

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA



ESTUDIO ESTEREOQUIMICO POR RMN DE LAS
PEROXISOMICINAS, ISOPEROXISOMICINAS Y
TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS
DEL GENERO *Karwinskia*

Por

M. C. VERONICA MAYELA RIVAS GALINDO

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Biomédica

NOVIEMBRE DE 2001

M. C. VERONICA MAYELA RIVAS GALINDO

TD
QH603
.P47
R5
c.1



1080094703

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE MEDICINA

FACULTAD DE MEDICINA



ESTUDIO ESTEREOQUÍMICO POR RMN DE LAS
PEROXISOMICINAS, ISOPEROXISOMICINAS Y
TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS
DEL GÉNERO *Karwinskita*

Por

M. C. VERONICA MAYELA RIVAS GALINDO

Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Biomédica



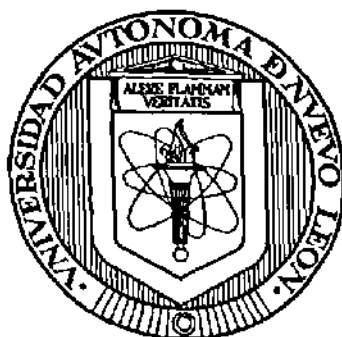
NOVIEMBRE DE 2001

Q 6



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



**ESTUDIO ESTEREOQUÍMICO POR RMN DE LAS PEROXISOMICINAS,
ISOPEROXISOMICINAS Y TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS DEL
GÉNERO *Karwinskia***

Por

M. C. VERÓNICA MAYELA RIVAS GALINDO

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en
Química Biomédica**

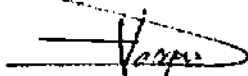
Noviembre de 2001

**ESTUDIO ESTEREOQUIMICO POR RMN DE LAS PEROXISOMICINAS,
ISOPEROXISOMICINAS Y TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS DEL
GENERO *Karwinskia***

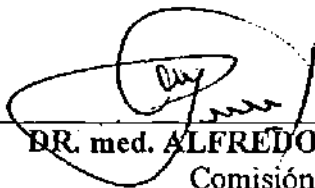
Aprobación de la Tesis:



DRA. NOEMI WAKSMAN DE TORRES
Director de Tesis



DR. DAVID VARGAS ELORRIAGA
Co-Director de Tesis



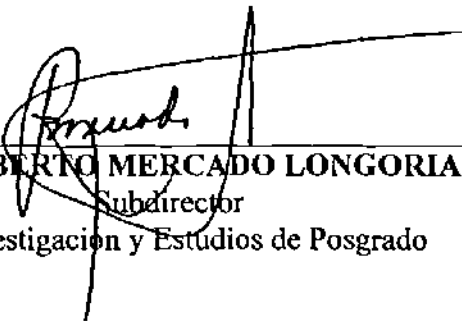
DR. med. ALFREDO PIÑEYRO LOPEZ
Comisión de Tesis



DRA. MARIA JULIA VERDE STAR
Comisión de Tesis



DR. ARMANDO GARCIA LUNA
Comisión de Tesis



DR. ROBERTO MERCADO LONGORIA
Subdirector
de Investigación y Estudios de Posgrado

**“ESTUDIO ESTEREOQUÍMICO POR RMN DE LAS PEROXISOMICINAS,
ISOPEROXISOMICINAS Y TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS DEL
GÉNERO *Karwinskia*”**

Presentado por:

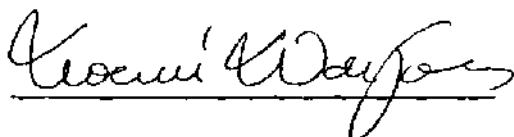
M. C. Verónica Mayela Rivas Galindo

Este trabajo se realizó en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la asesoría de la Doctora Noemí Waksman de Torres y la coasesoría del Doctor David Vargas Elorriaga.

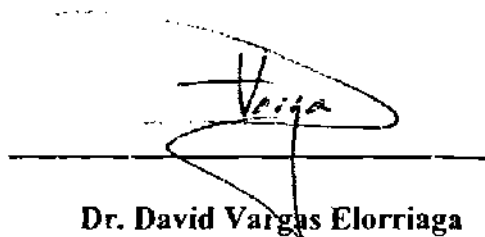
FIRMAS

Asesor

Coasesor



Dra. Noemí Waksman de Torres



Dr. David Vargas Elorriaga

AGRADECIMIENTOS

A la Dra Noemí Waksman de Torres

Con mucho cariño. Y sigo en lo mismo, aún no encuentro las palabras adecuadas para agradecerle todo y creo que nunca las voy a encontrar. Pero una cosa si le voy a decir: que voy a hacer todo lo posible por no defraudarla y que siempre estaré a su lado (lo cual no se si le convenga).

Al Dr. Alfredo Piñeyro López

Pocas personas en la vida existen como usted. Créame que me siento muy orgullosa y afortunada de haberlo conocido y haber estado trabajando en el Departamento de "Farma". Le doy las gracias por todos sus consejos, por su apoyo y por su fino trato hacia mi persona.

A todos mis Maestros

Por todo el tiempo que me dedicaron y que me soportaron. Por sus enseñanzas y consejos.

A los miembros de la Comisión de Tesis

Con respeto y cariño. Mil Gracias por todos sus consejos y por soportarme. No se preocupen que por fin se van a librar de mi.

Al Dr. Gabriel Cuevas

Con profunda admiración, respeto y cariño. Por toda la ayuda desinteresada que me brindaste en mi trabajo de Tesis. Ha sido para mi realmente un honor conocerte.

A CONACYT

Por el apoyo brindado para la realización de la tesis. Proyecto Ref. 26497-N.

A Todo el personal de Farmacología

Por todos los momentos que compartimos y por apoyarme siempre que lo necesité. Siempre los voy a llevar en mi corazón.

A mi Familia

A Rolando, con todo mi Amor y agradecimiento. Realmente creo que Dios me premió contigo; aunque no sé porque, ya que muchas veces he creído que no te merezco.

A mis hijas Paulina y Carolina (ex-cacahuate) con todo mi amor, por comprender que su “mami” está ocupada trabajando y estudiando. Por todo el amor que me dan.

A mis Padres y Hermanos con amor, gracias por estar siempre apoyándome y ayudándome a salir adelante.

A mis Suegros, Hermanos políticos y Sobrinos políticos con amor. Les agradezco infinitamente todo el apoyo y cariño recibido.

A Ivonne

Gracias “Bombón” por siempre estar conmigo. La verdad es que me siento muy afortunada y orgullosa de haberte conocido. Es difícil encontrar a alguien que casi me adivine el pensamiento.

A Adrián, Lucy, Alejandro y Adolfo.

No se como agradecerles lo suficiente por ser tan buenos conmigo. Muchas Gracias y espero que siempre estén a mi lado.

A Rosalba, Tere, Ricardo, Magaly y Ernesto

Amigos y Compañeros de Parranda e Investigación. Gracias por su apoyo y amistad. Gracias por soportar mis estados de ánimo. Gracias por estar conmigo.

A Dios

Por estar siempre conmigo y darme todo en la vida a pesar de que no lo merezco.

RESÚMEN

Verónica Mayela Rivas Galindo

Fecha de Graduación: Noviembre de 2001

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Título del estudio: **ESTUDIO ESTEREOQUÍMICO POR RMN DE LAS PEROXISOMICINAS, ISOPEROXISOMICINAS Y TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS DEL GÉNERO *Karwinskia*.**

Número de páginas: 104

Candidata para el grado de Doctora en Ciencias con especialidad en Química Biomédica.

Área de Estudio: Química Biomédica.

Propósito y Método de Estudio: Las Peroxisomicinas, Isoperoxisomicinas y Tullidinoles, son hidroxiantracetonas diméricas aisladas de plantas del género *Karwinskia*. Estos compuestos son quirales debido tanto a la presencia de centros quirales como a la rotación restringida alrededor del enlace biarílico. El propósito del presente estudio fue hacer un análisis de la estereoquímica de los compuestos antes mencionados mediante el uso de la Resonancia Magnética Nuclear, y posteriormente correlacionar los resultados obtenidos por RMN con otras técnicas como dicroísmo circular y modelaje molecular. Las asignaciones estructurales de los compuestos, se hicieron en base a los datos espectroscópicos y se construyeron los modelos moleculares optimizados para cada compuesto por medio del método semiempírico AM1. El análisis de la estereoquímica en solución se hizo con la ayuda de los experimentos nOe diferenciales y dicroísmo circular. Se determinó experimentalmente la barrera de rotación biarílica para las Isoperoxisomicinas por medio de RMN Dinámica.

Conclusiones y Contribuciones: Se purificaron cuatro Peroxisomicinas y dos Isoperoxisomicinas a partir del fruto de *K. parvifolia*. Del fruto *K. humboldtiana* se aislaron y purificaron cuatro tullidinoles. Se estableció la estereoquímica de las cuatro Peroxisomicinas y de los cuatro Tullidinoles. Así mismo se verificó que ninguno de estos compuestos tiene libre rotación a temperatura ambiente alrededor del enlace biarílico. Estos resultados podrán contribuir al establecimiento del mecanismo de acción de dichos compuestos y además contribuirán a la determinación del tipo de unión que puedan tener con alguna proteína o receptor..

FIRMA DEL ASESOR



Dra. Noemí Wakszmań de Torres

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Peroxisomicinas	3
1.2 Isoperoxisomicinas	4
1.3 Tullidinoles	5
1.4 Comportamiento Biológico de Compuestos Antracénicos	6
1.5 Análisis Estereoquímico	8
1.6 Hipótesis	11
1.7 Objetivos	11
1.7.1 Objetivo General	11
1.7.2 Objetivos específicos	11
2. MATERIAL Y MÉTODOS	12
2.1 Material y Equipo general	12
2.1.1 Purificación de los compuestos Antracénicos	12
2.1.1.1 Material biológico	12
2.1.1.2 Equipo	12
2.1.1.3 Cromatografía	13
2.1.1.4 Solventes	13
2.1.1.5 Reactivos y Material General	13
2.1.2 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear	14
2.1.2.1 Equipo	14
2.1.2.2 Experimentos nOe Diferenciales	14
2.1.2.3 Experimentos de RMN Dinámica	14
2.1.3 Modelaje Molecular	15

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Efecto citotóxico de compuestos antracenónicos sobre células humanas de origen benigno y maligno.	7
2. Efecto inhibitorio de compuestos antracenónicos sobre la actividad de la catalasa.	8
3. Características cromatográficas y cantidades obtenidas de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas.	27
4. Tiempos de retención y cantidades obtenidas de los Tullidinoles.	30
5. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, en CDCl_3)	31
6. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, en CDCl_3)	31
7. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, DMSO)	32
8. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, DMSO- d_6)	32
9. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, en Benceno- d_6)	33
10. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, en Benceno- d_6)	33
11. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Isoperoxisomicinas (400.13 MHz, en DMSO)	34
12. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Isoperoxisomicinas (100 MHz, DMSO- d_6)	34

3.6 Parámetros Termodinámicos	54
4. DISCUSIÓN	56
4.1 Purificación de Compuestos Antracenónicos	56
4.1.1 Purificación de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas	56
4.1.2 Purificación de Tullidinoles	57
4.2 Caracterización de los Compuestos Antracenónicos	57
4.3 Modelaje Molecular	60
4.3.1 Estructuras para Peroxisomicinas	60
4.3.2 Estructuras para Isoperoxisomicinas	61
4.3.3 Estructuras para Tullidinoles	61
4.3.4 Gráficos de Energía Contra Ángulo Diedro Biarílico	62
4.4 Experimentos nOe Diferenciales y Análisis Estereoquímico	62
4.4.1 Peroxisomicinas	63
4.4.2 Isoperoxisomicinas	66
4.4.3 Tullidinoles	67
4.5 Resonancia Magnética Nuclear Dinámica	69
4.5.1 Experimentos de RMN de Temperatura Variable	69
4.5.2 Experimentos de RMN con Calentamiento Previo	70
4.6 Parámetros Termodinámicos	71
5. CONCLUSIONES	73
RECOMENDACIONES	75
REFERENCIAS	76
APÉNDICE 1	79
APÉNDICE 2	98

2.1.3.1 Construcción de las Estructuras	15
2.1.3.2 Construcción de Gráficos de Energía Contra Ángulo Diedro Biarílico	15
2.2 Métodos	16
2.2.1 Purificación de los Compuestos Antracenónicos	16
2.2.1.1 Purificación de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas	16
2.2.1.2 Purificación de Tullidinoles	19
2.2.2 Caracterización de los Compuestos	21
2.2.3 Modelaje Molecular	22
2.2.3.1 Construcción de las Estructuras	22
2.2.3.2 Construcción de las Curvas de Energía Contra Ángulo Diedro Biarílico	22
2.2.4 Experimentos nOe Diferenciales	23
2.2.4.1 Procesamiento de la Muestra	23
2.2.4.2 Optimización de Parámetros Adecuados en los Experimentos nOe	23
2.2.5 Resonancia Magnética Nuclear Dinámica	24
2.2.5.1 Experimentos de RMN a Temperatura Variable	24
2.2.5.2 Experimentos de RMN con Calentamiento Previo	24
2.2.6 Establecimiento de los Parámetros Termodinámicos	26
3. RESULTADOS	27
3.1 Purificación de los Compuestos Antracenónicos	27
3.1.1 Purificación de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas	27
3.1.2 Purificación de Tullidinoles	29
3.2 Asignación de las Señales de Hidrógeno y Carbono	30
3.2.1 Peroxisomicinas	30
3.2.2 Isoperoxisomicinas	34
3.2.3 Tullidinoles	36
3.2.4 Dicroísmo Circular	39
3.3 Modelaje Molecular	41
3.3.1 Estructuras construidas para Peroxisomicinas	41
3.3.2 Estructuras construidas para Isoperoxisomicinas	42
3.3.3 Estructuras construidas para Tullidinoles	43
3.3.4 Gráficos de Energía contra Ángulo Diedro Biarílico	45
3.4 Experimentos nOe Diferenciales	46
3.5 Resonancia Magnética Nuclear Dinámica	48
3.5.1 Experimentos de RMN de Temperatura Variable	48
3.5.2 Experimentos de RMN con Calentamiento Previo	48

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Efecto citotóxico de compuestos antracenónicos sobre células humanas de origen benigno y maligno.	7
2. Efecto inhibitorio de compuestos antracenónicos sobre la actividad de la catalasa.	8
3. Características cromatográficas y cantidades obtenidas de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas.	27
4. Tiempos de retención y cantidades obtenidas de los Tullidinoles.	30
5. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, en CDCl_3)	31
6. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, en CDCl_3)	31
7. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, DMSO)	32
8. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, DMSO- d_6)	32
9. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, en Benceno- d_6)	33
10. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, en Benceno- d_6)	33
11. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Isoperoxisomicinas (400.13 MHz, en DMSO)	34
12. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Isoperoxisomicinas (100 MHz, DMSO- d_6)	34

13. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Isoperoxisomicinas (400.13 MHz, en CDCl_3)	35
14. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Isoperoxisomicina A1(100 MHz, en CDCl_3)	35
15. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Tullidinoles (400.13 MHz, en CDCl_3)	36
16. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Tullidinoles (100.6 MHz, en CDCl_3)	37
17. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Tullidinoles (400.13 MHz, en Benceno- d_6)	38
18. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Tullidinoles (100.6 MHz, en Benceno- d_6)	38
19. Estructuras construidas para Peroxisomicinas.	41
20. Distancias internucleares para las estructuras elegidas para Peroxisomicinas en base a los resultados de los experimentos nOe diferenciales, espectros de DC y resultados de configuración absoluta de PA1 y PA2.	42
21. Estructuras construidas para Isoperoxisomicinas.	42
22. Distancias internucleares para las estructuras elegidas para Isoperoxisomicinas en base a los resultados de RMN y DC.	43
23. Estructuras construidas para Tullidinoles.	44
24. Estructuras seleccionadas en base a la distancia entre H1' y H3'.	44
25. Distancias internucleares más importantes en la selección de las estructuras para los Tullidinoles.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Compuestos hidroxiantracenónicos aislados de plantas del género <i>Karwinskia</i> .	2
2. Rotámetros A y B. Clasificación de acuerdo al espectro de Dicroísmo Circular.	3
3. Cromatogramas de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas puras.	28
4. Cromatogramas de los Tullidinoles puros.	29
5. Interacciones nOe más importantes para Isoperoxisomicinas.	46
6. Interacciones nOe más importantes para Peroxisomicinas.	47
7. Interacciones nOe más importantes para Tullidinoles.	47
8. Espectros de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en CDCl_3 .	49
9. Espectros de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas A1 a diferentes temperaturas en Acetona- d_6 .	50
10. Espectros de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en Benceno- d_6 .	51
11. Espectros de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en Metanol- d_4 .	52
12. Espectros de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en $\text{DMSO-}d_6$.	53
13. Espectros de RMN dinámica de Isoperoxisomicina A1 en cloroformo- d .	54

14. $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas en CDCl_3 , región de alifáticos.	64
15. $^1\text{HRMN}$ de PA1 y PA3 en Benceno- d_6 , región de metilenos.	65
16. $^1\text{HRMN}$ de PA2 y PA4 en Benceno- d_6 , región de metilenos.	66
17. Espectros de orden cero y primer derivada de $^1\text{HRMN}$ Dinámica de IPA1 región de metilenos.	71

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama	Página
1a. Purificación de Isoperoxisomicinas.	17
1b. Purificación de Peroxisomicinas	18
2. Purificación de Tullidinoles.	21
3. Estrategia Empleada para la RMN Dinámica con IPA1.	25

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Å	Angstroms
Bz	Benceno
C	Carbono
°C	Grados Celsius
cols.	Colaboradores
CI ₅₀	Concentración Inhibitoria 50%
CT ₅₀	Concentración Tóxica 50%
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CC	Cromatografía en Columna
CDCl ₃	Cloroformo Deuterado
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
COLOC	Correlation Spectroscopy Via Long-Range Coupling
COSY	Correlation Spectroscopy
C8	Columna Fase Reversa de Octilsilano
C18	Columna Fase Reversa de Octadecilsilano
DC	Dicroísmo Circular
DL ₅₀	Dosis Letal 50%
DMSO	Dimetilsulfóxido
ETOH	Etanol
Éter Et	Éter etílico
Fig.	Figura
FR ODS	Columna de Fase Reversa de Octadecilsilano
H	Hidrógeno
HETCOR	Heteronuclear Shift Correlation
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
¹³ CRMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
¹ HRMN	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
IPA1	Isoperoxisomicina A1
IPA2	Isoperoxisomicina A2
K	Kilo
Keq	Constante de equilibrio
L	Litro
nOe	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
PA1	Peroxisomicina A1
PA2	Peroxisomicina A2
PA3	Peroxisomicina A3
PA4	Peroxisomicina A4
Rf	Factor de retardo (cociente de frentes)
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
T	Toxina

T1	Tiempo de Relajación Longitudinal
TA1	Tullidinol A1
TA2	Tullidinol A2
TB1	Tullidinol B1
TB2	Tullidinol B2
t_R	Tiempo de Retención
dm	Decímetro
g	Gramos
h	Horas
Hz	Hertz
Kcal/mol	Kilo Calorías por Mol
MHz	Mega hertz
μg	Microgramos
μL	Microlitro
μm	Micrómetro
μM	Micromolar
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mM	Milimolar
min.	Minuto
M	Molar
nm	Nanómetros
psi	Libra por pulgada cuadrada
ppm	Partes por millón (unidad de medición en $^1\text{HRMN}$)
δ	Desplazamiento químico
λ	Longitud de onda (unidad de medición en Ultravioleta-visible)

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Las plantas que conforman el género *Karwinskia* se caracterizan por su toxicidad y contenido de hidroxiantracenas diméricas.¹ Se han descrito quince especies de estas plantas, once de las cuales se localizan en México.² Dichas especies han sido objeto de numerosos estudios tanto químicos como toxicológicos.³ Como resultado de los mismos, se han aislado y caracterizado 15 antracenas diméricas diferentes (Figura 1), entre las cuales se encuentran las peroxisomicinas, isoperoxisomicinas y tullidinoles.^{4, 5, 6}

Estos compuestos son ópticamente activos debido tanto a la presencia de centros estereogénicos como a la rotación restringida alrededor del enlace biarílico (eje quiral), que da lugar a otro elemento de quiralidad y con ello la posibilidad de existencia de atropoisómeros o rotámeros.⁷

Los rotámeros pueden diferenciarse por el efecto Cotton que presentan en el espectro de dicroísmo circular. Lo anterior significa que los compuestos antracénicos diméricos que posean la misma estereoquímica en torno a la unión biarílica, presentarán el mismo tipo de espectro de dicroísmo circular. De acuerdo a la clasificación propuesta por Steglich,⁸ los compuestos de tipo A presentan un efecto Cotton positivo a longitud de onda corta y un efecto Cotton negativo a longitud de onda larga; los compuestos de tipo B presentan efectos Cotton inversos (Figura 2).

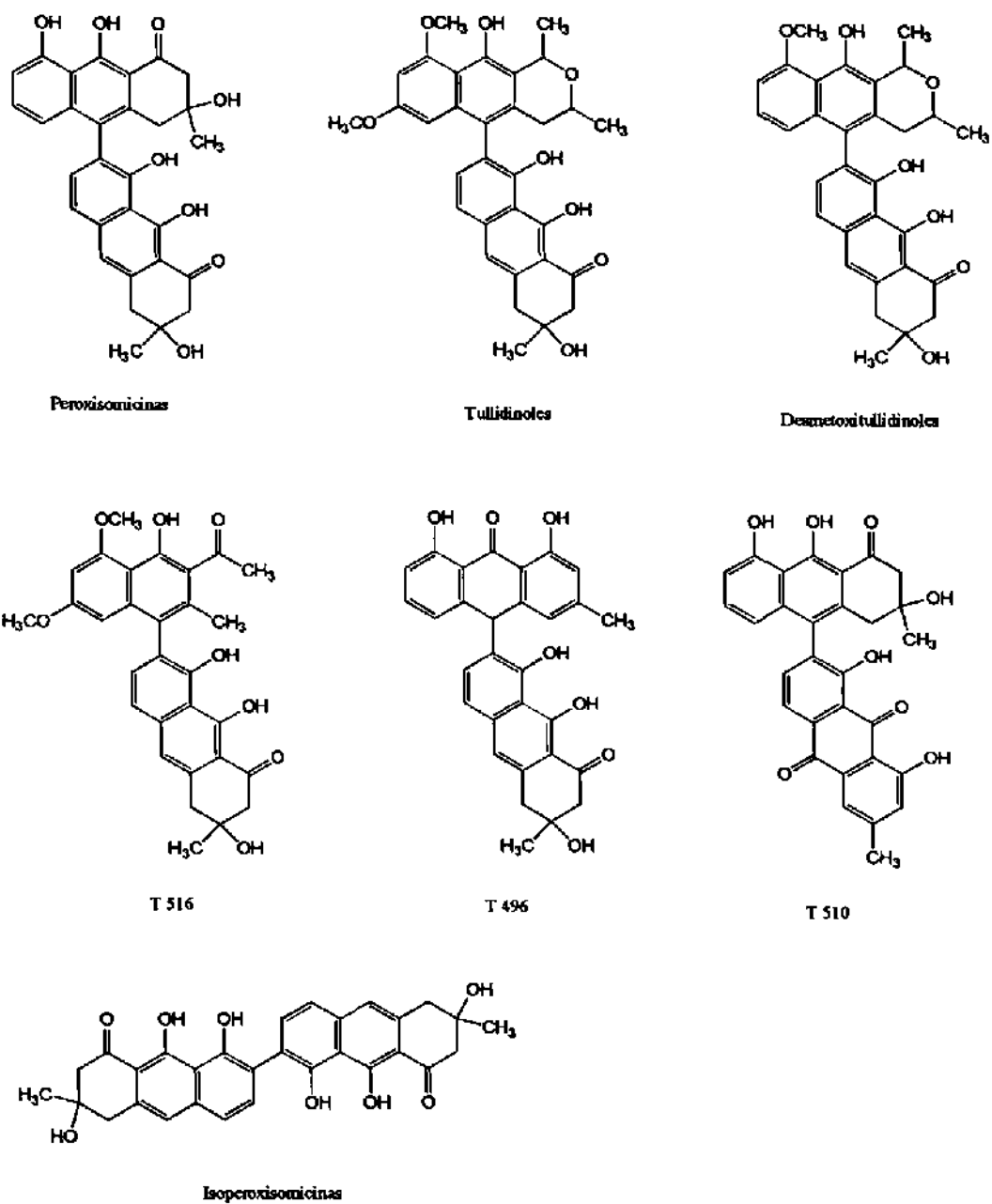


Figura 1. Compuestos hidroxiantracénicos aislados de plantas del género *Karwinskia*.

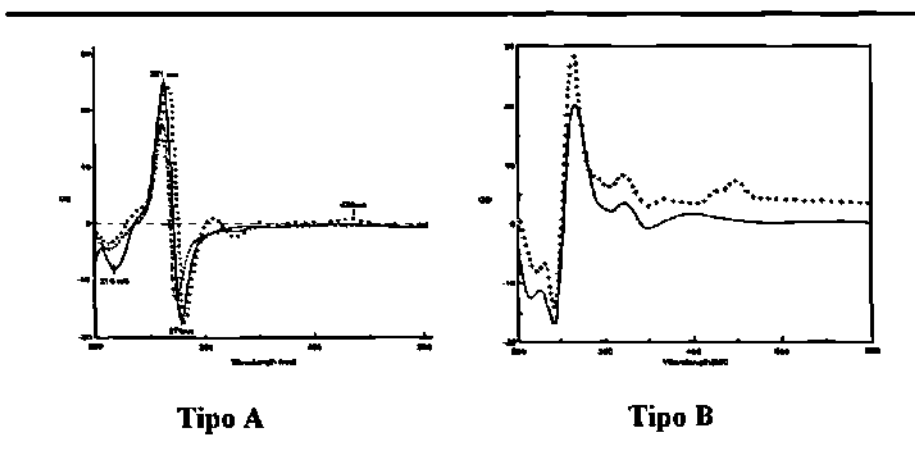
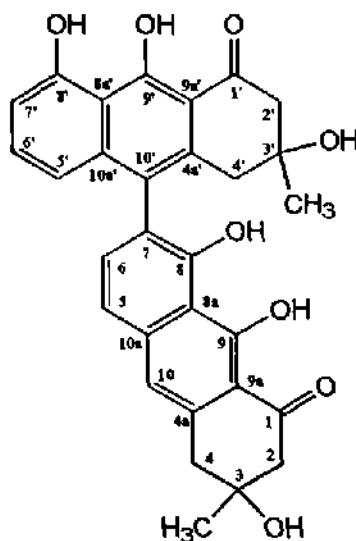


Figura 2. Rotámeros A y B. Clasificación de acuerdo al espectro de Dicroísmo Circular

1.1 Peroxisomicinas



Estructura de las Peroxisomicinas sin definición de la estereoquímica

La Peroxisomicina A1 (antes llamada T514), es tal vez el compuesto más importante de este grupo debido a su acción farmacológica. Mediante estudios con cultivos celulares, se comprobó su toxicidad con una marcada selectividad entre células

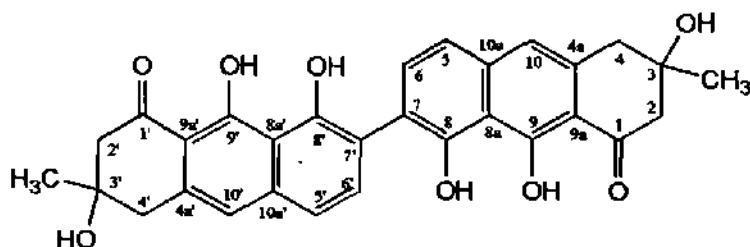
de origen benigno y maligno.⁹ Lo anterior conllevó a la obtención de seis patentes para su uso como agente antineoplásico en la Comunidad de Países Europeos, en Japón, en Corea, en Canadá, en México y en Estados Unidos.¹⁰ Actualmente, esta sustancia se encuentra en estudios de fase clínica I.

Se han aislado y caracterizado tres diastereoisómeros de este compuesto, los cuales fueron nombrados como peroxisomicinas A2, A3 y A4. La letra A y el número que figuran en el nombre se asignó sobre la base del efecto Cotton que presentaron en el espectro de dicroísmo circular y al orden en el que se aislaron respectivamente.

La configuración relativa de las peroxisomicinas A1 y A2 fue establecida por medio de un análisis de difracción de rayos X de monocristal.¹¹ En dicho análisis, se determinó que en la peroxisomicina A1 los carbonos 3 y 3' tienen la misma quiralidad, mientras que en la peroxisomicina A2 esos carbonos tienen quiralidad opuesta. Así mismo, que la quiralidad del carbono 3' en ambos compuestos es la misma.

Recientemente, se determinó la configuración absoluta de ambas peroxisomicinas mediante un proceso degradativo de cinco etapas con posterior correlación química.¹² La configuración de ambos carbonos quirales en la Peroxisomicina A1 pudo definirse como S. La peroxisomicina A2 tiene configuración R en el carbono 3 y S en el carbono 3'.

1.2 Isoperoxisomicinas

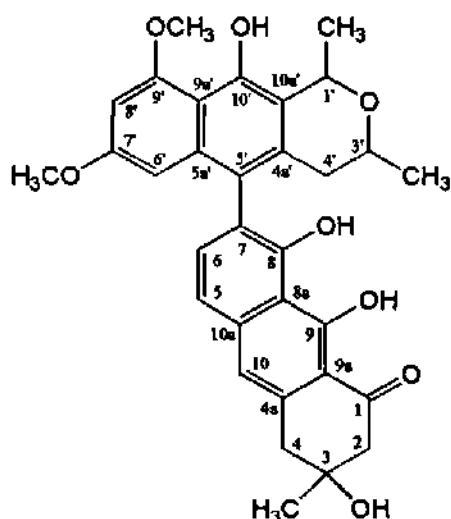


Estructura de las Isoperoxisomicinas sin definición de la estereoquímica

Las Isoperoxisomicinas son isómeros de posición de las peroxisomicinas, es decir, la unión entre los monómeros antracenónicos es entre los carbonos 7 y 7'. En las peroxisomicinas, la unión entre los monómeros es entre los carbonos 7 y 10'. A partir del fruto de *K. parvifolia* se aislaron y caracterizaron dos estereoisómeros los cuales fueron nombrados como isoperoxisomicinas A1 y A2.⁵ El aislamiento de isoperoxisomicina A1 a partir del fruto de *K. humboldtiana*, se había publicado previamente,¹³ sin embargo, no se reportaron datos sobre la caracterización estructural.

Ambos compuestos son poco solubles en la mayoría de los solventes en los que se disuelven las peroxisomicinas. Los dos compuestos mostraron el mismo tipo de curvas de dicroísmo circular, excluyendo la posibilidad de atropoisomerismo entre ellos.

1.3 Tullidinoles



Estructura de los Tullidinoles sin definición de la estereoquímica

Mediante estudios toxicológicos se demostró que el tullidimol o T544 es el responsable de la neuropatía asociada con la ingesta del fruto de *K. humboldtiana*.^{14, 15} Estructuralmente, se trata de un monómero antracenónico unido a un monómero

derivado del naftaleno con un éter cíclico. En estudios químicos posteriores se logró determinar que el tullidinol era una mezcla de varios compuestos cuyo número variaba de acuerdo a la matriz de extracción.⁶ De esta manera, se han observado hasta cuatro tullidinoles en algunas especies de *Karwinskia*, todos con la misma estructura planar.

Se purificaron y caracterizaron los tullidinoles B1 y B2 a partir de la raíz de *K. parvifolia*.⁶ De igual manera, la letra B y el número asignados en el nombre corresponden al tipo de curva en el dicroísmo circular y al orden de purificación respectivamente. Se determinó que los tullidinoles B1 y B2 tienen la misma quiralidad en los carbonos 1' y 3', que no son atropoisómeros y que son epímeros en el carbono 3.

Ambos tullidinoles resultaron biológicamente activos en la prueba de *Artemia salina*, en el que presentaron una DL₅₀ de 12.3 y 9.88 ppm respectivamente.

1.4 Comportamiento Biológico de Compuestos Antracenónicos

Entre los resultados obtenidos de bioensayos, se puede mencionar el efecto citotóxico de algunos de los compuestos antes mencionado sobre líneas celulares humanas benignas y malignas (Tabla 1). La peroxisomicina A3 al igual que la peroxisomicina A1, presenta toxicidad selectiva entre células de origen benigno y maligno, mientras que la peroxisomicina A2 e isoperoxisomicina A1 no muestran tal selectividad.

Por otro lado, en estudios realizados "in vitro" se demostró que la PA1 produce inhibición no competitiva de la catalasa hepática de tres fuentes animales: bovina, canina y murina.¹⁶ También se hicieron estudios "in vivo" en ratones intoxicados con este compuesto, en cortes de tejido y fracciones hepáticas, donde se demostró que la PA1 no afecta la actividad de la catalasa bajo esas condiciones.¹⁷

En estudios posteriores realizados "in vitro" con compuestos estructuralmente relacionados con la PA1, se demostró que también tienen efecto sobre la catalasa de hígado de origen bovino.¹⁶ Se encontró relación entre estructura y grado de inhibición de todos los compuestos que se analizaron, de los cuales las peroxisomicinas A1 y A2 causaron el más alto grado de inhibición (Tabla 2).

Por otro lado, se demostró que la peroxisomicina A1 produce efecto sobre la viabilidad celular y daño sobre la membrana peroxisomal de levaduras metilotróficas.¹⁸ Posteriormente, se comprobó que dicho efecto no es exclusivo de este compuesto.¹⁹ En este estudio se evaluó el efecto de diversos compuestos antracénicos estructuralmente relacionados con PA1 como son: PA2, IsoPA1 y T544, concluyendo que todos los compuestos probados son capaces de producir el mismo efecto descrito por Sepúlveda y cols. Sin embargo, el análisis morfológico realizado en dicho estudio, sugiere que IsoPA1 se comporta de forma similar a PA1, que PA2 produce menor efecto que PA1 y que T544 causa el mayor daño peroxisomal.

Tabla 1. Efecto citotóxico de compuestos antracénicos sobre células humanas de origen benigno y maligno.

CT ₅₀ (µg/mL)	Obtenida después de 72 h	
	CT ₅₀	
	CHANG-CLL	Hepatoma
Peroxisomicina A ₁	2.5	0.16
Peroxisomicina A ₂	2.5	2.5
Peroxisomicina A ₃	5	1.24
Isoperoxisomicina A ₁	1.76	1.76
Tullidinol	5	2.5

Tabla 2. Efecto inhibitorio de compuestos antracénicos sobre la actividad de la catalasa.

Efecto Inhibitorio (CI ₅₀) de Compuestos Antracénicos Sobre la Actividad de la Catalasa	
Compuesto	CI ₅₀ (μM)
Peroxisomicina A1	3.34 ± 0.99
Peroxisomicina A2	3.64 ± 1.10
Peroxisomicina A3	9.07 ± 0.54
Isoperoxisomicina A1	17.59 ± 1.00
Isoperoxisomicina A2	22.69 ± 3.00
Tullidinol	22.69 ± 3.00
T 516	69.77 ± 19.03
T 496	99.50 ± 19.03
T 510	120.00 ± 10.44
Aminotriazol	4 X 10 ⁵

1.5 Análisis Estereoquímico

Los resultados antes mencionados, provocan mayor interés para conocer las diferencias estéricas que existen entre todos estos compuestos. Una de los métodos para estudiar la estereoquímica de las moléculas, es a través de la cristalografía de Rayos X.⁷ Sin embargo, ha resultado difícil obtener cristales adecuados para ello.

Una de las alternativas que existe para llevar a cabo un análisis estereoquímico, es precisamente la espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear.^{20, 21, 22} La relevancia de esta técnica, consiste en que se puede conocer la conformación que adoptan las moléculas en solución, lo cual es interesante en función de la actividad biológica. Es decir, se pueden conocer datos estructurales interesantes que ayuden

posteriormente a determinar el tipo de unión que puedan tener estos compuestos con alguna proteína o receptor.

En los últimos años, se han visto importantes avances con el uso de la Resonancia Magnética Nuclear en el área del análisis conformacional. Esto gracias al empleo de la espectroscopía de pulsos en resonancia y al avance en el equipo y programas computacionales, los cuales son lo bastante rápidos y avanzados para el procesamiento de los datos obtenidos por RMN.²³

Mediante técnicas de resonancia basadas en el efecto nuclear Overhauser como el nOe diferencial y NOESY y la RMN Dinámica, se pueden deducir los movimientos intramoleculares o cambios conformacionales que dependen del entorno químico de las moléculas. El nOe diferencial es una técnica de resonancia de una dimensión, mientras que el NOESY es de doble dimensión.²³

Se sabe que el incremento en la señal del nOe depende de la distancia entre núcleos acoplados dipolarmente, es decir, acoplados a través del espacio, no del enlace. Un efecto nOe positivo, es indicativo de la proximidad espacial entre núcleos, en donde la distancia debe ser menor de 3 Å e idealmente menor que 2.5 Å.

Las primeras moléculas investigadas por medio de experimentos nOe eran relativamente pequeñas, ahora es posible obtener buenos resultados de moléculas grandes de todas clases. Hoy en día, no se puede imaginar la determinación de estructuras de productos naturales sin la ayuda del nOe.

La espectroscopía de RMN Dinámica es otra de las áreas de aplicación en resonancia para el análisis conformacional.^{24,25} Esto se basa en lo siguiente:

- En sistemas que sufren intercambio químico, el comportamiento de las señales de los núcleos en RMN es dependiente de la temperatura.

- Cuando los núcleos de una molécula cambian de posición de una conformación a otra, se afecta el espectro de RMN.
- Se pueden estudiar reacciones de intercambio intermolecular, con lo cual se afecta también el espectro de RMN.
- A partir de la dependencia de las señales de resonancia con la temperatura se pueden obtener una constante de rapidez de intercambio, parámetros de activación y datos termodinámicos en el equilibrio.

Un estudio estereoquímico por RMN consta de varios pasos: en principio se debe hacer la asignación inequívoca de todos los átomos de la molécula, haciendo uso de técnicas de resonancia de una y dos dimensiones, incluyendo correlaciones a larga distancia. Una vez hechas las asignaciones, se llevan a cabo los experimentos de nOe, con los cuales se obtienen datos acerca del arreglo espacial de las moléculas.^{20, 21}

Con los datos estructurales obtenidos, se construyen los modelos moleculares más probables y de conformación más estable por medio de programas computacionales adecuados. De igual manera, se pueden construir primero todos los modelos posibles para una determinada molécula y después con los datos que se obtengan de los experimentos nOe, se elige el o los modelos más probables.

Posteriormente, se hace la simulación del espectro de resonancia de Hidrógeno del modelo elegido y se correlaciona con el espectro obtenido experimentalmente; esto con el fin de determinar si se construyó el modelo molecular adecuado.²²

Por último, con el uso de la RMN Dinámica, se pretende observar datos acerca de movimientos intramoleculares o cambios conformacionales que dependerán del entorno químico de las moléculas; así mismo, se establecen los parámetros termodinámicos para los cambios conformacionales encontrados.²⁴

1.6 Hipótesis

Es posible establecer la estereoquímica en solución de las peroxisomicinas, isoperoxisomicinas y tullidinoles por medio de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo General

Asignar la estereoquímica relativa y obtener los parámetros termodinámicos de los cambios conformacionales de las peroxisomicinas, isoperoxisomicinas y tullidinoles.

1.7.2 Objetivos específicos

1. Purificar las peroxisomicinas, isoperoxisomicinas y tullidinoles a partir de frutos y/o raíces de plantas del género *Karwinskia*.
2. Asignar todas las señales de Hidrógeno y Carbono en los espectros de resonancia de cada uno de los compuestos en los diferentes solventes a utilizar.
3. Construir los modelos moleculares de cada uno de los compuestos.
4. Realizar los experimentos nOe diferencial de cada uno de los compuestos.
5. Realizar la RMN Dinámica de cada uno de los compuestos.
6. Establecer los parámetros termodinámicos si se encontrara algún cambio conformacional en el objetivo anterior.

CAPÍTULO 2

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Material y Equipo General

2.1.1 Purificación de los Compuestos Antracénicos

2.1.1.1 Material Biológico

Fruto de *Karwinskia parvifolia* proveniente del municipio de Choix en Sinaloa, recolectado en diciembre de 1992.

Fruto de *Karwinskia humboldtiana* proveniente del municipio de Villa de García en Nuevo León, recolectado en octubre de 1991.

2.1.1.2 Equipo

Molino Thomas Wiley. LABORATORY MILL, Model 4

Rotavapor Büchi 461 Water Bath RE 121 Brinkman

Centrífuga Beckman CPKR Centrifuge

Microcentrífuga IEC Micro-MB Centrifuge

Cromatógrafo preparativo (CLAR) Waters prep. LC 2000. Columnas analíticas de 8 X 100 mm Radial-Pak TM tipo 8MBC18 10 μm y 8MBC8 10 μm . Columnas preparativas de 40 X 100 mm Radial-Pak TM tipo 8MBC18 10 μm y 8MBC8 10 μm .

Cromatógrafo analítico (CLAR) Hewlett Packard modelo 1090 con arreglo de diodos. Columna FR ODS de 100 X 2.1 mm, tamaño de partícula 5 μm .

Colector de fracciones BIO RAD Model 2128

Bomba BIO RAD Econo Pump

Pistola de desecación DESAGA Hidelberg Trockenpult, Type 134100.

Bomba de presión GAST Modelo IHAB-25-M100X, 100 PSIG Max.

2.1.1.3 Cromatografía

CCF: Cromatofolios AL de Sílica Gel 60 F254 Merck, 0.2 mm de espesor.

CC Gravitacional: Sílica Gel 60 para cromatografía en columna, 0.063 – 0.200 mm, Merck.

CC Flash de baja presión, Sílica Gel 60

CC de baja presión: Columna Lobar Lichroprep Si 60 (40 – 43 μm) y columna Lobar Lichroprep RP-18 (40 – 63 μm) para cromatografía de líquidos, Merck.

2.1.1.4 Solventes

Grado analítico para extracciones y cromatografías en capa fina y columna.

Grado HPLC para cromatógrafos analítico y preparativo.

2.1.1.5 Reactivos y Material General

Nitrógeno gas de alta pureza, AGA S. A., para evaporación de solventes y concentración de fracciones.

Sulfato de sodio anhidro para el secado de extractos y fracciones.

Unidades de filtración Millipore, Millex-LCR Syringe Driven Filter Unit de 0.45 μm , 13 mm de diámetro.

Material de vidrio General.

2.1.2 Espectros de Resonancia Magnética Nuclear

2.1.2.1 Equipo

Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear de 400 MHz marca Bruker modelo Avance DPX.

Agitador de tubos Maxi Mix II de Thermolyne, Type 37600 Mixer.

Baño de Ultrasonido Sonicor SC-100T, Sonicor Instrument Corporation.

Placa de calentamiento Thermolyne Cimarec 2.

2.1.2.2 Experimentos nOe Diferenciales

Solventes: Cloroformo-d, 100% deuterado, Aldrich.

Reactivos: Argón gas de alta pureza, AGA S. A.

2.1.2.3 Experimentos de RMN Dinámica

Solventes deuterados:

Cloroformo-d, 99.8 %D, SIGMA.

Benceno-d6, 99.5 %D, SIGMA.

Acetona-d6, 99.8 %D, Uvasol MERCK.

Metanol-d4, 99.8 %D, Uvasol MERCK.

Dimetilsulfóxido-d6, 99.8 %D, Uvasol MERCK.

Solventes no deuterados:

Alcohol bencílico, Cloruro de bencilo y p-Xileno, grado analítico, marca Baker Analyzed Reagent.

Reactivos:

Nitrógeno líquido y Nitrógeno gas de alta pureza, AGA gas S.A. de C. V.

Sulfato de sodio anhidro Productos Químicos Monterrey, S. A. de C. V.

2.1.3 Modelaje Molecular

2.1.3.1 Construcción de las Estructuras

Equipo: Computadora Apple Macintosh Performa 6360.

Programa de computadora: MacSpartan plus, método semiempírico nivel AM1.

2.1.3.2 Construcción de Gráficos de Energía contra Ángulo Diedro Biarílico

Equipo: Computadora Apple Macintosh Performa 6360.

Programas de computadora: MacSpartan plus, método semiempírico nivel AM1 y Cricket Graph.

2.2 Métodos

2.2.1 Purificación de los Compuestos Antracenónicos

2.2.1.1 Purificación de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas

La purificación de isoperoxisomicinas y peroxisomicinas se hizo de acuerdo a los métodos establecidos (Diagramas 1a y 1b) en el laboratorio de síntesis y extracción del departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina, U.A.N.L.

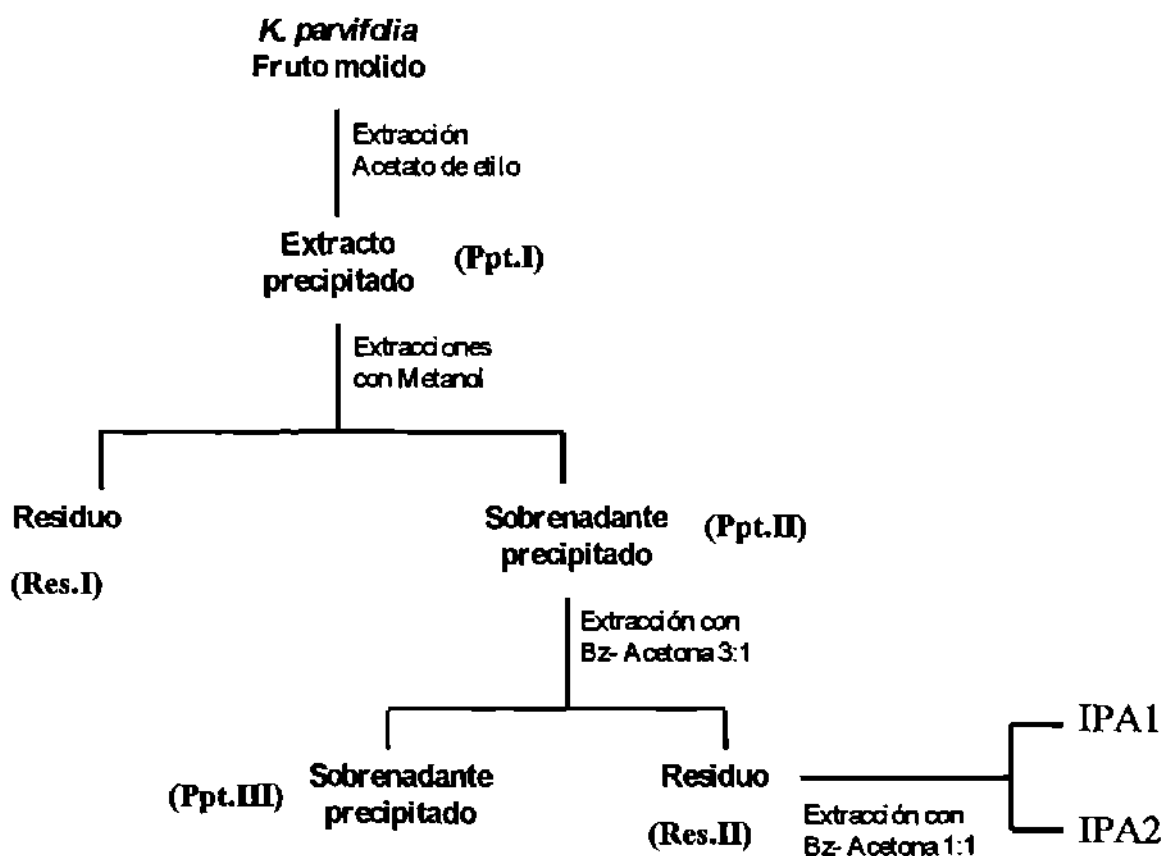
Un kilo de fruto molido de *K. Parvifolia* se extrajo tres veces con un litro de acetato de etilo cada vez. El extracto de acetato de etilo se evaporó a presión reducida en rotavapor a 38 °C. Una vez evaporado el solvente, el residuo se resuspendió en 50 mL de cloroformo y se precipitó con éter de petróleo (extracto precipitado).

El precipitado obtenido (Ppt.I) fue sometido a dos extracciones con metanol y se obtuvo un residuo (Res.I) y un sobrenadante. El residuo se desechó y el sobrenadante se evaporó a sequedad en rotavapor y se resuspendió en la mínima cantidad de cloroformo para posteriormente precipitarlo con éter de petróleo (Ppt.II).

Al Ppt.II se le hicieron 3 extracciones con una mezcla de benceno y acetona 3:1, obteniéndose un residuo y un sobrenadante. En el residuo (Res.II) se encuentran las isoperoxisomicinas A1 y A2. En el sobrenadante (Ppt.III) se encuentran las Peroxisomicinas.

La obtención de las isoperoxisomicinas en forma pura, se hizo por medio de precipitación fraccionada: se procedió a realizar un total de 20 extracciones al residuo que las contenía (Res.II), con una mezcla de benceno y acetona 1:1. De esa forma la isoperoxisomicina A1 quedó en el sobrenadante el cual se evaporó y precipitó con éter de petróleo. La isoperoxisomicina A2 quedó en el residuo como un sólido insoluble.

Diagrama 1a. Purificación de Isoperoxisomicinas.

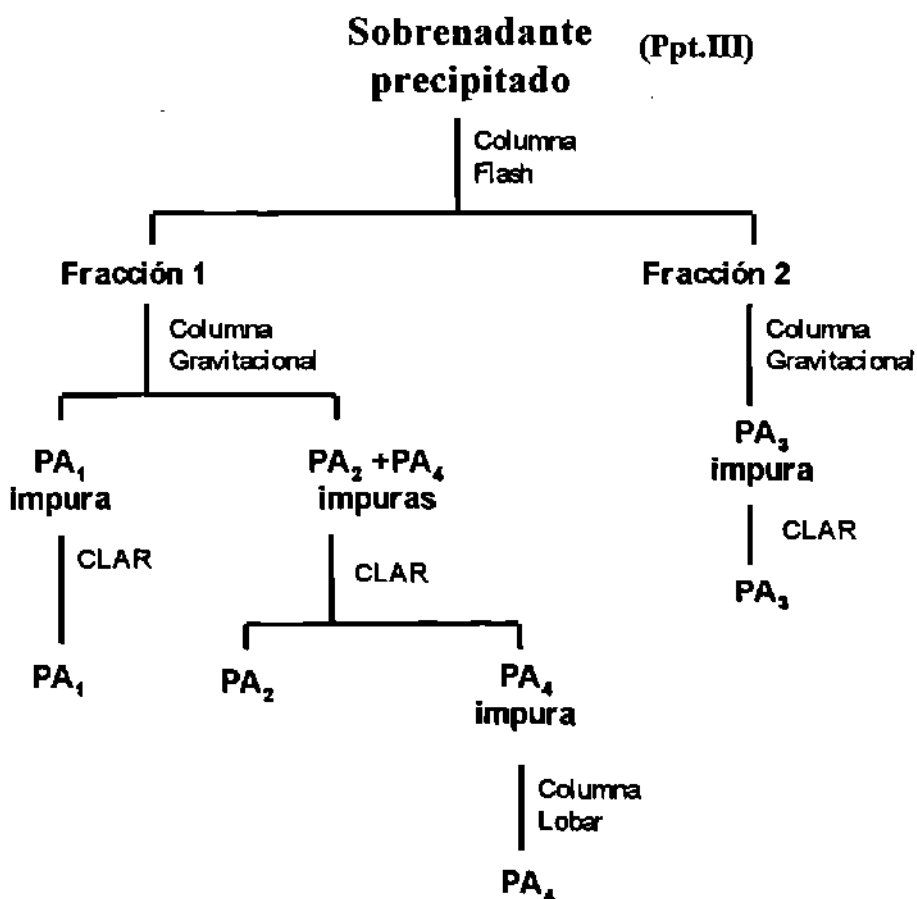


El sobrenadante en el que se encuentran las peroxisomicinas, se evaporó con Nitrógeno gas hasta sequedad, se recuperó en la mínima cantidad de cloroformo y se precipitó con hexano (Ppt.III). El Ppt.III se disolvió en una solución de benceno-

acetona 15:1. Dicha solución se sometió a separación mediante cromatografía en columna flash de Sílica gel con soluciones de benceno y acetona en diferentes proporciones (15:1, 10:1, 5:1 y 2:1). Se analizaron las fracciones obtenidas utilizando CCF de Sílica gel en benceno-acetona 1:1 como eluente.

Dos fracciones contenían la mayor parte de las peroxisomicinas. Ambas fracciones fueron sometidas a separación mediante el uso de diferentes técnicas cromatográficas como CC gravitacional de sílica gel, CLAR y Columna Lobar hasta la obtención de cada peroxisomicina pura.⁵

Diagrama 1b. Purificación de Peroxisomicinas.



2.2.1.2 Purificación de Tullidinoles

La purificación de cada tullidinol se llevó a cabo en forma general en base al diagrama 2 de la siguiente manera:

El fruto molido de *K. humboldtiana* (1 K), se extrajo con éter de petróleo (3 veces con 1 L) y posteriormente con acetato de etilo (3 veces con 1 L). El extracto de acetato de etilo se evaporó a sequedad en rotavapor, se recuperó en la mínima cantidad de cloroformo y se precipitó con éter de petróleo.

El precipitado obtenido fue sometido a una primer separación de tipo preparativa en CC Flash de Sílica con benceno-acetona en diferentes proporciones. Las fracciones obtenidas se analizaron por CCF de Sílica en benceno-acetona 3:1 como eluente, para seleccionar la que contenía la mayor parte de la mezcla de los tullidinoles. Dicha fracción se sometió a una segunda separación por CC Gravitacional de Sílica con benceno-acetona en diferentes proporciones.

Se seleccionaron y juntaron las fracciones que contenían solo la mezcla de tullidinoles en base a la CCF de sílica gel. Se evaporó el solvente en rotavapor y el residuo se recuperó en la mínima cantidad de cloroformo para finalmente precipitarlo con éter de petróleo. El precipitado obtenido se fraccionó en el Cromatógrafo de líquidos preparativo bajo las siguientes condiciones:

Eluentes: A= Metanol, B= Agua-acetonitrilo-ácido acético (70:30:1.6))

Flujo: 70 mL/min.

$\lambda = 440 \text{ nm}$

Columna: Fase reversa C18

Volumen de inyección: 5 mL

Solvente para disolución de muestra: Acetonitrilo

Elución: Isocrática, 45% de A y 55% de B

Las fracciones obtenidas fueron analizadas en el Cromatógrafo de líquidos analítico bajo las siguientes condiciones:

Sistema de eluentes: A:B (65:35)

A = Metanol, B = Agua-Acetonitrilo-Ácido acético (70:30:1.6)

Flujo = 0.4 mL/min.

Volumen de inyección = 5 μ L

Temperatura = 27 °C

λ = 410 nm

Solvente para disolución de muestra: Acetonitrilo

Elución: Gradiente

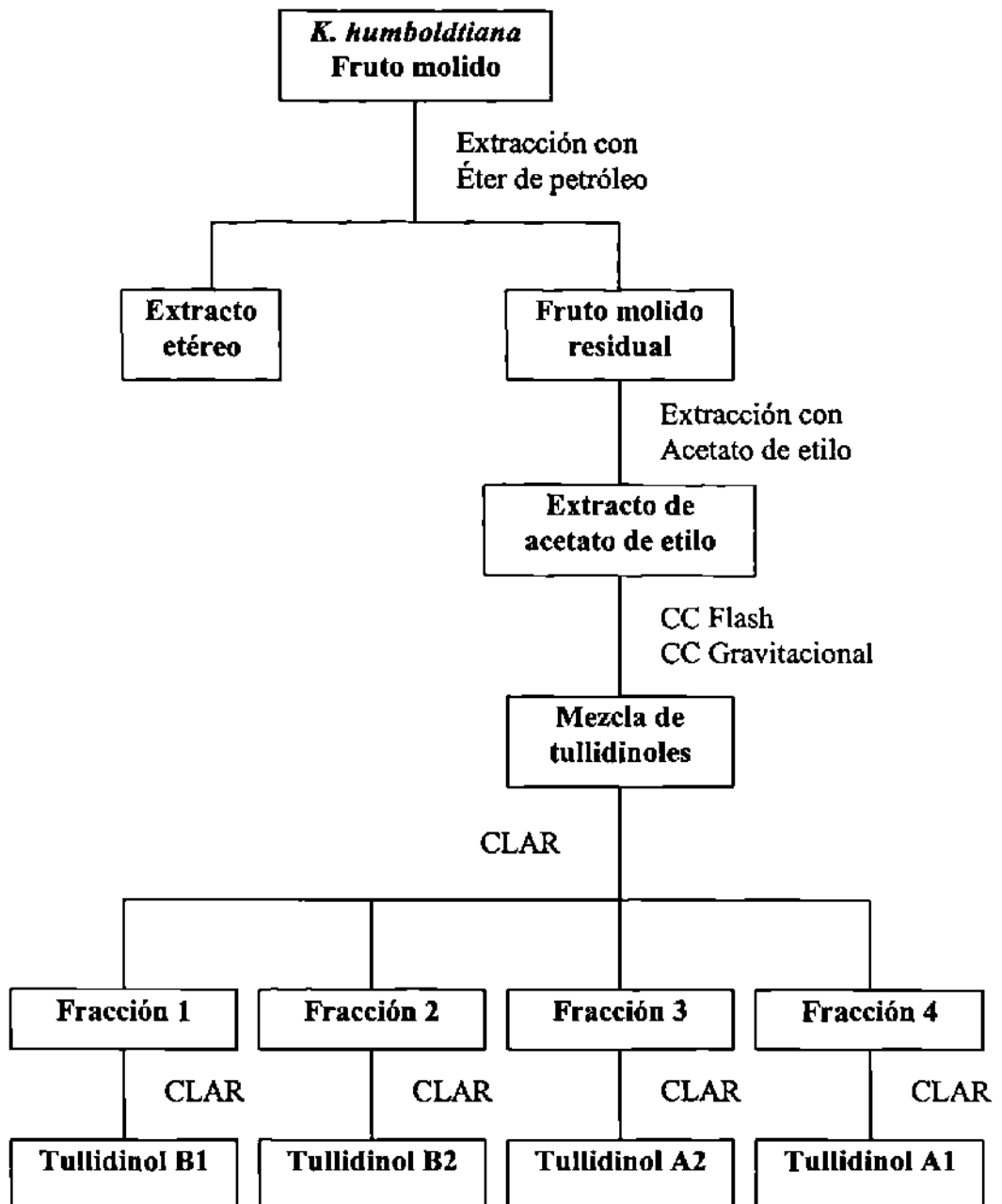
Tiempo (min.)	% A	% B
4	65	35
6	100	0
8	100	0
10	65	35

Se seleccionaron y juntaron las fracciones de tal forma que se obtuvieron cuatro fracciones principales enriquecidas cada una con cada tullidinol. Cada fracción se evaporó en rotavapor hasta la eliminación total de metanol y acetonitrilo.

Posteriormente cada fracción se extrajo con cloroformo y cada extracto clorofórmico se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó a sequedad en rotavapor. Cada residuo se recuperó en la mínima cantidad de cloroformo para después precipitarla con hexano.

Cada una de los precipitados enriquecidos con cada tullidinol se sometió a purificación en el Cromatógrafo preparativo. El procedimiento se repitió tantas veces como fue necesario. La pureza de cada tullidinol se determinó por medio del CLAR analítico.

Diagrama 2. Purificación de Tullidinoles.



2.2.2 Caracterización de los Compuestos

Una vez obtenidos los compuestos puros, se procesaron para llevar a cabo los experimentos de RMN de la siguiente manera:

- Se secaron en pistola de desecación durante 8 horas a temperatura ambiente.
- Se pesaron 3 ó 5 mg de cada compuesto, dependiendo de la cantidad de muestra disponible.
- Se hizo disolución de la muestra en 0.5 mL del solvente a emplear.
- Se filtró la solución y se procedió a realizar los espectros de RMN.

Se hicieron los espectros de ^1H RMN y ^{13}C RMN y posteriormente se asignaron cada una de las señales de Hidrógeno y Carbono de los espectros de cada compuesto, mediante técnicas de doble dimensión como COSY, HMQC y HMBC.

2.2.3 Modelaje Molecular

2.2.3.1 Construcción de las Estructuras

Las estructuras se construyeron con el programa MacSpartan plus en una computadora Macintosh perform 6360. Los cálculos teóricos se hicieron mediante el método semiempírico nivel AM1. En total se construyeron 8 estereoisómeros de las peroxisomicinas, 8 de las isoperoxisomicinas y 16 de los tullidinoles. Además, se construyeron modelos de las dos conformaciones posibles en los anillos A y A' de las peroxisomicinas y tullidinoles.

2.2.3.2 Construcción de las Curvas de Energía contra Ángulo Diedro Biarílico

Para la construcción de la curva de energía contra ángulo diedro biarílico se empleó el siguiente método: Se seleccionó una de las estructuras construidas para cada tipo de compuesto, es decir, una estructura de las peroxisomicinas, una de las isoperoxisomicinas y una de los tullidinoles.

Posteriormente, se fue variando el ángulo diedro biarílico en 5 ó 10 grados de rotación y se calculó el calor de formación para cada modelo con ángulo fijo (o restringido) por medio del método semiempírico nivel AM1 del programa MacSpartan plus.

Una vez obtenida la energía (calor de formación) para cada estructura con ángulo diedro biarílico fijo, se graficó el calor de formación contra ángulo diedro biarílico con el programa Cricket Graph.

2.2.4 Experimentos nOe diferenciales

2.2.4.1 Procesamiento de la Muestra.

Se pesaron 5 mg de muestra seca.

Se disolvió la muestra en 0.5 mL de CDCl_3 100% deuterado.

Se filtró la solución.

Se hizo desgasificación de la muestra por burbujeo con Argón.

2.2.4.2 Optimización de Parámetros Adecuados en los Experimentos nOe.

Se optimizó la potencia de los pulsos de irradiación.

Se optimizó el tiempo de irradiación de los pulsos.

Se determinaron los tiempos de relajación (T1) de los diferentes núcleos de Hidrógeno.

Una vez hecho lo anterior se procedió a realizar los experimentos nOe para posteriormente procesarlos y cuantificar por integración las señales de nOe obtenidas.

2.2.5 Resonancia Magnética Nuclear Dinámica

2.2.5.1 Experimentos de RMN a Temperatura Variable

Se emplearon 2 mg de cada compuesto seco y se hicieron los espectros de resonancia de Hidrógeno en los siguientes solventes y rangos de temperatura:

Solvente	Rango de temperatura
Cloroformo-d en 99.8 %D	De -40°C a 55°C
Benceno-d6, 99.5 %D	De 10°C a 70°C
Acetona-d6, 99.8 %D	De -40°C a 50°C
Metanol-d4, 99.8 %D	De -50°C a 50°C
Dimetilsulfóxido-d6, 99.8 %D	De 20°C a 90°C

Las temperaturas se tomaron en la sonda de medición y se fueron variando en intervalos de 10 °C en el equipo de resonancia y se tomaron las lecturas del espectro de ¹H RMN para cada temperatura. Se siguió la estrategia de hacer primero los experimentos en cloroformo-d y/o Acetona-d6, después los experimentos en metanol-d4 y/o benceno-d6 y por último en dimetilsulfóxido-d6.

2.2.5.2 Experimentos de RMN con Calentamiento Previo

Estos experimentos se llevaron a cabo solo con la isoperoxisomicina A1 mediante el siguiente procedimiento:

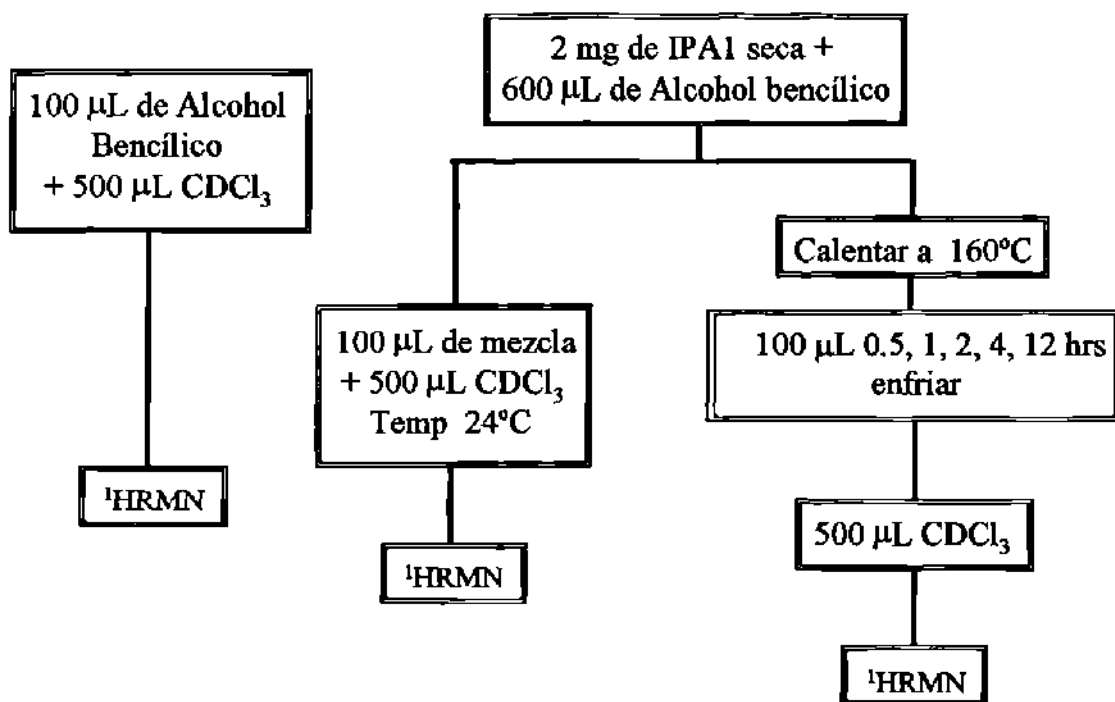
Se hicieron pruebas para la selección de un disolvente adecuado para la isoperoxisomicina A1. Los solventes probados fueron: cloruro de bencilo, p-xileno y alcohol bencílico.

Una vez elegido el solvente (alcohol bencílico), se procedió de acuerdo al diagrama 3: se hizo el espectro de resonancia de Hidrógeno con una solución de 100µL de alcohol bencílico en 500 µL de cloroformo-d. Posteriormente se hizo la disolución de 2 mg de IPA1 en 600 µL de alcohol bencílico; se tomaron 100 µL de

esta solución y se disolvieron en 500 μL de cloroformo-d para obtener el espectro de $^1\text{HRMN}$ a temperatura ambiente.

La mezcla restante de IPA1 y alcohol bencílico, se sometió a calentamiento en baño de aceite a 160 $^{\circ}\text{C}$. Se tomaron muestras a diferentes tiempos (0.5, 1, 2, 4 y 12 horas) y cada muestra se disolvió en 500 μL de cloroformo-d para hacer el espectro de $^1\text{HRMN}$.

Diagrama 3. Estrategia empleada para la RMN Dinámica con IPA1



La cuantificación de las señales observadas en el espectro de $^1\text{HRMN}$, se hizo mediante la obtención de la primer derivada de dicho espectro; se midió la distancia entre máximos y mínimos cada señal derivada y se sumaron. Posteriormente, se calculó el porcentaje de cada señal con respecto al valor total obtenido.

2.2.6 Determinación de los Parámetros Termodinámicos

Se hizo el cálculo para los parámetros termodinámicos mediante el uso de las siguientes ecuaciones:

Kc Constante de Rapidez de Intercambio

$$K_c = \frac{\pi \Delta v}{\sqrt{2}} = 2.22 \Delta v$$

ΔG_c^\ddagger Energía Libre de Activación

$$\Delta G_c^\ddagger = 4.58 T_c \left(10.32 + \log \frac{T_c}{K_c} \right)$$

Keq Constante de Equilibrio

$$K_{eq} = \frac{B}{A}$$

ΔG_o Diferencia de Energía Libre

$$\Delta G_o = -RT \ln K$$

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Purificación de los Compuestos Antracénicos

3.1.1 Purificación de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas

Se separaron y purificaron 4 peroxisomicinas y 2 isoperoxisomicinas a partir del fruto de *K. parvifolia* mediante el método antes mencionado. Durante el proceso de purificación de estos compuestos, se obtuvieron 33 g del extracto precipitado o Ppt. I. Posteriormente, al someterlo a separación por medio de extracción, se obtuvieron 26 g del residuo I y 6 g del Ppt. II. Se recuperaron 800 mg del residuo II (mezcla de isoperoxisomicinas) y se recuperaron 1.8 g del Ppt. III (mezcla de peroxisomicinas).

La pureza de cada compuesto se analizó por medio de CCF de Sílica Gel y CLAR Analítico (Tabla 3 y Figura 3)

Tabla 3. Características Cromatográficas y cantidades obtenidas de peroxisomicinas e isoperoxisomicinas.

Compuesto	Cantidad Obtenida	Rf en CCF	t _R CLAR
Peroxisomicina A1	290 mg	0.57	3.346
Peroxisomicina A2	350 mg	0.63	1.961
Peroxisomicina A3	9 mg	0.38	4.168
Peroxisomicina A4	18 mg	0.43	2.444
Isoperoxisomicina A1	170 mg	0.32	3.754
Isoperoxisomicina A2	30 mg	0.11	3.203

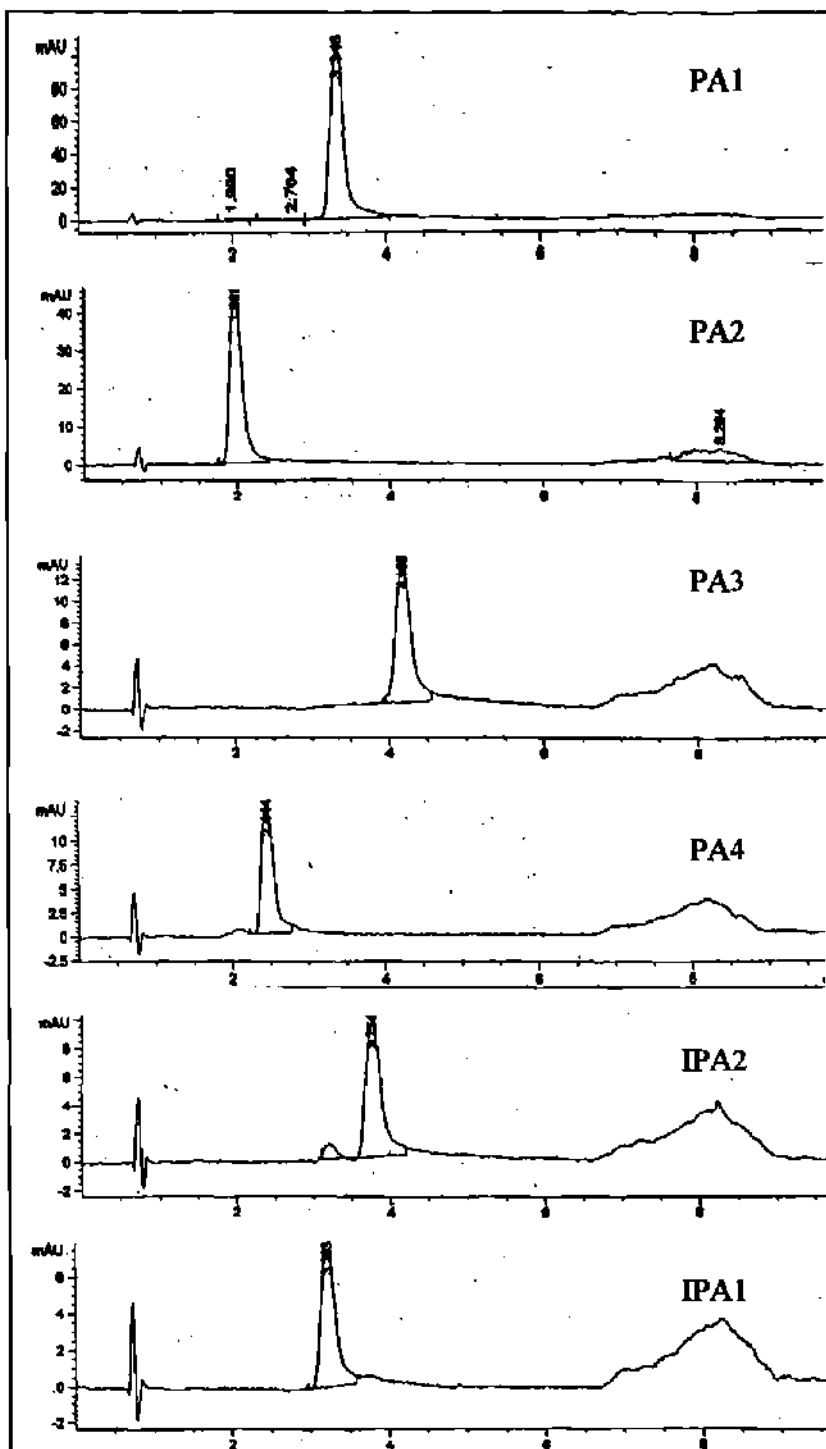


Figura 3. Cromatogramas de peroxisomicinas e isoperoxisomicinas puras.

3.1.2 Purificación de Tullidinoles

Se aislaron y purificaron 4 tullidinoles a partir del fruto de *K. humboldtiana* mediante el método ya descrito. Durante el proceso de separación y purificación de estos compuestos, se obtuvieron 18 g del precipitado proveniente del extracto de acetato de etilo. Posteriormente, se recuperaron 1.8 g de la mezcla de tullidinoles. La pureza de cada tullidinol se analizó por CLAR Analítico (Tabla 4 y Figura 4).

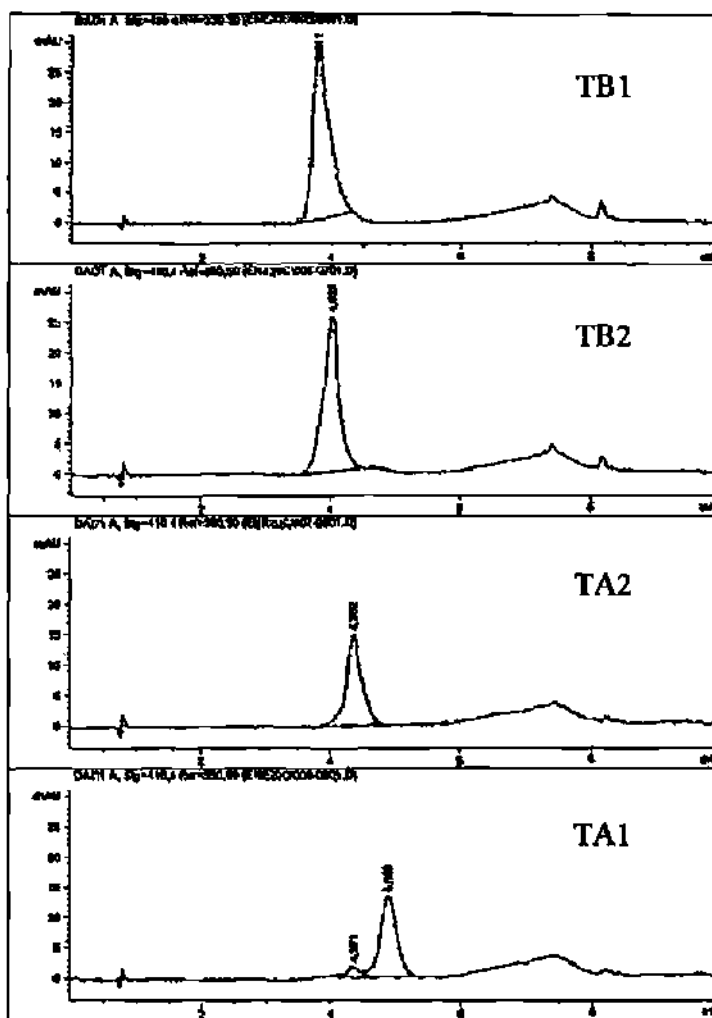


Figura 4. Cromatogramas de los Tullidinoles puros.

Tabla 4. Tiempos de retención y cantidades obtenidas de los tullidinoles.

Compuesto	Cantidad Obtenida	t _R CLAR
Tullidinol B1	11 mg	3.811
Tullidinol B2	9 mg	4.029
Tullidinol A2	8 mg	4.362
Tullidinol A1	13 mg	4.890

3.2 Asignación de las señales de Hidrógeno y Carbono

3.2.1 Peroxisomicinas

Se hizo la asignación de las señales de Hidrógeno y Carbono de peroxisomicinas en cloroformo-d, DMSO-d₆ y benceno-d₆ (Tablas 5, 6, 7, 8, 9 y 10).

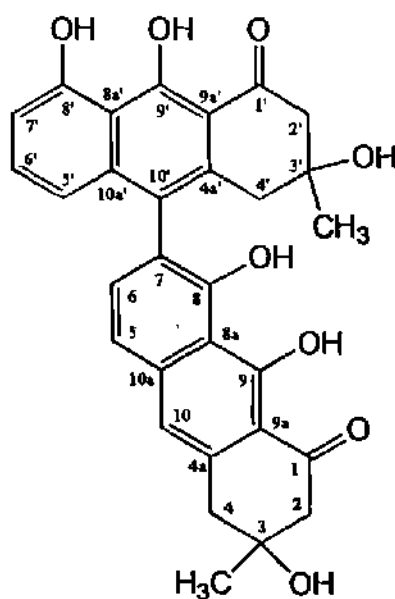


Tabla 5. Datos espectrales de ^1H RMN de Peroxisomicinas (400.13 MHz, en CDCl_3)

	PA1, δ (ppm)	PA2, δ (ppm)	PA3, δ (ppm)	PA4, δ (ppm)
H-2	2.90 (AB)	2.91 (AB)	2.91 (AB)	2.94 (d, 18.8) 2.88 (d, 18.4)
H-4	3.20 (d, 16.3) 3.14 (d, 16.2)	3.17 (AB)	3.19 (d, 16.5) 3.15 (d, 16.5)	3.17 (AB)
H-5	7.30 (d, 8.21)	7.31 (d, 8.05)	7.33 (s)	7.32 (s)
H-6	7.35 (d, 8.21)	7.35 (d, 8.01)	7.33 (s)	7.32 (s)
OH-8	9.93 (s)	9.90 (s)	10.02 (s)	10.00 (s)
OH-9	16.05 (s)	16.04 (s)	16.07 (s)	16.06 (s)
H-10	7.13 (s)	7.12 (s)	7.15 (s)	7.14 (s)
Me-3	1.52 (s)	1.51 (s)	1.52 (s)	1.51 (s)
H-2'	2.88 (AB)	2.89 (AB)	2.94 (d, 18.3) 2.79 (d, 17.7)	2.84 (d, 16) 2.80 (d, 17)
H-4'ax	2.93 (d, 16.7)	2.96 (d, 16.6)	2.77 (d, 16.2)	2.80 (d, 17.0)
H-4'ec	2.75 (d, 16.7)	2.79 (d, 16.6)	2.86 (d, 18.7)	2.88 (d, 18.4)
H-5'	6.77 (d, 8.3)	6.72 (d, 8.30)	6.75 (d, 8.3)	6.71 (d, 8.3)
H-6'	7.36 (t, 7.7)	7.35 (dd, 8.2, 7.7)	7.36 (dd, 8.1, 8.4)	7.35 (t, 8.1)
H-7'	6.86 (d, 7.7)	6.86 (d, 7.78)	6.87 (d, 7.8)	6.87 (d, 7.7)
OH-8'	10.03 (s)	10.00 (s)	10.05 (s)	10.04 (s)
OH-9'	16.40 (s)	16.38 (s)	16.46 (s)	16.45 (s)
Me-3'	1.35 (s)	1.36 (s)	1.34 (s)	1.34 (s)

Tabla 6. Datos espectrales de ^{13}C RMN de Peroxisomicinas (100 MHz, en CDCl_3)

C	PA1	PA2	PA3	PA4
1	203.180	203.175	203.146	203.188
2	51.250	51.302	51.298	51.301
3	71.147	71.087	71.117	71.109
4	43.223	43.308	43.281	43.297
4a	135.031	135.039	135.162	135.144
5	118.549	118.546	118.734	118.708
6	135.563	135.612	135.604	135.581
7	119.975	119.998	120.046	119.999
8	155.413	155.416	154.636	154.664
8a	113.013	113.003	113.128	113.083
9	165.525	165.581	165.509	165.485
9a	109.725	109.726	109.788	109.768
10	118.654	118.659	118.621	118.617
10a	139.348	139.348	139.383	139.346
Me3	29.251	29.121	29.212	29.149
1'	203.567	203.466	203.560	203.499
2'	50.906	50.007	50.680	50.740
3'	70.896	70.906	70.415	70.450
4'	41.030	41.114	41.715	41.700
4a'	133.200	133.088	133.060	132.940
5'	116.975	117.003	116.954	116.986
6'	132.695	132.761	132.718	132.792
7'	111.223	111.272	111.384	111.411
8'	158.599	158.600	158.723	158.670
8a'	112.857	112.855	113.029	112.977
9'	165.676	165.775	165.960	165.964
9a'	109.189	109.146	109.300	109.221
10'	125.242	125.304	125.144	125.180
10a'	139.240	139.247	139.148	139.116
Me3'	29.328	29.201	29.212	29.149

Tabla 7. Datos espectrales de ^1H RMN de Peroxisomicinas, (400.13 MHz, DMSO)

	PA1, δ (ppm)	PA2, δ (ppm)	PA3, δ (ppm)
H-2	3.01 (d,17.4)	3.01 (d,16.8)	3.01 (d,17.2)
	2.74 (d,17.4)	2.75 (m)	2.74 (d,17.5)
H-4	3.13 (d,16.0)	3.13 (d,16.0)	3.14 (d,15.8)
H-4	3.01 (d,15.4)	3.03 (d,16.0)	3.02 (d,15.6)
H-5	7.41 (d,8.2)	7.42 (d,8.3)	7.40 (d,8.1)
H-6	7.32 (d,8.2)	7.32 (d,8.3)	7.31 (d, 8.1)
OH-8	9.74 (s)	9.73 (s)	9.96 (s)
OH-9	15.93 (s)	15.94 (s)	15.95 (s)
H-10	7.23 (s)	7.32 (s)	7.23 (s)
Me-3	1.34 (s)	1.34 (s)	1.34 (s)
H-2'	3.00 (d,17.1)	3.01 (d,16.8)	2.93 (d,17.0)
	2.70 (d,17.0)	2.71 (m)	2.76 (d,17.0)
H-4'	2.78 (d,16.5)	2.78 (d,16.3)	2.74 (d,16.4)
H-4'	2.63 (d,16.5)	2.65 (d,16.3)	2.61 (d,16.3)
H-5'	6.64 (d, 8.3)	6.62 (d,8.3)	6.66 (d,8.4)
H-6'	7.37 (t, 8.0)	7.36 (t,8.1)	7.37 (t,8.0)
H-7'	6.81 (d, 7.7)	6.81 (d,7.7)	6.81 (d, 7.7)
OH-8'	9.98 (s)	9.97 (s)	9.96 (s)
OH-9'	16.13 (s)	16.13 (s)	16.10 (s)
Me-3'	1.17 (s)	1.17 (s)	1.15 (s)

Tabla 8. Datos espectrales de ^{13}C CRMN de Peroxisomicinas (100 MHz, DMSO- d_6)

C	PA1 δ (ppm)	PA2 δ (ppm)	PA3 δ (ppm)
1	205.4	205.3	205.4
2	51.0	51.0	51.0
3	69.2	69.7	69.6
4	42.4	43.3	42.3
4a	137.2	137.2	137.2
5	118.3	119.3	118.3
6	135.1	135.1	135.0
7	119.4	119.4	119.4
8	154.4	154.4	154.1
8a	112.1	112.0	112.0
9	163.8	163.8	163.8
9a	110.0	110.0	109.9
10	117.9	117.9	117.8
10a	138.8	138.8	138.8
Me3	29.0	28.9	28.9
1'	205.6	205.6	205.2
2'	50.8	50.8	50.9
3'	69.7	69.2	69.0
4'	40.6	41.5	40.6
4a'	135.1	135.0	134.8
5'	116.5	116.5	116.5
6'	132.2	132.2	132.1
7'	110.5	110.5	110.4
8'	157.6	157.6	157.5
8a'	112.0	112.0	112.0
9'	163.9	164.0	163.9
9a'	109.5	109.5	109.4
10'	124.5	124.6	124.8
10a'	138.8	138.8	138.5
Me3'	29.1	29.0	28.6

Tabla 9. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Peroxisomicinas (400.13 MHz, en Benceno- d_6)

	PA1, δ (ppm)	PA2, δ (ppm)	PA3, δ (ppm)	PA4, δ (ppm)
H-2	2.54 (d, 17.4)	2.53 (d, 16.5)	2.53 (d, 16.9)	2.52 (d, 17)
H-2	2.28 (d, 17.4)	2.24 (d, 17.8)	2.26 (d, 17.5)	2.24 (d 17.4)
H-4	2.60 (AB)	2.62 (d, 15.9)	2.62 (AB)	2.64 (d, 16)
		2.53 (d, 16.5)		2.58 (d, 16.7)
H-5	7.21 (d, 8)	7.21 (d, 8.1)	7.22 (d, 8.7)	*
H-6	7.42 (d, 8)	7.41 (d, 8.2)	7.39 (d, 8.3)	7.39 (d, 8)
OH-8	10.17 (s)	10.26 (s)	10.26 (s)	10.24 (s)
OH-9	16.36 (s)	16.47 (s)	16.40	16.31 (s)
H-10	6.86 (s)	6.86 (s)	6.87 (s)	6.87 (s)
Me-3	0.99 (s)	0.96 (s)	0.99 (s)	0.97 (s)
H-2'	2.56 (d, 17.5)	2.53 (d, 16.5)	2.60 (d, 16.2)	2.53 (d, 16.9)
H-2'	2.33 (d, 17.5)	2.29 (d, 16.3)	2.39 (d, 17.4)	2.36 (d, 17.3)
H-4'	2.94 (d, 16.4)	2.90 (d, 16.4)	2.95 9d, 16.2)	2.93 (d, 16.1)
H-4'	2.83 (d, 16.9)	2.81 (d, 16.5)	2.73 (d, 17.4)	2.72 (d, 17.4)
H-5'	7.06 (d, 8.3)	7.08 (d, 8.4)	7.04 (d, 8.3)	7.07 (d, 8.1)
H-6'	7.23 (t, 7.6)	7.30 *	*	7.30 (t, 8.4)
H-7'0	7.11 (d, 7.7)	7.13 (d, 7.7)	7.11 (d, 7.8)	7.12 (d, 7.7)
OH-8'	10.32 (s)	10.45 (s)	10.42 (s)	10.43 (s)
OH-9'	16.78 (s)	16.90 (s)	16.91 (s)	16.91 (s)
Me-3'	0.93 (s)	0.87 (s)	0.99 (s)	0.97 (s)

* Señales traslapadas con el solvente

Tabla 10. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Peroxisomicinas (100 MHz, en Benceno- d_6)

C	PA1	PA2	PA3	PA4
1	203.74	203.76	203.69	203.68
2	51.29	51.27	51.31	51.30
3	70.56	70.57	70.56	70.57
4	43.30	43.28	43.30	43.29
4a	135.99	136.04	136.15	136.17
5	118.92	118.83	118.93	118.89
6	136.52	136.49	136.33	136.31
7	121.29	121.27	121.16	121.14
8	156.72	156.72	156.04	156.04
8a	113.82	113.84	113.88	114.11
9	166.47	166.45	166.26	166.25
9a	110.43	110.46	110.45	110.47
10	118.85	118.88	118.81	118.77
10a	140.04	140.05	140.03	140.03
Me3	29.02	29.06	29.02	29.01
1'	204.16	204.13	204.05	204.02
2'	51.16	51.12	51.19	51.14
3'	70.56	70.52	70.28	70.23
4'	41.63	41.64	42.35	42.37
4a'	134.28	134.22	134.02	133.94
5'	117.61	117.64	117.55	117.58
6'	133.23	133.25	133.30	133.32
7'	111.91	111.95	112.08	112.12
8'	160.01	160.01	160.11	160.12
8a'	113.93	113.94	114.09	113.89
9'	166.74	166.74	167.09	167.10
9a'	110.10	110.09	110.00	110.00
10'	125.95	125.98	125.79	125.81
10a'	140.35	140.37	140.18	140.19
Me3'	29.26	29.20	29.07	29.06

3.2.2 Isoperoxisomicinas

Se hizo la asignación de las señales de Hidrógeno y carbono de las isoperoxisomicinas en DMSO- d_6 (Tablas 11 y 12). Se hizo la asignación completa de Hidrógeno y Carbono en cloroformo- d solo para IPA1 (Tablas 13 y 14).

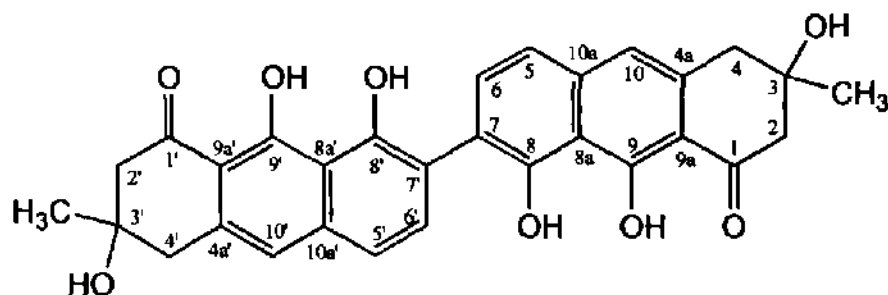


Tabla 11. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Isoperoxisomicinas, (400.13 MHz, DMSO)

	IPA1	IPA2
	δ (ppm)	δ (ppm)
H-2, H-2'	2.99 (d,17.2)	3.00 (d,17.3)
	2.73 (d,17.2)	2.73 (d,17.3)
H-4, H-4'	3.10 (d,16.0)	3.11 (d,16.0)
H-4, H-4'	2.99 (d,16.0)	3.00 (d,16.0)
H-5, H-5'	7.30 (d,8.3)	7.30 (d, 8.1)
H-6, H-6'	7.58 (d,8.3)	7.58 (d, 8.1)
OH-8, OH-8'	9.92 (s)	9.91 (s)
OH-9, OH-9'	16.04 (s)	16.05 (s)
H-10, H-10'	7.15 (s)	7.15 (s)
Me-3, Me-3'	1.32 (s)	1.32 (s)

Tabla 12. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Isoperoxisomicinas (100 MHz, DMSO- d_6)

H	IPA1	IPA2
	δ (ppm)	δ (ppm)
1, 1'	205.25	205.2
2, 2'	51.0	51.0
3, 3'	69.7	69.6
4, 4'	42.3	42.3
4 ^a , 4 ^{a'}	136.9	136.8
5, 5'	117.4	117.3
6, 6'	135.2	135.1
7, 7'	119.4	119.3
8, 8'	154.0	154.0
8 ^a , 8 ^{a'}	111.9	111.9
9, 9'	164.1	164.1
9 ^a , 9 ^{a'}	109.8	109.8
10, 10'	117.7	117.7
10 ^a , 10 ^{a'}	138.5	138.4
Me3, Me3'	29.0	28.9

Tabla 13. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Isoperoxisomicinas (400.13 MHz, en CDCl_3)

	IPA1 δ (ppm)	IPA2 δ (ppm)
H-2, H-2'	2.92 (d, 17.6)	2.93 (d, 17.6)
	2.86 (d, 17.5)	2.87 (d, 17.4)
H-4, H-4'	3.15 (d, 17.2)	3.16 (d, 17.9)
	3.11 (d, 17.8)	3.11 (d, 17.3)
H-5, H-5'	7.25 (d, 8.53)	7.25 (d, 8.7)
H-6, H-6'	7.67 (d, 8.25)	7.67 (d, 8.24)
OH-8, OH-8'	10.09 (s)	10.09 (s)
OH-9, OH-9'	16.10 (s)	16.11 (s)
H-10, H-10'	7.07 (s)	7.07 (s)
Me-3, Me3'	1.47 (s)	1.48 (s)

Tabla 14. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Isoperoxisomicina A1 (100 MHz, en CDCl_3)

C	δ ppm
1, 1'	202.864
2, 2'	51.327
3, 3'	71.053
4, 4'	43.400
4a, 4a'	134.406
5, 5'	117.720
6, 6'	135.745
7, 7'	119.919
8, 8'	155.032
8a, 8a'	113.011
9, 9'	166.033
9a, 9a'	109.446
10, 10'	118.661
10a, 10a'	139.138
Me3, Me3'	29.948

3.2.3 Tullidinoles

Se hizo la asignación de las señales de Hidrógeno y Carbono de los tullidinoles en cloroformo-d y benceno-d6 (Tablas 15, 16, 17 y 18). En DMSO-d6, no fue posible hacer las asignaciones debido a que los tullidinoles son muy inestables en ese solvente.

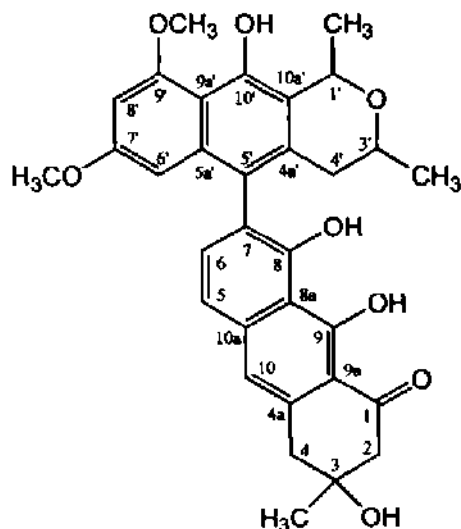


Tabla 15. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Tullidinoles (400.13 MHz, en CDCl_3)

H	Tullidinol B1 δ (ppm)	Tullidinol B2 δ (ppm)	Tullidinol A1 δ (ppm)	Tullidinol A2 δ (ppm)
2	2.87 (d, 17.6) 2.93 (d, 17.7)	2.89 (d, 18.1) 2.91 (d, 18.1)	2.91 (AB)	2.87 (d, 17.7) 2.93 (d, 17.7)
4	3.16 (AB)	3.17 (AB)	3.16 (AB)	3.15 (AB)
5	7.30 (d, 8.2)	7.30 (d, 8.2)	7.27 (d, 8.2)	7.25 (d, 8.2)
6	7.42 (d, 8.2)	7.42 (d, 8.2)	7.32 (d, 8.2)	7.32 (d, 8.2)
OH-8	9.84 (s)	9.84 (s)	9.93 (s)	9.94 (s)
OH-9	16.06 (s)	16.05 (s)	16.06 (s)	16.07 (s)
10	7.13 (s)	7.14 (s)	7.12 (s)	7.11 (s)
Me-3	1.52 (s)	1.50 (s)	1.52 (s)	1.51 (s)
1'	5.27 (c, 6.1)	5.26 (c, 6.1)	5.27 (c, 6.0)	5.27 (c, 6.0)
3'	3.71 (m)	3.71 (m)	3.66(m)	3.65 (m)
4'(ec)	2.29 (dd, 16 y 2)	2.30 (dd, 16 y 2)	2.31 (d, 16)	2.26 (d, 16)
4'(ax)	2.37 (dd, 16 y 10)	2.38 (dd, 16 y 10)	2.64 (dd, 16 y 11)	2.64 (dd, 16 y 11)
6'	6.27 (d, 1.5)	6.23 (d, 1.4)	6.26 (s)	6.31 (d, 1.5)
8'	6.43 (d, 1.5)	6.43 (d, 1.4)	6.42 (s)	6.42 (d, 1.3)
OH-10'	9.63 (s)	9.65 (s)	9.63 (s)	9.63 (s)
Me-1'	1.69 (d, 6.2)	1.70 (d, 6.1)	1.70 (d, 6.1)	1.70 (d, 6.1)
Me-3'	1.21 (d, 6.0)	1.22 (d, 6.2)	1.22 (d, 5.9)	1.21 (d, 6.2)
OMe-7'	3.58 (s)	3.58 (s)	3.57 (s)	3.58 (s)
OMe-9'	4.05 (s)	4.04 (s)	4.05 (s)	4.04 (s)

Tabla 16. Datos espectrales de ^{13}C RMN de Tullidinoles (100.6 MHz, en CDCl_3)

C	Tullidinol B1 δ (ppm)	Tullidinol B2 δ (ppm)	Tullidinol A1 δ (ppm)	Tullidinol A2 δ (ppm)
1	202.97	202.90	202.87	202.93
2	51.28	51.28	51.36	51.32
3	71.10	71.19	71.17	71.11
4	43.30	43.25	43.32	43.30
4a	134.50	134.49	134.60	134.59
5	118.51	118.50	118.03	118.02
6	136.58	136.61	136.44	136.40
7	121.56	121.60	121.40	121.34
8	154.86	154.88	155.90	155.87
8a	112.92	112.93	113.18	113.16
9	165.81	165.87	165.86	165.80
9a	109.38	109.39	109.60	109.57
10	118.65	118.65	118.61	118.60
10a	139.17	139.21	139.15	139.11
Me-3	29.20	29.26	29.22	29.17
1'	71.20	71.22	71.07	71.04
3'	69.39	69.39	69.30	69.28
4'	36.71	36.78	35.74	35.70
4a'	135.19	135.11	135.88	135.97
5'	122.99	123.04	122.48	122.43
5a'	134.30	134.32	134.58	134.54
6'	97.68	97.56	97.77	97.83
7'	157.13	157.20	157.15	157.08
8'	96.93	97.11	97.05	96.88
9'	157.46	157.44	157.46	157.47
9a'	109.52	109.51	109.65	109.62
10'	150.25	150.26	150.13	150.10
10a'	119.71	119.69	119.48	119.49
Me-1'	21.84	21.87	21.95	21.91
Me-3'	21.72	21.74	21.79	21.75
MeO-7'	55.10	55.16	55.12	55.082
MeO-9'	56.28	56.28	56.30	56.28

Tabla 17. Datos espectrales de $^1\text{HRMN}$ de Tullidinoles (400.13 MHz, en Benceno- d_6)

	TB1, δ (ppm)	TB2, δ (ppm)	TA1, δ (ppm)	TA2, δ (ppm)
H-2	2.53 (d, 17.1 Hz)	2.53 (d, 17.2 Hz)	2.52 (d, 16.5 Hz)	2.52 (d, 17.3 Hz)
	2.26 (d, 17 Hz)	2.26 (d, 17.4 Hz)	2.26 (d, 17 Hz)	2.25 (d, 17.5 Hz)
H-4	2.60 (d, 16 Hz)	2.61 (d, 15.8 Hz)	2.63 (d, 15.8 Hz)	2.63 (d, 15.7 Hz)
	2.53 (d, 17.1 Hz)	2.54 (d, 16.1 Hz)	2.55 (d, 14 Hz)	2.56 (d, 15.1 Hz)
H-5	7.26 (d, *)	7.27 (d, *)	**	7.26 (d, 8.1 Hz)
H-6	7.57 (d, 8.1)	7.57 (d, 8 Hz)	7.61 (d, 8 Hz)	7.60 (d, 8.3 Hz)
OH-8	10.33 (s)	10.34 (s)	10.35 (s)	10.34 (s)
OH-9	16.48 (s)	16.48 (s)	16.41 (s)	16.40 (s)
H-10	6.86 (s)	6.87 (s)	6.88 (s)	6.87 (s)
Me-3	0.95 (s)	0.97 (s)	0.98 (s)	0.97 (s)
H-1'	5.87 (c, 6 Hz)	5.85 (c, 6 Hz)	5.90 (c, 6 Hz)	5.90 (c, 6 Hz)
H-3'	3.91 (m)	3.89 (m)	3.89 (m)	3.90 (m)
H-4'	2.88 (AB)	2.85 (AB)	3.26 (dd, 16 y 11)	3.28 (d, 17 Hz)
H-4'			2.79 (d, 15.3 Hz)	2.81 (d, 16.2 Hz)
H-6'	6.82 (d, 1 Hz)	6.83 (s)	6.83 (s)	6.80 (d, 2.2 Hz)
H-8'	6.40 (d, 1 Hz)	6.40 (s)	6.40 (s)	6.40 (d, 2.2 Hz)
OH-10'	9.92 (s)	9.89 (s)	9.89 (s)	9.88 (s)
Me-1'	2.35 (d, 6.1 Hz)	2.31 (d, 6 Hz)	2.29 (d, 6.1 Hz)	2.30 (d, 6 Hz)
Me-3'	1.35 (d, 5.9 Hz)	1.29 (d, 6 Hz)	1.30 (d, 6.1 Hz)	1.36 (d, 6.2 Hz))
OMe-7'	3.32 (s)	3.34 (s)	3.38 (s)	3.32 (s)
OMe-9'	3.04 (s)	3.08 (s)	3.08 (s)	3.08 (s)

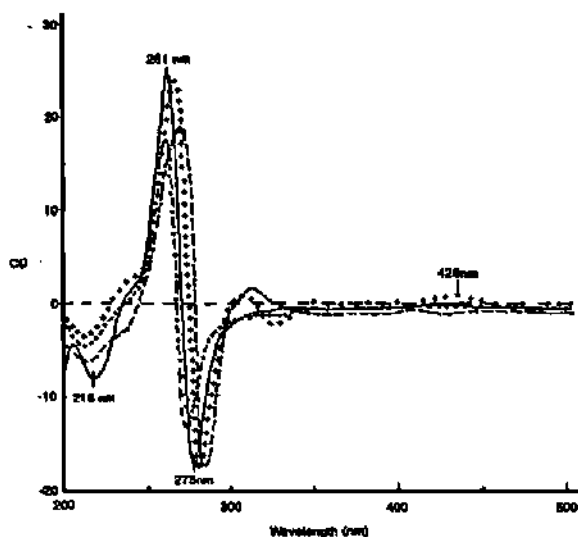
* No determinado, ** Señal traslapada con el solvente

Tabla 18. Datos espectrales de $^{13}\text{CRMN}$ de Tullidinoles (100.6 MHz, en Benceno- d_6)

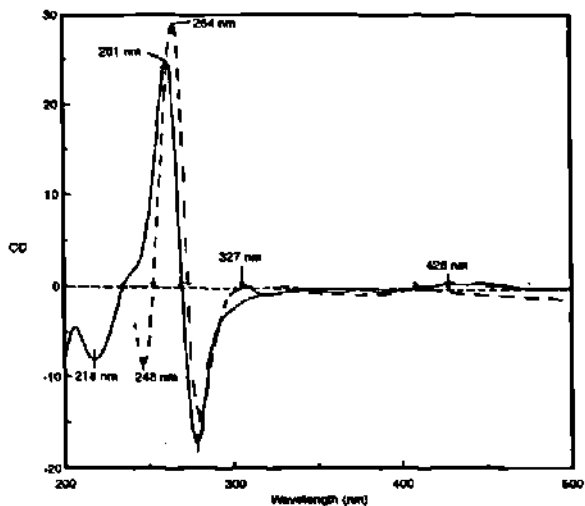
C	TB1, δ (ppm)	TB2, δ (ppm)	TA1, δ (ppm)	TA2, δ (ppm)
1	203.511	203.504	203.485	203.347
2	51.357	51.358	51.347	51.421
3	70.524	70.539	70.564	70.526
4	43.388	43.401	43.372	43.449
4a	135.816	135.828	136.000	135.998
5	118.982	118.987	118.404	118.395
6	137.620	137.643	137.271	137.303
7	123.004	123.055	122.677	122.717
8	156.395	156.423	157.337	157.352
8a	113.853	113.880	114.101	114.106
9	166.750	166.776	166.614	166.682
9a	110.268	110.238	110.294	110.281
10	118.982	118.987	118.854	118.852
10a	139.999	140.002	139.890	139.895
Me-3	28.922	28.905	28.966	28.846
1'	72.223	72.204	72.093	72.099
3'	70.058	70.051	69.997	70.033
4'	38.113	38.108	36.983	36.997
4a'	136.337	136.326	137.066	137.129
5'	124.622	124.559	123.895	123.895
5a'	135.555	135.536	135.735	135.690
6'	98.582	98.674	98.681	98.701
7'	158.251	158.189	158.059	158.023
8'	97.850	97.867	97.709	97.719
9'	158.146	158.224	158.269	158.284
9a'	110.663	110.659	110.839	110.865
10'	151.609	151.597	151.442	151.453
10a'	121.251	121.201	120.964	121.031
Me-1'	23.065	23.070	23.021	23.034
Me-3'	22.488	22.392	22.418	22.503
MeO-7'	54.939	55.044	55.023	54.947
MeO-9'	55.619	55.651	55.670	55.675

3.2.4 Dicroísmo Circular

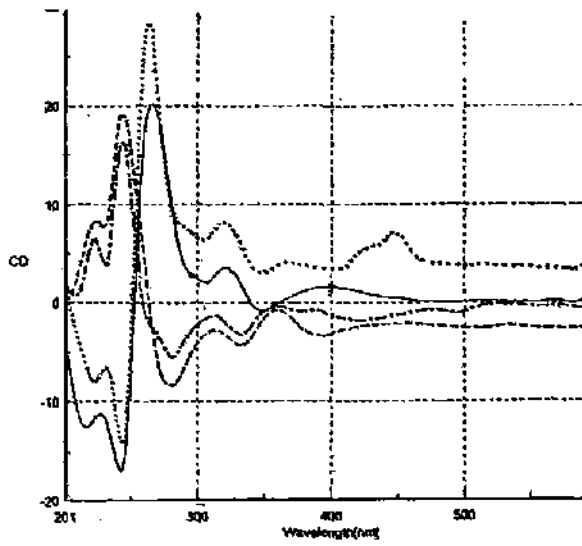
Una vez purificados y caracterizados los compuestos, se pesó 1 mg de cada uno y se enviaron al Instituto de Química de la U.N.A.M. para hacer el espectro de dicroísmo circular. Los espectros se hicieron en metanol en un espectropolarímetro Jasco Modelo J-720 y se presentan a continuación.



Espectros de dicroísmo circular para PA1 —, PA2 ---, PA3 ··· y PA4 - · - ·.



Espectros de dicroísmo circular para IPA1 — e IPA2 ----.



Espectros de dicroísmo circular para TB1 —, TB2 ···, TA1 ---, y TA2 ·-·.

Tabla 20. Distancias internucleares para las estructuras elegidas para peroxisomicinas en base a los resultados de los experimentos nOe diferenciales, espectros de DC y resultados de configuración absoluta de PA1 y PA2.

Modelo	Quiralidad		Angulo Diedro Biarílico C4a'-C10'-C7-C8	Distancias internucleares en Angstroms			
	C3'	C3		H4'ax-H6	H4'ax-OH8	H4'ec-OH8	H4'ec-H6
1a'	R	R	-73.575	3.46	5.17	3.48	3.88
2a'	R	S	-69.148	3.38	5.12	3.47	3.87
3a'	S	S	-73.520	4.69	3.33	4.21	3.37
3b'	S	R	-73.428	4.70	3.33	4.21	3.37

3.3.2 Estructuras Construidas para Isoperoxisomicinas

Se construyeron en total 8 estructuras para las isoperoxisomicinas y se optimizó la geometría con el método semiempírico en nivel AM1 del programa MacSpartan plus. Se calculó el calor de formación y las distancias internucleares para cada estructura construida. Los modelos seleccionados para cada isoperoxisomicina, así como sus coordenadas cartesianas se encuentran en el Apéndice 1.

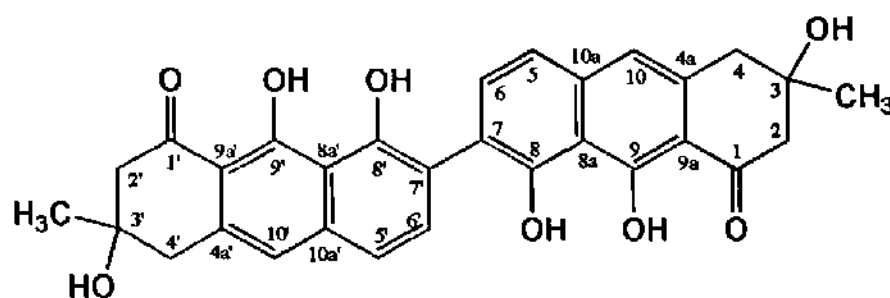


Tabla 21. Estructuras construidas para isoperoxisomicinas

Modelo	Quiralidad		Ángulo Diedro Biarílico C8'-C7'-C7-C6	ΔH de formación kcal/mol
	C3'	C3		
1a1	R	R	-46.501	-271.390
1a2	R	S	-44.930	-271.329
1a3	S	S	-45.193	-269.899
1a	S	R	-46.501	-269.243
1a'1	R	R	+45.115	-271.344
1a'2	R	S	+44.921	-271.416
1a'3	S	S	+44.903	-269.968
1b'4	S	R	+45.046	-272.724

Tabla 22. Distancias internucleares para las estructuras elegidas para isoperoxisomicinas en base a los resultados de RMN y DC.

Modelo	Quiralidad		Ángulo Diedro Biarílico C8'-C7'-C7-C6	Distancias internucleares en Å		
	C3'	C3		H6-OH8'	H6-H6'	H5-H10
1a	S	R	-46.501	3.23	4.34	2.41
1a3	S	S	-45.193	3.23	4.34	2.41
1a1	R	R	-46.501	3.23	4.34	2.41
1a'1	R	R	+45.115	3.23	4.34	2.41
1a'2	R	S	+44.921	3.23	4.34	2.41
1a'3	S	S	+44.903	3.23	4.34	2.41

3.3.3 Estructuras Construidas para Tullidinoles

Se construyeron en total 16 estructuras para los tullidinoles y se optimizó la geometría con el método semiempírico en nivel AM1 del programa MacSpartan plus. Se calculó el calor de formación y las distancias internucleares para cada estructura construida. Las estructuras seleccionadas para cada tullidinol, así como sus coordenadas cartesianas se encuentran en el Apéndice 1.

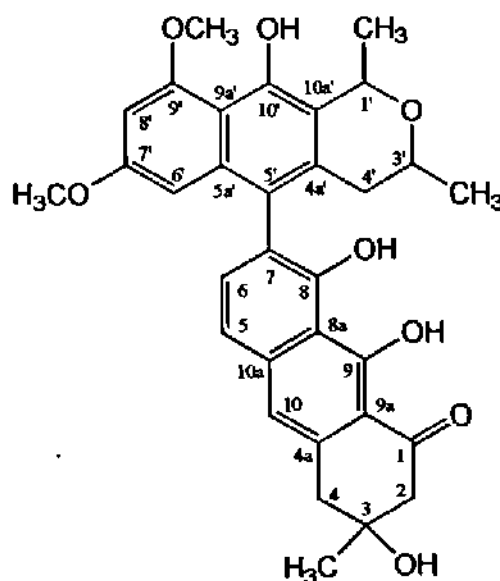


Tabla 23. Estructuras construidas para Tullidinoles.

Modelo	ΔH formación kcal/mol	Quiralidad			Ángulo diedro biarílico C4a'-C5'-C7-C8
		C1'	C3'	C3	
1aam1	-260.426	R	R	R	-77.779
2aam1	-259.594	R	R	S	-78.763
3aam31	-262.195	R	S	R	-79.562
4aam21	-260.802	R	S	S	-80.128
5aam11	-261.021	S	R	R	-70.193
6aam2	-258.638	S	S	R	-77.379
7aam3	-258.434	S	R	S	-97.256
8aam2	-259.251	S	S	S	-77.837
1a'am1	-260.679	R	R	R	+79.103
2a'am1	-259.693	R	R	S	+106.864
3a'am31	-261.775	R	S	R	+70.193
4a'am21	-260.486	R	S	S	+70.363
5a'am12	-262.169	S	R	R	+79.943
6a'am2	-258.168	S	S	R	+77.086
7a'am1	-258.501	S	R	S	+80.756
8a'am2	-263.234	S	S	S	+89.273

Tabla 24. Estructuras seleccionadas en base a la distancia entre H1' y H3'.

Modelo	Quiralidad			Ángulo diedro biarílico C4a'-C5'-C7-C8	Ángulo diedro H4'ax-C4'-C3'-H3'	Distancia entre H1' y H3'
	C1'	C3'	C3			
3aam31	R	S	R	-79.562	178.39	2.72 Å
4aam21	R	S	S	-80.128	178.47	2.72 Å
5aam11	S	R	R	-70.193	178.04	2.74 Å
7aam3	S	R	S	-97.256	178.81	2.74 Å
3a'am31	R	S	R	+70.193	178.06	2.70 Å
4a'am21	R	S	S	+70.363	177.81	2.74 Å
5a'am12	S	R	R	+79.943	179.97	2.72 Å
7a'am1	S	R	S	+80.756	179.22	2.78 Å

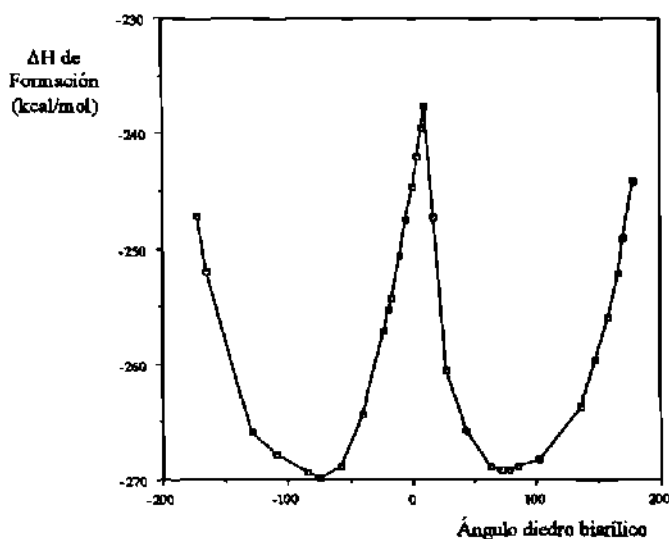
Tabla 25. Distancias internucleares más importantes en la selección de las estructuras para los Tullidinoles.

Modelo	Distancias Internucleares en Angstroms					
	H1'-H3'	H4'ec-H6	H4'ax-H6	H4'ec-OH8	H4'ax-OH8	H6'-H6
3aam31	2.72	4.03	3.65	3.45	5.12	2.96
4aam21	2.72	4.01	3.63	3.47	5.13	2.98
5aam11	2.74	3.52	4.85	4.13	3.39	2.78
7aam3	2.74	3.52	4.83	4.12	3.39	2.76
3a'am31	2.70	3.48	4.80	4.21	3.39	2.79
4a'am21	2.74	3.51	4.80	4.13	3.40	2.78
5a'am1	2.72	4.03	3.63	3.46	5.13	2.98
7a'am1	2.78	3.98	3.60	3.42	5.10	2.90

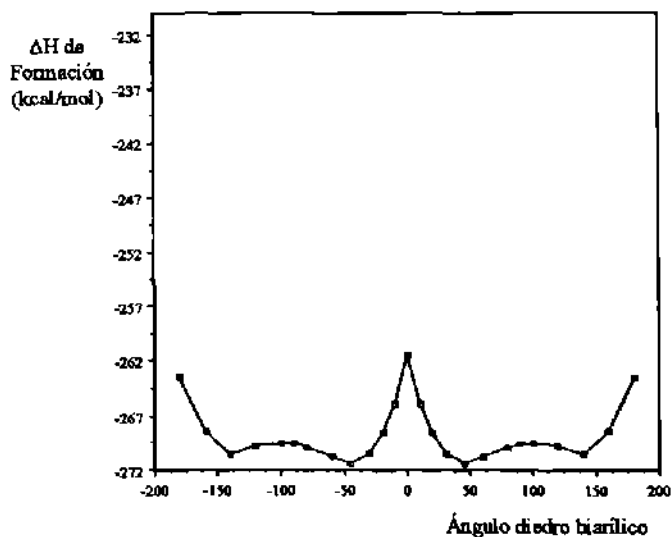
3.3.4 Gráficos de Energía Contra Ángulo Diedro Biarílico.

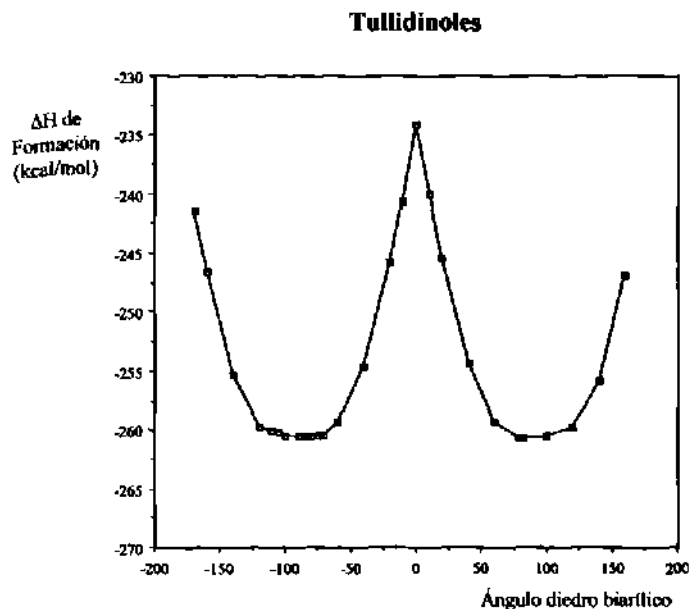
Se construyeron los siguientes gráficos de calor de formación contra ángulo diedro biarílico para las peroxisomicinas, isoperoxisomicinas y tullidinoles, mediante el programa Cricket Graph.

Peroxisomicinas



Isoperoxisomicinas





3.4 Experimentos nOe Diferenciales

Se llevaron a cabo los experimentos nOe diferenciales de cada uno de los compuestos antracénicos puros en CDCl_3 100% deuterado. Los porcentajes calculados para las señales de nOe encontradas se encuentran en el Apéndice 2 y los nOe más importantes encontrados se ilustran en las siguientes figuras:

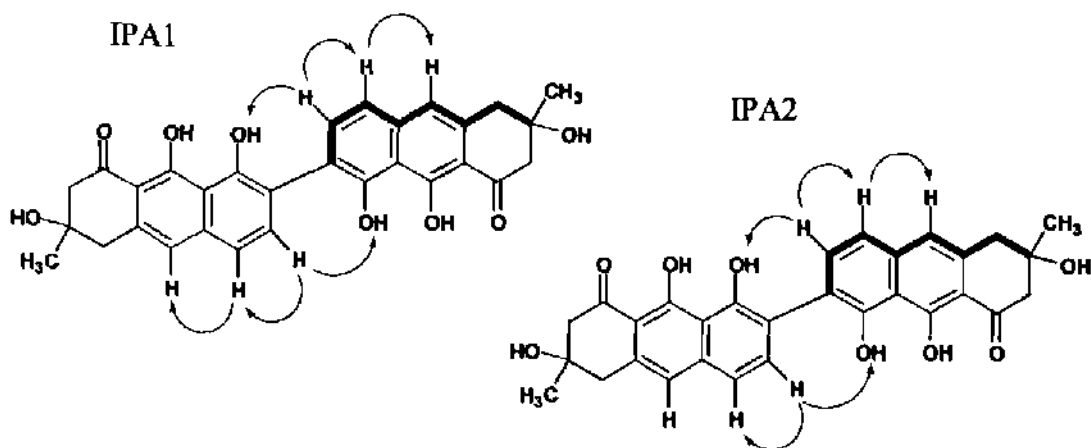
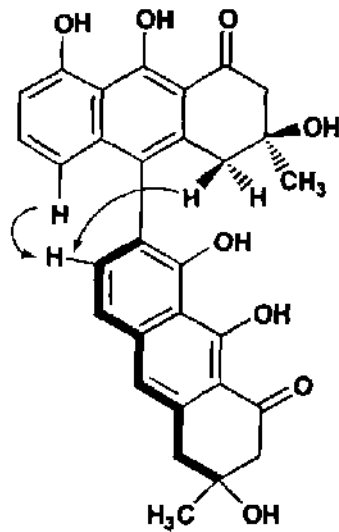


Figura 5. Interacciones nOe más importantes para Isoperoxisomicinas.

PA1, PA2



PA3, PA4

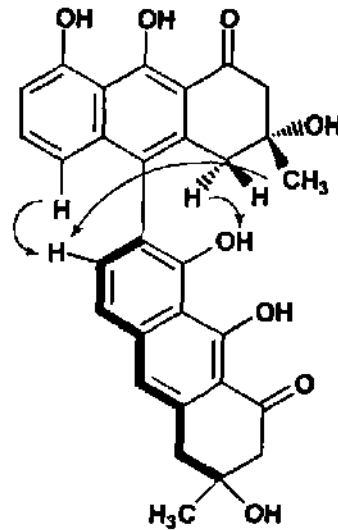


Figura 6. Interacciones nOe más importantes para Peroxisomicinas.

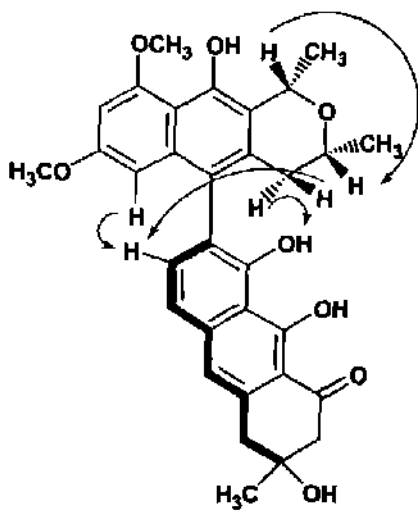
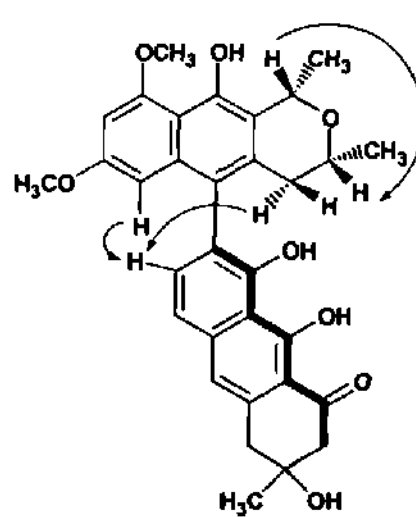
TA₁ y TA₂TB₁ y TB₂

Figura 7. Interacciones nOe más importantes para Tullidinoles.

3.5 Resonancia Magnética Nuclear Dinámica

3.5.1 Experimentos de RMN de Temperatura Variable

Se obtuvieron los espectros de cada compuesto, en cada solvente y a diferentes temperaturas. No se observaron en los espectros evidencias de algún cambio de conformación en ninguno de los compuestos. En las figuras 8, 9, 10, 11, y 12 se muestran algunos espectros representativos de la peroxisomicina A1 en diferentes solventes y temperaturas.

3.5.2 Experimentos de RMN con Calentamiento Previo

En base a los resultados obtenidos según los experimentos detallados en la sección 2.2.5.2 se determinó que la temperatura mínima necesaria para alcanzar una libre rotación en torno a la unión biarílica en la IPA1 fue de 160 °C.

En la figura 13 se muestran una zona de los espectros de ¹HRMN del alcohol bencílico, de la mezcla de IPA1 en alcohol bencílico a 25 °C y de la misma mezcla después del calentamiento a 160 °C en cloroformo-d.

Se cuantificaron las dos especies observadas por medio de la derivada del espectro de ¹HRMN y los porcentajes calculados fueron 42 y 58%.

La diferencia de los desplazamientos químicos entre ambas especies (1127.59 Hz y 1123.4 Hz) se determinó como 4.19 Hz.

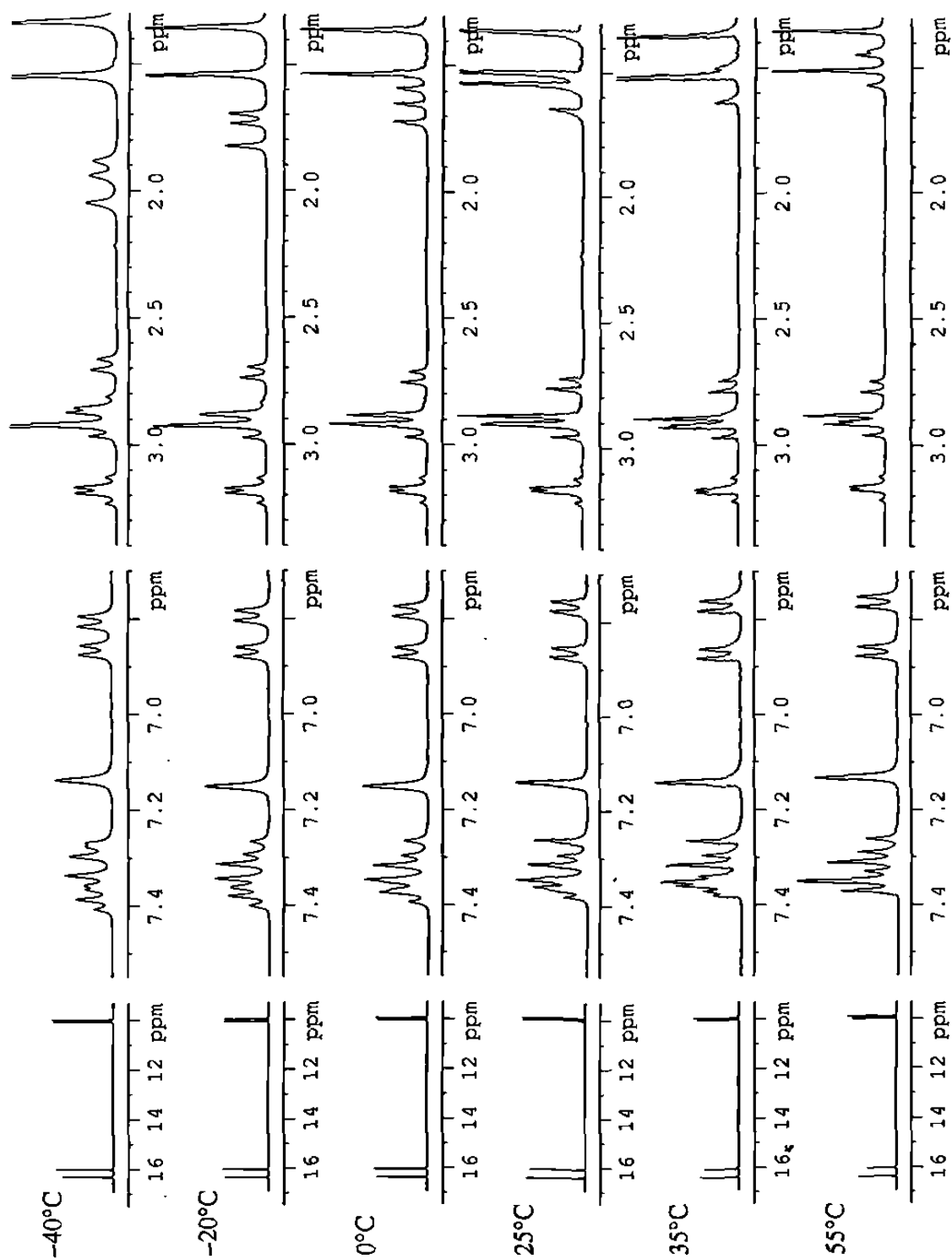


Figura 8. Espectros de ^1H RMN de peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en CDCl_3 .

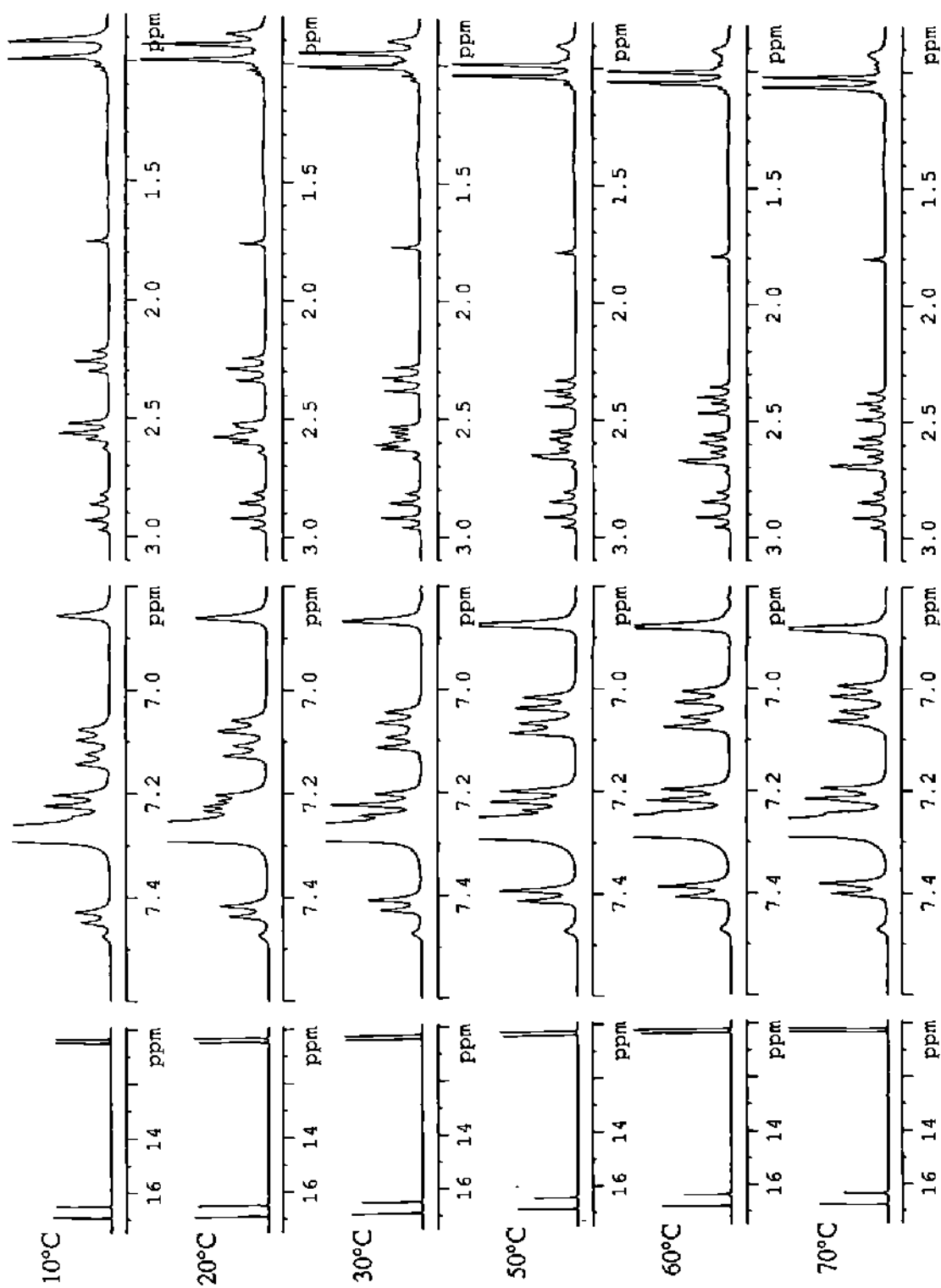


Figura 10. Espectros de ^1H RMN de peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en Benceno- d_6 .

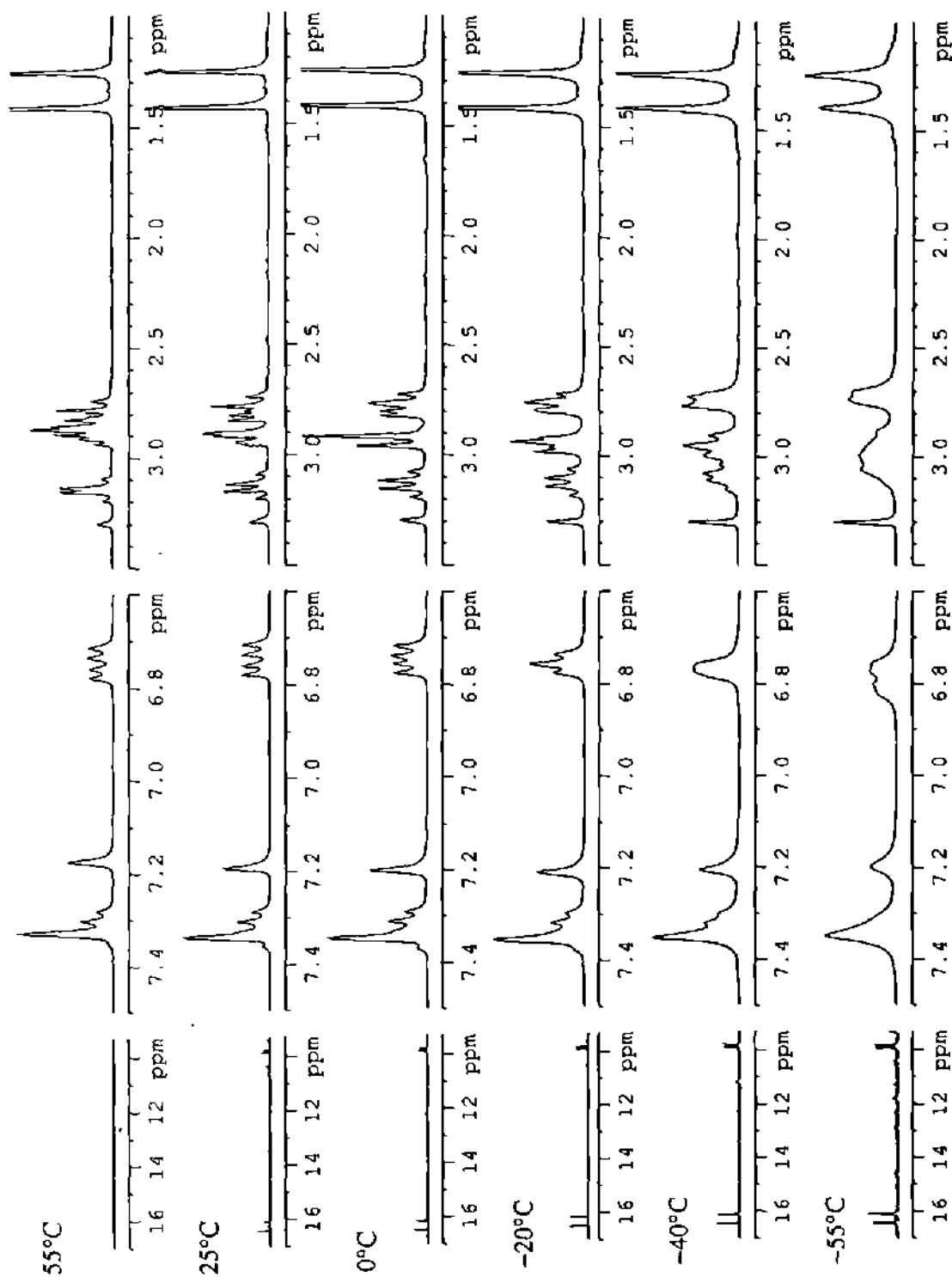


Figura 11. Espectros de ^1H RMN de peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en Metanol- d_4 .

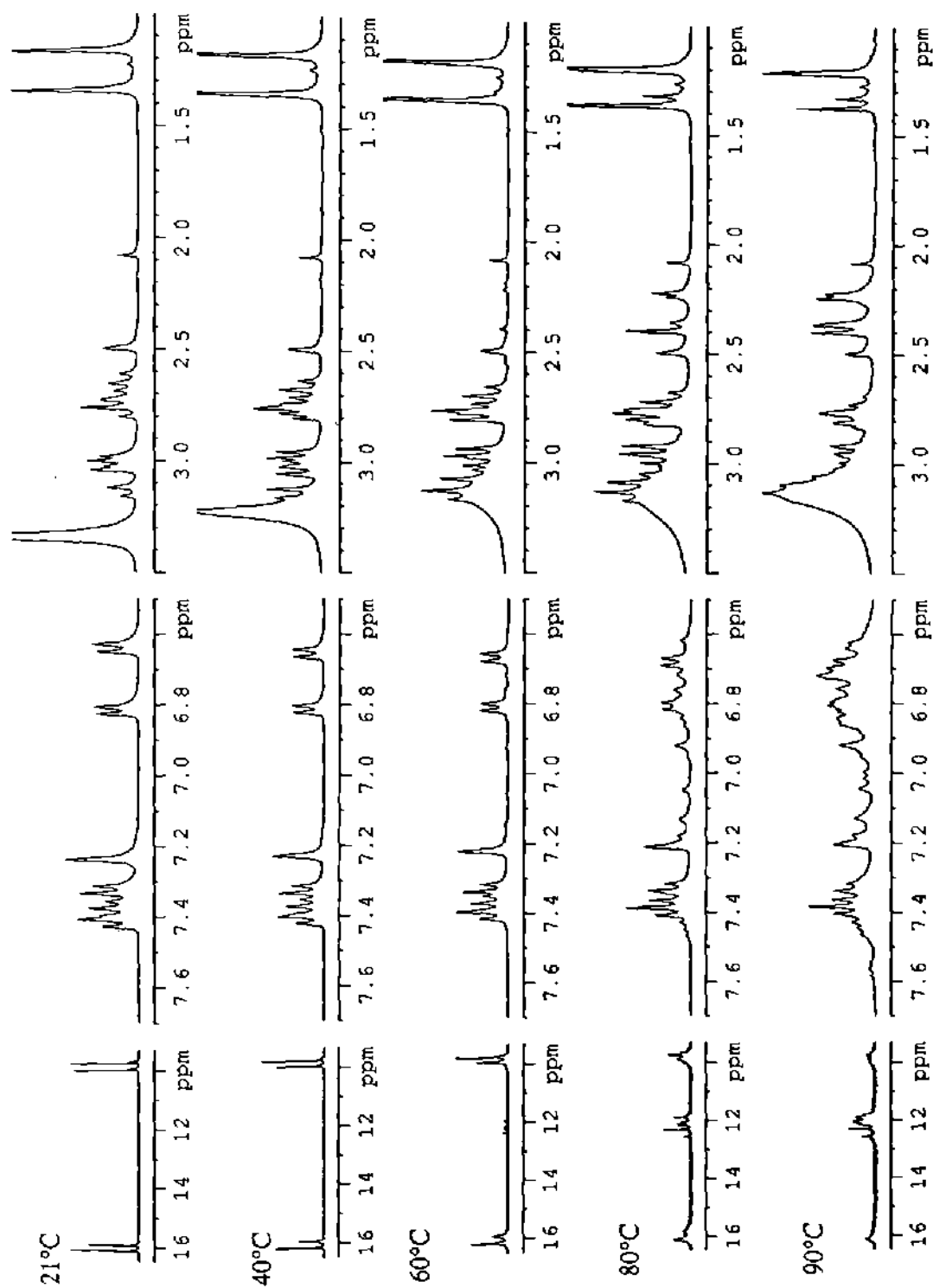


Figura 12. Espectros de ^1H RMN de peroxisomicina A1 a diferentes temperaturas en DMSO- d_6 .

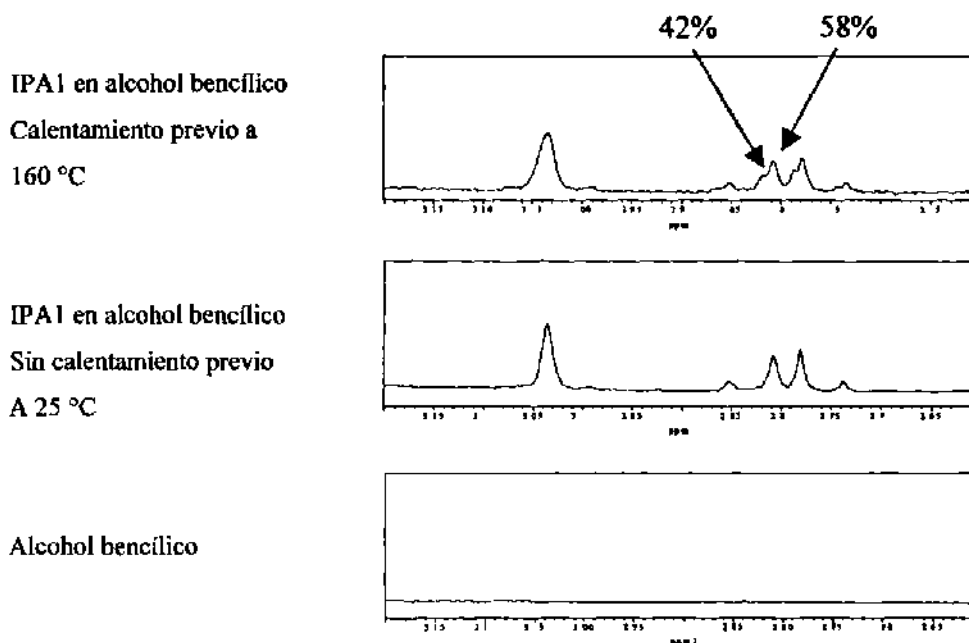


Figura 13. Espectros de RMN Dinámica de Isoperoxisomicina A1 en cloroformo-d.

3.6 Parámetros Termodinámicos

En los experimentos de RMN de temperatura variable no se observaron evidencias espectrales que indicaran algún cambio de conformación a las temperaturas que se trabajaron, por lo que no se determinaron parámetros termodinámicos.

En los experimentos RMN dinámica hechos con calentamiento previo con la IPA1, se observaron evidencias de cambio de configuración en torno a la unión biarilica, por lo que se determinaron los parámetros termodinámicos para dicho cambio.

K_c Constante de Rapidez de Intercambio

$$K_c = 2.22 \Delta\nu = 2.22 (4.19 \text{ Hz})$$

$$K_c = 9.30 \text{ s}^{-1}$$

ΔG_c^\ddagger Energía Libre de Activación

$$\Delta G_c^\ddagger = 4.58 T_c \left(10.32 + \log \frac{T_c}{K_c} \right)$$

$$\Delta G_c^\ddagger = 4.58 \times 433.15 \text{ K} \left(10.32 + \log \frac{433.15 \text{ K}}{9.30 \text{ s}^{-1}} \right)$$

$$\Delta G_c^\ddagger = 23,782.5 \text{ cal/mol}$$

Keq Constante de Equilibrio

$$\text{Keq} = \frac{B}{A} = \frac{4.2}{5.8} = 0.724$$

 ΔG_o Diferencia de Energía Libre

$$\Delta G_o = -RT \ln \text{Keq}$$

$$\Delta G_o = - (1.9872 \text{ cal/mol K}) (433.15 \text{ K}) \ln (0.724)$$

$$\Delta G_o = 278 \text{ cal/mol}$$

CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN

4.1 Purificación de los Compuestos Antracénicos

Durante la purificación de todos los compuestos, se trabajó con las medidas necesarias para asegurar la estabilidad de los mismos. Es decir, las extracciones se hicieron a temperatura ambiente debido a que los compuestos de tipo hidroxiantracénico se descomponen con facilidad a temperaturas superiores a los 40°C.²⁶ Así mismo, las evaporaciones de los diversos extractos y fracciones cromatográficas se llevaron a cabo en rotavapor a presión reducida y a 38 °C.

Todas las fracciones y precipitados obtenidos, se mantuvieron en refrigeración a 4 °C durante el tiempo en el cual estuvieron sin procesamiento.

4.1.1 Purificación de Peroxisomicinas e Isoperoxisomicinas

Para la purificación de las peroxisomicinas e isoperoxisomicinas, fue necesario hacer extracciones al Ppt.I con metanol para quitar la mayor parte de T-496 la cual quedó en el residuo I (Diagrama 1a). Posteriormente el Ppt.II se sometió a extracción con una mezcla de benceno y acetona para separar las peroxisomicinas de las isoperoxisomicinas. Este procedimiento se empleó sobre la base de que las isoperoxisomicinas son compuestos poco solubles en estos solventes, más aún la IPA2. La separación de la IPA1 de la IPA2 se llevó a cabo por precipitación fraccionada con

una mezcla de benceno y acetona en una proporción 1:1 sobre la base también de que la IPA2 es más insoluble que la IPA1.

Posteriormente, el Ppt.III (mezcla de peroxisomicinas) se fraccionó por medio de diversas técnicas cromatográficas hasta la total purificación de todas las peroxisomicinas (Diagrama 1b). Cabe mencionar que la purificación de las peroxisomicinas A1, A2 y A3 se había reportado previamente⁵ y que durante el desarrollo del presente trabajo se logró por primera vez la purificación de la peroxisomicina A4 y la asignación de su estructura.

4.1.2 Purificación de Tullidinoles

Para la purificación de los tullidinoles, fue necesario en primera instancia obtener la mezcla de los cuatro compuestos, debido a que éstos no presentaron diferencia alguna en las condiciones cromatográficas probadas en sílica gel, tanto en columna como en capa fina.

Una vez obtenida la mezcla de tullidinoles (Diagrama 2), sólo fue posible separarlos mediante CLAR preparativo, procedimiento que se repitió tantas veces como fue necesario. La purificación de los tullidinoles B1 y B2 a partir de la raíz de *K. parvifolia*, se reportó previamente.⁶ Los tullidinoles B1 y B2 obtenidos a partir del fruto de *K. humboldiana*, fueron idénticos a los ya reportados. La estrategia de purificación de los tullidinoles A1 y A2 se hizo durante el desarrollo de la presente tesis.

4.2 Caracterización de los Compuestos Antracénónicos

Para llevar a cabo la caracterización de cada compuesto, se hizo la asignación de todos los Hidrógenos y Carbonos en diversos solventes deuterados. Lo anterior debido a que era necesario saber cuáles señales se afectaban durante los experimentos de nOe diferencial y RMN Dinámica, así como también observar el comportamiento de las

señales de ^1H y ^{13}C en cada solvente, que nos permitiera analizar más en detalle las características de los mismos. Las correlaciones homonucleares de hidrógeno se hicieron mediante COSY; las correlaciones heteronucleares C-H a un enlace y a más de un enlace, se hicieron mediante los experimentos inversos HMQC y HMBC respectivamente. Se usaron estos experimentos debido a que son más sensibles por lo que se necesita menor cantidad de muestra que en los experimentos normales HETCOR y COLOC.²⁷

En el caso de las peroxisomicinas se hizo la asignación completa en CDCl_3 y benceno- d_6 . Las asignaciones de PA4 no pudieron hacerse en dimetilsulfóxido- d_6 , debido a que se obtuvo poca cantidad y la detección y purificación de dicho compuesto fueron recientes. Si bien se utilizaron también el metanol- d_4 y la acetona- d_6 en algunos experimentos, no se hizo la asignación completa de Hidrógeno y Carbono debido a que se consideró que no era necesario al no observar resultados relevantes y a la poca resolución de algunas de las señales de resonancia de Hidrógeno.

En las Peroxisomicinas A1 y A2, se encontró que los Hidrógenos axiales en posición 4' aparecen a menor campo que los ecuatoriales. Esto se pudo corroborar en los casos en que la señal de los Hidrógenos de 4' estaban bien resueltos y en base al efecto nOe encontrado con la señal del Hidrógeno en 2'. Si bien esto es opuesto al efecto conocido de los hidrógenos axiales y ecuatoriales en los ciclohexanos,²⁸ puede ser explicado en estas estructuras en base al efecto de desapantallamiento provocado por el oxígeno en la posición 8. Dicho oxígeno se encuentra a menor distancia del H-4' axial (2.47 Å) que del H-4' ecuatorial (3.28 Å).

Este efecto es inverso en el caso de las Peroxisomicinas A3 y A4, donde el oxígeno de la posición 8 se encuentra a una distancia de 4.2 Å de H-4' axial y a 2.55 Å de H-4' ecuatorial.

Por otro lado, debido a la poca solubilidad de las isoperoxisomicinas en los solventes utilizados, solo fue posible hacer la asignación completa de Hidrógeno y Carbono en DMSO-d₆ y la asignación completa de Hidrógeno en CDCl₃ para ambas.

Con respecto a los tullidinoles, se hizo la asignación completa de Hidrógeno y Carbono en CDCl₃ y benceno-d₆. En DMSO-d₆ no fue posible hacerlo debido a la poca estabilidad de éstos en dicho solvente. Al igual que con las peroxisomicinas, no se consideró importante hacer la asignación completa de Hidrógeno y Carbono en metanol y acetona deuterados.

La asignación de las señales correspondientes a los Hidrógenos axiales y ecuatoriales en la posición 4', se hizo en base a la constante de partición encontrada con el H-3'. De esta manera, se estableció que el H-4' axial es el que se encuentra a menor campo en los cuatro tullidinoles. Al igual que en el caso de las Peroxisomicinas esto se puede explicar por la menor distancia que existe entre el oxígeno de la posición 8 y el H4' axial en los cuatro compuestos, lo que origina un efecto de desapantallamiento sobre la señal de ese Hidrógeno.

Una vez purificados y caracterizados todos los compuestos, se hicieron los espectros de dicroísmo circular de cada uno de ellos. En el caso de las peroxisomicinas, todas mostraron el mismo tipo de curva, por lo que se deduce que tienen la misma quiralidad alrededor del eje Biarílico.⁸

Las isoperoxisomicinas A1 y A2, también mostraron el mismo tipo de espectro DC y de igual forma se deduce que ambas tienen la misma quiralidad en torno a la unión biarílica.⁸

Con respecto a los tullidinoles, dos de ellos presentaron espectros de DC de tipo A y los otros dos de tipo B.⁶ Ello representa que los tullidinoles A1 y A2, tienen quiralidad contraria a los tullidinoles B1 y B2 en el eje Biarílico.⁸

4.3 Modelaje Molecular

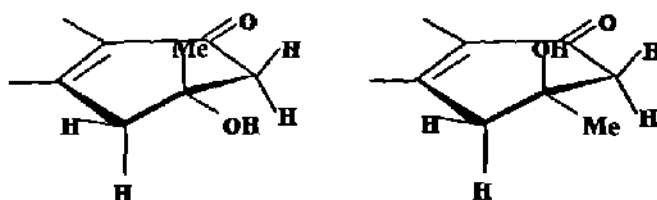
Se construyeron todas las estructuras posibles y de conformación más estable para las peroxisomicinas, isoperoxisomicinas y tullidinoles mediante el programa de modelaje molecular MacSpartan plus. Los datos de energía obtenidos con este programa es el calor de formación (ΔH_f). Los resultados de las distancias internucleares se correlacionaron con los resultados experimentales de los nOe diferenciales.

4.3.1 Estructuras Para Peroxisomicinas

De acuerdo con la estructura planar de las peroxisomicinas, hay 2 centros quirales (carbonos 3 y 3'), lo cual genera 4 isómeros posibles. Además de los centros quirales, se encuentra un eje quiral por lo que pueden existir un total de 8 estereoisómeros, cuatro de ellos con ángulo diedro biarílico (C4a'-C10'-C7-C8) positivo y cuatro con negativo (Tabla 19).

Así mismo, se analizó la conformación que adoptan los anillos A y A' en la molécula y se determinó que las estructuras que tienen los metilos en posición ecuatorial presentan mayor estabilidad que aquellas estructuras con los metilos en posición axial. La diferencia de energía observada entre estos conformeros es aproximadamente de 5 kcal/mol, por lo que se dedujo que la conformación más probable de estos anillos es la del metilo en posición ecuatorial.

Conformaciones de los anillos A y A'



Metilo axial

Metilo ecuatorial

4.3.2 Estructuras Para Isoperoxisomicinas

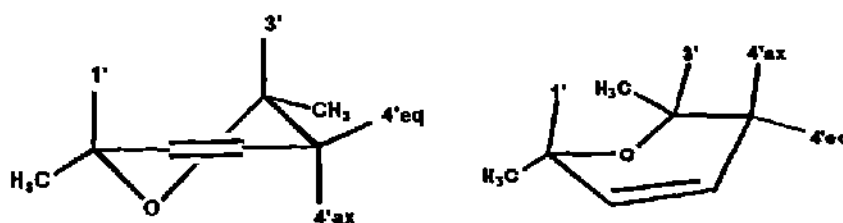
Las isoperoxisomicinas presentan también 2 carbonos quirales y un eje quiral, por lo cual podrían existir 8 estereoisómeros (Tabla 21). Sin embargo, al analizar las estructuras construidas, se observó que las estructuras con la misma quiralidad en el eje biarílico pero con quiralidad contraria en los carbonos quirales, son superponibles (1a'2 con 1a'4 y 1a con 1a2), por lo que en realidad pueden existir 6 estereoisómeros. Con respecto al eje quiral, el ángulo diedro biarílico se designó con los carbonos 6', 7', 7 y 8. Al igual que en las peroxisomicinas, se determinó que la conformación más estable de los anillos A y A' en las isoperoxisomicinas es la que tiene el metilo en posición ecuatorial.

4.3.3 Estructuras Para Tullidinoles

Los tullidinoles, presentan tres carbonos quirales (C1', C3' y C3) y un eje quiral cuyo ángulo diedro biarílico se representa por los siguientes átomos: C4a', C5', C7 y C8. Esto da lugar a la posible existencia de 16 estereoisómeros (Tabla 23).

En este tipo de compuestos, además de tomar en cuenta la conformación más estable del anillo A, se analizó la conformación que podía adoptar el anillo A', el cual es diferente al anillo A de la antracena. El anillo A' de los tullidinoles, es un éter cíclico que presentó dos conformaciones estables con una diferencia de energía de 2 a 3 kcal/mol, por lo que las dos conformaciones son posibles.

Conformaciones del anillo A'



4.3.4 Gráficos de Energía Contra Ángulo Diedro Biarílico

En el gráfico obtenido para las peroxisomicinas, se observaron 2 barreras de rotación biarílica, una de 27 kcal/mol y otra de 32 kcal/mol. Las barreras de rotación calculadas para las isoperoxisomicinas fueron de 7 y 10 kcal/mol y para los tullidíoles de 21 y 29 kcal/mol.

Con estos valores tan altos de energía, se consideró que no es posible que esta rotación se lleve a cabo a temperatura ambiente. Así, existe la posibilidad de tener atropoisómeros no interconvertibles con ángulo diedro biarílico positivo y negativo, lo cual es congruente con los resultados obtenidos en las curvas tan pronunciadas de dicroísmo circular.

4.4 Experimentos nOe Diferenciales y Análisis Estereoquímico

Para llevar a cabo estos experimentos, fue necesario hacer pruebas para determinar la cantidad de muestra y solvente adecuados para obtener una dilución y viscosidad que permitieran observar las interacciones nOe. Se determinó que la cantidad de muestra adecuada es de 4 a 5 mg y que el solvente apropiado es CDCl_3 100% deuterado.

Posteriormente, se optimizaron las condiciones necesarias de tratamiento de muestra y parámetros de resonancia. En el tratamiento de la muestra, fue necesario desgasificar con Argón para remover el oxígeno disuelto. Las condiciones antes mencionadas se llevaron a cabo en forma rigurosa, debido a que las interacciones nOe dependen de la relajación dipolo-dipolo y de esa forma se evitan otros procesos de relajación intra e intermoleculares que podrían reducir dichas interacciones hasta cero.²³

Una vez hechos los experimentos nOe diferenciales, los resultados de las interacciones observadas se correlacionaron con las distancias internucleares calculadas

para elegir los modelos moleculares más probables para cada compuesto. También se tomó en cuenta para ello los resultados de los espectros de DC.

4.4.1 Peroxisomicinas

En trabajos previos, se determinó la configuración relativa y absoluta de las Peroxisomicinas A1 y A2,^{11, 12} se encontró que la quiralidad de ambos carbonos asimétricos en PA1 es S y que la PA2 es de quiralidad 3'S, 3R. Así mismo, que la quiralidad del eje biarílico de ambas peroxisomicinas es P.

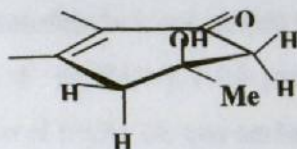
Sobre la base de que todas las peroxisomicinas presentaron el mismo tipo de espectro en el dicroísmo circular, se deduce que todas tienen la misma quiralidad en el eje biarílico⁸, esto es que los hidroxilos fenólicos se encuentran hacia atrás del plano (Figura 6). Por tanto, la diferencia estructural entre ellas, radica en la quiralidad de los Carbonos 3 y 3' (Figura 6).

Las interacciones nOe observadas entre H-4'ax y OH-8 y entre H-4'ec y H-6 en PA1 y PA2, concuerdan con las distancias internucleares en los modelos elegidos (Tabla 20) para ambas (quiralidad S en C-3' y P en la unión biarílica).

Respecto a las interacciones nOe de las peroxisomicinas A3 y A4, se observó acoplamiento dipolar entre H-4'ax y H-6 y entre H-4'ec y OH-8, lo cual concuerda con las distancias entre esos núcleos en los modelos con quiralidad R en el Carbono 3' y P en la unión biarílica (Tabla 20 y Figura 6).

En cuanto a la conformación que adoptan los anillos A y A' de la antracena dimérica, las distancias internucleares calculadas en los modelos entre el metilo y los hidrógenos unidos a C-4 y C-2, cuando el metilo se encuentra en posición ecuatorial, concuerdan con las interacciones nOe observadas entre esos átomos. Esto se observó en

todos los modelos elegidos para cada uno de los compuestos estudiados. La conformación que adoptan dichos anillos es la que se ilustra en la figura.



Con las interacciones nOe observadas no fue posible determinar la configuración del Carbono 3 en ninguna peroxisomicina. Sin embargo, al analizar los espectros de $^1\text{HRMN}$ de los cuatro isómeros, se observó cierto patrón en el desplazamiento de las señales de los Hidrógenos vecinos a los carbonos quirales, dependiente precisamente de la quiralidad de éstos.

En las figuras 14, 15 y 16, se presenta una ampliación de la zona alifática de los espectros de resonancia de Hidrógeno de las peroxisomicinas. En el espectro de $^1\text{HRMN}$ en CDCl_3 se observó que el patrón de señal de los Hidrógenos 4 de PA3 es parecido a los de PA1. De igual forma, el patrón de señales de los Hidrógenos 4 es similar en PA2 y PA4.

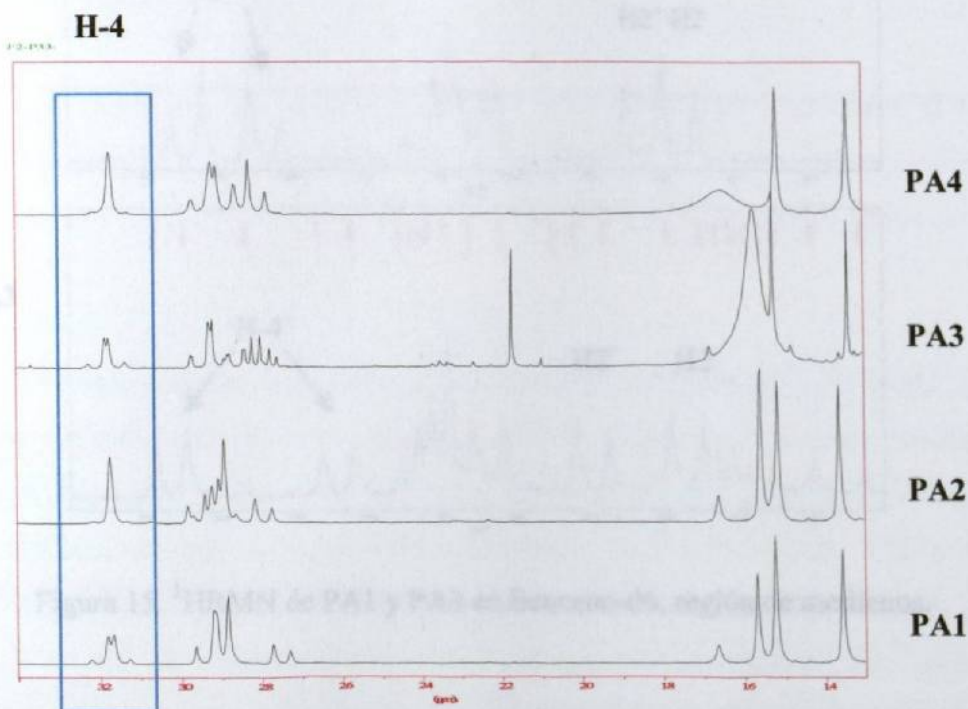


Figura 14. $^1\text{HRMN}$ de peroxisomicinas en CDCl_3 , región de alifáticos.

Además, en el espectro de ¹HRMN en benceno (Figuras 16 y 17), se puede observar que el desplazamiento químico de H-4' y H-2', tanto en PA1 como en PA2 es similar, lo cual era de esperarse debido a que ambas tienen quiralidad S en el carbono 3'. Así mismo, los Hidrógenos 4' en PA3 y PA4 presentan un desplazamiento químico similar, lo que concuerda con el hecho de que ambas tienen quiralidad opuesta (R) a la de las peroxisomicinas A1 y A2 en el Carbono 3'.

Por otro lado, se observó que el desplazamiento químico de H-2 en PA3 es similar al de H-2 en PA1, por lo que se puede deducir que la quiralidad de C-3 es la misma en ambas (S). Así mismo, se observó que el desplazamiento químico de H-2 en PA2 y PA4 es similar por lo que de igual forma se deduce que la quiralidad de ambas en C-3 es R.

Figura 15. ¹HRMN de PA1 y PA3 en Benceno-d6, región de metilenos.

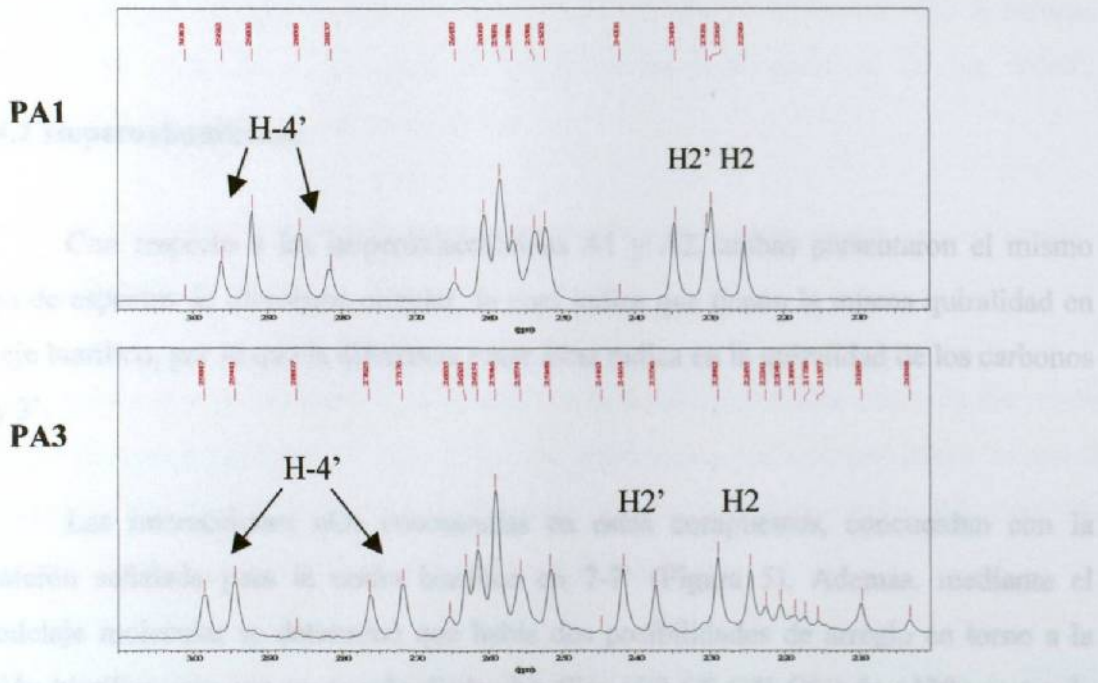
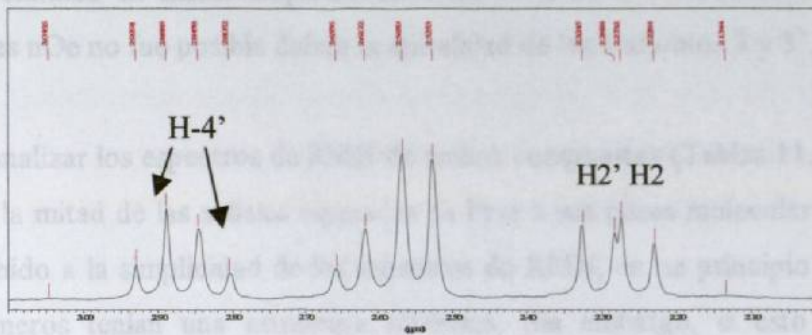


Figura 15. ¹HRMN de PA1 y PA3 en Benceno-d6, región de metilenos.

PA2



PA4

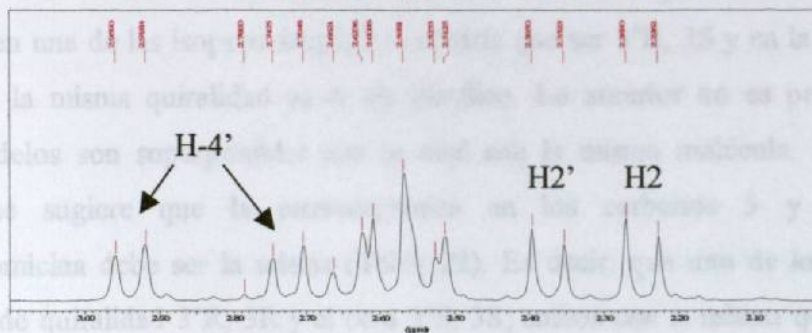


Figura 16. ¹HRMN de PA2 y PA4 en Benceno-d₆, región de metilenos.

4.4.2 Isoperoxisomicinas

Con respecto a las isoperoxisomicinas A1 y A2, ambas presentaron el mismo tipo de espectro de dicroísmo circular, lo cual indica que tienen la misma quiralidad en el eje biarílico, por lo que la diferencia entre éstas radica en la quiralidad de los carbonos 3 y 3'.

Las interacciones nOe encontradas en estos compuestos, concuerdan con la posición señalada para la unión biaráfica en 7-7' (Figura 5). Además, mediante el modelaje molecular se determinó que había dos posibilidades de arreglo en torno a la unión biaráfica, una con un ángulo diedro biarílico (C8-C7-C7'-C6') de +138° y otra de +45°, en las cuales las distancias internucleares calculadas entre H-6 y OH-8, son de 5.38 Å y 3.2 Å respectivamente. Sin embargo, la interacción nOe observada experimentalmente entre dichos Hidrógenos nos indicó que el arreglo molecular en torno

a la unión biarílica en ambas isoperoxisomicinas es el de $+45^\circ$. Por otro lado con las interacciones nOe no fue posible definir la quiralidad de los Carbonos 3 y 3'.

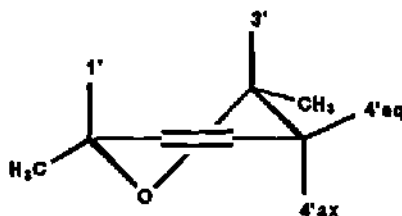
Al analizar los espectros de RMN de ambos compuestos (Tablas 11, 12, 13 y 14), se observó la mitad de las señales esperadas en base a sus pesos moleculares (P.M.=514 g/mol). Debido a la simplicidad de los espectros de RMN, en un principio se pensó que ambos isómeros tenían una estructura simétrica. Sin embargo, si esto fuera así, la quiralidad en una de las isoperoxisomicinas tendría que ser 3'R, 3S y en la otra 3'S, 3R, ambas con la misma quiralidad en el eje biarílico. Lo anterior no es posible, ya que dichos modelos son superponibles por lo cual son la misma molécula. En base a lo anterior, se sugiere que la estereoquímica en los carbonos 3 y 3' en cada isoperoxisomicina debe ser la misma (Tabla 22). Es decir, que uno de los compuestos podría ser de quiralidad 3'R, 3R y el otro 3'S, 3S; ambos con la misma quiralidad en el eje biarílico (P o M). Cabe también la posibilidad de que una de las peroxisomicinas tenga quiralidad opuesta en ambos carbonos quirales, ya que a pesar de ello el entorno químico de cada átomo en uno de los monómeros es igual al de los átomos correspondientes en el monómero contrario.

4.4.3 Tullidinoles

Con respecto a los tullidinoles, dos de ellos presentaron una curva de dicroísmo circular de tipo A (Tullidinoles A1 y A2) y los otros dos presentaron una curva de tipo B (Tullidinoles B1 y B2). Lo anterior representa que los tullidinoles A1 y A2, tienen la misma quiralidad que las peroxisomicinas en el eje biarílico.

Con referencia a la estereoquímica del anillo A', se observó una fuerte interacción en los experimentos nOe entre H-1' y H-3' en todos los tullidinoles. En base a este dato, se eligieron de todos los modelos, solo aquellos de configuración 1'S, 3'R y 1'R, 3'S en los que dichos Hidrógenos están en posición pseudoaxial (Tabla 24) y las distancias internucleares son las adecuadas para observar dicha interacción (Figura 7).

Por otro lado el valor de la constante de acoplamiento vecinal observado en el espectro entre los Hidrógenos 3' y 4'ax, es aproximadamente de 11 Hz en los cuatro tullidinoles, lo cual concuerda con lo calculado por medio de la ecuación de Karplus²⁷ en los modelos elegidos con el ángulo diedro de 177 grados formado por los átomos H-3', C-3', C-4' y H-4'ax. Con todos estos datos, se deduce que la conformación del anillo A es la que se representa en la siguiente figura.



En cuanto a las interacciones nOe observadas entre los Hidrógenos que están cercanos a la unión biarilica, se pudo determinar que la quiralidad de los Carbonos 1' y 3' en todos los tullidinoles, es S y R respectivamente. Se observó que en los tullidinoles A1 y A2, H-4'ec presenta acoplamiento dipolar con H-6 y H-4'ax con OH-8 (Figura 7), lo cual concuerda con las distancias internucleares entre esos Hidrógenos en los modelos con estereoquímica 1'S, 3'R con ángulo diedro biarílico negativo (Tabla 25).

En los tullidinoles B1 y B2 (eje quiral opuesto a las peroxisomicinas), se observó acoplamiento dipolar entre H-4'ax y H-6 y entre H-4'ec y OH-8, lo cual concuerda con las distancias internucleares entre esos Hidrógenos en los modelos con estereoquímica 1'S, 3'R con ángulo diedro biarílico positivo (Tabla 25).

La quiralidad del carbono 3 no pudo definirse en ningún tullidinol. Sin embargo, es evidente que la diferencia entre los tullidinoles B1 y B2 se encuentra en el carbono 3. De igual forma, la diferencia entre los tullidinoles A1 y A2 radica en la quiralidad del carbono 3. Dicho de otra manera, TB1 y TB2 son epímeros en C-3, al igual que TA1 y TA2.

Al igual que en las peroxisomicinas, se trató de establecer la quiralidad de C-3 mediante el análisis de los espectros de $^1\text{HRMN}$ en CDCl_3 y benceno- d_6 , pero no se encontró un patrón definido que ayudara a tal propósito.

4.5 Resonancia Magnética Nuclear Dinámica

Se hicieron los experimentos de RMN Dinámica con el propósito de obtener datos acerca de los cambios conformacionales que tienen este tipo de compuestos con respecto a los anillos A y A', así como también en la unión biarilica principalmente de las isoperoxisomicinas, ya que éstas tienen menor impedimento estérico para la rotación en torno a este enlace, lo cual correlaciona con los valores obtenidos en las curvas construidas de calor de formación contra ángulo diedro biarilico.

4.5.1 Experimentos de RMN de Temperatura Variable

Se obtuvieron los espectros de $^1\text{HRMN}$ en los diferentes solventes antes señalados y a diferentes temperaturas en los rangos que permitieron los puntos de ebullición y congelación de los solventes y de acuerdo a las especificaciones de temperatura que se pueden trabajar con la sonda de medición utilizada (de $-50\text{ }^\circ\text{C}$ a $100\text{ }^\circ\text{C}$).

La estrategia empleada para el uso de los diferentes solventes, se debió a la posibilidad de recuperar los compuestos y volver a utilizarlos. El DMSO- d_6 se utilizó al final debido a que todos los compuestos se degradan en él y no se pueden recuperar. Esto ayudó a optimizar el uso de los compuestos que se tenían en poca cantidad y de los que son de purificación más complicada como PA3, PA4, TB1, TB2, TA1 y TA2.

Si bien hay evidencias de estar cerca de la región de coalescencia, las características de nuestro instrumento no permitieron trabajar a temperaturas menores (Figuras 8, 9, 10, 11 y 12).

4.5.2 Experimentos de RMN con Calentamiento Previo

Los experimentos de RMN con calentamiento previo, se diseñaron con el propósito de provocar una libre rotación en torno a la unión biarílica de la isoperoxisomicina A1. Esto se hizo sobre la base de que este compuesto es el que presentó teóricamente la menor barrera de rotación biarílica en los gráficos construidos de energía contra ángulo diedro biarílico.

En los espectros de ^1H RMN obtenidos, se observó al cabo de dos horas de calentamiento a 160 °C, el desdoblamiento de varias señales de resonancia, lo cual indicaba la presencia de otra especie, específicamente otro rotámero (Figura 13). Debido a que las señales no estaban bien resueltas, no se pudieron cuantificar en el espectro de orden cero; sin embargo, se pudo cuantificar las señales de los dos rotámeros por medio de la primer derivada del espectro (Figura 17) y se calculó la diferencia en el desplazamiento químico de ambos ($\Delta\nu$). Los datos obtenidos se utilizaron posteriormente para calcular los parámetros termodinámicos del cambio observado.

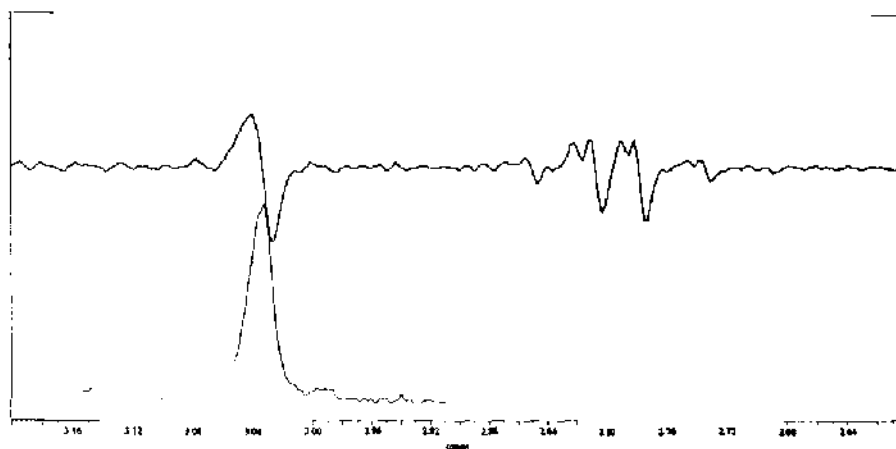


Figura 17. Espectros de orden cero y primer derivada de $^1\text{HRMN}$ Dinámica de IPA1. Región de metilenos.

4.6 Parámetros Termodinámicos

Con el valor obtenido de Δv , se calculó la constante de rapidez de intercambio, K_c , la cual determina la rapidez con la que ocurre el intercambio de un rotámero a otro.^{24, 30} El valor obtenido de 9.30 s^{-1} , es suficientemente lento para observar el cambio a ese valor de temperatura ($160 \text{ }^\circ\text{C}$). Esta descrito en la literatura que la RMN Dinámica se aplica a velocidades de intercambio entre 10^0 y 10^5 s^{-1} . Esas velocidades corresponden preferentemente a una lenta rotación interna e inversión en las moléculas, aunque esto sea realmente rápido a tiempo escala en el laboratorio.³⁰

Posteriormente, con el valor obtenido de K_c y con el valor de la temperatura a la cual ocurre el cambio en grados Kelvin ($160 \text{ }^\circ\text{C} = 433.15 \text{ K}$), se calculó la energía libre de activación, ΔG_c^\ddagger , el cual indica la energía necesaria para pasar de un rotámero a otro.^{24, 30} El valor obtenido de 23.78 kcal/mol , corresponde a la barrera de rotación biarilica experimental, lo que concuerda con lo descrito en la literatura de que solo existe

libre rotación a temperatura ambiente en una unión biarílica si el valor de la barrera de energía obtenida experimentalmente es menor de 5 kcal/mol.³⁰

Si bien este tipo de cálculo se aplica cuando las dos especies cuantificadas están en cantidades equivalentes, es posible obtener una buena aproximación del valor real de la energía de activación. El hecho de que no estén en la misma cantidad, es indicativo de que las energías de cada especie son diferentes.^{24,30}

Con las cantidades obtenidas de cada especie, se calculó la constante de equilibrio, K_{eq} . Este último valor se utilizó para calcular la diferencia de energía entre las energías libres de los dos rotámeros, ΔG_0 . La diferencia de energía libre obtenida, indica la diferencia de energía entre un rotámero y otro. Así mismo, con el valor obtenido de 278 cal/mol, se puede deducir que el equilibrio se encuentra desplazado hacia la especie original (A), la cual sería la más estable.^{24,30}

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES

Con los datos obtenidos en el presente trabajo, se puede concluir lo siguiente:

En referencia a las Peroxisomicinas:

- La estereoquímica de C-3' es R en las peroxisomicinas A3 y A4.
- La estereoquímica de C-3 es S en la peroxisomicina A3.
- La estereoquímica de C-3 es R en la peroxisomicina A4.
- La configuración en el eje biarílico es P en todas las peroxisomicinas.

En las Isoperoxisomicinas:

- La barrera de rotación biarílica determinada experimentalmente para las isoperoxisomicinas, resultó de 23 kcal/mol; se determinó que 160 °C es la temperatura mínima necesaria para que exista libre rotación.
- No se logró establecer la estereoquímica de los centros quirales.

Con respecto a los tullidinoles:

- Sobre la base del tipo de espectro de dicroísmo circular de las peroxisomicinas y tullidinoles, la configuración en torno al enlace biarílico de los tullidinoles A1 y A2 es P y en los tullidinoles B1 y B2 es M.
- Los cuatro tullidinoles tiene quiralidad S en C-1' y R en C-3'.
- Los tullidinoles B1 y B2, son epímeros en C-3.
- Los tullidinoles A1 y A2, son epímeros en C-3.

En base a todos los resultados obtenidos se acepta la Hipótesis planteada.

RECOMENDACIONES

Debido a que no fue posible hacer la simulación de los espectros de RMN para este tipo de compuestos por el tamaño molecular, se propone hacer estudios moleculares con una parte de la estructura de cada uno de los compuestos estudiados. Se recomienda que la parte de la estructura molecular que se someta a estudio sea la que está en torno a la unión biarílica. Posteriormente, con los resultados que se obtengan se podrán hacer comparaciones en cuanto al patrón de desplazamientos químicos entre los espectros obtenidos experimentalmente y los obtenidos por simulación.

Se recomienda hacer más estudios de la estereoquímica de las isoperoxisomicinas, con ayuda de otras técnicas como polarimetría y dicroísmo circular aplicados a la RMN Dinámica. Lo anterior se propone con el fin de obtener datos que indiquen la contribución de los centros quirales de ambos compuestos en las técnicas antes mencionadas.

REFERENCIAS

1. Waksman, N., Martínez, L. y Fernández, R., "Screening químico y toxicológico de otras especies del género *Karwinskia*". *Rev. Latinoam. Quim.*, 20,(1989), 27.
2. Fernández Nava, R., "Nombres comunes, usos y distribución Geográfica del Género *Karwinskia* (Rhamnaceae) en México". *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.* 63 (1), (1992), 1-23.
3. Piñeyro L., A., Waksman, N. "The Anthracenones of the *Karwinskia* genus. Chemistry, structure and Biological Activity". *Studies in Natural Products Chemistry, Bioactive Naturals Products (C)*. First edition, Elsevier, 22, (2000), 555-606.
4. Dreyer, D., Arai, L., Bashman, C., Anderson, W., Smith, R. and Daves, D., "Toxins causing non inflammatory paralytic neuropathy. Isolation and structure elucidation". *J. Am. Chem. Soc.* 97, (1975), 4985.
5. Rivas, V., Waksman, N. "Cytotoxic hydroxyanthracenones from fruits of *Karwinskia parvifolia*". *Natural Products Letters*, in press.
6. Waksman, N., Benavides, G., and Rivas, V. "Biologically active anthracenones from roots of *Karwinskia parvifolia*". *Phytochemistry*, 50, (1999), 1041-1046.
7. Eliel, E., Wilen S. *Stereochemistry of Organic Compounds*. John Wiley and Sons. (1994), 101-147.
8. Gill M. and Steglich W. *Pigments of fungi*. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* (1987), 511-317.
9. Piñeyro, A., Mtz. de Villarreal, L. and González, R., "In vitro selective toxicity of toxin T 514 from *K. humboldtiana* (Buckthorn) plant on various human tumor cell lines". *Toxicology*, 92, (1994), 217-227.
10. Piñeyro López A., Patentes: Comunidad de Países Europeos No. 0467407. Japonesa No. 2651758. Americana No. 5578646. Coreana No. 202320. Canadiense No. 2047550. Mexicana No. 9100290.
11. Rodríguez C., Bailey N., Ramírez R., Martínez L., Piñeyro-López A. y Waksman N. "Análisis estereoquímico de dos hidroxiantracenas diméricas". *Ciencia UANL*, I, (1998), 37-40.

12. Pérez López Luis Alejandro. Determinación de la configuración absoluta de la peroxisomicina A1. Tesis de maestría. UANL, (2000).
13. Rivas, V., Torres, R. and Waksman, N., "Dimeric anthracenones from *Karwinskia species*". *Planta Médica*, 56, (1990), 562.
14. Bermúdez, M., Martínez, F., Salazar, M., Waksman, N. y Piñeyro, A., "Experimental acute intoxication with ripe fruit of *Karwinskia humboldtiana* (Tullidora) in rat, guinea-pig, hamster and dog". *Toxicon* 30, (1992), 1493.
15. Bermúdez, M. V., González Spencer, D., Guerrero, M., Waksman, N. and Piñeyro, A., "Experimental intoxication with fruit and purified toxins of Buckthorn (*Karwinskia humboldtiana*)". *Toxicon*, 24, (1986), 1091.
16. Moreno, M., Vargas, R., Esquivel, D., Waksman, N., Piñeyro, L., "Effect of peroxisomicine and related anthracenones on catalase activity". *Planta Médica*, 61, (1995), 337-340.
17. Moreno S., M., Vargas Z., R., Ballesteros E., R., Piñeyro L., A., Sepúlveda S., J. "Studies on the effect of peroxisomicine on catalase activity in albino mice". *Toxicon*, 35, (5), (1997), 777-783.
18. Sepúlveda, J., Van Der Klei, I., Keizer, I., Piñeyro, A., Harder, W. y Veenhuis, M., FEMS. "Estudios en peroxisomas de levaduras". *Microbiology Letters*, 91, (1992), 207-212.
19. Salazar Aranda Ricardo. Efecto "in vivo" de diversas antracenas diméricas sobre peroxisomas de *Candida boidinii*. Tesis de Maestría. UANL, (1998).
20. Gaggelli Elena, Valensin Gianni, Stolowich Neal, Williams Howard and Scott Jan. "Conformation of vinblastine in aqueous solution determined by 2D-1H and 13C-NMR Spectroscopy". *Journal of Natural Products*, 55, No.3, (1992), 285-293.
21. Sies M. Van der Kerk, Adelbertus Van Veldhuizen and Ernst Sudhölter. "Conformational structure of 5, 15 bis [2-[(anthraquinone-2-sulfonyl)oxy]phenyl]- 2, 8, 12, 18 - tetra-n-butyl-3, 7, 13, 17-tetramethylporphyrin. A NMR and Computational Study". *J. Phys. Chem*, 98, (1994), 5408-5415.
22. Thomas J. Schmidth. "Conformations and molecular dynamics of helenalin, its esters and 11, 13-dihydro derivates". *Journal of Molecular Structure*. 385, (1996), 99-112.
23. Friebolin Horst. *Basic One-and two-Dimensional NMR Spectroscopy*. John Wiley and Sons. (1995), 275-286.
24. Friebolin Horst. *Basic One-and two-Dimensional NMR Spectroscopy*. John Wiley and Sons. (1995), 287-315.

25. Günther Harald. *NMR Spectroscopy. Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry.* (1995), 335-389.
26. Osorio Pérez Amador. *Obtención de la ecuación de velocidad de la descomposición de la peroxisomicina A1 en presencia de isoperoxisomicina A1.* Tesis de Doctorado en Ciencias. UANL, (2001).
27. Friebolin Horst. *Basic One-and two-Dimensional NMR Spectroscopy.* John Wiley and Sons. (1995), 223-274.
28. Eliel, E., Wilen S. *Stereochemistry of Organic Compounds.* John Wiley and Sons. (1994), 665-834.
29. Friebolin Horst. *Basic One-and two-Dimensional NMR Spectroscopy.* John Wiley and Sons. (1995), 83-107.
30. OKI, Michinori. *Applications of dynamic NMR Spectroscopy to Organic Chemistry.* VCH Publishers, Inc. Deerfield Beach, USA. (1993) 1-38 y 140-193.

APÉNDICE 1

Coordenadas Cartesianas XYZ De Los Modelos Seleccionados Para Peroxisomicinas

Modelo 1A'

Atom	Cartesian Coordinates (Angstroms)						
	X	Y	Z				
H 1	0.5011239	0.4658796	-2.9337646	C 33	-0.3673163	-1.7357359	1.8673974
C 2	-0.7379313	3.0839832	-2.5662613	C 34	-2.6310717	-2.4560250	1.2938068
O 3	-0.7895592	5.5164932	-2.4650882	H 35	1.4233128	1.0317950	0.9200606
C 4	-0.7998039	4.2891845	-1.8694154	H 36	0.7038131	-3.0624212	3.2064973
C 5	-0.7055135	1.8636853	-0.4508528	H 37	1.6455044	-1.0387666	2.2944590
C 6	-0.8811060	4.3293537	-0.4336946	C 38	-2.4851740	-3.6151582	2.0612011
C 7	-0.6818337	1.8620781	-1.8295724	O 39	-3.7484386	-2.1479223	0.5746606
C 8	-0.8100592	3.0988413	0.2725125	C 40	-3.5565695	-4.6106353	2.1753368
C 9	-1.0167462	5.5340611	0.3232345	C 41	-1.2613291	-3.8205024	2.7664514
C 10	-0.5634439	0.5924482	-2.5980515	C 42	-1.0272249	-5.0222744	3.6141364
H 11	-0.7852541	2.1466104	2.2275340	C 43	-0.2407095	-2.9049389	2.6627899
C 12	-0.6176049	0.6148999	0.3171794	H 44	-0.7034222	5.4467472	-3.4311685
C 13	-1.0363690	5.5097644	1.7154633	H 45	-1.4937687	6.7494473	-1.1005248
O 14	-1.0925950	6.7912466	-0.2210791	H 46	-3.5896502	-0.1934588	0.1621356
H 15	-1.1274676	6.4540619	2.2709661	H 47	-4.4569498	-2.7999167	0.7105484
C 16	-0.9405721	4.2855776	2.3918160	O 48	-4.7048935	-4.4224198	1.7358758
H 17	-0.9570133	4.2788496	3.4927036	C 49	-3.2267652	-5.9242937	2.8233245
C 18	-0.8412945	3.1052894	1.6893934	C 50	-2.2900275	-5.7820738	4.0186708
H 19	-0.2791008	1.4684055	-5.4127879	H 51	-0.4909895	-4.7137171	4.5531433
H 20	-0.8246434	-0.2896450	-1.9536781	H 52	-0.3584654	-5.7289529	3.0505042
H 21	-2.0185579	1.9869475	-5.3882830	H 53	-2.7378795	-6.5749198	2.0491364
O 22	-0.4513557	4.0247660	-4.7284965	O 54	-2.8972767	-5.0261077	5.0640766
C 23	-1.3054782	-0.7300368	-4.5805428	H 55	-4.1784319	-6.4271060	3.1420477
C 24	-0.7443475	3.0318039	-4.0355746	C 56	-1.9211298	-7.1678296	4.5432670
C 25	-1.1281868	1.7608419	-4.7383920	H 57	-3.7011378	-5.4943271	5.3201514
O 26	-2.8499878	0.7305860	-3.4798124	H 58	-2.8412872	-7.7179766	4.8538544
C 27	-1.4736720	0.5871169	-3.8265666	H 59	-1.2497559	-7.0669252	5.4291319
O 28	-2.7934117	0.0009375	-0.3566916	H 60	-1.3987013	-7.7573579	3.7541127
C 29	-1.6825533	-0.2840314	0.4022530	H 61	-0.2404513	-0.8774814	-4.8751799
C 30	0.7099588	-0.8195607	1.7583491	H 62	-1.9431248	-0.7220455	-5.4962368
C 31	-1.5781055	-1.4825723	1.1768134	H 63	-1.6262923	-1.5799959	-3.9326346
C 32	0.5869924	0.3186743	1.0009606	H 64	-2.9736647	0.3414968	-2.6035782

Heat of Formation: -268.827 kcal/mol

Nota: Los resultados aparecen en inglés debido a que fueron tomados directamente del programa MacSpartan plus.

Modelo 2A'

Atom	Cartesian Coordinates (Angstroms)						
	X	Y	Z				
H 1	0.4522654	0.5416665	-2.9910995	C 33	-0.4423187	-1.7186661	1.9381152
C 2	-0.8765799	3.0210903	-2.5354226	C 34	-2.7199828	-2.3958985	1.3550008
O 3	-0.9403798	5.4491140	-2.5425346	H 35	1.3635978	1.0728905	1.0976375
C 4	-0.8912080	4.2524878	-1.8877086	H 36	0.6186920	-3.0977323	3.2315624
C 5	-0.7193025	1.8774633	-0.3863712	H 37	1.5569668	-1.0273410	2.4313656
C 6	-0.8815375	4.3467659	-0.4525809	C 38	-2.6004476	-3.5591427	2.1217120
C 7	-0.7301658	1.8297756	-1.7631063	O 39	-3.8415074	-2.0351719	0.6712265
C 8	-0.7979873	3.1399141	0.2942687	C 40	-3.6944732	-4.5315966	2.2348230
C 9	-0.9502012	5.5802133	0.2653124	C 41	-1.3671491	-3.8046024	2.7971966
C 10	-0.5653766	0.5556834	-2.5168514	C 42	-1.1810973	-5.0143048	3.6434796
H 11	-0.7350157	2.2550211	2.2792631	C 43	-0.3297882	-2.9088786	2.7055152
C 12	-0.6464258	0.6455565	0.4084638	H 44	-0.8365029	5.3295179	-3.5023191
C 13	-0.9164620	5.6045436	1.6572098	H 45	-1.4593663	6.7675498	-1.1710861
O 14	-1.0005109	6.8201342	-0.3211944	H 46	-3.2278276	-0.6745219	-0.6675392
H 15	-0.9588655	6.5700155	2.1815482	H 47	-4.5477779	-2.6993394	0.7509507
C 16	-0.8302566	4.4023806	2.3730300	O 48	-4.7903533	-4.3707350	1.6667694
H 17	-0.8117495	4.4337955	3.4734741	C 49	-3.5050288	-5.7511674	3.0913547
C 18	-0.7820801	3.1962178	1.7097598	C 50	-2.0544836	-6.1982413	3.2295584
H 19	-1.0180861	1.3584131	-5.4725460	H 51	-1.4292744	-4.7447389	4.7069854
H 20	-0.6386420	-0.3299828	-1.8318821	H 52	-0.1035967	-5.3312305	3.6206419
H 21	-2.6575462	1.8392231	-4.8779773	H 53	-3.9128852	-5.5208754	4.1120230
O 22	-0.7524205	3.8192640	-4.7705611	H 54	-3.0260269	0.9712819	-2.3695780
C 23	-1.3984834	-0.8721357	-4.3978532	H 55	-4.1086968	-6.5924070	2.6548784
C 24	-1.0336813	2.8914901	-3.9905366	H 56	-0.3806398	-0.8599223	-4.8524274
C 25	-1.6038446	1.6182483	-4.5491396	C 57	-1.9453839	-7.3037901	4.2770279
O 26	-2.9243575	0.2678018	-3.0257741	H 58	-2.1648446	-0.9627493	-5.2036589
C 27	-1.6297004	0.4133798	-3.6072818	H 59	-1.4901115	-1.7536140	-3.7199371
O 28	-2.8463748	0.1101467	-0.2389279	O 60	-1.6701638	-6.7147082	1.9571759
C 29	-1.7181995	-0.2525330	0.4539418	H 61	-2.5445431	-8.1880268	3.9529185
C 30	0.6349526	-0.7993642	1.8762722	H 62	-2.3261873	-6.9465189	5.2621865
C 31	-1.6414598	-1.4491431	1.2335682	H 63	-0.8807534	-7.6176290	4.3936496
C 32	0.5287192	0.3548436	1.1390773	H 64	-0.7396092	-6.9596556	2.0226461

Heat of Formation: -269.054 kcal/mol

Modelo 3A'

Atom	Cartesian Coordinates (Angstroms)						
	X	Y	Z				
H 1	-0.6375331	-0.1938689	-1.8292432	C 33	-0.4816362	-1.5977386	2.0387843
C 2	-1.1606261	3.0927495	-2.4734892	C 34	-2.8861476	-2.0305392	1.9579632
O 3	-0.9218965	5.5206236	-2.4940708	H 35	1.4144959	0.8827090	0.6218512
C 4	-0.9403812	4.3215760	-1.8463499	H 36	0.6721889	-3.0479315	3.1640749
C 5	-0.8282606	1.9622820	-0.3340925	H 37	1.6482740	-1.1709011	2.0189485
C 6	-0.7024369	4.4238453	-0.4316228	C 38	-2.7369633	-3.1680114	2.7570295
C 7	-1.0898347	1.9002148	-1.6894463	O 39	-4.0774326	-1.6004001	1.4537355
C 8	-0.6290670	3.2212625	0.3199021	C 40	-3.8820462	-4.0023583	3.1425919
C 9	-0.5269629	5.6624992	0.2603291	C 41	-1.4258324	-3.5269553	3.1920661
C 10	-1.3180166	0.5640821	-2.3067777	C 42	-1.2045282	-4.7172518	4.0566901
H 11	-0.2999786	2.3416365	2.2805522	C 43	-0.3400628	-2.7651444	2.8360556
C 12	-0.7430293	0.7347498	0.4680508	H 44	-1.0424683	5.4232016	-3.4539332
C 13	-0.2504431	5.6899473	1.6246345	H 45	-1.1642159	6.8837346	-1.0933735
O 14	-0.5627297	6.8980030	-0.3354199	H 46	-3.7723932	0.2988234	0.9487707
H 15	-0.1057012	6.6570486	2.1270694	H 47	-4.7933169	-2.2384048	1.6176524
C 16	-0.1590776	4.4882876	2.3415554	O 48	-5.0504933	-3.7157801	2.8219971
H 17	0.0606942	4.5233474	3.4198799	C 49	-3.6519163	-5.2233838	3.9867667
C 18	-0.3549976	3.2809811	1.7091927	C 50	-2.2519398	-5.8146455	3.8696185
H 19	-1.6065939	1.6725943	-5.5811603	H 51	-1.2252218	-4.3856077	5.1312494
H 20	-2.3763260	0.2545308	-2.0765504	H 52	-0.1861416	-5.1477243	3.8580823
H 21	-2.9414868	1.5154456	-4.3587461	H 53	-3.8381429	-4.9402480	5.0575251
O 22	-1.5221465	4.0068405	-4.6424531	C 54	-1.5880758	-0.8184083	-4.3752091
H 23	-2.1897914	-6.4743513	5.9496516	H 55	-4.4054991	-6.0048697	3.6962800
C 24	-1.4899771	3.0063570	-3.9018693	H 56	-1.0224739	-7.3231154	4.8492111
C 25	-1.8353199	1.6665018	-4.4817279	C 57	-2.0511055	-6.8972771	4.9273690
H 26	-2.7900650	-7.7186106	4.7685788	H 58	-1.2724724	-6.7334936	2.4686320
C 27	-1.0939825	0.5126384	-3.8158840	O 59	0.2958837	0.5605748	-4.1284129
O 28	-3.0700257	0.4323369	0.2939331	O 60	-2.1722733	-6.4022330	2.5728696
C 29	-1.8766665	-0.0075632	0.8109933	H 61	-2.6829968	-0.9220150	-4.1932272
C 30	0.6579491	-0.8371427	1.6750320	H 62	-1.0484759	-1.6590065	-3.8781563
C 31	-1.7676272	-1.1979813	1.5981266	H 63	-1.3871179	-0.8647358	-5.4717445
C 32	0.5280620	0.2926357	0.9054745	H 64	0.6478055	1.3600551	-3.7179254

Heat of Formation: -268.951 kcal/mol

Modelo 3B'

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
H 1	0.0281788	-0.1224457	-1.9023835	C 33	-0.3659707	-1.7065458	1.8779006
C 2	-0.7933840	3.1047005	-2.5390844	C 34	-2.6291007	-2.4329353	1.3139843
O 3	-0.8824643	5.5407258	-2.4389218	H 35	1.4126126	1.0706403	0.9387416
C 4	-0.8637949	4.3146027	-1.8440503	H 36	0.7241066	-3.0430586	3.1915769
C 5	-0.7287795	1.9073547	-0.4111061	H 37	1.6492959	-1.0103534	2.2944297
C 6	-0.9169278	4.3669203	-0.4077540	C 38	-2.4704400	-3.6005952	2.0661522
C 7	-0.7152193	1.8886918	-1.7925749	O 39	-3.7535653	-2.1285592	0.6041869
C 8	-0.8291356	3.1430842	0.3069934	C 40	-3.5337558	-4.6049388	2.1754350
C 9	-1.0440947	5.5774332	0.3420756	C 41	-1.2402822	-3.8071917	2.7598312
C 10	-0.6405125	0.5711472	-2.4831620	C 42	-0.9915526	-5.0172382	3.5914240
H 11	-0.7689263	2.2038105	2.2668366	C 43	-0.2262857	-2.8843825	2.6584804
C 12	-0.6343730	0.6576967	0.3549744	H 44	-0.8019528	5.4826221	-3.4061024
C 13	-1.0408638	5.5634029	1.7342736	H 45	-1.5689878	6.7827688	-1.0724641
O 14	-1.1284072	6.8298961	-0.2121256	H 46	-3.6107269	-0.1809564	0.2178310
H 15	-1.1253501	6.5116214	2.2842323	H 47	-4.4556213	-2.7875745	0.7386053
C 16	-0.9296471	4.3445893	2.4187429	O 48	-4.6886775	-4.4179309	1.7527630
H 17	-0.9279496	4.3467052	3.5198302	C 49	-3.1869813	-5.9268673	2.7973374
C 18	-0.8376526	3.1592156	1.7241450	C 50	-2.2446530	-5.7961542	3.9895976
H 19	-0.4312826	1.8171466	-5.7137344	H 51	-0.4560862	-4.7148556	4.5329125
H 20	-1.6729878	0.1209222	-2.4788685	H 52	-0.3165351	-5.7092175	3.0170633
H 21	-1.9460973	1.4228163	-4.7914658	H 53	-2.6958651	-6.5581776	2.0087229
O 22	-0.8565660	4.0856674	-4.7080302	O 54	-2.8531674	-5.0643930	5.0514427
O 23	1.2824528	0.8725293	-3.9442746	H 55	-4.1314542	-6.4452049	3.1124474
C 24	-0.8284429	3.0574668	-4.0061633	C 56	-1.8595362	-7.1871484	4.4880871
C 25	-0.8681824	1.7195073	-4.6838199	H 57	-3.6515218	-5.5442677	5.3030736
C 26	-0.3147684	-0.7164795	-4.6041311	H 58	-2.7724549	-7.7509294	4.7955519
C 27	-0.1223592	0.6327664	-3.9176795	H 59	-1.1829234	-7.0950682	5.3709173
O 28	-2.8212577	0.0683020	-0.2869967	H 60	-1.3372749	-7.7583730	3.6854656
C 29	-1.7007600	-0.2406294	0.4442182	H 61	-1.3999514	-0.9679824	-4.6463280
C 30	0.7083953	-0.7873770	1.7695196	H 62	0.2276227	-1.5085657	-4.0355980
C 31	-1.5847029	-1.4496354	1.2018423	H 63	0.0981535	-0.6751545	-5.6398356
C 32	0.5769184	0.3572790	1.0231784	H 64	1.4374221	1.6841039	-3.4453562

Heat of Formation: -269.090 kcal/mol

**Coordenadas Cartesianas XYZ De Los Modelos Seleccionados Para
Isoperoxisomicinas**

1A'2

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.4624761	-0.2645927	-0.3675675	C 33	1.5991429	-0.4216936	-1.1681833
C 2	0.5383501	-0.2749414	1.0919485	C 34	-0.9080410	-0.0578231	-2.3633451
O 3	-1.3738559	-1.6530338	1.2037233	C 35	1.5113541	-0.3761234	-2.5952380
C 4	-0.3782822	-0.9858035	1.8757275	C 36	-0.7930347	-0.0773472	-0.9951457
C 5	1.6633998	0.4839456	3.1078757	C 37	0.2347175	-0.2066478	-3.1872134
C 6	-0.3066336	-0.9601427	3.3036247	C 38	2.6445931	-0.4811129	-3.4757834
C 7	1.5579707	0.4639881	1.7378690	H 39	-1.6859838	0.0325435	-0.3565702
C 8	0.7396012	-0.2239578	3.9131332	H 40	-0.8995052	-0.0811946	-5.0304716
C 9	-1.2456532	-1.6284561	4.1678653	H 41	-1.8905991	0.0731604	-2.8404869
H 10	2.2842934	1.0109959	1.1127952	C 42	2.5111504	-0.4318898	-4.8664670
H 11	1.6799087	0.3771639	5.7733092	O 43	3.8396517	-0.6011235	-2.8284578
H 12	2.4683169	1.0512045	3.5984601	C 44	3.6673431	-0.5287107	-5.7621748
C 13	-1.1269114	-1.5944070	5.5607032	C 45	1.2039860	-0.2985457	-5.4252437
O 14	-2.2437671	-2.2721539	3.4995886	C 46	0.9687927	-0.2540613	-6.8951258
C 15	-2.0711565	-2.2925419	6.4401234	C 47	0.1094103	-0.1862054	-4.6020200
C 16	-0.0414207	-0.8609543	6.1333991	H 48	0.7461941	0.8089546	-7.1862374
C 17	0.1546191	-0.8181444	7.6079096	H 49	0.0654285	-0.8763551	-7.1428377
C 18	0.8507189	-0.1968300	5.3308238	C 50	2.1326240	-0.7486669	-7.7532148
H 19	0.6625566	0.1400476	7.8999672	C 51	3.4541960	-0.2107191	-7.2143374
H 20	0.8281217	-1.6667327	7.9066949	H 52	3.3519935	-1.1962259	-0.9931038
H 21	-0.3378187	-0.0986077	10.2224406	H 53	-1.5452641	-2.4984582	1.6461136
O 22	-2.9934778	-3.0026058	5.9968979	H 54	3.4683156	0.9067752	-7.3260012
C 23	-1.9130809	-2.1728567	7.9287767	H 55	4.3080284	-0.6262879	-7.8127038
H 24	-2.9332820	-2.1756761	8.3997508	H 56	-2.8856824	-2.6797840	4.1055884
C 25	-1.1543910	-0.9319349	8.3890224	O 57	4.8086397	-0.8305602	-5.3692380
H 26	-1.3700483	-3.0897150	8.2848408	C 58	1.9490094	-0.2903489	-9.1983295
H 27	-2.0864574	0.3538918	7.2760811	O 59	2.0942644	-2.1732555	-7.7016460
C 28	-0.8690221	-1.0201371	9.8854654	H 60	4.5786440	-0.7054499	-3.4511555
O 29	-1.9517375	0.2366743	8.2249706	H 61	2.7875439	-0.6687693	-9.8303029
H 30	-0.2357531	-1.9123696	10.0986664	H 62	1.9298247	0.8230421	-9.2549048
H 31	-1.8289045	-1.1029296	10.4482951	H 63	0.9891624	-0.6936404	-9.6004010
O 32	2.7978672	-0.5631880	-0.5114856	H 64	2.8408792	-2.4941198	-8.2216954

Heat of Formation: -271.416 kcal/mol

Modelo 1A

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.3666662	-0.4139717	-0.3839330	C 33	-0.1660956	-1.4866630	-1.1063510
C 2	0.3464442	-0.3840760	1.0776859	C 34	0.9505459	0.6914404	-2.4684421
O 3	2.5967475	0.2832532	1.1069267	C 35	-0.1701609	-1.4867754	-2.5369595
C 4	1.4706109	-0.0179157	1.8304728	C 36	0.9226916	0.6762052	-1.0959082
C 5	-0.9258127	-0.6762573	3.1251793	C 37	0.4087695	-0.3848166	-3.2139346
C 6	1.4322181	-0.0114280	3.2608273	C 38	-0.7373592	-2.5382653	-3.3388774
C 7	-0.8476107	-0.7249034	1.7544131	H 39	1.3560354	1.5090909	-0.5184388
C 8	0.2035270	-0.3184797	3.8992613	H 40	0.9230475	0.4910373	-5.1292762
C 9	2.5655845	0.2682800	4.1055994	H 41	1.3964263	1.5383830	-3.0105715
H 10	-1.7200376	-1.0336606	1.1537882	C 42	-0.7245698	-2.4946226	-4.7361773
H 11	-0.8626081	-0.4961765	5.7783411	O 43	-1.3015159	-3.5454493	-2.6118613
H 12	-1.8657106	-0.9222896	3.6408390	C 44	-1.3156052	-3.5587964	-5.5523387
C 13	2.4656089	0.3051184	5.5000096	C 45	-0.1012166	-1.3838388	-5.3813604
O 14	3.7282587	0.4658049	3.4212629	C 46	-0.0279447	-1.2646192	-6.8640424
C 15	3.6135561	0.6244660	6.3563412	C 47	0.4417091	-0.3664333	-4.6338667
C 16	1.1970812	0.0358835	6.0980715	H 48	0.9934108	-0.8938343	-7.1539279
C 17	1.0240187	0.0442822	7.5758072	H 49	-0.7805985	-0.4977975	-7.1953607
C 18	0.1120493	-0.2733884	5.3171599	C 50	-0.2964065	-2.5578166	-7.6328353
H 19	1.1517115	-1.0071440	7.9545555	C 51	-1.4802497	-3.3011265	-7.0227563
H 20	-0.0202134	0.3685659	7.8335608	O 52	0.8989099	-3.3310828	-7.5503631
H 21	0.8506403	0.9329731	10.1479362	C 53	-0.5941587	-2.2436555	-9.0974085
O 22	4.7449075	0.8673044	5.8957595	H 54	-1.6327032	-4.2779142	-7.5541722
C 23	3.4368802	0.6318508	7.8486109	H 55	-2.4099876	-2.6863130	-7.1606781
H 24	3.7280681	-0.3820511	8.2337020	H 56	0.2757989	-1.7116612	-9.5509947
C 25	2.0179045	0.9445164	8.3084517	O 57	-1.7092859	-4.6401784	-5.0793474
H 26	4.1409697	1.3889020	8.2885482	H 58	-1.5006314	-1.5999299	-9.1817118
H 27	0.7286380	-4.1626731	-8.0089297	H 59	-0.7694755	-3.1888367	-9.6645113
H 28	2.5872442	1.4119944	10.3530585	H 60	-1.6387636	-4.2565459	-3.1821768
C 29	1.8945198	0.7224526	9.8141146	H 61	-0.5155355	-3.3497684	-0.7852593
H 30	2.1516039	-0.3305598	10.0752670	H 62	3.1544748	0.8994176	1.6028212
O 31	1.7954543	2.3228660	8.0178915	H 63	4.4739308	0.6625166	4.0133658
O 32	-0.7387579	-2.4998803	-0.3752662	H 64	0.8749291	2.5109713	8.2355172

Heat of Formation: -269.243 kcal/mol

Modelo 1A1

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.4677529	0.3910945	-0.3831248	C 33	1.5138455	-0.1852993	-1.1119649
C 2	0.4367506	0.3622802	1.0777878	C 34	-0.6062143	1.0543353	-2.4593864
O 3	-0.2369108	2.6232081	1.1301194	C 35	1.5124010	-0.1757588	-2.5424119
C 4	0.0965716	1.4907069	1.8331866	C 36	-0.5950696	1.0075675	-1.0870592
C 5	0.7262899	-0.9133287	3.1258747	C 37	0.4414480	0.4680550	-3.2113659
C 6	0.0432394	1.4361405	3.2611120	C 38	2.5298614	-0.7908042	-3.3530684
C 7	0.7464125	-0.8419806	1.7537192	H 39	-1.4092681	1.4710146	-0.5043964
C 8	0.3769238	0.2173061	3.9022471	H 40	-0.4063493	1.0524196	-5.1191272
C 9	-0.3472893	2.5446299	4.0940895	H 41	-1.4293838	1.5492250	-2.9957668
H 10	1.0266565	-1.7231669	1.1516820	C 42	2.4883580	-0.7551071	-4.7499601
H 11	0.6294604	-0.8205501	5.7901562	O 43	3.5020225	-1.4241116	-2.6351925
H 12	0.9822272	-1.8512478	3.6407914	C 44	3.5207086	-1.3895615	-5.5746810
C 13	-0.3627800	2.4557173	5.4896075	C 45	1.4129183	-0.0641465	-5.3861369
O 14	-0.6925779	3.6615514	3.3938221	C 46	1.2990948	0.0363840	-6.8676089
C 15	-0.7461927	3.5898446	6.3375758	C 47	0.4251165	0.5207355	-4.6307902
C 16	0.0005196	1.2131113	6.0963907	H 48	0.9794241	1.0787921	-7.1429867
C 17	-0.0249214	1.0459965	7.5750369	H 49	0.4966271	-0.6727989	-7.2102560
C 18	0.3536894	0.1373529	5.3219431	C 50	2.5787293	-0.2845156	-7.6389623
H 19	0.7515390	0.2972981	7.8886301	C 51	3.2585983	-1.5153285	-7.0480665
H 20	-1.0299205	0.6408345	7.8734654	O 52	3.4122467	0.8677616	-7.5339466
H 21	0.7380466	1.3577893	10.1989416	C 53	2.2533756	-0.5403868	-9.1089310
O 22	-1.0928243	4.6889262	5.8656205	H 54	4.2276612	-1.7087065	-7.5803467
C 23	-0.7381626	3.4203784	7.8296938	H 55	2.5972125	-2.4097637	-7.2031194
H 24	-0.4750025	4.4045027	8.3035353	H 56	1.7671693	0.3631621	-9.5480288
C 25	0.2233233	2.3488751	8.3346276	O 57	4.5781166	-1.8486026	-5.1064029
H 26	-1.7833444	3.1563376	8.1456466	H 58	1.5647644	-1.4114729	-9.2100562
H 27	1.7458702	2.8527710	7.2445916	H 59	3.1897992	-0.7534942	-9.6776410
C 28	0.0236584	2.1322629	9.8318472	H 60	4.1919632	-1.7951949	-3.2105432
O 29	1.5747647	2.7748440	8.1916240	H 61	3.3579078	-0.6450234	-0.8096732
H 30	-1.0208852	1.7975108	10.0304278	H 62	0.1171615	3.3994655	1.5903487
H 31	0.2190760	3.0843337	10.3799709	H 63	-1.0205814	4.3698850	3.9736331
O 32	2.5015861	-0.8035760	-0.3838171	H 64	4.2333649	0.6646591	-7.9980176

Heat of Formation: -271.390 kcal/mol

Modelo 1A3

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.3689542	0.3783521	-0.3785949	C 34	-0.7102428	1.0406154	-2.4524971
C 2	0.3486145	0.3639146	1.0827119	C 35	1.3862085	-0.2266406	-2.5405555
O 3	-0.2680925	2.6398521	1.1162672	C 36	-0.6881110	1.0075458	-1.0798178
C 4	0.0398043	1.5065797	1.8297169	C 37	0.3206160	0.4286811	-3.2070170
C 5	0.6234107	-0.8996043	3.1397091	C 38	2.3818412	-0.8729527	-3.3538981
C 6	-0.0051463	1.4666350	3.2586599	H 39	-1.4884661	1.4916069	-0.4946815
C 7	0.6353380	-0.8413702	1.7673510	H 40	-0.5570187	0.9707466	-5.1137369
C 8	0.3056722	0.2462129	3.9085152	H 41	-1.5303374	1.5426063	-2.9869561
C 9	-0.3648332	2.5901571	4.0847737	C 42	2.3557562	-0.8088633	-4.7502336
H 10	0.8904464	-1.7338292	1.1709345	O 43	3.3433173	-1.5267924	-2.6400134
H 11	0.5392317	-0.7835096	5.8020748	C 44	3.3942275	-1.4325120	-5.5751462
H 12	0.8606959	-1.8384219	3.6616017	C 45	1.2716959	-0.1293772	-5.3843630
C 13	-0.3607461	2.5166434	5.4809026	C 46	1.1636938	-0.0188195	-6.8654146
O 14	-0.6973478	3.7091967	3.3801501	C 47	0.2883377	0.4598962	-4.6269957
C 15	-0.7034217	3.6699183	6.3206956	H 48	1.4749100	1.0186615	-7.1671424
C 16	-0.0250311	1.2721903	6.0954319	H 49	0.0905867	-0.1600847	-7.1700495
C 17	0.0146612	1.1363805	7.5763465	C 50	2.0134142	-1.0175012	-7.6502170
C 18	0.2897959	0.1784789	5.3283145	C 51	3.4090325	-1.1156834	-7.0432538
H 19	1.0649268	1.3383428	7.9244790	H 52	3.2338138	-0.7248182	-0.8202287
H 20	-0.2383462	0.0817818	7.8689983	H 53	0.0896498	3.4141059	1.5766074
H 21	2.7311600	-1.3145475	-9.6865297	H 54	3.9357957	-0.1323172	-7.1746249
O 22	-0.9642242	4.7891950	5.8406427	H 55	4.0056017	-1.8984957	-7.5829250
C 23	-0.7031486	3.5191955	7.8157063	H 56	-1.0546198	4.4069974	3.9557018
H 24	0.2892575	3.8817004	8.1964275	O 57	4.2772273	-2.1756842	-5.1097894
C 25	-0.9276295	2.0934714	8.3055995	C 58	2.1236261	-0.5779096	-9.1086280
H 26	-1.5038368	4.1831610	8.2409125	O 59	1.3307291	-2.2676834	-7.5848887
H 27	1.8736555	-2.9099063	-8.0577701	H 60	3.9120639	-2.0679549	-3.2134252
H 28	2.6096413	0.4231287	-9.1785748	H 61	-2.4270864	0.8618258	8.2699943
C 29	-0.6747049	2.0110555	9.8092977	H 62	-0.8299614	0.9653463	10.1668157
H 30	1.1050062	-0.5223264	-9.5613168	H 63	-1.3872793	2.6811034	10.3469117
O 31	-2.2962105	1.7901329	8.0437294	H 64	0.3691556	2.3225850	10.0468012
O 32	2.3789662	-0.8550397	-0.3828870				
C 33	1.3978326	-0.2249379	-1.1101693				

Heat of Formation: -269.899 kcal/mol

Modelo 1A'1

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.4453230	0.0703881	-0.3898355	C 34	-0.7313873	0.6117182	-2.4454586
C 2	0.4445278	0.0413648	1.0714063	C 35	1.5412721	-0.2995547	-2.5663234
O 3	-1.7491640	-0.8273798	1.0741060	C 36	-0.6921621	0.5637329	-1.0737113
C 4	-0.6555093	-0.4238137	1.8016361	C 37	0.3773867	0.1828368	-3.2158336
C 5	1.6201155	0.5015652	3.1477371	C 38	2.6568985	-0.6753781	-3.3938331
C 6	-0.6502215	-0.4171417	3.2315207	H 39	-1.5598532	0.8920599	-0.4766345
C 7	1.5807084	0.5083988	1.7741120	H 40	-0.5831330	0.6279307	-5.1076243
C 8	0.5129344	0.0406097	3.8991741	H 41	-1.6249600	0.9855214	-2.9670335
C 9	-1.7651088	-0.8360268	4.0419328	C 42	2.5903525	-0.6414626	-4.7898874
H 10	2.4483493	0.8614514	1.1909262	O 43	3.7577614	-1.0750191	-2.6939288
H 11	1.4789273	0.3931464	5.8092093	C 44	3.7139609	-1.0643403	-5.6307493
H 12	2.5139099	0.8549451	3.6831282	C 45	1.3955550	-0.1614880	-5.4070098
C 13	-1.7095279	-0.8344227	5.4391315	C 46	1.2425340	-0.0881007	-6.8863779
O 14	-2.8566945	-1.2150919	3.3193517	C 47	0.3332193	0.2419376	-4.6344964
C 15	-2.8367351	-1.2834300	6.2638180	H 48	0.7069306	0.8628610	-7.1567333
C 16	-0.5074381	-0.3884534	6.0718470	H 49	0.6039727	-0.9513303	-7.2200524
C 17	-0.3787022	-0.3961122	7.5543600	C 50	2.5521732	-0.1332463	-7.6725889
C 18	0.5576542	0.0388452	5.3207712	C 51	3.4716807	-1.2098732	-7.1058363
H 19	0.3300367	0.4111920	7.8821424	O 52	3.1375740	1.1617577	-7.5566044
H 20	0.0558014	-1.3822943	7.8731796	C 53	2.2690255	-0.4299447	-9.1436601
H 21	-0.8067484	0.4118709	10.1530920	H 54	4.4565370	-1.1924600	-7.6441103
O 22	-3.8822456	-1.7446620	5.7683032	H 55	3.0054512	-2.2173894	-7.2770758
C 23	-2.7252336	-1.2118127	7.7597320	H 56	1.6104411	0.3657266	-9.5664847
H 24	-3.7371504	-0.9704146	8.1844182	O 57	4.8380139	-1.3408320	-5.1741212
C 25	-1.7126513	-0.1923927	8.2724045	H 58	1.7639655	-1.4180460	-9.2520683
H 26	-2.4362500	-2.2340376	8.1255386	H 59	3.2234058	-0.4477820	-9.7220684
H 27	-2.2510147	1.2842481	7.1364158	H 60	4.5323312	-1.1833779	-3.2714665
C 28	-1.5296228	-0.3513214	9.7790017	H 61	3.0517063	-1.5379125	-0.8923938
O 29	-2.1956647	1.1347122	8.0887081	H 62	-2.1452941	-1.6034760	1.4988674
H 30	-1.1438115	-1.3716484	10.0084543	H 63	-3.6089730	-1.4489764	3.8892871
H 31	-2.5066729	-0.1987726	10.2958294	H 64	3.9763688	1.1351946	-8.0326092
O 32	2.6366331	-0.7982656	-0.4237437				
C 33	1.5458655	-0.3633845	-1.1372746				

Heat of Formation: -271.344 kcal/mol

Modelo 1A'3

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.4444569	-0.1358904	-0.3811356	C 34	-0.9053149	0.1058220	-2.3874193
C 2	0.5132014	-0.1250629	1.0787181	C 35	1.4948009	-0.3421108	-2.6013512
O 3	-1.4655133	-1.4027329	1.2021880	C 36	-0.7970260	0.1045418	-1.0184123
C 4	-0.4419332	-0.7744838	1.8694424	C 37	0.2313272	-0.1170410	-3.2027739
C 5	1.6687447	0.6071380	3.0867897	C 38	2.6245279	-0.5241063	-3.4738445
C 6	-0.3755742	-0.7285733	3.2974524	H 39	-1.6858198	0.2710798	-0.3862990
C 7	1.5673976	0.5709685	1.7173607	H 40	-0.8867564	0.0342674	-5.0539438
C 8	0.7062245	-0.0392735	3.8995228	H 41	-1.8778301	0.2789260	-2.8715954
C 9	-1.3519258	-1.3310377	4.1684513	C 42	2.4998528	-0.4939171	-4.8659354
H 10	2.3230553	1.0694057	1.0866838	O 43	3.8082938	-0.6967996	-2.8178181
H 11	1.6772892	0.5301683	5.7522864	C 44	3.6527078	-0.6699076	-5.7535040
H 12	2.5003355	1.1390370	3.5721220	C 45	1.2038683	-0.3012450	-5.4336920
C 13	-1.2379162	-1.2784767	5.5610764	C 46	0.9779507	-0.2708808	-6.9053827
O 14	-2.3834260	-1.9277359	3.5060463	C 47	0.1133773	-0.1159264	-4.6184835
C 15	-2.2229932	-1.9078338	6.4478674	H 48	0.8186627	0.7975481	-7.2174735
C 16	-0.1149469	-0.6004466	6.1256903	H 49	0.0412704	-0.8444944	-7.1466559
C 17	0.0581759	-0.4961995	7.5997748	C 50	2.1152709	-0.8478296	-7.7474045
C 18	0.8164336	0.0003844	5.3160006	C 51	3.4627837	-0.3731633	-7.2134699
H 19	-0.3991960	0.4720165	7.9440343	H 52	3.2807515	-1.2309305	-0.9720127
H 20	1.1522166	-0.4581606	7.8519051	H 53	-1.6908682	-2.2243235	1.6647823
H 21	2.7812047	-0.8483434	-9.8225429	H 54	3.5401597	0.7390253	-7.3496176
O 22	-3.2291909	-2.5004997	6.0150576	H 55	4.2942522	-0.8491341	-7.7981996
C 23	-2.0389717	-1.8125611	7.9362152	H 56	-3.0184074	-2.3402941	4.1158933
H 24	-2.6371208	-0.9347296	8.3004606	O 57	4.7755083	-1.0216924	-5.3486743
C 25	-0.5908199	-1.6395881	8.3786741	C 58	1.9628805	-0.4104165	-9.2026352
H 26	-2.4585778	-2.7418339	8.4083257	O 59	1.9969799	-2.2666522	-7.6667694
H 27	2.7278923	-2.6394818	-8.1743000	H 60	4.5436653	-0.8504209	-3.4345167
H 28	2.0062343	0.7008650	-9.2824192	H 61	0.9927251	-2.7601711	8.3277251
C 29	-0.5330226	-1.3360346	9.8740616	H 62	0.5261139	-1.1919906	10.1948689
H 30	0.9834398	-0.7678010	-9.6008429	H 63	-0.9662187	-2.1902065	10.4472440
O 31	0.0574883	-2.8847370	8.1279283	H 64	-1.1097633	-0.4106140	10.1066485
O 32	2.7633715	-0.5537298	-0.5099251				
C 33	1.5746362	-0.3652697	-1.1733426				

Heat of Formation: -269.969 kcal/mol

Coordenadas Cartesianas XYZ De Los Modelos Seleccionados Para Tullidinoles

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol

Cycle no: 132 Heat of formation = -261.660 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM7AAM31

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	0.2072741	1.9187491	-4.9463045	C 37	2.1082372	-0.2604826	-0.0201587
C 2	0.3343667	2.1454032	-3.4687144	C 38	1.2945103	-2.0024506	1.4546474
O 3	0.2149759	4.4409396	-3.9234436	C 39	-1.0810438	-2.2738559	1.9633352
C 4	0.3078650	3.4496077	-2.9746233	H 40	2.9381313	0.2714182	-0.5129072
C 5	0.5773932	1.2915077	-1.2003986	H 41	2.6094355	-3.4137558	2.4472832
C 6	0.3385678	3.7146457	-1.5724899	H 42	3.3896910	-1.6620890	0.9973831
C 7	0.5011698	1.0675817	-2.5658373	C 43	-0.8072829	-3.3573607	2.8041152
C 8	0.4767376	2.6168234	-0.6802809	O 44	-2.3273471	-1.7677325	1.7483322
C 9	0.2112537	5.0251734	-0.9955221	C 45	-1.8678974	-4.0723919	3.5237189
H 10	-0.3740617	-0.7871418	-3.1730375	C 46	0.5527572	-3.7659264	2.9672151
H 11	0.6232491	1.9680549	1.3862666	H 47	1.8345561	-5.4091671	3.4886560
C 12	0.7864921	0.1685703	-0.2770813	C 48	1.5612508	-3.1025490	2.3155645
C 13	0.2555649	5.2369374	0.3650768	O 49	-3.0651945	-3.7387114	3.4494200
O 14	0.0278123	6.0538167	-1.8991624	C 50	-1.5010214	-5.2386082	4.3955829
H 15	0.1601436	6.2321155	0.8186118	H 51	-1.4115317	-4.8582004	5.4488648
C 16	0.4190300	4.1170394	1.2267780	C 52	-0.2018077	-5.9349481	4.0025899
O 17	0.4575896	4.4480486	2.5660119	H 53	-2.3406596	-5.9849573	4.3714762
C 18	0.5228474	2.8396236	0.7236186	C 54	0.9105317	-4.8952882	3.8679780
H 19	1.0077775	2.5273553	-5.4634902	O 55	-0.3664480	-6.6669161	2.7921567
C 20	-1.1664856	2.3297155	-5.4625282	C 56	0.1727796	-6.9737947	5.0556977
O 21	0.3724490	0.5626873	-5.3764900	H 57	1.1434261	-4.4824770	4.8870640
H 22	-1.3092962	3.4247963	-5.3028413	H 58	-0.5443759	-6.0222138	2.0958565
H 23	-1.9673606	1.7690976	-4.9263583	H 59	0.3218786	-6.4768255	6.0422783
H 24	-1.2383556	2.0995711	-6.5521579	H 60	1.1137527	-7.4925587	4.7550209
C 25	1.2183663	-0.2266103	-4.5440505	H 61	-0.6399281	-7.7335531	5.1415873
H 26	2.2415560	0.2437186	-4.5089585	H 62	-2.1708279	-0.7190221	0.0730750
C 27	1.2909477	-1.5979123	-5.1884669	H 63	-3.0045120	-2.2187560	2.2812171
C 28	0.6377524	-0.3007913	-3.1353602	H 64	0.6556061	5.2385590	-3.5978447
H 29	1.9558731	-2.2569763	-4.5824052	C 65	-0.1871207	7.3543615	-1.3597646
H 30	1.6996532	-1.5111460	-6.2231688	C 66	0.5417016	3.3574874	3.4779207
H 31	0.2745292	-2.0546121	-5.2477596	H 67	0.7141296	7.6975185	-0.7960030
H 32	1.3019713	-0.9340516	-2.4908083	H 68	-1.0912322	7.3632401	-0.7040699
O 33	-1.5289102	0.0068812	0.0884687	H 69	-0.3509133	7.9853144	-2.2702406
C 34	-0.2782824	-0.4923098	0.3454411	H 70	1.4971888	2.7976377	3.3315086
C 35	2.3590643	-1.3237264	0.8142421	H 71	-0.3345875	2.6751142	3.3588878
C 36	-0.0425227	-1.5821854	1.2428558	H 72	0.5242550	3.8556954	4.4801701

Heat of Formation: -261.660 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 104 Heat of formation = -261.643 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM7A'AM11

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	-0.1196524	1.8663400	-4.9262909	C 37	-0.3507754	-0.5583269	0.3088831
C 2	0.0121645	2.0915190	-3.4478244	C 38	1.1878312	-2.0416039	1.4506698
O 3	-0.4758884	4.3489170	-3.8484357	C 39	3.6128521	-1.7873967	1.2808297
C 4	-0.2185642	3.3635449	-2.9241499	H 40	-1.3774334	-0.2272090	0.0830415
C 5	0.4266324	1.2431522	-1.2027226	H 41	0.5252641	-3.6608168	2.7334421
C 6	-0.1319965	3.6199204	-1.5228016	H 42	-0.9746057	-2.1664934	1.5997816
C 7	0.3922466	1.0438657	-2.5740083	C 43	3.8160005	-2.8705616	2.1415598
C 8	0.1591964	2.5331278	-0.6543027	O 44	4.6170889	-1.0339953	0.7515424
C 9	-0.3094543	4.9154375	-0.9249636	C 45	5.1596509	-3.3244816	2.5192557
H 10	-0.1203283	-0.9560996	-3.1465839	C 46	2.6716962	-3.5555169	2.6561232
H 11	0.4194849	1.8722846	1.3982579	H 47	1.9431480	-4.8210874	4.2330104
C 12	0.7262198	0.1275031	-0.2957106	C 48	1.4067450	-3.1421775	2.3248504
C 13	-0.2574476	5.1096586	0.4379564	O 49	6.1918080	-2.8101683	2.0492202
O 14	-0.5254279	5.9517796	-1.8121255	C 50	5.3044932	-4.4645063	3.4858795
H 15	-0.3939585	6.0925179	0.9075794	H 51	5.4876096	-5.3955028	2.8840861
C 16	-0.0046084	3.9908709	1.2793959	C 52	4.0985387	-4.6848327	4.3937737
O 17	0.0102477	4.3002300	2.6241878	H 53	6.2142333	-4.2839934	4.1204141
C 18	0.2033319	2.7357908	0.7530309	C 54	2.8276997	-4.7379905	3.5459030
H 19	0.5788485	2.5816076	-5.4536580	O 55	4.0135208	-3.6594171	5.3784942
C 20	-1.5482184	2.0842960	-5.4102804	C 56	4.2646889	-5.9843183	5.1761858
O 21	0.2153647	0.5462534	-5.3698860	H 57	2.8556227	-5.6651068	2.9112635
H 22	-1.8312610	3.1528439	-5.2609600	H 58	3.8467165	-2.8324082	4.9090883
H 23	-2.2546330	1.4297401	-4.8486082	H 59	4.3309057	-6.8453493	4.4713356
H 24	-1.6148500	1.8315012	-6.4953885	H 60	3.3926262	-6.1280399	5.8572160
C 25	1.2395303	-0.0859537	-4.6051860	H 61	5.1932808	-5.9370224	5.7930682
H 26	2.1637625	0.5580198	-4.6229657	H 62	3.7948049	-0.1185244	-0.7904053
C 27	1.5118448	-1.4189780	-5.2755836	H 63	5.4939867	-1.3224598	1.0577248
C 28	0.7675933	-0.2690702	-3.1665752	H 64	-1.0778598	5.0016184	-3.4639790
H 29	2.3121108	-1.9577695	-4.7160423	C 65	-0.6368593	7.2600479	-1.2601181
H 30	1.8433072	-1.2548635	-6.3283789	C 66	0.3286610	3.2311385	3.5093014
H 31	0.5877605	-2.0443192	-5.2899547	H 67	0.2930981	7.5323617	-0.7046935
H 32	1.5878101	-0.7432101	-2.5650268	H 68	-1.5305762	7.3284025	-0.5934631
O 33	3.0270445	0.4482331	-0.6244208	H 69	-0.7637393	7.9091619	-2.1637144
C 34	2.0365784	-0.2792911	-0.0173061	H 70	1.3426246	2.8206142	3.2834604
C 35	-0.1303243	-1.6240813	1.1489944	H 71	-0.4432606	2.4262905	3.4449650
C 36	2.2948641	-1.3575436	0.8875976	H 72	0.3120632	3.7160246	4.5181108

Heat of Formation: -261.643 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 154 Heat of formation = -261.775 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM3A'AM31

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z		X	Y	Z
C 1	1.6028500	1.7682909	-4.6188258	C 37	0.0990084	1.6452750	1.1343499
C 2	1.9293624	1.3980272	-3.2008637	C 38	-1.8339780	0.5166029	2.0632494
O 3	4.1963980	1.4545756	-3.8043088	C 39	-2.8518822	-1.4247400	0.9802308
C 4	3.2585962	1.1928865	-2.8326119	H 40	0.8517418	2.4497123	1.1686772
C 5	1.2201613	0.8568065	-0.9327883	H 41	-2.8106000	1.1624550	3.8897598
C 6	3.6125821	0.7954657	-1.5084200	H 42	-0.9014778	2.2727247	2.9359756
C 7	0.9156842	1.2748627	-2.2198801	C 43	-3.8261152	-1.5073094	1.9799039
C 8	2.5714818	0.5857271	-0.5638591	O 44	-2.7860757	-2.2582298	-0.0952698
C 9	4.9641521	0.5921819	-1.0620996	C 45	-4.8662692	-2.5427681	1.9700002
H 10	-1.0273697	2.0706760	-1.7363636	C 46	-3.7916506	-0.5548549	3.0449452
H 11	2.0529010	-0.0609925	1.4447663	H 47	-4.3769815	-1.2664081	4.9692311
C 12	0.1600375	0.7139424	0.0720018	C 48	-2.8293018	0.4221613	3.0746670
C 13	5.2600834	0.1500377	0.2086978	O 49	-4.8884251	-3.4532765	1.1207581
O 14	5.9427745	0.8832645	-1.9918758	C 50	-5.9298547	-2.5266987	3.0299436
H 15	6.2865663	-0.0148940	0.5610598	H 51	-6.8995120	-2.8594686	2.5693927
C 16	4.1894527	-0.1009470	1.1111098	C 52	-6.1375865	-1.1749149	3.7058107
O 17	4.6018458	-0.5587149	2.3462093	H 53	-5.6431757	-3.2865824	3.8064119
C 18	2.8808326	0.1189288	0.7443645	C 54	-4.7862451	-0.6149722	4.1501105
C 19	1.9867244	0.6641826	-5.5970044	C 55	-7.0642262	-1.3299908	4.9083264
H 20	-2.5159129	3.2745752	-3.4523277	O 56	-6.8033582	-0.2699754	2.8307243
O 21	0.2164873	2.0141132	-4.8787897	H 57	-4.9479310	0.4108375	4.5778348
H 22	-2.3838128	1.8693827	-4.6004078	H 58	-6.2068104	-0.1050548	2.0896666
H 23	-1.8919597	3.5251853	-5.1441346	H 59	-6.6048624	-2.0188151	5.6547001
H 24	2.1620574	2.7178023	-4.8705578	H 60	-8.0463233	-1.7430376	4.5767934
C 25	-0.4984325	2.5760957	-3.7804408	H 61	-7.2387107	-0.3340246	5.3801068
C 26	-1.9106136	2.8260791	-4.2746972	H 62	-0.9465279	-2.0396598	-0.8179782
H 27	1.4952514	-0.2955209	-5.3132313	H 63	-3.5215648	-2.8944470	-0.1114987
C 28	-0.4825187	1.6103567	-2.6016836	H 64	4.9362142	0.8378036	-3.7084233
H 29	3.0941773	0.5320407	-5.5921491	C 65	7.2951338	0.7088417	-1.5800848
H 30	1.6518303	0.9460072	-6.6237830	C 66	3.5706080	-0.8472276	3.2843353
H 31	-0.0102482	3.5472830	-3.4835052	H 67	7.5298118	1.3745534	-0.7144720
H 32	-1.0181956	0.6590052	-2.8737196	H 68	7.8795721	1.0145793	-2.4850175
O 33	-0.7251650	-1.1343406	-1.0845749	H 69	7.4920773	-0.3599642	-1.3221314
C 34	-0.7932752	-0.3080360	0.0086471	H 70	4.1310218	-1.2131849	4.1816596
C 35	-0.8651624	1.5483039	2.1088129	H 71	2.8907624	-1.6415171	2.8911727
C 36	-1.8181526	-0.4213499	1.0010198	H 72	2.9926763	0.0767984	3.5290829

Heat of Formation: -261.775 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 108 Heat of formation = -262.195 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM3AAM31

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z		X	Y	Z
C 1	-0.5065362	2.2234995	-4.8263243	C 37	1.8672546	-0.4848535	-0.2382585
C 2	-0.0379260	2.3360772	-3.4049984	C 38	0.9147240	-2.1196559	1.2763481
O 3	0.1763073	4.6432207	-3.7712400	C 39	-1.4679588	-2.1533697	1.8230384
C 4	0.3281094	3.5855994	-2.9048677	H 40	2.7289185	-0.0670624	-0.7839456
C 5	0.5095026	1.3185765	-1.2604375	H 41	2.0922720	-3.6765625	2.2226225
C 6	0.8636777	3.7330687	-1.5904505	H 42	3.0074607	-2.0528981	0.7008398
C 7	0.0189267	1.2067079	-2.5526802	C 43	-1.2914975	-3.2645303	2.6535572
C 8	0.9472597	2.5818392	-0.7615375	O 44	-2.6689269	-1.5530619	1.5919800
C 9	1.3492216	4.9751703	-1.0533526	C 45	-2.4107069	-3.8830977	3.3738506
H 10	-0.9816586	-0.6727816	-2.2386217	C 46	0.0223680	-3.8106969	2.7903531
H 11	1.5018554	1.7873059	1.1830979	H 47	0.2045816	-5.9262260	2.9829867
C 12	0.6074426	0.1388621	-0.3914114	C 48	1.0812592	-3.2519587	2.1203276
C 13	1.8451668	5.0781196	0.2277725	O 49	-3.5775413	-3.4582705	3.2835520
O 14	1.3001207	6.0509526	-1.9179260	C 50	-2.1465013	-5.0812549	4.2394303
H 15	2.2175853	6.0199103	0.6513388	H 51	-2.8712411	-5.0740362	5.0979594
C 16	1.8856443	3.9112621	1.0405254	C 52	-0.7240055	-5.1580257	4.7854167
O 17	2.3908274	4.1346170	2.3053043	H 53	-2.3547604	-5.9968861	3.6227403
C 18	1.4585571	2.6931450	0.5618244	C 54	0.2699413	-5.0118811	3.6334654
C 19	0.5994017	2.5710821	-5.8156901	C 55	-0.5101495	-6.4889943	5.5003029
H 20	-2.4760546	-1.7805908	-4.0052984	O 56	-0.5077702	-4.1580110	5.7762303
O 21	-0.9527397	0.9211574	-5.2184148	H 57	1.3077180	-4.9713775	4.0614566
H 22	-1.1402140	-1.6925042	-5.2377754	H 58	-0.5825559	-3.3034362	5.3333539
H 23	-2.7454585	-0.9349266	-5.5947989	H 59	-0.6647879	-7.3314698	4.7869179
H 24	-1.3786952	2.9298242	-4.9631626	H 60	-1.2308873	-6.5823072	6.3470262
C 25	-1.5359427	0.1570299	-4.1646766	H 61	0.5268058	-6.5344184	5.9096849
C 26	-2.0022929	-1.1441521	-4.7891843	H 62	-2.2265824	0.2416023	0.8536017
H 27	1.4861757	1.9147917	-5.6543802	H 63	-3.4054031	-2.0350525	2.0058344
C 28	-0.5036098	-0.0879626	-3.0691005	H 64	-0.0343963	5.4410432	-3.2651632
H 29	0.8974375	3.6377584	-5.6808458	C 65	1.8069037	7.2907563	-1.4331966
H 30	0.2275293	2.4174628	-6.8567254	C 66	2.4502334	3.0021186	3.1660279
H 31	-2.4120732	0.7238529	-3.7400863	H 67	1.2098160	7.6427096	-0.5572430
H 32	0.3463913	-0.6948211	-3.4813056	H 68	1.6766918	7.9793514	-2.3065933
O 33	-1.7046245	0.2187955	0.0371700	H 69	2.8863708	7.1941861	-1.1631887
C 34	-0.4978562	-0.3856892	0.2859263	H 70	2.8733708	3.4192381	4.1147940
C 35	2.0221411	-1.5788518	0.5791620	H 71	3.1262559	2.2208009	2.7414986
C 36	-0.3678751	-1.5356031	1.1276575	H 72	1.4287195	2.5844384	3.3383672

Heat of Formation: -262.195 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 183 Heat of formation = -260.486 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM4A'AM21

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	-2.4299849	2.0072923	-4.2789679	C 37	-1.3500552	-0.0811538	1.1695375
C 2	-1.8505477	2.2009778	-2.9085012	C 38	-0.0059019	-2.0210465	1.7210870
O 3	-2.1248954	4.5074151	-3.2323155	C 39	1.8132320	-2.7954005	0.2833523
C 4	-1.6766982	3.4945185	-2.4165878	H 40	-2.1779280	0.6107220	1.3939837
C 5	-0.9157717	1.2941065	-0.8483046	H 41	-0.3317861	-3.2099713	3.5045674
C 6	-1.0356351	3.7336133	-1.1640269	H 42	-1.6669473	-1.2975333	2.9184200
C 7	-1.4931055	1.0995323	-2.0942572	C 43	2.0850208	-3.8582070	1.1506522
C 8	-0.6544019	2.6146999	-0.3746320	O 44	2.4800026	-2.5685343	-0.8832444
C 9	-0.7187423	5.0417686	-0.6590104	C 45	3.1626805	-4.8200746	0.8899240
H 10	-2.0363638	-0.9585306	-1.7502802	C 46	1.2935475	-3.9919130	2.3312844
H 11	0.2687496	1.9306623	1.4696683	H 47	1.2505380	-4.7850020	4.3250353
C 12	-0.5813458	0.1474647	0.0043908	C 48	0.2827744	-3.1016894	2.5975715
C 13	-0.0962922	5.2304214	0.5554723	O 49	3.8869076	-4.7531103	-0.1205873
O 14	-1.0677250	6.0937211	-1.4831502	C 50	3.3881498	-5.9491890	1.8551519
H 15	0.1527229	6.2231642	0.9522718	H 51	2.8192260	-6.8412660	1.4787188
C 16	0.2520714	4.0886770	1.3289693	C 52	2.9465526	-5.6498276	3.2827902
O 17	0.8637580	4.3968400	2.5273580	H 53	4.4819500	-6.2064822	1.8554026
C 18	-0.0131799	2.8146020	0.8798818	C 54	1.5156657	-5.1131266	3.2839082
C 19	-1.5168861	2.5701216	-5.3619455	H 55	4.0696491	-7.2867950	4.1670597
H 20	-2.2847123	-1.9469102	-4.7438349	H 56	3.5666741	-4.4571485	4.6819689
O 21	-2.6553151	0.6465523	-4.6623832	H 57	0.8209157	-5.9543209	3.0100487
H 22	-4.0404152	-1.5424029	-4.9262033	C 58	3.0165316	-6.9189137	4.1289599
H 23	-3.4454856	-2.3296175	-3.3961931	H 59	2.3679136	-7.7142855	3.6932562
H 24	-3.4315095	2.5310208	-4.3118965	H 60	-3.8806408	0.1281172	-3.0577783
C 25	-2.9513455	-0.2349025	-3.5816861	O 61	3.8682950	-4.6903569	3.7960979
C 26	-3.1949250	-1.5985456	-4.2002799	H 62	2.0681820	-0.6869257	-1.3677167
H 27	-0.5088902	2.0969057	-5.3044115	H 63	3.1817186	-3.2239894	-1.0374936
C 28	-1.7872664	-0.2687788	-2.5985169	H 64	-2.4112350	5.2533973	-2.6863818
H 29	-1.4175443	3.6732985	-5.2283837	C 65	-0.6961351	7.3997336	-1.0532425
H 30	-1.9550322	2.3546831	-6.3655205	C 66	1.2849988	3.2908596	3.3187754
H 31	2.6755807	-6.7048110	5.1698172	H 67	-1.2203747	7.6622980	-0.1024331
H 32	-0.8653233	-0.6705441	-3.1029193	H 68	-1.0434350	8.0540893	-1.8929594
O 33	1.1246202	-0.4961237	-1.4820057	H 69	0.4112875	7.4716440	-0.9273908
C 34	0.4666994	-0.7272061	-0.3005029	H 70	1.7642497	3.7749945	4.2070674
C 35	-1.0691388	-1.1305195	2.0103000	H 71	2.0243070	2.6657720	2.7616975
C 36	0.7708001	-1.8375891	0.5502001	H 72	0.4071097	2.6744690	3.6303901

Heat of Formation: -260.486 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 40 Heat of formation = -260.802 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM4AAM21

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	-0.8962981	2.0540457	-4.8209057	C 37	1.7081983	-0.6120640	-0.3433781
C 2	-0.3422163	2.1867866	-3.4324735	C 38	0.8283603	-2.1995788	1.2632448
O 3	-0.1173736	4.4836160	-3.8559982	C 39	-1.5095012	-2.1695520	1.9761369
C 4	0.0698033	3.4397888	-2.9794917	H 40	2.5382869	-0.2224865	-0.9546871
C 5	0.3194721	1.2011859	-1.3051736	H 41	2.0333145	-3.7728827	2.1432486
C 6	0.6839795	3.6041127	-1.7019689	H 42	2.8771980	-2.1886778	0.5432857
C 7	-0.2497887	1.0727490	-2.5631002	C 43	-1.2963248	-3.2646223	2.8186969
C 8	0.8026016	2.4671303	-0.8578447	O 44	-2.7132992	-1.5492870	1.8204369
C 9	1.2146785	4.8493914	-1.2176919	C 45	-2.3737712	-3.8391337	3.6332624
H 10	-1.2575077	-0.7834365	-2.1511119	C 46	0.0086384	-3.8411909	2.8686447
H 11	1.4627052	1.6999823	1.0643721	H 47	1.1213751	-5.6224901	3.3129084
C 12	0.4534809	0.0359530	-0.4215151	C 48	1.0291909	-3.3225755	2.1111659
C 13	1.7875305	4.9688828	0.0294806	O 49	-3.5142510	-3.3406801	3.6728890
O 14	1.1258084	5.9103690	-2.0974587	C 50	-2.0934779	-5.0455676	4.4836255
H 15	2.1954559	5.9132420	0.4125826	H 51	-1.8893804	-4.6883192	5.5286446
C 16	1.8628965	3.8162242	0.8598355	C 52	-0.9159579	-5.8913351	4.0131601
O 17	2.4456452	4.0555548	2.0881231	H 53	-3.0171011	-5.6854567	4.5082093
C 18	1.3936448	2.5954170	0.4303768	C 54	0.2984439	-4.9994539	3.7560661
C 19	0.1532127	2.3668601	-5.8808521	H 55	-1.4404107	-7.6111074	5.2339778
H 20	-1.6058635	-1.8594727	-5.1159444	H 56	-0.5863229	-7.0349673	2.4801339
O 21	-1.3823155	0.7511269	-5.1599347	H 57	0.6678053	-4.6087636	4.7439009
H 22	-3.2190435	-1.0854951	-5.3931338	C 58	-0.5666790	-6.9360105	5.0706481
H 23	-2.8676157	-1.9044211	-3.8056051	H 59	-0.3020055	-6.4420294	6.0345209
H 24	-1.7655366	2.7702423	-4.9196592	H 60	-2.7544095	0.6035496	-3.5948498
C 25	-1.9125731	0.0158311	-4.0586001	O 61	-1.3463915	-6.5516183	2.8248795
C 26	-2.4325033	-1.2900630	-4.6285700	H 62	-2.2905040	0.2143168	1.0082885
H 27	1.0387600	1.7002783	-5.7600768	H 63	-3.4329749	-2.0390303	2.2546491
C 28	-0.8210304	-0.2233986	-3.0207761	H 64	-0.2928570	5.2921256	-3.3534722
H 29	0.4737055	3.4311718	-5.7843711	C 65	1.6693026	7.1535422	-1.6641665
H 30	-0.2823356	2.1998901	-6.8947681	C 66	2.5391182	2.9384050	2.9655773
H 31	0.3000653	-7.5509207	4.7298840	H 67	1.1283517	7.5242651	-0.7599125
H 32	-0.0060125	-0.8522009	-3.4691173	H 68	1.4919769	7.8293228	-2.5392703
O 33	-1.8204721	0.1750064	0.1616481	H 69	2.7623142	7.0525938	-1.4576002
C 34	-0.6129561	-0.4525423	0.3393837	H 70	3.0215345	3.3665676	3.8804925
C 35	1.8962298	-1.6947873	0.4811809	H 71	3.1791565	2.1397386	2.5181108
C 36	-0.4489705	-1.5895939	1.1930158	H 72	1.5237365	2.5385496	3.2039279

Heat of Formation: -260.802 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 65 Heat of formation = -261.181 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0001

ISOM5A'AM11

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	-2.1214507	1.3009847	-4.7609726	C 37	-1.6800348	-0.3740647	0.7882526
C 2	-1.6684059	1.6647992	-3.3762683	C 38	-0.2021700	-1.9776639	1.8459455
O 3	-1.8188454	3.9274997	-4.0078321	C 39	2.0624499	-2.3982813	1.0256858
C 4	-1.5774588	3.0060529	-3.0142986	H 40	-2.6557253	0.1338064	0.7186429
C 5	-0.9639879	1.0145900	-1.1348873	H 41	-0.7900516	-3.1685836	3.5614548
C 6	-1.1869792	3.4004721	-1.6987141	H 42	-2.2409821	-1.5829059	2.4807667
C 7	-1.3023338	0.6694933	-2.4340920	C 43	2.2756112	-3.3569408	2.0209685
C 8	-0.9087916	2.3865058	-0.7436175	O 44	2.9766675	-2.0694527	0.0706139
C 9	-1.0573402	4.7626390	-1.2791082	C 45	3.5450423	-4.0838653	2.1428572
H 10	-2.2374759	-1.2505148	-2.5916140	C 46	1.2211853	-3.6216573	2.9487993
H 11	-0.3586529	1.9413398	1.3099641	H 47	1.8039797	-4.0758309	4.9499712
C 12	-0.6697329	-0.0209228	-0.1358958	C 48	0.0260156	-2.9550851	2.8534116
C 13	-0.6957542	5.1092206	0.0033395	O 49	4.5250479	-3.8346371	1.4161484
O 14	-1.3840158	5.7857702	-2.1659665	C 50	3.6840275	-5.1480381	3.1929801
H 15	-0.5982770	6.1599402	0.3100145	H 51	4.3288228	-5.9729275	2.7845264
C 16	-0.4529699	4.0723965	0.9474410	C 52	2.3646669	-5.7406994	3.6781112
O 17	-0.1134220	4.5307928	2.2044189	H 53	4.2259935	-4.6920712	4.0652389
C 18	-0.5532779	2.7464468	0.5863329	C 54	1.4036502	-4.6101622	4.0459976
H 19	-1.4171490	1.7888135	-5.4982917	H 55	1.5728204	-6.0324785	1.9318593
C 20	-3.5510150	1.7552287	-5.0298461	H 56	1.6464858	-7.0922804	5.2209599
O 21	-2.1271395	-0.1020213	-5.0442385	H 57	0.4134550	-5.0603384	4.3259040
H 22	-3.5988039	2.8692023	-4.9985303	C 58	2.6096329	-6.6378650	4.8880233
H 23	-4.2449618	1.3309009	-4.2673661	H 59	3.0455813	-6.0397872	5.7215670
H 24	-3.8694446	1.3986393	-6.0384458	H 60	-0.0927741	-0.3913046	-4.6769491
C 25	-1.0894882	-0.8321285	-4.3916952	O 61	1.7982615	-6.5912055	2.6863063
H 26	3.3132299	-7.4588630	4.6123649	H 62	2.3697126	-0.3214798	-0.6573687
H 27	1.0060934	2.8954201	2.8876414	H 63	3.7837619	-2.6084317	0.1347886
C 28	-1.2745474	-0.7502495	-2.8804665	H 64	-2.2441682	4.7063318	-3.6157318
H 29	-0.7687576	2.9066620	3.3567272	C 65	-0.2436274	6.3787328	-2.7936026
H 30	0.3858174	4.1294512	4.1037215	C 66	0.1401109	3.5337848	3.1882345
C 31	-1.1957395	-2.2613264	-4.8880411	H 67	0.2387234	5.6361433	-3.4749918
H 32	-0.4322486	-1.2962376	-2.3771536	H 68	0.4797002	6.7416834	-2.0249024
O 33	1.4792698	-0.3317105	-1.0402304	H 69	-0.6748525	7.2326633	-3.3728950
C 34	0.5693423	-0.6657956	-0.0688994	H 70	-0.4024196	-2.8792839	-4.4055711
C 35	-1.4531163	-1.3197352	1.7593206	H 71	-1.0648245	-2.2904264	-5.9957853
C 36	0.8250859	-1.6679340	0.9200665	H 72	-2.1967185	-2.6872688	-4.6394956

Heat of Formation: -261.181 kcal/mol

Convergence on Energy - difference below 0.5000D-03 kcal/mol
 Cycle no: 190 Heat of formation = -261.021 rmsG = 0.0000 rmsD = 0.0000

ISOM5AAM11

Cartesian Coordinates (Angstroms)

Atom	X	Y	Z				
C 1	-0.6291087	1.9705488	-4.7362224	C 37	2.0281001	-0.1092630	0.1538134
C 2	-0.1360052	2.1881048	-3.3356898	C 38	1.2515880	-1.9513782	1.5237267
O 3	-0.0033853	4.4760430	-3.8430699	C 39	-1.1099375	-2.5692031	1.6562380
C 4	0.1501012	3.4822538	-2.9049210	H 40	2.8439009	0.5147672	-0.2460627
C 5	0.4690378	1.3231833	-1.1377770	H 41	2.5892040	-3.1925997	2.6967623
C 6	0.5308647	3.7505616	-1.5546591	H 42	3.3336268	-1.3714713	1.3126067
C 7	0.0644115	1.1041379	-2.4455900	C 43	-0.8163599	-3.6168999	2.5348920
C 8	0.6829682	2.6528964	-0.6641252	O 44	-2.3618997	-2.2747057	1.2073765
C 9	0.7468508	5.0650565	-1.0289990	C 45	-1.8606393	-4.4973510	3.0722236
H 10	-1.1867494	-0.6015086	-2.7128305	C 46	0.5466104	-3.8316774	2.9075192
H 11	1.1450640	2.0198051	1.3622249	H 47	1.1939000	-5.8441600	3.1841706
C 12	0.7011173	0.1934435	-0.2303202	C 48	1.5387218	-3.0231707	2.4127767
C 13	1.0895711	5.2882433	0.2860745	O 49	-3.0619796	-4.3654822	2.7732611
O 14	0.6825456	6.1469402	-1.9012379	C 50	-1.4690308	-5.6077750	4.0039832
H 15	1.2526316	6.3017589	0.6779422	H 51	-2.3096999	-5.7855849	4.7279282
C 16	1.2368081	4.1702614	1.1528561	C 52	-0.1835813	-5.3480669	4.7834755
O 17	1.5810395	4.5083355	2.4460201	H 53	-1.3449669	-6.5387896	3.3876222
C 18	1.0392520	2.8864626	0.6933503	C 54	0.9274308	-4.9506223	3.8118586
H 19	0.1305500	2.4145424	-5.4462868	H 55	-0.5871655	-3.5223721	5.2971887
C 20	-1.9895616	2.6193330	-4.9633742	H 56	1.1501445	-6.3990771	6.1397927
O 21	-0.8101485	0.6021919	-5.1156369	H 57	1.8372332	-4.6685655	4.4072487
H 22	-2.7320494	2.2333318	-4.2265283	C 58	0.2180281	-6.5987244	5.5599398
H 23	-2.3489143	2.3765181	-5.9917854	H 59	0.3938892	-7.4430964	4.8537583
H 24	-1.8971556	3.7256378	-4.8536737	H 60	1.1362461	-0.0277652	-4.7143236
C 25	0.0733820	-0.3139534	-4.4731196	O 61	-0.3843746	-4.3397978	5.7691176
H 26	-0.5928549	-6.8752502	6.2748675	H 62	-2.2466495	-0.4190400	0.5038671
H 27	2.5460517	2.7423029	3.0324601	H 63	-3.0201765	-2.9278525	1.5009478
C 28	-0.1398737	-0.2750847	-2.9644866	H 64	0.6071404	5.2011049	-3.6415876
H 29	0.7655379	2.8658884	3.4625494	C 65	-0.3755428	7.0639000	-1.6157275
H 30	1.9938867	3.9336990	4.3214535	C 66	1.7261783	3.4265832	3.3599560
C 31	-0.2454338	-1.6829493	-5.0436509	H 67	-0.2807071	7.4614650	-0.5769589
H 32	0.5662083	-0.9924369	-2.4703468	H 68	-1.3635760	6.5628410	-1.7560859
O 33	-1.5997632	-0.2969190	-0.2076284	H 69	-0.2289535	7.8773464	-2.3695473
C 34	-0.3450336	-0.5953617	0.2601791	H 70	0.4299106	-2.4416194	-4.5830640
C 35	2.2992129	-1.1471240	1.0125811	H 71	-0.0977245	-1.6787595	-6.1496295
C 36	-0.0885251	-1.6926157	1.1425349	H 72	-1.3060484	-1.9560160	-4.8296583

Heat of Formation: -261.021 kcal/mol

APÉNDICE 2

Efectos nOe encontrados en Tullidinol B1100% CDCl₃, Burbujeo con Argón; RG = 574.7, 4 mg

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH9	OH8(6.4323%)
H8'	Ome9'(9.687%)
H6'	OH8(0.860%), H6(1.9866%), Ome7'(9.422%)
H1'	OH10'(0.9336%), H3'(5.1406%), Me1'(5.4391%)
OMe9'	OH10'(1.5490%), H8'(6.2008%)
H3'	H1'(6.2224%), H4'+δ(2.29,2.25(3.0546%), Me3'(4.5581%)
Me1'	OH10'(0.4694%), H1'(3.0930%)
Me3	H4(1.8853%), H2(1.5755%)
Me3'	H3'(3.0811%), H4'(1.2415%) igual con los 2H4'(0.56% y 0.43%)
H6	H5(2.9579%), H6'(1.5422%), H4'(0.8463%)
OH8	OH9(4.6569%), H6'(0.6719%)
H4' Total	H6(1.3688%), H3'(3.2784%), Me3'(1.8060%)
H3'	H1'(5.6500%), H4'+δ(0.7474%), H4'-δ(2.3247%), Me3'(4.3966%)
H4'+δax	H6(0.9844%), H3'(1.5322%), Me3'(1.2918%)
H4'-δec	H3'(2.6218%), Me3'(0.4343%)

Efectos nOe encontrados en Tullidinol B2CDCl₃ 100% D, BBO 5mm Burbujeo con Argón, RG = 574.7, 3.8 mg

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH9	OH8(7.8714%)
OH8	OH9(8.3852%), H6'(0.8506%)
H10	H5(8.2126%), H4(3.4506%)
H8'	OMe9'(10.647%), OMe7'(1.040%)
H6'	OH8(0.822%), H6(2.376%), OMe7'(10.716%)
OMe9'	OH10'(1.8375%), H8'(6.4641%)
OMe7'	H8'(0.4976%), H6'(4.1809%)
H4	H10(5.2372%), H2(0.6013), Me3(2.2614)
H6	H5(3.5417%), H6'(1.3106%)
H5	H6(5.8786%), H10(5.5411%)
H1'	OH10'(1.335%), H3'(6.1305%), Me1'(6.9600%)
H3'	H1'(6.6398%), H4'-δ(2.7564), Me3'(4.6761%)
H2'	OH9(0.4237%), H4(0.7094%), Me3(2.1635%)
Me1'	OH10'(0.5471%), H1'(3.8355%)
Me3'	H3'(3.6106%), H4'+δ(1.6481%)
OH10'	H1'(0.8808%), OMe9'(2.0016%), Me1'(0.9317%)
Me3	H4(1.6040%), H2(1.6003%)
H4' Total	H6(1.6318%), H3'(3.6534%), Me3'(2.0431%)
H4' ax +δ 2.381 ppm	H6(1.7174%), H3'(1.8554%), Me3'(1.8280%)
H4' ec -δ 2.304 ppm	OH8(0.3893%), H6(0.4123%), H3'(2.4369%), Me3'(0.9661%)

Efectos nOe encontrados en Tullidinol A1CDCl₃ 100%D, BBO 5mm, Burbujeo con Argón, RG = 814, 3 mgr.

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH 9	OH 8 (5.33%)
OH 8	OH 9 (4.13%)
OH10'	H1' (0.44%) Ome 9' (1.01), Me 1' (0.51%)
H6	H6' (1.14%) abarco al H5
H5	H10 (0.95%) abarco al H6
H10	H5 (0.92%), H4 (1.72%)
H8'	OMe9' (5.99%)
H6'	Ome7' (4.53%), H6 (1.09%)
OMe9'	OH10' (0.89%), H8' (3.30%)
Ome7'	H6' (1.92%)
H4	H10 (2.18%), Me3 (1.25%)
H2	OH9 (0.24%), Me3 (0.92%)
Me3	H4 (0.83%), H2 (0.86%)
H1'	OH10' (0.65%), H3' (3.50%), Me1' (4.14%)
H3'	H1' (3.33%), H4' - δ (1.44%), Me3' (2.58%)
H4' ax + δ	OH8 (0.65%), H3' (0.51%), H4' - δ (7.02%), Me3' (1.0%)
H4' ec - δ	H3' (2.71%), H4' - δ (8.84%), Me3' (0.34%)
Me1'	OH10' (0.48%), H1' (2.54%)
Me3'	H3' (2.40%), H4' + δ (0.81%), H4' - δ (0.33%)

Efectos del nOe encontrados en Tullidinol A2CDCl₃ 100% D, Argón, BBO 5mm, RG = 256, 5mgr., 25 °C

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH9	OH8 (4.87%)
OH8	OH9 (4.27%), H6' (0.47%), H4' (0.75%), H4' (0.24%)
OH10'	OMe (2.12%), H1' (0.90%), Me1' (0.8%)
H6	H5 (2.82%), H6' (2.01%), H4' (0.56%)
H5	H6 (2.82%), H10 (5.34%)
H10	H5 (7.38%), H4 (3.55%)
H8'	OMe9' (9.39%), OMe7' (1.01%)
H6'	OMe7' (8.92%), H6 (3.02%), OH8 (0.38%)
OMe9'	H8' (6.12%), OH10' (1.74%)
OMe7'	H6' (3.87%), H8' (0.45%)
Me1'	H1' (2.94%), OH10' (0.41%)
Me3	H4 (1.91%), H2 (2.0%)
Me3'	H4 (0.80%), H4' (0.32%), H3' (3.31%)
H1'	OH10' (1.145), H3' (3.76%), Me1' (6.02%)
H3'	H4' (1.5%), Me3' (3.17%), H1' (3.78%)
H4	H2 (1.22%), Me3 (2.43%), H10 (5.16%)
H2	H4 (0.46%), Me3 (2.26%), OH9 (0.46%)
H4' ax 2.64	H4' (10.25%), Me3' (1.03%), H3' (0.69%), OH8 (0.63%)
H4' ec 2.265	H4' (11.07%), Me3' (1.5%), H3' (4.29%), H6 (0.99%)

Efectos nOe encontrados en Peroxisomicina A1

CDCl₃ 100%, BBO 5mm, Burbujeo con Argón, RG=574.7, 5mgr

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH9'	OH8' (6.33%)
OH9	OH8 (6.58%)
OH8'	OH9' (5.17%), H7' (1.27%)
H6'	H7' (8.35%), H5' (11.53%)
H6	H5' (7.25%), H4'-δ (0.40%) abarcó H6' y H5
H5	H10 (5.64%)
H10	H5 (7.96%), H4 (4.69%) +δ(1.13%) -δ(3.26%)
H7'	OH8' (1.06%), H6' (7.84%)
H5'	OH8 (0.32%), H6' (9.83%)
H4	H10 (4.54%), Me3 (2.14%)
H4' ax 2.93 ppm	OH8 (0.476%), H4'-δ(9.41%), Me3' (1.35%)
H2'	OH9' (0.41%), Me3' (2.36%), H4'-δ (1.06%)
H2	H4-δ (0.81%), Me3 (1.68%)
H4' ec 2.74 ppm	H6 (0.85%), H4' (7.78%), Me3' (0.90%)
Me3	H4 (2.42%), H2 (2.73%)
Me3'	H4'+δ (1.00%), H4'-δ (0.76%), H2' (1.53%)

Efectos nOe encontrados en Peroxisomicina A2

CDCl₃ 100% D, BBO 5mm, Burbujeo con Argón, RG=574.7, 5 mg

H Radiado	Señales afectadas y Porcentajes
OH9'	
OH9	
OH8'	H7' (1.36%)
OH8	H5' (0.55%), H4'+δ(0.61%)
H6'	H7' (1.93%), H5' (2.54%), H4'-δ(0.21%)
H6	
H5	H10 (5.61%)
H10	H5 (6.92%), H4 (4.28%)
H7'	OH8' (0.91%), H6' (7.58%)
H5'	OH8 (0.34%), H6 y H6' (8.91%)
H4	H10 (5.32%), H2 (0.73%), Me3 (2.68%)
H4' ax +δ 2.96 ppm	OH8 (0.38%), H4-δ(7.65%), Me3' (1.22%)
H2'	OH9' (0.30%), Me3' (2.30%)
H2	OH9 (0.29%), H4 (0.87%), Me3 (2.50%)
H4' ec -δ 2.79 ppm	H6 (0.61%), H4'+δ(7.99%), Me3' (0.98%)
Me3	H4 (1.73%), H2 (1.48%)
Me3'	H4'+δ (1.13%), H2' (1.6%), H4'-δ(0.69%)

Efectos nOe Encontrados En Peroxisomicina A3

CDCl₃ 100% D, BBO 5mm, Burbujeo con Argón, RG=574.7, 5 mg

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH9'	OH8' (4.73%)
OH9	OH8 (2.77%)
OH8'	OH9' (3.65%), H7' (1.03%)
OH8	OH9 (2.38%), H5' (0.47%)
H6'	H7' (7.44%), H5' (7.72%)
H6	H5' (2.52%), Abarcó al H6', H7' (1.34%)
H5	H10 (3.30%)
H10	H5 (5.86%), (H4 3.94%)
H7'	OH8' (0.68%), H6' (5.40%)
H5'	H6' (6.61%), H6 (1.52%)
H4	H10 (3.73%), Me3 (2.08%)
H4'ec	Me3' (1.214%), H6 (0.18%), OH8 (0.19%)
H2'	H2' (4.75%), Me3' (2.56%)
H2	Me3 (2.00%)
H4'ax	H6 (0.50%), Me3' (2.50%)
Me3	H4 (1.72%), H2 (1.62%)
Me3'	H2' (0.62%), H2' (1.18%), H4' (0.88%), H4' (0.97%)
H4' total p114=60db	Me3' (2.28%), H6 (0.73%), OH8 (0.31%)
H4' total p114=67db	Me3' (1.46%), H6 (0.43%), OH8 (0.20%)

Efectos nOe Encontrados En Peroxisomicina A4

CDCl₃ 100% D, BBO 5mm, Burbujeo con Argón, RG=512, 3 mg

H Radiado	Señales afectadas y porcentajes
OH9'	OH8' (2.31%)
OH9	OH8 (0.66%)
OH8'	OH9' (1.35%), H7' (0.83%)
OH8	OH9 (0.33%), H5' (0.49%)
H6'	H7' (3.52%), H5' (2.98%)
H6 y H5	Abarcó al H6', H5' (1.42%), H7' (2.58%), H10 (2.43%)
H10	H5 (3.52%), H4 (1.88%)
H7'	OH8' (0.93%), H6' (4.37%)
H5'	H6' (3.69%), H6 (0.75%), OH8 (0.58)
H4	H10 (3.15%), Me3 (1.89%), H2-2.91ppm (0.67%), H2-2.85ppm (0.51%)
H4'ec +δ	Me3' (1.014%), H6 (0.19%), OH8 (0.11%), H4'ec (1.36%)
H2' y H2	H4 (1.75%), H4' -δ (0.65%), (Me3' (0.55%), Me3 (0.89%)
H4'ax -δ	H6 (0.38%), Me3' (1.21%), H4' -δ (0.72%),
Me3	H4 (1.32%), H2 (1.44%)
Me3'	H2' (1.01%), H4' (0.63%), H4' (0.76%)

Efectos nOe encontrados en Isoperoxisomicina A1CDCl₃ 100%D, BBO 5mm, burbujeo con argón, RG=574.7, 2mgr

H	Radiado	Señales afectadas y porcentajes
Me3	1.47	H4 (2.03%), H2 (1.95%)
H2	2.89	OH9 (0.335%), H4 (0.56%), Me3 (1.98%)
H4	3.13	H10 (5.03%), H2 (0.44%), Me3 (2.44%)
H10	7.07	H5 (9.08%), H4 (4.98%)
H5	7.24	H6 (8.38%), H10 (5.91%)
H6	7.67	OH8 (0.61%), H5 (7.07%)
OH8	10.09	OH9 (2.94%), H6 (0.64%)
OH9	16.10	OH8 (5.70%)

Efectos nOe encontrados en Isoperoxisomicina A2CDCl₃ 100%D, BBO 5mm, burbujeo con argón, RG=1835.2.

H	Radiado	Señales afectadas
Me3	1.47	H4 (*), H2 (*)
H2	2.89	Me3 (*)
H4	3.13	H10 (*), Me3 (*)
H10	7.07	H5 (*), H4 (*)
H5	7.24	H6 (*), H10 (*)
H6	7.67	OH8 (*), H5 (*)
OH8	10.09	OH9 (*), H6 (*)
OH9	16.10	OH8 (*)

- Porcentajes no cuantificados

RESÚMEN AUTOBIOGRÁFICO

Verónica Mayela Rivas Galindo

Candidata para el Grado de

Doctora en Ciencias con Especialidad en Química Biomédica

Título de la Tesis: ESTUDIO ESTEREOQUÍMICO POR RMN DE LAS PEROXISOMICINAS, ISOPEROXISOMICINAS Y TULLIDINOLES AISLADOS DE PLANTAS DEL GÉNERO KARWINSKIA.

Área de Estudio: Química Biomédica

Biografía:

Datos Personales: Lugar y Fecha de Nacimiento: 24 de Marzo de 1966 en Torreón Coahuila, hija del Sr. Marcos Jorge Rivas Amaro y de la Sra. Yolanda Galindo Rodríguez.

Escolaridad: Egresada de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. con el Título de Químico Clínico Biólogo. Obtención del grado de Maestra en Ciencias con especialidad en Química Analítica Biomédica, en la Facultad de Medicina de la U.A.N.L.

Experiencia Profesional: Personal profesional no docente en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. desde el 1 de Agosto de 1987 a 1998. Maestro Asociado A de tiempo completo en la misma Facultad a partir de 1998. Maestro Investigador en el área de Productos Naturales con actividad biológica y en el análisis estructural por RMN. Maestro Investigador y Coordinador de Investigación del Departamento de Química Analítica a partir de Marzo de 2001.



