 22.- J.R. Bearder, J. Mac Millan, C.M. Wels y B.  
O. Phinney; Phytochem. 14, 1741 (1975).
- 23.- J.R. Bearder, V.M. Frydman, P. Gaskin, J.  
Mac Millan, C.M. Wels y B.O. Phinney; J.C.  
S. Perkin I, 2308 (1977).
- 24.- M.W. Lunnon, J. Mac Millan y B.O. Phinney;  
J.C.S. Perkin I, 2308 (1977).
- 25.- K.D. Croft, E.L. Ghisalberti, P.R. Jefferies,  
J.R. Knox, T.J. Mahoney y P.N. Sheppard; Te-  
trahedron 30, 3663 (1974).
- 26.- B.E. Cross, R.H.B. Galt y J.R. Hanson; J.  
Chem. Soc. 3783 (1963).

- 27.- J.R. Hanson, J. Hawker y A.F. White; J.C.S. Perkin I, 1892 (1972).
- 28.- F. Piozzi, P. Venturella, A. Bellino, M.P. Paternostro, B. Rodriguez y S. Valverde; Chem. Ind., (London), 962 (1971).
- 29.- A.G. González, B.M. Fraga, M.G. Hernandez, F. Larruga y J.G. Luis; Biochem. System and Ecol. (enviado para su publicación).
- 30.- D.T. Dennis, C.D. Upper y C.A. West; Plant. Physiol. 40, 948 (1965).
- 31.- A.G. González, B.M. Fraga, M.G. Hernandez y J.G. Luis; Tetrahedron 29, 561 (1973).
- 32.- J.R. Hanson y F. Sarah; resultados pendientes de publicación.
- 33.- T.G. Quesada, B. Rodriguez y S. Valverde; Tetrahedron Lett. 2187 (1972).



FUNDACION JUAN MARCH  
SERIE UNIVERSITARIA

**Títulos Publicados:**

- 1.— *Semántica del lenguaje religioso.* / A. Fierro  
(*Teología. España, 1973*)
- 2.— *Calculador en una operación de rectificación discontinua.* / A. Mulet  
(*Química. Extranjero, 1974*)
- 3.— *Skarns en el batolito de Santa Olalla.* / F. Velasco  
(*Geología. España, 1974*)
- 4.— *Combustión de compuestos oxigenados.* / J. M. Santiuste  
(*Química. España, 1974*)
- 5.— *Películas ferromagnéticas a baja temperatura.* / José Luis Vicent López  
(*Física. España, 1974*)
- 6.— *Flujo inestable de los polímeros fundidos.* / José Alemán Vega  
(*Ingeniería. Extranjero, 1975*)
- 7.— *Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental.* /  
José Antonio Salva Lacombe (*Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1973*)
- 8.— *Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos.* / José Plá Carrera  
(*Matemáticas. España, 1974*)
- 9.— *El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.* /  
Francisco Fernández-Longoria Pinazo (*Urbanización del Plan Europa 2.000  
a través de la Fundación Europea de la Cultura*)
- 10.— *El teatro español en Francia (1935—1973).* / F. Torres Monreal  
(*Literatura y Filología. Extranjero, 1971*)
- 11.— *Simulación electrónica del aparato vestibular.* / J. M. Drake Moyano  
(*Métodos Físicos aplicados a la Biología. España, 1974*)
- 12.— *Estructura de los libros españoles de caballerías en el siglo XVI.* /  
Federico Francisco Curto Herrero (*Literatura y Filología. España, 1972*)
- 13.— *Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos.* /  
M. Paloma Fernández García (*Geología. España, 1975*)
- 14.— *La obra gramatical de Abraham Ibn c Ezra.* / Carlos del Valle Rodríguez  
(*Literatura y Filología. Extranjero, 1970*)

- 15.— *Evaluación de Proyectos de Inversión en una Empresa de producción y distribución de Energía Eléctrica.* / Felipe Ruíz López (Ingeniería. Extranjero, 1974)
- 16.— *El significado teórico de los términos descriptivos.* / Carlos Solís Santos (Filosofía. España, 1973)
- 17.— *Encaje de los modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos relativos de política económica.* / Gumersindo Ruíz Bravo (Economía. España, 1971)
- 18.— *La imaginación natural (estudios sobre la literatura fantástica norteamericana).* / Pedro García Montalvo (Literatura y Filología. Extranjero, 1974)
- 19.— *Estudios sobre la hormona Natriurética.* / Andrés Purroy Unanua (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1973)
- 20.— *Análisis farmacológico de las acciones miocárdicas de bloqueantes Beta-adrenérgicos.* / José Salvador Serrano Molina (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1970)
- 21.— *El hombre y el diseño industrial.* / Miguel Durán-Lóriga (Artes Plásticas. España, 1974)
- 22.— *Algunos tópicos sobre teoría de la información.* / Antonio Pascual Acosta (Matemáticas. España, 1975)
- 23.— *Un modelo simple estático. Aplicación a Santiago de Chile.* / Manuel Bastarache Alfaro (Arquitectura y Urbanismo. Extranjero, 1973)
- 24.— *Moderna teoría de control: método adaptativo-predictivo. Teoría y realizaciones.* / Juan Manuel Martín Sánchez (Ingeniería. España, 1973)
- 25.— *Neurobiología (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*
- 26.— *Genética (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*
- 27.— *Genética (I Semana de Biología. Conferencias-coloquio sobre Investigaciones biológicas 1977)*
- 28.— *Investigación y desarrollo de un analizador diferencial digital (A.D.D.) para control en tiempo real.* / Vicente Zugasti Arbizu (Física. España, 1975)
- 29.— *Transferencia de carga en aleaciones binarias.* / Julio A. Alonso (Física. Extranjero, 1975)
- 30.— *Estabilidad de osciladores no sinusoidales en el rango de microondas.* / José Luis Sebastián Franco (Física. Extranjero, 1974)

- 31.— *Estudio de los transistores FET de microondas en puerta común.*/ Juan Zapata Ferrer. (Ingeniería. Extranjero, 1975).
- 32.— *Estudios sobre la moral de Epicuro y el Aristóteles esotérico.*/ Eduardo Acosta Méndez. (Filosofía. España, 1973).
- 33.— *Las Bauxitas Españolas como mena de aluminio.*/ Salvador Ordóñez Delgado. (Geología. España, 1975).
- 34.— *Los grupos profesionales en la prestación de trabajo: obreros y empleados.*/Federico Durán López. (Derecho. España, 1975).
- 35.— *Obtención de Series aneuploides (monosómicas y ditelosómicas) en variedades españolas de trigo común.*/Nicolás Jouve de la Barreda. (Ciencias Agrarias. España, 1975).
- 36.— *Efectos dinámicos aleatorios en túneles y obras subterráneas.*/ Enrique Alarcón Alvarez. (Ingeniería. España, 1975).
- 37.— *Lenguaje en periodismo escrito.*/Fernando Lázaro Carreter, Luis Michelena Elissalt, Robert Escarpit, Eugenio de Bustos. Víctor de la Serna, Emilio Alarcos Llorach y Juan Luis Cebrián. (Seminario organizado por la Fundación Juan March los días 30 y 31 de mayo de 1977).
- 38.— *Factores que influyen en el espigado de la remolacha azucarera, Beta vulgaris L.*/José Manuel Lasa Dolhagaray y Antonio Silván López. (Ciencias Agrarias. España, 1974).
- 39.— *Compacidad numerable y pseudocompacidad del producto de dos espacios topológicos. Productos finitos de espacios con topologías proyectivas de funciones reales.*/José Luis Blasco Olcina. (Matemáticas. España, 1975).
- 40.— *Estructuras de la épica latina.*/M<sup>a</sup>. del Dulce Nombre Estefanía Alvarez. (Literatura y Filología. España, 1971).
- 41.— *Comunicación por fibras ópticas.*/Francisco Sandoval Hernández. (Ingeniería. España, 1975).
- 42.— *Representación tridimensional de texturas en chapas metálicas del sistema cúbico.*/José Antonio Pero-Sanz Elorz. (Ingeniería. España, 1974).
- 43.— *Virus de insectos: multiplicación, aislamiento y bioensayo de Baculovirus.*/Cándido Santiago-Alvarez. (Ciencias Agrarias. Extranjero, 1976).
- 44.— *Estudio de mutantes de saccharomyces cerevisiae alterados en la biosíntesis de proteínas.*/Lucas Sánchez Rodríguez. (Biología. España, 1976).

45. – *Sistema automático para la exploración del campo visual.* José Ignacio Acha Catalina. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1975).
46. – *Propiedades físicas de las variedades de tomate para recolección mecánica.* / Margarita Ruiz Altisent. (Ciencias Agrarias. España 1975).
47. – *El uso del ácido salicílico para la medida del pH intracelular en las células de Ehrlich y en escherichia coli.* / Francisco Javier García-Sancho Martín. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1974).
48. – *Relación entre iones calcio, fármacos ionóforos y liberación de noradrenalina en la neurona adrenérgica periférica.* / Antonio García García. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1975).
49. – *Introducción a los espacios métricos generalizados.* / Enrique Trillas y Claudi Alsina. (Matemáticas. España, 1974).
50. – *Síntesis de antibióticos aminoglicosídicos modificados.* / Enrique Pando Ramos. (Química. España, 1975).
51. – *Utilización óptima de las diferencias genéticas entre razas en la mejora.* / Fernando Orozco y Carlos López-Fanjul. (Biología Genética. España, 1973).
52. – *Mecanismos neurales de adaptación visual a nivel de la capa plexiforme externa de la retina.* / Antonio Gallego Fernández. (Biología Neurobiología. España, 1975).
53. – *Compendio de la salud humana de Johannes de Ketham.* / M<sup>a</sup>. Teresa Herrera Hernández. (Literatura y Filología. España, 1976).
54. – *Breve introducción a la historia del Señorío de Buitrago.* / Rafael Flaquer Montequi. (Historia. España, 1975).
55. – *Una contribución al estudio de las teorías de cohomología generalizadas.* / Manuel Castellet Solanas. (Matemáticas. Extranjero, 1974).
56. – *Fructosa 1,6 Bisfosfatasa de hígado de conejo: modificación por proteasas lisosomales.* / Pedro Sánchez Lazo. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1975).
57. – *Estudios sobre la expresión genética de virus animales.* / Luis Carrasco Llamas. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. Extranjero, 1975).
58. – *Crecimiento, eficacia biológica y variabilidad genética en poblaciones de dípteros.* / Juan M. Serradilla Manrique. (Ciencias Agrarias. Extranjero, 1974).

59. – *Efectos magneto-ópticos de simetría par en metales ferromagnéticos.* / Carmen Nieves Afonso Rodríguez. (Física. España, 1975).
60. – *El sistema de Servet.* / Angel Alcalá Galve. (Filosofía. España, 1974).
61. – *Dos estudios sobre literatura portuguesa contemporánea.* / David Mourão-Ferreira y Vergilio Ferreira. (Literatura y Filología, 1977).
62. – *Sistemas intermedios.* / María Manzano Arjona. (Filosofía. España, 1975).
63. – *A la escucha de los sonidos cerca de  $T_\lambda$  en el  $^4\text{He}$  líquido.* / Félix Vidal Costa. (Física. Extranjero, 1974).
64. – *Simulación cardiovascular mediante un computador híbrido.* José Ramón Farré Muntaner. (Ingeniería. España, 1976).
65. – *Desnaturalización de una proteína asociada a membrana y caracterización molecular de sus subunidades.* / José Manuel Andreu Morales. (Biología. España, 1976).
66. – *Desarrollo ontogénico de los receptores de membrana para insulina y glucagón.* / Enrique Blázquez Fernández. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1976).
67. – *La teoría de los juegos semánticos. Una presentación.* / Juan José Acero Fernández. (Filosofía. Extranjero, 1974).
68. – *El problema de la tierra en el expediente de Ley Agraria.* / Margarita Ortega López. (Historia. España, 1976).
69. – *Razas vacunas autóctonas en vías de extinción. (Aportaciones al estudio genético).* / Miguel Vallejo Vicente. (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1976).
70. – *Desviaciones del sistema y de la norma de la lengua en las construcciones pronominales españolas.* / María Antonia Martín Zorraquino. (Literatura y Filología. España, 1974).
71. – *Sociología del ejército español en el siglo XIX.* / Fernando Fernández Bastarreche. (Historia. España, 1977).
72. – *La filosofía hegeliana en la España del siglo XIX.* / Juan Francisco García Casanova. (Filosofía. España, 1976).

- 73.— *Procesamiento de datos lingüísticos. Modelo de traducción automática del español al alemán.* / Montserrat Meya Llopart. (*Literatura y Filología Extranjera*, 1976).
- 74.— *La Constitución de 1931 y la autonomía regional.* / Adolfo Hernández Lafuente. (*Ciencias Sociales. España*, 1976).
- 75.— *El modelo constitucional español del siglo XIX.* / Miguel Artola Gallego. (*Historia*, 1979).
- 76.— *Estudio de la susceptibilidad magnetoeléctrica en el  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  policristalino, por el método de la constante dieléctrica.* / Rafael C. Martín Pérez. (*Ciencias Físicas. España*, 1970).
- 77.— *C-14 y Prehistoria de la Península Ibérica.* / M. Almagro-Gorbea, F. Bernaldo de Quirós, G. A. Clark, R. de Balbín-Behrmann, G. Delibes, J. J. Eiroa, U. Espinosa, M. Fernández-Miranda, M. D. Garralda, A. González, M. González, F. Gusi, P. López, B. Martí, C. Martín de Guzmán, A. Morales, A. Moure, C. Olaria, M. Sierra y L. G. Strauss. (*Reunión celebrada en la Fundación Juan March el día 14 de abril de 1978*).
- 78.— *Cultura en periodismo.* / Manuel Martín Serrano, Juan Ramón Masoliver, Rafael Conte Oroz, Carlos Luis Alvarez, Amando de Miguel, Manuel Seco, José Luis Abellán, André Fontaine. (*Seminario de "Cultura en periodismo", celebrado en la Fundación Juan March, los días 26 y 27 de junio de 1978*).





