



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE SALVIA ATROPAENULATA EPL. Y SALVIA ASPERA MART. ET GAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

Q U I M I C O

P R E S E N T A :

FRANCISCO GUERRERO GALICIA



TESIS CON
FALLA IE CRGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

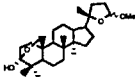
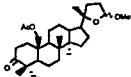
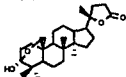


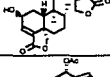
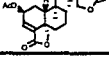
Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

INDICE DE TEMAS

INTRODUCCION	7- 8
ANTECEDENTES	9- 23
PARTE TEORICA	24- 39
CONCLUSIONES	40
PARTE EXPERIMENTAL	41- 51
ESPECTROS	52- 78
BIBLIOGRAFIA	79- 82

INDICE DE ESPECTROS POR COMPUESTO

CLAVE	ESTRUCTURA	ESPECTROS
III		3.0, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4
III A		3.5, 3.6, 3.7, 3.8
IV		4.1, 4.2, 4.3
V		5.1, 5.2, 5.3
VA		5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9
VI		6.1, 6.2, 6.3
VIA		6.4, 6.5, 6.6

INTRODUCCION

El hombre desde que su entendimiento le permitió empezar a interesarse y conocer el medio ambiente, logró de manera empírica y lenta dominar algunas de las fuerzas naturales a que se enfrentaba día a día si pretendía sobrevivir. Para lograr asentar el conocimiento tuvo que experimentar en su propia vitalidad, así por ejemplo: comprendió que el cocimiento de la carne mejoraba su sabor y textura, aprendió que las pieles de los animales si las curtía le servían mejor para protegerse contra el frío, elaboró tinturas vegetales para hacer sus pinturas en numerosas cuevas como las de Lascaux, en el SO de Francia que se cree que estan ahí desde hace mas de 5000 años ¹. También comprendió que ciertos vegetales le servían como alimento, otros como curación y, aunque no sabía a ciencia cierta el cómo y el por qué de estas cosas, si conocía su aplicación y el beneficio que obtenía.

Evolucionó el hombre, y con él, el conocimiento y surgieron hombres que sistematizaron lo aprendido por gente que a lo largo de su vida descubrieron cosas útiles.

Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus Ab Hohenheim (Paracelso) ² fue un hombre a quién no le bastó la información de su tiempo para tener un conocimiento mas organizado y real de los fenómenos, por lo que se asomó a la Teología, la Astrología, a los seres Humanos, a los animales, a las plantas y hasta a la magia.

Carlos Linneo (~1750) que realizó su doctorado en Holanda, en 1753 publicó el libro "*Species Plantarum*" en el cual dio a conocer su sistema binario que era una abreviación de un sistema de 12 palabras en latín para clasificar a los organismos vivos. Esta publicación contenía alrededor de 6000 especies en 1000 géneros ³.

Entre las culturas prehispánicas, la Azteca dejó rastro de su conocimiento acerca de su entorno. Esto viene al caso porque existe un manuscrito que data de 1552 en el cual se reunieron los conocimientos de la medicina indígena, la que estaba basada ampliamente en plantas medicinales. Esta obra permaneció en el olvido por mas de tres y medio siglos, manteniendo también en el olvido gran parte del saber que los indígenas tenían sobre su flora.

Esta obra, que en su formato original está escrito en náhuatl se conoce actualmente como el *Códice Badiano* ⁴.

En lo que respecta a la flora actual del país; las plantas del género *Salvia* de la familia de las Labiadas, han mantenido gran importancia debido a las propiedades medicinales que presentan.

Estas propiedades son un punto importante dado que abre un campo de investigación en el área de productos naturales como es la actividad biológica de los metabolitos secundarios, a los cuales se les puede desarrollar a escalas mayores para su aplicación en el área de la salud y la agricultura

Además de presentar actividad biológica, el hecho de que las plantas del género *Salvia* son abundantes en nuestro país, da mayor interés a la investigación de estas plantas.

En el mundo existen aproximadamente 180 géneros con 3500 especies de Labiadas, y en México hay alrededor de 550 especies que pertenecen a 42 géneros de los cuales los principales son *Salvia* e *Hyptis*, de estos el predominante es el género *Salvia* con 300 especies aproximadamente ⁶.

El campo de investigación en productos naturales en nuestro país, se ve favorecido por una gran biodiversidad vegetal que es la quinta en el mundo. Esta es una ventaja que debe ser aprovechada con toda la delicadeza que demanda la protección de la ecología.

Con estos antecedentes se establecieron los siguientes objetivos :

- * Aumentar los conocimientos de la flora mexicana y en especial del género *Salvia* (*Labiatae*) del cual se esta realizando una investigación sistematica
- * Aislamiento y caracterización de los metabolitos secundarios para contar con criterios encaminados hacia un mejor entendimiento de la taxonomía.
- * Determinación de la actividad biológica de los metabolitos secundarios en sistemas vivos que interrelacionan con la actividad humana.

La meta de este trabajo es la culminación satisfactoria de los objetivos establecidos como una manera de expresar la realización profesional y de manera paralela a la formación personal

ANTECEDENTES

La familia de las Labiadas cuenta con una gran riqueza en especies en el territorio Mexicano lo cual ha despertado el interés en materia de investigación fitoquímica, además de tener buena aceptación por la población, ya que a algunas especies se les atribuyen propiedades curativas, entre ellas a especies del género *Salvia*.¹¹

Ahora bien, las especies vegetales que estudia el presente trabajo se pueden describir morfológicamente de la siguiente manera :

Salvia aspera Mart et Gal. : es frecuente en suelo calizo semiárido llegando a crecer hasta 2 m; tallos cuadrangulares, sus hojas glandulo pubescentes, deltoideas, rugosas miden hasta 2.5 cm; tiene flores amarillas monopétalas tubulosas dispuestas en brácteas axilares y tiene 13 a 21 mm de corola ϕ , 7. La clasificación botánica esta representado en el **ESQUEMA I**.

Salvia atropaenulata Epl. : arbusto que llega a medir hasta 1 m, tallos cuadrangulares, flores azules dispuestas en brácteas de aproximadamente 2 cm de largo. Frecuente en la Sierra Madre del Sur ϕ , 7. Su clasificación esta representada en el **ESQUEMA II**.

La investigación fitoquímica de las diferentes secciones del género *Salvia* que se encuentran en la República Mexicana, se ha llevado a cabo como parte del estudio sistemático de Labiadas Mexicanas, y revela que la sección *Conzattiana* está formada por tres especies: *oaxacana*, *aspera* y *pexa*. En un estudio preliminar de *S. aspera*, el cual no se concluyó, se aisló kerdinólida, compuesto aislado anteriormente de *S. keerii* y al cual se refiere mas adelante por su actividad biológica. Por lo tanto el presente trabajo de *Salvia aspera* Mart. et Gal. es el primer estudio completo de una especie de la sección *Conzattiana*. Tambien es importante mencionar que este trabajo previo de *Salvia aspera* se realizó con una población de distinta procedencia a la trabajada en esta tesis.

Resulta común encontrar que algunas especies que botánicamente se encuentran clasificadas en un mismo género, sección ,etc. presenten compuestos que guardan una relación estructural, pero a veces dos o mas especies no pueden ser clasificadas por sus características morfológicas; es cuando esa correlación estructural de metabolitos secundarios juega un papel importante en la taxonomía.

Los productos naturales vegetales abarcan una gama muy grande de tipos de compuestos químicos, dado que cada compuesto tiene una función en el metabolismo de un determinado vegetal.

Para tal objetivo la naturaleza y la evolución química ha dado como resultado una variedad de arreglos moleculares para construir los diferentes metabolitos que requieren las plantas.

CLASIFICACIÓN BOTÁNICA 4.9

	ESQUEMA I	ESQUEMA II
REINO	VEGETAL	VEGETAL
DIVISION	MAGNOLIOPHYTA	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	MAGNOLIOPSIDA	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	ASTERIDAE	ASTERIDAE
ORDEN	LAMIALES	LAMIALES
FAMILIA	LABIATAE	LABIATAE
GENERO	SALVIA	SALVIA
SUBGENERO	CALOSPHERE	CALOSPHERE
SECCION	CONZATTIANA	BRIQUETIA
ESPECIE	ASPERA	ATROPAENULATA

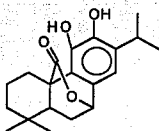
De esta manera hoy se conocen compuestos como los carbohidratos, azúcares, sustancias reguladoras del crecimiento, aceites, grasas, ceras, esteroides, terpenoides entre los que encontramos monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos etc.; Además hay otros metabolitos como flavonas, cumarinas, glicósidos, esteroides, lignanos, etc.¹⁰

Los metabolitos secundarios encontrados en las especies analizadas en este trabajo fueron del grupo de los diterpenos (clerodanos) y de los triterpenos (damaranos). Este tipo de compuestos provienen de la ruta sintética del ácido mevalónico que se muestra mas adelante.

Actualmente existe amplia información sobre estructura y actividad de este tipo de metabolitos secundarios y conforme a esto, los datos que se obtengan ayudaran a fortalecer este esquema de estudio. Esta base de datos comprende como familia vegetal importante a las Labiadas por la riqueza que poseen sus especies en compuestos con alguna actividad biológica. Así por ejemplo, se sabe que metabolitos de tipo fenólico y derivados del ácido cinámico son especialmente activos;¹¹. Tal es el caso del ácido caféico, que es activo contra *Mycobacterium tuberculosis*, *Corynebacterium diphtheriae* y *Staphylococcus proteus*. Para este estudio se consideró que 1.44 mg del ácido caféico equivale a 10 unidades de penicilina y es el límite más bajo para que una sustancia sea considerada como antibiótico. También se ha encontrado que metabolitos del tipo terpenoide poseen actividad antibacteriana y viroestática, por ejemplo se sabe que en medicina tradicional se ha usado el extracto alcohólico de *Marrubium vulgare* para distintos padecimientos. Además de la actividad viroestática contra varios tipos de herpes ¹¹.

En una población de *Salvia officinalis* se encontró un diterpeno con actividad bacteriostática con esqueleto de abietano al cual se le conoce como carnosol ¹¹.

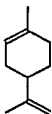
11



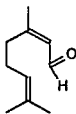
Carnosol

Se determinó actividad biológica del carnosol contra *Staphilococcus*, *E. coli* y contra *Ephichenophytes* ¹¹.

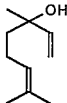
Los compuestos encontrados en especies de Labiadas han demostrado actividad colerética, carminativa y espasmolítica. Varios investigadores han comprobado que estas propiedades se deben al eugenol y terpenos encontrados en los aceites esenciales, como son el limoneno, el citral, el linalool, entre otros¹¹.



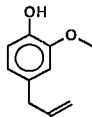
Limoneno



Citral

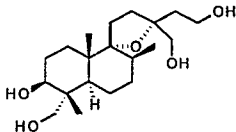


Linalool



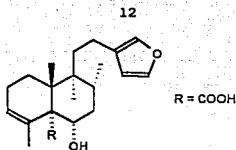
Eugenol

En Asia Central se prepara un té con una planta, *Lagochilus inebrians* con el propósito de obtener un efecto sedativo. Ahora se conoce la estructura del diterpeno que provee esta actividad y se le dió el nombre de Lagochilina ¹¹.



LAGOCHILINA

En especies Mexicanas de *Salvias* se han encontrado compuestos con importantes propiedades farmacológicas; así por ejemplo de *Salvia kearllii* se aisló un neo-clerodano conocido como ácido kerlínico. Este compuesto resultó ser antiprotozoario, específicamente contra *Trypanosoma cruzii*.¹²

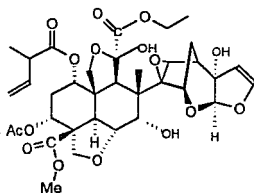


Acido knerlínico

Otras substancias con esqueleto de neo-clerodano que actúan como reguladores de crecimiento fueron aisladas de *Salvia melissodora* y *S. fulgens* ¹².

Un aspecto importante, que en nuestros días adquiere un amplio valor económico debido al amplio mercado al que tiene acceso, es el desarrollo de insecticidas. Dentro de este contexto se están desarrollando métodos alternativos para la protección de los cultivos mediante el uso de nuevos agentes protectores; que pueden ser indirectos o directos y que se desean sean biodegradables y muy específicos ^{13,14}.

Entre los insecticidas, producto de recientes investigaciones, y que han probado positivamente su efectividad, están los semioquímicos (substancias químicas que controlan el comportamiento de insectos). Los semioquímicos son insecticidas indirectos de origen vegetal entre los que se encuentran las feromonas y los antialimentarios principalmente ¹³. A pesar de su alta efectividad, actualmente no se ha extendido su utilización dado que a la fecha solo se sabe del uso de un antialimentario natural conocido como azadiractina ^{13,14}.



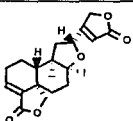
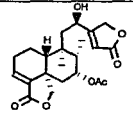
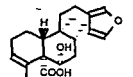
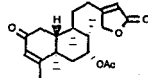
Azadiractina

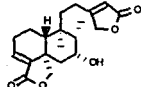
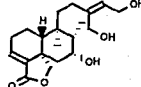
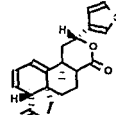
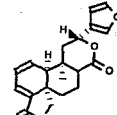
Este tipo de productos naturales con actividad antialimentaria varían estructuralmente, pero los más importantes proceden de arreglos tipo terpenoide ¹⁴; y dentro del grupo de los terpenos resaltan por su mayor actividad compuestos con esqueleto de clerodano que son diterpenos que pueden variar en grado de oxidación, sustituyentes, etc.

Los clerodanos son particularmente abundantes en plantas de la familia *Labiatae*, y las investigaciones de géneros pertenecientes a esta familia han dado como resultado el aislamiento de muchos compuestos de este tipo.

En México el estudio de las *Salvias* ha dado sus frutos en lo que respecta a metabolitos secundarios con esqueleto de clerodanos con actividad antialimentaria, aunque también se han aislado compuestos con estructuras de abietanos que son particularmente abundantes en *Salvias*; sin embargo no se les ha determinado actividad antialimentaria. Algunos de los resultados obtenidos de estas investigaciones se encuentran en la **TABLA I**

TABLA I

ESPECIE	POBLACION	REFERENCIA
<i>S. keerli</i> Benth	Oaxaca	13
		
kerlina 50 ppm; M= 42.7 * con <i>S. exiqua</i>	Kerlinólida 100 ppm; M= 40.74 * con <i>S. littoralis</i>	
<i>S. keerli</i> Benth	Querretaro	15
		
	Ac. Kerlínico 100 ppm M= -1 * 50 ppm; M= 8 * con <i>S. littoralis</i>	
<i>S. lasianta</i> Benth		13
		
	Lasiantina 100 ppm; M= 40.1 * 50 ppm; M= 24.3 * con <i>S. exiqua</i>	

<i>S. melissodora</i>	Edo. de México	16
		
DSM 100 ppm; M= 32 * 50 ppm; M= 43 * con <i>S. littoralis</i>		
<i>S. lineata</i> Cav. Sección fulgones		13
		
1 (10)- dehidrosalviarina Activo a 100 ppm; M= 66 * 10 ppm; M= 55 * con <i>S. littoralis</i>	Linearolactona 100 ppm; M= 17.55 * 50 ppm; M= -26.53 * con <i>S. littoralis</i> 100 ppm; M= 12.9 * 50 ppm; M= 0.8 * con <i>S. exigua</i>	

* ensayo de elección (ver página 38)

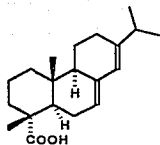
BREVE HISTORIA DE LOS DITERPENOS

El término diterpenoide se empezó a usar después de 1955 y ahora se le considera sinónimo de diterpeno y se define como un esqueleto constituido por 20 átomos de carbono o por 4 unidades de isopreno (C₅H₈)¹⁴.

La investigación en diterpenos tuvo sus inicios cuando se trabajó la brea obtenida de los pinos. Esto es, de los residuos no volátiles de la manufactura tradicional del aguarrás que se obtiene del exudado oleo-resinoso de los árboles de la familia de las Pináceas.

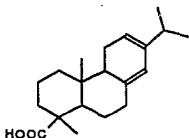
De la mencionada resina ácida se obtenía una mezcla muy compleja, ya que los ácidos presentes tenían estructuras muy similares por lo cual se dificultaba la separación.

Sin embargo se logró aislar de manera impura el ácido abiético, esto fue en 1824 y no fue sino hasta 1910 cuando se obtuvo en forma pura el ácido abiético¹⁴.

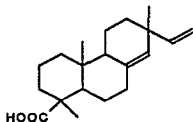


Acido abiético

En la segunda mitad del siglo XIX, Vesterberg logró obtener dos ácidos resinosos puros, uno fue el ácido dextropimárico y el otro fue el ácido levopimárico.



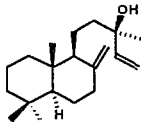
Acido levopimárico



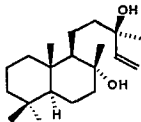
Acido dextropimárico

Por el año de 1903 una vez mas Vesterberg empleó la deshidrogenación para resolver problemas estructurales, pero fue realmente Ruzicka quién en 1921 difundió la aplicación de este método para la resolución estructural en sesqui y terpenos superiores.

Así hubo un período comprendido entre 1921-1950 conocido como la "Escuela de Ruzicka", en el cual se confirmaron mas claramente las estructuras de diterpenos ya conocidos, por ejemplo las del manool, del esclareol *.

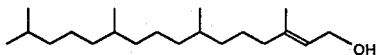


Manool

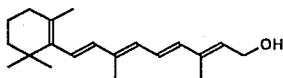


Escclareol

Fue también dentro de este período cuando se evaluó la importancia fundamental que tiene la regla del isopreno, dado que para la elucidación estructural del diterpeno conocido como fitol fué de mucha ayuda, así mismo para la elucidación de la vitamina A demostró ser una herramienta verdaderamente útil.



Fitol

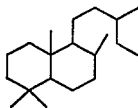


Vitamina A

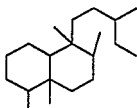
Para la versatilidad en elucidación estructural hubo necesidad de que entraran en juego conceptos y bases biogénéticas, ya que la bioquímica de los vegetales es la que determina el tipo de metabolitos que estas sintetizan. Fue así como Ruzicka (1953) publicó un trabajo "*Biogenetic Isoprene Rule*", que establece en su parte fundamental, que estructuras terpenoides puedan relacionarse con sus precursores biogénéticos, tales como : geraniol, farnesol, geranilgeraniol, etc. para hacer deducciones estructurales acordes con lo propuesto por las rutas biogénéticas. A partir de esa época (1950) la investigación en diterpenos empezó a acelerar su paso, ya que se encontraron nuevas estructuras, nuevos esqueletos.

Así para 1970 se conocían aproximadamente 650 diterpenos agrupados en 70 diferentes esqueletos. Ahora es común encontrar en cualquier manual de terpenos mas de 2000 diterpenos descritos contenidos en 176 esqueletos diferentes.

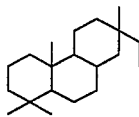
El analisis de las estructuras establece que cerca del 50% de los diterpenoides encontrados están contenidos en 7 principales esqueletos los cuales se muestran a continuación ¹⁴.



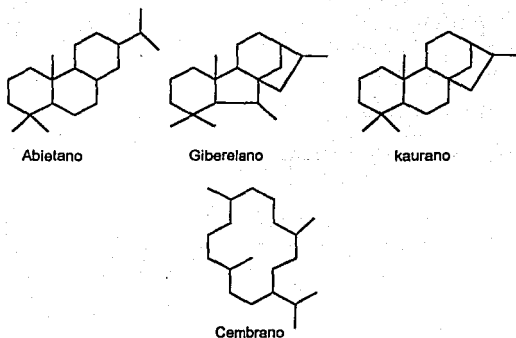
Labdano



Clerodano



Pimarano



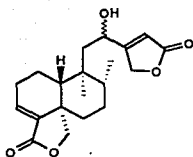
Todas estas estructuras muestran características que las relacionan con la ruta biogénica del ácido mevalónico; esto es, algunas tienen un isopropilo, otras el gem dimetilo y además se identifica la unión de unidades isopreno que identifican claramente a esta ruta biogénica, la cual se muestra mas adelante.

La ruta del ácido mevalónico es muy común y se inicia con 2 moléculas de acetil coenzima A; la cual puede provenir de la degradación tanto de carbohidratos, ácidos grasos u otro tipo de sustratos.

El ácido mevalónico es también precursor de los esteroides ^{17, 18} como el colesterol, sitosterol, ergosterol, ect. Así mismo lo es de sesquiterpenos y de triterpenos pentacíclicos. Las rutas biogénicas de estos metabolitos se presentan mas adelante.

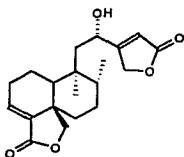
Dada la relevancia de los clerodanos por sus propiedades farmacológicas, corresponde una breve retrospectiva de estructuras de compuestos con estructuras parecidas a los que se describen en este trabajo. En este sentido la literatura informa de una distribución bastante amplia de los clerodanos en el Reino Vegetal. Se les ha encontrado en algunos géneros de las Familias *Annonaceae*, *Aristolochiaceae*, *Menispermaceae*, *Portulacaceae*, *Floccourtiaceae*, *Cistaceae*, *Caesalpinaceae*, *leguminosae*, *Mimosaceae*, *Euphorbiaceae*, *Rutaceae*, *Spindaceae*, *Verbenaceae*, *Labiatae*, *Scrophulariaceae*, *Compositae*, *Alismaceae*, *Orchidaceae* y *Araucariaceae* ⁹. Algunos de los mas relevantes se muestran a continuación. Entre ellos un neo-clerodano, la olearina, de *Olearea heterocarpa* (*Compositae*) ¹⁹, cuya estructura se muestra a continuación.

18



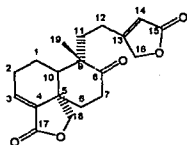
OLEARINA

Otro ejemplo importante de un diterpeno clerodánico es el marrubiastrol aislado de *Leonurus marrubiastrum* (*Labiatae*)²⁰ que posee una estructura muy semejante a los diterpenos encontrados en este trabajo.



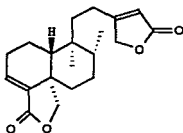
MARRUBIASTROL

Un clerodano que fue caracterizado por Rayos X muestra la siguiente estructura :



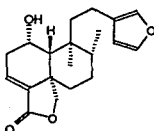
Este metabolito fue aislado de *Leonurus marrubiastrum* (*Labiatae*)²¹ y se trata de un seco-clerodano. Hay datos de estudios de actividad biológica de este metabolito aislado de flores y hojas de *L.marrubiastrum*.

En la familia de las *Compuestas* un género particularmente importante por la alta proporción de diterpenos que poseen, en especial clerodanos, es el género *Baccharis*. Ejemplos importantes se encontraron en poblaciones colectadas en Chile, como la desoxiarticulina aislado de *B. pedicellata*²² por primera vez en 1987.



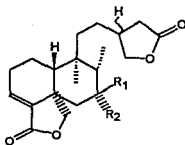
DESOXIARTICULINA

Otro producto clerodánico fue aislado de *B. conferta*, de una población colectada en el Valle de México en 1973 y recibe el nombre de bachofertina (2)



BACHOFERTINA

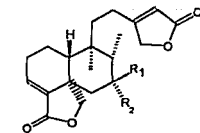
Werner Herz y colaboradores²⁴ en un estudio sobre *B. trimera* encontraron algunos diterpenos dilactonas como los que se muestran a continuación.



R₁
R₂
R₁ y R₂

1a
H
H

1b
H
OH

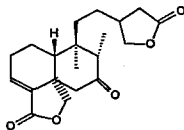


2a
H
OH

2b
=O

La estereoquímica del C_{13} de los compuestos **1a** y **1b** no fue posible establecerla por métodos espectroscópicos. Sin embargo, **1a**, **1b** y **2a** guardan una estrecha relación. Se obtuvo además por primera vez **2b** como producto de la oxidación de **2a** y se caracterizó por difracción de Rayos X.

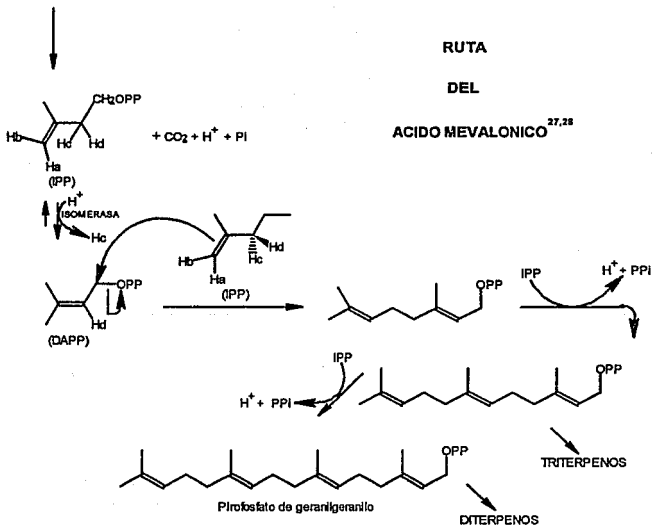
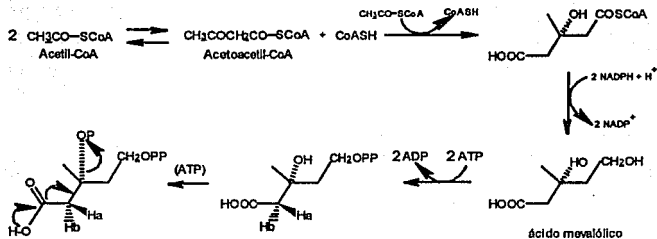
Otros compuestos que guardan una estrecha relación estructural con los aislados de *B. trimera* son los encontrados por Bohlmann y colaboradores.²⁵ en otras especies del mismo género. Estos diterpenos son clerodanos dilactonas como los anteriores. Así se propusieron las estructuras **1b** y **3a** basadas en los datos espectroscópicos.

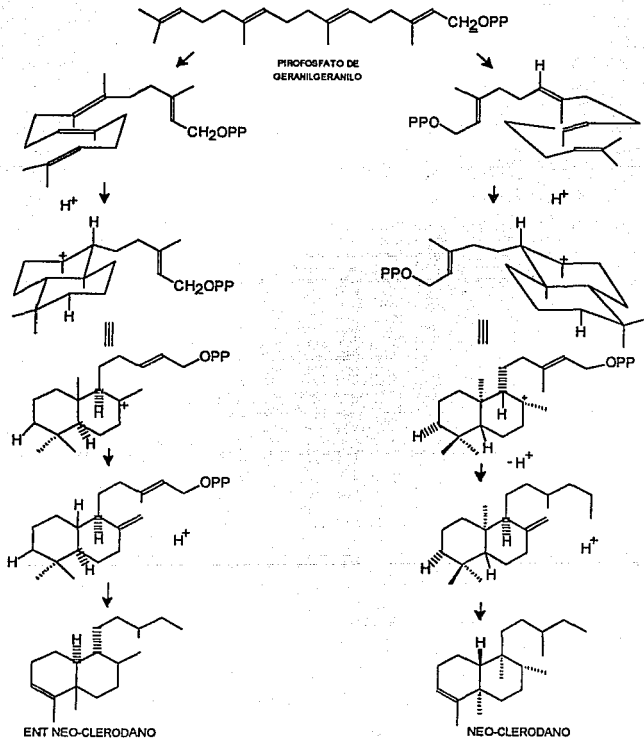


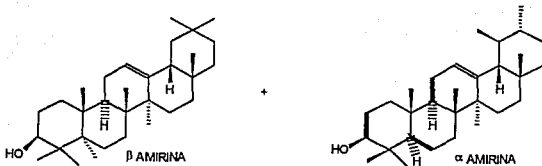
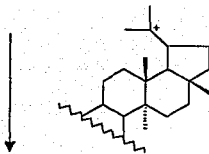
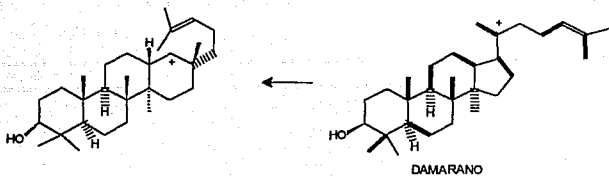
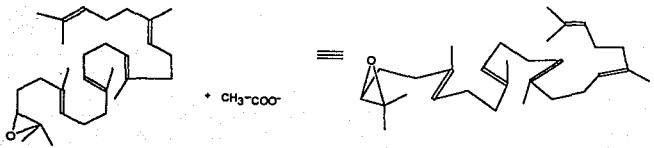
3a

Otros datos interesantes sobre *Salvias* con actividad antialimentaria contra insectos se pueden ver en la TABLA I (pag. 13).

Algunas especies con esta actividad podrían ser evaluados como valiosas alternativas en el campo de los insecticidas; ya que este tipo de compuestos insecticidas de origen natural causan muchos menos perjuicios al medio ambiente, además de otros atributos y propiedades que los hacen mas efectivos.



BIOGENESIS DEL ESQUELETO CLERODANO²⁹

BIÓGENESIS DE TRITERPENOS TETRACICLICOS Y PENTACICLICOS ¹⁸


PARTE TEORICA

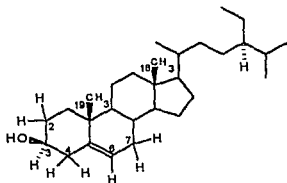
En esta sección se dará importancia primordial a los compuestos nuevos discutiendo someramente a los ya descritos.

El primer compuesto aislado en este trabajo fue el β -sitosterol, siendo este un esteroil muy común en *Salvias*. Fue identificado dado que se encontraron propiedades físicas como el pto. de fusión, apariencia externa y R_f idénticas al de una muestra perfectamente pura y conocida de β -sitosterol.

El IR muestra la banda en 3610 cm^{-1} correspondiente a un OH, otras bandas intensas en 2959 , 2937 y 2889 cm^{-1} debidas al alargamiento del enlace C-H de las cuales tiene muchas el β -sitosterol; además de las bandas en 1464 y 1380 cm^{-1} en la zona dactilar. Además de coincidir el R_f de este compuesto con el de una muestra auténtica de β -sitosterol, la espectroscopia de IR y de RMN fue acorde con lo descrito en la literatura ^{30, 31}.

El M^+ en el espectro de masas tiene una relación m/z de 414 que corresponde a una fórmula condensada $C_{28}H_{50}O$.

El β sitosterol posee la siguiente estructura :



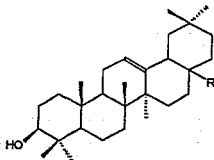
COMPUESTO I (β - SITOSTEROL)

El siguiente compuesto, se identifica como el ácido oleanólico y se ha encontrado en el $\sim 90\%$ de las *Salvias* estudiadas en México. Este compuesto se aisló de los productos sólidos que precipitaron durante la evaporación del disolvente de maceración mediante una extracción exhaustiva con metanol y hexano; obteniéndose por cristalización del producto soluble en metanol.

Su presencia se justificó con base en las propiedades físicas, químicas y espectroscópicas que poseen los triterpenos de este tipo. Este producto precipitó en grandes cantidades durante la elución de las fracciones menos polares, lo cual sucede usualmente durante el trabajo experimental de *Salvias*.

Además se corrió una c.c.f. comparativa con una muestra perfectamente identificada, confirmando así su identidad.

Por otro lado se llevó a cabo una esterificación con diazometano de este triterpeno con el objeto de obtener el éster metílico, lo cual es fácil de corroborar por espectroscopía de masas si observamos el aumento de 14 unidades de masa y siendo ahora el pico con m/z 470 que corresponde al ión molecular, además el pico base es ahora 203.3 debido a la pérdida primeramente de la función éster, es decir COOCH_3 , de m/z 59.04 y posteriormente la ruptura por el mecanismo retro Diels-Alder.

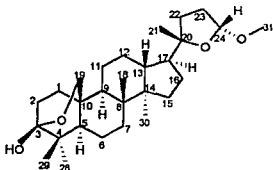


COMPUESTO II (AC. OLEANOLICO) $\text{R} = \text{COOH}$ (m/z 456.709)
OLEANOLATO DE METILO $\text{R} = \text{COOMe}$ (m/z 470.74)

COMPUESTO III

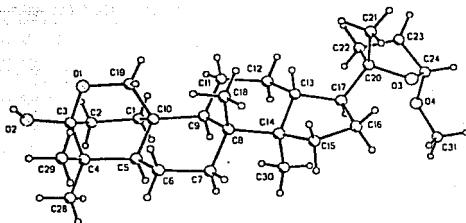
El siguiente compuesto fue aislado por cristalización de metanol de las fracciones eluidas al 75% de AcOEt / hexano obteniéndose como producto cristalalino blanco que funde a $165^{\circ}\text{--}170^{\circ}\text{C}$

A este compuesto se le asignó la estructura III de manera inequívoca con base en los resultados a la difracción de rayos X (FIGURA I), corroborándose por la espectroscopía del producto natural y de sus derivados acetilado y oxidado, dejando en claro que posee la estructura de un trinor- damarano que resulta ser novedoso dado que no se había aislado con anterioridad un metabolito secundario de esta naturaleza de *Salvias Americanas*.



COMPUESTO III

FIGURA 1



El análisis del espectro de IR muestra señal en 3589 cm^{-1} asignada al hidroxilo, señales en 1467 y 1376 cm^{-1} para los metilos y metilenos de la molécula, además una señal intensa en 1035 cm^{-1} para una unión C-O de acetal y otra menos intensa en 1002 cm^{-1} que muy probablemente se deba a la unión C-O del cetol (estas señales podrían ser invertidas).

En el espectro de RMN ^1H se observa una señal desplazada a $\delta = 4.9135$ ppm como un doble de dobles con $J = 2.4$ y 4.1 Hz que se asigna al H_{24} . Se observa además el sistema ABXY para los H_{19} (pro-R y pro- S), en donde cada rama del doblete para el H_{19} pro-S en $\delta = 4.249$ ppm muestra un acoplamiento a larga distancia de tipo W con el H_1 axial con una $J = 2.6$ Hz; así mismo el doblete para el H_{19} pro -R en $\delta = 3.74$ ppm muestra un acoplamiento W con el H_2 con una $J = 1.78$ Hz. El acoplamiento geminal de los H_{19} tiene una constante de acoplamiento de $J = 8.8$ Hz.

La señal para el OMe está en $\delta = 3.32$ y 3.30 ; es decir hay dos señales y las dos integran para 3 hidrógenos, lo cual indica que se trata del espectro de una mezcla epimérica.

Sin embargo la información de difracción de rayos X indica que solo uno de ellos es el que cristaliza.

El producto tiene 5 metilos y todos ellos estan sobre carbonos saturados por lo que deben observarse como singuletes en el espectro de RMN ^1H ; sin embargo existen señales dobles que corresponden a la mezcla epimérica. Así las asignaciones se hicieron en base al análisis del espectro de RMN ^{13}C a ^1H ., además de correlacionar las señales con datos que se describen para estructuras parecidas en la literatura. En la siguiente tabla se muestran las señales para los metilos en damaranos de este tipo :

	Me-18	Me-21	Me- 28	Me-29	Me-30
δ ^1H	0.87	1.1	1.02	0.92	0.83
	0.88	1.1			0.84
δ ^{13}C	15.28	23.31	26.8	18.43	15.70
		28.76			15.78
REFERENCIAS :32, 33, 34					

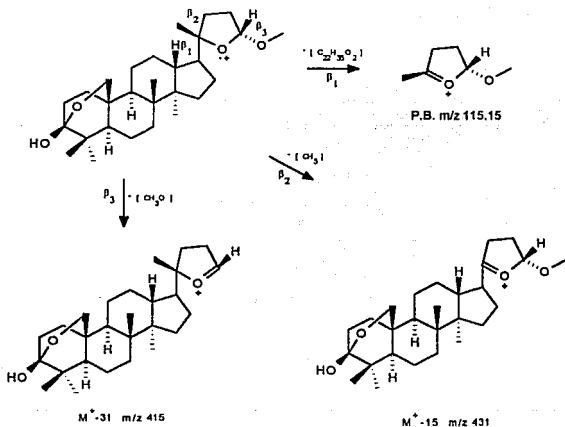
Las señales para los carbonos del resto de la molécula se encuentran en la siguiente tabla, los cuales también se correlacionaron con los datos para estructuras semejantes descritas en las referencias indicadas.

No átomo	δ ^{13}C	No. átomo	δ ^{13}C
C ₁	29.47 (t)	C ₁₂	29.29 (t)
C ₂	39.17 (t)	C ₁₃	43.36 (d)
			43.64 (d)
C ₃	98.084 (s)	C ₁₄	49.58 (s)
C ₄	35.458 (s)	C ₁₅	31.01 (t)
C ₅	50.98 (d)	C ₁₆	27.23 (t)
			27.76 (t)
C ₆	19.75 (t)	C ₁₇	45.22 (d)
			49.50 (d)
C ₇	35.53 (t)	C ₁₈	68.028 (t)
C ₈	39.20 (s)	C ₂₂	35.45 (t)
			35.11 (t)
C ₉	50.01 (d)	C ₂₃	25.88 (t)
			25.31 (t)
C ₁₀	40.43 (s)		
C ₁₁	22.57 (t)		
	22.74 (t)		
REFERENCIAS : 32, 33, 34, 35.			

La multiplicidad se asignó con base en el experimento APT

Es importante señalar que el primer damarano que se aisló de *Salvias* fue de una población de *Salvia bicolor* colectada en Málaga, España ³⁰ y ahora este otro damarano es el primer triterpeno de este tipo aislado de una *Salvia* Mexicana

El patrón de fragmentación mostrado en el espectro de masas presenta el pico base en m/z 115, el ión molecular no se observa pero debiera corresponder a una m/z 446.67 para una fórmula condensada $C_{28}H_{46}O_4$; sin embargo, si se observa el pico $M^+ - 31$ ($M^+ - CH_3O$) y también el pico $M^+ - 15$ ($M^+ - CH_3$).



La acetilación del damarano anterior con anhídrido acético, piridina y usando DMAP como catalizador, condujo al correspondiente producto acetilado en C_{19} , el cual tiene por clave IIIA

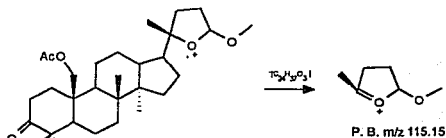
La evidencia espectroscópica sustenta la formación de un carbonilo en C_3 y la posición del acetato en C_{19} , esto es, si se analiza el espectro de IR, se encuentra la señal intensa para el $C=O$ de acetato en 1732 cm^{-1} , y la señal para el $C=O$ de ciclohexanona en 1705 cm^{-1} . Además de hallarse las señales en $1096, 1003\text{ cm}^{-1}$ para $C-O$ de acetal y cetol (interconvertibles).

La señal que se observa como un singlete en el espectro de RMN ^1H en $\delta = 1.957$ ppm que integra para 3 hidrógenos se atribuye al acetato que se forma en C_{19} . Además hay un cambio notable en el sistema ABXY con respecto al compuesto no acetilado en la señal del H_{19} pro- S; esto es, el doblete centrado ahora en $\delta = 4.058$ ppm con $J = 11.6$ Hz ya no presenta el acoplamiento a larga distancia de tipo W, lo cual es un dato que confirma la presencia del acetato en C_{19} .

La señal para el H_{19} pro- R en $\delta = 4.2315$ ppm sí presenta el acoplamiento W con H_1 α axial con una $J = 3.4$ Hz además del acoplamiento geminal con el H_{19} pro- S con una $J = 11.6$ Hz. La mayoría de las señales restantes no presentan cambios notables.

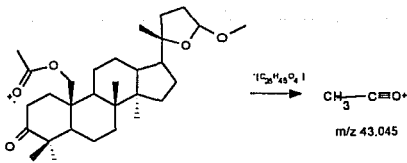
La espectrometría de masas de este producto no presenta el ión molecular que debiera tener una m/z 488.70 para una fórmula condensada $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$.

El pico base proviene de la siguiente fragmentación:



COMPUESTO IIIA

Otro ión importante es el $\text{M}^+ - 445.6$ ($\text{M}^+ - \text{C}_{28}\text{H}_{45}\text{O}_4$) que corresponde al ión m/z 43.04 y es asignado a un ión acilo.



Este producto de reacción tampoco se encuentra descrito en la literatura.

COMPUESTO IV

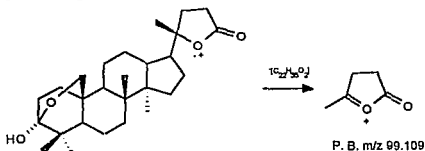
De la fracción 62 eluida con 75% de AcOEt / hexano se aisló una pequeña cantidad (~ 5 mg) de un producto blanco que fundió a 154°-156° C.

El IR de este compuesto mostró una banda en 3590 cm^{-1} asignada a un grupo oxhidrilo, otra señal en 1758 cm^{-1} para un C=O de γ lactona, otra mas en 1065 cm^{-1} para una union C-O de acetal.

Lo mas sobresaliente de este compuesto en el espectro de RMN ^1H resulta ser el mismo sistema ABXY que para el compuesto III, lo cual hizo pensar que se trataba del mismo esqueleto estructural y solo con alguna modificación en alguna parte de la molécula.

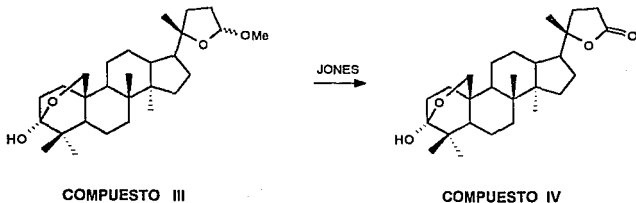
De tal manera que la señal que se encuentra a campo mas bajo es una de las ramas del sistema ABXY se encuentra centrada en $\delta = 4.239$ ppm con J =2.76 y 8.6 Hz y la otra parte del sistema en $\delta = 3,734$ ppm con J = 1.84 y 8.74 Hz.

El espectro de masas fue esencial en este caso, dado que ahora el pico base es m/z 99.1 que proviene de la siguiente fragmentación.



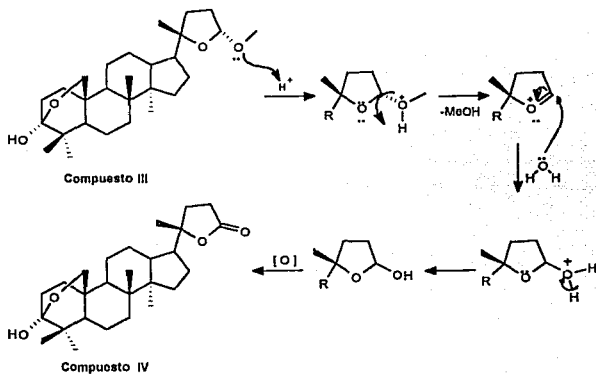
El ión moléculas tiene una m/z de 430 que corresponde a una fórmula condensada $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_4$

Dado que este compuesto se encontró como producto natural, se podría especular que el compuesto III por una reacción de oxidación se transforme en el compuesto IV. Para comprobar esta hipótesis se realizó la oxidación del compuesto III con el reactivo de JONES.



Esta transformación fue confirmada por el análisis del producto con espectroscopia de infrarrojo y por c.c.f. comparativa.

Una secuencia sintética probable para la transformación del compuesto III en el compuesto IV es la siguiente:



Sin embargo es muy probable que del hemiacetal intermedio propuesto en esta secuencia se pueda generar el compuesto III.

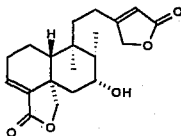
El compuesto IV no se ha encontrado descrito en la literatura.

COMPUESTO V

Este compuesto se aisló de las fracciones eluidas al 75 % de AcOEt / hexano y se le asignó la estructura V.

Ahora bien, se tiene como antecedente importante que los diterpenos más comúnmente encontrados en *Salvias* son los clerodanos, abietanos, pimaranos y algunas veces labdanos; esta información nos reduce los posibles esqueletos a los que puede pertenecer este compuesto.

Este compuesto fue identificado inmediatamente como un clerodano con fusión de anillos A/B trans como se muestra en la siguiente estructura :



COMPUESTO V

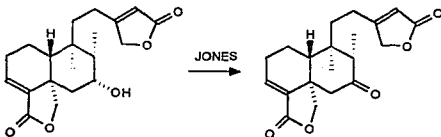
El ión molecular en el espectro de masas tiene una m/z 346.42 que corresponde a una fórmula condensada $C_{20}H_{26}O_5$.

Este compuesto ha sido aislado con anterioridad ^{9, 15, 24, 25, 37}, por lo que la comparación directa de los datos espectroscópicos y experimentales encontrados con los descritos, fue suficiente para proponer su estructura, además de confirmar su identidad por c.c.f. comparativa con una muestra auténtica.

El dato de rotación óptica indica que se tiene el mismo enantiomero, es decir, el levógiro.

COMPUESTO VA

Este compuesto se obtuvo por la oxidación de V al tratarlo con el reactivo de Jones con el propósito de transformar el grupo OH en C₇ al correspondiente carbonilo



El espectro de IR dio las señales esperadas, tal como la desaparición de la señal en 3624 cm^{-1} para el OH y apareció ahora una banda de mediana intensidad en 1712 cm^{-1} para un carbonilo de ciclohexanona.

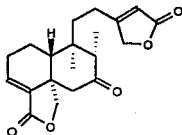
En el mismo espectro se observa ahora una mejor resolución para las diferentes y lactonas α , β -insaturadas; ya que se observa una banda intensa en 1777 cm^{-1} y otra banda en 1752 cm^{-1} , además de observarse las bandas adicionales para el resto de la molécula.

El espectro de masas presenta un ión molecular M^+ m/z 344.4 que es el esperado para una pérdida de 2 unidades de masa. El M^+ con m/z 344.4 corresponde a una fórmula condensada $C_{20}H_{24}O_5$ y además presenta el mismo pico base m/z 91.1 que el diterpeno no oxidado.

En el espectro de RMN 1H se tienen cambios importantes; tal es el caso del sistema ABX en donde se observa que la señal del H_{19} pro-R se encuentra centrada ahora en 4.1075 ppm y presenta una $J = 8.2\text{ Hz}$; es decir se desplazó a campo alto debido a la ausencia del efecto desprotector que ejercía el OH en C_7 ; siendo que todo el sistema ABX abarcaba el rango de $3.92\text{--}5.30\text{ ppm}$ cuando estaba el OH, y ahora que está el carbonilo el rango donde se sitúa es $3.97\text{--}4.10\text{ ppm}$; es decir, un rango más estrecho. La constante de acoplamiento para H_A con H_B se modifica un 0.7 de ppm.

Otro grupo de hidrógenos que modifican significativamente su desplazamiento son los hidrógenos del Me-20; de tal manera que ahora su señal, un singulete, se encuentra en 0.694 ppm sufriendo un $\Delta\delta = 0.22\text{ ppm}$ hacia campo alto debido a la ausencia de la interacción 1,3 diaxial que tenía con el OH α axial de C_7 . El resto de las señales no muestran un cambio en el desplazamiento químico que sea directamente afectado por la modificación en la estructura de la molécula al llevar a cabo la oxidación, puesto que presenta el mismo patrón de señales que el compuesto V.

Los datos espectroscópicos se compararon directamente con los descritos por los trabajos de Herz *et al* ²⁴ y Bohlmann *et al* ²⁵ con lo cual se confirma la estructura del compuesto VA.



COMPUESTO VA

Este diterpeno fue obtenido por primera vez por Werner Herz *et al* ²⁴ como producto de oxidación del correspondiente diterpeno (V) aislado de *B. trimera*.

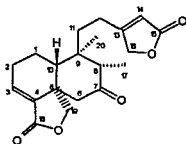
Por otro lado se encontró como producto natural un compuesto diterpénico con propiedades físicas (P.F., apariencia, color, solubilidad y Rf.) y espectroscópicas (IR, EM y RMN.) idénticas a las del compuesto VA.

Dado que este compuesto no ha sido aislado como producto natural se consideró pertinente llevar a cabo mas experimentos espectroscópicos que apoyaran de manera contundente la existencia de este compuesto como producto natural.

En la literatura no se encuentran datos de un análisis de RMN ^{13}C , y dado que este experimento aportaría fundamentos que apoyen la estructura, se eligieron los experimentos de APT y DEPT. A continuación se muestran los resultados :

No. átomo	δ (ppm)	Multiplicidad	No. átomo	δ (ppm)	Multiplicidad
C ₁	20.03	t	C ₁₁	34.6	t
C ₂	27.05	t	C ₁₂	22.11	t
C ₃	135.7	d	C ₁₄	115.3	d
C ₄	136.8	s	C ₁₅	168.8	s
C ₅	43	s	C ₁₆	72.69	t
C ₆	50.24	t	C ₁₇	7.57	c
C ₇	208.46	s	C ₁₈	167.4	s
C ₈	47.48	d	C ₁₉	70.45	t
C ₉	49.4	s	C ₂₀	18.65	c
C ₁₀	51.01	d			

La multiplicidad se asignó con base a los experimentos de APT y DEPT.

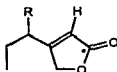


En la TABLA se puede observar una señal con $\delta = 208.46$ ppm a la que se le asignó una multiplicidad de singulete por lo que se trata de un carbono totalmente sustituido, esto en base a los experimentos de APT y DEPT. El desplazamiento químico es totalmente acorde para un carbono sp^2 unido a un átomo de oxígeno formando así un carbonilo aislado. Otras señales importantes en esta tabla son las correspondientes a los carbonilos de las lactonas.

Es claro que un factor importante que afecta al desplazamiento químico de los carbonos carbonílicos C₁₅ y C₁₈ son los grupos vecinos. Las señales en el espectro son $\delta = 168.8$ ppm y 167.4 ppm, lo cual deja una diferencia de 1.4 de ppm que no resulta descriptiva a alguno de los carbonilos.

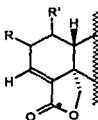
La asignación se hizo de acuerdo a lo registrado por el experimento DEPT, dado que son las únicas señales, junto con la señal para el carbonilo de C₇, que no aparecen en este espectro.

Además se utilizaron datos de la literatura donde existen numerosas estructuras semejantes y presentan los siguientes desplazamientos químicos en RMN ¹³C :



DESPLAZAMIENTOS PARA EL C₁₈

δ (ppm) *	R	Ref
173.3	H	38
170.2	H	38
173.3	H	22



DESPLAZAMIENTOS PARA EL C₁₅

δ (ppm) *	R	R'	Ref
168.0	H	H	39
168.5	H	H	40
167.8	H	H	40
168.4	H	H	41
169.1	H	H	22

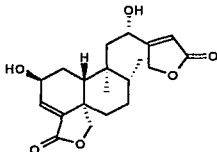
De estos datos solo se puede concluir que el carbonilo de C₁₅ se sitúa hacia campos más bajos que el carbonilo de C₁₈ y con esto se basa la asignación en este compuesto.

Los carbonos sp² C₃ y C₄ se asignaron en base al espectro DEPT y al de correlación heteronuclear (HETCOR), así mismo el resto de las señales.

Con esto se concluye que el clerodano con la estructura VA se obtuvo como producto natural, siendo esta la primera vez que se aísla como tal. Además se obtuvo como producto de oxidación.

COMPUESTO VI

Este compuesto se obtuvo de las fracciones eluidas 100% de AcOEt y es un compuesto cristalino con punto de fusión = 195°-197°C al que se le asignó la siguiente estructura, dado que también es un producto natural ya descrito que tiene el nombre de semiatrina.



COMPUESTO VI (SEMIATRINA)

Por otro lado para este compuesto se encontraron en IR las bandas en 1777 y 1750 cm^{-1} asignadas al carbonilo de las γ lactonas α , β - insaturadas, otra banda en 3463 cm^{-1} asignada a los grupos oxhidrilo, banda en 1640 cm^{-1} atribuida a dobles ligaduras. La λ max absorción a 206 nm confirma las γ lactonas α , β - insaturadas.

En el espectro de RMN ^1H se encuentran en la zona de hidrógenos vinílicos en $\delta = 6.714$ ppm donde la integral es para un hidrógeno y presenta una $J = 6$ Hz, esta señal doble corresponde al H_3 .

La señal en 5.917 ppm que integra para un hidrógeno y que presenta constantes de acoplamiento $J = 1.6, 3.4$ Hz y que se observa como un doble de dobles es asignada al hidrogeno vinílico de C_{14} .

La señal 4.91 ppm situada en el rango de hidrógenos base oxigenada y que integra para dos hidrógenos, es una señal doble con $J = 1.8$ Hz se asigna por desplazamiento químico al metileno en C_{16} .

Al hidrógeno geminal al OH en C_{12} se le asigna la señal en $\delta = 4.58$ ppm puesto que integra para un hidrógeno y su multiplicidad de doble de tripletes con $J = 2.8, 6.4$ Hz que son acordes para cuando el C_{12} es un centro asimétrico con configuración absoluta S, lo cual se apoya en el estudio de rayos X que se describe en la literatura ⁴².

El sistema ABX esta, una de las ramas, el doblete en 4.32 ppm que se asigna al hidrógeno pro- R. La otra rama, el doble de doblete esta centrado en 3.94 ppm y presenta la misma $J = 8.2$ Hz para el acoplamiento geminal del H_{10} pro-S con el H_{10} pro-R, además del acoplamiento en W con el hidrógeno β axial de C_8 , lo cual indica que el C_8 esta libre de sustituyentes.

Aparecen también dos señales que desaparecen al intercambiar con D_2O en 2.97 y 4.2 ppm.

Las señales para el metilo 20 esta en 0.635 ppm como un singulete y en 0.885 ppm para el metilo 17 que aparece como un doblete con constante de acoplamiento de $J = 6.4$ Hz.

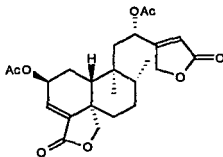
Este compuesto se hizo reaccionar con anhídrido acético y piridina para obtener el correspondiente producto diacetilado al que se le asignó la clave **VIA**.

El espectro de RMN ^1H mostró, dos señales para los acetatos en 2.106 ppm y 2.081 ppm cada una integrando para 3 hidrógenos y observados como singuletes. Además presenta una señal en 0.674 ppm que integra para 3 hidrógenos y es un singulete que se asigna a un metilo sobre carbono saturado, otra señal 0.858 ppm que integra también para 3 hidrógenos y es un doblete y se asigna a un metilo sobre CH. Se encuentra un sistema ABX, en donde una de las ramas se centra en 4.135 ppm integrable para un hidrógeno y aparece como un doble con una $J = 8.4$ Hz, la otra rama, esta contrada en 3.917 ppm y aparece como un doble de dobles con constantes de acoplamiento $J = 1.8, 8.2$ Hz.

Las señales en IR en 1780 y en 1750 cm^{-1} se asignan a los carbonilos de γ lactonas α, β -insaturadas

El espectro de RMN ^1H muestra una señal en 6.81 ppm que integra para un hidrógeno y es un doblete con $J = 6.6$ ppm que se asigna al H_3 .

Por otro lado se encuentra una señal en 4.88 ppm que integra para dos hidrógenos que es un cuadruplete en donde cada rama de este es un doblete y es asignada al metileno en C_{16} , ya que esta multiplicidad se presenta cuando estos hidrógenos forman un sistema AB, lo cual es asegurado de acuerdo con la información de un diterpeno, la oleanina, aislada de *Oleaia heterocarpa* (*Compositae*)¹⁹. De esta manera, la estructura para este compuesto es la siguiente:



COMPUESTO VIA

ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTIALIMENTARIA

Estos ensayos biológicos los llevó a cabo la Dra. Monique Simmonds del laboratorio Jodrell del Royal Botanic Garden, Kew, Richmond, Surrey, U. K.

Los diterpenos que se hallaron como productos naturales de *S. aspera* fueron sujetos a ensayos biológicos para determinar si poseen actividad antialimentaria contra *Spodoptera littoralis* y *Spodoptera exiqua*.

Se hicieron ensayos de elección y de no elección; esto es, en el ensayo de elección el insecto era expuesto tanto al diterpeno a analizar mas otra sustancia. En el ensayo de no elección el insecto se exponía únicamente al diterpeno que se deseaba analizar.

El parámetro M en el ensayo de elección cuando es mayor de 50 indica que el compuesto es muy activo, y para el ensayo de no elección un valor menor de 25 indica gran actividad.

Los resultados estan registrados en la TABLA II.

Los 4 diterpenos analizados poseen el mismo esqueleto, diferenciandose únicamente por los sustituyentes en las posiciones 2, 7 y 12.

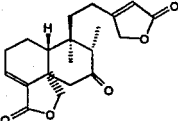
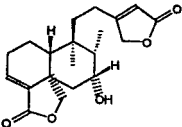


Así por ejemplo, cuando se tiene un grupo OH en posición C₂ β y otro en C₁₂, compuesto VI (semiatrina), se registra la mayor actividad contra *S. littoralis*, tanto en el ensayo de elección como en el de no elección.

Quando hay un solo OH en C₇ α axial, compuesto V, la actividad disminuye cuando se hacen los dos ensayos; sin embargo cuando el sustituyente es un carbonilo en C₇, compuesto VA, la actividad disminuye todavía mas respecto al compuesto V. Esto es, de M= 32 a M= 25.6 a 100 ppm y de M= 43 a M= 29.4 a 50 a ppm en el ensayo de elección, lo cual indica que el grupo oxhidrilo en la posición 7 confiere mayor actividad a la molécula que un carbonilo pero la actividad se obtiene mayor cuando hay hidroxilos C₂ β y en C₁₂.

La kerlinólida, con un acetato en C₇ α axial y un OH en C₁₂ β resulta ser mas específica en el ensayo de elección contra *S. littoralis* que contra *S. exiqua*, ya que la actividad es para una M= 40.74 y para la otra M= 1.2, respectivamente; lo cual le confiere la propiedad de ser mas específica contra una especie que contra otra y esto es una propiedad importante en compuestos insecticidas.

TABLA II

ACTIVIDAD ANTALIMENTARIA DE CLERODANOS

CLAVE	ESTRUCTURA	RESPUESTA	ORGANISMO
VA		100 ppm M = 25.6 *	<i>Spodoptera littoralis</i>
		50 ppm M = 29.4 *	<i>Spodoptera littoralis</i>
V		100 ppm M = 32.0 *	<i>Spodoptera littoralis</i>
		50 ppm M = 43.0 *	<i>Spodoptera littoralis</i>
		100 ppm M = 23 **	<i>Spodoptera littoralis</i>
		50 ppm M = 24 **	<i>Spodoptera littoralis</i>
VI		100 ppm M = 57.0 *	<i>Spodoptera littoralis</i>
		100 ppm M = 12 **	<i>Spodoptera littoralis</i>
		50 ppm M = 25 **	<i>Spodoptera littoralis</i>
	Semiatrina		
		50 ppm M = 40.74	<i>Spodoptera littoralis</i>
	kerlinólida	50 ppm M = 1.2 *	<i>Spodoptera exiqua</i>

* Ensayo de elección

** Ensayo de no elección

CONCLUSIONES

Se aislaron 3 diterpenos clerodánicos de *Salvia aspera*, los cuales poseen actividad antialimentaria contra *Spodoptera littoralis* y uno de los diterpenos (VA) resultó ser nuevo como producto natural.

Se determinó que el grupo hidroxilo en la posición 7 en el compuesto V es importante para la actividad antialimentaria (contra *Spodoptera littoralis*), dado que el compuesto V es activo a 100 ppm con una M= 32.0, mientras que el compuesto VA (en donde la posición 7 corresponde a un carbonilo) es también activo pero con una M= 25.6, es decir un 20% menos de actividad. Lo mismo ocurrió a 50 ppm en donde la actividad baja un 31.6%.

Se encontraron 2 nuevos trinor- damaranos de *Salvia aspera*, siendo la primera vez que se encuentran este tipo de triterpenos tetracíclicos en *Salvias* Mexicanas. Esto es un dato que se puede correlacionar a nivel taxonómico si se toma en cuenta que en 1985 se encontró el primer damarano en una *Salvia* Europea, y ahora es la primera vez que se encuentra un triterpeno de este tipo en una *Salvia* Americana.

Ademas se aisló β - sitosterol de *Salvia aspera* y ácido oleanólico tanto en *Salvia aspera* como en *Salvia atropaenulata*.

PARTE EXPERIMENTAL (S. Aspera)

A) APARATOS Y MATERIAL QUIMICO

Los puntos de fusión se determinaron en un Aparato Fisher-Johns y no están corregidos.

Los espectros de ultravioleta se corrieron en un espectrofotómetro UV-VIS Perkin-Elmer 552.

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron de un espectrofotómetro IR Perkin-Elmer 283 y un espectrofotómetro IR Nicolet FT -IR 5 sx.

La rotación óptica se determinó en un polarímetro Jasco-360

Los espectros de patrones de fragmentación se obtuvieron de un espectrómetro de masas Hewlett-Packard 5945A a 70 eV mediante la técnica de impacto electrónico

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se obtuvieron en un espectrómetro Varian-Gemini 200 ajustados según el núcleo a 200 y 50 MHz respectivamente. Así mismo los experimentos HETCOR y DEPT se obtuvieron en este modelo.

Los espectros de 300 MHz de ^1H se obtuvieron en un espectrómetro Varian VXR -300s. Los desplazamientos químicos están en ppm (δ), tomando como referencia al TMS. Los valores de J están en Hz

El análisis de difracción de rayos X del compuesto III se llevó a cabo en un difractómetro de rayos X, modelo P3/F NICOLET

Los soportes para las columnas de cromatografía fueron Silica-gel 60 de Merck (mallas 70/230, 230/400, y para placa, todas ASTM)

Para seguir la pureza de los compuestos y el seguimiento de las reacciones, se usaron cromatoplasmas de gel de sílice 60 de Merck, con indicador fluorescente; usando tanto luz ultravioleta como sulfato cérico al 1% en H_2SO_4 2N como reveladores

B) MÉTODOS DE SEPARACIÓN Y AISLAMIENTO DE COMPUESTOS

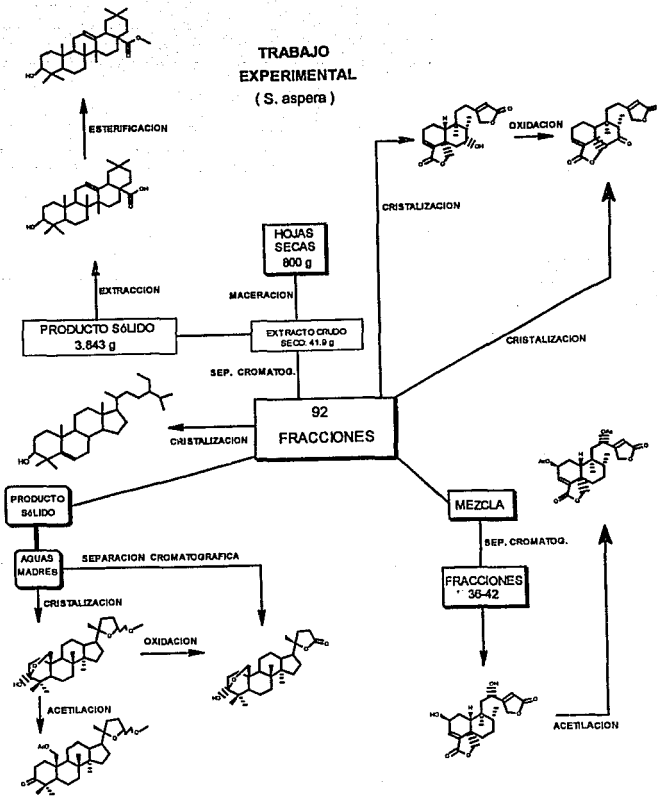
La planta se recolectó el 16 de Agosto de 1991 en el Valle de Tehuacán, en San Antonio Cañada, Edo de Puebla. La identificación de la especie la llevó a cabo el Dr. T. P. Ramamoorthy del Instituto de Biología de la UNAM, donde se dejó una muestra de la especie en el Herbario de dicho Instituto registrándose con el número MEXU544950 . Esta planta fue recolectada por el M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez y el Q.F.B. Simón Hernández Ortega.

El peso total de la planta fue de 4.506 Kg ,de la cual se separaron 800 g de hojas; las cuales se sometieron a maceración en acetona (9 l) a temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) por 7 días.

Posteriormente se procedió a eliminar el disolvente por destilación a presión reducida en un rotavapor, continuando la eliminación del disolvente por completo al alto vacío, obteniéndose 41.9 g de extracto crudo seco total, mas 3.843 g de productos sólidos que pudieron filtrarse durante la evaporación del disolvente (PS1)

La totalidad del extracto crudo se cromatógrafió en una columna empacada con sílica gel para placa , empleando como eluyentes : hexano, AcOEt / hexano, MeOH / AcOEt, MeOH en polaridad ascendente y tomando fracciones de 500 ml. De esta separación se obtuvieron 92 fracciones.

**TRABAJO
EXPERIMENTAL**
(S. aspera)



β - sitosterol

De las fracciones 13-19 eluidas con AcOEt / hexano (9:1) se obtuvieron 914 mg que por cristalización de acetona dió un producto cristalino blanco, P.F.= 135^o-137^o C, soluble en AcOEt, CHCl₃, el cuál fue comparado en una c.c.f. con una muestra auténtica de β - sitosterol, resultando ser el mismo.

IR (CHCl₃), ν max (cm⁻¹) : 3610 (alargamiento O-H), 2959, 2937, 2889 (alargamiento C-H), 1464, 1380 (CH₂, CH₃)

EM M⁺ m/z 414 (31.4%); P.B. m/z 55.1 (100%); m/z 399 (12%); m/z 381 (12%); m/z 329 (19%); m/z 303 (16%); m/z 273 (11%); m/z 255 (14%); m/z 231 (11%); m/z 231 (18%); m/z 161 (32%); m/z 145 (68%); m/z 133 (44%); m/z 119 (50%); m/z 105 (58%); m/z 95.2 (77.1%); m/z 81.1 (81.4%); m/z 69 (72%); m/z 43.2 (84.9%).

RMN ¹H, 200 MHz, (CHCl₃), δ : 5.35 ppm (H-7, 1-H, d); 3.52 ppm (H-3, 1-H, tt); 1.0 ppm (Me-19, 3-H, s); 0.68 ppm (Me-18, 3-H, s); 0.8-2.3 ppm (patrón de señales del β - sitosterol)

Acido oleanólico

Una parte de los productos sólidos (PS1) se sometieron a una extracción exhaustiva con metanol y hexano, así se tuvo de la fase metanólica y por cristalización con acetona 2.7889 g de un producto blanco, P.F. = 230^o-245^o C, insoluble en CHCl₃, el cual fue identificado como el ácido oleanólico, ya que se comparó en una c.c.f. con una muestra auténtica de dicho ácido, resultando ser idénticos

IR (nujol) ν max (cm⁻¹) : 3435 (alargamiento OH); 2968, 2897, 2865 (alargamiento CH); 1691 (C=O de ácido); 1460 1380 (CH₂, CH₃); 1034 (CO).

EM M⁺ m/z 456.5 (0.6%); PB m/z 248.3 (100%); M⁺-15 m/z 441 (0.2%); M⁺-44 m/z 411 (0.2%); m/z 423 (0.2%).

RMN ¹H 200 MHz, (CDCl₃), δ : 5.3 ppm (H-12, 1-H, t); 3.2 ppm (H-12, 1-H, t); 2.7-3.75 ppm (H-O, 1-H, sa).

De las fracciones 34-45 eluidas con AcOEt/hexano (1:1) se obtuvieron 6.033 g de producto amorfo color verde claro, de aquí se tomaron 500 mg para someterlos a lavados con metanol, logrando precipitar 185 mg de ácido oleanólico, 315 mg de otra mezcla de 2 compuestos; la cuál por análisis por de RMN ¹H reveló señales que corresponden al ác. oleanólico y al compuesto III que se aisló de la fracción 62 en forma cristalina y mas pura donde se ampliará su caracterización

El ácido oleanólico obtenido de estas fracciones se hizo reaccionar con diazometano para obtener el correspondiente ester metílico.

De las fracciones 46-61 eluidas con AcOEt /hexano (1:1) se obtuvo 6.1986 g de un polvo café oro, del cual por cromatografía se identificó al ácido oleanólico mezclado con productos mas polares pero muy poco abundantes, no siendo posible su aislamiento por los métodos convencionales disponibles.

COMPUESTO III

Por otro lado, la fracción 62 eluida con AcOEt /hexano (3:1) se trató por cristalización con hexano logrando precipitar 41 mg de un polvo amorfo verdoso. El producto en las aguas madres de este proceso de filtración, ya sin disolvente, se recrystalizó de metanol, y se obtuvieron ~60 mg de un producto cristalino blanco, P.F. = 165°-170° C, soluble en hexano CH_2Cl_2 , CH_3COCH_3 , AcOEt.

IR (CHCl_3) v max (cm^{-1}) : 3587 (alargamiento OH); 2992,2968 (alargamiento CH); 2871, 2832 (C-C); 1467, 1376 (CH_3 , CH_2); 1035, 1002 (C-O acetal y/o cetal);

ESPECTRO 3.0

EM M^+ m/z 446.67; PB m/z 115 (100%); M^+-15 m/z 431 (0.1%); M^+-31 m/z 415 (0.5%); m/z 85 (26.7%).

ESPECTRO 3.1

$[\alpha]_{20}^D = +79^\circ$ (c = 1 mg / ml , CHCl_3)

RMN ^1H , 200 MHz, (CDCl_3), δ : 4.9135 ppm (H-24, 1-H, dd, J = 2,32, 4.1 Hz); 4.249 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte A de un sistema ABXY, J = 2.6, 8.72 Hz); 3.7381 ppm (H-19 pro-R, 1-H, parte B de un sistema ABXY, J = 1.78, 8.82 Hz); 3.3280 ppm (Me-O, 3-H, d).

ESPECTROS 3.2, 3.3

RMN ^{13}C , APT, 50 MHz. (CDCl_3) Estos datos estan registrados en tablas y se encuentran en la parte teórica.

ESPECTRO 3.4

ACETILACIÓN DE III

COMPUESTO IIIA

A 32 mg del compuesto III se le trató con anhídrido acético y piridina, empleando como catalizador DMAP. Una vez llevada a cabo la reacción, se separó el producto acetilado por una separación cromatográfica flash en columna empacada con silica gel 60 (230 / 400) con un eluyente al 10% de acetona/hexano; obteniendo el correspondiente producto acetilado, cristales blancos, P.F. = 65°-68° C (de metanol), soluble en : CHCl_3 , AcOEt, CH_3COCH_3 .

IR (CHCl₃), ν max (cm⁻¹): 2958, 2872 (alargamiento C-H); 1732 (C=O de acetato); 1705 (C=O de ciclohexanona); 1461, 1374 (CH₃, CH₂), 1096, 1003 (C-O acetal y/o acetal).

ESPECTRO 3.5

EM M⁺ m/z 488; PB m/z 115 (100%); M⁺-15 m/z 473.5 (0.3%); M⁺-31 m/z 457 (0.9%); m/z 398 (0.3%); m/z 55.1 (17.5%); m/z 43.1 (54.5%).

ESPECTRO 3.6

RMN ¹H, 200 MHz, (CDCl₃), δ : 4.917 ppm (H-24, 1-H, dd, J = 2.32, 4.1 Hz); 4.2315 ppm (H-19 pro-R, 1-H parte A de un sistema ABX, J = 3.4, 11.6 Hz); 4.058 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte B de un sistema ABX, J = 11.6 Hz); 3.325, 3.314 ppm (MeO, 3-H, d); 1.957 ppm (CH₃COO, 3-H, s).

ESPECTRO 3.7, 3.8

OXIDACIÓN DE III

COMPUESTO IV

A 4 mg de III se le sometieron a condiciones de oxidación con el reactivo de Jones (CrO₂/H₂SO₄). El producto se purificó por cromatografía en placa preparativa, obteniendo así el compuesto oxidado en forma pura. La identificación de este compuesto se llevó a cabo por c.c.f. y análisis infrarrojo.

IR (CHCl₃), ν max (cm⁻¹): 3587 (alargamiento OH); 2963, 2928, 2874 (alargamiento CH); 1754 (C=O de γ lactona); 1466, 1379 (CH₃, CH₂); 1185, 1151 (vibración C-O); además de 1079, 1043, 941 en la zona dactilar.

COMPUESTO IV

En las mismas aguas madres de la fracción 62 se aisló además ~ 5 mg de un producto blanco, P.F. = 154°-156° C (producto sólido tal como salió de la columna), soluble en CHCl₃, AcOEt, CH₃COCH₃, insoluble en: hexano, CH₂Cl₂.

IR (CHCl₃), ν max (cm⁻¹): 3590 (alargamiento OH), 2960, 2933 (alargamiento C-H); 2871 (doble enlace); 1758 (C=O de γ lactona); 1466, 1378 (CH₃, CH₂); 1065 (C-O de acetal).

ESPECTRO 4.1

EM M⁺ m/z 430 (6.7%); PB m/z 99.1 (100%); M⁺-15 m/z 415 (0.6%); m/z 383 (~ 2%); m/z 55.1 (21%); m/z 43.1 (39%); m/z 41.1 (16.7%).

ESPECTRO 4.2

RMN ¹H, 200 MHz, (CDCl₃), δ : 4.239 ppm (H-19 pro-R parte A de un sistema ABXY, 1-H, J = 2.76, 8.6 Hz), 3.734 ppm (H-19 pro-S parte B de un sistema ABXY, 1-H, J = 1.84, 8.74 Hz).

ESPECTRO 4.3

COMPUESTO V

Las fracciones 63-65 eluidas de la columna con AcOEt/hexano (3:1) rindieron por cristalización de hexano 2.9228 g de una mezcla de 3 productos, uno de ellos, el menos polar y mas abundante se logró aislar en forma pura por recristalización por par de disolventes AcOEt / hexano, obteniéndose así un producto cristalino blanco P.F. = 169°-174° C (de acetona / hexano) soluble en CH_2Cl_2 , AcOEt, CH_3COCH_3 , CHCl_3 , MeOH. Rf = 0.7 (AcOEt / Benceno, 6:4, X2) revela color amarillo claro.

IR (CHCl_3), ν max (cm^{-1}) ; 3624 (alargamiento OH); 2961,2931 (alargamiento CH); 2880 (C=C); 1751 (C=O de γ lactona α , β - insaturada); 1640 (C=C); 1469, 1363 (CH_3 , CH_2); 1188 (OH); 1037 (C-O).

ESPECTRO 5.1

EM M^+ m/z 346.4 (1.1%); PB m/z 91.1 (100%); m/z 316.4 (6.6%); m/z 299 (12%); m/z 233 (16%); m/z 201 (21%); m/z 98.1 (60.1%); m/z 77 (60%); m/z 67 (42%); m/z 55 (39%); m/z 41 (44%).

ESPECTRO 5.2

$[\alpha]_D^{20} = -87^\circ$ (c= 1 mg /ml, CHCl_3)

λ max (MeOH) = 204 nm ($\epsilon = 1082 .49$)

RMN ^1H , 200 MHz, (CDCl_3), d : 6.7343 ppm (H-3, 1-H, dd, J= 2.28,7.34 Hz); 5.8865 ppm (H-14, 1-H, t, J = 1.64 Hz); 5.3042 ppm (H-19 pro-R, 1-H, parte A de un sistema ABX, J = 7.64 Hz); 4.7666 ppm (H-16, 2-H, d, J = 1.78 Hz); 4.1323 ppm (H-7, 1-H, dt, J = 2.68, 6.18 Hz); 3.9238 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte B de un sistema ABX, J = 2.2, 7.66 Hz); 1.06 ppm (Me-17, 3-H, d, J = 7.475 Hz); 0.92 ppm (Me-20, 3-H, s)

ESPECTRO 5.3

OXIDACION DE V

COMPUESTO VA

30 mg de V se hicieron reaccionar con el reactivo de Jones. Una vez neutralizada la reacción y posterior extracción del correspondiente compuesto oxidado, se obtuvieron por cristalización 28.7 mg, dando así un rendimiento del 95.7 %. El producto es un polvo amorfo blanco, P. F. = 80°-87° C (de acetona / hexano), soluble en CHCl_3 , AcOEt, CH_3COCH_3 , CH_2Cl_2 , MeOH, DMSO. Insoluble en hexano.

IR (CHCl_3), ν max (cm^{-1}) : 2985, 2933 (alargamiento C-H); 2871 (C=C); 1777, 1752 (C=O de γ lactonas α , β - insaturadas) 1712 (C=O de ciclohexanona); 1655, 1640 (C=C); 1171, 1027 (C-O).

ESPECTRO 5.4

EM M⁺ m/z 344.4 (2.8%); PB m/z 91.1 (100%); M⁺-18 m/z 326 (3.8%); m/z 299.4 (1.7%); m/z 286.3 (2.1%); m/z 233 (18%); m/z 201 (41%); m/z 98 (40%); m/z 77 (39%); m/z 69 (48%); m/z 55 (50%); m/z 41.1 (70.7%).

ESPECTRO 5.5

RMN ¹H, 200 MHz, (CDCl₃), δ : 6.879 ppm (H-3, 1-H, dd, J = 2.4, 7.2 Hz); 5.915 ppm (H-14, 1-H, t, J = 1.6 Hz); 4.8145 ppm (H-16, 2-H, d, J = 1.8 Hz); 4.1075 ppm (H-19 pro-R, 1-H, parte A de un sistema ABX, J = 8.2 Hz); 3.97 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte BX de un sistema ABX, J = 2 Hz); 1.017 ppm (Me-17, 3-H, d, J = 6.8 Hz); 0.694 ppm (Me-20, 3-H, s).

ESPECTRO 5.8

COMPUESTO VA

Estos son los resultados del compuesto VA obtenido como producto natural.

Este producto de apariencia mas bien amorfa, color blanco, P.F. = 59°-63° C (acetona / hexano), soluble en : CH₂Cl₂, AcOEt, CH₃COCH₃, MeOH, CHCl₃, DMSO. Rf = 0.533 (AcOEt / benceno, 6:4, X2, revela color rosa).

IR (CHCl₃) ν max (cm⁻¹) : 2085, 2963 (alargamiento C-H), 2871 (C=C), 1777, 1752 (C=O de γ lactonas α, β- insaturadas), 1712 (C=O de ciclohexanona), 1665, 1640 (C=C), 1171, 1027 (C-O).

EM M⁺ m/z 344.4 (2.8%); PB m/z 91.1 (100%); M⁺-18 m/z 326 (3.8%); m/z 233 (16%); m/z 201 (41%); m/z 149 (20%); m/z 135 (22%); m/z 120 (30%); m/z 98 (39%); m/z 77 (38%); m/z 69 (47%); m/z 55 (42%); m/z 41.1 (70.7%).

[α]_D²⁰ = -157° (c = 1 mg /ml, CH₃COCH₃)

λ max (MeOH) = 202 nm (ε = 21137.93)

RMN ¹H, 200 MHz, (CDCl₃), δ : 6.8875 ppm (H-3, 1-H, dd J = 2.6, 7.4 Hz); 5.924 ppm (H-14, 1-H, t, J = 1.6, 3.4 Hz); 4.797 ppm (H-16, 2-H, d, J = 1.6 Hz); 4.0325 ppm (H-19 pro-R, 1-H, parte A de un sistema ABX, J = 8.2 Hz); 3.94 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte B de un sistema ABX, J = 2.2, 8.4 Hz); 1.025 ppm (Me-17, 3-H, d, J = 6.8 Hz); 0.697 ppm (Me-20, 3-H, s).

RMN ¹³C, 50 MHz, (CDCl₃) y DEPT Se encuentran tabulados en la parte de discusión.

ESPECTROS 5.7, 5.8.

RMN ¹H-¹³C HETCOR, 200 MHz (CDCl₃)

ESPECTRO 5.9.

En la fracción 69 eluida con AcOEt / hexano (3:1) de la cual se obtuvieron por cristalización de hexano una mezcla de los compuestos V y VA.

COMPUESTO VI (semiatrina)

En las fracciones de relativa mas alta polaridad, 70-75 eluidas de la columna principal con AcOEt 100% se logró precipitar con hexano/eter isopropilico 5.73 g de una mezcla de productos; un polvo ligeramente amarillo. La c.c.f. reveló ser una mezcla de dos compuestos, uno de ellos coincidió con el Rf del compuesto VA el otro desconocido.

Hubo necesidad de cromatografiar 500 mg de esta mezcla en columna empacada con sílica gel 60 (230 / 400) con mezclas de eluyentes de polaridad ascendente; así se obtuvieron 42 fracciones.

Las fracciones 36-42 rindieron un producto cristalino de color blanco, el cual se cristaliza de acetona/hexano. P.F. = 195°-197° C, soluble en : CH₂Cl₂, CHCl₃, AcOEt, CH₃COCH₃, MeOH; insoluble en hexano. Rf = 0.411 (AcOEt / benceno, 6:4, X2, revela color gris).

IR (CHCl₃) ν max (cm⁻¹) : 3463,3440 (alargamiento OH); 2993 (alargamiento CH); 1777, 1750 (C=O de γ lactonas α , β - insaturadas); 1640 (C=C); 1452, 1315 (CH₃, CH₂); 1138 (C-O);
ESPECTRO 6.1

EM M+ m/z 362 (0.6%), P.B. m/z 55 (100%)
ESPECTRO 6.2

[α]_D²⁰ = -41° (c = 1 mg / ml, CHCl₃).

λ max (MeOH) = 206 nm (ϵ = 19279.213)

RMN 1H, 200 MHz, (CDCl₃), δ : 6.714 ppm (H-3, 1-H, d, J = 6 Hz); 5.917 ppm (H-14, 1-H, dd, J = 1.6, 3.4 Hz); 4.9145 ppm (H-16, 2-H, d, J = 1.8 Hz); 4.5805 ppm (H-2, 1-H, dt, J = 2.8, 5.8, 6.4 Hz); 4.3235 ppm (H-19 pro-R, 1-H, parte A de un sistema ABX, J = 8.2 Hz); 3.941 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte B de un sistema ABX, J = 2, 8.2 Hz); 4.2 ppm (señal que se intercambia con D₂O); 2.97 ppm (señal que se intercambia con D₂O); 0.885 ppm (Me-17, 3-H, d, J = 6.4 Hz); 0.635 ppm (Me-20, 3-H, s).

ESPECTRO 6.3

ACETILACION DE VI

COMPUESTO VIA (Diacetato de semiatrina)

La reacción de acetilación de semiatrina con anhídrido acético y piridina dio lugar al correspondiente compuesto diacetilado.

El producto VIA tiene apariencia cristalina, color blanco, P.F. = 150°-155° C (CH₃COCH₃), soluble en CH₂Cl₂, CH₃COCH₃, AcOEt, MeOH, CHCl₃. Insoluble en hexano.

IR (CHCl₃), ν max (cm⁻¹) : 2960, 2920 (alargamiento CH); 1780, 1750 (C=O de γ lactonas α , β - insaturadas); 1740 (C=O de acetato); 1635 (C=C); 1450, 1370 (CH₃, CH₂); 1015 (C-O).
ESPECTRO 6.4

EM M⁺ m/z 446.2 (2.6%); PB m/z 43.1 (100%); M⁺-42 m/z 404 (4.6%); m/z 362 (2%); m/z 186 (26%); m/z 158 (21%); m/z 143 (12%); m/z 131 (18%); m/z 111 (18%); m/z 105 (18%); m/z 91.1 (39.4%); m/z 77 (20%); m/z 55 (15%).

ESPECTRO 6.5

RMN ¹H, 200 MHz, (CDCl₃), δ : 6.8115 ppm (H-3, 1-H, *d*, J = 6.6 Hz); 6.082 ppm (H-14, 1-H, *t*, J = 1.4, 2 Hz); 4.88525 ppm (H16, 2-H, *cd*, J = 2,12.3, 18.7 Hz.) 5.702 ppm (H-12, 1-H, *ta*, J = 6.8 Hz); 5.4005 ppm (H-2, 1-H, *dt*, J = 3 Hz); 4.315 ppm (H-19 pro-R, 1-H, parte A de un sistema ABX, J = 8.4 Hz), 3.917 ppm (H-19 pro-S, 1-H, parte B de un sistema ABX, J = 1.8, 8.2 Hz); 2.106 ppm (CH₃CO, 3-H, *s*); 2.081 ppm (CH₃CO,3-H,*s*); 0.858 ppm (Me-17, 3-H, *d*, J = 6 Hz); 0.674 ppm (Me-20, 3-H, *s*).

ESPECTRO 6.6

PARTE EXPERIMENTAL (*S. atropaenulata*)**B) MÉTODOS DE SEPARACIÓN Y AISLAMIENTO DE COMPUESTOS**

Esta planta se recolectó en Cuajimoloya, Oaxaca y fue identificada por el Dr. T. P. Ramamoorthy, siendo recolectada por el M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez.

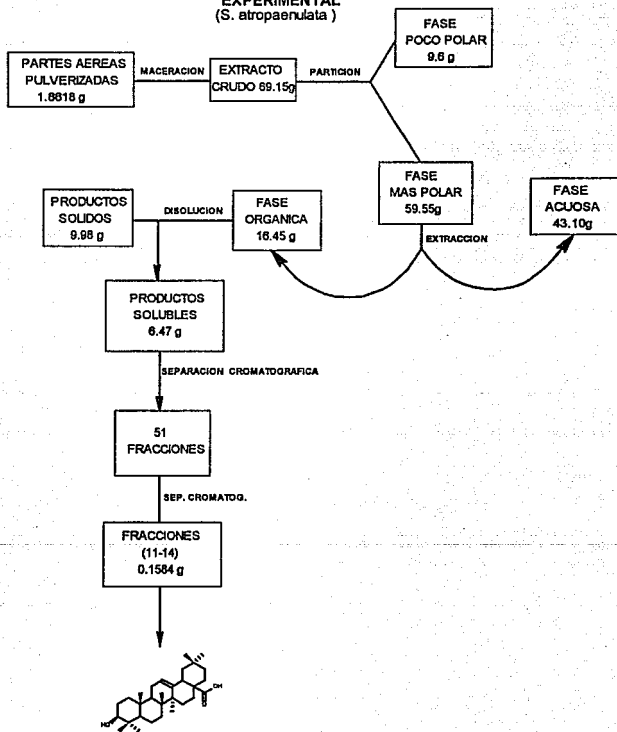
Con esta especie se trabajaron las partes aéreas (tallos y hojas), las cuales dieron un peso seco de 1.8618 Kg que se sometieron a maceración con metanol (~ 5 l) por 3 días a temperatura ambiental. De este modo se obtuvieron 69.15 g de extracto crudo seco, el cual por c.c.f. indicaba que poseía tanto compuestos muy polares como poco polares, por lo que se hizo una partición para facilitar la separación. Se llevó a cabo la partición con dos mezclas de disolventes : el polar 10% H₂O / MeOH, el no polar 50% benceno / hexano.terminadas las extracciones sucesivas, el extracto se quedó de la siguiente manera :

9.6 g en la fase no polar

59.55 g en la fase polar

Al extracto de la fase polar se le hicieron varias extracciones con AcOEt / H₂O, obteniendo en la fase acuosa 43.10 g y en la fase orgánica 16.45 g de extracto crudo. A este último extracto se le precipitaron con acetona 9.98 g de unos productos sólidos, y por lo tanto se encontraban 6.47 g del extracto disueltos en el disolvente. Esta parte del extracto soluble en acetona se llevó a una separación de los compuestos presentes por cromatografía en columna empacada con sílica gel para placa. De esta separación se obtuvieron 51 fracciones.

Se obtuvieron 158.4 mg de un producto sólido en las fracciones 11-14 eluidas al 40% AcOEt / hexano. Este producto se purificó en una columna cromatográfica tipo flash con sílica gel 60 (230 / 400). Y en esta forma se obtuvo un producto cristalino blanco por cristalización de acetona, soluble en MeOH, insolubles en acetona, CHCl₃, hexano. Se hizo una c.c.f. comparativa de este compuesto Vs el ácido oleanólico dando el mismo Rf.

**TRABAJO
EXPERIMENTAL
(S. atropaenulata)**

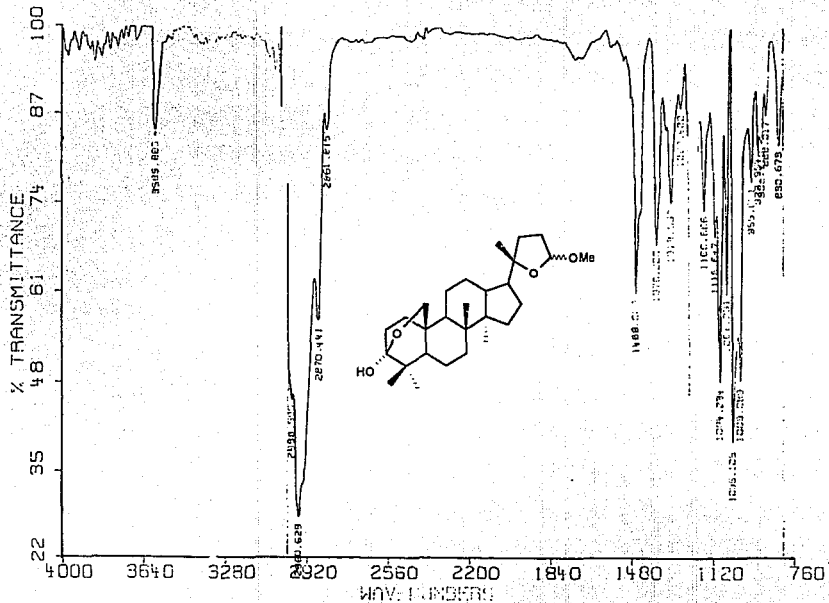
B. ESQUIVEL

3.0

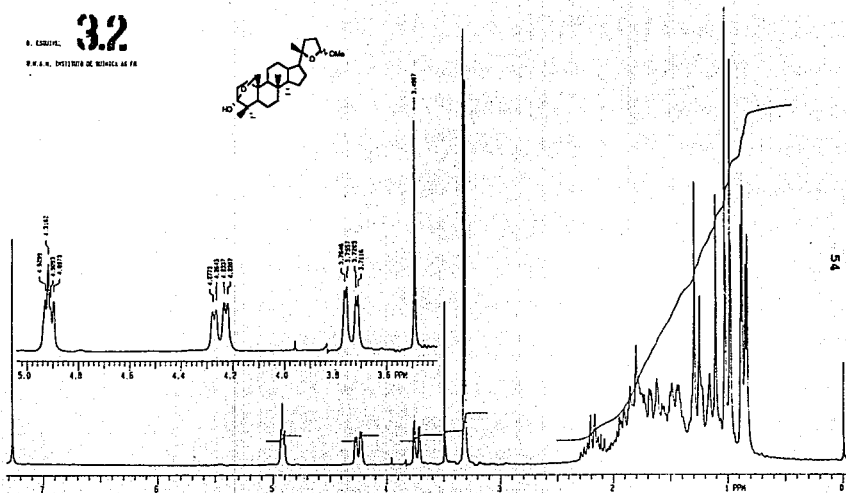
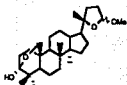
SOL/CHCL3

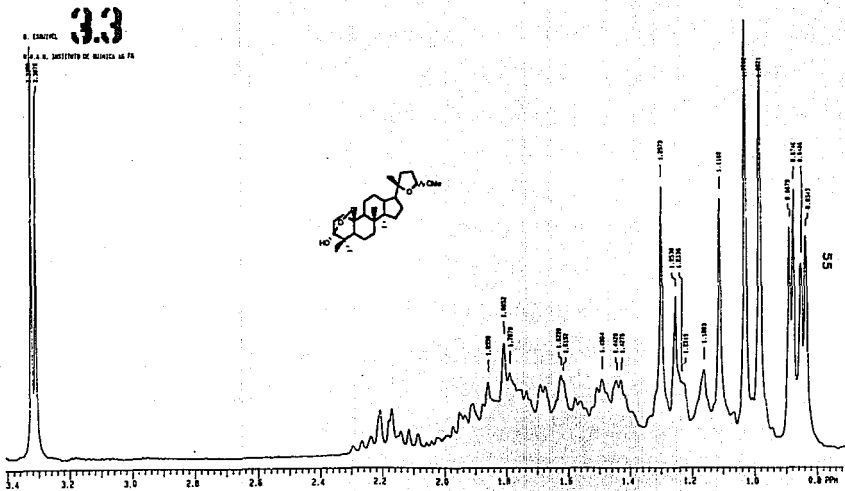
19.04.92

RPM



0. ESQUIVEL **3.2**
M. A. N. INSTITUTO DE QUÍMICA DE FEA

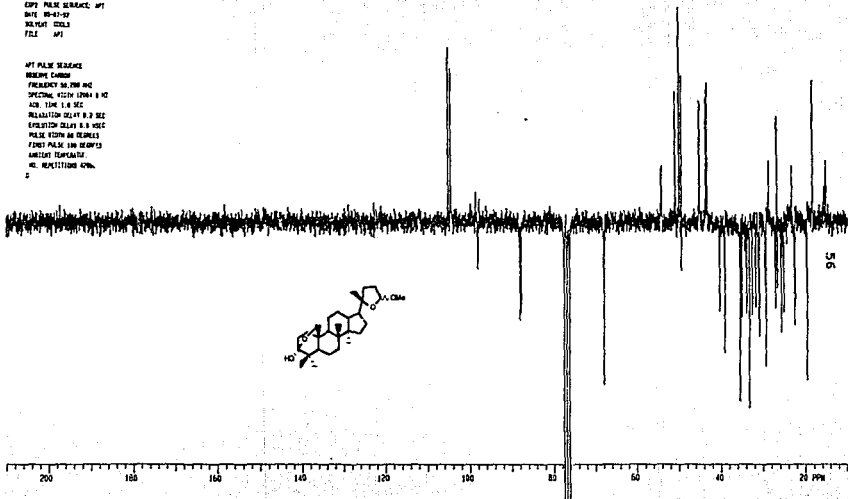




3.4

DIR NO
COPY PULSE SEQUENCE, APT
DATE 09-03-89
INSTRUMENTS
FILE APT

APT PULSE SEQUENCE
PROGRAM CUMUL
FREQUENCY 50.13648 MHz
SPECTRAL WIDTH 12004.8 HZ
ACQ TIME 1.0 SEC
RELAXATION DELAY 0.3 SEC
EXPOSITION DELAY 0.0 SEC
PULSE WIDTH 60.000 NSEC
FIDET PULSE 100.000000
AMPLIFY PPM/CMV
NO. REPEATS 1000



50

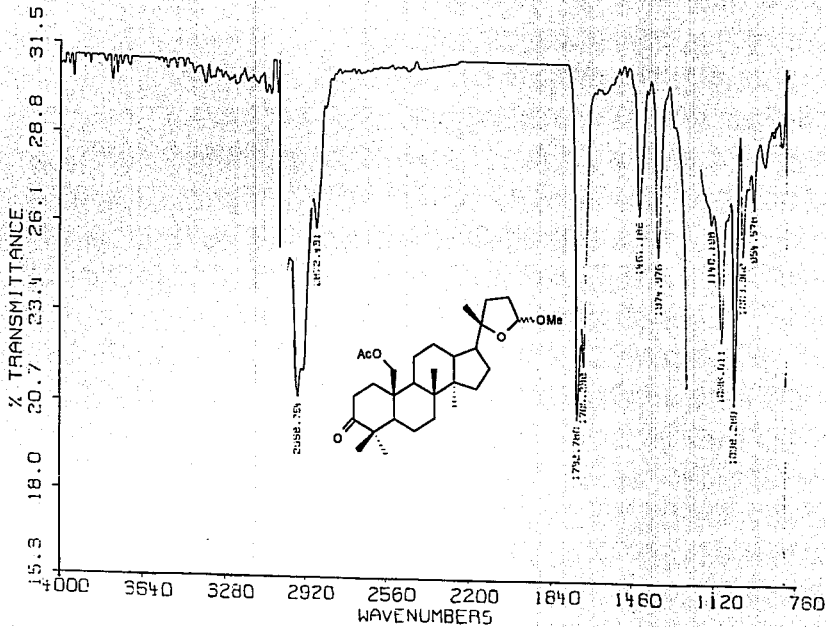
B. ESQUIVEL

35

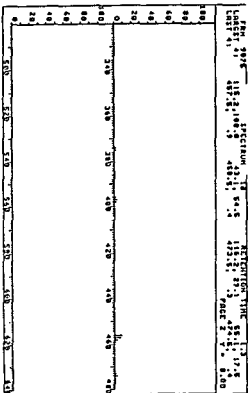
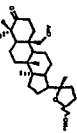
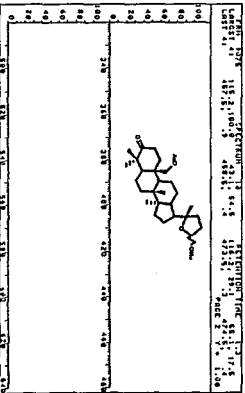
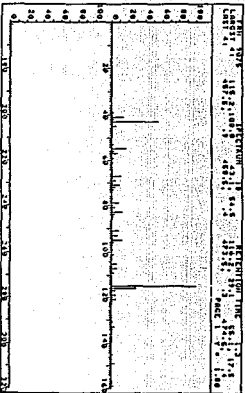
SOL/CHCL3

21/05/92

APM



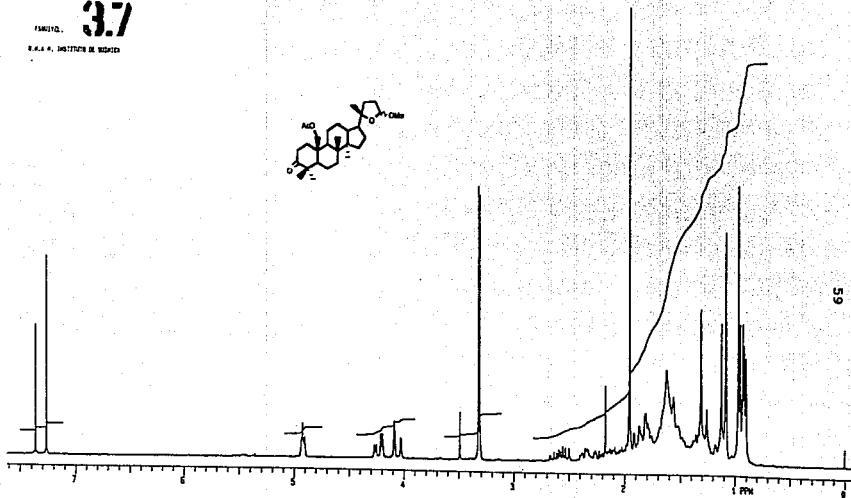
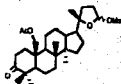
3.6



FAMUO.

37

S.A.S. INSTITUTO DE QUÍMICA



B. ESQUIVEL

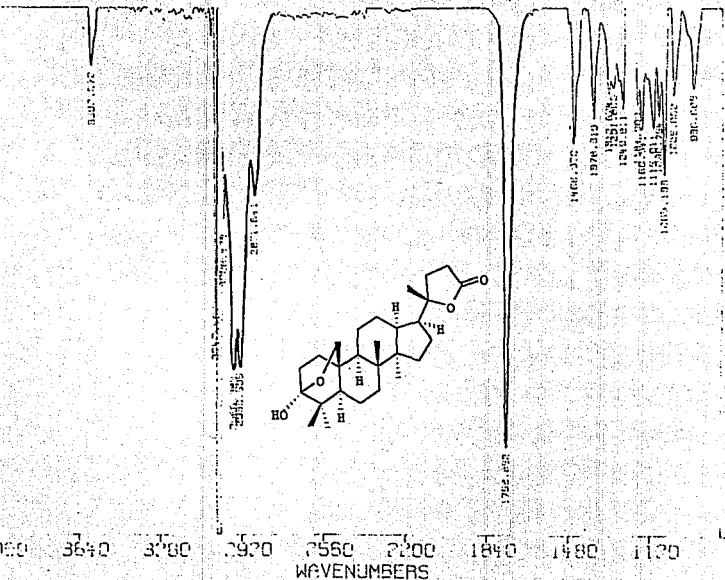
4.1

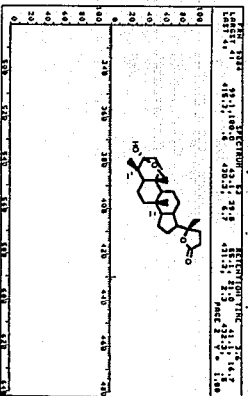
SOL/CHCL3

74.00 100

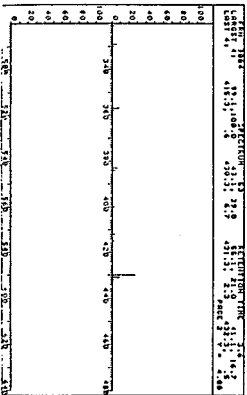
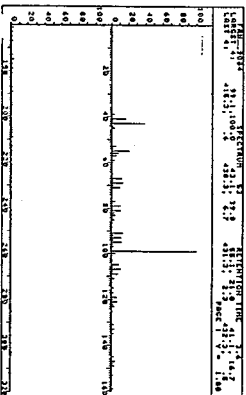
100

% TRANSMITTANCE
62.1 68.2 74.3 80.4 85.5 92.6 98.7





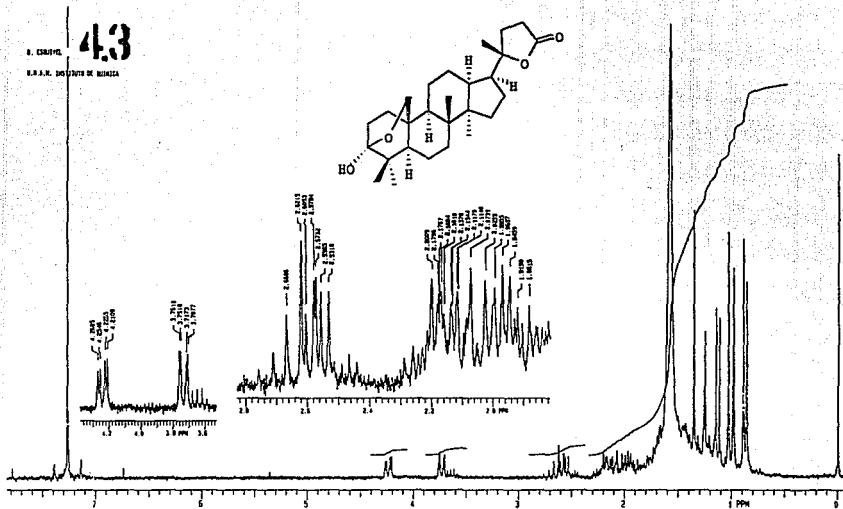
4.2



B. ERZSELY

M. S. A. R. DOS SANTOS DE MOURA

4.3



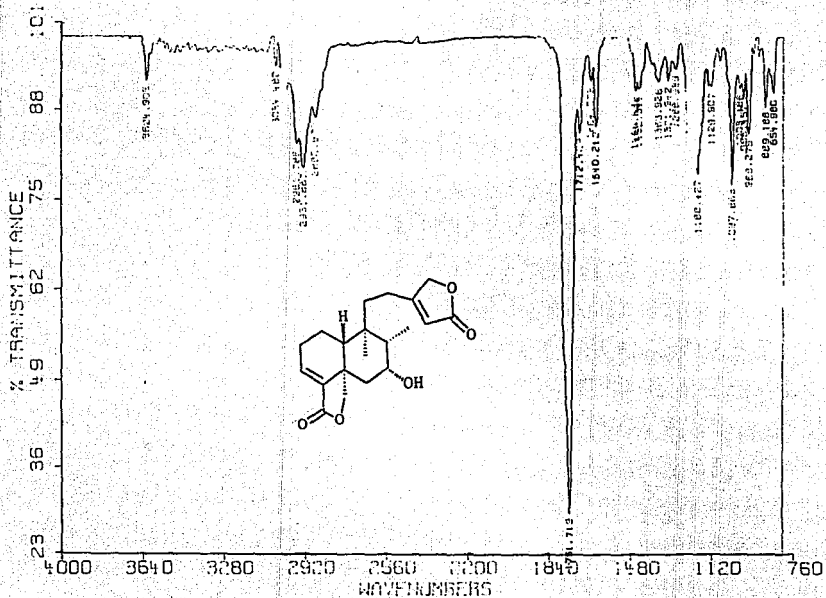
0.ESQU1VFL

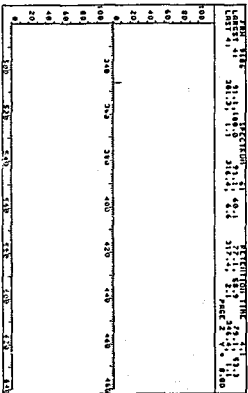
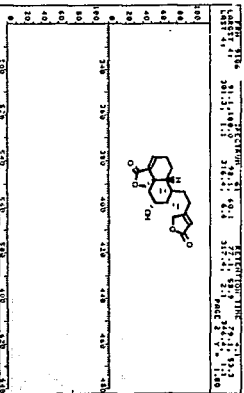
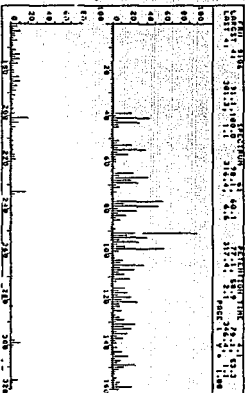
5.1

SOL. CHCL3

1/10/81

8PM

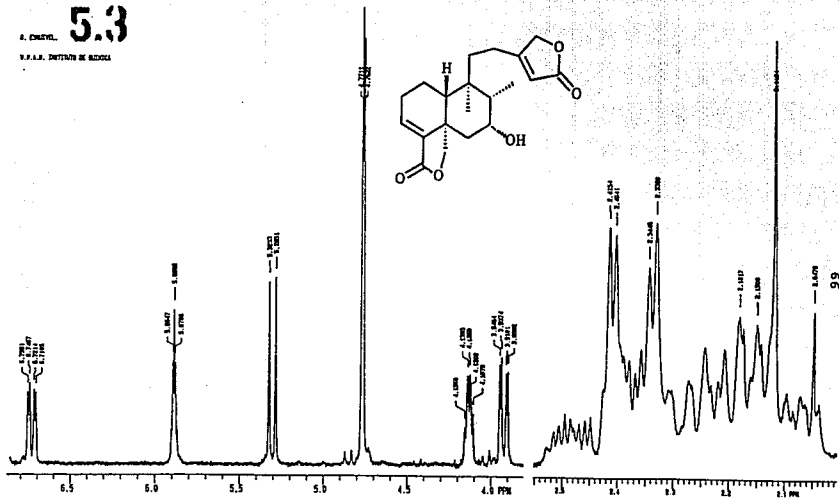




A. CHAYLO.

5.3

V.P.A.S. INSTITUTO DE QUÍMICA



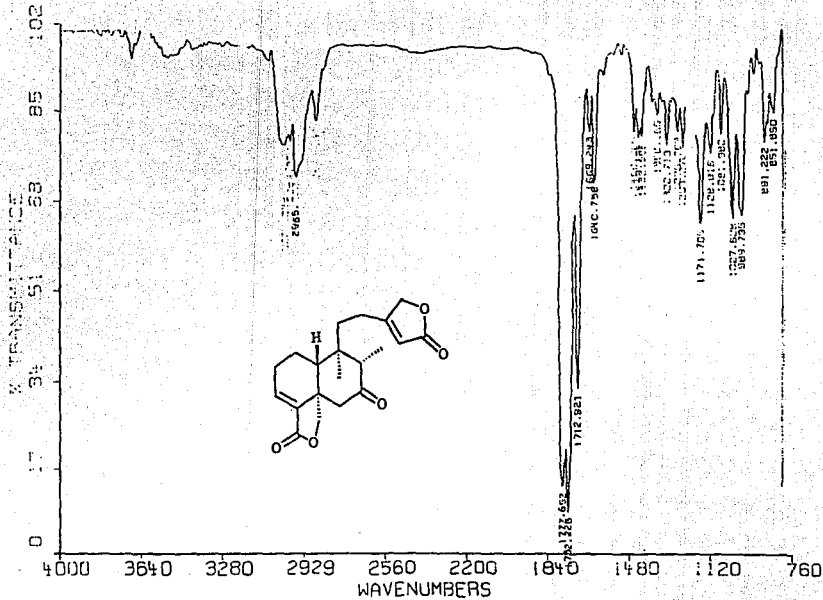
θ. ESQUIVEL

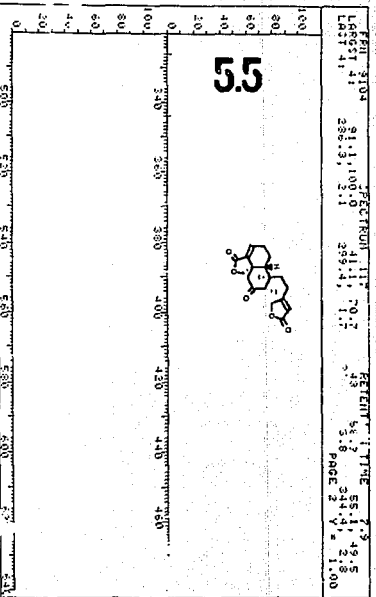
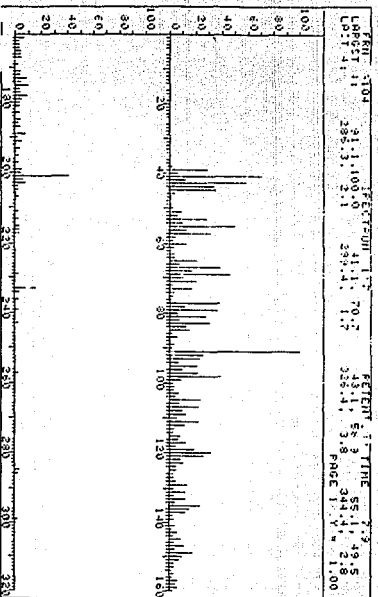
5.4

SOL/CHCL3

20/03/92

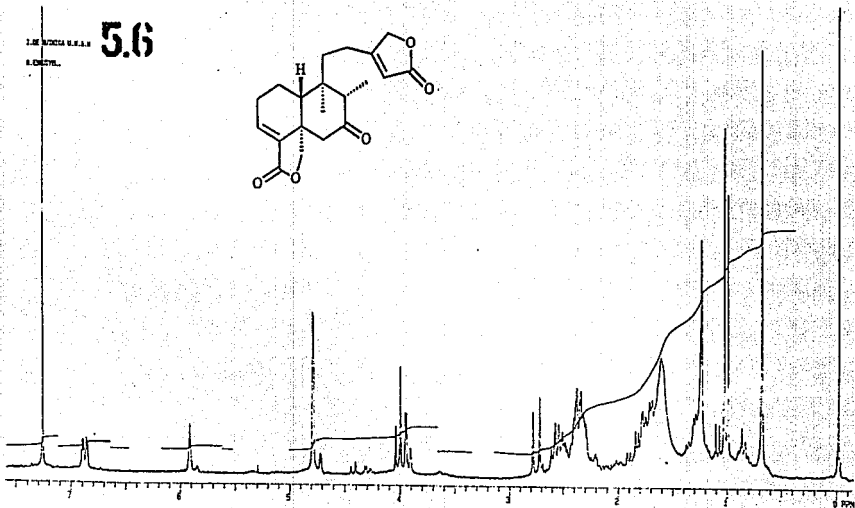
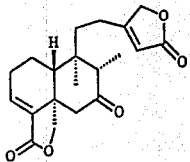
RPM



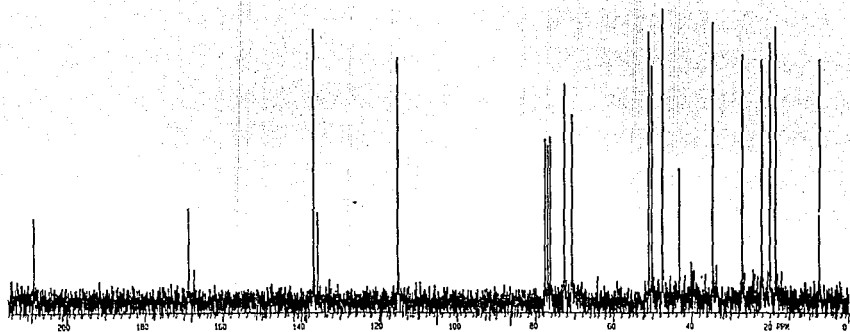
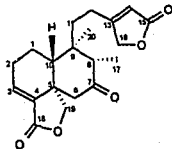


1.00000000
1.00000000

5.6

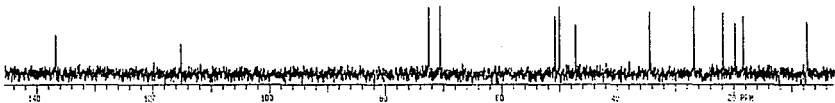
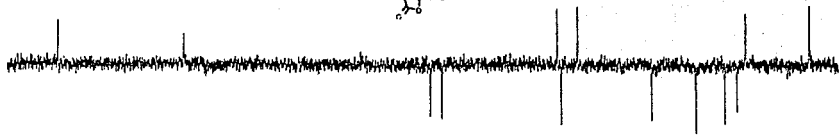


5.7



5.8

NOE 71 30°



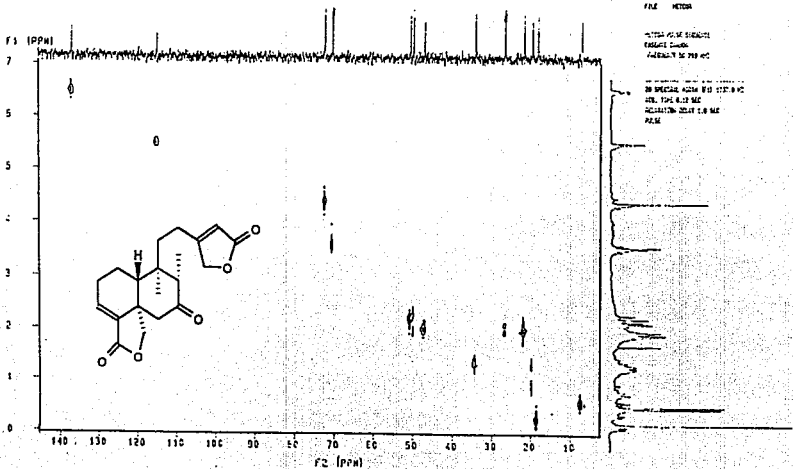
71

5.9

NO. 16
EXP. NAME: 5.9
DATE: 01-11-78
INSTRUMENT: JEOL
FILE: 5.9

100 MHz
PULSED 90°
F2: 100 MHz
F1: 100 MHz

NO. OF SCANS: 100
RELAXATION DELAY: 2.00 SEC
ACQUISITION DELAY: 2.00 SEC
PULSE: 90°



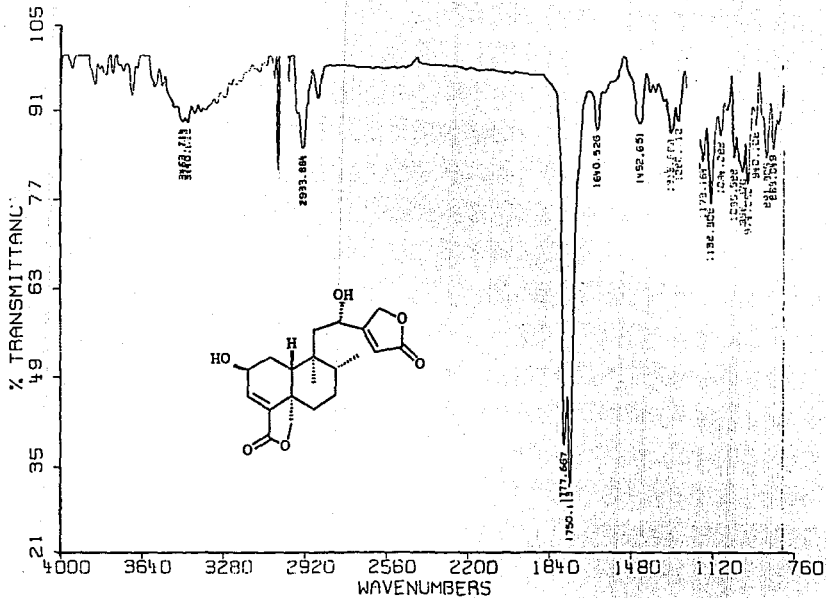
B.ESQUIVEL

6.1

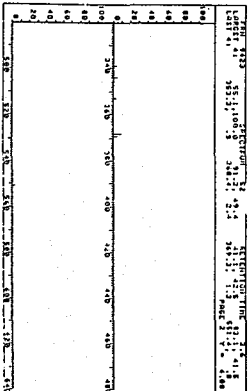
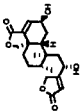
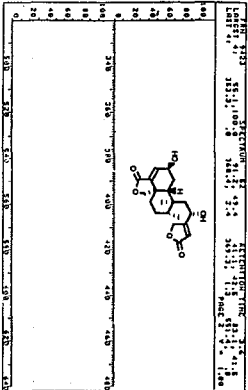
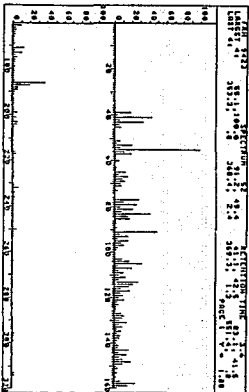
SOL/CHCL3

25/03/92

IR

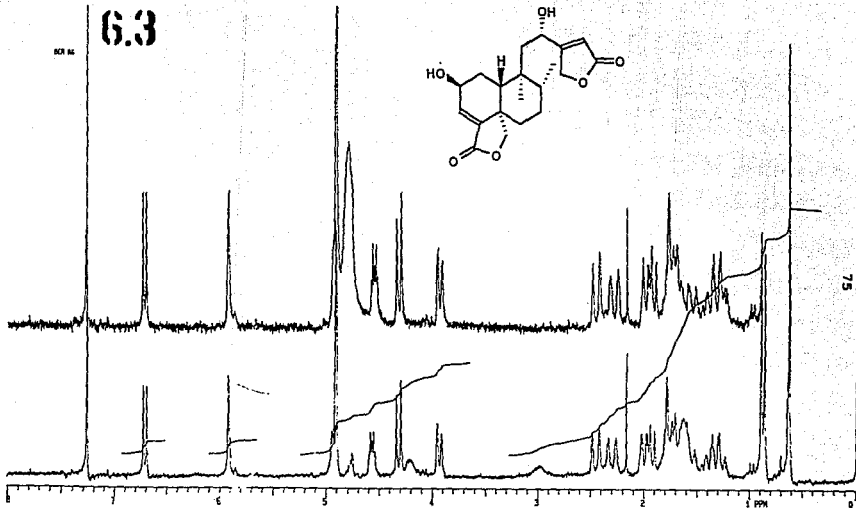
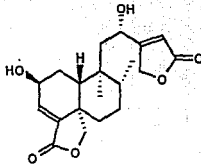


62

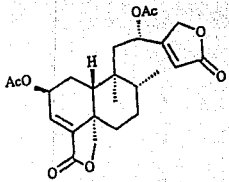
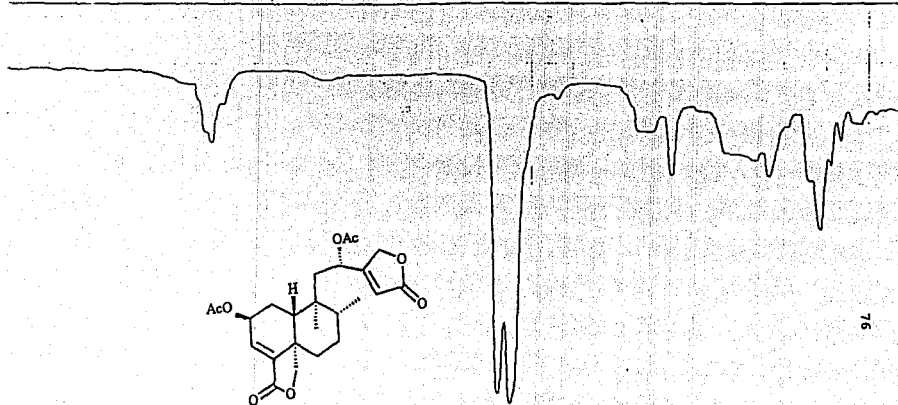


NOE 46

6.3



10 40 60 80 100 MICROMETERS



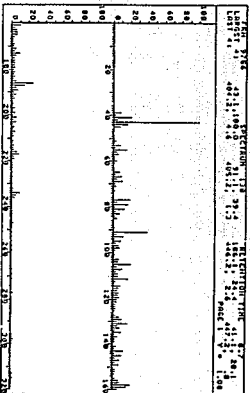
76

45 Original

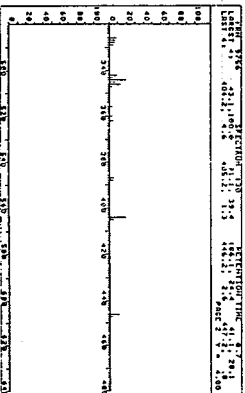
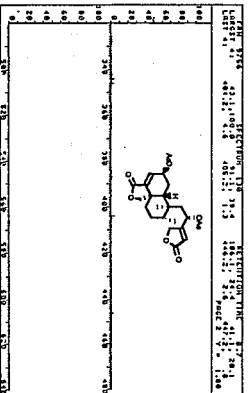
6.4

CHCl₃
solution
KBr

100
1000-1500
1000-1500

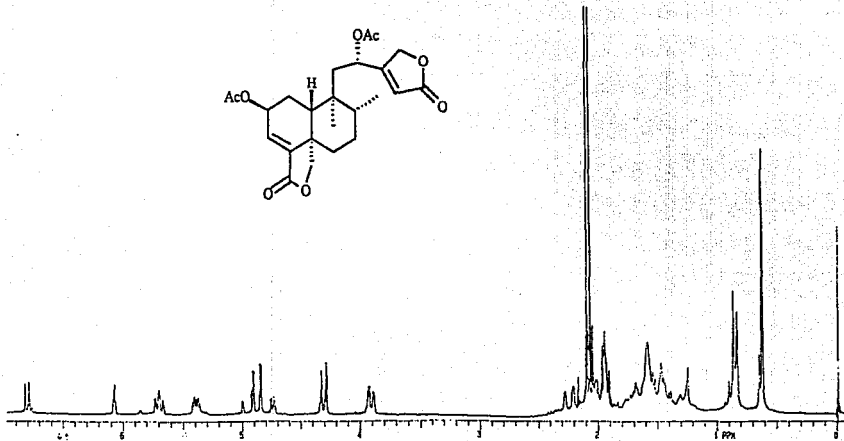
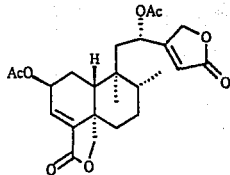


6.5



6.6

100000



BIBLIOGRAFIA

- 1) A. Atmore; P.W. Avery; H. Blakemore; W.M. Bray; R Carr; et al.
Historia del Hombre; 2 millones de años de civilización
Selecciones del Reader's v Digest
México, 1978.
- 2) Horacio García; *ICYT*; 10;137; pag. 22-24; 1988
- 3) T. L. Rost; M. G. Barbour; R. M. Thornton; T. E. Weier; C. R. Stocking
Introducción a la Biología Vegetal.
Editorial Limusa.
México, 1985.
- 4) Martín De La Cruz.
Libellus De Medicinalibus Indorum Herbis.
Manuscrito Azteca de 1552, según traducción Latina de Juan Badiano .
Fondo de Cultura Económica, IMSS.
- 5) Loxoya, X.
Flora Medicinal de México.
IMSS..
1982.
- 6) Maximino Martínez
Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas
Fondo de Cultura Económica.
México, 1979.
- 7) Carl Epling.
A Revision of Salvia Subgenus Calosphace.
Dahlem bei Berlin, Verlag des Repertoriums.
1939.
- 8) Ramón García-Pelayo y Gross.
Enciclopedia Metódica Larousse.
Tomo 6.
Ediciones Larousse.
México, 1985.
- 9) A. T. , Merrit; S. V., Ley; Clerodane Diterpenoids; *Natural Product Reports* 9; 3; pag 243
-287, 1992.

- 10) A. Romo De Vivar.
Productos Naturales De la Flora Mexicana.
Editorial Limusa.
México, 1985.
- 11) Warner, H.; Pharmaceutical and economic use of the Labiatae and Rutaceae Families;
Rev. Lat. de Quim. 8; pag. 16-25; 1977.
- 12) *Comunicación personal con el M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez.*
- 13) *Memorias del 1er Simposium; La Química en la Universidad Nacional; Autónoma de México* 6-10 Abril de 1992; Tacuba, México, D.F.
- 14) T. A. van Beek and Ae. de Groot. *Recl. Trav.Chim. Pas-Bas.* 105, 12, 513-527, 1986.
- 15) Tesis: Constituyentes Térpenicos de *Salvia keertlii Benth (Labiatae)*
Adriana García Yllescas; México, D. F. ,1986.
- 16) Tesis: Nuevo Diterpeno aislado de *Salvia Melissodora.*
Rubén Luis Gabiño Ramírez; México, D. F. ,1986.
- 17) T. A. Geissman; D. H. G. Crout.
Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism
Freeman Cooper & Company
USA 1969.
- 18) J. Mann
Secondary Metabolism
Oxford Chemistry Series
Great Britain 1978.
- 19) J.T.,Pinhey; R. F. Simpson y I. L. Batey; *Aust. J. Chem.* 25, 2621-2637; (1972)
- 20) R. Tschesche y B. Streuff; *Chem. Ber* 111, 2130-2142 (1978)
- 21) A. Kirfel; *Acta Cryst.* B34, 949-951
- 22) F. Faini; P. Rivera; M. Mahú y M. Castillo; *Phytochemistry* 26, 12, 3281-3283 (1987)
- 23) C. Guerrero y A. Romo de Vivar. *Rev. Lat. Quim.* 4, 178, 1973.
- 24) W. Herz; A. M. Pilotti; A.C. Soderholm; I. K. Shuhama; W. Vichnewski, *J. Org. Chem.*, 42, 24,3913-3916 (1977)
- 25) F. Bohlmann; W. Knau; R. M. King y H. Robinson, *Phytochemistry* 18, 1011-1014 (1979)

- 26) S. Natori; N. I. Kekawa y M. Suzuki
Advances in Natural Products Chemistry
Haisted Press Book / Kodansha LTD Tokio / John Willey and Sons.
(Cap : 17)
Japan 1985
- 27) Sukh Dev.; Renuka Misra.
CRC Handbook of Terpenoids.
CRC Press, Inc.
U.S.A., 1986.
- 28) X. A. Domínguez
Métodos de Investigación Fitoquímica
Editorial Limusa
México 1988.
- 29) Tesis: Contribución al Estudio Fitoquímico de *Salvia melissodora Lag.*
Luis Manuel Hernández Alonso; Xalapa, Ver., 1988.
- 30) Charles J. Pouchert
The Aldrich Library of Infrared Spectra
2a edición
Aldrich Chemical Company
USA 1978.
- 31) The Sadtler Standard Spectra.
Sadtler Research Laboratories.
Division of Bio-Rad Laboratories, Inc.
Philadelphia, PA., 19104.
USA.
- 32) E. Fujita; S. John; R. Kasai; M. Node y O. Tanaka.
Progress in the Chemistry of Organic Natural Products.
No. 46
Springer-Verlag
Wien New York
Austria, 1984.
- 33) S. Pedreros; B. Rodríguez; Ma. C. de la Torre; M. Bruno; G. Savona; A. Perales y Ma. Torres. *Phytochemistry* 29, 3, 919-922, 1990
- 34) V. Vande Velde; D. Lavie; R. Zelnik; A. K. Matida; S. Panizza. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.1*, 2697-2700, 1982
- 35) M. Tori; R. Matsuda; M. Sono y Y. Asakawa. *Magnetic Resonance in Chemistry* 26, 581-590, 1988.

- 36) S. Valverde; J Escudero; J. C. López y R. Ma. Rabanal. *Phytochemistry* **24**, 1, 111-113 1985
- 37) B. Esquivel; Alfonso Vallejo; Rubén Gaviño; Jorge Cárdenas; Ana Adela Sánchez; T. P. Ramamoorthy y Lydia Rodríguez-Hahn, *Phytochemistry* **27**, 9, 2903-2905, 1988.
- 38) A. San Martín; J. Rovirosa; C. Labbé; A. Givovich; M Mahú y M. Castillo, *Phytochemistry* **25**,6, 1393-1395 (1986)
- 39) V. Gambaro; M. C. Chamy; J. A. Garbarino; A. San Martín y M. Castillo, *Phytochemistry* **25**,9, 2175-2177 (1986)
- 40) Baldomero Esquivel; Luis M. Hernández; Jorge Cárdenas; T. P. Ramamoorthy y Lydia Rodríguez- Hahn, *Phytochemistry* **28**, 2, 561-566, 1989.
- 41) B. Esquivel; A. Méndez; A. Ortega; M. Soriano García; A. Toscano y L. Rodríguez-Hahn, *Phytochemistry* **24**, 8, 1769-1772, 1985.
- 42) M. Soriano-García, R.A. Toscano, B. Esquivel, M. Hernández y L. Rodríguez-Hahn. *Acta Cryst.* **C43**, 274-274, 1987

ESTA TESIS FUE ELABORADA EN SU
TOTALIDAD EN LOS TALLERES DE
IMPRESOS FRANCO REP. DE CUBA
No. 99. DESPACHO 23 BIS.
MEXICO 1, D.F. TEL. 657-24-74
PRESUPUESTOS 9 P.M. A 11 P.M.
SR. SALVADOR MOYA FRANCO.