

00572
1
20



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE SALVIA RECURVA

T E S I S

Que para obtener el Grado de
MAESTRO EN CIENCIAS QUIMICAS
(QUIMICA ORGANICA)

p r e s e n t a

Q. RUBEN LUIS GAVIÑO RAMIREZ

México, D. F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

Resumen

La familia de las Labiadas es un grupo importante de plantas en México desde el punto de vista económico y en medicina tradicional. Se encuentra representada principalmente por el género *Salvia*. En este trabajo se describe el estudio fitoquímico de la *Salvia recurva*, especie perteneciente a la sección *Ducenostachys*

Se aislaron los siguientes metabolitos secundarios: ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido maslínico, 6"-acetil-3-O- β -D-glucopiranosil camperol, 7 α -hidroxi-19-acetoxiroyleanona, 7 α -19-dihidroxiroyleanona y ácido 13-isopropilpodocárpico. Se realizaron los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear bidimensionales de la 7 α -hidroxi-19-acetoxiroyleanona y del ácido 13-isopropilpodocárpico para asignar inequívocamente los carbonos y protones de éstas moléculas.

La orientación de algunos grupos en la molécula 7 α -hidroxi-19-acetoxiroyleanona permiten proponer la formación de un anillo de 5 ó 6 miembros por reacciones fotoquímicas.

La posible relación quimiotaixonómica en función a los productos aislados con el resto de las especies de la sección *Ducenostachys* podrá ser más concluyente cuando la sección haya sido estudiada en su totalidad.

INDICE

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
PARTE TEORICA	17
PARTE EXPERIMENTAL	48
RESUMEN Y CONCLUSIONES	56
BIBLIOGRAFIA	57
ESPECTROS	61

INTRODUCCION

Introducción

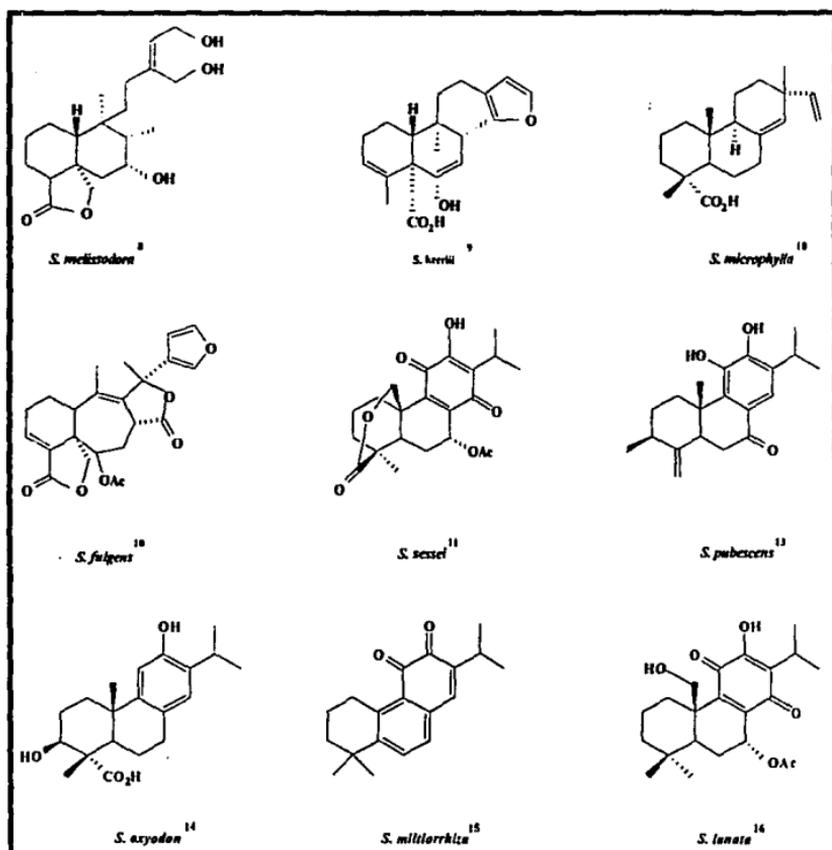
El género *Salvia* es el más extenso en la familia de las *Labiadas*; se compone aproximadamente de 900 especies. En América, el género está representado por cerca de 500 especies, de las cuales 275 crecen en México, siendo el 88% endémicas de nuestro país¹. Las especies de este género están clasificadas en cuatro subgéneros: *Leonia*, *Sclarea*, *Salvia* y *Calosphace*. Todas las especies americanas pertenecen a los subgéneros *Leonia* o *Calosphace*. El subgénero *Calosphace* fue dividido por Epling² en 105 secciones³.

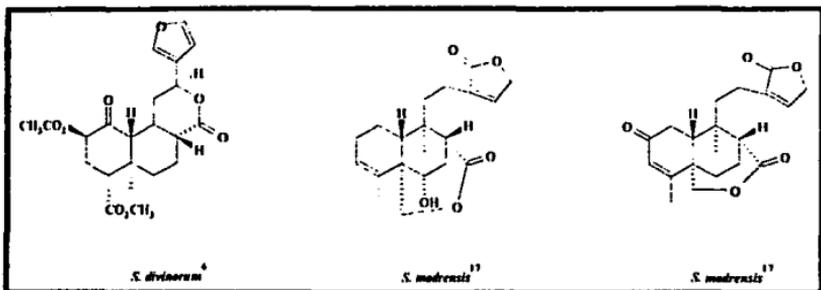
Algunas plantas de la familia de las *Labiadas* se han usado desde tiempos precolombinos como plantas medicinales y desde el punto de vista biológico, el estudio de esta familia de plantas resulta muy interesante ya que se han aislado compuestos con propiedades antitumorales, bactericidas, inhibidores del desarrollo de insectos o antialimentarias^{4,5} y en *Salvia divinorum*^{6,7} se encuentran productos con actividad psicotrópica.

El estudio fitoquímico de las salvias mexicanas coadyuva a relacionar la sección a la que pertenece la planta, en función de los metabolitos secundarios que se encuentran en ella. Así, de la sección *Scorodonia* se han aislado diterpenos con esqueleto de clerodano y pimarano (ejem: *S. melissodora*⁸, *S. keerlii*⁹, *S. microphylla*¹⁰), de la sección *Erythrostachys* se han aislado diterpenos con esqueleto de abietano (ejem: *S. sessei*¹¹, *S. regla*¹², *S. pubescens*¹³), revelando una composición química semejante a las salvias europeas y asiáticas (ejem: *S. lavandulifolia*¹⁴, *S. miltiorrhiza*¹⁵, *S. lanata*¹⁶).

La sección *Ducenostachys* está constituida por las *Salvia recurva*, *S. divinorum*^{5,6}, *S. madrensis*¹⁷, *S. biserrata*, *S. flaccidifolia*, *S. concolor*, *S. atrocaulis* y *S. monocloensis*. De las *Salvias divinorum*^{6,7} y *madrensis*¹⁷ se aislaron diterpenos con esqueleto de clerodano¹⁸.

Por la importancia de los estudios fitoquímicos en sus aportaciones a la farmacología y la quimiotaxonomía, es necesario continuar el estudio sistemático de la flora mexicana, así, en el presente trabajo se plantea como objetivo el aislamiento y la identificación de los metabolitos secundarios de *Salvia recurva*.





ANTECEDENTES

Antecedentes

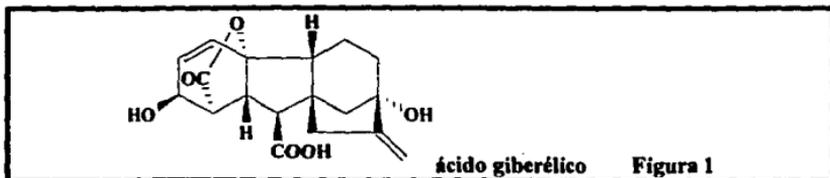
El metabolismo es un conjunto de procesos bioquímicos mediante los cuales, el organismo obtiene energía para crecer y desempeñar sus funciones. Existe un gran número de compuestos de origen natural, como son las grasas, carbohidratos y proteínas que desempeñan un papel preponderante en la existencia de los seres vivos.

Los metabolitos secundarios se pueden definir como aquellos productos naturales que no tienen relación directa con la bioquímica básica relacionada con el crecimiento, desarrollo y reproducción del organismo donde se encuentran.

La selección del adjetivo "secundario" para describir metabolitos no primarios fue desafortunado, porque sugiere que no son importantes. Esto ocurrió cuando las funciones de los metabolitos secundarios habían sido poco investigadas. Afortunadamente, hoy abundan las evidencias que apoyan la hipótesis de la importancia de los metabolitos secundarios en la adaptación de las especies durante el curso de su evolución.

Propiedades Biológicas.

Los diterpenos abarcan un amplio intervalo en el espectro de la actividad biológica; no obstante, solamente algunos de ellos han tenido aplicación en la solución de un problema específico, tales como las giberelinas tetracíclicas¹⁹, hormonas reguladoras del crecimiento de las plantas. Estos compuestos fueron aisladas por primera vez del hongo *Gibberella fujikuroi*, parásito en el arroz. Este hongo causa grandes pérdidas en las cosechas de este cereal. Posteriormente se encontraron giberelinas en pequeñas cantidades en un gran número de plantas. Figura 1



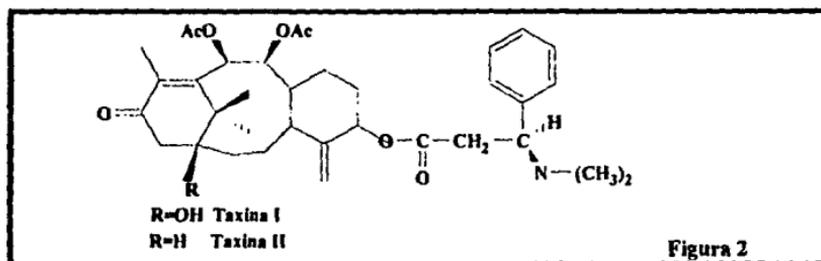
Los metabolitos secundarios no son exclusivos del reino vegetal, aunque las plantas y los microorganismos han sido su fuente más importante.

Muchos animales dependen de su movilidad para conseguir alimentos y evadir a sus depredadores. Como las plantas carecen de movilidad, se ha favorecido el desarrollo de estrategias de evolución para su supervivencia. Algunas de estas estrategias pueden ser la síntesis de metabolitos secundarios, con la función de desalentar a depredadores potenciales, oponerse a especies de plantas que compitan en la misma zona de crecimiento, para atraer a agentes polinizadores y otras muchas funciones. Esto no es una generalización que permita confirmar que todos los metabolitos secundarios cumplan con una acción ecológica; algunos de ellos pueden ser productos finales en una ruta biogénica que la evolución no continuó desarrollando y otros pueden ser considerados productos de excreción.

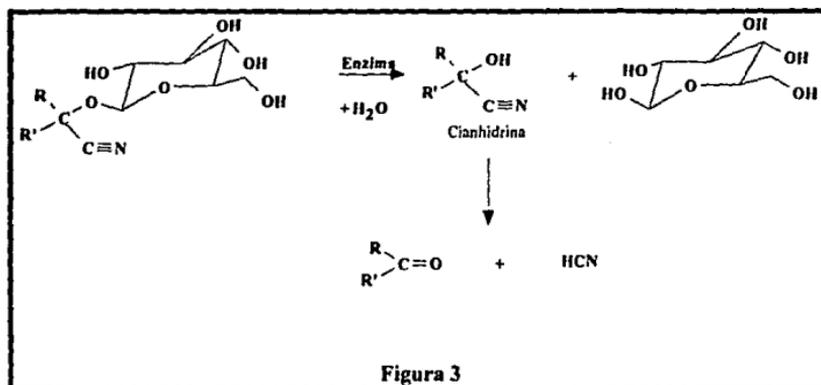
La información genética controla la síntesis de los metabolitos secundarios; esta información se transmite selectivamente de generación en generación, y así se manifiesta la evolución.

El conocimiento de la Biología de los metabolitos secundarios es muy escasa, por lo que puede parecer sin sentido la existencia de tantos metabolitos secundarios. Es difícil reconstruir el pasado y evaluar las ventajas de la selección de un metabolito secundario en relación al medio ambiente que rodeaba a la planta. Las evidencias más importantes para entender el papel de los metabolitos secundarios en una especie dada, pueden encontrarse, posiblemente, no en la planta, sino en la bioquímica de los animales que se alimentan de ella o en la bioquímica de agentes patógenos que las invaden.

Se han realizado muchos estudios diseñados con el fin de conocer el efecto de los metabolitos secundarios en los procesos fisiológicos de los humanos y de sus animales domésticos. Algunos de los que han sido objeto de estudio incluyen alcaloides (Taxina I, Taxina II), como los del árbol *Taxus baccata* (Taxaceae), glucocianógenos, fenoles, aminoácidos no protéicos, aminas, péptidos, etc. Figura 2

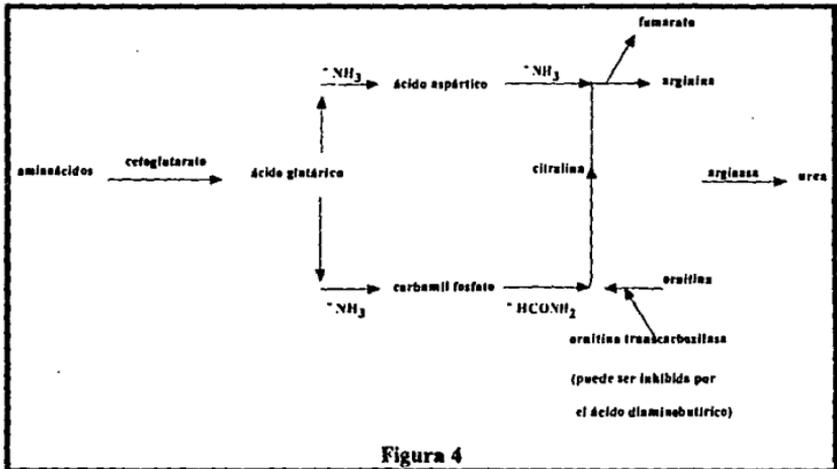


De los compuestos anteriormente nombrados, los glucocianógenos son tóxicos en los vertebrados y en otras formas vivientes ya que pueden hidrolizarse y liberar ácido cianhídrico²⁰. Figura 3



Varios aminoácidos no protéicos sintetizados son tóxicos para los mamíferos.

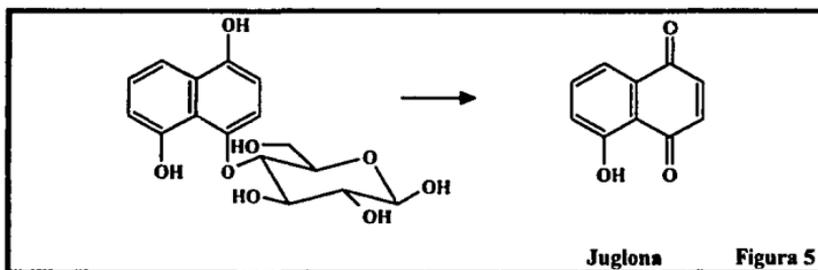
El ácido 2,4-diamino butírico, que fue aislado de *Polygonatum*²¹ (Liliaceae) y posteriormente de la semilla de *Lathyrus latifolius*²² en gran cantidad, produce convulsiones e incluso la muerte al ser inyectado vía intravenosa a ratas. O'Neal²³ y colaboradores demostraron que el ácido 2,4-diamino butírico provoca la intoxicación por amoníaco en mamíferos al inhibir la acción de la enzima ornitina transcarboxilasa y así interrumpir el ciclo de la urea. Figura 4



Tanto los insectos, como los vertebrados, son afectados por una amplia variedad de metabolitos secundarios. Es posible que algún compuesto pueda proteger a la planta de una gran variedad de insectos y no tener acción sobre un depredador específico, el cual, a través de la evolución, ha hecho las modificaciones bioquímicas adecuadas para poder ingerir esa toxina en particular. Uno de los descubrimientos más interesantes, relacionado con la interacción planta-insecto a nivel bioquímico, fue el hallazgo de que algunas

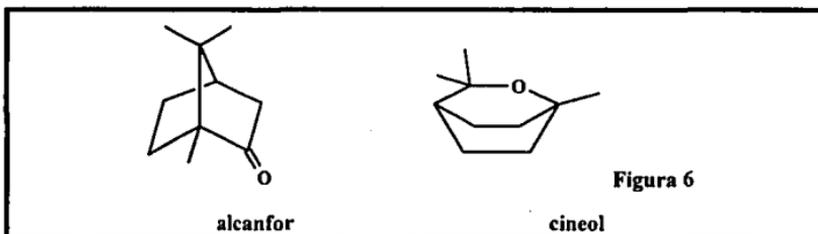
plantas no solamente sintetizan hormonas semejantes a las de los insectos, sino que sintetizan la hormona que el insecto necesita.

Algunas plantas crecen compartiendo el terreno, y otras crecen aisladas. El árbol del nogal (*Juglans nigra*) es un ejemplo del efecto adverso de ésta planta al crecimiento de otras especies bajo su sombra. El compuesto responsable de este efecto alelopático es la juglona, una quinona liberada por las hojas a causa de la hidrólisis del 4- β -D-glucopiranosil-1,4,5-trihidroinaftaleno. Figura 5



Otras fitotoxinas solubles en agua son el ácido salicílico, ácidos fenólicos y otros.

En algunas plantas existen compuestos volátiles, como el alcanfor y el cineol, los cuales son esparcidos en la atmósfera, acción que les permite tener un radio de acción mayor, inhibiendo el crecimiento de otras especies. La *Salvia leucophylla* (Labiatae) libera estos compuestos a través de sus hojas, los cuales son absorbidos por el suelo seco, inhibiendo así la germinación de las semillas de otras plantas. Figura 6



Algunos microorganismos, como la bacteria (*Rhizobia*) responsable de fijar el nitrógeno en los nódulos de la raíz de las leguminosas, mantiene una relación simbiótica con plantas superiores. Otros microorganismos, incluyendo algunos virus, bacterias y hongos son patógenos, siendo los hongos los más difundidos y los causantes de las mayores pérdidas económicas en la agricultura²⁴.

La presencia de diterpenos fungitóxicos en la superficie de las hojas de *Nicotiana glutinosa* (Solanaceae) y de isopentil isoflavonas fungitóxicas en la superficie de las hojas de *Lupinus albus* (Leguminosae)²⁵, es indicativo de que la secreción de estos compuestos puede ser un método muy común de defensa en las plantas.

Los compuestos que contribuyen a que la planta resista una invasión patógena son las toxinas antimicrobianas, estas se pueden dividir en dos categorías: aquellas que existen en la planta en cantidades limitadas y son liberadas después de la invasión microbiana y aquellas que son sintetizadas por la planta sólo en condiciones extremas, situación causada por el ataque microbiano. Ingham definió a las fitoalexinas como metabolitos cuya síntesis depende del funcionamiento de sistemas enzimáticos latentes. La primera en ser aislada y caracterizada fue la pisatina de *Pisum sativum* (Leguminosae)^{26,27}. Figura 7

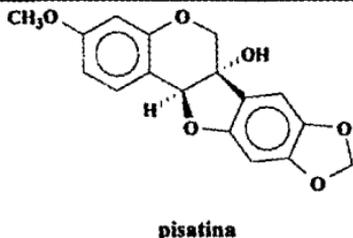
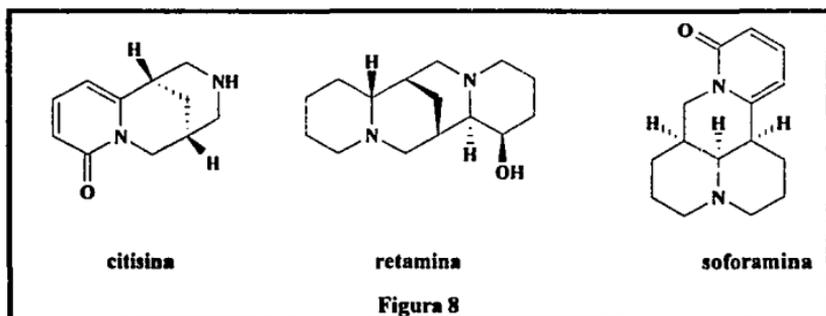


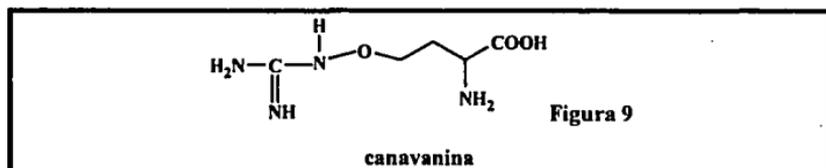
Figura 7

Aunque clasificamos a los metabolitos secundarios de acuerdo a su estructura química, no hay razón para creer que esta clasificación tiene mucho significado en términos ecológicos. Es muy posible que diferentes especies de plantas que tienen ambientes diferentes, apliquen soluciones diferentes al mismo problema biológico.

Los alcaloides quinolidínicos²⁸ se encuentran en las especies menos evolucionadas del género *Papilionoideae* (Leguminosae), pero están totalmente ausentes del género de las leguminosas más evolucionadas. Figura 8



En las especies más evolucionadas es común encontrar que se sintetizan y acumulan grandes cantidades de aminoácidos no protéicos como la canavanina, toxina para la larva de *C. maculatus*.



Si los alcaloides más tóxicos y los aminoácidos no protéicos menos tóxicos tienen un papel de defensa, uno esperaría una selección natural para la síntesis de estos

metabolitos, pero parece no ser así. Una posible explicación puede ser que los aminoácidos no protéicos tienen por lo menos dos funciones en la planta:

- 1- como los alcaloides, pueden ahuyentar a posibles depredadores.
- 2- por su alta concentración en semillas y posterior participación en diferentes etapas del metabolismo, pueden actuar como compuestos de reserva.

Se puede postular, por lo tanto, que el avance en la evolución ha ido acompañado de una simplificación en la bioquímica secundaria, las especies más evolucionadas del género *Papilionoideae* (Leguminosae) emplean compuestos simples para resolver sus problemas de defensa y reservas. La menor toxicidad de los aminoácidos no protéicos es compensada con una mayor concentración²⁹.

Los metabolitos secundarios, al igual que las características morfológicas de las plantas, están sujetos a cambios por las presiones del medio ambiente. Es posible que millones de metabolitos secundarios hayan sido sintetizados por las plantas durante el curso de su evolución y que muchos de ellos ya no sean producidos. Las plantas contienen compuestos que tenderán a desaparecer y serán reemplazados por formas mejor adaptadas. La idea de que los metabolitos secundarios son simplemente de importancia secundaria para la planta es lógica solamente si consideramos al vegetal en total aislamiento del medio ambiente.

La historia de los metabolitos secundarios está caracterizada por varios períodos. El aislamiento y la elucidación estructural fue el mayor esfuerzo por varias décadas de químicos y farmacólogos.

Después, genetistas y botánicos aprendieron a usar los metabolitos secundarios como marcadores apropiados en estudios genéticos, morfológicos y fisiológicos.

La síntesis de los componentes más complejos ha representado un reto continuo a los químicos orgánicos. Posteriormente, el estudio biosintético de los productos naturales relacionado con las rutas empleadas y las enzimas involucradas, han ocupado el interés de los bioquímicos.

Se han realizado investigaciones sistemáticas para elucidar el papel dinámico de los metabolitos secundarios en las plantas³⁰. Se ha encontrado que estos constituyentes de las plantas no son metabólicamente inactivos, productos finales inertes, sino que están sujetos a continuas degradaciones y a la síntesis del compuesto degradado²⁹.

Algunas plantas acumulan aparentemente sus productos en células especializadas o en tejidos no involucrados con el metabolismo primario.

Algunas de las reacciones que contribuyen en el catabolismo de las plantas son:

- 1-Reacciones de interconversión en secuencias biosintéticas.
- 2-Reacciones de conjugación, involucrando otros compuestos con los que el compuesto bajo investigación está relacionado.
- 3-Reacciones de polimerización oxidativa, produciendo estructuras de alto peso molecular.
- 4-Reacciones de degradación, en que los metabolitos secundarios son convertidos a estructuras útiles en el metabolismo primario.
- 5-Hidroxilación, metilación, ciclización y reacciones de transposición.
- 6-Reacciones intermoleculares entre grupos funcionales que las favorecen.

Todo esto es importante porque:

- a-se pueden modificar significativamente las propiedades físicas y morfológicas.
- b-El compuesto puede intervenir en otro punto de la ruta metabólica que en la forma de aglicona.
- c- puede determinar si un compuesto es activo o inactivo en el metabolismo.
- d-los metabolitos conjugados que las plantas almacenan pueden estar inactivos temporalmente. Como ejemplo se conocen N-glucósidos del ácido nicotínico y N-metil derivados del ácido nicotínico como compuestos conjugados que proveen de ácido nicotínico a la planta en los procesos de síntesis de nucleótidos de piridina.

Biogénesis

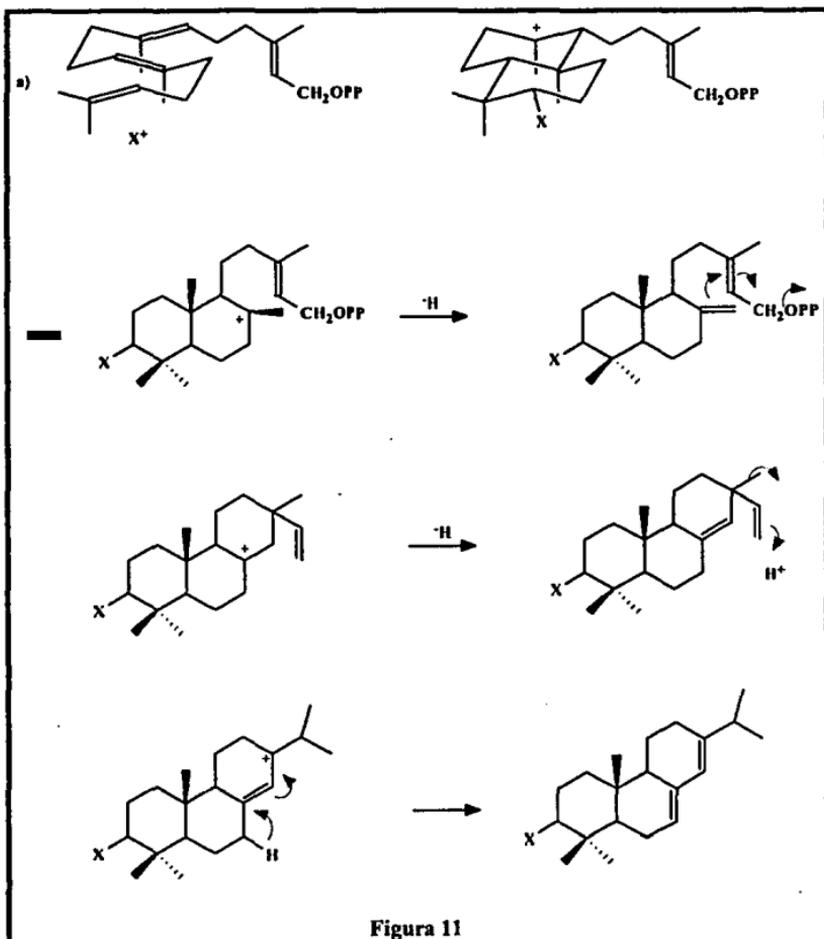
El pirofosfato de geranil geraniol se puede considerar como el precursor primario de una serie muy extensa de productos naturales con 20 átomos de carbono conocidos como diterpenos. Mediante una gran variedad de reacciones de ciclización y reacciones de transposición acompañadas de modificaciones por diferentes grados de oxidación, el geranil geraniol da origen a diversas familias de diterpenos, los cuales están extensamente distribuidos en plantas superiores y hongos.

A partir de la acumulación e integración de los conocimientos en la química de los productos naturales, algunos químicos orgánicos postularon las teorías de las rutas biogénicas en organismos vivos, basados en reglas estructurales^{31,32}. El ejemplo más notable fue la regla del isopreno postulada por Ruzicka³³, quien hizo notar que los terpenoides están constituidos por unidades isoprenicas.

La primera etapa de la biosíntesis de los diterpenos policíclicos, se inicia con la condensación de tres unidades de Acetil-SCoA para formar el anión mevalonato. El proceso implica la formación inmediata de acetoacetil-SCoA y subsecuente generación de 3S-3-hidroxi,3-metil glutaril-SCoA. Este último se convierte en mevalonato mediante un paso dependiente de dos unidades de NADPH. Una molécula de NADPH actúa reduciendo el grupo carbonilo a un grupo hidroxilo y la segunda unidad participa en la ruptura reductiva del enlace disulfuro para dar CoASH y mevalonato en su forma libre.

La segunda etapa se inicia con la activación de quinasa dependientes de ATP para dar isopentenil pirofosfato, el cual mediante una descarboxilación y una desfosforilación genera isopentenil pirofosfato, pudiendo isomerizar a γ , γ -dimetil alil pirofosfato. El isopentenil pirofosfato se condensa con una molécula de γ , γ -dimetil alil pirofosfato para obtener el pirofosfato de geranilo, el cual a su vez se condensa con isopentenil pirofosfato para producir el pirofosfato de geranil geraniol. Figura 10

Las ciclizaciones más frecuentes del geranil geraniol son iniciadas por una reacción electrofílica sobre un doble enlace terminal, acompañado de un control estereoelectrónico, concertándose así la formación de anillos. Esta proposición contempla un intermediario catiónico, seguido de la pérdida de un protón, captura de un nucleófilo y una posterior ciclización o migración de un grupo metilo lo que conduce a una gran variedad de compuestos diterpénicos. Figura 11



Parte Teórica

La *Salvia recurva* pertenece al género *Salvia*, subgénero *Calosphace* y junto con la *Salvia divinorum*⁶ y *Salvia madrensis*¹⁷ están clasificadas en la sección *Ducenostachys*. Por los resultados obtenidos en los estudios de estas *Salvias* es de esperarse que los metabolitos secundarios presentes en la *Salvia recurva* sean diterpenos con esqueleto de clerodano.

Del extracto acetónico de las partes aéreas de esta planta se lograron aislar siete metabolitos secundarios.

De la fracción no polar de la partición metanol-agua se aisló un sólido amorfo, que al ser aislado por cromatografía usando hexano-acetato de etilo (8:2) dio un sólido amorfo blanco. El espectro de IR mostró las bandas características para grupo oxhidrilo y carbonilo de ácido en 3444 cm^{-1} y 1690 cm^{-1} . El espectro de RMN-¹H permitió concluir que se trataba de una mezcla de ácidos triterpénicos. Las propiedades físicas y espectroscópicas de la mezcla comparadas con la información encontrada en la literatura permitieron concluir que la mezcla estaba formada por ácido ursólico y ácido oleanólico. (Compuesto I y II)

El estudio fitoquímico de salvias ha demostrado que los triterpenos que se encuentran más frecuentemente son el ácido ursólico y el ácido oleanólico¹⁸.

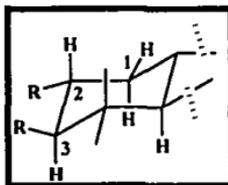
De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (7:3) se aisló el compuesto III, el cual es un sólido amorfo blanco con punto de fusión 246-248 °C. El espectro de IR (nujol) mostró una banda ancha entre 3680 y 2730 cm^{-1} característica para grupo oxhidrilo y una banda a 1690 cm^{-1} para carbonilo de ácido.

PARTE TEORICA

En el espectro de masas, la fragmentación observada es similar a la descrita en la literatura^{34,35} para los compuestos triterpénicos pentacíclicos observándose un ion molecular a m/z de 486.

En el espectro de RMN ^1H se observa una señal múltiple en 3.6 ppm que integra para un protón y fue asignada al protón de la posición 2. Esta señal es un triple de dobles con constante de acoplamiento de 9 y 5 Hz, lo cual sugiere acoplamiento con dos protones con orientación axial, los cuales originan la señal triple (9 Hz) y el acoplamiento con un protón con orientación ecuatorial hace que cada señal se duplique, observándose así el sistema de seis señales.

Se observa una señal doble en 3 ppm con constante de acoplamiento de 9 Hz que integra para un protón y se asigna al protón de la posición 3. La magnitud de la constante de acoplamiento indica un acoplamiento trans diaxial.

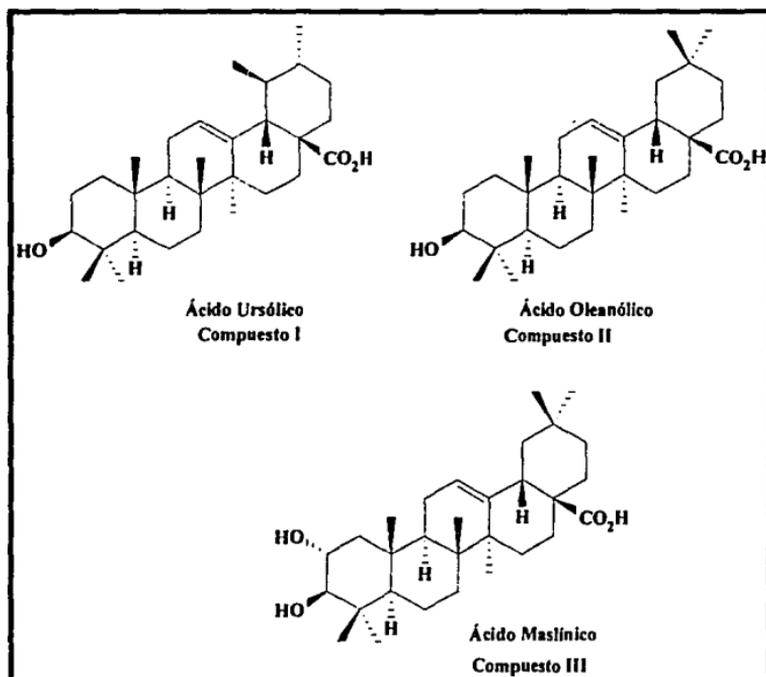


Con un desplazamiento químico de 5.25 ppm se observa una señal triple con constante de acoplamiento de 2.5 Hz que integra para un protón y se asignó al protón vinílico de la posición 12.

Las señales simples en 1.15, 1.05, 1.0, 0.95, 0.90, 0.85 y 0.74 ppm corresponden a siete grupos metilo, unidos a carbonos cuaternarios.

Estos datos permiten sugerir que los sustituyentes en las posiciones 2 y 3 son grupos oxhidrilo. El fragmento a m/z 233 del espectro de masas corrobora la propuesta anterior.

La comparación de las constantes físicas y datos espectroscópicos de este compuesto con los descritos en la literatura indican que se trata del ácido maslínico. (2α , 3β , dihidroxi-olean-12-en-28 oico) (Compuesto III)

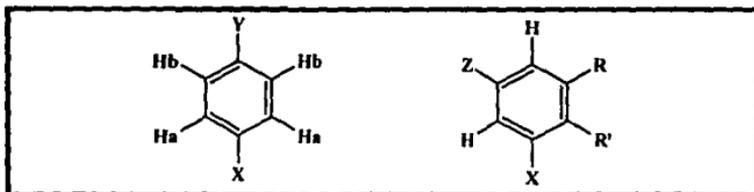


De la fracción polar fue posible aislar un compuesto con esqueleto de flavona con base en los siguientes datos espectroscópicos. En el espectro de I.R. aparecen bandas de absorción en 3404 y 3184 cm^{-1} que denotan la presencia de grupos oxhidrilo. La señal en 1720 cm^{-1} corresponde a carbonilo de ester alifático, a 1649 cm^{-1} que corresponde a carbonilo conjugado y en 1604 cm^{-1} sugiere un anillo aromático.

En el espectro de UV se tienen absorciones máximas a $\lambda = 275$ nm ($\epsilon = 32,809$) y $\lambda = 328$ nm ($\epsilon = 26,042$) que aunados a los datos anteriores sugieren un compuesto con una estructura flavonoide³⁶.

No fue posible determinar el espectro de masas debido a la baja presión de vapor del compuesto.

El análisis del espectro de RMN ¹H (espectro 1) muestra las siguientes señales: a campo bajo se observa un sistema AA'BB' en 8.02 ppm y 6.85 ppm, cada señal integra para dos protones y tiene constante de acoplamiento de 8.7 Hz que explica la existencia de un anillo aromático con protones que guardan una posición *orto* y sustituyentes diferentes que guardan una posición *para*. El desplazamiento a campo bajo de uno de los dobletes se debe a un efecto de desprotección producido por uno de los sustituyentes en el anillo aromático, el cual favorece la disminución de la densidad electrónica en los carbonos a los cuales están unidos estos protones. Se observa un sistema AB en 6.39 ppm y 6.21 ppm, cada señal integra para un protón y tiene constante de acoplamiento de 2.1 Hz. Ésta constante de acoplamiento sugiere la presencia de protones en posición *meta* en un anillo aromático. De esta forma se tienen dos fracciones estructurales.



Con un desplazamiento químico entre 3.1 ppm y 5.2 ppm se encuentran varias señales, este desplazamiento químico permite suponer que se encuentran

en posición geminal a oxígeno. En 5.12 ppm se observa una señal doble que integra para un protón con constante de acoplamiento de 7.5 Hz lo cual sugiere un relación axial-axial con otro protón. El encontrarse en posición geminal a dos átomos de oxígeno explica el desplazamiento químico de ésta señal, esto nos indica que es un protón acetálico. Se observa la parte AB de un sistema ABX en 4.03 ppm con una constante de acoplamiento de 11.5 Hz debido a un acoplamiento geminal entre dos protones diastereotópicos en un metileno y constante de acoplamiento de 5.4 Hz y en 4.19 ppm se encuentra un doble de doble con constante de acoplamiento de 11.5 Hz y constante de acoplamiento de 2.1 Hz con un protón con el que guarda un ángulo diedro de 60°. El desplazamiento químico de este metileno se debe a que se encuentra en posición geminal a un grupo acetoxi.

En 1.86 ppm se observa una señal simple que integra para tres protones y se asigna al metilo de un acetato.

En el espectro de RMN ^{13}C (espectro 2), (TABLA 1), se observan 20 señales que representan a los 23 átomos de carbono de la molécula. Con desplazamientos químicos para carbonos con hibridación sp^2 se encuentran seis metinos y ocho carbonos cuaternarios, así como carbonilo conjugado en 178.8 ppm y carbonilo de éster en 172.3 ppm. También se observa un carbono en 104.42 ppm, este desplazamiento químico se debe a estar unido a dos átomos de oxígeno, por lo tanto se asigna a un carbono hemiacetalico.

Con un desplazamiento químico entre 60 y 76 ppm se encuentran cuatro átomos de carbono unidos a oxígeno, tres de ellos son metinos. En 64 ppm se encuentra un metileno geminal a un oxígeno y en 20.6 ppm el metilo de un grupo acetato.

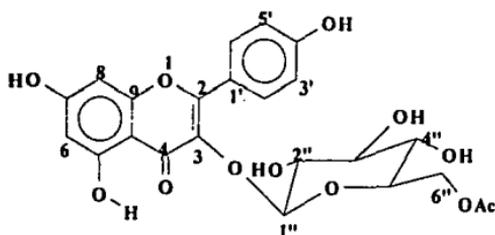
Al analizar los datos espectroscópicos y compararlos con los descritos en la literatura para este compuesto se llegó a la conclusión de que el compuesto es

el camperol, con la diferencia de que el oxhidrilo de la posición 6" se encuentra esterificado^{37,38}. Esta información sugiere en principio que el producto aislado tiene una fórmula condensada $C_{23}H_{22}O_{12}$ que corresponde al 6"acetil-3-O- β -D-glucopiranosil camperol. (Compuesto IV)

TABLA 1

Desplazamiento Químico de Carbono-13

C ₂	158.16 (s)	C _{4'}	159.24 (s)
C ₇	135.17 (s)	C _{5'}	115.77 (d)
C ₄	178.86 (s)	C _{6'}	132.06 (d)
C ₅	161.21 (s)	C _{1''}	104.42 (d)
C ₆	99.48 (d)	C _{2''}	75.21 (d)
C ₇	162.63 (s)	C _{3''}	77.65 (d)
C ₈	94.75 (d)	C _{4''}	71.00 (d)
C ₉	158.16 (s)	C _{5''}	75.36 (d)
C ₁₀	105.40 (s)	C _{6''}	64.16 (t)
C _{1'}	122.41 (s)	OOC	172.35 (s)
C _{2'}	132.06 (d)	CH ₃	20.60 (c)
C _{3'}	115.77 (d)		



6"acetil-3-O- β -D-glucopiranosil camperol

Compuesto IV

El compuesto V fue aislado tanto de la fracción polar como de la fracción no polar, fue un sólido cristalino de color amarillo con un punto de fusión de 174-176°C, y su estructura fue establecida por métodos espectroscópicos.

El espectro de IR presenta bandas características para grupo oxhidrilo a 3642 y 3372 cm^{-1} , carbonilo de éster a 1728 cm^{-1} , carbonilo conjugado a 1639 cm^{-1} y doble enlace a 1606 cm^{-1} . La presencia de una hidroxipara-benzoquinona se manifiesta por el resultado en el espectro de UV que presenta máximos en 204 nm y 272 nm.

En el espectro de RMN ^1H (espectro 3) se observan señales dobles correspondientes a los metilos de un grupo isopropilo en 1.24 y 1.26 ppm con constante de acoplamiento de 7.1 Hz y en 3.17 ppm un heptuplete con la misma constante de acoplamiento. El desplazamiento químico del metino indica que se encuentra unido a un sistema aromático de una hidroxipara-quinona. También se observan dos señales simples en 1.27 y 1.08 ppm para dos metilos angulares. La señal simple en 2.05 ppm que integra para tres protones corresponde al metilo de un grupo acetato.

Una señal en 3.05 ppm no se observa después de equilibrar la muestra con D_2O , siendo asignada a un grupo oxhidrilo y una señal múltiple en 4.72 ppm tiene ese desplazamiento químico por ser de naturaleza benclica y geminal al oxhidrilo; por lo que el grupo oxhidrilo debe estar unido a C-7 en un esqueleto de abietano.

Con un desplazamiento químico en 4.23 ppm y 3.98 ppm se encuentra un sistema AB con constante de acoplamiento de 10.5 Hz, asignado a los protones diasterotópicos de un metileno. El desplazamiento químico a campo bajo es debido a la vecindad con un grupo acetoxi.

Al comparar los desplazamientos químicos promedio del sistema AB de hidroximetileno y acetoximetileno de la posición 19 con los intervalos de los

desplazamientos químicos descritos en la literatura de una serie de productos naturales y productos sintéticos, se puede concluir que el acetoximetileno presenta una orientación β axial^{39,40}. Por lo tanto se descarta la posibilidad de que el acetoximetileno se encuentre en la posición C18, ya que en estos diterpenos éste carbono se encuentra en disposición ecuatorial⁴¹.

En 2.72 ppm se encuentra una señal doble de triples, la cual corresponde a una parte de un sistema ABX con constante de acoplamiento de 12.9 Hz, que corresponde al acoplamiento con un protón geminal y constante de acoplamiento de 4.5 Hz con dos protones con los que guarda un ángulo de 60°. El desplazamiento químico a campo bajo de este sistema es debido al efecto anisotrópico producido por las corrientes magnéticas inducidas por los electrones de el grupo carbonilo de la posición 11 encontrando cercano a este protón, en la posición 1 ecuatorial^{11,12}.

La caracterización de los metabolitos secundarios se ha facilitado en los últimos años debido a los avances en las técnicas de aislamiento y el uso de técnicas espectroscópicas como son IR, RMN y Espectrometría de Masas.

La RMN es sin duda la espectroscopia que mayor desarrollo ha alcanzado, tanto desde el punto de vista de su difusión en diferentes campos de la ciencia, como por los avances tecnológicos involucrados en la construcción de los espectrómetros modernos. La disponibilidad de campos magnéticos de intensidades superiores a 3 Tesla ha favorecido dos aspectos cruciales en la RMN: mayor sensibilidad en los equipos, lo cual se ve reflejado claramente en la disminución en el tiempo de adquisición de datos y mayor dispersión de campo magnético, evitándose así la sobreposición de señales en un gran número de casos. El diseño de secuencias de pulsos para controlar la forma de excitación y evolución del sistema de espines y obtener información espectral selectiva, ha

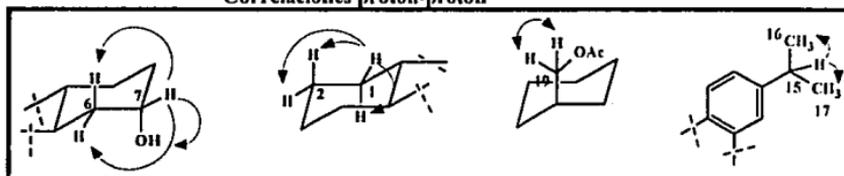
perfeccionado los experimentos unidimensionales y está haciendo que algunos métodos bidimensionales sean experimentos rutinarios.

Los experimentos bidimensionales usados en este trabajo fueron la correlación homonuclear (HOMOCOSY)^{42,43,44}, la correlación heteronuclear a un enlace (HETCOR)^{42,43,44} y la correlación heteronuclear a larga distancia (COLOC)^{42,43,44,45,46,47}.

COSY (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm). Correlación Homonuclear. (Espectro 6)

El protón H-7 correlaciona con H-6a, H-6e y el protón del oxhidrilo geminal. Los protones H-19 y H-19' del metileno C-19 correlacionan entre sí por ser diastereotópicos. El protón H-15 correlaciona con los protones de los metilos H-16 y H-17. El protón H-1e correlaciona con los protones H-1a, H-2a y H-2e.

Correlaciones protón-protón

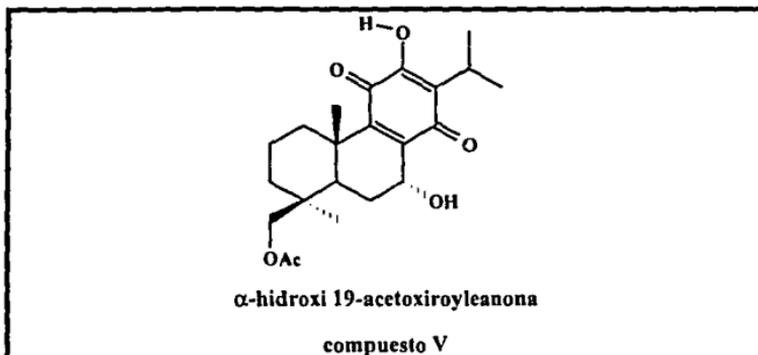


En la Tabla 2 se encuentran las asignaciones de los espectros de C-13 desacoplado y DEPT^{48,49,50} para el compuesto V. (Espectro 4 y 5). El número de átomos de carbono y la multiplicidad de los mismos, determinada en los experimentos de RMN ¹³C y DEPT permite confirmar que este compuesto es un diterpeno tricíclico y se deduce que se trata de un diterpeno con esqueleto de abietano.

TABLA 2

Desplazamiento Químico de Carbono-13

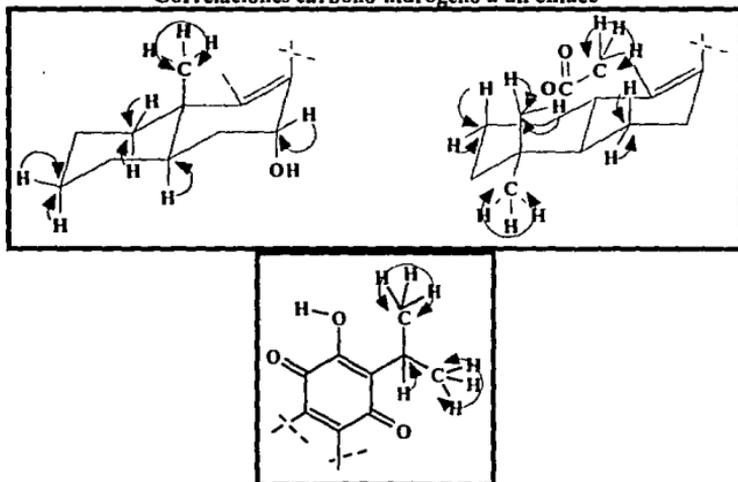
	Compuesto V	Compuesto VI	Compuesto VII	Compuesto XII
C-1	35.77 (t)	35.31 (t)	40.70 (t)	40.40 (t)
C-2	18.45 (t)	18.61 (t)	21.07 (t)	21.07 (t)
C-3	35.87 (t)	35.91 (t)	38.66 (t)	38.66 (t)
C-4	36.59 (s)	38.28 (s)	44.71 (s)	44.71(s)
C-5	46.09 (d)	46 24 (d)	54.17 (d)	54.17 (d)
C-6	26.08 (t)	26.25(t)	22.49 (t)	22.49 (t)
C-7	62.94 (d)	63.14 (d)	32.40 (t)	66.08 (t)
C-8	142.86 (s)	142.98 (s)	127.03 (s)	141.27 (s)
C-9	147.14 (s)	147.47 (s)	147.11 (s)	147.69 (s)
C-10	38.77 (s)	38.93 (s)	39.30 (s)	39.30 (s)
C-11	183.62 (s)	183.68 (s)	127.16 (s)	183.57 (s)
C-12	151.16 (s)	151.04 (s)	153.08 (s)	150.86 (s)
C-13	124.25 (s)	124.25 (s)	133.39 (s)	125.11 (s)
C-14	188.76 (s)	188.92 (s)	112.42 (d)	192.15 (s)
C-15	23.92 (d)	24.01 (d)	27.58 (d)	27.58 (d)
C-16	19.79 (c)	19.89 (c)	23.67 (c)	23.67 (c)
C-17	19.70 (c)	19.79 (c)	23.19 (c)	23.19 (c)
C-18	27.23 (c)	26.05 (c)	29.28 (c)	23.15 (c)
C-19	67.36 (t)	65.97 (t)	181.53 (s)	70.84 (t)
C-20	18.51 (c)	18.70 (c)	23.15 (c)	23.15 (c)
C-21	171.22 (s)			23.12 (c) O-Me
C-22	20.91 (c)			



HETCOR (300 MHz) (CDCl_3) δ (ppm). Correlación Heteronuclear a un enlace.
(Espectro 7)

Se pueden asignar a través de la correlacion heteronuclear los carbonos C-1, C-2, C-3, C-5, C-6, C-7, C-15, C-16, C-17, C-18, C-19, C-20 y C-acetato.

Correlaciones carbono-hidrógeno a un enlace



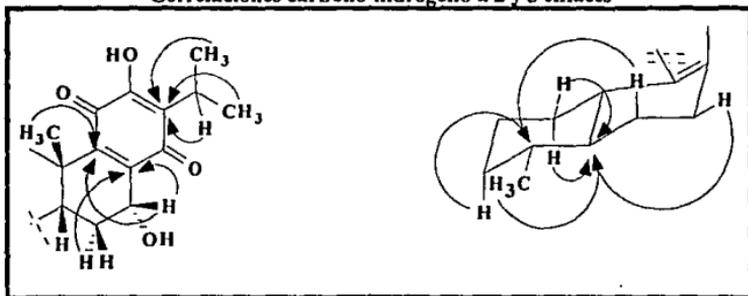
El desplazamiento químico de varios protones que se encuentran sobrepuestos no se puede leer del espectro de protón, sin embargo en la correlación heteronuclear es posible asignar las señales de los protones H-6e en 2.16 ppm, H-6a en 1.6 ppm, H-5 en 1.5 ppm, H-3e en 1.6 ppm, H-3a en 1.2 ppm, H-1a en 1.2 ppm, H-2e en 1.6 ppm y H-2a en 1.5 ppm.

COLOC (300MHz) (CDCl₃) δ (ppm) Correlación Heteronuclear a uno, dos y/o tres enlaces. (Espectro 8)

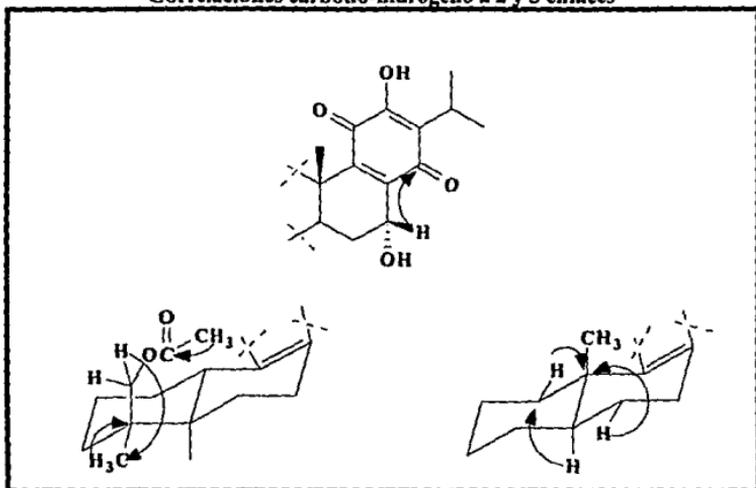
La correlación heteronuclear permite asignar el acetoximetileno unido a C-4. Se observa acoplamiento entre el metilo que se encuentra en 27.23 ppm y un protón del acetoximetileno; este metilo debe ser C-18. No puede ser el metilo C-20 ya que la distancia con los protones H-19 es de cinco enlaces. Este argumento nos permite descartar la posibilidad de tener los dos metilos unidos a C-4 y el acetoximetileno unido a C-10.

La correlación entre C-18 y H-19 permite determinar que en el espectro de RMN ¹H, el metilo que se encuentra a campo más alto corresponde a los protones de C-18.

Correlaciones carbono-hidrógeno a 2 y 3 enlaces

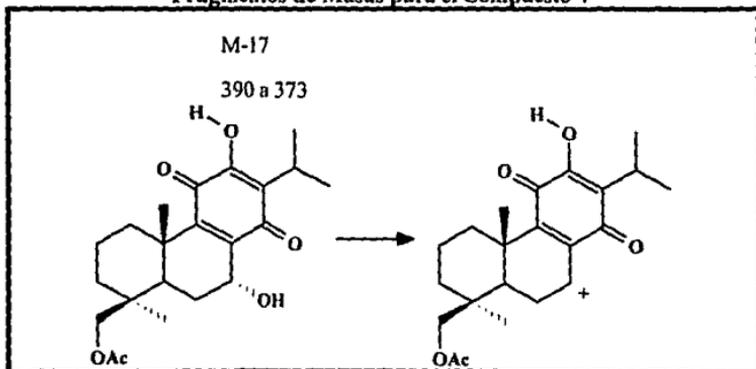


Correlaciones carbono-hidrógeno a 2 y 3 enlaces

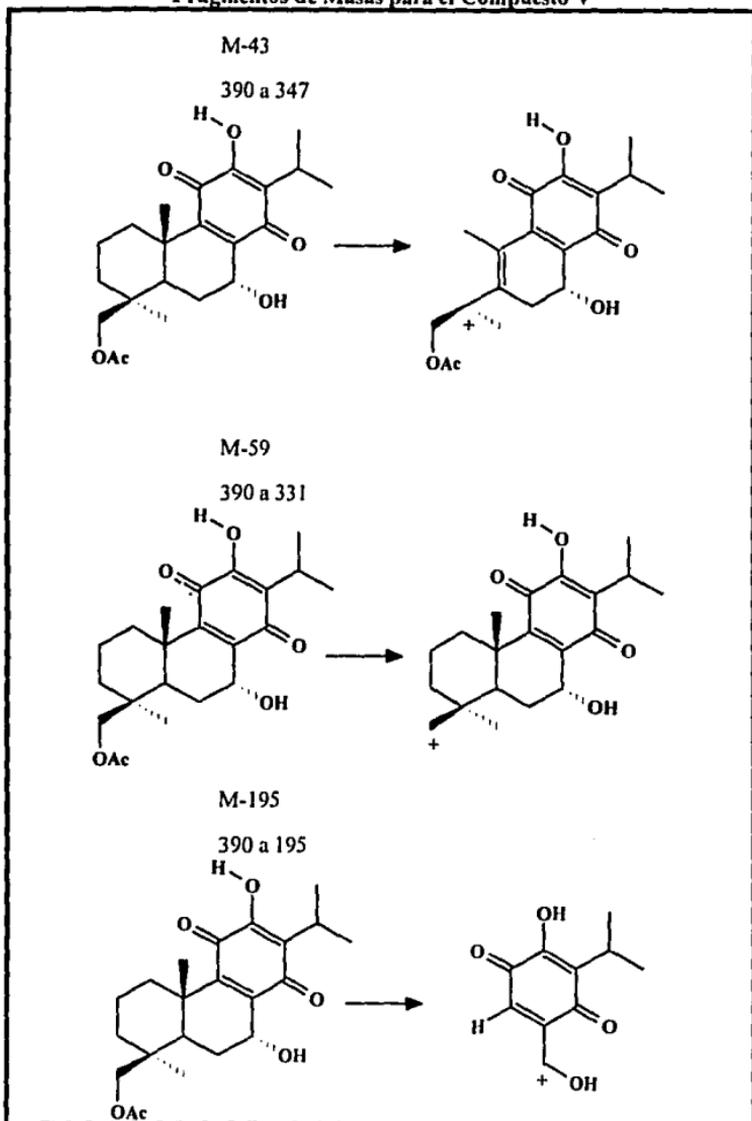


El peso molecular determinado por espectrometría de masas ($M+ 390$) corresponde a una fórmula condensada $C_{22}H_{30}O_6$.

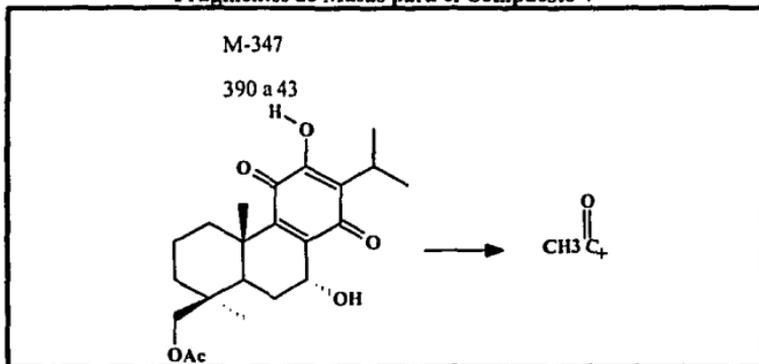
Fragmentos de Masas para el Compuesto V



Fragmentos de Masas para el Compuesto V



Fragmentos de Masas para el Compuesto V



Por el análisis anterior es posible proponer que la estructura de este compuesto corresponde para la 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona^{51,52}.
Compuesto V.

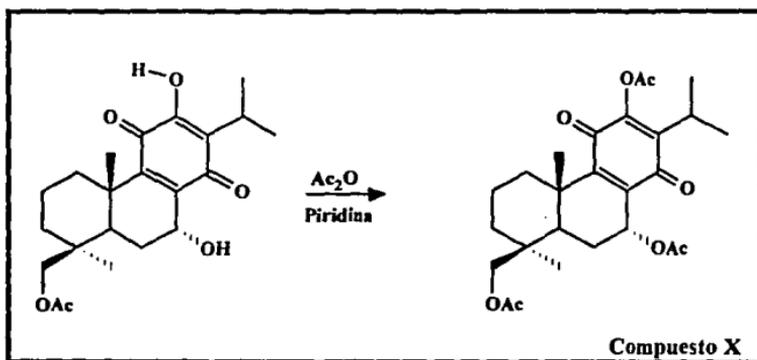
La deducción de la estereoquímica del compuesto anterior se llevó a cabo mediante métodos espectroscópicos y el uso de modelos Drieding.

Para el grupo en la posición C-7 se propone una orientación pseudo axial basado en el valor de las constantes de 4 Hz y 1.5 Hz, lo cual indica una interacción ecuatorial-ecuatorial y axial-ecuatorial con los protones H-6.

La fusión de los anillos A y B se propone trans por razones biogénéticas, en consecuencia la configuración de los centros quirales es 7R, 5S y 10R, por las mismas razones.

Este metabolito resultó ser un compuesto no descrito en la literatura, isómero de la 19-hidroxi 7 α -acetoxiroyleanona^{12,16,51,52,53}.

El tratamiento de la 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona con anhídrido acético en piridina originó el Compuesto X. Después de comprobar por cromatografía en capa fina que la materia prima había reaccionado por completo, se aisló un producto con menor polaridad que la materia prima. El espectro de RMN ^1H muestra dos metilos de acetato, uno alifático y otro aromático, lo cual indica que los oxhidrilos de la posición C-12 y C-7 formaron los ésteres correspondientes. El protón geminal al oxhidrilo en C-7 se encuentra desplazado a campo bajo con constantes de acoplamiento de 1.34 Hz y 3.54 Hz, que corresponden a un protón con orientación β e acoplado con un protón con orientación axial y con un protón con orientación ecuatorial.



El producto anterior también se obtuvo como producto de acetilación de un compuesto aislado de *Salvia regia*¹². (Espectro 15)

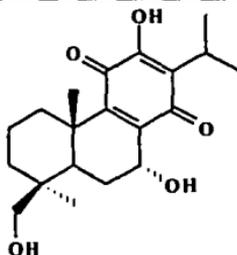
De la fracción no polar generada del proceso de partición se aisló un producto cristalino amarillo con punto de fusión de 164-166°C. Su peso molecular determinado por espectrometría de masas fue de 348 uma, el cual concuerda para una fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_5$.

En el espectro de RMN ^{13}C y APT se observan veinte señales que corresponden a los 20 átomos de carbono de la molécula. Al analizar el espectro APT se encuentran cuatro metilos, cinco metilenos, tres metinos y ocho carbonos tetrasustituídos. Restando del peso molecular las 265 uma correspondientes a $\text{C}_{20}\text{H}_{25}$, queda 83 uma por asignar, lo cual permite deducir la presencia de cinco átomos de oxígeno y tres átomos de hidrógeno no unidos a carbono. (Espectro 10)

De los carbonos tetrasustituídos, seis de ellos se encuentran en zona de carbonos sp^2 , de los cuales dos son carbonilos de quinona y dos en zona de carbonos sp^3 .

En el espectro de protón, se observa un sistema AB en 3.76 ppm y 3.58 ppm, con constante de acoplamiento de 10.5 Hz de un hidroximetileno (desplazado a campo alto comparado con el caso anterior). (Espectro 9)

La semejanza entre el espectro del compuesto 7α -hidroxi-19-acetoxi-royleanona y el espectro del compuesto en discusión, permite asignar a este compuesto la estructura de 7α -19-dihidroxiroyleanona.



7α -19-dihidroxiroyleanona

compuesto VI

De la fracción polar producida del proceso de partición fue posible aislar y purificar 26 mg de un sólido cristalino amarillo con un punto de fusión de 253-255 °C.

Los datos espectroscópicos proporcionaron la siguiente información. En el espectro de IR se encontró en 3601 y 3367 cm^{-1} bandas para grupo oxhidilo y en 1695 cm^{-1} la banda para carbonilo de ácido.

El espectro de UV da información de la presencia de un anillo aromático, lo cual se confirma con la asignación de dos señales simples en el espectro de RMN ^1H en 6.62 ppm y 6.77 ppm para los protones de un anillo aromático que conservan una relación *para* entre ellos. La presencia de un grupo isopropilo quedó manifiesta debido a la presencia de dos metilos dobles en 1.17 ppm y 1.19 ppm con constante de acoplamiento de 7.1 Hz y de un metino heptuplete en 3.09 ppm con la misma constante de acoplamiento. Se encuentran dos metilos angulares en 1.12 ppm y 1.24 ppm, por lo que la falta de otro metilo angular implica la oxidación de un metilo unido a C-4 ó del metilo en C-10. (Espectro 11)

El espectro de RMN ^{13}C presenta siete carbonos en la zona sp^2 , de los cuales dos son metinos, cuatro son carbonos tetrasustituídos y el otro carbono es el carbonilo de un grupo ácido. En la zona de carbonos sp^3 se observan trece señales, de las cuales cuatro señales corresponden a grupos metilo, cinco señales a metilenos, dos a metinos y dos a carbonos tetrasustituídos. Tabla 2 (Espectro 12 y 13)

El espectro de correlación heteronuclear a un enlace (HETCOR), permitió asignar con mayor facilidad el espectro de RMN ^1H ; aunque la multiplicidad de las señales no fue fácil de reconocer, fue posible localizar el desplazamiento químico de todos los protones. (Espectro 14), Tabla 3.

Se pueden asignar a través de la correlación heteronuclear los carbonos C1, C2, C3, C5, C6, C7, C11, C14, C15, C16, C17, C18 y C20.

Correlación carbono-hidrógeno a un enlace

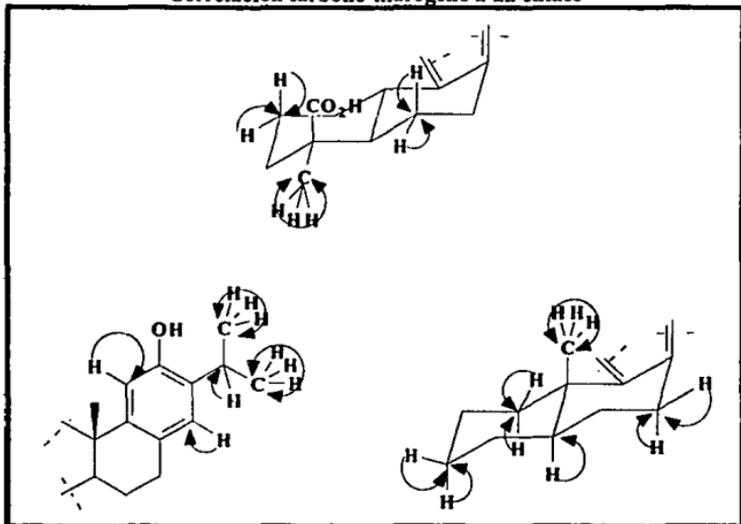


TABLA 3
Desplazamiento Químico de correlación carbono-hidrógeno

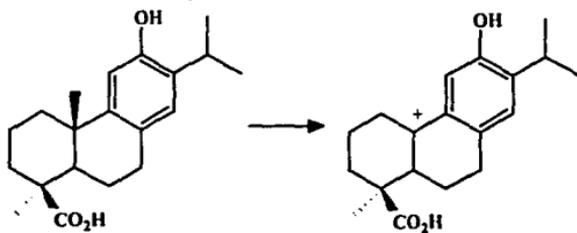
127.16	C-14	H-14	6.79 ppm
112.66	C-11	H-11	6.59 ppm
54.17	C-5	H-5	1.39 ppm
40.70	C-1	H-1e, H-1a	2.09 1.28
38.66	C-3	H-3e, H-3a	2.09 0.95
32.40	C-7	H-7e, H-7a	2.63 ppm
29.28	C-20	H-20	1.24 ppm
27.58	C-15	H-15	3.09 ppm
23.67	C-16	H-16	1.17 ppm
23.19	C-17	H-17	1.19 ppm
23.15	C-18	H-18	1.12
22.49	C-6	H-6ey H-6a	2.08 1.83
21.07	C-2	H-2e H-2a	1.91 y 1.48

El espectro de masas dió como resultado un compuesto con un ión molecular de 316 uma, para una fórmula condensada de $C_{20}H_{28}O_3$, con un grado de insaturación de siete, con los siguientes fragmentos importantes: 301(316- CH_3), 283(301- H_2O), 255(301- $HCOOH$), 213(255- C_3H_6), 43(316-273) pico base.

Fragmentos de Masas para el Compuesto VII

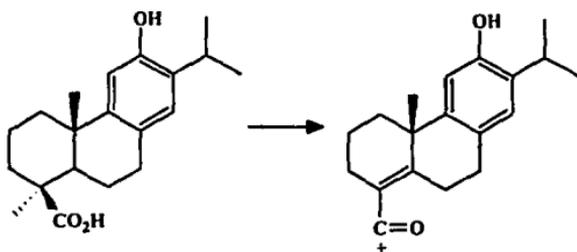
M-15

316 a 301



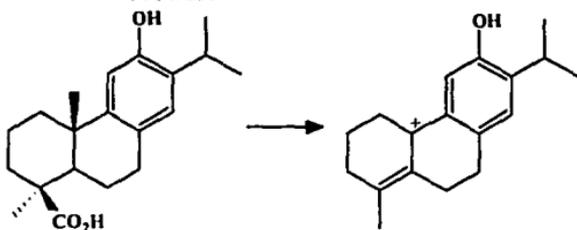
M-33

316 a 282

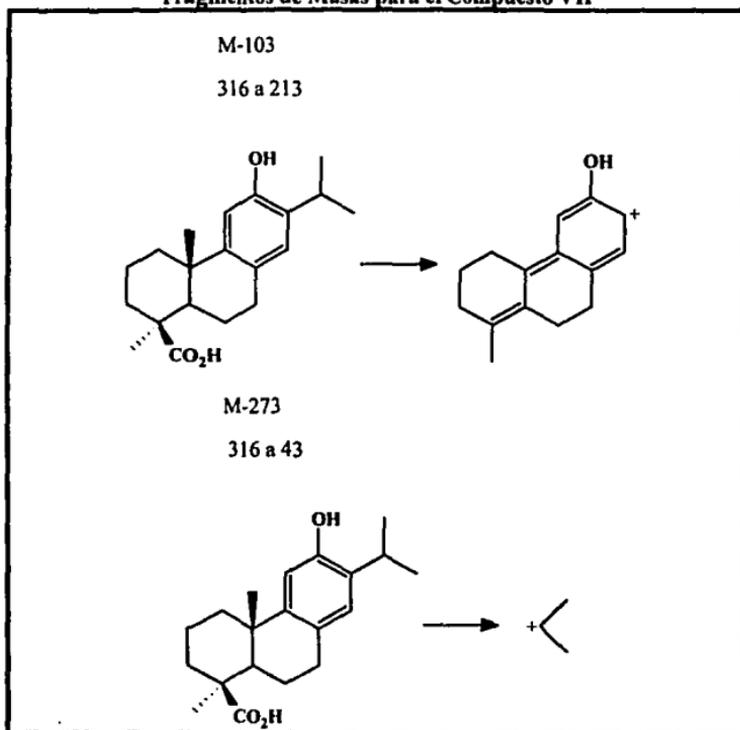


M-61

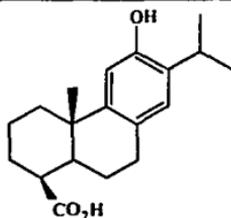
316 a 255



Fragmentos de Masas para el Compuesto VII



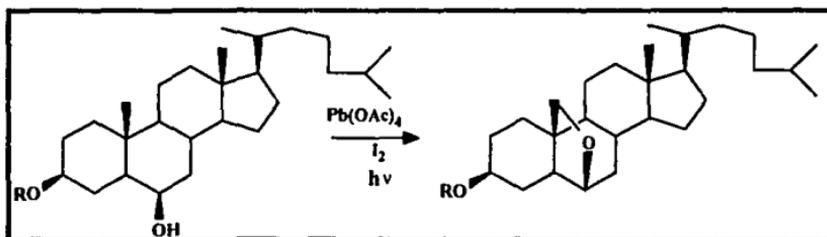
Después de analizar la información espectroscópica y consultar la bibliografía se pudo concluir que este compuesto es el ácido 13 isopropilpodocárpico^{54,55}. (Compuesto VII).

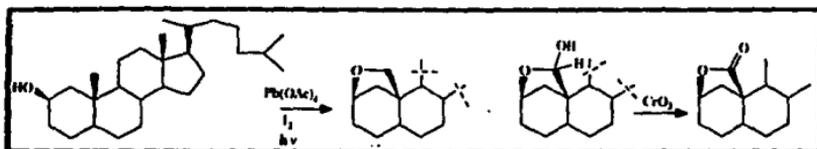


Acido 13-isopropilpodocárpico
compuesto VII

Reacciones

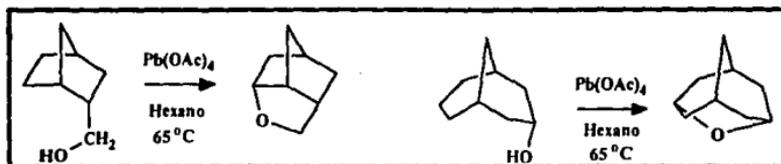
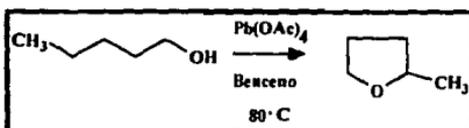
Quizá una de las reacciones más útiles del grupo hidroxilo es la reacción de abstracción de hidrógeno intramolecular. Esta reacción ha sido más estudiada en los sistemas en que existe una geometría rígida, en donde la yuxtaposición del radical padre y el radical hijo favorece la regioselectividad. Los sistemas esteroideales⁵⁶ son los mejores ejemplos de esta reacción.



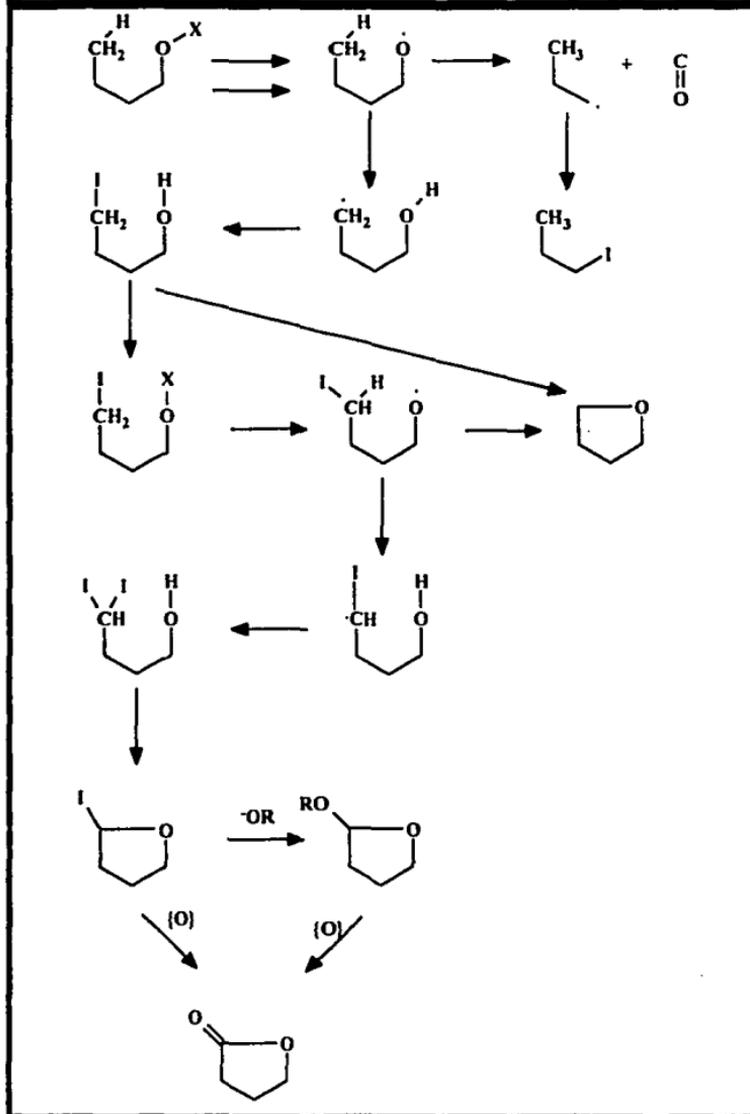


Este tipo de reacciones han demostrado ser particularmente útiles para la funcionalización de metilos, metilenos y metinos en productos naturales. La transformación se inicia con la ruptura homolítica del enlace X-Y de un sustrato apropiado para dar un radical. Este radical, si tiene la suficiente energía, podrá abstraer un átomo de hidrógeno de un carbono con disposición 1,3 diaxial y con la conformación adecuada para producir un radical transpuesto y finalizar con una recombinación. (Esquema 1)

El tratamiento de alcoholes con tetraacetato de plomo en disolventes no-polares⁵⁷ produce éteres cíclicos, estos pueden ser preparados por fotólisis de hipocloritos terciarios con tratamiento básico^{58,59}.



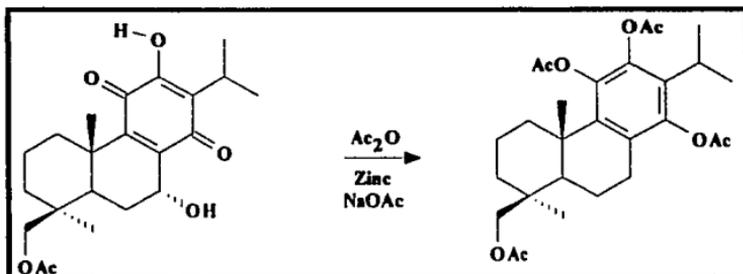
Esquema 1



Conociendo los métodos para funcionalizar posiciones poco reactivas en una molécula por métodos fotoquímicos, fue necesario hacer varias reacciones con la 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona con la finalidad de transformar los grupos funcionales que podrían llevarnos a productos no esperados, siendo el hidroxilo de la posición 19, producto de la hidrólisis del acetoxi de la posición 19, el que reaccionará preferentemente.

La 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona se sometió a condiciones de reducción acetilante obteniéndose un producto con un aumento de masa de 112 una respecto a la materia prima. Esto representa haber incorporado tres grupos CH_3CO y la pérdida de un átomo de oxígeno y un átomo de hidrógeno.

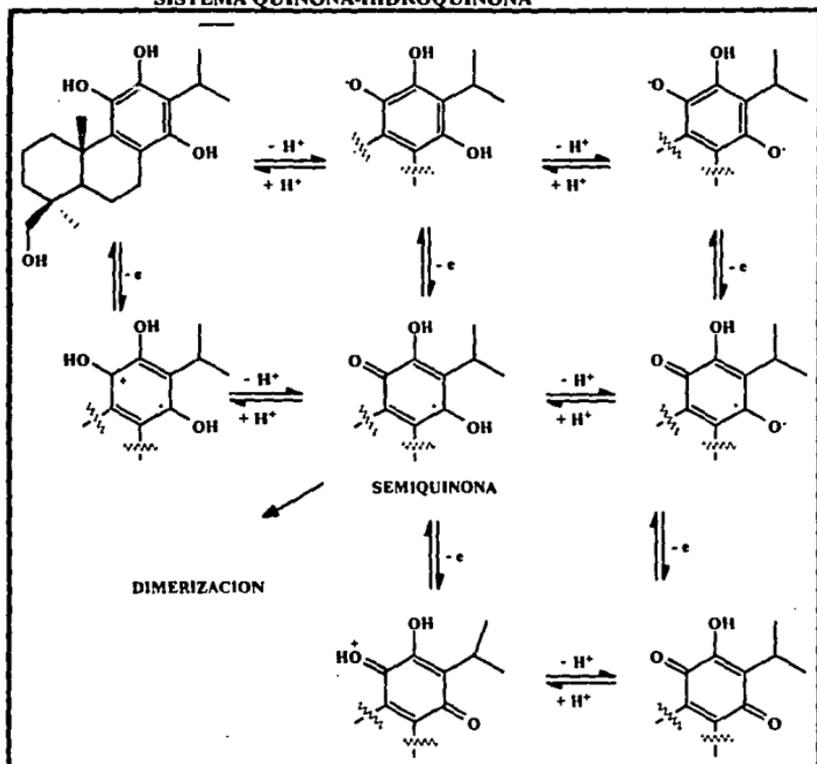
En el espectro de IR se observa la banda de carbonilo para acetato fenólico y no se observa la banda para grupo oxhidrilo. En el espectro de RMN ^1H , el protón geminal al grupo oxhidrilo H-7 ya no se observa desplazado a campo bajo debido a que conjuntamente con la reducción acetilante ocurrió una hidrogenólisis, perdiéndose el grupo oxhidrilo de la posición C-7. El anillo C se encuentra reducido y los fenoles se acetilaron, observándose en el espectro de RMN- ^1H los correspondientes grupos metilo de acetato^{12,13}.



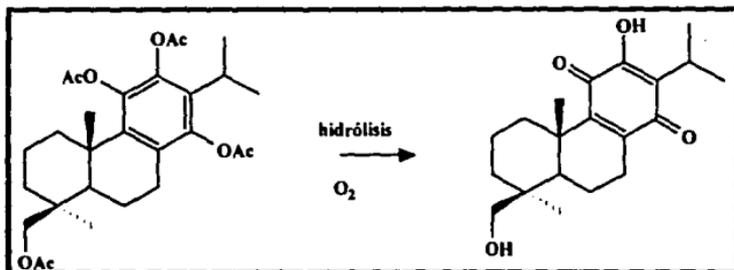
Compuesto VIII

El compuesto tetraacetilado se hidrolizó en medio básico, con la finalidad de tener libre el oxhidrilo de la posición 19 y así tener la materia prima para ensayar una transformación fotoquímica. Se obtuvo el producto de hidrólisis de los cuatro grupos acetato, seguida de una oxidación con aire debido a que el sistema quinona-hidroquinona es un sistema oxido-reductor reversible, con una clara influencia ácido-base⁶⁰. Soluciones alcalinas de hidroxiquinonas toman rápidamente oxígeno produciendo por lo general una mezcla complicada de productos.

SISTEMA QUINONA-HIDROQUINONA



Este proceso de oxidación espontánea dió como resultado el siguiente compuesto.



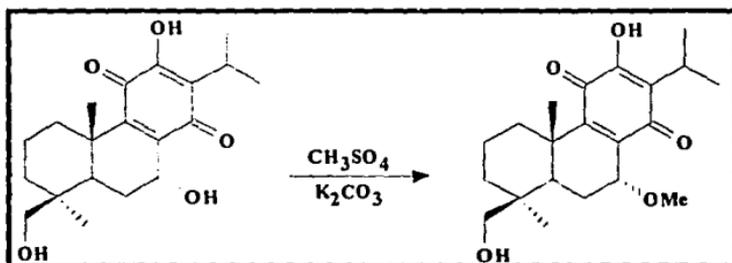
Compuesto IX

El producto de reacción (Compuesto X), acetilado en las posiciones 7 y 12, se pensó que sería más sencillo encontrar las condiciones de reacción para conseguir que los oxhidrilos producto de reacción de la reducción del anillo C formara el éter al reaccionar con sulfato de metilo en medio básico. Ejemplos de reacciones similares informan que el rendimiento de la reacción es bajo (9-15%) y por períodos de reacción muy largos (48-72 horas)^{51.61.62}.

Se buscaron las condiciones óptimas de reacción ensayando con varias bases suaves y fuertes sin llegar a aislar el producto deseado.

La 7 α -19-dihidroxiroyleanona se hizo reaccionar con sulfato de metilo en medio básico durante 24 horas, encontrando por cromatografía en capa fina un compuesto con una polaridad menor que la polaridad de la materia prima. Después de cromatografiar la reacción se determinó el espectro de RMN ¹H del producto menos polar y se observaron los siguientes cambios en relación al espectro de la 7 α -19-dihidroxiroyleanona. En 3.46 ppm se encuentra una señal

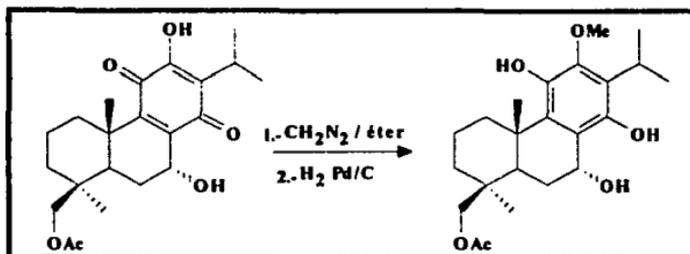
simple que integra para tres protones, misma que se asigna a un metilo unido a un oxígeno para un éter alifático. El desplazamiento químico de esta señal y la señal en 7.22 permiten concluir que no se formó el éter en el oxhidrilo de la posición 12. Con un desplazamiento químico en 3.73 y 3.52 ppm con constante de acoplamiento de 10.5 Hz se encuentra el sistema AB del metileno de la posición 19. Al no encontrarse cambio en el desplazamiento químico del sistema AB se puede afirmar que el éter no se encuentra en la posición 19. En 4.26 ppm se encuentra un sistema doble de doble con constante de acoplamiento de 5 Hz y 2 Hz para un protón con acoplamiento ecuatorial-axial y ecuatorial-ecuatorial. Comparando el desplazamiento químico de esta señal con el desplazamiento químico de la señal del sustrato, se observa una diferencia de 0.46 ppm a campo alto originado por un efecto de protección debido al éter metílico que se encuentra en posición geminal al protón H-7. (Espectro 16 y 17).



Compuesto XI

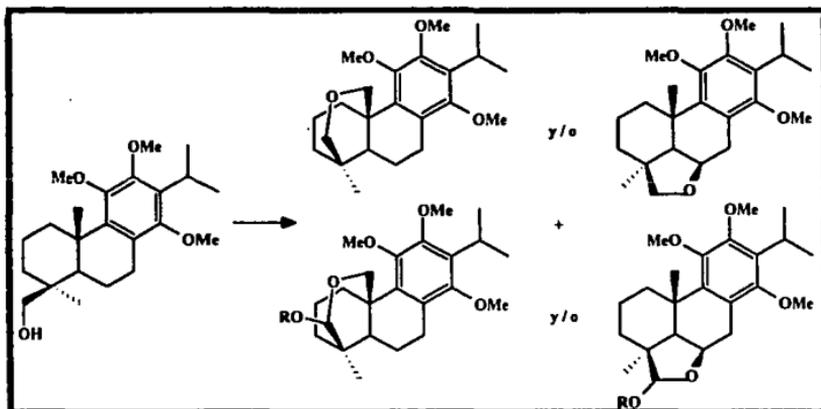
La 7 α -hidroxi 19-acetoxiroleanona se sometió a condiciones de metilación con diazometano, seguida de una reducción catalítica, usando como catalizador Pd/C al 10%, obteniendo la metilación del oxhidrilo unido a C-12 y la reducción del anillo C, (Compuesto XII). El producto de reacción se sometió a condiciones de metilación con sulfato de metilo en medio básico y atmósfera de

argón durante 48 horas sin obtener los éteres en las posiciones C-11 y C-14.
(Espectro 18).



Compuesto XII

El interés de formar los éteres se debió a la necesidad de conservar únicamente el hidroxilo de la posición 19 con la finalidad de que fuera el grupo susceptible de reaccionar bajo condición oxidativa fotoquímica y así obtener un compuesto que podría ser relacionado con otros productos naturales^{63,64,65,66}.



PARTE EXPERIMENTAL

Parte Experimental

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

Para las cromatografías en columna se utilizó gel de sílice 60 Merck (35-70, 70-230 y 230-400 ATSM). Para las cromatografías en placa preparativa se utilizaron placas de Sílice gel Merck F-254. La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones químicas se siguió por cromatografía en capa fina de Sílice gel F-254 usando como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Los espectros de IR fueron obtenidos en nujol, bromuro de potasio ó cloroformo en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 337 o en un espectrofotómetro Nicolet FT-55X.

Los espectros de UV fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 552.

Las rotaciones específicas fueron determinadas en un Polarímetro Perkin-Elmer 241.

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C se realizaron en equipos Varian VXR-300S, Gemini-200 ó FT80-A; la frecuencia de observación de protón fue de 300 MHz, 200 MHz u 80 MHz y la frecuencia de observación de carbono fue de 75 MHz ó 50 MHz.

Los desplazamientos químicos están en partes por millón; ppm, en unidades δ con respecto al TMS. Los valores de las constantes de acoplamiento están en Hertz (Hz).

Las asignaciones en los espectros de ^{13}C fueron hechas con ayuda de los experimentos APT, DEPT ó HETEROCOSY.

Los espectros de masas se determinaron en un equipo Hewlett Packard 5985-B, por la técnica de impacto electrónico a 70 eV.

La planta estudiada fue recolectada el mes de septiembre de 1986 a 10 Km al suroeste de Totontepec, Oaxaca, e identificada por el Dr. T.P. Ramamoorthy, encontrándose clasificada en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la UNAM, con el número MEXU-459073.

AISLAMIENTO

1.7 Kg de hojas y tallos secos de *S. recurva* se sometieron a extracción con acetona durante cinco días a temperatura ambiente, obteniéndose, después de la destilación del disolvente a presión reducida, 135 g de extracto. El extracto se trabajó realizando una partición con metanol-agua (4:1) y benceno-hexano (1:1), obteniéndose 90 g de extracto en la fase no polar. El disolvente de la fase polar se eliminó a presión reducida, se extrajo con acetato de etilo, se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida, para obtener 45 g de extracto de la fase polar.

La purificación de los componentes de la fase polar se efectuó en cromatografía en columna, aumentando la polaridad del eluyente (hexano-acetato de etilo) obteniendo así varias fracciones, de las cuales se aislaron los siguientes compuestos.

Se aislaron 3.85 g de un sólido amorfo blanco. Mezcla de ácidos triterpénicos ursólico y oleanólico. (Compuesto I y II)

IR (KBr) ν_{\max} cm^{-1} : 3444 (oxhidrilo) y 1690 (carbonilo de ácido).

Se aislaron 45 mg de un sólido blanco amorfo, purificado por recristalizaciones sucesivas de metanol-acetato de etilo.

IR (nujol) ν_{\max} cm^{-1} : 3680 (oxhidrilo) y 1690 (carbonilo de ácido).

RMN ¹H (80 MHz)·(CDCl₃) δ ppm: 5.25 (t, 1H J=2.5 Hz), 3.6 (td, 1H, J=9 y 5 Hz), 3.0 (d, 1H, J=9 Hz), 1.15 (s, 3H), 1.05 (s, 3H), 1.0(s, 3H), 0.95(s, 3H), 0.90(s, 3H), 0.85(s, 3H) y 0.74(s, 3H).
ácido maslínico (Compuesto III)

Se aislaron 65 mg de un sólido amorfo amarillo, purificado por recristalizaciones sucesivas de acetona-acetato de etilo.

IR (nujol) ν_{\max} cm^{-1} : 3404, 3184 (oxhidrilos); 2923, 2528 (sobretonos aromáticos); 1720 (éster alifático); 1649 (carbonilo conjugado); 1604 (doble enlace C-C).

RMN ^1H (300 MHz) ($\text{CH}_3\text{OH-d}_4$) δ (ppm): 8.02 (d, 1H, $J=8.7$ Hz), 6.85 (d, 1H, $J=8.7$ Hz), 6.39 (d, 1H, $J=2.1$ Hz), 6.21 (d, 1H, $J=2.1$ Hz), 5.12 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 4.03 (dd, 1H, $J=11.5$ Hz y 5.4 Hz), 4.19 (dd, 1H, $J=11.5$ Hz y 5.4 Hz), 1.86 (s, 3H, acetato). (Espectro 1)

RMN ^{13}C y APT (75 MHz) ($\text{CH}_3\text{OH-d}_4$) δ (ppm) tabla 1 (Espectro 2) 6"Acetil-3-O- β -D-glucopiranosil Camperol (Compuesto IV)

De la fracción obtenida con 10% de acetato de etilo-hexano y purificado por cromatografía en placa preparativa usando como eluyente una mezcla de hexano-cloruro de metileno-metanol manteniendo una relación constante 6:3:1 se aislaron 17 mg de un sólido amorfo de color amarillo.

De éste mismo compuesto se aislaron 3.5 g de la fracción no polar.

El punto de fusión fue de 174-176°C.

IR (CHCl_3) ν_{max} cm^{-1} : 3642, 3372 (oxhidrilo); 1728 (carbonilo de ester); 1639 (carbonilo conjugado); 1606 (doble enlace C-C) 1390, 1210, 1183 (enlace C-O).

UV (CH_3OH) λ_{max} : 204 nm ($\epsilon=14297$) y 272 nm ($\epsilon=11087$).

EM m/z (abundancia relativa) impacto electrónico: 390 (M^+ , 5), 373 (47), 347 (5), 331 (12), 55 (68), 43 (100). El ión molecular 390 corresponde a una fórmula condensada $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_6$.

RMN ^1H (200 MHz) (CDCl_3) δ (ppm): 7.16 (s, 1H, no se observa después de adicionar D_2O , oxhidrilo fenólico); 4.72 (m, 1H, $W_{1/2}=6$ Hz, H-7); 4.21 (d, 1H, $J=10.5$ Hz, H-19); 3.98 (d, 1H, $J=10.5$ Hz, H-19'); 3.16 (hept, 1H, $J=7.1$ Hz, H-15), 3.05 (s, 1H no se observa después de adicionar D_2O , oxhidrilo unido a C-7), 2.72 (dt, 1H, $J=12.9$ Hz y 4.5 Hz, H-1e); 2.05 (s, 3H, metilo de acetilo); 1.25 (s, 3H, H-20); 1.24 (d, 3H, $J=7.1$ Hz, H-16); 1.22 (d, 3H, $J=7.1$ Hz, H-17); 1.08 (s, 3H, H-18). (Espectro 3)

RMN ^{13}C y DEPT (200 MHz) (CDCl_3) δ ppm. tabla 2 (Espectro 4 y 5)

COSY (300 MHz) (CDCl_3) δ ppm. Correlación Homonuclear a un enlace. (Espectro 6)

HETCOR (300 MHz) (CDCl_3) δ ppm. Correlación Heteronuclear a un enlace. (Espectro 7)

HETCOR (300 MHz) (CDCl_3) δ ppm. Correlación Heteronuclear a larga distancia. (Espectro 8) (Compuesto V) 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona.

Por cromatografía en columna "flash" utilizando como eluyente hexano-acetato de etilo 7:3, se aislaron 0.132 g de un sólido cristalino de color amarillo; p.f. de 164-166°C.

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3629, 3391 (oxhidrilo), 1642 (carbonilo de quinona), 1609 (doble enlace C-C).

EM m/z (abundancia relativa): 348 (5), 91 (4), 55 (8), 41 (12), 43 (100, pico base). Para el ión molecular 348 corresponde una fórmula condensada C₂₀H₂₈O₅.

RMN ¹H (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 7.26 (s, 1H, desaparece después de adicionar D₂O, oxhidrilo fenólico); 4.72 (m, 1H, W1/2=6 Hz, H-7); 3.76 (d, 1H, J=10.5 Hz, H-19); 3.58 (d, 1H, J=10.5 Hz, H-19'); 3.18 (hept, 1H, J=7.1 Hz, H-15); 2.62 (dt, 1H, J=12.9 Hz y 4.5 Hz, H-1e); 2.19 (s, 1H, desaparece después de adicionar D₂O, oxhidrilo unido a C-7); 1.23 (s, 3H, H-20); 1.22 (d, 3H, J=7.1 Hz, H-17); 1.22 (d, 3H, J=7.1 Hz, H-16); 1.09 (s, 3H, H-18). (Espectro 9)

RMN ¹³C y APT (75 MHz) (CDCl₃) δ (ppm) tabla 2. (Espectro 10)

Este compuesto es el 7 α ,19-dihidroxiroyleanona. (Compuesto VI).

De una fracción eluida con hexano-acetona 9:1 en cromatografía en columna se lograron aislar y purificar por recristalizaciones sucesivas de cloruro de metileno-metanol 26 mg de un sólido amorfo amarillo. Éste compuesto tiene un punto de fusión de 253-255°C.

IR (Nujol) ν_{\max} cm⁻¹: 3601, 3367 (oxhidrilos); 1695 (carbonilo de ácido); 1620 (doble enlace C-C); 1614 (enlace C-O).

Rotación óptica [α]_D²⁰=+199.3°C.

EM m/z (abundancia relativa): 316 (37), 301 (36), 283 (24), 255 (16), 213 (19), 43 (100, pico base).

RMN ¹H (300 MHz) (CH₃OH-d₄) δ (ppm): 6.77 (s, 1H, H11); 6.62 (s, 1H, H14), 3.18 (hept, 1H, J=7.1 Hz, H15); 1.27 (s, 3H, H-20), 1.19 (d, 3H, J=7.1 Hz, H17); 1.17 (d, 3H J=7.1 Hz, H16); 1.08 (s, 3H, H18). Espectro 11

RMN ¹³C y DEPT (200 MHz) (CH₃OH-d₄) δ (ppm) tabla 2. (Espectro 12 y 13)

HETCOR (200 MHz) (CH₃OH-d₄) δ (ppm). Correlación Heteronuclear a un enlace. (Espectro 14) (Compuesto VII) Ácido 13-isopropilpodocárpico.

La 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona se sometió a condiciones de acetilación con anhídrido acético/piridina. 250 mg se disolvieron en 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de piridina y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas. El exceso de piridina y anhídrido acético fueron eliminados del seno de la reacción por medio de alto vacío. Al residuo se le agregó agua destilada fría, se extrajo con acetato de etilo y se lavó con porciones de ácido clorhídrico al 10% neutralizándose posteriormente con bicarbonato de sodio al 10% y agua destilada hasta pH neutro. Por último se secó con sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida. Se obtuvieron 172 mg de un compuesto cristalino amarillo de punto de fusión 175-177 °C. (Compuesto X).

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 1772 (ester aromático), 1725 (ester alifático), 1646 (carbonilo de quinona); 1612 (doble enlace C-C).

EM m/z (abundancia relativa): 474 (3), 432 (21), 390 (45), 372 (100, pico base), 357 (10), 43(98).

RMN ¹H (300 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 5.87 (dd, 1H, J=3.54 Hz y 1.34 Hz, H7), 4.18 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19); 3.95 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19'); 3.07 (hept, 1H, J=7.1 Hz, H15); 2.57 (dt, 1H, J=12.9 Hz y 4.5 Hz, H1e); 2.28 (s, 3H, acetato); 2.02 (s, 3H, acetato unido a C19); 1.98 (s, 3H, acetato alifático, en C7), 1.23 (s, 3H, H-20); 1.14 (d, 3H, J=7.1 Hz, H16); 1.12 (d, 3H, J=7.1 Hz, H17); 0.92 (s, 3H, H18). (Espectro 15)

La 7 α -hidroxi 19-acetoxiroyleanona se sometió a condiciones de reducción acetilante. 500 mg de éste compuesto se disolvieron en 5 ml de anhídrido acético y se trataron con 500 mg de acetato de sodio fundido y 600 mg de polvo de zinc durante 24 horas a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le añadió hielo, se filtró, se extrajo con acetato de etilo. La fase

orgánica se lavó con agua, solución de bicarbonato de sodio al 10%, agua y se secó con sulfato de sodio anhidro, se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose 618 mg de un producto sólido blanco, p.f. de 132-134 °C (Compuesto VIII).

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 1770 (acetato fenólico); 1730 (acetato alifático), 1604 (doble enlace C-C).

EM m/z (abundancia relativa): 502 (5), 460 (24), 418 (43), 375 (71), 43 (100, pico base).

RMN ¹H (80 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 4.21 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19); 3.98 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19'); 3.16 (hept, 1H, J=7.1 Hz, H15); 2.72 (dt, 1H, J=12.9 Hz y 4.5 Hz, H1e); 2.17 (s, 9H, acetato fenólico); 2.05 (s, 3H, acetato alifático); 1.27 (s, 3H, H18); 1.22 (d, 3H, J=7.1 Hz, H16); 1.18 (d, 3H, J=7.1 Hz, H17); 1.08 (s, 3H, H-20).

El compuesto VIII se disolvió en metanol (618 mg) y se agregaron 220 mg de carbonato de potasio en 100 ml de agua con agitación durante 3 horas Después de comprobar por cromatografía en placa fina que ya no había materia prima en el seno de la reacción, se evaporó en metanol a presión reducida para trabajar la reacción. El producto de reacción se extrajo con acetato de etilo, se neutralizó con ácido acético diluido, se lavó hasta alcanzar un pH neutro con pequeñas porciones de agua, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose 396 mg de un producto sólido de color amarillo, p.f. de 168-170 °C, (Compuesto IX).

IR (CHCl₃) ν_{\max} cm⁻¹: 3585 (oxhidrilo), 1646 (carbonilo de quinona); 1612 (doble enlace C-C).

EM m/z (abundancia relativa): 332 (10), 314 (22), 271 (19), 55 (36), 43 (100, pico base).

RMN ¹H (80 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 7.26 (s, 1H, no se observa después de adicionar D₂O, oxhidrilo fenólico), 3.76 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19); 3.58 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19'); 3.18 (hept, 1H, J=7.1 Hz, H15); 2.62 (dt, 1H, J=12.9 Hz y 4.5 Hz, H1e); 1.25 (s, 3H, H18); 1.23 (d, 3H, J=7.1 Hz, H16); 1.21 (d, 3H, J=7.1 Hz, H17); 1.09 (s, 3H, H-20).

250 mg de la 7 α -19-dihidroxiroyleanona (compuesto V), se disolvieron en 40 ml de acetona anhidra, se adicionaron 2.9 g de carbonato de potasio y se hizo reaccionar con 0.3 ml de sulfato de metilo. La mezcla de reacción se dejó con agitación durante 6 horas, al cabo de las cuales se agregó la misma cantidad de carbonato de potasio y de sulfato de metilo y se dejó la

reacción durante toda la noche. El carbonato de potasio se eliminó por filtración y la solución se concentró a presión reducida. El crudo de la reacción se dejó con agitación en agua por 1.5 horas, posteriormente se extrajo con acetato de etilo, se neutralizó con una solución de bicarbonato de sodio al 10% y se lavó con agua hasta pH neutro. Se secó sobre sulfato de sodio anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla de productos de la reacción fueron separados por cromatografía "flash" sobre sílica gel 230-400 utilizando como eluyente una mezcla de hexano-acetato de etilo 9.5:5. Ésta cromatografía permitió separar dos compuestos, la materia prima y un producto menos polar sólido de color amarillo, p.f. de 196-198 °C (Compuesto XI).

RMN ¹H (80 MHz) (CDCl₃) δ (ppm): 7.22 (s, 1H, no se observa después de agregar D₂O, oxhidrilo fenólico); 4.35 (dd, 1H, J=3.8 Hz y 2 Hz, H7), 3.73 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19); 3.52 (d, 1H, J=10.5 Hz, H19'); 3.41 (s, 3H, metoxilo en C7); 3.16 (hept, 1H, J=7.1 Hz, H15); 2.6 (dt, 1H, J=12.9 Hz y 4.5 Hz, H1e); 1.66 (s, no se observa después de agregar D₂O); 1.23 (d, 3H, J=7.1 Hz, H17); 1.27 (s, 3H, H18); 1.18 (d, 3H, J=7.1 Hz, H16); 1.05 (s, 3H, H-20). Compuesto XI. (Espectro 16)

RMN ¹³C (50 MHz) (CDCl₃) δ (ppm) tabla 2. (Espectro 17)

De la 7α-hidroxi 19-acetoxiroyleanona fueron tratados 250 mg con diazometano en éter etílico a temperatura ambiente. El curso de la reacción se siguió por cromatografía en placa fina. Se dejó de adicionar diazometano cuando la materia prima ya no se encontraba en el seno de la reacción. Después de evaporar el éter etílico, el crudo de la reacción se disolvió en metanol, esta solución se agregó a una suspensión de Pd/C al 10% previamente hidrogenado en metanol. La reacción se dio por concluida cuando dejó de consumir hidrógeno, situación que coincidía con la decoloración de la solución.

Por filtración sobre papel-celita se eliminó el catalizador. Se concentró la solución a presión reducida, obteniéndose así un sólido cristalino recristalizado de hexano-acetato de etilo, p.f. de 179-181 °C.

RMN ^1H (300 MHz) (CDCl_3) δ (ppm): 6.97 (s, 1H, fenol en C11); 5.80 (s, 1H, fenol en C14); 4.91 (m, 1H, $J_{w1/2}=6$ Hz, H7), 4.28 (d, 1H, $J=10.5$ Hz, H19); 4.00 (d, 1H, $J=10.5$ Hz, H19'); 3.72 (s, 3H, metoxilo en C12); 3.38 (hept, 1H, $J=7.1$ Hz, H15); 3.20 (dt, 1H, $J=12.9$ Hz y 4.5 Hz, H1e); 2.06 (s, 3H, metilo de acetato, en C19), 1.28 (s, 3H, H18); 1.38 (d, 3H, $J=7.1$ Hz, H16); 1.33 (d, 3H, $J=7.1$ Hz, H17); 1.03 (s, 3H, H-20). (Espectro 18) (Compuesto XII).

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Resumen y Conclusiones

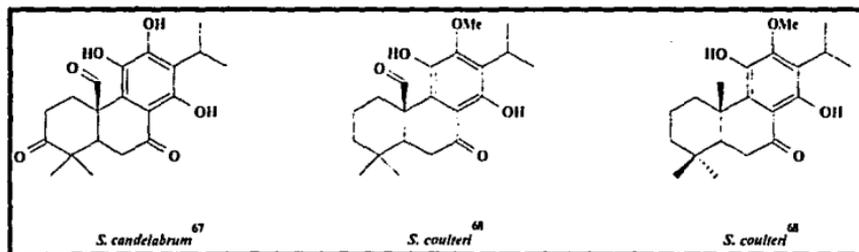
El estudio fitoquímico de *Salvia recurva* permitió llegar a las siguientes conclusiones:

Se aislaron y caracterizaron por métodos espectroscópicos y químicos siete metabolitos secundarios de los cuales tres fueron diterpenos. Además de los ácidos ursólico, oleanólico y maslínico, triterpenos ampliamente distribuidos en la familia de las labiadas, se aislaron los diterpenos ácido 13-isopropilpodocárpico, 7 α -19-dihidroxiroyleanona y la 7 α -hidroxi-19-acetoxiroyleanona, siendo éste último un producto natural descrito por primera vez.

Este trabajo es una contribución al estudio de la composición química de las *Salvias* mexicanas.

En las especies estudiadas hasta ahora de la sección *Ducenostachys* se han aislado diterpenos con esqueleto de neo-clerodano en los casos de la *Salvia madrensis*⁵ y la *Salvia divinorum*¹⁷ y diterpenos con esqueleto de abietano en la *Salvia recurva*. Sería muy provechoso continuar el estudio de ésta sección para poder concluir si en éste grupo las plantas sintetizan ambos esqueletos de diterpenos, o si la *Salvia recurva* se encuentra mal clasificada.

En relación a la reducción y formación de éteres en el anillo C de abietanos, y la posterior formación de un anillo adicional a través de reacciones fotoquímicas, una posibilidad que ayudaría a modificar las condiciones en que el sistema quinona-hidroquinona se oxida espontáneamente, es oxidar el oxhidrilo de la posición 7, lo cual al parecer, estabiliza el sistema en la forma reducida^{66,67}. Tales estructuras se han caracterizado como productos naturales.



BIBLIOGRAFIA

Bibliografía

- 1.-Rzedowski, J. *Vegetación de México*, 1- ed. Ed. Limusa 1983.
- 2.-Epling, C. A. Revision of *Salvia* Subgenus *Calosphace*.
Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Berh. 110, 1939.
- 3.-Ramamoorthy, T. P. y Lorence, D. H. *Adansonia* 9, 167-175, 1987.
- 4.-González, A. G., *et al.* *Plantas Iberoamericanas*.
Fuente de moléculas bioactivas II Lamiaceae. Litografía A. Romero, S. A., 1990.
- 5.-Kubo, J., Taniguchi, M. y Kubota, T. *Rev. Latinoamer. Quim.* 9, 156-162, 1978.
- 6.-Ortega, A, Blount, J. F. y Manchand, P. S. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2505-2508, 1982.
- 7.-Valdes, L. J., Butler, W. M., Hatfield, G. M., Paul, A. G. y Koreeda, M.
J. Org. Chem., 49, 4716-4720, 1984.
- 8.-Esquivel, B., Vallejo, A., Gaviño, R., Cárdenas, J., Sánchez, A.A., Ramamoorthy T. P. y
Rodríguez-Hahn, L. *Phytochemistry*, 27, 2903-2905, 1988.
- 9.-Rodríguez-Hahn, L., García, A., Esquivel, B. y Cárdenas, J.
Can. J. Chem., 65, 2687-2690, 1987.
- 10.-Esquivel, B., Cárdenas, J. y Rodríguez-Hahn, L. *J. Nat. Prod.*, 50, 738-740, 1987.
- 11.-Jiménez, M., Portugal, E., Lira-Rocha, A., Soriano, M. y Toscano, R. A.
J. Nat. Prod., 51, 243-248, 1988.
- 12.-Hernández, M., Esquivel, B., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L. y Ramamoorthy, T. P.
Phytochemistry, 26, 3297-3299, 1987.
- 13.-Galicia, M. A., Esquivel, B., Sánchez, A. A., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L. y
Ramamoorthy, T. P. *Phytochemistry*, 27, 217-219, 1988.
- 14.-Escudero, J., Pérez, L., Rabanal, R. y Valverde, S. *Phytochemistry*, 22, 585-587, 1983.
- 15.-Hayashi, T., Kakisawa, H., Hsü, H. y Chem, Y. *Chemical Communications*, 299, 1970.
- 16.-Mukherjee, K. S., Ghosh, P. K. y Mukherjee, R. K. *Phytochemistry*, 22, 1296-1297, 1983.
- 17.-Rodríguez-Hahn, L., Alvarado, G., Cárdenas, J., Esquivel, B. y Gaviño, R.
Phytochemistry, 35, 447-450, 1994.

- 18.-Esquivel, B., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L. y Ramamoorthy, T. P. *Advances in Labiate Science*, 335-347. Royal Botanic Gardens, Kew. (Hrley, R. M. y Reynolds, T. ed.), 1992.
- 19.-Montgomery, R. D. Toxic constituents of plant food stuffs.
(I. E. Liener, ed.) pp. 143-157 1969, Academic Press, New York.
- 20.-Conn, E. E. Toxicants occurring naturally in foods. (F. M. Strong, ed.) pp. 299-308, 1973
Nat. Acad. Sci., Washington, D. C.
- 21.-Fowden, L. y Bryant, M. *Biochem. J.*, 70, 626-629, 1958.
- 22.-Ressler, C., Redstone, P. A. y Erenberg, R. H. *Science*, 34, 188-190, 1961.
- 23.-O'Neal, R. M., Chem, C., Reynolds, C. S., Meghal, S. K. y Koeppe, R. E.
Biochem. J., 106, 699-706, 1968.
- 24.-Bailey, J. A., Vincent, G. G. y Burden, R. S. J. *Gen. Microbiol.*, 85, 57-64, 1974.
- 25.-Harborne, J. B., Ingham, J. L., King, L. y Payne, M. *Phytochemistry*, 15, 1485-1487, 1976.
- 26.-Cruickshank, I. A. y Perring, P. R. *Nature*, 187, 799-800, 1960.
- 27.-Van Etten, H. D. *Phytochemistry*, 15, 655-659, 1976.
- 28.-Kinghorn, A.P. y Smolensky, S. J.
Advances in Legume Systematics, 1981, HMStationary Office, London.
- 29.-Bell, E. A. The Physiological role of Secondary Natural Products.
The Biochemistry of plants, 1981. (E. E. Conn, ed.) Vol 7 Academic Press, New York.
- 30.-Newman, A. *Chemistry of Terpenes and Terpenoids*, 1972, Academic Press, New York.
- 31.-Benfold, P. *Biogenesis of Natural Products*, 1963. Pergamon Press, England.
- 32.-Torsell, K. B. *Natural Products Chemistry*, 1983, John Wiley and Sons, New York.
- 33.-Ruzicka, L. *Experientia*, 9, 357, 1953.
- 34.-Benfold, P. *Biogenesis of Natural Products*, 1963, Pergamon Press, England.
- 35.-Zaretskii, V. I., Zaikin, V. G. y Torgov, I. V. *Tetrahedron*, 22, 1399-1405, 1966.
- 36.-Dyer, J. R.
Applications of absorption spectroscopy of organic compounds. Ed. Prentice-Hall. 1985.
- 37.-Stuppner, H., Müller, E. P. y Wagner, H. *Phytochemistry*, 30, 305-310, 1991.

38.-Harborne, J. B., Mabry, T. J. y Mabry, H.

The Flavonoids. Chapman and Hall. New York. 1975.

39.-Gaudemer, A., Polonsky, J. y Wenkert, E. **Bull. Soc. Chim. Fr.**, 407, 1964.

40.-Wenkert, E. y Beak, P. **Tetrahedron Lett.**, 358, 1961.

41.-Wehrli, F. W., Nishida, T.

The use of Carbon-13 NMR Spectroscopy. John Wiley & Sons, N.Y., 1978.

42.-Sadler, I. H. **Natural Products Reports**, 101-127, 1988.

43.-Derome, A. E. **Natural Products Reports**, 111-141, 1989.

44.-Martin, G. E. y Zektzer, A. S. Two dimensional NMR methods for establishing molecular connectivity. VCH Publishing Inc, 1988.

45.-Cyr, N., Hamer, G. K. y Perlin, A. S. **Can. J. Chem.**, 56, 297-301 1978.

46.-Wasylishen, R. y Schaefer, T. **Can. J. Chem.**, 50, 2710-2711, 1972.

47.-Karplus, M. **J. Am. Chem. Soc.**, 85, 2870, 1965.

48.-Levy, G. C. y Nelson, G. L. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13 para Químicos Orgánicos. Ed. Bellaterra, S. A. Barcelona, España, 1977.

48.-Wehrli, F. W., Marchand, A. P. y Wehrli, S.

Interpretacion of Carbon-13 NMR Spectra. John Wiley & Sons, N.Y., 1988.

50.-Doddrell, D. M., Pegg, D. T. y Bendall, M. R. **J. Mag. Res.**, 48, 323-327, 1982.

51.-Edwards, O. E., Feniak, G. y Los, M. **Can. J. Chem.**, 40, 1540-1546, 1962.

52.-Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, A. A., Sánchez, C., Cárdenas, J., y Ramamoorthy, T. P. **Rev. Latinoamer. Quim.**, 20-3, 105-110, 1989.

53.-González, A. G., Ravelo, A. G. and Domínguez, X. **Phytochemistry**, 27, 1777-1781, 1988.

54.-De Pavia, J. y Ferreira, S. **Phytochemistry**, 14, 243-248, 1975.

55.-Enzell, C. R. **Tetrahedron Letters**, 19, 2135-2143, 1966.

56.-Akhtar, M. y Barton, D. H. R. **J. Am. Chem. Soc.**, 86, 1528-1536, 1964.

57.-Mihailovic, M. y Cekovic, Z. **Synthesis**, 209, 1970.

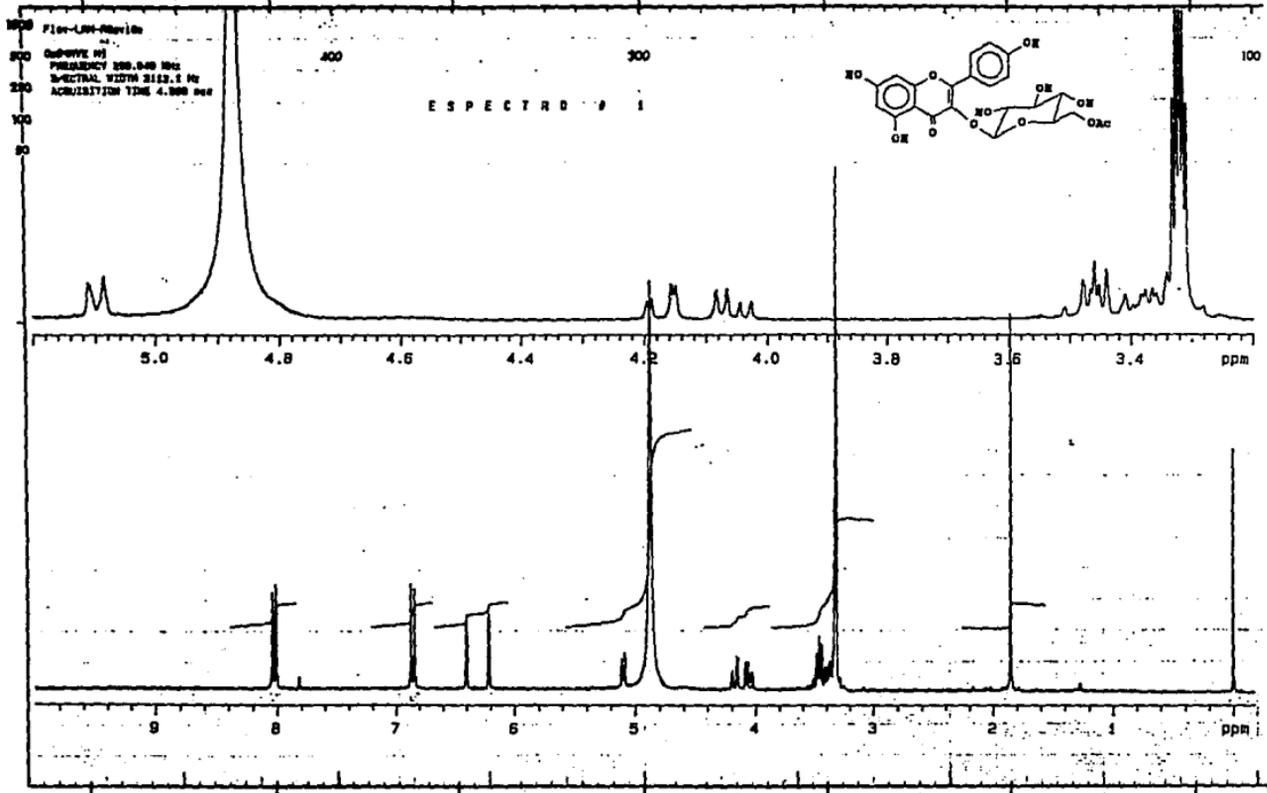
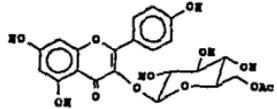
58.-Kalvoda, J., Heusler, G., Anner, G. y Wettstein, A. **Helv. Chim. Acta XLVI**, 618-636, 1963.

- 59.-Kalvoda, J. y Heusler, G. *Synthesis*, 501-526, 1971.
- 60.-Patai, S y Rappoport, Z.
The Chemistry of the Quinonoid Compounds. Vol 2, part 1, cap 12. John Wiley & Sons.
1988.
- 61.-Sánchez, C., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, and Ramamoorthy, T. P.
Phytochemistry, 28, 1681-1684, 1989.
- 62.-González, G. A., Andrés, L. S., Aguiar, Z. E. and Luis, J. G.
Phytochemistry, 31, 1297-1305, 1992.
- 63.-Coxon, J. M. y Halton, B. *Organic Photochemistry*. Cambridge University Press, 1974.
- 64.-Bartrop, J. A. y Coyle, J. D. *Excited states in Organic Chemistry*. John Wiley & Sons 1975.
- 65.-Beckwith, A. L. J. **Tetrahedron**, 37, 3073-3100, 1981.
- 66.-Knox, J. P. y Dodge, A. D. **Phytochemistry**, 24, 889-896, 1985.
- 67.-Cañigual, S., Iglesias, S., Sánchez-Ferrando, F. and Virgili, A.
Phytochemistry, 27, 221-224, 1988.
- 68.-Frontana, B. Estudio quimiotaxonómico de raíces de *Salvia coulteri*. Tesis de licenciatura,
UNAM, 1993.

ESPECTROS

Flow-LIN-Scan
Channel 1
FREQUENCY 299.949 MHz
SPECTRAL WIDTH 2112.1 Hz
ACQUISITION TIME 4.989 sec

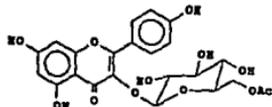
ESPECTRO 1



19

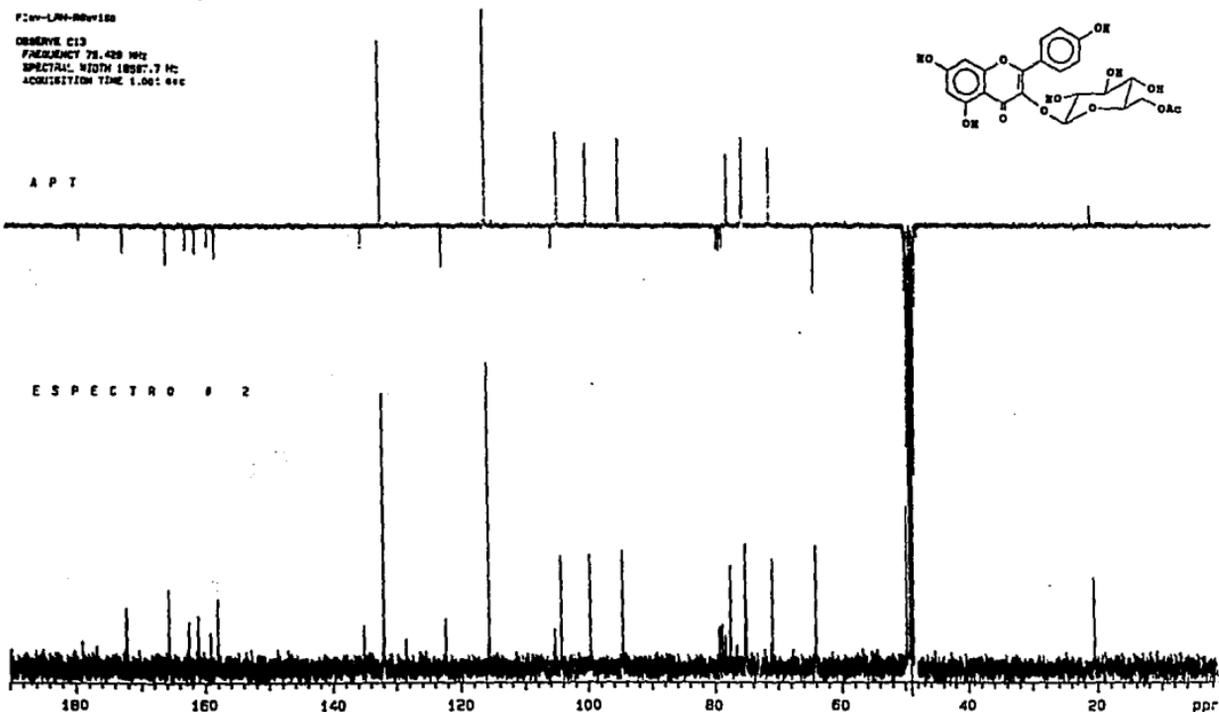
File-LM-880188

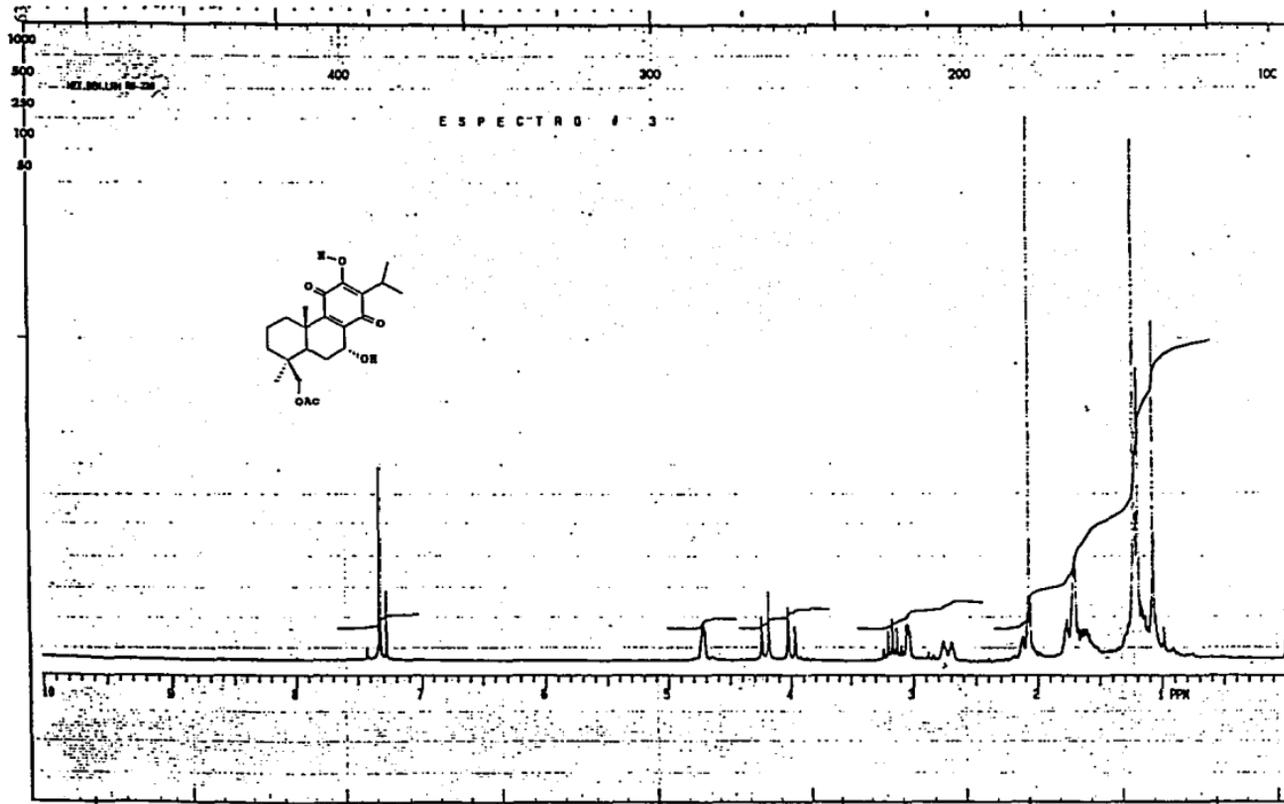
OBSERVE C13
 FREQUENCY 78.420 MHz
 SPECTRAL WIDTH 18087.7 Hz
 ACQUISITION TIME 1.001 sec



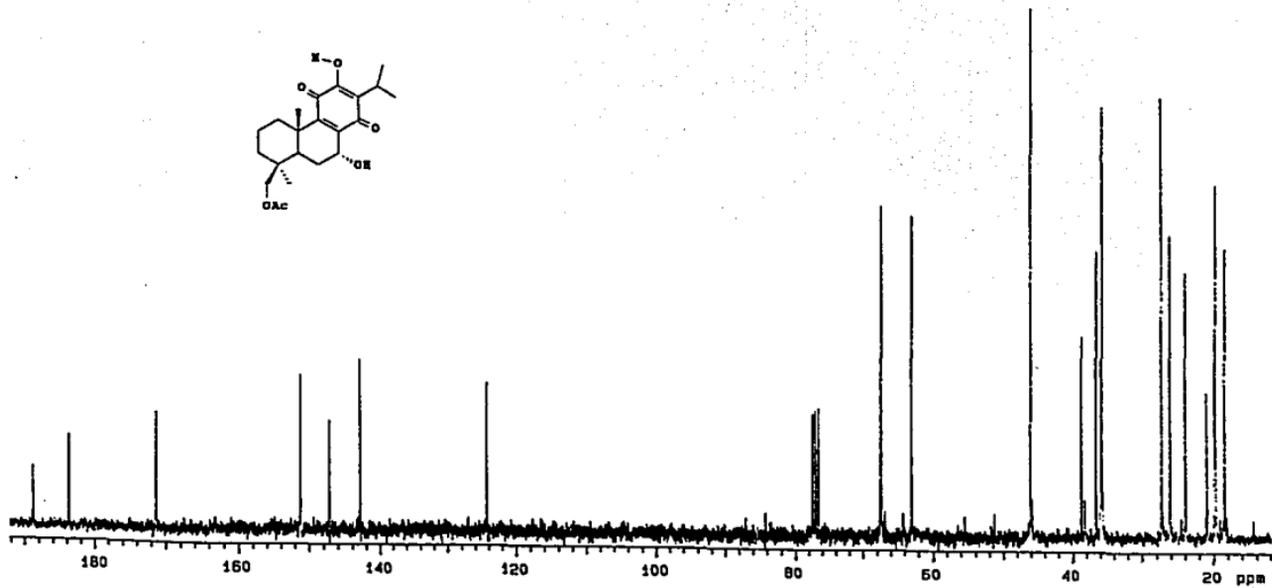
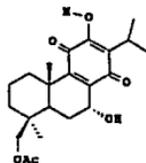
A P T

ESPECTRO # 2

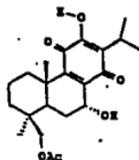




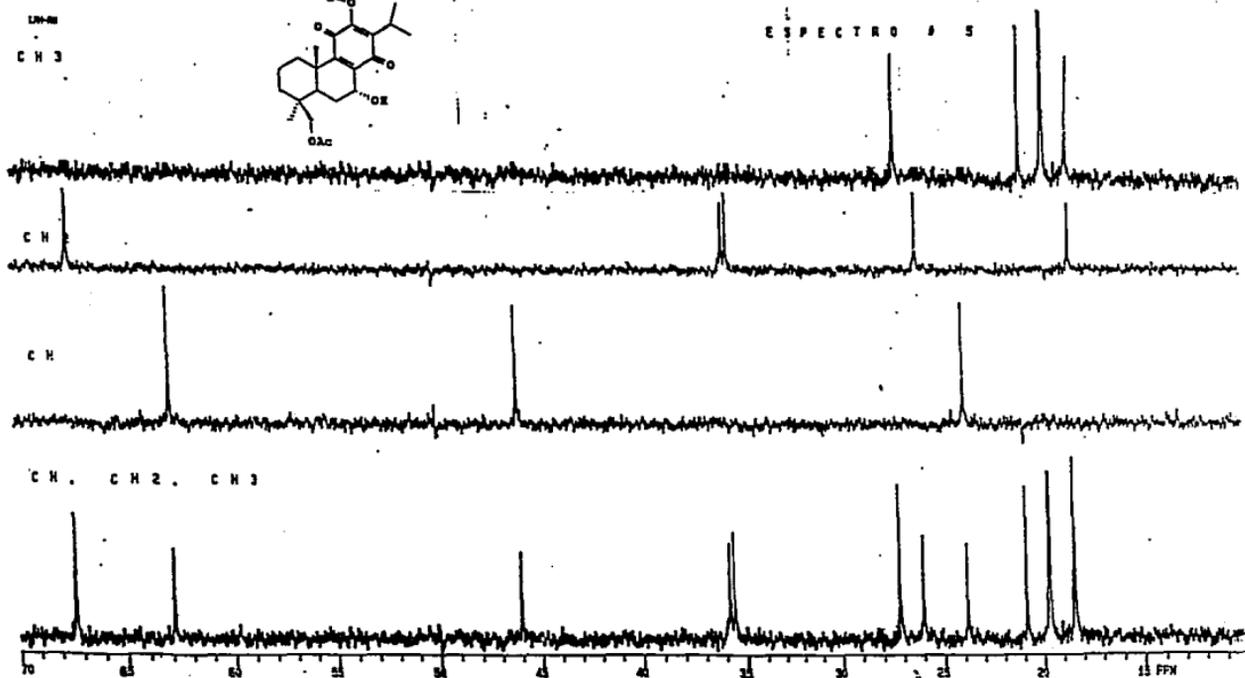
ESPECTRO # 4



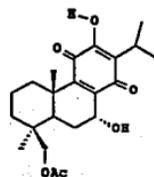
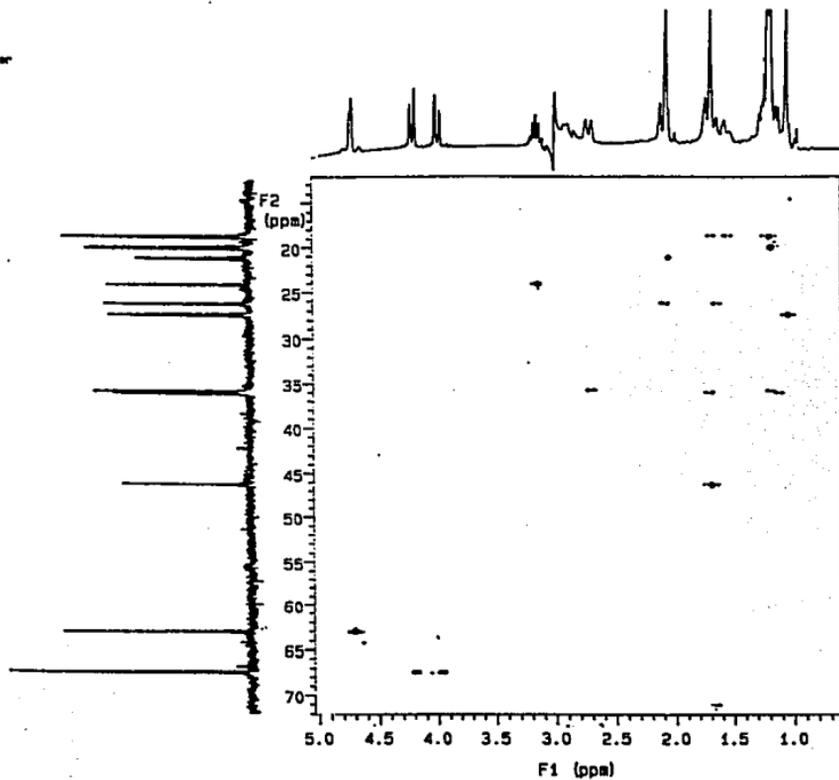
LHM

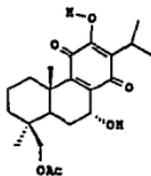
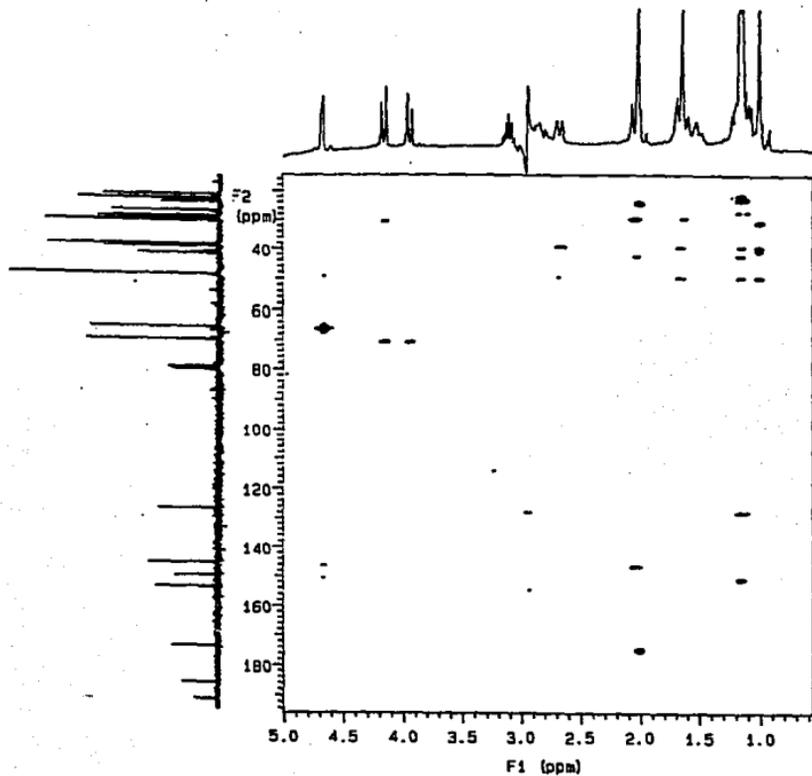
CH₃

ESPECTRO 9 5



Agilent-110-90
PULSE SERVICE hetero





E S P E C T R O # 8

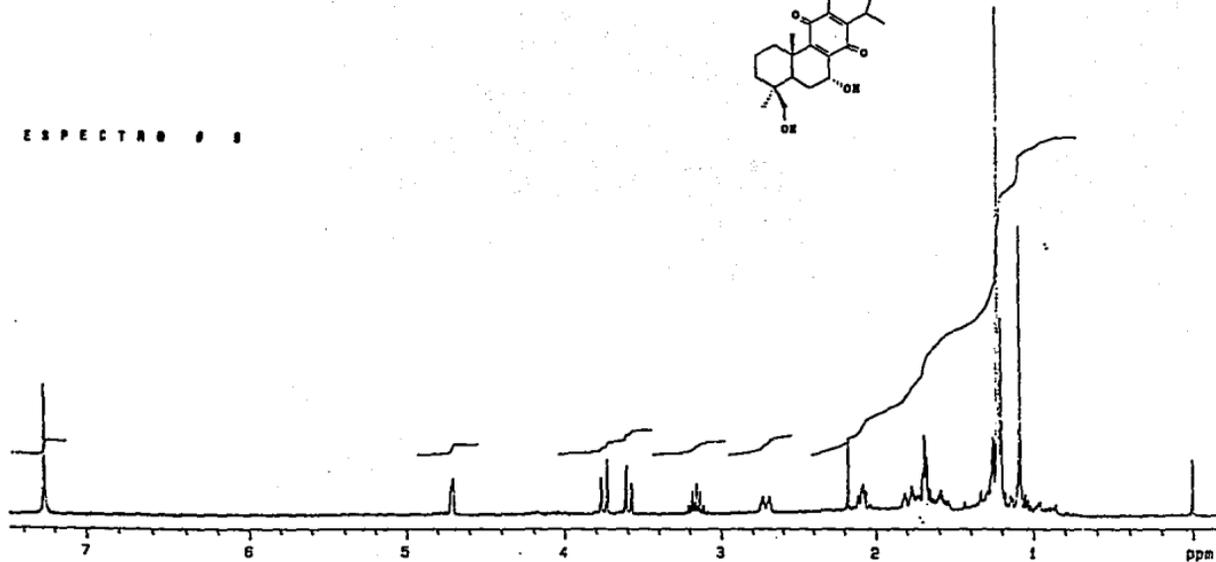
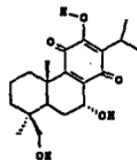
C O L O C

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CM-40-2.7.8

ORBEVE H₁
FRECUENCIA 220.848 MC

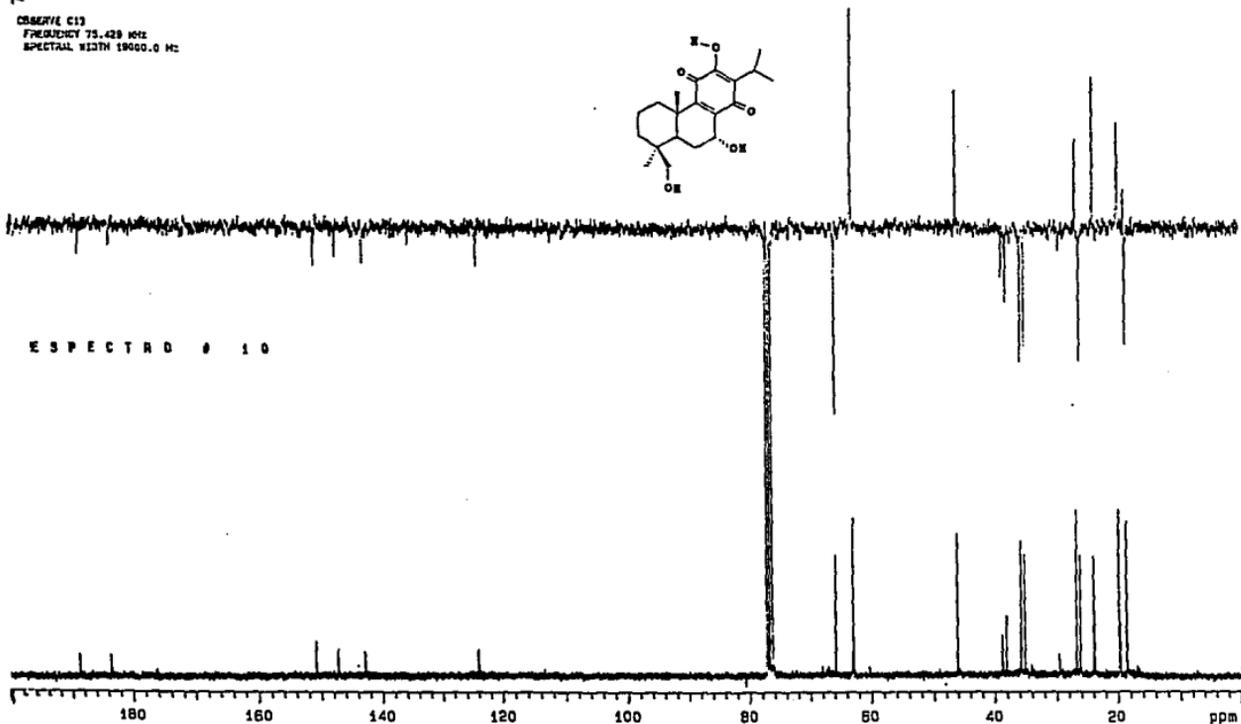
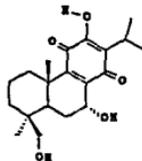
ESPECTRO 8 8



DM-MS-7, 10, relaxation

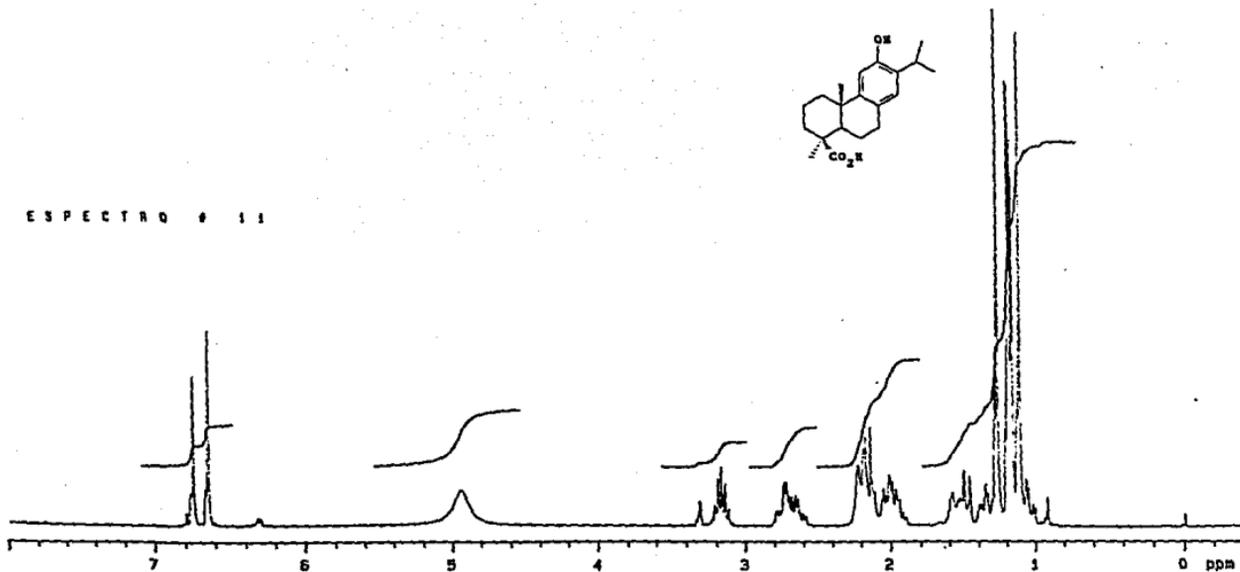
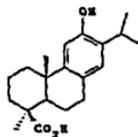
OSBETIC C13

FREQUENCY 75.429 MHz
SPECTRAL WIDTH 19000.0 Hz

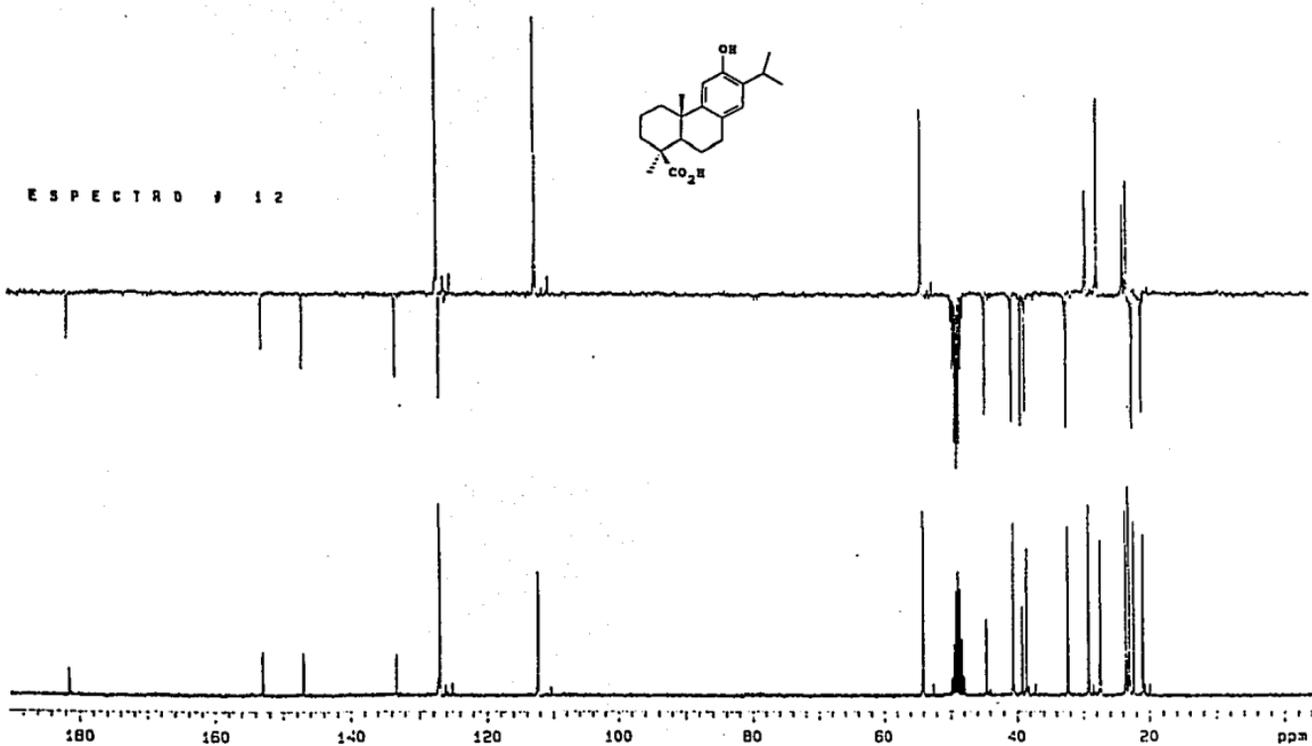
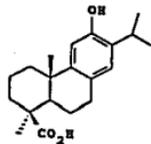


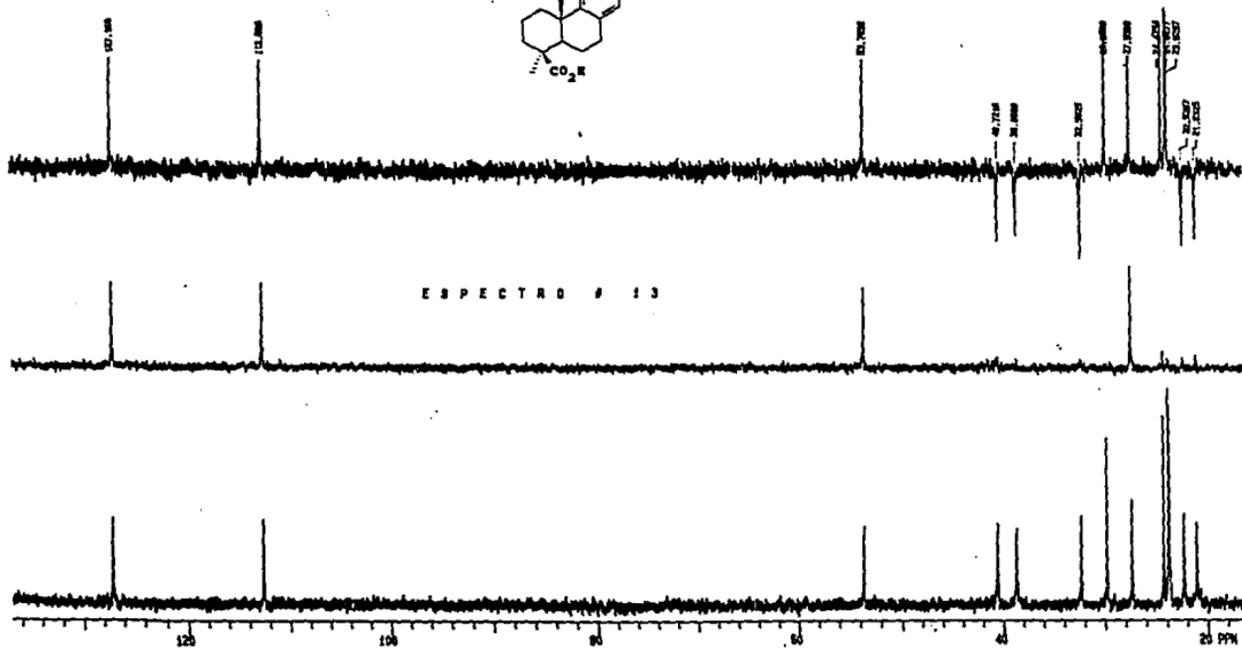
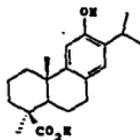
7-10-66-2.9.9

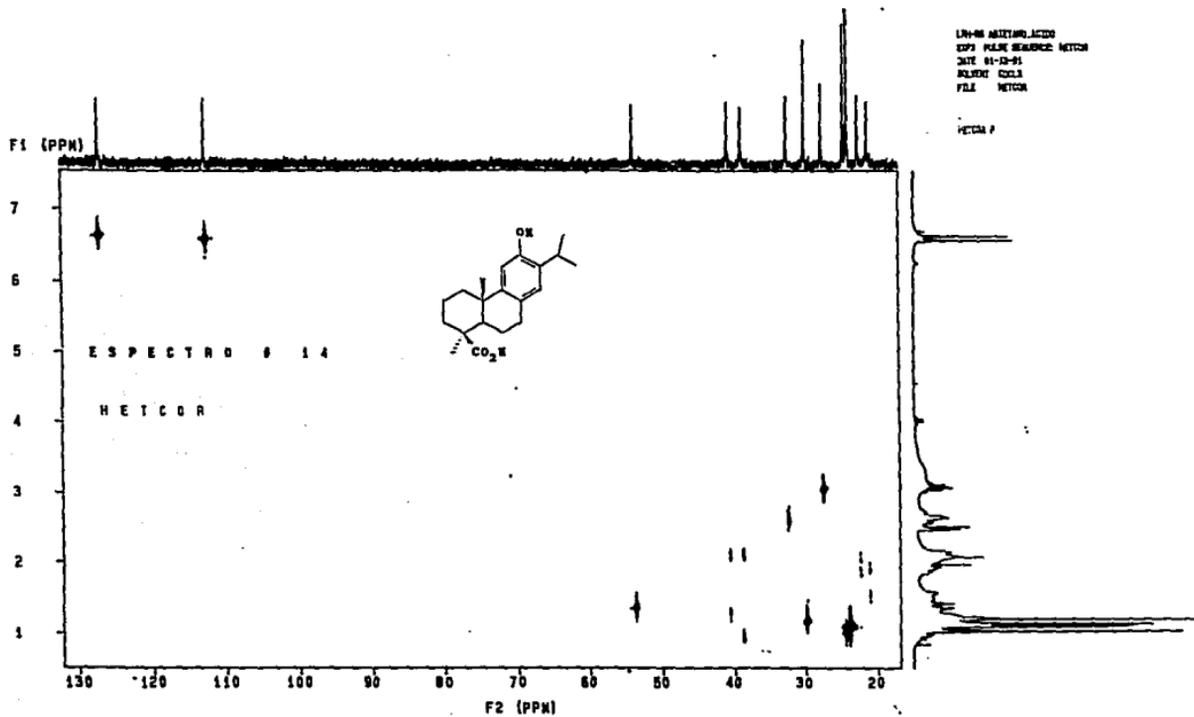
ESPECTRO 11
FREQUENCY 220.845 MHz
SPECTRAL WIDTH 2512.4 Hz

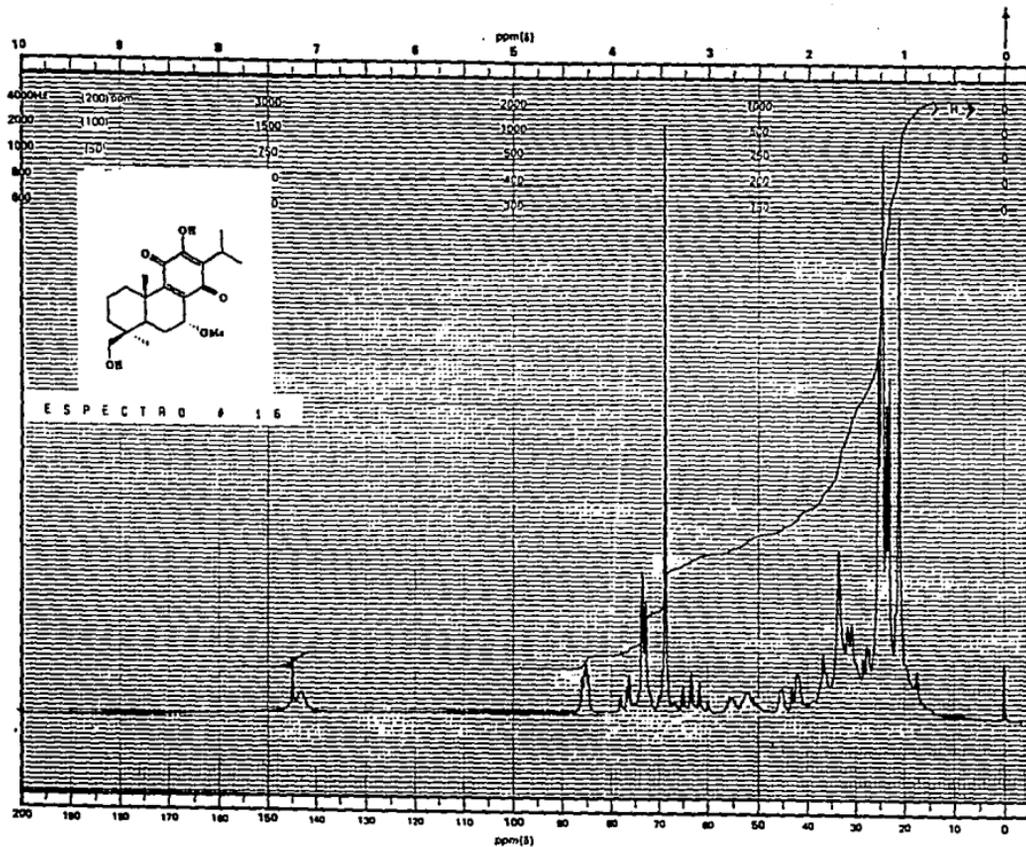


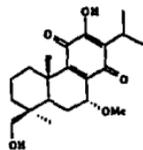
ESPECTRO # 12



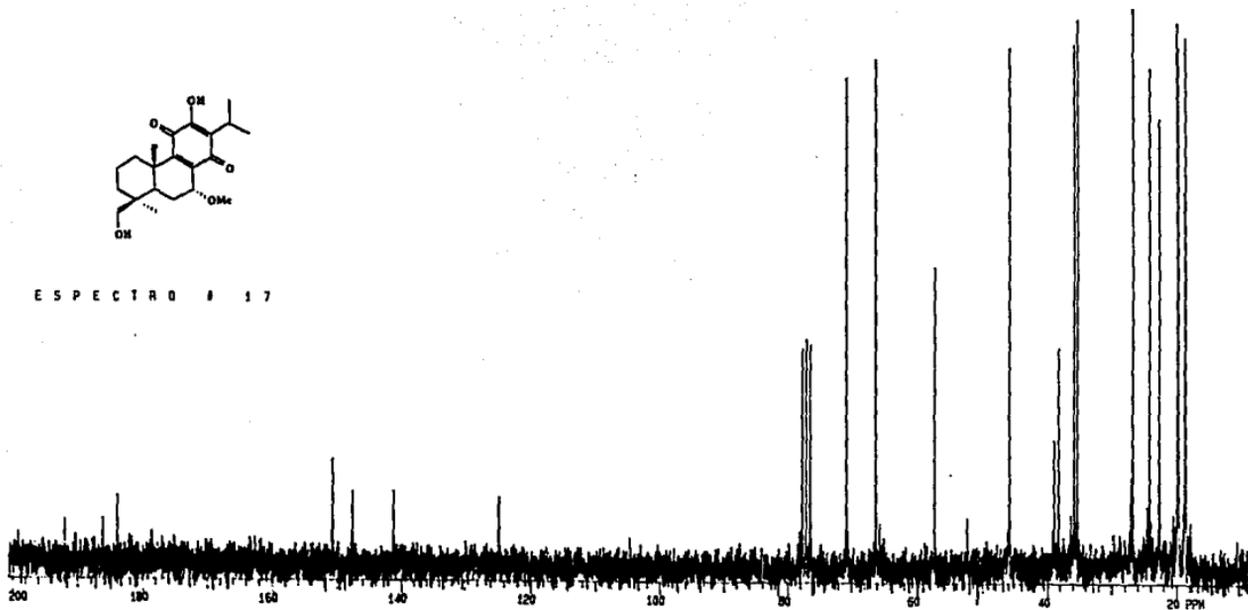






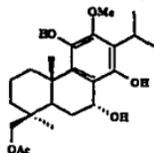


ESPECTRO # 17



Adon Reducción 7 2-CH₂-N-N LHM 80

OBSERVE H₁
FREQUENCY 229,848 MHz



ESPECTRO # 18

