

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



## ESTUDIO QUIMIOTAXONOMICO DE LA SECCION FULGENTES DEL GENERO SALVIA (LABIATAE)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS (QUIMICA ORGANICA)  
P R E S E N T A  
EL QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

BALDOMERO ESQUIVEL RODRIGUEZ

MEXICO, D. F.

M-53505

1986



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 esta 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.

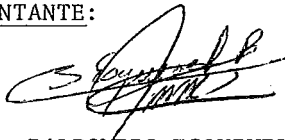
JURADO ASIGNADO

Presidente	DR. EUGENE BRATOEFF
1er. vocal.	DRA. GLORIA PEREZ
Secretaria.	DRA. ROCIO POZAS H.
Suplente	DRA. MARTHA ALBORES
Suplente	M.C. JOSE MANUEL MENDEZ

LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

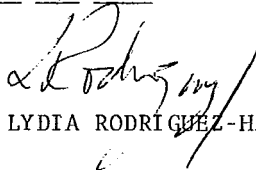
INSTITUTO DE QUIMICA , UNAM

SUSTENTANTE:



Q.F.B. BALDOMERO ESQUIVEL RODRIGUEZ

ASESOR DEL TEMA:



DRA. LYDIA RODRIGUEZ-HAHN.

ESTA TESIS SE LLEVO A CABO BAJO LA DIRECCION  
DE LA DRA. LYDIA RODRIGUEZ-HAHN, EN EL INSTI-  
TUTO DE QUIMICA DE LA U.N.A.M. CON UNA BECA  
DEL PROGRAMA DE SUPERACION DEL PERSONAL ACA-  
DEMICO DE LA MISMA UNIVERSIDAD.

## RESUMEN

La Familia de las Labiadas es un grupo de plantas importantes en nuestro país, desde el punto de vista económico y medicinal. En México se encuentra bien representada ( 550 sp ), principalmente por el género *Salvia* ( 275 sp ). A pesar de esta abundancia el género ha sido poco estudiado desde el punto de vista químico.

§ 1

En este trabajo se describe el estudio fitoquímico de 3 especies de la Sección *Fulgentes* de dicho género : *S. fulgens*, *S. lineata*, y *S. microphylla* var *microphylla*. Se aislaron varios metabolitos secundarios, entre los cuales se caracterizaron 9 diterpenos, 4 de éstos : Salvigenólida ( II ),  $1\alpha,10\alpha$ -epoxisalviarina ( XII ), Linearifolina ( XIX ) y el ácido 7-oxo-sandaracopimárico, son sustancias no descritas en la literatura. El compuesto II ( Salvigenólida ) presenta un esqueleto transpuesto de *ent*-clerodano, en el cual el anillo B ha sufrido una expansión a 7 miembros. Se propone una hipótesis biogénica para explicar este hecho. Se discute el posible significado quimio-taxonómico de los productos aislados de la sección *Fulgentes* y en relación con el resto de las especies americanas ( Subgénero *Calosphace* ) estudiadas hasta el momento.

## ABSTRACT

Labiata family is a very important group of plants in our country from the economical point of view, as well as, folk medicine. In México, the family is well represented ( 550 spp ), mainly by genus *Salvia* ( 275 spp ). Nevertheless, the study of this genus is beginning ( exists only 9 reports about mexican *Salvias* ).

In this work, the phytochemical study, of 3 spp from genus *Salvia* Section *Fulgentes* is described : *S. fulgens* Cav., *S. lineata* Benth y *S. microphylla* var *microphylla* . From these spp, several secondary metabolites, have been isolated, some of known structure. Nine diterpenoids were isolated and characterized. From these, 4 : Salvigenolide (II),  $1\alpha,10\alpha$ -epoxysalviarin ( XII ), Linearifolin ( XIX ) and 7-oxo-sandaracopimaric acid, are novel natural products.

Compound II exhibited a rearranged *ent*-clerodane skeleton, in which the B ring is seven membered. A posible biogenetic route is proposed for explain this fact. The chemotaxonomy of *Salvia*, Section *Fulgentes* is discussed, as well - as the relationship between these spp and the rest of the analyzed spp. from Subgenus *Calosphace*.

## C O N T E N I D O

I.- INTRODUCCION	1
II.- GENERALIDADES	7
III.- PARTE TEORICA	
1.- Estudio fitoquímico de <i>Salvia fulgens</i> Cav. Aislamiento y elucidación estructu- ral de la Salvigenólida, un nuevo diter- peno con esqueleto transpuesto de ent - clerodano.	11
2.- Los constituyentes químicos de <i>Salvia lineata</i> Benth.	27
3.- Los componentes diterpénicos de <i>Salvia microphylla</i> var <i>microphylla</i>	46
IV.- CONCLUSIONES	58
V.- PARTE EXPERIMENTAL	75
VI.- ESPECTROS	92
VII.- REFERENCIAS Y NOTAS	118

## I. INTRODUCCION



## I. INTRODUCCION

La República Mexicana cuenta con una amplia variedad de recursos naturales, entre los cuales destaca la cubierta vegetal del territorio nacional. Con más de 20 000 especies de plantas vasculares, México tiene una flora más vasta que la de la Unión Soviética y del mismo orden que la de Estados Unidos y Canada juntos. Es evidente que la principal razón de la riqueza florística de México, reside en su amplia variedad de condiciones fisiográficas y climáticas. A este respecto es preciso señalar que no solamente es importante la existencia de una gran diversidad de climas sino también la distribución geográfica de los mismos. Asi por ejemplo las numerosas sierra y cadenas montañosas aisladas, al igual que las zonas de clima árido y semiárido separadas las unas de las otras, contribuyen a la aparición y mantenimiento de endemismos y por lo tanto a la riqueza de la flora. Por estas razones el territorio nacional se considera una de las zonas florísticamente más ricas del mundo <sup>1</sup>, a la par con Malasia, Centroamérica y ciertas regiones de Sudamérica.

Uno de los elementos más importantes de la flora mexicana lo constituye la Familia de las Labiadas ( *Labiatae* = *Lamiaceae* ), representada en nuestro país por aproximadamente 550 especies pertenecientes a 42 géneros <sup>2</sup>.

La Familia de las Labiadas, es una familia cosmopolita, formada por aproximadamente 180 géneros y 3500 especies <sup>3</sup>.

Desde principios de siglo las plantas que forman esta fami-

lia han sido objeto de diversos estudios, tanto biológicos<sup>4</sup> como químicos, así como estudios encaminados al uso comercial de los aceites esenciales de algunas especies en la industria de la - perfumería<sup>5</sup>.

Desde el punto de vista biológico, el interés en estas plantas radica en las interesantes actividades farmacológicas que presentan algunos compuestos aislados de ciertas especies de labiadas, como son bactericida, antiviral, sedativa y espasmolítica, entre otras<sup>4</sup>. Recientemente se ha descrito, para algunos compuestos aislados del género *Ajuga*, una propiedad repelente contra insectos<sup>6</sup>. Esta acción puede tener un fuerte impacto en el desarrollo de insecticidas biodegradables y por lo tanto en agricultura. Asimismo se han aislado de plantas pertenecientes al género *Isodon* (*Rhabdosia*) una gran cantidad de diterpenos biológicamente activos como antimicrobianos y antitumorales<sup>7</sup>.

Desde el punto de vista químico, las Labiadas son una fuente muy rica de una gran variedad de metabolitos secundarios. De manera general los tipos de metabolitos secundarios aislados de estas plantas se resumen en la Tabla I.

Del total de 180 géneros que componen la familia sólo algunos han sido estudiados sistemáticamente, tal es el caso de *Sideritis*<sup>20</sup>, *Teucrium*<sup>22</sup>, *Ajuga*<sup>6</sup> y *Rhabdosia*<sup>7</sup>, por lo que se puede afirmar que el conocimiento sobre la composición química de las Labiadas es incompleto.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la familia de las Labiadas está bien representada en México con 550 especies y 42

géneros. El género más abundante es el género *Salvia*, con aproximadamente 275 especies, de las cuales el 88% son endémicas a nuestro país<sup>29</sup>. Las Labiadas son un grupo de plantas importantes en la República Mexicana, desde el punto de vista económico y medicinal. Algunos miembros de la familia, por ejemplo *Oreganum sp* (orégano), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Mentha sp* (yerbabuena), *Thymus sp* (tomillo) se utilizan como condimentos en nuestra dieta. Algunos géneros como *Salvia* y *Agastache* tienen uso ornamental. Las semillas de *Salvia hispanica* y *Salvia tiliaefolia* se utilizan para preparar bebidas refrescantes (agua de chía). Algunas otras especies, tienen un uso muy difundido en la medicina tradicional de nuestro pueblo, tal es el caso de *Satureja macrostema* (té de monte), *Agastache mexicana* (toronjil), *Salvia microphylla* (mirto), *Mentha piperita* (té de menta) y *Cunila lythriifolia* (poleo)<sup>30</sup> entre otras. Se tiene información de que la *Salvia divinorum* tiene propiedades psicotrópicas y es usada por los indios mazatecos del estado de Oaxaca en sus ritos de adivinación<sup>31</sup>.

A pesar de su importancia, el estudio químico de Labiadas mexicanas es muy limitado y en consecuencia la exploración química y biológica de estas plantas es, por una parte, un reto atractivo para los científicos mexicanos y por otra una necesidad para poder - explotar adecuadamente estas plantas.

Considerando lo anterior, el presente trabajo consiste en el estudio fitoquímico de 3 especies del género *Salvia*: *S. fulgens* Cav., *S. lineata* y *S. microphylla var microphylla* las tres pertenecen a la Sección *Fulgentes* de dicho género. De estas especies

se han aislado varios metabolitos secundarios, cuya elucidación estructural y estereoquímica, así como la discusión del significado taxonómico de dichos metabolitos, constituyen el tema de este estudio, el cual es una aportación al estudio químico sistemático de las Labiadas mexicanas, así como de la flora de nuestro país.

TABLA I

## PRINCIPALES TIPOS DE METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS DE LABIADAS

TIPO DE METABOLITO SECUNDARIO	GENEROS	REFERENCIAS
Flavonoides	<i>Salvia</i>	8
	<i>Agastache</i>	9
	<i>Galeopsis</i>	10
Iridioides	<i>Satureja</i>	11
Esteroles	<i>Salvia</i>	12
Monoterpenos	<i>Salvia</i>	25
	<i>Sideritis</i>	26
	<i>Mentha</i>	27
	<i>Melissa</i>	28
Sesquiterpenos	<i>Salvia</i>	24
	<i>Meriandria</i>	23

TABLA I ( CONTINUACION )

Diterpenos	<i>Galeopsis</i>	17
	<i>Salvia</i>	18
	<i>Lepechinia</i>	19
	<i>Sideritis</i>	20
	<i>Ajuga</i>	6
	<i>Stachys</i>	21
	<i>Rhabdosia</i>	7
	<i>Teucrium</i>	22
Sesterterpenos	<i>Salvia</i>	16
Triterpenos	<i>Salvia</i>	13
	<i>Lepechinia</i>	14
	<i>Hyptis</i>	15

TABLA I ( CONTINUACION )

Diterpenos	<i>Galeopsis</i>	17
	<i>Salvia</i>	18
	<i>Lepechinia</i>	19
	<i>Sideritis</i>	20
	<i>Ajuga</i>	6
	<i>Stachys</i>	21
	<i>Rhabdosia</i>	7
	<i>Teucrium</i>	22
<hr/>		
Sesterterpenos	<i>Salvia</i>	16
<hr/>		
Triterpenos	<i>Salvia</i>	13
	<i>Lepechinia</i>	14
	<i>Hyptis</i>	15

## II. GENERALIDADES



## II GENERALIDADES

El género *Salvia* fué establecido por Linneo en 1753 y es el más abundante de la familia de las Labiadas, con aproximadamente 900 especies, ampliamente distribuidas por todo el mundo<sup>32</sup>.

El total de las especies de este género se agrupan en 4 subgéneros : *Leonia*, *Salvia*, *Sclarea* y *Calosphace*<sup>3</sup>. El subgénero más abundante es el *Calosphace* con aproximadamente 550 especies y es en su totalidad americano<sup>33</sup>, por lo cual es muy probable que el género se haya originado en América.

La mayoría de las especies de este género están distribuidas en regiones templadas y tropicales, aunque existen especies adaptadas a climas semi-áridos.

En el continente americano, la mayoría de las especies se localizan en el centro de México y América Central y existen áreas secundarias de concentración en el Norte de los Andes y tierras altas brasileñas. En general las especies son muy locales y pocas son de distribución amplia, lo que ha contribuido a la diversificación del género.

Las *Salvias* han sido estudiadas desde el punto de vista químico desde principios de siglo, sin embargo estos estudios se han enfocado principalmente a especies europeas y asiáticas y muy poco a especies americanas<sup>18</sup>.

Como puede apreciarse en la Tabla I, se han aislado de estas plantas una gran variedad de metabolitos secundarios. Principalmente se han encontrado : monoterpenos, triterpenos, diterpenos y

flavonas. Con menos frecuencia se han aislado sesquiterpenos y sesterterpenos.

Dentro de esta diversidad, los diterpenos ocupan un lugar preponderante, ya que se han aislado aproximadamente 60 compuestos de este tipo del género *Salvia*<sup>18</sup>. La mayor parte de estos diterpenos pertenecen al grupo del abietano.

A pesar de que las *Salvias* han sido estudiadas desde principios de siglo, se ha explorado aproximadamente el 8% del género, por lo que el estudio químico del mismo está de hecho comenzando, asimismo el estudio de la actividad biológica de los constituyentes químicos de las plantas de este género es muy limitado<sup>4</sup>; la mayor parte de los trabajos realizados a principios de siglo están encaminados al uso de los aceites esenciales de estas plantas en la industria de la perfumería y en menor grado en la alimentación.

En México el género *Salvia* está muy bien representado por aproximadamente 275 especies. Frecuentemente se describen especies nuevas por lo cual es posible que el total de especies en México llegue a 300, pertenecientes todas al subgénero *Calosphace*<sup>2</sup>. La abundancia tan notable de estas plantas en México, sugiere que nuestro país es un centro activo de diversificación de éste, por lo cual el estudio químico de las *Salvias* mexicanas tiene importancia taxonómica.

Como ya se ha mencionado, algunas especies de *Salvia* se utilizan en la medicina tradicional de nuestro pueblo, por lo cual es importante también la exploración biológica de los productos

biosintetizados por estas plantas. Con base en ésto, el estudio químico de las Salvias mexicanas es la base para dichos estudios de actividad biológica.

A pesar de su abundancia e importancia, este género ha sido muy poco estudiado en México. Hasta la fecha se tienen datos sobre la composición química de unas 9 especies. Esta información se resume en la Tabla II. A pesar de lo limitada que es esta información, se puede observar que en 6 de las 9 especies descritas, se han aislado componentes de tipo diterpénico, los cuales constituyen, probablemente, la característica química más relevante de las Salvias mexicanas.

Es evidente la necesidad de un estudio sistemático de estas plantas, que ayude a resolver problemas taxonómicos y permita el estudio de la actividad biológica de los metabolitos secundarios aislados de las mismas, así como el mejor aprovechamiento de este recurso natural.

TABLA II  
COMPOSICION QUIMICA DE SALVIAS MEXICANAS

ESPECIE	COMPOSICION QUIMICA	REFERENCIA
<i>S. melissodora</i>	Diterpeno del tipo del Clerodano	35
<i>S. lavanduloides</i>	Flavonas, Acido Oleanólico y Ursólico	36 a y b
<i>S. mexicana</i>	Triterpenos	37
<i>S. karwinskii</i>	Triterpenos	38
<i>S. ballotaeiflora</i>	$\beta$ -sitosterol, diterpenos del tipo del abietano	39
<i>S. gesneraeifolia</i>	Diterpenos del tipo del clerodano	40
<i>S. divinorum</i>	" "	41
<i>S. farinacea</i>	" "	42
<i>S. keerlii</i>	" "	43

### III. PARTE TEORICA

### III PARTE TEORICA

#### 1.- Estudio fitoquímico de *Salvia fulgens* Cav. Aislamiento y elucidación estructural de la Salvigenólida, un nuevo diterpeno con esqueleto transpuesto de *ent*-clerodano.

La *Salvia fulgens* Cav., es un arbusto perenne y está clasificada de acuerdo con Epling<sup>33</sup> en la sección *Fulgentes* del género -- *Salvia*. Es una especie de una distribución muy amplia, crece principalmente en el valle de México y se puede localizar también en los estados de México, Michoacán y Jalisco. Se le conoce junto con la *Salvia microphylla*, con el nombre de " mirto " y es utilizada en la medicina tradicional de nuestro pueblo para curar algunos padecimientos estomacales.

El espécimen de *S. fulgens*, analizado en este trabajo fué recolectado en el estado de Morelos, a 7.5 Km al oeste de Huitzilac, rumbo a las lagunas de Zempoala.

Del extracto acetónico de las partes aéreas de esta planta se lograron aislar 3 componentes principales.

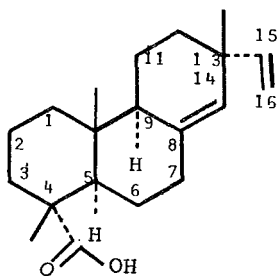
El componente menos polar es una sustancia cristalina con p.f. de 133-135°C ( acetona ). Las propiedades espectroscópicas de esta sustancia corresponden con los descritos en la literatura para el  $\beta$ -sitosterol<sup>44</sup>, sustancia ampliamente distribuida en el reino vegetal y aislada del género *Salvia*<sup>12</sup>.

El componente de polaridad intermedia, es asimismo, una sus-

tancia cristalina ( I ) con p.f. = 170°C ( acetona ). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas (  $M^+$  a  $m/z$  302 ) concuerda para una fórmula molecular  $C_{20}H_{30}O_2$ .

El espectro de I.R. de esta sustancia presenta bandas características para ácido carboxílico ( 3000 y 1690  $cm^{-1}$  ) y dobles enlaces ( 1640  $cm^{-1}$  ) de los cuales uno corresponde a un grupo vinilo ( 1000 y 915  $cm^{-1}$  ).

La presencia de un grupo vinilo se ve apoyada por el espectro de R.M.N.  $^1H$  ( espectro no. 1 ) de esta sustancia, ya que se observan las señales características para los protones de dicha agrupación en 5.88 ( dd,  $J = 18$  y 11 Hz, H-15 ), 4.85 ( dd,  $J = 18$  y 2 Hz, H-16 trans ) y 4.82 ppm ( dd,  $J = 11$  y 2 Hz, H-16 cis ). En este espectro se puede observar también la señal para otro protón vinílico en 5.25 ppm como un singulete ancho, indicando la presencia de un doble enlace trisustituído en la molécula.



I

La naturaleza ácida de esta sustancia se confirma al obtenerse el correspondiente éster metílico por tratamiento con solución éterea de diazometano.

El espectro de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  de I ( Tabla 1 ) apoya la discusión anterior ya que se observan señales para 5 carbonos  $\text{sp}^2$  ( 4 olefínicos y un carbonílico en 185.5 ppm ).

De acuerdo con lo anterior y para cumplir con la fórmula molecular el compuesto I debe ser tricíclico. Estos datos indican - que esta sustancia es un compuesto diterpénico con esqueleto de pimarano y están de acuerdo con los descritos en la literatura - para el ácido sandaracopimárico ( I ), producto aislado originalmente de *Callitris quadrivalvis*<sup>45</sup> y cuya estructura ha sido confirmada por síntesis<sup>46</sup>.

La identidad de esta sustancia se confirma además por la - comparación directa del espectro de masas del éster metílico, con el publicado en la literatura<sup>47</sup>.

Es importante señalar que la *Salvia fulgens* Cav. es la primer especie de este género, en el mundo, de la cual se ha aislado un diterpeno con esqueleto de pimarano, por lo cual este hecho - puede ser de importancia quimiotaxónomica.

El componente aislado en mayor cantidad, es un producto cristalino con p.f.= 218-220°C,  $[\alpha]_D^{20} = -191.6$  ( c 0.21, MeOH ). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas concuerda para un compuesto de fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_7$  (  $\text{M}^+$  398 ). A este producto se le denominó Salvigenólida ( II ). La estructura -



propuesta para esta sustancia, corresponde a un diterpeno con esqueleto transpuesto de *ent*-clerodano, de acuerdo con la siguiente evidencia.

El espectro de I.R. de la Salvigenólida ( II ), presenta bandas en 3140,1501 y 871  $\text{cm}^{-1}$  que indican la presencia de un anillo de furano, en 1771 y 1761  $\text{cm}^{-1}$  para carbonilos de  $\gamma$  lactona saturada y  $\alpha,\beta$  no-saturada respectivamente y en 1743  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a un carbonilo de éster saturado. El espectro muestra asimismo la ausencia de grupos oxhidrilos y la presencia de dobles - ligaduras ( 1665  $\text{cm}^{-1}$  ).

El espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de II ( espectro no. 2 ) confirma la presencia de un anillo de furano, el cual es  $\beta$ - sustituido, al observarse las señales características en 7.45 ( d, J = 2 Hz, 2H, H-15 y H-16 ) y 6.25 ppm ( t, J= 2Hz, 1H, H-14 ). El espectro de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  de la Salvigenólida ( II ) ( Tabla 1, espectro no. 3 ), apoya la presencia de este heterociclo ya que presenta señales en 124.15 ( s, C-13 ), 108.4 ( d, C-14 ), 144.7 ( d, C-15 ) y 140.9 ppm ( d, C-16 ) correspondientes a este grupo. La presencia de un furano  $\beta$ -sustituido es muy común en compuestos diterpénicos del tipo del clerodano<sup>48</sup>.

En el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  ( espectro no. 2 ) de II, se observa una señal doble de doble centrada en 7.05 ppm, que se asigna por desplazamiento químico, al protón  $\beta$  de una  $\gamma$  lactona  $\alpha,\beta$  no-saturada. La multiplicidad de esta señal ( dd, J = 8 y 4 Hz ) indica que se encuentra acoplado a un metileno. Asimismo se

observó en este espectro un sistema AB en 3.7 (  $J = 10$  ) y 3.95 ppm que se asigna a los protones de un metileno unido a un átomo de oxígeno y a un átomo de carbono totalmente sustituido. Estos datos sugieren la presencia de una  $\gamma$  lactona entre las posiciones 18 y 19, conjugada con un doble enlace entre las posiciones 3 y 4. Este tipo de agrupación es común en los diterpenos del tipo del clerodano<sup>48</sup> y recientemente se han aislado varios diterpenos que presentan este grupo funcional de otras especies del género *Salvia*. Por lo tanto la señal triple en 7.05 ppm se asigna al protón H-3 y el sistema AB a los protones diasterotópicos de la posición 19. El espectro de R.M.N. de <sup>13</sup>C está de acuerdo para la presencia de dicha agrupación ya que presenta señales en 25.48 ( t ), 140.8 - ( d ), 133.2 ( s ), 48.33 ( s ), 68.99 ( t ) y 168.44 ppm ( s ) correspondientes a los carbonos C-2, C-3, C-4, C-5, C-19 y C-18 respectivamente<sup>49</sup>.

En la literatura se describe frecuentemente que uno de los protones de la posición 19 ( el protón *pro-S* ) presenta un acoplamiento a larga distancia (  $W$  ) con el protón  $\beta$  de la posición 6. El requisito estructural común a todos los diterpenos que presentan este fenómeno es que el C-19 tenga una orientación  $\alpha$ -axial y la ausencia de sustituyentes en la posición 6 $\beta$ . En la mayoría de los casos este fenómeno se observa en clerodanos con fusión de anillos A/B *trans*, pero no es exclusivo de ellos<sup>50</sup>.

En el caso de la Salvigenólida, ninguno de los protones de la posición 19 presenta acoplamiento a larga distancia, lo cual

indica que la posición  $6\beta$  se encuentra sustituida. Se propone que en esta posición se localice un grupo acetato. La presencia de este grupo se ve apoyada los espectros de R.M.N de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$ , ya que se observan las señales típicas para dicho sustituyente ( singulete para tres protones en 2.05 ppm en R.M.N. de  $^1\text{H}$ ; singulete en 169  $-\text{COOCH}_3$  y cuarteto en 20.8 ppm  $-\text{COOCH}_3$  en  $^{13}\text{C}$  ), así como por el espectro de masas en donde se observan señales a  $M^+ - 60$  ( 338 ) y a  $m/z$  43 ( pico base ) correspondientes a la fragmentación característica de este grupo.

En el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de II ( espectro no. 2 ) se observa también un triplete (  $J = 3$  Hz ) centrado en 5.3 ppm, el cual se asigna por desplazamiento químico al protón H-6 ( base de acetato ). La multiplicidad de la señal de este protón indica que se encuentra acoplado a un metileno. Las señales para este metileno ( C-7 ) se pudieron observar cuando el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  se obtuvo en benceno deuterado ( espectro no. 4 ). La señal para H-7 $\beta$  se observa como un doblete de tripletes centrado en 2.25 ppm (  $J = 14$  y 3 Hz ) y H-7 $\alpha$  se observa como una señal compleja, parcialmente sobrepuesta a otras señales, en 1.25 ppm. La relación entre estas señales se confirma por experimentos de doble resonancia. Al efectuar dicho experimento en la frecuencia de H-6 ( 5.25 ppm en  $\text{C}_6\text{D}_6$  ), la señal asignada a H-7 $\beta$  se modifica a un doble de dobles (  $J = 14$  y 3 Hz ) y se observan modificaciones también en la señal asignada a H-7 $\alpha$ .

La constante de acoplamiento de H-6 (  $t, J = 3$  Hz ) indica interacciones *ecuatorial-ecuatorial* y *ecuatorial-axial* con los protones

de la posición 7, lo cual apoya la orientación  $\beta$ -axial propuesta para el acetato de la posición 6.

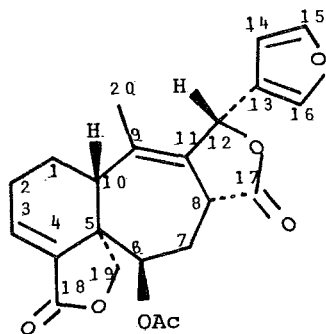
Además de las señales ya discutidas, el espectro de R.M.N. de hidrógeno de II (  $\text{CDCl}_3$  ) presenta un singulete ancho, que integra para un protón, en 6.0 ppm que se asigna a H-12. El desplazamiento químico de esta señal se explica satisfactoriamente si se considera que es alílico y unido a un átomo de carbono enlazado a una función oxigenada. Se propone que esta función oxigenada sea una  $\gamma$  lactona saturada y que se localice entre las posiciones 12 y 17. La presencia de esta agrupación es evidente del espectro de I.R. (  $1771 \text{ cm}^{-1}$  ) y de la fórmula molecular. El espectro de  $^{13}\text{C}$  ( espectro no. 3, Tabla 1 ) presenta señales en 177 - ( s,C-17 ), 39.6 ( d,C-8 ) y 75.2 ppm ( d,C-12 ) que están de acuerdo para dicho grupo funcional.

En el espectro no. 2 se pueden observar también las señales correspondientes a los protones de dos grupos metino. Uno de ellos centrado en 3.8 ppm como un doblete ancho (  $J = 12 \text{ Hz}$  ) asignado a H-8 y el segundo en 3.45 ppm como un doblete de dobles ancho (  $J = 14 \text{ y } 4 \text{ Hz}$  ) asignado a H-10. El desplazamiento químico de estos protones se puede explicar si se considera que son alílicos, en el caso de H-8 además  $\alpha$  a un carbonilo, y que están sometidos a una desprotección paramagnética por el grupo acetato de la posición 6, a través de interacciones 1-3 diaxiales. El análisis de un modelo molecular de II ( modelos Dreiding ), revela que esto es posible solo si H-10 y H-8 tienen orientación  $\beta$ . Por lo tanto el sustituyente en C-8 es  $\alpha$  y la fusión de los anillos A / B

debe ser *trans* (  $5\alpha$  ,  $10\beta$  ).

El espectro de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  ( espectro no. 3, Tabla 1 ) presenta además de las señales ya discutidas y de las señales para C-6 y C-7 (  $\delta$  71.4,  $\tau$  30.2 ppm respectivamente ), dos tripletes en -24.94 y 25.48 ppm correspondientes a los carbonos C-1 y C-2, dos dobletes en 39.32 y 39.30 ppm asignados a C-8 y C-10 y tres señales en 15.7 ( c ), 133.2 ( s ) y 133.5 ( s ), que deben de corresponder por desplazamiento químico y multiplicidad a un metilo vinílico y 2 carbonos  $\text{sp}^2$  de un doble enlace totalmente sustituido. En el espectro de  $^{13}\text{C}$  de los diterpenos con esqueleto de clerodano descritos en la literatura se observan en la región de los carbonos  $\text{sp}^3$  al menos 2 singuletes que corresponden a los carbonos - C-5 y C-9. El espectro de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  de II presenta solo un singulete el cual se asignó a C-5. De acuerdo con ésto y con los datos previamente discutidos se propone para la Salvigenólida ( II ) un esqueleto transpuesto de *ent*-clerodano, en el cual el anillo B ha sufrido una expansión a 7 miembros. La numeración mostrada en II sigue una secuencia biogénética, de acuerdo con el origen probable de esta transposición ( ver conclusiones ).

Las señales en 133.2 ( s ) y 133.5 ( s ) del espectro de  $^{13}\text{C}$  se asignan por lo tanto a los carbonos C-9 y C-11 y la señal en 15.7 ppm al metilo vinílico unido a la posición 9. La señal para este grupo en R.M.N.  $^1\text{H}$  se observa en 1.6 ppm como un singulete ancho ( espectro no. 2 ) .



## II

La discusión anterior permite asignar la estereoquímica en los centros quirales C-5, C-6, C-8 y C-10. Falta por asignar la estereoquímica en C-12. La configuración en torno a C-12 se propone como *R* con base en los resultados de algunas reacciones químicas, las cuales además, apoyan la estructura propuesta para este nuevo diterpeno aislado de *S. fulgens*.

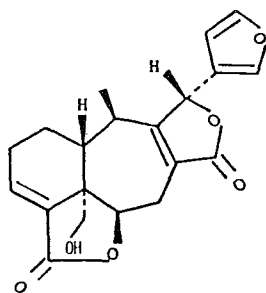
El tratamiento de una solución metanólica de II con  $\text{KHCO}_3$  bajo una atmósfera de Ar produce el alcohol primario III. El espectro de I.R. de este producto presenta bandas en 3460 ( oxhidrilo ) y en  $1752 \text{ cm}^{-1}$  (  $\gamma$  lactona  $\alpha, \beta$  no-saturada ).

En el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de III ( espectro no. 5 ) se observa una señal doble de dobles en 4.6 ppm (  $J = 12$  y 4 Hz ) que se asigna a H-6. Un doblete que integra para tres protones (  $J = 7$  Hz )

se asigna a un metilo secundario, lo cual indica que ha tenido lugar la isomerización del doble enlace de la posición 9,11 a la 8,9.

Una señal simple que integra para dos protones en 3.8 ppm se asigna a los protones de un grupo hidroximetileno. Estos protones sufren un desplazamiento a campo bajo muy notable ( $\Delta\delta = 0.65$ ) - cuando se añade isocianato de tricloroacetilo (ITA), al tubo de resonancia, para obtener *in situ* el carbamato correspondiente. Un triplete centrado en 7.0 ppm ( $J = 4$  Hz) se asigna al protón H-3.

Los datos anteriores sugieren la presencia de una  $\gamma$  lactona  $\alpha, \beta$  insaturada entre las posiciones 18 y 6 $\beta$ , similar a la presente en la estructura del Plaunol B<sup>51</sup>. La transposición ocurrida en la molécula se explica asumiendo que se lleva a cabo la saponificación del acetato de la posición 6, la apertura de la  $\gamma$  lactona original, seguida de una relactonización a la posición 6 $\beta$ , con la formación de un grupo hidroximetileno.



III

TABLA No. 2

ESTUDIOS DE R.M.N. <sup>1</sup>H CON REACTIVO DE DESPLAZAMIENTO  
Eu (fod)<sub>3</sub> DEL DERIVADO III

Eu (fod) <sub>3</sub> (mg)	Me	H-12	H-6	H-7	2H-19	H-3	H-14	H-15	H-16
0	1.2	5.75	4.6	3.2	3.85	7.0	6.15	7.5	7.4
2	1.5	6.0	6.25	3.9	5.4	7.73	6.30	7.6	7.45
4.2	1.7	6.25	7.4	4.6	6.55	8.45	6.45	7.7	7.5
$\Delta\delta$	0.5	0.75	2.8	1.4	2.70	1.45	0.30	0.2	0.1

Espectros obtenidos a 80 MHz. Los desplazamientos químicos están en ppm con respecto al TMS, utilizando  $\text{CDCl}_3$  como disolvente.



La estructura propuesta para III se ve apoyada por estudios de R.M.N. de  $^1\text{H}$  con reactivo de desplazamiento, en este caso - - Eu ( fod )<sub>3</sub>. Los resultados obtenidos de adiciones progresivas de Eu ( fod )<sub>3</sub>, se resumen en la tabla 2.

Como puede observarse las señales más afectadas por la formación del complejo paramagnético de Europio con el alcohol primario de III son las asignadas a H-6, 2H-19, H-7 $\alpha$  y H-3. Por otro lado las señales asignadas a los protones del metilo secundario y a H-12 sufren desplazamientos poco significativos en comparación a los anteriores. Estos resultados permiten proponer una orientación  $\beta$  para el metilo unido a C-9 y una configuración 12R. Asumiendo que el centro quiral C-12 no se ve afectado por la saponificación, la configuración en este centro en el producto original (II) debe ser asimismo R.

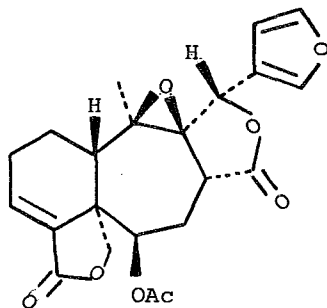
El tratamiento de la Salvigenólida con ácido *meta*-cloro perbenzoico en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , produce el epoxi derivado correspondiente ( IV ).

En el espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de IV ( espectro no. 6 ) se observa una señal simple que integra para tres protones, en 1.35 ppm asignada al metilo de la posición 9. La señal asignada, en el producto ariginal a H-12, sufre un desplazamiento a campo alto, - observándose en el epoxi derivado, como un singulete en 5.45 ppm. Este desplazamiento a campo alto está de acuerdo con la estructura propuesta para II, así como el observado para el metilo de la posición 9, ya que estos protones pierden su carácter alílico por la epoxidación. El protón H-8 muestra un comportamiento similar -

observándose en el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de IV como un doble de dobles centrado en 2.95 ppm.

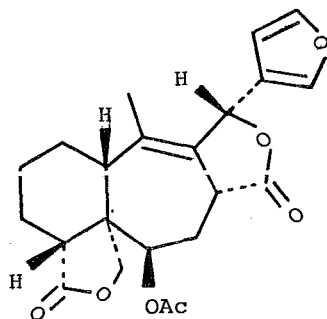
La epoxidación se ha llevado a cabo de manera situ-selectiva ya que en el espectro nº. 6 se sigue observando la señal para el protón vinílico H-3 en 7.05 ppm ( dd  $J= 8$  y  $3$  Hz ). Este resultado es congruente con el tipo de reactivo utilizado en la reacción.

La orientación propuesta en la estructura IV para el anillo de oxirano se apoya en el mecanismo de reacción aceptado para la epoxidación con AMCPB<sup>52</sup>, ya que ésta debe ser *syn* y por la cara menos impedida de la molécula, la cual es, en este caso y de acuerdo con los modelos Dreiding de la Salvigenólida ( II ), la cara  $\beta$ .



IV

La hidrogenación catalítica en condiciones suaves ( tem. amb. AcOEt ) de la Salvigenólida ( II ), satura situ - selectivamente el doble enlace de las posiciones 3,4, obteniéndose el dihidro derivado V. Este resultado es congruente con la presencia de un doble enlace tetrasustituido e impedido estericamente en la estructura de la Salvigenólida.



V

La estructura y estereoquímica propuesta para II se confirman de manera inequívoca al someter un cristal de esta sustancia a un estudio de difracción de Rayos X. La figura 1 muestra la proyección generada por la computadora.

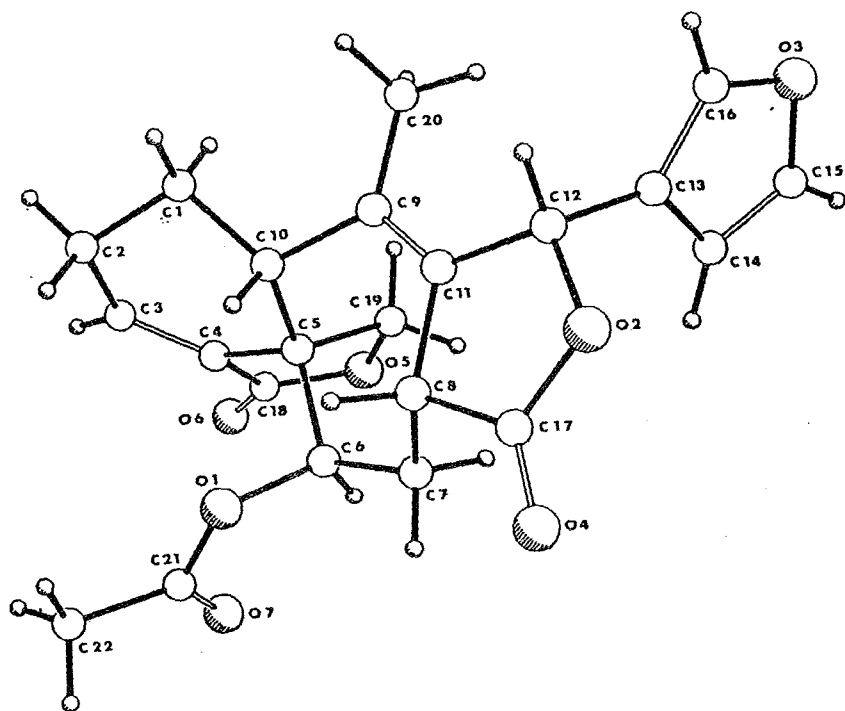


Figura 1.

TABLA No. 1  
DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS EN  $^{13}\text{C}$  DE LOS COMPONENTES DE  
S. FULGENS Y DERIVADOS

C No.	I*	II*	III**	V*
1	38.4	24.94 t	23.2 t	23.0 t
2	18.2	25.48 t	26.1	25.0 t
3	37.2	140.80 d	142.8 d	21.0 t
4	47.4	133.20 s	133.8 s	45.0 d
5	48.0	48.33 s	49.6 s	46.0 s
6	25.0	71.42 d	75.9 d	75.5 d
7	35.5	30.02 t	38.9 t	30.7 t
8	136.6	39.32 d	121.2 s	37.8 d
9	50.7	133.50 s	23.3 d	135.2 s
10	37.8	39.32 d	38.3 d	38.3 d
11	18.7	133.20 s	169.3 s	133.9 s
12	34.6	75.11 d	82.7 d	75.0 d
13	37.4	124.15 s	121.0 s	124.1 s
14	129.3	108.44 d	108.6 d	108.5 d
15	148.9	144.76 d	145.0 d	144.7 d
16	110.2	140.94 d	137.4 d	141.1 d
17	26.1	179.69 s	173.3 s	176.8 s
18	185.5	168.44 s	168.1 s	177.8 s
19	16.8	68.99 t	66.8 t	69.1 t
20	15.3	15.70 c	14.3 c	16.7 c
21		169.00 s		169.4 s
22		20.80 c		20.7 c

\* Corridos en  $\text{CDCl}_3$  a 20 MHz - Referencia interna TMS.

\*\* Corrido en Piridina- $\text{d}_5$ , Los desplazamientos químicos están en ppm.. s = singulete, d = doblete, t = triplete, c = cuarteto.

## 2.- Los constituyentes químicos de *Salvia lineata* Benth.

La *Salvia lineata* Benth. al igual que la *S. fulgens*, se encuentra clasificada dentro de la sección *Fulgentes* del género *Salvia*. Es un arbusto perenne, restringido a los estados de Puebla y Oaxaca. No existen datos en la literatura sobre alguna aplicación medicinal de esta especie y en las regiones donde crece no es utilizada por los pobladores de la región.

De esta especie se analizaron dos poblaciones, recolectadas en la misma época del año, una en el estado de Puebla y la segunda del estado de Oaxaca.

Del extracto acetónico de la población recolectada en Puebla, se lograron aislar varios metabolitos secundarios, cuya caracterización se describe a continuación.

El componente menos polar presentó un p.f. = 133-134°C y fué identificado como  $\beta$ -sitosterol, por comparación con los datos descritos en la literatura para esta sustancia<sup>44</sup>.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 8:2 ) se logró aislar un sólido amorfo blanco. El espectro de I.R. de esta sustancia mostró bandas características para una función ácido carboxílico ( 3000 y 1690  $\text{cm}^{-1}$  ). El tratamiento de este producto con solución éterea de diazometano, produce el correspondiente éster metílico. Las propiedades físicas y espectroscópicas del éster metílico de este metabolito permiten caracterizarlo como ácido olea -

nólico ( VI ). La identidad de esta sustancia se comprobó por comparación directa del éster metílico ( VII ) con una muestra auténtica<sup>54</sup>.

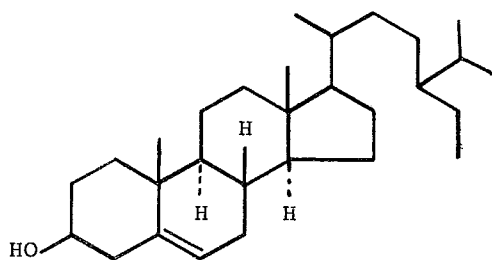
De esta población de *S. lineata* se lograron aislar además 2 metabolitos secundarios de tipo diterpénico con esqueleto de entclerodano. La elucidación estructural y estereoquímica de estos productos se describe a continuación.

El componente diterpénico más abundante es un sólido cristalino con p.f. = 198-199°C ( metanol ),  $[\alpha]_D^{20} = -199.5$  ( c 0.22, CHCl<sub>3</sub> ). El peso molecular de esta sustancia determinado por espectrometría de masas y análisis elemental, corresponde a una fórmula molecular C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>.

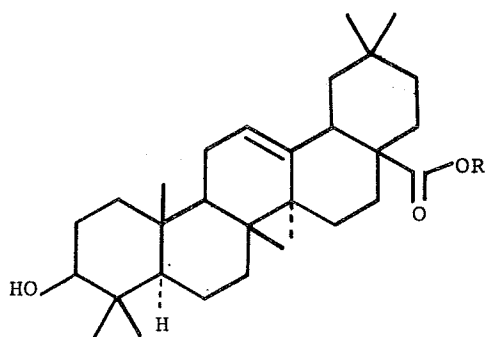
El espectro de I.R. ( nujol ), muestra bandas indicativas de anillo de furano ( 3129, 1502 y 874 cm<sup>-1</sup> ), de  $\gamma$  lactona saturada ( 1773 cm<sup>-1</sup> ), de  $\delta$  lactona saturada ( 1703 cm<sup>-1</sup> ) y de dobles ligaduras ( 1662 y 1647 cm<sup>-1</sup> ).

El espectro de U.V. ( metanol ) presenta máximos en 263 ( 15 000 ), 272 ( 14 000 ) y 281 ( inflexión ) que sugieren la presencia de un dieno conjugado homoanular en la estructura de esta molécula.

Estos datos sumados a los de R.M.N. <sup>1</sup>H, corresponden a los descritos en la literatura por Brieskorn y Stehlee para el anhidroderivado ( VIII ) del " principio amargo " ( IX ), aislado de la *Salvia rubescens*<sup>55</sup>. La comparación directa ( pf., IR, RMN <sup>1</sup>H y EM )



$\beta$  - sitosterol



VI. R = H

VII R = Me



de una muestra auténtica de VIII<sup>56</sup>, con el diterpeno aislado, como producto natural, de *S. lineata*, revela que son la misma sustancia.

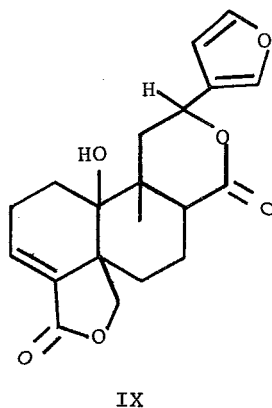
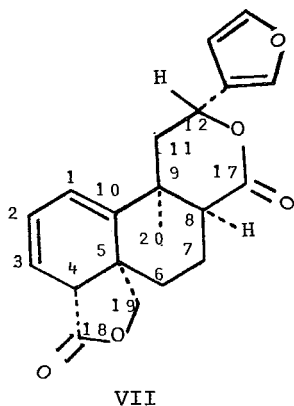
En el estudio fitoquímico de la *Salvia rubescens*, no se asignó la estereoquímica al producto VIII, ni se obtuvo su espectro de <sup>13</sup>C. La estereoquímica propuesta en este estudio para VIII, está apoyada por un cuidadoso análisis de sus espectros de R.M.N. de <sup>1</sup>H y de <sup>13</sup>C, los cuales aportan la siguiente evidencia.

El espectro de R.M.N. <sup>1</sup>H de VIII ( Espectro no. 8 ) muestra además de las señales correspondientes a los protones un furano β-sustituido (H-14,15 y 16 ) y de los protones del dieno homoanular ( H-1, 2 y 3 ), un sistema AB en 4.45 ( d, J = 8 Hz ) y 3.19 ppm ( dd, J = 8 y 2 Hz ), el cual se asigna a los protones diastereotópicos de la posición 19. El protón *pro-S* de este metileno presenta un acoplamiento a larga distancia de tipo W ( <sup>4</sup>J = 2 Hz ) con el protón de la posición 6β. Este hecho, previamente mencionado, permite proponer una orientación α-axial para el metileno C-19 y la ausencia de sustituyentes en la posición 6β.

Una señal compleja centrada en 2.55 ppm, en el espectro de R.M.N. <sup>1</sup>H a 80 MHz de VIII, fué asignada a H-8. La señal se encuentra sobrepuesta a otras señales, por lo cual no fué posible medir el valor de las constantes de acoplamiento para este protón. El valor de estas constantes es importante para decidir la estereoquímica en C-8. Por este motivo se obtuvo el espectro de R.M.N. <sup>1</sup>H de VIII a 300 MHz<sup>59</sup> ( espectro no. 9 ). La ampliación horizontal y vertical de este espectro ( espectro no. 10 ) permiten observar a H-8

como un triplete (  $J = 2.4 \text{ Hz}$  ) centrado en  $2.55 \text{ ppm}$  . El valor de la constante de acoplamiento (  $2.4 \text{ Hz}$  ) indica interacciones *ecuatorial - ecuatorial* y *ecuatorial - axial* para H-8 con los protones del metileno de la posición 7, lo cual sugiere una orientación  $\alpha$  - *ecuatorial* para H-8 y por lo tanto el sustituyente unido a C-8 ( C-17 ) es  $\beta$ -*axial*.

El espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de VIII (  $80 \text{ MHz}$  ), muestra además en la región de campo alto , en  $1.25 \text{ ppm}$  , una señal simple que integra para 3 protones, la cual fué asignada al metilo  $\alpha$ -*axial* unido a la posición 9. La irradiación de este metilo a  $300 \text{ MHz}$ , bajo las condiciones adecuadas, produce efecto nuclear de Overhauser ( NOE )<sup>59</sup> en las señales asignadas a los protones del metileno C-19 y en la señal asignada a H-8 . Estos resultados son congruentes con la estereoquímica propuesta para el anillo B de VIII ( espectro no. 11 ).



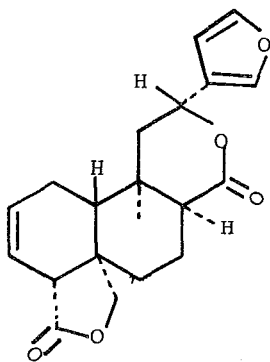
Otra serie de señales, notables en el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de VIII ( espectro no. 8 ), son las correspondientes a un sistema ABX. La parte X de este sistema se localiza centrada en 5.45 ppm ( dd,  $J = 12$  y  $4$  Hz ), esta señal se asigna al protón de la posición 12. El valor de las constantes de acoplamiento (  $12$  y  $4$  Hz ) de esta señal, indican una orientación *axial* para H-12. La parte complementaria del sistema ( parte AB ) se localiza en 2.66 ( dd,  $J = 16$  y  $4$  Hz ) y en 1.92 ppm ( dd,  $J = 16$  y  $12$  Hz ), estas señales corresponden a los protones *ecuatorial* y *axial* de la posición 11 respectivamente.

El espectro de R.M.N. de  $^{13}\text{C}$  de VIII ( tabla no.3, espectro no. 12 ) permite proponer la configuración en torno a C-12. La comparación del desplazamiento químico de las señales de los carbonos de la  $\delta$  lactona presente en VIII, con los descritos en la literatura para la Salviarina ( X )<sup>57</sup> permiten proponer una configuración 12R, lo cual está de acuerdo con la orientación *axial* para H-12, deducida a partir de los valores de las constantes de acoplamiento. La validez de esta asignación por comparación, se ve apoyada en el hecho de que la estructura y estereoquímica propuestas para la Salviarina ( X ) han sido confirmadas por difracción de Rayos X. De esta comparación se puede proponer asimismo una orientación  $\beta$  para H-4 y por lo tanto una fusión *cis* para la  $\gamma$  lactona unida al anillo A de VIII ( tabla 4 ).

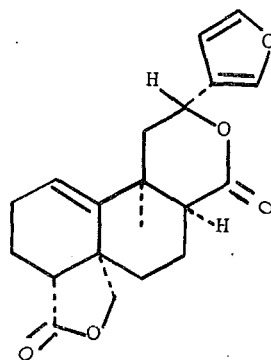
El producto VIII aislado como metabolito secundario de *Salvia lineata*, está estrechamente relacionado con la Salviarina ( X ), aislada a su vez de *Salvia splendens*, por lo cual debe de denominar-

se 1,10-dehidrosalviarina. Es importante señalar que H-8 en X y en el compuesto VIII tiene una orientación  $\alpha$ , contraria a la que presenta este protón en la mayoría de los diterpenos con esqueleto de *ent*-clerodano.

La hidrogenación catalítica de VIII en condiciones suaves, produce el dihidro derivado XI. La presencia en  $^{13}\text{C}$  de un doblete en 123.8 y de un singulete en 137.5 ppm indica que el hidrógeno se ha adicionado al doble enlace entre las posiciones 2,3 de la molécula original ( espectro no.13 Tabla no. 3 ). Este resultado es congruente con la estructura y estereoquímica propuesta para la 1,10-dehidrosalviarina ( VIII ), ya que el estudio de un modelo molecular de esta sustancia indica que el doble enlace entre C-1 y C-10 esta impedido estericamente por las dos caras de la molécula ( cara  $\beta$  por la  $\delta$  lactona y cara  $\alpha$  por la  $\gamma$  lactona ).



X

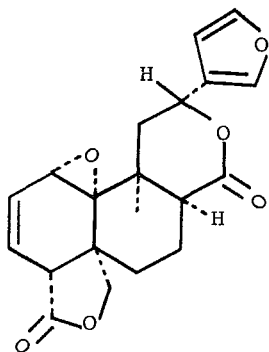


XI

El segundo diterpeno aislado de esta población de *S. lineata* es una sustancia no descrita en la literatura, tiene un p.f. = 255-256°C ( metanol - éter *iso*-propílico ) y se le asignó la estructura XII. El peso molecular de XII fué determinado por espectrometría de masas y concuerda con una fórmula molecular  $C_{20}H_{20}O_6$ .

El espectro de I.R. de este diterpeno presenta bandas indicativas de furano ( 3141, 1502 y 876  $cm^{-1}$  ), de  $\gamma$  y  $\delta$  lactonas (1784 y 1707  $cm^{-1}$ ) y de dobles ligaduras ( 1655  $cm^{-1}$ ).

El espectro de R.M.N.  $^1H$  de este diterpeno ( XII ) ( espectro no. 14 ), es parecido al de la 1,10-dehidrosalviarina ( VIII ), siendo el espectro de XII menos complejo en la región de los protones vinílicos. La fórmula molecular de XII presenta el mismo grado de insaturación que manifiesta la de la 1,10-dehidrosalviarina - ( en ambos casos 11 insaturaciones ). Estos hechos, así como la presencia de un oxígeno más en la fórmula molecular de XII, sugieren la presencia de un epóxido. Con base en estos datos y en un análisis cuidadoso de los espectros de R.M.N. de  $^1H$  y  $^{13}C$  obtenidos para XII, se propone que este producto es la  $1\alpha,10\alpha$ -epoxisalviarina, de acuerdo con la siguiente discusión.



XII

El espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de XII ( espectro no. 14 ), muestra un doble de dobles centrado en 3.5 ppm (  $J = 4$  y 2 Hz ) el cual se asigna, por desplazamiento químico al protón base de un epóxido - ( H-1 ). En la región de los protones vinílicos se observan señales para dos protones en 5.65 ( ddd,  $J = 10,3$  y 2 Hz ) y en 6.25 ppm ( ddd,  $J = 10,4$  y 2 Hz ) asignados a los protones 3 y 2 respectivamente. En la región de campo alto del espectro se localiza una señal doble de doble (  $J = 2$  y 3 Hz ) centrada en 2.85 ppm la cual se asigna al protón H-4 $\beta$ . Las asignaciones anteriores se comprueban por una serie de experimentos de doble resonancia magnética nuclear. Al efectuarse dicho experimento en la frecuencia de H-1 ( 3.5 ppm ), la señal asignada a H-3 se simplifica a un doble de dobles (  $J = 10$  y 3 Hz ), al mismo tiempo la señal correspondiente a H-2 se modifica a un doble de dobles (  $J = 10$  y 2 Hz ). Al saturar la señal asignada a H-4 $\beta$  ( 2.85 ppm ), la señal centrada en 5.65 ppm ( H-3 ) se transforma en un doble de dobles (  $J = 10$  y 2 Hz ) y la señal asignada a H-2 pierde un acoplamiento de 2 Hz, observándose como un doble de dobles con  $J = 10$  y 4 Hz.

El espectro de R.M.N. de  $^{13}\text{C}$  ( espectro no. 15, Tabla 3 ), confirma la presencia de un oxirano trisustituido  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturado ya que se observan señales en 51.47 ( d ), 67.4 ( s ), 126.21 ( d ) y 126.7 ppm ( d ), asignadas a los carbonos C-1, C-10, C-2 y C-3 respectivamente y un doblete en 49.71 ppm correspondiente a C-4.

La orientación propuesta para el anillo de oxirano (  $1\alpha, 10\alpha$  ) se apoya en el desplazamiento a campo alto observado para el C-19

(  $\Delta\delta = 4.85$  ) y el C-20 (  $\Delta\delta = 6.1$  ) en el espectro de  $^{13}\text{C}$  de XII con respecto al de VIII. Se propone que este efecto es debido a la compresión estérica que el anillo del epóxido produce sobre C-19 y C-20. Para que este fenómeno sea factible es necesario que tanto C-19, C-20 como el epóxido tengan la misma orientación. La similitud entre los datos de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  de XII comparados con los de VIII permiten proponer una orientación  $\alpha$ -axial para C-19 al igual que - para C-20 ( ver Tabla 4 ), lo que permite concluir una orientación  $1\alpha$  ,  $10\alpha$  para el anillo de oxirano.

En el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  ( espectro no. 14 ) de XII se pueden observar también las señales correspondientes a un sistema ABX. La parte X de este sistema se localiza en 5.75 ppm (dd) y se asigna al protón al protón H-12 el cual debe de ser *axial*, ya que presenta valores de constantes de acoplamiento de 12 y 4 Hz. La parte AB se localiza en 2.15 ( dd, J = 16 y 4 Hz ) y en 1.65 ppm ( dd, J = 16 y 12 Hz ). Estas señales corresponden a H-11 *ecuatorial* y H-11 *axial* respectivamente.

Las señales características de los protones de la posición 19, se localizan en el espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de XII, en 4.1 y 4.4 ppm como un sistema AB ( J = 8 Hz ). A pesar de que no existe sustituyente en la posición 6 $\beta$ , el protón *pro-S* ( 4.1 ppm ) de este sistema no muestra acoplamiento a larga distancia. Este fenómeno se debe a la presencia del anillo de oxirano, ya que éste impide el arreglo adecuado (  $W$  ) para que se presente dicho acoplamiento. Esta explicación esta fundamentada en el estudio de modelos molecula-

lada de *Salvia coccinea*<sup>62</sup>) en 0.9 ppm ( en piridina-d<sub>5</sub> ). En los dos últimos compuestos, la característica es poseer una  $\delta$  lactona *trans* 8 $\alpha$ ,9 $\beta$ .

Aunque la información a la mano es muy limitada se puede proponer que la fusión *cis* de la lactona de 6 miembros provoca el desplazamiento a campo bajo del metilo unido a la posición 9, el cual es de naturaleza angular con respecto a la lactona y al anillo B.

b).- En el espectro de R.M.N. <sup>13</sup>C la señal para el carbono del metilo ( C-20 ) se observa en los compuestos VIII y XII a un campo anormalmente bajo con respecto a los compuestos que presentan lactona de 6 miembros con fusión *trans*. Esta característica de los compuestos VIII y XII, la comparten la Salviarina ( X ) ( C-20 en 23.7 ppm ) y la 1-oxo-6 $\alpha$ -angeloiloxi-dihidrosalviarina ( XIII ) ( C-20 en 22.8 ppm ), en las cuales existe una  $\delta$  lactona *cis*. El efecto es notable si comparamos con la Bacchotricunearina A ( XV ) ( C-20 en 19.6 ppm ). En los compuestos VIII y XII, el fenómeno al que se hace referencia, es muy marcado ( XII, C-20 en 26 ppm y VIII, C-20 en 32 ppm ) debido, probablemente, a la presencia de 2 insaturaciones en el anillo A, además de la fusión *cis* de la  $\delta$  lactona.

Se puede proponer que las causas que provocan este fenómeno, en <sup>13</sup>C, son las mismas que originan el desplazamiento a campo bajo de las señales de los metilos en R.M.N. protónica.

De esta misma población de *Salvia lineata* recolectada en Puebla se lograron aislar 2 componentes de tipo flavonoide, los cuales



res de XII ( modelos Dreiding ).

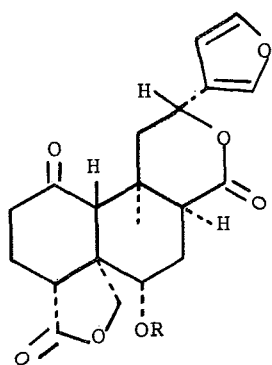
La fusión de las lactonas presentes en la estructura de XII, se proponen *cis* en ambos casos (  $\delta$  lactona 8 $\beta$ ,9 $\beta$ ; y lactona 4 $\alpha$ ,5 $\alpha$  ) por comparación de los datos de  $^{13}\text{C}$  de XII con los de VIII y X. De esta comparación es posible proponer una configuración 12R, la - cual esta de acuerdo con la orientación *axial* propuesta para H-12, con base en los valores de sus constantes de acoplamiento ( Tabla 3 y 4 ).

De acuerdo con lo anterior XII está relacionado al igual que VIII con la Salviarina X y debe de nombrarse 1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -epoxisalviarina.

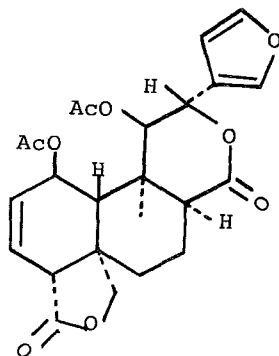
Es importante una vez establecidas las estructuras de ambos componentes diterpénicos, señalar algunos hechos interesantes con respecto a los espectros de R.M.N. de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  de ambos compuestos en relación a estructuras descritas en la literatura.

a).- La señal para el metilo unido a la posición 9 se observa en los espectros de R.M.N.  $^1\text{H}$  de VIII y XII en 1.2 ppm en promedio. Este desplazamiento químico es similar al que se observa para el metilo en C-9 en los compuestos XIII ( aislado de *Aster alpinus*<sup>69</sup>, X ( aislado de *Salvia splendens*<sup>57</sup> ) y XIV ( aislado de *S. splendens*<sup>58</sup> ). La característica en común de estos compuestos es poseer una  $\delta$  lactona *cis* 8 $\beta$  , 9 $\beta$  . Por otro lado en la Bacchotricuneatina A ( XV ) ( aislada de *Baccharis tricuneata*<sup>61</sup> ) la señal de este metilo se - observa en 0.85 ppm. desplazamiento similar al observado en la 7, 8 $\beta$ -dihidrosalvicoccinea ( XVI ) ( derivado de la Salvicoccinea, ais-

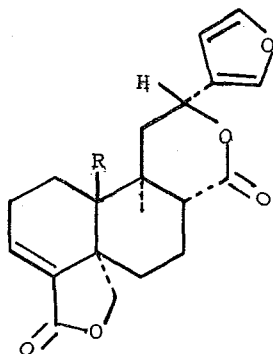
fueron caracterizados como la 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona ( XVII ) y la 5,3',4'-trihidroxi-6,7-dimetoxiflavona ( XVIII ). La identidad de estas moléculas se estableció por comparación de las propiedades espectroscópicas de los productos aislados con las descritas en la literatura <sup>63, 64</sup>.



XII. R = Ang.

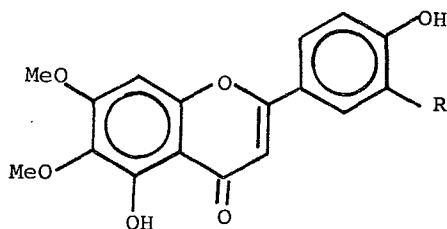


XIV



XV. R = H

XVI R = OH



XVII R = H

XVIII R = OH

TABLA IV

COMPARACION DE LOS DATOS DE <sup>13</sup> C DE X CON LOS DE VIII Y XII

δ lactona

C No.	X*	VIII	XII
8	49.0	48.5	46.3
9	35.1	37.7	37.7
11	40.8	40.7	39.0
12	70.5	70.8	72.0
17	171.4	171.3	171.2

γ lactona

C No.	X*	VIII	XII
4	52.1	51.7	49.7
5	41.4	42.5	44.1
19	70.0	75.8	70.9
18	175.4	177.1	174.8
6	32.4	32.1	30.0

\* Datos tomados de la Referencia 57.

Se analizó una segunda población de *Salvia lineata* Benth., recolectada en esta ocasión en el estado de Oaxaca. Del extracto acetónico de este espécimen se lograron aislar varios componentes entre ellos  $\beta$ -sitosterol, ácido oleanólico ( VI ), el compuesto VIII fué aislado nuevamente como el componente diterpénico más abundante. El producto XII no fué aislado en esta población. Se logró aislar, sin embargo, otro compuesto de tipo diterpénico el cual se denominó Linearifolina ( XIX ). Esta sustancia fué aislada como un producto cristalino poco abundante con p.f.= 229-230°C.

El espectro de masas de XIX permite establecer una fórmula molecular  $C_{20}H_{20}O_5$  para este nuevo diterpeno de *Salvia lineata*. El espectro de I.R. (  $CHCl_3$  ) de XIX presenta bandas en 1750, 1730 y  $1660\text{ cm}^{-1}$ , indicativas de  $\gamma$  lactona no saturada,  $\delta$  lactona saturada y dobles ligaduras respectivamente.

La información más importante para establecer la estructura de XIX fué obtenida del espectro de R.M.N. de  $^1H$  ( espectro no. 16 ), en el cual se observa, en la región de los protones vinílicos, señales para 3 hidrógenos en 6.25 ( m, 2H ) y en 6.9 ppm ( da,  $J = 4\text{ Hz}$  ), los cuales se asignan a los protones  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$  de una  $\gamma$  lactona  $\alpha$ ,  $\beta$ :  $\gamma$ ,  $\delta$  insaturada ( H-1, H-2 y H-3 ). La señal en 6.9 ppm se asigna al protón  $\beta$  ( H-3 ), el cual sufre un desplazamiento a campo bajo debido a la anisotropía del carbonilo de la  $\gamma$  lactona. Una mejor resolución de estas señales se obtienen al determinar el espectro de XIX en  $C_6D_6$  ( espectro no. 17 ). La señal para H-1 se observa como un ddd (  $J = 10, 1\text{ y }1\text{ Hz}$  ) centrada en

5.85 ppm, H-2 es responsable de un doble de dobles (  $J = 10$  y  $4$  Hz ) centrado en 5.65 ppm. El protón H-3 se observa como un doble de dobles bien definido en 6.65 ppm (  $J = 4$  y  $1$  Hz ). La relación entre estas señales, así como la relación con H-10 ( sa, en 1.55 ppm  $W_{1/2} = 4$  Hz ) se confirma con experimentos de doble resonancia ( espectros 17 y 18 ). Al saturar la señal asignada a H-3 ( 6.65 ppm ), la correspondiente a H-2 se simplifica a un doblete (  $J = 10$  Hz ), al mismo tiempo la señal para H-1 se transforma a un doble de dobles (  $J_{1-2} = 10$  Hz,  $J_{1-10} = 1$  Hz ). La irradiación sobre H-1 y H-2 simultáneamente provoca que la señal para H-3 colapse a un singulete. Al mismo tiempo la señal asignada a H-10 se afina notablemente. Finalmente al desacoplar la señal observada para H-10 ( 1.55 ppm ), la señal debida a H-1 se transforma a un doble de dobles (  $J_{1-2} = 10$  Hz,  $J_{1-3} = 1$  Hz ), mientras que las señales correspondientes a H-2 y H-3 permanecen sin cambio. El espectro de U.V. de la Linearifolina ( XIX ) apoya la presencia de una  $\gamma$  lactona  $\alpha$ ,  $\beta$  :  $\gamma$ ,  $\delta$  no saturada, ya que se observa un máximo de absorción a 300 nm (  $\epsilon = 9842$  ) correspondientes a este cromóforo.

En el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  (  $\text{CDCl}_3$ , espectro no. 16 ) de XIX, se pueden observar también las señales de un sistema AB en 4.5 ( d,  $J = 9$  Hz ) y 4.0 ppm ( dd,  $J = 9$  y  $1$  Hz ) típicas de los protones diastereotópicos de la posición 19. El protón *pro-S* de este metileno muestra un acoplamiento a larga distancia (  $^4J = 1$  Hz ) con el protón de la posición 6 $\beta$ , lo cual sugiere la ausencia de sustituyente en dicha posición y una fusión de anillos A/B

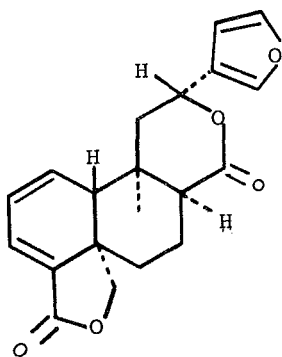
<sup>50</sup>  
*trans* .

El espectro de R.M.N.  $^{13}\text{C}$  de la Linearifolina ( XIX ) ( Tabla 3 espectro no. 19 ) permite proponer una fusión *cis* para la  $\delta$  lactona ya que la señal para el C-20 se localiza en 31.4 ppm, desplazamiento similar al encontrado para este átomo de carbono en los espectros correspondientes de XII y VIII ( ver Tabla 3 ). La señal de este metilo en R.M.N. de  $^1\text{H}$  se localiza en el espectro no. 16 en 1.3 ppm ( s,3H ), desplazamiento casi idéntico al encontrado en XII y VIII.

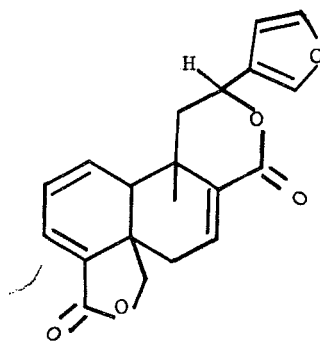
Con base en los datos previamente discutidos se propone la estereoquímica en los centros quirales C-5, C-8, C-9 y C-10 como se muestra en la estructura XIX, faltando por asignar la configuración en torno a C-12. La estereoquímica en este centro se propone como 12R, con base en una posible relación biogénica de la Linearifolina con la 1,10 dehidrosalviarina ( VIII ).

La señal para H-12 en R.M.N. de  $^1\text{H}$ , se observa como un doblete de tripletes (  $J = 8$  y  $1$  Hz ) centrada en 5.7 ppm. La multiplicidad y constantes de acoplamiento son diferentes a las observadas para XII y VIII. Sin embargo el valor de  $J = 8$  Hz sugiere una orientación *axial* para este protón, por lo que se propone una configuración 12R como la más probable.

La estructura de la Linearifolina ( XIX ) está relacionada con la de la Gesnerofolina B ( XX ), compuesto aislado de *Salvia gesneraeifolia*<sup>37</sup>. Esta relación puede tener importancia quimiotaxonómica como se discutirá más adelante.



XIX



XX

TABLA No. 3

DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS EN  $^{13}\text{C}$  DE LOS COMPONENTES  
DE S. LINEATA

C No.	VIII *	XII	XIX
1	119.6 d	51.5 d	126.0 d
2	119.1 d	126.2 d	128.5 d
3	125.0 d	126.7 d	133.4 d
4	51.7 d	49.7 d	133.0 s
5	42.4 s	44.1 s	40.0 s
6	32.1 t	30.0 t	22.0 t
7	19.1 t	18.8 t	16.8 t
8	48.4 d	46.3 d	50.2 d
9	37.6 s	37.6 s	35.3 s
10	139.7 s	67.3 s	41.4 d
11	40.7 t	39.0 t	36.7 t
12	70.8 d	72.0 d	71.0 d
13	124.8 s	125.9 s	127.3 s
14	108.5 d	108.2 d	108.7 d
15	143.7 d	143.8 d	144.5 d
16	139.6 d	139.4 d	138.8 d
17	171.3 s	171.1 s	172.6 s
18	177.1 s	174.8 s	168.6 s
19	75.8 t	70.9 t	77.0 t
20	32.1 c	26.0 c	31.4 c

Corridos en  $\text{CDCl}_3$  a 20 MHz. Desplazamientos químicos en ppm con respecto al TMS.

\* Estas asignaciones fueron comprobadas por medio de experimentos de desacoplamiento intermitente (GATED DECOUPLING) y de inversión-recuperación (APT).



3.- Los componentes diterpénicos de *Salvia microphylla* var. *microphylla*.

La *Salvia microphylla*, se encuentra clasificada de acuerdo con Epling<sup>33</sup> en la sección *Fulgentes* del género *Salvia*. Es un arbusto perenne de vistosas flores rojas, que presenta una distribución muy amplia. Se le puede localizar en el Valle de México, en los estados de Michoacán, Jalisco, Hidalgo y Durango principalmente.

Existen al menos 2 variedades de esta especie : la variedad *microphylla* y la variedad *neuropea* . La variedad *microphylla* o variedad *auténtica* se localiza en el Valle de México y alrededores, mientras que la otra variedad se localiza al norte de la República mexicana. Las diferencias morfológicas entre estas variedades son tan marcadas, que se ha sugerido que esta especie está en proceso de diversificación<sup>33</sup> .

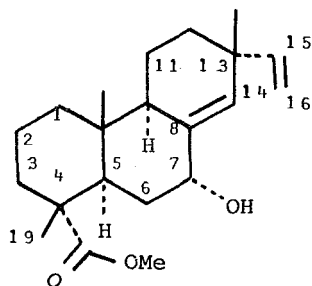
La *Salvia microphylla* es utilizada en la medicina tradicional de nuestro pueblo para curar padecimientos estomacales y se conoce con el nombre de " mirto ". Es interesante el hecho de - que ambas variedades son usadas y sirven para curar el mismo tipo de padecimientos.

El espécimen analizado en este estudio fué recolectado en el mes de julio de 1984, en el cerro del Ajusco y fué identificado como la variedad *microphylla*.

Del extracto acetónico de esta planta, se lograron caracterizar 4 componentes diterpénicos, 3 de ellos pertenecen al grupo del pimarano ( XXI, XXII y XXIV ) y uno de ellos ( XXV ) presenta un esqueleto de *ent*-clerodano. Se discutiran primero las estructuras de los pimaranos aislados de esta especie.

De los pimaranos caracterizados, 2 se aislaron como ésteres metílicos ( XXI y XXII ) ( ver parte experimental ). El componente más abundante XXI se obtuvo como un aceite. El espectro de I.R. de esta sustancia presenta bandas en 3600 ( oxhidrilo ), 1705 - ( carbonilo de éster ) y en 1630 y 1600  $\text{cm}^{-1}$  indicativas de dobles enlaces, de los cuales al menos uno corresponde a un grupo vinilo ( 1000 y 905  $\text{cm}^{-1}$  ).

El espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de XXI ( espectro no. 20 ) confirma la presencia de un grupo vinilo, ya que se observan las señales - características para los protones de dicha agrupación en 5.76 ( dd,  $J = 18$  y 10 Hz ), 4.9 ( dd,  $J = 18$  y 1 Hz ) y 4.89 ppm ( dd,  $J = 10$  y 1 Hz ) asignadas a los protones de la posición 15, 16 *trans* y 16 *cis* ( con respecto a H-15 ) respectivamente.



XXI

Se observa asimismo un doblete en 5.5 ppm (  $J = 2 \text{ Hz}$  ) el cual corresponde al protón vinflico H-14.

Un triplete centrado en 4.1 ppm (  $J = 2 \text{ Hz}$  ) se asigna a un protón unido a un átomo de carbono enlazado a una función oxigenada, en esta caso un oxhidrilo ( I.R.  $3600 \text{ cm}^{-1}$  ). Este oxhidrilo debe tener una orientación  $\alpha$ -axial como lo indica el valor de la constante de acoplamiento de su protón geminal ( H-7 ) (  $J = 3 \text{ Hz}$  ) y debe de ser alílico ( desplazamiento químico ).

Se puede localizar en este espectro, la señal para tres metilos sobre carbonos totalmente sustituidos en 0.8 ( 3H-20 ), 1.05 ( 3H-17 ) y 1.2 ppm ( 3H-19 ). Estos metilos son típicos de este tipo de diterpenos.

La presencia de un alcohol alílico en la molécula XXI, se confirmó de dos formas independientes. Al adicionar isocianato de tricloroacetilo ITA al tubo de resonancia se forma *in situ* el correspondiente carbamato ( espectro no. 21 ). La formación de este derivado se confirma por la presencia en el espectro 21 de la señal correspondiente al protón del carbamato (  $\text{Cl}_3\text{C-NH-COOR}$  ) en 8.2 ppm ( 1H ). En el espectro de este derivado la señal para H-7 se localiza en 5.35 ppm y la correspondiente a H-14 sufre un desplazamiento notable a campo bajo, observándose en 5.75 ppm (  $\Delta\delta = 0.25$  ), lo cual indica que este protón se encuentra cercano al alcohol secundario, el cual debe ser por lo tanto alílico.

Se confirma definitivamente la presencia de un alcohol alílico en XXI, al obtener, por oxidación con  $\text{MnO}_2$ , la correspondiente

cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada ( XXII ). En el espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  de este derivado ( espectro no. 22 ) la señal para H-14 se localiza en 6.7 ppm como un doblete (  $J = 2 \text{ Hz}$  ), es decir sufre un desplazamiento a campo bajo (  $\Delta\delta = 1.2$  ) con respecto al producto original, ya que ahora es el protón  $\beta$  de una cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada y está sometido a una desprotección debida a la anisotropía del carbonilo de la posición 7.

Los datos anteriores permiten establecer la identidad de esta sustancia como el 7 $\alpha$ -hidroxi-sandaracopimarato de metilo. Esta sustancia ha sido aislada previamente de *Juniperus communis*<sup>65</sup>.

El tratamiento de XXI con  $\text{LiAlH}_4$  en THF, produce el diol XXIII, el cual es idéntico ( pf, IR, R.M.N.  $^1\text{H}$  y EM ) a un diterpeno aislado de *Iboza riparia* ( *Labiatae* )<sup>66</sup>, cuya estructura y estereoquímica fueron comprobadas por difracción de Rayos X. Esta correlación confirma la estructura y estereoquímica propuestas para XXI.

El producto XXII ( 7-oxo- sandaracopimarato de metilo ) se encuentra presente como producto natural en la planta, en muy pequeñas cantidades. La identificación de este producto, fué llevada a cabo por cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), utilizando como referencia el producto de oxidación de XXI, siendo esta la primera ocasión que se encuentra esta sustancia como producto natural.

El tercer componente diterpénico, aislado de *S. microphylla*, presenta un p.f. de 170-171°C ( acetona - éter *iso* propílico ), la

estructura propuesta para esta sustancia : 7,15-isopimaradien-14 $\alpha$ , 18 diol ( XXIV ), está de acuerdo con los siguientes datos.

El espectro de masa presenta el ion molecular ( $M^+$ ) a  $m/z$  de 304, lo que corresponde a una fórmula molecular  $C_{20}H_{32}O_2$ . El espectro de I.R. (  $CHCl_3$  ) presenta bandas que pueden atribuirse a oxhidrilos (  $3626\text{ cm}^{-1}$  ) y dobles enlaces ( 1635 y 1602 ), uno de los cuales corresponde a un grupo vinilo (  $1000$  y  $920\text{ cm}^{-1}$  ).

En el espectro de R.M.N.  $^1H$  (  $C_6D_6$  ) ( espectro no. 23 ) se pueden observar, además de las señales de los protones del grupo vinilo ( ver parte experimental ), las correspondientes a un hidroximetileno en 3.35 (  $d, J = 10\text{ Hz}$  ) y en 2.85 ppm (  $d, J = 10\text{ Hz}$  ) asignadas a los protones de la posición 18. El desplazamiento químico del sistema AB formado por estos protones, indica una orientación ecuatorial para este grupo de acuerdo con datos descritos en la literatura<sup>67</sup> (  $CDCl_3$  : 3.35 y 3.1 ppm  $\delta A + \delta B/2 = 3.22$  ). La R.M.N. de  $^{13}C$  ( espectro no. 24 Tabla 6 ) apoya esta orientación ya que la señal para C-18 se observa como un triplete en 70.9 ppm, desplazamiento esperado para un hidroximetileno ecuatorial<sup>68</sup>.

Otras señales relevantes en el espectro de resonancia protónica de XXIV (  $CDCl_3$  ) ( espectro no. 25 ) son las debidas a un protón vinílico de un doble enlace trisustituido localizada en 5.65 ppm (  $m, 1H$  ) y a un protón unido a un átomo de carbono enlazado a un oxígeno, en 3.6 ppm (  $sa, 1H$  ), las cuales se asignan al protón H-7 y al de la posición 14 respectivamente.

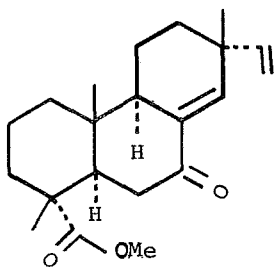
Las señales para los metilos presentes en la molécula se - -

observan en el espectro no. 24 (  $\text{CDCl}_3$  ) sobrepuestas en una sola señal que integra para 9 protones, en 0.85 ppm. La adición de 4.5 mg de  $\text{Eu}(\text{fod})_3$  a una muestra ,permite observar las señales para los tres metilos en 1.1, 1.2 y 1.5 ppm correspondientes a C-20, C-17 y C-19 respectivamente ( espectro no. 26 ). Adiciones progresivas de  $\text{Eu}(\text{fod})_3$  provocan cambios significativos en las señales del espectro de resonancia protónica de XXIV. Los resultados de estos experimentos se resumen en la Tabla no. 5.

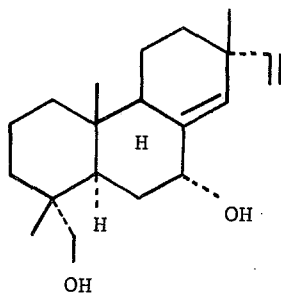
De estos experimentos se puede deducir una relación *anti* entre el alcohol de la posición 14 y el metilo de la posición 13, ya que este último grupo sufre desplazamientos similares al metilo de la posición 10, el cual está alejado del sitio de complejación. Por otro lado las señales del grupo vinilo, experimentan cambios significativos, en particular los protones H-15 y H-16 *cis* (con respecto a H-15 ). El análisis de modelos moleculares de XXIV, indica que estos resultados son congruentes con la estereoquímica propuesta para el anillo C de esta molécula.

El espectro de  $^{13}\text{C}$  está de acuerdo con la discusión anterior, ya que se observan las señales y multiplicidades esperadas para esta molécula ( Tabla 6 ). El desplazamiento a campo alto observado por el C-15 con respecto al pimarol<sup>69</sup> se debe al efecto  $\gamma$ -*gauche* del grupo oxhidrilo. La ausencia de este efecto sobre el C-17 apoya la relación *anti* ( *trans-diaxial* ) entre estos grupos, siendo por lo tanto el metilo en C-13  $\beta$ -*axial*.

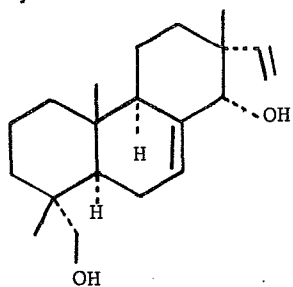
Este compuesto no se encuentra descrito en la literatura, sin embargo ha sido aislado recientemente de *Lepechinia glomerata* (*Labiateae*)<sup>70</sup>



XXII



XXIII



XXIV

TABLA No. 5

ESTUDIOS DE R.M.N. <sup>1</sup>H CON REACTIVO DE DESPLAZAMIENTO  
 Eu(fod)<sub>3</sub> DEL 7, 15 -ISOPIMARADIEN- 142, 18 -DIOL  
 (XXIV AISLADO DE S. MICROPHYLLA

Eu (fod) <sub>3</sub> (mg)	0	4.5	8	11.5	15	Δδ
Me C-13	0.85	1.2	1.5	1.8	2.1	1.25
Me C-10	0.85	1.1	1.3	1.5	1.8	0.95
Me C-4	0.85	1.5	2.05	2.6	3.1	2.25
H-15	5.9	6.3	6.7	7.25	7.85	1.95
H-16 <sub>c</sub>	5.09	5.3	5.65	5.8	6.15	1.10
H-16 <sub>t</sub>	5.1	5.3	5.7	6.0	6.5	1.4
H-14	3.6	4.1	4.55	5.1	5.7	2.1
2H-18	3.2	4.85	6.2	7.55	8.7	5.5
H-7	5.6	5.95	6.2	6.4	6.7	1.1
H-5	1.95	2.95	4.15	5.35	6.25	4.3

Espectros Obtenidos a 80 MHz, utilizando como disolvente CDCl<sub>3</sub>. Los desplazamientos químicos están dados en ppm con respecto al TMS.



TABLA No. 6  
 DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN  $^{13}\text{C}$  DEL COMPONENTE  
 XXIV AISLADO DE *S. microphylla*

C No.	$\delta$	C No.	$\delta$
1	39.4 t	11	19.5 t
2	18.3 t	12	28.0 t
3	35.4 t	13	41.2 s
4	37.6 s	14	80.0 d
5	42.4 d	15	147.0 d
6	23.3 t	16	112.9 t
7	127.5 d	17	21.7 c
8	137.0 s	18	70.9 t
9	47.0 d	19	18.2 c
10	35.0 s	20	15.4 c

Desplazamientos obtenidos utilizando  $\text{CDCl}_3$  como disolvente y TMS como referencia interna. 20 MHz.

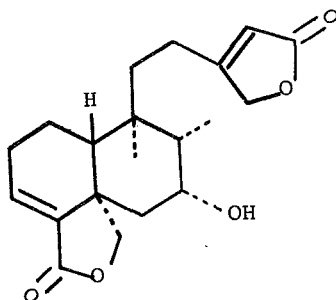
Es importante destacar el hecho de que la *Salvia microphylla* biosintetice compuestos con esqueleto de pimarano, es de hecho, la segunda especie de este género de la cual se aislan este tipo de metabolitos secundarios. Este resultado apoya desde un punto de vista químico la relación ya existente entre *S. microphylla* y *S. fulgens*.

El componente diterpénico más polar aislado de *S. microphylla*, es una sustancia cristalina que tiene un p.f. de 160-161°C. Los datos espectroscópicos obtenidos para este producto ( IR, RMN <sup>1</sup>H, y EM ver parte experimental ) permiten proponer la estructura XXV, para este metabolito secundario. Esta sustancia ha sido previamente aislada de *Baccharis trimera*<sup>71</sup> y recientemente se ha obtenido como el componente diterpénico principal de *Salvia melissodora*<sup>72</sup> y en pequeñas cantidades de *Salvia semiatratha*<sup>73</sup>. La estructura de este metabolito secundario corresponde a un diterpeno con esqueleto de *ent*-clerodano.

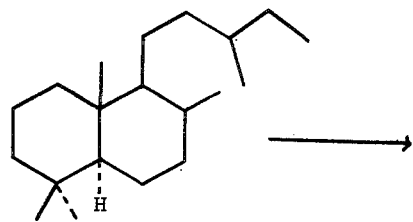
Con respecto a la nomenclatura utilizada para este tipo de compuestos es importante hacer la siguiente observación. La nomenclatura más utilizada actualmente para los clerodanos con la configuración absoluta mostrada en la figura 2, es la de *neo*-clerodano y fué propuesta por Rogers y colaboradores<sup>74</sup>, mientras que la utilizada para los clerodanos con configuración absoluta opuesta es la de *ent neo*-clerodanos, propuesta por el mismo investigador. Este tipo de nomenclatura puede dar lugar a confusiones, ya que los *neo*-clerodanos se pueden derivar de los *ent*-labdanos y los *ent neo*-cle-

rodanos se pueden originar biogénicamente de los labdanos normales. Por esta razón, de acuerdo con algunos grupos de investigadores<sup>75</sup>, en el presente estudio se ha preferido asignar a los compuestos con configuración absoluta igual a la representada para XXV el nombre de *ent*-clerodanos<sup>76</sup>.

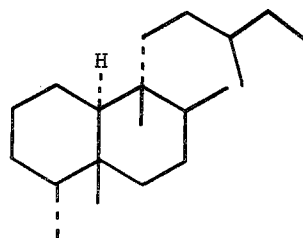
Finalmente es importante destacar el hecho de la coexistencia en *Salvia microphylla* de diterpenos con esqueleto de pimarano y de *ent*-clerodano, característica que comparte con *S. fulgens* y que puede tener importancia quimiotaxonómica.



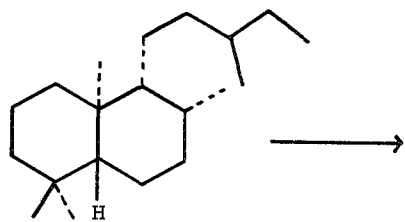
XXV



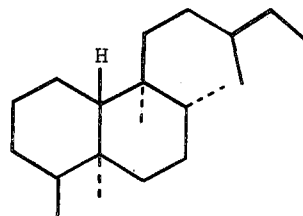
Labdano normal



*ent*-neoclerodano



*ent*-labdano



neoclerodano

Figura No. 2

#### IV. CONCLUSIONES

## IV. CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de 3 especies de la Sección *Fulgentes* del género *Salvia* se pueden obtener, desde el punto de vista, estrictamente químico, las siguientes conclusiones.

Se aislaron un total de 13 metabolitos secundarios, los cuales fueron purificados por métodos de laboratorio rutinarios. La estructura propuesta para estos productos, se estableció con base en métodos químicos y espectroscópicos.

Del total de los productos aislados, el  $\beta$ -sitosterol, el ácido oleanólico ( VI ) y los compuestos : I ( ácido sandaracopimárico ), XXI ( 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimarato de metilo ), XXIV ( 7,15-isopimaradien-7 $\alpha$ ,18-diol ), XXV y las flavonas XVII y XVIII son sustancias previamente aisladas y de estructura conocida. Los productos II ( Salvigenólida ), XII ( 1 $\alpha$ ,10 $\alpha$  epoxisalviarina ), XIX ( Linearifolina ) y XXII ( ácido 7-oxo-sandaracopimárico, aislado como su éster metílico ) no están descritos en la literatura y son por lo tanto aportaciones nuevas al conocimiento de la composición química de las Salvias mexicanas y del reino vegetal.

El producto VIII se aisló en este estudio por primera vez como producto natural, ya que su estructura era conocida, sin estereoquímica, como derivado del " principio amargo " de la *S. rubescens*. Con base en métodos espectroscópicos se propuso, en este trabajo, la estereoquímica representada en la estructura VIII.

Se aislaron y caracterizaron un total de 9 diterpenos, de los cuales 4 pertenecen al grupo del pimarano ( I, XXI, XXII y XXIV ) y

4 tienen esqueleto de *ent*-clerodano ( XXV,VIII,XII y XIX ).

El producto II, presenta un esqueleto transpuesto de *ent*-clerodano, en el cual el anillo B ha sufrido una expansión a 7 miembros, siendo la primera vez que se aísla un diterpeno con este sistema de anillación como producto natural<sup>53</sup>.

De *S. fulgens* y *S. microphylla* se aislaron diterpenos con esqueleto de pimarano y *ent*-clerodano. En este estudio se describe, por primera vez, el aislamiento de pimaranos de este género.

La composición química de *S. lineata*, de la cual se estudiaron 2 poblaciones, varía dependiendo de la zona de recolección. Esta variación es mínima, siendo común en ambas poblaciones el  $\beta$ -sitosterol, el ácido oleanólico y la 1,10-dehidrosalviarina. Este último compuesto es, en ambas poblaciones, el componente diterpénico mayoritario.

Desde el punto de vista quimiotaxonómico se pueden hacer las siguientes consideraciones.

Como ya se ha mencionado previamente, el género *Salvia* es el más grande de la familia de las Labiadas. Las 900 especies que forman este género se encuentran distribuidas en 4 subgéneros: - *Sclarea*, *Salvia*, *Leonia* y *Calosphace*, siendo este último el más abundante y completamente americano. En México se localizan 275 especies de *Salvias*, que corresponden al 50% de las que abarca el subgénero *Calosphace*.

Debido a la riqueza de este género en México, es fundamental el estudio químico sistemático por secciones botánicas, ya que de

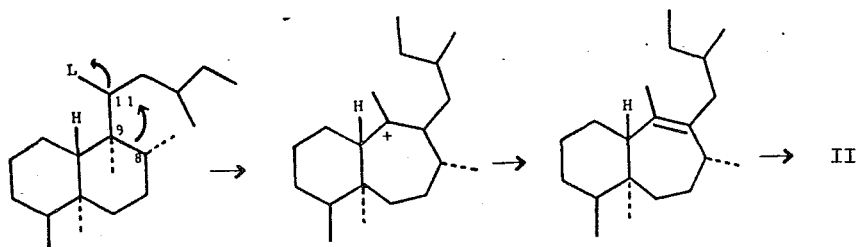
esta manera es más fácil establecer el perfil químico del género y se pueden elegir las especies más idóneas para el análisis químico.

De acuerdo con la literatura<sup>18</sup> del género *Salvia*, se han -- aislado principalmente diterpenos con esqueleto de abietano y -- con menos frecuencia clerodanos y labdanos. En el presente trabajo se describe, por primera vez en este género, el aislamiento de diterpenos del grupo del pimarano, siendo la *S. fulgens* - la primer especie de la cual se han obtenido. La abundancia de estos compuestos es superior en la *S. microphylla*, así como la variedad, ya que de esta última especie se aíslan diterpenos relacionados con el ácido sandaracópimárico y con el isopimárico. Ambas estructuras pueden originarse a partir de un intermediario común ( figura 3 ).

Es importante señalar la coexistencia de pimaranos y *ent*-clerodanos en *S. fulgens* y *S. microphylla*, ya que este hecho puede ser considerado como una característica química de la - sección *Fulgentes*.

A este respecto, la Salvigenólida ( II ) merece un comentario adicional ya que su estructura, aunque no es un *ent*-clerodano normal, puede derivarse de este esqueleto asumiendo la siguiente hipótesis biogénética. El anillo B de la Salvigenólida puede originarse por la migración del enlace 8,9 de un *ent*-clerodano normal, hacia la posición 11 con la pérdida de un - grupo saliente adecuado.





El catión formado puede estabilizarse por interacción con un nucleófilo o con la formación de un doble enlace, como en el caso de la Salvigenólida. Como apoyo a esta hipótesis se puede hacer mención a la estructura de la esplendidina ( XIV ), aislada de *Salvia splendens*<sup>58</sup> ( subgénero *Calosphaece* ), que presenta la posición 11 oxidada, por lo cual la hipótesis para el origen biogenético de la Salvigenólida es probable.

En este trabajo no se logró aislar otro diterpeno que pudiera considerarse el precursor de II. Un estudio, que se puede llevar a cabo como continuación del presente, es el análisis químico de *S. fulgens* en diferentes etapas de su desarrollo, buscando productos que den una información más directa sobre el origen del esqueleto transpuesto presente en II. Este estudio es viable ya que esta especie es muy abundante en México.

El perfil químico mostrado por *S. fulgens* y *S. microphylla*

es compartido por *S. lineata* solo parcialmente, ya que de esta especie, se han aislado, hasta el momento, solo diterpenos con esqueleto de *ent*-clerodano. La ausencia de pimaranos en esta especie puede deberse a la época de recolección. Es probable que en otra etapa de su desarrollo, la *S. lineata* sintetice diterpenos con esqueleto de pimarano. Es necesario, por lo tanto analizar esta especie en diferentes etapas de su desarrollo. Esto requiere cultivar dicha especie, ya que es poco abundante y se pondría en peligro la existencia de las escasas poblaciones de esta planta.

Por otro lado, la composición química de *S. lineata*, está relacionada con la de la *S. gesneraeifolia*<sup>37</sup>, especie clasificada en la sección *Nobiles* y endémica a nuestro país, de la cual se han aislado las Gesnerofolinas A y B. La estructura de la Linearifolina, aislada de *S. lineata*, está muy relacionada con la Gesnerofolina B (XX). La estructura de la Gesnerofolina A ha sido corregida recientemente e identificada como Salviarina (X)<sup>95</sup>. Este hecho refuerza la relación ya indicada, entre los diterpenos de estas especies (Gesnerofolina B y Salviarina de *S. gesneraeifolia* y 1,10 dehidrosalviarina, Linearifolina y 1 $\alpha$ ,10 $\alpha$  epoxisalviarina de *S. lineata*) y puede tener importancia taxonómica, ya que estudios recientes sobre el género *Salvia*, indican que probablemente las Secciones *Nobiles* y *Fulgentes* no son distintas entre sí como lo estableció Epling<sup>2</sup>. Por otro lado se piensa actualmente que las Secciones *Nobiles* y *Fulgentes* a su vez están estrechamente relacionadas con la sección *Holwaya*, antes *Cardinalis*<sup>2</sup>.

Los resultados con los que se cuenta hasta el momento apoyan parcialmente esta hipótesis.

Con base en lo anterior, las especies más idóneas para el análisis químico, como continuación de esta tesis, son *Salvia praenstaens*, *S. diclamys*, *S. modica* y *S. pulchella* con lo cual se completaría el estudio de la sección *Fulgentes* ( Tabla 8 ), es necesario también es estudio de las especies que forman la sección *Nobiles* y *Cardinalis* , para apoyar o descartar la hipótesis previamente establecida. Estos estudios son posibles ya que la mayor parte de estas especies se localizan en México ( Tablas 9 y 10 ).

Una vez propuesto el perfil químico de la sección *Fulgentes* y establecidas las probables relaciones con secciones cercanas, es importante analizar si la composición química, haciendo énfasis en los diterpenos de las especies analizadas en este estudio, está relacionada con la encontrada para otras especies del Subgénero *Calosphace*. Esto es importante para tratar de establecer las características químicas de dicho Subgénero.

En la Tabla no. 7 se resume la composición química de las especies del Subgénero *Calosphace* analizadas hasta la fecha.

Como puede apreciarse los diterpenos del grupo del *ent-cleodano* son aislados frecuentemente de plantas de este subgénero. De acuerdo con los datos descritos en la literatura, solamente de éste se han aislado, hasta el momento, diterpenos con este tipo de esqueleto. De los tres Subgéneros restantes se han aislado principalmente abietanos. Con base en estos datos se puede

proponer que la presencia de *ent*-clerodanos en Calosphace es la característica química más relevante de este Subgénero.

En el presente trabajo, se aislaron diterpenos con esqueleto de *ent*-clerodano de las tres especies analizadas, lo cual apoya la proposición antes expuesta.

Finalmente es importante señalar que la composición química de las Salvias de Calosphace, con respecto a la encontrada en Salvias europeas y asiáticas, puede ser de importancia taxonómica, ya que actualmente se piensa<sup>2</sup> que el Subgénero Calosphace no está muy relacionado con los tres Subgéneros restantes (Tabla 11), aunque es razonable pensar en un origen común para todas las especies.

Es evidente la necesidad de analizar un mayor número de especies para poder aportar datos que ayuden a resolver los problemas taxonómicos inherentes a un género tan grande y dinámico como es el género *Salvia*.

GENERO SALVIA ( 900 sp )

SUBGENEROS	SECCIONES	LOCALIZACION
1.- <i>Salvia</i>	3	Europa y Asia
2.- <i>Sclarea</i>	3	Europa y Asia
3.- <i>Leonia</i>	5	América del Norte
4.- <i>Calosphace</i>	91	México, Centro y Sudamérica.

TABLA No. 7

## COMPOSICION QUIMICA DE SALVIAS DEL SUBGENERO CALOSPHERE

ESPECIE	SECCION	COMPOSICION QUIMICA	REFERENCIAS
<i>S. melissodora</i>	<i>Scorodonia</i>	Diterpenos ( clerodanos ) XXV, XXVI, XXVII, XXVIII	35,79 y 89
<i>S. keerlii</i>	<i>Scorodonia</i>	Diterpenos ( clerodanos )	43, 80
<i>S. breviflora</i>	<i>Scorodonia</i>	" "	84
<i>S. lavanduloides</i>	<i>Lavanduloideae</i>	Flavonas, Acido Oleanólico y Ursólico	36 a y b
<i>S. mexicana</i>	<i>Membranaceae</i>	Triterpenos	37
<i>S. heliantemifolia</i>	<i>Lavanduloideae</i>	Diterpenos ( clerodanos )	86
<i>S. fulgens</i>	<i>Fulgentes</i>	Diterpenos ( clerodanos y pimaranos ) I, II	82
<i>S. lineata</i>	<i>Fulgentes</i>	Flavonas, Diterpenos ( clerodanos ) VII, XII, XIX	82
<i>S. microphylla</i>	<i>Fulgentes</i>	Diterpenos ( clerodanos y pimaranos ) XXI, XXII, XXIV, XXV.	82
<i>S. karwinskii</i>	<i>Holwaya</i>	Triterpenos	38
<i>S. gesneraeifolia</i>	<i>Nobiles</i>	Diterpenos ( clerodanos ) X, XX	40

TABLA No. 7 ( CONTINUACION )

ESPECIE	SECCION	COMPOSICION QUIMICA	REFERENCIAS
<i>S. ballotaeiflora</i>	<i>Tomentalle</i>	Diterpenos ( abietano )	39
<i>S. fruticulosa</i>	<i>Tomentalle</i>	Diterpenos ( totarano ) XXXVII, XXXVIII	93
<i>S. goldmanii</i>	<i>Tomentalle</i>	Diterpenos ( totarano ) XXXVII	94
<i>S. divinorum</i>	<i>Ducenostachys</i>	Diterpenos ( clerodano )	41
<i>S. farinacea</i>	<i>Farinaceae</i>	" "	42
<i>S. coccinea</i>	<i>Subrotundae</i>	" "	62
<i>S. rubescens</i>	<i>Rubescentes</i>	" "	55
<i>S. splendens</i>	<i>Secundae</i>	Diterpenos ( clerodanos ) X, XIV	57,58
<i>S. semiatrata</i>	<i>Atratae</i>	Diterpenos ( clerodanos ) XXV, XXIX	81
<i>S. lasiantha</i>	<i>Mitratae</i>	Diterpenos ( clerodanos ) XXXII	85
<i>S. sessei</i>	<i>Erythrostachys</i>	Diterpenos ( abietano ) XXXIII	90
<i>S. regla</i>	<i>Erythrostachys</i>	Diterpenos ( abietano ) XXXIII, XXXIV	91

TABLA No. 7 ( CONTINUACION )

ESPECIE	SECCION	COMPOSICION QUIMICA	REFERENCIAS
<i>S. pubescens</i>	<i>Erystrostachys</i>	Diterpenos ( abietano ) XXXV, XXXVI	92
<i>S. lenta</i>	<i>Polystachyae</i>	Flavonas, Diterpenos - ( clerodanos ) XXX , - XXXI	83
<i>S. polystachya</i>	<i>Polystachyae</i>	Diterpenos ( clerodanos )	86
<i>S. languidula</i>	"	"	87



TABLA No. 8

SECCION FULGENTES DEL GENERO SALVIA

ESPECIE	LOCALIZACION
1.- <i>S. fulgens</i> Cav.	Valle de México, Michoacán y Jalisco.
2.- <i>S. microphylla</i> Kunt	Valle de México, Hidalgo y Durango.
3.- <i>S. lineata</i> Benth.	Oaxaca y Puebla
4.- <i>S. praeustaens</i> Epling	Guerrero
5.- <i>S. diclamys</i> Epling	Estado de México
6.- <i>S. modica</i> Epling	Chihuahua
7.- <i>S. pulchella</i> D.C.	Estado de México

TABLA No. 9

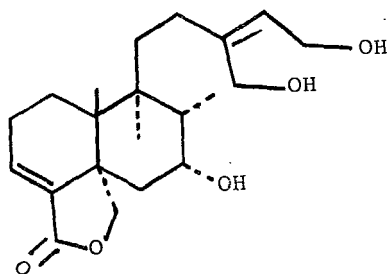
SECCION NOBILES DEL GENERO SALVIA

ESPECIE	LOCALIZACION
1.- <i>S. gesneraeifolia</i> Lindl.	Jalisco y Valle de México.
2.- <i>S. adenophora</i> Fern.	Oaxaca
3.- <i>S. disjuncta</i> Fern	Oaxaca

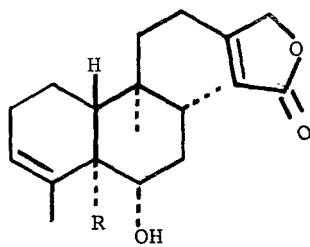
TABLA No. 10

SECCION HOLWAYA DEL GENERO SALVIA

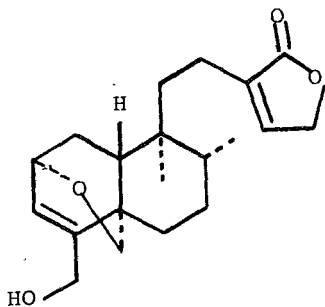
ESPECIE	LOCALIZACION
1.- <i>S. holwayii</i> Blake	Chiapas
2.- <i>S. karwinskii</i> Benth.	Chiapas
3.- <i>S. involucrata</i> Cav	Chiapas
4.- <i>S. puberula</i> Fern	Jalisco
5.- <i>S. stolonifera</i>	Veracruz



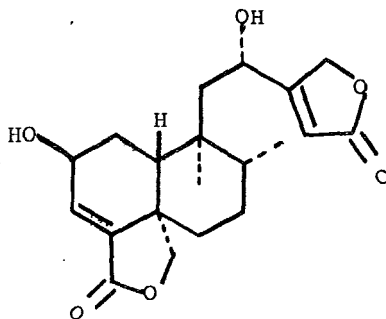
XXVI



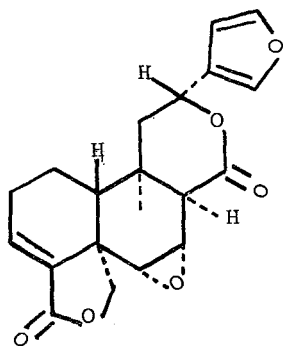
XXVII R = COOH



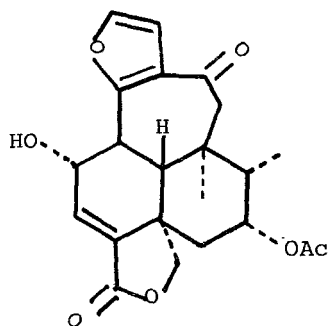
XXVIII



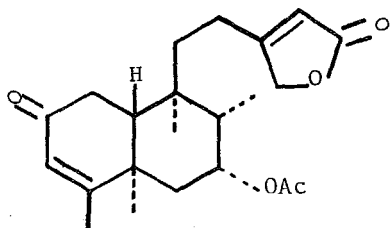
XXIX



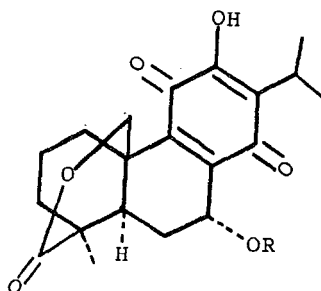
XXX



XXXI

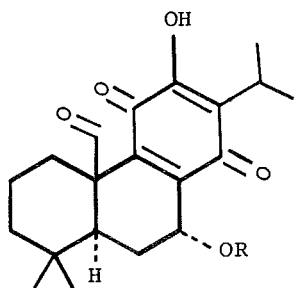


XXXII



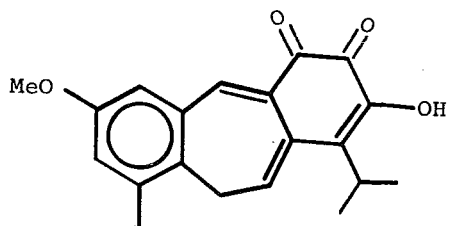
XXXIII R = Ac

XXXIV R = H

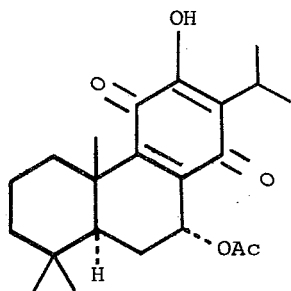


XXXV R = Ac

XXXVI R = H



XXXVII



XXXVIII

## V. PARTE EXPERIMENTAL

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 ( 35-70, 70-230 y 230-400 Mesh ASTM ).

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió - por cromatoplaque de gel de sílice Merck F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en  $H_2SO_4$  2N.

Los espectros de I.R. fueron obtenidos en cloroformo o en nujol en un - espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 337 ó en un Nicolet FT-5X.

Los espectros de U.V. fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Modelo 552. Las rotaciones específicas fueron determinadas en un polarímetro Perkin-Elmer 241.

Los espectros de R.M.N. de  $^1H$  y de  $^{13}C$  se realizaron a 80 y 20 MHz respectivamente en un aparato Varian FT-80A. Los experimentos de doble resonancia - se efectuaron con ayuda de un audiooscilador Wavetek Mod. 171. Los desplazamientos químicos están dados en ppm, en unidades  $\delta$ , con respecto al TMS. Los valores de J están dados en Hz. Las asignaciones en  $^{13}C$  fueron hechas con ayuda de los espectros parcial y totalmente desacoplado. En el caso de VIII, las asignaciones fueron comprobadas mediante experimentos de desacoplamiento intermitente y de inversión-recuperación .

Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato Hewlett Packard 5985-B, mediante la técnica de impacto electrónico, a 70 eV.

Las plantas estudiadas fueron identificadas por el Dr. T.P. Ramamoorthy del Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M.

Los materiales utilizados en el trabajo experimental fueron obtenidos - gracias al apoyo parcial del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología ( Proyecto PCCBBNA 021142 ).



## V. PARTE EXPERIMENTAL

1.- ESTUDIO FITOQUIMICO DE *Salvia fulgens* Cav.

El espécimen de *Salvia fulgens* Cav. estudiado, fué recolectado en Noviembre de 1983, 7.5 Km al oeste de Huitzilac, rumbo a las Lagunas de Zempoala, en el estado de Morelos, depositándose un -- ejemplar en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la - U.N.A.M. ( Voucher MEXU - 379095 ).

Las partes aéreas, secas y molidas de la *S. fulgens* (2300 g) fueron extraídas con acetona (20 l) a temperatura ambiente durante una semana. Pasado este tiempo el disolvente fué evaporado a - presión reducida, obteniéndose 50 g de extracto, el cual fué separado en sus componentes por medio de una cromatografía en columna empacada con silica gel ( 70 - 230 , 1250 g ) desactivada con el 5% de agua ( 62.5 g ) y utilizando como eluyentes mezclas de hexano y acetato de etilo de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 9:1 ) se aislaron 300 mg ( 0.013 % peso seco ) de una sustancia cristalina, con un p.f. 133 - 135°C ( acetona ). Las propiedades espectroscópicas de esta sustancia concuerdan con las descritas en la literatura - para el  $\beta$ -sitosterol<sup>44</sup> .

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 8.5:1.5 ) se lograron aislar 400 mg ( 0.017 % peso seco ) de un sólido cristalino con p.f. 170°C ( acetona ). Las propiedades espectroscópicas de - esta sustancia corresponden al ácido sandaracopimárico ( I ).

I.R. (  $\text{CHCl}_3$  )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3000 ( -OH de ácido carboxílico ), 1690 ( carbonilo de ácido ), 1640 ( dobles enlaces ) y 1380 ( metilos ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No.1 )  $\delta$  : 5.8 ( dd, J= 18 y 11, 1H, H-15 ), 5.25 ( sa, 1H, H-14 ), 4.85 ( dd, J= 18 y 2, 1H, H-16trans ), 4.82 ( dd, J= 11 y 2, 1H, H-16 cis ), 1.2 ( s, 3H, 3H-18 ), 1.0 ( s, 3H, 3H-20 ) y 0.85 ( s, 3H, 3H-17 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) Tabla Número 1.

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 302 (  $\text{M}^+$ , 30 ), 286 ( 50 ), 274 ( 20 ), 257 ( 20 ), 241 ( 20 ), 140 ( 30 ), 133 ( 30 ), 121 - ( 100 pico base ), 93 ( 40 ), 91 ( 60 ), 81 ( 40 ), 79 ( 60 ).

Algunas de las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 2.5:7.5 ), mostraron tener un componente principal, por cromatografía en capa fina, por lo cual se reunieron ( 3 g ) y se recromatografiaron en una columna empacada con silica gel ( 70-230, 150 g ), utilizando como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt  $\beta$ :4, aislándose por cristalización de metanol - éter isopropílico 500 mg ( 0.021% en peso seco ) de una sustancia cristalina con p.f. 218-220°C denominada Salvigenólida ( II ).

$[\alpha]_D^{20} = -191.6$  ( c 0.21 , MeOH )

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  ( log  $\epsilon$  ) : 208 nm ( 4.5 )

I.R. ( nujol )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3140, 1501 y 871 ( furano ), 1771 ( carbonilo de  $\gamma$  lactona saturada ), 1761 ( carbonilo  $\gamma$  lactona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada ), 1743 ( carbonilo de éster saturado ) y 1665 ( dobles ligaduras ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 2 )  $\delta$  : 7.45 ( d, J= 2, 2H, H-15 y H-16 ), 7.05 ( dd, J= 8 y 4, 1H, H-3 ), 6.25 ( t, J=

2, 1H, H-14 ), 6.0 ( da, J= 1, 1H, H-12 ), 5.3 ( t, J= 3, 1H, H-6 ), 3.95 ( d, J= 10, 1H, H-19 pro R ), 3.7 ( d, J= 10, 1H, H-19 pro S ), 3.8 ( da, J= 12, 1H, H-8 ), 3.45 ( dd, J= 14 y 4, 1H, H-10 ), 2.45 ( dt, J= 14 y 3, 1H, H-7 $\beta$  ), 2.05 ( s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COOR}$  ), 1.6 ( sa, 3H, 3H-20 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro N $^\circ$ .3 ) Tabla 1.

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 398 ( M $^+$ , 4.3 ), 357 ( 15 ), 356 ( 45 ), 338 ( 20 ), 95 ( 49.5 ), 91 ( 29 ), 81 ( 25 ), 43 ( 100 % pico base ).  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_7$ .

Hidrogenación Catalítica de la Salvigenólida ( II ). 100 mg de Salvigenólida ( II ) disueltos en 5 ml de metanol se hidrogenaron a temperatura ambiente usando como catalizador Pd/C al 10% ( 25 mg ). El curso de la reacción fué seguido por cromatografía en capa fina. Una vez concluída la reacción ( 4 hrs ) el catalizador se separó - por filtración sobre celita. La solución obtenida se concentró a - presión reducida, obteniéndose 80 mg de la 3,4-dihidrosalvigenólida ( V ). P.f. 110 - 112°C ( acetona-éter isopropílico ).

$[\alpha]_D^{20} = -106$  ( c 0.25 MeOH )

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  ( log  $\epsilon$  ) : 206 nm ( 4.26 )

I.R. ( nujol )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 1760 ( carbonilo de  $\gamma$  lactona saturada ), 1740 ( carbonilo de éster saturado ), 1590 ( doble enlace ), 1500 y 870 ( furano ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 7 )  $\delta$  : 7.45 ( d, J= 2, 2H, H-15 y H-16 ), 6.25 ( t, J= 2, 1H, H-14 ), 6.0 ( sa, 1H, H-12 ), 5.05 ( dd, J = 4 y 3, 1H, H-6 ), 4.1 ( d, J=10, 1H, H-19 pro - R ), 3.85 ( d, J=10, 1H, H-19 pro S ), 3.6 ( da, J=10, 1H, H-8 ),

3.1 ( m, 1H, H-10 ), 2.15 ( s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COOR}$  ), 1.6 ( sa, 3H, 3H-20 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) Tabla No. 1 .

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 400 (  $\text{M}^+$ , 2.5 ), 340 ( 46 ), 95 ( 35 ), 91 ( 30 ), 81 ( 20 ), 79 ( 21 ), 77 ( 20 ), 43 ( 100 pico base ).

Obtención de la 9 $\beta$ ,11 $\beta$ -epoxisalvigenólida ( IV ). Una solución de II ( 100 mg ) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( 5 ml ) fué tratada con 90 mg de ácido meta-cloro perbenzoico. La solución obtenida se agitó a temperatura ambiente durante 72 hrs. Pasado este tiempo la solución se lavó con solución de  $\text{NaHCO}_3$  al 10% y posteriormente con  $\text{H}_2\text{O}$ . La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró a presión reducida. El producto sólido obtenido ( IV ) ( 60 mg ) se recristalizó de  $\text{AcOEt}$  y presentó un p.f. 222°C.

$[\alpha]_D^{20} = -132$  ( c 0.21  $\text{CHCl}_3$  ).

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  log (  $\epsilon$  ) : 207 nm ( 4.5 )

I.R. (  $\text{CHCl}_3$  )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 1778 (  $\gamma$  lactona  $\alpha,\beta$  insaturada ), 1600 ( doble ligadura ), 1502 y 876 ( furano ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 6 )  $\delta$  : 7.5 ( m, 2H, H-15 y H-16 ), 7.05 ( dd, J= 8 y 3, 1H, H-3 ), 6.4 ( t, J=2, 1H, H-14 ), 5.45 ( s, 1H, H-12 ), 5.2 ( t, J=4, 1H, H-6 ), 3.9 ( d, J=8, 1H, H-19 pro R ), 3.6 ( d, J=8, 1H, H-19 pro S ), 2.95 ( dd, J= 12 y 4, 1H H-8 ), 2.0 ( s, 3H,  $\text{CH}_3\text{COOR}$  ), 1.35 ( s, 3H, 3H-20 ).

Saponificación de la Salvigenólida ( II ). A una solución de Salvigenólida ( 100 mg ) en metanol ( 10 ml ) se le añadieron 50 mg de  $\text{KHCO}_3$  sólido. La mezcla en atmósfera inerte ( Ar ) se agitó durante 12 hrs a temperatura ambiente. Pasado este tiempo la solu-

ción se neutralizó con ácido acético ( 0.36 ml de una solución al 10 % en agua ) y posteriormente se evaporó el disolvente a sequedad a presión reducida ( 2 mmHg ). El residuo fué disuelto en acetato de etilo. La solución obtenida se lavó con agua y se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La evaporación del disolvente, permite obtener 60 mg del producto III como un sólido cristalino con p.f. = 248-250 °C ( AcOEt ).

$$[\alpha]_D^{20} = -206 \text{ ( c 0.21 MeOH )}.$$

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  ( log  $\epsilon$  ) : 210 nm ( 4.66 )

I.R. ( nujol )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3464 ( oxhidrilo ), 1752 (  $\gamma$  lactona  $\alpha, \beta$  - insaturada ), 1659 ( doble enlace ), 1502 y 874 ( furano ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 5 )  $\delta$  : 7.4 ( t, J=2, 1H, H-15 ), 7.55 ( sa, 1H, H-16 ), 7.0 ( t, J=4, 1H, H-3 ), 6.15 ( dd, J=2 y 1, 1H, H-14 ), 5.75 ( d, J=2, 1H, H-12 ), 4.6 ( dd, J=12 y 4, 1H, H-6 ), 3.8 ( sa, 2H, 2H-19 ), 3.1 ( dd, J=16 y 4, 1H, H-7 $\alpha$  ), 2.4 ( m, 1H, H-7 $\beta$  ), 1.02 ( d, J=7, 3H, 3H-20 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz ( piridina- $\text{d}_5$ ) Tabla No. 1

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 356 (  $\text{M}^+$ , 13.4 ), 327 ( 14 ), 326 ( 80 ), 95 ( 80 ), 91 ( 70 ), 81 ( 60 ), 79 ( 60 ), 77 ( 100 pico base ).

## 2.- LOS CONSTITUYENTES QUIMICOS DE *Salvia lineata* Benth.

Se analizaron 2 lotes de esta especie, uno de ellos fue recolectado en Tehuacán Puebla y el segundo en el estado de Oaxaca. Ambos especímenes fueron recolectados en Noviembre de 1984. Un ejemplar de cada zona se encuentra depositado en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M. ( Voucher 404010 y 402748 respectivamente ).

Aislamiento de los constituyentes de la *Salvia lineata* ( Voucher MEXU 404010 Puebla ). Las partes aéreas de la *S. lineata* - ( 3.1 Kg ) fueron extraídas con acetona ( 15 l ) a temperatura ambiente durante una semana. Pasado este tiempo, el disolvente se evaporó a presión reducida, obteniéndose 45 g de extracto, el cual fue separado por cromatografía en columna empacada con silica gel ( 35-60 1000 g ) desactivada con el 5% en peso de agua ( 50 g ) y utilizando como eluyentes mezclas de hexano - AcOEt de polaridad creciente.

De las fracciones menos polares del cromatograma, eluidas con hexano-AcOEt ( 9:1 ) se lograron aislar 400 mg ( 0.012 % peso seco ) de un sólido cristalino con p.f. 131-133°C identificado como  $\beta$  - sitosterol por comparación de sus datos espectroscópicos con los descritos en la literatura<sup>44</sup>.

De las fracciones eluidas con 20% de AcOEt se lograron aislar 2.8 g ( 0.09 % peso seco ) de un sólido amorfo blanco. El espectro de I.R. de esta sustancia mostró bandas características para una función ácido carboxílico ( 3000 y 1690  $\text{cm}^{-1}$  ). El tratamiento de

esta sustancia con solución éterea de diazometano, produce el correspondiente éster metílico. Las propiedades físicas y espectroscópicas de este derivado, permiten caracterizar la sustancia original como ácido oleanólico ( VI ). La identidad de esta sustancia se comprobó por comparación directa del éster metílico ( VII ) con una muestra auténtica<sup>54</sup> ( pf, IR, RMN <sup>1</sup>H ).

De las fracciones de polaridad intermedia ( hexano 60% ) se aislaron después de sucesivas cristalizaciones de metanol 5 g -- ( 0.16 % peso seco ) de un sólido cristalino ( VIII ) que presentó un p.f. = 198 - 199°C . Las propiedades físicas y espectroscópicas de VIII corresponden con las descritas por Brieskorn y Stehle para el anhidro derivado del " principio amargo " ( IX ) de la -- *Salvia rubescens*<sup>55</sup>.

$$[\alpha]_D^{20} = -199.5 \text{ ( c 0.22 CHCl}_3 \text{ )}$$

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  nm (  $\epsilon$  ) : 208 ( 16 000 ), 263 ( 15000 ), 272 ( 14 000 ) y 281 ( inflexión ).

I.R. ( nujol )  $\nu_{\text{máx}}$  cm<sup>-1</sup> : 3129, 1502 y 874 ( furano ), 1773 ( carbonilo de  $\gamma$  lactona ), 1703 ( carbonilo de  $\delta$  lactona ), 1662, 1647 y 1594 ( dobles ligaduras ).

R.M.N. <sup>1</sup>H 80 MHz ( CDCl<sub>3</sub> ) ( Espectro No. 8 )  $\delta$  : 6.0 ( d, J=7, 1H, H-1 ), 6.1 ( ddd, J= 10,7 y 3, 1H, H-2 ), 5.5 ( dd, J= 10 y 3, 1H, H-3 ), 3.05 ( t, J= 3, 1H, H-4 ), 2.55 ( m, 1H, H-8 ), 1.92 - ( dd, J= 16 y 12, 1H, H-11 axial ), 2.6 ( dd, J= 16 y 4, 1H, H-11 ecuatorial ), 5.45 ( dd, J= 12 y 4, 1H, H-12 ), 6.4 ( sa, 1H, H-14), 7.42 ( m, 2H, H-15 y 16 ), 3.95 ( dd, J = 8 y 2, 1H, H-19 pro S ), 4.45 ( d, J= 8, 1H, H-19 pro R ), 1.25 ( s, 3H, 3H-20 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 12 ) Tabla No. 3

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 340 ( 42 ), 253 ( 10 ),  
230 ( 10 ), 202 ( 40 ), 143 ( 100 pico base ), 128 ( 82 ), 95  
( 82 ), 91 ( 40 ), 81 ( 20 ), 77 ( 20 ).  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_5$

Análisis Elemental : Calculado C 70.57, H 5.9, O 23.5%

Encontrado C 70.2, H 5.87, O 23.5%.

La comparación de este diterpeno, 1,10-dehidrosalviarina, aislado de *S. lineata* con una muestra auténtica del anhidro derivado del producto IX de *S. rubescens* indica que ambas son la misma sustancia ( IR, RMN  $^1\text{H}$ , EM )<sup>56</sup>.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 4:6 ) se purificaron 70 mg de un producto cristalino amarillo identificado como XVIII ( 6,7-dimetoxi-5,3',4'-trihidroxi flavona ) por comparación con datos descritos en la literatura<sup>64</sup>.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt 1:1 se lograron aislar por cristalización 97.9 mg de una mezcla binaria la cual pudo separarse en sus componentes por cromatografía " relámpago " sobre sílica gel 230-400 utilizando como único eluyente una mezcla de MeOH-benceno ( 7:93 ). De las primeras fracciones de esta cromatografía se obtienen 38 mg ( 0.0012% peso seco ) de un producto cristalino con p.f. = 255-256°C ( MeOH- éter isopropílico ), el cual se denominó  $1\alpha,10\alpha$ -epoxisalviarina ( XII ).

$$[\alpha]_D^{20} = -90.32 \text{ ( c 0.155 MeOH )}$$

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  (  $\epsilon$  ) : 210 nm ( 18 518 ).

I.R. ( nujol )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 1784 ( carbonilo de  $\gamma$  lactona ),  
1707 ( carbonilo de  $\delta$  lactona ), 1655 ( dobles enlaces ), 1502 y



876 ( furano ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 14 )  $\delta$  : 3.5 ( dd,  $J = 4$  y 2, 1H, H-1 ), 6.25 ( ddd,  $J = 9,4$  y 2, 1H, H-2 ), 5.65 ( dt,  $J = 9$  y 2, 1H, H-3 ), 2.85 ( t,  $J = 2$ , 1H, H-4 ), 2.5 ( m, H-8 ), 1.65 ( dd,  $J = 16$  y 12, 1H, H-11 axial ), 2.15 ( dd,  $J = 16$  y 4, 1H, H-11 ecuatorial ), 5.75 ( dd,  $J = 12$  y 4, 1H, H-12 ), 6.35 ( t,  $J = 2$ , 1H, H-14 ), 7.35 ( d,  $J = 2$ , 2H, H-15 y 16 ), 4.1 ( d,  $J = 8$ , 1H, H-19 pro S ), 4.4 ( d,  $J = 8$ , 1H, H-19 pro R ), 1.2 ( s, 3H, 3H-20 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 15 ) Tabla No. 3.

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 356 (  $\text{M}^+$ , 4 ), 341 ( 0.7 ), 340 ( 0.7 ), 246 ( 5 ), 202 ( 5 ), 201 ( 5 ), 188 ( 15 ), 143 ( 48 ), 129 ( 20 ), 95 ( 100 pico base ), 91 ( 30 ), 81 ( 20 ), 79 ( 20 ), 77 ( 30 ), 65 ( 20 ), 39 ( 37 ).

De las fracciones siguientes se aislaron 42 mg de un sólido cristalino amarillo, el cual fué caracterizado como la 5,4'-dihidroxi-6,7-dimetoxiflavona por comparación con datos descritos en la literatura <sup>63</sup>.

Hidrogenación catalítica de la 1,10-dehidrosalviarina (VIII).

Una solución de VIII ( 100 mg ) en AcOEt ( 5 ml ) se hidrogenaron a temperatura ambiente durante 2 hrs, utilizando Pd/C al 10% ( 25 mg ) como catalizador. La separación del catalizador por filtración sobre celita y la evaporación del disolvente al vacío, permiten aislar 85 mg de XI como sólido cristalino con p.f. 154-155°C ( metanol ).

$$[\alpha]_D^{20} = -42.9 \text{ ( c 0.17 CHCl}_3 \text{ )}$$

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$  (  $\epsilon$  ) : 204 nm ( 18 000 ).

I.R. ( CHCl<sub>3</sub> )  $\nu_{\text{m\acute{a}x}}$  cm<sup>-1</sup> : 1779 ( carbonilo de  $\gamma$  lactona ), 1722 ( carbonilo de  $\delta$  lactona ), 1598 ( dobles enlaces ), 1504 y 875 ( furano ).

R.M.N. <sup>1</sup>H 80 MHz ( CDCl<sub>3</sub> )  $\delta$  : 5.8 ( t, J=4, 1H, H-1 ), 5.5 ( dd, J = 12 y 4, 1H, H-12 ), 6.4 ( sa, 1H, H-14 ), 7.42 ( m, 2H, H-15 y 16 ), 4.05 ( dd, J = 9 y 1, 1H, H-19 pro S ), 4.5 ( d, J=9, 1H, H-19 pro R ), 1.2 ( s, 3H, 3H-20 ).

R.M.N. <sup>13</sup>C 20 MHz ( CDCl<sub>3</sub> ) ( Espectro No. 13 ) Tabla No. 3.

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 342 ( M<sup>+</sup> 41 ), 324 ( 5 ), 314 ( 10 ), 298 ( 10 ), 232 ( 50 ), 206 ( 20 ), 205 ( 100 pico base ), 204 ( 70 ), 176 ( 20 ), 161 ( 50 ), 159 ( 35 ), 147 ( 87 ), 105 ( 50 ), 95 ( 97 ), 91 ( 92.7 ), 81 ( 30 ), 79 ( 25 ), 77 ( 50 ), 41 ( 30 ), 39 ( 40 ).

Aislamiento de los constituyentes de la *Salvia lineata*.

( Voucher MEXU 402748 Oaxaca ). Las parte áereas de una segunda población de *S. lineata* ( 3 100 g ) fueron procesados de la misma manera que el lote anterior. Se obtuvieron 70 g de extracto acetónico el cual fué cromatografiado utilizando sílica gel ( 35-60, 1 Kg ) desactivada con el 5% en peso de agua ( 50 g ). El cromatograma fué desarrollado utilizando mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 9:1 ) se aislaron 200 mg ( 0.006 % peso seco ) de  $\beta$ -sitosterol. De las fraccio-

nes eluidas con hexano-AcOEt 8:2 se aislaron 2g ( 0.06% peso seco ) de ácido oleanólico. De las primeras fracciones eluidas con hexano-AcOEt 6:4 se obtuvieron 2g ( 0.06% peso seco ) de 1,10-dehidrosalviarina ( VIII ). La identidad de estas sustancias se confirmó - por comparación con las muestras obtenidas en el primer estudio de *Salvia lineata* Benth.

De las últimas fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 6:4 ), se aislaron por cristalización de metanol, 80 mg ( 0.002% ) de un sólido cristalino el cual se denominó Linearifolina ( XIX ). - P.f. = 230°C.

$$[\alpha]_D^{20} = -68.7 \text{ ( c 0.19 MeOH )}$$

U.V. ( MeOH )  $\lambda_{\text{máx}}$  (  $\epsilon$  ) : 208 nm ( 13 000 ), 300 nm ( 9840 ).

I.R. (  $\text{CHCl}_3$  )  $\nu_{\text{máx}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 1750 ( carbonilo de  $\gamma$  lactona insaturada ), 1730 ( carbonilo de  $\delta$  lactona saturada ), 1660 ( dobles enlaces ), 1570 ( doble enlace ), 870 ( furano ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 16 )  $\delta$  : 6.25 ( m, 2H, H-1 y H-2 ), 6.9 ( da,  $J=4$ , 1H, H-3 ), 2.35 ( m, 1H, H-8 ), 2.75 ( dd,  $J = 16$  y 8, 1H, H-11 axial ), 2.15 ( dd,  $J = 16$  y 1, 1H, H-11 ecuatorial ), 5.75 ( dt,  $J = 8$  y 1, 1H, H-12 ), 6.4 ( sa, 1H, H-14 ), 7.4 ( m, 2H, H-15 y 16 ), 4.0 ( dd,  $J= 9$  y 1, 1H, H-19 pro S ), 4.5 ( d,  $J = 9$ , 1H, H-19 pro R ), 1.3 ( s, 3H, 3H-20 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 19, Tabla 3 ).

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 340 ( 20 ), 278 ( 3 ), 217 ( 2 ), 203 ( 10 ), 189 ( 15 ), 176 ( 5 ), 171 ( 10 ), 133 ( 20 ), 128 ( 20 ), 115 ( 30 ), 105 ( 50 ), 95 ( 100 pico base ), 94 ( 60 ), 91 ( 50 ), 82 ( 55 ), 77 ( 50 ), 55 ( 30 ), 41 ( 40 ), 39 ( 70 ).

3.- Los componentes diterpénicos de *Salvia microphylla* var *microphylla*.

El espécimen de *Salvia microphylla* var *microphylla* analizado fué recolectado en Julio de 1984 en el cerro del Ajusco ( Voucher MEXU 379090 ). Tres kilogramos de hojas y tallos de esta especie fueron extraídos con acetona durante una semana a temperatura ambiente. Al evaporar el disolvente a presión reducida se obtienen 172 g de extracto el cual fué sometido a una separación por cromatografía en columna empacada con sílice ( 35-60, 1.5 Kg ) -- desactivada con el 5 % en peso de agua ( 75 g ). El cromatograma se desarrolló utilizando como eluyente mezclas de hexano-AcOEt de polaridad creciente.

Las fracciones eluidas con hexano-AcOEt ( 6:4 ) se reunieron ( 36.8 g ) y se obtuvo el espectro de I.R. de la mezcla observándose en este las señales para ácido carboxílico ( 3000 y 1690  $\text{cm}^{-1}$  ), por lo cual 14 g de estas fracciones fueron tratadas con solución éterea de diazometano. El producto de la reacción se cromatografió en una columna empacada con sílice ( 35-60, 700g ), desactivada con el 10% en peso de agua, utilizando como eluyentes mezclas de hexano-AcOEt de polaridad ascendente, comenzando con hexano - AcOEt -- ( 9:1 ) y finalizando con el 100 % de AcOEt.

Las fracciones eluidas con 60% de hexano fueron reunidas -- ( 3.5 g ) y sometidas a una cromatografía " relámpago " sobre sílica gel 230-400, utilizando como único eluyente una mezcla de hexano-AcOEt ( 6:4 ).

Las primeras fracciones de esta cromatografía se reunieron ( 3 g ), obteniéndose después de sucesivas purificaciones por cromatografía " relámpago " 1.5 g ( 0.2 % en peso seco ) de un producto aceitoso cuyas propiedades espectroscópicas corresponden al 7 $\alpha$  - hidroxisandaracopimarato de metilo ( XXI ), el cual ha sido aislado previamente de *Juniperus communis*<sup>65</sup>. Durante el proceso de purificación de XXI se logró caracterizar pequeñas cantidades del 7-oxo-sandaracopimarato de metilo ( XXII ) como producto natural. La identidad de esta sustancia se comprobó por cromatografía de líquidos de alta resolución ( CLAR ), utilizando como referencia el producto de oxidación del 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimarato de metilo ( XXI ) con MnO<sub>2</sub>. Asimismo se lograron aislar 50 mg de una sustancia cristalina con p.f. 160-161°C (AcOEt-hexano) cuyas propiedades espectroscópicas corresponden a las descritas para un diterpeno previamente aislado de *Baccharis trimera*<sup>71</sup>, *Salvia semiatratha*<sup>72</sup>, y *Salvia melissodora* Lag<sup>73</sup>. La identidad de esta sustancia se comprobó por comparación directa con una muestra auténtica<sup>73</sup>.

De las últimas fracciones de la cromatografía anterior se lograron aislar por cristalización de acetona-éter isopropílico 80 mg ( 0.0026 % peso seco ) de un producto sólido cristalino el cual presentó un p.f. = 170-171°C, y que fué identificado como el 7,15-isopimaradien-14 $\alpha$ ,18 diol ( XXIV ). Este producto no se encuentra descrito en la literatura, pero ha sido aislado recientemente de *Lepechinia glomerata*<sup>70</sup>.

$$[\alpha]_D^{20} = - 41.75 \text{ ( c 0.19 CHCl}_3 \text{ )}$$

I.R. (  $\text{CHCl}_3$  )  $\nu_{\text{m\acute{a}x}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 3626 ( oxihidrilo ), 1635 ( doble enlace ), 1602 ( doble enlace ), 1003 y 920 ( grupo vinilo ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{C}_6\text{D}_6$  ) ( Espectro No. 23 )  $\delta$  : 5.97 ( dd,  $J=18$  y 10, 1H, H-15 ), 5.65 ( m, 1H, H-7 ), 5.05 ( dd,  $J=18$  y 1, 1H, H-16 trans ), 5.0 ( dd,  $J=10$  y 1, 1H, H-16 cis ), 3.6 ( sa, 1H, H-14 ), 3.35 ( d,  $J=10$ , 1H, H-18 ), 2.85 ( d,  $J=10$ , 1H, H-18 ), 0.9 ( s, 6H, 3H-18, 3H-20 ), 0.8 ( s, 3H, 3H-17 ).

R.M.N.  $^{13}\text{C}$  20 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 24 ) Tabla No. 6

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 304 (  $\text{M}^+$ , 5 ), 289 ( 2 ), 286 ( 5 ), 123 ( 97 ), 109 ( 100 pico base ), 55 ( 85 ).

Oxidaci3n del 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimarato de metilo ( XXI )  
con  $\text{MnO}_2$ .

500 mg de XXI en 10 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se tratar3n con 5 g de  $\text{MnO}_2$ . La suspensi3n resultante se mantuvo en agitaci3n durante 2 d3as a temperatura ambiente. Pasado este tiempo la reacci3n se filtr3 a trav3z de celita. La evaporaci3n del filtrado permite obtener 473 mg de un producto aceitoso, el cual se purific3 por cromatograf3a en columna, utilizando como eluyente una mezcla de hexano - AcOEt ( 8:2 ). De las primeras fracciones se obtiene el 7-oxo-sandaracopimarato de metilo ( XXII ) como un s3lido cristalino con un pf de 87 - 90  $^{\circ}\text{C}$  ( hexano-AcOEt ).

I.R. (  $\text{CHCl}_3$  )  $\nu_{\text{m\acute{a}x}}$   $\text{cm}^{-1}$  : 1720 ( carbonilo de 3ster ), 1680 ( carbonilo de cetona  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturada ), 1634 ( dobles enlaces ).

R.M.N.  $^1\text{H}$  80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 22 )  $\delta$  : 0.85 ( s, 3H, 3H-10 ), 1.1 ( s, 3H, 3H-17 ), 1.2 ( s, 3H, 3H-19 ), 3.6 ( s, 3H,

COOMe), 4.9 ( dd, J = 10 y 1, 1H, H-16 cis ), 4.89 ( dd, J = 18 y 1, 1H, H-16 trans ), 5.8 ( dd, J = 18 y 10, 1H, H-15 ), 6.7 -- ( d, J = 2, 1H, H-14 ).

E.M. m/z ( abundancia relativa ) : 330 ( M<sup>+</sup>, 82 ), 315 ( 20 ), 271 ( 40 ), 270 ( 20 ), 255 ( 30 ), 237 ( 20 ), 181 ( 70 ), 162 - ( 60 ), 149 ( 60 ), 133 ( 60 ), 105 ( 80 ), 91 ( 100 ), 79 ( 60 ), 77 ( 50 ), 50 ( 40 ).

Una muestra de este producto fué enviada a cromatografía de líquidos de alta resolución, para ser utilizada como referencia para la identificación de esta misma sustancia como producto natural.

Condiciones de Operación:

Columna Si-10 de 25 cm.

Detector de UV ( 270 nm )

Eluyente : hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ( 8:2 ), velocidad de flujo 40 ml/h. Presión 500 psi.

Tiempo de retención de la referencia : 3.75 min

Tiempo de retención en la muestra problema: 3.75 min.

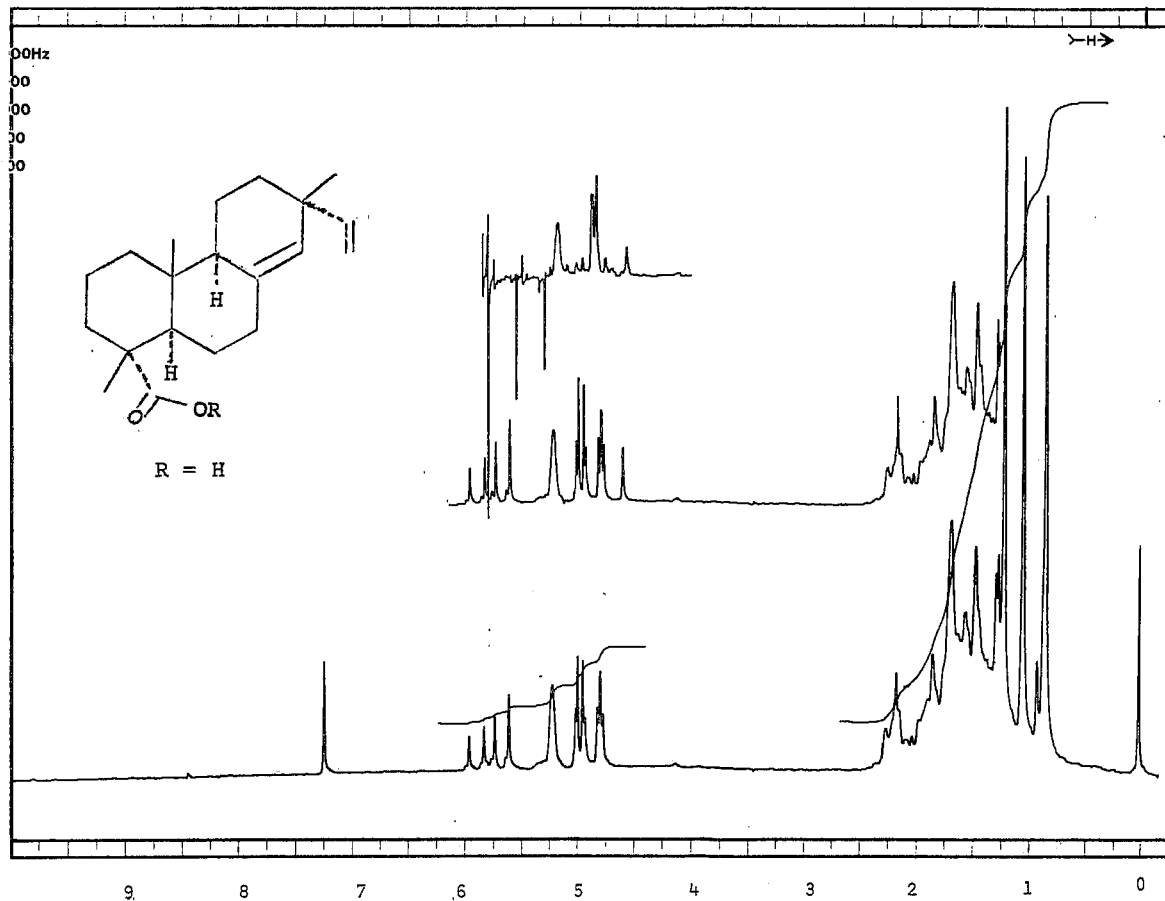
Reducción con LiAlH<sub>4</sub> del 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimarato de metilo.

200 mg de XXI, disueltos en 5 ml de THF ( destilado de LiAlH<sub>4</sub> ), se trataron con 100 mg de LiAlH<sub>4</sub>, bajo una atmósfera de Ar. La mezcla de reacción se agitó durante 6 hrs. a temperatura ambiente. Una vez concluida la reacción, el exceso de hidruro se destruyó agregando unas gotas de AcOEt. Posteriormente se adicionaron unas gotas de solución saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. El sólido que precipita -

se separa por filtración. La evaporación del disolvente permite obtener 151 mg de un sólido cristalino con p.f. = 75-79°C ( acetona ) cuyas propiedades espectroscópicas corresponden a las descritas para el 8(14),15-sandaracopimaradien-7 $\alpha$ ,18 diol ( XXIII ), previamente aislado de *Iboza riparia* ( *Labiatae* )<sup>66</sup> ( p.f. descrito 76-81°C de acetona ).



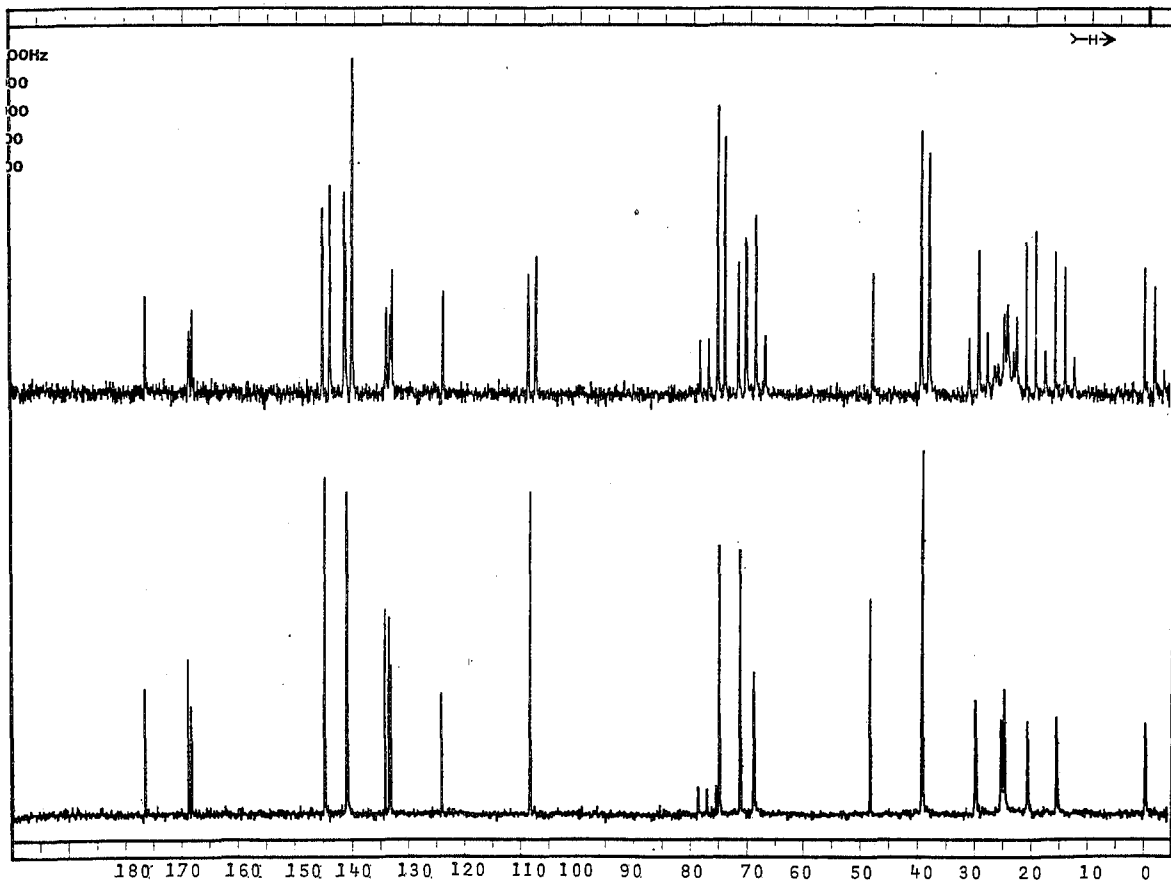
## VI. ESPECTROS



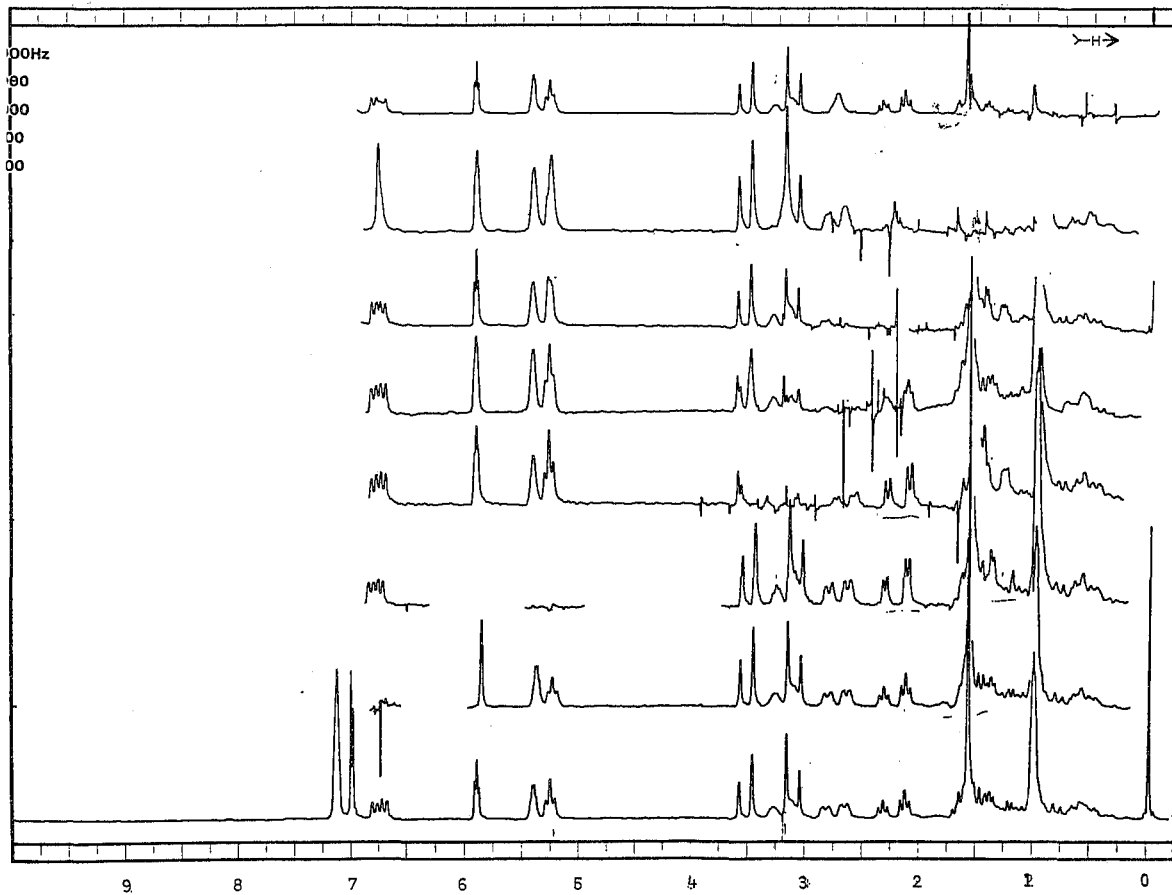
ESPECTRO 1



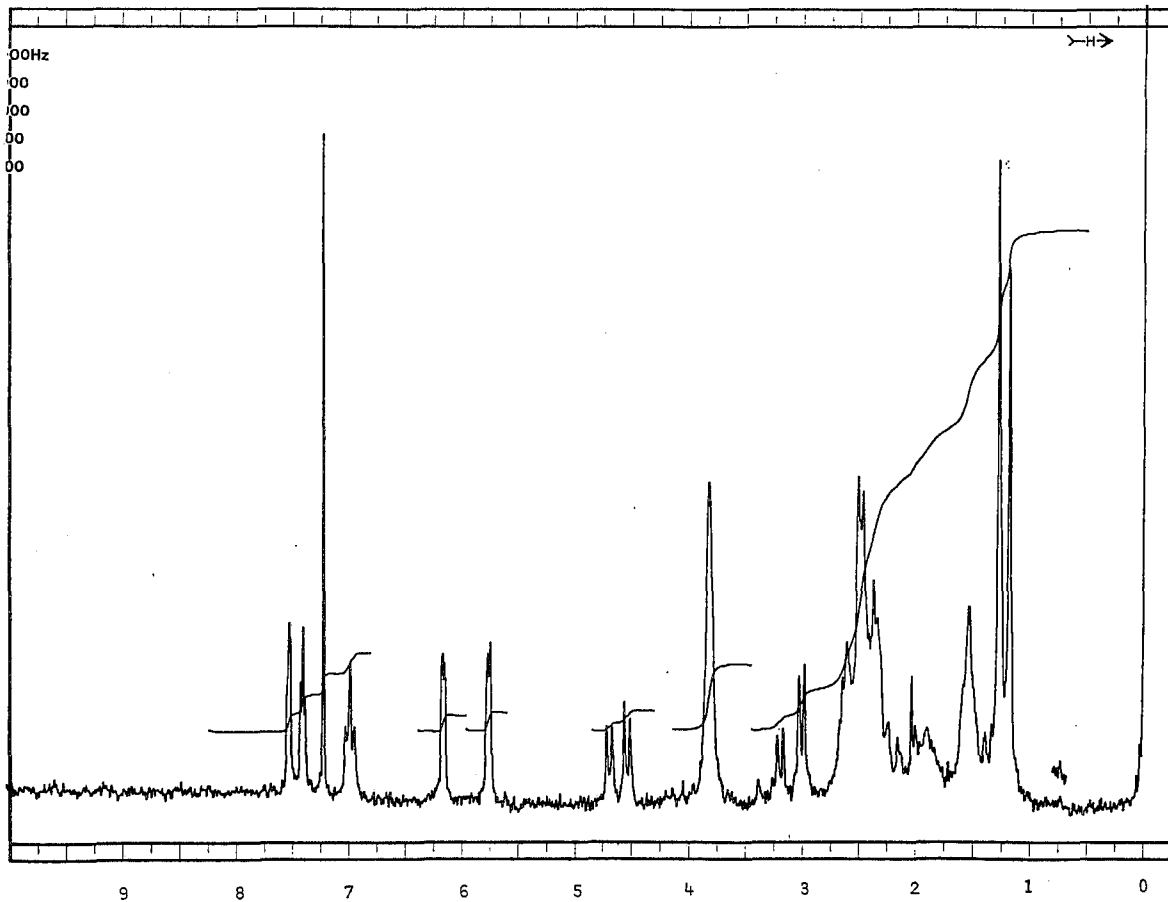
ESPECTRO 2



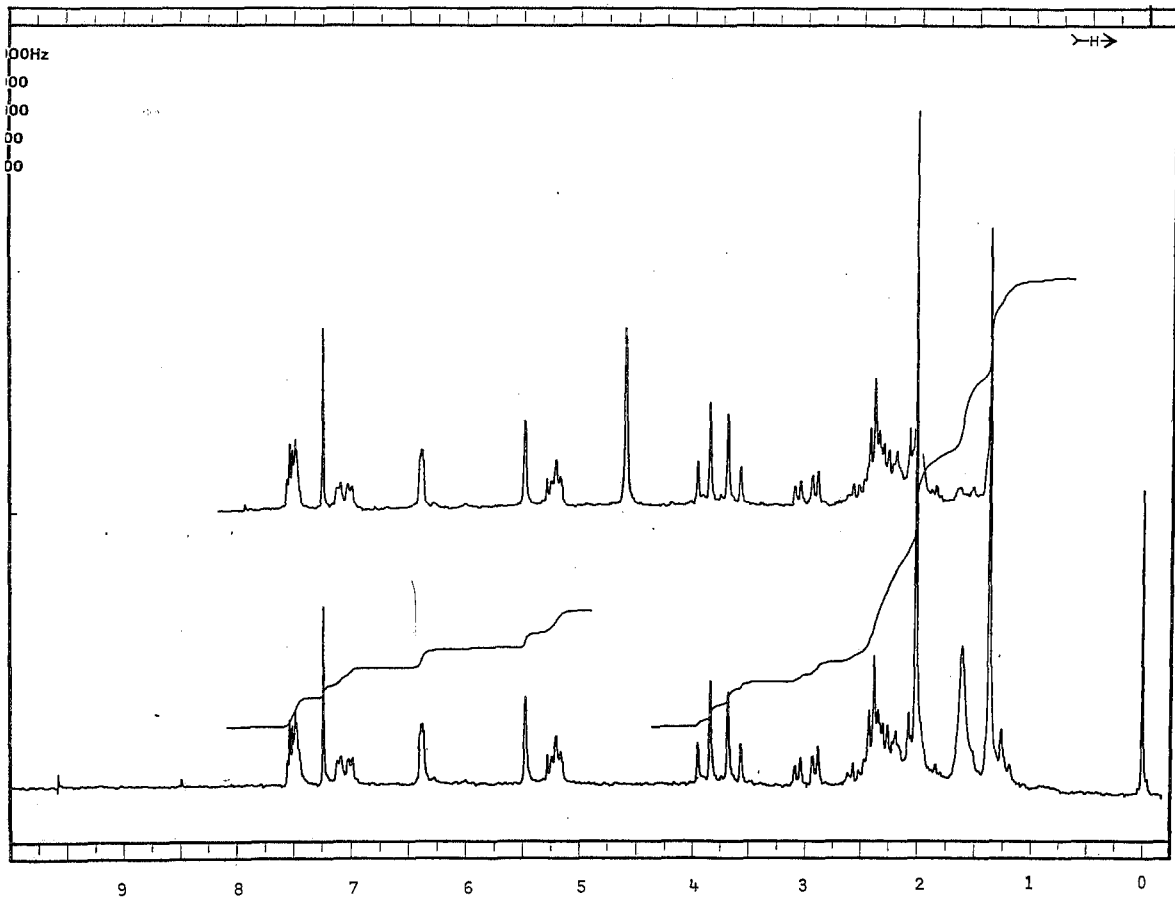
ESPECTRO 3



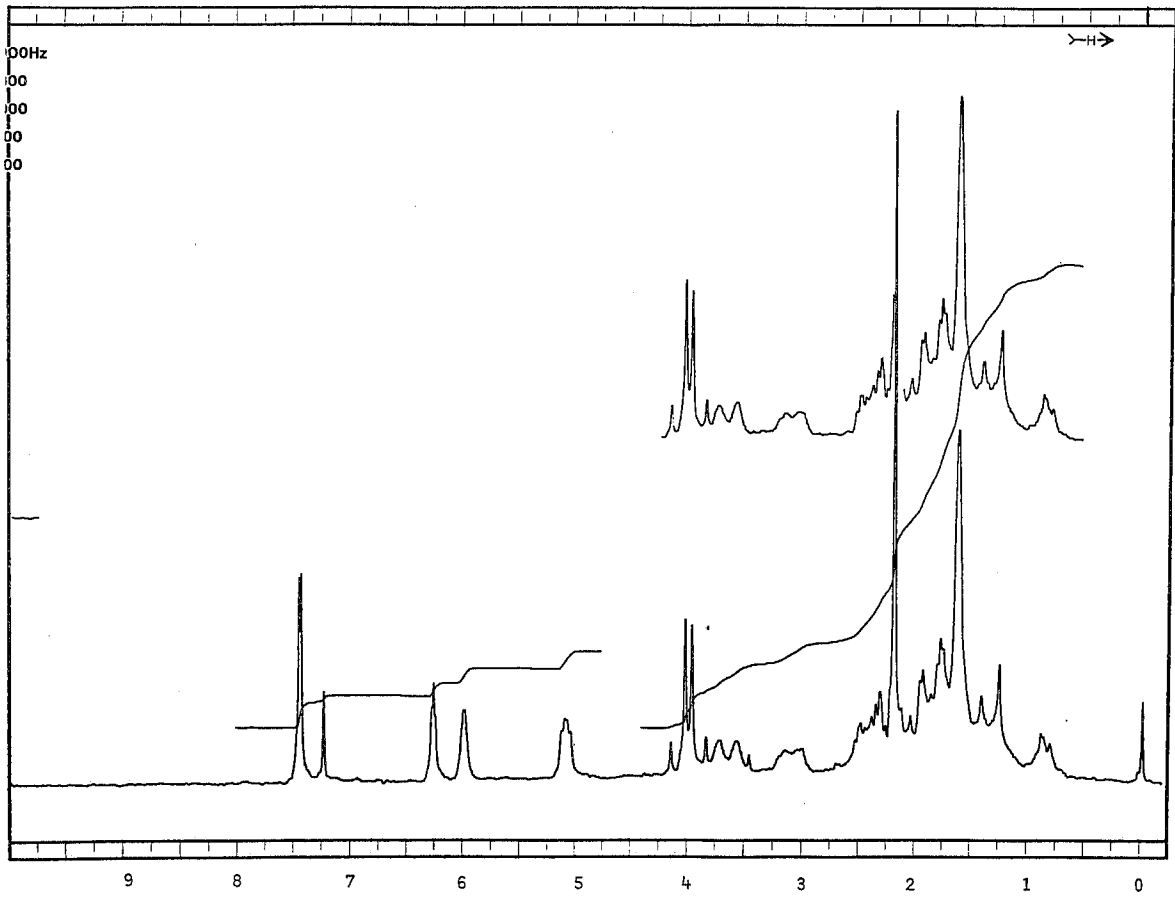
ESPECTRO 4



ESPECTRO 5

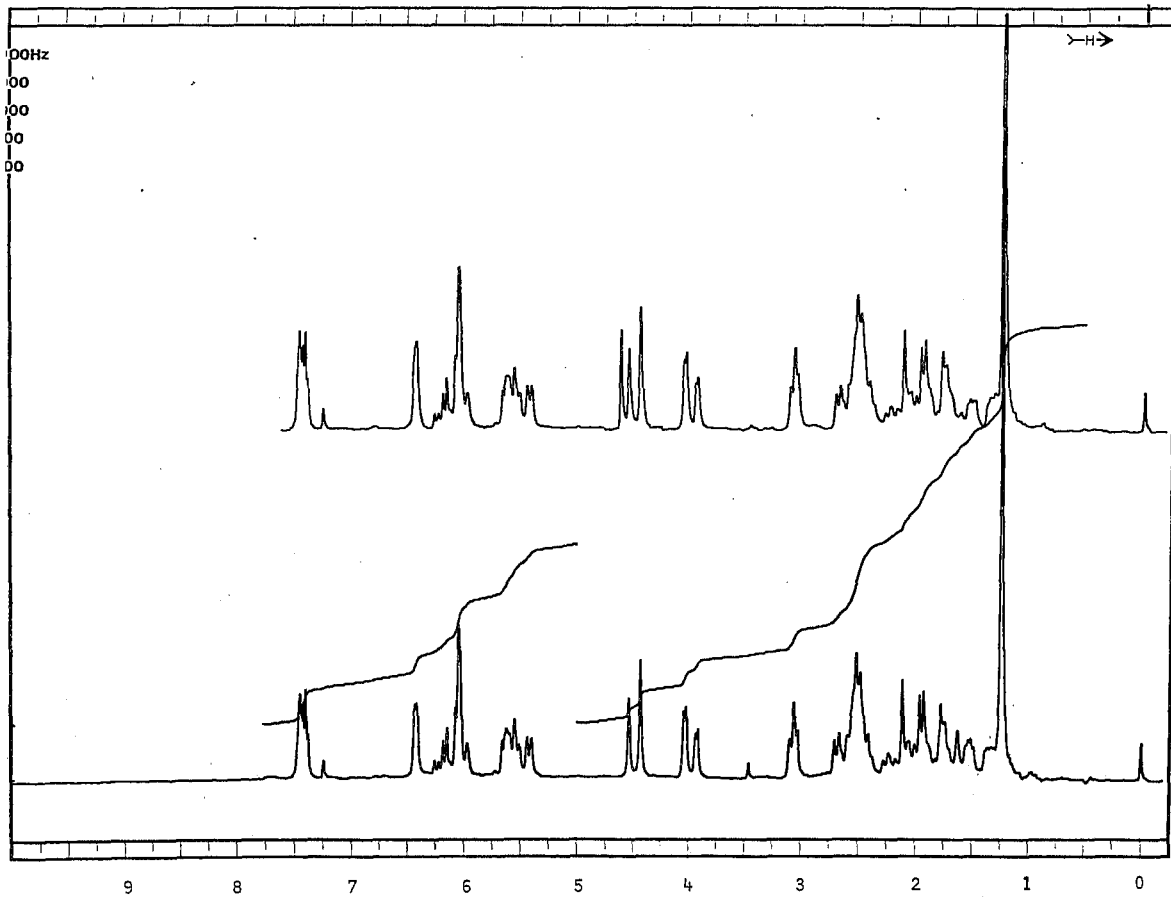


ESPECTRO 6

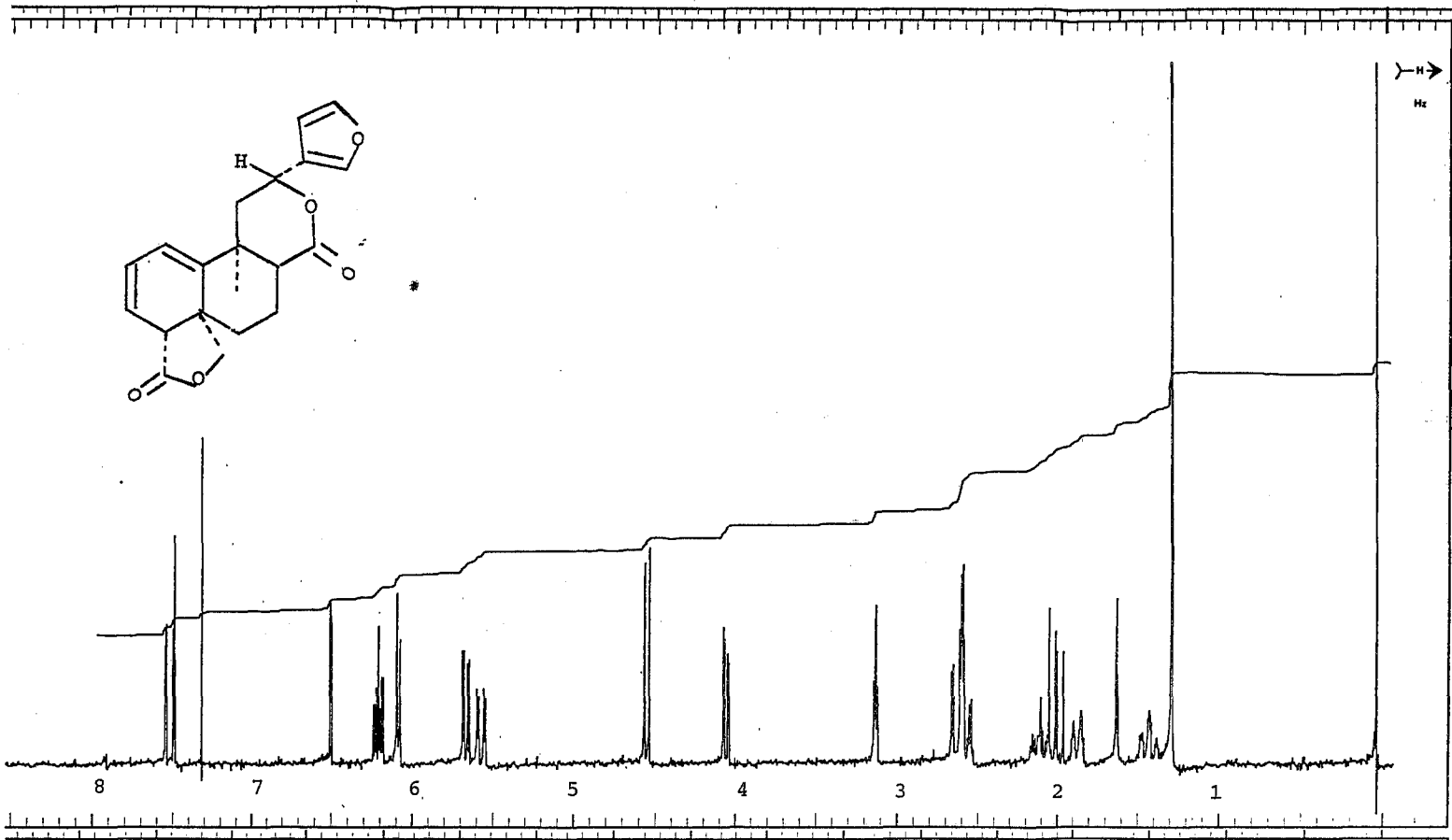


ESPECTRO 7

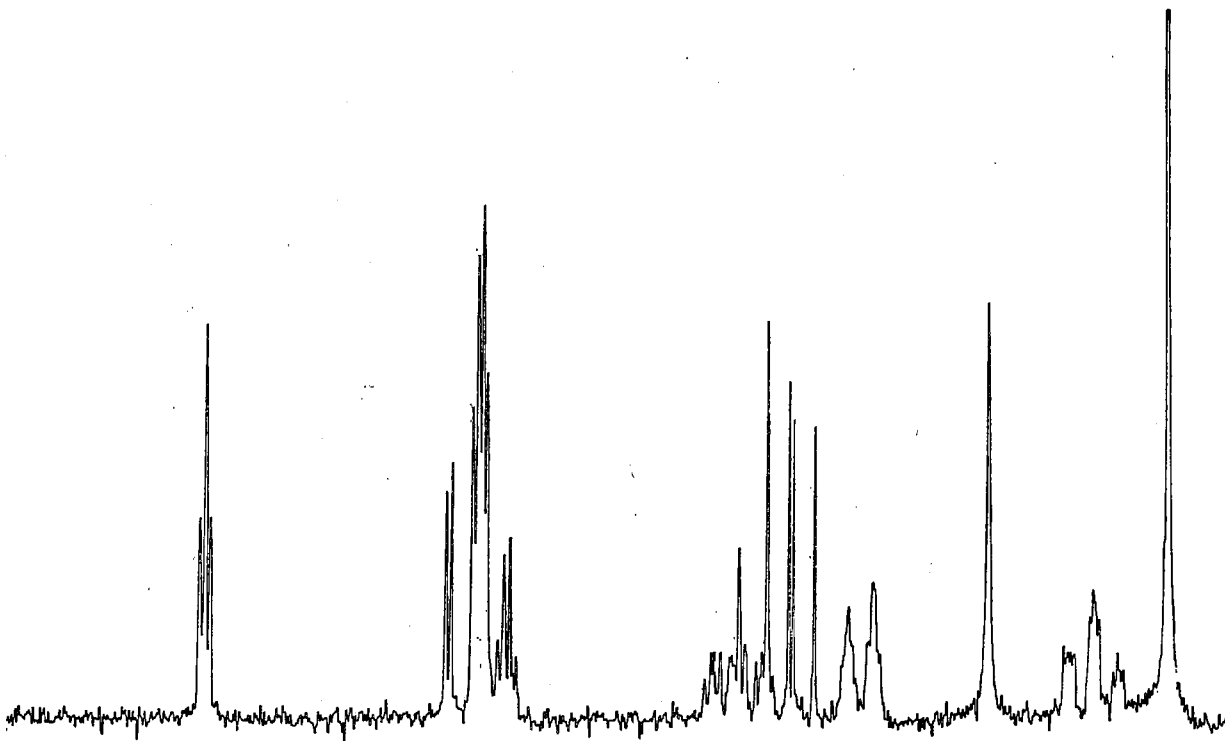




ESPECTRO 8

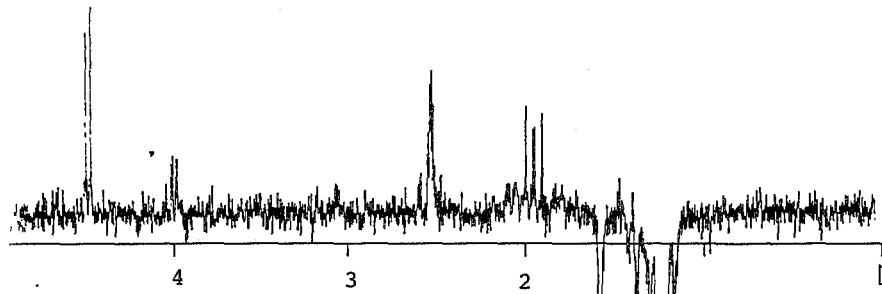


ESPECTRO 9

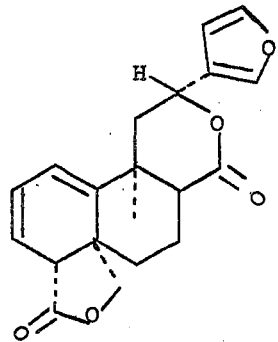


2.5

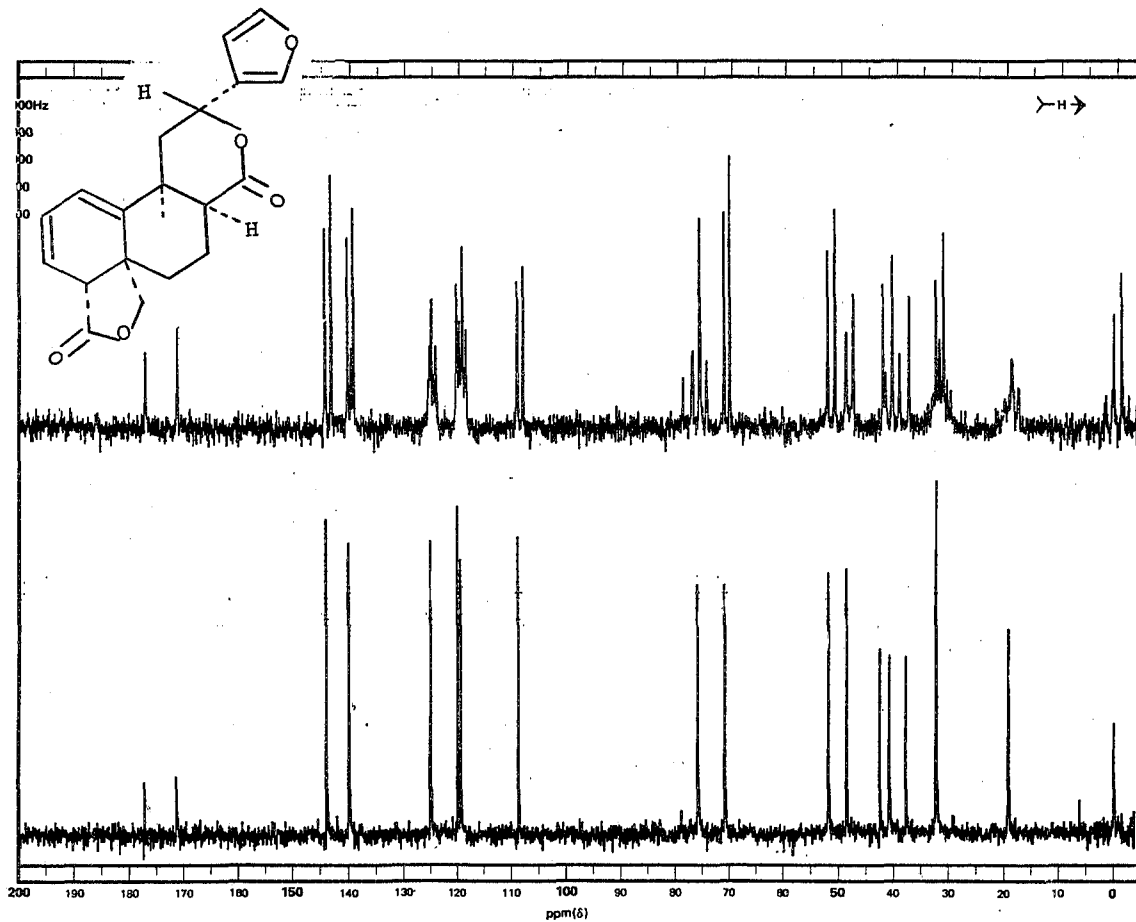
E S P E C T R O 10



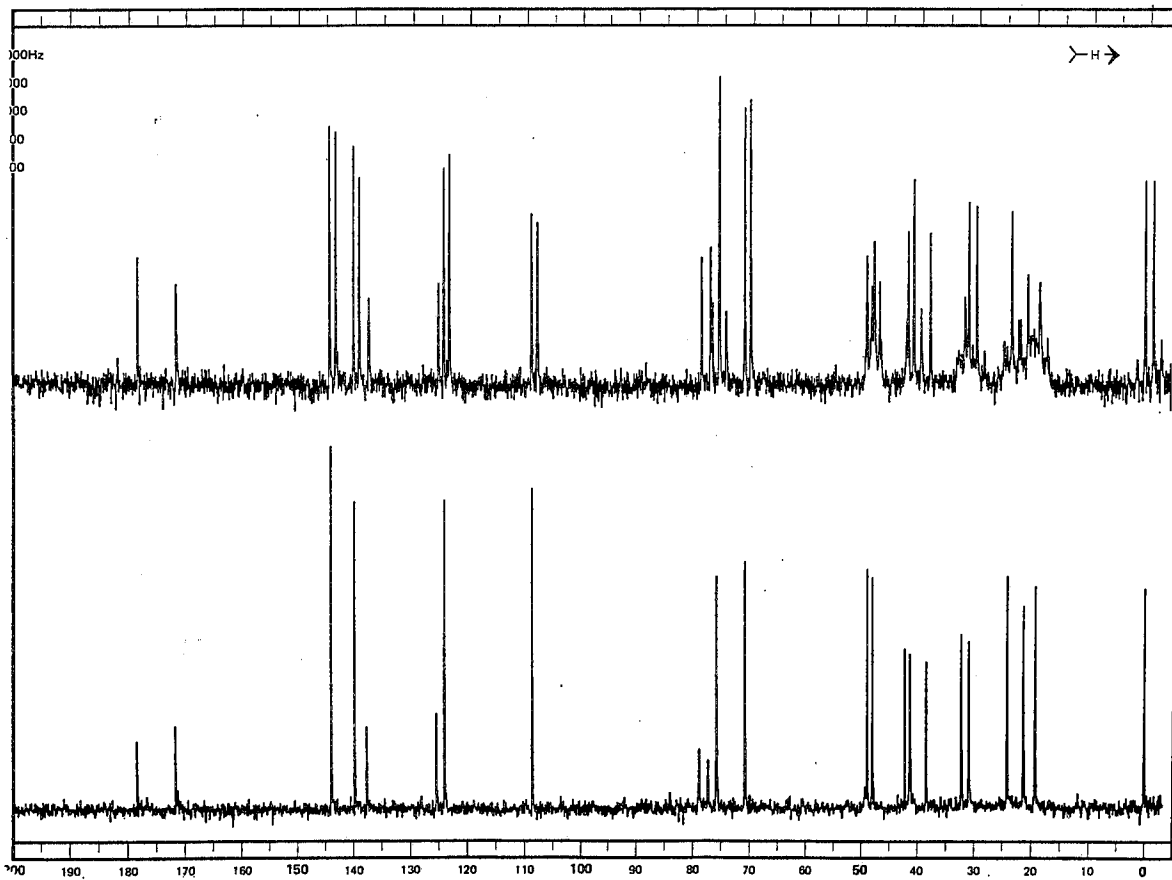
Irradiación en 1.25 ppm



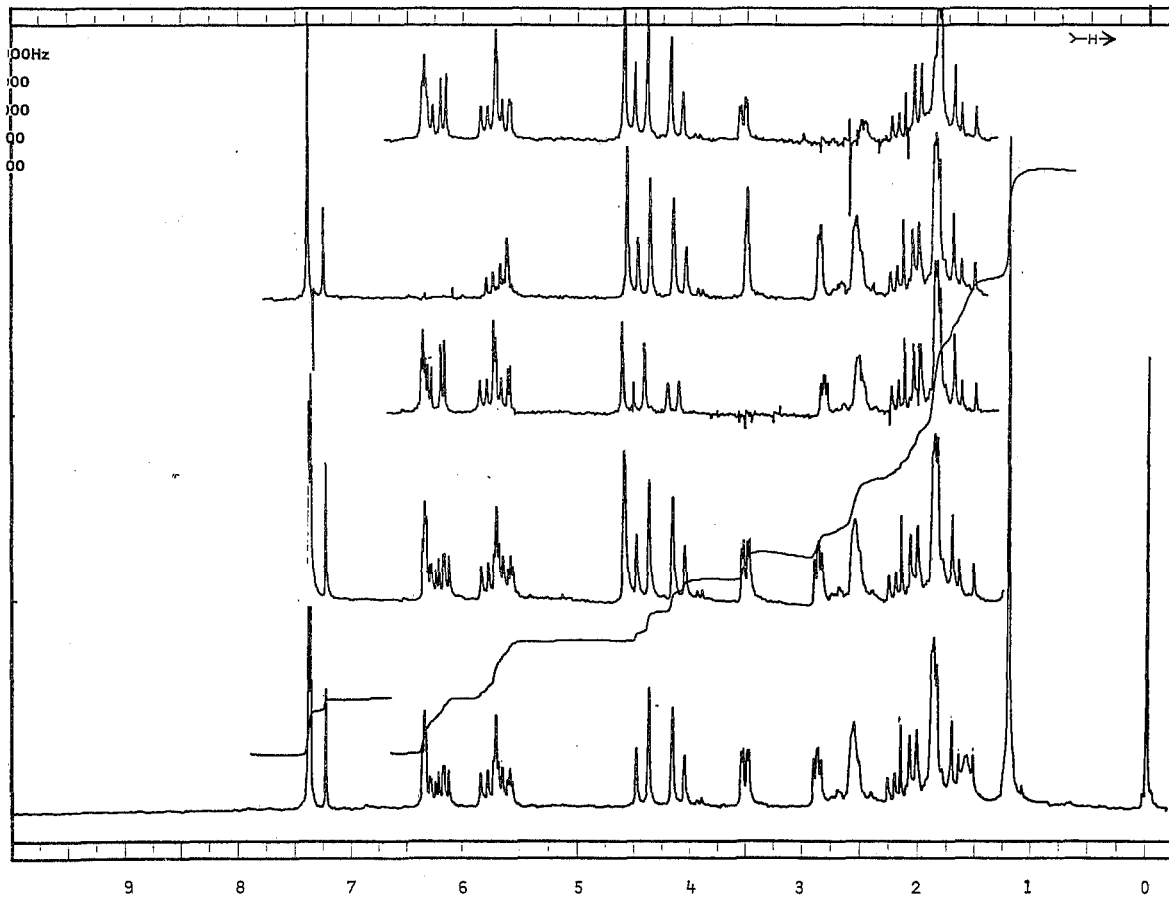
ESPECTRO 11



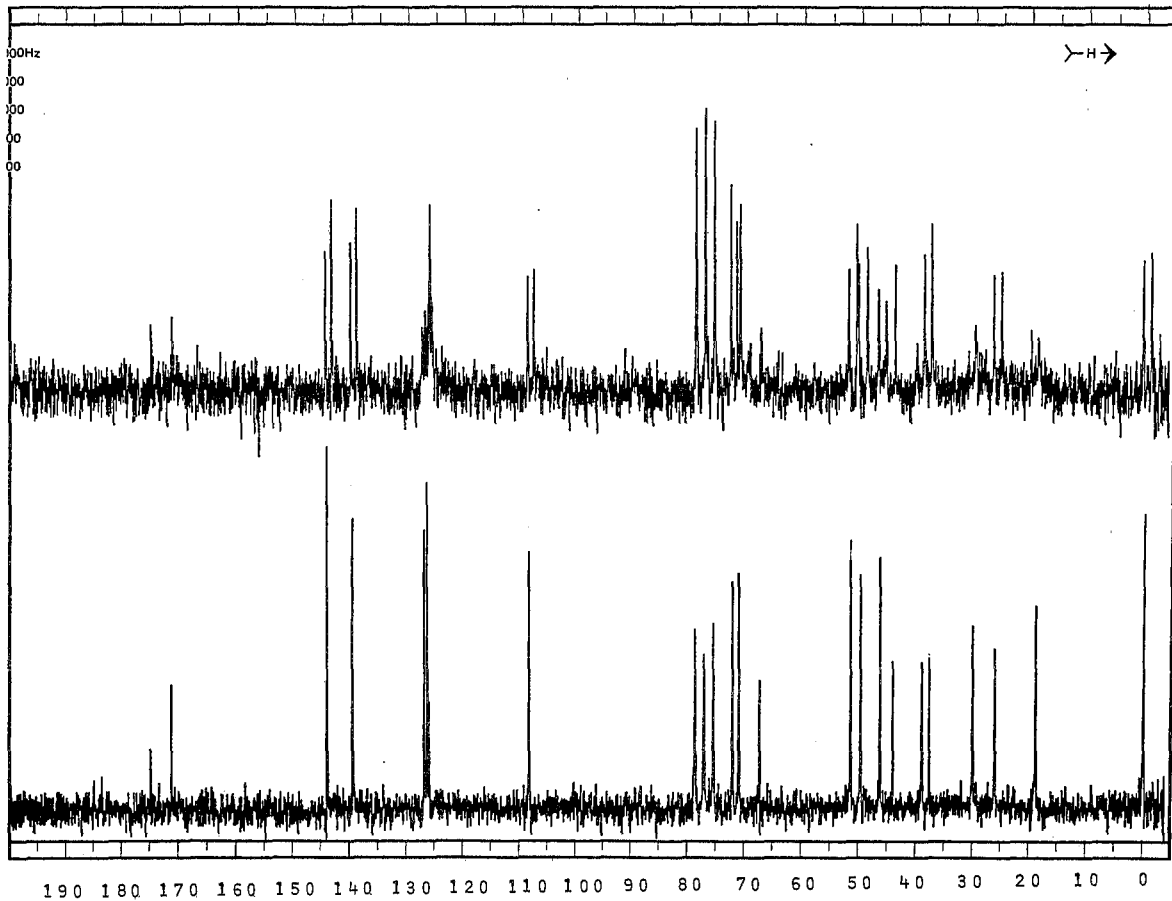
ESPECTRO 12



ESPECTRO 13

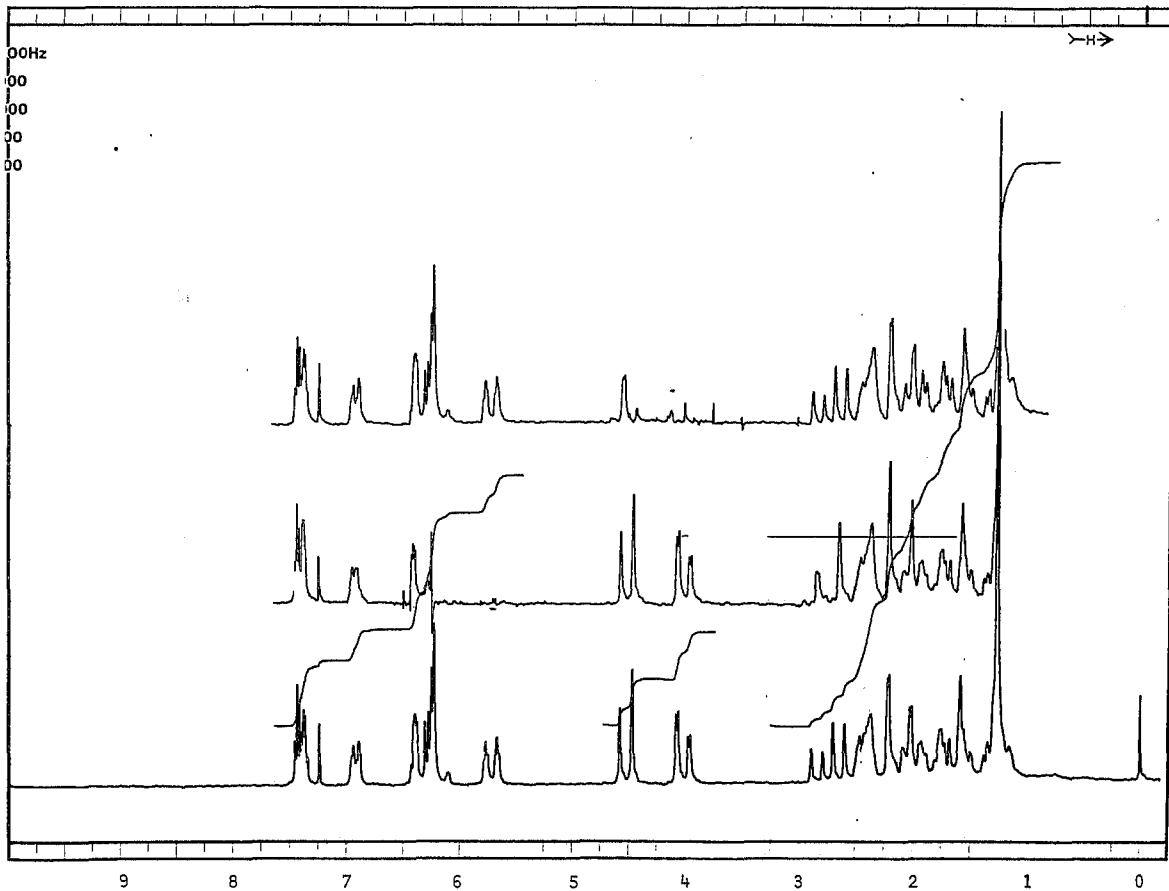


ESPECTRO 14

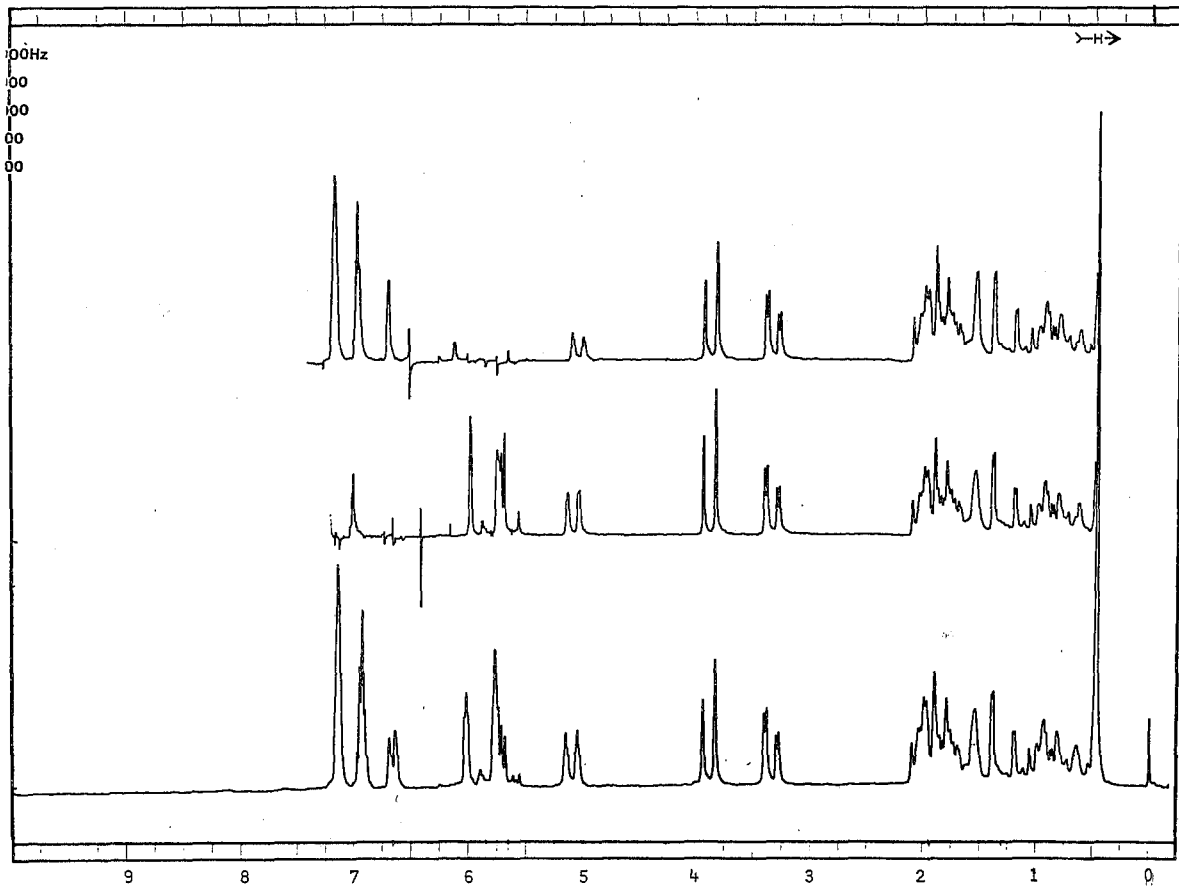


ESPECTRO 15

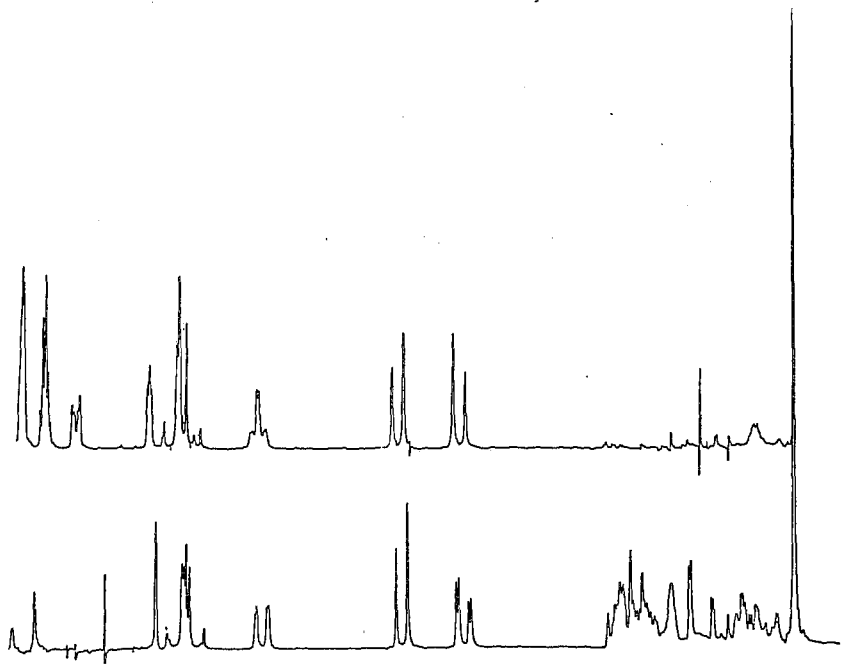




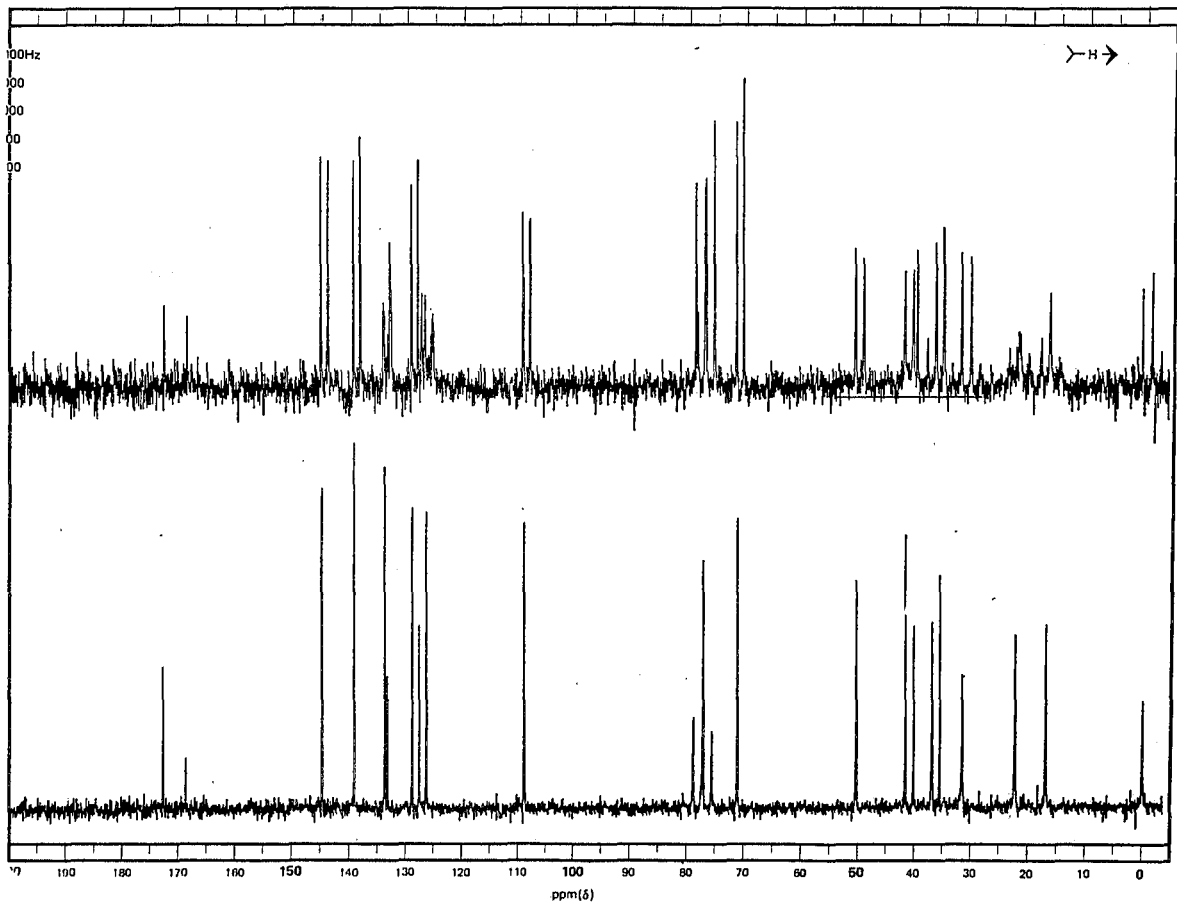
ESPECTRO 16



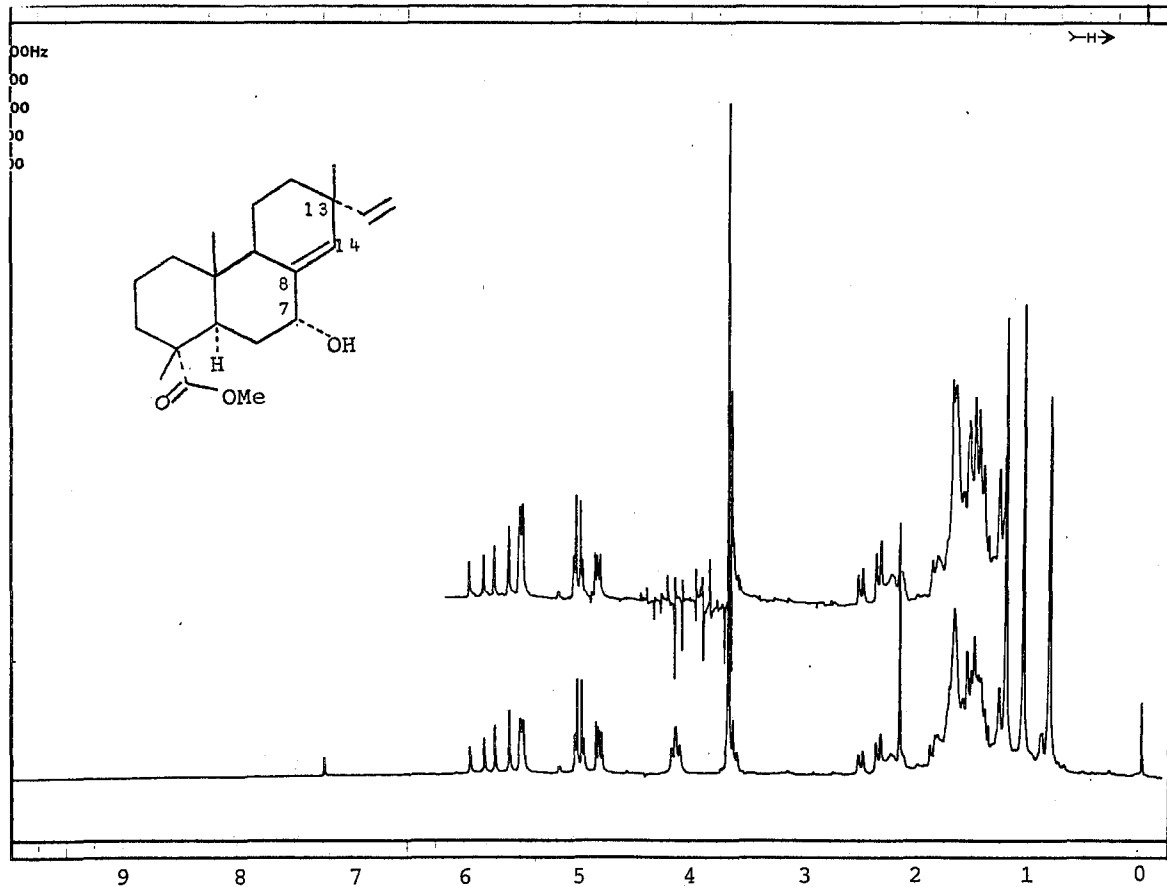
E S P E C T R O 17



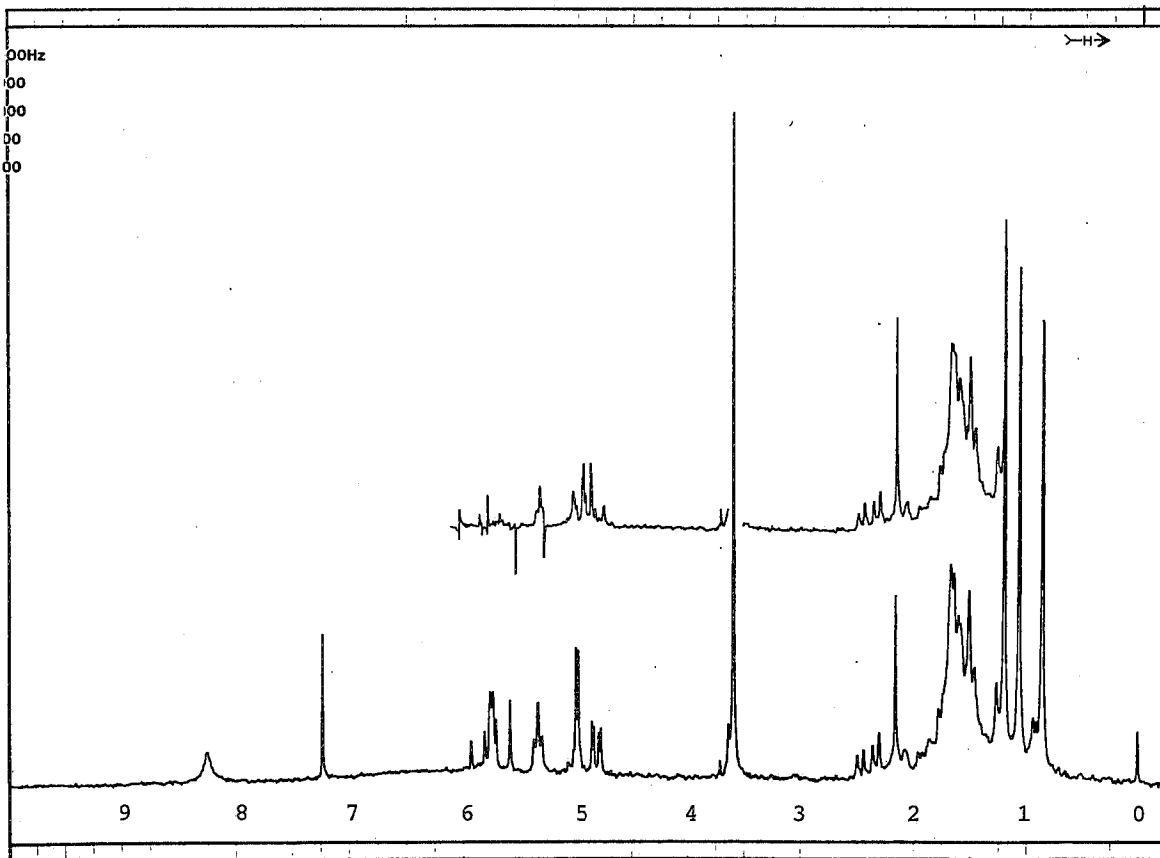
ESPECTRO 18



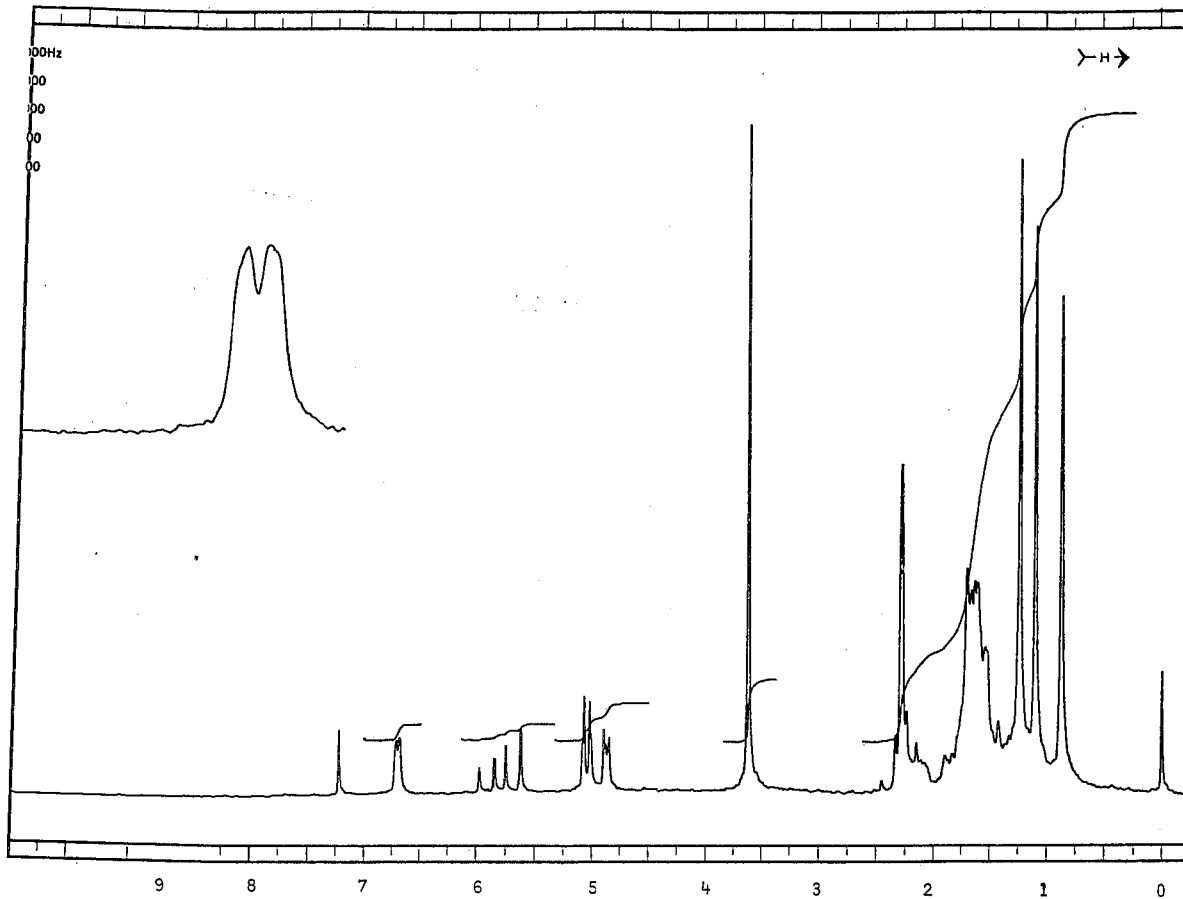
ESPECTRO 19



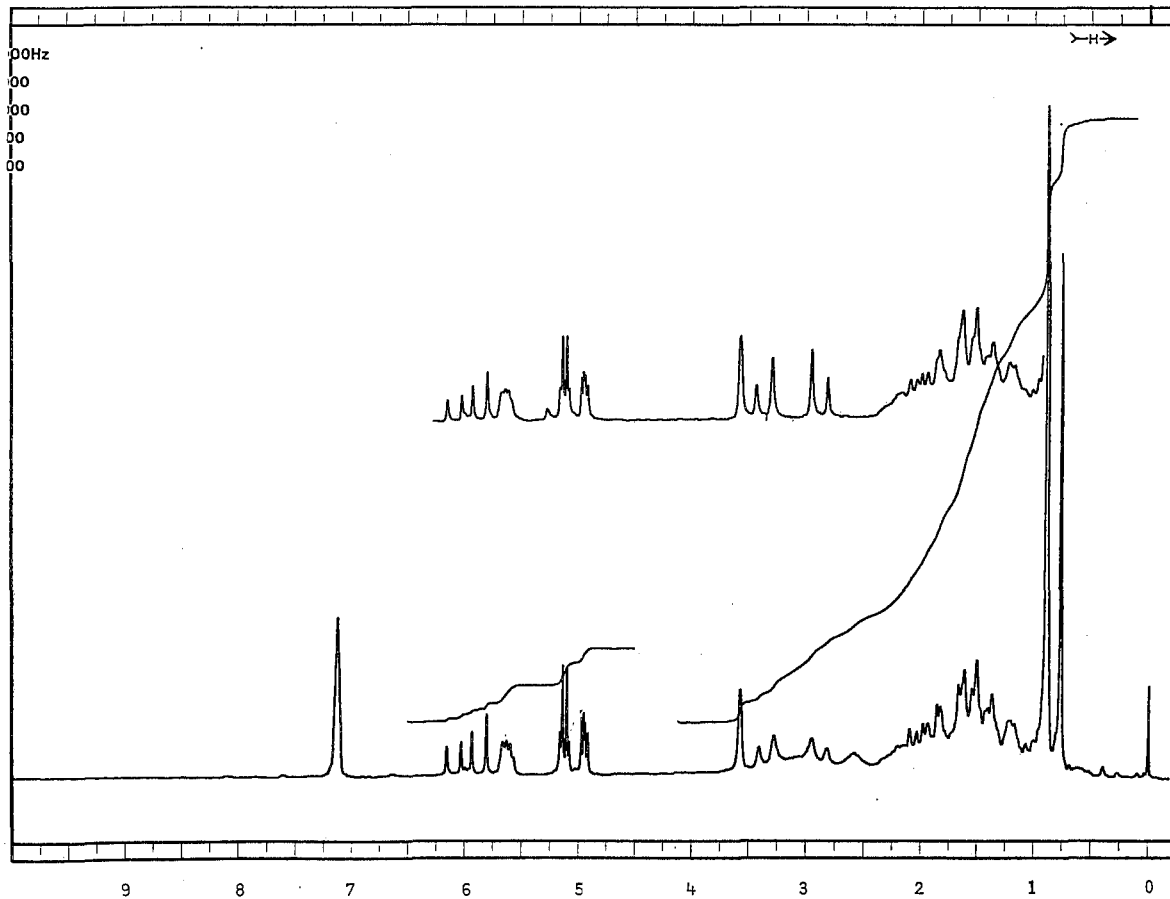
E S P E C T R O 2 0



E S P E C T R O 2 1

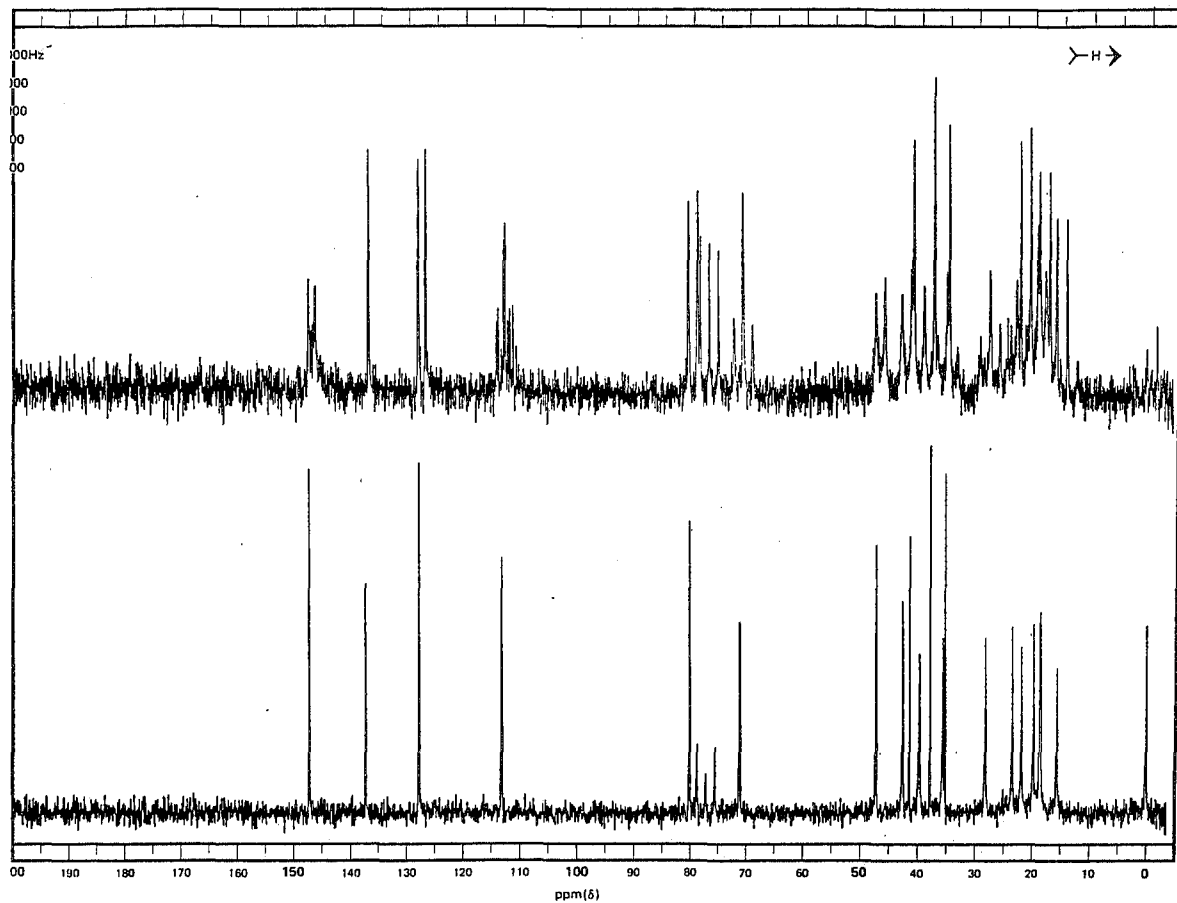


ESPECTRO 22

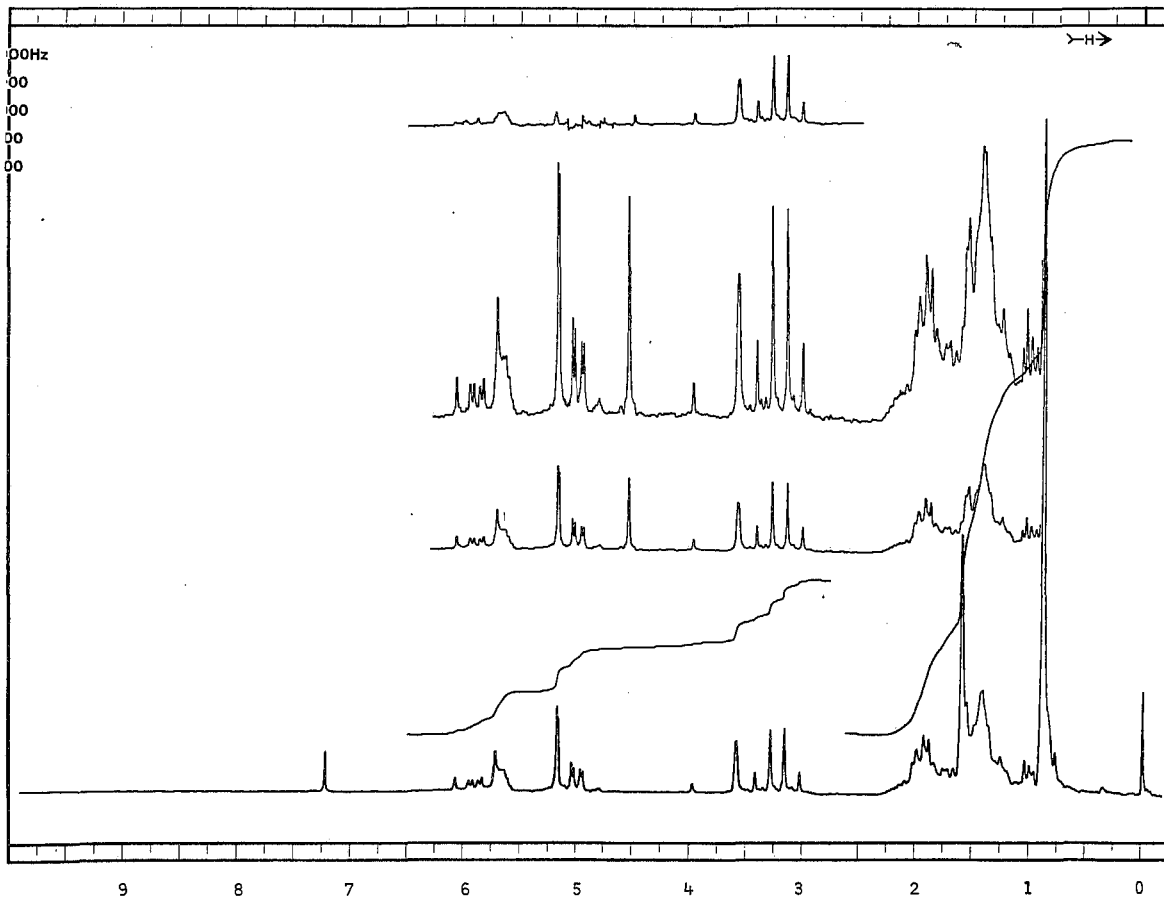


ESPECTRO 23

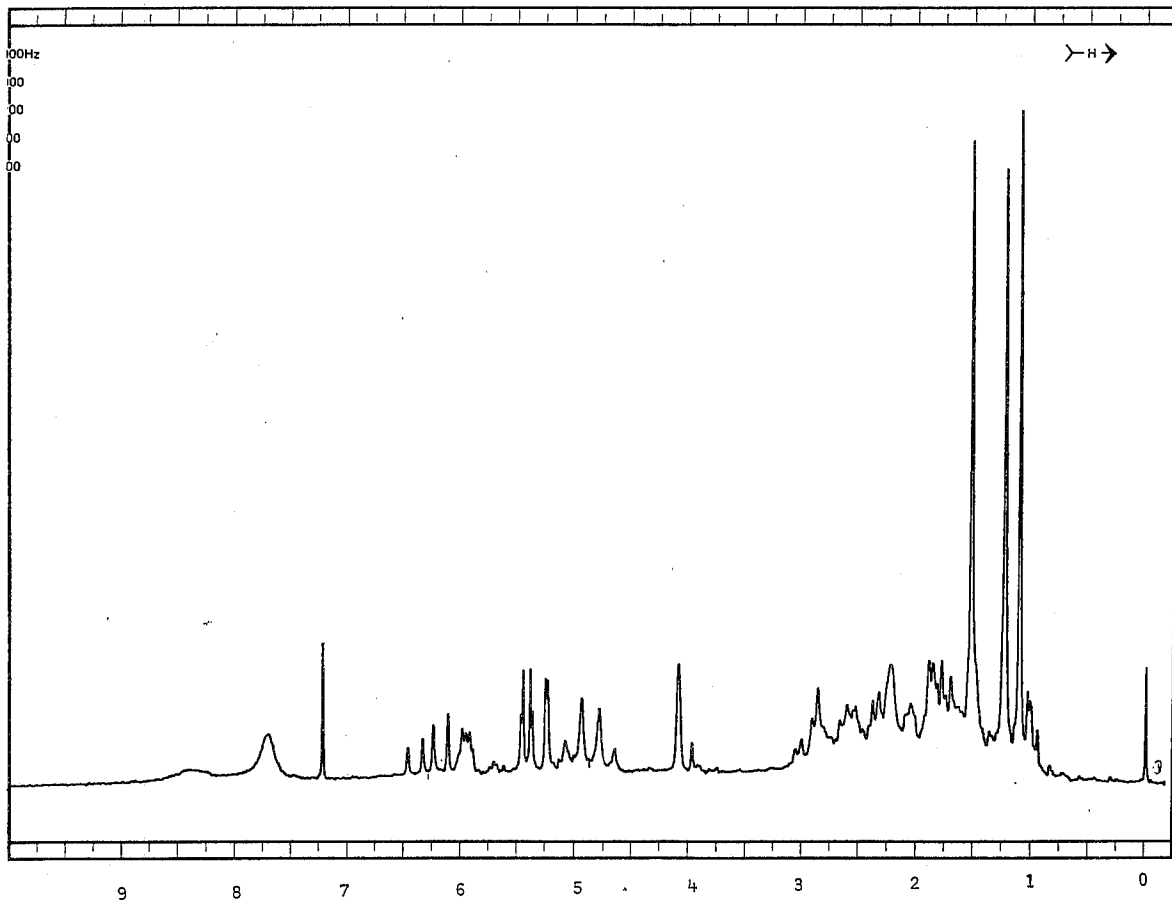




ESPECTRO 24



E S P E C T R O 2 5



ESPECTRO 26

## VII. REFERENCIAS Y NOTAS

## VII. REFERENCIAS Y NOTAS

- 1.- Rzedowski J. *Vegetación de México*, 1a Edición, Editorial Limusa S.A. México 1983.
- 2.- Comunicación personal del Dr. T.P. Ramamoorthy del Instituto de Biología U.N.A.M.
- 3.- Briquet J. *Labiatae en Engler-Prantl, Die Naturl Pflanzenfamilien IV. 3a Engelmann Leipzig 1879.*
- 4.- Wagner H. Rev. Latinoamer. Quím. 8 , 16 ( 1977 ).
- 5.- Hanson I.W., Hocking G.M. Economic Botany 11 , 64 ( 1957 ).
- 6.- Camps F., Coll J., Cortel A. Rev. Latinoamer. Quím. 12, 81 ( 1981 ).
- 7.- Kubo I., Taniguchi M., Kubota T. Rev. Latinoamer. Quím. 9, 157 ( 1978 ).
- 8.- Wollenweber E., Dietz H.V. Phytochemistry 20, 869 ( 1981 ).
- 9.- Sanders A., Ulubelen A., Mabry T.J. Rev. Latinoamer. Quím. 11, 139 ( 1980 ).
- 10.- Trotín F., Pinkas M. Plant. Med. Phytother. 13, 94 ( 1979 ).
- 11.- Bianco A., Lamesi S., Pasacantilli P. Phytochemistry 23, 121, ( 1984 ).
- 12.- Recientemente se ha aislado  $\beta$ -sitosterol de varias especies de *Salvia* , por ejemplo : *S. lasiantha*, *S. puberula*, *S. aspera* entre otras. Rodríguez-Hahn Lydia y colaboradores.
- 13.- Orta J.M. " Estudio Químico de los Metabolitos Secundarios de *Salvia lavanduloides* ( *Cantueso* ) ". Tesis Profesional UNAM y referencias citadas.
- 14.- Cárdenas R.X. " Aislamiento y determinación de la estructura molecular de nuevos metabolitos secundarios de *Lepechinia glo-*

mekata ". Tesis profesional UNAM 1984.

- 15.- Se han aislado recientemente triterpenos del tipo del ácido Ursólico y Oleanólico de *Hyptis oblongifolia*.
- 16.- Rustaiyan A., Niknejad A., Nazarians L., Jakupovic J., Bolhman F. Phytochemistry 21, 1812 ( 1982 ).
- 17.- Pérez-Sirvent L., Rodríguez B., Savona G., Serettaz O. Phytochemistry 22, 527 ( 1983 ).
- 18.- Hassan M.G., Al-Hazimi, Ghulam A.Miana. Pakistan J.Chem.Soc. ( en prensa ).
- 19.- Ibid. referencia 14.
- 20.- Ver por ejemplo Escamilla E., Rodríguez B. Phytochemistry 19, 463 ( 1980 ).
- 21.- Popa D.P., Orgiyan T.M. Khim. Prirod. Sedinanii. 324 ( 1974 ).
- 22.- Piozzi F. Heterocycles 15, 1489 ( 1981 ).
- 23.- Perales A., Martínez-Ripoll M., Fayos J., Savona G., Bruno M., Rodríguez B. J. Org. Chem. 48, 5318 ( 1983 ).
- 24.- González A.G., Fraga B.M., Luis J.G., Ravelo A.G. Anales de Quím. 71, 701, ( 1975 ).
- 25.- Ibid. referencia 5
- 26.- Mateo C., Sanz J., Calderón J. Phytochemistry 23, 319 ( 1984 ).
- 27.- Masada Y. Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. Jhon Wiley and Sons Inc. 1976.
- 28.- Pigulevskii I. J. Russ Phys. Chem. Soc. 51, 60 ( 1920 ).
- 29.- Ramamoorthy T.P. Pl.Syst. Evol. 146, 141 ( 1984 ).
- 30.- Martínez M. Las Plantas Medicinales de México. 3a. Edición - Ediciones Batas. México 1944.

- 31.- Epling C., Játiva C. Botanical Museum Leaflets. Harvard University 20, 75 ( 1962 ).
- 32.- Standley P., Williams L. Fieldiana Bot. 24, 237 ( 1973 )
- 33.- Epling C. A revision of *Salvia* Subgenus *Calosphace*. Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Beih. 110: 1939.
- 34.- Se han aislado también clerodanos y labdanos y en este trabajo se describe por primera vez la presencia de pimaranos.
- 35.- Rodríguez-Hahn L., Martínez G., Romo J. Rev. Latinoamer. Quím. 4, 93 ( 1973 ).
- 36.- a).- Rodríguez J., Tello H., Quijano L., Calderón J., Gómez F., Romo J., Rios T. Rev. Latinoamer. Quím. 5, 41 ( 1974 ).  
b).- Romo de Vivar A., González O.M., Pérez C.A.L. Rev. Latinoamer. Quím. 16, 51 ( 1985 ).
- 37.- Collera O., Gomora E., García Jiménez F. Rev. Latinoamer. Quím. 11, 60 ( 1980 ).
- 38.- Petit G.R., Klinger H., Jorgensen N.N. Phytochemistry 5, 301, ( 1966 ).
- 39.- Domínguez X.A., González H., Aragón R., Gutiérrez M., Marroquín J.S., Watson W. Planta Medica 30, 237 ( 1976 ).
- 40.- Jiménez M., Moreno E.D., Díaz E. Rev. Latinoamer. Quím. 10, 166 ( 1979 ).
- 41.- Ortega A., Blount J.F., Manchand P.S. J. Chem. Soc. Perkin - Trans I, 2505 ( 1982 ).
- 42.- Savona G., Raffa D., Bruno M., Rodríguez B. Phytochemistry 22, 784 ( 1983 ).
- 43.- Esquivel B., Méndez A., Ortega A., Soriano-García M., Toscano A., Rodríguez-Hahn L. Phytochemistry 24, 1769 ( 1985 ).

- 44.- Devon S. Handbook of Naturally Occuring Compounds Vol II.  
Academic Press, New York 1972.
- 45.- Henry T.A. J.Chem.Soc. 79, 1144 ( 1901 ). ver también  
Tschirch A., Wolff M. Archiv Pharm. 244, 684 ( 1906 ).
- 46.- Afonso A. J. Org. Chem. 35, 1949 ( 1970 ).
- 47.- Audier H.E., Bory S., Fétizon M., Anh N.T. Bull. Soc. Chim.  
Fran. 4002 ( 1966 ).
- 48.- Ver Hanson J.R. en Terpenoids and Steroids. Specialist Periodical Reports. Vol 11 y volumenes previos. The Chemical Society London.
- 49.- La asignación de los espectros de  $^{13}\text{C}$  fueron hechos con ayuda de los espectros con acoplamiento parcial y total de hidrógeno y por comparación con datos descritos en la literatura por ejemplo: Luteijn J.M., Veldhizen A., Van de Groot A. Org. - Mag. Res. 19, 95 ( 1982 ).
- 50.- Ver por ejemplo : a).- Savona G., Paternostro M., Piozzi F., Hanson J. J. Chem. Soc. Perkin Trans I. 533 ( 1979 ).  
b).- Wagner H., Seitz R., Lotter H., Herz W. J. Org. Chem. 43, 3339 ( 1978 ).
- 51.- Kitazawa E., Ogiso A., Sato A., Kurabayashi M., Kuwano H., Hata T., Tamura C. Tetrahedron Letters 1117 ( 1979 ).
- 52.- Carey F.A., Sundberg R.J. Advanced Organic Chemistry Parte B Plenum Press, New York 1977.
- 53.- Un sistema de anillación 6/7 ha sido descrito como producto de reacción del ácido Junceico. Murray R.D.H., Mc Crindle R., Mc Master D. Can. J. Chem. 51, ( 1322 ( 1973 ).



- 54.- La muestra auténtica de oleanolato de metilo fué amablemente donada por los Drs. Brooks y Conolly de la Universidad de - Glasgow.
- 55.- Brieskorn C.H., Stehle T. Chem. Ber. 106, 922 ( 1973 ).
- 56.- La muestra auténtica de VIII fué amablemente cedida por el Dr. Carl Heinz Brieskorn de la Universidad de Wurzburg.
- 57.- Savona G., Paternostro M., Piozzi F., Hanson J.R., Hitchcock P.B., Thomas J.A. J. Chem. Soc. Perkin I. 643 ( 1978 ).
- 58.- Savona G., Paternostro M., Piozzi F., Hanson J.R. J. Chem. Soc. Perkin I. 533 ( 1979 ).
- 59.- El espectro de R.M.N.  $^1\text{H}$  a 300 MHz, así como el experimento NOE de VIII fueron obtenidos en Madrid, España por conducto del Dr. Benjamin Rodríguez.
- 60.- Bohlmann F., Jakupovic J., Hashemi-Nejad M., Huneck S. - - Phytochemistry 24, 608 ( 1985 ).
- 61.- Wagner H., Seitz R., Lotter H., Herz W. J. Org. Chem. 43, - 3339 ( 1978 ).
- 62.- Savona G., Bruno M., Paternostro M., Marco J.L., Rodríguez B. Phytochemistry 21, 2563 ( 1982 ).
- 63.- Brieskorn C.H., Brecchelew. Tetrahedron Letters 2603 ( 1969 ).
- 64.- Monta N., Shimizu M., Arizawa M. Phytochemistry 12, 421 - - ( 1973 ).
- 65.- Pascual Teresa J., Barrero A.F., Muriel L., San Feliciano A., Grande M. Phytochemistry 19, 1153 ( 1980 ).
- 66.- De Kimpe N., Schamp N., Puyvelde L.V., Dubé S., Chagnon-Dubé M., Borremans F., Antenuis M.J.O., Declercq J.P., Germain G.,

- Van Meerssche M. J. Org. Chem. 47, 3628 ( 1982 ).
- 67.- Gaudemer A., Polonsky J., Wenkert E. Bull. Soc. Chim. Fran. 407 ( 1964 ).
- 68.- Cambie R.C., Burfitt I.R., Goodwin T.E., Wenkert E. J. Org. Chem. 40, 3789 ( 1975 ).
- 69.- Wenkert E., Buckwalter B.L. J. Am. Chem. Soc. 94, 4367 -- ( 1972 ).
- 70.- Ibid. referencia 14
- 71.- Herz W., Pilotti A.M., Soderholm A.C., Shuhama I.K., Vichnews-ki W. J. Org. Chem. 42, 3913 ( 1977 ).
- 72.- Gaviño R. " Nuevo Diterpeno aislado de *Salvia melissodora* " Tesis UNAM 1986.
- 73.- Esquivel B., Hernández M., Cárdenas J., Rodríguez-Hahn L. Phytochemistry ( en prensa ).
- 74.- Rogers D., Unal G.G., Williams D.J., Levy S.V., Sim G.A., - Joshi B.S., Ravindranatah K.R. J. Chem. Soc. Chem. Commun. 97, ( 1979 ).
- 75.- Ver por ejemplo : Bruno M., Piozzi F., Rodríguez B., Savona G., Servettaz O. Phytochemistry 24, 2597 ( 1985 ).
- 76.- La configuración absoluta de *ent*-clerodano fué determinada para XXV con base en un estudio de difracción de rayos X y de dicroísmo circular, así como dispersión óptica rotatoria. Ver referencia 71.
- 77.- Se ha propuesto que la característica de Salvias europeas y asiáticas es la presencia de quinonas diterpénicas con esqueleto de abietano. Patudin A.V., Romanova A.S., Sokolov V.S.,

Pribyloya G.I. Planta Medica 26, 201 ( 1974 ).

- 78.- Comunicación personal del Dr. Manuel Jiménez E. Instituto de Química UNAM.
- 79.- Ibid. Referencia 72.
- 80.- García Y.A. " Estudio Fitoquímico de *Salvia keerlii* ". Tesis Profesional UNAM.
- 81.- Ibid. Referencia 73.
- 82.- Especies analizadas en este trabajo.
- 83.- Ochoa J. " Estudio fitoquímico de *Salvia lenta* ". Tesis Profesional UNAM.
- 84.- Comunicación personal del Dr. Federico García. Instituto de Química UNAM.
- 85.- Pera P.A. " Nuevo Diterpeno aislado de *Salvia lasiantha* ". Tesis Profesional UNAM.
- 86.- Comunicación personal del Dr. Alfredo Ortega. Instituto de Química UNAM.
- 87.- Comunicación personal del Químico Jorge Cárdenas P. Instituto de Química UNAM.
- 88.- Ibid. Referencia 13
- 89.- Vallejo A. " Estudio Fitoquímico de *Salvia melissodora* ". Tesis Profesional UNAM.
- 90.- Portugal M.E. " Estudio Fitoquímico de *Salvia sessei* ". Tesis Profesional UNAM.
- 91.- Hernández O. M. " Estudio Fitoquímico de *Salvia regla* ". Tesis Profesional . Universidad del Edo. de Veracruz.

- 92.- Galicia M.A. " Los componentes diterpénicos de *Salvia - - - pubescens* ". Tesis Profesional. Universidad del Edo. de Veracruz.
- 93.- Estebanez P.L. " Los Componentes diterpénicos de *Salvia fruticulosa* ". Tesis Profesional UNAM.
- 94.- Comunicación personal de la Q.F.B. Ma. Cristina Sánchez V. Instituto de Química UNAM.