

3 300627  
Day



UNIVERSIDAD LA SALLE

ESCUELA DE QUIMICA  
Incorporada a la U. N. A. M.

ESTUDIO QUIMICO DE Salvia breviflora.

T E S I S   P R O F E S I O N A L  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A

Gabriel Eduardo Cuevas González Bravo



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Abreviaturas	6
Resumen	8
Introducción	9
Generalidades	11
Material y métodos	19
Resultado y discusión	25
Conclusiones	48
Anexos	49
Referencias bibliográficas	65

## Abreviaturas.

## a. Abreviaturas generales.

AOP	Difosfato de adenosina.
ATP	Trifosfato de adenosina.
CoASH	Coenzima A.
Cont	Continuación.
Fig	Figura.
M	Molar
Me	Metilo
NADP	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma oxidada).
NADP H+H	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma reducida)
PP	Pirofosfato.
PPi	Pirofosfato inorgánico.
p.f.	Punto de fusión.

## b. Abreviaturas relacionadas con técnicas espectroscópicas y espectrométricas.

EM	Espectrometría de masas. m/z Relación masa/carga M <sup>+</sup> Ion molecular
IR	Espectroscopía en la zona de infrarrojo. La intensidad de las bandas en la descripción del espectro de IR se designan con las letras: i: alta m: media b: baja
RMN	Resonancia magnética nuclear. δ : desplazamiento químico ppm : partes por millón. J : constante de acoplamiento. Hz : Hertz La multiplicidad de las señales se indica con: s : singulete d : doblete t : triplete q : cuarteto dd : doble de dobletes dt : doble de triplete m : multiplete

RMN $^{13}\text{C}$	Resonancia magnética nuclear de carbono-13.
RMP	Resonancia magnética nuclear de protones
UV	Espectroscopía en la región ultravioleta.
$\epsilon$	Absortividad molar (antes denominado coeficiente de extinción molar).
$\lambda_{\text{max}}$	Longitud de onda de máxima absorción.

## RESUMEN

Además de compuestos ubicuos en la familia de las labiadas (Labiatae), tales como los ácidos ursólico y oleanólico, de Salvia breviflora se han aislado dos compuestos nuevos, el 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nido-relalactona y su derivado acetilado en 18. Estos compuestos son diterpenos pertenecientes al grupo del transclerodano que presentan un puente etéreo en el anillo A, que constituye un heterobiciclo. La estructura de estos compuestos se ha determinado mediante técnicas espectroscópicas y con ayuda de algunas reacciones químicas. La estereoquímica relativa de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nido-relalactona pudo determinarse utilizando la técnica de difracción de rayos X, después de haber logrado obtener cristales adecuados, faltando solamente la determinación de la estereoquímica absoluta de este compuesto.

## INTRODUCCION.

Los estudios sistemáticos que se vienen realizando sobre plantas, organismos marinos e insectos, han llevado a descubrir una gran cantidad de estructuras terpenoides (5,17,39,48).

El gran interés en estos compuestos se ha multiplicado recientemente debido a la actividad biológica que presentan muchos de ellos (3,26,36).

La resolución de las estructuras terpenoides ha sido un campo abierto para la aplicación de las técnicas de RMN  $^{13}\text{C}$ , RMP de alta resolución y la cristalografía de rayos X (1,13), entre muchos métodos de análisis, y han favorecido el desarrollo de métodos eficientes de separación y purificación de compuestos (55).

Los problemas presentados por la actividad química de algunos medios de separación (43), que producen modificaciones en las estructuras terpenoides, favoreciendo reacciones de transposición, apertura de ciclos, reacciones ácido-base, etc; han llevado la investigación hacia la obtención de algunos medios inocuos que carezcan de esa actividad y al desarrollo de técnicas que permitan su inactivación (17,48).

La química de los terpenoides constituye a últimas fechas un microcosmos dotado de estructuras fascinantes, que han motivado arduos y extensos trabajos, tendientes a aclarar diversos aspectos tales como su biogénesis, los mecanismos que la regulan, y las rutas metabólicas que los generan, novedosas técnicas de síntesis orgánica; para una fracción mayoritaria la determinación de su actividad biológica y la forma como se produce dicha actividad, sin embargo, uno de los problemas interesantes que genera es: la resolución de su estructura y estereoquímica.

La caracterización química de un compuesto requiere el conocimiento de su fórmula molecular, estructura y finalmente su configuración. Estos tres aspectos permiten racionalizar su comportamiento químico y planear su síntesis (19,25).

La difracción de rayos X es una técnica que desde 1932 guía la asignación de estructuras y configuraciones, en la actualidad los equipos computarizados permiten la resolución de estos problemas en pocas horas, partiendo de un cristal que no requiere de grandes dimensiones, aun cuando subsiste la tarea a veces ardua de obtener cristales adecuados a este propósito (14,15). Las técnicas de espectroscopía de infrarrojo, ultravioleta y resonancia magnética nuclear, permiten definir configuraciones en especial cuan-

do se tiene bien definida la estructura y configuración de la familia de compuestos en estudio (46).

El presente trabajo pertenece a un proyecto auspiciado por el INSTITUTO DE QUIMICA y el CONACYT, y está enfocado a la resolución de estructuras terpenoides encontradas en Salvia breviflora, permaneciendo al margen de la caracterización de otros productos naturales y de su cuantificación.

## GENERALIDADES.

El término terpeno, al igual que las palabras terpina y terpinol, provienen del inglés "terpentine", equivalente al término "trementina", que se aplica a las resinas que se producen por el terebinto y otras coníferas (12).

Los terpenos son productos formados por dos o más unidades de isopreno, que se clasifican según éste número de unidades en: monoterpenos (dos unidades,  $C_{10}$ ), sesquiterpenos (tres unidades,  $C_{15}$ ), diterpenos (cuatro unidades,  $C_{20}$ ), sesterterpenos (cinco unidades,  $C_{25}$ ), etc. (51).

Se ha aceptado en forma general que los terpenoides, en toda su amplia gama, que va desde monoterpenos hasta politerpenos y esteroides, constituyen el producto final de rutas metabólicas, cuyo tronco común está descrito en la figura 1.

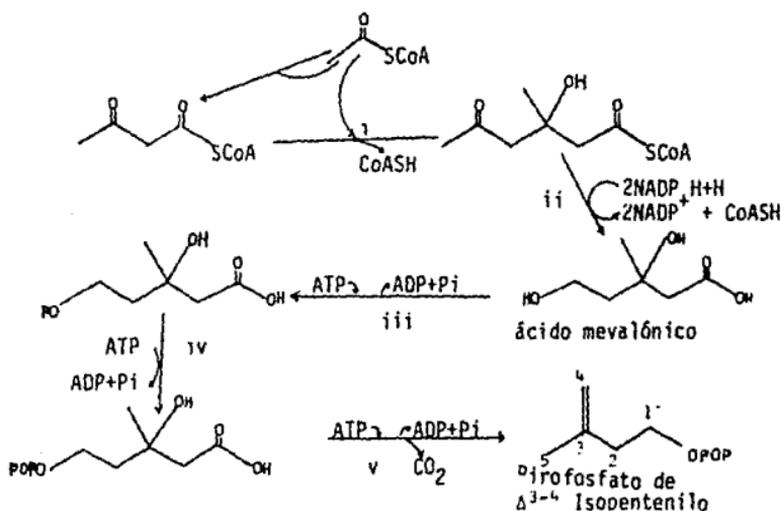


Fig. 1. Biosíntesis de terpenoides (27,35).



Enzimas que intervienen catalizando las reacciones anteriores:

- i. hidroximetil-glutaril-CoA sintetasa. (E.C. 4.3.1.5)
- ii. Hidroximetil-glutaril-CoA-reductasa.(E.C. 1.1.1.b)
- iii. Mevalonato quinasa (E.C. 2.7.1.36).
- iv. Fosfo-mevalonato quinasa.
- v. Pirofosfato-mevalonato descarboxilasa.
- vi. Isopentenil-pirofosfato-isomerasa (E.C. 2.5.1.1)
- vii. Dimetil-alil-transferasa (E.C. 2.5.1.1)

Los estudios referentes a la biogénesis de los terpenoides revelan dos tipos principales de mecanismos de ciclización. El primero de ellos es característico de los mono y sesquiterpenos, donde el pirofosfato actúa como grupo saliente, lo que ocasiona la formación de un carbocatión procedente del pirofosfato de isopentenilo  $\Delta^{3-4}$  o prenilo, susceptible a rearrreglos y a la posterior alquilación del doble enlace del prenilo (1B). Figura 2.

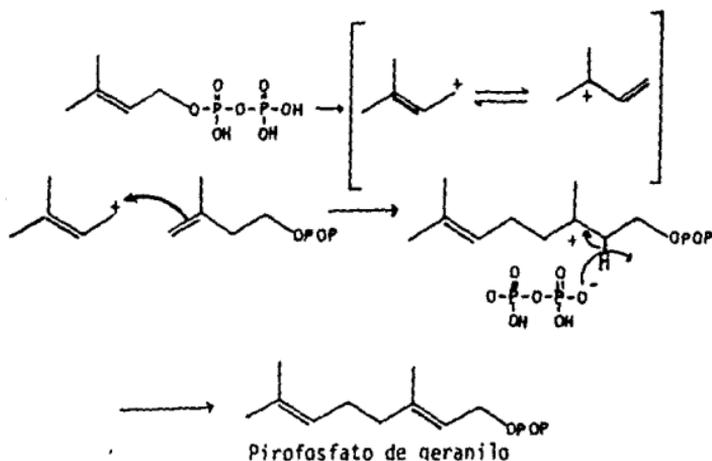
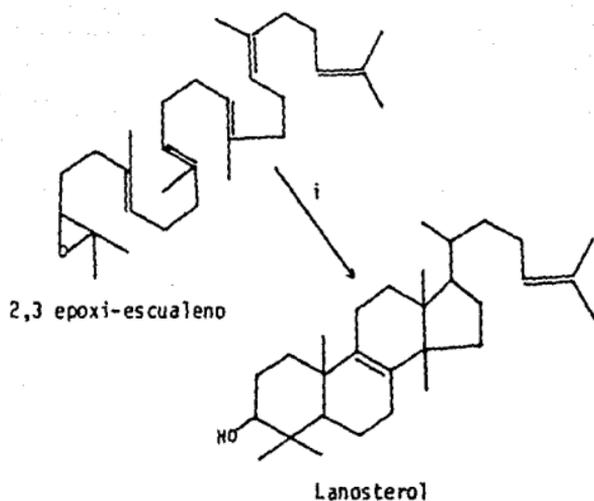


Fig. 2. Mecanismo de adición en la biosíntesis de mono y sesquiterpenos.

El segundo mecanismo es característico de los terpenos mayores (politerpenos y esteroides). La ciclización se inicia por la adición de un protón a un doble enlace o a un epóxido (36). Fig.3.



i. escualeno-epóxido-lanosterol-ciclasa.

Fig 3. Ciclización en terpenos mayores.

Como se advierte en los dos casos, la ciclización primaria es seguida, con frecuencia, por una serie de cierres de anillos secundarios; además de reacciones de transposición; causa fundamental de la gran multiplicidad de estructuras ampliamente distribuidas en la naturaleza.

Los diterpenos presentan ambos mecanismos en sus rutas metabólicas muy diversas (6). Fig. 4.

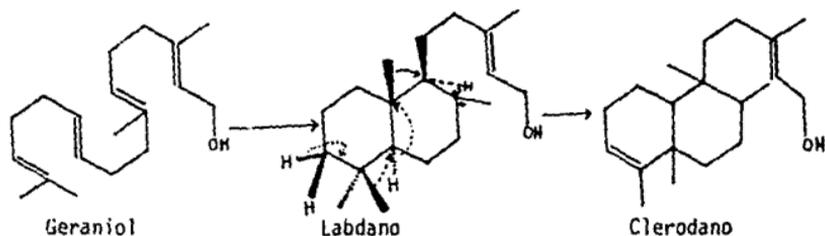


Fig. 4. Mecanismo de ciclización y transposición en diterpenos.

La familia Labiatae (labiadas) comprende plantas herbáceas, arbustivas o arbóreas. Todas tienen tallos prismáticos, de sección cuadrangular y hojas sencillas opuestocruzadas. Una característica importante de los miembros de esta familia es la presencia de glándulas epidérmicas, que contienen aceites esenciales y producen su aroma especial.

El nombre de la familia deriva de la forma característica en la que se encuentran dispuestas las piezas de la corola. Esta contiene cinco pétalos soldados, dispuestos en dos labios; la pieza superior está constituida por dos de estos pétalos, mientras que la inferior contiene los tres restantes. Las flores son hermafroditas, se encuentran dispuestas sobre las axilas de las hojas superiores.

Cuenta con cuatro estambres, dos más largos que los otros, aunque en ocasiones sólo aparecen dos, sostenidos firmemente por la corola. El ovario es bicarpelar, tetralocular y con un óvulo en cada división (41,54).

El estudio fitoquímico de la familia Labiatae ha elucidado las estructuras de varios diterpenos bicíclicos y tricíclicos (16,34,38). Un grupo importante de diterpenos lo constituyen los clerodanos, cuyo esqueleto carbonado se presenta en la figura 5.

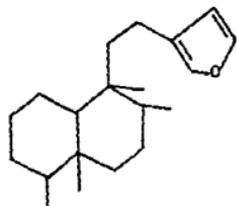


Fig. 5. Esqueleto carbonado de los clerodanos.

Recientemente se han aislado una gran cantidad de compuestos diterpenoides con un esqueleto de trans clerodano (30,32,33,46).

El interés específico en el conocimiento de este grupo de compuestos se ha estimulado por su actividad biológica como compuestos anoréxicos, antitumorales, antibacterianos, etc. (18,37).

El primer miembro de la serie es el clerodano, un principio amargo aislado a partir de Clerodendron infortunatum en 1960 (6,26), y al que se le asignó la configuración absoluta indicada en la figura 6, a partir del estudio por difracción de rayos X de la bromo-lactona correspondiente (2,38,50).

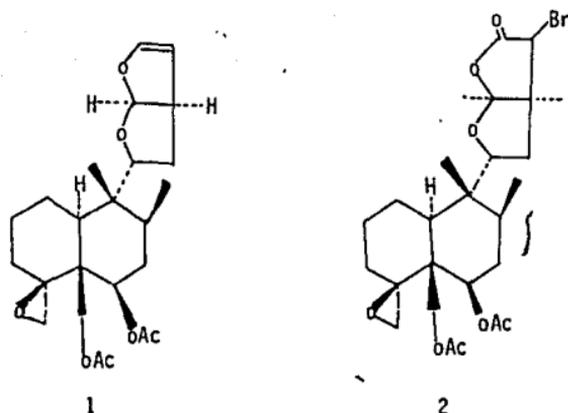


Fig. 6. Configuración absoluta del clerodano (1) y de la correspondiente bromo-lactona (2). (2,38,50).

En el año de 1979 se revisó y modificó la configuración de este compuesto. La información proveniente del efecto Cotton mostrado por el carbonilo en el  $C_6$  obtenido a partir de la deacetilación y la oxidación del alcohol correspondiente, no satisfacía la estereoquímica propuesta (40,42).

Ese mismo año se publicó la revisión y las correcciones necesarias, lo que afectó la estereoquímica asignada a compuestos publicados con anterioridad y que basaron sus conclusiones en función de la comparación de los pares Bijvoet más importantes entre los cristales analizados de cada producto y los resultados publicados del clerodano (33).

Estas modificaciones obligaron a efectuar cambios en la nomenclatura (39). Se propuso nombrar neo-clerodano a los compuestos que presentaban la estereoquímica correcta y que correspondían con anterioridad a los ent-clerodanos y como ent-neo-clerodanos (fig. 7.) a sus enantiómeros que coincidían con la configuración inadecuada del clerodano.



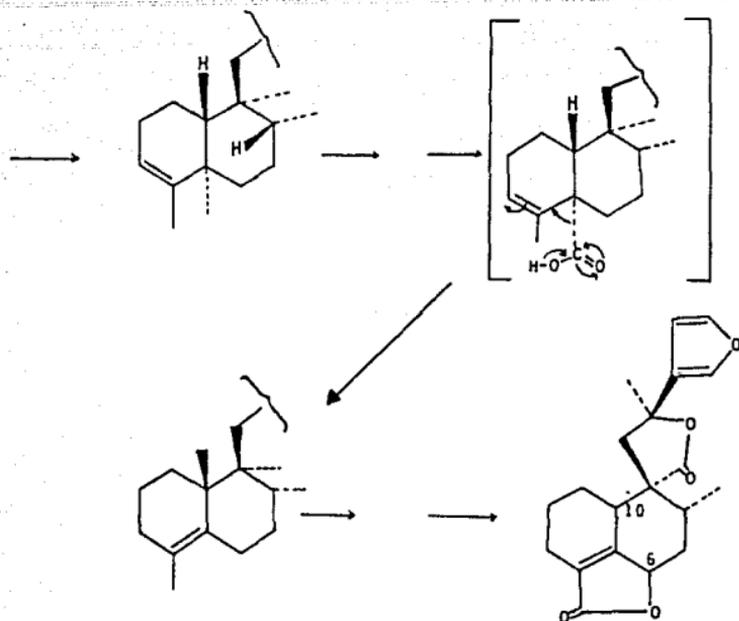


Fig. 8. Biosíntesis de los derivados del clerodano. (Cont.)

El geraniol se transforma en un intermediario del tipo de los labdanos (47). Ver figura 4. Es importante recordar que un neo-clerodano implica un ent-labdano. Este intermediario sufre la transposición de Wagner-Meerwein, produciendo un compuesto del tipo de los neo-clerodanos, a partir de este compuesto pueden suceder reacciones de oxidación de alcoholes hasta grupos carboxilo, pasando por carbonilos de cetona o aldehído, pudiendo estos últimos llegar a sufrir descarboxilación por oxidaciones posteriores. La oxidación de los carbonos 6 y 18, seguidos de la formación de  $\gamma$ -lactonas- $\alpha,\beta$ -insaturadas, y la formación del anillo de furano, son reacciones comunes en los miembros de este grupo (42).

El conocimiento de los aspectos biosintéticos han permitido el desarrollo de técnicas novedosas de síntesis (28,44), la aplicación de técnicas de ingeniería genética y de biotecnología que permitan obtener estos productos a partir de cultivo de tejidos vegetales y la preparación de derivados apropiados para aplicar las técnicas de Horeau (21,52) o aprovecharlos en las técnicas de análisis del efecto Cotton (29,50) y la regla de los octantes (29), para la asignación de configuraciones absolutas.

## Material y Métodos.

La Salvia breviflora fué recolectada en la población de Buenavista de Cuellar, ubicada en la zona limítrofe de los estados de Morelos y Guerrero en septiembre de 1984. Fué catalogada por el Herbario Nacional y clasificada como Salvia breviflora Moc & Sesse. Méx. 4307072.

La planta se dejó secar a temperatura ambiente durante dos semanas. Transcurrido este tiempo se separaron las hojas de los tallos y se eliminaron estos últimos.

### A. Obtención de los compuestos de interés.

Las hojas se molieron y con un kilogramo de este material se empacó una columna de vidrio de 10 cm de diámetro por un metro de largo, que contenía una capa de 2 cm de celita en la base.

Se hace pasar hexano caliente para comenzar la extracción, que se continúa hasta que el disolvente 'sale limpio'. Este control se efectúa por cromatografía en capa fina revelando con sulfato cérico.

Una segunda extracción con acetato de etilo caliente enriqueció el extracto con los compuestos de interés, uno de ellos (el que se encuentra en mayor cantidad aparente) se identificó con la clave SOG (Salvia-Ortega-Guerrero) que tiene un  $R_f$  de 0.38, empleando para la elución de la placa un sistema 1:9 de hexano en acetato de etilo.

Se terminó la extracción con etanol caliente hasta que prácticamente ya no se extrajo ningún compuesto de interés.

Se decoloraron los extractos con 0.25 g de carbón activado y se concentraron en un rotavapor. El extracto metanólico obtenido pesó 18 g y el de acetato de etilo 9.2 g, eliminándose el extracto hexánico.

Se preparó una columna de 1.5 m por 12 cm de diámetro empacada con 700 g de gel de sílice como soporte y 4 g de celita en la base, empleando hexano como eluyente.

Se inició la elución de la columna con hexano-acetato de etilo 9:1 colectando fracciones de 250 ml, que se concentraron en el evaporador rotatorio. Los primeros productos que se obtuvieron se distinguieron en cromatografía de capa fina porque durante el revelado con sulfato cérico producen una mancha de color rojo intenso, con  $R_f$  0.85, eluyendo esta con un sistema hexano-acetato de etilo 1:9 y que por comparación con estándares se identificaron como ácido ursólico y ácido oleanólico. Se cambió la polaridad del eluyente por un sistema hexa

no-acetato de etilo 1:1, con lo que rápidamente apareció el compuesto marcado como SOG, acompañado de una fracción pequeña de triterpenos (ácido ursólico y oleanólico), y una serie de compuestos en menores cantidades aparentes. Estas fracciones se concentraron en rotavapor, obteniéndose un sólido amorfo que pesó 1.7 g.

Estos compuestos se recromatografiaron por separado, empleando para la mezcla de 1.7 g una columna de 3 cm de diámetro y un metro de largo empacada con 40 g de gel de sílice en hexano.

Se inició la elución con una mezcla de hexano-acetato de etilo 9:1 e incrementando la polaridad hasta que se empleó acetato de etilo puro (con incrementos del 10% V/V). Las fracciones (de 25 ml) se controlaron por cromatografía en capa fina que se revelaron con sulfato cérico.

El compuesto marcado como SOG se obtuvo como un sólido amorfo, sin tendencias a cristalizar, de color verde claro y que pesó 0.85 g. En placa bidimensional reveló un halo en la parte inferior de la mancha principal, lo que obligó al empleo de la cromatografía de capa fina preparativa. Se emplearon como eluyentes hexano-acetato de etilo en una proporción 6:4. La placa se reveló con sulfato cérico, se cortó y se extrajo el compuesto de interés con acetato de etilo de la gel de sílice.

Se obtuvieron 542 mg del compuesto marcado como SOG por kilogramo de hojas secas. Se mostró al evaporar a sequedad en un evaporador rotatorio como un sólido amorfo de color verde claro, sin tendencias a cristalizar y p.f. 126°C. Se enviaron cantidades adecuadas del producto a espectroscopía de IR, RMP y espectrometría de masas (EM).

Las fracciones que contenían los compuestos de proporción menor se reunieron y evaporaron en el rotavapor, la mezcla presentó las características de un sólido amorfo con peso de 1.3 g.

#### B. Obtención de los compuestos de proporción menor.

El extracto con los compuestos de proporción menor se separó por placa preparativa, eluyendo con una mezcla de hexano-acetato de etilo 1:1. La placa se introdujo dos veces en el sistema de disolventes para lograr una separación más eficiente.

La placa se reveló con sulfato cérico con una franja en la parte media para guiar el corte. Los diferentes compuestos se extrajeron de la gel de sílice con acetato de etilo, se marcaron con la clave SOG x, siendo x un número progresivo de 1 a 9 en orden de mayor a menor polaridad. De estos compuestos sólo uno presentó pureza y cantidad adecuada para los análisis espectroscópicos necesarios y fué el compuesto marcado como SOG 3, con un Rf de 0.66

corriendo la placa en un sistema hexano-acetato de etilo 1:9 revelando con sulfato cérico. El rendimiento con el que se obtuvo este compuesto fué de 35.5 mg por kilogramo de materia prima.

Tabla 1. Rf de los productos naturales obtenidos (eluyente:hexano-acetato de etilo 1:9)

Compuesto	Rf
SOG	0.39
SOG 3	0.66

#### C. Cristalización del compuesto marcado como SOG.

Se prepararon cuatro frascos de vidrio de 8 mm de diámetro y 35.0 mm de altura con tapón de rosca. En cada frasco se colocaron aproximadamente 25 mg del compuesto marcado como SOG y se numeraron progresivamente de 1 a 4. Al primero se añadieron 2 ml de acetato de etilo, al segundo un volumen igual de acetona, al tercero un ml de hexano y uno de acetato de etilo y dos ml de metanol a cuarto. Los frascos así preparados se calentaron ligeramente y se cubrieron con una tapa que no se ajustó deliberadamente, para permitir la evaporación lenta del disolvente; así se conservaron inmóviles durante tres días. En el frasco donde se empleó acetato de etilo, se encontraron cristales incoloros, agujas de p.f. 126-127°C. Los cristales obtenidos se comparon con el sólido amorfo que los generó, tanto en placa fina como por sus espectros de IR,

Los cristales restantes se humedecieron en dos ocasiones con acetato de etilo, favoreciendo la evaporación paulatina del disolvente, lo que permitió obtener cristales adecuados para su análisis por difracción de rayos X.

#### D. Hidrogenación del compuesto marcado como SOG.

En un matraz para hidrogenación se colocaron 10 mg de una mezcla catalítica comercial de paladio sobre carbón al 10% (Sargent-Welch-Scient. Co. SC-13902-25G) y 25 ml de etanol. Se permitió la saturación del catalizador con hidrógeno a temperatura ambiente (22).

Posteriormente se introdujeron 88 mg del compuesto a hidrogenar disueltos en 10 ml de etanol. Se dejó en agitación durante 6 horas bajo atmósfera de hidrógeno, tiempo al cual se suspendió la reacción.

Se eliminó por filtración la mezcla catalítica y se evaporó el disolvente. Se recuperaron 84.5 mg del compuesto hidrogenado, que constituye el 96% del rendimiento teórico por cromatografía preparativa. Se obtuvieron

análisis espectroscópicos de IR, RMP y EM.

Este producto se mostró como un sólido de olor "sui géneris", agradable, p.f. 65°C y sin tendencias a cristalizar a pesar de haberse sometido a un proceso semejante al que produjo los cristales del compuesto marcado como SOG.

E. Obtención del p-bromo benzoato derivado del compuesto marcado como SOG.

En un matraz apropiado se colocaron 67.4 mg del compuesto marcado como SOG y se disolvieron en 1 ml de piridina anhidra.

Se añadieron 1.5 ml de una solución preparada con anterioridad conteniendo 202 mg de cloruro de p-bromo benzoilo (Aldrich Chemical Co.) en 4 ml de piridina anhidra. Se colocó una válvula de seguridad y se dejó en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se obtuvo en capa fina el desarrollo cromatográfico de las sustancias en reacción, donde se comprobó la desaparición del compuesto marcado como SOG. Se añadieron 5 ml de agua fría y se filtró para separar el precipitado. Este precipitado se transfirió a un matraz adecuado, se añadieron 5 ml de una solución acuosa al 10% P/V de NaOH y el producto se extrajo con cloruro de metileno. Este producto se recristalizó de metanol, obteniéndose cristales incoloros, p.f. 167°C y con un rendimiento del 65.2%.

F. Bromación del compuesto marcado como SOG.

Se colocaron 80 mg del compuesto marcado como SOG en un matraz apropiado. Se agregaron 1.5 ml de cloroformo y se introdujeron en un baño de hielo. Una solución con la cantidad estequiométrica de bromo (0.24 m mol) en 1 ml de cloroformo se adicionó gota a gota. Al terminar esta operación se dejó en agitación 15 minutos más. El contenido del matraz se vació sobre hielo, y se extrajo el producto con cloruro de metileno. Se obtuvieron 110 mg del producto, que se presentó como un líquido muy viscoso. A este compuesto se le marcó con la clave BROSOG.

G. Tratamiento del compuesto marcado como SOG con ácido trifluoroacético (TFA).

A 10 mg del compuesto marcado como SOG, que se colocaron en un matraz adecuado, se les adicionó TFA en un ligero exceso. Se obtuvieron espectros de RMP a los 5, 10, 20 y 60 minutos, 72 horas y 25 días.

#### H. Oxidación del compuesto marcado como SOG.

110 mg del compuesto marcado como SOG se disolvieron en 10 ml de cloruro de metileno en un matraz apropiado. Se añadió la cantidad estequiométrica de cromato de piridinio (reactivo de Corey) manteniendo el sistema a temperatura ambiente (8-11).

Se obtuvieron 8 productos que se determinaron por cromatografía líquido-líquido de alta presión (HPLC) empleando una columna MCH-10 eluyendo con una mezcla de acetonitrilo-agua en relación 1:1.

El único producto aislado en condiciones adecuadas de pureza y cantidad se marcó con la clave SOG-AL y se obtuvo con un rendimiento del 37% con un p.f. de 143°C.

#### I. Preparación del revelador para placas de cromatografía (Sulfato cérico).

A un matraz en un baño de hielo se adicionan 12 g de  $Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O$  (Merck Art. 2274) y lentamente se agregan 22.2 ml de ácido sulfúrico concentrado (equivalentes a 40 g). Se agita hasta disolver el sulfato cérico y se conserva en un envase de vidrio color ambar.

#### J. Aspectos generales.

Los espectros de IR, UV y visible, fueron obtenidos por el Q. René Villena Iribe y por el Q. Misael Valentino Torres Hernández, empleando un espectrofotómetro Perkin Elmer 283 y otro aparato Perkin Elmer 681 para el infrarrojo, se utilizaron además celdas de NaCl obteniéndose la disolución previa de las muestras en cloroformo. Cuando los productos ameritaron el empleo de otra técnica se indicó oportunamente. Los espectros de UV y visible se obtuvieron con un espectrofotómetro Perkin-Elmer 202.

Los espectros de RMN fueron obtenidos por el Q. Ricardo Jorge Cárdenas P., empleando un aparato Varian Ft-80A de 80 MHz, se empleó tetrametilsilano como referencia interna y deuterocloroformo como disolvente. Las excepciones están indicadas.

Los espectros de masa fueron obtenidos por el Q. Humberto Bojorquez Leyva y el IQ. Luis Velasco Ibarra; empleando un espectrómetro Hewlett-Packard 5985-B por impacto electrónico con introducción directa de la muestra.

La cromatografía de gases fué realizada por la Q. Lucía del Carmen Márquez Alonso en un aparato Perkin-Elmer  $\sigma$ -1 con una columna de vidrio de 182.8 cm y 0.317 cm de diámetro interior, empacada con OV-101 al 3% en

Chromosorb W. En cada caso se indican las condiciones de operación.

La difracción de rayos X fue realizada por el Dr. Manuel Soriano y el Q. Rubén Alfredo Toscano empleando un refractómetro automático Nicolett R3m. Todos los datos y cálculos fueron almacenados y efectuados respectivamente en un computador Nova 4S, y las gráficas se ejecutaron en un graficador Tektronix con el sistema Shelxtl (46).

Las cromatografías preparativas se efectuaron en placas PSC-Fertigplatten Kieselgel F-254 de 20 por 20 cm y 2 mm de espesor.

Las cromatografías en columna se efectuaron utilizando Sílica Gel 60 Merck, con gránulos de 0.2 a 0.5 mm de diámetro aproximado (25-70 mesh ASTM).

La pureza de los productos y el seguimiento de las reacciones se realizó empleando placas de 10 por 5 cm de gel de sílice 60 Merck F-254. Los puntos de fusión se determinaron empleando un aparato Fischer-Johns y no están corregidos.

## RESULTADOS Y DISCUSION.

Al compuesto marcado como SOG se le decidió nombrar inicialmente como breviflorina por haberse aislado a partir de Salvia breviflora. Sin embargo este nombre no se apega a las recomendaciones de la IUPAC para la nomenclatura de productos naturales publicada en 1978 (23), ya que el sufijo -ina se asocia con la presencia de átomos de nitrógeno en la molécula; aunque tiene la ventaja de ser breve.

Se propuso entonces denominar breviflordienólido a esta estructura, ya que además de mantener la información de la especie de donde se obtuvo por primera vez, se indica que la molécula es un dieno aislado, presenta un grupo alcohólico y es una lactona. Finalmente se recurrió a nombrar este producto como un derivado de la nidorelactona, obtenida a partir de Nidorella residifolia (Compositae) por Bohlmann (4,20) teniéndose el nombre 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-nidorelactona.

Empleando los métodos espectroscópicos más frecuentes y efectuando las reacciones comunes descritas con anterioridad, se ha concluido que la estructura de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona es la mostrada en la figura 9.

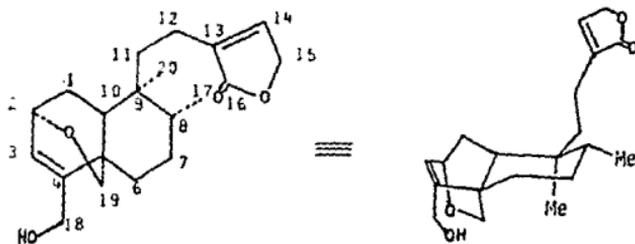


Fig. 9. Estructura de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

El espectro en la región ultravioleta de este producto presentó un máximo de absorción a 208 nm con una absorptividad molar de  $1990 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ , cuando el disolvente empleado fue metanol, y de 201 nm cuando el disolvente empleado fue hexano, y que es característico del cromóforo carbonilo lactónico  $\alpha, \beta$ -insaturado en anillos de cinco miembros.

El espectro en la región de infrarrojo (espectro  $\text{N}^{\circ} 1$ ) es coherente con la estructura, aparece una banda a  $3609 \text{ cm}^{-1}$  característica de la ten -

sión del enlace O-H, junto con una banda de  $1349\text{ cm}^{-1}$ , que confirma el alcohol primario. La posición de la banda de carbonilo a  $1753\text{ cm}^{-1}$ , intensa, corrobora el grupo lactónico  $\alpha,\beta$ -insaturado en anillo de cinco miembros. La banda en  $1133\text{ cm}^{-1}$  es propia de la tensión simétrica del sistema C-O-C de éter, y en  $1070\text{ cm}^{-1}$  para la tensión asimétrica de la misma función. Los detalles de la resolución del espectro de IR aparecen en la tabla 2.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  (espectro N°2) de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona es consistente con la estructura. En la tabla N°3 se asignan los desplazamientos, constantes de acoplamiento y multiplicidad de las señales del espectro con cada carbono de la molécula.

En el espectro de RMP (espectro N°3) se tiene la siguiente información:

Una señal a  $\delta = 4.45$ ,  $J = 11.5\text{ Hz}$ , que integra para un protón, y corresponde al protón localizado en  $\text{C}_2$ .

Un dt en  $\delta = 6.25$  con  $J = 5.5, 1.6\text{ Hz}$  que corresponde al protón del  $\text{C}_3$ . El protón del  $\text{C}_{14}$  produce una señal a  $\delta = 7.06$  con  $J = 4\text{ Hz}$  (m).

La señal a  $\delta = 4.74$  con  $J = 3\text{ Hz}$  (m) que integra para dos protones, corresponde al par que sustituye en  $\text{C}_{15}$ . El doblete (d) con  $\delta = 0.86$  y  $J = 6\text{ Hz}$  y que integra para tres protones corresponde a los sustituyentes en  $\text{C}_{17}$ . A  $\delta = 4.24\text{ ppm}$ , con  $J = 1.6\text{ Hz}$  (d), aparece una señal que integra para dos protones que corresponden a los ubicados en el  $\text{C}_{18}$ . Un doblete (d) a  $\delta = 4.10$ , con  $J = 8.2\text{ Hz}$  corresponde al protón ecuatorial que sustituye en  $\text{C}_{19}$  mientras que en  $\delta = 2.83$  con  $J = 8.2\text{ Hz}, 1.1\text{ Hz}$  (dd) aparece la señal del protón axial. Un singulete (s) a  $\delta = 0.99\text{ ppm}$ , que integra para tres protones corresponde a los sustituyentes del  $\text{C}_{20}$ .

En  $\delta = 1.85$  aparece la señal (t) del protón intercambiable con  $\text{D}_2\text{O}$  del alcohol primario.

En la espectrometría de masas (espectro N°4), y en la tabla N°4 se presentan los datos de fragmentación de la molécula. Aunque con la información disponible no hay manera de asegurar que las estructuras son ciertas, esto permite explicar los fragmentos obtenidos de una manera más simple y secuencial.

La 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona presenta una fragmentación atípica de alcoholes. No aparece el pico  $\text{M}^+ - 2$  ni el pico  $\text{M}^+ - 18$ , aunque si lo hace el pico  $\text{M}^+ - 17$ , ya que posiblemente se estabiliza la carga por la pérdida del grupo OH por conjugación con el doble enlace  $\text{C}_3 = \text{C}_4$ .

La fragmentación de la molécula produce el pico  $\text{M}^+ - 30$ , que se produce por la pérdida del éter que constituye el heterobiciclo en el anillo A

de la molécula.

Como es de esperar, la molécula pierde la función butenólido por la ruptura del enlace  $C_9-C_{11}$ . Finalmente el anillo B se fragmenta y el anillo A se aromatiza lo que permite explicar la presencia del pico  $m/z$  91 con abundancia relativa de 59.4, señal muy poco frecuente en espectrometría de masas de diterpenos. El ion molecular de este diterpeno aparece en  $m/z$  332

El análisis elemental de la breviflorina es el siguiente.

	Calculado para $C_{20}H_{28}O_4$	Encontrado
C:	72.27	72.26
H:	8.43	8.44
O:	19.28	19.30

Producto de hidrogenación de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nido-relactona.

La reacción efectuada se muestra en la figura 10.

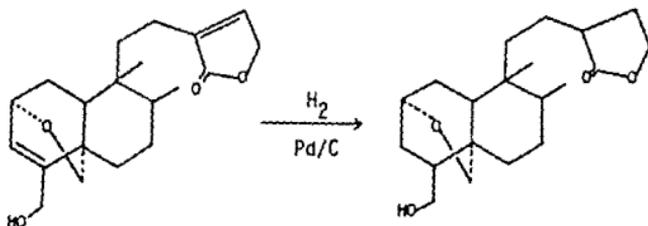


Fig. 10. Hidrogenación catalítica de la 18-hidroxi-2,19 epoxibiciclo nido-relactona.

El espectro de IR (espectro N°5) muestra las mismas bandas de absorción que la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nido-relactona sólo que desaparecen las características de dobles enlaces  $C=C$  en  $3000$  y en  $1600\text{ cm}^{-1}$ . A parece un ligero desplazamiento de  $10\text{ cm}^{-1}$  del grupo carbonilo, y una segunda banda debida a la resonancia de Fermi a  $1725\text{ cm}^{-1}$ , cuya intensidad se ve disminuida cuando se corre el espectro empleando ciclohexano como disolvente.

El espectro de RMP (espectro N°6) se complica bastante, el multiplete (m) que para la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nido-relactona aparece a  $\delta = 7.0\delta$  y el dt que se encuentra en  $\delta = 6.25$  desaparecen para pro-

ducir señales nuevas en el campo alto. El heterobiciclo permanece intacto ya que el sistema AB que producen los protones que sustituyen en  $C_{19}$  producen las señales esperadas en  $\delta = 4.28$  y en  $\delta = 3.70$ . Por otra parte aparece un grupo de señales propias de la  $\alpha$ -etil- $\gamma$ -butirolactona.

En  $\delta = 0.94$  (s) aparece la señal de los tres protones que sustituyen en  $C_{20}$ . En  $\delta = 0.82$  (d) con  $J = 5$  Hz que integra para tres protones, aparecen los del metilo en  $C_{17}$ .

El espectro de masas del producto de hidrogenación (espectro N°7) muestra el ion molecular ( $M^+$ ) a  $m/z$  336 que concuerda para la adición de cuatro protones a la molécula original. La descripción de los fragmentos aparecen en la tabla 4'. En este se tiene el pico  $M^+ - 2$ , característico de alcoholes primarios, siguiendo hacia la pérdida del éter que forma el biciclo de la molécula y la pérdida de la cadena que contiene la función butenólido por la fractura del enlace  $C_9 - C_{11}$ .

El pico en  $m/z$  91 aparece nuevamente con poca intensidad. En  $m/z$  84 aparece un fragmento cuyo peso molecular corresponde al anillo A sin sustituyentes.

Tratamiento de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona con ácido trifluoro acético (TFA).

A los cinco minutos de iniciada la reacción sólo existe un desplazamiento de las señales ubicadas entre  $\delta = 4$  y  $\delta = 7.5$ , debido a la protonación de la molécula.

A los 60 minutos de iniciada la reacción aparece un equilibrio entre los productos indicados en la figura 11.

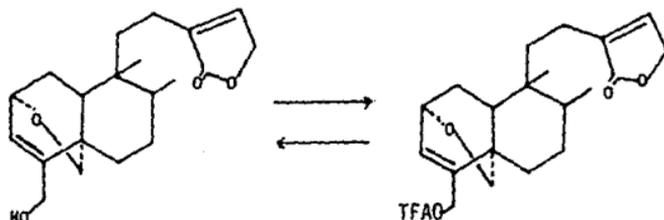


Fig. 11. Tratamiento de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona con TFA durante 60 minutos.

Tabla N° 2. Espectro de IR de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

Número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ),	Función relacionada.
3609	Tensión O-H (m)
3036-3007	Tensión C-H de olefina (b)
2960	Tensión asimétrica del metilo (i)
2867	Vibración de tensión simétrica del metileno (m)
1753	Tensión del carbonilo de lactona de cinco miembros $\alpha, \beta$ -insaturada (i)
1645	Vibración de alargamiento C=C (b)
1460	Vibración de flexión $\text{CH}_2$ (m)
1387	Vibración de flexión simétrica $\text{CH}_3$ (b)
1349	Vibración del O-H (confirma alcohol primario).
1210	Alargamiento $\text{CC}(=\text{O})-\text{O}$ (característico de ésteres conjugados (m)
1133	Tensión simétrica C-O-C (m)
1070	Vibración de la tensión asimétrica C-O-C (m)
1052	Vibración de tensión C-O de alcoholes primarios (m)
939	Flexión C-H fuera del plano (b)
829	Vibración de tensión $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ (m)
750	Flexión C-H fuera del plano (i)

Tabla N°3. Espectro de  $^{13}\text{C}$  de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

Atomo de carbono	Altura	( $\delta$ )	Desplazamiento (Hz)	Multiplicidad
C <sub>1</sub>	42.15	37.07	741.41	t
C <sub>2</sub>	79.88	67.03	1340.84	d
C <sub>3</sub>	76.01	124.96	2499.27	d
C <sub>4</sub>	51.83	134.81	2696.26	s
C <sub>5</sub>	67.39	39.23	748.62	s
C <sub>6</sub>	52.16	19.20	384.19	t
C <sub>7</sub>	50.61	29.28	585.76	t
C <sub>8</sub>	67.59	36.76	735.34	d
C <sub>9</sub>	74.23	39.11	782.29	s
C <sub>10</sub>	58.15	38.62	772.47	d
C <sub>11</sub>	51.44	27.00	540.02	t
C <sub>12</sub>	48.00	27.30	546.19	t
C <sub>13</sub>	51.18	151.89	3037.99	s
C <sub>14</sub>	99.99	143.78	2875.78	d
C <sub>15</sub>	74.77	70.21	1404.71	t
C <sub>16</sub>	18.78	174.34	3486.97	s
C <sub>17</sub>	48.91	15.67	313.48	q
C <sub>18</sub>	51.36	67.76	1355.34	t
C <sub>19</sub>	66.65	60.59	1211.33	t
C <sub>20</sub>	41.96	16.36	327.39	q

Tabla N°4. Espectrometría de masas de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo  
nidorelactona.

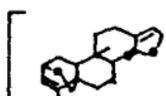
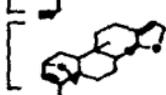
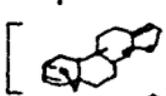
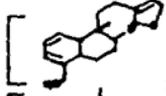
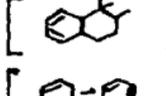
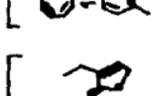
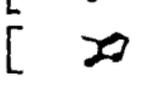
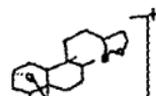
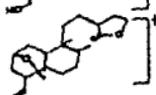
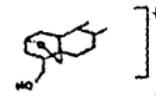
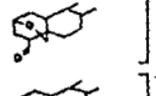
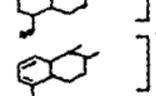
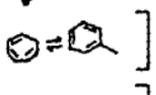
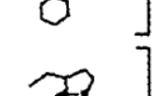
ION	m/z	Abundancia relativa	Fórmula mínima	Estructura propuesta
$M^+$	332	3.2	$C_{20}H_{28}O_4$	
$M^+ + 1$	333	0.7	$C_{20}H_{28}O_4$	
$M^+ - 17$	315	0.4	$C_{20}H_{27}O_3$	
$M^+ - 31$	301	0.1	$C_{19}H_{25}O_3$	
$M^+ - 30$	302	0.2	$C_{19}H_{26}O_3$	
$M^+ - 159$	173	100.0	$C_{13}H_{17}$	
$M^+ - 241$	91	59.4	$C_7H_7$	
$M^+ - 221$	111	12.1	$C_6H_7O_2$	
$M^+ - 235$	97	6.9	$C_5H_5O_2$	

Tabla N°4'. Espectrometría de masas de la 18-hidroxi-3,4,13,14 tetrahidro-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

ION	m/z	Abundancia relativa	Fórmula mínima	Estructura propuesta
$M^+$	336	13.0	$C_{20}H_{32}O_4$	
$M^+ + 1$	337	0.7	$C_{20}H_{32}O_4$	
$M^+ - 2$	334	1.3	$C_{20}H_{30}O_4$	
$M^+ - 114$	222	0.4	$C_{14}H_{22}O_2$	
$M^+ - 112$	220	0.4	$C_{14}H_{20}O_2$	
$M^+ - 146$	190	0.1	$C_{13}H_{18}O$	
$M^+ - 150$	186	0.7	$C_{13}H_{14}O$	
$M^+ - 245$	91	0.1	$C_7H_7$	
$M^+ - 252$	84	100.0	$C_6H_{12}$	
$M^+ - 223$	113	0.3	$C_6H_9O_2$	

Transcurridos 25 días aparece una mezcla con los productos mostrados en la figura 12.

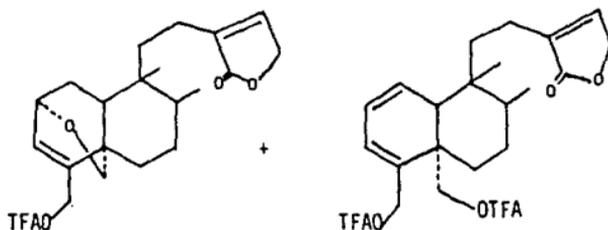


Fig. 12. Tratamiento de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona con TFA durante 25 días.

Estos productos se pueden fundamentar en las señales que aparecen entre  $\delta = 5.5$  y  $\delta = 6$  (espectros N°7', 8,9).

La lactona es resistente a este tratamiento ya que las señales de (m) a  $\delta = 7.5$  y el (m) en  $\delta = 4.85$  así lo indican.

Oxidación de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

A pesar de haberse empleado un oxidante en extremo suave (cromato de piridinio), el derivado de la nidorelactona se mostró muy labil a este proceso.

Dentro del primer minuto de reacción aparecían por lo menos ocho productos. El único producto aislado y caracterizado adecuadamente es el aldehído proveniente de la oxidación del alcohol primario.

La señal en  $\delta = 9.70$  (s) que integra para un protón corresponde al protón aldehídico que sustituye en  $C_{18}$ . En  $\delta = 7.01$  (m) se tiene la señal para el protón que sustituye en  $C_{14}$ . En  $\delta = 6.30$  (dd) con  $J=5.1, 1.1$  Hz aparece la señal que integra para un protón que corresponde al sustituyente en  $C_3$ .

El protón que sustituye en  $C_2$  con  $J=9.1, 1.2$  con multiplicidad dt aparece en  $\delta = 4.13$ . Un par de protones producen un multiplete en  $\delta = 4.73$  y corresponde a los sustituyentes en  $C_{15}$ .

En  $\delta = 3.70$  y  $\delta = 2.98$ , aparecen las señales de los protones que sustituyen en  $C_{19}$ , las señales integran respectivamente para un protón, con  $J= 8.2$  Hz para la primera señal, y  $J=8.2, 1.1$  Hz para el dd de la segunda señal.

En  $\delta = 0.99$  aparece un singlete que integra para tres protones y corresponde al metilo en  $C_{20}$ . En  $\delta = 0.85$  ppm aparece un doblete con  $J = 5$  Hz, que integra para tres protones asignados al metilo en  $C_{17}$ . El espectro correspondiente a esta descripción es el espectro N°10.

La pérdida del sistema AB a  $\delta = 2.98$  y a  $\delta = 4.13$  acoplados con  $J = 8.2$  Hz en el espectro N°11 de un producto no purificado, junto con la aparición de un segundo protón aldehídico en  $\delta = 9.2$  (t) con constantes de acoplamiento del orden de 1 Hz, parece indicar la apertura del bíciclo y la oxidación del alcohol resultante.

Un tercer producto sometido a IR mostró señales características de hemiacetales cíclicos a  $1054$ ,  $1030$  y  $1010$   $\text{cm}^{-1}$ , además de una banda intensa en  $817$   $\text{cm}^{-1}$ .

El espectro N°12 muestra un producto que podría corresponder con un ácido carboxílico originado por la oxidación posterior de los hemiacetales mencionados.

La labilidad de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona ante el oxidante nos lleva a proponer dos rutas alternativas o simultáneas de oxidación, que se expresan en las figuras 13 y 14; que permiten racionalizar la gran cantidad de productos obtenidos en esta reacción según los cromatogramas de HPLC.

En la figura N°13 existe la oxidación hacia el aldehído en el  $C_{18}$ , seguido de la apertura del bíciclo y la formación de los hemiacetales mencionados. En el esquema presentado en la figura N°14 se propone la oxidación del  $C_2$  y la posterior apertura del bíciclo.

Difracción de rayos X de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

La 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona cristalizó de acetato de etilo en red ortorrómbica con grupo espacial  $P2_12_12_1$  con  $Z = 4$ ;  $a = 8.868$  (5) Å,  $b = 15.652$  (8) Å y  $c = 16.454$  (8) Å; con una densidad calculada de  $1.246$   $\text{g cm}^{-3}$ .

Las dimensiones del cristal empleado son las siguientes:  $0.32 \times 0.44 \times 0.4$  mm. La longitud de onda utilizada es la correspondiente a la línea  $\text{MoK}\alpha$ . El cristal no mostró descomposición durante el análisis.

Las reflexiones utilizadas fueron 1142/1366, teniéndose 224 reflexiones no observadas. La estructura se resolvió empleando el sistema Shelxtl (49).

El resto de los datos cristalográficos se encuentran en las tablas 5 a 9 que se presentan a continuación.

## 18-acetoxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

El producto marcado como SOG 3 presenta un espectro de RMP muy semejante al de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona (espectro 13).

Un multiplete centrado en  $\delta = 4.45$  con  $J = 11.5$  Hz; asignado al protón que sustituye en  $C_2$ , un dt en  $\delta = 6.25$  con  $J = 5.5, 1.6$  Hz asignado al protón que sustituye en  $C_3$ . En  $\delta = 7.06$  con  $J = 4$  Hz y multiplicidad (m), se encuentra el protón que sustituye en  $C_{14}$ ; el multiplete en  $\delta = 4.74$ , con  $J = 3$  Hz corresponde a los protones que sustituyen en  $C_{15}$ . En  $\delta = 4.65$  aparece un doblete que corresponde a los dos protones que sustituyen en  $C_{18}$  con  $J = 1.6$  Hz y que en la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona se encuentran en  $\delta = 4.24$ . El sistema AB que producen los protones que sustituyen en  $C_{19}$  es muy claro: un doblete en  $\delta = 4.10$ , con  $J = 8.2$  Hz y un doble de dobles en  $\delta = 2.83$  con  $J = 8.2, 1.1$  Hz (protones axial y ecuatorial respectivamente). En  $\delta = 0.99$  aparece la señal que integra para tres protones (s) que corresponde al metilo en  $C_{20}$ , y un doble en  $\delta = 0.86$  con  $J = 6$  Hz que corresponde al metilo en  $C_{17}$ .

En  $\delta = 2.09$  aparece un singulete que integra para tres protones asignables al metilo de un acetato, lo que vinculado al desplazamiento de los protones en  $C_{18}$  sugiere la 18-acetoxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

El espectro de IR refuerza esta idea (espectro N°14), aparece una banda intensa en  $1238 \text{ cm}^{-1}$ , característica de los ésteres de acetato, en tanto que desaparecen las bandas a  $3609 \text{ cm}^{-1}$  (tensión O-H) y a  $1349 \text{ cm}^{-1}$  (característica de la vibración del O-H de alcohol primario). Hay un ligero desplazamiento del carbonilo a  $1749 \text{ cm}^{-1}$  y su intensidad se incrementa notablemente.

En EM el ion  $M^+$  aparece a  $m/z$  374, peso molecular adecuado para la estructura propuesta. Su p.f. es de  $112^\circ\text{C}$ .

Fig. 13. Oxidación de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidoralalactona.

\*Productos de los que se tiene evidencia espectroscópica.

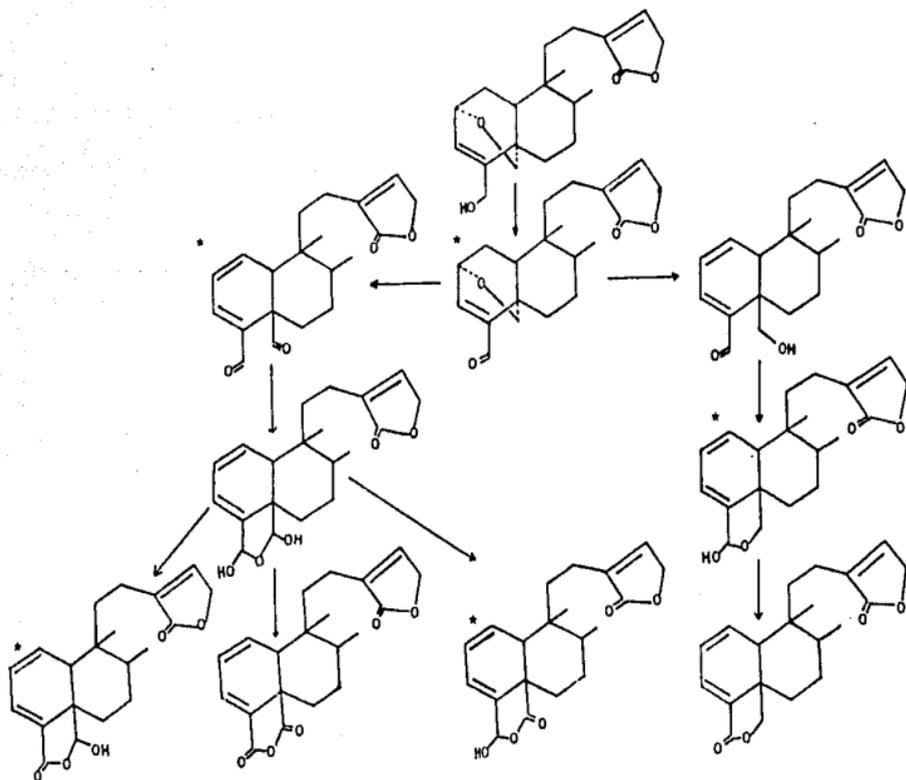
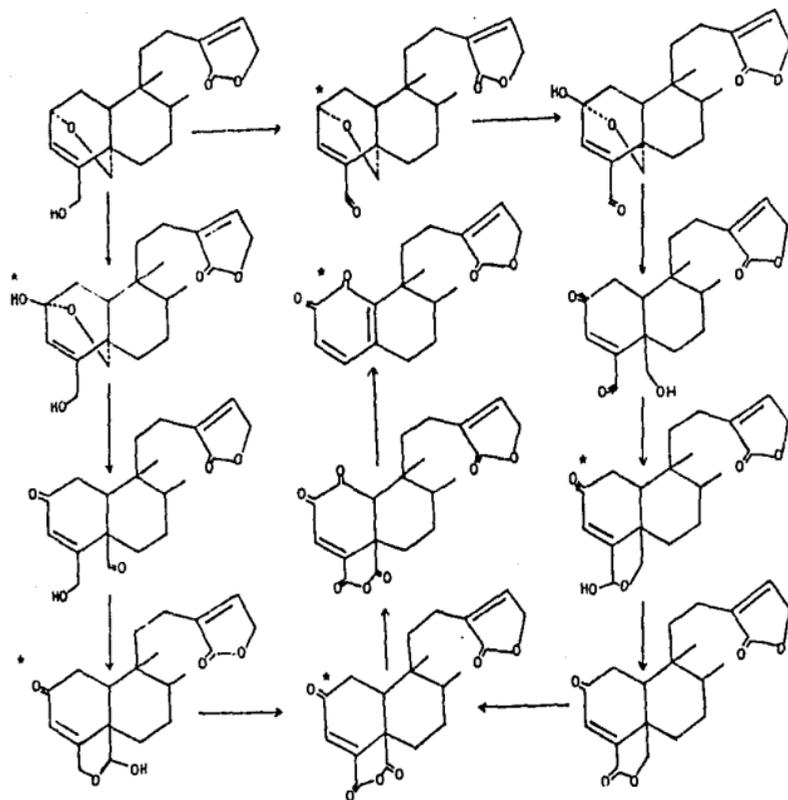


Fig. 14. Oxidación de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidoralalactona.



\* Productos de los que se tiene evidencia espectroscópica.

Tabla N°5. Coordenadas atómicas ( $\times 10$ ) y factores térmicos  
( $A \times 10$ ). (Difracción de rayos X).

átomo	x	y	z	U
O (1)	2057(4)	-242(2)	8107(2)	59(1) <sup>*</sup>
O (2)	2811(5)	-3179(2)	12917(2)	69(1) <sup>*</sup>
O (3)	221(4)	-2445(2)	12484(2)	69(1) <sup>*</sup>
O (4)	6767(5)	1927(2)	8950(2)	72(1) <sup>*</sup>
C (1)	3632(6)	-964(2)	9293(2)	50(1) <sup>*</sup>
C (2)	3958(7)	-483(3)	8421(2)	55(2) <sup>*</sup>
C (3)	5085(6)	320(3)	8593(2)	52(1) <sup>*</sup>
C (4)	4237(6)	836(2)	9115(2)	44(1) <sup>*</sup>
C (5)	2270(5)	508(2)	9401(2)	40(1) <sup>*</sup>
C (6)	1199(7)	1130(2)	9961(3)	54(2) <sup>*</sup>
C (7)	-550(6)	728(3)	10380(3)	55(2) <sup>*</sup>
C (8)	6(6)	-65(2)	10854(2)	48(1) <sup>*</sup>
C (9)	904(5)	-770(2)	10300(2)	42(1) <sup>*</sup>
C (10)	2646(5)	-365(2)	9830(2)	40(1) <sup>*</sup>
C (11)	1643(6)	-1535(2)	10801(2)	48(1) <sup>*</sup>
C (12)	3010(6)	-1333(2)	11507(2)	58(2) <sup>*</sup>
C (13)	3479(6)	-2092(2)	12021(2)	45(1) <sup>*</sup>
C (14)	5155(7)	-2445(2)	12214(2)	54(1) <sup>*</sup>
C (15)	4889(7)	-3140(3)	12799(3)	68(2) <sup>*</sup>
C (16)	1967(7)	-2552(2)	12471(2)	52(1) <sup>*</sup>
C (17)	-1714(6)	-360(3)	11365(3)	72(2) <sup>*</sup>
C (18)	5042(7)	1689(2)	9371(3)	58(2) <sup>*</sup>
C (19)	1135(6)	376(3)	8603(2)	53(1) <sup>*</sup>
C (20)	-687(6)	-1142(3)	9734(3)	61(2) <sup>*</sup>

<sup>\*</sup> El equivalente isotrópico U se define como un tercio de la directriz del tensor ortogonalizado U.

Tabla N°6. Longitudes de enlace (Å). (Difracción de rayos X).

O(1)-C(2)	1.451(5)	O(1)-C(19)	1.422(5)
O(2)-C(15)	1.441(6)	O(2)-C(16)	1.356(5)
O(3)-C(1E)	1.211(5)	O(4)-C(1E)	1.419(6)
C(1)-C(2)	1.508(5)	C(1)-C(10)	1.550(5)
C(2)-C(3)	1.503(6)	C(3)-C(4)	1.314(5)
C(4)-C(5)	1.519(5)	C(4)-C(18)	1.508(5)
C(5)-C(6)	1.529(5)	C(5)-C(10)	1.560(5)
C(5)-C(19)	1.541(5)	C(6)-C(7)	1.522(6)
C(7)-C(8)	1.515(5)	C(8)-C(9)	1.558(5)
C(8)-C(17)	1.521(6)	C(9)-C(10)	1.559(5)
C(9)-C(11)	1.541(5)	C(9)-C(20)	1.550(6)
C(11)-C(12)	1.526(6)	C(12)-C(13)	1.494(5)
C(13)-C(14)	1.316(6)	C(13)-C(16)	1.465(6)
C(14)-C(15)	1.464(6)		

Tabla N°7. Angulos de enlace (Deg). (Difracción de rayos X).

C(2)-O(1)-C(19)	111.7(3)	C(15)-O(2)-C(16)	108.6(3)
C(2)-C(1)-C(10)	109.3(3)	O(1)-C(2)-C(1)	107.2(3)
O(1)-C(2)-C(3)	108.6(3)	C(1)-C(2)-C(3)	109.4(3)
C(2)-C(3)-C(4)	114.1(4)	C(3)-C(4)-C(5)	112.9(3)
C(3)-C(4)-C(18)	124.3(4)	C(5)-C(4)-C(18)	122.7(3)
C(4)-C(5)-C(6)	113.6(3)	C(4)-C(5)-C(10)	106.8(3)
C(6)-C(5)-C(10)	111.4(3)	C(4)-C(5)-C(19)	103.4(3)
C(6)-C(5)-C(19)	110.9(3)	C(10)-C(5)-C(19)	110.5(3)
C(5)-C(6)-C(7)	112.9(3)	C(6)-C(7)-C(8)	111.9(3)

Tabla N°7. Angulos de enlace (Deg) cent. (Difracción de rayos X).

C(7)-C(8)-C(9)	112.2(3)	C(7)-C(8)-C(17)	109.7(3)
C(9)-C(8)-C(17)	114.6(3)	C(8)-C(9)-C(10)	107.9(3)
C(8)-C(9)-C(11)	111.5(3)	C(10)-C(9)-C(11)	109.2(3)
C(8)-C(9)-C(20)	109.8(3)	C(10)-C(9)-C(20)	113.3(3)
C(11)-C(9)-C(20)	105.1(3)	C(1)-C(10)-C(5)	107.6(3)
C(1)-C(10)-C(9)	114.8(3)	C(5)-C(10)-C(9)	117.0(3)
C(9)-C(11)-C(12)	116.6(3)	C(11)-C(12)-C(13)	113.5(3)
C(12)-C(13)-C(14)	131.3(4)	C(12)-C(13)-C(16)	121.6(4)
C(14)-C(13)-C(16)	107.0(3)	C(13)-C(14)-C(15)	111.2(4)
O(2)-C(15)-C(14)	104.1(4)	O(2)-C(16)-O(3)	120.9(4)
O(2)-C(16)-C(13)	109.1(4)	O(3)-C(16)-C(13)	130.0(4)
O(4)-C(18)-C(4)	113.8(3)	O(1)-C(19)-C(5)	110.9(3)

Tabla N°8. Factores anisotrópicos térmicos ( $\text{Å}^2 \times 10$ ). (Rayos X).

átomo	U	U	U	U	U	U
O(1)	65(2)	60(2)	52(2)	-10(1)	-9(2)	2(2)
O(2)	84(2)	60(2)	62(2)	20(2)	8(2)	0(2)
O(3)	55(2)	81(2)	72(2)	0(2)	12(2)	-4(2)
O(4)	62(2)	75(2)	78(2)	16(2)	-9(2)	-22(2)
C(1)	51(3)	42(2)	56(3)	-10(2)	2(2)	2(2)
C(2)	62(3)	53(3)	52(3)	-9(2)	8(2)	9(2)
C(3)	45(2)	57(3)	54(2)	6(2)	-0(2)	0(2)
C(4)	48(2)	36(2)	47(2)	0(2)	-2(2)	0(2)
C(5)	48(2)	31(2)	41(2)	-3(2)	-1(2)	6(2)
C(6)	61(3)	40(2)	62(3)	3(2)	1(3)	8(2)
C(7)	57(3)	51(2)	57(3)	-2(2)	2(2)	14(2)

Tabla N°8. Factores anisotrópicos térmicos ( $A \times 10$ ).  
(Difracción de rayos X).

átomo	U	U	U	U	U	U
C(8)	45(2)	47(2)	51(2)	1(2)	3(2)	-1(2)
C(9)	3E(2)	44(2)	45(2)	-5(2)	-4(2)	-3(2)
C(10)	41(2)	37(2)	43(2)	-3(2)	-4(2)	3(2)
C(11)	50(2)	40(2)	54(2)	-8(2)	-5(2)	-7(2)
C(12)	56(3)	51(2)	66(3)	11(2)	-10(3)	-12(2)
C(13)	51(3)	41(2)	43(2)	4(2)	-4(2)	2(2)
C(14)	59(3)	57(2)	46(2)	7(2)	7(2)	1(2)
C(15)	76(3)	56(2)	72(3)	-1(2)	0(3)	20(3)
C(16)	64(3)	46(2)	47(2)	-6(2)	6(2)	-2(2)
C(17)	65(3)	77(3)	73(3)	8(3)	17(3)	7(3)
C(18)	66(3)	52(2)	57(3)	10(2)	-6(2)	-6(3)
C(19)	54(3)	53(2)	52(2)	2(2)	1(2)	6(2)
C(20)	59(3)	60(3)	63(3)	-3(2)	-3(2)	-12(2)

El exponente; factor anisotrópico térmico toma la forma:

$$-2 (ha^*U + kb^*U + \dots + 2hka^*b^*U)$$

Tabla N°9. Coordenadas de los átomos de hidrógeno ( $\times 10$ ) y sus factores térmicos ( $A \times 10$ ).

átomo	x	y	z	U
H(4)	6250(63)	2090(24)	848E(22)	60
H(1a)	2807	-1448	9102	60
H(1b)	4860	-1157	9413	60
H(2)	4667	-827	8039	60
H(3)	6317	446	8345	60

Tabla N°9.

átomo	x	y	z	U
H(6a)	758	1607	9644	60
H(6b)	2091	1326	10370	60
H(7a)	-1495	575	9976	60
H(7b)	-1170	1137	10747	60
H(8)	1035	72	11227	60
H(10)	3505	-263	10279	60
H(11a)	2322	-1911	10437	60
H(11b)	527	-1824	11020	60
H(12a)	2404	-908	11843	60
H(12b)	4203	-1110	11289	60
H(14)	6392	-2269	11999	60
H(15a)	5540	-3015	13301	60
H(15b)	5372	-3669	12583	60
H(17a)	-1353	-861	11666	60
H(17b)	-2793	-492	11015	60
H(17c)	-2062	85	11735	60
H(18a)	5337	1665	9942	60
H(18b)	4075	2118	9275	60
H(19a)	1079	907	8313	60
H(19b)	-162	189	8728	60
H(20a)	-1692	-724	9653	60
H(20b)	-1236	-1644	9979	60
H(20c)	-115	-1290	9220	60

BREVIFLONIN

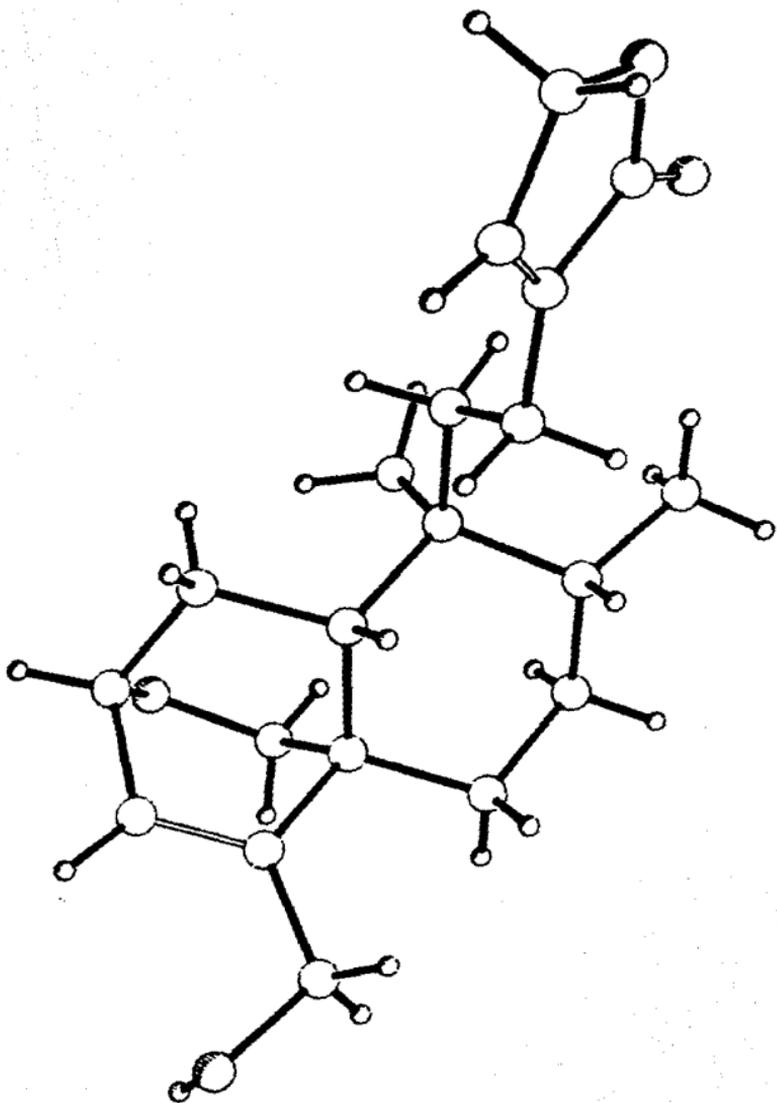


Fig 15 Breviflorina: (18-hidroxi-2,19-epoxi-  
biciclo hidorelectona)  
longitudes de enlace

en Angstroms

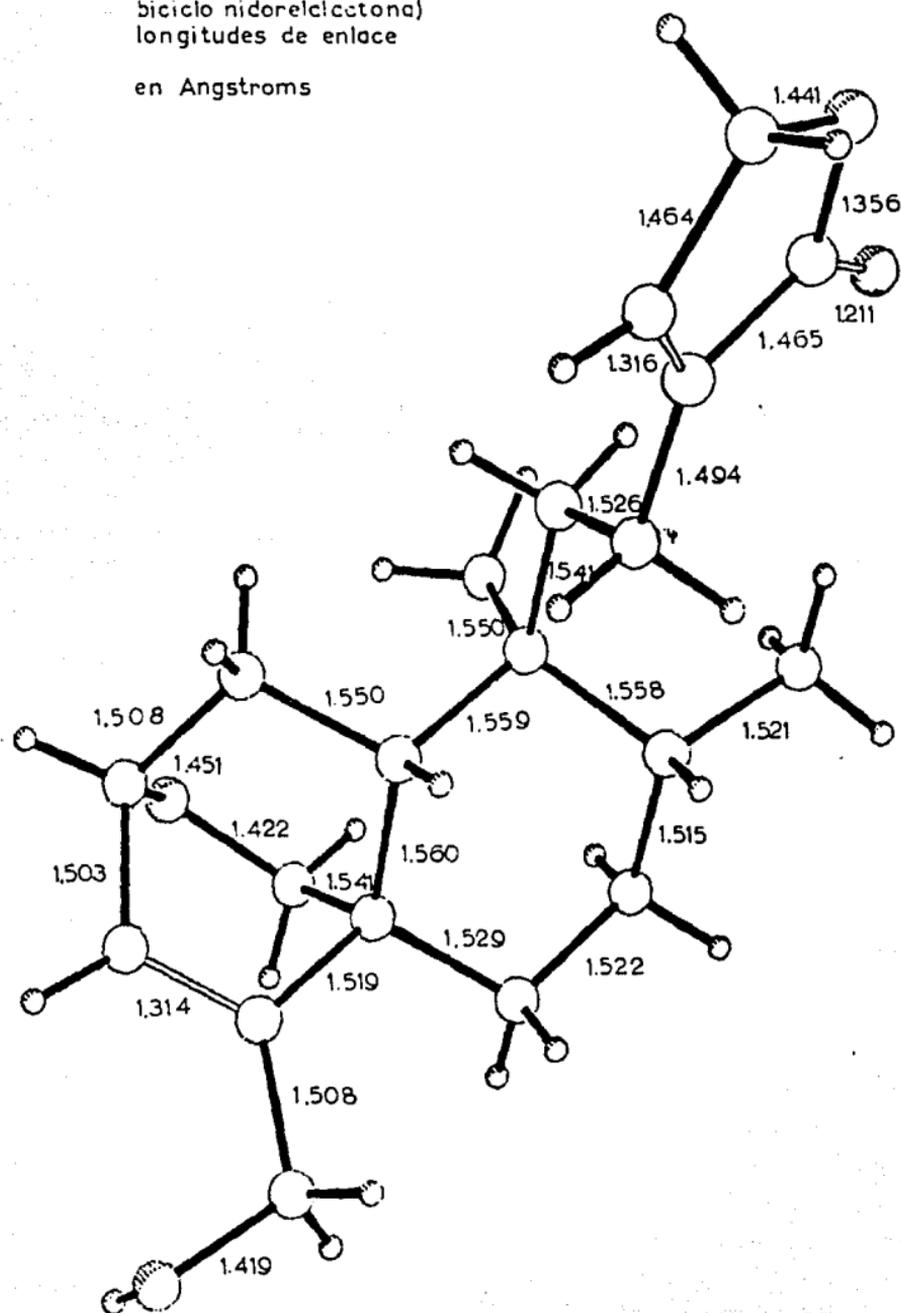
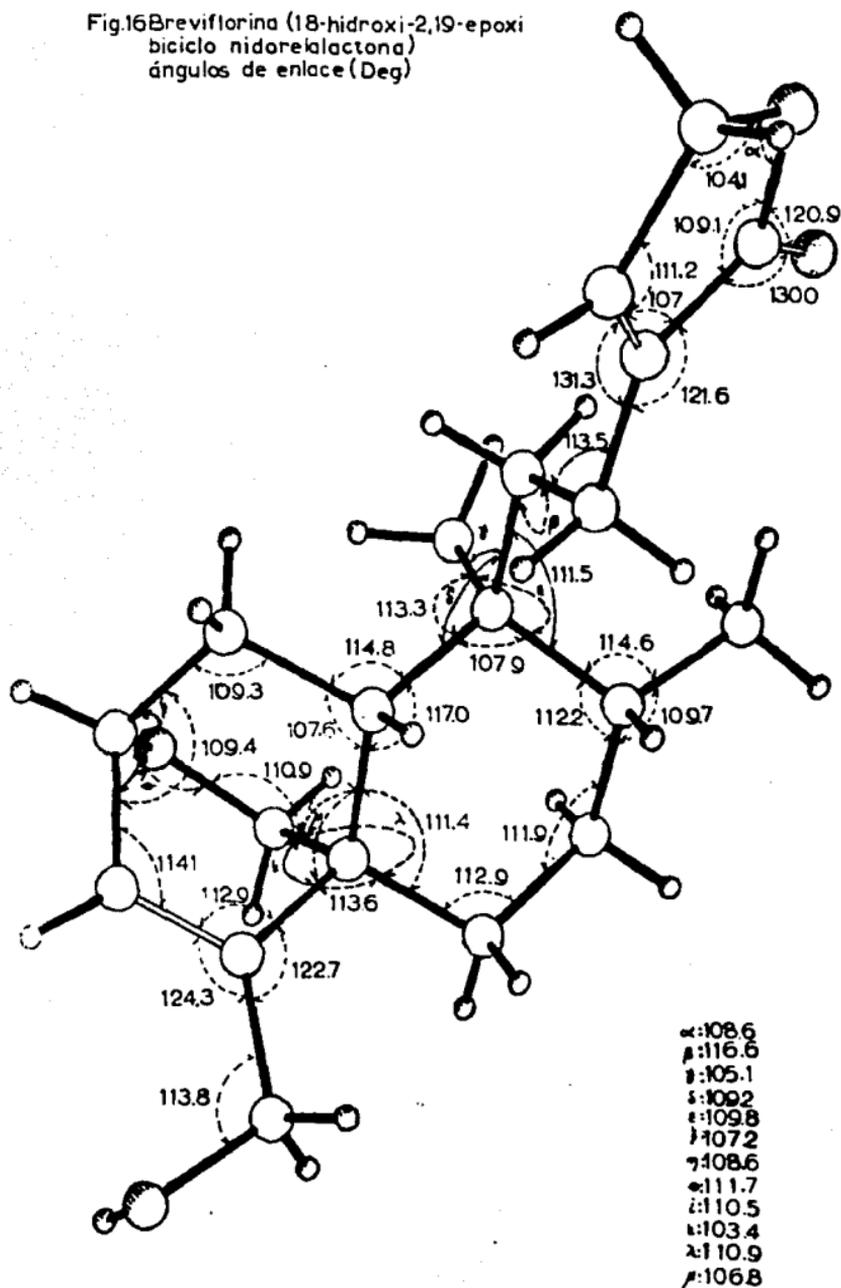


Fig.16 Breviflorina (18-hidroxi-2,19-epoxi  
biciclo nidorelactona)  
ángulos de enlace (Deg)



El espectro de masas del 18-acetoxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona (espectro N°15) es muy parecido al del 18-hidroxi derivado, (como es de esperar), la fragmentación sigue hacia la pérdida del acetato, siguiendo los patrones de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona, apareciendo señales en los mismos valores de m/z.

Por otra parte se acetiló la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona con anhídrido acético en piridina, encontrando que las características del producto obtenido son las mismas que las del producto natural.

Experimento de doble irradiación del 18-acetoxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

El espectro N°16 muestra cuatro espectros, de donde el número 1 corresponde al 18-acetoxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona ya descrito.

Al irradiar en  $\delta = 2.84$  (protón ecuatorial del sistema AB en el C<sub>19</sub>) se produce una simplificación de la señal del protón axial, produciendo una señal sencilla. (Espectro 16.2).

Cuando se irradia el doble de triples en 6.25 ppm se produce la simplificación del multiplete que produce el protón que sustituye en C<sub>7</sub> ( $\delta = 4.35$ ), transformándose en una señal más sencilla que tiende a ser un doble de triples (espectro 16.3). Finalmente la irradiación del protón en C<sub>14</sub> produce la simplificación del multiplete en C<sub>15</sub> a una señal triple, por lo que se puede concluir que los protones son equivalentes. (Espectro 16.4).

Precursor de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

Analizando cuidadosamente el espectro de <sup>13</sup>C de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona (espectro N°2) encontramos que la muestra presenta restos de un compuesto contaminante. En la parte experimental del presente trabajo se comentó el hecho de la difícil purificación del producto de interés debido a la presencia de otro compuesto de polaridad muy semejante; que formaba un halo en la parte inferior de la mancha que correspondía a la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona al revelar en placa fina su desarrollo cromatográfico.

Una señal pequeña en  $\delta = 172.5$  hace pensar en la presencia de un carbono carbonílico contaminante. Así también en  $\delta = 64.0$  aparece una señal que sugiere que el C<sub>19</sub> de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona se ha modificado.

El espectro de RMP del mismo producto ligeramente contaminado con el precursor, mostró una señal incipiente en  $\delta = 2.50$  propia de los pro--

tones metilénicos de un epóxido.

Lamentablemente el proseguir con este análisis de la manera seguida es bastante arriesgado ya que no se cuenta con datos contundentes; son sólo especulaciones.

En el género de las labiadas se han reportado varios diterpenos, salviólidos que presentan la función epóxido en  $C_4-C_{18}$ . En conciencia de que la investigación al respecto debe proseguir hasta obtener datos concluyentes, se propone el producto mostrado en la figura 17 como el probable precursor de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-nidorelactona.

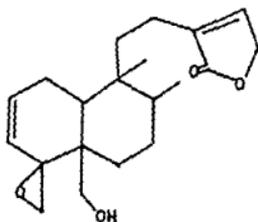


Fig 17. Probable precursor de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

La funcionalidad de esta molécula nos lleva a concluir en una polaridad semejante a la de la molécula de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

La transformación del precursor en el producto final podría efectuarse de la manera mostrada den la figura 18.

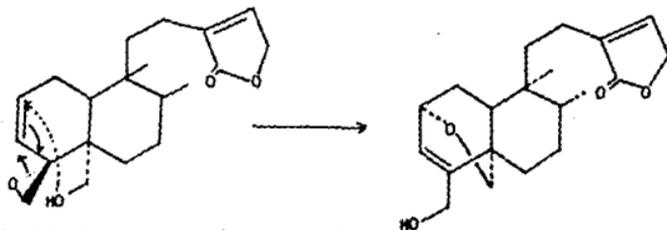


Fig 18. Transformación del posible precursor en el 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona.

Esta transformación se ve favorecida por la estereoquímica relativa propuesta.

Finalmente debe aclararse la configuración del carbono número ocho de la molécula. Bolhman, en la descripción de la nidorelactona la reporta como S (4), pero en este caso; en base a los datos de dicroísmo circular obtenidos de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-nidorelactona por el Dr. Günther Snatzke (tabla No. 10); ya que todos los efectos Cotton son positivos, y en concordancia con los indicios aportados por los estudios de difracción de rayos x, se sabe que en la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo nidorelactona la configuración de dicho carbono es R y no S.

Por razones biosintéticas, en base a productos naturales aislados de otras plantas, se tienen indicios que parecen apoyar los datos anteriores, en el sentido de que la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-8R\*-nidorelactona corresponde a la serie del neoclerodano.

Tabla No. 10. Dicroísmo circular de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-8R\*-nidorelactona. (Conc. 0.9133 mg/g).

$\lambda$ max (nm)	Delta-Epsilon
209.8	4.380
208.0	4.313
197.7	6.153
193.2	6.413
189.5	5.467
242.9	0.150
150.0	0.110

#### Conclusiones.

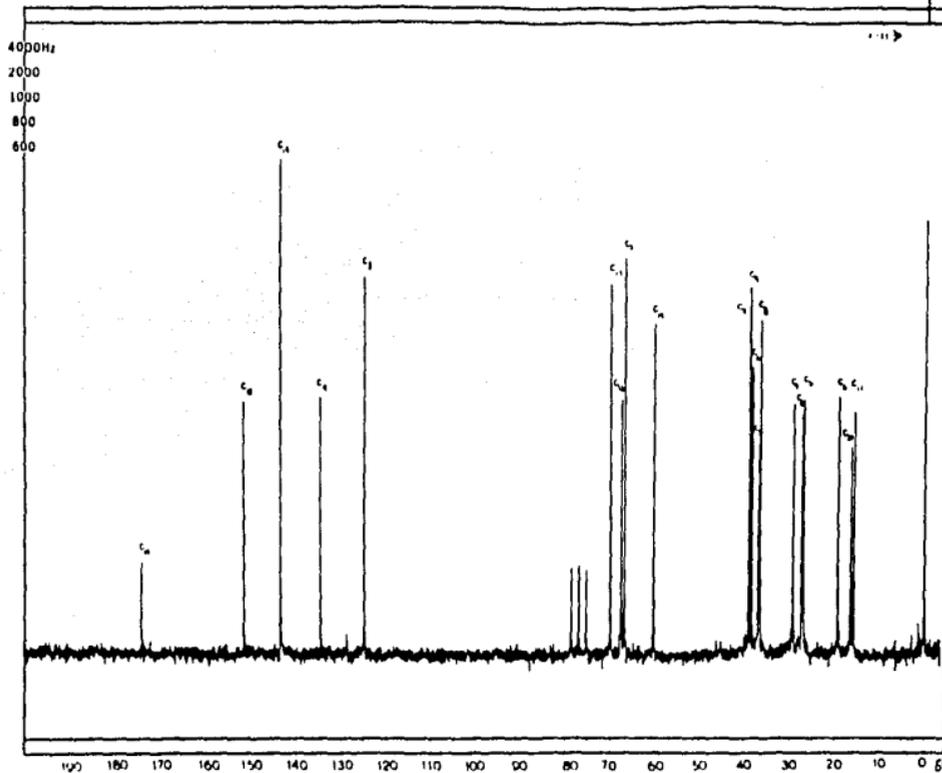
1. Se aislaron, purificaron y caracterizaron dos diterpenos a partir de Salvia breviflora, la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-8R\*-nidorelactona y su derivado 18-acetoxilado, estos productos naturales no han sido descritos con anterioridad.
2. Se obtuvo por primera vez la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-8R\*-nidorelactona en forma cristalina.
3. Se determinó la estereoquímica relativa de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-8R\*-nidorelactona, encontrándose R\* la configuración del carbono ocho.
4. Se determinó la actividad química en algunas condiciones de reacción de la 18-hidroxi-2,19-epoxibiciclo-8R\*-nidorelactona debida al heterobiciclo [2.2.2] que presenta en el anillo A.

**ESTA TESIS DE DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

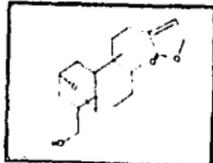
**ANEXOS**



Experiment No. 2



FT 80A SPECTRUM NO. 142M  
 OPERATOR J. GORDON DATE 11/11/71  
 NUCLEUS <sup>13</sup>C FREQUENCY 25.27 MHz  
 SYNTHESIZER SETTING  
 EXPERIMENT NAME 111L  
 FILE NAME 111L 2  
 SAMPLE Grd 500 erg



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL CCl<sub>4</sub>  
 SPIN RATE 5 rps TEMP 0°C  
 INSERT mm

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) 5000 Hz  
 NO. OF TRANSIENTS (NT) 17500  
 ACQUISITION TIME (AT) 1 hr  
 PULSE WIDTH (PW) 6 μsec  
 PULSE DELAY (PD) 2 μsec  
 DATA POINTS (DP) 128

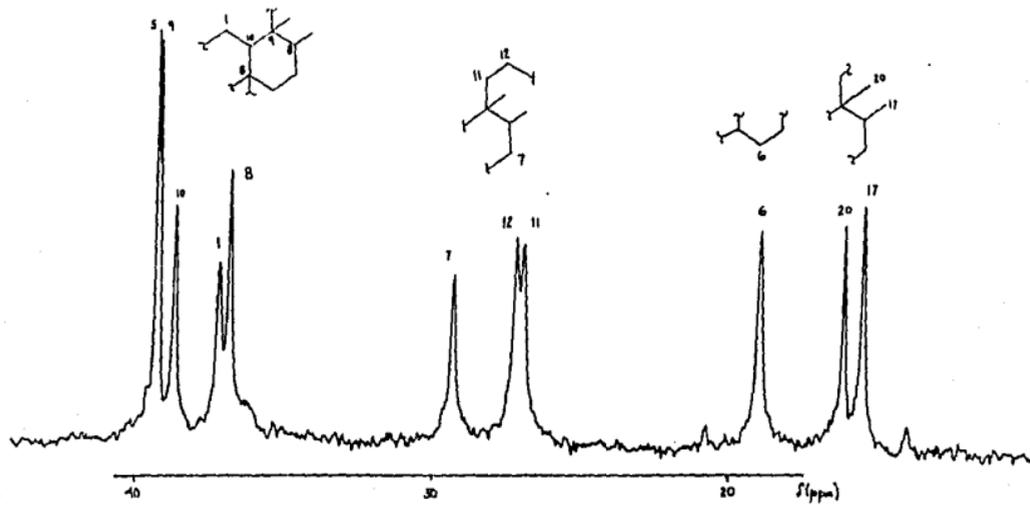
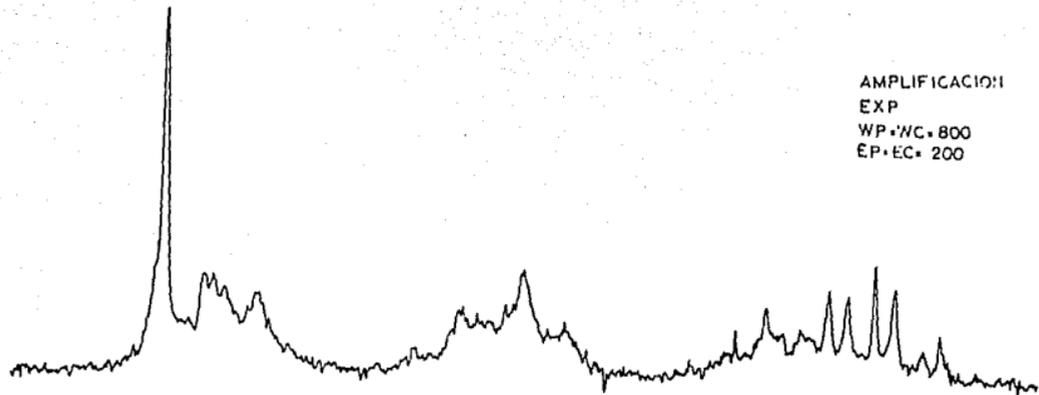
TRANSMITTER OFFSET (TO) 50  
 HIGH FIELD (HF) LOW FIELD  
 RECEIVER GAIN (RG) 7

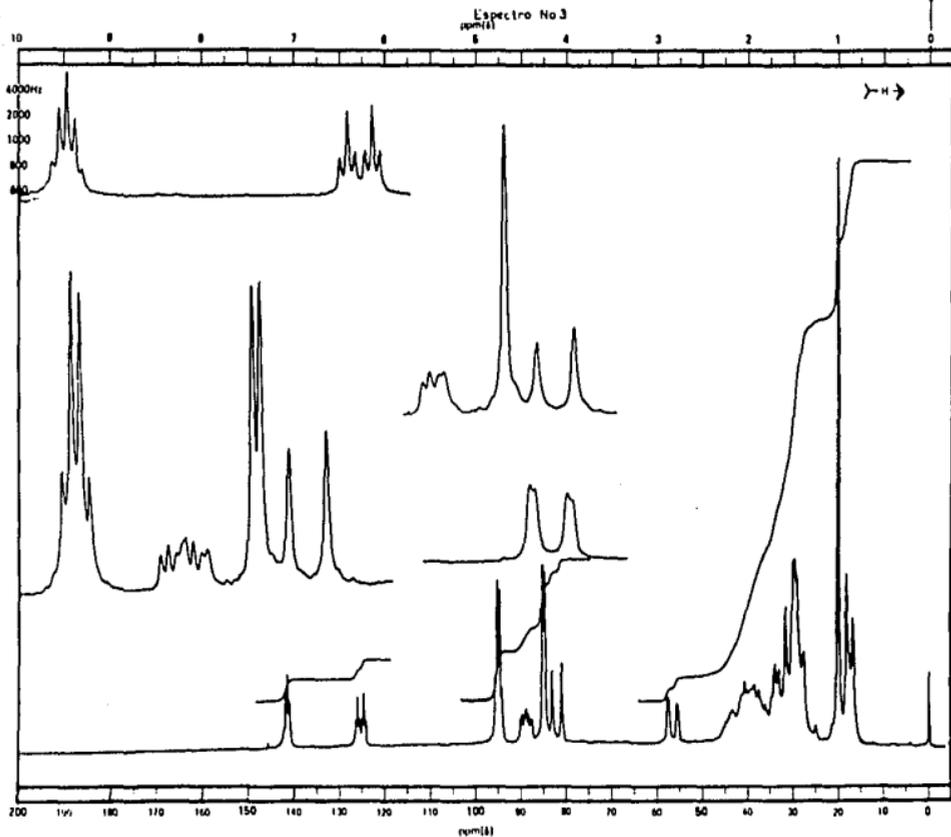
DECOUPLER MODE (DM) 1  
 DECOUPLER OFFSET (DO) 50  
 NOISE BANDWIDTH (NB) 2 kHz  
 ACQUISITION MODE (AM) 04

DISPLAY  
 SENS ENHANCEMENT (SE) 13 μV  
 WIDTH OF PLOT (WP) 4376 Hz  
 END OF PLOT (EP) 375 Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) 4000 Hz  
 END OF CHART (EC) 0 Hz  
 VERTICAL SCALE (VS) 100  
 REFERENCE LINE (RL) TMS

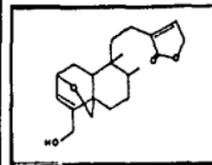


AMPLIFICACION  
EXP  
WP·WC·800  
EP·EC·200





CFT 20  
SPECTRUM NO. 6303  
OPERATOR JCG68023 DATE  
SAMPLE 50G  
TUBE OD 5mm Dia. 10cm



NUCLEI <sup>1</sup>H <sup>13</sup>C <sup>19</sup>F <sup>31</sup>P \_\_\_\_\_  
LOCK INTERNAL TESTERNAI \_\_\_\_\_  
LOCK SIGNAL CDCl<sub>3</sub> \_\_\_\_\_  
SPIN RATE \_\_\_\_\_ rpm TEMP \_\_\_\_\_ °C

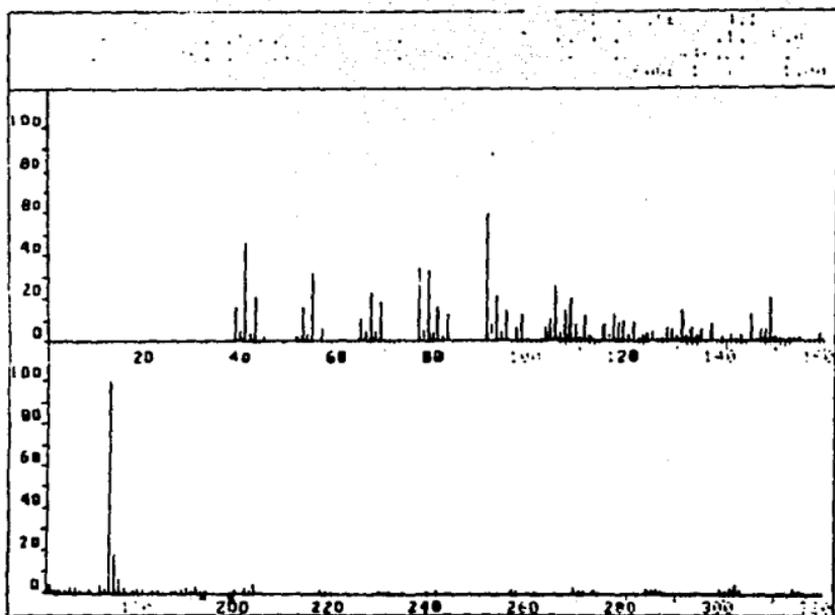
ACQUISITION  
SPECTRAL WIDTH(SW) 1000 Hz  
NO OF TRANSIENTS (NT) 40  
ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_ sec  
PULSE WIDTH (PW) 0 sec  
PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ sec  
DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_

TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_  
HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_

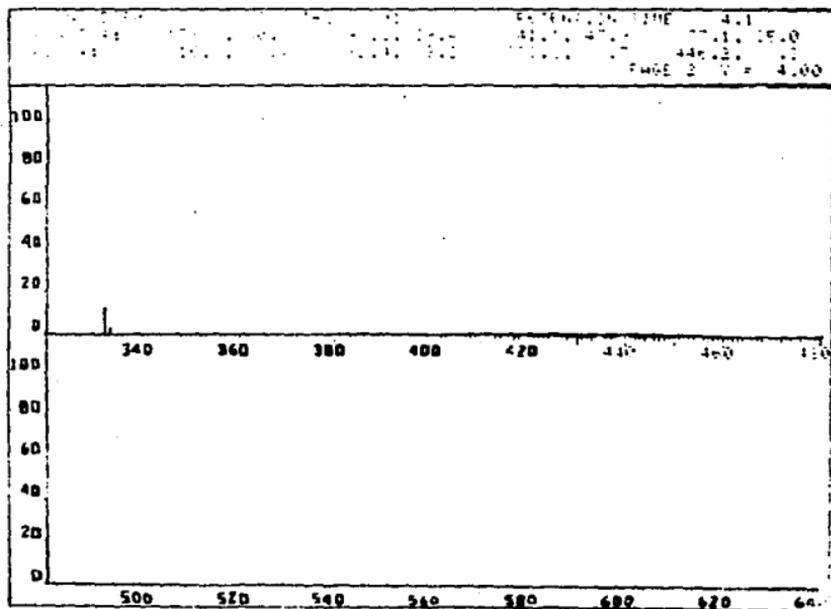
DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_ kHz  
ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_

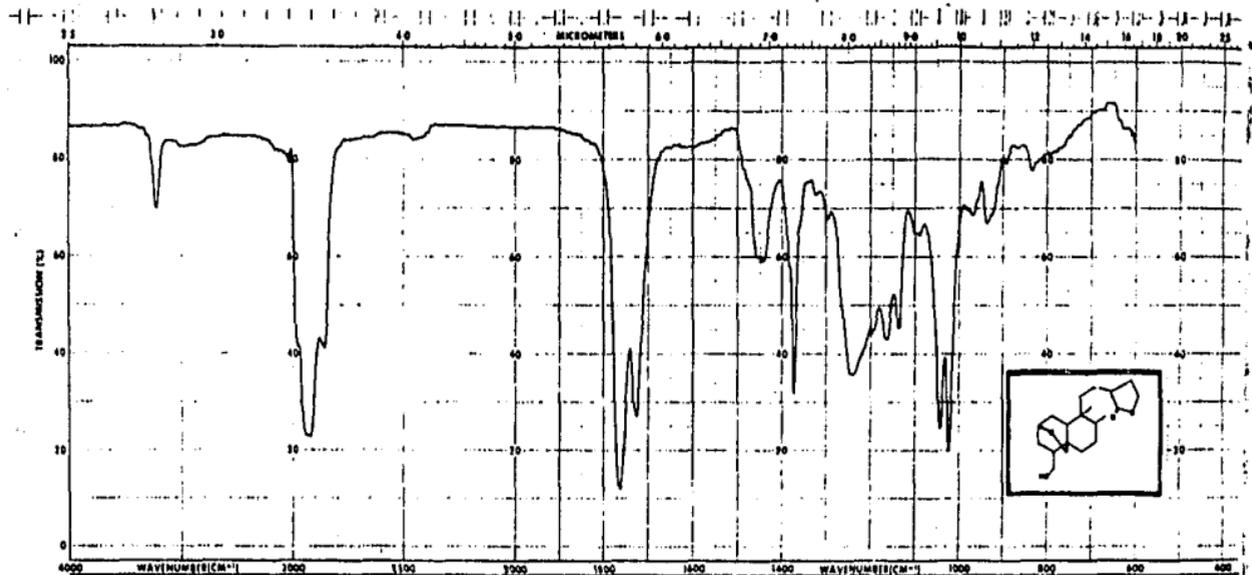
DISPLAY  
SENS ENHANCEMENT (SE) \_\_\_\_\_ sec  
WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_ Hz  
END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_ Hz  
WIDTH OF CHART (WC) 795 Hz  
END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_ Hz  
VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
REFERENCE LINE (RL) TMS

SHIMADZU LAB CO INC

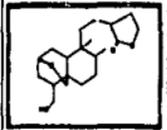


Espectro No.4.

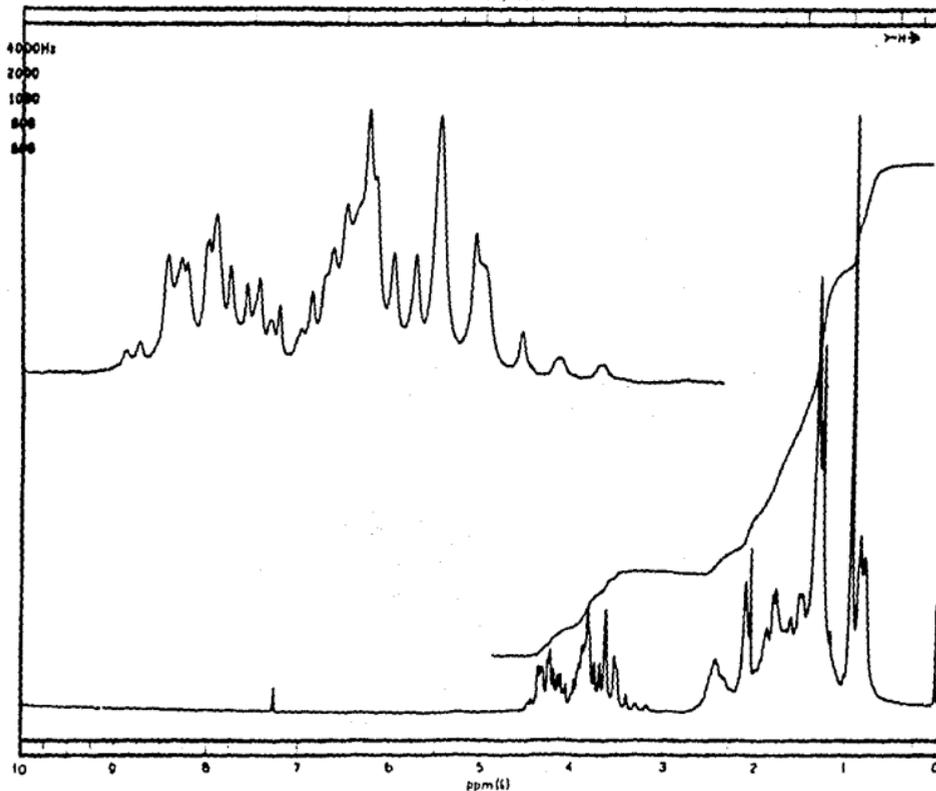




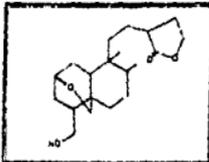
NAME: HEDROSOL	INSTRUMENT: Spectro No. 5	SOLVENT: CHCl <sub>3</sub>	ABSCISSA: 1	ORIGINATE: 1	PREPARED BY: 1
PREPARED BY: Dr. F. Barale	CONCENTRATION: 1	CELL PATH: 1	TEMPERATURE: 1	ANALYST: 1	DATE: 1
REFERENCE: CHCl <sub>3</sub>	CELL: 1	SCANNING: 1	SCANNING: 1	SCANNING: 1	SCANNING: 1



Espectra No 6



FT-80A SPECTRUM NO. 6337  
 OPERATOR J. Cardenas DATE 26685  
 NUCLEUS <sup>1</sup>H FREQUENCY  
 SYNTHESIZER SETTINGS  
 EXPERIMENT NAME  
 FILE NAME  
 SAMPLE Dr F. Garcia



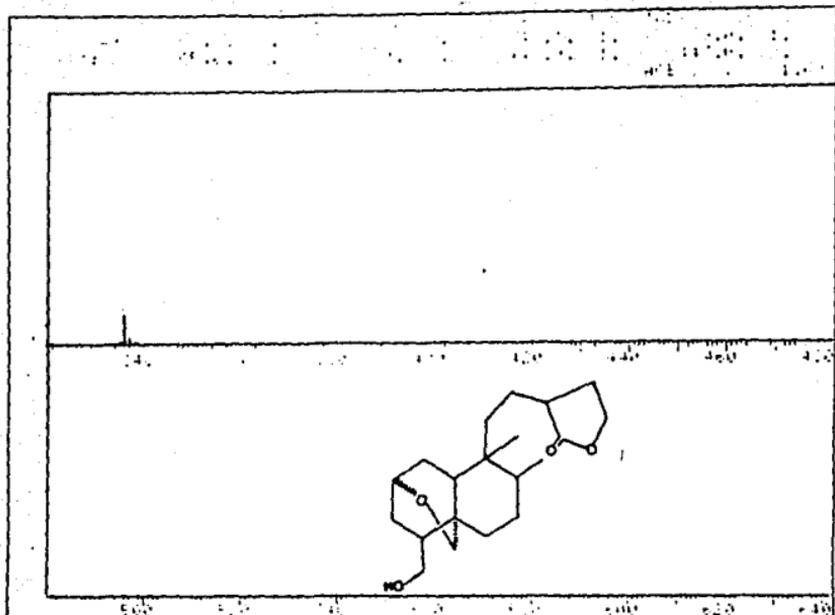
LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL CDC13  
 SPIN RATE rpm TEMP °C  
 INSERT mm

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) Hz  
 NO. OF TRANSIENTS (NT)  
 ACQUISITION TIME (AT) sec  
 PULSE WIDTH (PW) sec  
 PULSE DELAY (PD) sec  
 DATA POINTS (DP)

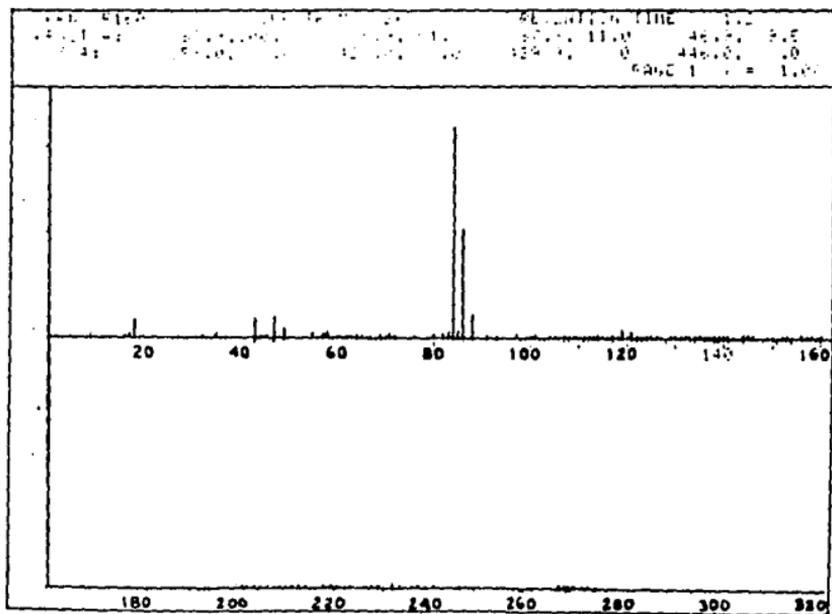
TRANSMITTER OFFSET (TO)  
 HIGH FIELD LOW FIELD  
 RECEIVER GAIN (RG)

DECOUPLER MODE (DM)  
 DECOUPLER OFFSET (DO)  
 NOISE BANDWIDTH (NB) MHz  
 ACQUISITION MODE (AM)

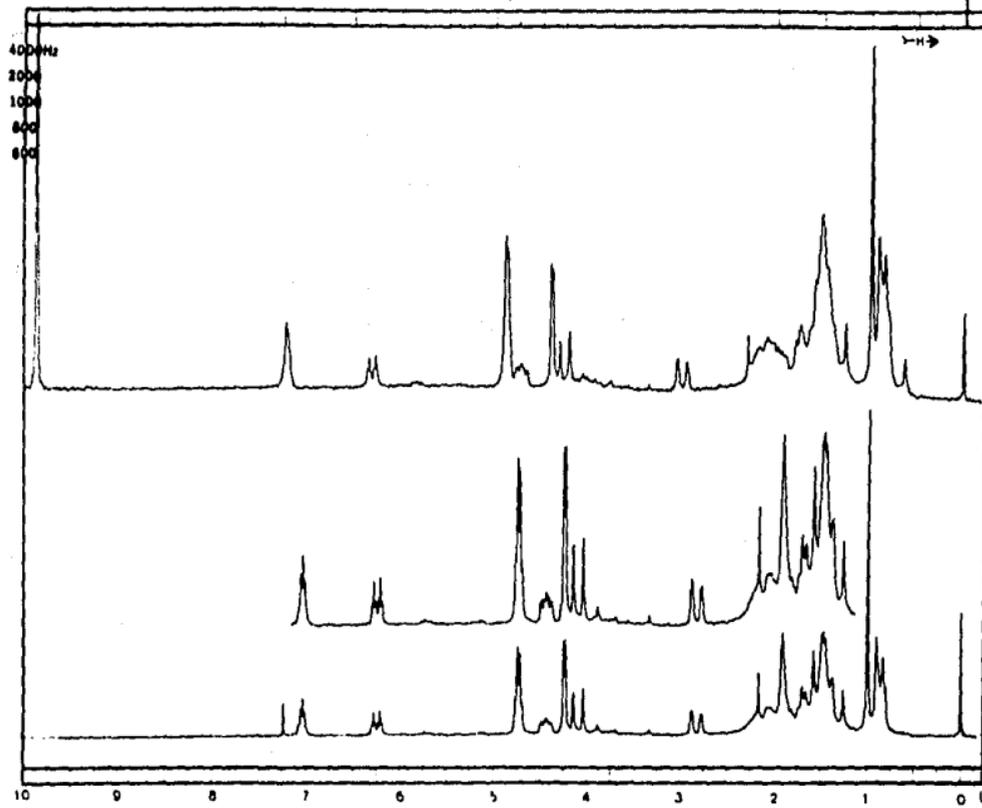
DISPLAY  
 SENS. ENHANCEMENT (SE) sec  
 WIDTH OF PLOT (WP) Hz  
 END OF PLOT (EP) Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) 800/200 Hz  
 END OF CHART (EC) Hz  
 VERTICAL SCALE (VS) 120 / 300  
 REFERENCE LINE (RL) TMS



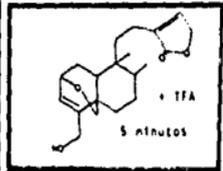
Espectro No 7



Espectro No 7.



FT-80A SPECTRUM NO. \_\_\_\_\_ DATE \_\_\_\_\_  
 OPERATOR \_\_\_\_\_  
 NUCLEUS \_\_\_\_\_ FREQUENCY \_\_\_\_\_  
 SYNTHESIZER SETTING \_\_\_\_\_  
 EXPERIMENT NAME \_\_\_\_\_  
 FILE NAME \_\_\_\_\_  
 SAMPLE \_\_\_\_\_



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL \_\_\_\_\_  
 SPIN RATE rpm \_\_\_\_\_ TEMP °C \_\_\_\_\_  
 INSERT \_\_\_\_\_ mm \_\_\_\_\_

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) \_\_\_\_\_ Hz  
 NO OF TRANSIENTS (NT) \_\_\_\_\_  
 ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_ sec  
 PULSE WIDTH (PW) \_\_\_\_\_ sec  
 PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ sec  
 DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_

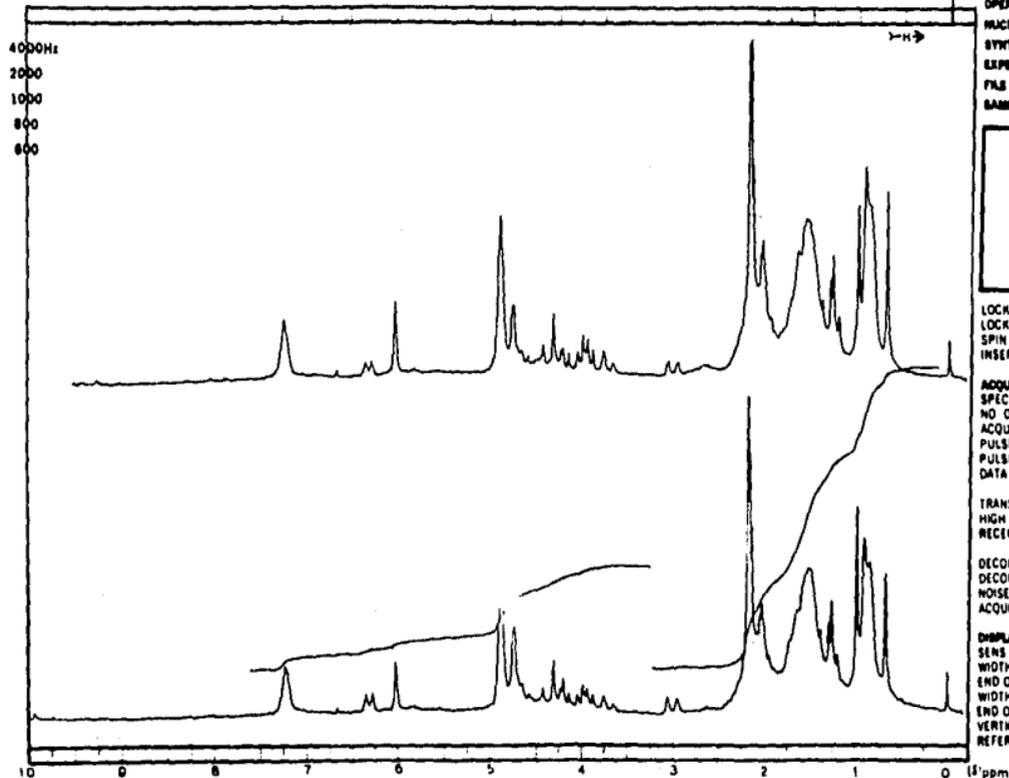
TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_  
 HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
 RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_

DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
 NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_ kHz  
 ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_

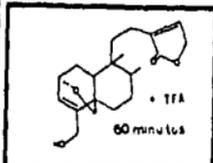
DISPLAY  
 SENS ENHANCEMENT (SE) \_\_\_\_\_ sec  
 WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_ Hz  
 END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_ Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) \_\_\_\_\_ Hz  
 END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_ Hz  
 VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
 REFERENCE LINE (RL) \_\_\_\_\_

10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 0 (ppm)

Espectro No 8



FT-80A SPECTRUM NO. \_\_\_\_\_  
 OPERATOR \_\_\_\_\_ DATE \_\_\_\_\_  
 NUCLEUS \_\_\_\_\_ FREQUENCY \_\_\_\_\_  
 SYNTHESIZER SETTINGS \_\_\_\_\_  
 EXPERIMENT NAME \_\_\_\_\_  
 FILE NAME \_\_\_\_\_  
 SAMPLE \_\_\_\_\_



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL \_\_\_\_\_  
 SPIN RATE cps \_\_\_\_\_ TEMP. °C \_\_\_\_\_  
 INSERT \_\_\_\_\_ mm \_\_\_\_\_

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) \_\_\_\_\_ Hz  
 NO OF TRANSIENTS (NT) \_\_\_\_\_  
 ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_ sec  
 PULSE WIDTH (PW) \_\_\_\_\_ sec  
 PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ sec  
 DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_

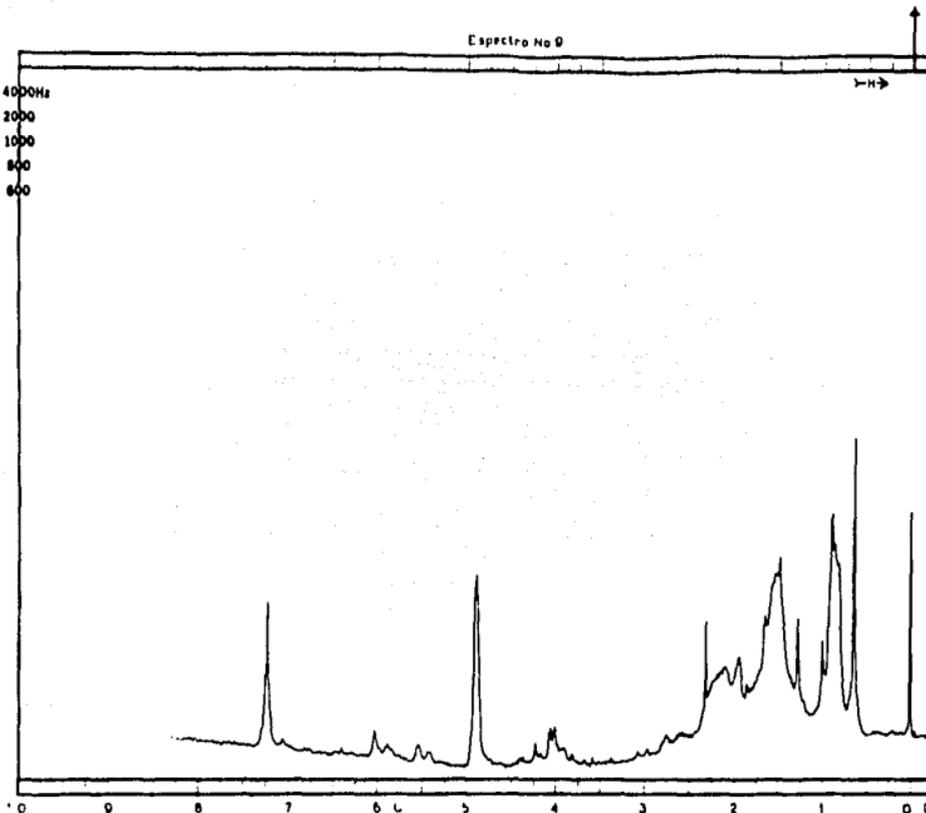
TRANSMITTER OFFSET (TO)  
 HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
 RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_

DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
 DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
 NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_ kHz  
 ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_

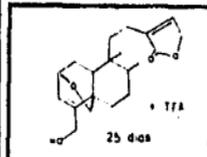
DISPLAY  
 SENS ENHANCEMENT (SE) \_\_\_\_\_ sec  
 WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_ Hz  
 END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_ Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) \_\_\_\_\_ Hz  
 END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_ Hz  
 VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
 REFERENCE LINE (RL) \_\_\_\_\_

Espectro No 9

4000Hz  
2000  
1000  
800  
600



FT-80A SPECTRUM NO.  
OPERATOR \_\_\_\_\_ DATE \_\_\_\_\_  
NUCLEUS \_\_\_\_\_ FREQUENCY \_\_\_\_\_  
SYNTHESIZER SETTING \_\_\_\_\_  
EXPERIMENT NAME \_\_\_\_\_  
PILE NAME \_\_\_\_\_  
SAMPLE ...



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
LOCK SIGNAL \_\_\_\_\_  
SPIN RATE rpm \_\_\_\_\_ TEMP °C \_\_\_\_\_  
INSERT \_\_\_\_\_ mm \_\_\_\_\_

ACQUISITION  
SPECTRAL WIDTH (SW) Hz  
NO OF TRANSIENTS (NT) \_\_\_\_\_  
ACQUISITION TIME (AT) sec  
PULSE WIDTH (PW) sec  
PULSE DELAY (PD) sec  
DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_

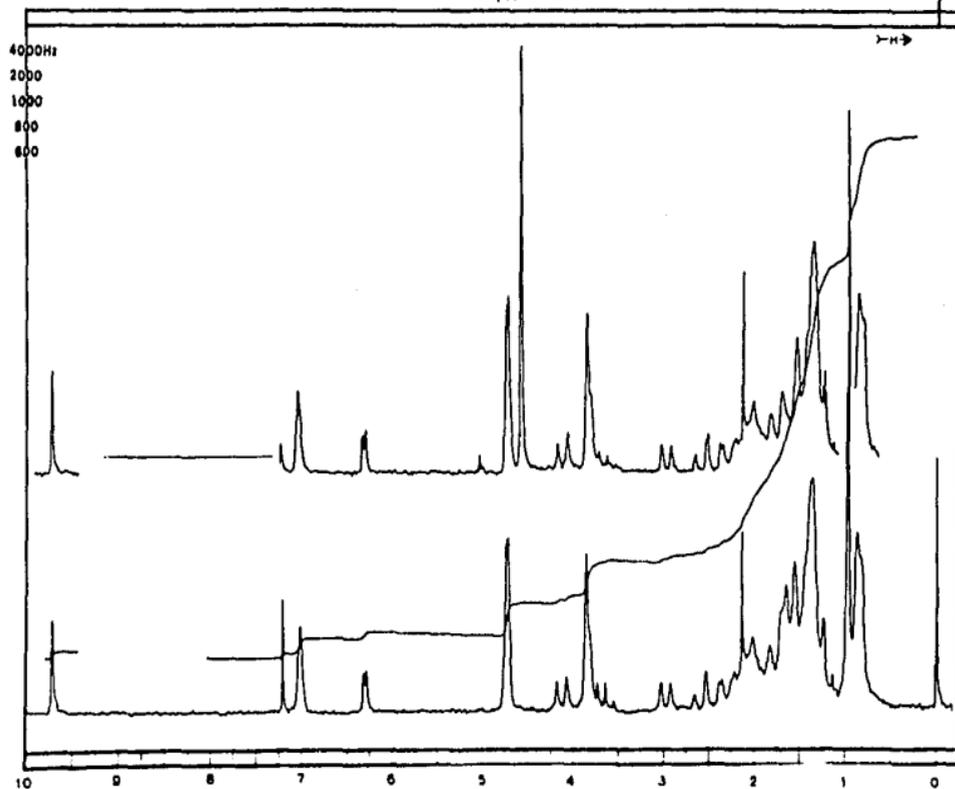
TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_  
HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_  
RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_

DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_  
DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_  
NOISE BANDWIDTH (NB) kHz  
ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_

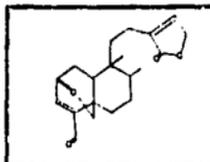
DISPLAY  
SENS ENHANCEMENT (SE) sec  
WIDTH OF PLOT (WP) Hz  
END OF PLOT (EP) Hz  
WIDTH OF CHART (WC) Hz  
END OF CHART (EC) Hz  
VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_  
REFERENCE LINE (RL) \_\_\_\_\_

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (ppm)

Espectro No 10



FT-80A SPECTRUM NO.  
 OPERATOR J Cardenas DATE  
 NUCLEUS <sup>1</sup>H FREQUENCY  
 SYNTHESIZER SETTING  
 EXPERIMENT NAME  
 FILE NAME  
 SAMPLE Dra O Colera



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL CDCl<sub>3</sub>  
 SPIN RATE rps TEMP. °C  
 INSERT 2 mm

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) 1502 Hz  
 NO OF TRANSIENTS (NT) 20  
 ACQUISITION TIME (AT) 7 sec  
 PULSE WIDTH (PW) 7 sec  
 PULSE DELAY (PD) sec  
 DATA POINTS (DP)

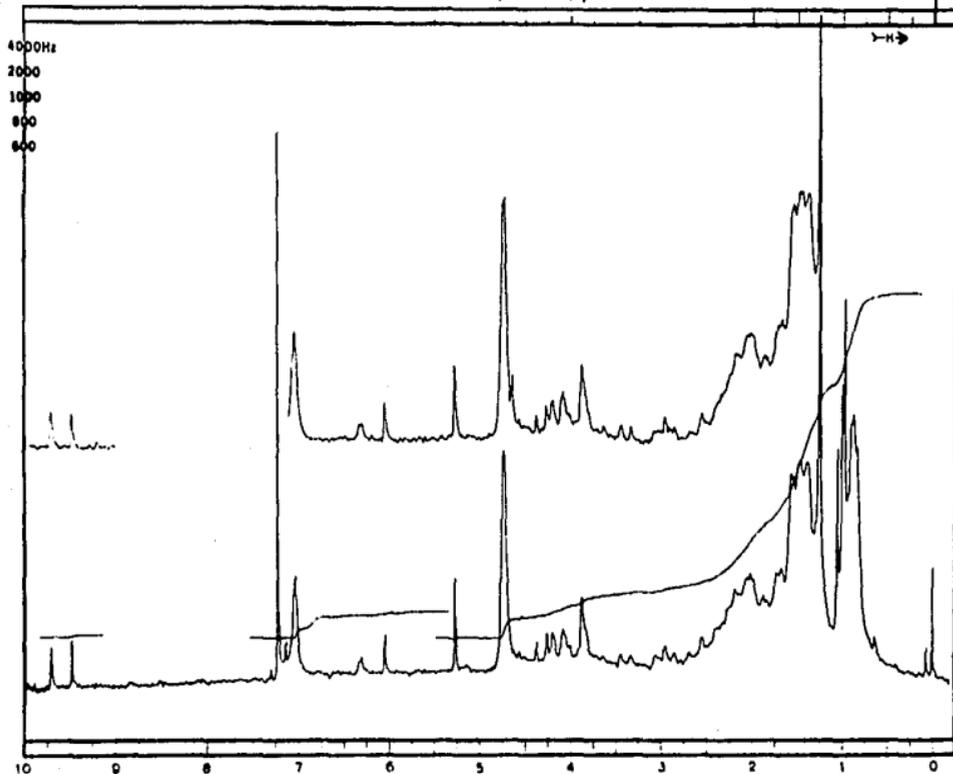
(TRANSMITTER OFFSET (TO)  
 HIGH FIELD LOW FIELD  
 RECEIVER GAIN (RG)

DECOUPLER MODE (DM)  
 DECOUPLER OFFSET (DO)  
 NOISE BANDWIDTH (NB) kHz  
 ACQUISITION MODE (AM)

DISPLAY  
 SENS ENHANCEMENT (SE) sec  
 WIDTH OF PLOT (WP) Hz  
 END OF PLOT (EP) Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) 800 Hz  
 END OF CHART (EC) Hz  
 VERTICAL SCALE (VS)  
 REFERENCE LINE (RL) TMS

10 0 8 7 6 5 4 3 2 1 0 ppm

Espectro Hall,



FT-80A SPECTRUM NO. 3101

OPERATOR J.C. DATE

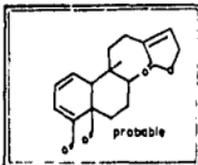
NUCLEUS <sup>1</sup>H FREQUENCY

SYNTHESIZER SETTINGS

EXPERIMENT NAME

FILE NAME

SAMPLE D<sub>2</sub>O Coliform



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL

LOCK SIGNAL  $CDCl_3$

SPIN RATE 19a LMP

INSERT mm

ACQUISITION

SPECTRAL WIDTH (SW)

NO. OF TRANSIENTS (NT)

ACQUISITION TIME (AT)

PULSE WIDTH (PW)

PULSE DELAY (PD)

DATA POINTS (DP)

TRANSMITTER OFFSET (TO)

HIGH FIELD LOW FIELD

RECEIVER GAIN (RG)

DECOUPLER MODE (DM)

DECOUPLER OFFSET (DO)

NOISE BANDWIDTH (NB)

ACQUISITION MODE (AM)

DISPLAY

SENS ENHANCEMENT (SE)

WIDTH OF PLOT (WP)

END OF PLOT (EP)

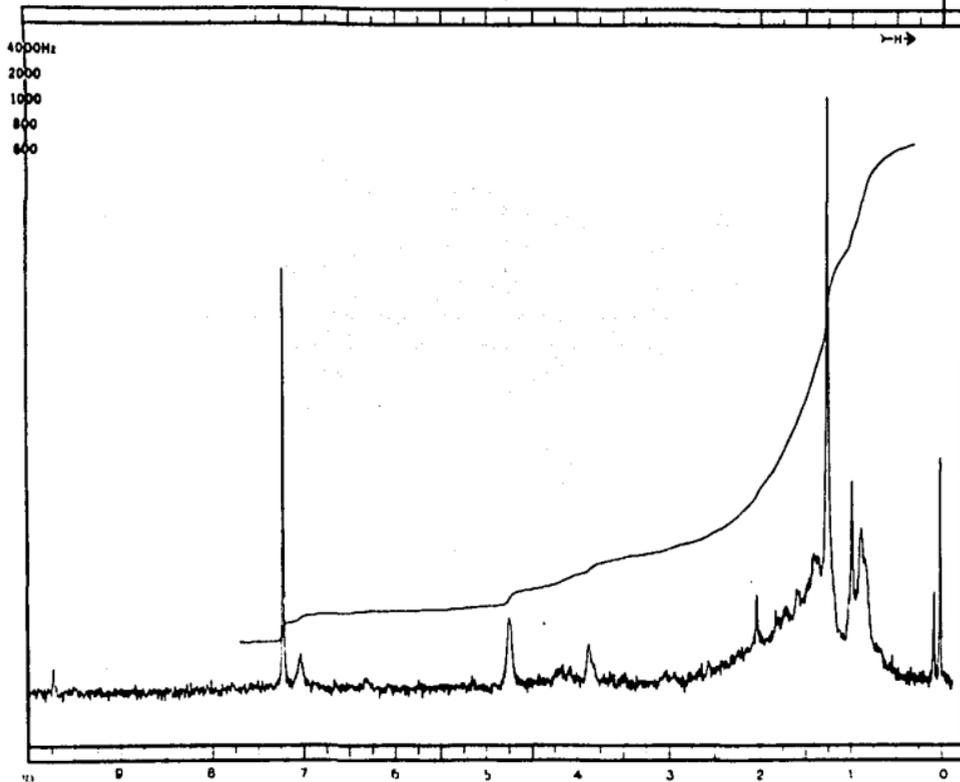
WIDTH OF CHART (WC)

END OF CHART (EC)

VERTICAL SCALE (VS)

REFERENCE LINE (RL) TMS

Espectro No 12



FT-80A SPECTRUM NO. 3055

OPERATOR \_\_\_\_\_ DATE \_\_\_\_\_

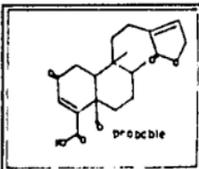
NUCLEUS <sup>1</sup>H FREQUENCY \_\_\_\_\_

SYNTHESIS SETTING \_\_\_\_\_

EXPERIMENT NAME \_\_\_\_\_

FILE NAME \_\_\_\_\_

SAMPLE <sup>1</sup>Q, Coliara



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL

LOCK SIGNAL <sup>1</sup>CDCl<sub>3</sub>

SPIN RATE \_\_\_\_\_ rpm TEMP. \_\_\_\_\_ °

ORBIT \_\_\_\_\_ mm

ACQUISITION

SPECTRAL WIDTH (SW) \_\_\_\_\_

NO. OF TRANSIENTS (NT) \_\_\_\_\_

ACQUISITION TIME (AT) \_\_\_\_\_ s

PULSE WIDTH (PW) \_\_\_\_\_ s

PULSE DELAY (PD) \_\_\_\_\_ s

DATA POINTS (DP) \_\_\_\_\_

TRANSMITTER OFFSET (TO) \_\_\_\_\_

HIGH FIELD \_\_\_\_\_ LOW FIELD \_\_\_\_\_

RECEIVER GAIN (RG) \_\_\_\_\_

DECOUPLER MODE (DM) \_\_\_\_\_

DECOUPLER OFFSET (DO) \_\_\_\_\_

NOISE BANDWIDTH (NB) \_\_\_\_\_

ACQUISITION MODE (AM) \_\_\_\_\_

DISPLAY

BERG ENHANCEMENT (SE) \_\_\_\_\_

WIDTH OF PLOT (WP) \_\_\_\_\_

END OF PLOT (EP) \_\_\_\_\_

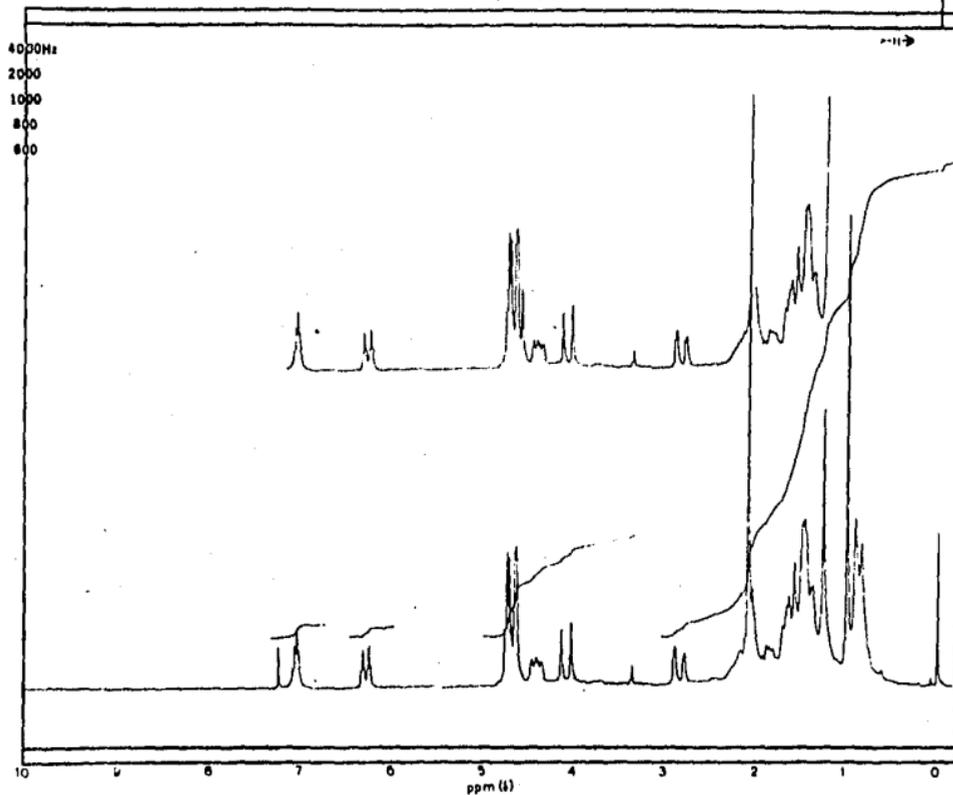
WIDTH OF CHART (WC) \_\_\_\_\_

END OF CHART (EC) \_\_\_\_\_

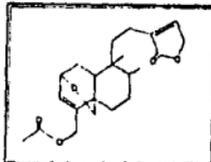
VERTICAL SCALE (VS) \_\_\_\_\_

REFERENCE LINE (RL) THIS \_\_\_\_\_

Spectra 10.13



FT 80A SPECTRUM NO 3638  
OPERATOR J.Gardner DATE 23/2/84  
NUCLEUS <sup>1</sup>H FREQUENCY  
SYNTHESIZER SETTING  
EXPERIMENT NAME  
FILE NAME  
SAMPLE PPA O COLLERA



LOCK  INTERNAL  EXTERNAL  
LOCK SIGNAL CDCl<sub>3</sub>  
SPIN RATE rpm TEMP °C  
INSERT 5 mm

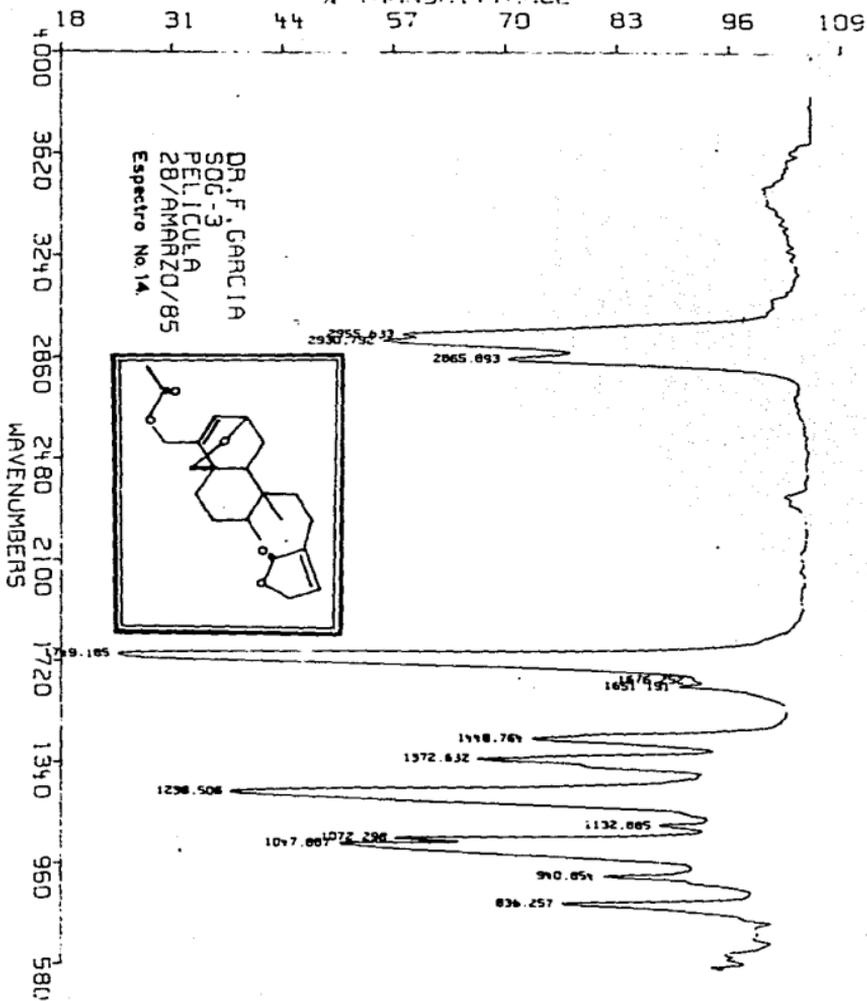
ACQUISITION  
SPECTRAL WIDTH (SW) 1200 Hz  
NO OF TRANSIENTS (NT) 10  
ACQUISITION TIME (AT) 20 sec  
PULSE WIDTH (PW) 81 sec  
PULSE DELAY (PD) sec  
DATA POINTS (DP)

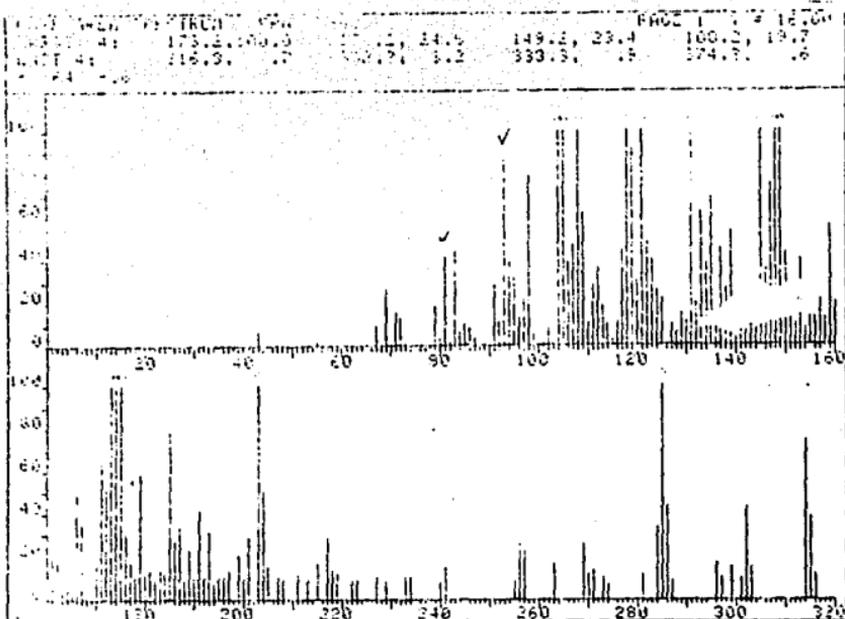
TRANSMITTER OFFSET (TO)  
HIGH FIELD LOW FIELD  
RECEIVER GAIN (RG)

DECOUPLER MODE (DM)  
DECOUPLER OFFSET (DO)  
NOISE BANDWIDTH (NB) Hz  
ACQUISITION MODE (AM)

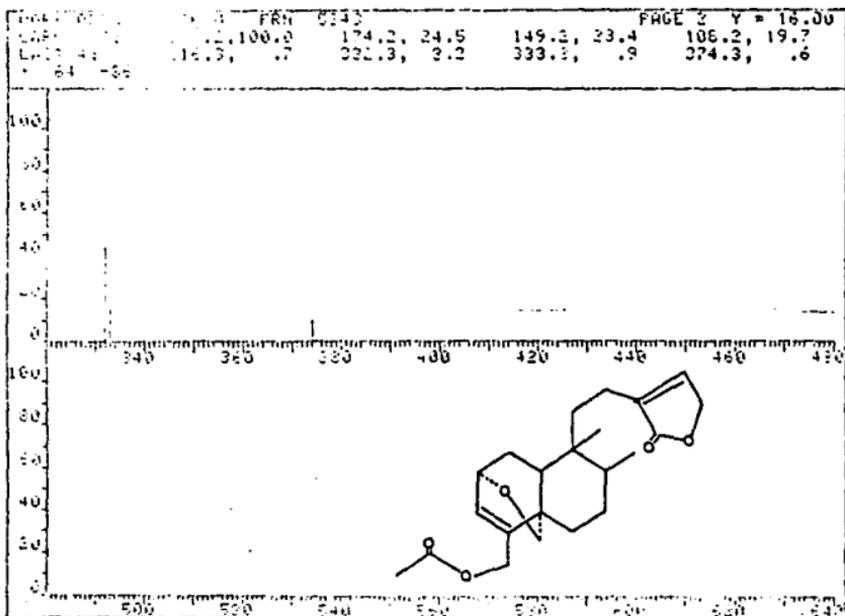
DISPLAY  
SENS ENHANCEMENT (SE) -14 sec  
WIDTH OF PLOT (WP) 907 Hz  
END OF PLOT (EP) -107 Hz  
WIDTH OF CHART (WC) 600 Hz  
END OF CHART (EC) 0 Hz  
VERTICAL SCALE (VS) 100  
REFERENCE LINE (RL) TMS

% TRANSMITTANCE

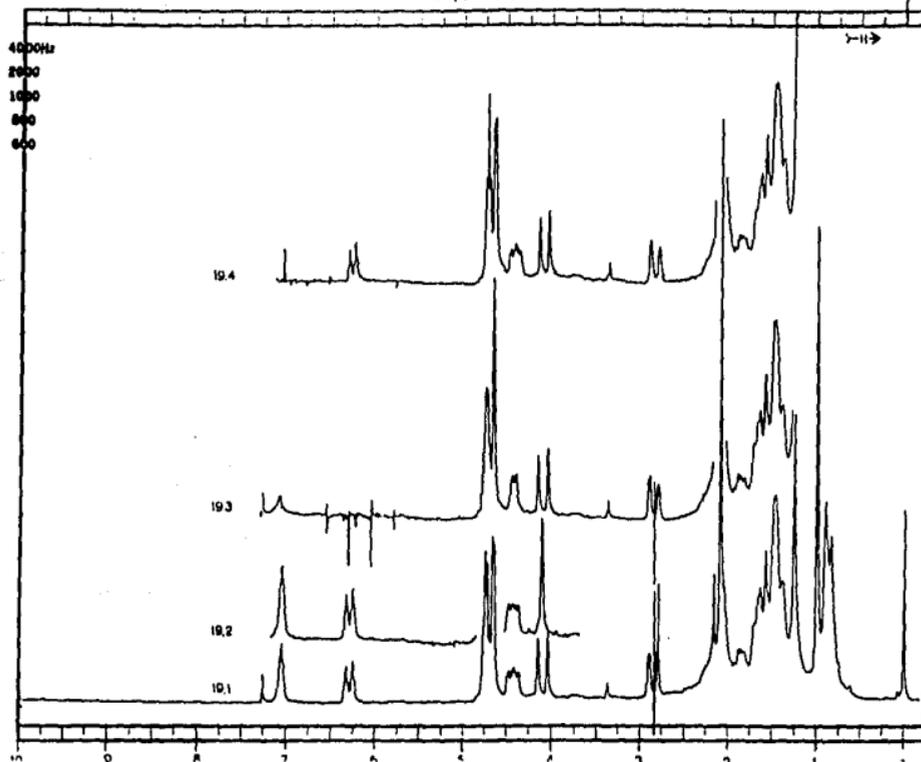




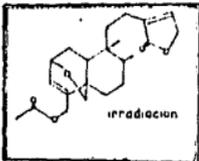
Espectro No.15



Espectro No 19



FT-80A SPECTRUM NO. .  
 OPERATOR J.C.Ordóñez DATE 14-11-79  
 NUCLEUS . . . . . FREQUENCY  
 SYNTHESIZER SETTING.  
 EXPERIMENT NAME.  
 FILE NAME . . . . .  
 SAMPLE . . . O Coitera



LOCK REINTERNAL  EXTERNAL  
 LOCK SIGNAL . . . CDCl<sub>3</sub>  
 SPIN RATE . . . . . rps . . . . . TEMP. . . . . °C  
 INSERT . . . . . mm

ACQUISITION  
 SPECTRAL WIDTH (SW) . . . 1000 . . . Hz  
 NO OF TRANSIENTS (NT) . . . 30  
 ACQUISITION TIME (AT) . . . 3 . . . s  
 PULSE WIDTH (PW) . . . . . s  
 PULSE DELAY (PD) . . . . . s  
 DATA POINTS (DP) . . . . .

TRANSMITTER OFFSET (TO)  
 HIGH FIELD . . . . . LOW FIELD  
 RECEIVER GAIN (RG)

DECOUPLER MODE (DM)  
 DECOUPLER OFFSET (DO) . . . . . Hz  
 NOISE BANDWIDTH (NB) . . . . . Hz  
 ACQUISITION MODE (AM)

DISPLAY  
 SENS ENHANCEMENT (SE) . . . 16  
 WIDTH OF PLOT (WP) . . . . . Hz  
 END OF PLOT (EP) . . . . . Hz  
 WIDTH OF CHART (WC) . . . 800 . . . Hz  
 END OF CHART (EC) . . . . . Hz  
 VERTICAL SCALE (VS)  
 REFERENCE LINE (RL) . . . TMS

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Angeles E., Folting K., Grieco P., Huffman J., Miranda R., Salmon M. "Isolation and structure of Stephalic acid, a new clerodane diterpene from Stevia polycephala". Phytochemistry 21, 1804 (1982).
2. Barton D., Cheung H., Cross A., Jackmann L., Martin M. "The constitution of clerodin". Proc. Chem. Soc. 76 (1961).
3. Berfeld P. (Ed). "Biogenesis of natural compounds". Macmillan N.Y. (1963).
4. Bohlmann F., Fritz U. "Neue diterpene und acetylenverbindungen aus Nidorella-Arten". Phytochemistry 17, 1769 (1978).
5. Bohlmann F., Gupta R.K., King R., Robinson H. "A clerodane lactone and tremontone derivative from Bahianthus viscidus". Phytochemistry 20, 331 (1981).
6. Brieskorn C., Pfeuffer T. "Labiatenbitterstoffe: Píkropolin und ähnliche diterpenoide aus poleigamander". Chem. Ber. 100, 1998 (1967).
7. Cahn R., Ingold C., Prelog V. "Specifications of molecular chirality" Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 5, 385 (1966).
8. Corey E.J., Boger D.L. "Oxidative cationic cyclizations reactions affected by pyridinium chlorochromate". Tet. Lett. 2461 (1978).
9. Corey E.J., Ensley H., Suggs J. "A convenient synthesis of (5)-(-) Pulegone from (-)-Citronellol". J. Org. Chem. 41, 381 (1976).
10. Corey E.J., Schmit G. "Useful procedures for the oxidation of alcohols involving pyridinium dicromate in aprotic media". Tet. Lett. 399 (1979).
11. Corey E.J., Suggs J.W. "Pyridinium chlorochromate an efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohol to carbonyl compounds". Tet. Lett. 2647 (1975).
12. Corominas J. "Breve diccionario etimológico de la lengua castellana". 3ª ed. Gredos. Madrid. España. (1976).
13. Eguren L., Perales A., Fayos J., Rodriguez B., Savona G., Piozzi F. "New neoclerodane diterpenoid containing an oxetane ring isolated from Teucrium chamaedrys. X-ray structure determinatios". J. Org. Chem. 47, 4157 (1982).
14. Eguren L., et al. "New clerodane diterpenoid from Teucrium Polium subsp. aureum. X-ray structure determination". J. Org. Chem. 46, 3364 (1981).
15. Fayos J., Martines M., Paternostro M., Piozzi F., Rodriguez B., Savona G. "New clerodane diterpenoid from Teucrium eriocephalum". J. Org. Chem. 44 4992 (1979).

16. Fujita E., Uchia I. "Terpenoids. Part XXXII. Structure and stereochemistry of Teucrin, a novel neoclerodane-type diterpene from Teucrium viscidum var. Miquelitanum". J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I. 1547 (1974).
17. García M., Savona G., Rodriguez B. "Triterpenoid from Salvia phlomoides, three new Lupane derivatives". Phytochemistry 20, 481 (1981).
18. Goodwin T. (Ed). "Aspects of terpenoid chemistry and biochemistry". Academic Press. N.Y. (1971).
19. Goodwin T., Mercer E. "Introduction to plant biochemistry". Pergamon. Oxford. (1972).
20. Hanson J.R. (Ed). "Terpenoids and steroids". Royal society of chemistry. Vol X. London. (1979).
21. Horeau A., Nouaille A. "Extension et simplification de la configuration des alcool secondaries par 'dedoublement partiel' VIII. Application a la genipine". Tet. Lett. 1939 (1971).
22. House H., "Reacciones modernas de síntesis orgánica". Reverté. Barcelona España. (1980).
23. IUPAC. "Recomendations for Natural Products nomenclature". Eur. J. Biochem. 86, 1 (1978).
24. IUPAC. "Tentative rules for the nomenclature of Organic Chemistry. Section E. Fundamental stereochemistry". J. Org. Chem. 35, 2849 (1970).
25. Jusristi E., Eliel E., Lehmann P., Dominguez X. "Tópicos modernos de este-reoquímica". Limusa. México. (1983).
26. Kawazu K., Mitsui T. Symposium papers. The 18<sup>th</sup> symposium on the chemistry of Natural Products. (1979).
27. Lavie D., Frolow F., Meshulam H. "The X-ray structures of methyl shoroeate and the stereochemistry of eichlerianic acid, cabralone and ocotilone". Tetrahedron 40, 419 (1984).
28. Majmuder P., Bagchi A. "Oxidative transformation of triterpenoids of the ursane and oleanane skeleta with hydrogen peroxide. Introduction of 11-12 double bond and 13 (28) oxide moiety in the ursane system". Tetrahedron 39, 649 (1983).
29. March J. "Advanced organic chemistry: reactions, mechanisms and structure" 2<sup>th</sup> adition. Mc Graw Hill. (1971).
30. Maruqe C., Valverde S. "A new clerodane diterpene from Teucrium polium L." J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I. 2526 (1979).
31. Marco J., Rodriguez B., Savona G., Piozzi F. "Diterpenoids from Teucrium scorodonia, three neoclerodane derivatives". Pytochemistry 21, 2567 (1982).
32. Marquez C., Rabanal R., Valverde S., Eguren L., Perales A., Fayos J.

- Diterpenes from Teucrium capitatum L. X-ray crystal and molecular structure of capitatin". Tet. Lett. 21, 5039 (1980).
33. Marquez et al. "Diterpenes from Teucrium capitatum L. X-ray crystal and molecular structure of Lolín". Tet. Lett. 22, 2823 (1981).
  34. Martínez M., Fayos J., Rodríguez B. "The absolute stereochemistry of some clerodane diterpenoids from Teucrium species". J. Chem. Soc. Perkin. Trans I. 1186 (1981).
  35. Michal G. "Biochemical Pathways". Boehringer Mannheim GMBH. Lakeside. W. Germany. (1976).
  36. Matori S., Kekawa N., Suzuki M. "Advances in Natural Products Chemistry" Halsted Press. Tokyo, Japón. (1981).
  37. Newman A. (Ed). "Chemistry of terpenes and terpenoids". Academic Press. N.Y. (1972).
  38. Paul I.C., Sim G.A., Hamor T.A. Monteath J. "The structure of clerodin: X-ray analysis of clerodin bromo-lactone". J. Chem. Soc. 4133 (1962).
  39. Rodríguez B., Savona G., Piozzi F. "Two new unusual diterpenoids from Ballota hispanica". J. Org. Chem. 44, 2219 (1974).
  40. Rogers D., Unal G., Williams J., Ley S. "The crystal structure of 3-epicarioptin and the reversal of the currently accepted absolute configuration of clerodin". J. Chem. Soc. Chem. Commun. 97 (1979).
  41. Ruiz-Oronoz M. "Botánica" ECLASA. México. (1967).
  42. Runecles V., Malory T. (Eds). "Recent advances in Phytochemistry: Terpenoids, structure, biogenesis and distribution (Vol VI)". Academic Press. N.Y. (1973).
  43. Salmón M., Penieres G., Miranda R., Alvarez C. "The action of bentonitic earth on Natural Products epoxides". J. Heterocyclic Chem. 18, 1475 (1981).
  44. Savona G., Raffa D., Bruno M., Rodríguez B. "Salvifarin and salvifarium, neoclerodane diterpenoids from Salvia farinacea". Phytochemistry 22, 784 (1983).
  45. Savona G. et al. "New furanoid diterpenes from Teucrium gnaphaliodes L'." Tet. Lett. 20, 379 (1979).
  46. Savona G. et al. "New clerodane diterpenoids from Teucrium spinosum L'." J. Heterocycles. 14, 193 (1980).
  47. Savona G. et al. "Diterpenes from Leonorus sibiricus." Phytochemistry 21, 2699 (1982).
  48. Savona G. et al. "Dihydroteugin, a neo-clerodane diterpenoid from Teucrium chamaedrys". Phytochemistry 21, 721 (1982).
  49. Sneldrick G.M. Shelxtl                      Revisión 3. An integrated sistem for

- solving, refining and displaying crystal structures for diffraction data. University of Göttingen, Federal Republic of Germany (1981).
50. Sim G.A., Hamor T.A., Paul I.C., Monteath J. "The structure of clerodin". Proc. Chem. Soc. 75 (1961).
  51. Thomson R. "The chemistry of Natural Products". Blackie Capman and Hall, N.Y. (1985).
  52. Trivedi G., Komura H., Kulbo I., Kakanishi K. "The ent-neo-clerodanes. Absolute configuration of ajugarins". J. Chem Soc. Chem. Commun. 885 (1979).
  53. Vlad P., Ungur N., Koltsa R. "Cyclization and rearrangements of diterpenoids -I. Synthesis of tetracyclic diterpenoids with a new carbon skeleton from labdanes". Tetrahedron 39, 3947 (1983).
  54. Wagner H. "Pharmaceutical and economic use of the Labiatae and Rutaceae Families". Rev. Latinoam. Quim. 8, 16 (1977).
  55. Watson W. "Conformation and configuration of some Natural Products". Rev. Latinoam. Quim. 8, 101 (1977).
  56. Yamaguchi K. "spectral data of Natural Products". Vol. I. Elsevier, N.Y. (1970).