



47
25
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE
Salvia lasiantha

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C A

P R E S E N T A :

ESTELA ROQUE VILLADA



MEXICO, D. F.

1995

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE

Prof: ALFONSO ROMO DE VIVAR

VOCAL

Profra: ROCIO POZAS HORCASITAS

SECRETARIO

Prof: BALDOMERO ESQUIVEL RODRIGUEZ

1er SUPLENTE

Profra: YOLANDA CABALLERO ARROYO

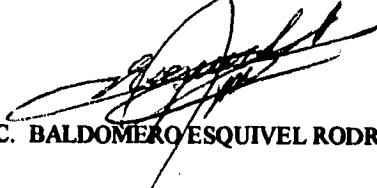
2o SUPLENTE

Profra: MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA

INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA



M. en C. BALDOMERO ESQUIVEL RODRIGUEZ

SUSTENTANTE



ESTELA ROQUE VILLADA

DEDICATORIA

**A Dios por guiar mi camino
y estar conmigo aún en los días mas oscuros**

**A mis padres Martha y Mariano
por su apoyo, confianza
y amor
Mil gracias**

**A mis hermanos
Minerva y fam.,
Irene, Arturo y fam.,
Juan e Isabel
porque han creído en mí
gracias**

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento al M. en C. B. Esquivel Rodriguez por sus atinados consejos, por compartir con paciencia su experiencia, por su comprensión y orientación y por su valioso apoyo para la realización de este trabajo

A la Q. Elizabeth Nieto Calleja por su confianza y su valiosa amistad y por colocar una semilla en la gran tierra que es mi vida

Al I.Q. Eduardo Marambio D. por sus consejos y por tener siempre una sonrisa de aliento.

Expreso mi gratitud al Q. Rodolfo Álvarez Manzo y a Margarita Ortega Romero, así como al M.en C. Eugenio F. por sus consejos y por sus valiosas aportaciones para la realización de este trabajo

A todos mis compañeros del laboratorio 3 de la UIPM del Instituto de Química por las vivencias que hemos compartido

A Rocío, Elizabeth, Norma, Beatriz, Claudia, Zenia, Consuelo, Ana e Irma porque hemos estado juntas en muchas etapas importantes, gracias porque siguen estando conmigo.

CONTENIDO

	CAPITULO	PAGINA
I	INTRODUCCION	8
II	GENERALIDADES	11
III	PARTE TEORICA	18
IV	CONCLUSIONES	42
V	PARTE EXPERIMENTAL	43
VI	ESPECTROS	53
VII	REFERENCIAS	74

El hombre, siempre deseoso de conocimiento,
ya ha explorado muchas cosas; pero aún es
mayor lo que sigue ignorando; quizás esté
reservado a las lejanas generaciones, que
continuarán el examen de la obra del creador
en países remotos, y harán descubrimientos
para placer y conveniencia de la vida. La
posteridad verá florecer simultáneamente los
museos y el conocimiento de la divina
sabiduría; y al mismo tiempo, todas las
ciencias prácticas se enriquecerán; porque no
podemos evitar el pensar que lo que sabemos
de las obras divinas es mucho menos de lo
que desconocemos.

Linneo

**Esta Tesis se llevó a cabo en el Instituto de Química de la UNAM, bajo la
dirección del M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez con el apoyo parcial de
la DGAPA UNAM proyecto PAPIIT (IN 205 192)**

I INTRODUCCION

I INTRODUCCION

A lo largo del desarrollo de las culturas humanas, la relación entre el hombre y su medio vegetal ha sido íntima y vital, ha sabido apropiarse de estos recursos naturales para su beneficio y sistematizarlos atendiendo a la utilidad que le proporcionan, así encontramos plantas que se usan para diversos fines, tanto de orden alimenticio, ornamental, medicinal, etc. En diversas formas han sido factores decisivos en los fenómenos sociales y económicos determinantes de la evolución de la humanidad, cabe mencionar que por las plantas se descubrió el nuevo mundo; la búsqueda de especias propició el descubrimiento, colonización y conquista de gran parte del mundo conocido por los europeos del siglo XVI.¹

La historia de la Química abunda en intentos de separar sustancias puras de los vegetales, entre ellos destacan el aislamiento de alcaloides tales como la Morfina en 1806 por Serturmer, o el aislamiento por Pelletier y Caventon de la Quinina (utilizada en el tratamiento de la malaria).²

Anteriormente la búsqueda de sustancias era conducida casi de manera empírica, hoy en día se cuenta con la ayuda de estudios sistemáticos (dentro de un orden o familia) que contribuyen a ordenar la búsqueda o descubrimiento de nuevos compuestos activos, de manera que si se desea estudiar una especie perteneciente a un grupo o familia, el cual ya ha producido sustancias por ejemplo, con significativa actividad terapéutica, es probable que dicho estudio guíe al aislamiento de productos que también presenten actividad³.

Es evidente tambien que investigaciones sistemáticas de las plantas, sobre la composición química, son de gran valor para su clasificación taxonómica, con la ventaja de que puede ser exactamente definida, a diferencia de la clasificación morfológica⁴.

La familia Labiatae es una familia de plantas muy abundante en el mundo y dentro de la cual se han clasificado mas de tres mil especies que se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza.

En comparación con otros géneros de la familia Labiatae, el género *Salvia* es probablemente el mas diversificado, con más de novecientas especies descritas⁵; Bentham lo dividió en cuatro subgéneros: *Salvia*, *Sclarea*, *Leonia* y *Calosphace*.^{5,6}

Las *Salvias* europeas y asiáticas pertenecen principalmente a los subgéneros *Salvia* y *Sclarea*, el subgénero *Leonia* se encuentra principalmente en América del Norte. el subgénero *Calosphace*, dividido en 91 secciones⁶, es el mas común en México, centro y sudamérica.

Del género *Salvia* se han aislado una gran variedad de metabolitos secundarios, principalmente; monoterpenos, triterpenos, diterpenos, (del tipo abietano, clerodano y pimarano principalmente) y flavonas, con menos frecuencia se han aislado sesquiterpenos y sesterterpenos⁷.

Dos de los subgéneros (*Salvia* y *Sclarea*) son caracterizados por diterpenos del tipo del Abietano. *Leonia* ha sido poco estudiado y el subgénero *Calosphace* es caracterizado por diterpenos de tipo clerodano.

Como parte del estudio sistemático de *Salvias* mexicanas, se llevó a cabo el estudio fitoquímico de *Salvia lasiantha* con el fin de determinar sus principales metabolitos secundarios, posibles responsables de sus propiedades, ya que esta planta no es atacada por insectos, por lo que es probable que biosintetice sustancias que la defiendan de estos depredadores.

En el presente trabajo se describe el aislamiento y la elucidación estructural de tres nuevos diterpenos de tipo neo-clerodano y del Ac. oleanólico, mediante el apoyo de técnicas espectroscópicas y técnicas químicas.

II GENERALIDADES

II GENERALIDADES

La especie *Salvia lasiantha* (Figura 1) es un arbusto de 1-2.5 m de alto, con flores amarillas, densamente ramificado, crece en suelo pedregoso y en las laderas de las montañas a una altura de 1500-2200 msnm.⁸

Esta especie está muy distribuida en México (Figura 2) en los estados de Veracruz, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Chiapas y en otras partes de América Central como Guatemala y Costa Rica.⁶

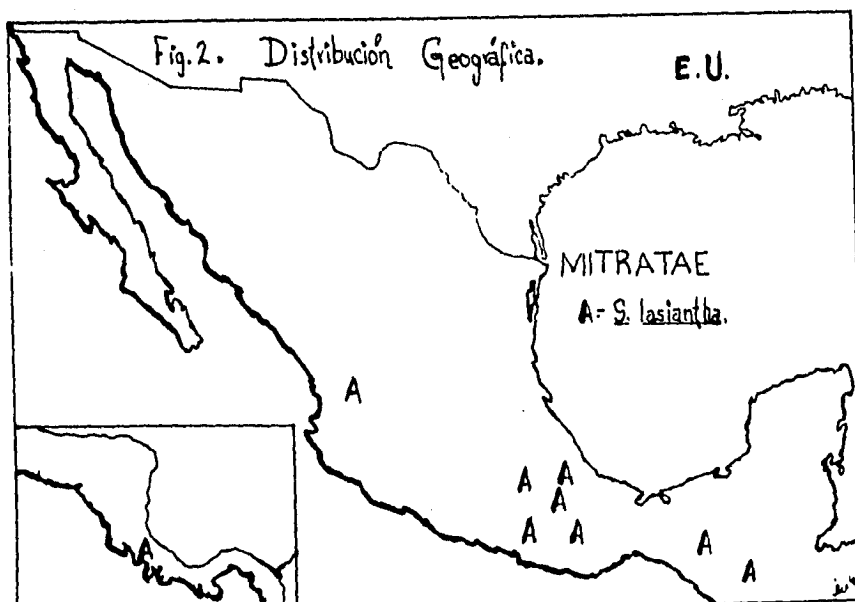
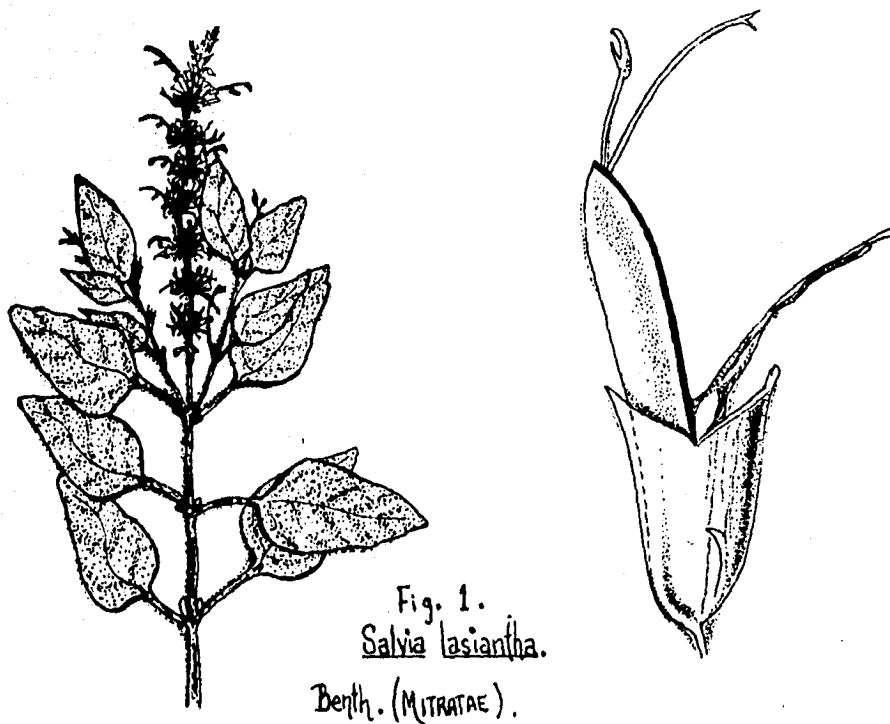
Para la *Salvia lasiantha*, Cronquist⁹ propone la siguiente clasificación:

DIVISION	<i>Magnoliophita.</i>
CLASE	<i>Magnoliopsida.</i>
ORDEN	<i>Lamiales.</i>
FAMILIA	<i>Labiatae.</i>
GENERO	<i>Salvia.</i>
ESPECIE	<i>lasiantha.</i>

De acuerdo con Epling⁶ se encuentra dentro de la sección *Mitratae* y en el subgénero *Calosphace*.

Estudios en Salvias

Han sido descritas en la literatura cerca de 900 Salvias, 500 se encuentran en América, distribuidas tanto en zonas tropicales y subtropicales, de estas últimas 300 especies existen en México.¹⁰



Las Salvias se han utilizado desde tiempos muy remotos en el tratamiento de diferentes enfermedades, tal es el caso de la *Salvia miltiorrhiza* que se utiliza en el tratamiento de problemas cardiacos y además posee actividad antiinflamatoria y antitumoral.⁵

Otras Salvias tienen importancia económica por su contenido en aceites esenciales (*S. officinalis*,¹¹ *S. sclarea*, etc.) o bien otras poseen actividad antialimentaria contra insectos (*S. melissodora*,¹² *S. keerlii*¹³).

En los últimos años ha habido un notable incremento en los estudios fitoquímicos del género *Salvia*, estimulado por el aislamiento de estructuras diterpénicas interesantes, de esta manera estudios sistemáticos de Salvias mexicanas han revelado que cerca del 80% de los diterpenos aislados de las especies de Salvias son diterpenos clerodánicos y estos junto con los diterpenos con esqueleto de abietano pueden considerarse como caracteres genéricos.

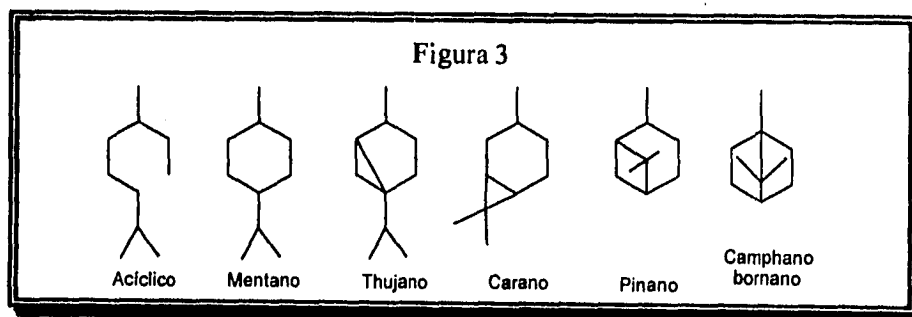
Terpenoides

Se conoce con el nombre de terpenoides a un gran número de sustancias químicas de gran interés por su uso tan variado, los terpenoides se dividen en cinco grupos de acuerdo con el número de unidades de isopreno que contenga en su molécula, estos grupos son los siguientes:

Terpeno	No. C	Características
1.- Monoterpenos	(C-10)	Formados por dos unidades de isopreno.
2.- Sesquiterpenos	(C-15)	Formados por tres unidades de isopreno.
3.- Diterpenos	(C-20)	Formados por cuatro unidades de isopreno.
4.- Sesterterpenos	(C-25)	Formados por cinco unidades de isopreno.
5.- Triterpenos	(C-30)	Formados por seis unidades de isopreno.
6.- Politerpenos	(C- <i>n</i>)	Formados por <i>n</i> unidades de isopreno.

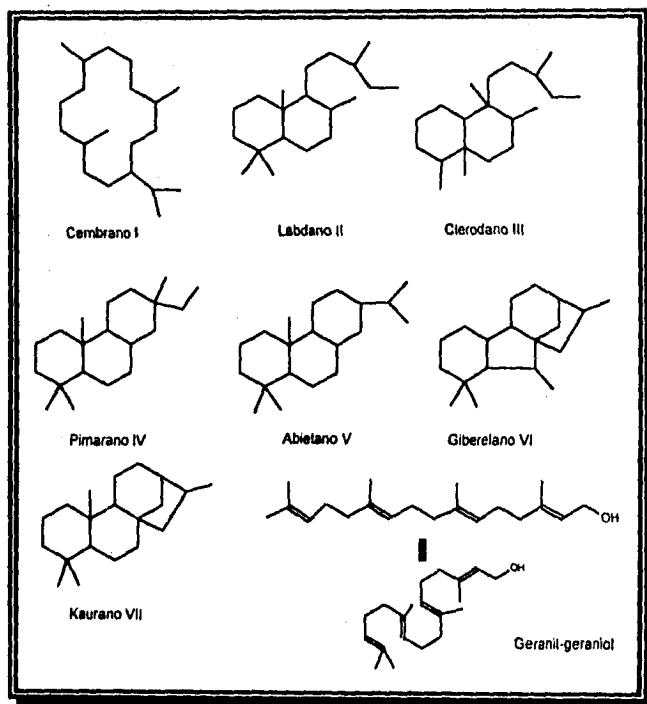
Los mono- y sesquiterpenos son sustancias ampliamente distribuidas en una gran variedad de sistemas vivos tales como plantas, microorganismos y algunos insectos. Algunos de estos compuestos tienen funciones esenciales dentro de organismos vivos y otros exhiben importantes actividades fisiológicas.¹⁵

Los monoterpenos derivan presumiblemente de pirofosfato de geranilo, han sido conocidos por cientos de años como componentes de aceites esenciales; en la Figura 3 se muestran los esqueletos típicos de monoterpenos incluyendo acíclicos, monocíclicos y bicíclicos.



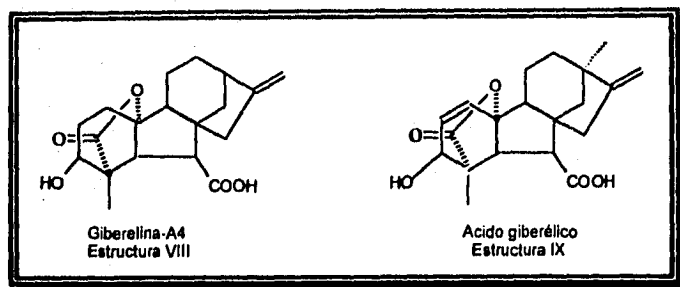
Los diterpenos son compuestos biogenéticamente derivados de geranil-geraniol.

Hasta 1985 se habían descrito cerca de 2000 diterpenos, los cuales estaban contemplados en 176 tipos de esqueletos, siete de estos (Estructuras I a VII) incluyen el 50% de los diterpenos conocidos.¹⁶

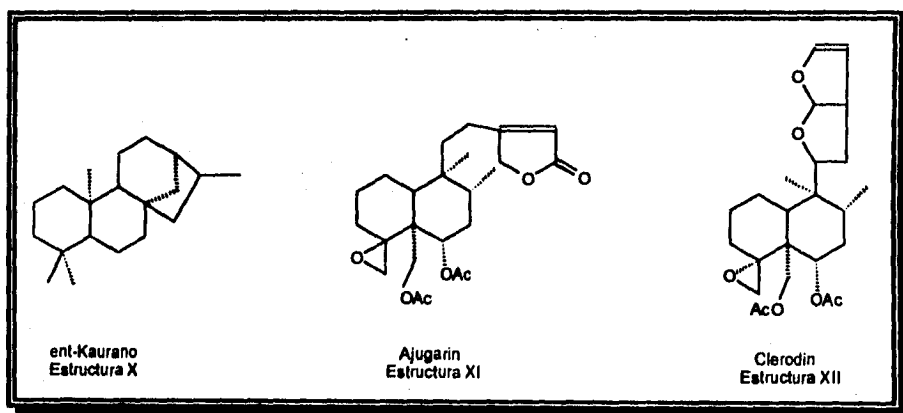


Estos metabolitos se encuentran distribuidos en plantas (son fuente de gran cantidad de diterpenos las familias Labiatae y Euphorbiace) y en el reino animal (animales terrestres y marinos) son de gran interés por sus propiedades biológicas entre las que destacan:

* la actividad reguladora del crecimiento vegetal que tienen las giberelinas (Estructura VIII y IX).

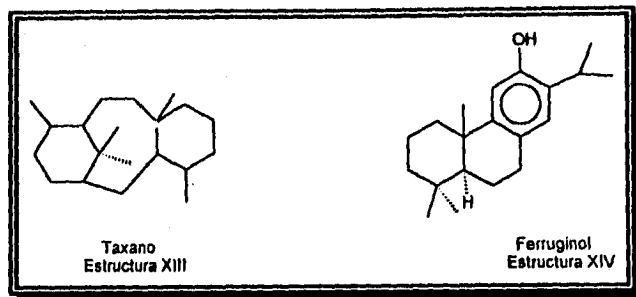


* La actividad antialimentaria para insectos que tienen algunos diterpenos ent-kaurénicos (Estructura X) y clerodanos¹⁷ (Estructura X y XI).



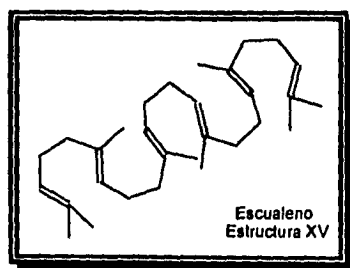
* Las propiedades tóxicas de los diterpenos con esqueleto de taxano (Estructura XIII).

* las propiedades antibióticas y bactericidas como las que presenta el ferruginol (Estructura XIV).



Los sesterterpenos son la clase mas pequeña y mas nueva de la familia de los terpenoides, han sido aislados de hongos, helechos, esponjas marinas, líquenes y de secreciones de insectos, biogenéticamente son derivados de geranilfarnesol.

Los triterpenos estan ampliamente distribuidos en el reino vegetal, se encuentran en estado libre, como esteres o glicósidos, algunos pocos miembros han sido encontrados en el reino animal, estos incluyen compuestos teracíclicos como el lanosterol; obtenido de la grasa de la lana y el escualeno; que ha sido aislado de aceite de higado de tiburón (Estructura XV)



Los terpenoides superiores como los carotenoides son una familia de materiales coloridos, ampliamente distribuidos en el reino animal y vegetal, son poliisoprenoides con una larga secuencia de dobles enlaces conjugados.

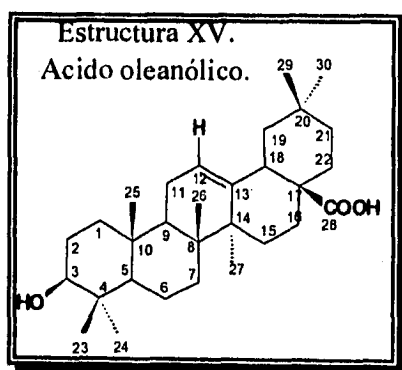
III PARTE TEORICA

III PARTE TEORICA

El extracto acetónico (43.1g) de las partes aéreas de *Salvia lasiantha* (2.5Kg) fué sometido a una partición de hexano-benceno con metanol-agua, la parte polar fué extraída con AcOEt. Unicamente 15g del extracto polar (23.9g) fueron separados por cromatografía en columna al vacío,¹⁸ usando un gradiente de disolventes de hexano-AcOEt y AcOEt:MeOH, como eluyentes para dar como resultado el aislamiento de cuatro metabolitos secundarios: ácido oleanólico y tres nuevos diterpenos con esqueleto de clerodano, cuya elucidación estructural se describe a continuación :

Acido Oleanólico

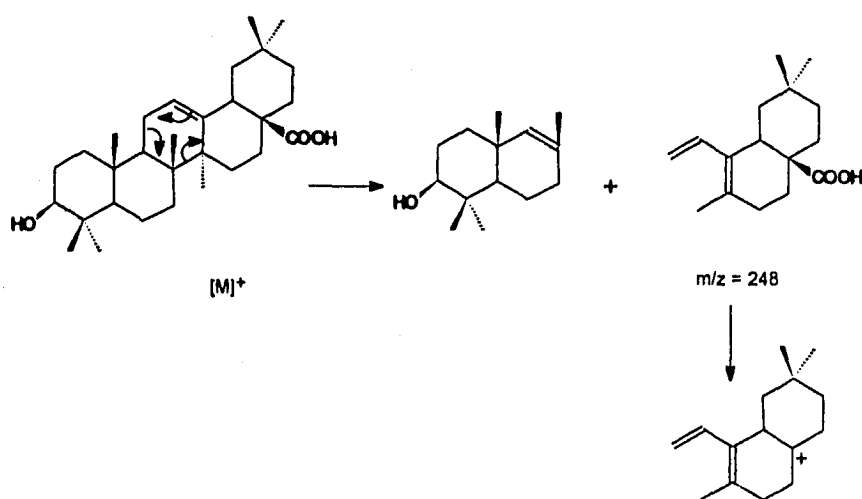
Este compuesto es un metabolito de tipo triterpénico ampliamente distribuido en el reino vegetal (Estructura XV) el cual ha mostrado poseer propiedades farmacológicas.^{19,20} Su estructura se elucidó con base en las siguientes constantes espectroscópicas y por comparación con los datos descritos en la literatura para el ácido oleanólico.^{21,22,23}



El espectro de infrarrojo (Espectro No. 1) presenta una fuerte absorción a 3440 cm^{-1} , debido a la frecuencia de vibración del OH y una banda adicional para carbonilo de ácido a 1689 cm^{-1} .

En espectrometría de masas (Espectro No. 2) se observa el ión molecular a m/z 456, que está de acuerdo con la fórmula condensada $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$, presenta también dos picos adicionales m/z 248 y m/z 203, típicos de un 12 oleaneno,^{22,23} originados por una fragmentación del tipo retro Diels-Alder (Figura 4).

Figura 4



El espectro de RMN ^1H muestra 7 señales singuletes para metilos (1.25 a 0.76 ppm), los cuales están unidos al esqueleto triterpénico, en 5.26 ppm

presenta una señal correspondiente al protón unido al doble enlace trisustituido y otra señal centrada en 2.83 ppm, que únicamente puede ser asignada al protón de C-18, el cual elimina la posibilidad de un compuesto del tipo 12-urseno.

Compuesto Sla I

El segundo compuesto obtenido es un sólido con P.f = 197 a 201°C (AcOEt), fué separado de las fracciones eluidas con hexano:AcOEt (4:6). El peso molecular de este compuesto se determinó por espectrometría de masas y concuerda con la fórmula molecular $C_{22}H_{30}O_5$ (M^+ 374) lo que corresponde a un sistema de alta insaturación ($\omega=8$). El espectro de infrarrojo (Espectro No. 4) para este compuesto muestra en la región carbonílica tres bandas, una de ellas para grupo carbonilo de γ lactona α,β insaturada en 1753 cm^{-1} , la cual está sustituida en la posición α .

El espectro de ultravioleta para Sla-I muestra dos bandas de absorción, el primer máximo apoya dichas asignaciones [λ_{max} nm(ϵ): 210 (5389.9)].

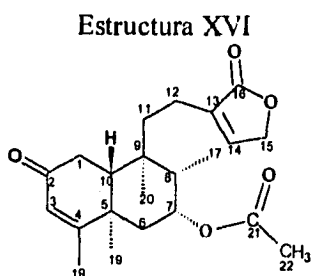
En 1730 cm^{-1} se observa una banda para C=O de ester, la señal en 1378 cm^{-1} mas intensa que la de 1450 cm^{-1} así como la señal a 1246 cm^{-1} (estiramiento C-O)^{24,25} asisten en la caracterización de un grupo acetato.

Una tercer banda carbonílica en 1656 cm^{-1} sugiere la existencia de una cetona α,β insaturada, la banda en 1615 cm^{-1} muestra que un doble enlace conjugado debe estar presente, adicionalmente en la región dactilar se localiza una banda en 830 cm^{-1} que apoya la presencia de doble enlace

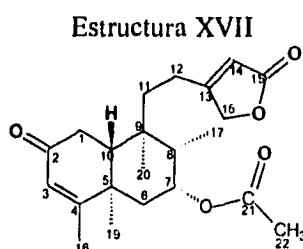
trisustituido. El segundo máximo observado en el espectro de ultravioleta [λ_{max} nm(ϵ): 235 (4931.2)] está asociado con la doble ligadura conjugada con un carbonilo, en un anillo de 6 miembros sustituido en la posición β (Calculado λ_{max} = 239 nm).²⁶

Con los datos expuestos se justifican 5 átomos de oxígeno y 7 insaturaciones y para cubrir la última insaturación el compuesto se propone como bicíclico.

Para cumplir con la fórmula molecular y considerando los datos expuestos y los que a continuación se describirán, se estableció que el compuesto Sla-I tiene estructura de diterpeno con esqueleto carbonado de tipo clerodano (Estructura XVI), el cual muestra ser el isómero de la lasiantina (Estructura XVII), compuesto resientemente aislado de una población de *Salvia lasiantha* recolectada en Oaxaca²⁷.



Sla I

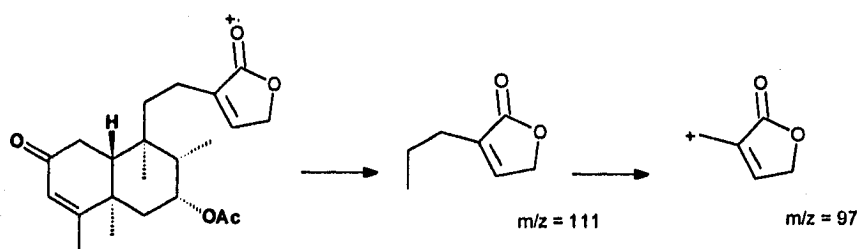


Lasiantina

En el espectro de RMN ^1H (espectro No. 6) dos señales son consistentes con una función butenólida α sustituida, una señal doble de dobles que integra para dos protones en 4.77 ppm (J = 1.7 y 3.8 Hz) que se asigna al

metileno vecino al oxígeno etereo de la lactona y un triplete que integra para un protón en 7.1 ppm ($J = 1.7$ Hz) y corresponde al protón de la posición β , desplazado a campo bajo debido a la desprotección ejercida por conjugación del carbonilo con la doble ligadura, además la función butenólida está apoyada por la presencia del pico de m/z 97 y m/z 111 en el espectro de masas que proviene de la siguiente fragmentación (Figura 5):

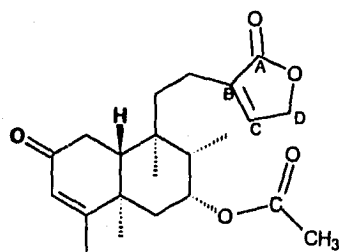
Figura 5



En el espectro de RMN ^{13}C se pueden observar los desplazamientos químicos para C-13, C-14, C-15 y C-16 de la función butenólida en 133.89 ppm, 143.92 ppm, 70.20 ppm y 174.023 ppm respectivamente.

La diferencia estructural de Sla I con respecto a la lasiantina estriba en la sustitución de la cadena lateral insertada en la lactona. La lasiantina es β substituida y por consiguiente muestra un protón en la posición α el cual se desplaza a campo mas alto en el espectro de RMN ^1H ($\delta = 5.83$ ppm)²⁷ comparado con Sla I que es un compuesto con una función butenólida α substituida cuyo protón β al grupo carbonilo es desplazado a 7.1 ppm (figura 6a y b)

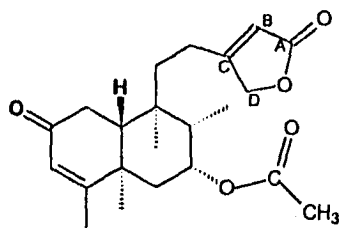
Figura 6a



Sla I

No. átomo	RMN ¹ H, 300MHz (ppm)	RMN ¹³ C, MHz (ppm)
A	--	174.02
B	--	133.89
C	1H, 7.1(t) $J = 1.7$ Hz	143.92
D	2H, 4.7 (dd) $J = 3.8, 1.7$ Hz	70.20

Figura 6b



Lasiantina

No. átomo	RMN ¹ H, 300MHz (ppm)	RMN ¹³ C, MHz (ppm)
A	--	171.73
B	1H, 5.83 (t) $J=1.8$	115.32
C	--	173.67
D	2H, 4.72 (t) $J=1.8$	73.05

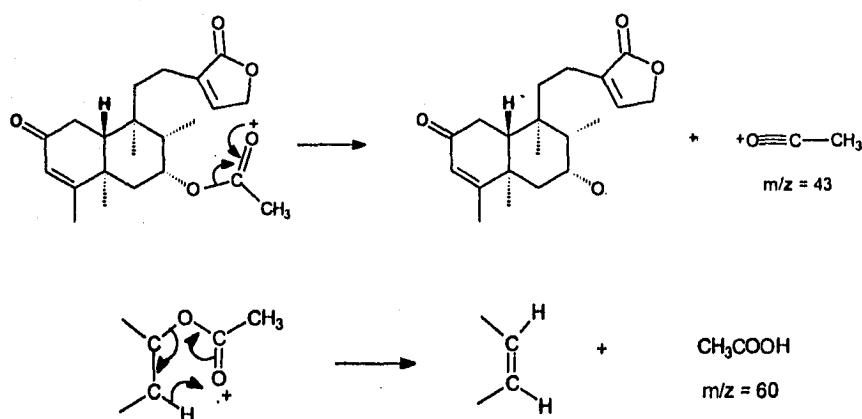
Otra diferencia se observa en la señal del carbonilo para lactona α,β insaturada en la lasiantina, la cual se desdobra en dos bandas (1784 cm^{-1} y 1750 cm^{-1}) debido a la resonancia de Fermi, asociado con una función butenólida β substituida.^{27,28}

La existencia de un grupo acetato unido a C-7 es corroborado mediante los espectros de RMN ¹H y ¹³C por un singulete que integra para tres

protones y es desplazado a 2.09 ppm en el espectro de RMN ^1H y junto con las señales en 171.84 ppm ($-\text{OOC}-\text{CH}_3$) y 21.37 ppm ($-\text{OOC}-\text{CH}_3$) en ^{13}C .

Adicionalmente en el espectro de masas se observan dos fragmentos característicos de los acetatos a m/z 43 pico base ($\text{CH}_3-\text{C} \equiv \text{O}^+$) y m/z [M-60] $^+$ ($\text{M}-\text{CH}_3\text{COOH}$) y se explican de acuerdo al siguiente esquema (Figura 7).

Figura 7



En el espectro de RMN ^1H se observa un doblete tripleteado centrada en 5.2 ppm y se asigna por desplazamiento químico al protón geminal del C-7, las constantes de acoplamiento (3.42 y 6 Hz) indican interacciones ecuatorial-ecuatorial y ecuatorial-axial, lo cual sugiere que el grupo acetato está en forma axial.²⁹

Se puede observar también en el espectro de RMN ^1H un doblete de cuartetos que integra para un protón y está centrado en 1.8 ppm ($J = 3.42$ y 7

Hz) asignado al protón del C-8, cuya multiplicidad indica que está acoplado a un metilo y un metileno. La señal para el grupo metilo se encuentra centrada en 0.98 ppm e integra para 3 protones, como es un doblete cuya constante de acoplamiento es de 7 Hz se confirma la interacción con H-8, la constante de acoplamiento de 3.42 Hz, indica que existe interacción del tipo axial-ecuatorial con el protón H-7. La magnitud de esta constante confirma la orientación de H-8 como axial y trans coplanar al grupo acetato.²⁹

Los protones H-6axial y H-6ecuatorial, se observan en el espectro de RMN ¹H como dos dobles de dobles cuyos desplazamientos y constantes de acoplamiento geminal y con H-7 son respectivamente $\delta = 2.25$ ($J_{gem} = 14.4$ y $J_{ax-ec} = 2.7$ Hz) y $\delta = 1.47$ ppm ($J_{gem} = 14.4$ y $J_{ec-ec} = 6$ Hz), el desplazamiento químico a campo alto del protón H-6ecuatorial puede justificarse si se considera que está protegido por el grupo acetato.

La señal para H-10 y los dos protones de C-1 forman un sistema ABC, ubicados en el espectro de RMN ¹H en 2.5, 2.4 y 2.0 ppm para H-1_{ax} (A), H-1_{eq} (B) y H-10 (C) respectivamente. Un análisis de este sistema da valores de acoplamiento; $J_{gem} = 17.4$ ppm, $J_{ac} = 13.5$ ppm y $J_{bc} = 3.9$ ppm, la magnitud de estas constantes revela que ambos protones (H-1) están en posición α a C=O y que H-10 (C) es axial.³⁰

El compuesto aislado puede tener una fusión AB-*trans* o fusión AB-*cis*. Los compuestos diterpénicos con esqueleto de *cis*-clerodano están asociados con un protón ecuatorial en la posición 10.³¹ Por consiguiente una fusión AB-*trans* para el compuesto Sla-I es consistente con H-10axial.

Otra evidencia estructural que apoya el modo de fisión del anillo, es el desplazamiento químico para el Me-19, se sabe que en compuestos tipo clerodano el desplazamiento observado en RMN ^{13}C es por debajo de 20 ppm para una fusión AB-*trans* y un desplazamiento a mas de 20 ppm cuando existe una fusión AB-*cis*. La inspección en el espectro de RMN ^{13}C muestra una señal a campo alto para Me-19 en 19.92 ppm corroborando la fusión AB-*trans* para Sla-I.

Dos singuletes se observan en el espectro de RMN ^1H desplazados a 1.31 y 1.09 ppm, cada uno integra para tres protones y corresponden a Me-19 y Me-20 respectivamente

El Me-20 se observa que está desplazado a campo mas bajo, que el Me-17 debido a la desprotección que ejerce el grupo acetato axial unido al C-7 y a la aglomeración estérica con el Me-19axial, lo cual corrobora la orientación β ecuatorial de la fusión alquílica sobre C-9.

Dos señales complejas se observan en el espectro de RMN ^1H , una de ellas muestra simetria respecto al punto medio de su señal multiple centrada en 1.6 ppm y otra señal que se sobrepone parcialmente a la señal singulete desplazada en 2.1 ppm. Mediante experimentos en dos dimensiones (HETCOR y COSY) se determinó que cada señal corresponde a un CH_2 y ambos CH_2 estan acoplados constituyendo de esta manera la unión entre el C-13 y el C-9, en posición β ecuatorial.

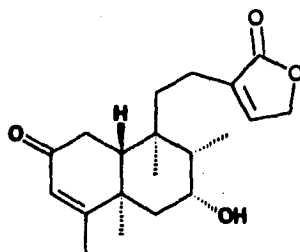
La rotación específica para el compuesto Sla-I fué la misma en signo que la de la lasiantina, por lo cual la configuración absoluta de Sla-I es

probablemente idéntica, integrándose de esta manera al tipo de diterpenos de tipo neo-clerodano que han sido aislados de muchas especies de salvias del subgénero Calosphace.

Sla II

El siguiente compuesto fué aislado de las fracciones eluidas con Hexano-AcoEt (2:8), es un sólido blanco con p.f = 195 - 205°C, con una rotación óptica de $[\alpha]_D^{20} = -4.8$ [MeOH, 5mg/ml], su estructura se elucidó considerando las siguientes evidencias espectroscópicas resultando ser un nuevo diterpeno con esqueleto carbonado de tipo neo-clerodano (Estructura XVIII).

Estructura XVIII



La espectrometría de masas por impacto electrónico muestra un ión molecular de $m/z = 332$ que está de acuerdo con la fórmula condensada $C_{20}H_{28}O_4$, ($\omega=7$), presenta también los picos a m/z 111 y m/z 97, atribuidos a la función butenólida y como picos de mayor abundancia a m/z 299 (pico base) y m/z 41.

El espectro de infrarojo presenta una banda en 3600 cm^{-1} a causa de las vibraciones de estiramiento del grupo hidroxilo, la banda en 1753 cm^{-1} es de grupo carbonilo de γ lactona α,β insaturada, en 1614 cm^{-1} se tiene la señal para doble ligadura, adicionalmente se observa en 1075 cm^{-1} la banda de estiramiento carbono-oxígeno de grupo hidroxilo.

En el espectro de RMN ^1H existe una señal sobrepuesta a otra señal en 4.11 ppm , que desaparece al equilibrarse la muestra con agua deuterada, lo que indica la presencia de un grupo hidroxilo, como consecuencia de este intercambio se observa con más claridad la señal en 4.11 ppm , asignada por su desplazamiento químico al protón H-7 ($1\text{H},\text{ddd}$), geminal al grupo hidroxilo.

Una señal doble de dobles se observa centrada en 2.23 ppm ($J = 13.8$ y 2.7 Hz) y se debe al protón H-6axial, la proximidad de un grupo hidroxilo α -axial, origina la posición a campo bajo, el valor de sus constantes indica acoplamiento geminal H6axial-H6ecuatorial y acoplamiento H6axial-H7ecuatorial.

La segunda señal para H-6ecuatorial se encuentra aparentemente sobrepuesta a la señal de H-8 y $\text{CH}_2\text{-11}$ y está centrado su desplazamiento en 1.54 ppm .

En 7.1 ppm ($J = 1.5\text{ Hz}$) se observa un triplete que corresponde al protón vinílico H-14, el desplazamiento de esta señal a campo bajo se debe a la posición β que guarda el protón en relación a un carbonilo de una lactona cíclica de cinco miembros α,β insaturada.

En 5.7 ppm se observa un singulete ancho que corresponde al protón vinílico H-3.

La señal doble de dobles en 4.77 ppm ($J = 1.52$ y 3.7 Hz) que integra para dos, se debe a los protones unidos a C-15.

Dos señales doble de dobles en 2.51 ppm ($J = 13.8$ Y 17.5 Hz) y en 2.36 ppm ($J = 3.6$ Y 17.5 Hz) son la parte AB de un sistema ABC y corresponden respectivamente al H-1axial y H-1ecuatorial, su desplazamiento químico se explica si se considera que estos protones estan unidos a un átomo de carbono vecino a un grupo carbonilo.

La parte C de este sistema se localiza en 1.99 ppm, es un doble de dobles cuyas constantes de acoplamiento indican interacción H10_{ax}-H1_{ax} ($J = 13.8$ Hz) y H10_{ax}-H1_{ecuatorial} ($J = 3.6$ Hz).

En 1.9 ppm y 1.08 ppm se observan dos señales dobles, cada una integra para 3 protones, la señal desplazada a campo bajo se debe a Me-18, la magnitud de la constante de acoplamiento ($J = 1.2$ Hz) indica que está acoplado vinílicamente con un grupo metino, la segunda señal corresponde a Me-17 ($J = 7.3$ Hz) su multiplicidad se explica mediante interacción con el protón geminal H-8.

Dos señales simples que integran para tres protones corresponden a metilos sobre carbono totalmente sustituido y se han asignado a Me-20 ($\delta = 1.1$ ppm) y Me-19 ($\delta = 1.4$ ppm).

El compuesto Sla-II presenta, al igual que Sla-I, dos bandas de absorción en el espectro de ultravioleta, a 210 nm y 235 nm, asignados a la γ lactona α,β insaturada y a la cetona cíclica de seis miembros α,β insaturada.

Se ha visto que en los clerodanos con fusión AB-*trans* el C-20 está axialmente orientado³³ y se encuentra en posición γ -*gauche* con respecto al C-17, lo cual se refleja en un efecto protector sobre el C-20 observandose la señal en RMN ^{13}C entre 15 y 19 ppm,³⁴ mientras que los clerodanos con fusión AB-*cis* presentan la señal de resonancia por arriba de 20 ppm.

De acuerdo con lo anterior, el desplazamiento observado para el C-20 (19.57 ppm) junto con la señal para C-19 (20 ppm) son consistentes con una fusión de tipo AB-*trans* para Sla-II.

Se observa en RMN ^{13}C la señal correspondiente al C-7 que sostiene un grupo hidroxilo en 73.09 ppm, adicionalmente se encuentran 6 señales para carbonos sp^2 (dos carbonílicos y cuatro olefínicos) y dos señales de menor intensidad características de carbonos cuaternarios (C-5 y C-9).

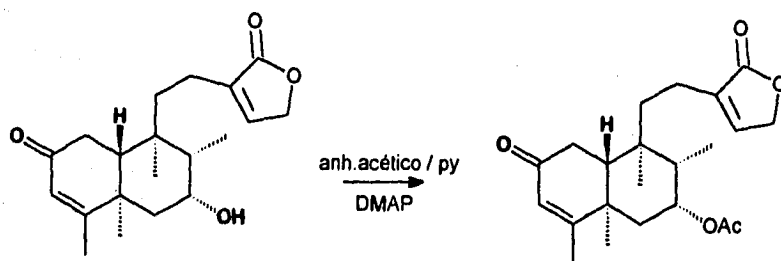
De acuerdo a lo anterior se propone que este compuesto posee estructura de neo-clerodano el cual actualmente no se encuentra descrito en la literatura.

Sla II Acetilado

Con la finalidad de confirmar la estructura propuesta para Sla-II, se preparó el derivado acetilado con anhídrido acético en piridina más *N,N*-dimetilaminopiridina, pretendiendo de esta manera obtener el compuesto Sla-I (Figura 8)

El producto de reacción una vez aislado y purificado se caracterizó mediante RMN ^1H .

Figura 8



En el espectro se observa desaparición de la señal en 4.11 ppm correspondiente al grupo hidroxilo (Espectro No. 14). El protón geminal ($\text{H-7}_{\text{ecuatorial}}$) se ve desplazado a campo bajo en 5.2 ppm con respecto a su posición antes de la acetilación, esta señal es un doble de doble de dobles con $J = 3.5$ y 6.5 Hz que muestra acoplamiento con los protones H-6 y H-8 como se discutió previamente para el compuesto Sla-I.

En 2.09 ppm se presenta un singulete intenso que integra para tres protones, el cual por desplazamiento químico corresponde a metilo de acetato.

La señal en 7.1 ppm es un quinteto que integra para un protón con $J = 1.6$ Hz y es asignado a H-14.

La comparación directa del espectro del producto acetilado con el espectro de Sla-I muestra que ambos son idénticos y por lo tanto se trata de la misma sustancia.

Sla III

El componente mas polar se aisló de las fracciones eluidas con AcoEt, presentó un P.f = 183-186°C (AcOEt). El peso molecular se determinó por espectrometría de masas y corresponde a una fórmula condensada $C_{22}H_{30}O_6$ [M^+ a m/z 456], con un grado de insaturación $\omega = 8$. Se trata de un metabolito diterpénico con esqueleto de neo-clerodano (Estructura XIX) y la elucidación estructural se describe a continuación:

De manera similar al compuesto Sla-I el componente Sla-III presenta en infrarrojo tres bandas en la región carbonílica (Espectro No. 15); En 1753 cm^{-1} para el C=O de γ lactona α,β insaturada, en 1730 cm^{-1} una banda para C=O de ester y otra señal en 1655 cm^{-1} correspondiente a C=O de cetona cíclica α,β insaturada.

En 1614 cm^{-1} aparece el estiramiento C-C de doble ligadura y en 1240 cm^{-1} la banda de acetato.

Adicionalmente en 3550 cm^{-1} existe la banda correspondiente a OH unido a carbón secundario y en 1075 cm^{-1} la señal atribuida al estiramiento C-O.

En espectrometría de masas (Espectro No. 16), el pico base está presente en $m/z\ 43$ ($\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{O}^+$) y como picos de mayor importancia a $m/z\ 330$ ($\text{M}^+\text{-CH}_3\text{COOH}$), $m/z\ 111$ y $m/z\ 97$, los cuales también están presentes en el espectro de Sla I.

El ultravioleta tiene un perfil ya característico, se observan dos bandas de absorción en λ_{max} a 210 nm y 235 nm , atribuidas a dos grupos cromóforos aislados, los cuales como ya se ha mencionado corresponden a una cetona cíclica de 6 miembros α,β insaturada, con un sustituyente alquilo en β y a un ester α,β insaturado con grupos alquil en α y β , (los valores calculados son λ_{max} 219 nm y 238 nm respectivamente).

El compuesto Sla-I y Sla-III tienen estructuras similares, que difieren únicamente en el grupo hidroxilo que posee Sla-III sobre C-6, lo cual fue deducido por análisis del espectro de RMN ^1H y confirmado mediante experimentos $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ y $^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$ HETCOR, DEPT y mediante reacciones químicas.

En RMN ^1H se observa en 3.78 ppm una señal sobrepuesta a otra, como resultado de la adición de D_2O una de las dos señales desaparece por el

intercambio con D₂O confirmando de esta manera la presencia de un grupo hidroxilo. La señal que permanece en 3.78 ppm se asigna a H-6 el cual tiene una orientación β -axial y se observa como un triplete que integra para un protón, el valor de la constante de acoplamiento indican interacción axial-ecuatorial con el protón de la posición 7 ($J=3.9$ Hz) y por consiguiente se asume que el grupo hidroxilo tiene una configuración α -ecuatorial.

En 5.34 ppm se encuentra una señal asignada por desplazamiento químico a H-7 (dd, $J= 3.9$ y 3.6 Hz) que integra para un protón y cuya multiplicidad se puede explicar por la interacción ecuatorial-axial que sufre con H-6 ($J=3.9$ Hz) y con H-8 ($J= 3.6$ Hz), lo cual sugiere una orientación β -ecuatorial para H-7 y por lo tanto una orientación α -axial para el grupo acetilo unido a C-7.

La señal centrada en 1.9 ppm que integra para un protón es un doblete de cuartetos cuya multiplicidad indica que está acoplado con un metilo y un metino, esta señal se asigna a H-8 y la magnitud de sus constantes demuestran que tal interacción es con H-7 ($J= 3.6$ Hz) y con Me-17 ($J= 7$ Hz). H-8 es β -axial y por consiguiente Me-17 unido a C-8 es α -ecuatorial.

El Me-17 se encuentra desplazado a 0.98 ppm y se observa como señal doble con $J= 7$ Hz (integra para 3H).

Al igual que para el compuesto Sla-I se observan dos señales a campo bajo para protones vinílicos; en 7.1 ppm un triplete ($J= 1.77$ Hz) y en 5.7 ppm un singulete ancho asignados respectivamente a H-14 y H-3.

En 4.78 ppm existe un doble de dobles que integra para un protón ($J = 3.8$ y 1.77 Hz) el cual es asignado a los protones de C-15.

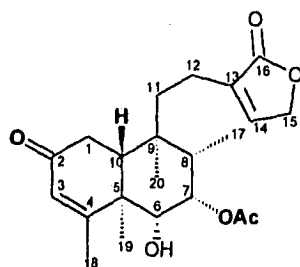
Se observan tres doble de dobles que conforman el sistema ABC para los protones de C-1 y C-10; En 2.59 ppm (dd, $J = 14$ y 17.85 Hz) para H-1axial, en 2.38 ppm (dd, $J = 3.6$ y 17.85 Hz) para H-1ecuatorial, y en 1.98 ppm (dd, $J = 3.6$ y 14 Hz) para H-10axial al anillo y por consiguiente con un sistema fusionado en *trans*.

Existen cinco señales que integran cada una para tres protones; la señal desplazada a 2.16 ppm es un singlete y se ha asignado por su desplazamiento químico a Me-22 de acetato, dos señales dobles se encuentran en 0.98 ppm ($J = 7$ Hz) para Me-17 y en 2.15 ppm ($J = 1.2$ Hz) para Me-18, esta última señal está desplazada a campo bajo debido a la desprotección del grupo hidroxilo. Dos señales simples se encuentran desplazadas en 1.32 ppm y 1.08 ppm y corresponden a Me-19 y Me-20 respectivamente.

Un análisis del espectro de RMN ^{13}C muestra la presencia de 7 carbonos sp^2 (3 carbonílicos y cuatro olefínicos). También se observan las señales para C-6 en 73.4 ppm el cual está unido a un grupo hidroxilo y para C-7 que sostiene un grupo acetato, desplazado en 78.35 ppm.

Adicionalmente una señal en 14.7 ppm asignada a C-19 es congruente con una fusión AB *trans*.

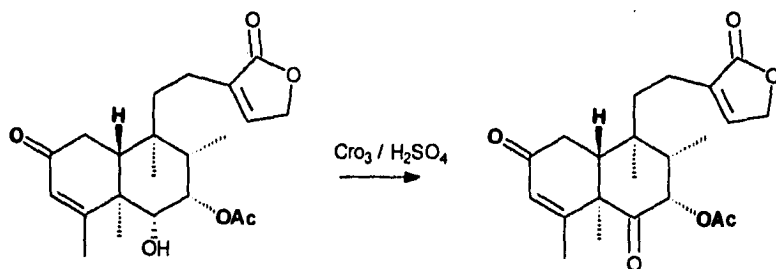
Estructura XIX



Oxidación de Sla III

El compuesto Sla III fué sometido a reaccionar con el reactivo de Jones para transformar el grupo hidroxilo en un grupo carbonilo y de esta manera confirmar la estructura propuesta (Figura No. 9).

Figura 9



En el espectro de infrarrojo es evidente la desaparición de la banda ancha en 3550 cm^{-1} característica de grupo hidroxilo, aparentemente la nueva señal (1715 cm^{-1}) para cetona cíclica saturada se encuentra

sobrepuesta a las señales de los carbonilos para y lactona α,β insaturada y para carbonilo de ester. La banda para cetona α,β insaturada aproximadamente se encuentra en 1652 cm^{-1} , parcialmente sobrepuesta.

En el espectro de RMN ^1H se observan algunos cambios, entre ellos la desaparición de la señal correspondiente al protón H-6 en 3.78 ppm, al cual estaba unido el grupo oxhidrilo, así como la señal que desaparecía al equilibrarse la muestra con agua deuterada antes de la oxidación.

La señal doble de dobles de H-7 aparece ahora como un doblete y está desplazado 0.37 unidades a campo bajo (en 5.57 ppm) en relación al desplazamiento del compuesto Sla III y a consecuencia de la desprotección del grupo carbonilo, la multiplicidad de la señal indica únicamente acoplamiento con H-8 ($J = 6.4\text{ Hz}$).

Otras señales cuyo desplazamiento se ve modificado es el doblete asignado a Me-18, que se desplaza a campo alto en 1.94 ppm con un $\Delta\delta = 0.11\text{ ppm}$ debido a la ausencia de la interacción con OH α -axial en C-6.

TABLAS

TABLA I Desplazamientos Químicos en RMN ¹H

H	Slα I*	Slα II*	Slα II** Acetilado	Slα III*	Slα III** Oxidado
H-1ax	2.5dd(13.5,17.4)	2.51dd(13.8,17.5)		2.59dd(14,17.85)	2.52
H-1eq	2.4dd(3.9,17.4)	2.36dd(3.6,17.5)		2.4dd(3.6,17.85)	
H-3	5.7Sa	5.7Sa	5.71Sa	5.7Sa	5.8d(2.1)
H-6ax	2.25dd(14.4,2.7)	2.23dd(2.7,13.8)	2.25dd(3.5,6.5)	3.78(t3.9)	-----
H-6ee	1.47dd(6,14.4)	1.53m	1	-----	-----
H-7	5.2ddd(3.42,6.3)	4.11ddd	5.2ddd(3.5,6.5)	5.34dd(3.6,3.9)	5.57d,6.4
H-8	1.8dc(3.42,7)		1.8dc(3.6,7)	1.9dc(3.6,7.0)	
H-10	2.0dd(3.9,13.5)	1.99dd(3.6,13.8)	2.0dd(4.3,13.1)	1.98dd(3.6,14)	
2H-11	1.57m	1.55m	1.66m	1.54m	
2H-12	2.1m	2.1m	2.1m	2.09m	
H-14	7.11(1.7)	7.111(1.52)	7.14Q(1.6)	7.131(1.7)	7.111(1.6)
2H-15	4.77dd(1.7,3.6)	4.77dd(1.52,3.7)	4.78dd(2,3.7)	4.75dd(1.77,3.83)	4.81dd(2,3.8)
Me-17	0.98d(7)	1.08d(7.3)	0.95d(7.6)	0.98d(7)	0.95d(7.6)
Me-18	1.9S	1.9d(1.21)	1.9d(1.2)	2.15d(1.2)	1.94d(2.09)
Me-19	1.31S	1.42S	1.3S	1.32S	1.44S
Me-20	1.09S	1.1S	1.09S	1.08S	1.0S
Me-22	2.1S	-----	2.1S	2.16S	2.19S

Los desplazamientos quimicos estan dados en ppm, con respecto al TMS(CDCI₃). las constantes de acoplamiento estan en paréntesis *J* (Hz) [* 300MHz ** 200MHz]

Tabla II Fragmentos importantes del espectro de masas

Fragmento	Sla-I	Sla II	Sla III
M⁺	374.2(3.8)	332.2(3.8)	390(1.7)
PB	43.1(100)	299.1(100)	43.1(100)
[M-15]⁺	359.2(1)	317(2.5)	375(0.2)
m/z M-60	314(11)	-----	330(35)
m/z 111	(14)	(17.5)	(20)
m/z 97	(10)	(10)	(10)

La abundancia relativa se da entre parentesis (%)

IV CONCLUSIONES

Tabla III Desplazamientos Químicos en RMN¹³C

No de C	Sla I	Sla II	Sla III
C-1	34.7157	34.8079	34.039
C-2	199.27	199.82	199.271
C-3	125.22	124.91	125.742
C-4	170.36	172.76	172.95
C-5	38.375	38.25	44.987
C-6	38.529	41.358	73.4
C-7	74.3565	73.09	78.35
C-8	37.790	38.83	36.837
C-9	39.082	39.39	38.252
C-10	45.448	45.786	44.65
C-11	35.884	36.06	35.792
C-12	19.032	18.97	18.817
C-13	133.892	134.1	133.615
C-14	143.92	143.79	144.1
C-15	70.203	70.23	70.23
C-16	174.023	174.17	174.05
Me-17	11.92	12.36	11.713
Me-18	19.032	19.032	22.96
Me-19	19.92	20.17	14.75
Me-20	18.97	19.37	18.66
C-21	171.84	-----	172.27
Me-22	21.37	-----	21.12

Los desplazamientos químicos están dados en ppm con respecto al
TMS.(75MHz,CDCl₃).

IV CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de *Salvia lasiantha*, se concluye lo siguiente:

1. Se llevó a cabo el aislamiento, purificación y caracterización de cuatro compuestos, empleando técnicas cromatográficas, técnicas espectroscópicas y técnicas químicas y mediante la correlación con estructuras de compuestos conocidos.
2. Se obtuvo un triterpeno (Ac. oleanólico) el cual esta ampliamente distribuido en Salvias.
3. Se aisló y purificó tres metabolitos secundarios de tipo diterpénico con esqueleto carbonado perteneciente al grupo del clerodano (neoclerodano).
4. Estos tres compuestos no están reportados en la literatura, son nuevas aportaciones a la composición química de las Salvias mexicanas y pueden ser de gran ayuda como indicadores quimiotaxonómicos para una clasificación sistemática de las plantas.
5. Se corrobora la hipótesis de que la presencia de compuestos de tipo neoclerodanos, son característicos del subgénero *Calosphaea*.⁷

Actualmente se está llevando a cabo el estudio para determinar si estos compuestos presentan actividad biológica.

V PARTE EXPERIMENTAL

V PARTE EXPERIMENTAL

a) MATERIALES E INSTRUMENTOS

Para la separación por cromatografía en columna se utilizó gel de sílice 60 Merck malla 230-400 ASTM.

La pureza de los reactivos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina y se utilizó cromatoplasca de gel de sílice de Merck, con indicador fluorescente, usando como revelador luz ultravioleta y sulfato cérico al 1% en H_2SO_4 2N.

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

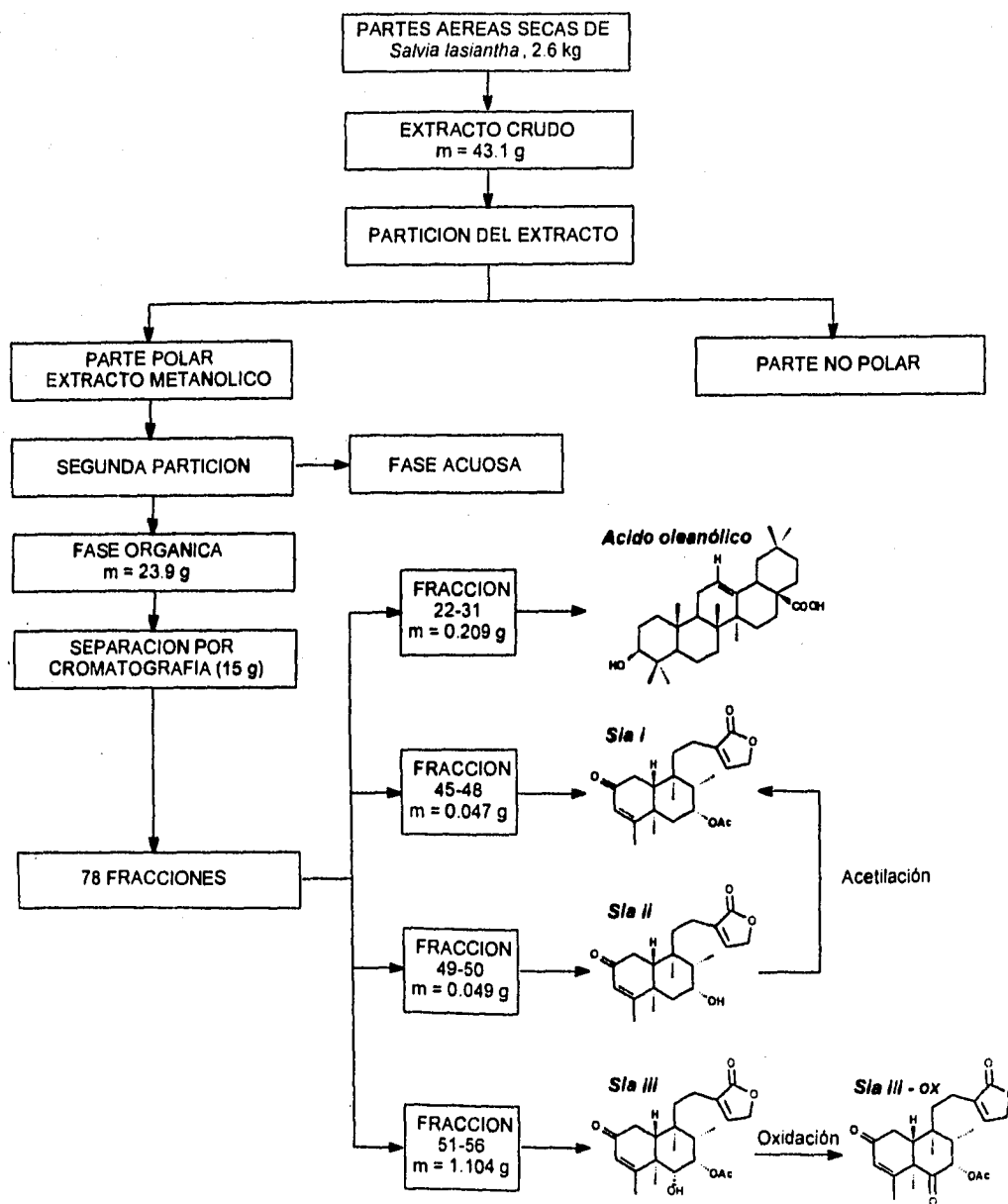
Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer 238-B y un espectrofotómetro Nicolet FT- IR 5 sx.

Para obtener los espectros de ultravioleta se utilizó un espectrofotómetro Perkin-Elmer 552 y para determinar la rotación óptica de cada compuesto aislado se empleó un polarímetro Jasco DIP 360.

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

Para la obtención de los espectros de RMN de ^1H y RMN de ^{13}C se empleó un espectrómetro Varian-Gémini 200 y fueron realizados a 200 y 75 MHz respectivamente en CDCl_3 y $\text{CDCl}_3 + \text{D}_2\text{O}$.

DIAGRAMA EXPERIMENTAL



Los desplazamientos químicos están dados en ppm, referidos al TMS como referencia interna.

b) MATERIA VEGETAL

El espécimen de *Salvia lasiantha* fue recolectado a 20 Km de San Cristobal de las Casas sobre la carretera panamericana en el estado de Chiapas, el 20 de Noviembre de 1989.

La identificación y clasificación botánica fue realizada por el Dr. T. P. Ramamoorthy del instituto de Biología de la UNAM. Un ejemplar de esta muestra se depositó en el herbario de este instituto con el registro Ber 300. La recolección de esta planta fue llevada a cabo por el M en C. Baldomero Esquivel Rodriguez.

c) EXTRACCION Y AISLAMIENTO DE LOS CONSTITUYENTES

Se secaron 2.6 Kg de las partes aéreas de *Salvia lasiantha*, las cuales permanecieron en 18 lt de acetona a temperatura ambiente durante 8 días, después de este tiempo se eliminó el disolvente por destilación a presión reducida obteniéndose 43.1g de un residuo café rojizo.

Todo el residuo fue disuelto en una mezcla hexano-benceno (1:1) y posteriormente fue sometido a una separación por extracciones con un sistema de disolventes metanol-agua en proporción (8:2).

La parte no polar fué concentrada mediante la eliminación del disolvente por destilación en un rotavapor y posteriormente a presión reducida después de lo cual el residuo registró un peso de 19g (44.08 % en relación con el extracto crudo total).

La parte metanólica fué sometida a una segunda separación por extracciones con acetato de etilo, los extractos una vez concentrados dieron un peso de 23.9 g (55.45 % del extracto crudo total).

Unicamente 15 g del extracto polar fueron separados por cromatografía en columna al vacío. Se empleó una columna de 10 cm de diámetro y se empacó con sílice para placa. La columna se eluyó inicialmente con hexano se fué aumentando la polaridad gradualmente con mezclas de hexano-AcOEt hasta llegar a AcOEt, posteriormente con mezclas de Acoet-metanol y finalmente con metanol, así se separaron 75 fracciones de 500ml cada una.

Aislamiento de Ac. Oleanólico.

De las fracciones menos polares, eluidas con hexano-AcOEt en proporción 8:2 se aisló un sólido amorfo blanco, después de caracterizarlo espectroscópicamente, se determinaron las siguientes constantes, las cuales fueron comparadas con las reportadas en la bibliografía para el ácido oleanólico.^{21,22,23}

IR (CHCl_3) ν_{max} (cm^{-1}): 3440 (alargamiento OH); 2922 y 2854 (alargamiento CH); 1689 ($\text{C}=\text{O}$ de ácido); 1460, 1376 (CH_2, CH_3); 1210 y 1184 ($-\text{C}(\text{Me})_2-$); 1032 ($\text{C}-\text{O}$).

EM m/z (abundancia relativa): 456.4 [M^+] (0.1%); 203.2 [P.B.] (100%); 438 [$\text{M}-18$] $^+$ (0.1%); 429.2 (0.1%); 423 [$\text{M}-(\text{CH}_3+\text{H}_2\text{O})$] $^+$ (0.1%); 410 [$\text{M}-(\text{COOH} + \text{H})$] $^+$ (2.5%); 248 [Retro-Diels-Alder] (70.7%); 233 (5%); 207 (20%); 189 (22.5%); 175 (12%); 149 (7.3%); 133.1 (38.1%); 105 (25%); m/z 69.1 (33.1%).

RMN ^1H , 200 MHz, ($\text{CDCl}_3+\text{DMSO}$), δ : 5.26 ppm (1H, t, $J = 3.4$ Hz, H-12); 3.15 ppm (1H, ta, H α -3); 2.83 ppm (1H, dd, $J = 4.1$ y 13.8 Hz, H β -18); 1.25 ppm (3H, s, Me); 1.13 ppm (3H, s, Me); 0.97 ppm (3H, s, Me); 0.90 ppm (3H, s, Me); 0.79 ppm (3H, s, Me); 0.79 ppm (3H, s, Me); 0.76 ppm (3H, s, Me).

Aislamiento de Sla-I

Se reunieron las fracciones 45 a 48, eluidas con hexano-AcOEt (4:6), y se aisló por cristalización en AcOEt, un compuesto blanco con punto de fusión de 197- 200°C, el peso total del compuesto aislado fué 0.047g y a continuación se presentan sus constantes espectroscópicas.

IR (CHCl_3), ν_{max} (cm^{-1}): 2966 y 2981 (alargamiento C-H); 1753 ($\text{C}=\text{O}$ de γ lactona α, β insaturada); 1730 ($\text{C}=\text{O}$ de ester); 1656 ($\text{C}=\text{O}$ de cetona α, β insaturada); 1615 ($\text{C}=\text{C}$); 1450 y 1375 (CH_2, CH_3); 1246 y 1076 (Estiramiento C-O); 830 (doble enlace trisustituido).

EM m/z (abundancia relativa): 374.2[M⁺] (3.8 %); 43.1 [P.B] (100 %) 359.2 [M-15]⁺ (1 %); 331 [M-43]⁺ (1.25 %); 332 (1.8 %); 331 (1.25 %); 314 (11 %); 299.5 (75 %); 259.2 (1.4 %); 203 (67 %); 189 (12 %); 175 (22 %); 161 (35 %); 111 (14 %); 97 (10 %); 83 (25 %); 55 (32 %); 41 (39.4 %).

$[\alpha]_{20}^D = -66$ (C = 1 mg/ml, CH₃OH)

$\lambda_{\max}$ (MeOH) = 210 nm ($\epsilon = 7161.125$) y 235 nm ($\epsilon = 6138.107$)

RMN ¹H, 300 MHz, (CDCl₃), δ : Ver Tabla I

RMN ¹³C, 75 MHz, (CDCl₃), δ : Ver Tabla III

Aislamiento de Sla-II

Se reunieron las fracciones 49 y 50 las cuales se obtuvieron después de eluir la columna principal con hexano-AcoEt (2:8), una vez concentradas fueron sometidas a recristalizaciones sucesivas con AcOEt, lograndose separar 0.094 g de un polvo blanco que presentó un punto de fusión de 201-205 °C. Este compuesto fué caracterizado con los siguientes datos espectroscópicos:

IR (CHCl₃), $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3600 (estiramiento OH); 2960 y 2865 (alargamiento C-H); 1753 (C=O de γ lactona α,β insaturado); 1655 (C=O de cetona α,β insaturada); 1615 (C=C); 1450 y 1375 (CH₂,CH₃); 1075 (estiramiento C-O).

EM m/z (abundancia relativa): 332.2 [M⁺] (20.5 %); 299.1 [P.B] (100 %); 317 [M-15]⁺ (2.5 %); 318 (0.8 %); 314 (4 %); 272 (1.25 %); 203 (26 %);

189 (12 %); 175 (20 %); 161 (33 %); 121 (50 %); 111 (17.5 %); 109 (52.8 %); 83 (35 %); 55 (50 %); 43.1 (57.5 %); 41 (70.7 %).

$[\alpha]_D^{20} = -4.8$ [C= 5mg/ml, CH₃OH]

λ_{max} (MeOH) = 210 nm ($\epsilon = 3253.6$) y 235 nm ($\epsilon = 2822.145$)

RMN ¹H, 300 MHz, (CDCl₃), δ : Ver Tabla I

RMN ¹³C, 75 MHz, (CDCl₃), δ : Ver Tabla III

Acetilación de sla II

La reacción de acetilación se llevó a cabo con 30mg del compuesto Sla-II, los cuales se disolvieron en 1ml de piridina y se dejaron reaccionar con 1ml de anhídrido acético y 1ml de dimetil amino piridina, con agitación constante. El curso de la reacción fué seguido por cromatografía en capa fina, al término de esta se procedió a eliminar el disolvente en un sistema con alto vacio y posteriormente se realizaron extracciones al producto de reacción con AcOEt.

La fase orgánica fué lavada con solución saturada de NaCl hasta pH neutro y por último se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida.

La purificación del producto se llevó a cabo por cromatografía flash en columna, empleando una columna de 1cm de diámetro, empacada con silica gel (230-400) hasta llenar 5 pulgadas de la misma.

De las fracciones intermedias se aisló por cristalización de AcoEt, 0.021g de producto acetilado, el cual se identificó por comparación con el compuesto aislado anteriormente y nombrado como Sla-I.

RMN ^1H , 200 MHz, ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}$), δ :

7.1 ppm (q, 1H, $J = 1.6$, H-14); 5.7 ppm (sa, 1H, H-3); 5.2 ppm (ddd, 1H, $J = 3.5$ y 6.5 Hz, H-6ax); 4.78 ppm (dd, 2H, $J = 1.6$ y 3.7 Hz, CH_2 -15); 2.25 ppm (dd, 1H, $J = 14.6$ y 2.8 Hz, H-6ax); 2.09 ppm (s, 3H, CH_3 -COO-); 2.0 ppm (dd, 1H, $J = 4.3$ Hz y 13.1 Hz, H-10ax); 1.9 ppm (d, 3H, $J = 1.2$ Hz, Me-18); 1.8 ppm (dc, 1H, $J = 3.6$ y 7 Hz, H-8); 1.31 ppm (s, 3H, Me-19); 1.09 ppm (s, 3H, Me-20); 0.95 ppm (d, 3H, $J = 7$ Hz, Me-17).

Aislamiento de Sla-III

Por cromatografía en capa fina se logró identificar un componente principal de las fracciones 51-56, dicho componente revela con sulfato cérico como una mancha rojiza.

Por cristalizaciones sucesivas con AcOEt se logró aislar 1.104g de un sólido cuyas partículas eran muy finas con aspecto de talco blanco, dicho compuesto presenta un punto de fusión de 183-186 °C, las técnicas espectroscópicas aportaron los siguientes datos:

IR (CHCl_3), ν_{max} (cm^{-1}): 3550 (estiramiento OH); 2960 y 2865 (alargamiento CH); 1753 ($\text{C}=\text{O}$ de γ lactona α,β insaturada); 1730 ($\text{C}=\text{O}$ de ester); 1655 ($\text{C}=\text{O}$ de cetona α,β insaturada); 1614 ($\text{C}=\text{C}$); 1450 y 1380 (CH_2, CH_3); 1240 (estiramiento C-O).

EM m/z (abundancia relativa): 390 [M^+] (1.7 %); 43.2 [P.B.] (100 %); 375 [$M-15$]⁺ (0.2 %); 330 (35 %); 297 (15 %); 297 (15 %); 123 (37.3 %); 121 (21.5 %); 111 (20 %); 109 (17.5 %); 91.1 (24.2 %); 83 (12.5 %).

$[\alpha]_D^{20} = -11.25$ [C= 4mg/ml, CH₃OH]

λ_{max} (MeOH) = 210 nm ($\epsilon = 5389.9$) y 235 nm ($\epsilon = 4931.20$).

RMN ¹H, 200 MHz, (CDCl₃+DMSO), δ : Ver Tabla I.

RMN ¹³C, 75 MHz, (CDCl₃+DMSO), δ : Ver Tabla III.

Oxidación de Sla-III

En un matraz de 50 ml se disolvieron 50 mg del compuesto sla III con 1.5ml de acetona, este sistema de reacción se colocó en un baño de hielo y se trató con exceso de reactivo de Jones (CrO₃/H₂SO₄) previamente preparado y adicionado lentamente.

La reacción en cuestión procedió durante 30 minutos y fué monitoreada por cromatografía en capa fina, al término de la reacción se adicionó alcohol isopropílico.

El producto de reacción se aisló por extracciones con AcOEt, el extracto fué lavado con solución saturada de NaCl hasta pH neutro y por último fué secado sobre Na₂SO₄ anhidro.

Una vez evaporado el disolvente a presión reducida el producto fué purificado por cromatografía en columna flash. De las fracciones

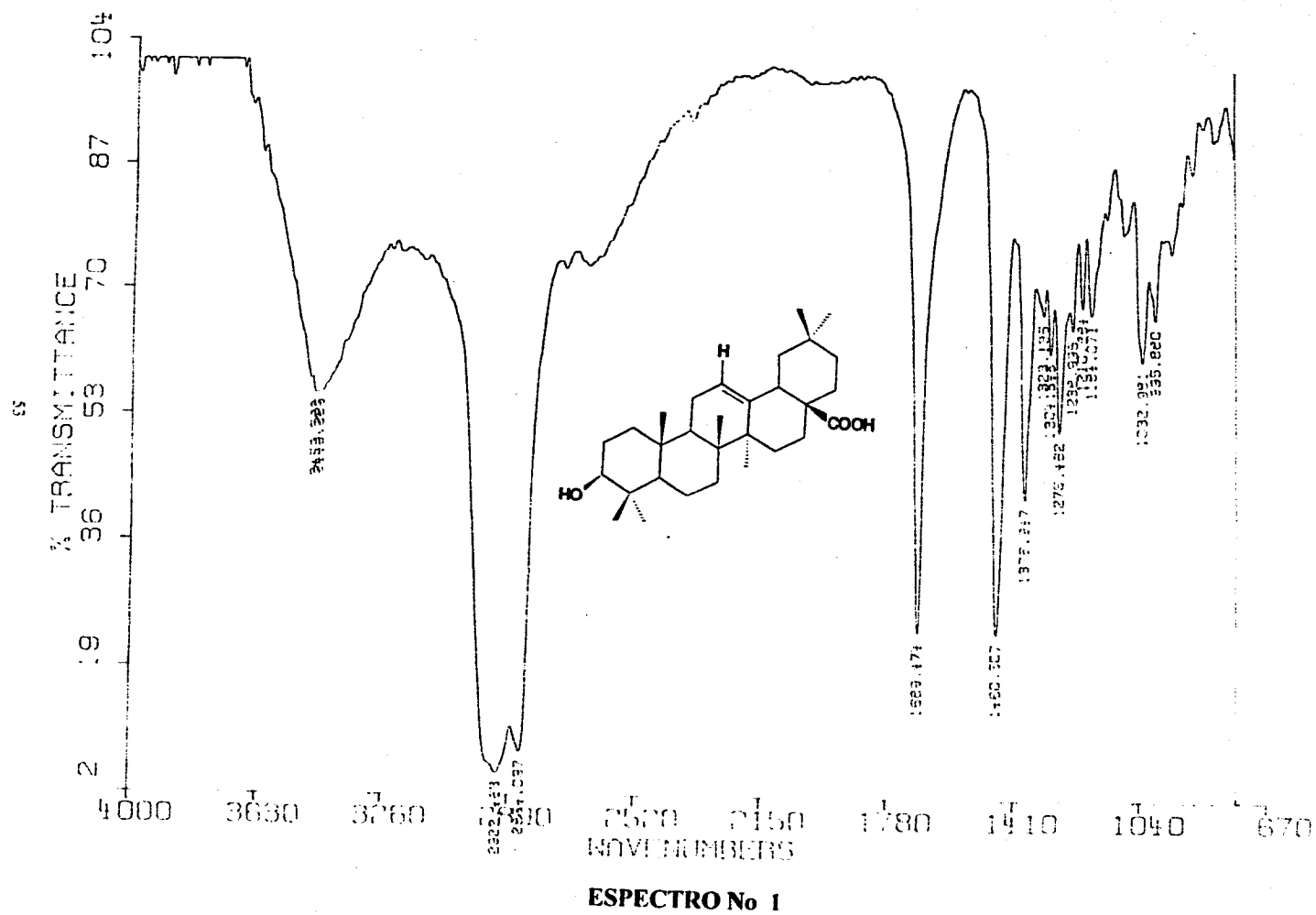
intermedias se separó 4mg de un sólido amorfo el cual cristalizó de AcOEt y presentó los siguientes datos espectroscópicos.

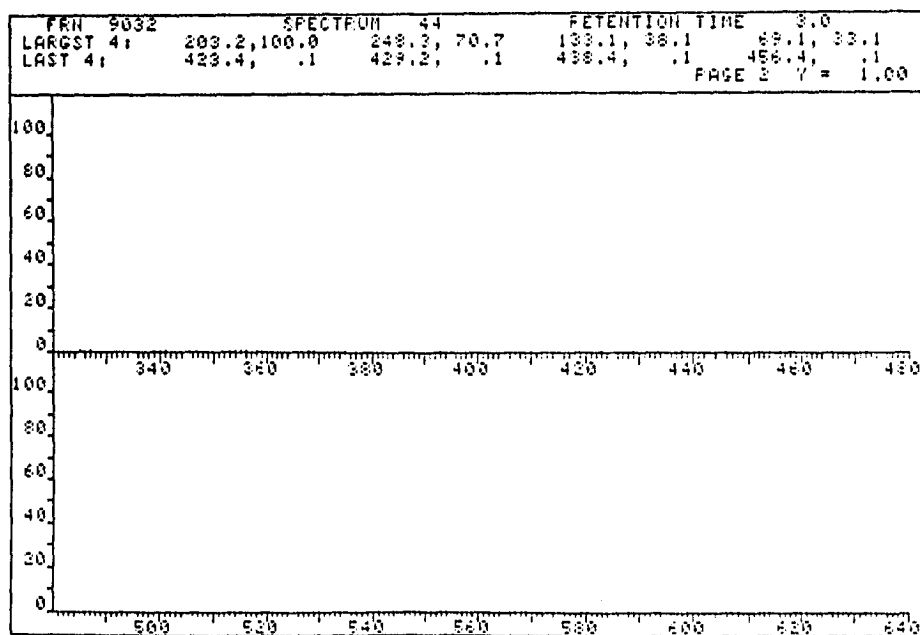
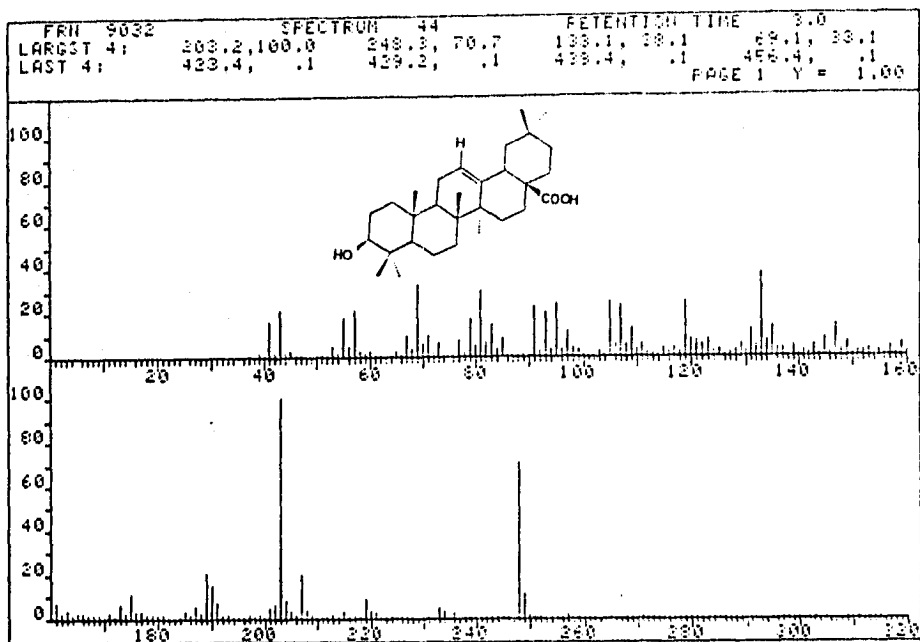
IR (CHCl_3), $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$: 3038 cm^{-1} (estiramiento C-H insaturado); 1748 ($\text{C}=\text{O}$ de lactona α,β insaturada señal sobrepuesta a la de $\text{C}=\text{O}$ de ester y $\text{C}=\text{O}$ de cetona cíclica saturada); 1652 ($\text{C}=\text{O}$ de cetona α,β insaturada)

RMN ^1H , 200 MHz, (CDCl_3) δ : 7.11 ppm (t, 1H, $J = 1.6\text{Hz}$, H-14); 5.8 ppm (d, 1H, $J = 2.1\text{Hz}$, H-3); 5.57 ppm (d, 1H, $J = 6.4\text{Hz}$, H-7ax); 4.8 ppm (dd, 2H, $J = 1.6$ y 3.8Hz , CH_2 -15); 2.19 ppm (s, 3H, Me-22); 1.94 ppm (d, 3H, $J = 2.09\text{Hz}$, Me-18); 1.44 ppm (s, 3H, Me-19); 1 ppm (s, 3H, Me-20); 0.95 ppm (d, 3H, $J = 7.6\text{Hz}$, Me-17).

VI ESPECTROS

FALLA DE ORIGEN

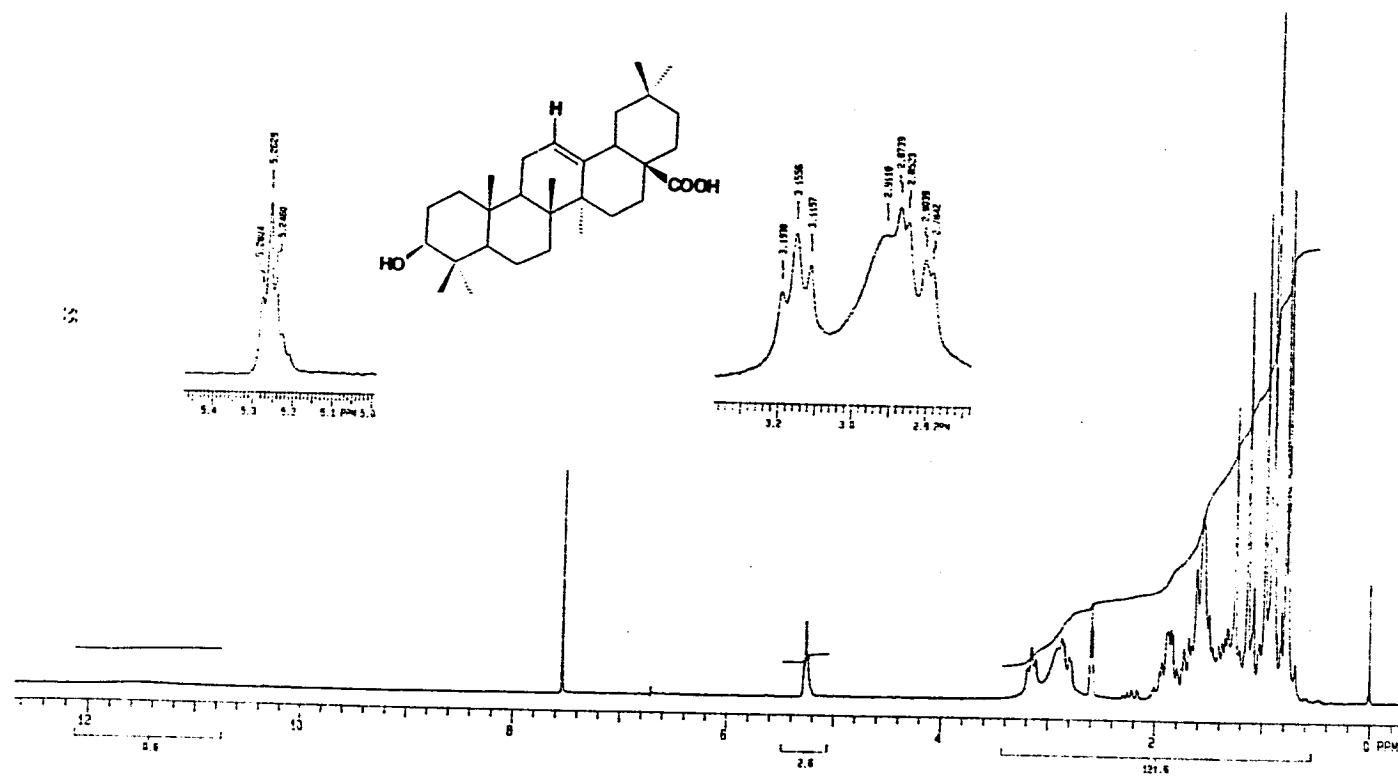




ESPECTRO No 2

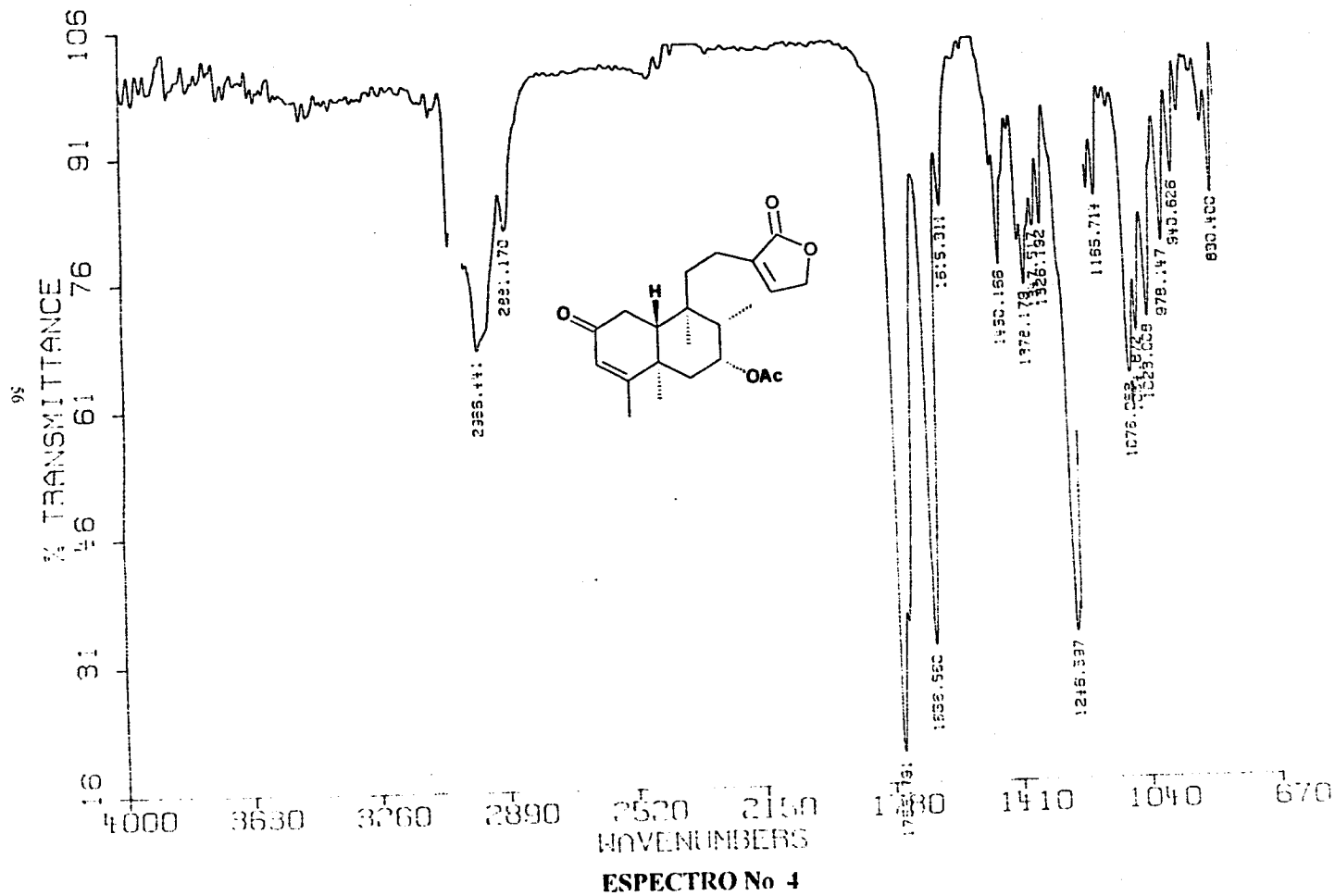
FALLA DE ORIGEN

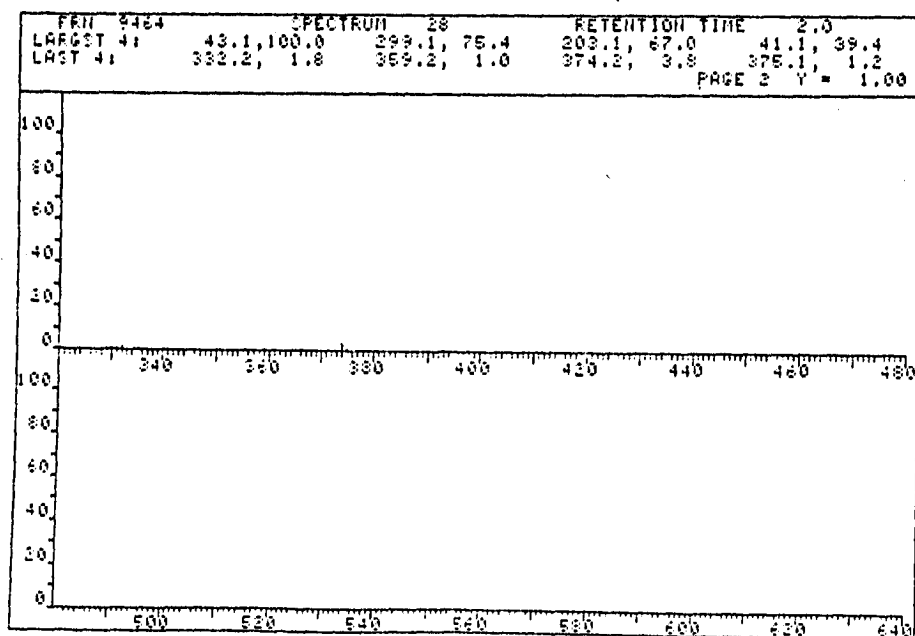
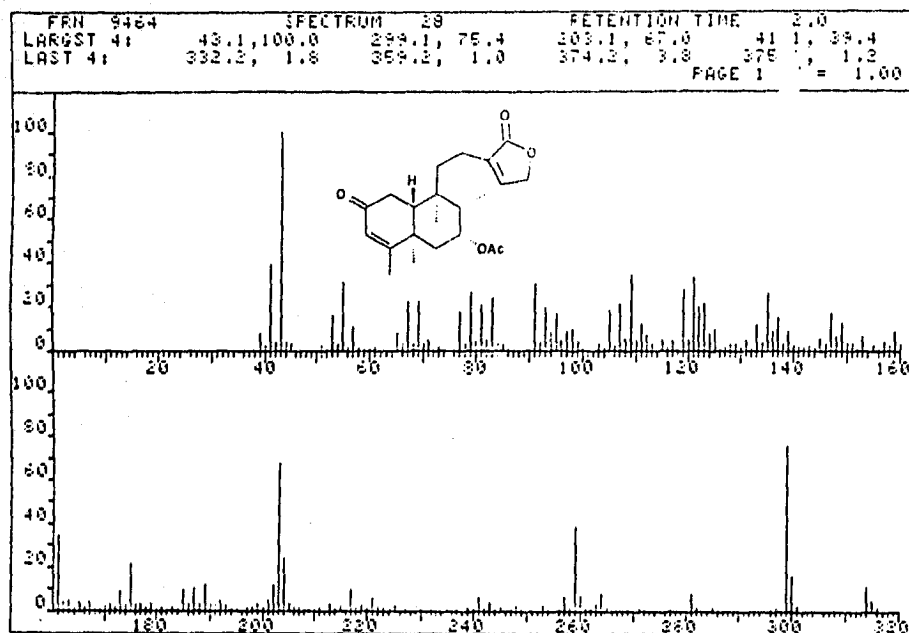
FALLA DE ORIGEN



ESPECTRO No 3

FALLA DE ORIGEN

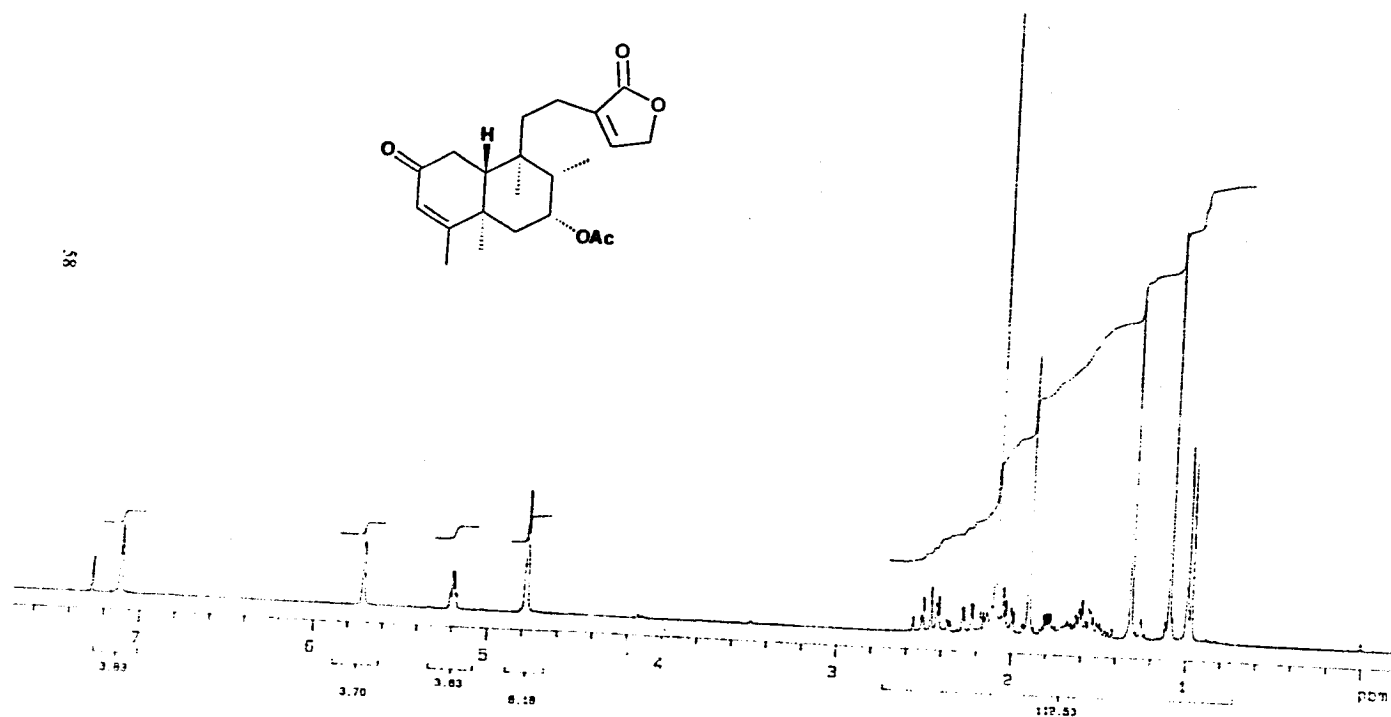
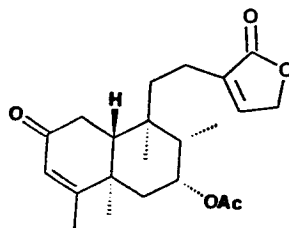




ESPECTRO No 5

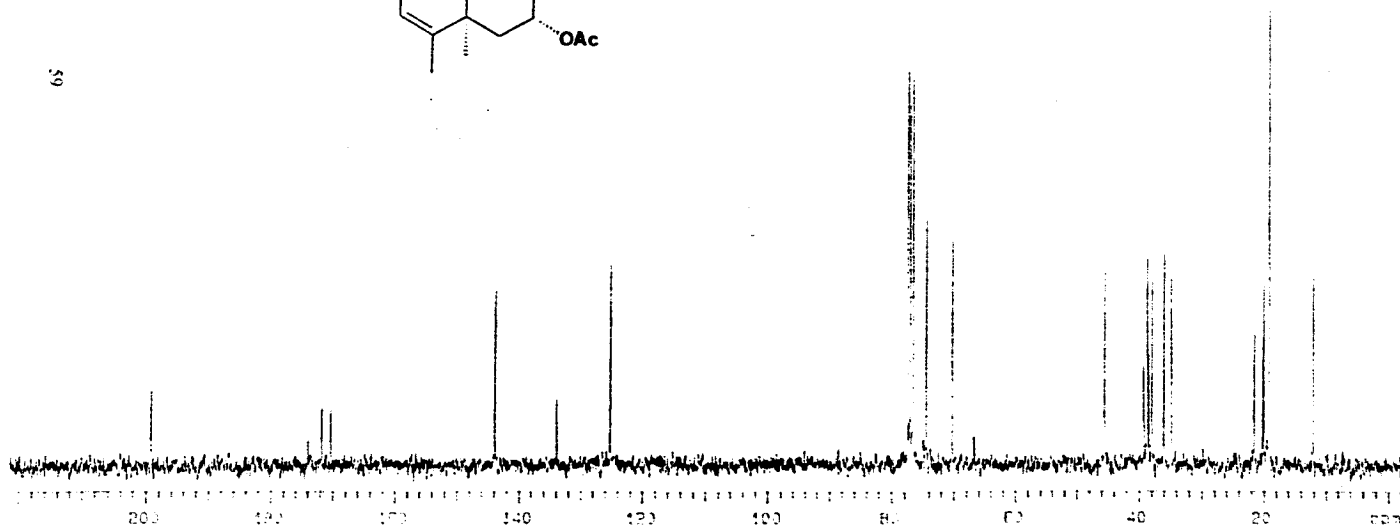
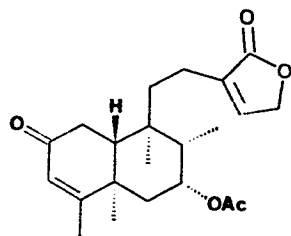
FALLA DE ORIGEN

58

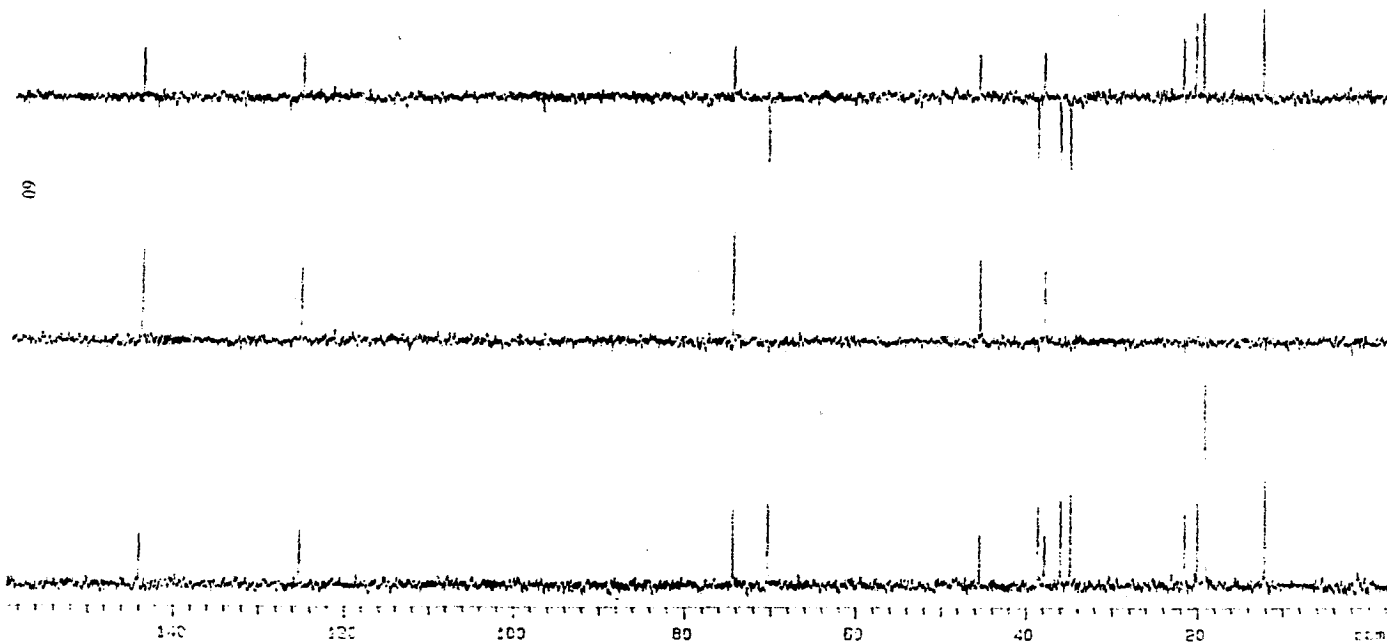
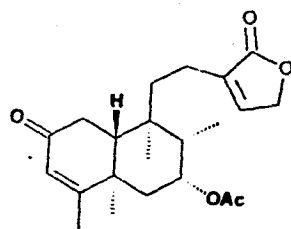
**ESPECTRO No 6**

FALLA DE ORIGEN

59



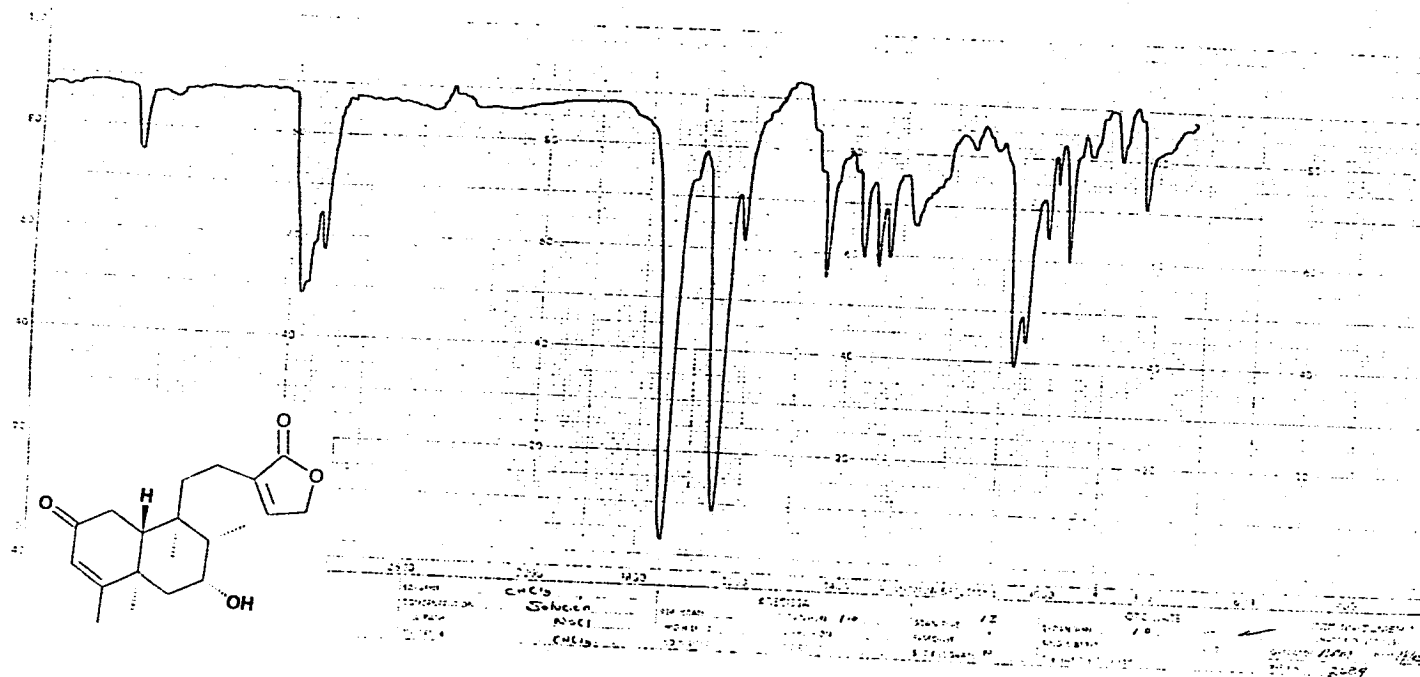
ESPECTRO No 7



ESPECTRO No 8

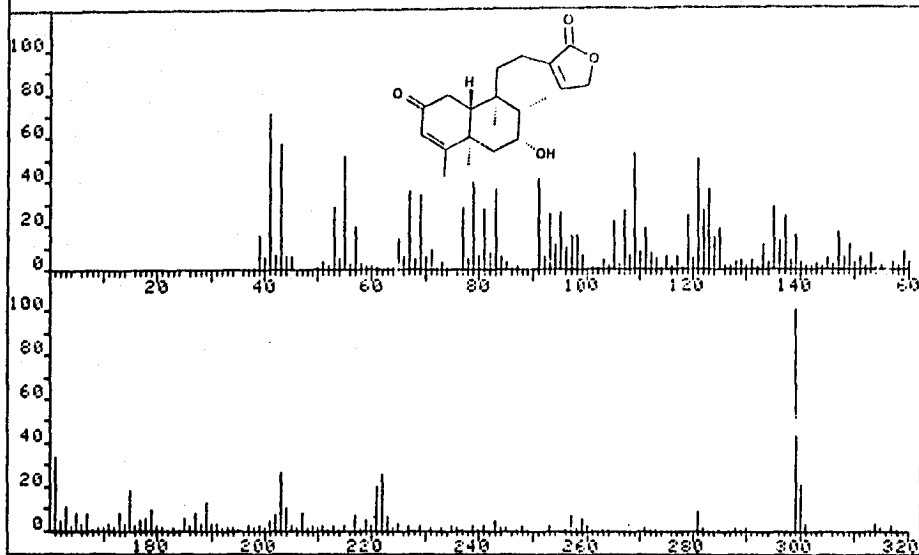
FALLA DE ORIGEN

FALLA DE ORIGEN

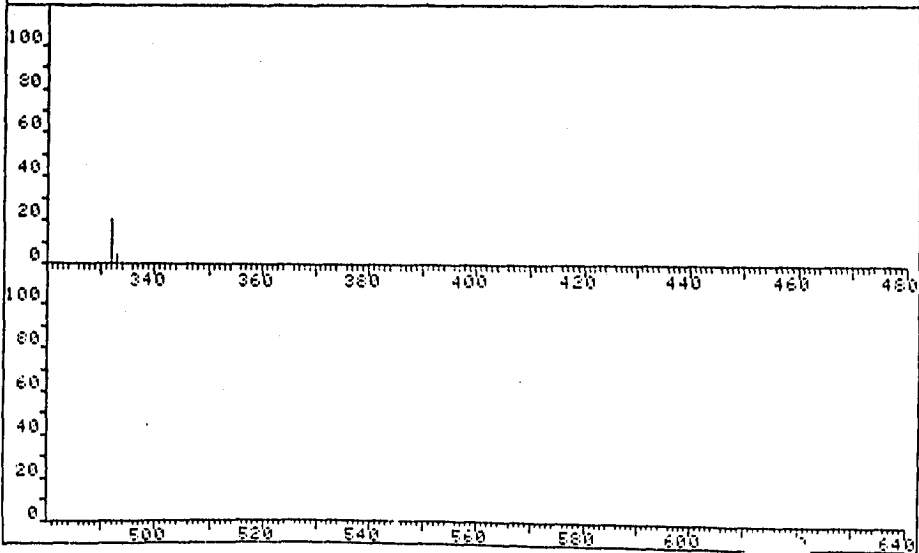


ESPECTRO No 9

FRN 9463 SPECTRUM 48 RETENTION TIME 3.3
 LARGST 4: 299.1, 100.0 41.1, 70.7 43.1, 57.5 109.1, 52.8
 LAST 4: 318.0, .8 332.2, 20.5 333.1, 4.6 334.2, .8
 PAGE 1 Y = 1.00



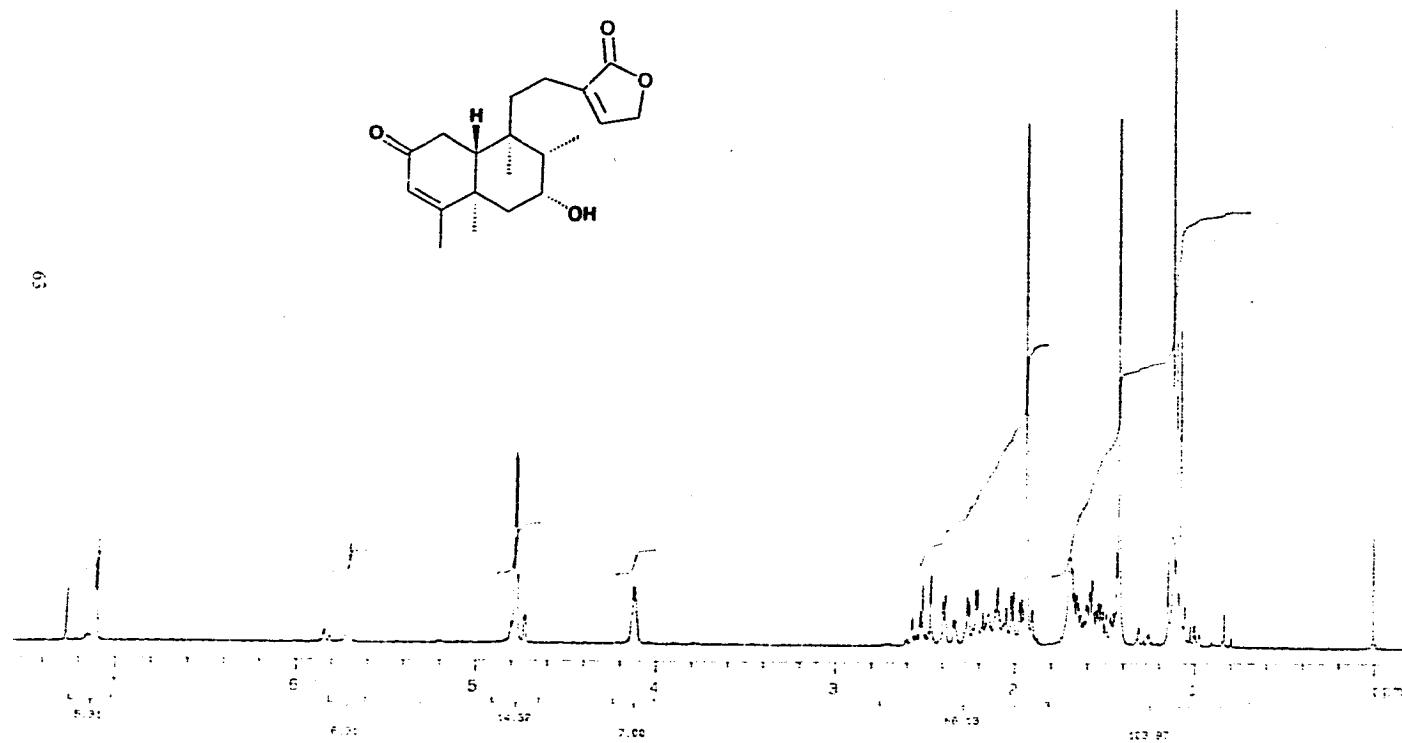
FRN 9463 SPECTRUM 48 RETENTION TIME 3.3
 LARGST 4: 299.1, 100.0 41.1, 70.7 43.1, 57.5 109.1, 52.8
 LAST 4: 318.0, .8 332.2, 20.5 333.1, 4.6 334.2, .8
 PAGE 2 Y = 1.00



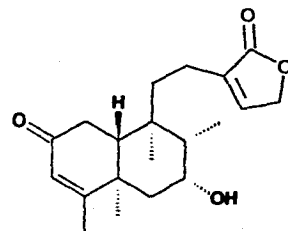
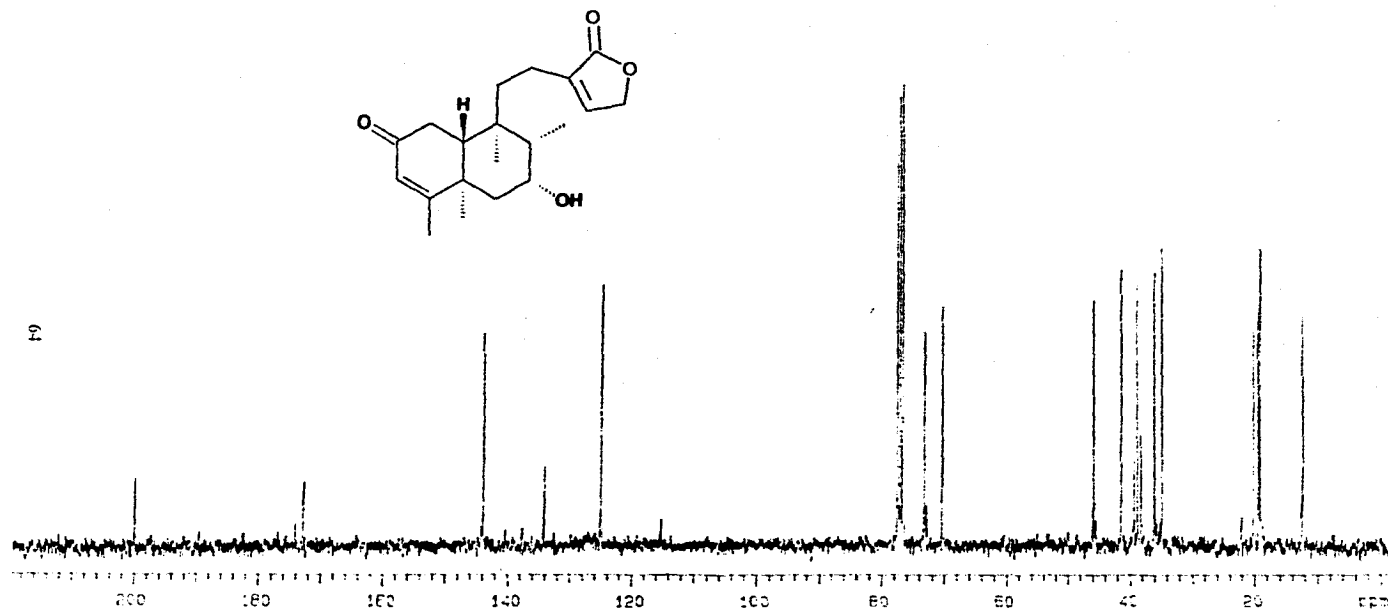
ESPECTRO No 10

FALLA DE ORIGEN

FALLA DE ORIGEN

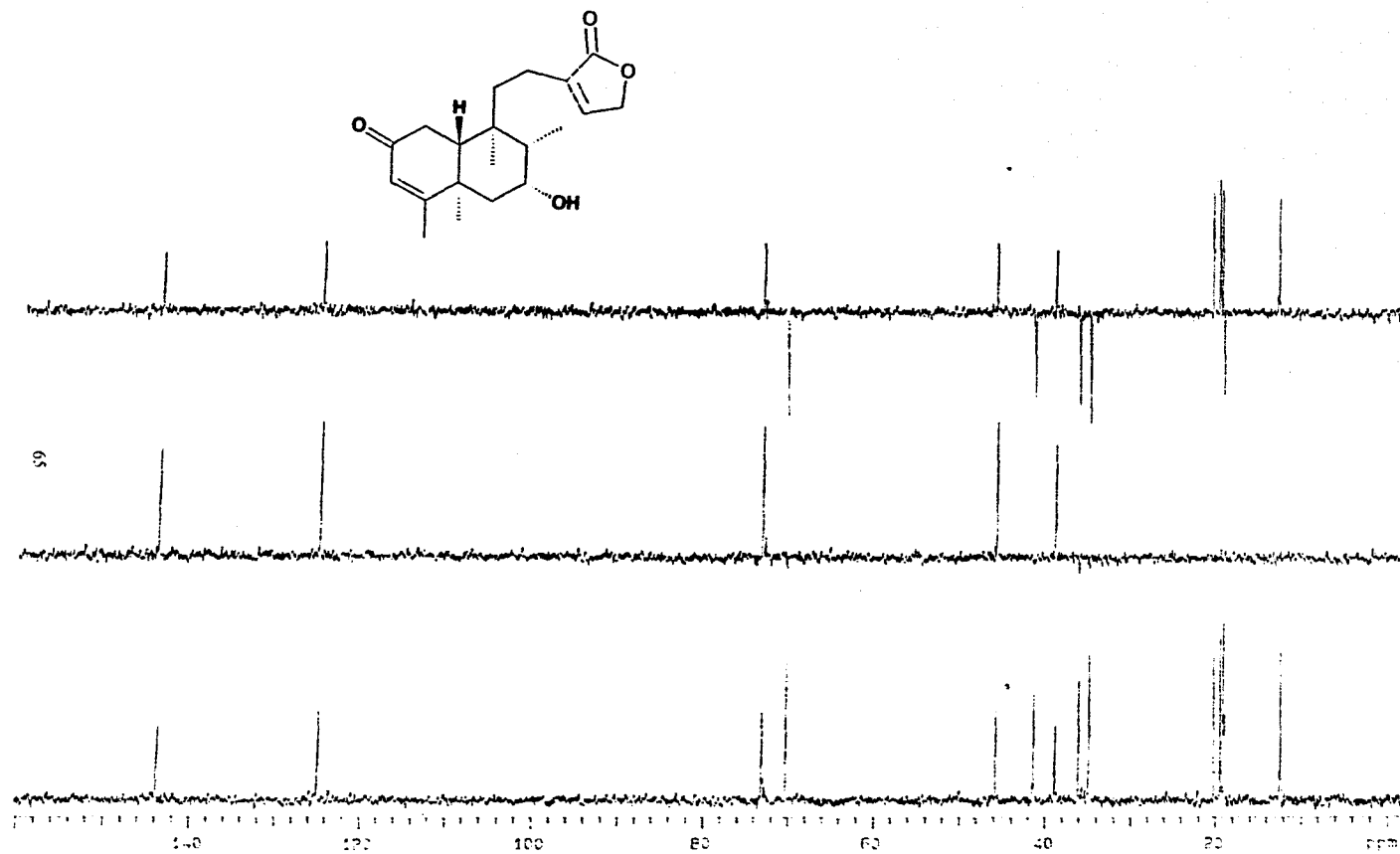


FALLA DE ORIGEN



ESPECTRO No 12

FALLA DE ORIGEN

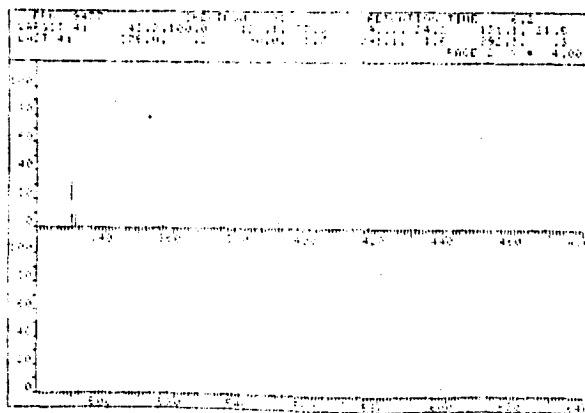
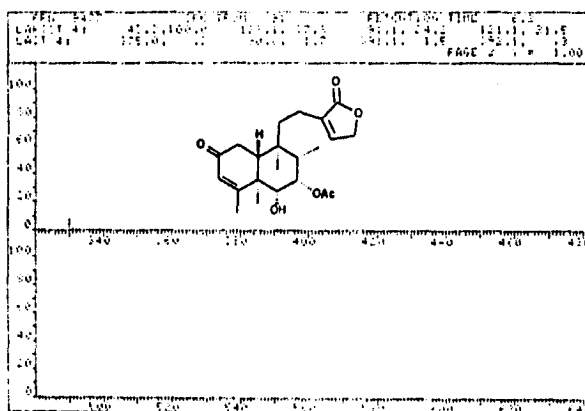
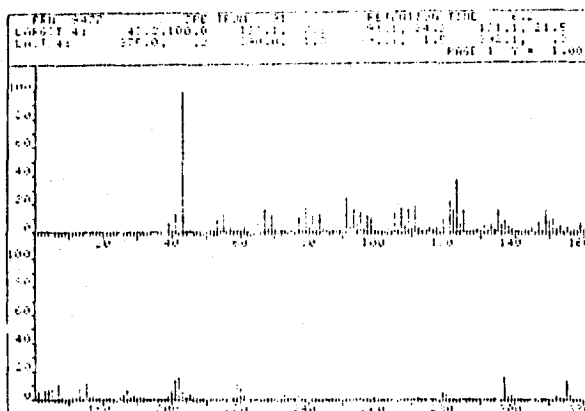


ESPECTRO No 13

66

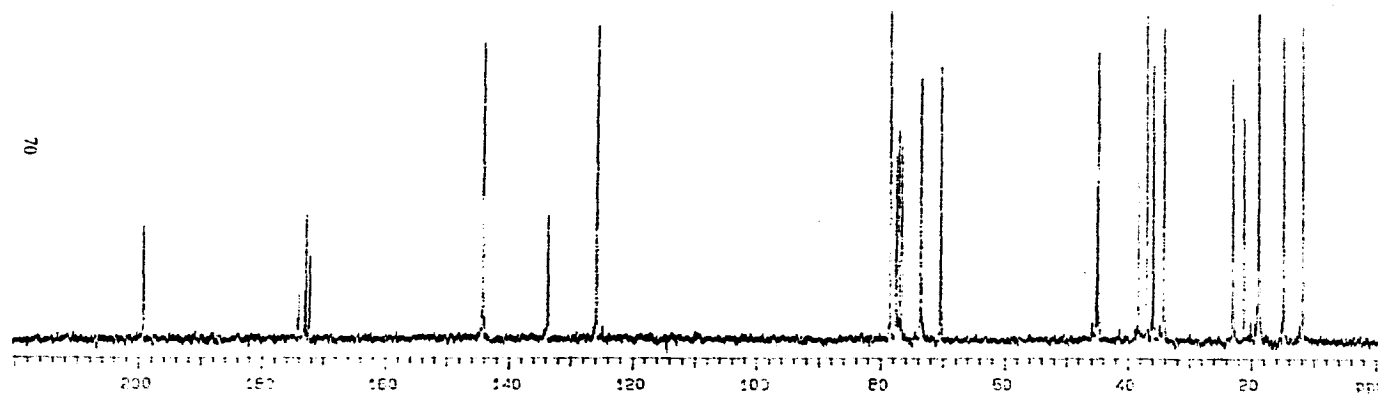
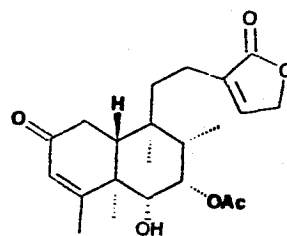


[illegible][illegible]



ESPECTRO No.16

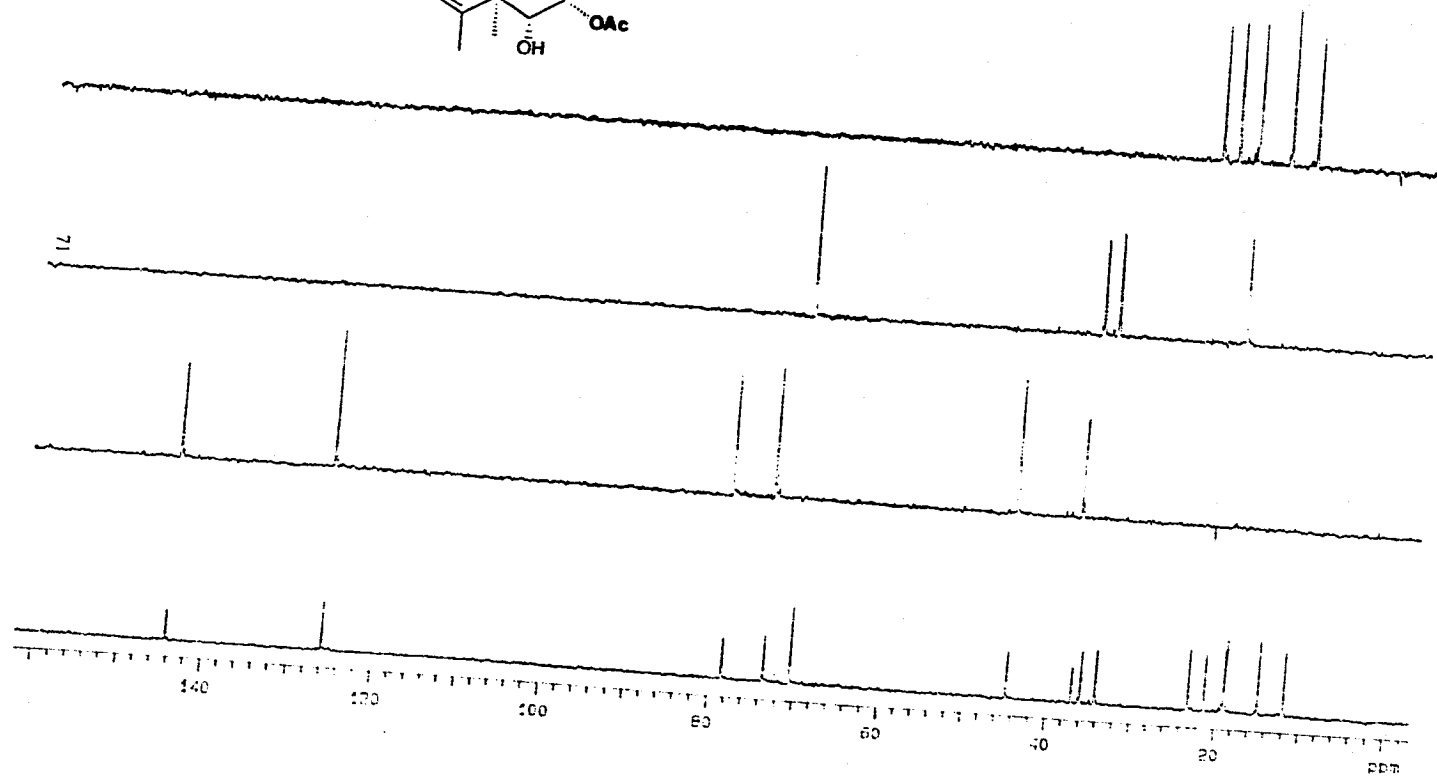
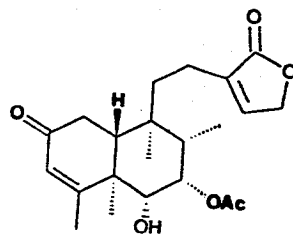
FALLA DE ORIGEN



FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO No 18

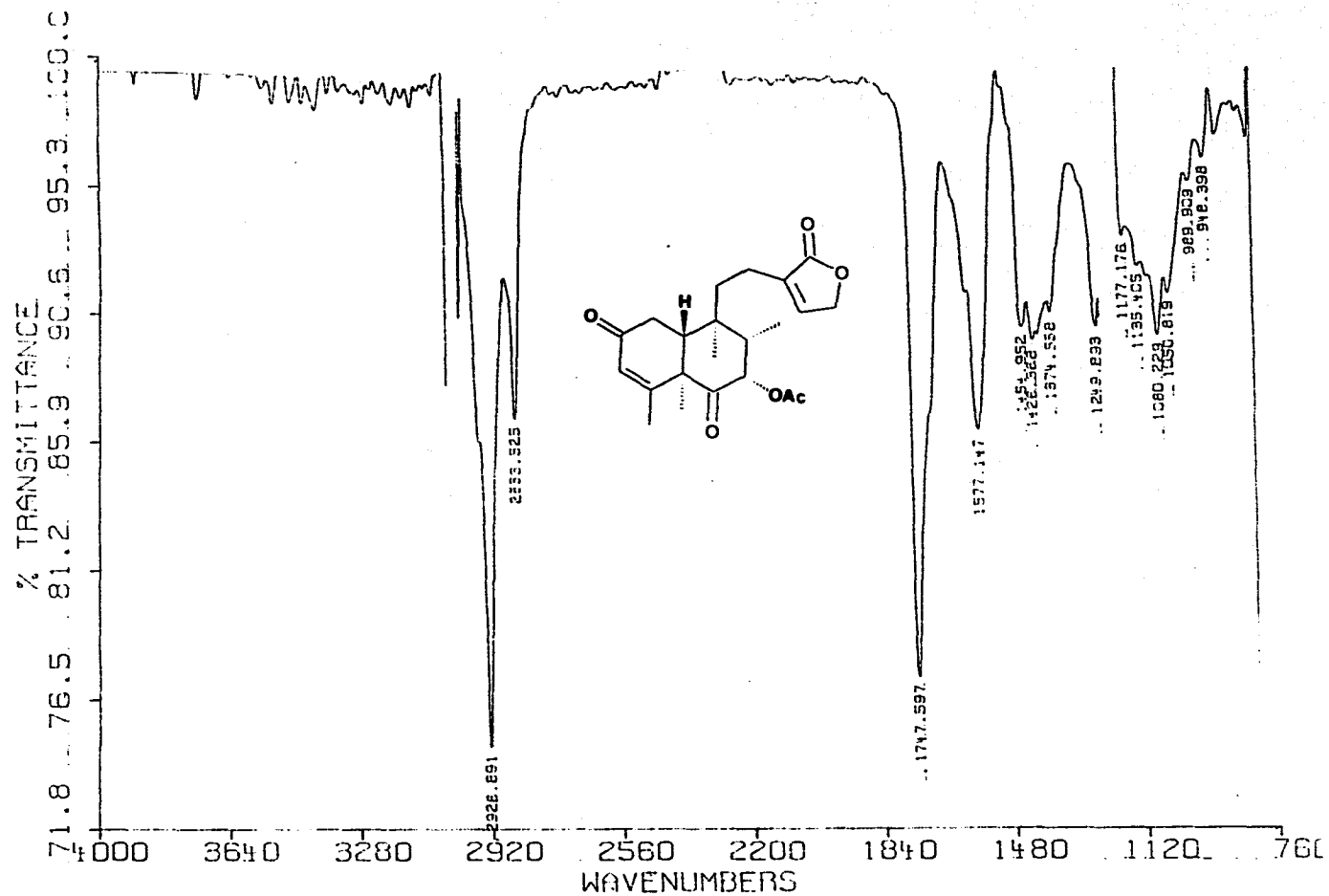
FALLA DE ORIGEN



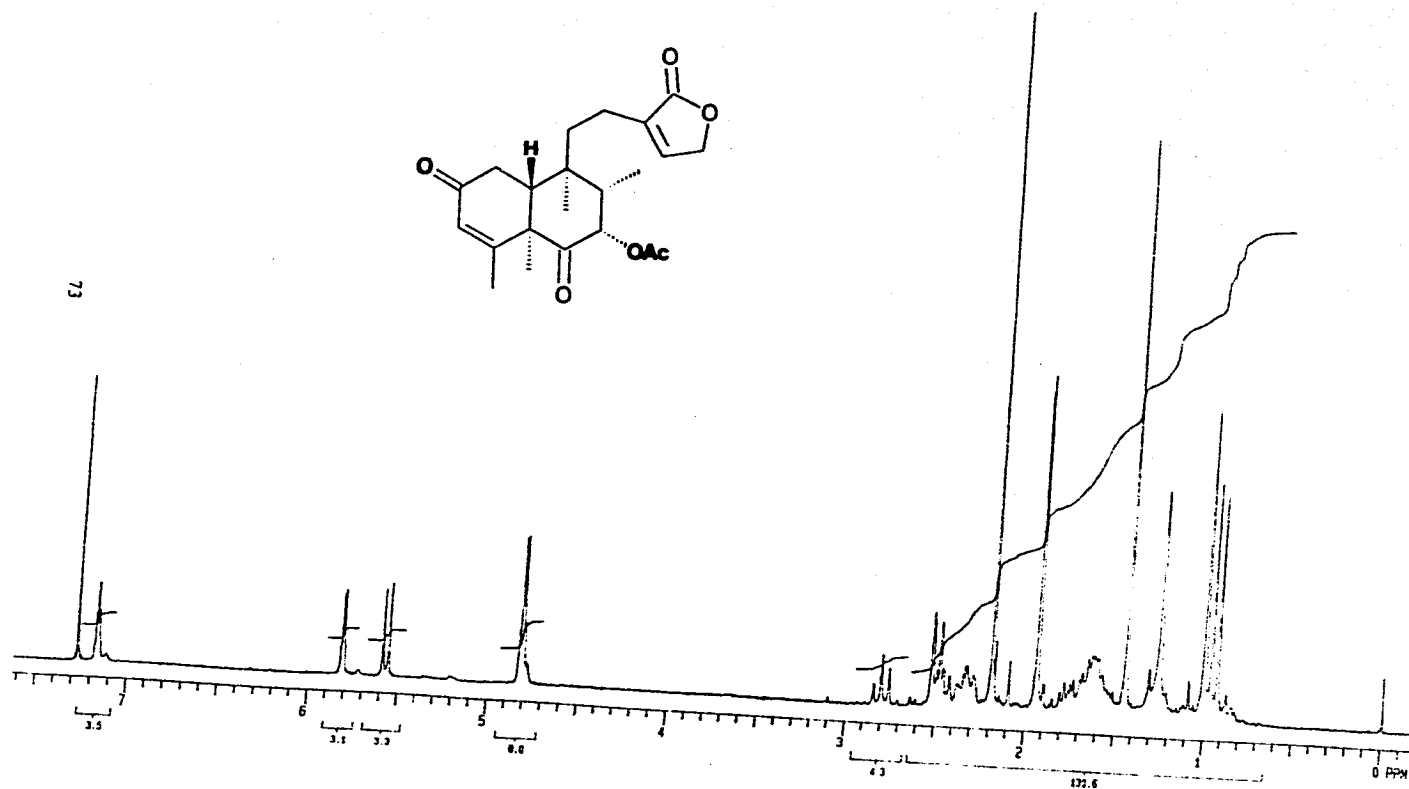
ESPECTRO No 19

FALLA DE ORIGEN

72



FALLA DE ORIGEN



ESPECTRO No 21

VII REFERENCIAS

VII REFERENCIAS

- 1.- Martinez M.A., Contribuciones Iberoamericanas al Mundo, Botánica, Medicina, Agricultura; España, Iberoamericana, 1988.
- 2.- Dominguez X.A., Métodos de Investigación Fitoquímica; México, Limusa, 1985.
- 3.- Wagner H., *Rev. Latinoamer. Quím*, **8**, 216-25 (1977).
- 4.- Kroosgard P.L., Broger S.C., Natural Products and Drugs Development; Denmark, Alfred Benzon Foundation, 1984.
- 5.- Gonzáles A.G., Luis J.G., Ravelo A.G.; Plantas Iberoamericanas, España Litografía A. Romero, 1990.
- 6.- Epling C., *Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Veih.*, **110** (1993)
- 7.- Esquivel R.B., Estudio Quimiotaxonómico de la Sección Fulgentes del Género *Salvia* (Labiatae), Tesis de Maestría, UNAM.
- 8.- Standley and Wiliams, *Fieldiana Bot.* **24**, 237, 273 (1973)
- 9.- Merritt A.T., Ley S.V., *Natural Product Reports*, 243-284, (1992).
- 10.- Rodriguez H.L., Esquivel R.B., Sanchez A.A., Sanchez C. Cárdenas J, Ramamorty T.P., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **20**, 105-110 (1989).

- 11.- Hanson J.W., Hocking M.G., *Economic Botany*, 11, 64 (1957)
- 12.- Rodriguez H.L., Martinez G., Romo J., *Rev. Latinoamer. Quím.*, 4, 93 (1973).
- 13.- García Y,A; Constituyentes Terpénicos de *Salvia kerlii* Benth (Labiatae), Tesis, UNAM 1985.
- 14.- Romo de Vivar A., Productos Naturales de la Flora Mexicana; México, Limusa, 1985.
- 15.- Nakanishi K., Goto T.; Natural Products Chemistry, 1, Japón, Academic Press, 1974
- 16.- Suckh D., Reduca M., Handbook of Terpenoids CRC, 2, EUA, Bocca Ratón, 1985.
- 17.- Marini G.B., Beettolo; Natural Products and The Protection of Plants, Elsevier Scientific, 1976.
- 18.- Coll J.C., Bouden B.F., *Journal of Natural Products*, 49 (5), 934-936 (1986)
- 19.- *Chemical Abstracts* 119, 1993, 241075.

- 20.- Dominic Y.A., Subbaivan M., *Med Sci. Res.*, **21** (8). 319-321 (1993).
- 21.- Carlvalho M.L., Seita J., *Planta Med*, **59**, 369-372 (1993).
- 22.- Budzikiewicz H., Wilson J.M., Djerassi C., *J. Am Chem Soc.*, **85**, 3688 (1963).
- 23.- Ogunkoya L., *Phytochemistry*, **20**, 121 (1981).
- 24.- Katritzky A.R., Lacowski J.M., Beard J.A., *Spectrochim Acta*, **16**, 954-964 (1960).
- 25.- Nakanishi K., *Infrared Absorption Spectroscopy*, San Francisco, Holden-Day, 1962
- 26.- Silverstein R.M., Bassler G.C. , Morrill T.C., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, NY, Wiley, 1981.
- 27.- Sanchez A.A., Esquivel R.B., Pera A., Cardenas J., Soriano G.M., Rodriguez H.L., *Phytochemistry*, **26** (2), 479-482 (1987)
- 28.- Jones R.N., Angel C.L., Ito T., Smith R.J., *Can J Chem*, **37**, 2007-2022 (1959).
- 29.- Fleming I., Williams D.H.; *Métodos espectroscópicos en Química Orgánica*, España, Urmo, 1968.

30.- Rosa de S., Minale L., Riccio R., Soadano G., *J. Chem. Soc Perkin I*, 1408-1414 (1976).

31.- Berti G., Livi O., Segnini D.; *Tetrahedron Letters*, 1401 (1970).

32.- Lopez M.X., Vanderland S.B., Ligia M.V., *Phytochemistry*, 26 (10), 2781-2784 (1987).

Niwua M., Kira N.J., *Phytochemistry*, 26 (12), 3293-3295 (1987).

Wu H., Nakamura H., *Bull Chem Soc Jpn*, 59, 24495- 2504 (1986).

33.- Eliel L.E., Baley W.F., Koop D.L. Willer R.D., *Journal of the American Chemican Society*, 97 (2) 1975.

34.- Shunich M., Chikao N., *Tetrahedron*, 42 (13), 3461-3470 (1986).