

00573
2es.
3.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO QUIMIOTAXONOMICO DE SALVIA GOLDMANIL Y SALVIA ANASTOMOSANS

T E S I S

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

MARIA CRISTINA SANCHEZ VELEZ

MEXICO, D. F.

1987

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESUMEN.

El género Salvia es muy abundante en México; el 88% de las especies son endémicas a éste país.

Las especies que se estudiaron, Salvia goldmanii y Salvia anastomosans, pertenecen a la sección Tomentellae del subgénero Calosphace.

De S. goldmanii se aislaron tres diterpenos, dos con estructura conocida: Fruticulina A (III) y Desmetilfruticulina A (IV). El tercero corresponde a 7-hidroxi-desmetilfruticulina A (VII), diterpeno con esqueleto de abietano transpuesto [9(10 → 20) abeo abietano].

El estudio fitoquímico de S. anastomosans, permitió separar y caracterizar cuatro diterpenos, tres productos naturales y un artefacto: Conacytona (IX), Icetexona (X), Anastomosina (XI) (metabolito no descrito en la literatura, 9(10 → 20) abeo abietano) y Metil-conacytona (VIII).

Este estudio pretende aportar evidencias que posteriormente puedan utilizarse como herramienta quimiotaxonomica.

SUMMARY.

The Salvia genus is very abundant in México; approximately 88% of the species are endemic to this country.

The studied species, Salvia goldmanii and Salvia anastomosans belong to section Tomentellae of the Calosphaea subgenus.

From S. goldmanii three diterpenes were isolated; two of them with a known structure: Fruticulín A (III) and Demethylfruticulín A (IV). The third one is a novel compound with a rearranged abietane skeleton, 7-hydroxi-demethyl fruticulín A (VII).

Phytochemical studies of S. anastomosans let us to isolate and characterize four diterpenes: three are natural products and the fourth one is a derivative. That is, Conacytone (IX), Ictetoxone (X), Anastomosine (XI) (new 9(10-) 20) abeo abietane product) and Methyl-conacytone (VIII).

The following description appears to provide some evidences that, lately, might be used as a chemotaxonomic tool.

CONTENIDO

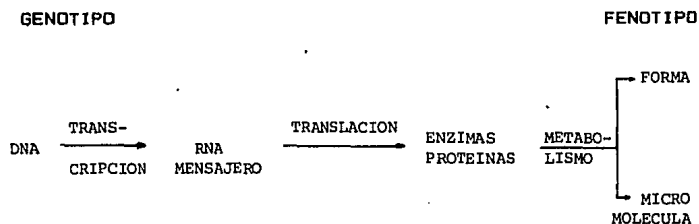
I. INTRODUCCION	1
II. GENERALIDADES	3
III. PARTE TEORICA	
1. Estudio fitoquímico de <i>Salvia goldmani</i> .	10
2. Estudio de los constituyentes químicos de <i>Salvia anastomosans</i> . Elucidación estructural de Anastomosina, un nuevo diterpeno con esqueleto de 9(10->20) abeo abietano.	23
IV. CONCLUSIONES	44
V. PARTE EXPERIMENTAL	49
VI. ESPECTROS	62
VII. BIBLIOGRAFIA	78

I. INTRODUCCION

INTRODUCCION.

Durante muchas décadas, los botánicos se han admirado por el descubrimiento de que la distribución de productos secundarios en las plantas, sigue las líneas generales de las relaciones entre éstas. Sin embargo, pronto se hizo evidente que este estudio daría mejores resultados si se estudiaban compuestos individuales y su distribución natural. Es por esto que se han estudiado un mayor número de plantas, dentro de un contexto de fitoquímica comparativa, analizándolas por familias y más específicamente por géneros. A la fecha, los trabajos se han dirigido a hacer uso del conocimiento biogenético y a encontrar las relaciones entre los metabolitos encontrados¹.

Idealmente, una clasificación natural debe considerar los diferentes niveles de manifestación del genotipo, como criterio para ir bajando progresivamente los niveles jerárquicos dentro de un sistema integrado:



En el presente debemos seleccionar un nivel específico como criterio de clasificación. Si el entendimiento del funcionamiento de organismos vivos es un factor motivante, los signos químicos producidos por las plantas, no deben ser ignorados para propósitos de clasificación.

Se han acumulado evidencias que apoyan un papel ecológico primario para micromoléculas, como mediadores de interacciones entre plantas y su biota asociado, como agentes protectores contra una tensión física ambiental².

Los precursores de todos los grupos biogénéticos están presentes en todas las plantas. Sin embargo, los compuestos pueden estar dispersos en el reino vegetal, pero sólo si hay metabolitos secundarios acumulados en algunos grupos de plantas, pueden servir para una sistematización bioquímica. La acumulación de metabolitos secundarios desde el punto de vista quimiosistemático, no se refiere al aspecto cualitativo o cuantitativo, sino a la versatilidad de la variación estructural en una relación biosintética, es decir, la homología de rutas biosintéticas, mas no las substancias producidas, son una indicación plausible de filogenia³.

II. GENERALIDADES.

GENERALIDADES.

El género Salvia L. es probablemente el más extenso en la familia de las Labiadas (Labiatae) y se compone de aproximadamente 900 especies*. En América, el género está representado por cerca de 500 especies, 275 crecen en México y de éstas, el 88% (26.7% del género) son endémicas a nuestro país²

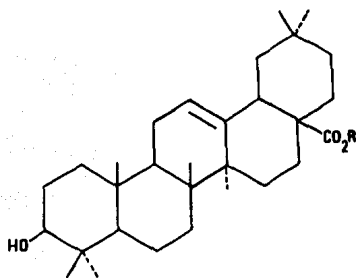
Las especies de éste género están clasificadas en 4 subgéneros: Leonia, Sclarea, Salvia y Calosphace. Todas las especies americanas pertenecen a éste último* subgénero.

El estudio fitoquímico de Labiadas, ha demostrado que los triterpenos más frecuentes son ácido oleanólico (I) y ácido ursólico (II) (Tabla 1)⁷. Es muy común encontrarlos en el género Salvia, aunque no son los únicos que existen en este género¹⁰.

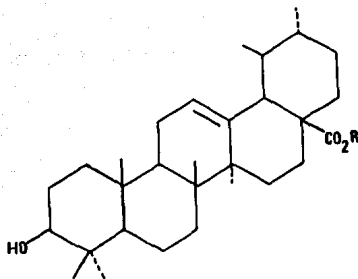
En los estudios fitoquímicos de Salvias, se ha dado mayor importancia a los constituyentes diterpénicos. De las Salvias europeas y asiáticas, se han aislado varios diterpenos tricíclicos con esqueleto de abietano, muy oxidados, muchos de ellos con un anillo de quinona. Por ejemplo: Nemorona (1)¹¹, Horminona (2)¹¹, aisladas de Salvia nemorosa, Tanshinona I (3) y Tanshinona II (4), de S. mili-tiorrhiza¹².

Por otro lado, de las especies americanas estudiadas hasta la fecha, la mayoría de los diterpenos encontrados (± 80%) tienen esqueleto de neo-clerodano (ent-clerodano). Por mencionar algunos casos, el ac. Melisodórico (5)¹³ y la Salvigenólida (6)¹⁴ se aislaron de Salvia melissodora y S.

fulgens respectivamente, de S. semiatrata¹⁸ y de S. lineata se encontraron los diterpenos (7) y (8).



I R=H
Ia R=Me

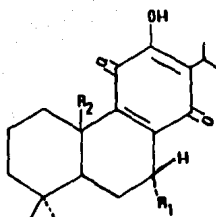


II R=H
IIa R=Me

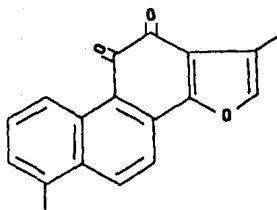
TABLA No. 1.
EJEMPLOS DE TRITERPENOS ENCONTRADOS EN ALGUNAS
LABIADAS*

	URSOLICO %	OLEANOLICO %	REFERENCIA
I AJUGAIDEAE			
<u>Ajugeae:</u>			
<i>Teucrium scorodonia</i> L.	0.3	-	8
<u>Rosmarinae:</u>			
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2.8	-	8
	4.1	1.05	9
II LAVANDULOIDEAE			
<i>Lavandula spica</i>	0.7	-	8
<i>Lavandula latifolia</i>	1.9	0.49	9
III STACHYOIDEAE			
<u>Marrubieae</u>			
<i>Marrubium vulgare</i> L.	0.1	-	8
IV SALVIEAE			
<i>Salvia calcynia</i>	2.03	0.25	10
<i>Salvia officinalis</i>	2.34	0.31	9
<i>Salvia sclarea</i>	0.2	-	8
V SATUREJEAE			
<i>Satureja montana</i>	1.6	-	8
<i>Satureja hortensis</i> L.	0.14	0.06	9
<i>Mentha piperita</i>	0.3	0.12	9

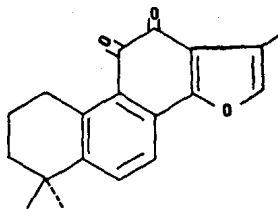
* R. Hegnauer. Chemotaxonomie der Pflanzen IV, pág. 321.
Birkhauser Verlag Basel und Stuttgart, 1966.



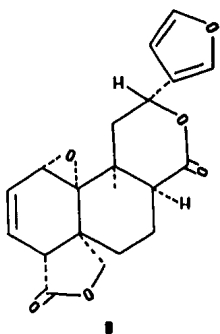
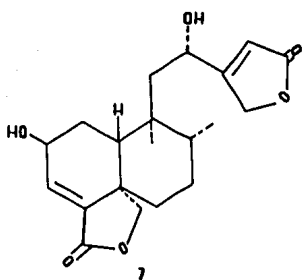
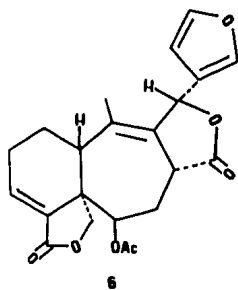
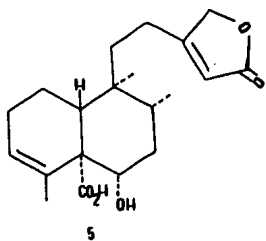
- 1, $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{Me}$
 2 $R_1 = \text{OAc}$ $R_2 = \text{CHO}$



3



4



Se ha observado cierta relación entre los compuestos aislados dentro de cada sección del subgénero Calosphace¹⁶. En la sección Scorodonia, se encontraron clerodanos, en la Fulgentes clerodanos y pimaranos y en la sección Eritrostachys abietanos. No es posible establecer este hecho como una regla taxonómica hasta no tener el estudio completo de cada sección.

La sección Tomentellae del subgénero Calosphace, está formada por las siguientes especies:

S. ballotaeflora

S. candicans

S. fruticulosa

S. parryi

S. goldmanii

S. coulteri

S. anastomosans

S. pruinosa

S. rubropunctata

S. pinquifolia

Se ha considerado¹⁴ que la sección Tomentellae es la más primitiva del subgénero Calosphace ; de ésta sección, todas las especies tienen flores azules, son polinizadas por abejas y se desarrollan en climas áridos. Tomando en cuenta los datos anteriores y de acuerdo con las teorías del Dr. Gottlieb³, puede inferirse que se encuentren el mismo tipo de metabolitos secundarios en dicha sección.

Previo al presente trabajo, las especies analizadas de la sección Tomentellae son S. ballotaeflora¹⁷ y S. fruticulosa¹⁸, y los diterpenos encontrados tienen esqueleto de abietano.

Con base en la información descrita en estas páginas, se hace evidente la necesidad de continuar el estudio fitoquímico de las Salvias mexicanas, con el fin de obtener más datos que permitan, en un futuro próximo, establecer alguna relación quimiosistemática.

III. PARTE TEORICA.

PARTE TEORICA.

1.- Estudio fitoquímico de Salvia goldmanii.

La Salvia goldmanii Fernald¹⁷, está clasificada en la sección Tomentellae del género Salvia.

El espécimen de S. goldmanii analizado, fué recolectado en el estado de Durango.

Del extracto acetónico de las partes aéreas, se lograron aislar los siguientes componentes.

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (8:2), se aisló un sólido amorfo blanco (mezcla binaria). El espectro de IR de ésta sustancia mostró bandas características para una función ácido carboxílico (3444 y 1690 cm^{-1}). El tratamiento de este producto con una solución etérea de diazometano, produce el correspondiente éster metílico. Las propiedades físicas y espectroscópicas de éste derivado permitieron caracterizarlo como una mezcla de ácidos oleanólico (I) y ursólico (II).

De las fracciones poco polares, se aislaron tres compuestos de tipo nor diterpénico con esqueleto de abietano transpuesto [9(10->20)abeo abietano]¹⁸. La elucidación estructural se describe a continuación.

El producto más abundante (III), es un sólido cristalino amarillo de $P_f=190-193^\circ \text{C}$ (acetona). Su peso molecular fué determinado por espectrometría de masas y corresponde a una fórmula $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_4$ (m/z 324, M^+), indicando un alto grado de insaturación.

El espectro de IR muestra bandas de alcohol (3371 cm^{-1}) de p-quinona (1657 y 1603 cm^{-1}) y de dobles ligaduras (1555)

La existencia de un grupo de hidroxiquinona conjugada, se ve apoyado por las absorciones en el espectro de U.V. en 215 ($\epsilon=32000$), 250 ($\epsilon=10000$), 278 ($\epsilon=11500$), 325 ($\epsilon=16500$) y 420 nm ($\epsilon=4200$), características para este cromóforo. La señal que intercambia con D_2O en el espectro de RMN¹H en 7.6 ppm , (Tabla 2), corresponde al -OH quelatado.

En el espectro de RMN¹H de III (Tabla 2), se observa un singlete ancho muy desplazado a campo bajo $\theta\text{ ppm}$. Al determinar el espectro en C_4D_4 , esta señal se observa más compleja (espectro #1) y al efectuar la expansión se pueden ver los pequeños acoplamiento, que indican que el protón responsable de dicha señal se encuentra interaccionando a larga distancia, por lo que, esta señal, se asignó a H_{20} y los acoplamiento son con H_1 y H_7 .

En 6.97 y 6.82 ppm (Tabla 2), se observan dos dobles, que por su desplazamiento y acoplamiento ($J=3\text{Hz}$), se asignaron a dos protones aromáticos en relación meta. Una mejor resolución de estas señales se tiene en el espectro en C_4D_4 (espectro #1); su complejidad, sugiere un mayor acoplamiento que el esperado, lo cual se explica si existe otro substituyente en el anillo aromático y si éste, además, se encuentra más conjugado.

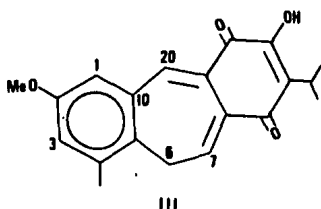
La señal en 3.8ppm (s, 3H) (Tabla 2), indica la presencia de un grupo metoxilo unido al anillo aromático. El singlete en 2.35 ppm integra para 3H, se asignó a un metilo

sobre el anillo aromático, ya que en el espectro determinado en C_6D_6 (espectro #1), se observa como un singulete ancho y en la expansión de la señal se pueden ver pequeños acoplamientos a larga distancia, con H_5 .

En el espectro de RMN¹H de III (espectro #1), se observa un triplete en 6.85 ppm ($J=7\text{Hz}$), en la expansión de dicha señal se ve como triplete de dobletes, por el acoplamiento con H_{20} . Dicha información permite asignarlo a H_7 . Al metileno H_4 corresponde el doblete centrado en 2.65 ppm ($J=7\text{Hz}$).

La presencia de un grupo isopropilo se corrobora por el septuplete ($J=7\text{Hz}$) centrado en 3.6 ppm y el doblete ($J=7\text{Hz}$) en 1.3 ppm que integra para 6H.

La discusión anterior, permite proponer la siguiente estructura para III:



Este compuesto fué aislado con anterioridad de S. fruticulosa¹⁸, y se denominó Fruticulina A.

El segundo nor diterpeno, es un sólido amarillo verdoso (IV) con $P_f = 200-202^\circ C$ (CH_2Cl_2 -hexano). Tiene una fórmula

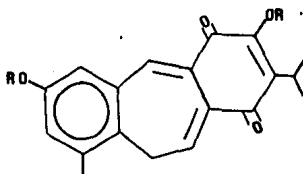
molecular $C_{19}H_{16}O_4$, fué determinada por espectrometría de masas (m/z 310 M^+).

Su espectro de IR muestra señales características de alcohol, p-quinona y dobles ligaduras ($3594, 3368, 1657, 1602$ y 1556 cm^{-1}).

Al observar el espectro de RMN^1H de IV (Tabla 2), la única diferencia con el de Fruticulina A (III), es la ausencia del metoxilo, y la señal que intercambia con D_2O en 5.4 ppm, lo cual sugiere que el grupo en la posición C_2 , sea un oxhidrilo en lugar de un metoxilo.

Dicho diterpeno, también se aisló por primera vez de S. fruticulosa¹⁸ y se denominó **Desmetil fruticulina A**.

La estructura de estas sustancias fué comprobada químicamente, al someter a la Desmetilfruticulina A a una acetilación con Ac_2O y $AcONa$ a temperatura ambiente. En estas condiciones se obtuvo el diacetato correspondiente (V).



IV R=H
V R=Ac

masa (M^+ , 394). En el espectro de IR, ya no aparecen las bandas de $-OH$ y aparece otra banda en 1769 cm^{-1} característica de acetato de enol.

En el espectro de RMN^1H de V (espectro #2, Tabla 2), las señales para H_1 y para H_3 sufren un desplazamiento a campo bajo y se colapsan a un singulete ancho, debido al acetato en la posición 2. Así mismo, pueden observarse dos singuletes en 2.3 y 2.4 ppm correspondientes a los metilos de los grupos acetato. El resto de las señales se conserva.

En una segunda acetilación, en otras condiciones, Ac_2O y $BF_3 \cdot Et_2O$, lograron aislarse dos derivados. El producto menos polar corresponde al diacetato descrito anteriormente (V, vide supra). El compuesto obtenido en mayor abundancia, es un sólido blanco con $P_f = 258-260^\circ C$, cuyo espectro de masas indica que tiene una fórmula molecular $C_{31}H_{34}O_{12}$. En este espectro pueden detectarse dos pérdidas de 60 unidades (m/z 539 y 479) y cuatro más de 42 unidades de masa (m/z 437, 395, 353 y 311) lo que sugiere la presencia de seis grupos acetato en la molécula.

En el espectro de RMN^1H del hexaacetato VI (espectro #3 Tabla 2), se observa que la señal para H_{20} , 7.5ppm sufrió un ligero desplazamiento a campo alto (0.51 ppm) respecto al producto original (IV) y que también perdió su acoplamiento a larga distancia. La señal para H_7 se transforma a un dd ($J=6,1\text{Hz}$) en 6.55 ppm (parte X de un sistema ABX). Por lo que respecta a los protones aromáticos H_1 y H_3 , conservan su

TABLA No. 2.

DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS EN ^1H DE LOS COMPONENTES DE *S. goldmanii* Y DERIVADOS.

	III	IV	V	VI*	VII
H-1	6.97 d(3)	6.81 d(3)	7.1 sa	7.15 d(3)	6.75 d(3)
H-3	6.82 d(3)	6.75 d(3)	7.1 sa	6.9 d(3)	6.65 d(3)
H-6	3.1 d(7)	3.1 d(7)	3.15 d(8)	3.95dd(15,1)	3.55 s
				3.5 dd(15,6)	
H-7	6.95 t(7)	6.92 t(7)	6.92 t(8)	6.55dd(6,1)	-
H-20	8.10 s	8.0 s	8.1 s	7.5 sa	7.2 s
3H-18	2.35 s	2.35 s	2.45 s	2.0 sa	2.2 s
-OH anillo C	7.60 s	7.65 s	-	-	7.6 s
-OH anillo A	-	5.4 sa	-	-	5.85 sa
-OH anillo B	-	-	-	-	16.91 s
isopropilo	3.25 sep(7)	3.35 sep(7)	3.5 sep(7)	3.1 sep(7)	3.35 sep(7)
	1.25 d(7)	1.25 d(7)	1.25 d(7)	1.25 d(7)	1.3 d(7)
-OMe	3.8 s	-	-	-	-
-OCOMe	-	-	2.4 s	1.45-2.2†	-
			2.3 s		

Corridos en CDCl_3 a 80 MHz- Referencia interna TMS. Desplazamientos químicos en ppm.

Las constantes de acoplamiento en Hz están en paréntesis.

* Corrido en C_6D_6 a 70°

† Seis señales de metilos.

patrón de acoplamiento, aunque se desplazan ligeramente a campo bajo (ver Tabla 2).

Ahora bien, las señales de los protones H_6 , no se observan claramente, en el espectro de RMN^1H de VI determinado en C_2D_4 a temperatura ambiente (parte superior del espectro #3), por lo que se repitió el experimento pero a 70° , en donde pueden apreciarse como la parte AB de un sistema ABX por las interacciones con H_7 (H_6 dd en 3.95 ppm, $J=15$ Hz, H_6 dd en 3.5 ppm $J=15,6$ Hz). Lo anterior se confirma al irradiar la señal correspondiente a H_7 , la señal para los protones H_6 , se transforma en un sistema AB simple.

En este mismo espectro (espectro #3), se observan 6 singuletes (c/u integra para 3H) correspondientes a los metilos de acetato, los metilos del isopropilo se modifican a un triplete (dos dobletes sobrepuestos $J=7$ Hz), debido al giro restringido para este grupo.

La información más valiosa para la determinación de esta estructura (VI), la proporcionó su espectro de $RMN^{13}C$ (espectro #4 Tabla 3). A campo bajo, aparecen 6 señales de carbonilo de éster y 12 señales para $C\ sp^2$ (dos menos que en el producto original IV), 10 singuletes y 2 dobletes (C_1 y C_3). En la región de carbonos sp^3 de bases oxigenadas, se observan dos dobletes que permiten asignarlas a C_7 y a C_{20} .

Con base en los datos anteriores, el hexaacetato de Desmetilfruticulina A (VI), tiene la siguiente estructura:

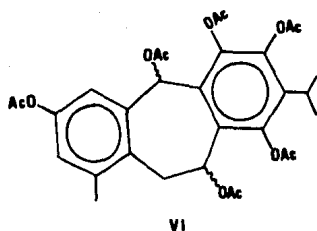
TABLA No. 3.
DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN ^{13}C DEL
HEXAACETATO DE DESMETIL FRUTICULINA A (VI).

C No.	δ	C No.	δ
1	122.12 d	10	137.41 s
2	148.82 s	11	140.68 s
3	124.10 d	12	142.80 s
4	138.69 s	13	135.93 s
5	132.66 s	14	147.29 s
6	29.0 t	15	27.39 d
7	66.74 d	16 y 17	∞
8	128.64 s*	18	19.66 q
9	129.65 s*	20	69.83 d

Corrido en CDCl_3 a 20 MHz. Referencia interna TMS.

*Señales intercambiables.

∞ Señales sobrepuestas con 6 señales de metilo (OCOCH_3) entre 19.66 y 20.97 ppm. Se observan 6 señales de carbono entre 167.3 y 170.46 (espectro #4) (OCOCH_3)



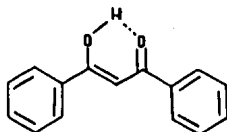
El tercer nor-diterpeno que se logró aislar de ésta especie es un compuesto no descrito en la literatura, su esqueleto es de 9(10 \rightarrow 20)abep abietano con base en las siguientes evidencias:

El producto VII es un sólido rojo, con $Pf=220-222^{\circ}C$. Su peso molecular fué determinado por espectrometría de masas, m/z 326 (M^{+}) y está de acuerdo con una fórmula molecular $C_{19}H_{18}O_5$.

El espectro de IR de esta substancia presenta bandas en 3304 (oxhidrilo quelatado), 1630, 1592 (p-quinona) y 1574 cm^{-1} (dobles enlaces).

La presencia de la hidroxibenzoquinona conjugada se confirma por los máximos de absorción en el espectro de UV, en 250 ($\epsilon=24782$), 280 ($\epsilon=18369$) y 338 nm ($\epsilon=12174$), así como por las señales en el espectro de $RMN^{13}C$ (espectro #6, Tabla 4), en 181.19, 182.2 y 155.84 ppm correspondientes a C_{11} , C_{14} y C_{12} respectivamente.

El espectro de RMN¹H de VII (espectro #5, Tabla 2), muestra una señal muy desplazada a campo bajo en 16.91 ppm, que intercambia con D₂O, indicando la presencia de un alcohol sobre un doble enlace, quelatado con un carbonilo, formando un anillo de seis miembros. Este desplazamiento es típico para enoles bencílicos β a un carbonilo²⁴:



Por consiguiente, se propone que este -OH se encuentre en C₇. Otro dato que apoya lo anterior, es que no se observa la señal de H₇ en el espectro de RMN¹H de VII (espectro #5, Tabla 2) que aparecía como triplete en los productos anteriores. Así también, es posible explicar la señal que en RMN¹³C (espectro #6) se ve a campo bajo en 180.46 ppm.

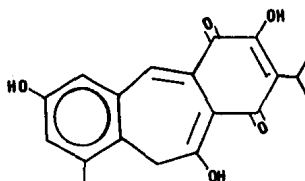
En el espectro de RMN¹H de VII, (espectro #5), se observa otra señal que intercambia con D₂O en 7.6 ppm típica de hidroxibenzoquinona. La señal en 7.81 ppm se asignó a H₂₀.

En la región de protones aromáticos, se observan las señales de dos protones en relación meta, (como en el caso de los dos diterpenos anteriores) que corresponden a H₁ y a H₃. La señal que intercambia con D₂O en 5.85 ppm, se asignó al -OH en el anillo A. En 3.55 ppm se observa un singulete

que integra para dos protones, correspondientes al metileno en la posición 6.

El resto de las señales son las del metilo aromático (2.45 ppm, 3H) y del isopropilo unido a la quinona (sept. en 3.35 ppm y el d en 2.3 ppm, 6H).

La discusión anterior, está de acuerdo para la estructura siguiente:



VII

El espectro de RMN¹³C (espectro #6, Tabla 4)²², corrobora la estructura anterior, que corresponde a 7-hidroxi-Desmetil fruticulina A.

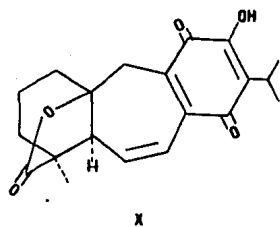
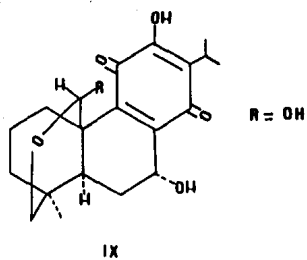
Los tres nor-diterpenos descritos, están biogénicamente relacionados con Conacytona (IX) e Icetexona (X)²³, otros productos naturales con esqueleto de abietano, pero son los primeros¹⁰ que se encuentran con el anillo A aromático y el anillo B expandido a 7 miembros. Es muy significativo el hecho de que se repita en esta especie la presencia de estas quinonas nor-diterpénicas, como se discutirá más adelante.

TABLA No. 4.

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN ^{13}C DE
7-HIDROXI DESMETIL FRUTICULINA A (VII).

C No.	δ	C No.	δ
1	114.88 d	11	181.19 s
2	155.84 s	12	155.64 s
3	120.92 d	13	121.36 s
4	136.83 s	14	182.29 s
5	129.40 s	15	23.86 d
6	38.29 t	16	19.60 q
7	180.46 s	17	19.60 q
8	104.81 s	18	19.60 q
9	128.39 s	20	137.20 d
10	135.54 s		

Corrido en $\text{DMSO}-d_6$ a 20 MHz. Referencia interna TMS.
Desplazamientos en ppm.



2.- Estudio de los constituyentes químicos de Salvia anastomosans. Elucidación estructural de Anastomosina, un nuevo diterpeno con esqueleto de 9(10 → 20) abeo abietano.

La S. anastomosans es un arbusto perenne de aproximadamente 2m de alto, muy ramificado, de flores azules. Fue recientemente clasificada por el Dr. T.P. Ramamoorthy², dentro de la sección Tomentellae del subgénero Calosphace.

El espécimen de S. anastomosans que se analizó, fué recolectado en el estado de Oaxaca, a 5 Km de Tamazulapan rumbo a Chilapa, en el mes de Octubre de 1985. El extracto acetónico de esta planta, se trató con metanol, de esta manera, se separó un sólido amorfo, formado por dos productos, que posteriormente se aislaron en las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (6:4). El espectro de IR de estas sustancias muestra bandas características para una función ácido carboxílico (3444, 1690, 1461 cm^{-1}). El tratamiento de estos productos con una solución etérea de diazometano, produce los correspondientes ésteres metílicos. Las propiedades físicas y espectroscópicas de éstos derivados (Ia y IIa), permitieron caracterizarlos como ácidos oleanólico (I) y ursólico (II).

Del extracto restante, se lograron aislar tres componentes principales.

El producto menos polar (VIII), es una sustancia cristalina de color amarillo, con $P_f=213-215^\circ\text{C}$ (acetona). Su pe-

El producto menos polar (VIII), es una sustancia cristalina de color amarillo, con $P_f=213-215^\circ\text{C}$ (acetona). Su peso molecular fué determinado por espectrometría de masas (M^+ a m/z 376), y corresponde a una fórmula molecular $C_{21}H_{32}O_4$.

La estructura propuesta para este compuesto, es de un diterpeno con esqueleto de abietano, de acuerdo con las siguientes evidencias.

En el espectro de IR se observan bandas características para oxhidrilos ($3595, 3393\text{ cm}^{-1}$), carbonilo de p-quinona (1639 cm^{-1}) y de cetal (1150 y 1110 cm^{-1}).

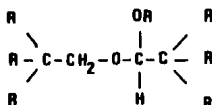
La banda a 3393 cm^{-1} se debe a la presencia de un -OH de tipo fenólico, quelatado con un carbonilo, es por esto, que en el espectro de RMN^1H de VIII (espectro #7) se observa una señal en 7.1 ppm que intercambia con D_2O . La otra banda de -OH (3595 cm^{-1}) se propone que sea de un alcohol secundario. El triplete ($J=2\text{Hz}$) centrado en 4.4 ppm corresponde a la base de este grupo funcional (H_7). El valor de la constante de acoplamiento corresponde a interacciones ecuatorial-ecuatorial y ecuatorial-axial, lo que indica que el -OH debe tener una orientación α axial.

En el espectro de RMN^1H de VIII (espectro #7), se observa un singulete ancho en 5.5 ppm, que por su desplazamiento se asignó al protón de un metino unido a dos átomos de oxígeno, (H_{20}). En este mismo espectro, existe un sistema AB, un dd en 3.85 ppm $J=10,2\text{ Hz}$ y un doblete en 3.3 ppm $J=10\text{Hz}$ que corresponde a los protones diastereotópicos de un metileno unido a un átomo de oxígeno y a un átomo de carbono

con H₂O. Este tipo de acoplamiento se encuentra descrito para varios productos naturales²⁴.

Lo anterior permite establecer la siguiente estructura parcial:

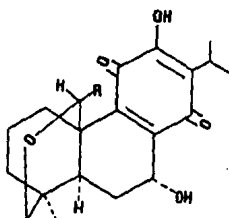
CETAL



En el espectro de RMN¹H de VIII (espectro #7), se observa un singulete en 3.45 ppm que integra para 3H, característico de un grupo metoxilo. El singulete en 0.8 ppm corresponde a un metilo unido a un carbono totalmente substituido C₄, (H₁₀).

La presencia de un isopropilo, se confirma por las dos señales dobles en 1.22 y 1.16 ppm (d, J=7Hz), que integra cada una para 3H; el protón del metino de éste grupo, aparece como septuplete en 3.2 ppm (J=7Hz).

De acuerdo con lo anterior y para cumplir con la fórmula molecular, el compuesto VIII debe ser un diterpeno con la siguiente estructura:



VIII R=OMe

IX R=OH

Como puede verse, este compuesto es un derivado del producto natural aislado de S. ballotaeiflora²³ y de S. pubescens²³, que se denominó Conacytona (IX), y se propone que el compuesto VIII se haya formado con el tratamiento metanólico del extracto original.

Para comprobar la suposición anterior, se trabajó un nuevo lote de S. anastomosans, evitando el tratamiento metanólico. En efecto, de las fracciones eluidas con una mezcla hexano-acetato de etilo (9:1), se logró aislar Conacytona (IX), cuya identidad fué determinada por comparación con muestra auténtica²⁴, así como por sus datos espectroscópicos (IR, RMN¹H, espectro #8, ver parte experimental). Si se comparan los espectros de RMN¹H de VIII y IX (espectros #7 y 8 respectivamente), se observa claramente que la única diferencia es la señal del metoxilo.

El segundo diterpene aislado de S. anastomosans, es un sólido cristalino anaranjado con $P_f=262-265^\circ\text{C}$ (CH_2Cl_2 -hexano descompone). Su peso molecular, corresponde a una fórmula

$C_{20}H_{22}O_5$, fué determinado por espectrometría de masas (M^+ a m/z 342).

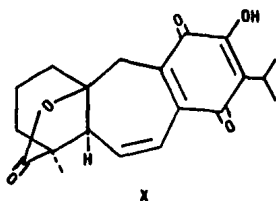
El espectro de IR de ésta substancia revela la presencia de grupos $-OH$ (3403 cm^{-1}), carbonilo de γ lactona saturada (1772 cm^{-1}), carbonilos de p-quinona (1641 cm^{-1}) y de dobles enlaces (1602 cm^{-1}).

En el espectro de RMN¹H de X (espectro #9), se observa un singulete en 7.1 ppm que intercambia con D_2O que por analogía con los desplazamientos de los $-OH$ fenólicos de los compuestos IX y X, se propone que se trata de una hidroxibenzoquinona (anillo C).

El sistema ABX, se asignó a los protones H_5 , H_6 y H_7 . La parte AB corresponde a H_7 (dd en 6.85 ppm $J=12,2\text{ Hz}$) y a H_6 (dd en 6.4 ppm $J=12,6\text{ Hz}$). El valor de la constante de acoplamiento de 12 Hz, indica que se trata de un doble enlace cis en un anillo de siete miembros. Por otro lado, H_5 , se encuentra en 2.55 ppm como un dd ($J=6,2\text{ Hz}$); éstas constantes indican que H_5 es α axial, ya que forma un ángulo dihedral (θ) con H_6 de 140° , de acuerdo con los modelos Dreiding para esta molécula (IX), que según Karplus²⁷, corresponden a 6Hz y la constante de 2Hz es debida al acoplamiento con H_7 .

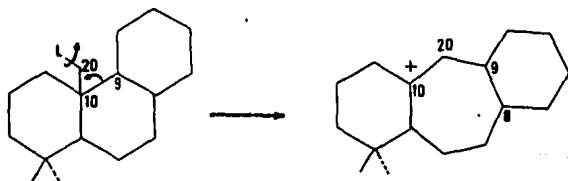
El sistema AB centrado en 2.9 ppm ($J=13\text{ Hz}$), se asignó a los protones del metileno H_{20} . Se observa también la existencia de un grupo isopropilo, por las señales en 3.2 ppm (sept. $J=7\text{ Hz}$) y en 1.25 ppm (d, 6H, $J=1\text{ Hz}$). Por último, el singulete que aparece a campo alto (1.2 ppm), integra para 3H, corresponde al metilo 18 en la posición 4.

De acuerdo con la discusión anterior, el compuesto X, está de acuerdo con la siguiente estructura:



Este compuesto se denominó *Icetexona* y fue aislado por primera vez por el Dr. X. Domínguez de *S. ballotaeflora*²³. Su identidad y estereoquímica fueron determinadas por difracción de Rayos X.

Biogénicamente, se propone²³ que la expansión del anillo B de un esqueleto de abietano se efectúe siguiendo el mecanismo del esquema #1:



ESQUEMA #1.

La ruptura de la ligadura C₉-C₁₀ y la formación del enlace C₉-C₂₀, eliminando un buen grupo saliente de la posición C₂₀, dando lugar a productos de tipo 9(10 → 20) abeo abietano²⁰.

Dicha hipótesis fué probada por Kelecom²⁰ en 1983 y por Hasegawa²⁰ en 1984.

El tercer componente de esta especie, es un diterpeno no descrito en la literatura, el cual se denominó **Anastomosina (XI)**. Fué aislado como producto cristalino, poco abundante (0.0132% peso seco), con Pf=207-215°C (CH₂Cl₂-hexano). Se propone una estructura de 9(10 → 20) abeo abietano, de acuerdo con las siguientes evidencias.

El espectro de masas de XI, permite establecer una fórmula molecular C₂₀H₂₀O₃ (M⁺, 340). El espectro de IR, presenta bandas en 3361, 1778, 1656 y 1602 cm⁻¹, correspondientes a oxhidrilo fenólico quelatado, y lactona saturada carbonilos de p-quinona y dobles ligaduras.

La presencia de una unidad de hidroxibenzoquinona, se confirma por las absorciones en el espectro de UV en 200 (ε=7976) y 277 nm (ε=4337)²⁰. El espectro de RMN¹³C de Anastomosina (XI) (espectro #11, Tabla 5)²¹, apoya la presencia de éste grupo, por las señales en 181.39 y 182.74 ppm para C₁₁ y C₁₄, y el singulete en 155.12 para C₁₂ (del mismo modo, la señal que en el espectro de RMN¹H de XI (espectro #10) intercambia con D₂O en 7.7 ppm correspondiente al -OH quinónico quelatado, fenómeno que se ha repetido en los productos diterpénicos aislados de ésta especie.

En el espectro de RMN¹H de XI (espectro #10), se observa que la señal en 7.7 ppm, integra para dos protones, una es la del -OH en la posición 12, y la otra se asignó a H₂₀, por analogía con los desplazamientos de éste protón en los productos aislados de S. goldmanii y S. fruticulosa (III, IV y VII)¹⁰.

La señal centrada en 7.5 ppm (dd, J=3.5, 0.4 Hz), corresponde a H₇, su desplazamiento indica que se encuentra desprotegido, es un protón vinílico β a un carbonilo. La constante de 0.4Hz indica que está acoplado a larga distancia. Esto se hizo evidente al obtener la expansión de la señal (ver recuadro en el espectro #10).

En el espectro de RMN¹H de XI (espectro #10), se observa un triplete en 6.65 ppm (W_{1,2}=11Hz) que se asignó a H₁.

La presencia de estos tres protones sobre carbono sp², se ve apoyada por la existencia de tres dobletes en el espectro de RMN¹³C (espectro #11, Tabla 5) en 140.39, 143.06 y 141.57 ppm, para C₁, C₇ y C₂₀ respectivamente.

Los datos que proporcionaron mayor información para determinar la posición, así como la estereoquímica, de la lactona, fueron los desplazamientos y multiplicidades de H₆ y C₆ en los espectros correspondientes. En el espectro de RMN¹H, (espectro #10), H₆ se encuentra en 4.71 ppm como doblete de dobletes (J=12, 3.5 Hz), el valor de J=12Hz indica un acoplamiento tipo trans diaxial, por lo que H₆ debe ser β axial, ya que H₅ es α axial por razones biogénicas. Su des-

plazamiento está de acuerdo para un protón alílico, unido a un átomo de carbono enlazado a una función oxigenada.

Por su parte, C_4 es un doblete en el espectro de $RMN^{13}C$ (78.72 ppm) (espectro #11, Tabla 5), desplazamiento típico para carbono sp^3 unido a un átomo de oxígeno. Así mismo, en este espectro se observa un singulete en 179.73 ppm correspondiente al carbonilo de la lactona.

Para los protones H_3 , se observa un sistema AB complejo en 1.85 ppm (dt $J=14,4$ Hz) y en 1.5 ppm (dd, $J=14,6$ Hz), (espectro #10).

La relación de los protones H_5, H_6 y H_7 , se confirmó por experimentos de doble resonancia (espectro #12). Al saturar la señal para H_6 (4.71 ppm), la correspondiente a H_7 se simplifica a un singulete ancho, al mismo tiempo, la señal asignada a H_5 (2.6 ppm) se transforma a un singulete (en el espectro, ésta señal está sobrepuesta con la de los protones H_2). La irradiación sobre H_1 , únicamente modifica la señal para H_2 (2.5 ppm).

Finalmente al desacoplar la señal en 2.5 ppm (H_5 y H_2), se observa que la señal para H_1 , se colapsa a un singulete (pierde acoplamiento con H_2), H_6 se simplifica a un doblete ($J_{6-7}=3.5$) y la señal para H_3 se transforma a un sistema AB simple.

La presencia de un grupo isopropilo se confirma por el septuplete ($J=7$ Hz) en 3.37 ppm y el doblete en 1.3 ppm que integra para seis protones (espectro #10). La señal que se observa en 1.2 ppm, se asignó al metilo 18 en la posición 4.

TABLA No. 5.

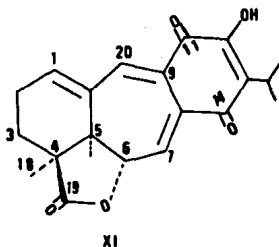
DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN ^{13}C DEL COMPONENTE XI,
ANASTOMOSINA, AISLADO DE *S. Anastomosans*.

C No.	δ	C No.	δ
1	140.39 d	11	181.39 s
2	25.03 t	12	155.12 s
3	23.08 t	13	129.16 s
4	41.53 s	14	182.74 s
5	47.52 d	15	25.37 d
6	78.72 d	16	19.63 q*
7	143.06 d	17	19.45 q*
8	133.79 st	18	21.25 q
9	131.98 st	19	179.73 s
10	124.26 s	20	141.57 d

Desplazamientos obtenidos utilizando CDCl_3 como disolvente
y TMS como referencia interna, a 20 MHz.

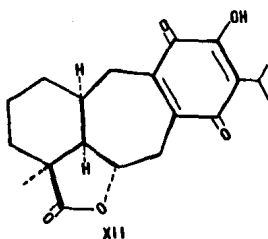
* , † valores intercambiables.

Con base en los datos discutidos, se propone la estructura XI para Anastomosina (la estereoquímica en C₄ se discutirá posteriormente).



La hidrogenación catalítica de XI, produjo, en primera instancia, un compuesto muy polar que no fué posible aislar, ya que al calentar con acetona en un matraz expuesto al aire se obtuvo un producto de menor polaridad (XII), inclusive que la materia prima. Este comportamiento ya se ha encontrado en otros productos con un agrupamiento de hidroxiquinona³⁰⁻³².

Dicho producto (XII), es un sólido amarillento con P_f= 218-220°C (CH₂Cl₂-hexano), cuyas características espectroscópicas indican que se trata del tetrahidro derivado. El espectro de masas de XII, muestra una ganancia de cuatro unidades de masa (m/z 344 M⁺).



La hidrogenación de la ligadura 1-10, se efectúa por la cara α de la molécula, que es la menos impedida estéricamente, de acuerdo con el modelo Dreiding de Anastomosina. El dieno formado por los enlaces 7-8,9-20, adiciona una molécula de H_2 (adición 1:4). Lo anterior se confirma si se analiza cuidadosamente el espectro de RMN¹H de XII (espectro #13, Tabla 6).

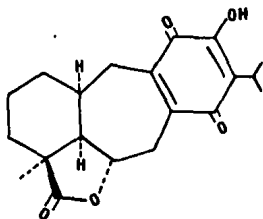
En la región de campo bajo, sólo se observa una señal, que intercambia con D_2O y que corresponde al -OH fenólico, por consiguiente, ya no existen protones vinílicos. La señal para H_A se transforma en un triple de dobles en 4.3 ppm ($J_{5-6,6-7\alpha}=10$, $J_{6-7\alpha}=4\text{Hz}$), es la parte X del sistema ABX entre los protones $2H_7$ y H_A . $H_{7\alpha}$ es un doble de dobles en 3.8 ppm ($J_{\text{gem}}=16$, $J_{6-7\alpha}=4\text{Hz}$), su desplazamiento se explica si se considera que se localiza en el mismo plano que la hidroxiquinona (en la conformación más estable, según modelos Dreiding) y sufre una desprotección paramagnética. Por su parte $H_{7\beta}$ es un doble de dobles en 2.55 ppm ($J_{\text{gem}}=16$, $J_{6-7\beta}=10\text{Hz}$),

que su constante de acoplamiento con H_A (trans diaxial), indica que tiene una orientación α axial.

Para los protones $2H_{20}$ y H_{10} , se observa un sistema ABX. Para H_{20} (parte AB, centrado en 2.72 ppm) sucede el mismo fenómeno que en el caso del metileno H_7 ; el protón más desplazado, H_{20A} , es coplanar a la hidroxiquinona (dd en 3.05 ppm $J_{gem}=14$, $J_{20A-10}=7$ Hz). H_{20B} se encuentra en 2.5 ppm (dd, $J_{gem}=14$, $J_{20B-10}=3$ Hz). Tanto el desplazamiento para los protones H_{20} como la constante gem, de 14 Hz, se encuentran descritos para otros productos con esqueleto de 9(10 \rightarrow 20) abeo abietano²⁷.

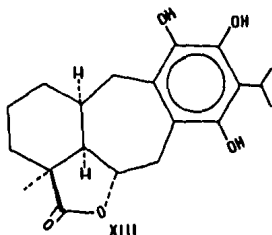
Las constantes de acoplamiento de los protones H_{20} con H_{10} , indican que éste último tiene una orientación α axial (θ de 45° con H_{20A} , $J=7$ Hz)²⁷.

Lo expuesto anteriormente, es congruente para la hidrogenación por la cara α , dejando una fusión de anillos A-B cis.



XII

Para el producto de hidrogenación original (sin reoxidar al aire), se propone la estructura de hexahidro derivado XIII, en donde la quinona se redujo a la hidroquinona correspondiente, lo cual explicaría su mayor polaridad.



Con el fin de confirmar la hipótesis anterior, se sometió a la Anastomosina (XI) a una metilación reductora³⁴ (ver parte experimental).

De la mezcla de reacción se lograron identificar tres componentes principales, que se describen a continuación por orden de polaridad creciente.

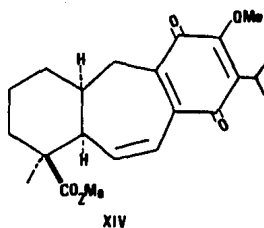
El producto menos polar, es un aceite amarillo, su espectro de IR indica ausencia de grupo -OH y de lactona.

En el espectro de RMN¹H de XIV (espectro #14), se observa un singulete en 3.95 ppm que integra para 3H, cuyo desplazamiento corresponde a un metoxilo de éter de enol; en el espectro de IR, aparece una banda en 1722 cm⁻¹ típica de carbonilo de éster, en este caso del éster metílico; en el espectro de RMN¹H (espectro #14) se observa un singulete en

3.62 ppm que integra para 3H asignado al grupo mencionado.

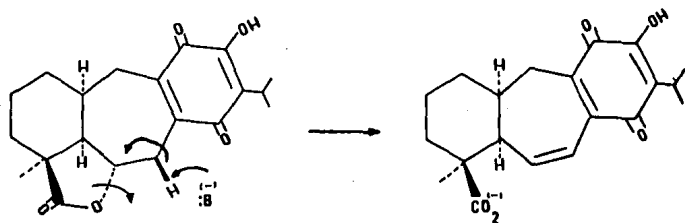
A campo bajo, en este mismo espectro, se encuentra la parte AB de un sistema ABX (ocasionado por las interacciones entre los protones H_B , H_A y H_7), un doble de dobles en 6.68 ppm para H_7 ($J_{7-A}=12, J_{7-B}=3\text{Hz}$) y la otra rama en 6.15 ppm, asignado a H_A (dd, $J_{A-7}=12, J_{A-B}=6\text{Hz}$). Los acoplamientos anteriores nos indican que se trata de una doble ligadura tipo cis en un anillo de siete miembros¹⁷. La parte X corresponde a H_B , multiplete que aparece en 2.75 ppm. Al comparar este conjunto de señales con las que se observan en el espectro de RMN¹H de Icetexona (X), espectro #9, se nota una clara semejanza, tanto en desplazamiento como en constantes de acoplamiento para los protones H_A , H_7 y H_B (vide supra). Cuando el éster se encuentra en una posición β ecuatorial (utilizando modelos Dreiding para este compuesto), los protones H_A y H_B forman un ángulo de 140° , igual que en la Icetexona.

La existencia de una quinona conjugada, se ve apoyada por las absorciones características en el espectro de UV, a 200 ($\epsilon=7179$), 265 ($\epsilon=2728$) y 300 nm ($\epsilon=1451$). Estos datos permiten proponer la siguiente estructura para XIV:



Se ha observado que en las condiciones de reacción utilizadas [K_2CO_3 , $(CH_3O)SO_2$, en acetona], la metilación de fenoles está acompañada por la apertura de la lactona²², sin embargo, tales condiciones, no son suficientes para efectuar la hidrólisis alcalina de la misma.

Es muy probable que el producto XIV se haya formado a partir del tetrahidro derivado XII, siguiendo el mecanismo del esquema #2.



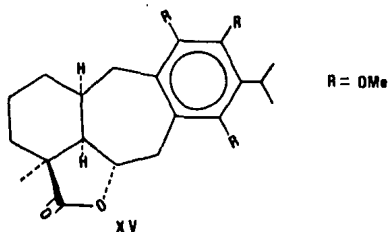
ESQUEMA #2

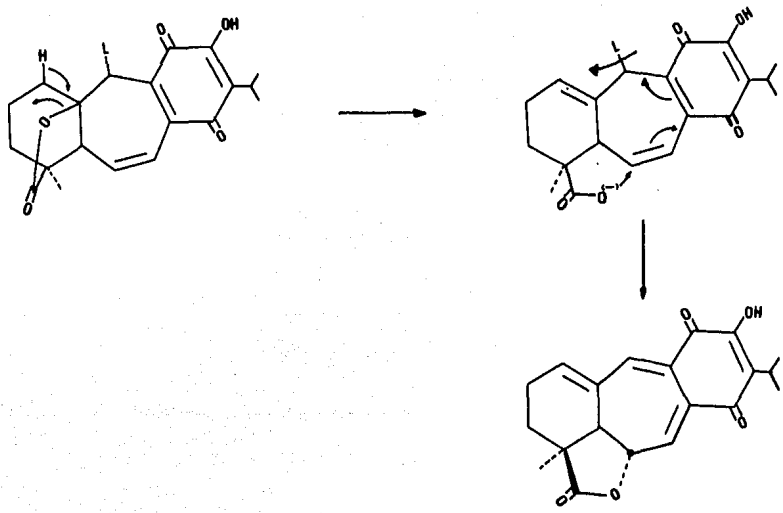
La discusión anterior permite corroborar químicamente los centros a los cuales se encuentra unida la lactona. Asimismo, debido a la semejanza existente (en desplazamiento y constantes de acoplamiento) entre los protones H_5 , H_4 y H_7 entre Anastomosina e Icetexona, se propone que la estereoquímica en C_4 sea la misma en ambos casos.

Biogenéticamente, la Anastomosina XI, puede provenir de un derivado de Icetexona (X), con un grupo saliente adecuado en la posición 20, de acuerdo con el esquema #3.

El segundo producto de la metilación reductora, es un aceite amarillento, que en su espectro de IR, presenta bandas en 1764 cm^{-1} de carbonilo de γ lactona, en 1602 cm^{-1} para dobles ligaduras y en 1118 cm^{-1} de éter. De ésta información se infiere que no existen oxhidrilos, ni p-quinona.

En el espectro de RMN^1H de XV (espectro #15), se observan 3 señales para metoxilos, (3.85, 3.65 y 3.55 ppm), lo que sugiere que el anillo de quinona se redujo a hidroquinona y sufrió una metilación posterior. Esto se confirma con el espectro de masas, por el pico en m/z 388 (M^+) que indica una ganancia de 48 unidades de masa (3H y 3Me).



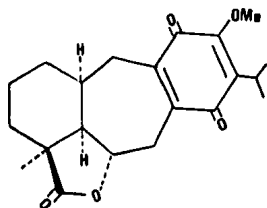


ESQUEMA #3.

Las señales para H_A , H_{7a} y H_{7b} , son muy parecidas a las descritas para el tetrahidro derivado XII (Tabla 6). Los experimentos de doble resonancia de XV (espectro #15) corroboran lo anterior. La saturación de la señal en 1.8 ppm, correspondiente a los protones H_{10} y H_9 , simplifica la señal de H_A a un doble de dobles ($J_{A-7a}=10$, $J_{A-7b}=4$ Hz). Al mismo tiempo, la señal asignada a H_{20} se transforma en un sistema AB simple H_{20a} en 3.05 ppm (d, $J=14$ Hz) y H_{20b} en 2.4 ppm (d, $J=14$ Hz). Al irradiar la señal asignada a H_A (4.05 ppm), se observa la diferencia en la señal para H_{7a} en 2.65 ppm (d, $J=14$ Hz) y un cambio significativo en la señal para H_B .

Este producto (XV), comprueba que el producto de hidrogenación original, corresponde a la hidroquinona.

El producto más polar y más abundante, es un aceite amarillo claro que en su espectro de IR, indica que posee una γ lactona (1768 cm^{-1}), una agrupación de p-quinona (1654 cm^{-1}) y una función éter (1117 cm^{-1}). Estos datos permiten suponer que se trata del producto monometilado (XVI). El espectro de masas apoya la suposición anterior, por la ganancia de 18 unidades de masa (M^+ , 358), 3H y un metilo.



XVI

TABLA No. 6.

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS EN ^1H DE LOS
DERIVADOS DE ANASTOMOSINA XI.

H	XII	XV	XVI
6	4.3 td (10,4)	4.05 td (10,4)	4.3 td (10,4)
7 α	2.55 dd (16,10)	2.65 dd (14,10)	2.8 dd (16,10)
7 β	3.8 dd (16,4)	3.5 dd (14,4)	3.75 dd (16,4)
20 α	2.5 dd (14,3)	2.4 dd (14,3)	2.45 dd (16,4)
20 β	3.05 dd (14,7)	3.05 dd (14,7)	3.05 dd (16,7)
10	2.05 m	1.75 m	2.05 m
5	2.15 m	1.87 m	2.15 m
<u>-OH</u>	7.1 s (int. D ₂ O)	-	-
<u>-OMe</u>	-	3.55 s 3.65 s 3.85 s	3.95 s

Corridos en CDCl_3 , a 80 MHz. Referencia interna TMS.

J en Hz entre paréntesis.

La presencia de la quinona se ve apoyada por el espectro de UV de XVI (absorciones en 201 $\epsilon=4212$ y 273 nm $\epsilon=3206$).

En el espectro de RMN¹H de XVI (espectro #16, Tabla 6), se observa un singlete en 3.95 ppm que integra para 3H correspondiente al grupo metoxilo. Las señales para los protones H₆, H_{7 α} y 2H₂₀ permanecen sin alteración. En este espectro se puede ver claramente la señal de H_{7 α} , un doble de dobles en 3.72 ppm (J=16,4Hz), que en el producto de metilación XV (espectro #15), se encontraba sobrepuesta a las señales de los metoxilos. El resto de las señales no se modifican.

La relación biogenética entre Anastomosina (XI) e Ictexona (X), puede tener importancia quimiotaxonómica, como se verá más adelante.

IV. CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

El estudio de Salvia goldmanii y Salvia anastomosans de la sección Tomentellae, del género Salvia, permitió llegar a las siguientes conclusiones:

Se aislaron y caracterizaron, por métodos espectroscópicos y químicos 9 metabolitos secundarios, 7 de los cuales son diterpenos.

Además de ácidos oleanólico (I) y ursólico (II), triterpenos ampliamente distribuidos en la familia de las Labiadas (Tabla 1)⁷, se aislaron los diterpenos: Fruticulina A (III), Desmetil fruticulina A (IV), Conacytona (IX) e Icetexona (X) de estructura conocida. Así mismo, se obtuvo como derivado Metil conacytona (VIII). Los productos 7-hidroxi-desmetil fruticulina A (VII) y Anastomosina (XI) no se encuentran descritos en la literatura y son una contribución al estudio de la composición química de Salvias mexicanas.

Ahora bien, desde el punto de vista quimiotaxonómico, se ha propuesto que la existencia de quinonas diterpénicas se considere un carácter taxonómico del género Salvia^{4,5}. En el caso del presente estudio, la presencia de este tipo de compuestos, puede ser de relevancia quimiosistemática. En la sección Tomentellae, específicamente, en las especies estudiadas hasta ahora, las quinonas diterpénicas encontradas, tienen esqueleto de abietano, o de 9(10→20) abeo abietano (Tabla 7). El hecho de que en S. anastomosans

TABLA No. 7.

CONSTITUYENTES DITERPENICOS DE ALGUNAS

Salvias DE LA SECCION *Tomentellae*.

ESPECIE	DITERPENO	REFERENCIA
<i>S. ballotaeiflora</i>	Conacytona IX	17
	Icetexona X	"
	Romulogarzona 14	"
<i>S. fruticulosa</i>	Fruticulina A III	18
	Desmetil fruticulina A IV	"
	Fruticulina B	39
<i>S. goldmanii</i>	Fruticulina A III	18
	Desmetil Fruticulina A IV	"
	7-OH-desmetil fruticulina A VII	40
<i>S. anastomosans</i>	Conacytona IX	17
	Icetexona X	"
	Anastomosina XI	41

(una especie recién clasificada en ésta sección) se hallan aislado el mismo tipo de productos, hace suponer que la proposición mencionada anteriormente no se considere fuera de lugar, sino que es necesaria la búsqueda de estos diterpenos.

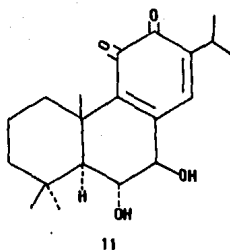
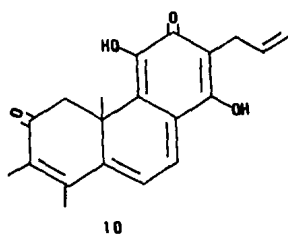
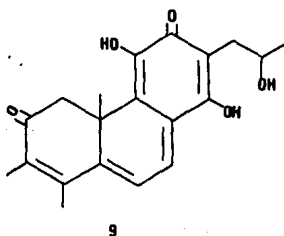
De Labiadas europeas y asiáticas se han aislado abietanos con un anillo quinoideo, tal es el caso de los compuestos encontrados en Coleus barbatus, Coleon E (9)³³ y F (10)³⁴, Salviflomona (11) de S. phlomisoides³⁷ así como la serie de plectranton A (12), y C (13)³⁸, aunados a los mencionados en generalidades (Cap. 2).

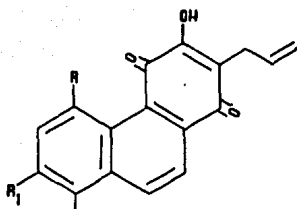
De las Salvias mexicanas estudiadas, aproximadamente el 80% de los diterpenos aislados, tienen esqueleto de neo-clerodano (ent-clerodano)⁴.

Por consiguiente, el hecho de que se encuentren abietanos en S. goldmanii y en S. anastomosans, sumados a los encontrados en las otras especies de la misma sección, permite suponer que existe alguna relación fitogeográfica y tal vez filogenética entre las especies de la sección Tomentellae y las Salvias europeas⁴². Para comprobar ésta relación, deben estudiarse las especies faltantes que pertenecen a dicha sección.

Respecto a la biogénesis de Anastomosina (XI) (esquema #3), se sugiere el estudio de Salvia anastomosans, en diferentes etapas de crecimiento, y tratar de aislar algún intermediario que pueda dar lugar a la transformación mencionada.

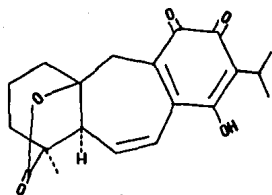
Con los resultados obtenidos, se considera que las teorías del Dr. Gottlieb³ sobre el uso de micromoléculas como patrón quimiosistemático, serán de gran utilidad cuando se tenga mayor información sobre la composición química de las plantas, siempre y cuando se hagan a fondo y en forma sistemática.



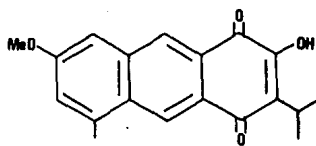


12 R = R₁ = H

13 R = H R₁ = Me



14



15

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 cromatografía de gel de sílice Merk F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en H_2SO_4 2N.

Los espectros de IR fueron obtenidos en cloroformo o en KBr en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod. 337 o en un Nicolet FT-5X.

Los espectros de UV fueron determinados en un espectrofotómetro - Perkin-Elmer Mod. 552. La rotación específica fue determinada en un polarímetro Perkin-Elmer 241.

Los espectros de RMN¹H y de ¹³C 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 δ , con respecto al TMS. Los valores de J están dados en Hz. Las asignaciones en ¹³C fueron hechas con ayuda de los espectros parcial y totalmente desacoplados.

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 UNAM.

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

PARTE EXPERIMENTAL.

1.- Estudio quimiotaxonómico de Salvia goldmanii.

El espécimen de Salvia goldmanii analizado, fué recolectado en el estado de Durango (Voucher NEXU 9565). Las partes aéreas de la planta, secas (1.8 Kg), fueron extraídas con acetona (20 l) a temperatura ambiente, durante una semana. Al evaporar el disolvente a presión reducida, se obtienen 128 g de extracto, el cual fué sometido a una separación por cromatografía en columna empacada con sílice (70-230, 1Kg), desactivada con el 10% en peso de agua. Se utilizó como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1), se obtuvieron 533 mg (0.03 % en peso seco) de un sólido cristalino amarillo de $P_f=190-193^\circ\text{C}$ (acetona). Las propiedades físicas y espectroscópicas de éste compuesto (III) corresponden con las descritas para Fruticulina A, aislado anteriormente de S. fruticulosa¹⁰.

U.V. (MeOH) λ máx nm (ϵ): 215 (32000), 250 (10000), 278 (11500), 325 (16500), 420 (4200).

I.R. (CHCl₃) ν máx cm⁻¹: 3672, 3371 (OH), 1657, 1603 (C=O de p-quinona), 1555, 1467, 1440, 1394, 1300, 1275, 1178.

RMN¹H 80 MHz (C₄D₄) (Tabla 2) δ ppm: 8.1 (s, 1H, H₂₀), 7.6 (s, 1H, int. D₂O -OH anillo C), 6.97 (d, J=3Hz, 1H, H₁), 6.95 (t, J=9Hz, 2H, H₇), 6.82 (d, J=3Hz, 1H, H₃), 3.35 (sept., H₁₅), 3.8 (s, 3H, -OMe), 3.1 (d, J=9Hz, 2H, H₄), 2.35 (sa, 3H, H₁₈), 1.26 (d, J=7Hz, 6H, metilos del isopropilo).

E.M. m/z (% abundancia relativa): 324 (M⁺, 100), 309 (22)
281 (20), 213 (74.6), 185 (17), 141 (15).

Las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (8:2), se reunieron (8g) y fueron sometidas a varias cromatografías en columna sobre sílica gel 70-230, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad ascendente.

De las fracciones eluidas con 20% de acetato de etilo se obtuvieron 452 mg de una mezcla binaria, la cual pudo separarse por cromatografía "relámpago" sobre sílica gel 230-400, utilizando como eluyente, mezclas de CH₂Cl₂-hexano (1:1) CH₂Cl₂ y finalizando con CH₂Cl₂-acetona (9.9-0.1). Se obtuvieron así 145 mg (0.008% en peso seco) de un producto cristalino rojo (VII) de Pf=220-222°C (acetona-éter isopropílico), que corresponde a 7-hidroxi-desmetil fruticulina A, un producto que no se encuentra descrito en la literatura⁴⁰.

U.V. λ máx. nm (ε): 250 (24782), 280 (18369) 338 (12174).

I.R. (KBr) ν máx. cm⁻¹: 3304 (-OH), 1630 (C=O quinona), 1592, 1574 (dobles ligaduras).

RMN¹H 80MHz (CDCl₃) (espectro #5, Tabla 2) δ ppm: 16.91 (s, 1H, int. D₂O -OH en C₇), 7.6 (s, 1H, int. D₂O -OH en C₁₁), 7.2 (s, 1H, H₂₀), 6.75(d, J=3Hz, H₁), 6.65(d, J=3Hz, H₂) 5.85(sa, 1H, int. D₂O -OH en C₂), 3.55 (s, 2H, H₄), 3.35(sept J=7Hz, 1H, H₁₅), 2.2, (s, 3H, H₁₈), 1.3 (d, J=7Hz, 6H, Me del isopropilo).

RMN¹³C 20MHz (DMSO-d₆) (espectro #6, Tabla 4).

E.M. m/z (abundancia relativa %): 326(M⁺, 100) 327.3(23.7) 311.2(41.1), 283.2(10.3).

De las dos cromatografías anteriores, se reunieron las fracciones de polaridad intermedia (60% hexano y CH₂Cl₂ respectivamente) (3g) y se recromatografiaron en columna empacada con sílice 230-400 (150g) utilizando como único eluyente CH₂Cl₂-acetona (9.9:0.1). De esta forma se aislaron 52 mg (0.0028% en peso seco) de un sólido amarillo verdoso de P_f=200-203°C (cloruro de metileno-hexano), cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden a Desmetil fruticulina A (IV) que previamente se aisló de S. fruticulosa¹⁰.

I.R. (CHCl₃) ν máx. cm⁻¹: 3594, 3368 (-OH, 1657 (C=O de quinona) 1602 (dobles ligaduras).

RMN¹H 80 MHz (CDCl₃) (Tabla 2) δ ppm: 8.0 (s, 1H, H₂₀), 7.65 (s, 1H, int. D₂O, -OH anillo C), 6.92 (t, J=7Hz, 1H, H₇), 6.81 (d, J=3Hz, 1H, H₁), 6.75 (d, J=3Hz, 1H, H₃) 5.4 (sa, 1H, int. D₂O, -OH anillo A), 3.35 (sept., J=7Hz, 1H, H₁₅), 3.1 (d, J=7Hz, 2H, H₄). 2.35 (s, 3H, H₁₀), 1.25 (d, J=7Hz, 6H Me del isopropilo).

E.M. M/z (abundancia relativa): 310 (M⁺, 100), 295 (24), 199(68.4), 171 (18).

Acetilación de Desmetil fruticulina A (II) con BF₃ y Ac₂O.

100 mg de (IV) se suspendieron en 2ml de anhídrido acético; se agregaron 0.1 ml de BF₃.Et₂O (la solución se torna verde), se agitó durante 30 min. a temperatura ambiente. Al término de la reacción se adicionó hielo y se continuó la a-

gitación por 1hr. Posteriormente se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con una solución de NaHCO_3 al 10% hasta pH neutro y finalmente con agua. La solución obtenida se secó con Na_2SO_4 anhidro. La evaporación del disolvente, permite obtener una mezcla que se separó por cromatografía "relámpago", utilizando sílice 230-400 y como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente empezando con hexano-AcOEt (8.5:1.5).

De las primeras fracciones se obtienen 22 mg de un aceite amarillo ocre, que corresponde al diacetato de Desmetil fruticulina A (V).

I.R. (CHCl_3) máx. cm^{-1} : 1769 (C=O de acetato de enol y fenol), 1674, 1606 (C=O de quinona), 1560 (dobles enlaces).

RMN^1H (CDCl_3) (espectro #2, Tabla 2) δ ppm: 8.1(s, 1H, H_{20}), 7.1(sa, 2H, H_1 y H_3), 6.92(t, $\text{J}=8\text{Hz}$, 1H, H_7), 3.5(sept., $\text{J}=7\text{Hz}$, 1H, H_{15}), 3.15(d, $\text{J}=8\text{Hz}$, 2H, H_4), 2.45(s, 3H, H_{16}) 2.4 y 2.25 (s. 3H c/u, OCOCH_3), 1.25(d, $\text{J}=7\text{Hz}$, 6H, Me del isopropilo).

E.M. m/z (abundancia relativa) 394 (M^+ , 12), 352(100), 310 (71.5), 295(16), 285(15), 242(32), 199(49.5), 43(41.6).

De las fracciones polares se obtienen 82 mg de un producto cristalino amarillento de $\text{P}_f=258-260^\circ\text{C}$ (acetona-hexano), cuyos datos espectroscópicos permitieron determinarlo como el hexaacetato de desmetil fruticulina A (VI).

I.R. (CHCl_3) \checkmark máx. cm^{-1} : 1774 (acetato de enol), 1729 (acetato saturado), 1600, 1430, 1371, 1237, 1190, 1012.

U.V. (MeOH) λ máx. nm (ϵ): 210(27500), 230(43000), 300(37000), 340(17000), 400(4300).

RMN¹H 80MHz (C₆D₆, 70°) (espectro #3, Tabla 2) δ ppm: 7.5 (sa, 1H, H₂₀), 7.15 (d, J=3Hz, 1H, H₁), 6.9 (d, J=3Hz, 1H, H₂), 6.55(dd, J=6, 1Hz, H₇), 3.95 (dd, J=15, 1Hz, H₄), 3.55(dd, J=15, 6 Hz, H₄), 3.1 (sept., J=7Hz, 1H, H₁₀), 2.2-1.45 (6 señales, s, -COOCH₃), 2.0 (sa, 3H, H₁₈), 1.25 (d, J=7Hz, 6H, Me del isopropilo).

RMN¹³C (CDCl₃) (espectro #4, Tabla 3).

E.M. m/z (abundancia relativa): 394(23), 352(100), 310(25) 43(46.9).

Acetilación de Desmetil fruticulina A con AcONa y Ac₂O.

A 50 mg de (IV) se le añadieron 5ml de Ac₂O y 50 mg de AcONa seco. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 8hrs. Transcurrido este tiempo, se elimina el anhídrido acético a presión reducida y el crudo de la reacción se suspendió en acetato de etilo, se lavó con agua, se neutralizó con una solución de NaHCO₃ al 10% y finalmente se lavó con una solución de NaCl saturada. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida. De esta manera se obtuvieron 76 mg de un aceite amarillo ocre, cuyas propiedades espectroscópicas corresponden al diacetato de Desmetil fruticulina A (V) descrito en la reacción anterior (vide supra).

2.-Estudio de los constituyentes químicos de Salvia anastomosans. Elucidación estructural de Anastomosina(XI), un nuevo diterpeno con esqueleto de $\Psi(10 \rightarrow 20)$ abeo abietano.

La Salvia anastomosans Ramamoorthy, se recolectó en Octubre de 1985 a 5 Km de Tamazulapan rumbo a Chilapa en el estado de Oaxaca; se depositó un ejemplar en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la UNAM (Voucher MEXU 4773)

Las partes aéreas de la planta, secas, (2.6Kg) se extrajeron con acetona (20 l) a temperatura ambiente, durante una semana. Pasado este tiempo, el disolvente fué eliminado a presión reducida; el residuo obtenido se suspendió en metanol y se calentó; los sólidos se separaron por filtración (75 g) y el filtrado se concentró nuevamente a presión reducida, se obtuvieron así 278g de extracto crudo.

Los sólidos insolubles en metanol, se recrystalizaron y el precipitado resultante (sólido amorfo blanco), mostró en su espectro de I.R. señales características de ácido carboxílico (3360 y 1690 cm^{-1}). El tratamiento de este sólido con una solución éterea de diazometano, produjo el correspondiente éster metílico, que se identificó como mezcla de ésteres metílicos de los ácidos ursólico y oleanólico.

El extracto crudo (278g), se separó por cromatografía en columna, empacada con sílica gel (35-70 lKg), desactivada

con agua al 10%, se utilizó como eluyente una mezcla de polaridad ascendente de hexano-acetato de etilo.

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (9.5:0.5), se obtuvieron 3.64g (0.14% peso seco) de un sólido cristalino amarillo con $Pf=213-215^{\circ}C$ (acetona, descompone) y se denominó Metil-conacytona (VIII).

I.R. ($CHCl_3$) ν máx. cm^{-1} : 3595, 3393 (-OH fenólico), 1639 (C=O quinona), 1150 y 1110 (cetal).

RMN¹H 80 MHz ($CDCl_3$) (espectro #7) δ ppm: 7.1 (s, 1H, int. con D_2O , -OH fenólico), 5.55 (sa, 1H, H_{20}), 4.4 (t, $J=2Hz$, H_7), 3.5 (AB, H_{18} , dd en 3.85 $J=10, 2$, d en 3.3 $J=10Hz$), 3.45 (s, 3H, -OMe en C_{20}), 3.2 (sept., $J=7Hz$, 1H, H_{18}), 1.22, 1.16 (2d, $J=3Hz$ 3H c/u, Me del isopropilo), 0.8 (s, 3H, H_{19}).

E.M. m/z (abundancia relativa %): 376 (M^+ , 1.2), 344 (100), 299 (33), 298 (91.7), 229 (31.7), 230 (35.7).

De esta misma polaridad (hexano-acetato de etilo 9.5:0.5), se separaron 558 mg (0.21% peso seco) de un sólido cristalino naranja con $Pf=262-265^{\circ}C$ (CH_2Cl_2 -hexano, descompone). Las constantes físicas y espectroscópicas que se describen a continuación están de acuerdo con las publicadas para Icetexona (X), diterpeno aislado previamente de S. ballotae-flora¹⁷.

I.R. ($CHCl_3$) ν máx. cm^{-1} : 3403 (-OH), 1772 (C=O de τ lactona), 1641 (C=O quinona), 1602 (dobles ligaduras).

RMN¹H 80 MHz ($CDCl_3$) (espectro #9) δ ppm: 7.1 (s, 1H, int. con D_2O , -OH fenólico), 6.85 (dd, $J=12, 2Hz$, H_7), 6.4 (dd, $J=12, 6 Hz$ H_4), 3.2 (sept., $J=7Hz$, 1H, H_{18}), 2.65 (AB, H_{20} , 3.15, d, $J=13Hz$, 2.25

d, J=13Hz), 2.55 (dd, J=6, 2Hz H_B), 1.25 (d, J=1Hz, 6H, Me del iso propilo), 1.2 (s, 3H, H_A).

E.M. (abundancia relativa %): 342 (M⁺, 100), 297 (23), 256 (27.5), 241 (12).

Dado que la Metil-conacytona puede haberse formado al tratar el extracto crudo con metanol, se sometieron 770g de planta seca al mismo procedimiento extractivo anterior, pero evitando el metanol (vide supra). El extracto crudo (44g), se separó por cromatografía en columna utilizando sílica gel (35-70) desactivada al 10% con agua y una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente como eluyente.

De las fracciones obtenidas con hexano-acetato de etilo (9:1) se aisló Conacytona (IX). La identidad de esta sustancia se comprobó por comparación directa con muestra auténtica proveniente de S. pubescens²⁵ (Pf, IR, RMN¹H espectro #8). De la misma polaridad se obtuvo Icetexona (X), la cual se describió con anterioridad.

Las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (9:1) (28.7g), del primer extracto, se cromatografiaron en columna, varias veces, sobre sílice 70-230 sin desactivar, utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo de polaridad creciente. De esta forma se lograron aislar 345mg de un sólido amarillo (0.0132% en peso seco), de Pf=207-215°C (descompone), el cual se nombró **Anastomosina** (XI).

$[\alpha]_D^{20} = +426.47$ (c. 0.034, piridina).

U.V. (MeOH) λ máx. nm (ϵ): 200 (7976), 277 (4337), 330 (5060)

I.R. (CHCl_3) ν máx. cm^{-1} : 3361 (-OH), 1778 (C=O de γ lactona), 1656 (C=O de quinona), 1602 (dobles enlaces).

RMN¹H 80 MHz (CDCl_3) (espectro #10) δ ppm: 7.7 (s, 2H, int. con D_2O , H_2O y -OH fenólico), 7.5 (d, $J=3.5$ Hz, H_7), 6.65 (t, $W_{1/2}=11$ Hz, H_1), 4.71 (dd, $J=12, 3.5$ Hz, H_4), 3.37 (sept., $J=7$ Hz, 1H, H_{10}), 2.6 (d, $J=12$ Hz, H_8), 2.5 (m, 2H, H_2), 1.675 (AB, dt, $J=14, 4$ Hz, 2H, H_3), 1.3 (d, $J=2$ Hz, 6H, Me del isopropilo), 1.2 (s, 3H, H_{10}).

RMN¹³C 20MHz (CDCl_3) (espectro #11, Tabla 5).

E.M. m/z (abundancia relativa %): 340 (M^+ , 100), 312 (12) 284 (8), 269 (14.2).

Hydrogenación catalítica de Anastomosina (XI).

70mg de (XI), disueltos en 10 ml de AcOEt, se hidrogena ron a temperatura ambiente, usando como catalizador Pd-C al 5% (14mg). El curso de la reacción fué seguido por cromatografía en capa fina. Una vez concluida la reacción (2hrs.), el catalizador se separó por filtración sobre celita. La solución obtenida se concentró a presión reducida; en CCF se observa la formación de un producto muy polar, que al extraer del matraz de reacción con acetona y concentrar a presión atmosférica se transforma en (XII); se obtuvieron así 40 mg de un producto cristalino blanco amarillento de $P_f=218-220^\circ\text{C}$ (descompone).

I.R. (CHCl_3) ν máx. cm^{-1} : 3408 (-OH fenólico), 1768 (C=O de γ lactona), 1642 (C=O de quinona).

RMN¹H 80 MHz (CDCl₃) (espectro #13, Tabla 6), δ ppm: 7.1 (s, 1H, int. D₂O -OH fenólico), 4.3 (td, J=10,4 Hz, H_A), 3.8 (dd, J=16,4Hz, H_{7A}), 3.2 (sept. J=7Hz, H_{1B}), 3.05 (dd, J=14,7 Hz, H_{20A}), 2.55 (dd, J=16,10Hz, H_{7A}), 2.5 (dd, J=14,3, H_{20A}), 2.15 (m, 1H, H_B), 2.05 (m, 1H, H₁₀), 1.25 (s, 6H, Me del isopropilo), 1.2 (s, 3H, H_{1B}).

E.M. m/z (abundancia relativa): 344(M⁺, 100), 342(22), 298(18), 95(39.6), 93(28), 91(37), 55(38.8), 41(46.3).

Metilación reductiva de Anastomosina XI

170mg de anastomosina (XI) (0.494mmoles), disueltos en 10 ml de AcOEt se hidrogenaron a temperatura ambiente usando como catalizador Pd-C al 5% (50mg) por 6hrs. Al término de la reacción, se eliminó el catalizador por filtración sobre celita. El filtrado se concentró a presión reducida y en ese mismo matraz se adicionaron 40 ml de acetona anhidra, 2g de K₂CO₃ y 0.2 ml de (CH₃O)₂SO₂ (1.5 mmoles). La mezcla de reacción se agitó 10 min. a temperatura ambiente y se sometió a reflujo durante 40 min.. Posteriormente se dejó agitando a temperatura ambiente por 16 hrs., al cabo de las cuales se agregaron otros 2g de K₂CO₃ y 0.2ml de (CH₃O)₂SO₂ y se continuó el reflujo por otras 2hrs. Se dejó enfriar y el carbonato se eliminó por filtración, el residuo se concentró a presión reducida. El crudo de la reacción se dejó agitando con agua por 3hrs., posteriormente se extrajo con AcOEt, se neutralizó con una solución de NaHCO₃ al 10% y finalmente se

lavó con salmuera. Se secó con Na_2SO_4 anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido (210mg), se separó por cromatografía "relámpago" sobre sílica gel 230-400 utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo (9.5:0.5). Esta cromatografía permite obtener 3 productos, que se describen a continuación por orden de polaridad creciente:

I. Aceite amarillento. 16.4mg (8.93%). Producto XIV.

IR (CHCl_3) ν máx. cm^{-1} : 1722 (C=O de éster), 1646 (C=O quinona), 1602 (dobles ligaduras), 1118 (C-O-C).

RMN¹H 80 MHz (CDCl_3) (espectro #14, Tabla 6) δ ppm: 6.68 (dd, J=12, 3Hz, 1H, H₇), 6.15 (dd, J=12, 6Hz, 1H, H₆), 3.95 (s, 3H, -OMe), 3.62 (s, 3H, -COOMe), 3.2 (sept. H₁₃), 2.75 (m, 1H, H₉), 2.4 (m, 1H, H₁₀), 1.26 (s, 6H, Me del isopropilo), 1.18 (s, 3H, H₁₂).

UV. (MeOH) λ máx. nm (ϵ): 200 (7179), 265 (2728), 300 (1451).

EM. (abundancia relativa %): 372 (M⁺, 100), 312 (36.9), 297 (27.26), 272 (34.2), 257 (18).

II. Aceite amarillo claro: 22.4mg (11.68%) Producto XV.

IR. (CHCl_3) ν máx. cm^{-1} : 1764 (C=O y lactona), 1602 (dobles enlaces), 1118 (-C-O-C-).

RMN¹H (CDCl_3 : C_6D_6 1:1) (espectro #15, Tabla 6), δ ppm: 4.05 (td, J=10, 4 Hz, 1H, H₆), 3.85, 3.65, 3.55 (c/u, s, 3H, -OMe), 3.5 (dd, J=14, 4 Hz, H_{7A}), 3.5 (sept. H₁₃), 3.05 (dd, J=14, 7 Hz, H_{20A}), 2.65 (dd, J=14, 10Hz, H_{7B}), 2.4 (dd, J=14, 3Hz, H_{20B}), 1.87 (sept. H₉), 1.75 (m, H₁₀), 1.4 (d, J=7Hz, 6H, Me del isopropilo), 1.15 (s, 3H, H₁₂).

EM. m/z (abundancia relativa %): 388(M⁺,100),373 (30.4)
95(17.1), 91(16).

III. Aceite amarillento: 28.8mg (16.28%). Producto XVI.

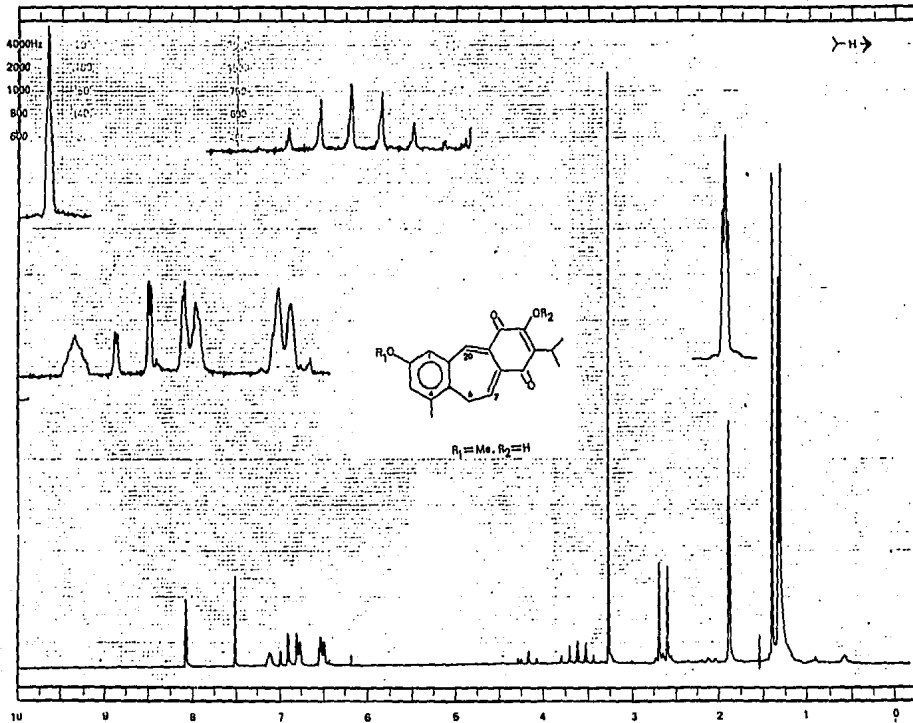
IR. (CHCl₃) máx. cm⁻¹: 1768 (C=O Y lactona),1654 (C=O
quinona),1602 (dobles ligaduras), 1117 (C-O-C).

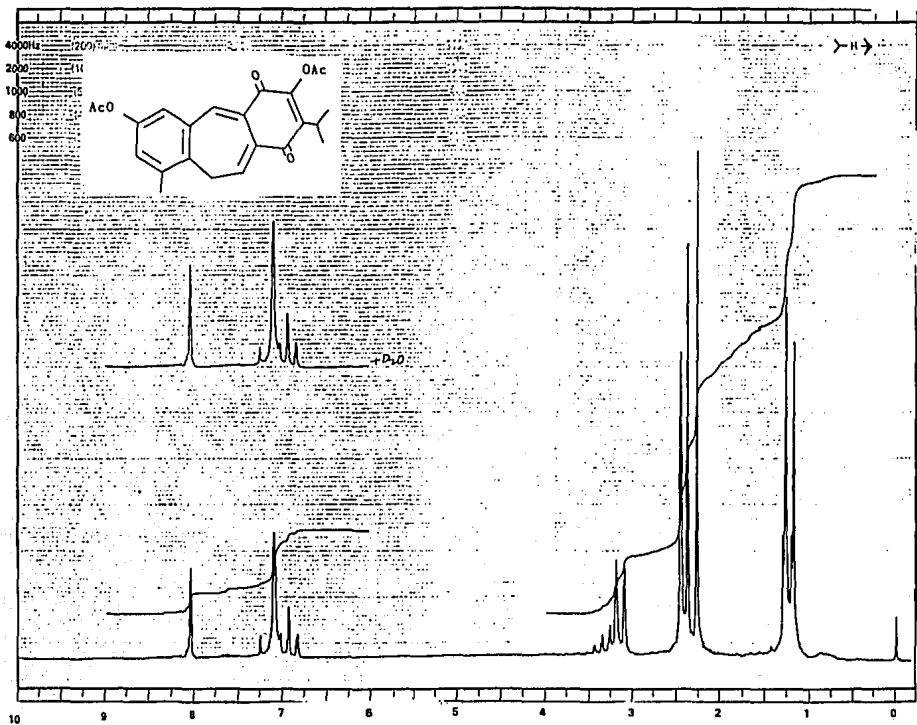
RMN¹H 80MHz (CDCl₃) (espectro #16,Tabla 6) δ ppm: 4.3
(td, J=10,4Hz, 1H,H₄),3.95 (s,3H,-OMe),3.72 (dd, J=16,4Hz,1H
H_{7a}), 3.25 (sept.,H₁₅), 3.05 (dd, J=16,7Hz, H_{20a}),2.8 (dd,J=
16,10Hz,H_{7a}) 2.45 (dd,J=16,4Hz, H_{20a}),2.15(m,H₅),2.05(m,H₁₀)
1.3(d,J=2Hz,6H, Me del isopropilo), 1.2(s,3H, H₁₈).

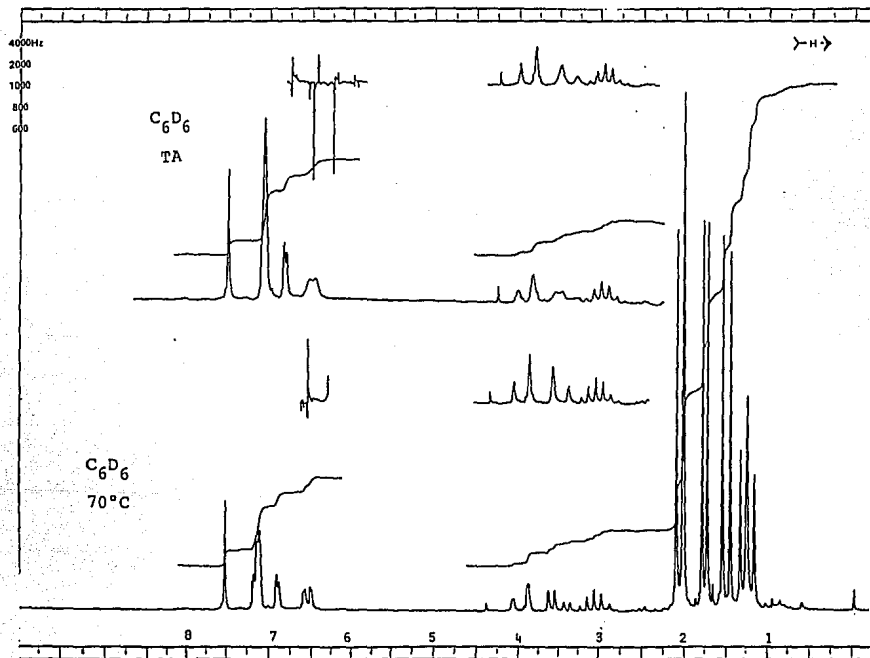
UV. (MeOH) máx. nm (ε): 201(4212), 273(3206).

EM. m/z (abundancia relativa%): 358 (M⁺,100),95.2(20.6)
91.2(12.6).

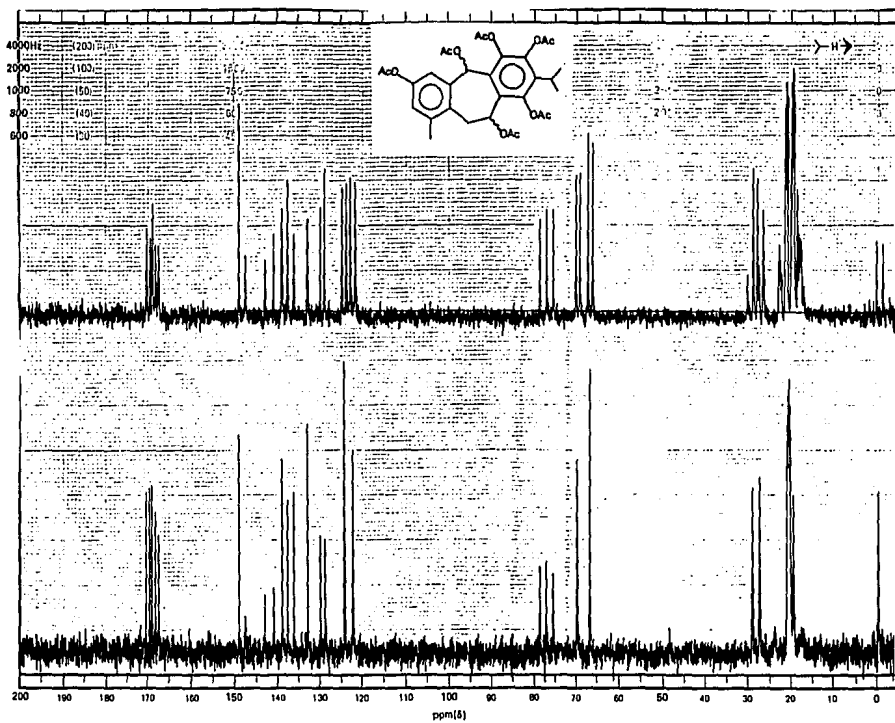
VI. ESPECTROS.



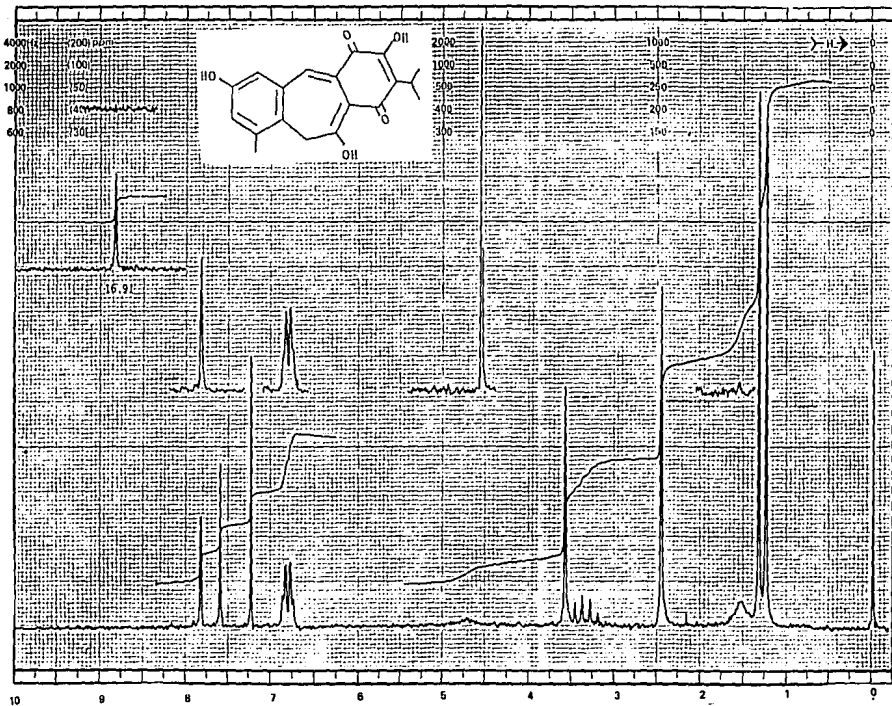




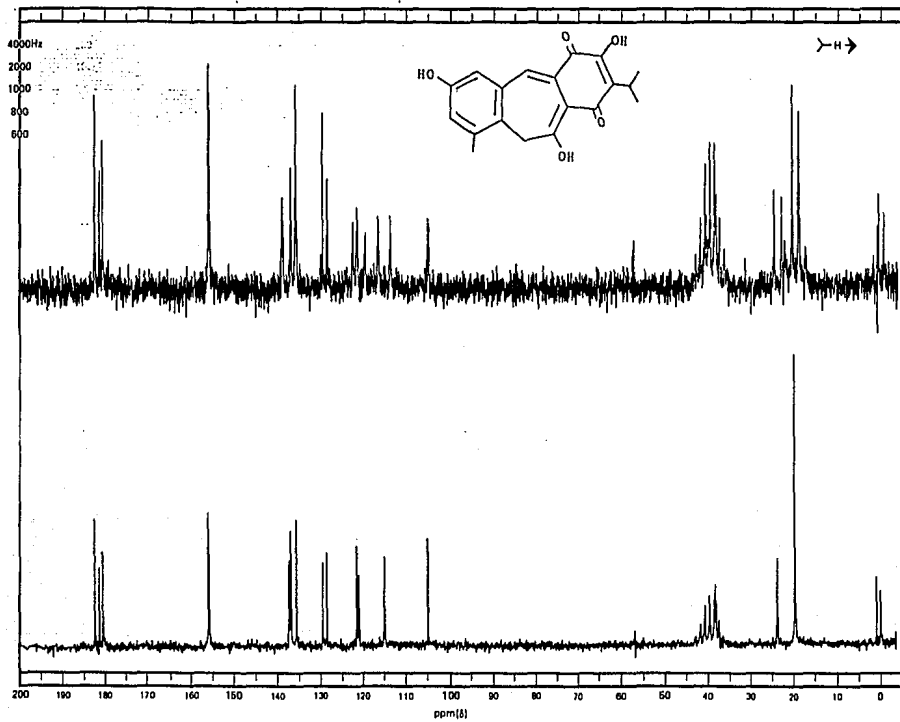
ESPECTRO #3



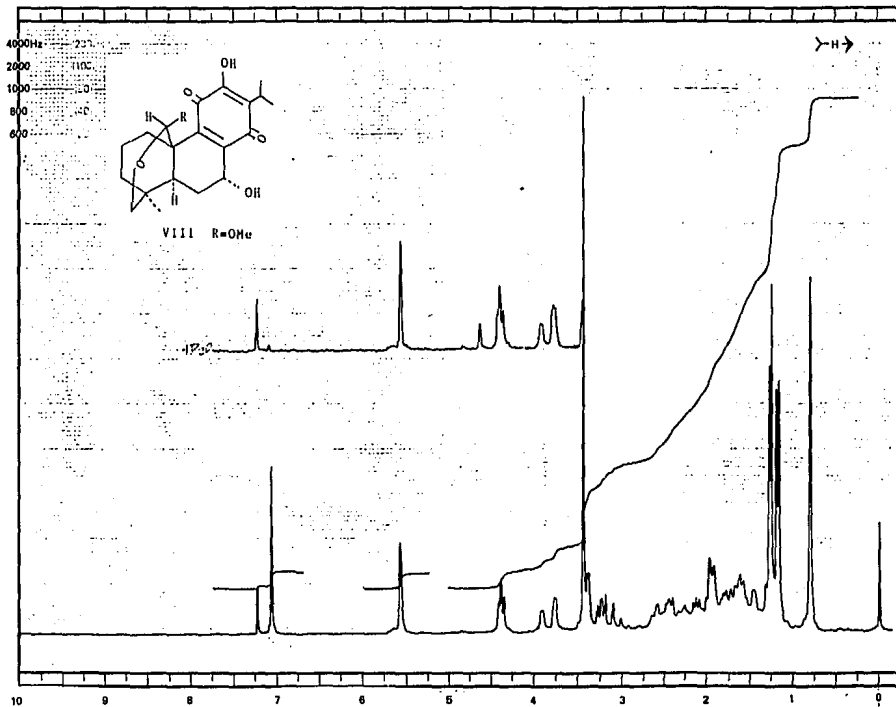
ESPECTRO #4

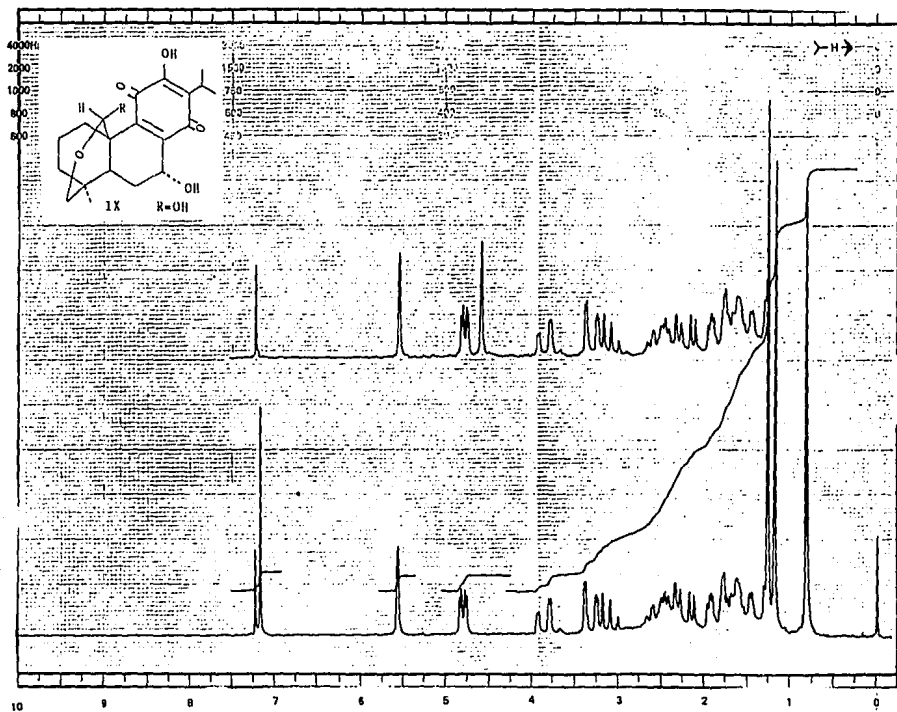


ESPECTRO #5

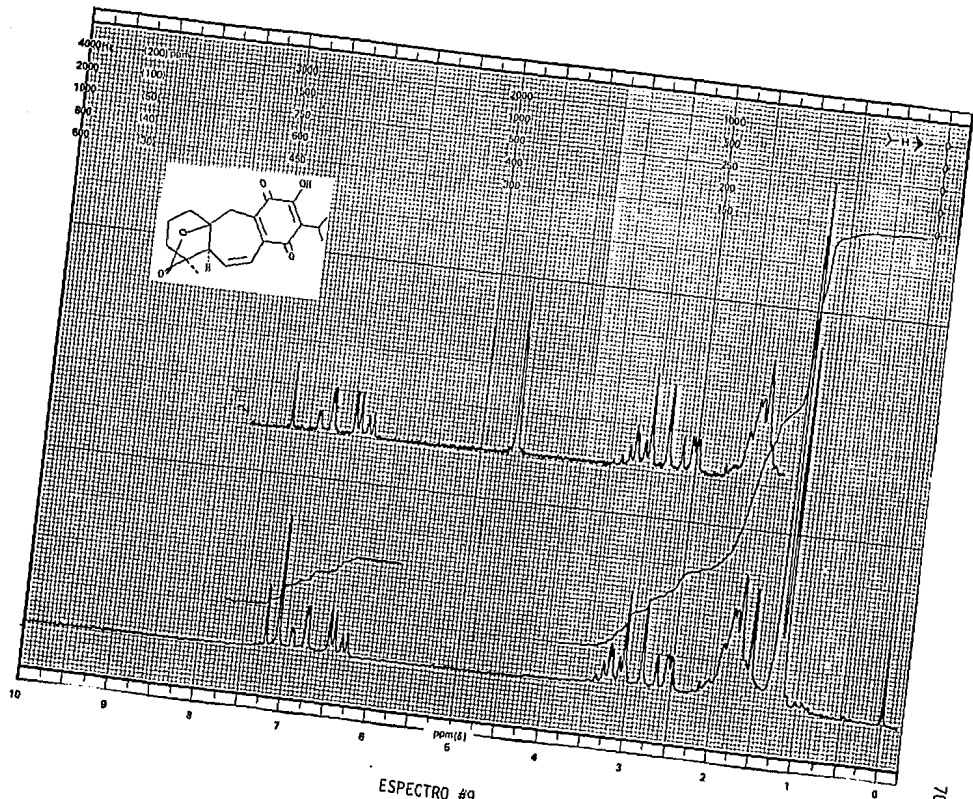


ESPECTRO #6

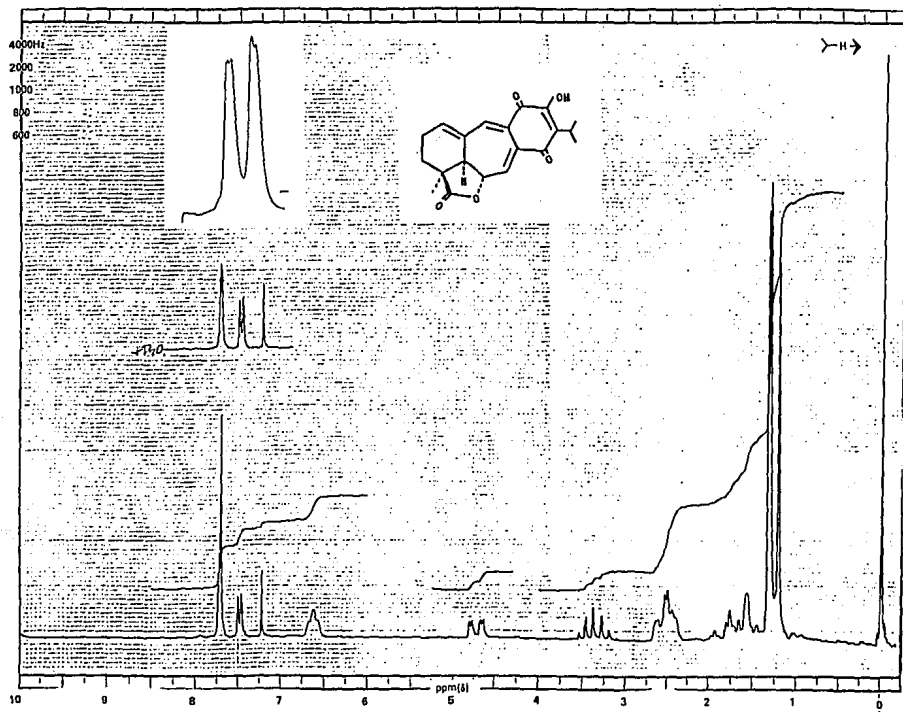




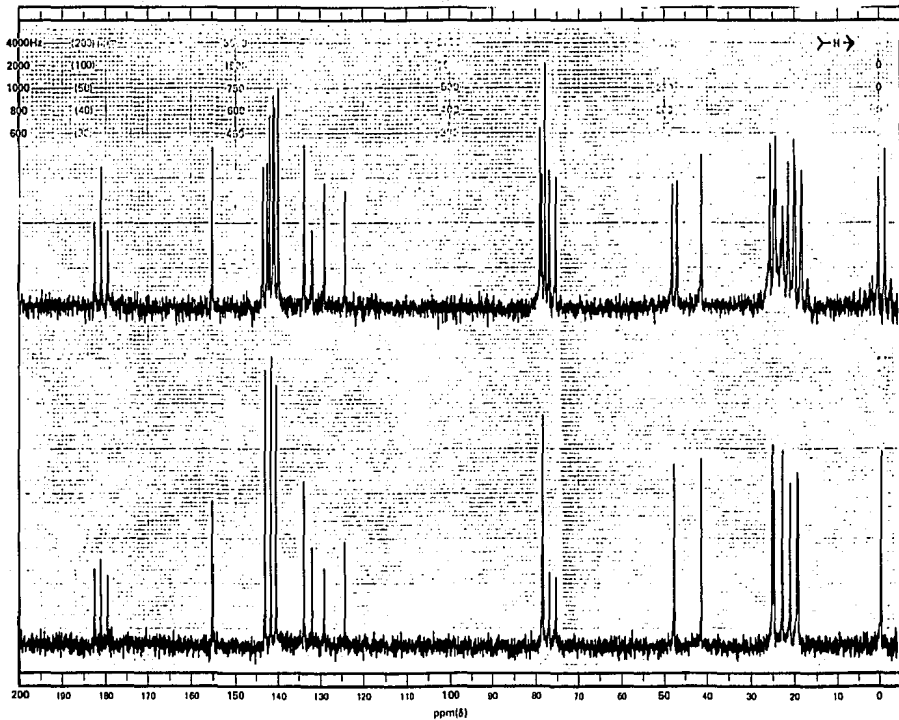
ESPECTRO #8



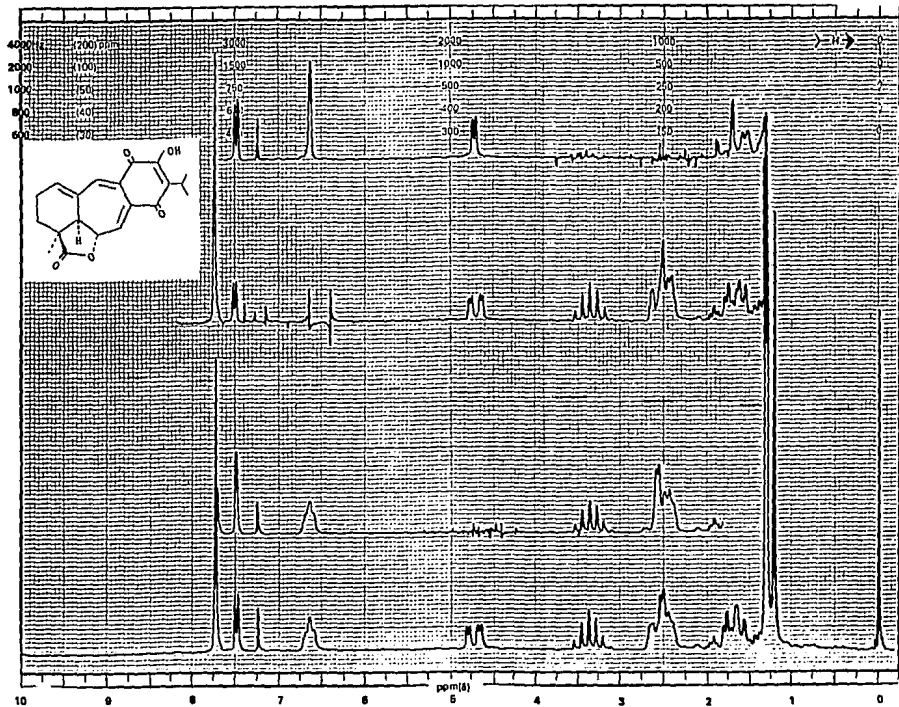
ESPECTRO #9



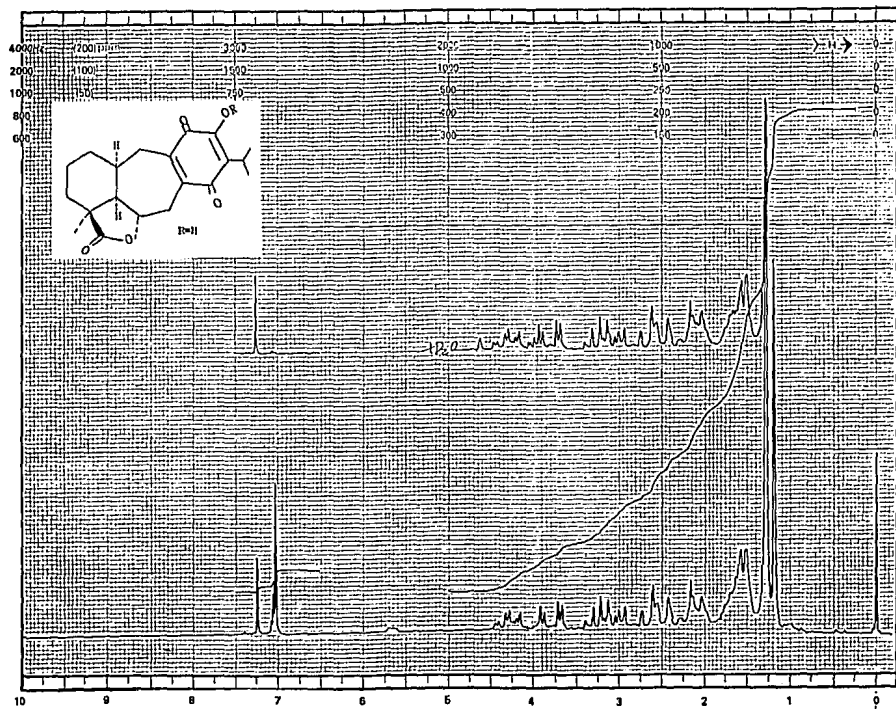
ESPECTRO #10



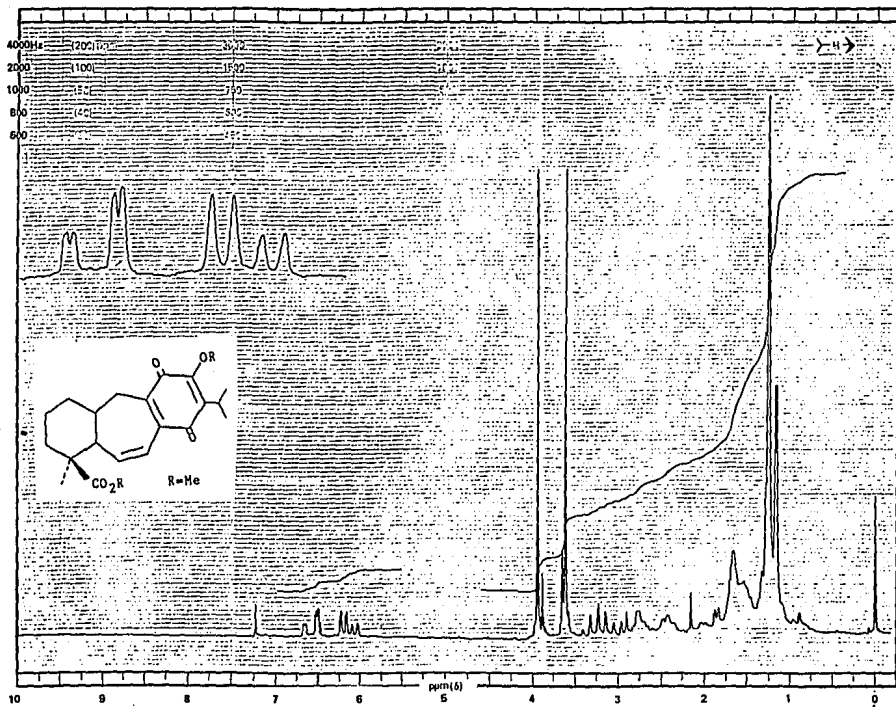
ESPECTRO #11



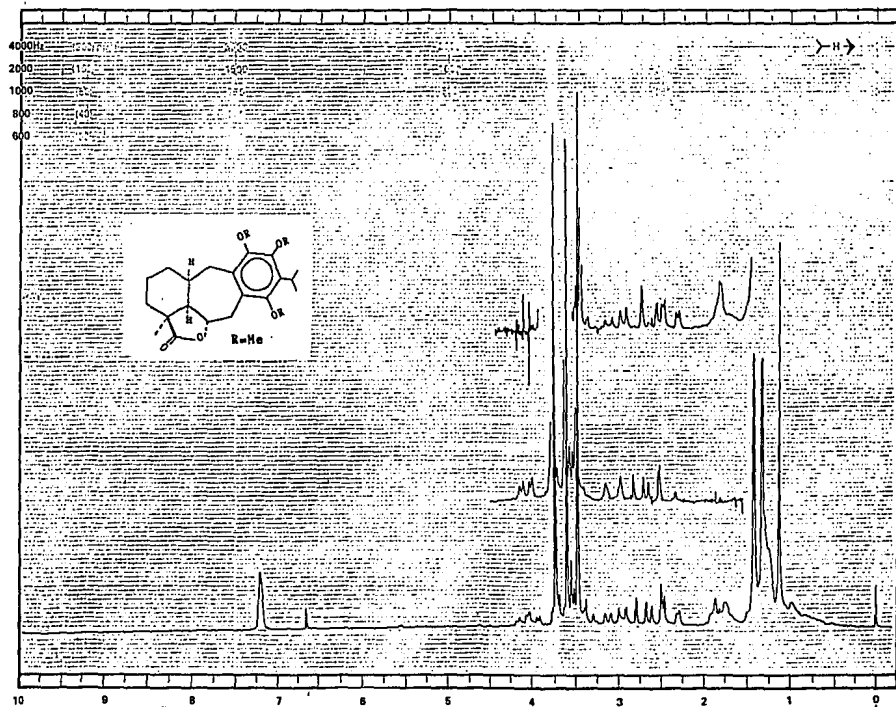
ESPECTRO #12



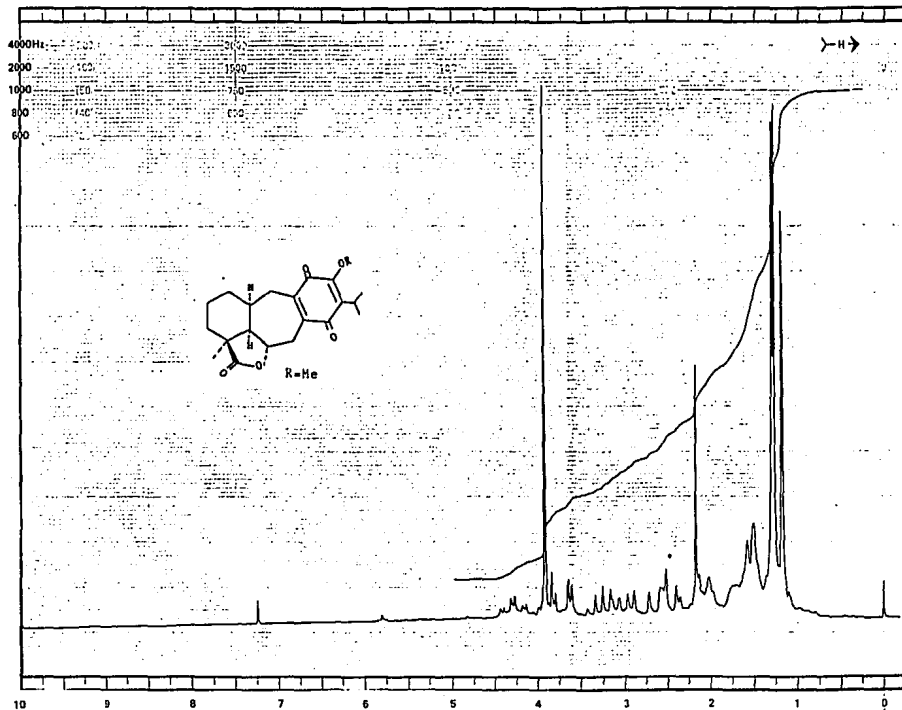
ESPECTRO #13



ESPECTRO #14



ESPECTRO # 15



ESPECTRO #16

VII. BIBLIOGRAFIA.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Gottlieb O.R. , Micromolecular Evolution, Systematics and Ecology, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, N.Y. 1982.
- 2.- Harborne, Introduction to Ecological Biochemistry, Ac. Press, London, N.Y., XIV, pág 243 (1977).
- 3.- Ibid referencia 1, Cap. 2, pág. 7.
- 4.- Standley P. and Williams L., Labiatae Fieldiana Bot. (1973), 24, 237.
- 5.- Ramamoorthy T.P., Journ. Arnold Arboretum (1984), 65, 135.
- 6.- Epling C., A revision of *Salvia* subgenus *Calosphaea*. Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Beih (1939), 110: 1-383.
- 7.- Hegnauer R., Chemotaxonomie der Pflanzen IV Birkhauser, Verlag Basel und Stuttgart (1966), pág 321-323.
- 8.- Le Men J. and Pourrat H. Ann. Pharm. Franc. (1953), 11, 190.
- 9.- Brieskorn C.H. et al Arch. Pharm.(1953), 286, 124.
- 10.- También se han encontrado triterpenos con esqueleto de Lupano P. ej. García-Alvarez M., Savona G., Rodríguez B., Phytochemistry (1981), 20, 481.
- 11.- Khin Prirod Soedinei (1971), 7, 199.
- 12.- Okumura Y., Kakisawa H., Kato M., and Hirata Y., Bull. Chem. Soc. Japan (1961), 34, 895.
- 13.- Rodríguez-Hahn L., Martínez G., Romo J., Rev. Latinoamer. Quím. (1973), 4, 93.
- 14.- Esquivel B., Cárdenas J., Toscano A., Soriano-García M., Rodríguez-Hahn L. Tetrahedron (1985), 41, 3213.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

79

- 15.- Esquivel B., "Estudio Quimiotaxonómico de la Sección *Fulgentes* del género *Salvia*". Tesis Maestría UNAM. 1986.
- 16.- Comunicación personal del Dr. T.P. Ramamoorthy del Instituto de Biología UNAM.
- 17.- Domínguez X.A., González H., Aragón R., Gutiérrez M., Marroquín J. S. and Watson W., Planta Médica (1976), 30, 237.
- 18.- Rodríguez-Hahn L., Esquivel B., Sánchez C., Cárdenas J., Estebanes L. Soriano-García M., Toscano A., and Ramamoorthy T.P. Tetrahedron lett. (1986), 27, 5459.
- 19.- Fernald, Proc. Amer. Acad., (1900), 35, 527.
- 20.- Cuando un enlace $x-y$ se rompe y se forma otro nuevo entre el primero y el tercero (z), se usa el término $abeo\ x(y\rightarrow z)$. Newman A.A., Chemistry of Terpenes and Terpenoids. Ac. Press, London N.Y. (1972) pág 10.
- 21.- High resolution NMR spectra catalog. Varian Analytical Instrument Division 1, Sp. #316. 1962.
- 22.- Se asignó por comparación con los valores de RMN^{13C} de Fruticulina A y Desmetil fruticulina A.
- 23.- Watson W., Taira Z., Domínguez X., González H., Gutiérrez M., Aragón R., Tetrahedron lett., (1976), 29, 2501.
- 24.- Hernández M., "Estudio Fitoquímico de *Salvia regla* Cav." Tesis profesional, Universidad del Estado de Veracruz. 1986.
- 25.- Galicia M.A. "Estudio Fitoquímico de *Salvia pubescens*", Tesis profesional. Universidad del Estado de Veracruz. 1987.
- 26.- Muestra proporcionada por el QFB Miguel A. Galicia.
- 27.- Pretsch E., Clerc T., Seibl J., Simon W., Tablas para la elucidación

estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos.

Ed. Alhambra. (1980), pág 108.

- 28.- Kelecom A., Tetrahedron (1983) 39, 3603.
- 29.- Hasegawa S., Hirota V., Yatagai M., Takahashi T., Chem. Lett. (1984) 1837.
- 30.- Edwards O.E., Fenak G., and Los M., Can. Journ. of Chem., (1962), 40 1540.
- 31.- a) Mc. Donald I.A., Simpson J.T. and Sierakowski A.T. Aust. J. Chem. (1977), 40, 1540.
b) Joseph-Nathan P., Abramo-Bruno D., Ortega D.A. Org. Mag. Res. (1981), 15, 311.
- 32.- Kupchan S.M., Karim A., Marcks C., Journ. of the Amer. Chem. Soc. (1968), 90, 5923.
- 33.- a) Hasegawa S., Kojima T., Hirota Y., Phytochemistry (1985), 24, 1545.
b) Miyase T., Rüedi P., Eugster C.H. Helv. Chim. Acta (1972), 55, 1994.
- 34.- Kupchan S.M., Karim A., Marks C., Journal of Org. Chem. (1969), 34, 3912.
- 35.- Rüedi P. und Eugster C.H. Helv. Chim. Acta (1972), 55, 1994.
- 36.- Ibid referencia 34, (1973), 56, 1129.
- 37.- Hueso-Rodríguez J.A., Jimeno M.L., Rodríguez B., Savona G., and Bruno M., Phytochemistry (1983), 22, 2005.
- 38.- Alder A.C., Rüedi P. und Eugster C.H. Helv. Chim. Acta (1984) 67, 1003.
- 39.- Soriano-García M., Toscano A., Esquivel B., Estebanes L., and Rodríguez-Hahn L., Acta Crystallographica (en revisión)

- 40.- Sánchez C., Esquivel B., Rodríguez-Hahn L. Phytochemistry (en proceso).
- 41.- Sánchez C., Rodríguez-Hahn L., Phytochemistry (en proceso).
- 42.- Esquivel B., Sánchez A.A., Rodríguez-Hahn L. and Ramamoorthy T.P. Experientia (en revisión).
- 43.- Patudin A.V., Romanova A.S., Sokolov V.S., Pribylova G.I. Planta Médica (1974), 26, 201.