

67
28/11/85



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

Estudio Fitoquímico de Salvia Keerlii

T E S I S
Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
Presenta

José Arturo Méndez Hernández



1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

I. INTRODUCCION

II. PARTE TEORICA

III. PARTE EXPERIMENTAL

IV. CONCLUSIONES

V. ESPECTROS

VI. BIBLIOGRAFIA

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

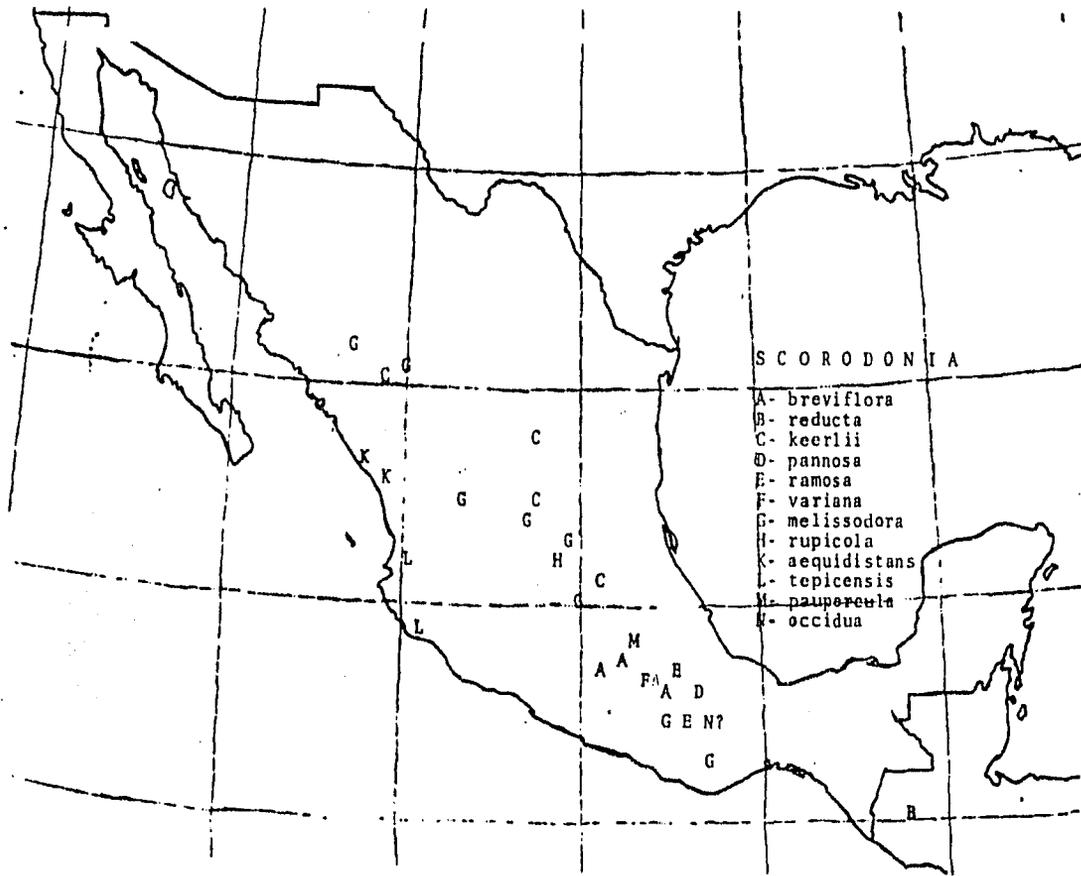
La familia de las Labiadas se encuentra ampliamente difundida en una gran variedad de climas, terrenos y altitudes. En México esta familia se encuentra bien representada por el género *Salvia*¹.

Este género pertenece a la tribu II (Monardeae)² de esta familia y tiene las siguientes características: plantas herbáceas o frutescentes, de hojas enteras o variamente dentadas, cáliz ovoideo, corola de tubo incluso o saliente, inflorescencia en verticilastros pluri-multi-flores.

Algunas especies son usadas en medicina tradicional^{3,4} como bactericidas, bacteriostáticas, coleréticas, carminativas y espasmódicas⁵, como alucinógenos⁶ y como plantas comestibles. Los aceites esenciales de otras se usan en la industria de alimentos y cosméticos. Ejemplos de esta son: *S. officinalis* (su aceite esencial se usa en algunos alimentos como saborizante), *S. sclarea* (cuyo aceite esencial se usa en perfumería)⁷; *S. divinorum* es usada por los indios mazatecos en sus ritos religiosos⁸.

Este género se divide en cuatro subgéneros: *Salvia*, *Sclarea*, *Calosface* y *Leonia*; el subgénero *Calosface* tiene más de 275 especies clasificadas en 91 secciones^{9,10}. La sección *Scorodonia* (Mapa # 1) que pertenece a este subgénero, contiene 12 especies. De ellas podemos mencionar a - *S. melissodora* Lag¹¹ en cuyo estudio se aisló un diterpeno bicíclico del tipo clerodano que se denominó ácido melisodórico (V) que en pruebas preliminares ha demostrado poseer actividad antialimentaria contra insectos; *S. breviflora*¹² cuyo estudio químico aun continua y *S. keerlii* Benth que constituye el objeto del presente trabajo.

La *Salvia keerlii* Benth tiene las siguientes características: arbusto perenne de 1.5 a 2.5 m de altura, tallo leñoso, hojas oblongo-ovaladas, deltoide-ovaladas, agudas - con vello pequeño por debajo y rugosa por arriba, dentado serrada. Verticilos de dos o más flores; cáliz vellosito trilobulado, con un lóbulo superior y dos inferiores, todos - agudos, corola azul, raramente blanca. Se localiza principalmente en las zonas de Sandía (2300 m) en Durango; Minas de Sn. Rafael, San José Pass, Las cañas (1100-1200 m), sierra de Catorce (2200-2300 m), Santa Ana (2700-2800 m) y estación de Catorce en Sn. Luis Potosí; Pachuca, Real -- del Monte, Epazoyucan, Tula (2200 m) en el estado de Hidalgo; Huixquilucan en el estado de México⁹. La población de *Salvia keerlii* utilizada para este trabajo fué la primera recolectada en el estado de Oaxaca .



MAPA # 1

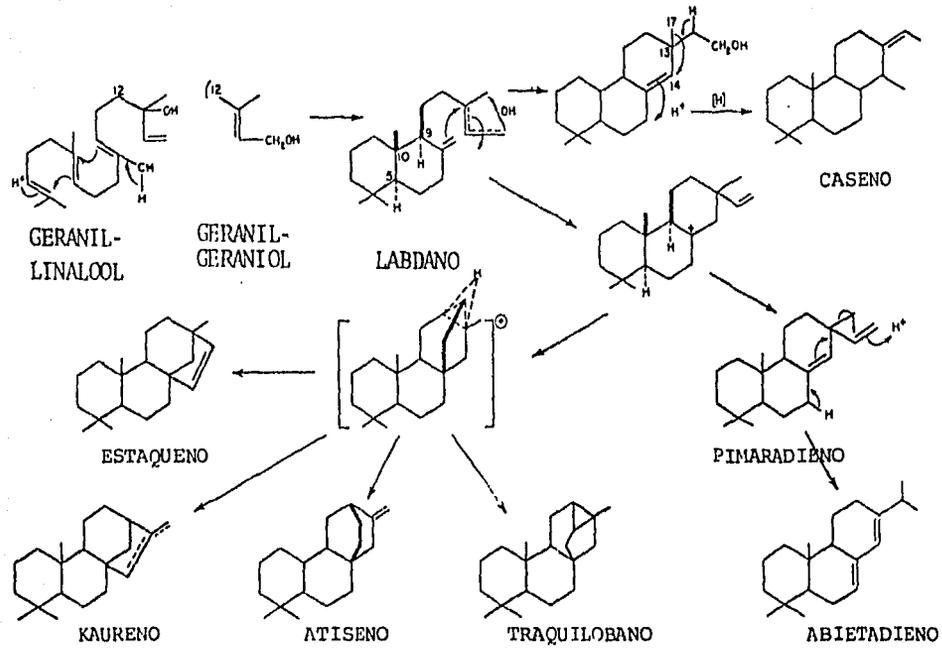
Se han encontrado en especies del género Salvia compuestos del grupo de los triterpenos pentacíclicos, flavonoles, flavonas, sesterterpenos, monoterpenos y diterpenos.

Los diterpenos están formados por 4 unidades de isopreno combinadas en uniones regulares cabeza-cola, según la "Regla Biogenética del isopreno" postulada por ----- Ruzicka¹³.

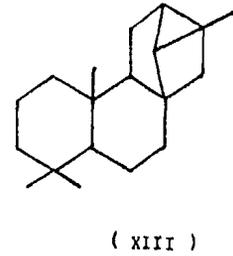
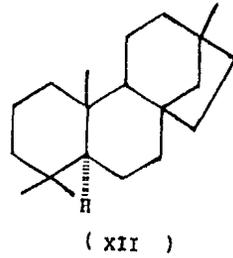
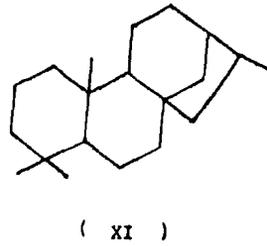
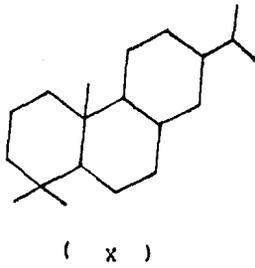
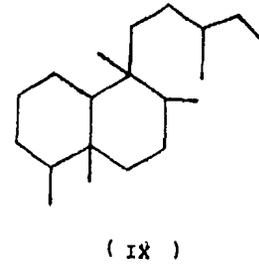
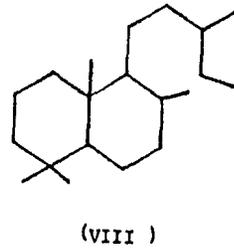
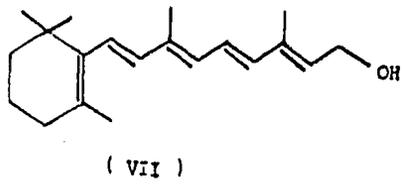
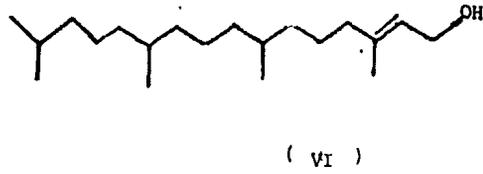
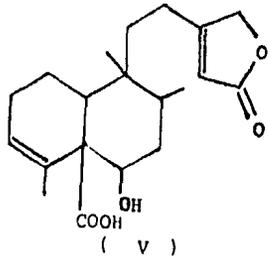
De acuerdo con la sugerencia de Ruzicka se propone al geranil-geraniol como el precursor biogenético de los diterpenos, formándose el geranil-geraniol a través de un mecanismo iónico. La posterior ciclación de este tetrámero, conduce a un precursor intermedio, del que podemos derivar todos los diterpenos conocidos, por medio de ciclaciones y migraciones de metilos (esquema # 1).

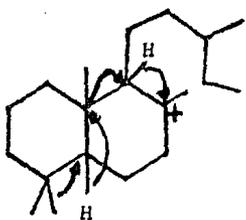
Siguiendo el mecanismo propuesto se nota que las posibilidades para que exista complejidad molecular es muy alta, pudiéndose encontrar diterpenos acíclicos (fitol -- (VI)) y cíclicos. Entre estos últimos se pueden encontrar productos monocíclicos (axerophol (VII)), bicíclicos (labdano (VIII) y clerodano (IX)), tricíclicos (abietano (X)), tetracíclicos (kaurano (XI) y estacano (XII)), y pentacíclicos (traquilobano (XIII)). (esquema # 2)¹⁴.

A partir del esqueleto de labdano (VIII) y por medio de migraciones de metilos de C-4 a C-5 y de C-10 a C-9 se obtiene el esqueleto de clerodano.

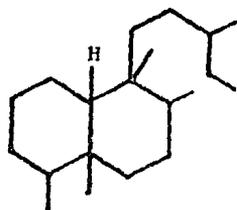


ESQUEMA # 1



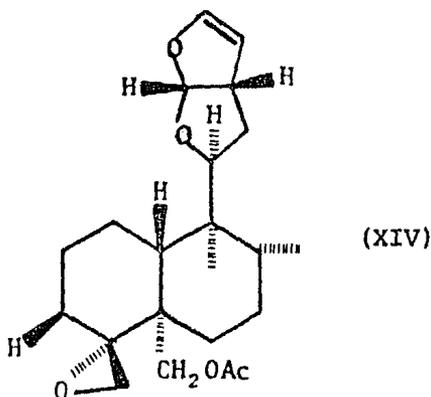


LABDANO



CLERODANO

- El nombre de clerodano se deriva de la clerodina ¹⁵ que se aisló de *Clerodendrum infortunatum*. La estructura -- propuesta (1961) fué objeto de nuevos análisis por di-- fracción de rayos X de un derivado bromado para asignar -- correctamente la estereoquímica, obteniéndose la estruc-- tura (XIV). Debido a esto fué necesario hacer una revi--



sión de la estereoquímica asignada a un gran número de clerodanos. Esto dió origen a una nueva terminología, en la cual los compuestos que se llamaban ent-clerodanos, se conocen ahora como neo-clerodanos. ^{3,16}

En los últimos años se ha hecho evidente la diversidad en actividad biológica de los diterpenos, la que -

varía desde sustancias inhibidoras de tumores, antileucémicos y antibióticos, hasta insecticidas y hormonas e inhibidores del desarrollo vegetal³

En este estudio se ha logrado el aislamiento, elucidación estructural y asignación de estereoquímica de -- dos nuevos diterpenos del tipo neo-clerodano.

Debido a la relación taxonómica entre *S. melissodora* y *S. keerlii* y la presencia de compuestos con actividad antialimentaria en *S. melissodora*, se realizó este trabajo con el objetivo de buscar compuestos en la *S. keerlii* -- con la actividad mencionada; esto se comprobará por medio de pruebas biológicas de los compuestos aislados

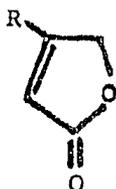
PARTE TEORICA

La *Salvia heerlii Benth*, pertenece a la sección Scorodonia del género *Salvia*, de la familia de las Labiadas.

Al cromatografiar el extracto acetónico de las partes aéreas de la planta, se obtuvieron, de las fracciones polares (acetato de etilo-metanol 9:1) dos compuestos diterpénicos. El componente más abundante tiene un p.f. 220-222°C; $[\alpha]_D^{20} = -59^\circ$ (metanol). Su peso molecular, determinado por E.M. ($M^+ = 344.2, 2.7\%$), está de acuerdo para un compuesto de fórmula molecular $C_{20}H_{24}O_5$. A esta sustancia se le denominó kerlina.

La elucidación de la estructura (I) se describe a continuación: El espectro de I.R. (espectro # 1) de la kerlina presenta bandas en 1764 cm^{-1} , absorción fuerte, característica de una γ -lactona α, β -insaturada; en 1785 y 1750 cm^{-1} , absorción débil y absorción fuerte respectivamente, que se pueden atribuir a una función butenólida β -substituida¹⁸, la cual presenta resonancia de Fermi¹⁹ y en 1675 y 1637 cm^{-1} dos bandas que se asignaron a dobles enlaces conjugados.

El espectro de RMN ^1H (espectro # 2) de este producto presenta una señal doble de dobles ($J=2$ y 1 Hz) a 5.9 ppm, que integra para un protón, y un doblete ($J=2\text{Hz}$) a 4.8 ppm, que integra para dos protones, que son señales características de una función butenólida β -sustituida^{17,18}. Para estas señales se propone la estructura parcial A:



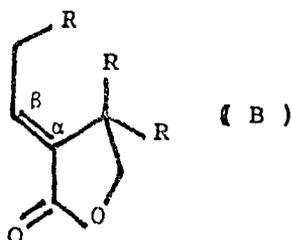
(A)

Estas asignaciones se comprobaron por medio de experimentos de doble resonancia. Cuando se irradian la señal doble de dobles a 5.9 ppm, el doblete a 4.8 ppm se observa como singulete; y al irradiar el doblete a 4.8 ppm, el doble de dobles a 5.9 ppm, también se afina a un singulete. Con estas irradiaciones podemos asignar las señales anteriores al metileno y al protón vinílico de la función butenólida.

En el espectro de RMN ^{13}C (Tabla A) se confirma la presencia de esta función, ya que se observan las señales de: el carbonilo a 174.6 ppm (singulete), para los carbonos del doble enlace trisustituido a 173.2 (singulete) y a 112.44 ppm (doblete) para los carbonos β y α respectivamente; el carbón del metileno se observa a 71.02 ppm (triplete). El espectro de masas de este producto apoya la presencia de este grupo, ya que se nota

una pérdida de 83 unidades ($(M^+ - 30 - 83 = 231)$ (2.3%)).

En el espectro de RMP de la kerlina se observa una señal doble de dobles ($J=3.5$ y 6 Hz) a 6.7 ppm, que integra para un protón, y que se propone es de un protón β -olefínico de una γ -lactona α, β -insaturada. Se observa también un sistema AB, el cual se propone lo originen los protones del metileno de la γ -lactona α, β -insaturada, cuya multiplicidad y desplazamiento indican que se encuentra unido a un oxígeno y a un carbono totalmente sustituido. De este sistema AB, una rama se encuentra centrada a 4.25 ppm como un doblete ($J=8$ Hz), y la otra rama se observa a 3.85 ppm como un doble de dobles ($J=8$ y 1 Hz). Con estos datos se puede obtener la estructura parcial B:



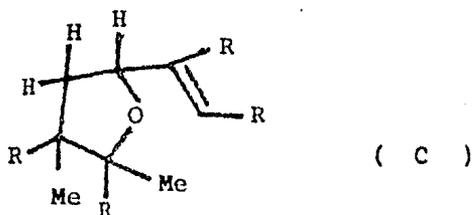
Esta estructura parcial B se puede confirmar con la ayuda de RMN ^{13}C en la cual la señal para el carbono de la γ -lactona se observa a 168.44 ppm, como un singulete; las señales de la insaturación se observan a 137.85 ppm (singulete) y a 135.93 ppm (doblete) que se pueden asignar a los carbonos α y β respectivamente. La señal para el carbono del metileno de la γ -lactona se observa a 70.92 ppm (triplete) y la del carbono totalmente sustituido a 46.67 ppm (singulete).

Hasta este momento hemos asignado 4 de los 5 oxígenos presentes en la molécula; el oxígeno restante se considera etéreo ya que en el espectro de I.R. de este producto no se observan señales para otro tipo de función-oxigenada (OH de alcohol o ácido; C=O de cetona o aldehído). Por otra parte en el espectro de ^{13}C no se observan señales, aparte de las ya asignadas para carbonos sp^2 , -- por lo cual y considerando la fórmula molecular, se postula que la molécula contenga la función etérea.

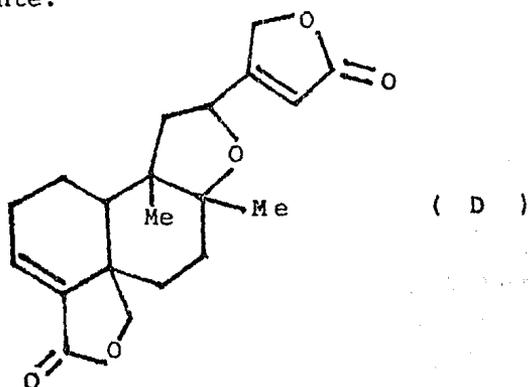
El espectro de RMP de (I) muestra una señal a 4.9 ppm, doble de dobles ($1\text{H}, J=4$ y 8 Hz), la cual se observa sobrepuesta a la señal del metileno C-16. El desplaza---miento observado para este protón se explica si se considera que es geminal a un oxígeno y alílico, además su multiplicidad indica que se encuentra próximo a un metileno. Por lo general en diterpenos con esqueleto de labdano o clerodano se observa un doblete en la región de los metilos, el cual se atribuye al metilo secundario en C-8. En el caso de la kerlina se observa un singulete a 1.1 ppm, que integra para tres protones, y que se atribuye al metilo de la posición C-8, de donde se deduce que la unión del oxígeno etéreo es entre C-8 y el carbono - que contiene al protón cuya señal aparece a 4.9 ppm.

En el espectro de RMN ^{13}C la señal a 71.02 ppm se puede asignar al carbono secundario base de oxígeno y - la señal a 84.7 ppm (singulete) para el carbono total--

mente sustituido (C-8). Para estas señales se propone la estructura parcial C:



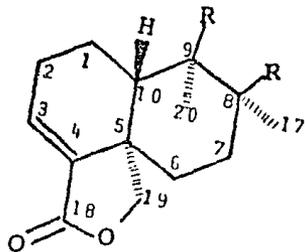
Finalmente se observa una señal a 0.85 ppm (s, 3H) que se asigna a un metilo sobre carbono totalmente sustituido. Las estructuras parciales A, B y C concuerdan para un diterpeno del tipo clerodano (IX), ya que en un esqueleto de labdano (VIII) no podrían arreglarse dichas funciones. La estructura propuesta (D) para este compuesto es la siguiente:



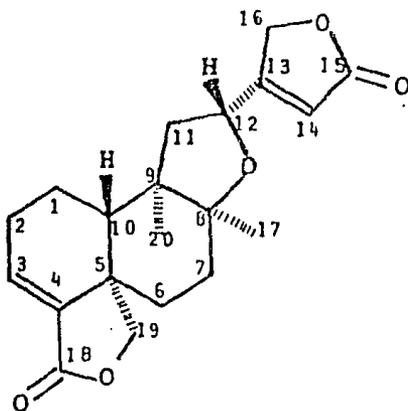
ESTEREOQUIMICA

La estereoquímica que presenta este compuesto se postula de la siguiente forma: el protón pro-S del metileno (C-19) de la γ -lactona α, β -insaturada presenta una señal doble de dobles que se origina por un acoplamiento a larga distancia (tipo W)^{20,21} con el protón en la posi-

ción 6 β -axial; este acoplamiento solo es posible si la fusión de los anillos A/B es trans²², por lo que la γ -lactona estará unida a C-5 con orientación α axial y el protón en C-10 tendrá una orientación β axial.

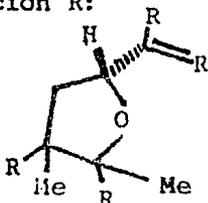


De estos datos se deduce que el producto es un diterpeno del tipo neo-clerodano, por lo que la estereoquímica de la molécula será la siguiente:



así la configuración de todos los centros quirales es - C-5 (S), C-8 (S), C-9 (R), C-10 (R), faltando por asignar - la del centro quiral C-12, la cual no se puede determinar por medio de I.R., RMN ¹H y ¹³C. Por esta razón se recurrió a un análisis por difracción de rayos X (estereoproyección # 1) el cual confirma las asignaciones de estructura y estereoquímica, y permite asignar al centro qui-

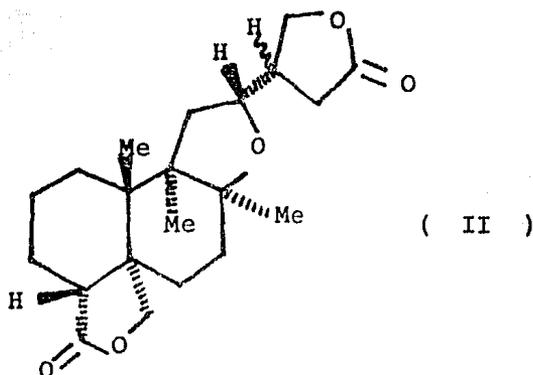
ral C-12 la configuración R:



La hidrogenación catalítica (Pd/C, 5%) de la kerlina dió un producto aceitoso II, el cual presenta $[\alpha]_D^{20} = +15.11$ (metanol). Su peso molecular ($(M^+ - 15 = 333)$ (100%)) - presenta una ganancia de 4 unidades con respecto al del producto original, lo que confirma la saturación de los dos dobles enlaces. En I.R. (espectro # 3) se nota la desaparición de la resonancia de Fermi atribuida a la función butenólida, y en el espectro de UV se observa solo una débil absorción final debida a las γ -lactonas saturadas ($\epsilon_{\text{max}} = 208 \text{ nm}$, $\lambda = 206.65$). En el espectro de RMN ^1H - (espectro # 4) se observa la ausencia de señales para protones vinílicos, presentándose una señal compleja entre 3.7-4.2 ppm (5H) que se asigna a los protones unidos a carbonos enlazados a oxígenos. También se observan las señales para los dos metilos a 1.1 y 0.85 ppm (s, 3H c/u) para C-17 y C-20 respectivamente. En el espectro de masas se nota una pérdida de 85 unidades, la cual se asigna a la pérdida de la γ -lactona saturada (antes función butenólida):



A este producto se le asigna la estructura siguiente:

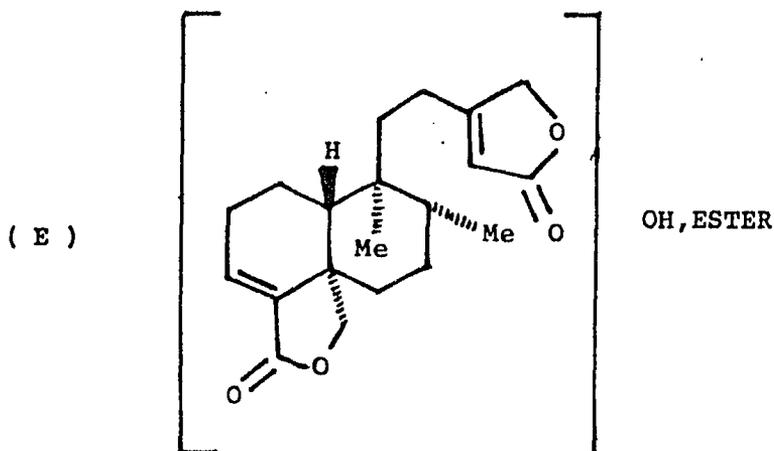


Por recromatografía de las aguas madres del producto (I) se obtuvo el segundo compuesto diterpénico (de las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo 6:4) el cual tiene un p.f. 100-102°C; $[\alpha]_D^{20} = -106.6^\circ$ (metanol). El peso molecular, está de acuerdo para un compuesto de fórmula molecular $C_{22}H_{28}O_7$. A este producto se le denominó kerlinolida (III).

El espectro de I.R. (espectro # 5) presenta una banda a 3453 cm^{-1} , característica de un grupo oxhidrilo; en 1760 y 1740 cm^{-1} bandas asignables a carbonilos de γ -lactonas α, β -insaturada y de éster, y en 1668 y 1636 cm^{-1} bandas para dobles enlaces conjugados. El espectro de UV presenta solo un máximo a 208 nm ($\epsilon=22000$), lo que apoya la conjugación de los dobles enlaces con los carbonilos de las γ -lactonas.

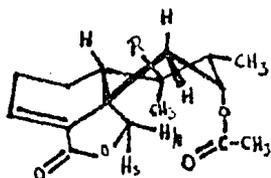
La comparación de los espectros de RMN tanto de protones (espectro # 2 y espectro # 6. Tabla B), como de

^{13}C (Tabla A) muestra una gran similitud en las señales que presentan la kerlina y la kerlinolida. Se observan - las señales para la función butenólida β -sustituída y - para la γ -lactona α,β -insaturada. En la región de los me- tilos se observan un singulete, para el metilo de la po- sición C-9, y un doblete para el metilo de la posición - C-8. Esto nos conduce a proponer que este producto es también un diterpeno del tipo neo-clerodano, el cual tie- ne una función OH y una función éster formando parte de la molécula, por lo que podemos proponer la estructura - parcial E, siguiente, para este compuesto:



En el espectro de RMN ^1H se observa un singulete - (3H) a 2.1 ppm el cual se asigna a un metilo de un gru- po acetato, y a 5.25 ppm (1H) una señal doble de triples (J=2 y 4 Hz) que se propone sea del protón gem del ace- tato. Las constantes de acoplamiento que muestra esta úl

tima señal indican interacciones ecuatorial-ecuatorial- y ecuatorial-axial, lo que nos lleva a proponer que el acetato se encuentre en posición axial. El grupo acetato podría ocupar la posición C-1, pero de un análisis de modelos Dreiding se nota que debería observarse un efecto paramagnético sobre el protón pro-S del metileno C-19, el cual al no observarse descarta dicha posición. Se propone que el acetato ocupa la posición C-7 con base en el siguiente argumento: se observa un desplazamiento a campo bajo del protón pro-R del metileno C-19 causado por un efecto paramagnético del grupo acetato sobre dicho protón (4.85 pro-R de kerlinolida contra 4.25 pro-R de la kerlina), lo que ocasiona que el sistema AB asignado a los protones del metileno C-19 se encuentre abierto.



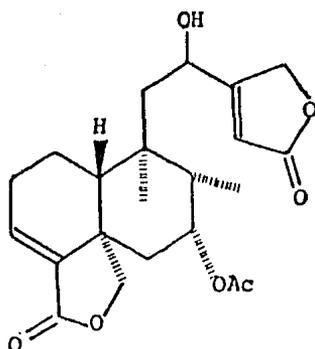
Para confirmar que el acetato ocupa la posición C-7 se recurrió a experimentos de doble resonancia. Cuando se irradia la señal doble de triples a 5.25 ppm, una señal compleja centrada a 2.55 ppm se transforma en un cuarteto, asignándose este cuarteto al protón de la posición C-8. Para comprobar que la señal a 2.55 ppm es del protón H-8, se irradia la señal a 1.1 ppm (d, J=7 Hz, Me-- en C-8), lo que transforma la señal compleja a 2.55 ppm-

en un doblete ($J=4$ Hz). Con estas irradiaciones se confirma que el acetato está en la posición C-7 axial.

El espectro de RMN ^{13}C (Tabla A) de este producto confirma la presencia del grupo acetato, ya que se observa un singulete a 169.93 ppm, que se asigna al carbonilo de este grupo. El espectro de masas también apoya la presencia de este grupo ya que se nota una pérdida de 60 unidades, asignables a una molécula de ácido acético.

Falta por asignar la posición del grupo OH. En el espectro de RMP de la kerlinólida se observa un doblete ancho ($J=4$ Hz) a 3.15 ppm, que intercambia con agua deuterada (D_2O), y se asigna al protón del grupo OH. Se considera que este grupo OH se encuentra sobre un carbono secundario, ya que con el intercambio con D_2O se afina un doblete ancho, centrado a 4.6 ppm, el cual se asigna al protón geminal del OH, el que se considera alílico ya que se encuentra desplazado a campo bajo. Se propone que este grupo ocupa la posición C-12, por ser la única que cumple con las características (ser alílico y secundario).

Con estos datos se obtiene la fórmula molecular completa, y la estructura (III) que se asigna a este producto es la siguiente:



Al igual que en el caso de la kerlina, se conoce la configuración de los centros quirales C-5 (S), C-8 (S), C-9 (R), C-10 (R), quedando por asignar la configuración del centro quiral C-12, el cual se propone sea R por una posible relación biogenética de la kerlina con la kerlinolida.

Para comprobar que el grupo OH se encuentra sobre C-12 y que este es secundario, se realizó una reacción de acetilación (piridina-anhídrido acético), la cual dio el acetato (IV) con p.f. 220-222°C; $[\alpha]_D^{20} = -121^\circ$ (CHCl₃). Su peso molecular ($M^+ = 446$) (0.3%) presenta una ganancia de 42 unidades, lo que comprueba que se obtuvo el producto acetilado.

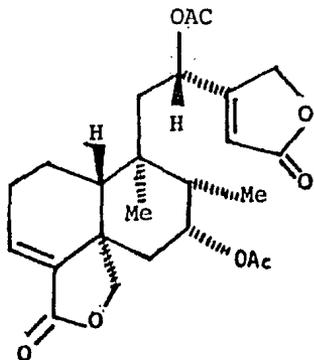
En el espectro de I.R. (espectro # 7) se nota la desaparición de la banda en 3453 cm⁻¹ que se asignaba al grupo OH presentando señales en 1774 y 1751 cm⁻¹ que se asignan a carbonilos de las γ -lactonas α, β -insaturadas y

de grupos acetatos, y en 1660 y 1645 cm^{-1} bandas para -- los dobles enlaces conjugados.

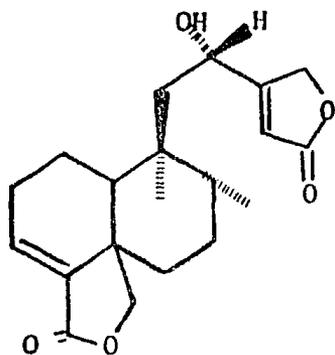
En el espectro de RMN ^1H (espectro # 8) se obser-- van cambios significativos con respecto al producto ori-- ginal: la ausencia de la señal a 3.15 ppm del protón de OH, y el desplazamiento desde 4.6 hasta 5.6 ppm (d ancho $J = 10$ Hz) de la señal del protón H-12, ya que ahora es + base de acetato. Este desplazamiento se observó anterior-- mente en el acetato de la olearina (XV) ¹⁷ y de marrubias-- trol (XVI) ¹⁸, lo que apoya que el grupo OH se encuentre sobre C-12.

La señal que aparece a 2.1 ppm (singulete), integra para 6 protones, que se asignan a los metilos de los ace-- tatos en C-7 (H-7 a 5.25 ppm) y C-12.

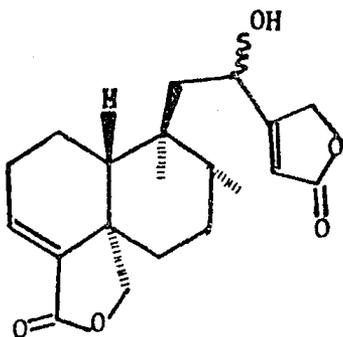
Finalmente el espectro de masas muestra dos pérdi-- das sucesivas de 60 unidades que se asignan a la pérdi-- da de dos moléculas de ácido acético formadas a partir de los grupos acetato presentes, observándose también -- la pérdida de los dos metilos y de la función butenóli-- da.



(IV)



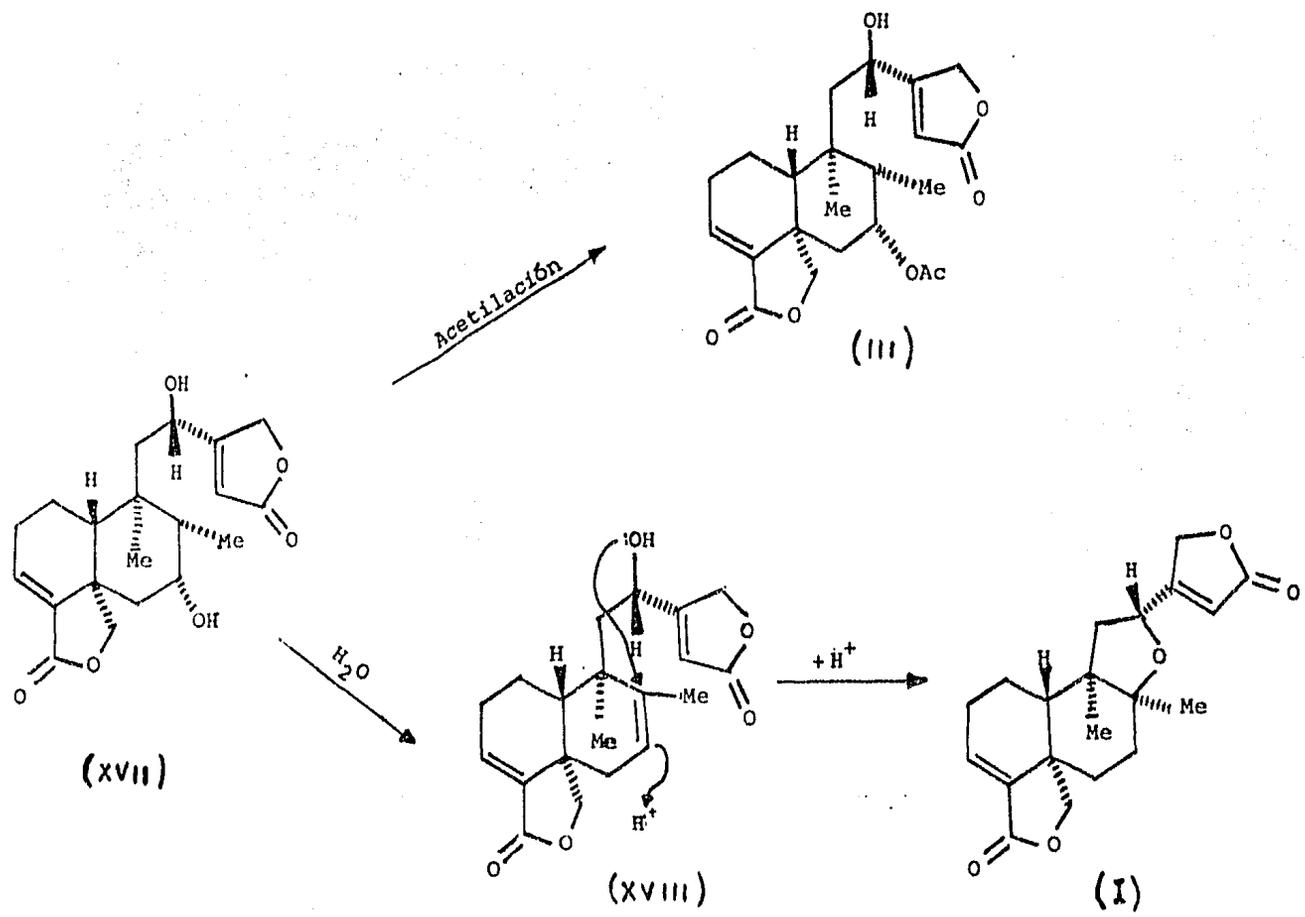
(XVI)



(XV)

La posible relación biogenética existente entre los dos compuestos diterpénicos aislados, se propone sea la siguiente:

- a) partiendo de un diol (XVII) y por medio de una acetilación situ-selectiva se obtiene la kerlinólida;
- b) a partir de (XVII) y por medio de una deshidratación obtenemos el compuesto (XVIII), con una insaturación entre C-7 y C-8;
- c) si en el compuesto (XVIII) se efectúa un ataque del oxígeno de C-12 sobre C-8, y C-7 toma un protón, con la conservación de la estereoquímica en C-12, se obtiene la kerlina (esquema # 3).



ESQUEMA # 3

T A B L A (A)

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS RMN ¹³C

CARBÓN	No.	KERLINA	KERLINOLIDA
	1	20.45 (t)	19.01 (t)
	2	29.76* (t)	26.94 (t)
	3	135.93 (d)	136.01 (d)
	4	137.85 (s)	137.95 (s)
	5	46.67 (s)	47.07 (s)
	6	29.52* (t)	38.77* (t)
	7	27.29* (t)	71.61 (d)
	8	84.70 (s)	39.48 (d)
	9	44.44 (s)	44.39 (s)
	10	43.65 (d)	47.07 (d)
	11	41.97 (t)	37.04* (t)
	12	71.02 (d)	64.28 (d)
	13	173.12 (s)	173.33 (s)
	14	112.44 (d)	112.94 (d)
	15	174.60 (s)	176.04 (s)
	16	71.02 (t)	73.51 (t)
	17	25.50 (q)	11.58 (q)
	18	168.44 (s)	168.40 (s)
	19	70.92 (t)	71.61 (t)
	20	16.12 (q)	19.01 (q)
	OCOCH ₃	-----	169.93 (s)
	OCOCH ₃	-----	20.88 (q)

* Los valores en la columna vertical pueden ser intercambiables, pero estos se consideran las más probables.

La multiplicidad SFORD está en paréntesis.

Las asignaciones de RMN ¹³C fueron basadas en datos descritos --- para estructuras de neo-clerodano²⁴.

T A B L A (B)

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS RMN ¹H

	(I)	(II)	(III)	(IV)
H-3	6.7 dd (3.5, 6)	*	6.7 dd (3, 6)	6.75 dd (4, 6)
H-7 β	*	*	5.25 dt (2, 4)	5.27 dt (2, 4)
H-8	*	*	2.55 dq (7, 4)	*
H-12	4.85 dd (8, 4)	3.9 m (6, 8)	4.65 da (10)	5.6 da (10)
H-14	4.8 d 2H (2, 1)	4.3 m 2H	4.9 d 2H (2)	4.7 d 2H (1)
H-16	5.9 dd (2, 1)	---	5.9 dt (1, 2)	5.95 dt (1, 2)
Me-17	1.1 s	1.1 s	0.95 d (7)	1.0 d (7)
H-19 β	4.25 d (8)	4.85 d (8)	4.85 d (8)	4.85 d (8)
H-19 α	3.85 dd (8, 1)	4.20 d (8)	3.90 dd (8, 1)	3.90 dd (8, 1)
Me-20	0.82 s 3H	0.80 s 3H	0.85 s 3H	0.85 s 3H
OAc	---	---	2.1 s 3H	2.10 s 6H

Los desplazamientos químicos son dados en ppm, usando como referencia interna TMS. A 80 MHz en solución de CHCl₃. La constante de acoplamiento (J) está dada entre paréntesis.

* El multiplete entre 1.25 y 2.55 ppm, es de señales complejas y sobrepuestas.

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

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

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

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

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

Los espectros de U.V. fueron realizados en un espectrofotómetro Perkin_Elmer Mod. 202.

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

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

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

La *Salvia keerlii* Benth MEXU 329784 se recolectó en Julio de 1982 en el estado de Oaxaca, 3 Km al sur de Matatlán. La clasificación la realizó el Dr. T.P. Ramamoorthy quedando una muestra en el herbario del instituto de Biología.

Las hojas secas (100 g) se extrajeron con acetona a temperatura ambiente durante una semana. El extracto crudo fué concentrado a vacío, obteniéndose 8.9 g de extracto, el cual se cromatografió en una columna empacada con gel de sílice (150 g desactivada al 10% con H₂O), eluyendo con mezclas de hexano-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol de polaridad ascendente.

De las fracciones eluidas con acetato de etilo-metanol (9:1) se obtuvieron 672 mg (rendimiento 0.672%, sobre planta seca) de un producto sólido, denominado kerlina, (I), blanco con p.f. 220-222°C (recristalizado de acetona-hexano), que presenta en el I.R. (espectro # 1) ν_{\max} : 1785 y 1750 (carbonilo de γ -lactona β -sustituída), 1764 (carbonilo de γ -lactona α, β -insaturada), 1675 y 1637 cm^{-1} (dobles ligaduras conjugadas); RMN ¹H (espectro # 2) δ : 6.7

(dd, J=3.5 y 6 Hz, 1H, H₃), 5.9 (dd, J=2 y 1 Hz, 1H, H₁₄), 4.85-
 (d, J=1 Hz, 1H, H₁₂), 4.8 (d, J=2 Hz, 2H, H₁₆) 4.25 y 3.85 (sis-
 tema AB, J=8 Hz, H₁₉), 2.5 -1.25 (m, 11H, H₁, H₂, H₆, H₇, H₁₀, H₁₁),
 2.55 (dd, J=4 y 12 Hz, 1H, H₁₁) y 1.85 (dd, J=8 y 12 Hz, 1H, -
 H₁₁), 1.1 (s, 3H, Me en C-8), 0.85 (s, 3H, Me en C-9); RMN ¹³C-
 δ: Tabla A; E.M. fragmentos a m/z 344.2 (M⁺, 2.7%), 329 (-
 100%), 314 (43.4%), 300 (8%), 217 (10%), 180 (35%), 105 (20%),
 91.2 (52.8%), 81 (10%), 77 (20%), C₂₀H₂₄O₅ requiere M⁺ en -
 344.2; |α_D²⁰ = -59° (c. 2 mg/ml, metanol); U.V. λ_{max}^{MeOH} 208 nm
 (17356, c.o. 2 mg/ml).

Las aguas madres del producto (I) se recromatogra-
 fiaron en una columna empacada con gel de sílice (180 g)
 utilizándose como eluyente mezclas de cloruro de metile-
 no-acetato de etilo y acetato de etilo-metanol en polari-
 dad ascendente. Las fracciones eluidas con cloruro de me-
 tileno-acetato de etilo (1:1) se reunieron (mezcla A) y
 fueron purificadas exhaustivamente obteniéndose un pro-
 ducto sólido, denominado kerlinólida (II), blanco (265.3 -
 mg, 0.2653% de rendimiento sobre planta seca) con p.f. --
 100-102°C (recristalizado de acetona-hexano) que presen-
 ta en I.R. ν_{max} (espectro # 5): 3453 (oxhidrilo), 1760 y -
 1740 (carbonilo de γ-lactonas α, β-insaturada y de éster)
 1668 y 1636 cm⁻¹ (dobles enlaces conjugados): RMN ¹H (es-
 pectro # 6) δ: 6.7 (dd, J=3 y 6 Hz, 1H, H₃), 5.9 (dt, J=1 y 2
 Hz, 1H, H₁₄), 5.25 (dt, J=2 y 4 Hz, 1H, H₇), 4.9 (d, J=2 Hz, 2H, -
 H₁₆), 4.85 (d, J=19 Hz, 1H, H₁₉) y 3.9 (dd, J=10 y 1 Hz, 1H, H₁₉)

(forman sistema AB), 4.65 (bd, J=10 Hz, 1H, H₁₂), 3.15 (bd, J=4 Hz, 1H, OH en C-12), 2.1 (s, 3H, AcO en C-7), 1.0 (d, J=7-Hz, Me en C-8), 0.85 (s3H, Me en C-9); RMN ¹³C δ: Tabla A; E.M. fragmentos a m/z 344 (M⁺-60, 24%), 315 (20%), 246 (10%), 217 (18%), 201 (12%), 186 (13%), 143 (22%), 105 (20%) 91 (46.8%), 81 (10%), C₂₂H₂₈O₇ requiere M⁺ en 404 (no observado); |α_D²⁰ = -106.6° (c. 2 mg/ml); U.V. λ_{max}^{MeOH} 208 nm (ε=22000, c. 0.2 mg/ml).

HIDROGENACION DEL PRODUCTO (I)

Una solución del producto (I) (50 mg) en metanol, -- fué hidrogenado catalíticamente usando Pd/C (5%, 15 mg - prehidrogenado) durante 21.5 hrs. Después de filtrar para eliminar el catalizador y concentrar a vacío se obtuvieron 44.1 mg de un producto aceitoso (II) (rendimiento - 88.2%) que presenta en I.R. (espectro # 3) ν_{max}: 1775 cm⁻¹ (carbonilo de γ-lactona saturada); RMN ¹H (espectro # 4) δ: 4.4-3.75 (m, 5H, H₁₂, H₁₆, H₁₉), 2.5-1.25 (m, 17H, H₁, H₂, H₃, H₄, H₆, H₇, H₁₀, H₁₁, H₁₃, H₁₄), 1.1 (s, 3H, Me en C-8), 0.8 (s, 3H, Me en C-9); E.M. fragmentos a m/z 333 (M⁺-15, 100%), -- 263 (20%), 219 (15%), 105 (10%), 91 (17%), 81 (11%), 79 (20%), C₂₀H₂₈O₅ requiere M⁺ en 348 (no observado); |α_D²⁰ = +15.11° (c. 2.0 mg/ml, metanol); U.V. λ_{max}^{MeOH} 208 nm (ε=206.62, c. 0.2 mg/ml).

ACETILACION DEL PRODUCTO (III)

Una solución del producto (III) (29.3 mg) en piridina (1.0 ml) se trató con anhídrido acético a tempera-

tura ambiente durante 2 hr. Se vertió sobre hielo, se extrajo con acetato de etilo 3 veces, lavándose sucesivamente con solución de HCl (10%), solución de NaHCO₃ (10%) y agua hasta pH neutro. Se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a vacío. Se obtuvieron 25.1 mg de un producto acetilado sólido blanco con p.f. 220-222°C, que presenta en I.R. (espectro # 7) ν_{\max} : 1774 y 1751 (carbonilos de γ -lactonas α, β -insaturada y β -sustituída y de ésteres - (acetatos)), 1663 y 1645 cm⁻¹ (dobles ligaduras conjugadas); RMN ¹H (espectro # 8) δ : 6.7 (dd, J=4 y 6 Hz, 1H, H₃), 5.95 (dt, J=1 y 2 Hz, 1H, H₁₄), 5.6 (bd, J=10 Hz, 1H, H₁₂), 5.25 (dt, J=2 y 4 Hz, 1H, H₇), 4.85 (d, J=8 Hz, 1H, H_{19 β}) y 3.9 (dd, J=8 y 1 Hz, 1H, H_{19 α}) (forman sistema AB), 4.7 (d, J=1 Hz, 2H, H₁₆), 2.1 (s, 6H, AcO en C-7 y C-12), 1.0 (s, 3H, Me en C-8), 0.85 (s, 3H, Me en C-9); E.M. fragmentos a m/z 446 (M⁺, 0.3%), 386 (4.1%), 357 (17%), 344 (8%), 287 (8%), 217 (18%), 105 (15%), 91 (29.4%), 43 (100%), C₂₄H₃₀O₈ requiere M⁺ en 446; $[\alpha]_D^{20} = -121^\circ$ (c. 2 mg/ml, metanol); U.V. $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 208 nm ($\epsilon = 13750$, c. 0.2 mg/ml).

ACETILACION DE LA MEZCLA A

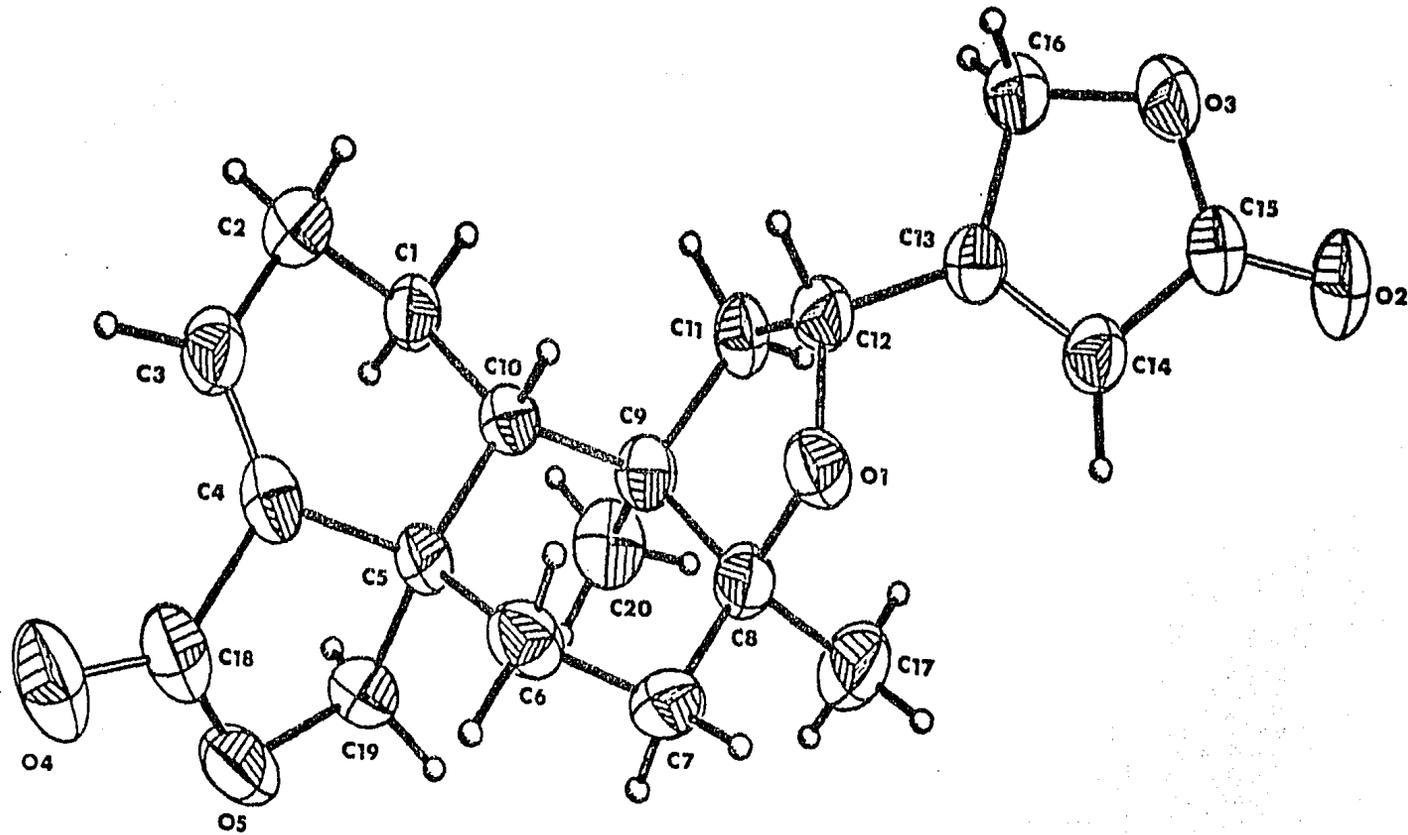
Una solución de la mezcla A (49.1 mg) en piridina (1 ml) se trató con anhídrido acético (1 ml) a temperatura ambiente durante 2 Hrs. después del tratamiento usual en las acetilaciones, se obtuvo 46.2 mg de un producto acetilado sólido blanco con p.f. 220-222°C, que se identificó por comparación directa (cromatografía, p.f. e I.R.) como el producto (IV).

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

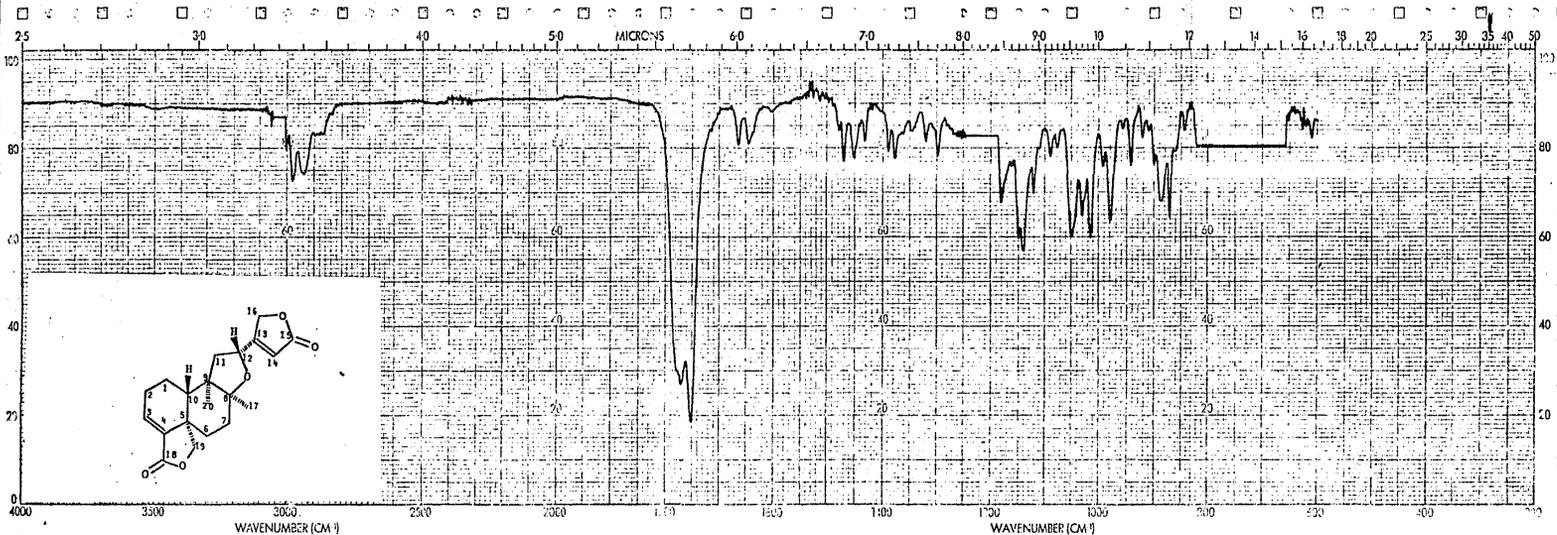
Del estudio fitoquímico de *Salvia keertii* Benth se llegó a las siguientes conclusiones:

- 1.- Se aislaron dos nuevos diterpenos con esqueleto de neo-clerodano, denominados KERLINA Y KERLINOLIDA.
- 2.- La estructura y estereoquímica fué determinada por medios espectroscópicos, y al compuesto más abundante se le realizó un análisis por difracción de rayos X.
- 3.- La kerlina presenta un anillo etéreo, formado entre C-8, C-9, C-11 y C-12, el cual no se ha encontrado anteriormente.

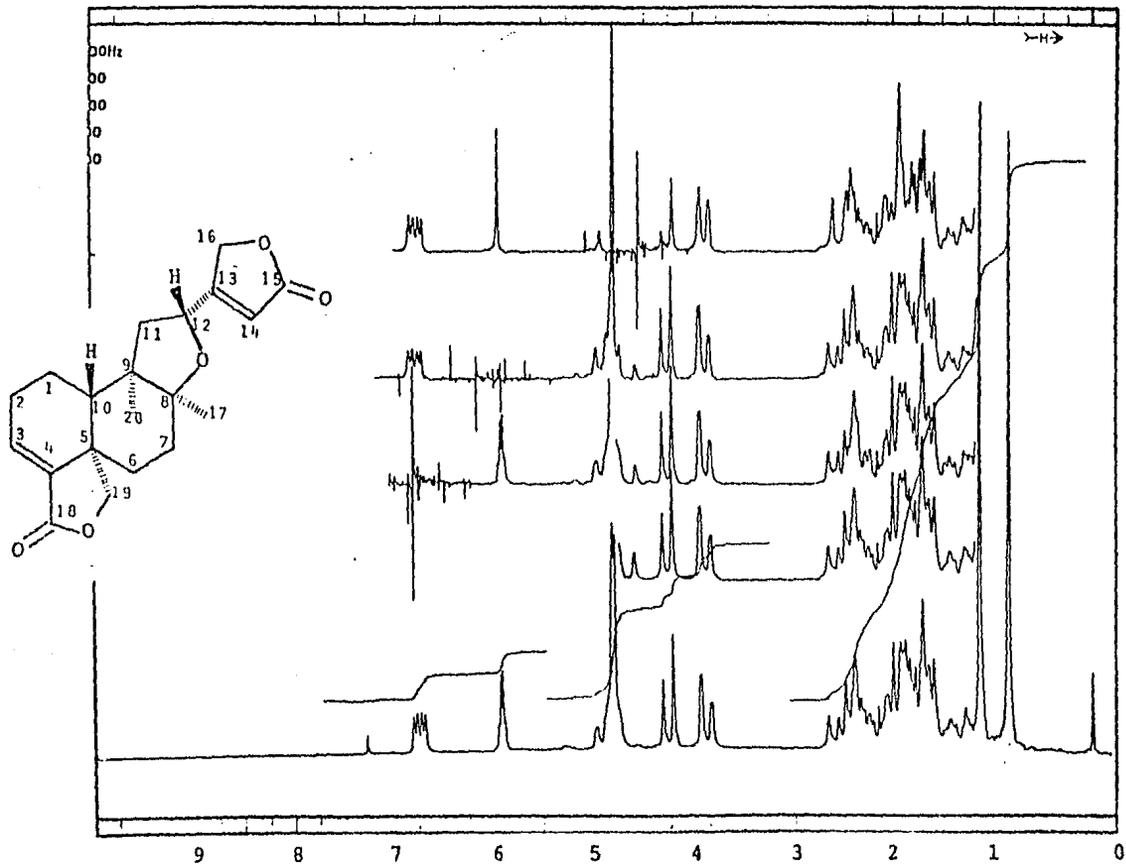
E S P E C T R O S .



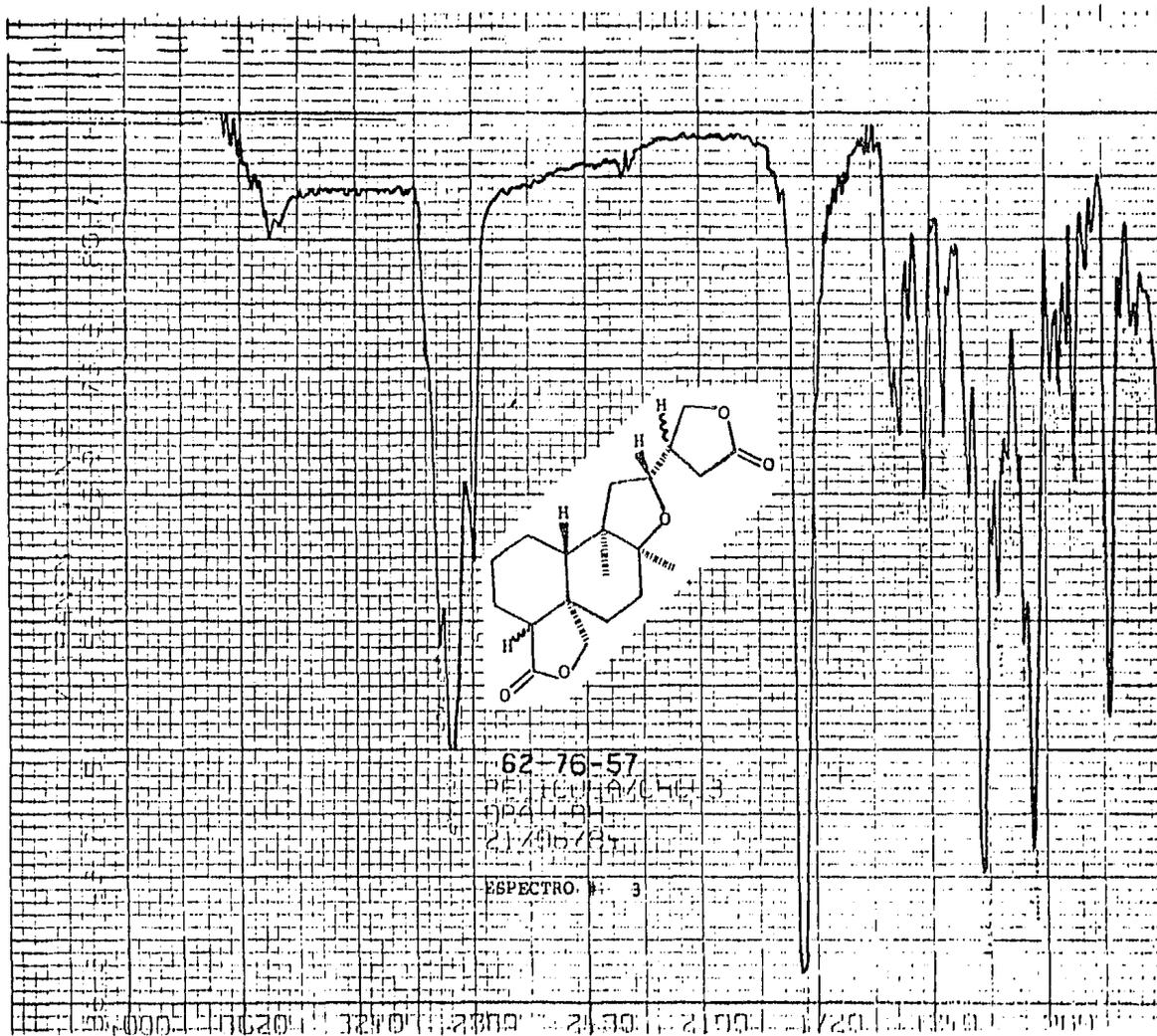
ESTEREOPROYECCION # 1



SAMPLE <u>62-76</u> <u>210°-215°</u> ORIGIN <u>Des. Ludig</u>	SOLVENT <u>CHCl₃</u> CONCENTRATION <u>10 mg/ml</u> CELL PATH <u>NaCl</u> REFERENCE <u>CHCl₃</u>	REMARKS ESPECTRO # <u>1</u>	SCAN MODE _____ SLIT <u>5</u> TIME CONSTANT _____ IMPRESO EN MEXICO PART No. 5100-4367	OPERATOR <u>reD</u> DATE <u>2-FEB-63</u> REF No. <u>2822</u>
---	--	------------------------------------	---	--

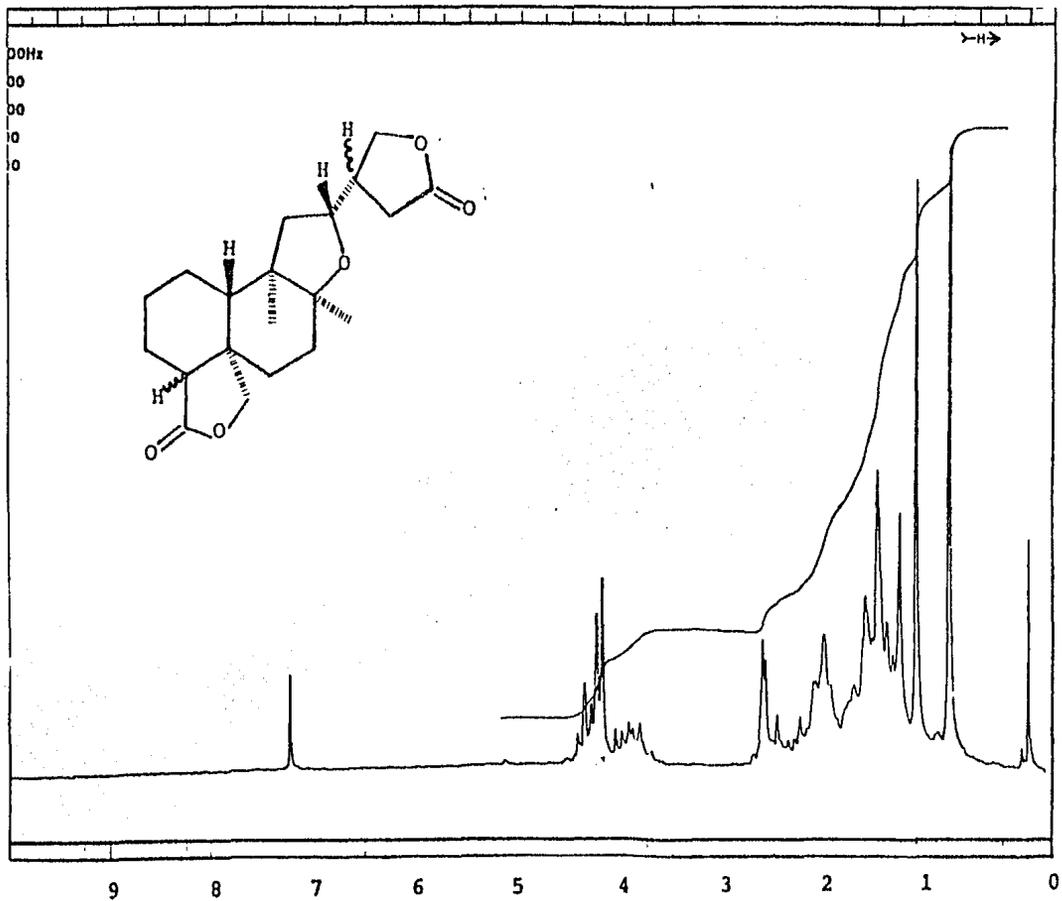


ESPECTRO # 2

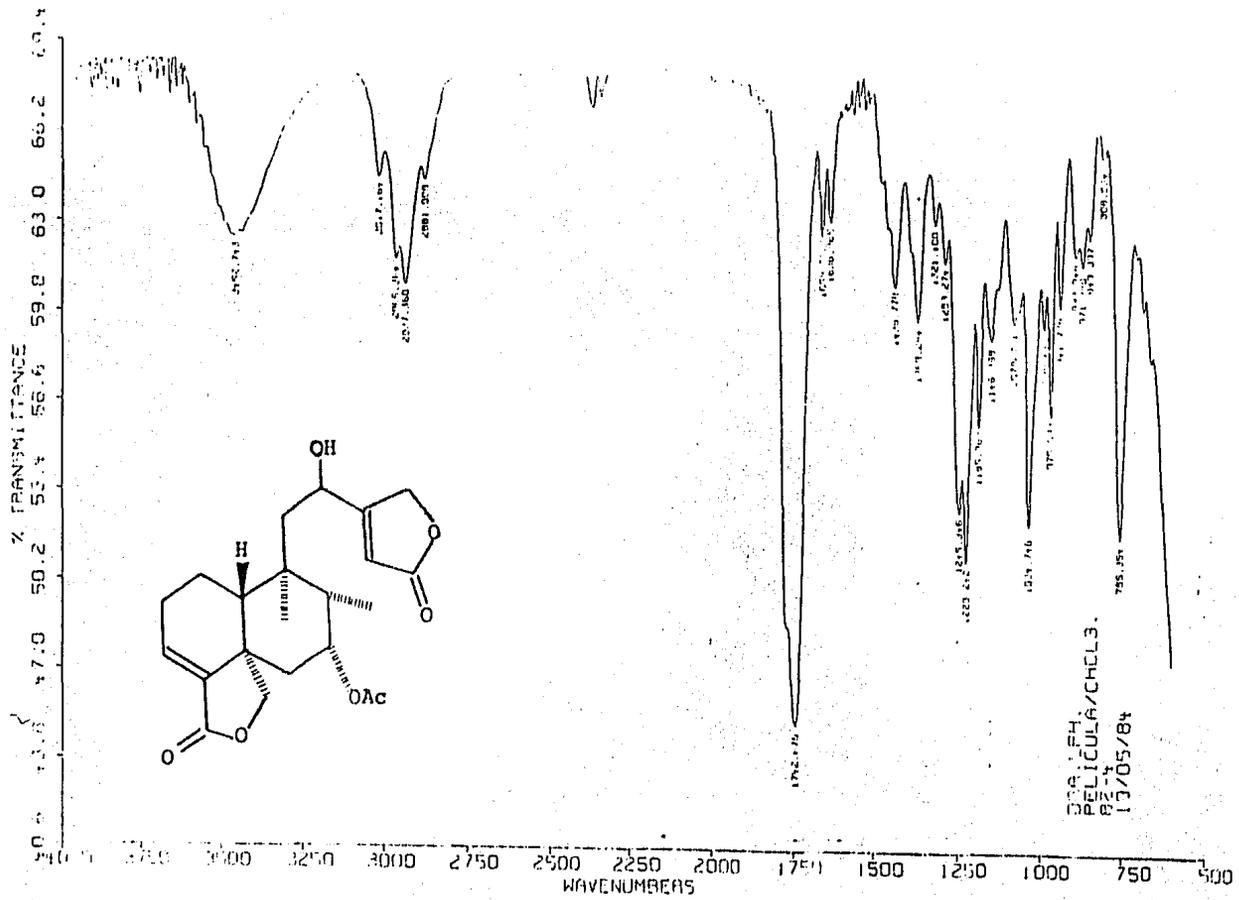


62-76-57
 PEI (C) 1970
 21/10/73

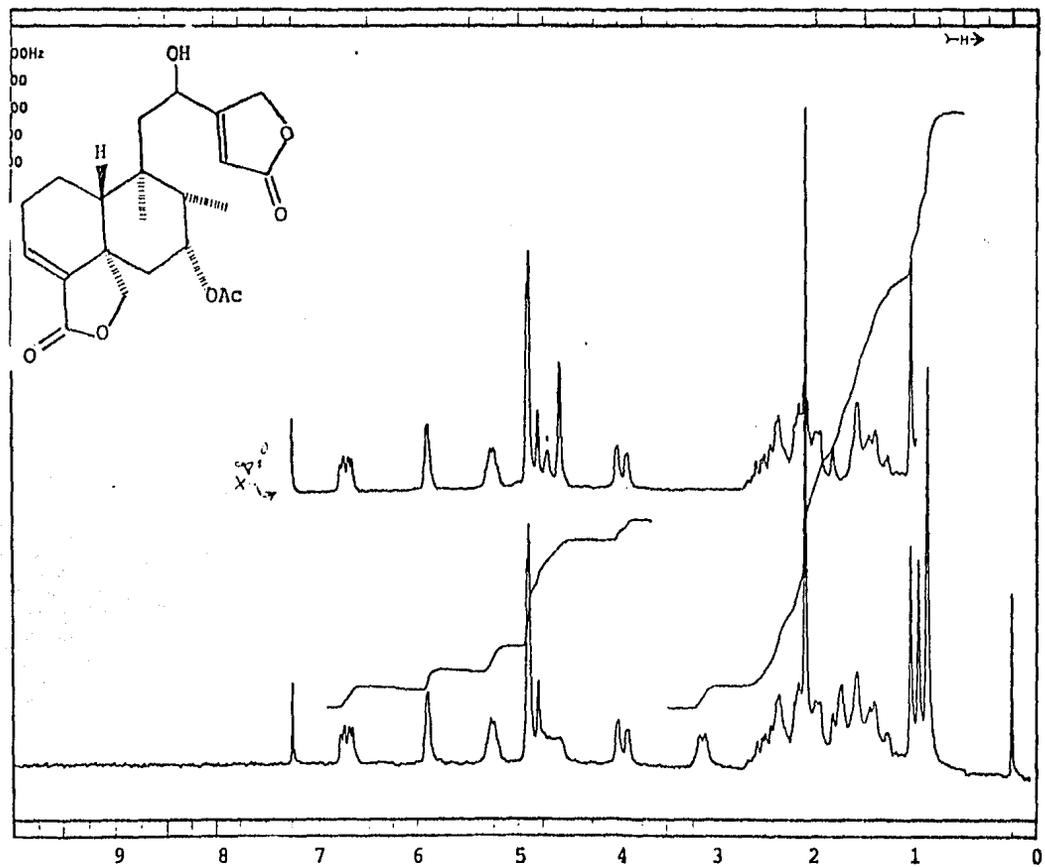
ESPECTRO. 3



ESPECTRO # 4

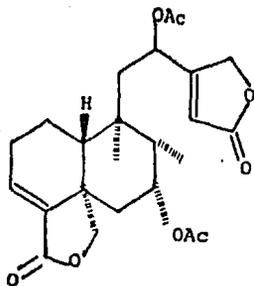


DATA: F.H.
 PELICULA/CHCL3.
 82-4
 13/05/84



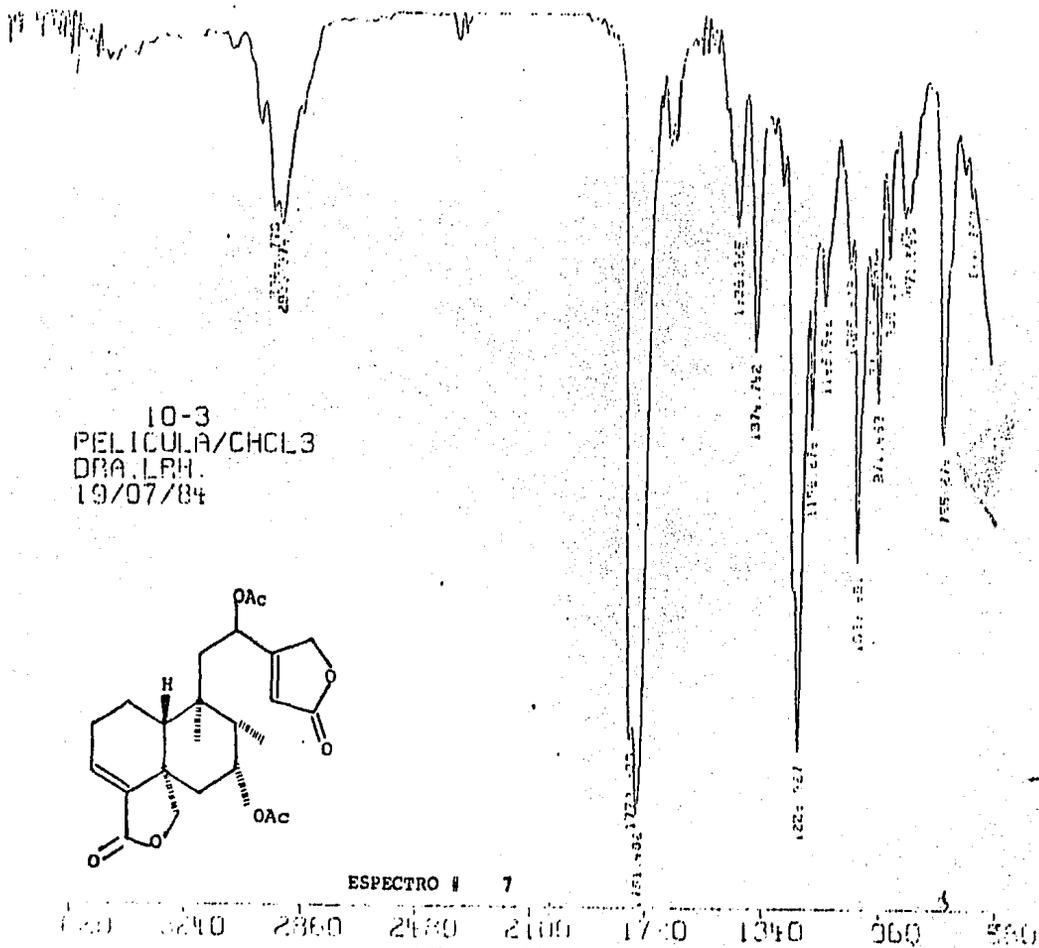
ESPECTRO # 6

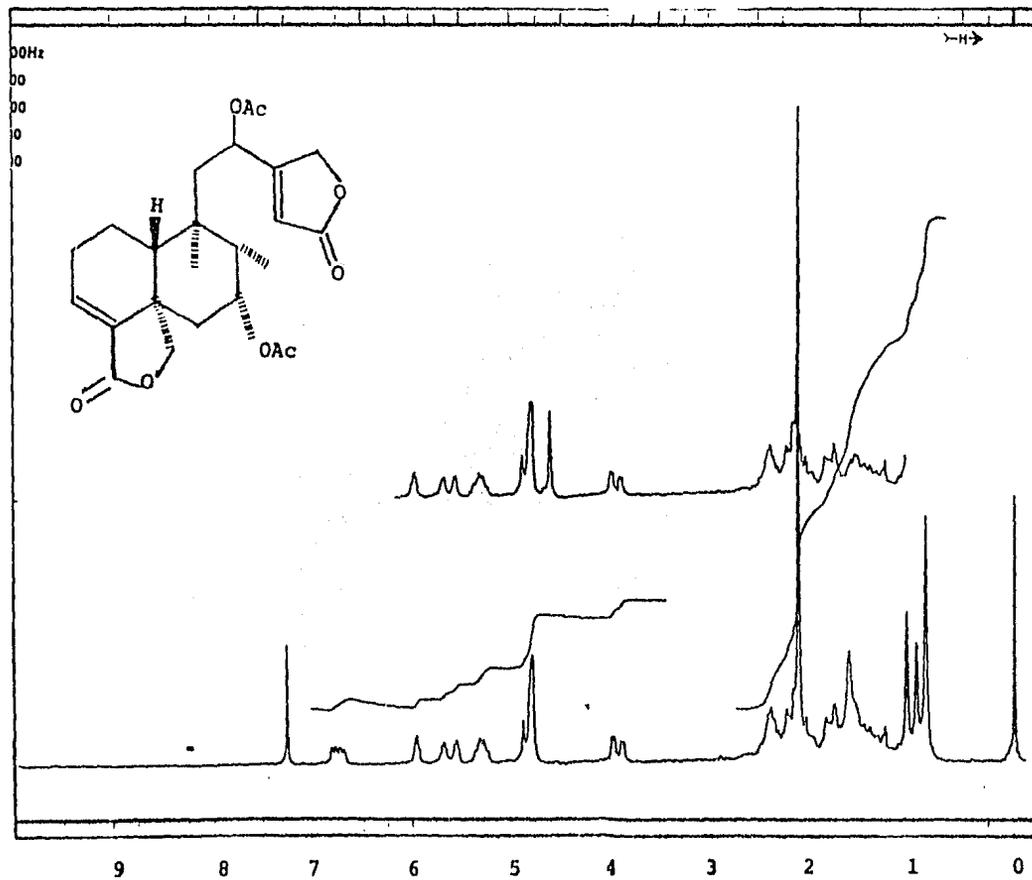
10-3
PELICULA/CHCL3
DRA. LPH.
19/07/84



ESPECTRO # 7

3300 3000 2860 2480 2100 1740 1340 960 580
WAVENUMBERS





ESPECTRO # 8

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

- 1.- Conzatti, C. y Lucio Smith, C., *Flora Sinóptica Mexicana* CENETI, 3a. ed., México 1981, pp. 202
- 2.- Bentham, G. y Hooke, J.D., *Genera Plantarum*, Williams & Norgate, Londres, 1876, Vol. II, pp. 1194
- 3.- Hanson, J.R., *Terpenoids and Steroids*, Specialist Periodical Reports, The Chemical Society, Vol. 9 y ants.
- 4.- Domínguez, X.A., Gonzalez, H., Aragón, R., Gutiérrez, M., Marroquín, J.S., y Watson, W., *Planta Medica*, 1976, 30, 237
- 5.- Wagner, H., *Rev.Latinoamer.Quim.*, 1977, 8, 16-25
- 6.- Ortega, A., Blount, J.F., Manchaud, P.S., *J.Chem.Soc. Perkin Trans I*, 2505
- 7.- Halim, A.F., Collins, R.F., *J.Agric.Food Chem.*, 1975, 23, 506
- Lewis, W.H. y Elvis-Lewis, M.P.F., *Medical Botany* Wiley & Sons Co., New York, 1977, pp 388
- 8.- Watt, J.M., *Plants in development of modern medicine*, T.Swain Harvard University Press, 1972, pp 67
- 9.- Epling, C., *A revision of Salvia subgenus Calosphace*, Verlag des repertoriums, 2a.ed., Berlin 1939, pp 169
- 10.- Ramamoorthy, T.P. *Pl. Syst. Evol.*, 1984, 146, 141
- 11.- Rodriguez-Hahn, L., Martinez, G., Romo, J., *Rev.Latinoamer. Quim.*, 1973, 4, 93
- 12.- Este trabajo aún no se concluye.
- 13.- Ruzicka, L., *Experientia*, 1953, 9, 357
- 14.- Bernfeld, Peter, *Biogenesis of natural compounds*, The Mc.Millan Co., New York 1963, pp 670
- 15.- Barton, D.H.R., Cheung, H.T., Cross, A.D., Jackman, L.M.? & Martin-Smith, M., *J.Chem.Soc.*, 1961, 5061

- 16.- Rogers, D., Unai, G.G., Williams, D.S., Levy, S.V., Sim, G., Joshin, B.S., y Ravindranath, K.R. *J.C.S. Chem.Comm.* 1979, 97
- 17.- Pinhey, J.T., Simpson, R.F., & Batey, I.L., *Austral.J.Chem.* 1971, 24, 2621
- 18.- Tschesche, R. & Streuff, B. *Chem.Ber.*, 1978, 111, 2130
- 19.- Jones, R.H., Angell, C.L., Ito, T. & Smith, R.J.D., *Can.J.Chem.*, 1959, 37, 2007
- 20.- Herz, W., Pilloti, A., Soderholm, A., Shuhama, I.K., Vichnewsky, W., *J.Org.Chem.*, 1977, 42, 3913
- 21.- Shoolery, James N., *Nuclear Magnetic resonance*, número 12, 1980
- 22.- Barfield, M., *J.Chem.Phys.*, 1964, 42, 3913
- 23.- Bruno, M., Savona, G., Pascual, C., Rodríguez, B. *Phytochemistry*, 1981, 20, 2259
- Marco, L., Rodríguez, B., Pascual, C., Savona, G., Piozzi, F. *Phytochemistry*, 1983, 22, 727
- 24.- Luteijn, J.M., A van Veldhinzen, A. de Groot *Org.Mag.Res* 1982, 19, 95