



**Universidad Nacional Autónoma  
de México**

**Facultad de Química**

**ESTUDIO FITOQUIMICO DE  
SALVIA SEMIATRATHA**

**T E S I S**  
Que para obtener el título de  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**p r e s e n t a**

**JOSE MANUEL HERNANDEZ ARROYO**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA**

**1 9 8 7**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

## I N D I C E

	Pág.
I .- INTRODUCCION	1
II .- GENERALIDADES	3
III .- PARTE TEORICA	14
IV .- CONCLUSIONES	33
V .- PARTE EXPERIMENTAL	35
VI .- ESPECTROS	43
VII .- BIBLIOGRAFIA	53

**I N T R O D U C C I O N**

## INTRODUCCION.

Durante toda su existencia, el ser humano ha dependido de las plantas para obtener la satisfacción de todas sus necesidades, y esta dependencia se acentúa cada vez debido a que, con el advenimiento de la civilización actual, han ido aumentando sus requerimientos básicos, los que en tiempos primitivos deben haber sido pocos. De esta manera más que ayudarlo a independizarse, la inteligencia ha hecho que el hombre esté cada vez más supeditado al mundo orgánico que lo rodea, y muy especialmente al vegetal<sup>1</sup>. Directa o indirectamente, el hombre obtiene de las plantas, alimento, vestido, energía (proveniente en su mayoría de las plantas que vivieron y murieron en el pasado), medicamentos, colorantes, condimentos, estimulantes y muchos otros productos<sup>2</sup> que resalta la importancia de conservar, conocer, manejar y usar adecuadamente los recursos naturales.

México a pesar de ser un país inmensamente rico en recursos naturales<sup>3</sup>, no ha contribuido significativamente en la explotación racional de los mismos, aún cuando hemos heredado de nuestros antepasados, una información valiosísima relacionada al uso medicinal de estos.

El objetivo de la presente tesis es el exponer el estudio químico de la *Salvia semiatrata* Zucc, planta que pertenece a la familia de las labiadas. Se describe el aislamiento de un triterpeno, y la elucidación estructural y estereoquímica de dos diterpenos de tipo neoclerodano uno de ellos no descrito en la literatura y con base en los datos espectroscópicos obtenidos y de algunas reacciones se propone la estructura (3) que se confirma mediante un estudio de difracción de rayos X. Actualmente se está estudiando si este compuesto presenta actividad biológica. Este trabajo constituye una aportación al estudio químico sistemático de las Salvias mexicanas.

**GENERALIDADES**

## GENERALIDADES.

El género *Salvia* pertenece a la familia de las labiadas, de la cual se han aislado gran cantidad de metabolitos secundarios, interesantes. Los productos naturales son el resultado de procesos metabólicos catalizados por enzimas. Para su estudio, actualmente se les subdivide en dos grupos. Metabolitos primarios y Metabolitos secundarios, se consideran metabolitos primarios las proteínas, carbohidratos, lípidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, etc., o sea sustancias que las plantas necesitan para crecer y subsistir. Entre los metabolitos secundarios podemos mencionar a los alcaloides, fenoles, flavonoides, terpenos cuya función no se conoce con seguridad. El estudio de los terpenos se ha intensificado -- ultimamente debido a la cantidad de aplicaciones y propiedades que se les ha encontrado. Están contruidos por unidades múltiples del hidrocarburo de cinco átomos de carbono, el isopreno (2-metil-1,3 butadieno)<sup>4</sup>. Los terpenos que contienen dos unidades de isopreno se llaman monoterpenos, los que contienen tres unidades de isopreno se denominan sesquiterpenos y los que contienen cuatro, seis y ocho unidades reciben el nombre de diterpenos, --



triterpenos, tetraterpenos, respectivamente<sup>5</sup>. En los vegetales se ha identificado un número muy grande de terpenos, muchos de los cuales poseen olores o sabores característicos, los monoterpenos y los sesquiterpenos son -- los componentes principales de los aceites esenciales. - Asi los monoterpenos geranil, limoneno, mentol, pineno y alcanfor son componentes principales del aceite de geranio, de limón, de menta, de trementina y de alcanfor - - respectivamente. El farnesol constituye un ejemplo de -- sesquiterpeno. Entre los diterpenos se halla el fitol -- que es un alcohol terpenoide lineal componente de la clorofila. Entre los triterpenos podemos mencionar al escualeno precursor en la biosíntesis de los triterpenos policíclicos y del colesterol. Entre otros terpenos superiores se incluyen los carotenoides y el caucho natural.

#### DITERPENOS.

Los diterpenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Se han aislado de las resinas de varios árboles, de hongos y de diferentes familias de plantas. Están constituidas por cuatro unidades de isopreno y se derivan biogénicamente del fosfato de

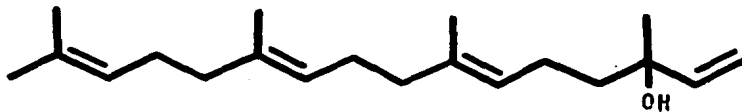
geranil-geraniol. Pueden encontrarse formando estructuras cíclicas ó acíclicas, las cuales presentan una gran variedad en sus arreglos moleculares<sup>6</sup>.

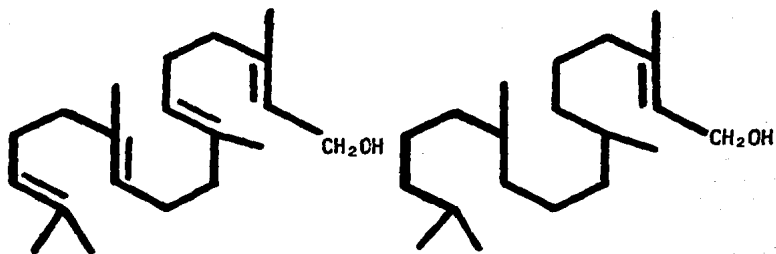
#### CLASIFICACION.

Los diterpenos estan clasificados con base en - las diversas formas de ciclización<sup>7</sup> del pirofosfato de -- geranil-geraniol asi como en el número de anillos que pre sentan. Pueden encontrarse como áciclicos, mono, bi, tri, y tetracíclicos.

#### ACICLICOS.

Existen pocos diterpenos de cadena abierta como por ejemplo, el fitol (I) que se encuentra esterificando la cadena lateral de la molécula de la clorofila, el gera nil-geraniol (II) y su isomero geranil-linalool (III).



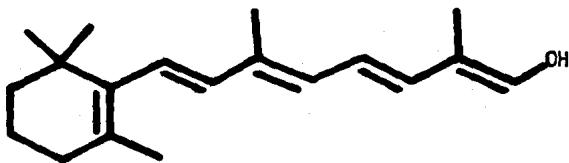


II

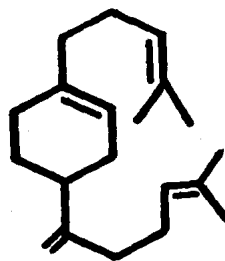
III

**MONOCICLICOS.**

Dentro de esta serie podemos mencionar a la vitamina A (IV) y al canforeno (V).



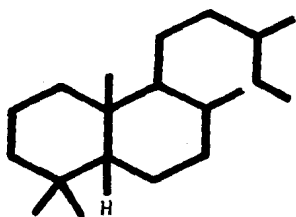
IV



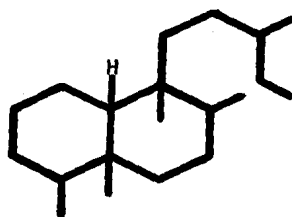
V

## BICICLICOS.

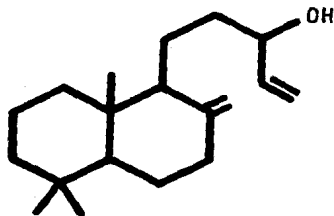
Dentro de esta serie podemos mencionar a los derivados del labdano (VI), del clerodano (VII) y del manool (VIII).



VI



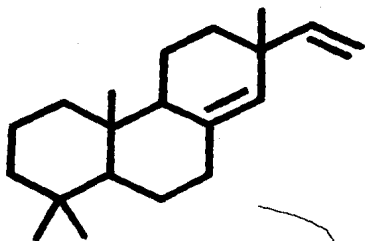
VII



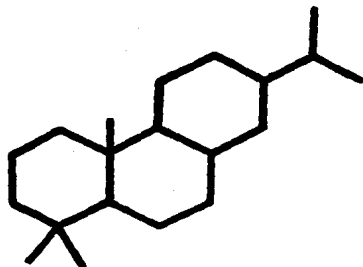
VIII

## TRICICLICOS Y TETRACICLICOS.

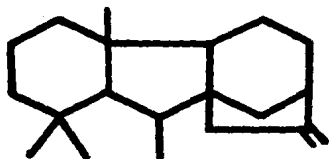
Dentro de estas series podemos mencionar a los derivados del pimaradieno (IX), del abietano (X) y del gibenol (XI) y del Kaureno (XII).



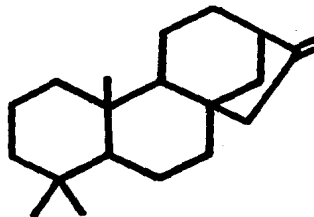
IX



X



XI

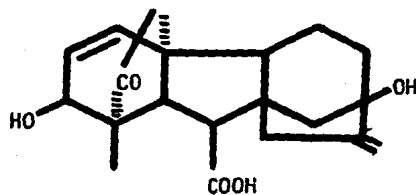


XII

### PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LOS DITERPENOS.

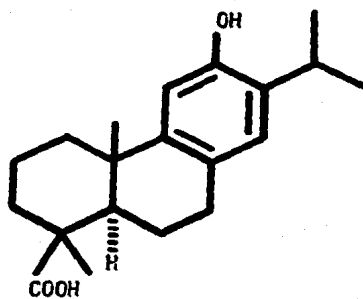
Algunos de los diterpenos descritos en la literatura presentan actividad biológica. Entre ellos podemos mencionar el ácido giberélico (XIII) aislado del hongo *Gibberella fujikuroi*<sup>8</sup>. Se ha encontrado que las gibe-

relinas son hormonas endógenas que regulan el crecimiento y floración de las plantas<sup>9</sup>.

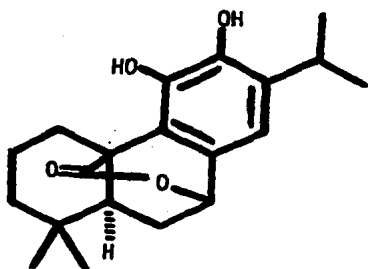


XIII

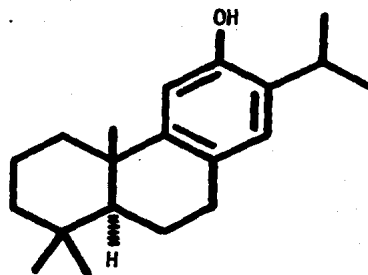
Entre las sustancias que presentan actividad bacteri-  
cida<sup>10</sup> mencionaremos al ácido podocárpico (XIV), al car-  
nosol (XV), y al ferruginol (XVI). Esta actividad se -  
atribuye en muchos de los casos a la presencia de grupos  
fenólicos.



XIV

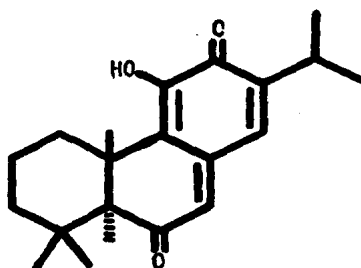


XV

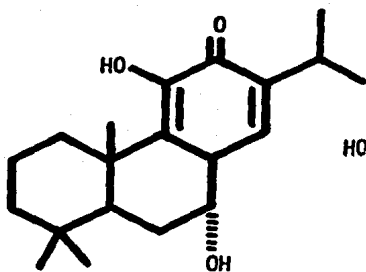


XVI

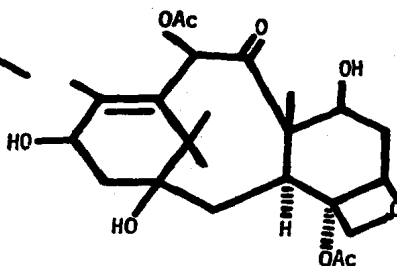
Entre las sustancias que presentan actividad antitumoral podemos mencionar a la taxodiona (XVII) y taxona (XVIII) aislados del *Taxodium distichum*<sup>11</sup> y al taxol (XIX), aislado del *Taxus brevifolia*.



XVII

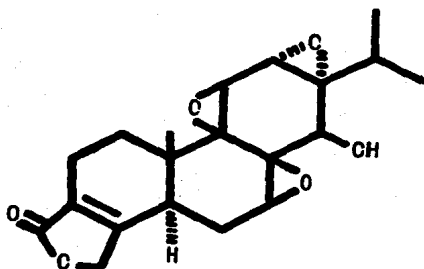


XVIII



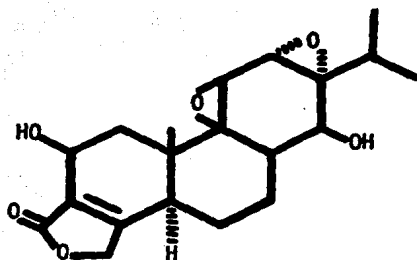
XIX

De las sustancias que presentan actividad antileucémica, podemos mencionar a los epóxicos Triptólido (XX) y Triptolólido (XXI), aislados del *Tripterygium wilfordii*<sup>12</sup> y al taxol anteriormente mencionado.



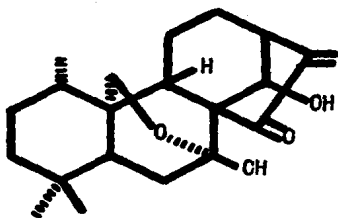
XX



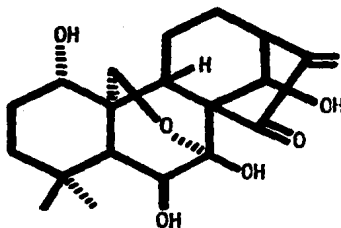


XXI

Entre las sustancias que presentan actividad anticancerígena, podemos mencionar a la lasiokaurina<sup>23</sup> (XXII) y la orodonina<sup>24</sup> (XXIII). Se cree que la actividad antitumoral de estas sustancias la confieren los grupos epoxidos y - la lactona de cinco miembros  $\alpha, \beta$  insaturada<sup>25</sup>.

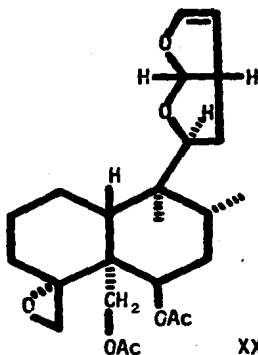


XXII

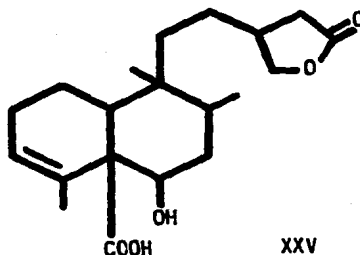


XXIII

También se han encontrado diterpenos responsables de una actividad antialimentaria<sup>26</sup>, como es la clerodina<sup>27</sup> - - - (XXIV) y el ácido melisodórico<sup>28</sup> (XXV).

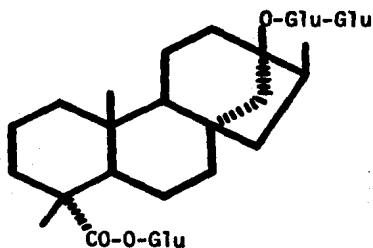


XXIV



XXV

El glucósido diterpénico estevióside<sup>29</sup> (XXVI) que se aisló de las hojas de la *Stevia rebaudiana*, es 300 veces -- más dulce que el azúcar.



XXVI

**PARTE TEORICA**

## PARTE TEORICA.

La *Salvia semiatrata* Zucc; se encuentra clasificada de acuerdo con Epling<sup>20</sup> en la sección *Atratae* (única planta clasificada dentro de esta sección) del género *Salvia*. Es un arbusto perenne a la zona de Nochistlán, - Oaxaca. No existen datos en la literatura sobre alguna - aplicación medicinal de esta especie y en las regiones - donde crece no es utilizada por los pobladores de la región.

Del extracto acetónico de las partes aéreas de la planta se obtiene un residuo de donde se aislaron dos diterpenos y un triterpeno. La descripción de la determinación estructural de estos compuestos se discute a continuación :

El componente menos polar es un sólido amorfo blanco. Su espectro I.R. presenta bandas en 3520, 1700  $\text{cm}^{-1}$  característica de una función de ácido carboxílico. El tratamiento de este producto con solución etérea de diazometano, produce el correspondiente éster metílico. Sus - - constantes físicas y espectroscópicas corresponden a las descritas para el éster metílico del ácido oleanólico - (1a.) la identidad de esta sustancia se comprobó por I.R.

comparativo con muestra auténtica del éster metílico<sup>21</sup>. En consecuencia el producto natural es el ácido oleánico (1) que es una molécula bien conocida y ampliamente distribuida en las plantas de la familia *Labiatae*<sup>22, 23</sup>.

De las primeras fracciones eluidas con Hexano - AcOEt - (4:1) se obtuvieron dos compuestos diterpénicos.

El componente diterpénico menos polar es una sustancia cristalina con p. f. 186-187°C  $[\alpha]_D^{20} = -163$  (CHCl<sub>3</sub>). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas -- (M<sup>+</sup>345) corresponde para una fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>. La estructura (2) propuesta para esta sustancia, corresponde a un diterpeno con esqueleto de neoclerodano, de acuerdo con la siguiente evidencia. El espectro de I. R. muestra bandas en 3620 cm.<sup>-1</sup> indicativos de grupos oxhidrilos, en 1751 cm.<sup>-1</sup> banda ancha que se asigna a carbonilos de  $\gamma$  - lactona y en 1662 y 1639 cm.<sup>-1</sup> de dobles -- enlaces.

El espectro de RMN<sup>1</sup>H muestra las siguientes señales: En 5.85 ppm (t, 1H, J=1Hz) y 4.7 ppm (d, 2H, J=1Hz) señales características de una función butenolida  $\beta$ -sustituida. Asimismo se observa un singulete ancho que se resuelve mejor al agregar D<sub>2</sub>O, esta señal se asigna -

al protón H-7 base de alcohol. También se observa una señal centrada a 6.9 ppm y se asigna al protón vincificado de una función de  $\gamma$ -Lactona  $\alpha,\beta$  insaturada. La multiplicidad de esta señal (dd, J=8 y 3Hz) indica que se encuentra acoplado a un metileno. También se observan señales para un sistema AB en 5.25 ppm (d, J=8Hz) y 3.85 ppm. -- (dd, J=8 y 1Hz), el cual se asigna a los protones diastereotópicos de la posición 19. El protón *pro-S* de este -- metileno presenta un acoplamiento a larga distancia de -- tipo *w* (J=1Hz) con el protón de la posición 6 $\beta$ . Lo cual permite proponer una orientación  $\alpha$ -axial para el meti -- leno C-19 y la ausencia de sustituyentes en la posición- 6 $\beta$ . El desplazamiento químico del protón H-19 $\beta$  se puede explicar si asumimos que presenta una desprotección por el grupo oxhidrilo de la posición 7 el cual debe ser --  $\alpha$ -axial. Además de las señales ya discutidas, el espectro de R.M.N. de hidrógeno presenta señales para un doblete (J=7Hz) a 1.05 ppm. y para un singulete a 0.9 ppm. que integran para tres protones cada una, estas señales se asignan a los metilos de la posición 8 y 9 respectivamente.

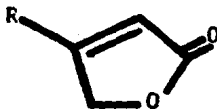
Al hacer reaccionar esta sustancia con dicromato de piridinio se obtiene el derivado oxidado (2a). Las propie---

dades espectroscópicas de esta molécula así como para su derivado oxidado, corresponden con los descritos en la literatura para un producto aislado previamente de *Baccharis trimera*<sup>24</sup>.

El componente más abundante no descrito hasta la fecha en la literatura, es un sólido cristalino con p.f. 203-204°C [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -133 (CHCl<sub>3</sub>). El peso molecular determinado por espectrometría de masas (M<sup>+</sup>362), esta de acuerdo para un compuesto de fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>6</sub>. A este producto se le denominó Semiatria. La estructura (3) propuesta -- para esta sustancia, corresponde a un diterpeno con esqueleto de neoclerodano, de acuerdo con la siguiente evidencia. El espectro de I.R. de la semiatria (espectro # 1), presenta bandas en 3608 y 3455 cm<sup>-1</sup> indicando la presencia de uno o mas grupos oxhidrilo.

En 1776 cm<sup>-1</sup> absorción fuerte característica de una  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$  insaturada, en 1750 cm<sup>-1</sup> banda característica de una función butenólida  $\beta$ -sustituida, y en 1640 cm<sup>-1</sup> de dobles enlaces conjugados. La absorción en el ultravioleta- ( $\lambda$ <sub>max</sub><sup>MeOH</sup> 208 nm,  $\epsilon$ =37931) confirmó la presencia de las -- funciones de  $\gamma$ -lactonas conjugadas ya indicadas por su absorción en el I.R. El espectro de RMN<sup>1</sup>H de la semiatri-

na (espectro # 2) confirma la presencia de la función --  
 butenólida  $\beta$ -sustituida, al observarse las señales caracte-  
 rísticas en 5.9 ppm (dd, 1H,  $J=4$  y 2Hz) y 4.9 ppm (d, 2H,  
 $J=2$ Hz), proponiéndose la estructura parcial (A).

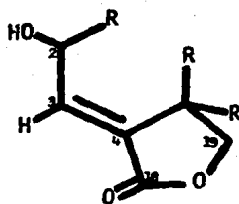


( A )

El espectro de RMN<sup>13</sup>C (tabla A) apoya la presencia de es-  
 ta función, ya que se observa la señal del carbonilo a -  
 175 ppm (singulete), para el carbono tetrasustituido a -  
 173 ppm (singulete) y para el carbono trisustituido del  
 doble enlace a 113 ppm. (doblete) que son las señales --  
 para los carbonos  $\beta$  y  $\alpha$  respectivamente. La señal para -  
 el carbono del metileno se observa a 70.9 ppm. (triplete)  
 La espectrometría de masas apoya la presencia de este --  
 grupo ya que se observa una pérdida de 83 unidades - - -  
 ( $M^+231$ ).



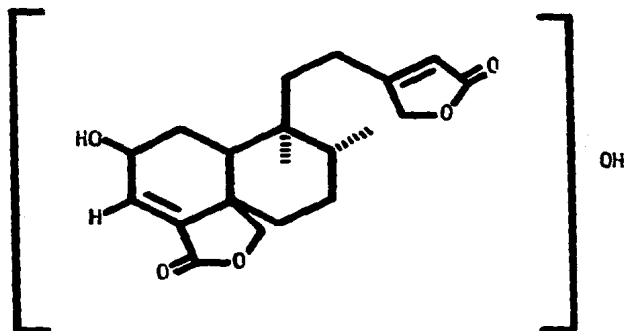
En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro # 2) se observa una -- señal doble centrada a 6.65 ppm. que se asigna por despla-- zamiento químico, al protón  $\beta$  de una  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insa-- turada. La multiplicidad de esta señal (d,  $J=7\text{Hz}$ ) sugiere que la posición vecina se encuentre sustituida y se pro-- pone que en ella se localice uno de los grupos oxhidrilo. Asimismo se observó en este espectro un sistema AB en -- 4.3 ppm. (d,  $J=8\text{Hz}$ ) y 3.9 ppm. (dd,  $J=8$  y  $1\text{Hz}$ ) que se asig-- na a los protones de un metileno unido a un átomo de oxi-- geno y a un átomo de carbono totalmente sustituido. Es-- tos datos sugieren la presencia de la  $\gamma$ -lactona entre -- las posiciones 18 y 19, conjugada con un doble enlace -- entre las posiciones 3 y 4. Por lo tanto la señal a ---- 6.65 ppm. se asigna al protón H-3, esta asignación se ve apoyada por comparación con el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  descrito para la articulina<sup>25</sup> (XXVII) y el sistema AB corresponde a los protones diasterotópicos de la posición 19. Este - tipo de agrupación es común en compuestos diterpénicos - del tipo del clerodano<sup>26</sup>. Con estos datos se propone la - estructura parcial (B).



( B )

Esta estructura parcial (B) se puede confirmar con la -- ayuda de RMN<sup>13</sup>C (tabla A) en la cual la señal para el car bonilo de la  $\gamma$ -lactona se observa a 168.7 ppm. (singulete), las señales de la insaturación se observan a 140.9 ppm. (singulete), y a 133 ppm. (doblete) y se asignan a los carbonos  $\alpha$  y  $\beta$  respectivamente. La señal para el car bono del metileno se observa a 70.2 ppm. (triplete). Además de las señales ya discutidas el espectro de - - - RMN<sup>1</sup>H (espectro # 2) presenta en la región de campo alto a 0.65 ppm. una señal simple y a 0.85 ppm. una señal do- ble ( $J=6\text{Hz}$ ), las cuales integran para 3 protones cada -- una y se asignan al metilo  $\alpha$ -axial de la posición 9, y - al metilo  $\alpha$ -ecuatorial de la posición 8 respectivamente. Estas señales son características de compuestos diterpé-

nicos con esqueleto de clerodano. Finalmente con los datos de las estructuras parciales A y B y lo anteriormente mencionado se propone la estructura parcial (C) faltando por asignar la posición de un grupo oxhidrilo para cumplir con la fórmula molecular.



( C )

En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro # 2) se confirma que la molécula tiene un diol, ya que las señales en 3.2 y 4.25 ppm. intercambian con  $\text{D}_2\text{O}$ . El espectro de masas confirma la presencia de estos grupos ya que se observan dos pérdidas sucesivas de dos moléculas de agua. Queda por asignar la posición del 2º grupo oxhidrilo. La señal sobrepuesta al metileno de la posición 16, a 4.85ppm. -

se asigna al protón geminal de este grupo, el cual se -- considera alílico ya que se encuentra desplazado a campo bajo, lo cual sugiere que este grupo oxhidrilo se localice en la posición 12, por ser la única que cumple con -- las características señaladas (ser alílico y secundario). Esta asignación se ve apoyada por la comparación con los espectros de RMN<sup>2</sup>H descritos para el marrubiaol<sup>27</sup> - - (XXVIII) y la olearina<sup>28</sup> (XXIX).

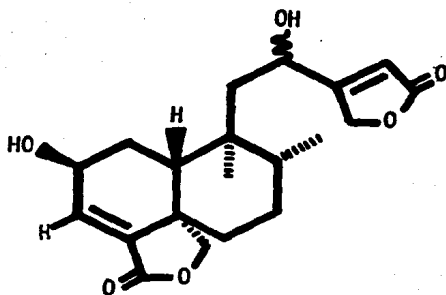
#### ESTEREOQUIMICA

Habiéndose establecido la estructura, se asignará ahora la estereoquímica de la molécula. Al efectuar experimentos de doble resonancia (espectro # 2) en la frecuencia de H-3 (6.65 ppm.), la señal asignada a H-2 (4.55 ppm.) colapsa a un triplete cuyas constantes de acoplamiento - menores de 4Hz, indican interacciones *ecuatorial-ecuatorial* y *ecuatorial-axial* con los protones de la posición 1, lo cual sugiere una orientación *β-axial* para el grupo oxhidrilo de la posición 2. En la literatura se describe frecuentemente que uno de los protones del metileno de - la  $\gamma$ -lactona (el protón *pro-S*) presenta un acoplamiento a larga distancia (tipo  $\omega$ )<sup>29</sup> con el protón de la posición

6 $\beta$ . Este hecho, previamente mencionado, permite proponer una orientación  $\alpha$ -axial para el metileno C-19 y la ausencia de sustituyentes en la posición 6 $\beta$ . Este fenómeno se observa en la mayoría de los clerodanos con fusión de -- anillos A/B *trans*, pero no es exclusivo de ellos<sup>30, 31</sup>.

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H (espectro # 2) se puede observar también una señal correspondiente a un grupo metino. Centrado en 2.5 ppm. como un doblete ancho (J=14Hz) asignado a H-10. El desplazamiento químico que sufre esta señal a campo bajo ( $\Delta\delta=0.25$ ) en Piridina-d<sub>5</sub> (espectro # 3), se puede explicar si asumimos que presenta una desprotección paramagnética por el grupo oxhidrilo de la posición 2. El análisis de un modelo molecular de la semiatrina, revela que esto es posible sólo si H-10 y el grupo oxhidrilo de la posición 2. Tienen orientación  $\beta$ . Por lo tanto la fusión de anillos A/B debe ser *trans*.

La discusión anterior permite asignar la configuración - en los centros quirales C-5 (S), C-8 (S), C-9 (R), C-10 (R). Falta por asignar la configuración en C-12.



La presencia de los alcoholes secundarios en la molécula, se confirmó, al obtener el derivado diacetilado (3a), bajo las condiciones normales de acetilación (piridina-anhídrido acético), el cual muestra un p.f. 191-192°C, - - -  $[\alpha]_D^{20} = -198.5$  ( $\text{CHCl}_3$ ). Su peso molecular ( $M^+ 446$ ) presenta una ganancia de 84 unidades. En el espectro de I.R. (espectro # 4) se observa la ausencia de bandas para grupos oxhidrilos. Asimismo se observa a 1752 y 1781 banda ancha y fina respectivamente para carbonilos de  $\gamma$ -lactona  $\alpha, \beta$  - insaturada y de ésteres (acetatos) formados y en 1640 y - 1660  $\text{cm}^{-1}$  de dobles enlaces conjugados. En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  (espectro # 5) se observan como cambios significativos con respecto al producto original,

la ausencia de las señales de los protones de los grupos OH. Asimismo se observa el desplazamiento de las señales de 4.85 y 4.55 ppm. hasta 5.7 ppm ( $t_a, J=8\text{Hz}$ ) y 5.35 ppm. ( $d_t, J=6$  y  $3\text{Hz}$ ) las cuales corresponden a los protones geminales de los acetatos del derivado diacetilado (3a). Desplazamientos similares se observaron anteriormente en los acetatos de la articulina y el marrubiastról, lo - - cual apoya que los grupos OH se encuentren sobre el C-2 y C-12. Se puede observar en este espectro, la señal para dos metilos correspondientes al derivado diacetilado en 2.1 y 2.07 ppm. (singulete). Finalmente, el espectro de masas muestra las pérdidas de dos moléculas de ácido acético.

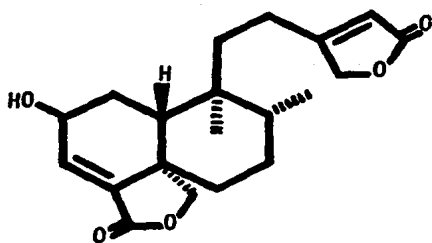
La hidrogenación catalítica en condiciones suaves (temp. amb. AcOEt) de la semiatrina produce el tetrahidro derivado (3b). El cual presenta un p.f. 177-179°C y un peso molecular ( $M^+$  366). Presenta una ganancia de 4 unidades, lo que confirma la saturación de los dos dobles enlaces. En el espectro de I.R. (espectro # 6) se observa la ausencia de la banda en  $1640\text{ cm}^{-1}$  la cual se atribuye a -- los dobles enlaces conjugados. En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  - (espectro # 7), se observa la ausencia de señales para -

protones vinílicos, presentándose una señal compleja entre 4.35-3.9 ppm. (6H) que se asigna a los protones unidos a carbonos unidos a oxígenos. En el espectro de masas se observa una pérdida de 85 unidades, la cual se -- asigna a la pérdida de la  $\gamma$ -lactona saturada (antes función butenólida). El resultado de la hidrogenación produce la mezcla de epimeros en C-13.

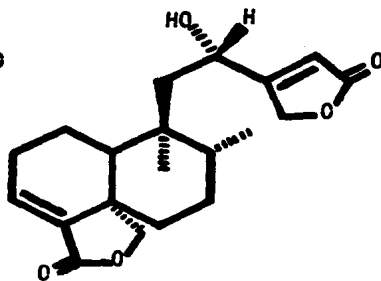
La acetilación del tetrahidro derivado (3b) (piridina- - anhídrido acético) produce el diacetato tetrahidrogenado (3c). El cual presenta un p.f. 182-185°C y un peso molecular ( $M^+$  450) presenta una ganancia de 84 unidades, lo - - cual comprueba que se obtuvo el producto diacetilado. En el espectro de I.R. (espectro # 8), se observa la ausencia de bandas para grupos OH, así como la presencia de - una nueva banda en  $1736\text{ cm}^{-1}$  (carbonilos de ésteres) - - asignada al diacetato formado. En el espectro de  $\text{RMN}^1\text{H}$  - (espectro # 9), se observan como cambios significativos, el desplazamiento de los protones base de los grupos OH, hasta 5.15 ppm. mostrándose ahora como un multiplete ancho que integra para dos protones gem de acetatos, localizándose los correspondientes metilos en 2.5 y 2.1 ppm. Queda sólo por asignar la configuración del centro - - -



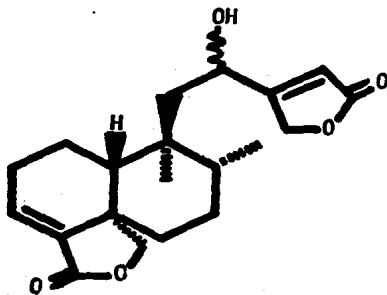
quiral 12, la cual no se puede determinar por medio de  $RMN^1H$  y  $C^{13}$ . Por esta razón se recurrió a un análisis por difracción de rayos X (estereoproyección # 1) la cual -- confirma las asignaciones de estructura y estereoquímica descritas y permite asignar al centro quiral 12 la configuración (S).



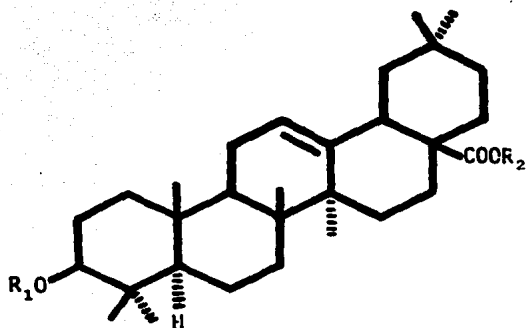
XXVII



XXVIII

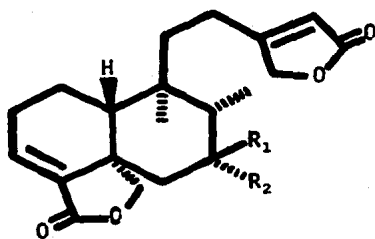


XXIX



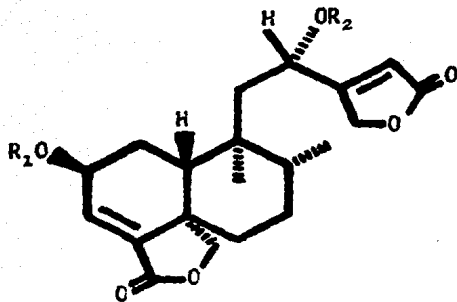
1  $R_1=R_2=H$

1a  $R_1=H; R_2=Me$



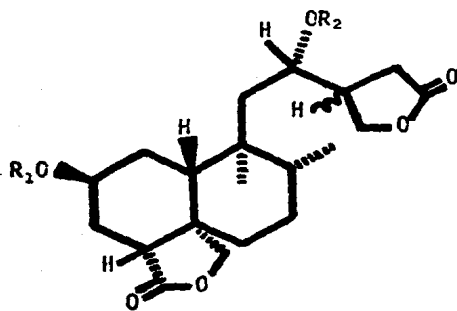
2  $R_1=H; R_2=OH$

2a  $R_1; R_2 = \text{---} O$



3 R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H

3a R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=Ac



3b R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=H

3c R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=Ac

C-13 mezcla de epimeros.

T A B L A ( A )

30

Desplazamientos Químicos RMN<sup>13</sup>C

<u>CARBON No.</u>	<u>SEMIATRINA</u>	<u>DIACETATO DE SEMIATRINA</u>
C-1	27.38 (t)	27.78 (t)
C-2	63.8 (d)*	66.65 (d)*
C-3	133.1 (d)	128.57 (d)
C-4	140.9 (s)	143.69 (s)
C-5	45.4 (s)	45.56 (s)
C-6	33.28 (t)	33.89 (t)
C-7	27.38 (t)	25.38 (t)
C-8	37.10 (d)	38.83 (d)
C-9	43.8 (s)	38.9 (s)
C-10	40.45 (d)	42.49 (d)
C-11	38.26 (t)	41.22 (t)
C-12	62.6 (d)*	66.27 (d)*
C-13	173.3 (s)	170.11 (s)
C-14	113.3 (d)	117.41 (d)
C-15	175.6 (s)	172.35 (s)
C-16	70.9 (t)	70.66 (t)
C-17	15.71 (q)	15.96 (q)
C-18	168.7 (s)	168.01 (s)
C-19	70.28 (t)	70.39 (t)
C-20	16.4 (q)	16.63 (q)
OCOCH <sub>3</sub>	- - - - -	168.07, 169.69 (s)
OCOCH <sub>3</sub>	- - - - -	20.83, 20.83 (q)

\* Los valores en la columna vertical pueden ser intercambiables, pero estos se consideran las mas probables. La multiplicidad esta en paréntesis. Las asignaciones de RMN<sup>13</sup>C fueron basadas en datos descritos para estructuras de neo-clerodano.

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS RMN<sup>1</sup>H

	<u>CDC1<sub>3</sub></u>	<u>C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N</u>	<u>Δδ</u>
H-1α	- - - -	1.30 dt (14,3)	- - - -
H-1β	- - - -	1.80 dd (14,3)	- - - -
H-2	4.55 dt (7,3)	4.60 m	0.5
H-3	6.65 d (7)	6.90 d (7)	0.25
H-10	2.50 d (14)	2.75 d (14)	0.25
H-12	4.85 m	4.60 m	-0.25
H-14	5.90 dd (4,2)	6.20 dd (4,2)	0.30
H-16	4.85 d 2H (2)	5.10 d 2H (2)	0.25
H-19β	4.30 d (8)	4.35 d (8)	0.5
H-19α	3.9 dd (8,1)	3.95 dd (8,1)	0.5
Me-17	0.85 d 3H (6)	0.80 d 3H (6)	0.5
Me-20	0.65 3H	0.60 3H	0.5

Los desplazamientos quimicos son dados en ppm, usando co  
mo referencia interna TMS.A 80 MHz. La constante de aco  
plamiento (J) está dada entre parentésis.

TABLA ( C )

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS RMN<sup>1</sup>H

	2	2a	3	3a
H-2	- - -	- - -	4.55 dt (7)	5.35 dt (7)
H-3	6.85 dd (8,3)	6.85 dd (8,3)	6.65 d (7)	6.75 d (7)
H-7	4.1 dd (6,3)	- - -	- - -	- - -
H-12	- - -	- - -	4.85 m	5.7 ta (6)
H-14	5.85 t (1)	5.9 t (1)	5.9 dd (4,2)	6.05 t (2)
H-16	4.7 d 2H (2)	4.75 d 2H (2)	4.85 d 2H (2)	4.85 t 2H (2)
H-19 $\beta$	5.25 d (8)	3.95 t 2H (1)	4.3 d (8)	4.3 d (8)
H-19 $\alpha$	3.85 dd (8,1)	- - -	3.9 dd (8,1)	3.85 dd (8,1)
Me-17	1.05 d 3H (7)	1.05 d 3H (7)	0.85 d 3H (6)	0.85 d 3H (6)
Me-20	0.9 s 3H	0.7 s 3H	0.65 s 3H	0.65 s 3H
OAc	- - -	- - -	- - -	2.07 s
OAc	- - -	- - -	- - -	2.1 s

Los desplazamientos quimicos son dados en ppm, usando como referencia interna TMS. A 80 MHz. La constante de acoplamiento (J) está dada entre parentésis.

**C O N C L U S I O N E S**

## C O N C L U S I O N E S

Del estudio fitoquímico de *Salvia semiatratha* Zucc. se llegó a las siguientes conclusiones :

- 1.- Se aislaron un triterpeno y dos diterpenos con esqueleto de neoclerodano, uno de ellos nuevo denominado Semiatrina.
- 2.- La estructura y estereoquímica fué determinada por medios espectroscópicos, y a la Semiatrina se le --- realizó un análisis por difracción de rayos X.



Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato - Fisher-Jones y no están corregidos.

Para las cromatografías en columna se utilizó sílica gel 60 Merck (70-230 mesh ASTM).

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina de gel de sílice Merck F-254, usando como relevador sulfato de cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Los espectros de I.R. fueron corridos en cloroformo, en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 337 y en un espectrofotómetro Nicolet FT 5X de un sólo haz.

La rotación óptica fué determinada en un polarímetro --- Perkin-Elmer 241.

Los espectros de U.V. fueron realizados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 202.

Los espectros de RMN <sup>1</sup>H y C <sup>13</sup> fueron realizados en un --- espectrómetro FT-80 Varian. Los experimentos de doble resonancia se efectuaron con ayuda de un audio-oscilador Wavetek Mod. 171. Los desplazamientos químicos están dados en ppm, utilizando como referencia interna TMS.

Los espectros de masas fueron realizados en un espectrómetro Hitachi Perkin-Elmer 6 D de doble foco.

El análisis elemental fué efectuado por el Dr. Franz --- Pascher, en Bonn, República Federal Alemana.

PARTE EXPERIMENTAL

## P A R T E E X P E R I M E N T A L

La *Salvia Semiatratha* Zucc. Se recolectó en Diciembre de 1983, en el estado de Oaxaca, 3Km. al Norte de Nochistlán. La clasificación de la planta la realizó el Dr. Ramamoorthy, quedando una muestra en el Herbario del Instituto de Biología, Voucher Mexu 379088.

Las hojas secas 600g se extrajeron con acetona a temperatura ambiente durante una semana.

El extracto crudo fue concentrado a vacío obteniéndose 38.9g de extracto, el cual se cromatografió en una columna empacado con gel de sílice (500g desactivada con 10% agua), eluyéndose con mezclas de hexano-AcOEt y AcOEt-metanol de polaridad ascendente. De las primeras fracciones eluidas con hexano se obtuvieron 8.9g de un producto sólido amorfo blanco (1) (recristalizado en metanol éter isopropílico), que presenta en el espectro de I.R.  $\nu$  max: 3620(oxhidrilo), 2950, 1700(ácido carboxílico), 1390 y 1030  $\text{cm}^{-1}$ . A 200mg del producto (1) disueltos en éter etílico se le adicionó una solución etérea de diazometano -

para eliminar el exceso de este, se le adicionó ácido acético hasta pH ligeramente ácido se diluyó con acetato de etilo, se lavó con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , y agua hasta pH neutro, se secó la solución con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a vacío, obteniéndose 180mg del éster metílico (1a) sólido amorfo blanco con p.f.  $189-191^\circ\text{C}$  (recristalizado en cloroformo-éter isopropílico), que presenta en el espectro de I.R.  $\nu$  max:  $3600$ (oxhidrilo),  $2950$ ,  $2860$ ,  $1730$ (éster),  $1465$ ,  $1385$   $1160$ ,  $1025$  y  $760$   $\text{cm}^{-1}$ . (I.R. comparativo con muestra auténtica), las propiedades espectroscópicas (I.R.  $\text{RMN}^1\text{H}$ , E.M.) corresponden con las descritas para el éster metílico del ácido oleanólico (1). De las primeras fracciones eluidas con mezclas de hexano AcOEt (4:1) se obtuvieron 157mg de un producto (2) sólido blanco con p.f.  $186-187^\circ\text{C}$  (recristalizado en acetona-hexano). Las propiedades espectroscópicas que a continuación se describen están de acuerdo con las reportadas para un diterpeno aislado previamente de la *Baccharis trimera*. El espectro de I.R.  $\nu$  max:  $3626$ --- (oxhidrilo),  $1751$ (carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\beta$  sustituida),  $1662$  y  $1640$   $\text{cm}^{-1}$  (dobles ligaduras conjugadas);  $\text{RMN}^1\text{H}$   $\delta$ :  $6.9$ (dd,  $J=3$  y  $8\text{Hz}$   $1\text{H}$ , H-3),  $5.85$ (t,  $J=1\text{Hz}$ ,  $1\text{H}$ , H-14),  $5.25$

(d, J=8Hz, 1H, H19 $\beta$ ), 385(dd, J=8 y 1Hz, H-19 $\alpha$ ) (forman sistema AB) 4.7(d, J=1Hz, 2H, H-16), 4.1(dd, J=3 y 6Hz, 1H, H-7) 1.05(d, J=7Hz, 3H Me en C-8), 0.9(s, 3H, Me en C-9). E.M. - fragmentos a m/z 346(m<sup>+</sup>2.0), 329(2.2), 328(4.5), 316(20), 299(20), 298(8.60), 233(30), 219(10), 203(1.2), 201(25), 91(100), 77(86), 55(86), 41(97),  $[\alpha]_D^{20} = -163^\circ$  (c.0.22mg/ml, CHCl<sub>3</sub>).

De las siguientes fracciones eluidas a la misma polaridad se obtuvieron 3.552g de un producto (3) sólido blanco denominado Semiatria con p.f. 203-204°C (recristalizado de AcOEt-hexano). Que presenta en I.R. (espectro # 1)  $\nu$  max: 3608 y 3465 (oxhidrilo), 1776 y 1750 (carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\beta$  sustituidas), 1640 cm<sup>-1</sup> (dobles enlaces conjugados). RMN<sup>1</sup>H (espectro # 2)  $\delta$ : 6.65 (d, J=7Hz, -- 1H, H-3), 5.9(dd, J=4 y 2Hz, 1H, H-14), 4.85 (d, J=2Hz, 2H, -- H16), 4.5(dt, J=7 y 3Hz, 1H, 1H, H-2), 4.3(d, J=8Hz, 1H, -- H-19 $\beta$ ), 3.9(dd, J=8 y 1Hz, 1H, H19 $\alpha$ ), (forman sistema AB), 4.25 (señal sobrepuesta, intercambiable con D<sub>2</sub>O-OH en -- C-2), 3.2(s, 1H, OH en C-12), 0.85(d, J=6Hz, 3H Me en C-8), 0.65(s, 3H Me en C-9), RMN<sup>13</sup>C ver tabla A. E.M. Fragmento a m/z 362 (m<sup>+</sup>0.6), 344(2.3), 326(0.7), 296(1.0), ---- 250(5), 233(0.7), 232(10), 216(9), 187(20), 186(40), - -

158(50), 148(30), 91(60), 83(30), 79(40), 55(100).

Análisis Elemental: Encontrado C,66.42, H,7.45

Calculado para  $C_{20}H_{26}O_6$ : C,66.28, H,7.23

$[\alpha]_D^{20} = -133^\circ$  (c 0.2mg/ml,  $CHCl_3$ ), UV  $\lambda_{max}^{MeOH}$  208nm. ( $\epsilon=37931$ ).

### OXIDACION DEL PRODUCTO ( 2 )

El producto (2) 30mg disueltos en 10ml. de cloruro de metileno, fueron tratados con 49.5mg de dicromato de piridinio (1:5meq.) la reacción se dejó 24hrs. a temperatura ambiente con agitación continua. Pasado este tiempo, la reacción se detuvo pasando la mezcla de reacción por una columna pequeña empacada de sílice eluyéndola con cloruro de metileno, se secó con  $Na_2SO_4$  anhidro y se concentró a vacío. El producto resultante (2a) sólido blanco - de p.f.  $77^\circ C$  (recristalizado en AcOEt-hexano), presenta en I.R.  $\nu_{max}$ : 1778 y 1752 (carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\beta$ -sustituida), 1713(carbonilo de cetona), 1665 y 1641  $cm^{-1}$ . - (dobles ligaduras conjugadas).  $RMN^1H$   $\delta$ : 6.85(dd,  $J=8$  y -- 3Hz, 1H, H-3), 5.9(t,  $J=1Hz$ , 1H, H-14), 4.75(d,  $J=1Hz$ , 2H, H-16), 3.95(t,  $J=1Hz$ , 2H, H-19), 1.05(d,  $J=7Hz$ , 3H, Me en C-8), 0.7 - (s, 3H, Me en C-9). E.M. fragmentos a  $m/z$  345( $M^+5.0$ ), - -

329(7.0), 316(1.0), 299(5.2), 233(21.0), 219(1.2), 201 -  
(73.0), 91(100), 77(23.0), 41(31.0).

### ACETILACION DEL PRODUCTO ( 3 )

El producto (3) 200mg, se le adicionaron 2.0ml. de piridina destilada y 2.0ml. de anhídrido acético destilado. Se dejó por 4hrs. a temperatura ambiente. Pasado el tiempo de reacción, se eliminó la piridina y el ácido acético por destilación a vacío. Se disolvió en 30ml. de acetato de etilo y por último se lavó con agua destilada se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a vacío. Se obtuvieron 197mg del diacetato de semiatrina (3a) sólido - - blanco con p.f. 191-192°C (recristalizado de cloruro de metileno éter isopropílico), que presenta en I.R. (espectro # 4)  $\nu$  max: 1781 y 1752 (carbonilos de  $\gamma$ -lactona - -  $\alpha, \beta$  insaturada y  $\beta$  sustituida y de ésteres (acetatos), - 1667 y 1644  $\text{cm}^{-1}$ . (dobles ligaduras conjugadas).  
RMN<sup>1</sup>H (espectro # 5)  $\delta$ : 6.75(d, J=7Hz, 1H, H-3), 6.05- - - (t, J=2Hz, 1H, H-14), 5.7(t, J=6Hz, 1H, H-12), 5.35(dt, J=7 y - 3Hz, 1H, H-2), 4.85(t, J=2Hz, 2H, 2H-16), 4.3(d, J=8Hz, 1H, - - H-19 $\beta$ ) y 3.85(dd, J=8 y 1Hz, 1H, H-19 $\alpha$ ) (forman sistema AB),

2.1(s,3H,CH<sub>3</sub>CO-R), 2.07(s,3H,CH<sub>3</sub>CO-R), 0.85(d,J=6Hz,3H - Me en C-8), 0.65(s,3H Me en C-9). RMN<sup>13</sup>C (tabla A).

E.M. fragmentos a m/z: 446(M<sup>+</sup>11.8), 404(13.4), 386(5.0), 362(5.0), 344(15.0), 327(4.0), 326(5.0), 235(15.0), 234 (14.0), 186(10.0), 185(40.0), 173(20.0), 159(15.0), 158 (20.0), 105(50.0), 79(46.0), 77(43.0), 91(100).

C<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub> requiere M<sup>+</sup> en 446.  $[\alpha]_D^{20} = -198.5$  (c.02mg/ml, CHCl<sub>3</sub>)  
 UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$  208nm ( $\epsilon=4500$ ).

#### HIDROGENACION CATALITICA DEL PRODUCTO ( 3 ):

El producto (3) 200mg disuelto en acetato de etilo fué - hidrogenado cataliticamente usando 50mg de Pd/c (10% pre hidrogenado), durante 30hrs. después de filtrar para eli minar el catalizador y concentrar a vacuo se obtuvieron 176.3mg de un producto (3b) sólido blanco de p.f. - - - 177-179°C (recristalizado en AcOEt), presenta en I.R. -- (espectro # 6),  $\nu_{\text{max}}$ : 3614 y 3482(oxhidrilo), 1771 cm<sup>-1</sup>. (carbonilo de  $\gamma$ -lactona saturada), RMN<sup>1</sup>H (espectro # 7)  $\delta$ : 4.35(m,5H,2H-16,2H-19 y H-12), 3.9(m,1H,H-2), 2.85 -- (s,2H,OH en C-2 y C-12), 0.85(d,J=6Hz,3H, Me en C-8), --



0.6(s,3H, Me en C-9). E.M. fragmentos a m/z 366 ( $m^+0.5$ ), 365(0.4), 348(4.0), 330(8.0), 265(10.0), 218(25.0), 173 (20.0), 135(20.0), 117(25.0), 115(20.0), 91(30.0), 69- - (40.0), 57(40.0), 55(80.0), 43(50.0), 41(100).

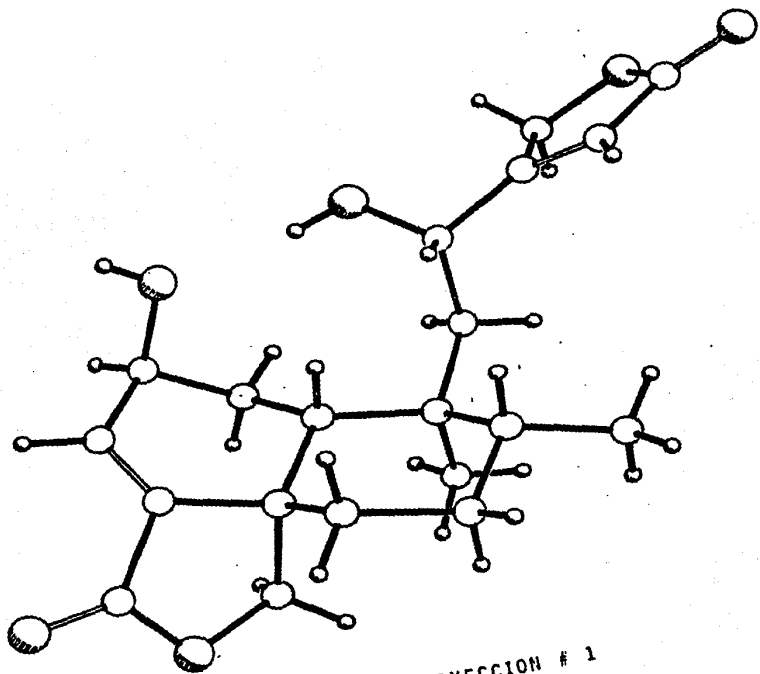
$C_{26}H_{26}O_6$  requiere  $M^+$  en 366.

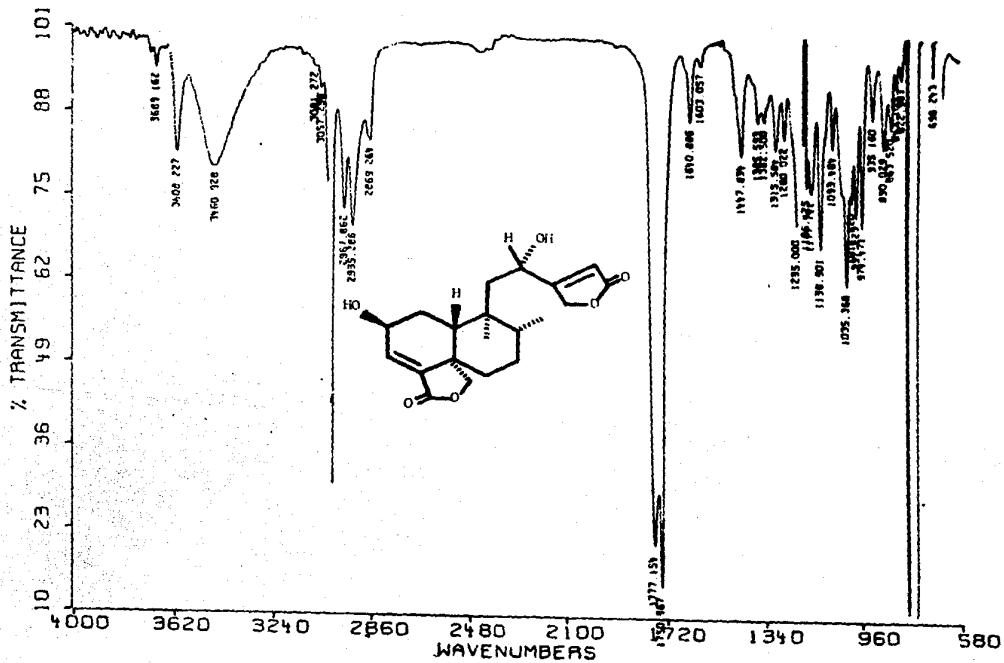
#### ACETILACION DEL PRODUCTO ( 3b )

A 60mg del producto tetrahidrogenado (3b) se le adiciona rón 1.0ml. de piridina destilada y 1.0ml. de anhídrido - acético destilado. Se dejo reaccionar a temperatura am-- biente durante 20hrs. después del tratamiento usual de - las acetilaciones, se obtuvieron 55mg del producto tetra hidrogenado diacetilado (3c) sólido blanco con p.f. - - 183-185°C (recristalizado de hexano-acetona), que presen ta en I.R. (espectro # 8)  $\nu$  max; 1777(carbonilo de  $\gamma$ -lac tona saturada), 1736  $cm^{-1}$ . (carbonilo de ésteres, aceta-- tos). RMN<sup>1</sup>H (espectro # 9)  $\delta$ : 5.15(m,2H,H-2 y H-12), 4.2 (m,4H,2H-16 y 2H-19), 2.05(s,3H,CH<sub>3</sub>COO-R), 2.04 - - - - (s,3H,CH<sub>3</sub>COO-R), 2.01(s,3H,CH<sub>3</sub>COO-R), 0.85(d,J=6Hz,3H, - Me en C-8), 0.6(s,3H Me en C-9).

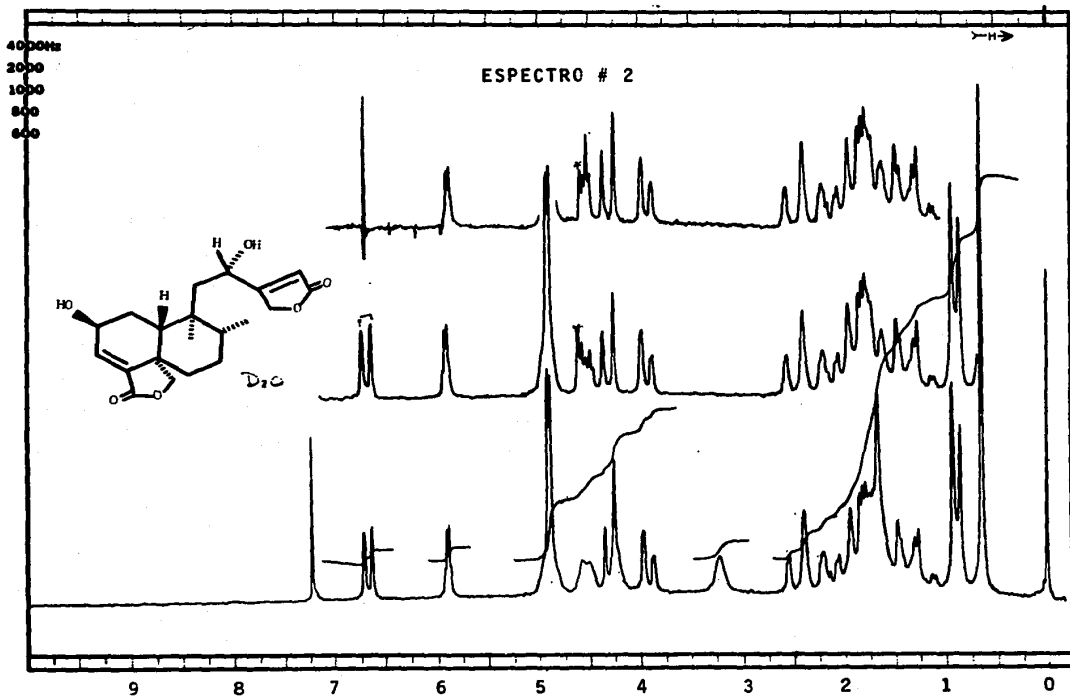
E.M. fragmentos a  $m/z$  408(0.2), 407(0.9), 391(0.8), 390  
(2.6), 372(0.9), 330(1.0), 219(10.0), 173(10.0), 91(20.0)  
43(100).  $C_{24}H_{34}O_8$  requiere  $M^+$  a 450(no observado).

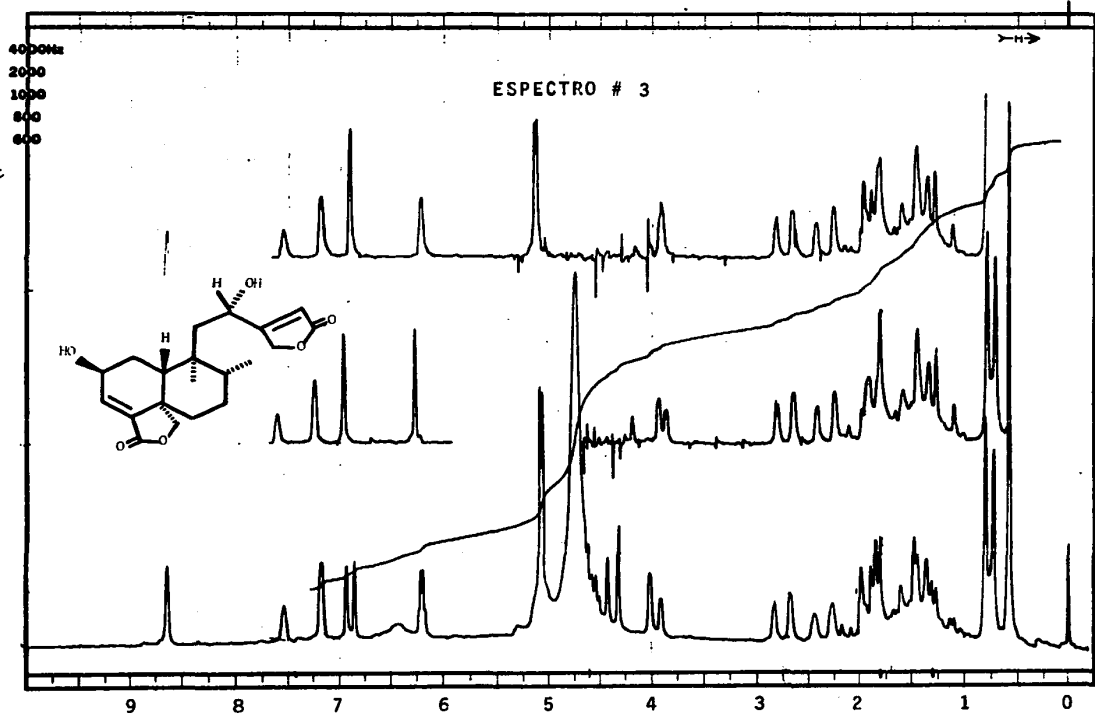
ESPECTROS





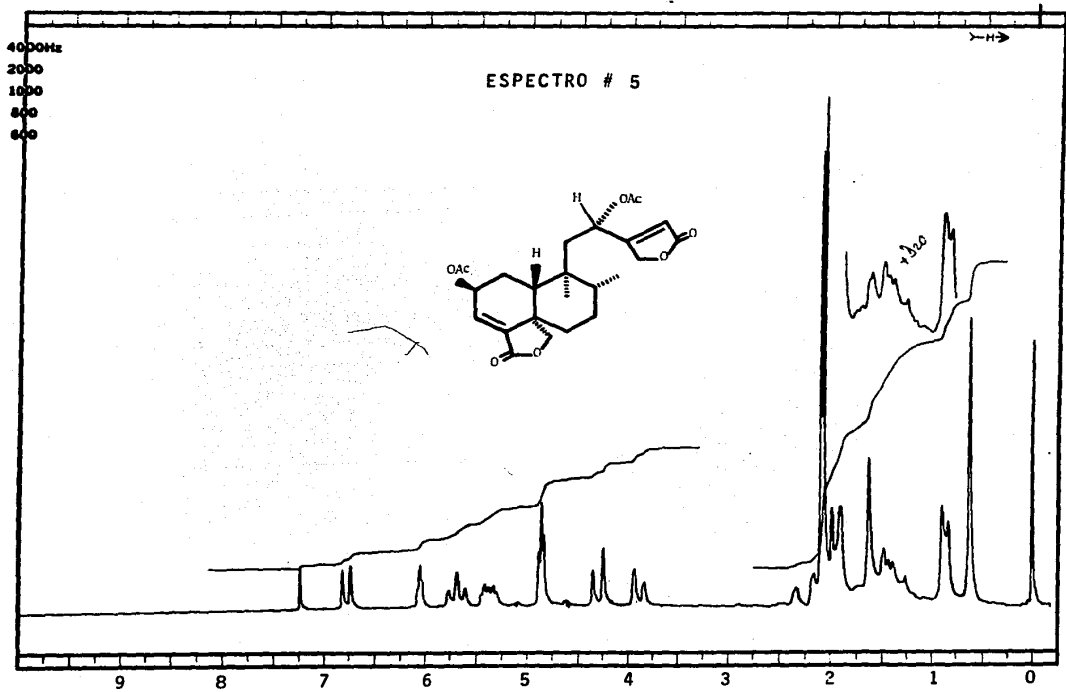
ESPECTRO # 1

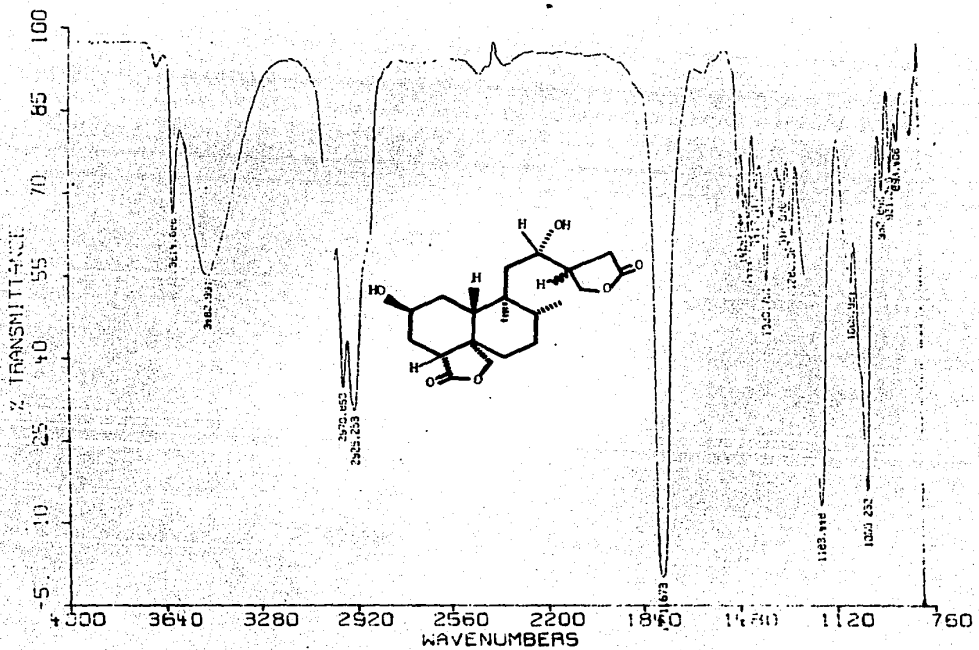




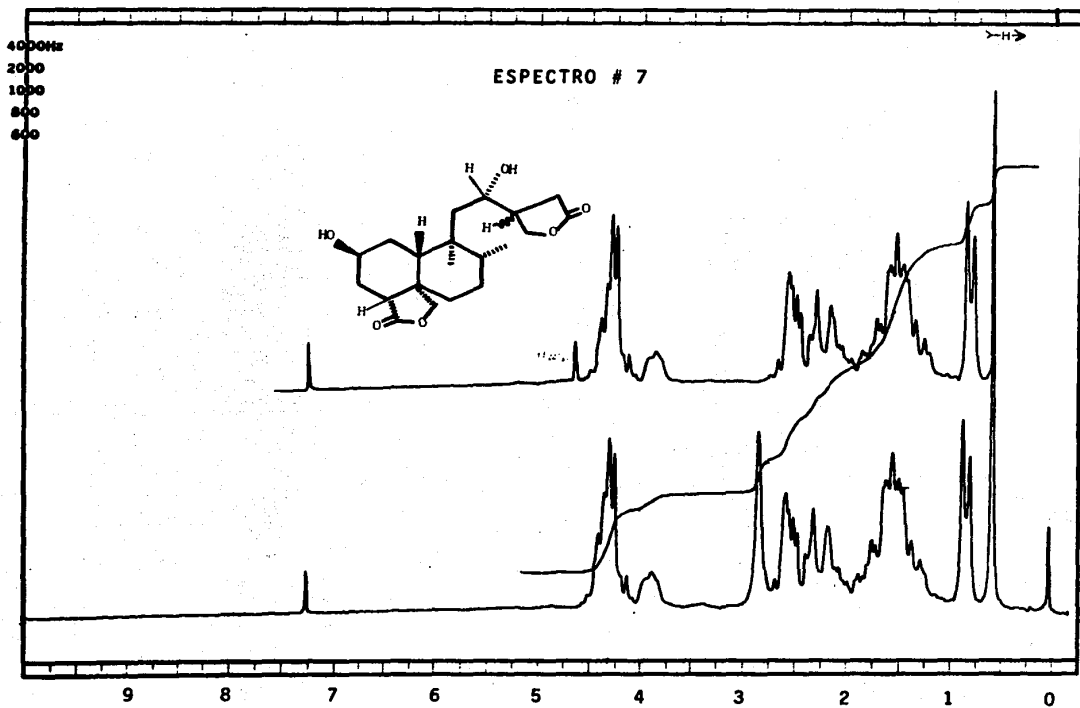


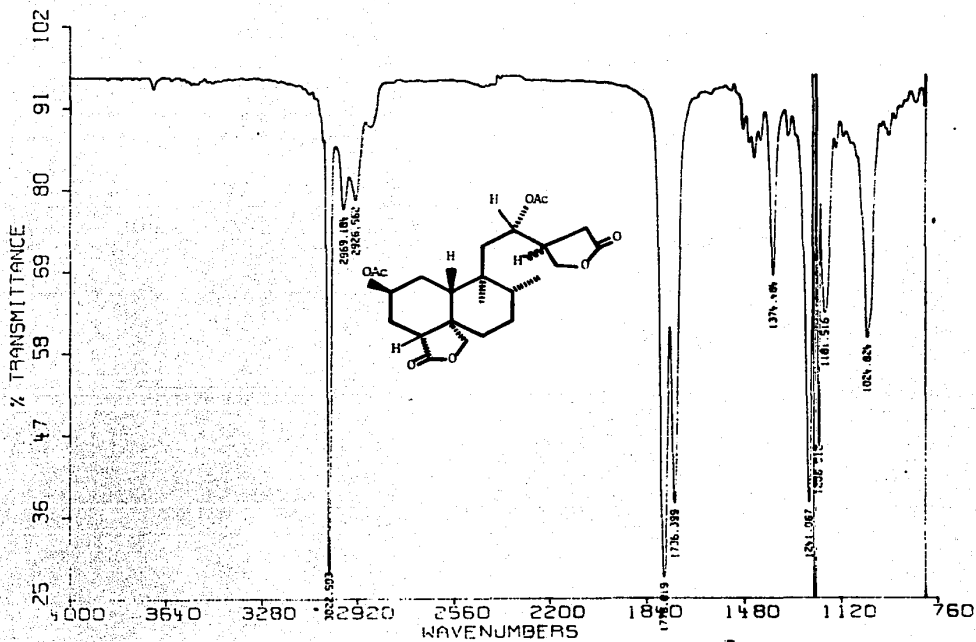




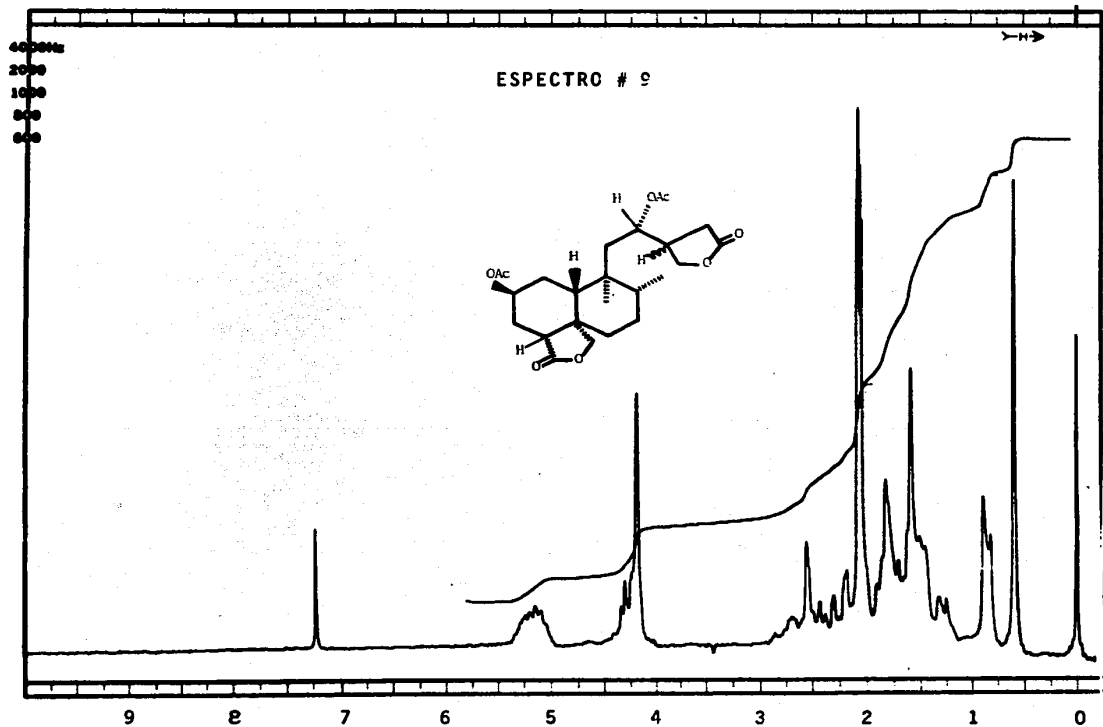


ESPECTR # 6





ESPECTRO # 8



## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Economic Botany, McGraw-Hill. N.Y. Hill, A. 1952
- 2.- Lozoya, X.L. Edo. actual del conocimiento de plantas medicinales mexicanas. IMEPLANA. México 103, 1976.
- 3.- Rzedowski, J., Vegetación de México. Editorial Limusa (1978).
- 4.- Ruzicka, L. Experientia 9 357 (1953).
- 5.- Bernseld, Peter, Biogénesis of Natura Compounds - Cap. 14, Macmillan C. N.Y. (1963).
- 6.- Nakanashi, K., Goto Toshio, Ho Sha., Natural Products Chemistry, Vol. 1, Academic Press, Inc. - - N.Y. and London (1974).
- 7.- Newman, A.A. Chemistry of terpenes and terpenoides Academic Press (1972).
- 8.- Brian, P.W., Grove, J.F. and Macmillan, J., Proy, chem. Org. Nat. Prod. 18 350 (1960).
- 9.- Hanson, J.R., Terpenoids and Steroids, Specialist Periodical Report, The Chemical Society, Vol. 9
- 10.- Warner H. Rev. Latioamer., Quim. 8, 16 (1977).
- 11.- Morris S.A., Karfm J.A.C.S., 90 5923 (1968).

- 12.- Morris S., W. Court, J.A.C.S., 94 7194 (1972).
- 13.- Fujita, E. Nuyao, Y., Node, M., Kane., J., Nakaza  
wa, S. and Kuroda, H. *Experientia* 15 203 (1976).
- 14.- Fujita, E. T.H. Katayawa, M. Shibuya and T. Shin-  
gu, *J. Chem. Soc.* 1674 (1970).
- 15.- *Ibid.*, Ref. 12
- 16.- Paul, T.C., Sim., G.A., Hamor. T.A. and Montesth  
R.J., *J. Chem. Soc.* 4133 (1962).
- 17.- Barton, D.H.R. Cheung, H.T., Cross, A.D. Kackman  
L.M. an Martin-Smith, M., *J. Chem Soc.*, 5061 - -  
(1961).
- 18.- Rodrfiguez-Hahn, L., Martfnez, G., Romo, J., *Rev*  
*Latinoamer. Qufm.*, 4, 93 (1973).
- 19.- Bell, F., D.Sc., F.R.I.C., F.R.S.E, *Chemistry and*  
*Industry* 897 (1954).
- 20.- Epling C.A. *revisión of Salvia Subgenus Calospha-*  
*ce. Repet. Spec Nov. Regni. Veg. Beih* 110:1939.
- 21.- Se agradece al M. en C. Baldomero Esquivel R., el  
haber proporcionado una muestra auténtica del - -  
éster metílico del ac. oleanólico.
- 22.- Huneck, S., *Tetrahecron*, 19, 479 (1973).
- 23.- Pettit, G.R. Klinger, H., Jorgensen, N.N. and - -  
Occolowitz, J., *Steroids and related natural pro-*  
*ducts. Phytochemistry*, 5, 301 (1966).

- 24.- Herz W., Pilotti A.M., Soderholm A.C., Shuhama --  
I.K. Vichnewski W.J. Org. Chem 24 3913 (1977).
- 25.- Stapel, G., Menssen, H.G. and Snatzke, G., Planta  
med., 38 366 (1980).
- 26.- Hanson J.R. (1981) Terpenoids and Steroids Specia  
list Periodfcal Reports Vol. II y volumen es pre--  
vios. The Chemical Society London.
- 27.- Tschesche, R. and Steuff, B. Chem. Ber., III, - -  
2130 (1978).
- 28.- Pinhey; J.T., Simpson, R.F., and Batey, I.L., - -  
Austral. J. Chem. 24, 2621 (1979).
- 29.- Shoolery, James N., Nuclear Magnetic resonance, -  
No. 12, (1980).
- 30.- Warner H., Sertz R., Latter H., Herz W. J. Org. -  
Chem. 43 3339 (1978).
- 31.- Savona G. Paternestro M., Piozzi F., Hanson J.J.  
Chem. Soc. Perkin Trans I. 533 (1973).