

9 20



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO FITOQUÍMICO DE SALVIA
RHYACOPHILA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
Q U Í M I C O
P R E S E N T A :

MARIA DEL CARMEN FERNANDEZ DE LA ROSA

TESIS CON
PALA FE ORIGIN

MEXICO. D. F.

1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

I. Introducción	1
II. Generalidades	3
III. Parte Teórica	7
IV. Conclusiones	39
V. Parte Experimental	38
VI. Espectros	51
VII. Bibliografía	72

I. INTRODUCCION

INTRODUCCION

El género *Salvia*, es el género más abundante de la familia de las Labiadas y el más ampliamente distribuido en el mundo.¹

Algunas especies de *Salvias* se han usado en medicina tradicional por presentar propiedades antitumorales, bactericidas, bacteriostáticas, coleréticas, carminativas y espasmodicas,² así como propiedades psicotrópicas como la *Salvia divinorum* que se utiliza como alucinógeno.³ Otras tienen importancia económica por su contenido en aceites esenciales, que han sido utilizadas en la industria alimenticia y de cosméticos. Por ejemplo, los aceites esenciales de *Salvia officinalis* se usan como saborizante en algunos alimentos,⁴ los de *Salvia sclarea* son usados en perfumería.⁵

El género *Salvia* está dividido en 4 subgéneros: *Salvia*, *Polanthes*, *Zinnia* y *Calosphaea*.⁶

De este género han sido descritas 900 especies y cerca de 500 son conocidas en América.⁷ La mayor parte de estas especies pertenecen al subgénero *Calosphaea*.

En México se encuentran alrededor de 300 especies pertenecientes a este subgénero, que está dividido en 91 secciones.⁸

El género *Salvia* ha sido poco estudiado fitoquímicamente, en comparación con otros géneros de la familia de las Labiadas; por ejemplo *Adiantum*⁹ y *Zinnia*.^{10,11}

Por las propiedades que presentan algunas especies de este género, se ha despertado un gran interés en el estudio de sus metabolitos secundarios.

Por lo tanto el presente trabajo tiene como objetivos:

- I. Aislar y caracterizar los metabolitos secundarios de la *Fabia atropurpurea* por métodos cromatográficos y espectroscópicos.
- II. Contribuir al estudio sistemático de las Salviae Mexicanas.
- III. Aislar productos con nuevas estructuras para el estudio posterior de sus posibles propiedades biológicas.

IL GENERALIDADES

GENERALIDADES

De especies del género *Salvia* se han aislado triterpenos pentacíclicos, flavonas, esterterpenos, sesquiterpenos, monoterpeneos y diterpenos.¹¹

Los diterpenos forman un gran grupo de sustancias que derivan del pirofosfato de geranyl geranilo. En la biosíntesis de estos compuestos el pirofosfato de geranyl geranilo, inicialmente sufre una ciclización para formar un intermediario bicíclico (Labdano). Posteriormente esta estructura sufre la migración de los metilos que se encuentran en C-4 y C-10 hacia los carbonos 5 y 9 respectivamente, para formar un diterpeno bicíclico de tipo clerodano.¹²

Diterpenos de tipo Clerodano han sido aislados de diversas especies de *Salvias*.¹³

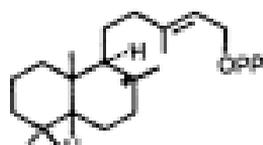
La *Salvia splendens* perteneciente a la sección *Sectoides* es una especie Brasileña que se usa para propósitos ornamentales. De esta especie se aisló la salvicrina (1), diterpeno con esqueleto de neo-clerodano. La estructura de la salvicrina fué determinada por combinación de métodos espectroscópicos y análisis de Rayos-X.¹⁴ De esta especie también se aisló la esplendídina (2), cuya estructura se determinó por resonancia magnética protónica y de carbono-13.¹⁵

De una población de *Salvia Azida* (sección *Sectoides*) recolectada en el estado de Oaxaca, se obtuvieron dos diterpenos con esqueleto de neo-clerodano, la Azidina (3) y la Azidolida (4). Las estructuras 3 y 4 fueron establecidas por méto-

ESQUEMA 1

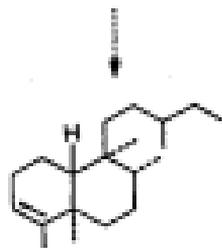
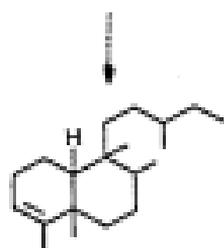


PIROFOSFATO DE GERANIL-GERANIL
(GGPP)



PIROFOSFATO DE LABDADIENILO

PIROFOSFATO DE *ent*-LABDADIENILO



CLERODANO

ent-CLERODANO

dos espectroscópicos. Del producto 3 se hizo un análisis de difracción de Rayos-X.¹⁶

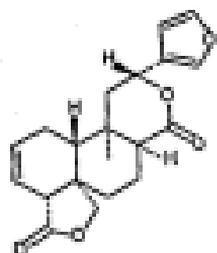
La *Fabaa óxaca* pertenece a la sección Fulgentes, esta planta fué recolectada cerca de Tehuacán (Puebla), de la cual se aislaron dos nuevos diterpenos de tipo neo-clerodano (5 y 6) cuyas estructuras estan relacionadas con la de la salutarina (1). Las estructuras de estos productos, fueron elucidadas en base a los datos espectroscópicos y reacciones químicas.¹⁷ El producto 5 es un derivado obtenido a partir del principio amargo de *Fabaa cubana*¹⁸ y en este estudio fué aislado como producto natural.

De una población de *Fabaa óxaca* recolectada en el estado de Oaxaca, se obtuvo el producto 7 denominado linearolona, que tiene una estructura relacionada con la de genarofolina 8.¹⁹ La estructura y estereoquímica propuesta para la linearolona (7), fué establecida con base a datos de RMN-¹H, RMN-¹³C¹⁷ y análisis de Rayos-X.²⁰

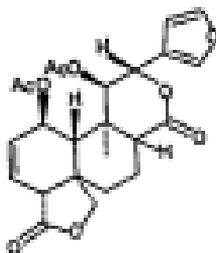
De la *Fabaa oxana* (sección Subrotundae), especie originaria del Centro y Sudamérica, se aisló un nuevo diterpeno con esqueleto de neo-clerodano, salutarinona (8). La estructura de este producto fué determinada por métodos químicos y espectroscópicos.²¹

El estudio de los diterpenos tiene una gran importancia, debido a que se han encontrado productos con propiedades biológicas como inhibidores de tumores, antiulcéricas, insecticidas, inhibidores del crecimiento y hormonas de crecimiento.²²

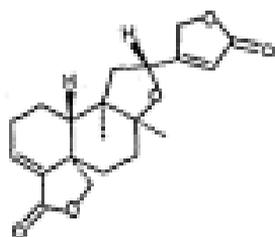
III. PARTE TEORICA



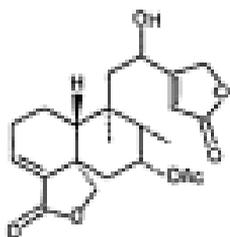
(1) salutaridin



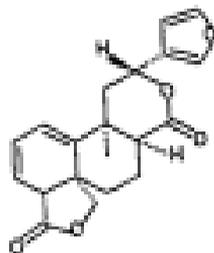
(2) splendidin



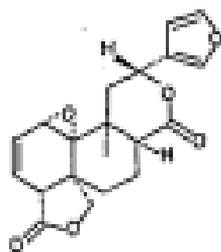
(3) kerflin



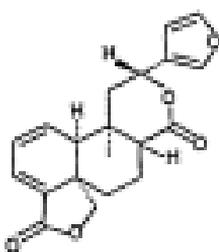
(4) kerflinolide



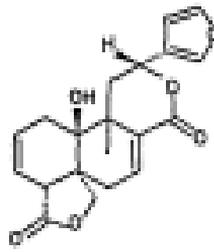
(5)



(6)



(7) limmarolactone



(8) salvisacottin

PARTE TÉCNICA

La *Salvia macrocarpa* Griseb pertenece a la sección Angular-tes del subgénero *Calosiphace* de la familia de las Labiadas y es endémica a los estados de México, Morelos y Guerrero.¹

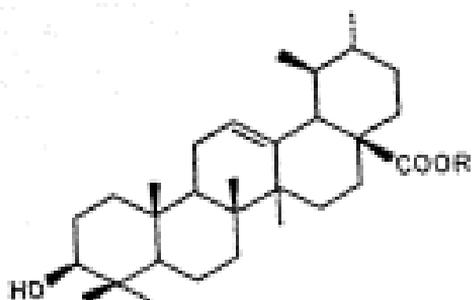
De la cromatografía del extracto más polar (AcOEt, columna inicial), de las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (8:2), se aisló un producto sólido blanco amorfo con P.f. 250-254 °C (acetona). Este producto presentó en su espectro de I.R. bandas características de ácido carboxílico (3500-2400 y 1700 cm^{-1}).

El tratamiento de este producto sólido, con una solución etérea de diazometano, condujo a la obtención de su éster metílico (P.f 152-153 °C).

Por comparación de los espectros de I.R., R.M.N.¹H y cromatografía en capa delgada del producto natural y su éster metílico con una muestra auténtica, este producto sólido pudo ser identificado como la mezcla de ácidos ursólico y oleanólico, aislados de muchas especies de *Salvia*.

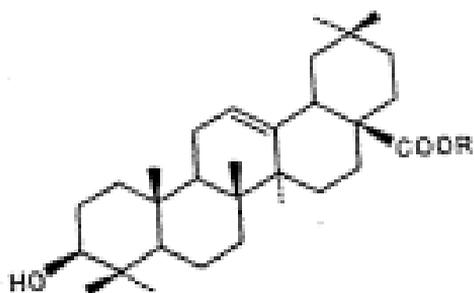
Por cromatografía en columna de las aguas madre de la mezcla de ácidos ursólico y oleanólico, fueron aislados dos productos. El componente menos polar, es un producto cristalino blanco con P.f 172-174 °C (AcOEt). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas (M^+ =328), corresponde a un producto de fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_6$.

El espectro de I.R. de este producto (espectro No.1), presenta señales en 1500 y 870 cm^{-1} , características para anillo de furano. En 1765 cm^{-1} , se observa una banda intensa para carboni-



R= H, ácido ursólico

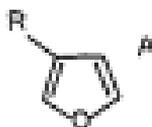
R= Me, ursolato de metilo



R= H, ácido oleanólico

R= Me, oleanolato de metilo

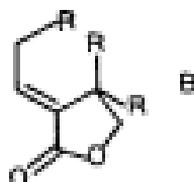
le de γ -lactona α,β -insaturada y en 1660 cm^{-1} señal para doble ligadura. La presencia del anillo de furano se confirma en el espectro de R.M.N- ^1H (espectro No.2), por presentar las señales en 7.40, doblete ($J=2\text{ Hz}$) que integra para dos protones y un triplete ($J=2\text{ Hz}$) en 6.35 ppm, que integra para un protón. Estas señales son características para un anillo de furano β -sustituido. Con estos datos se tiene la estructura parcial A:



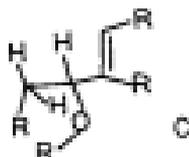
Este tipo de funcionalidad se ha encontrado en muchos de los productos aislados de Salvia.

En el espectro de R.M.N- ^1H (espectro No.2), se observa una señal doble de dobles ($J=6\text{ y }4\text{ Hz}$) en 5.80 ppm que integra para un protón y que se asignó al protón vinílico β al carbonilo de la γ -lactona α,β -insaturada. La multiplicidad de esta señal indica que se encuentra unido a un metileno. También en este espectro se observa un sistema AB, una de cuyas ramas del sistema se presenta en 4.30 (d, $J=8\text{ Hz}$, 1H) y la otra en 3.90 ppm (dd, $J=6\text{ y }2\text{ Hz}$, 1H), esta señal corresponde al metileno de la γ -lactona, cuyo desplazamiento y multiplicidad se explican al estar unido a un oxígeno y a un átomo de carbono totalmente sustituido. Con estos resultados se propone la estructura parcial B.

En el espectro de R.M.N- ^1H (espectro No.2), se muestra un doble de dobles ($J=11\text{ y }6\text{ Hz}$) en 5.0 ppm que integra para un protón. El desplazamiento de esta señal indica que el protón se en-



cuenta gem a un átomo de oxígeno y además alílico. La multiplicidad presentada, sugiere que el carbono al cual se encuentra unido este protón, está enlazado a un metileno. Por otra parte, el oxígeno que se encuentra gem al protón debe ser de tipo estérico, ya que el espectro de I.R (espectro No.1), no presenta bandas para otro tipo de función oxigenada (óxido, carbonilo de cetona o aldehído) aparte de las observadas para el carbonilo de la β -lactona y para el oxígeno del anillo de furano. Con esto quedan asignados los 4 oxígenos presentes en la molécula. Todo lo anterior permite proponer la estructura parcial C:

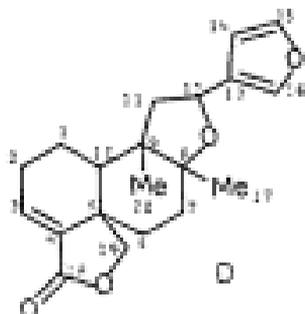


Este producto presenta 9 insaturaciones, de las cuales 6 han sido justificadas (3 del anillo de furano y 3 de la β -lactona α,β -insaturada), las otras 3 insaturaciones se deben a la formación de 3 anillos, ya que no existe ninguna otra posibilidad de insaturación.

Por otra parte en el espectro de R.M.N.¹³C de este producto

(espectro No.2), se presentan señales para dos metilos, en 1.24 (a) y 0.88 ppm (b). El desplazamiento químico del metilo a 1.24 ppm se explica si este se encuentra gem al átomo de oxígeno atéreo.

El número de carbonos de este producto y el tipo de funcionalidades que presenta, permite proponer para este producto una estructura de diterpeno tipo clerodano (D).



La estereoquímica propuesta para este producto está basada en las siguientes evidencias espectroscópicas:

El protón pre- β del metileno 19 presenta una señal doble de dobles (J-8 y 2 Hz) en 5.90 ppm originada por el acoplamiento en W con el protón 6 α . Este acoplamiento se presenta si el C-19 está axial y no existe un sustituyente en la posición 17.²⁰

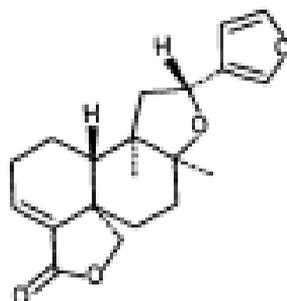
En muchos de los casos donde se presenta este tipo de acoplamiento, la fusión de los anillos A/B es trans aunque no es exclusivo de esta.^{21,22,23}

También se ha observado que el desplazamiento químico del metilo 20 en R.M.N.¹H en compuestos con fusión trans, se encuentra desplazado a campo alto con relación a esta señal en los de

fusión cis.²⁴

El desplazamiento químico para el metilo 20 y el acoplamiento en *M* presentado por el protón pro- β del metileno 19 de este producto, permite proponer que la unión de los anillos es *trans*. Por tanto este producto presenta una estructura de tipo neo-clerodano, donde el H-10 se encuentra β -axial y el C-19 con una orientación α -axial.²⁷

La estereoquímica de la molécula es la siguiente:



I

La configuración de los centros quirales es C-5 (S), C-8 (S), C-9 (R), C-10 (S). La configuración del C-12 no fué posible asignarla por medio de I.R y R.M.N.¹H. Sin embargo, se sabe que la scularina (37), diterpeno aislado de esta planta, presenta una configuración R en el C-12.¹⁴ Además este producto tiene una estructura relacionada con la heclina (32), diterpeno aislado de *Polypodium*,¹² en cuyo espectro de R.M.N.¹H, H-12 aparece en el mismo desplazamiento químico (5.0 ppm). La heclina (32) también presenta una configuración R en C-12. Por lo tanto en el producto I la configuración en C-12 debe ser R.

El componente de mayor polaridad, es un producto cristalino blanco con P.f 125-126 °C (hexano-acetona). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas (M^+ -340), corresponde a un producto de fórmula molecular $C_{10}H_{10}O_2$.

El espectro de I.R (espectro No.3) presenta las señales en 1504 y 875 cm^{-1} para anillo de furano, en 1763 cm^{-1} para carbonilo de α -lactona, en 1602 y 1484 cm^{-1} para anillo aromático.

En su espectro de R.M.N- 1H (espectro No.4) se observa en 7.40 ppm una señal múltiple que integra para dos protones y otra en 6.40 ppm que integra para un protón, estas señales se deben a los protones α y al protón β respectivamente de un anillo de furano β -sustituido.

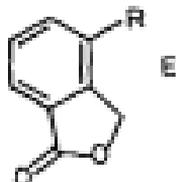
En el espectro de ^{13}C (tabla 1, espectro No.6), se observan las señales correspondientes a este anillo, en 125.53 (a), 108.42 (d), 143.63 (b) y 139.54 ppm (c).

El espectro de R.M.N- 1H (espectro No.4) de este producto presenta señales asignables a protones aromáticos. A 7.80 ppm se observa un doble de dobles ($J=9$ y 4 Hz) que integra para un protón cuyos constantes de acoplamiento (9 y 4 Hz) indican que este protón debe estar acoplado con un protón en posición orto y a otro en meta. La señal para estos dos protones se observa como un multiplete en 7.20 ppm.

Por el desplazamiento de la señal a 7.80 ppm, se propone que esta sea originada por el protón δ al carbonilo de la α -lactona.

También en este espectro se observa una señal simple a 5.43 ppm que integra para dos protones, asignada al metileno unj

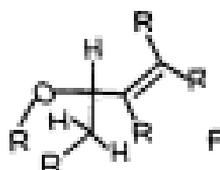
do al oxígeno alcoholico de la *r*-lactona. El desplazamiento de esta señal a campo bajo se justifica si el metileno es de tipo benéfico. De los resultados obtenidos anteriormente se propone la estructura parcial E:



La estructura E se confirma con los datos del espectro de ^{13}C masa n: los carbonos de la itálica se muestran a 129.63 (d)^a, 131.65 (d)^a, 124.32 (d), 127.24 (a), 142.67 (a), 143.83 (a), 170.63 (a) y 69.94 ppm (t).

En el espectro de R.M.N.¹H de este producto (espectro No.4) se observa en 5.17 ppm un doble de dobles (J=12 y 5 Hz) que integra para un protón, esta señal es la parte X de un sistema ABX. La parte AB se observa como un doble de dobles (J=12 y 5 Hz, 1H) en 3.80 y un doble de dobles (J=12 y 12 Hz, 1H) en 3.30 ppm, que se encuentra sobreguesto con otra señal. Al hacer experimentos de doble resonancia e irradiar la señal de 5.17 ppm, las señales del sistema AB se transforman cada una en un doblete (J=12 Hz). El desplazamiento de la señal a 5.17 ppm se explica si el protón que la origina se encuentra gem a un átomo de oxígeno y además alílico. Los datos descritos sugieren una estructura parcial F:

En el espectro de ^{13}C (masa n) son observadas las señales para el metino y el metileno a 76-76 (d) y 40.40 ppm (t) respectivamente.



El espectro de R.M.N.⁻¹H (espectro No.4) presenta un singulete en 5.97 ppm que integra para un protón, señal típica de un protón acetálico.¹⁴ La multiplicidad de esta señal indica que el carbono al cual se encuentra unido este protón, está enlazado a un carbono totalmente sustituido. La estructura parcial G está de acuerdo con estos resultados.



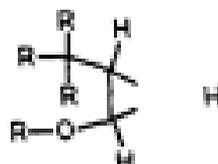
El carbono acetálico se observa en el espectro de ¹³C a 111.28 ppm (d).

El espectro de R.M.N.⁻¹H (espectro No.4) presenta un doblete de cuartetos a 4.0 ppm (J=10 y 6 Hz) que integra para un protón y un multiplete en 2.0 ppm.

Cuando la señal de 4.0 ppm se irradia, el multiplete que se observa en 2.0 ppm cambia a un cuarteto (J=8) y un doblete (J=6 Hz) que se presenta en 1.40 ppm y que integra para tres protones, se transforma en un singulete (espectro No.5). Al irradiar la señal que se observa en 1.15 ppm como un doblete (J=7 Hz) que integra para tres protones, la señal multiplete a

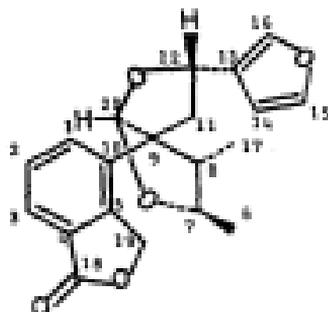
2.0 ppm cambia a un doblete (J=10 Hz) (espectro No.4).

El desplazamiento y multiplicidad de la señal a 4.0 ppm se justifica si el protón que provoca esta señal se encuentra gem a un oxígeno y a un metilo, además el carbono al que está unido debe estar enlazado a un carbono unido a un grupo metilo y a un protón; este carbono a su vez debe estar enlazado a un carbono totalmente sustituido como en la estructura parcial H:



La estructura H se confirma por los acoplamientos observados al hacer experimentos de doble resonancia.

La estructura de este producto corresponde a la de un diterpeno para el cual se ha propuesto la estructura II, de acuerdo al tipo de funcionalidades presentadas (estructuras E, F, G y H).



Anteriormente se aisló de otra planta un producto con la misma estructura, pero con una orientación diferente para el metilo 6. La diferencia en la estereoquímica de estos dos productos, puede ser explicada en base a los datos de ^{13}C . Para el producto II los carbonos 6, 7 y 8 se encuentran desplazados a campo más alto con respecto al otro producto. Esta diferencia en desplazamientos químicos en el producto II se explica si se considera que el metilo 6 se encuentra en relación trans con respecto al metilo 17, esto hace que entre ambos metilos exista una menor compresión y por lo tanto los desplazamientos químicos son mayores en este producto.

Por razones biogenéticas se propone que la orientación del metilo 17 y el C-20 sean α .

En el otro producto los metilos 17 y 6 deben tener, por tanto una orientación α .

La configuración de los centros quirales para II es C-3 (R) C-8 (S), C-9 (R), C-12 (R) y C-20 (R).

TABLA No. 1
DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS EN ^{13}C DEL PRODUCTO II

C No.		C No.	
1	129.62 (d) *	11	40.40 (t)
2	131.85 (d) *	12	75.76 (d)
3	134.32 (d)	13	125.53 (e)
4	127.24 (e)	14	100.42 (d)
5	142.07 (e)	15	143.63 (d)
6	19.18 (e)	16	139.54 (d)
7	62.89 (d)	17	11.62 (e)
8	52.14 (d)	18	170.65 (e)
9	62.33 (e)	19	69.94 (t)
10	143.32 (e)	20	111.28 (d)

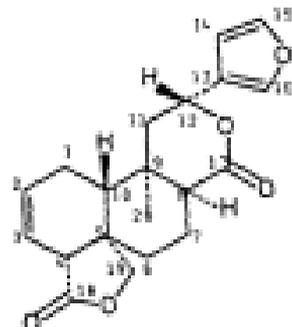
corrido en CDCl_3 a 20 MHz. Desplazamientos químicos en ppm con respecto al TMS.

* Señales interconvertibles.

A la misma polaridad hexano-AcOEt (8:2) de la columna inicial, se aisló un producto cristalino blanco con P.f. 210-212 °C (acetona). Las características espectroscópicas de este producto concuerdan con las descritas para la salutarina III, diterpene de tipo neo-clerodano aislado de *Patula entmannii*.¹⁴

El espectro de I.R. de la salutarina (espectro No.7) presenta señales para furano en 1500 y 875 cm^{-1} , para grupo carbonilo de γ y δ -lactona en 1775 y 1730 cm^{-1} respectivamente. Además se observa una señal a 1600 cm^{-1} de doble ligadura.

Las señales presentes en el espectro de R.M.N.¹H (espectro No.8) para este producto, se encuentran enlistadas en la tabla 2 con sus respectivas asignaciones.



III

TABLE No. 2

DESPLAZAMIENTOS QUÍMICOS EN R.W.N.¹H DE LA SALVITARINA (III)

H		Multiplicidad (J en Hz)
2	6.9	m
3	5.60	da (10)
4	2.78	m
6	2.45	m
10	2.45	m
12	5.33	dd (12 y 4)
14	6.40	m
15	7.43	m
16	7.43	m
19	4.23	e
20	1.02	e

corrido en CDCl₃ a 80 MHz. Desplazamientos químicos en ppm con respecto al TMS.

De la cromatografía de fracciones eluidas con hexano-AcOEt (1:1) de la columna inicial, se aisló un producto sólido cristalino blanco de P.f 205-206 °C (AcOEt). El espectro de I.R de esta sustancia, presenta señales para anillo de furano (1500 y 875 cm^{-1}) para carbonilo de α y β -lactona (1770 y 1732 cm^{-1}), para carbonilo de éster (1747 cm^{-1}) y doble ligadura (1600 cm^{-1}).

Su espectro de R.M.N- ^1H tiene una gran semejanza con el de la solución (I), (II). El espectro de R.M.N- ^{13}C de este producto sólido presenta señales para anillo de furano β -sustituido (7.40 y 6.40 ppm), para protones vinílicos (6.0 y 5.65 ppm) y para grupo metilo (1.03 ppm). Además se observan dos señales para los metilos de grupos acetato (2.05 ppm). Entre 5.90 y 4.0 ppm se observan una serie de señales complejas, esto lleva a proponer que se trata de una mezcla de productos. Esta proposición se ve apoyada por el espectro de R.M.N- ^1H obtenido en benceno, donde se observan dos señales para metilo, la separación de las señales para acetato y de las señales correspondientes a protones β de anillo de furano.

Por otra parte la cromatografía en capa delgada de este producto sólido, eluido en una mezcla de benceno-NaOH (9.5:0.5), reveló que se trata de una mezcla de dos productos. Cada uno de los productos de la mezcla debe contener en su molécula un grupo acetato. El espectro de masas apoya esta deducción ya que se observa la pérdida de 60 unidades [M^+ 400, M^+ -60 =340 (14%)].

La semejanza del espectro de R.M.N- ^1H de este producto sólido con el de la solución (I), (II), permite proponer que las estructuras de los productos de la mezcla deben estar relacionadas

con las de este diterpeno.

Se intentó separar los productos de la mezcla por métodos cromatográficos pero no fué posible, por lo que se recurrió a reacciones químicas sucesivas.

Del tratamiento de la mezcla con KMnO_4 , se obtuvieron dos productos cuyas estructuras se discuten a continuación:

El componente de menor polaridad, es un producto cristalino blanco con P.f 260-262 °C (MeOH). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas ($M^+ = 358$), está de acuerdo con la fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_6$.

Su espectro de I.R. (espectro No.9) muestra bandas en 3440 cm^{-1} característica del grupo oxhidrilo, en 1502 y 872 cm^{-1} para anillo de furano, en 1770 y 1733 cm^{-1} para grupo carbonilo de γ y δ -lactona respectivamente y en 1650 cm^{-1} señal para doble ligadura.

En el espectro de R.M.N.¹H (espectro No.10) se observa un multiplete en 7.40 que integra para dos protones y en 6.40 ppm otra señal compleja que integra para un protón. Estas señales son características de un anillo de furano β -sustituido. En 5.95 (m) y 5.60 ppm (da, J=10 Hz) se presentan las señales de una olefina cis-disustituida como en la solvorina (11), atribuidas a los protones 2 y 3 respectivamente. Al irradiar las señales de 5.95 y 5.60 ppm (espectro No.11), se modifica un quinteto (J=3) que se observa en 3.60 ppm y que integra para un protón. Esta señal se asigna al protón de la posición 4.

En el espectro de R.M.N.¹H (espectro No.10) se observa un sistema AB. Una de las ramas del sistema se encuentra en 4.25

(d.J=9 Hz 1H) y la otra en 4.0 ppm (d. J=9 Hz, 1H). Esta señal es originada por los protones diastereotópicos²² de la posición 19. En este caso el protón pro-B no presenta acoplamiento a larga distancia de tipo W con el protón 6^o, lo cual indica que en la posición 6^o se encuentra un sustituyente. Se piensa que este sustituyente es el grupo oxhidrilo observado en el espectro de I.R (espectro No.9).

El protón geminal al grupo OH, se observa en el espectro de R.M.N.¹H (espectro No.10) como un triplete (J=2 Hz) a 3.60ppm. El valor de la constante de acoplamiento para H-6, indica interacciones ecuatorial-ecuatorial y ecuatorial-axial con los protones de la posición 7. Esto apoya la orientación β -axial propuesta para el OH unido a C-6. En el espectro No.10 también se observa una señal doble de dobles (J=11 y 5 Hz) en 3.30 y un multiplete en 2.60 ppm, estas señales son asignadas a los protones 8 y 10 respectivamente. Por el valor de las constantes de acoplamiento (11 y 5 Hz), el H-8 debe tener acoplamiento axial-axial y axial-ecuatorial con los protones 7. Para que se puedan dar estos acoplamientos, el H-8 debe tener una orientación β -axial y por lo tanto el sustituyente en C-8 una orientación α -ecuatorial. El desplazamiento químico de esta señal a campo bajo se debe a la interacción 1,3 diaxial con el oxhidrilo de la posición 6^o.

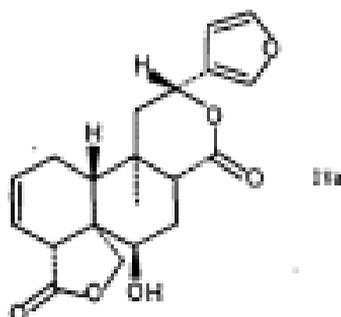
En este espectro se observa en 3.38 ppm un doble de dobles (J=11 y 7 Hz) que integra para un protón. Esta señal se asigna al H-12. El desplazamiento químico de ésta se justifica si se considera que el H-12 es alílico y se encuentra gem a un oxígeno. Esta función oxigenada forma parte de la 4-lactona que se lg

caliza entre las posiciones 12 y 17, observada en el espectro de I.R (1733 cm^{-1} , espectro No.9). El H-12 en la salutarina *III* tiene un desplazamiento similar (5.33 ppm), pero el valor de las constantes de acoplamiento difieren (12 y 4 Hz) a las presentadas para el H-12 de esta molécula (11 y 5 Hz).

Por otra parte, la señal para el metilo unido a C-9 es observado como un singlete en 0.89 ppm.

Los desplazamientos químicos y los valores de las constantes de acoplamiento para los protones H-8, H-12 y metilo-20 son similares a los observados en los productos aislados de *Secoalcalofornina*²² y *Secoalcalofornina*,²³

Los resultados discutidos anteriormente, apoyan la estructura IVa propuesta para este producto.



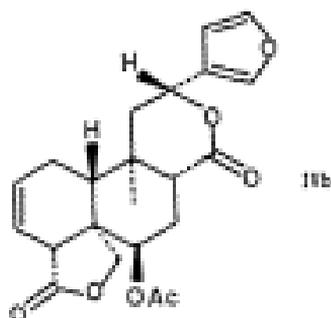
El tratamiento de IVa con anhídrido acético en piridina (según a) dió el producto acetilado IVb, que tiene un P.f. de 249-251 °C (AcOEt-MeOH). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas (M^+ -400), presenta una ganancia de 42 unidades de masa, lo que indica que se formó el acetato.

En su espectro de I.R. (espectro No.12) la banda característica de OH (3440 cm^{-1}) desaparece y se observa la señal del grupo carbonilo de acetato (1755 cm^{-1}). Además de estas señales, se presentan las señales ya observadas para el producto IVa.

En el espectro de R.M.N.¹H del producto IVb (espectro No.13), se observan algunos cambios con respecto al del producto sin acetilar. La señal para los protones del metilo de acetato se observa a 2.15 ppm como un singulete. La señal para el protón gem a esta función se presenta como un triplete ($J=3\text{ Hz}$) en 5.07 ppm. El desplazamiento químico a campo bajo de esta señal se debe al efecto paramagnético, ejercido por el grupo carbonilo del acetato sobre este protón.

Por otra parte la señal para el H-6, se observa como un doble de dobles ($J=12\text{ y }5\text{ Hz}$) en 2.95 ppm. uno de los dobles del doble de dobles se encuentra superpuesto a la señal de 3.05 asignada al H-6 (q. $J=3\text{ Hz}$).

Todo esto apoya la sustitución de la posición 6 β por el OH. en el producto IVa.



El componente más polar obtenido del tratamiento de la mezcla con NaOH , es un producto cristalino con P.f 254-256 °C (NaOH). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas (M^+360), indica una ganancia de 2 unidades con respecto al producto IVa.

El espectro de I.R de este producto (espectro No.14), presenta una banda entre 3600 y 3200 cm^{-1} para grupo oxidrilo, en 1505 y 875 cm^{-1} señales características para anillo de furano, en 1745 cm^{-1} banda intensa para grupo carbonilo de γ -lactona y en 1615 cm^{-1} una señal para doble ligadura.

El espectro de R.M.N.¹H (espectro No.15) presenta las señales características para el anillo de furano β -sustituido (7.35, d, J=2 Hz, 2H y 6.38 ppm, m, 1H), para protones vinílicos (olefina cis-disustituida) en 6.0 cm, H=2) y 5.65 ppm (da, J=10 Hz, H=3). Este espectro muestra también el sistema AB para el metileno 19 (4.55, d, J=9 Hz y 4.15 ppm, d, J=9 Hz).

La señal doble que aparece en 5.13 ppm (J=10 Hz), se puede asignar al protón hemiacetálico 17.

La señal para H-12 se observa como un doble de dobles (J=12 y 5 Hz) en 3.75 ppm. El desplazamiento químico de esta señal a campo alto, se explica si se considera que se ha formado el lactol de la Δ -lactona¹⁸ (esto explica la ganancia de dos unidades de masa con respecto al producto IVa).

En el espectro No.15 se puede observar también la señal para H-4 a 3.05 ppm como un múltiplete (W=7Hz).

En el espectro de R.M.N.¹³C no se observa ninguna señal atribuible a protón gem a oxidrilo por lo tanto esto permite

proponer que el OH se encuentre unido a un carbono totalmente sustituido. La única posición que está de acuerdo con esto, es la del C-10. Para este producto los protones del metilo unido a C-9 se observan en 0.90 ppm. Por todo lo anterior se propone la estructura Va para este compuesto.

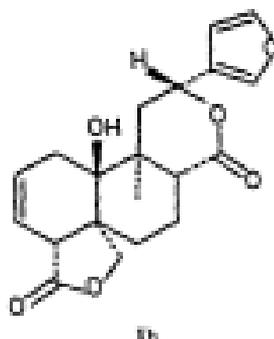
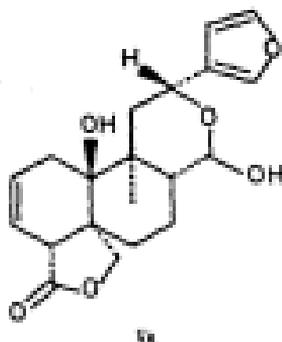
La oxidación de Va con reactivo de Jones (ácromo a), dió un producto cristalino blanco con P.f 230-233 °C (acetona-MeOH). Su peso molecular determinado por espectrometría de masas (M^+358), concuerda con la fórmula molecular $C_{20}H_{24}O_4$.

Su espectro de I.R (espectro No.16) muestra señales características para grupo OH (3440 cm^{-1}), la banda para el carbonilo de la δ -lactona sí es observado en este espectro (1723 cm^{-1}) además de las señales comúnmente observadas para anillo de furano (1500 y 870 cm^{-1}), carbonilo de γ -lactona (1765 cm^{-1}) y doble ligadura (1600 cm^{-1}).

En el espectro de R.M.N- ^1H de este producto (espectro No.17) se observa la señal para H-12 como un doble de dobles ($J=11$ y 7 Hz) a 5.35 ppm cuyo desplazamiento químico nos indica que se ha regenerado la δ -lactona.

En este espectro se observa el H-8 como un doble de dobles ($J=11$ y 4 Hz) a 3.62 ppm. El desplazamiento químico de esta señal se explica si se considera que el H-8 se encuentra α a un grupo carbonilo y además tiene una interacción 1-3 diaxial con el hidrógeno de la posición 10. Para que esta interacción sea posible el H-8 y el OH en 10 deben tener una orientación δ -axial.

Los resultados discutidos anteriormente están de acuerdo con la estructura Vb.



Los productos obtenidos del tratamiento de la mezcla con NaOH , (IVa y Vb) contienen en su molécula oxidrilo y no grupos acetato como se esperaba, por lo tanto este tratamiento condujo a la saponificación de estos grupos acetato.

Para comprobar ésto, la mezcla de productos fué tratada con una base (KHCO_3). De esta reacción se obtuvieron los productos IVa y Vb como se esperaba.

La identidad de estos productos se comprobó por cromatografía en capa delgada y por la comparación de sus espectros de I.R., R.M.N- ^1H y masas.

De las reacciones de la mezcla con NaOH , y KHCO_3 se obtuvieron productos en los que el H-6 tiene una orientación β -axial. En la serie de reacciones (VII) el H-6 se encuentra α -equatorial por lo que se considera que en los productos de la mezcla, antes del tratamiento con NaOH , y KHCO_3 , el H-6 debe tener una orientación α -equatorial y que por lo tanto el C-6 sufrió una epimerización.

Para comprobar la epimerización en C-6 de los productos de

la mezcla, por tal motivo la salivarina (111) fué tratada con NaCO_3 en MeOH. De esta reacción se obtuvo un producto cristalino blanco con P.f 233-235 °C (hexano- AcOEt). El peso molecular determinado por espectrometría de masa ($M^+=242$) está de acuerdo con la fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_6$.

En su espectro de I.R se observan las mismas bandas que en la salivarina.

Un cambio notable en el espectro de R.M.N- ^1H de este producto (espectro No.18) con respecto al de la salivarina (111) (espectro No.8), se observa en la señal que aparece en 5.32 ppm como un doble de dobles ($J=11$ y 7 Hz) asignada al H-12. En esta señal ha cambiado el valor de las constantes de acoplamiento de 12 y 4 a 11 y 7 Hz, cuyos valores son idénticos a los mostrados por los productos IVa, IVb, Va y Vb.

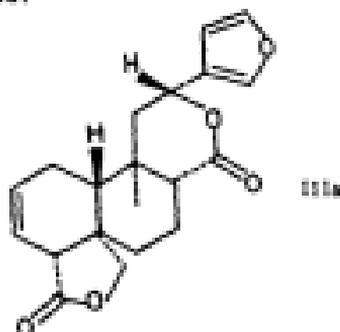
Otro cambio observado en el espectro de R.M.N- ^1H de este producto, es el de la señal para el H-8 que se observa a 2.60ppm como un doble de dobles ($J=11$ y 4 Hz). Una parte de esta señal se encuentra sobrepuesta al triplete ($J=3$ Hz) a 2.75 ppm debido al H-4. El valor de las constantes de acoplamiento de 11 y 4 Hz para H-8, indican que existe una interacción axial-axial y axial-equatorial con los protones de la posición 7, por lo que H-8 debe tener una orientación (C-axial).

Otro cambio observado, es el desplazamiento químico del metilo 20, que se observa como un singulete en 0.66 ppm, esta señal se encuentra desplazada a campo más alto que en la salivarina (1.02 ppm).

Estos resultados confirman que en presencia de NaOH , o

BaCO_3 , el C-8 sufre una epimerización.

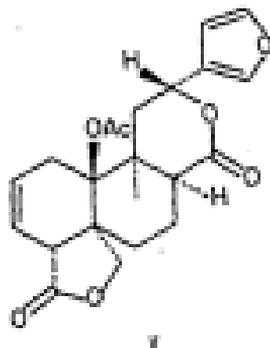
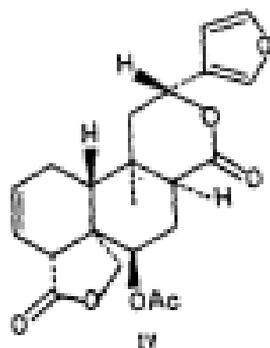
La estructura para el producto de epimerización de la solivairina es IIIa:



Así, los componentes de la mezcla antes del tratamiento con NaBH_4 , o BaCO_3 , tienen una configuración en C-8 como en la solivairina (III), 8-S que al epimerizarse pasa a 8-R.

Además los productos de la mezcla contienen en su molécula un grupo acetato (observado en los espectros de I.R y R.M.N.¹H) que está de acuerdo con el peso molecular ($M^r=400$).

Por lo tanto los componentes de la mezcla tienen las siguientes estructuras IV y V:



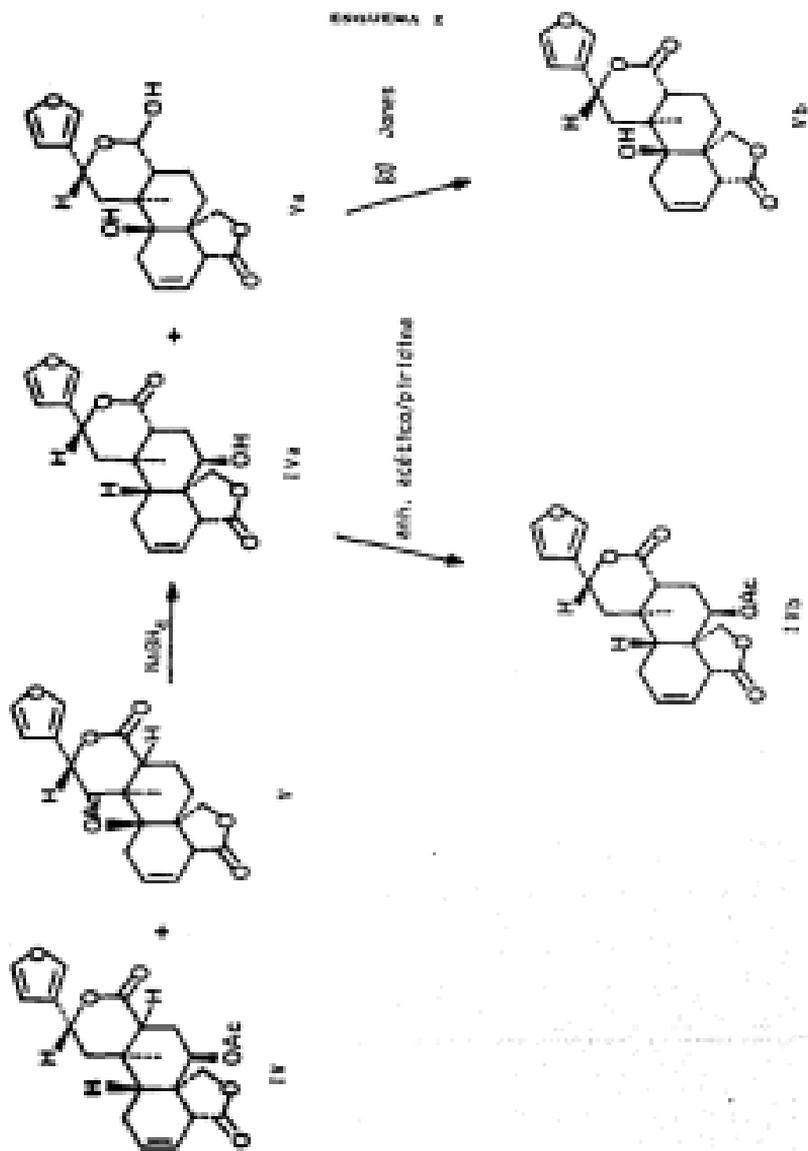
Como los productos IV y V están estrechamente relacionados con la salutarina (1112), se les denominó 6 β -acetoxisalutarina y 10 β -acetoxisalutarina respectivamente. Estos productos no se encuentran descritos en la literatura.

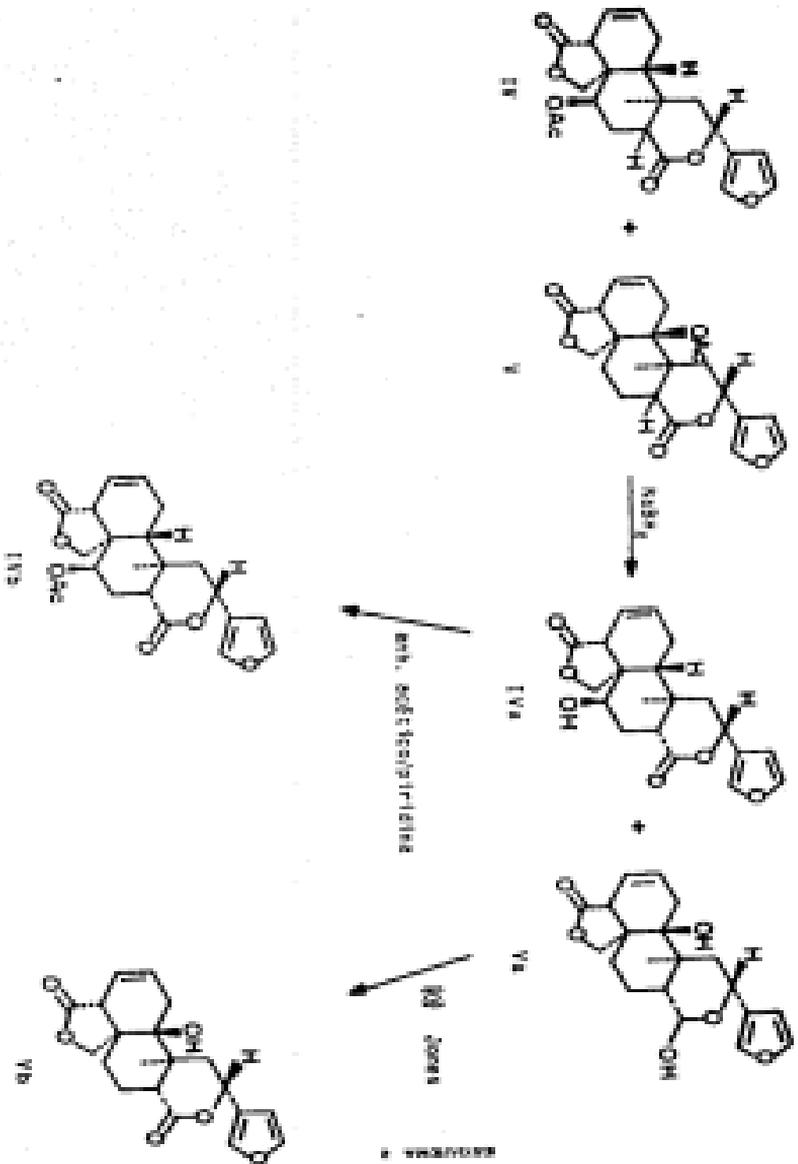
La configuración de los centros quirales en el producto IV es C-4 (R), C-5 (R), C-6 (R), C-8 (S), C-9 (R), C-10 (R), C-12 (R) y la del producto V es C-4 (R), C-5 (S), C-8 (S), C-9 (S), C-10 (S) y C-12 (R).

De fracciones eluidas a la misma polaridad hexano-AcOEt (1:1) de la última columna, se aisló un producto cristalino blanco con P.f 188-192 °C (hexano-AcOEt). El espectro de masas de este producto presenta el ion molecular a m/e de 358, lo que está de acuerdo para una fórmula molecular $C_{22}H_{32}O_6$. En base a la fórmula molecular de este producto y la gran similitud de su espectro de resonancia magnética protónica con el de la salutarina (1112) lleva a proponer que este compuesto debe tener una estructura relacionada con la de la salutarina.

Su espectro de I.R (espectro No.19), muestra bandas atribuidas a grupo oxhidrilo (3590 cm^{-1}), anillo de furano (1595 y 875 cm^{-1}), a grupo carbonilo de α y β -lactona (1769 y 1724 cm^{-1}) y al doble enlace (1600 cm^{-1}).

El espectro de R.M.N- 1H (espectro No.20), muestra además de las señales para anillo de furano β -sustituido (7.45, m, H-15, H-16 y 6.42 ppm, m, H-14), para los protones vinílicos de las posiciones 2 y 3 (6.6, m, H-2 y 5.65 ppm, dd, J=10 Hz, H-3), un sistema AB en 4.30 (d, J=9 Hz) y 4.12 ppm (d, J=9 Hz) debido a





los protones diastereotópicos del metileno 19.

En 3.90 ppm se observa un multiplete (W=2-6Hz) que integra para un protón que se asigna a un protón gem a cehidrido.

La señal que se observa a 3.70 ppm como un quinteto (J=3 Hz), se atribuye al H-4. El desplazamiento químico de esta señal se explica satisfactoriamente si H-4 tiene una interacción 1-3 diaxial con el grupo cehidrido. Esto es posible si el OH se encuentra en la posición 6 con una orientación β -axial.

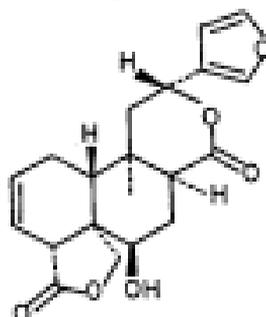
Al adicionar isocianato de tricloro acetilo (TICA) al tubo de resonancia para formar el carbamato correspondiente, se observan cambios en el espectro de R.M.N.¹H (espectro No.20). La señal que aparecía en el espectro No.20 a 3.90 ppm se desplaza hasta 4.95 ppm y la señal asignada al H-4 (3.70 ppm) se va a campo mas alto (3.38 ppm). Estos cambios apoyan lo propuesto anteriormente.

Por otra parte, en el espectro No.20, se observa un doble de dobles (J=10 y 6 Hz) centrado en 2.70 y un doblete ancho (J=4 Hz) en 3.82 ppm. Una mejor resolución de esta señal se observa en el espectro No.21. En este espectro se presenta un doble de dobles (J=10 y 6 Hz) en 2.80 asignado al H-10 y un doble de dobles (J=14 y 4 Hz) centrado en 3.20 ppm asignado al proton 7 α -ecuatorial. Uno de los dobletes de la señal a 3.20 ppm, se encuentra sobrepuesto a la señal del H-4 (3.38 ppm).

La asignación del H-7 β -ecuatorial, se logró con la ayuda de experimentos de doble resonancia. Al irradiar la señal de 4.95 (H-6, espectro No.21), la señal doble de dobles (J=14 y 4 Hz) que se encuentra en 3.20 ppm, se transforma en un doblete

($J=14$ Hz). Los valores de las constantes de acoplamiento 14 y 4 Hz, están de acuerdo con una interacción gem con el H-7 α axial y una ecuatorial-ecuatorial con el H-6 α . En el espectro No.20, se observa un doble de dobles ($J=12$ y 4 Hz) a 3.45 ppm, atribuida al H-12. La señal para el metilo 20 se observa a 1.02 ppm como un singuleto.

Para este producto se propone la estructura VI.



VI

La estructura VI se confirma por estudios de R.M.N.¹H con reactivo de desplazamiento [Eu(fod)₃]. Los resultados de este estudio se resumen en la tabla 4.

En esta tabla se puede observar que las señales más afectadas por la formación del complejo de Europio con el alcohol del producto VI son las de H-4, H-6, H-7 α , H-10 y H-12.

Así, la configuración de los centros quirales de este producto es C-4 (R), C-5 (R), C-6 (R), C-8 (S), C-9 (R), C-10 (R) y C-12 (R).

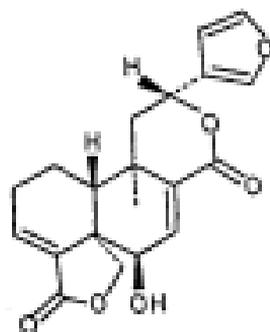
Este producto no se encuentra descrito en la literatura y se le dio el nombre de 6 β -hidroxiepisclerina por tener una estrug

tura muy relacionada con volucarina (VII).

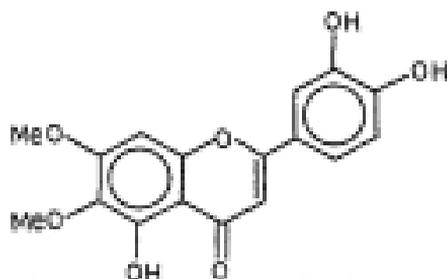
El compuesto IV descrito anteriormente, es el producto acetilado de VI.

De la cromatografía de fracciones eluidas con hexano-AcOEt (5:4) de la última columna, se aisló un producto sólido amorfo con P.f 130-135 °C (acetona-éter isopropílico). Las características espectroscópicas de este producto, concuerdan con las descritas en la literatura para 6 β -hidroxil-7,8-dehidrobacotriunecina, diterpeno aislado inicialmente de *Medea affinis*.²¹ (estructura VII).

De fracciones eluidas con hexano-AcOEt (1:1) de la columna inicial se aisló un producto cristalino amarillo con P.f 239-241 °C (acetona-MeOH) cuyas características espectroscópicas concuerdan con las descritas para el *circisiet* (VIII), flavona aislada de las hojas de *Medea affinis*.²²



VII



VIII

TABLA No. 3

ESTUDIO DE R.M.N.¹H CON REACTIVO DE DESPLAZAMIENTO
Eu (fed)₃ DEL COMPUESTO VI

Eu (fed) ₃ (mg)	0	3.5	5.9	9.5	12.4	16.2	∞
H-2	3.45	5.9	6.35	6.58	6.6	-	1.0
H-3	5.95	6.2	6.06	6.32	6.6	-	0.65
H-4	3.65	4.14	4.5	5.05	5.42	5.8	2.15
H-6	3.65	4.2	5.05	5.75	6.3	6.75	2.90
H-7a	-	3.06	3.63	4.41	5.0	5.45	-
H-7b	2.65	4.8	6.0	7.63	9.05	10.1	7.25
H-10	2.7	3.8	4.55	5.61	6.35	6.9	4.20
H-12	5.45	6.3	6.64	-	6.01	6.55	3.10
H-19a	4.1	4.52	4.9	5.3	5.6	5.85	1.75
H-19b	4.3	4.73	4.9	5.3	5.6	5.85	1.55
H-20	1.0	1.5	1.82	2.3	2.63	2.9	1.9

Espectros obtenidos a 60 MHz. Los desplazamientos químicos están en ppm con respecto al TMS, utilizando CDCl₃ como disolvente.

IV. CONCLUSIONS

CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de la *Salvia Mexicana*, se aislaron 10 metabolitos secundarios, de los cuales la mezcla de ácidos uracílico y cianúrico, la salvianina (III), el 80-hidroxi-7, 8-dihidrobenzofuricoumarina (VII) y el ciralicol (VIII) son compuestos que ya han sido aislados de otras plantas y se encuentran descritos en la literatura.

El producto I tiene una estructura muy relacionada con la Averina, compuesto aislado de *Salvia kearii*.

El compuesto II, tiene una estructura novedosa de tipo 5,6 seco-clerodano con esqueleto nuevo.

Los productos IV (60-acetoxisalvianina) y V (100-acetoxisalvianina), se aislaron como mezcla y fueron identificados con la ayuda de reacciones químicas.

Los productos IV, V y VI (60-hidroxisalvianina), tienen estructuras de tipo neo-clerodano y están muy relacionadas con la de la salvianina (III).

Los compuestos I, II, IV, V y VI no están descritos en la literatura y son nuevas aportaciones al estudio fitoquímico de las *Salvias* mexicanas.

Las estructuras de los metabolitos secundarios aislados de esta planta, fueron establecidas en base a métodos espectroscópicos.

V. PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

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

Para las cromatografías en columna se utilizó sílice gel 60 Merck (para placa. 70-230 y 230-400 Mesh ASTM).

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatoplasca 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 sulfol en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Modelo 337 o en un espectrofotómetro FT-5K. 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 60 y 30 MHz respectivamente en un aparato Varian FT-80A. 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 ^{13}C fueron hechas con ayuda de los espectros total y parcialmente desacoplados.

Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato Hewlett Packard 5905-B, mediante la técnica de impacto electrónico, a 70 eV.

La planta estudiada fué identificada por el Dr. T.P. Sumanecorthy del Instituto de Biología de la UNAM.

Un espécimen de la planta, se encuentra depositado en el Herbario Nacional de este Instituto con un número de registro 4822A.

La *Malva saponaria* se colectó en Chilpancingo Guerrero, en el mes de Noviembre de 1965.

2.30 Kg de las partes aéreas de la planta seca y sólida, se maceraron 2 veces a temperatura ambiente, durante 5 días cada vez, utilizando como disolvente acetona (20 l). Después de este tiempo, el disolvente fué eliminado a presión reducida obteniendo 76.60 g de extracto crudo.

El extracto se sometió a extracción por particiones, utilizando como sistema de disolventes, mezclas de benceno-hexano (1:1) y MeOH-H₂O (4:1). Después de este tratamiento, los disolventes fueron eliminados a presión reducida.

De la parte extraída con benceno-hexano, se obtuvieron 29 g de extracto crudo. El extracto más polar (MeOH-H₂O), fué sometido a una extracción con AcOEt, posteriormente, el disolvente se eliminó a presión reducida, obteniendo 39 g de extracto crudo.

El extracto de mayor polaridad (AcOEt), se separó en sus componentes en una columna al vacío²³ (columna inicial, empacada con sílice gel para placa). En esta columna se utilizó como eluyente mezclas de hexano-AcOEt y AcOEt-MeOH de polaridad creciente.

De fracciones eluidas con hexano-AcOEt (6:2), se aislaron 360 mg (NR 0.016 en base a la planta seca) de un producto sólido amorfo con P.F 150-154 °C (acetona). El espectro de I.R. de este producto, presenta una banda característica para la función ácido carboxílico (3500-3400 cm⁻¹, 1700 cm⁻¹).

160 mg de este producto, disueltos en éter etílico y metanol fué tratado con solución etérea de diazometano, en baño de

hielo. Al término de la reacción, se adicionó una gota de ácido acético, se extrajo con acetato de etilo, la fracción orgánica se lavó con solución de NaHCO_3 al 10% y con solución concentrada de NaCl hasta pH neutro, se secó sobre Na_2SO_4 anh. El disolvente fue eliminado a presión reducida.

De esta reacción se obtuvieron 100 mg de un producto cristalino con P.f 152-155 °C (acetona), que por sus características espectromédicas y por comparación con una muestra auténtica, se identificó como la mezcla de los esteres metílicos del ácido ursólico y eleagnólico.

Las aguas madres de la mezcla de ácidos fueron recromatografiadas, utilizando la técnica de cromatografía relampago.¹⁴ La columna fue empacada con 50 g de sílica gel 1230-4000 utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetona (9.3:0.7). De esta columna se aislaron dos productos.

Del componente de menor polaridad, se aislaron 25 mg (4R 0.0011 en base a la planta seca) de un producto cristalino blanco (I) con P.f 172-174 °C (EtOAc). Este producto presenta las siguientes características espectromédicas:

I.R. (espectro No.1) (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 1500 y 970 (furanos), 1765 (carbonilo de γ -lactona α,β -insaturada) 1460 (doble ligadura $\text{C}=\text{C}$).

R.M.N.¹H, 80 MHz (CDCl_3) (espectro No.2) δ : 7.40 (d, J=2, 2H, H-15 y H-16), 6.60 (dd, J=6 y 4, 1H, H-3), 6.35 (t, J=2, 1H, H-14), 5.0 (dd, J=11 y 6, 1H, H-12), 4.30 (d, J=6, 1H, H-19 pro-R), 3.90 (dd, J=6 y 2, 1H, H-19 pro-S), 1.24 (s, 3H, 3H-17), 0.85 (s, 3H, 3H-20).

E.M m/z (abundancia relativa): 338 (M⁺, 22.6), 313 (47.4), 164 (42), 121 (pico base, 100), 94 (30), 91 (50.5), 81 (37), 67 (13).

U.V (MeOH) λ_{max} (ϵ) : 205 nm (10142).

$[\alpha]_D^{25} = -77.33$ (C 1.5 mg/ml, CHCl₃).

Del componente de mayor polaridad se aislaron 130 mg (NR 0.0052 en base a la planta seca), de un producto cristalino blanco (II) con P.f 125-126 °C (hexano-AcOEt) cuyas características espectroscópicas se describen a continuación:

I.R (espectro No.3) (CHCl₃) ν_{max} , cm⁻¹ : 1594 y 875 (furan) 1768 (carbonilo de γ -lactona), 1602 y 1494 (anillo aromático), 1019 y 1073 (C-O).

R.M.N.¹H, 80 MHz (CDCl₃) (espectro No.4) δ : 7.99 (dd, J=9 y 4, 1H, H-3), 7.56 (m, 2H, H-1 y H-2), 7.40 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.40 (m, 1H, H-14), 5.97 (s, 1H, H-20), 5.43 (s, 2H, 2H-19), 3.17 (dd, J=12 y 5, 1H, H-12), 4.0 (dc, J=10 y 6, 1H, H-7), 2.85 (dd, J=12 y 5, 1H, H-11), 2.30 (dd, J=12 y 12, 1H, H-11), 2.0 (m, H-8), 1.40 (d, J=6, 3H, 3H-5), 1.15 (d, J=7, 3H, 3H-17).

E.M m/z (abundancia relativa) : 340 (M⁺, 3.9), 294 (45.8), 239 (pico base, 100), 195 (38.4), 94 (32), 91 (17), 81 (56.3).

U.V (MeOH) λ_{max} (ϵ) : 203 nm (47468), 275 nm (1816), 282 nm (1816).

$[\alpha]_D^{25} = -12$ (C 1 mg/ml, MeOH).

De la misma polaridad hexano-AcOEt (8:2) de la columna inicial, se aislaron 1.80 g (NR 0.06 en base a la planta seca) de

un producto cristalino blanco con P.f 210-212 °C (acetona). Sus características espectroscópicas concuerdan con las descritas para la Solviciano (1113), diterpene anteriormente aislado de *Fabia arvensis*.¹⁴

I.R (espectro No.7) (CHCl₃) ν_{max} , cm⁻¹: 1500 y 675 (aroma), 1775 (carbonilo de γ -lactona), 1730 (carbonilo de δ -lactona), 1605 (doble ligadura).

R.M.N.¹H, 60 MHz (CDCl₃) (espectro No.8) δ : 7.43 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.46 (m, 1H, H-14), 6.0 (m, 1H, H-2), 5.60 (da, J=10, 1H, H-3), 5.33 (dd, J=12 y 4, 1H, H-12), 4.23 (m, 2H, 2H-19), 2.76 (m, 1H, H-4), 2.45 (m, 2H, H-6 y H-10), 1.02 (s, 3H, 3H-20).

E.M (abundancia relativa): 342 (M⁺, 79), 217 (15), 203 (12), 159 (17), 145 (15), 131 (24), 121 (21), 117 (37), 105 (19), 95 (59), 94 (pico base, 100), 91 (74.6), 91 (15), 77 (20).

U.V (MeOH) λ_{max} (ϵ): 203 nm (6626).

$[\alpha]_D^{20} = -64$ (C 3 mg/ml, CHCl₃).

De fracciones eluidas con hexano-AcOEt (1:1) de la columna inicial, se obtuvieron 9.10 g de un extracto que fué recromatografiado en una columna empacada con 260 g de sílica gel (70-230), utilizando como eluyente mezcla de hexano-AcOEt y AcOEt-MeOH de polaridad creciente.

De fracciones eluidas con hexano-AcOEt (1:1) de la última columna, se aislaron 1.40 g (NR 0.06 en base a la planta seca) de un sólido con P.f 205-206 °C (AcOEt). Este sólido resulta ser una mezcla de productos que no pudieron ser separados por refo-

dos cromatográficos. Se intento separar los productos de la mezcla por reacciones químicas pero no fué posible aislar los productos originales, sin embargo los datos espectroscópicos de estos compuestos proporcionaron la suficiente información para llegar a las estructuras de los productos originales.

TRATAMIENTO DE LA MEZCLA CON NaOH .

200 mg de la mezcla se disolvieron en 4 ml de una mezcla de THF-MeOH (1:1) y se hicieron reaccionar con 200 mg de NaOH , durante 4 hrs. Una vez terminada la reacción, se adicionaron unas gotas de solución diluida de hidróxido de sodio y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se adicionaron 5 ml de solución saturada de NaCl y se hizo una extracción con AcOEt .

La fracción orgánica se lavó con solución de NaHCO_3 al 10% y solución saturada de NaCl hasta pH neutro, fué secada sobre Na_2SO_4 anh. y eliminado el disolvente a presión reducida.

De la reacción anterior se obtuvieron 180 mg de una mezcla de productos, que fueron separados por cromatografía relámpago, en una columna empacada con 10 g de sílica gel (230-400) y utilizando como eluyente una mezcla de benceno-MeOH (9.9:0.1). De esta columna se lograron separar dos productos.

Del componente menos polar se obtuvieron 40 mg, el P.f. de este producto (IIVa) es de 260-262 °C (MeOH).

I.R. (espectro No.9) (nujol) cm^{-1} : 3440 (oxidrilo), 1501 y 872 (furan), 1770 (carbonilo de γ -lactona), 1733 (carbonilo de δ -lactona), 1600 (doble ligadura).

R.M.N-¹H. 80 MHz (CDCl₃ + DMSO-d₆) (espectro No.10) δ 7.40 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.40 (m, 1H, H-14), 5.95 (m, 1H, H-2), 5.60 (da, J=10, 1H, H-3), 5.38 (dd, J=11 y 7, 1H, H-12), 4.38 (d, J=9, 1H, H-19 pro-R), 4.0 (d, J=9, 1H, H-19 pro-S), 3.80 (t, J=2, 1H, H-6), 3.60 (q, J=3, 2H, H-4), 3.30 (dd, J=11 y 5, 1H, H-8), 2.60 (m, 1H, H-10), 0.89 (s, 3H, 3H-20).

E.M m/s (abundancia relativa): 358 (M⁺, 18), 234 (7), 220 (7), 121 (13), 94 (pico base, 100), 91 (48.3), 61 (29), 77 (30).

ACETILACION DEL PRODUCTO IVa

14 mg del producto IVa se disolvieron en 0.5 ml de piridina y se adicionaron 0.5 ml de anhídrido acético, la mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 4 hrs.

Después de terminada la reacción, la piridina y anhídrido acético residual fueron eliminados por destilación a presión reducida, se adicionaron 5 ml de solución concentrada de NaCl y se extrajo con AcOEt. Se siguió el mismo tratamiento que en la reacción de reducción con NaBH₄.

De la reacción de acetilación se obtuvieron 14.4 mg de un producto cristalino blanco (IVb) con P.f 249-251 °C (AcOEt-MeOH).

I.R (espectro No.12) (nujol): ν_{max}, cm⁻¹: 2900 y 870 (ferano), 1768 (carbonilo de γ-lactona), 1755 (carbonilo de acetato), 1730 (carbonilo de δ-lactona), 1600 (doble ligadura).

R.M.N-¹H. 80 MHz (CDCl₃ + DMSO-d₆) (espectro No.13) δ 7.42 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.38 (m, 1H, H-14), 6.0 (m, 1H, H-2), 5.43 (m, 1H, H-3), 5.37 (dd, J=11 y 7, 1H, H-12), 5.07 (t, J=2, 1H,

H-6), 4.28 (d, J=10, 1H, H-19 pro-R), 4.08 (d, J=10, 1H, H-19 pro-S), 3.05 (q, J=3, 1H, H-4), 2.95 (dd, J=12 y 5, 1H, H-8), 2.15 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-COOR}$), 0.90 (s, 3H-20).

E.M m/z (abundancia relativa): 400 (M^+ , 15.4), 358 (9), 340 (12), 345 (17), 187 (32), 148 (54.3), 129 (29), 121 (30), 94 (73), 91 (73.5), 81 (35), 77 (27), 67 (14), 43 (pico base, 100).

Del producto más polar (Va) se obtuvieron 60 mg. en P.f. en 204-206 °C (NaClO).

I.R (espectro No.14) (mujal): cm^{-1} 3600-3200 (alcohol), 1585 y 875 (furan), 1740 (carbonilo de α -lactona), 1615 (doble ligadura).

R.M.N- ^1H . 80 MHz ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) (espectro No.15): δ 7.35 (d, J=2, 2H, H-15 y H-16), 6.28 (m, 1H, H-14), 6.0 (m, 1H, H-2), 5.65 (da, J=10, 1H, H-3), 5.13 (d, J=10, 1H, H-17), 4.50 (d, J=9, 1H, H-19 pro-R), 4.15 (d, J=9, 1H, H-19 pro-S), 3.75 (dd, J=12 y 5, H-12), 3.05 (m, $\text{W}_{\text{AB}}=7.1\text{H}$, H-4), 2.60 (m, $\text{W}_{\text{AB}}=6$, 1H, H-6ax), 0.90 (s, 3H, 20-20).

E.M m/z (abundancia relativa): 360 (M^+ , 0.7), 342 (17), 327 (18), 314 (9), 217 (7), 203 (10), 175 (42), 157 (23), 143 (30), 129 (41), 121 (45), 117 (37), 105 (55), 95 (19.1), 94 (pico base, 100), 91 (19.9), 81 (74), 77 (13.6), 67 (54).

OXIDACION DEL PRODUCTO Va

50 mg del producto Va en 10 ml de acetona, se trataron con dos gotas de reactivo de Jones. La reacción se llevo a cabo en

20 minutos. Se vertió sobre hielo y se extrajo con AcOEt. La fracción orgánica fué tratada como en la reducción con NaBH_4 .

De la oxidación se obtuvieron 31 mg de un producto cristalino blanco (Vb) con P.f 230-233 °C (acetona-MeOH).

I.R (espectro No.16) (nujol) cm^{-1} (3440 (OH hidrilo), 1500 y 870 (furan), 1745 (carbonilo de γ -lactona), 1720 (carbonilo de δ -lactona), 1600 (doble ligadura).

R.M.N.¹H. 80 MHz (CDCl_3 + $\text{DMSO}-d_6$) (espectro No.17) δ :7.43 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.40 (m, 1H, H-14), 6.0 (m, 1H, H-2), 5.7 (dd, J=10, 1H, H-3), 5.35 (dd, J=11 y 7, 1H, H-12), 4.40 (dd, J=9, 1H, H-19 pro-R), 4.12 (d, J=9, 1H, H-19 pro-S), 3.62 (dd, J=11 y 4, 1H, H-8), 3.0 (m, N₂=7, 1H, H-4), 0.85 (s, 3H, 20).

E.M m/z (abundancia relativa) :358 (M⁺, 6.1), 314 (12), 247 (37), 220 (19), 213 (24), 201 (12), 175 (11), 153 (17), 145 (15), 131 (15), 121 (19), 109 (50.5), 95 (67.7), 94 (44.4), 91 (tipo base, 100), 81 (33), 77 (35), 66 (26).

SAPONIFICACION DE LOS PRODUCTOS DE LA MEZCLA

100 mg de la mezcla se disolvieron en 10 ml de THF-MeOH (1:1) y se hicieron reaccionar con 50 mg de NaHCO_3 , disuelto en 0.5 ml de agua. La reacción se mantuvo con agitación durante 72 hrs. El disolvente se eliminó a presión reducida, se adicionaron 5 ml de solución saturada de NaCl y se extrajo con AcOEt. La fracción orgánica fué lavada con solución saturada de NaCl y se cedió sobre Na_2SO_4 anh.

De esta reacción resultó una mezcla de productos, que fue-

ron separados por cromatografía relavago, en una columna empacada con 5 g de sílica gel (230-400) y utilizando como eluyente una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH (99.5:0.5). De esta columna se lograron separar dos productos.

Del producto menos polar se obtuvieron 27 mg, su P.f se da 263-265 °C (acetona-MeOH). Este producto presenta las mismas características espectroscópicas que el producto IVa (compuesto obtenido del tratamiento de la mezcla con NaOH_2).

Del producto mas polar se obtuvieron 20 mg, sus características espectroscópicas son idénticas a las del compuesto Vb (producto de oxidación de Va).

EPIMERIZACION DE LA SALVICARINA

50 mg de Salvicarina (III) se disolvieron en 8 ml de mezcla THF-MeOH (1:1) y se adicionaron 30 mg de NHCO_2 disuelto en 0.5 ml de agua. La reacción se mantuvo con agitación durante 72 hrs. Después de este tiempo el disolvente fué eliminado a presión reducida y se siguió el mismo procedimiento que en el tratamiento de la mezcla con NaOH_2 .

De esta reacción se obtuvieron 18 mg de un producto cristalino (IIIa) con P.f 233-235 °C (hexano-MeOEt).

Su espectro de I.R presenta las mismas señales que el de la salvicarina (III).

R.M.N- ^1H . 80 MHz (CDCl_3) (espectro No.18) δ : 7.40 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.37 (t, J=1.5, 1H, H-14), 6.0 (m, 1H, H-21), 5.60 (ds, J=10, 1H, H-3), 5.32 (dd, J=11 y 7, 1H, H-12), 4.15 (e, 2H,

28-19), 2.75 (q, J=3, 1H, H-4), 2.60 (dd, J=11 y 4, 1H, H-8), 0.88 (s, 3H, 3H-20).

E.M m/e (abundancia relativa): 342 (M⁺, 12.8), 231 (4), 159 (6), 145 (15), 131 (22), 121 (27), 117 (27), 105 (21), 95 (41.4), 94 (84.1), 81 (pico base, 100), 61 (22), 77 (32), 67 (20).

$[\alpha]_D^{20} = +48$ (c 1.0 mg/ml, CHCl₃).

De fracciones eluidas a la misma polaridad hexano-AcOEt (1:1) de la última columna, se aislaron 40 mg (R_f 0.0017 en base a la planta seca) de un producto cristalino (VI) con P.f 188-192 °C (hexano-AcOEt), con las siguientes características espectroscópicas:

I.R (espectro No. 19) (CHCl₃) ν_{max} , cm⁻¹: 3598 (cohidrólio), 1505 y 875 (furano), 1749 y 1724 (carbonilo de γ y δ -lactona respectivamente), 1600 (doble ligadura).

R.M.N.¹H, 80 MHz (CDCl₃) (espectro No.20) δ : 7.45 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.42 (m, 1H, H-14), 6.0 (m, 1H, H-2), 5.65 (da, J=10, 1H, H-3), 5.45 (dd, J=12 y 4, 1H, H-12), 4.30 (d, J=9, 1H, H-19 pro-8), 4.12 (d, J=9, 1H, H-19 pro-8), 3.95 (m, H₂C=6, 1H, H-6), 3.70 (q, J=3, 1H, H-4), 2.70 (dd, J=10 y 6, H-10), 1.0 (s, 3H, 3H-20).

E.M m/e (abundancia relativa): 358 (M⁺, 43), 257 (6), 201 (7), 177 (10), 157 (15), 147 (12), 143 (18), 131 (14), 129 (21), 121 (18), 111 (36), 105 (18), 95 (52.1), 94 (pico base, 100), 81 (48.4), 61 (31), 77 (31), 67 (12).

U.V (NaOH) λ_{max} (e) =200 nm (7316).

$[\alpha]_D^{20} = -84$ (C 1.1 mg/ml, MeOH).

De fracciones eluidas con hexano-AcOEt (4:1) de la última columna, se obtuvieron 320 mg de un extracto que fué separado en sus componentes por cromatografías sucesivas y finalmente por cromatografía relámpago, utilizando una columna empacada con 16 g de sílica gel (200-400) y como eluyente una mezcla de benceno-MeOH (9.75:0.25). De esta columna se aislaron 6 mg (8% 0.0003 en base a la planta seca) de un producto sólido amorfo con P.f 130-135 °C (acetato-éster isopropílico). Las características espectroscópicas de este compuesto concuerdan con las descritas para 6 β -hidroxi-7,8-dehidrobochoitricunecina (VII) diterpeno aislado de *Sciaenopodium*.²¹

I.R (CHCl₃) ν_{max} , cm⁻¹: 3586 (OH hidrilo), 1505 y 875 (furanos), 1766 (carbonilo de β -lactona), 1740 (carbonilo de δ -lactona), 1667 (doble ligadura).

R.M.N.⁻¹H, 80 MHz (CDCl₃) δ : 7.43 (m, 2H, H-15 y H-16), 7.05 (dd, J=7 y 4, 1H, H-3), 6.85 (d, J=6, 1H, H-7), 6.42 (m, 1H, H-14), 5.15 (dd, J=11 y 5, 1H, H-12), 4.35 (d, J=6, 1H, H-8), 4.1 (d, J=9, 1H, H-19 pro-B), 3.92 (d, J=9, 1H, H-19 pro-B), 1.92 (s, 3H, 3H-20).

E.M. m/z (abundancia relativa): 356 (M⁺, 14), 320 (11), 302 (50), 185 (15), 176 (18), 173 (20), 145 (35), 135 (75.4), 117 (21), 105 (24), 95 (77.1), 84 (pico base, 100), 81 (64), 81 (81.4), 77 (71), 67 (28).

De fracciones eluidas con hexano-AcOEt (1:1) de la columna inicial, se aisló un producto cristalino amarillo con P.f 239-

241 °C (acetona-MeOH). Este producto se identificó como ciperitil (VII) flavona aislada inicialmente de las hojas de *Zedera affinis*.²²

I.R. (nujol) ν_{max} , cm^{-1} : 3600-3100 (OH hidrógeno), 1670 (carbonilo de cetona conjugada), 1610, 1590 y 1500 (dobles ligaduras aromáticas), 2960 y 1030 (metoxilo).

R.M.N.¹H, 80 MHz ($CDCl_3$ + $DMSO-d_6$) δ : 7.40 (m, 2H, H-2' y H-6'), 6.92 (d, J=9, 1H, H-5'), 6.60 (s, 1H, H-8), 6.02 (s, 1H, H-3), 5.90 (bs, desaparece con D_2O , OH), 3.95 (2s, 6H, 2 OCH_3).

E.M m/z (abundancia relativa): 330 (M^+ , 87.6), 312 (34.2), 300 (7), 284 (65.6), 269 (13), 152 (12), 149 (19), 136 (22), 134 (17), 122 (11), 108 (21), 105 (17), 77 (19), 69 (pico base, 100), 53 (16), 51 (12).

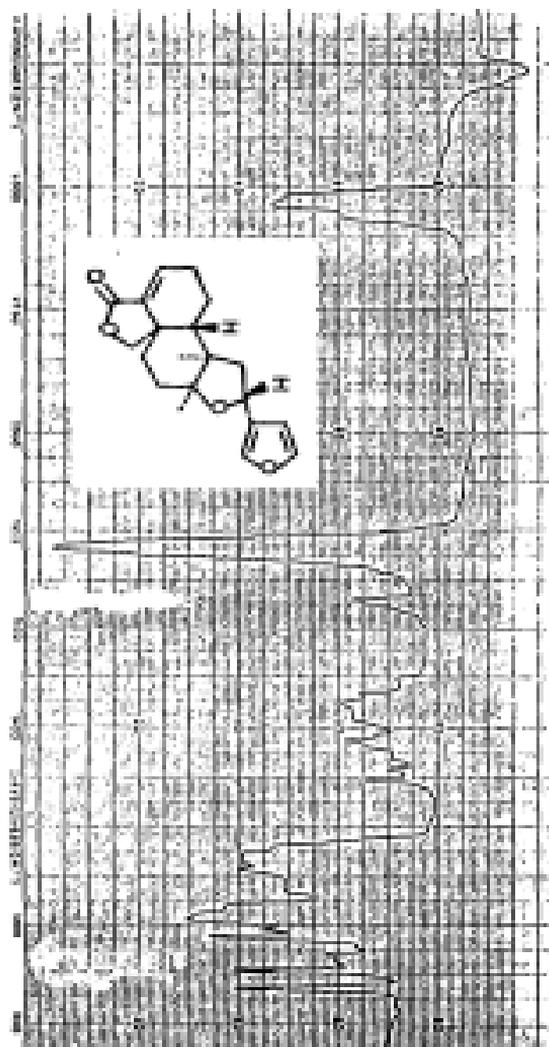
U.V. (MeOH) λ_{max} , (e): 335 nm (24750) y 280 nm (19836).

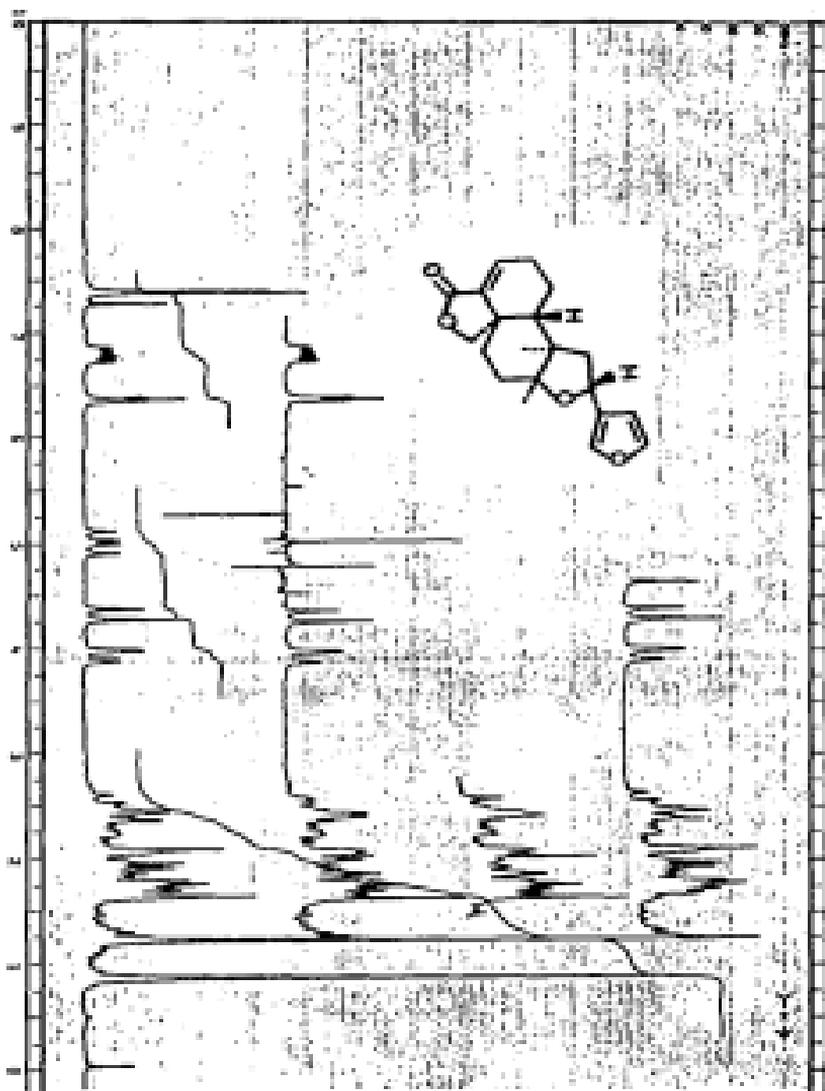
El extracto inicial de menor polaridad (benceno-hexano), se separó en sus componentes en una columna al vacío²³ empacada con sílica gel para placa. Se utilizó como eluyente mezclas de hexano- $AcOEt$ y $AcOEt$ -MeOH de polaridad creciente.

De fracciones eluidas con hexano- $AcOEt$ (9:1), se aislaron 511 mg (NR 0.022 en base a la planta seca) de la mezcla de ácidos ursólico y oleanólico.

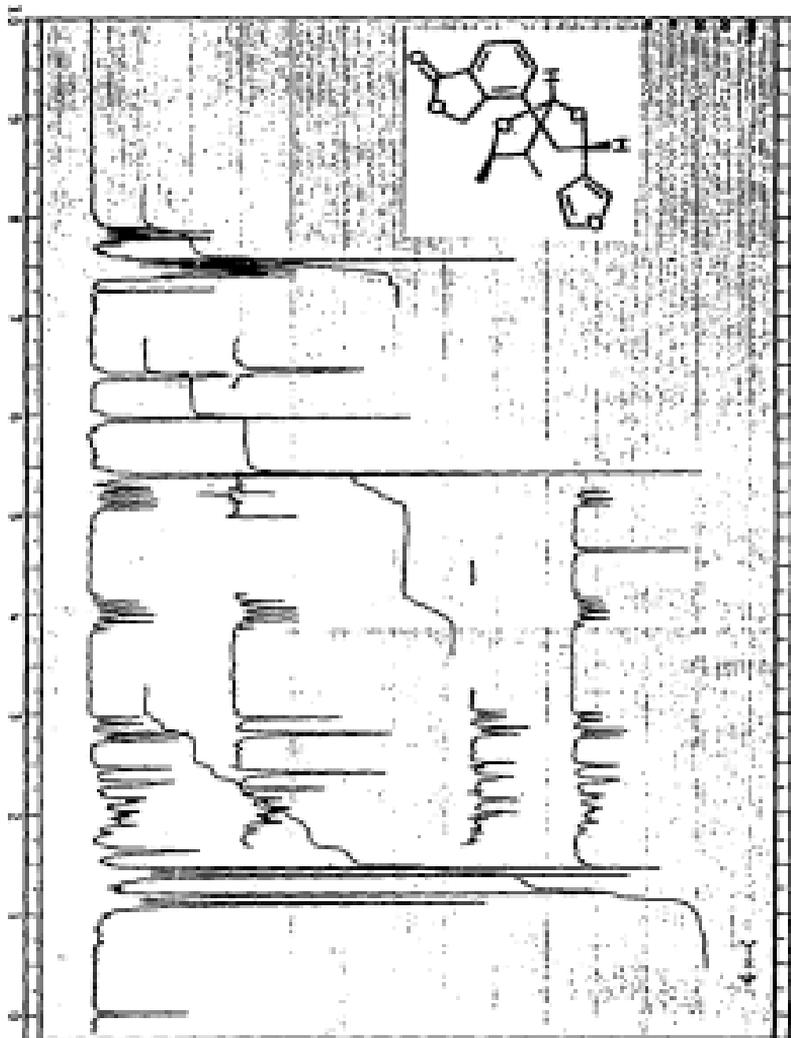
VI. ESPECTROS

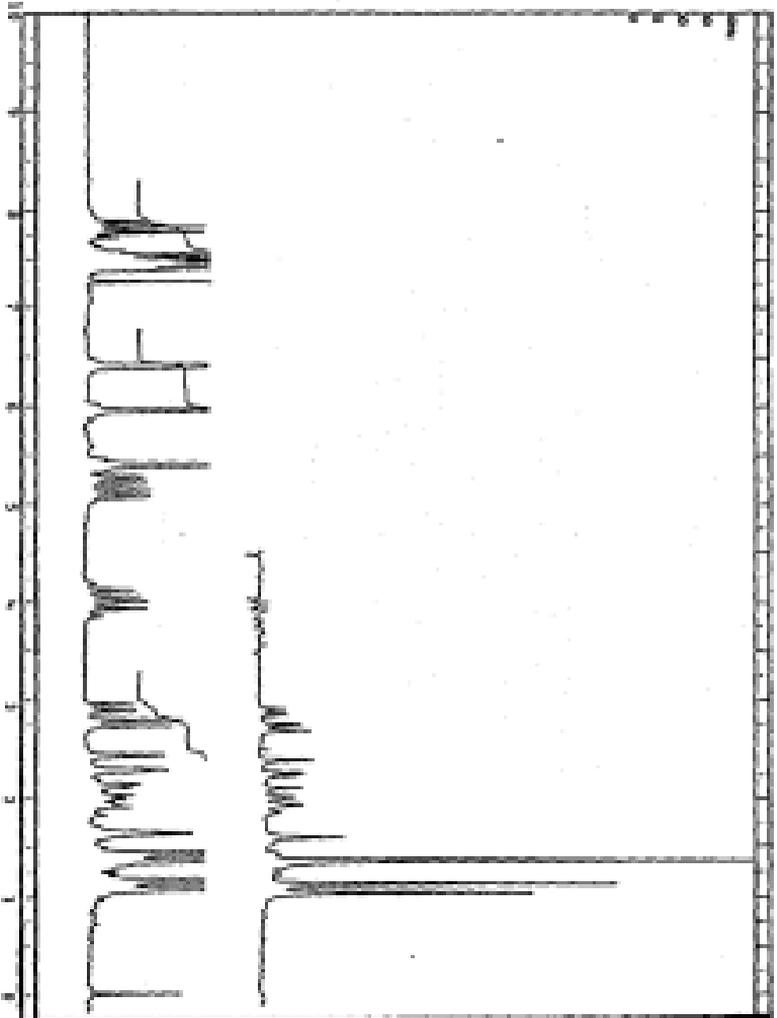
ESPECTRO I



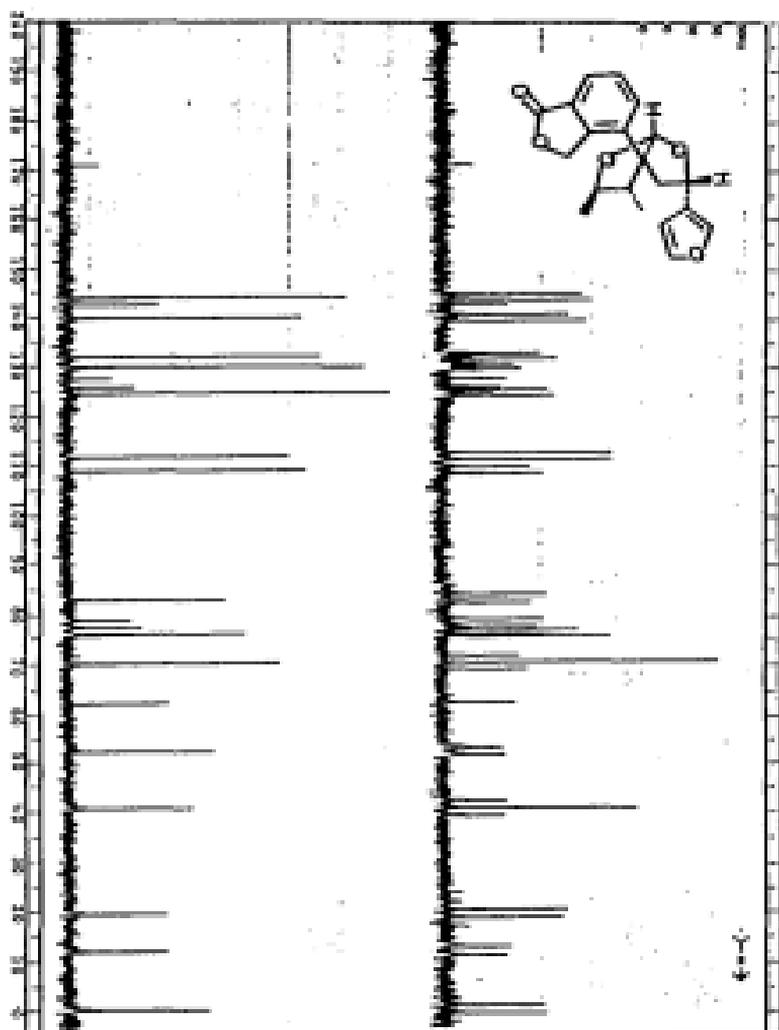


ESPECTRO 2

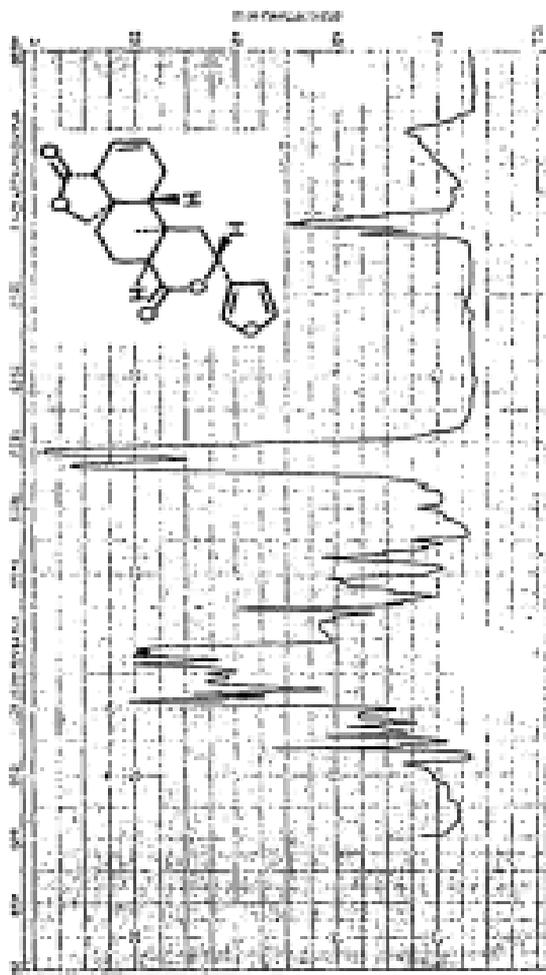


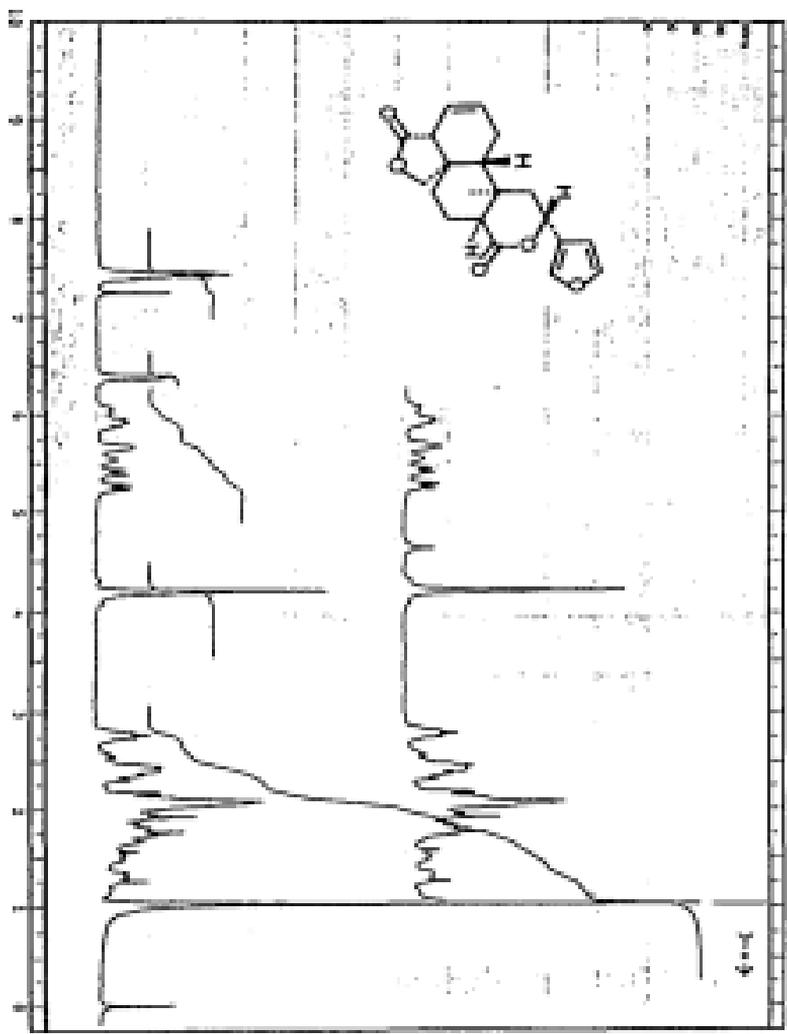


ESPECTRO 3



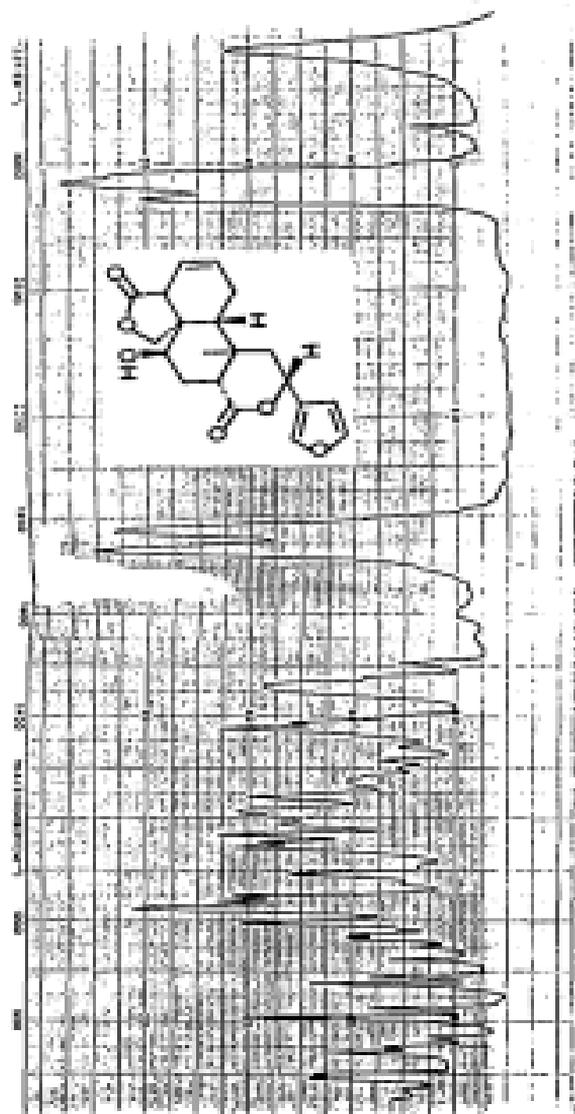
SPECTRUM

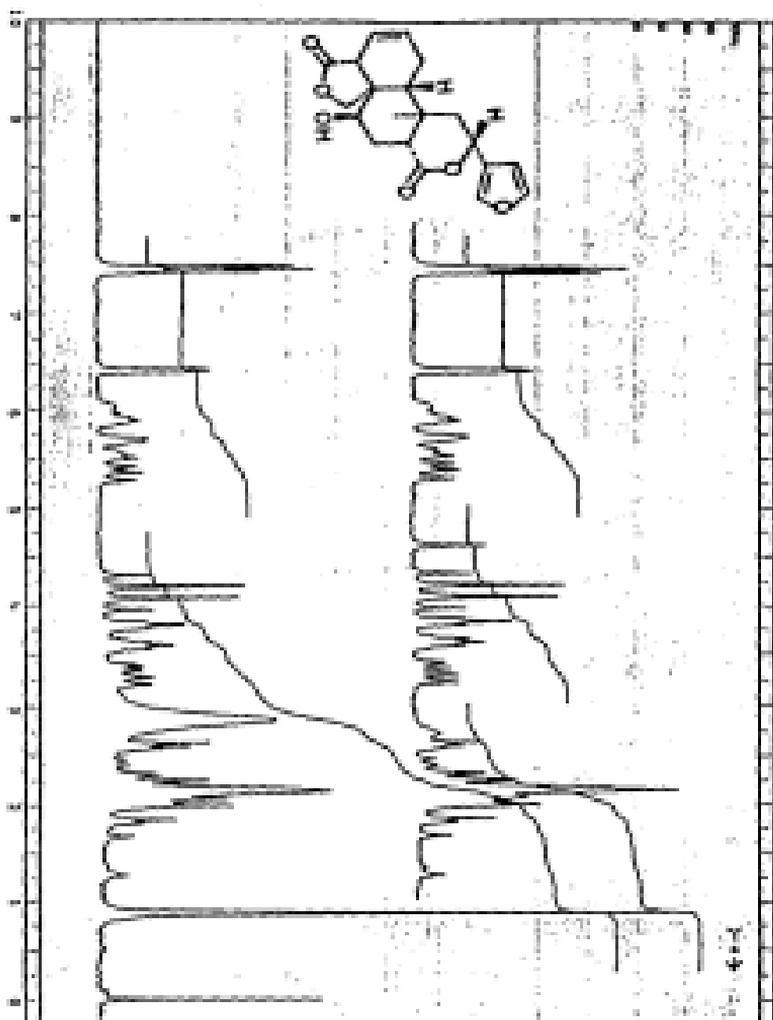




ESPECTRO D

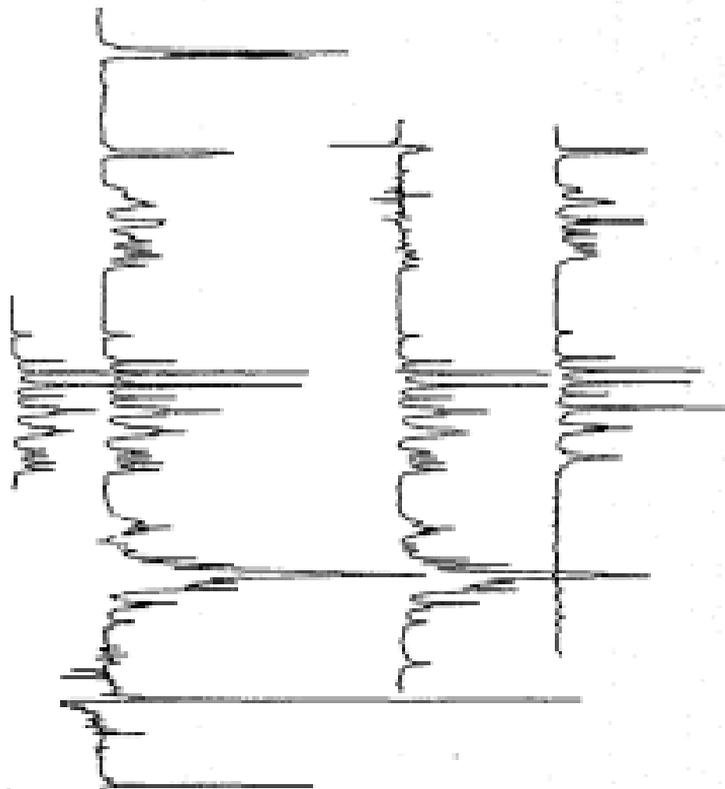
ESPECTRO 9



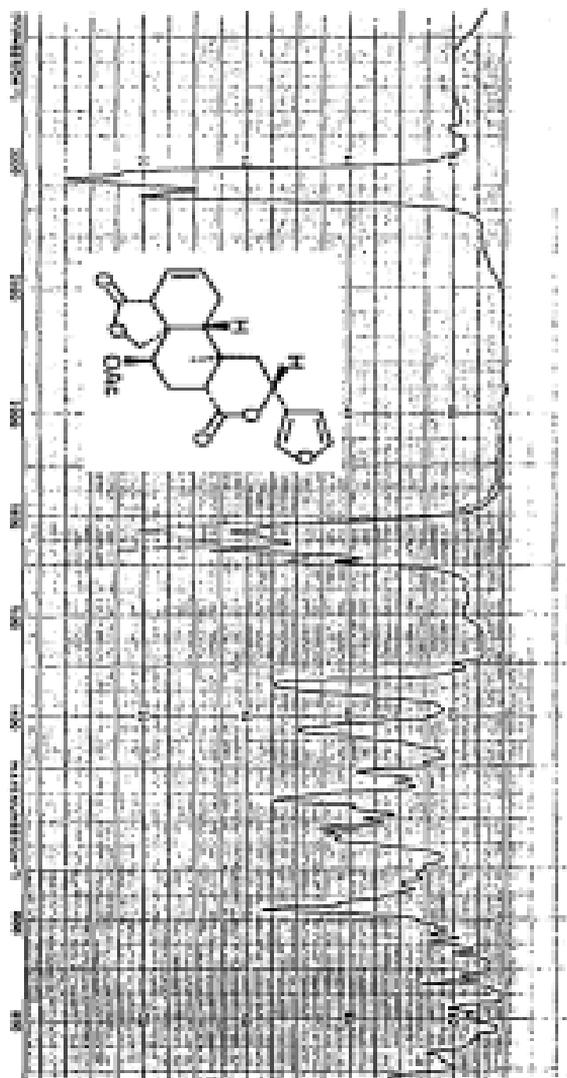


ESPECTRO 20

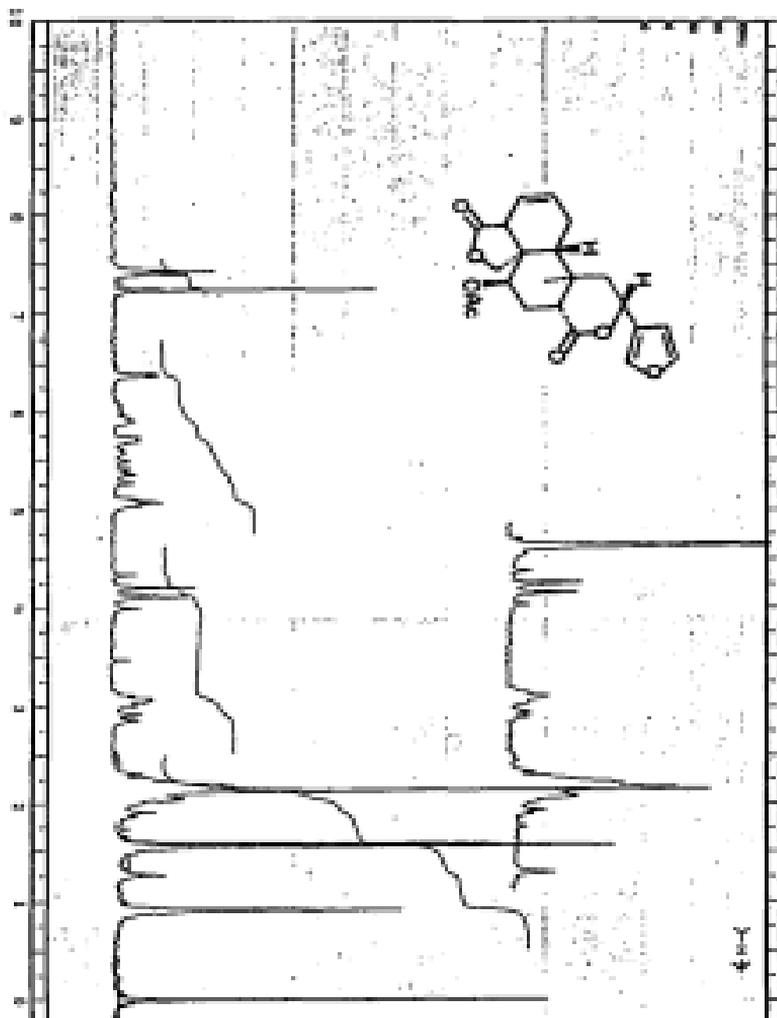
ESPECTRO II



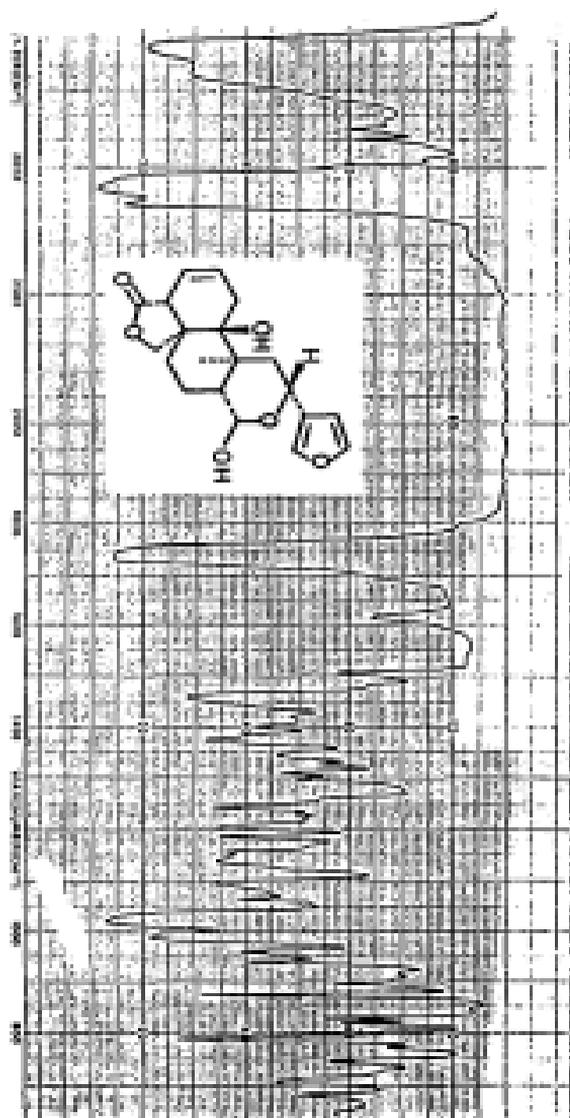
E S P E C T R O 12

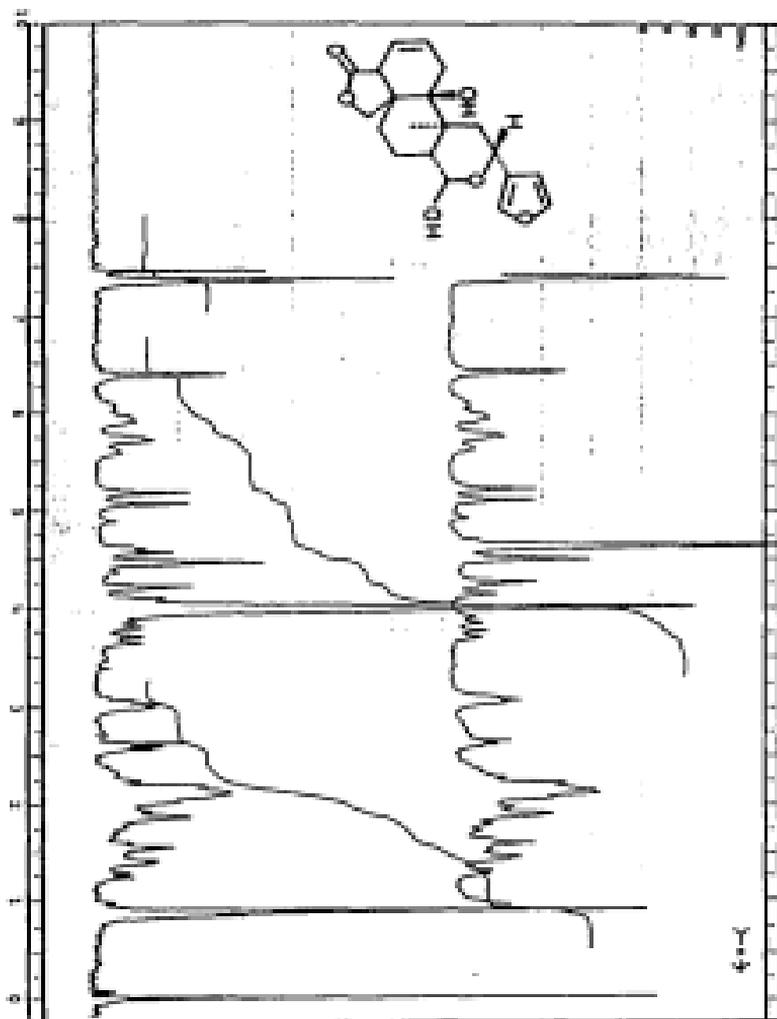


SPECTRO 13

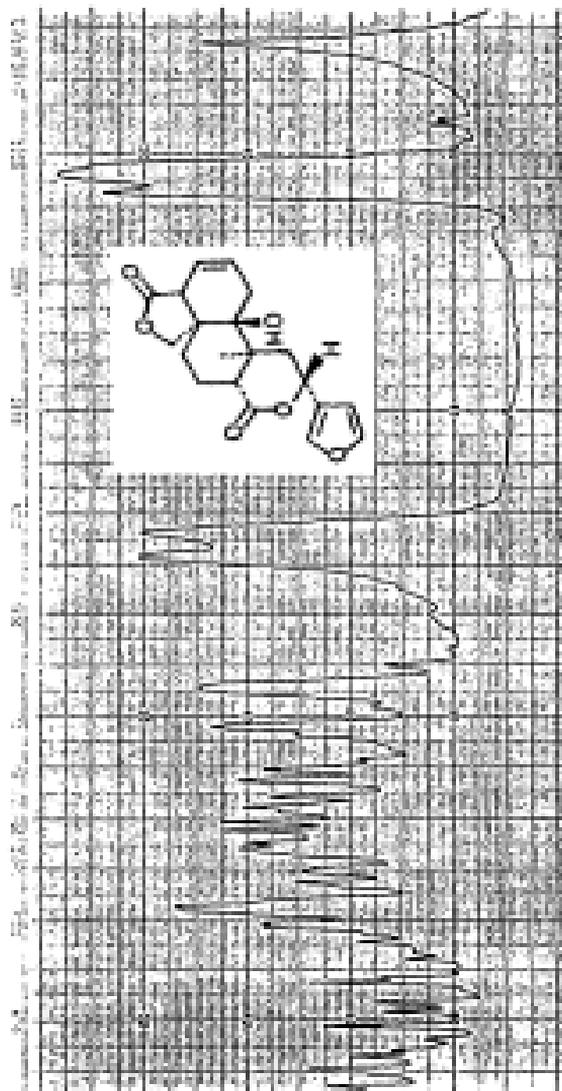


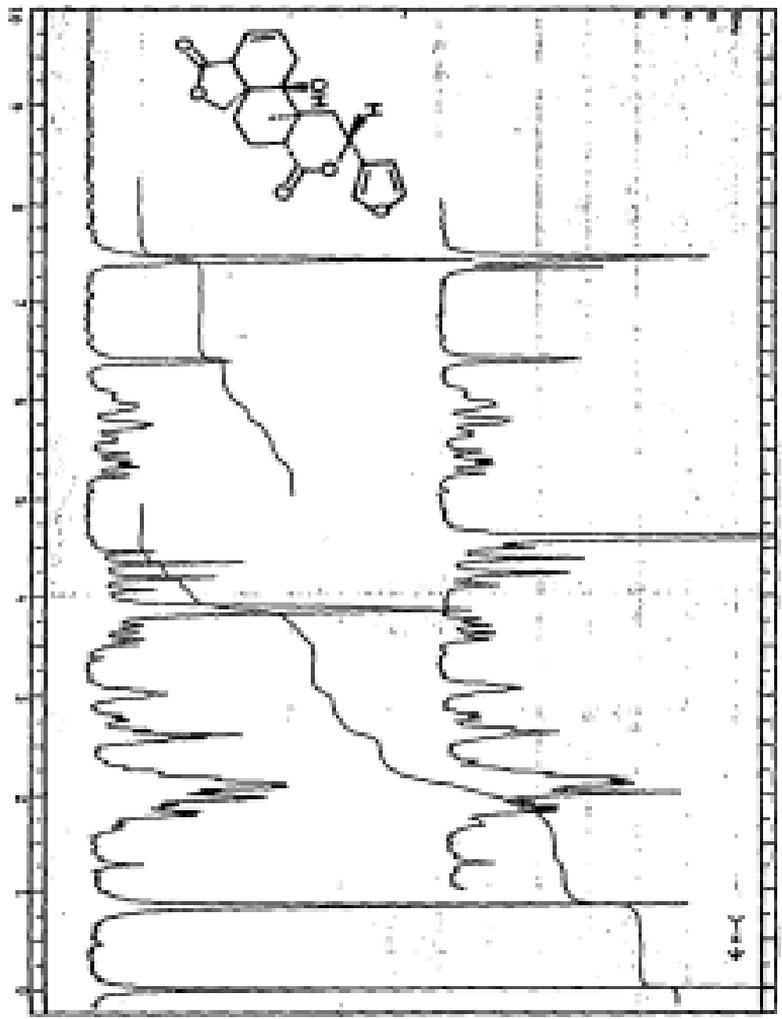
SPECTRUM 14



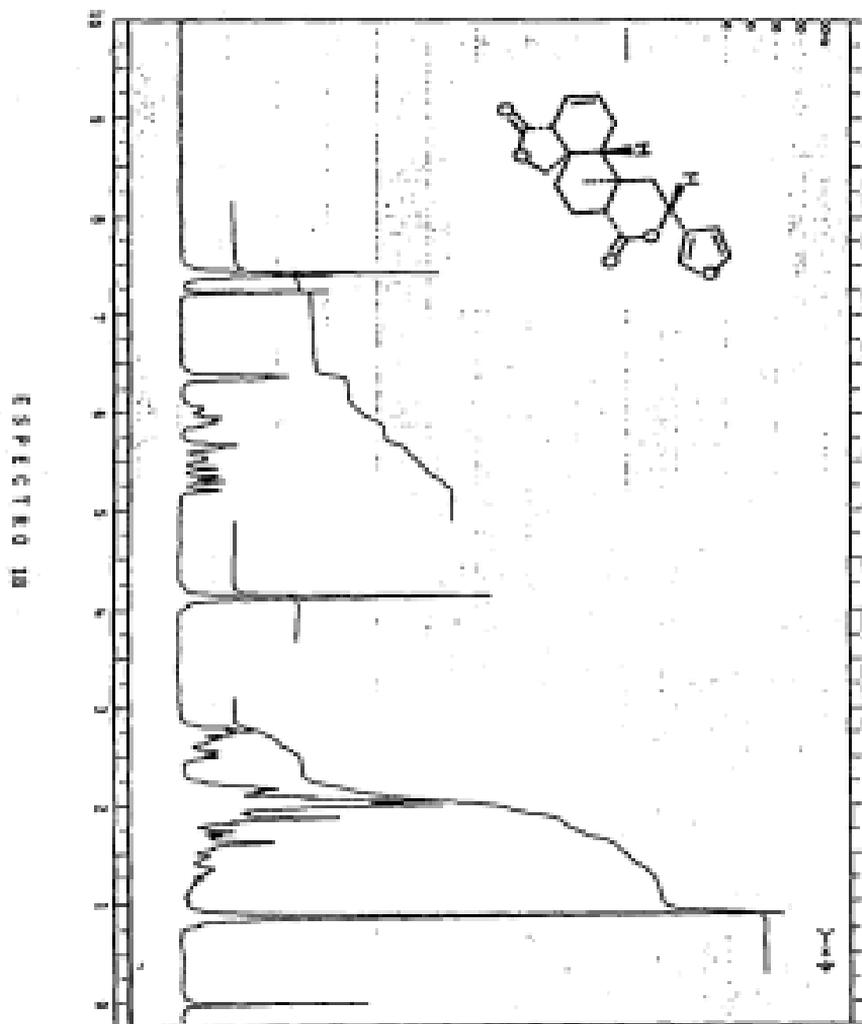


E S P E C T R O M





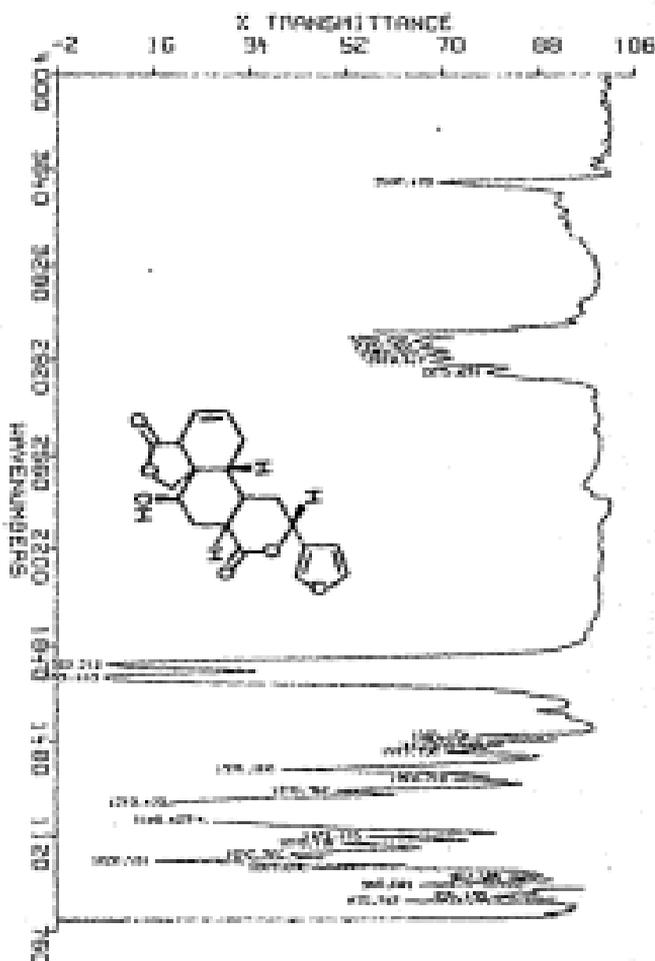
ESPECTRO 37



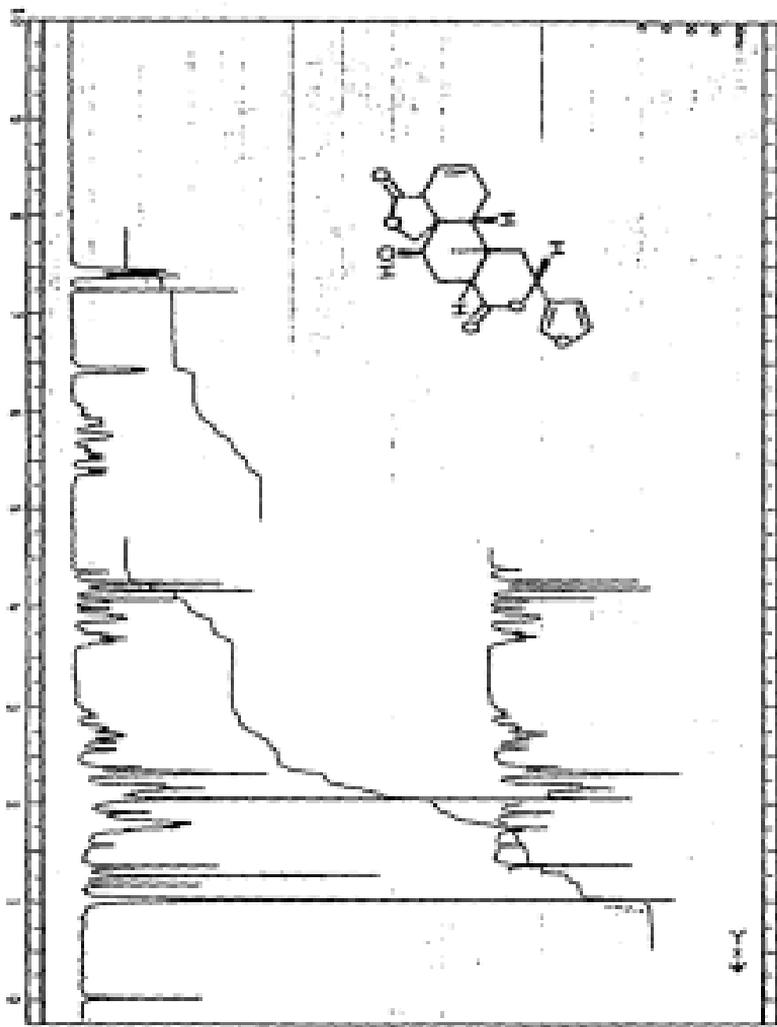
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

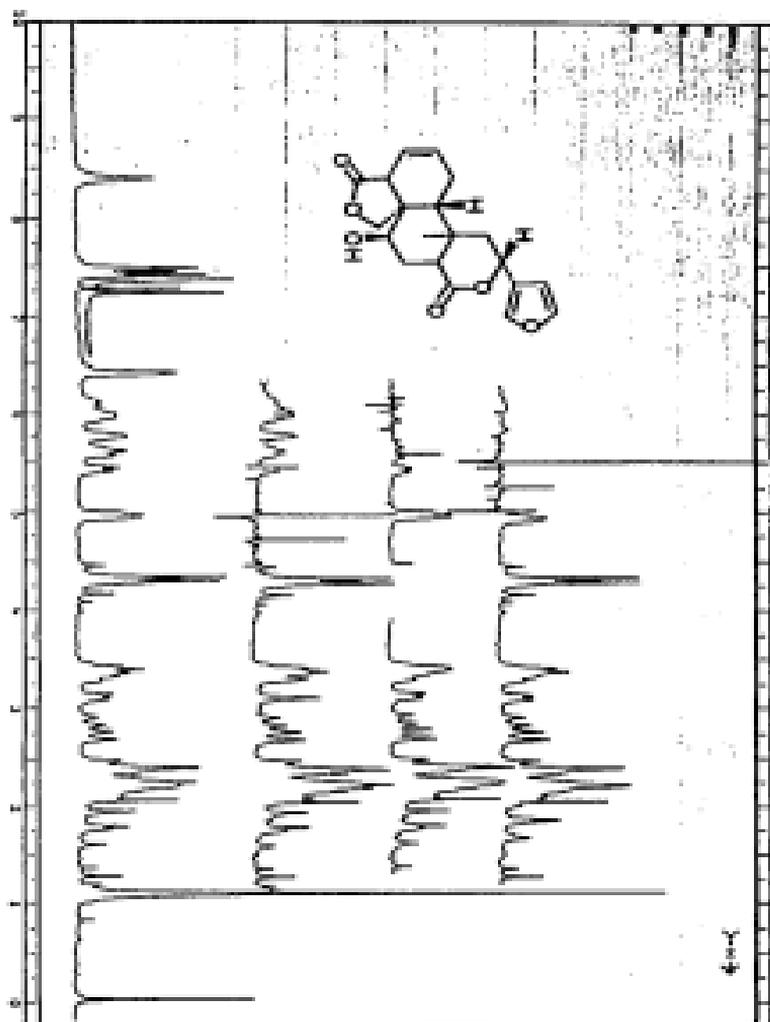
69

ESPECTRO 19



02 08137653





VII. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Epling, C. A., Revision of Salvia subgenus Calceotheca.
Repert. Spec. Nov. Behn. 118:1 (1939).
- 2.- Wagner, H., Bay. Latinoamer. Guim., 8. 18 (1977).
- 3.- Valdes, L. J., Butler, W. M., Hatfield, G. M., Paul, A. G.
and Koroeda, M., J. Org. Chem., 49, 4716 (1984).
- 4.- Hanson, I. W., Hocking, G. M., Economic Botany, 11, 44
(1957).
- 5.- Halzman, A. F. and Collins, R. P., J. Agric. Food Chem.,
23, 506 (1975).
- 6.- Bentham, G. A. P. de Candolle, Prodr. 12:27 (1846).
- 7.- Stanley, P. and Williams, L., Fieldiana Botany, 29, 291
(1973).
- 8.- Fujita, E. and Node, M., Progress in the Chemistry of
Organic Natural Products, Springer-Verlag, New York, Vol.46
p.77.
- 9.- Fujita, E., Nagao and Node, M., Heterocyclem, 5, 5 (1976).
- 10.- Piozzi, F., Heterocyclem, 15, 1489 (1981).
- 11.- Equival, B. R., Estudio quimiotaxonomico de la seccion
Folientes del genero Salvia (LABIATAE), Tesis de Maestria,
UNAM.
- 12.- Newman, A., Chemistry of Terpenes and Terpenoids.
Academic Press (1972).
- 13.- Por ejemplo Hanson, J. R., Natural Product Reports, 1, 171
(1984).
- 14.- Stevens, G., Paternostro, M. P., Piozzi, F., Hanson, J. R.,

- Mitchcock, P. B. and Thomas, G. A., *J. Chem. Soc. Perkin I* 643 (1978).
- 15.- Sevans, G., Paternostro, M.P., Piconi, F. and Hanson, J. B., *J. Chem. Soc. Perkin I*, 539 (1979).
- 16.- Equivel, B., Héndez, A., Ortega, M., García, S., Toscano, A. and Rodríguez-Mahn, *Phytochemistry*, 24, 1769 (1985).
- 17.- Equivel, B., Cárdenas, J., Ramamoorthy, T. P. and Rodríguez-Mahn, L., *Phytochemistry*, 25, 3361 (1986).
- 18.- Meins, C. B., *Chem. Ber.*, 106, 922 (1973).
- 19.- Jiménez, M., Moreno, E. D. and Díaz, E., *Rev. Latinoamer. Quím.*, 10, 166 (1979).
- 20.- Soriano-García, M., Equivel, B., Toscano, R. A. y Rodríguez-Mahn, L., *Acta Crystallographica Section C* (1987).
- 21.- Sevans, G., Bruno, M., Paternostro, M., Marco, J. L. and Rodríguez, B., *Phytochemistry*, 21, 3563 (1982).
- 22.- Ver per ejemplo Hanson, J. B. en *Terpenoids and Steroids*. Specialists Periodical Reports, Vol.4, The Chemical Society London.
- 23.- Sevans, G., Bruno, M., Paternostro, M., Marco, J. L. and Rodríguez, B., *Phytochemistry*, 21, 3563 (1982).
- 24.- Sevans, G., Raffe, D., Bruno, M. and Rodríguez, B., *Phytochemistry*, 22, 794 (1983).
- 25.- Sevans, G., Raffe, D., Bruno, M. and Rodríguez, B., *Phytochemistry*, 23, 466 (1984).
- 26.- Equivel, B., Gómez, J., Cárdenas, J., Ramamoorthy, T. P. and Rodríguez-Mahn, L., *Phytochemistry*, 22, 483 (1983).
- 27.- Rowe, J. W., *The Common and Systematic Nomenclature of Or-*

alic Sitaceanae. Third Revision (1969).

- 28.- Silverstein, R. M., Bassler, G. C. and Morrill, T. C., Identificación Espectrofotométrica de Compuestos Orgánicos. Ed. Dios, México (1960).
- 29.- Wagner, H., Seitz, R. and Letter, H., J. Org. Chem., **43**, 3039 (1978).
- 30.- Sivovich, A., San-Martín, A. and Castillo, M., Phytochemistry, **25**, 2029 (1986).
- 31.- Bohdaneš, F., Jakupovic, J., Hashemi-Hajad, M. and Haneck, S., Phytochemistry, **24**, 609 (1985).
- 32.- Monta, S., Shimizu, M. and Arizawa, M., Phytochemistry, **12**, 421 (1973).
- 33.- Coll, J. C. and Bowden, B. F., J. Natural Prod., **49**, 934 (1986).
- 34.- Still, W. C., Kahn, E. and Mitra, A., J. Org. Chem., **43**, 2929 (1978).