



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA**

Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Salvia involucrata* y *Salvia fulgens*. Implicaciones quimiotaxonómicas y evaluación de su actividad antiproliferativa y fitotóxica

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

Q. DIANA PÉREZ JUANCHI

Dr. BALDOMERO ESQUIVEL RODRÍGUEZ  
INSTITUTO DE QUÍMICA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., AGOSTO DE 2022



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Salvia involucrata* y *Salvia fulgens*. Implicaciones quimiotaxonómicas y evaluación de su actividad antiproliferativa y fitotóxica

**T E S I S  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA  
Q. DIANA PÉREZ JUANCHI**



**Posgrado  
Ciencias  
Químicas**

Ciudad Universitaria, CD. MX., agosto de 2022.

## ***JURADO ASIGNADO***

<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Leovigildo Quijano
<b>VOCAL</b>	Dra. María Yolanda Ríos Gómez
<b>VOCAL</b>	Dr. Francisco Hernández Luis
<b>VOCAL</b>	Dra. Martha Lydia Macías Rubalcava
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio 2-9 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección del Dr. Baldomero Esquivel Rodríguez.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, mi *Alma Máter*, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría en el Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.

Al Dr. Baldomero Esquivel Rodríguez, muchas gracias por permitirme realizar mis estudios de maestría dentro de su grupo de investigación, por la confianza brindada, su total apoyo en la realización de esta tesis y por compartir sus amplios conocimientos conmigo.

A la Dra. Celia Bustos Brito, por brindarme su apoyo durante la realización de este trabajo y por su disposición de ayudarme en lo que fuera necesario.

A los miembros del jurado: Dr. Leovigildo Quijano, Dra. María Yolanda Ríos Gómez, Dr. Francisco Hernández Luis, Dra. Martha Lydia Macías Rubalcava y Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar por sus valiosos comentarios y sugerencias en la elaboración de esta tesis.

Al M. en C. Alejandro Hernández, a la Dra. Brenda Yudith Bedolla García, al Dr. Sergio Zamudio y a Daniel Madrigal González por el apoyo en la recolección de las plantas.

Al personal técnico del Instituto de Química: a la Dra. Adriana Romo Pérez por la obtención de los espectros de UV-Vis, IR, RO y DCE. A la Dra. María del Carmen García González por la obtención de los espectros de masas por las técnicas DART e IE. A la M. en C. Elizabeth Huerta Salazar por la obtención de los espectros de RMN en el equipo Bruker Avance III 400 MHz. A la Dra. Nuria Esturau Escofet y la Dra. Beatriz Quiroz García por la obtención de los espectros de RMN de campo alto adquiridos en el Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear de la UNAM (LURMN IQ-UNAM), cuya instrumentación fue adquirida por el CONACYT (Proyecto: 0224747) y la UNAM. A la M. en C. María Teresa Ramírez Apan por la determinación de la actividad antiproliferativa. A la Dra. Celia Bustos Brito por la determinación de la actividad fitotóxica. Al Dr. Diego Martínez Otero por la determinación de la difracción de rayos X en el Laboratorio de Difracción de Rayos X del CCIQS UAEM-UNAM.

A mis padres, Magda y Rafael, por darme su apoyo y confianza incondicional desde siempre, esta tesis es para ustedes.

De igual manera agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca para poder realizar mis estudios de maestría en la UNAM (CVU 959797).

## Publicaciones

- ✓ Bustos-Brito, C.; Pérez-Juanchi, D.; Rivera-Chávez, J.; Hernández-Herrera, A. D.; Bedolla-García, B. Y.; Zamudio, S.; Ramírez-Apan, T.; Quijano, L.; Esquivel, B. **Clerodane and 5,10-Seco-Clerodane-type diterpenoids from *Salvia involucrata***. *J. Mol. Struct.* 2021, 1237.

## Simposios

- ✓ Diana Pérez Juanchi, Baldomero Esquivel Rodríguez, Celia Bustos Brito, Leovigildo Quijano, Brenda Yudith Bedolla García, Sergio Zamudio. **Contribución al estudio quimiotaxonómico de *Salvia fulgens* Cav.** Simposio Interno del Instituto de Química (9 de diciembre de 2021), Ciudad de México, México.

## Congresos

- ✓ Diana Pérez Juanchi, Baldomero Esquivel Rodríguez, Celia Bustos Brito, Leovigildo Quijano, Brenda Yudith Bedolla García, Sergio Zamudio. **Análisis estructural y biogénico de los metabolitos secundarios aislados de *Salvia involucrata***. 16ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales (19-21 de mayo de 2021), Zacatecas, Zacatecas (modalidad virtual).
- ✓ Diana Pérez Juanchi, Baldomero Esquivel Rodríguez, Celia Bustos Brito, Leovigildo Quijano, Brenda Yudith Bedolla García, Sergio Zamudio. **Composición química de *Salvia fulgens* Cav. Implicaciones quimiotaxonómicas**. 17ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales (18-20 de mayo de 2022), Monterrey, Nuevo León.

## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	I
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Familia Lamiaceae .....	1
1.1.1 Familia Lamiaceae en México.....	2
2. ANTECEDENTES .....	6
2.1 Género <i>Salvia</i> a nivel mundial y en México .....	6
2.2 Perfil químico del género <i>Salvia</i> .....	11
2.3 <i>Salvia involucrata</i> Cav.....	12
2.3.1 Diterpenoides de salvias mexicanas de la sección <i>Holwaya</i> .....	15
2.3.2 Estudios previos de <i>S. involucrata</i> .....	23
2.4 <i>Salvia fulgens</i> Cav.....	24
2.4.1 Diterpenoides de salvias mexicanas de la sección <i>Fulgentes</i> .....	27
2.4.2 Antecedentes sobre <i>S. fulgens</i> .....	32
2.5. Actividad biológica de diterpenoides aislados de salvias mexicanas.....	34
3. JUSTIFICACIÓN .....	36
4. OBJETIVOS .....	38
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	39
5.1 Procedimientos generales.....	39
5.2 Material vegetal .....	40
5.2.1 <i>Salvia involucrata</i> Cav.....	40
5.2.2 <i>Salvia fulgens</i> Cav.....	40
5.3 Extracción y aislamiento.....	41



5.3.1 Extracción y purificación de los metabolitos secundarios de <i>S. involucrata</i> Cav. ....	41
5.3.2 Extracción y purificación de los metabolitos secundarios de <i>S. fulgens</i> Cav. ....	44
5.4 Determinación de la configuración absoluta de los compuestos <b>25</b> y <b>61</b> .....	48
5.4.1 Dicroísmo circular electrónico .....	48
5.4.2 Análisis por difracción de rayos X .....	49
5.5 Determinación de la actividad biológica .....	49
5.5.1 Evaluación de la actividad antiproliferativa .....	49
5.5.2 Evaluación de la actividad fitotóxica.....	50
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	51
6.1 Compuestos aislados de <i>S. involucrata</i> Cav.....	51
6.1.1 Asignaciones completas de los espectros de RMN <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de la 1-deoxibacrispina ( <b>53</b> ) y la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A ( <b>56</b> ).....	57
6.1.2 Determinación de la configuración absoluta de la involucratina A ( <b>25</b> ). .....	64
6.1.3 Determinación estructural del diacetato de eupatorina ( <b>58</b> ).....	65
6.2 Compuestos aislados de <i>S. fulgens</i> Cav.....	74
6.2.1 Determinación de la configuración absoluta de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenoferolina B ( <b>61</b> ).....	79
6.2.2 Determinación estructural del compuesto <b>62</b> .....	82
6.2.3 Determinación estructural del compuesto <b>63</b> .....	88
6.3 Evaluación de la actividad biológica de algunos de los diterpenoides aislados de <i>S. involucrata</i> y <i>S. fulgens</i> .....	94
6.3.1 Actividad antiproliferativa .....	94
6.3.2 Actividad fitotóxica.....	96

---

7. CONCLUSIONES.....	99
8. ANEXOS .....	101

## LISTA DE ABREVIATURAS

[ $\alpha$ ]	Rotación óptica específica
°C	Grados Celsius
AcOEt	Acetato de etilo
APT	Attached Proton Test
CC	Cromatografía en Columna
CCDa	Cromatografía en Capa Delgada analítica
CCDp	Cromatografía en Capa Delgada preparativa
CD <sub>3</sub> COCD <sub>3</sub>	Acetona deuterada
CDCl <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano
CH <sub>3</sub> CN	Acetonitrilo
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
cm	Centímetros
COS-7	Células sanas de riñón de mono
COSY	CORrelation SpectroscopY: Espectroscopía de correlación <sup>1</sup> H- <sup>1</sup> H en dos dimensiones
<i>d</i>	Doble
<i>da</i>	Doble ancho
DART	Direct Analysis in Real Time: Espectrometría de masas mediante Análisis Directo en Tiempo Real
DCE	Dicroísmo Circular Electrónico

<i>dd</i>	Doble de dobles
<i>dda</i>	Doble de dobles ancho
<i>ddd</i>	Doble de doble de dobles
<i>dddd</i>	Doble de doble de doble de dobles
<i>ddt</i>	Doble de doble de triples
<i>dtd</i>	Doble de triple de dobles
EM-DART-AR	Espectrometría de Masas por DART de Alta Resolución
EM-IE	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
g	Gramos
HCT-15	Células de cáncer de colon
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation: Correlación Heteronuclear a través de Enlaces Múltiples ( $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ a larga distancia)
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography (Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence o Heteronuclear Single Quantum Correlation: Correlación Heteronuclear $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ a un enlace
Hz	Hertz
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
K562	Células de leucemia mieloide crónica
kg	Kilogramos



L	Litros
<i>m</i>	Múltiple
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
MCF-7	Células de adenocarcinoma mamario
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
MHz	Megahertz
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy: Espectroscopía de Efecto Nuclear Overhauser
PC-3	Células de cáncer de próstata
pf	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
<i>qd</i>	Cuarteto de dobles
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
<i>s</i>	Simple
<i>sa</i>	Simple ancho
SKLU-1	Células de adenocarcinoma de pulmón
<i>t</i>	Triple



<i>ta</i>	Triple ancho
<i>td</i>	Triple de dobles
<i>tdd</i>	Triple de doble de dobles
U251	Células de glioblastoma
UV	Ultravioleta
$\delta$	<i>Delta</i> : desplazamiento químico en RMN
$\mu\text{M}$	Micromolar

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Familia Lamiaceae

La familia Lamiaceae (Labiatae) es un grupo de plantas muy amplio y diversificado con 236 géneros y más de 7 000 especies conocidas. Se encuentra en el sexto lugar por su riqueza a nivel mundial y es una de las familias de mayor abundancia en México. Estas plantas tienen distribución cosmopolita y se encuentran en casi todos los ecosistemas terrestres, aunque son más abundantes en bosques de clima templado y en zonas montañosas.<sup>1</sup> En el mundo existen seis regiones de alta diversidad: Mediterráneo y suroeste de Asia Central, África, Madagascar, China, Australia, Sudamérica y Norteamérica (incluido México).<sup>2</sup>

A pesar de tener una amplia variedad en cuanto a géneros, la mayoría de las especies se concentran en ocho de ellos (Tabla 1),<sup>3</sup> aunque existen también géneros minoritarios que nos son familiares, pues poseen importancia económica en varias partes del mundo, como son *Origanum*, *Thymus*, *Mentha*, *Lavandula*, *Pogostemon*, entre otros.<sup>4</sup>

**Tabla 1.** Géneros más abundantes de la familia Lamiaceae

Género	No. de especies	Género	No. de especies
<i>Salvia</i>	1000	<i>Isodon</i>	200
<i>Hyptis</i>	350	<i>Stachys</i>	200
<i>Scutellaria</i>	360	<i>Nepeta</i>	100
<i>Coleus</i>	200	<i>Teucrium</i>	100

La familia Lamiaceae es muy diversa en cuanto a su morfología (Figura 1), además muchas de sus especies presentan glándulas epidérmicas que secretan

<sup>1</sup> Martínez-Gordillo, M.; Bedolla-García, B.; Cornejo-Tenorio, G.; Fragoso-Martínez, I.; García-Peña M. R.; González-Gallegos, J. G.; Lara-Cabrera, S. I.; Zamudio, S. Lamiaceae de México. *Botanical Sciences* **2017**, 95(4), 780-806.

<sup>2</sup> Hedge, I. C. A global survey of the biogeography of the Labiatae. In: Harley, R. M.; Reynolds, T., eds. *Advances in Labiatae Science*. Kew: Royal Botanic Gardens, **1992**, 7-17.

<sup>3</sup> Martínez-Gordillo, M.; Fragoso-Martínez, I.; García-Peña, M. R.; Montiel, O. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Rev. Mex. Biodivers.* **2013**, 84(1), 30-86.

<sup>4</sup> Cronquist, A. An integrated system of classification of flowering plant. Columbia University Press, New York. **1981**, 924-927.

compuestos volátiles aromáticos (de ahí su importancia económica a nivel mundial), por lo que son apreciadas desde el punto de vista culinario (albahaca, menta, tomillo, orégano, romero), medicinal (marrubio, menta, poleo, salvia, toronjil) y dentro de la industria de la perfumería (lavanda, pachuli).<sup>1</sup>

Desde el punto de vista químico, los géneros de esta familia han sido ampliamente estudiados en lo que se refiere al aislamiento de distintos tipos de metabolitos secundarios. Entre los géneros más estudiados se encuentran *Isodon*,<sup>5</sup> *Teucrium*,<sup>6</sup> *Salvia*,<sup>7</sup> *Scutellaria*,<sup>8</sup> *Stachys*<sup>9</sup> y *Coleus*.<sup>10</sup> Estos estudios han resultado en el aislamiento de un gran número de metabolitos secundarios, tales como esteroides, flavonoides, iridoides, monoterpenoides, sesquiterpenoides, diterpenoides, sesterterpenoides, triterpenoides, entre otros.

### 1.1.1 Familia Lamiaceae en México

En México la familia Lamiaceae presenta una riqueza considerable en la mayoría de sus tipos de vegetación; esta familia se ha adaptado muy bien a las regiones con climas templados y húmedos, aunque también existe un número significativo de especies que prosperan en zonas secas, con temperaturas relativamente altas (Figura 2). Algunos de sus linajes son endémicos del país o se han diversificado en éste, lo que subyace a la representación amplia de la familia en México, en particular, la de *Salvia* subgénero *Calosphace*.<sup>1</sup>

<sup>5</sup> Sun, H. D.; Huang, S. X.; Han, Q. B. Diterpenoids from *Isodon* species and their biological activities. *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*(5), 673-698.

<sup>6</sup> Rodríguez-Hahn, L.; Esquivel, B.; Cárdenas, J. Clerodane diterpenes in Labiatae. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1994**, *63*, 107-196.

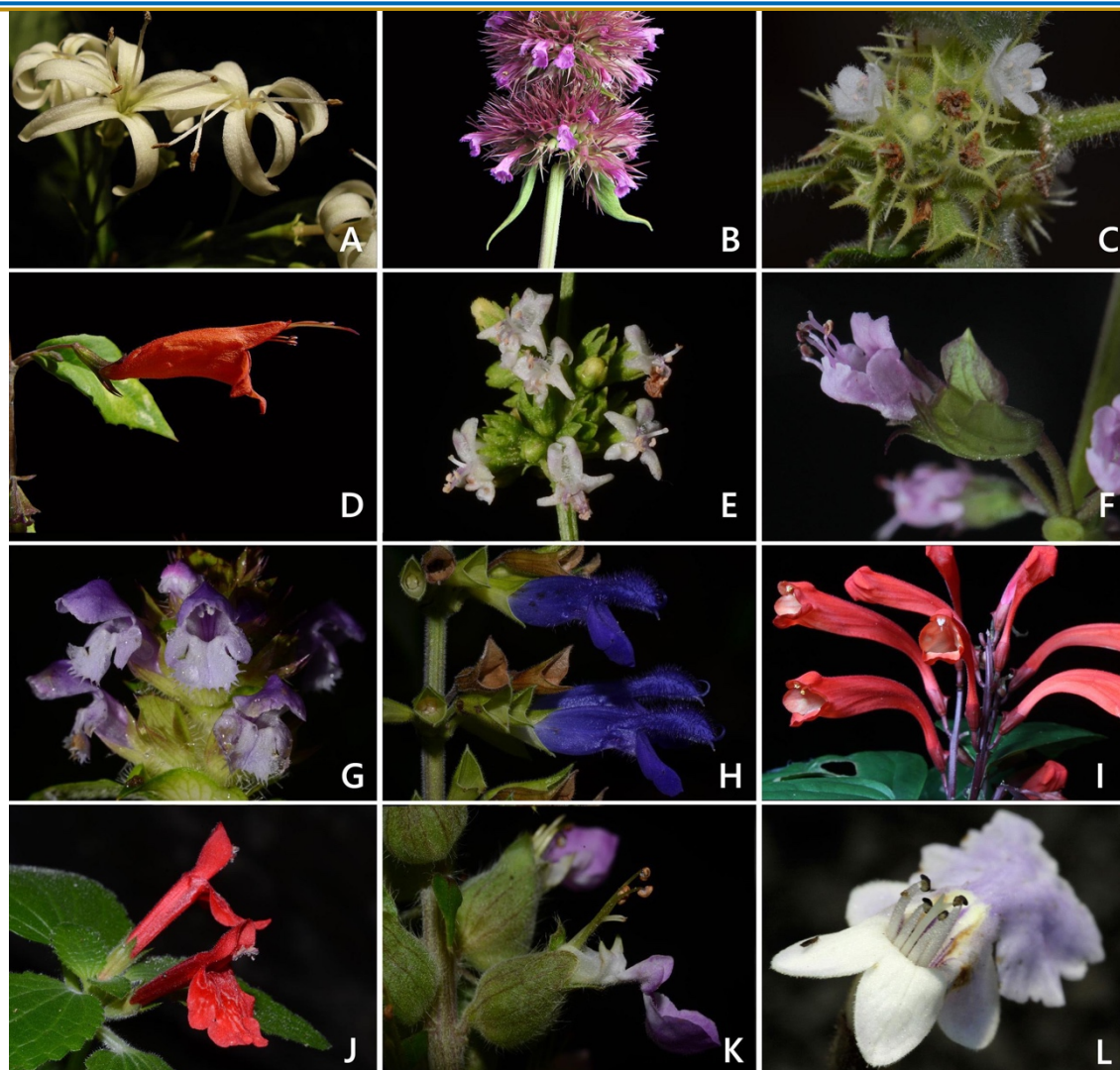
<sup>7</sup> Wu, Y. B.; Ni, Z. Y.; Shi, Q. W.; Dong, M.; Kiyota, H.; Gu, Y. C.; Cong, B. Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chem. Rev.* **2012**, *112*(11), 5967-6026.

<sup>8</sup> Shang, X.; He, X.; Li, M.; Zhang, R.; Fan, P.; Zhang, Q.; Jia, Z. The genus *Scutellaria* an ethnopharmacological and phytochemical review. *J. Ethnopharmacol.* **2010**, *128*(2), 279-313.

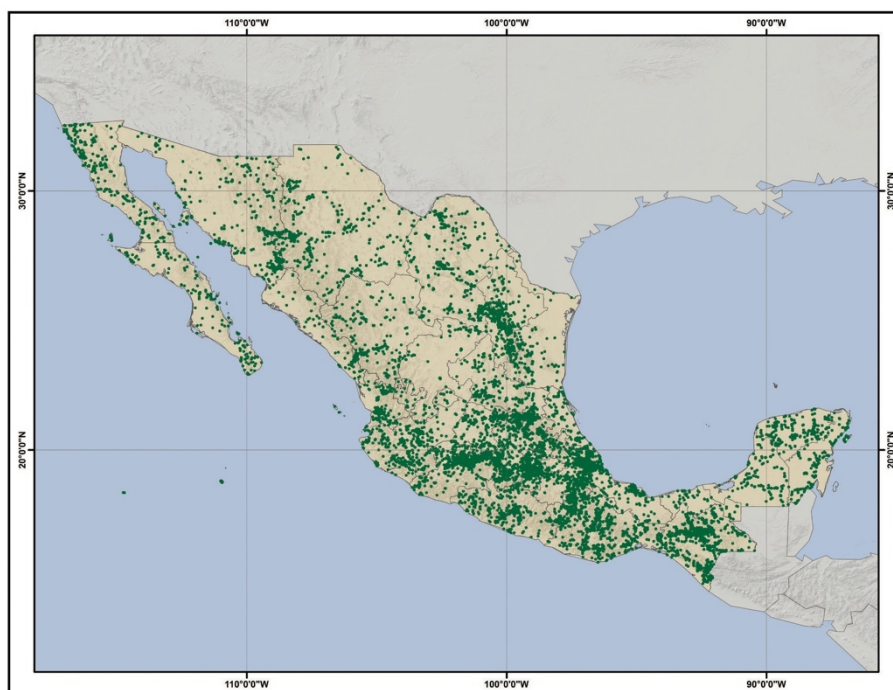
<sup>9</sup> Tundis, R.; Peruzzi, L.; Menichini, F. Phytochemical and biological studies of *Stachys* species in relation to chemotaxonomy: a review. *Phytochemistry* **2014**, *102*, 7-39.

<sup>10</sup> Saraswati; Katnoria, J. K.; Nagpal, A. K. Analytical techniques for phytochemicals screening and bioactivities of some *Coleus* species: a review. *J. of Pharm. Sci. and Res.* **2016**, *8*(4), 227-237.





**Figura 1.** Diversidad florística de algunos géneros de Lamiaceae representativos en la flora mexicana. **A)** *Aegiphila* (*A. costaricensis* Moldenke), **B)** *Agastache* (*A. palmeri* (B.L.Rob.) Standl.), **C)** *Asterohyptis* (*A. stellulata* (Benth.) Epling), **D)** *Clinopodium* (*C. macrostemum* (Moc. & Sessé ex Benth) Kuntze), **E)** *Hyptis* (*H. verticillata* Jacq.), **F)** *Ocimum* (*O. carnosum* (Spreng.) Link & Otto ex Benth.), **G)** *Prunella* (*P. vulgaris* L.), **H)** *Salvia* (*S. mexicana* L.), **I)** *Scutellaria* (*S. formosa* Leonard), **J)** *Stachys* (*S. coccinea* Ortega), **K)** *Teucrium* (*T. vesicarium* Mill.) y **L)** *Vitex* (*V. mollis* Kunth.).<sup>1</sup>



**Figura 2.** Distribución de la familia Lamiaceae en México.<sup>2</sup>

Hasta el 2017 se tiene conocimiento en la República Mexicana de 598 especies de esta familia pertenecientes a 33 géneros, tomando en cuenta tanto plantas nativas como naturalizadas. De las especies reportadas, aproximadamente el 80% se concentra en cinco géneros (Tabla 2), mientras que hay géneros que presentan una sola especie (Tabla A1).<sup>1</sup>

**Tabla 2.** Géneros más abundantes de la familia Lamiaceae en México

<b>Géneros</b>	<b>Especies (%)</b>	<b>Endémicas (%)</b>	<b>Microendémicas (%)*</b>
<i>Salvia</i>	306 (51.17)	236 (77.12)	102 (33.33)
<i>Scutellaria</i>	61 (10.20)	40 (65.57)	24 (39.34)
<i>Stachys</i>	45 (7.53)	33 (73.33)	14 (31.11)
<i>Hyptis</i>	35 (5.85)	16 (45.71)	7 (20.00)
<i>Hedeoma</i>	28 (4.68)	20 (71.43)	11 (39.29)

\*Las especies microendémicas son aquellas cuya distribución se restringe a una sola entidad del país.



El estudio de la composición química de las especies mexicanas de plantas de la familia Lamiaceae es una línea de investigación de gran importancia que se inició en forma sistemática en el Instituto de Química de la UNAM (IQ-UNAM) en 1984, fundamentalmente enfocado en el género *Salvia*. El perfil químico de estas plantas ha sido una herramienta útil para establecer una clasificación más adecuada de las mismas y ha contribuido además a la obtención de productos bioactivos. El estudio químico y biológico de las lamiáceas mexicanas es uno de los grandes proyectos de largo plazo que se vienen desarrollado en el IQ-UNAM.<sup>11</sup>

---

<sup>11</sup> Esquivel, B. Contribución al estudio sistemático del género *Salvia* (Lamiaceae) en México. Tesis de doctorado, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, **2017**.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Género *Salvia* a nivel mundial y en México

El género *Salvia* incluye alrededor de 1000 especies (Tabla 1), las cuales se encuentran distribuidas prácticamente en todo el mundo, a excepción de Australia (donde sólo hay una especie reportada) y Nueva Zelanda. Existen varios tratamientos botánicos para este género y en todos ellos el género *Salvia*, se subdivide en subgéneros y secciones. Uno de los tratamientos más antiguos es el de Bentham (1876), el cual divide al género en cuatro subgéneros: *Salvia*, *Leonia*, *Sclarea* y *Calosphace (Jungia)*, y cada uno a su vez en distintas secciones (12 secciones en total).<sup>12</sup> Sin embargo, considerando estudios taxonómicos y genómicos más recientes y la composición química de las especies analizadas se ha postulado una clasificación más adecuada del género *Salvia* (Tabla 3).<sup>13,14,15</sup>

**Tabla 3.** Subgéneros de *Salvia*

Subgénero	Distribución	Referencias
<i>Audibertia</i>	California (EUA) y Baja California (México)	Epling 1939. <sup>16</sup>
<i>Calosphace (Jungia)</i>	México, Centro y Sudamérica	Epling 1939. <sup>16</sup>
<i>Dorystaechas</i>	Suroeste de Asia	Drew, 2017. <sup>14</sup>
<i>Meriandra</i>	Etiopía e Himalaya	Drew, 2017. <sup>14</sup>
<i>Perovskia</i>	Oeste de Asia	Drew, 2017. <sup>14</sup>
<i>Rosmarinus</i>	Mediterráneo	Drew, 2017. <sup>14</sup>
<i>Zhumeria</i>	Sur de Irán	Drew, 2017. <sup>14</sup>

<sup>12</sup> Bentham, G. *Labiatae*. In: Bentham, G., Hooker, J. D., Eds.; Genera Plantarum, Reeve & Co., Londres, 1876; Vol. 2, pp. 1160-1196.

<sup>13</sup> Esquivel, B.; Sánchez, A. A., Aranda, E. Natural products of agrochemical interest from Mexican Labiatae. *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals* 2000, 371-385.

<sup>14</sup> Drew, B. T.; González-Gallegos, J. G.; Xiang, C. L.; Kriebel, R.; Drummond, C. P.; Walker, J. B.; Sytsma, K. J. *Salvia* united: The greatest good for the greatest number. *Taxon* 2017, 66(1), 133-145.

<sup>15</sup> Will, M.; Claßen-Bockhoff, R. Time to split *Salvia* s.l. (Lamiaceae) – New insights from Old World *Salvia* phylogeny. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2017, 109, 33-58.

<sup>16</sup> Epling, C. A revision of *Salvia*, subgenus *Calosphace*. *Repert. Spec. Nov. Regni Veg. Beih.* 1939.

Subgénero	Distribución	Referencias
“Clado de <i>Salvia glutinosa</i> ”	Asia y Europa	Drew, 2017. <sup>14</sup>
“Clado de <i>Salvia aegyptiaca</i> ”	Islas Canarias, Norte de África y Suroeste de Asia	Drew, 2017. <sup>14</sup>
“Clado de <i>Salvia officinalis</i> ”	Asia y Europa	Drew, 2017. <sup>14</sup>

La mayoría de las especies que se encuentran en México, Centro y Sudamérica presentan una estructura floral muy constante (Figura 3) y se considera que pertenecen al subgénero *Calosphace* (Figura 4). El tratamiento más reciente sobre las salvias del subgénero *Calosphace* es el publicado por Epling en 1939,<sup>16</sup> en el que organiza a las especies conocidas en esa época en 91 secciones, sin embargo, con el descubrimiento de nuevas especies de 1939 a la fecha, el número de secciones se ha incrementado a 103.<sup>17,18,19,20,21,22</sup>

<sup>17</sup> Epling, C. Supplementary notes on American Labiatae. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **1940**, 67, 509-534.

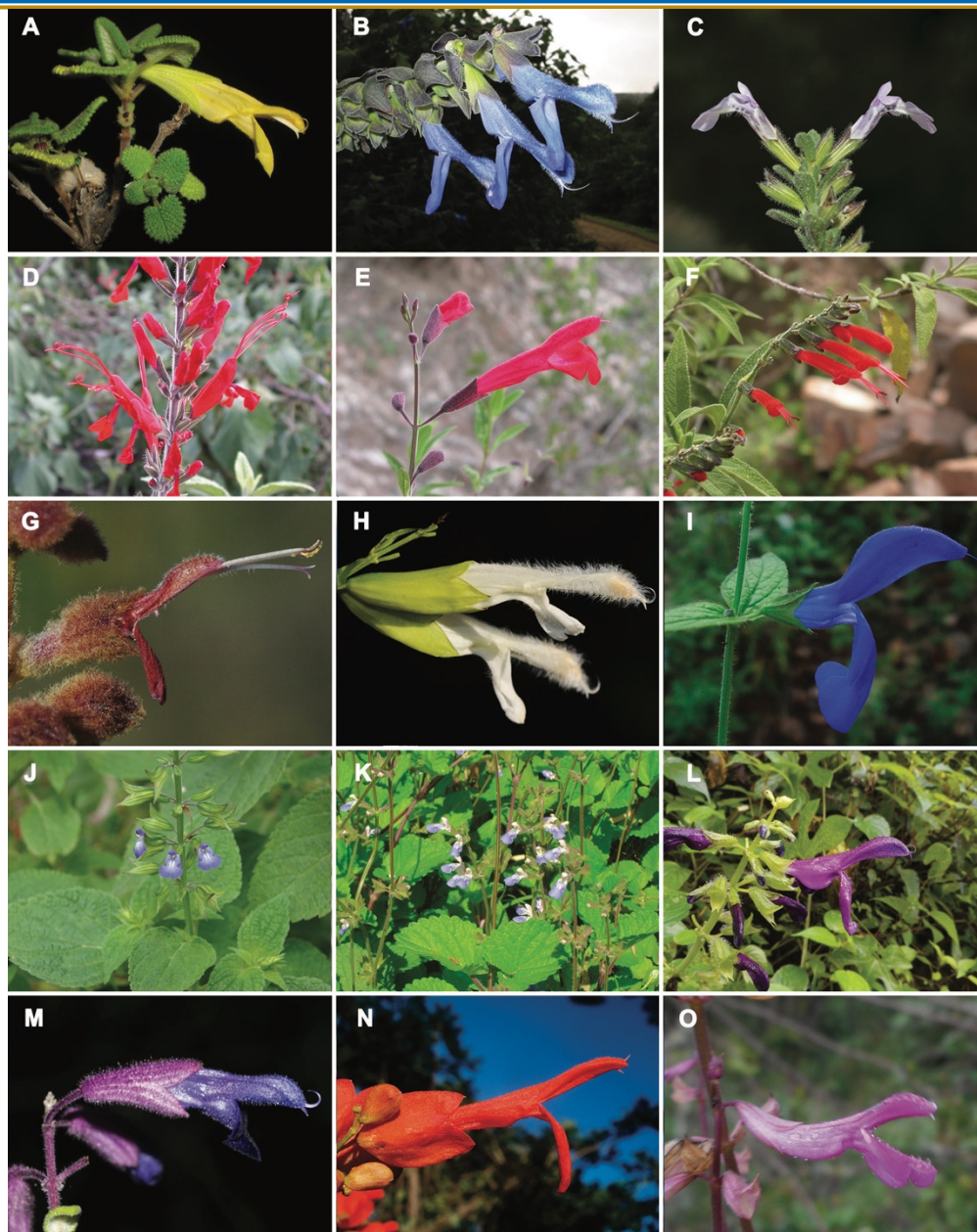
<sup>18</sup> Epling, C. Supplementary notes on American Labiatae-II. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **1941**, 68, 552-568.

<sup>19</sup> Epling, C. Supplementary notes on American Labiatae-IV. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **1947**, 74, 512-518.

<sup>20</sup> Epling, C. Supplementary notes on American Labiatae-V. *Brittonia* **1951**, 7, 129-142.

<sup>21</sup> Epling, C.; Játiva, C. Supplementary notes on American Labiatae-IX. *Brittonia* **1966**, 18, 255-265.

<sup>22</sup> Harley, R. M. S.; Atkins, A. L.; Budantsev, P. D.; Cantino, B. J.; Conn, R.; Grayer, M. M.; Harley, R.; De Kok, T.; Krestovskaja, R.; Morales, A. J.; Paton, O.; Ryding, O.; Upson, T. *Labiatae. In Labiatae. The families and genera of vascular plants. Flowering plants dicotyledons: lamiales (except Acanthaceae including Avicenniaceae)*, Kubitzki, K., Kadereit, J. W., Eds.; Springer, Berlin, **2004**; Vol. 7, pp 167-275.



**Figura 3.** Flores de especies de *Salvia* subgénero *Calosphace*. **A)** *S. aspera*, **B)** *S. atrocyanea*, **C)** *S. axillaris*, **D)** *S. exserta*, **E)** *S. graciliramulosa*, **F)** *S. haenkei*, **G)** *S. lasiantha*, **H)** *S. madrigalii*, **I)** *S. patens*, **J)** *S. personata*, **K)** *S. procurrens*, **L)** *S. recurva*, **M)** *S. semiatrata*, **N)** *S. sessei*, **O)** *S. simulans*.<sup>23</sup>

<sup>23</sup> González-Gallegos, J. G.; Bedolla-García, B. Y.; Cornejo-Tenorio, G.; Fernández-Alonso, J. L.; Frago-Martínez, I.; García-Peña, M. R.; Harley, R. M.; Klitgaard, B.; Martínez-Gordillo, M. J.; Wood, J. R. I.; Zamudio, S.; Zona, S.; Xifreda, C. C. Richness and distribution of *Salvia* subg. *Calosphace* (Lamiaceae). *Int. J. Plant Sci.* **2020**, *181*(8), 831-856.

En México se encuentran alrededor del 30% de las especies de *Salvia* que existen a nivel global y se estima que el 77% son endémicas, por lo que se puede considerar al país como uno de los centros de diversificación más activos del planeta en lo que a este género se refiere; además, del número total de especies que existen en nuestro país, cerca del 93% pertenecen al subgénero *Calosphace* (Figura 4).<sup>1, 24</sup>

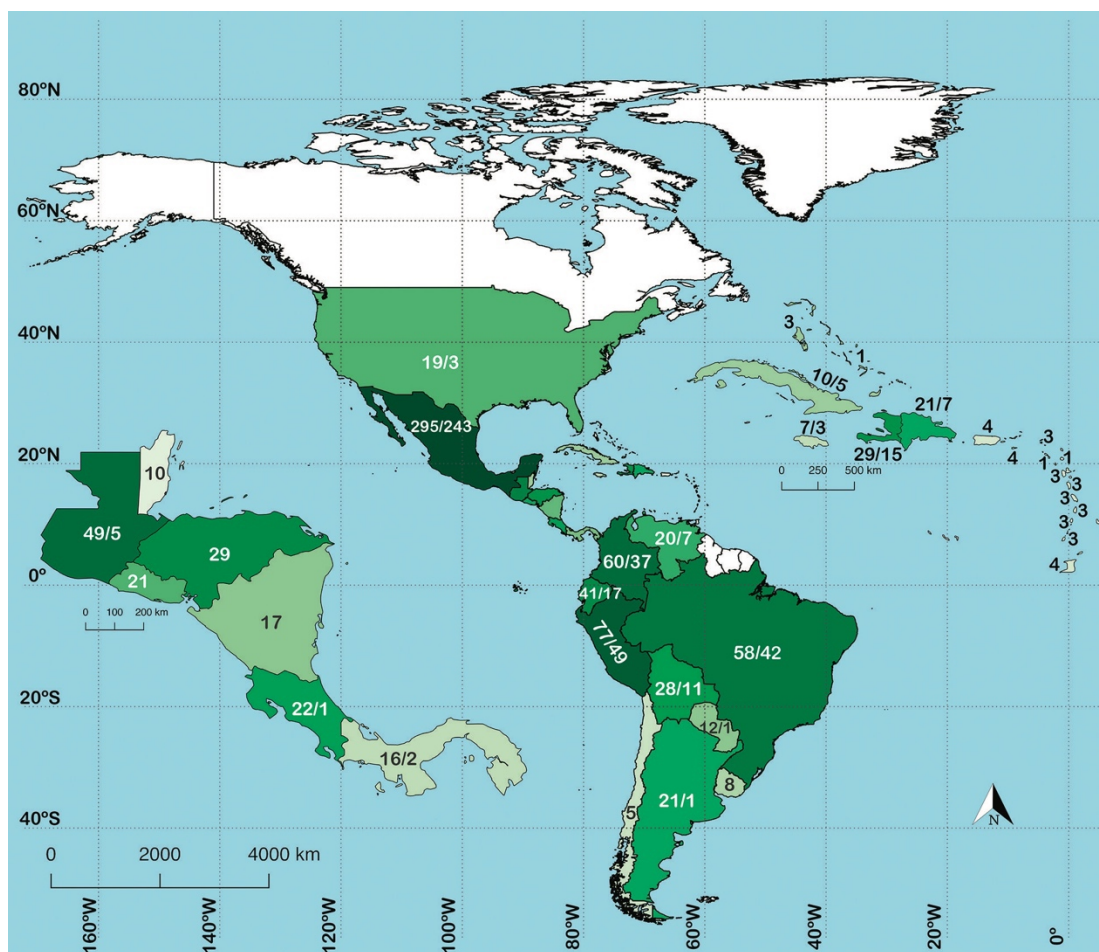
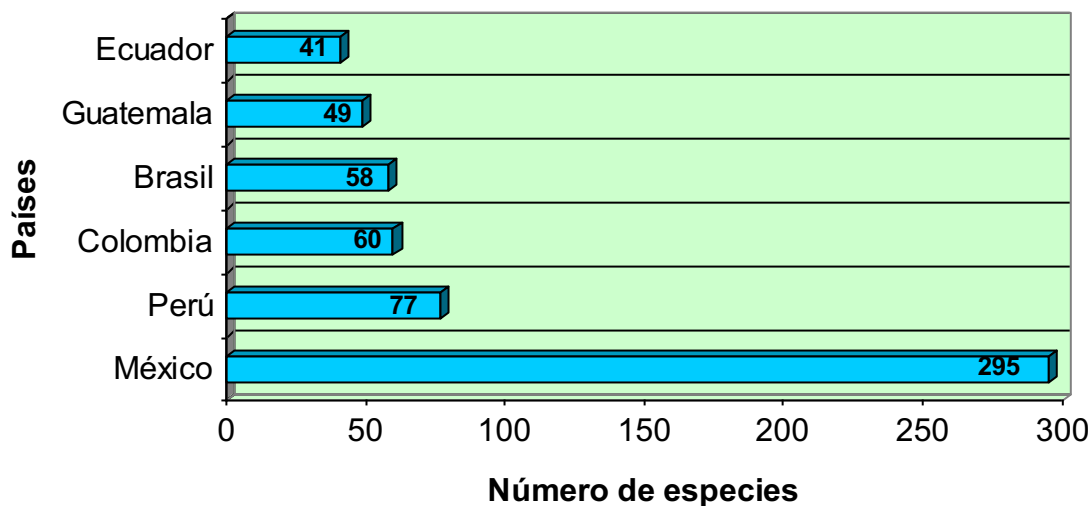


Figura 4. Riqueza de especies de *Salvia* subgénero *Calosphace* por país en el continente americano.

Como se observa en la Figura 4 y la Gráfica 1, México es el país con mayor número de especies de *Salvia* subgénero *Calosphace*, esto puede deberse tanto a la historia geológica de la región como al éxito evolutivo de estas plantas, pues han desarrollado mecanismos de defensa muy eficientes contra sus depredadores naturales (herbívoros, nemátodos, hongos, fitopatógenos e insectos), además son

capaces de inhibir el desarrollo e incluso la germinación de plantas competitivas en su hábitat.<sup>11</sup>

**Gráfica 1.** Países con mayor número de especies de *Salvia* subg. *Calosphace*



Con respecto a las secciones en las que se divide el subg. *Calosphace* (103 en total), México cuenta con 61 de ellas y el 63.5% de las especies se concentran en 12 secciones (Tabla 4). En contraste, hay 26 secciones con una sola especie y 16 secciones tienen menos de cuatro especies.<sup>1, 24</sup>

**Tabla 4.** Secciones del subg. *Calosphace* con mayor número de especies

Sección	No. de especies	No. de especies endémicas
<i>Angulatae</i>	20	17
<i>Farinaceae</i>	16	13
<i>Scorodonia</i>	15	14
<i>Holwaya</i>	15	10
<i>Sigmoideae</i>	13	13
<i>Lavanduloideae</i>	13	12
<i>Polystachyae</i>	13	12
<i>Membranaceae</i>	13	10
<i>Flocculosae</i>	12	10



Sección	No. de especies	No. de especies endémicas
<i>Tomentellae</i>	10	8
<i>Dusenostachys</i>	7	6
<i>Fulgentes</i>	7	6

## 2.2 Perfil químico del género *Salvia*

El estudio sistemático de especies del género *Salvia* a nivel mundial ha permitido establecer un perfil químico muy notable. De estas plantas es común aislar compuestos esteroidales como el  $\beta$ -sitosterol y el estigmasterol. También se suelen encontrar flavonoides en las hojas de las plantas, así como triterpenoides con esqueleto de tipo ursano, oleanano, lupano y dammarano (Esquema 1). En algunas especies de *Salvia* del Medio Oriente se han logrado aislar sesterterpenoides, como en *S. hypoleuca*<sup>24</sup> y *S. sahendica*,<sup>25</sup> ambas especies endémicas de Irán. Sin embargo, los compuestos más diversificados y característicos de estas plantas son los metabolitos secundarios de tipo diterpénico, los cuales se han propuesto como marcadores taxonómicos tanto a nivel de subgénero como de secciones botánicas. Dentro de este grupo de compuestos se han aislado principalmente derivados del labdano,<sup>26</sup> clerodano,<sup>27</sup> abietano<sup>28</sup> y pimarano,<sup>29</sup> aunque también se han logrado identificar algunos derivados del kaurano y el totarano (Esquema 2).<sup>30</sup>

<sup>24</sup> Rustaiyan, A.; Niknejad, A.; Nazarians, L.; Jakupovic, J.; Bohlmann, F. Naturally occurring terpene derivatives. Part 403. Sesterterpenes from *Salvia hypoleuca*. *Phytochemistry* **1982**, *21*(7), 1812-1813.

<sup>25</sup> Moghaddam, F. M.; Zaynizadeh, B.; Rueedi, P. Salvileucolide methyl ester, a sesterterpene from *Salvia sahendica*. *Phytochemistry* **1995**, *39*(3), 715-716.

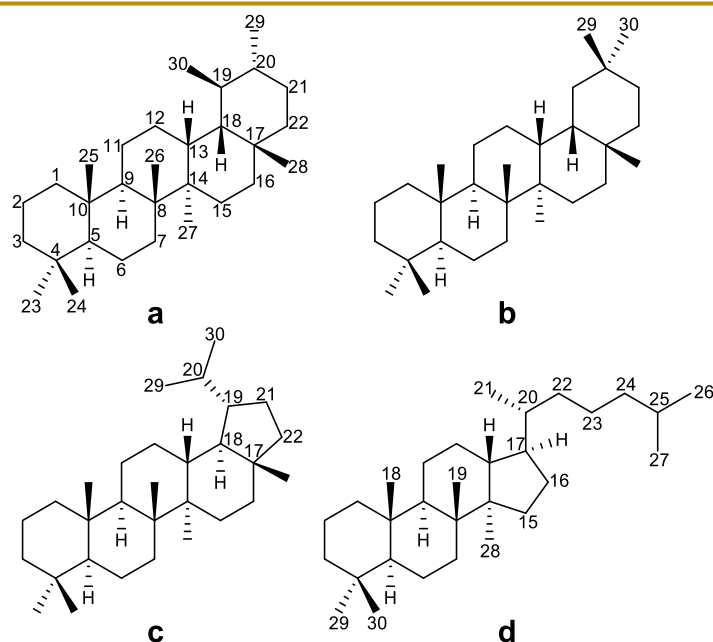
<sup>26</sup> Farimani, M. M.; Taleghani, A.; Aliabadi, A.; Aliahmadi, A.; Esmaeili, M. A.; Namazi-Sarvestani, N.; Khavasi, H. R.; Smiesko, M.; Hamburger, M.; Nejad-Ebrahimi, S. Labdane Diterpenoids from *Salvia leriifolia*: Absolute Configuration, antimicrobial and cytotoxic activities. *Planta Med.* **2016**, *82*(14), 1279-1285.

<sup>27</sup> Rodríguez-Hahn, L.; Esquivel, B.; Cárdenas, J. Neo-clerodane diterpenoids from American *Salvia* species. *Recent Adv. in Phytochemistry* **1995**, *29*, 311-332.

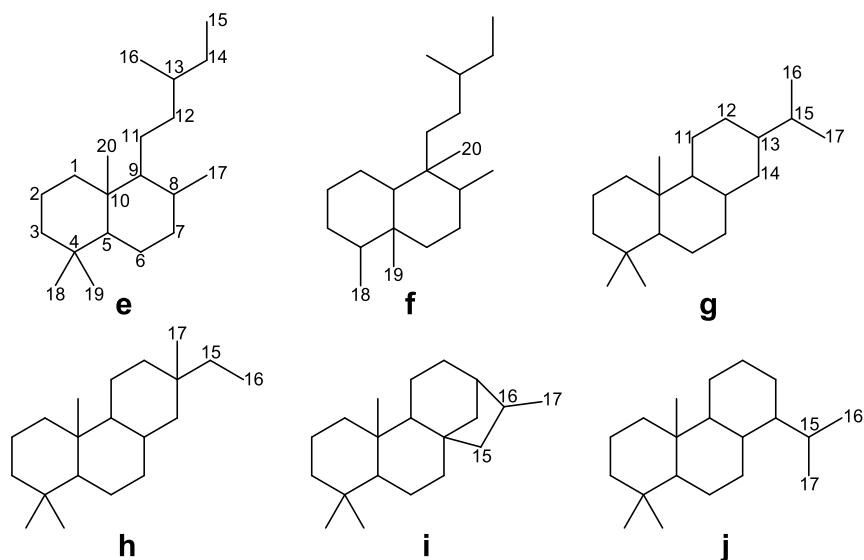
<sup>28</sup> Esquivel, B.; Sánchez, A. A.; Vergara, F.; Matus, W.; Hernández-Ortega, S.; Ramírez-Apan, M. T. Abietane diterpenoids from the roots of some Mexican *Salvia* species (Labiatae): Chemical diversity, phylogeographical significance, and cytotoxic activity. *Chem. Biodivers.* **2005**, *2*(6), 738-747.

<sup>29</sup> Touche, E. M. G.; López, E.; Reyes, A. P.; Sánchez, H.; Honecker, F.; Achenbach, H. Parryin, a diterpene with a tricyclic 6-7-5-ring system from *Salvia parryi*. *Phytochemistry* **1997**, *45*(2), 387-390.

<sup>30</sup> Wu, Y. B.; Ni, Z. Y.; Shi, Q. W.; Dong, M.; Kiyota, H.; Gu, Y. C.; Cong, B. Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chem. Rev.* **2012**, *112*(11), 5967-6026.



**Esquema 1.** Esqueletos de triterpenoides comúnmente aislados de salvia y su numeración. **a)** Ursano, **b)** oleanano, **c)** lupano, **d)** dammarano.



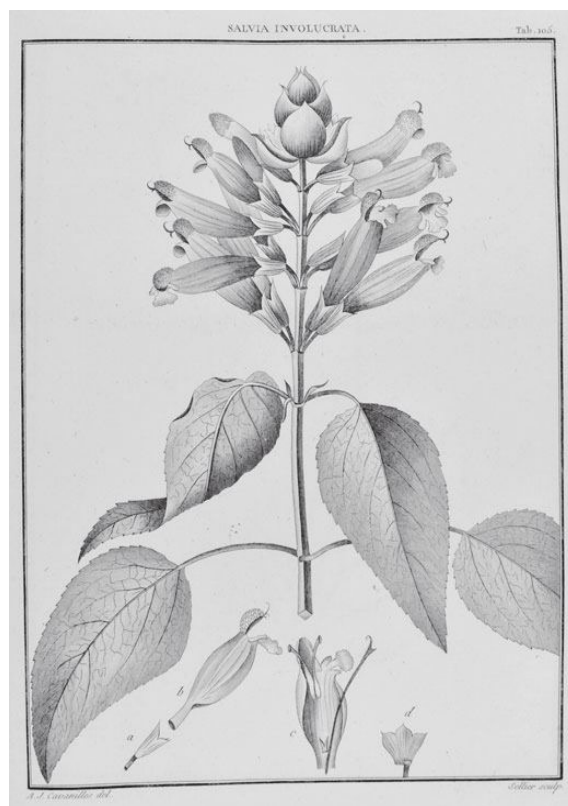
**Esquema 2.** Esqueletos de diterpenoides comúnmente aislados de salvia y su numeración. **e)** Labdano, **f)** clerodano, **g)** abietano, **h)** pimarano, **i)** kaurano, **j)** totarano.

### 2.3 *Salvia involucrata* Cav.

*Salvia involucrata* es una especie endémica de México que fue descrita en 1793 por el botánico español Antonio José Cavanilles (Figura 5).<sup>31</sup> Años más tarde, Merritt

<sup>31</sup> Cavanilles, A. J. *Icones et descriptiones plantarum*. Ex Regia Typographia. 1793, Madrid, vol. 2.

Lyndon Fernald describió una especie morfológicamente similar a *S. involucrata*, la cual nombró como *Salvia puberula*,<sup>32</sup> sin embargo, siempre ha existido la incertidumbre de si en realidad se tratan de especies diferentes o es una misma. Sobre esto último, en 1939 Epling reconoció a *S. involucrata* y a *S. puberula* como especies válidas,<sup>16</sup> aunque, derivado del parecido morfológico entre ambas especies, distintos autores han concluido y tratado a *S. puberula* como un sinónimo de *S. involucrata*.<sup>33,34</sup>



**Figura 5.** Dibujo de *S. involucrata* por Cavanilles.

En la revisión que hizo Epling en 1939 sobre el subg. *Calosphace*,<sup>16</sup> incluyó a *S. involucrata* en la sección *Cardinales*, nombrada así por la *S. cardinalis*, que en 1984

<sup>32</sup> Fernald, M. L. A synopsis of the Mexican and Central American species of *Salvia*. *Proc. Amer. Acad. Arts.* **1900**, 35, 489-556.

<sup>33</sup> Wood, J. R. I.; Pink, L. 782. *SALVIA INVOLUCRATA*, Lamiaceae. *Curti's Bot. Mag.* **2014**, 31(2), 106-118. Jenks, A. A. Systematics and Ethnobotany of *Salvia* Subgenus *Calosphace* and Origins of the Hallucinogenic Sage, *Salvia divinorum*. Tesis de doctorado. University of California Riverside, marzo 2009.

<sup>34</sup> Bedolla-García, B. Y.; Zamudio, S. Nueva especie de *Salvia* (Lamiaceae) del centro de México. *Phytoneuron* **2017**, 66, 1-12.

Ramamoorthy la consideró como un sinónimo de *S. fulgens*, por lo que erigió la nueva sección *Holwaya* para albergar las especies de esta sección, incluida *S. involucrata*.<sup>35</sup>



**Figura 6.** Espécimen de *S. involucrata* Cav. Fotografía por José Arturo de Nova Vázquez.<sup>36</sup>

Con respecto a su distribución, *S. involucrata* se suele encontrar en la porción centro-sur de la Sierra Madre Oriental en los estados de Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Puebla y Veracruz (Figura 7). Crece en bosques de encino, pino y encino, mesófilo de montaña y en la vegetación secundaria derivada de éstos; se encuentra a una altitud de 1100 a 2600 m s. n. m.; florece y fructifica de julio a enero.<sup>35</sup>

<sup>35</sup> Ramamoorthy, T. P. Typifications in *Salvia* (Lamiaceae). *Taxon* **1984**, 33(2), 322-324.

<sup>36</sup> Nova-Vázquez, J. A. Naturalista: Rosa Mexicana (*Salvia involucrata*). [naturalista.mx/observations/7531808](https://naturalista.mx/observations/7531808) (consultada marzo 10, 2022).

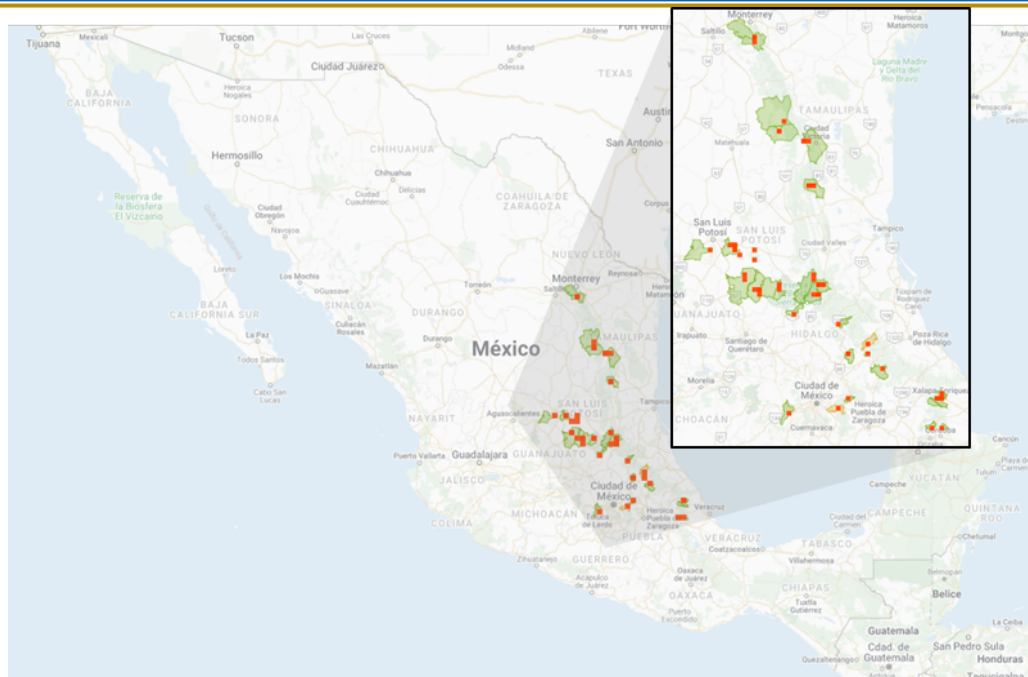


Figura 7. Distribución de *S. involucrata* en México.<sup>37</sup>

### 2.3.1 Diterpenoides de salvias mexicanas de la sección *Holwaya*

A nivel mundial, la sección *Holwaya* cuenta con 17 especies, de las cuales 15 existen en México (Tabla 5). De estas especies se han realizado estudios fitoquímicos en siete de ellas, incluida *S. involucrata*.

Tabla 5. Especies mexicanas de la sección *Holwaya*

Especie	Autor
<i>Salvia adenophora</i> *	Fernald
<i>Salvia darcy</i> *	J. Compton
<i>Salvia disjuncta</i>	Fernald
<i>Salvia dugesiana</i>	Epling
<i>Salvia gesneriiflora</i> *	Lindl. & Paxton
<i>Salvia guevarae</i> *	Bedolla & Zamudio
<i>Salvia holwayi</i>	Blake
<i>Salvia involucrata</i> *	Cav.

<sup>37</sup> Naturalista: Rosa Mexicana (*Salvia involucrata*). [naturalista.mx/taza/286972-Salvia-involucrata](http://naturalista.mx/taza/286972-Salvia-involucrata) (consultada marzo 10, 2022).

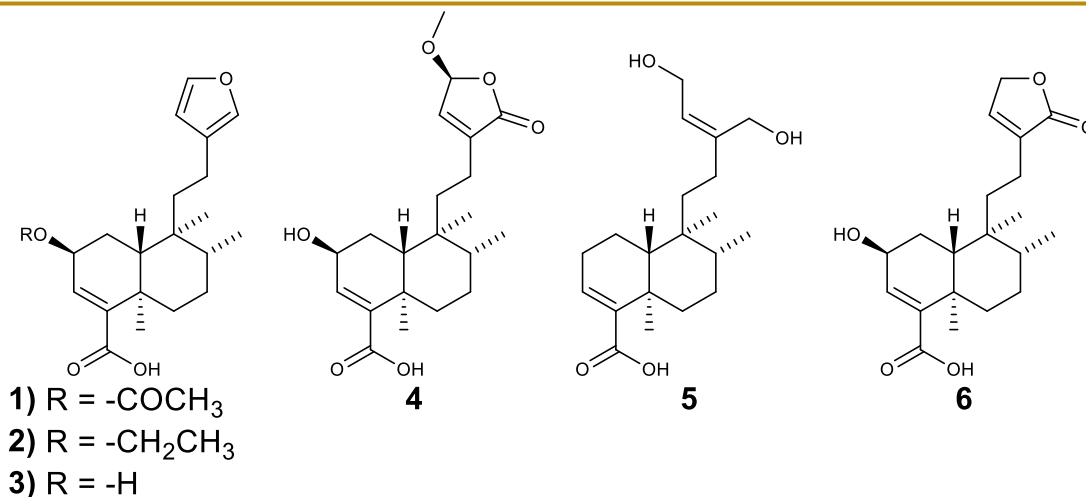
Especie	Autor
<i>Salvia karwinskii</i> *	Benth.
<i>Salvia stolonifera</i>	Benth.
<i>Salvia tilantongensis</i>	J.G. González & Aguilar-Santelises
<i>Salvia univerticillata</i>	Ramamoorthy ex Klitgaard
<i>Salvia vazquezii</i>	Iltis & Ramamoorthy
<i>Salvia wagneriana</i> *	Pol.
<i>Salvia whitefoordiae</i>	Klitgaard

\*Especies que cuentan con estudios fitoquímicos

Como se mencionó previamente, los metabolitos secundarios más diversificados y característicos de este género son los diterpenoides, y en las salvias de esta sección se han aislado principalmente clerodanos y derivados de estos, aunque también se tienen reportes de algunos abietanos.

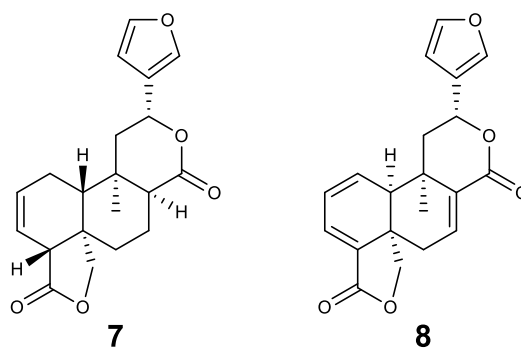
De *S. adenophora* se aislaron e identificaron seis derivados del ácido hardwickiico (Esquema 3),<sup>38</sup> estos diterpenoides corresponden a *neo*-clerodanos; en el caso de los compuestos **1-3** tienen un anillo de furano en las posiciones 13-16, mientras que **4** y **6** tienen una  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada en esas mismas posiciones.

<sup>38</sup> Bisio, A.; Schito, A. M.; Ebrahimi, S. N.; Hamburger, M.; Mele, G.; Piatti, G.; Romussi, G.; Dal Piaz, F.; De Tommasi, N. Antibacterial compounds from *Salvia adenophora* Fernald (Lamiaceae). *Phytochemistry* **2015**, *110*, 120-132.



**Esquema 3.** Diterpenoides aislados de *S. adenophora*. **1)** Ácido 2 $\beta$ -acetoxihardwickiico, **2)** ácido 2 $\beta$ -etoxihardwickiico, **3)** ácido 2 $\beta$ -hidroxihardwickiico, **4)** ácido 2 $\beta$ -hidroxi-15 $\beta$ -metoxi-16-oxo-15,16-dihidro-hardwickiico, **5)** ácido 15,16-dihidroxi-15,16-dihidro-hardwickiico, **6)** ácido 2 $\beta$ -hidroxi-16-oxo-15,16-dihidro-hardwickiico.

Con respecto a *S. gesneriiflora*, en 1979 se reportó el primer estudio fitoquímico de esta especie, colectada en el Cerro del Ajusco, en el que se describieron las gesnerofolinas A y B (Esquema 4),<sup>39</sup> sin embargo, tiempo después se corrigió la estructura de la gesnerofolina A por la salviarina (**7**).<sup>40</sup>



**Esquema 4.** Salviarina (**7**) y gesnerifolina B (**8**), diterpenoides aislados de *S. gesneriiflora* en 1979.

En 2001 se llevó a cabo otro estudio fitoquímico sobre una población de *S. gesneriiflora* colectada en las cercanías de la Ciudad de México. En este trabajo se

<sup>39</sup> Jiménez, M.; Moreno, E. D.; Díaz, E. Diterpenos de la *Salvia gesneraefolia* I. Estructuras de las gesnerofolinas A y B. *Rev. Latinoamer. Quim.* **1979**, *10*, 166-171.

<sup>40</sup> Esquivel, B.; Cárdenas, J.; Ramamoorthy, T. P.; Rodríguez-Hahn, L. Clerodane diterpenoids of *Salvia lineata*. *Phytochemistry* **1986**, *25*(10), 2381-2384.

reportó el aislamiento de salviarina (**7**), gesnerofolina B (**8**) y un nuevo compuesto muy relacionado a la gesnerofolina B, el cual se nombró 7 $\alpha$ -aceoxi-7,8 $\alpha$ -dihidrogenesnerofolina B (**9**).<sup>41</sup> Años más tarde se realizó el estudio fitoquímico de una población de *S. gesneriiflora* colectada en el kilómetro 64 de la carretera México-Cuernavaca,<sup>42</sup> y condujo al aislamiento de dos salvixalapanos (Esquema 5), los cuales son diterpenoides que provienen de la ruptura del enlace que une C5-C6 en un salvigenano, el cual a su vez es un diterpenoide transpuesto del clerodano (Esquema 6). Los estudios más recientes de *S. gesneriiflora* resultaron en el aislamiento de salvifaricina (**10**) y salvigenólida (**11**),<sup>43,44</sup> en estos trabajos se contaron con poblaciones de esta planta provenientes de Pátzcuaro, Michoacán y Los Azufres, Michoacán.

---

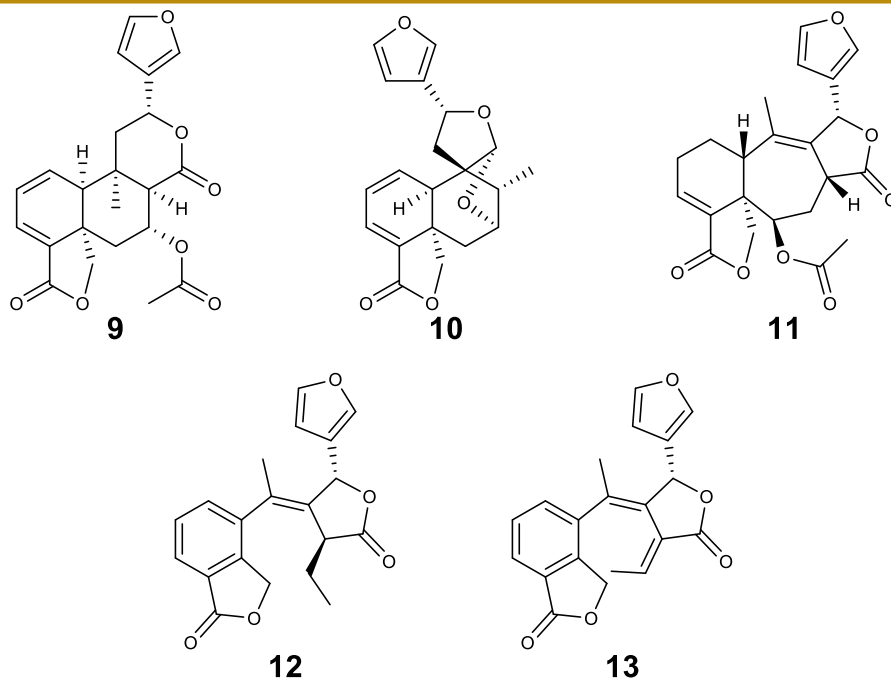
<sup>41</sup> Esquivel, B.; Flores, E. A. A new *neo*-clerodane diterpenoid from *Salvia gesneraeiflora* (Labiatae). *Heterocycles* **2001**, *55*(3), 505-509.

<sup>42</sup> Rial, C.; Varela, R. M.; Molinillo, J. M. G.; Bautista, E.; Ortega Hernández, A.; Macías, F. A. Phytotoxicity evaluation of sesquiterpene lactones and diterpenes from species of the *Decachaeta*, *Salvia* and *Podachaenium* genera. *Phytochem. Lett.* **2016**, *18*, 68-76.

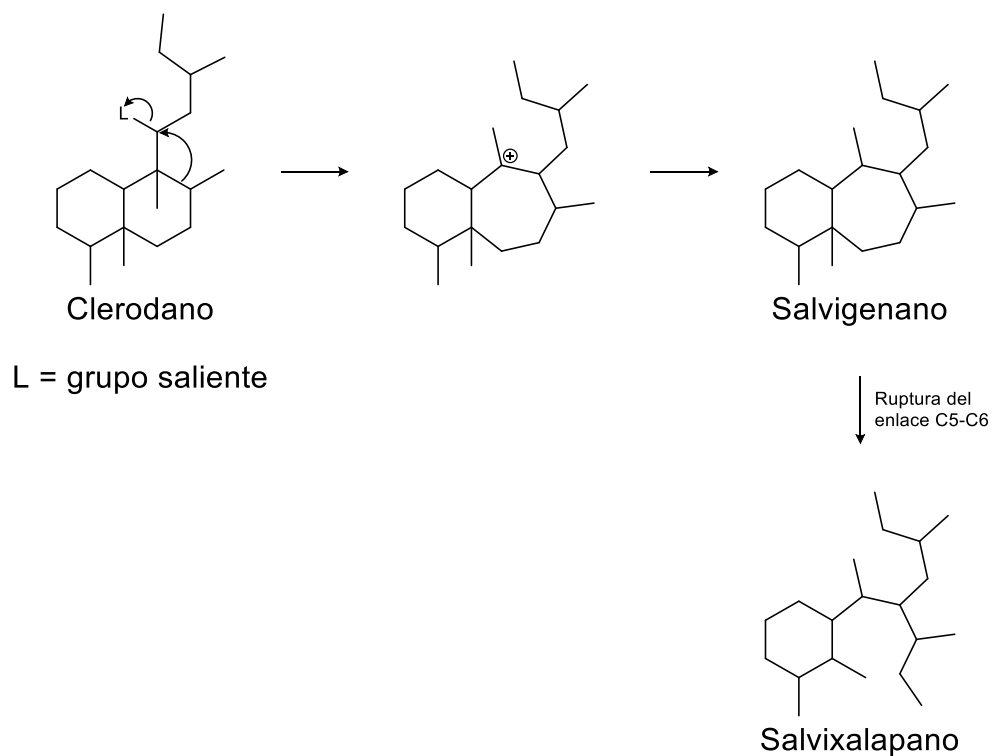
<sup>43</sup> Guerrero-Ramírez, D. Aislamiento y elucidación estructural de los componentes terpénicos presentes en *Salvia ballotiflora* y *Salvia gesneriiflora*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, **2021**.

<sup>44</sup> Torres-Medicis, J. P. Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios de *Salvia gesneriiflora* y *S. guevarae*. Implicaciones quimiotaxonómicas. Tesis de maestría, Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, **2021**.



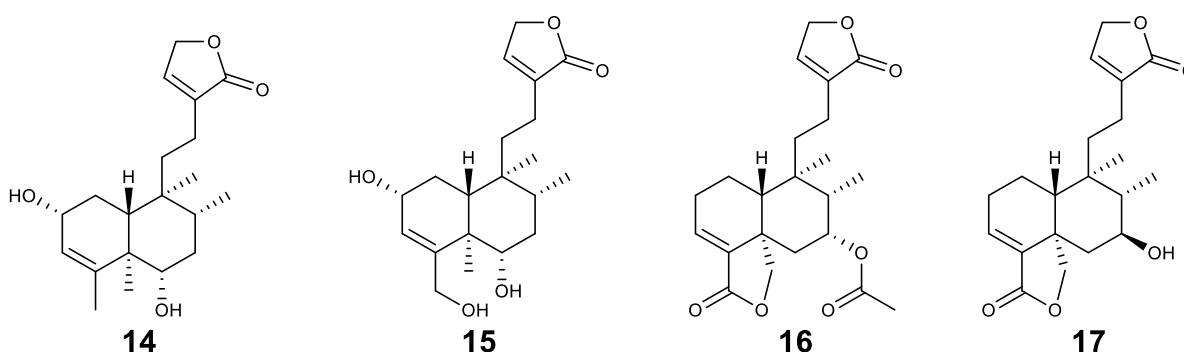


**Esquema 5.** Compuestos aislados de *S. gesneriiflora*. **9)** 7 $\alpha$ -Acetoxy-7,8 $\alpha$ -dihydrogesnerofolina B, **10)** salvifaricina, **11)** salvigenólida, **12)** salvifulgenólida, **13)** isosalvixalapadieno.



**Esquema 6.** Propuesta biogénica para la formación de los esqueletos de salvigenano y salvixalapano.

*S. guevarae* es una especie de reciente descripción. Debido al parecido morfológico con *S. involucrata*, varios especímenes de *S. guevarae* permanecieron por más de 25 años erróneamente identificados, hasta que en 2017 Bedolla-García & Zamudio hicieron una descripción de esta especie.<sup>35</sup> Tiempo después se realizó un estudio fitoquímico en el que se aislaron cuatro *neo*-clerodanos (Esquema 7),<sup>45</sup> la guevaraína (**14**) y el 2 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-patagonol (**15**) que resultaron ser compuestos nuevos, mientras que **16** y **17** ya habían sido descritos en un trabajo sobre *S. melissodora*.<sup>45</sup>



**Esquema 7.** *neo*-Clerodanos aislados de *S. guevarae*. **14**) Guevaraína, **15**) 2 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -dihidroxi-patagonol, **16**) 7 $\alpha$ -acetoxi-*neo*-clerodan-3,13-dien-18,19:16,15-diólida, **17**) 7 $\beta$ -hidroxi-*neo*-clerodan-3,13-dien-18,19:16,15-diólida.

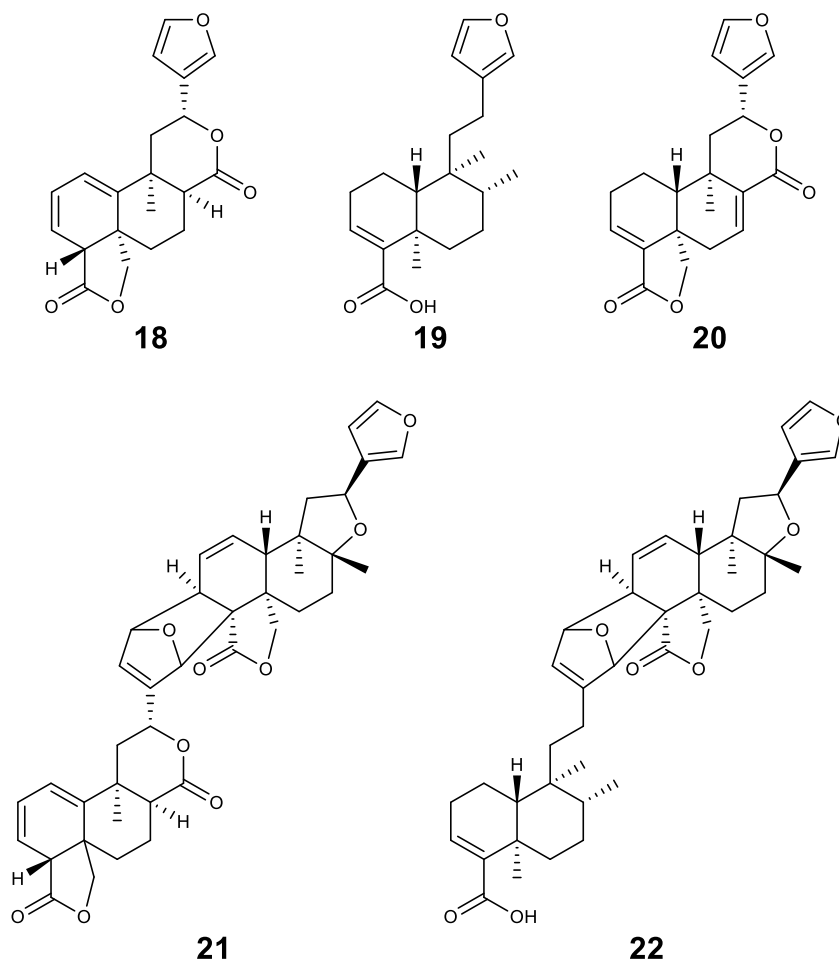
De *S. karwinskii* se aisló un derivado de la salviarina, que se identificó como 1(10)-dehidrosalviarina (**18**).<sup>46</sup> Este mismo *neo*-clerodano se aisló en un trabajo sobre *S. wagneriana*, donde también se aislaron el ácido hardwickiico (**19**) y tres compuestos nuevos.<sup>47</sup> El compuesto **20** es muy parecido a la gesnerofolina B (**8**), únicamente difiere en la configuración del carbono 10 y no tiene el doble enlace entre C1-C2. Con respecto a los compuestos **21** y **22**, fue la primera vez que se reportaron diterpenoides de tipo bis-clerodano, estos compuestos pueden derivarse de una cicloadición tipo Diels-Alder entre el anillo de furano de la 1(10)-dehidrosalviarina

<sup>45</sup> Esquivel, B.; Hernández, L. M.; Cárdenas, J.; Ramamoorthy, T. P.; Rodríguez-Hahn, L. Further ent-clerodane diterpenoids from *Salvia melissodora*. *Phytochemistry* **1989**, *28*(2), 561-566.

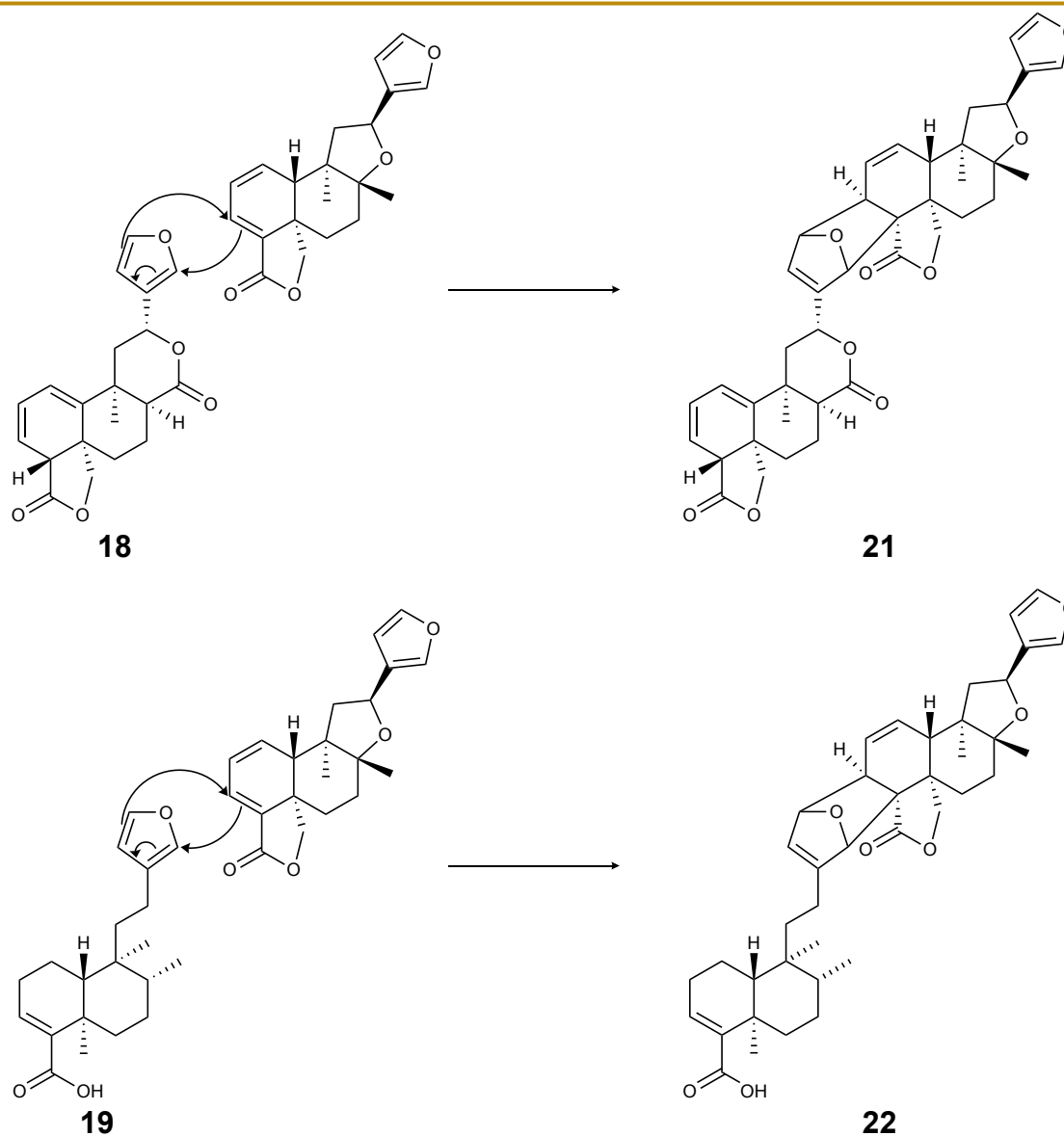
<sup>46</sup> Esquivel, B.; Calderón, J. S.; Sánchez, A. A.; Zárate, M.; Sánchez, L. *neo*-Clerodane and languidulane diterpenoids from *Salvia sousae* and *S. karwinskii*. *Phytochemistry* **1997**, *45*(4), 781-783.

<sup>47</sup> Bisio, A.; De Tommasi, N.; Romussi, G. Diterpenoids from *Salvia wagneriana*. *Planta Med.* **2004**, *70*(5), 452-457.

(18) y un segundo diterpenoide para generar 21 y del ácido hardwickiico (19) y el segundo diterpenoide para generar 22 (Esquema 9), en esta propuesta biogénica los diterpenoides 18 y 19 fungen como dienos, mientras que el segundo diterpenoide lo hace como dienófilo.



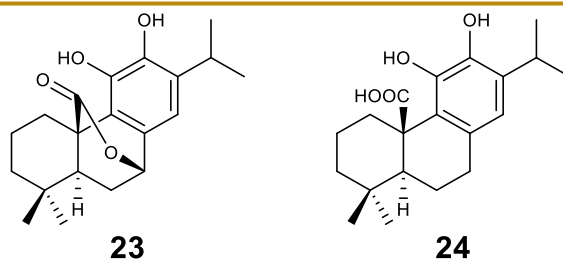
**Esquema 8.** Diterpenoides aislados de *S. karwinskii* (18) y *S. wagneriana* (18-22). 18) 1(10)-Dehidrosalviarina, 19) ácido hardwickiico, 20) 10-*epi*-1,2-dihidrogenesnerofolina B, 21, 22.



**Esquema 9.** Propuesta biogénica para la formación de los compuestos **21** y **22**.

Los diterpenoides **1-22** fueron principalmente de tipo *neo-clerodano* y se aislaron de extractos de salvas de mediana polaridad ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y/o  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ), sin embargo en un estudio sobre *S. darcyi* se trabajó con un extracto de mayor polaridad (MeOH) y se obtuvieron dos diterpenoides fenólicos de tipo abietano (**23-24**).<sup>48</sup>

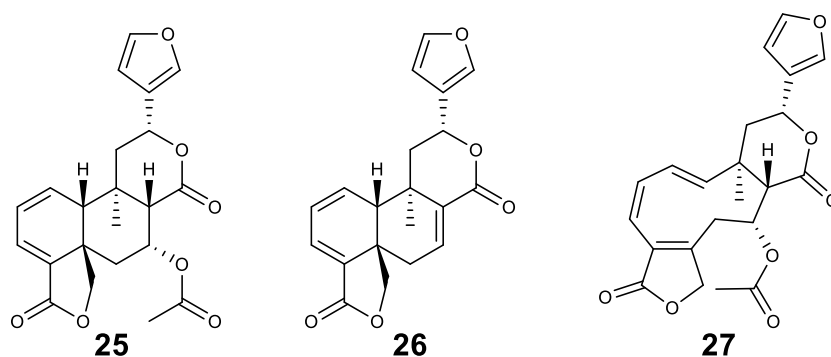
<sup>48</sup> Abreu, M. E.; Muller, M.; Alegre, L.; Munne-Bosch, S. Phenolic diterpene and  $\alpha$ -tocopherol contents in leaf extracts of 60 *Salvia* species. *J. Sci. Food Agric.* **2008**, *88*(15), 2648-2653.



**Esquema 10.** Compuestos aislados de *S. darcyi*. **23)** Carnosol, **24)** ácido carnósico.

### 2.3.2 Estudios previos de *S. involucreta*

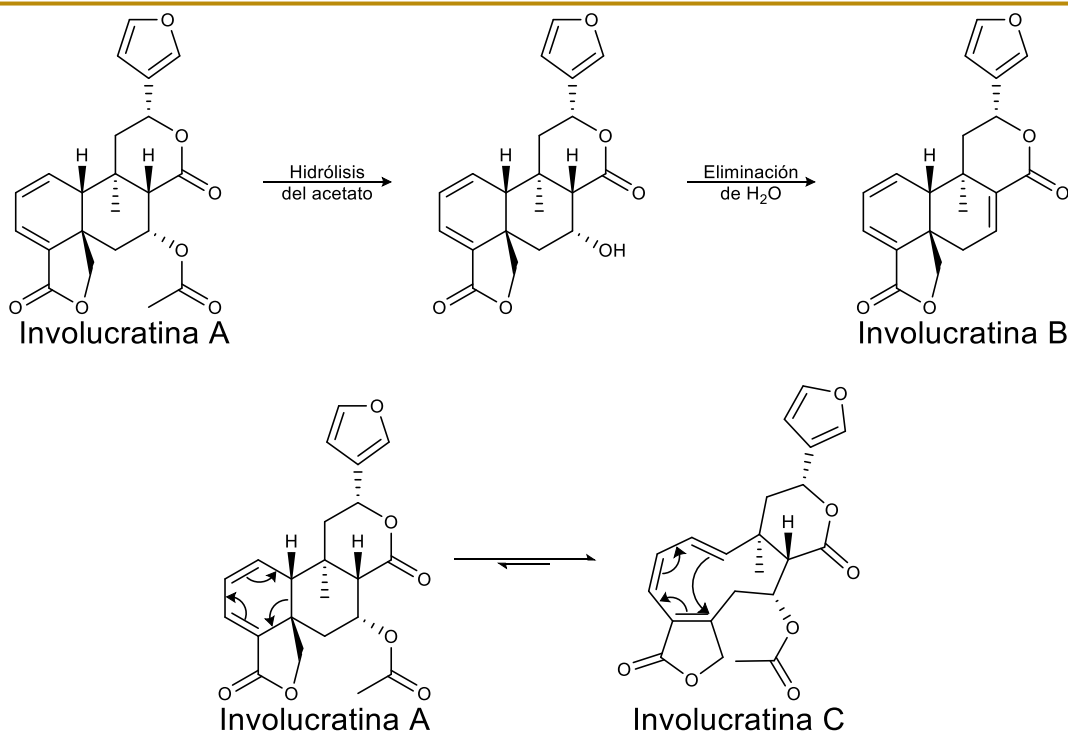
En 2019 se realizó un estudio fitoquímico sobre *S. involucreta* Cav. y resultó en el aislamiento de tres compuestos nuevos (Esquema 11).<sup>49</sup>



**Esquema 11.** Compuestos aislados de *S. involucreta* Cav. **25)** Involucratina A, **26)** involucratina B, **27)** involucratina C.

Las involucratinas A y B (**25** y **26**) se identificaron como *cis neo*-clerodanos, mientras que la involucratina C (**27**) como un 5,10-*seco*-clerodano. La determinación estructural de estos diterpenoides se llevó a cabo con el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas, principalmente RMN. También se determinó su configuración relativa con ayuda del experimento NOESY. Finalmente, como parte de este trabajo se propusieron rutas biogénicas que respaldan la relación estructural que existe entre los compuestos (Esquema 12).

<sup>49</sup> Pérez-Juanchi, D. Determinación de la estructura química de metabolitos secundarios de estructura novedosa de *Salvia involucreta*. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, **2019**.



**Esquema 12.** Propuestas biogénicas que respaldan la relación estructural entre las involucratinas A, B y C (25-27).

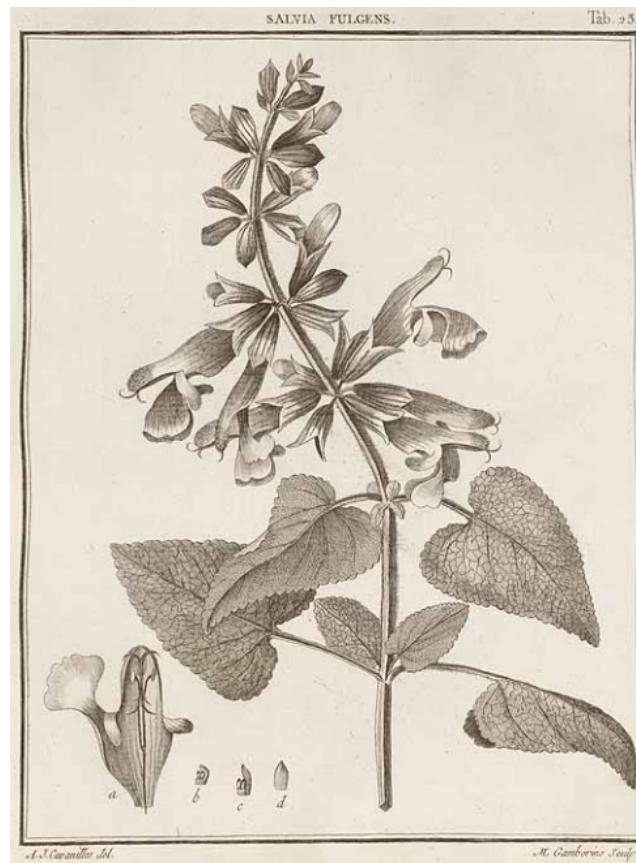
La involucratina A puede sufrir una hidrólisis del acetato en C-7 y una eliminación de agua para producir la involucratina B, mientras que la relación que existe entre las involucratinas A y C puede deberse a una reacción electrocíclica.

#### 2.4 *Salvia fulgens* Cav.

Al igual que la *S. involucrata*, *S. fulgens* es una especie endémica de México que fue descrita por el botánico Antonio José Cavanilles en 1791 (Figura 8).<sup>50</sup> En 1939, Epling incluyó a *S. fulgens* en la sección *Fulgentes* junto con otras cinco especies (Tabla 6),<sup>16</sup> sin embargo, como se mencionó anteriormente, *S. cardinalis*, que se encontraba descrita en la sección *Cardinales*, fue designada como sinónimo de *S. fulgens* por Ramamoorthy en 1984, lo que lo llevó a erigir la sección *Holwaya*,<sup>36</sup> permaneciendo *Fulgentes* y *Holwaya* como secciones muy relacionadas entre sí. Esto puede verse reflejado en la similitud entre *S. fulgens* y *S. gesneriiflora* (Figura

<sup>50</sup> Cavanilles, A. J. *Icones et descriptiones plantarum*. Ex Regia Typographia. 1791, Madrid, vol. 1.

9), que son especies muy parecidas entre sí y que a menudo suelen ser confundidas.



**Figura 8.** Dibujo de *S. fulgens* por Cavanilles

Una gran variedad de caracteres taxonómicos, como lo son el hábito y porte de las plantas, forma, tamaño, indumento y color de las hojas, longitud de las inflorescencias, y tamaño, color y pubescencia de las flores, conforman un continuo de variación que dificulta su valor como caracteres diagnósticos entre *S. fulgens* y *S. gesneriiflora* (Figura 9). Debido a lo anterior, distinguir entre ambas especies ha sido bastante problemático, por lo que es frecuente encontrar errores de determinación en lo que a estas especies se refiere. No obstante pueden reconocerse con base en las siguientes características:

- a) Longitud de las brácteas florales, en *S. fulgens* miden de 1.9-2.0 a 3.6-4.3 cm, mientras en *S. gesneriiflora* en general son de menor longitud con una variación que va de 0.6-0.7 a 2.0-2.4 cm.

- b) Presencia de un par de papilas en la base de la parte interna del tubo de la corola en *S. fulgens* y su ausencia en *S. gesneriiflora*.
- c) Longitud de la porción atenuada del ápice de las brácteas florales, que en *S. gesneriiflora* va de 5.1 a 7.0 mm mientras en *S. fulgens* de 9.0 a 19.6 mm.

Una característica adicional es que *S. fulgens* es una hierba de entre 0.8-2.0 m de alto, mientras que la *S. gesneriiflora* es un arbusto de mayor tamaño.<sup>51</sup>



**Figura 9.** Flores de *S. fulgens* (arriba) y *S. gesneriiflora* (abajo), fotografías por Jesús Guadalupe González-Gallegos.<sup>52</sup>

Con respecto a la distribución de *S. fulgens*, suele encontrarse en la Franja Volcánica Transmexicana. Crece en la Ciudad de México, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Puebla y Tlaxcala, principalmente en bosques de oyamel, de pino y encino, y de forma ocasional en bosque mesófilo de montaña; se

<sup>51</sup> González-Gallegos, J. G.; Aguilar-Santelises. *Salvia tilantongensis* (Lamiaceae), una especie nueva de la Mixteca alta de Oaxaca, MÉXICO. *Acta Bot. Mex.* **2014**, *109*, 1-22.



encuentra a una altitud de 2400-3400 m s. n. m., aunque en el Popocatépetl se ha registrado hasta a 3900 m s. n. m.

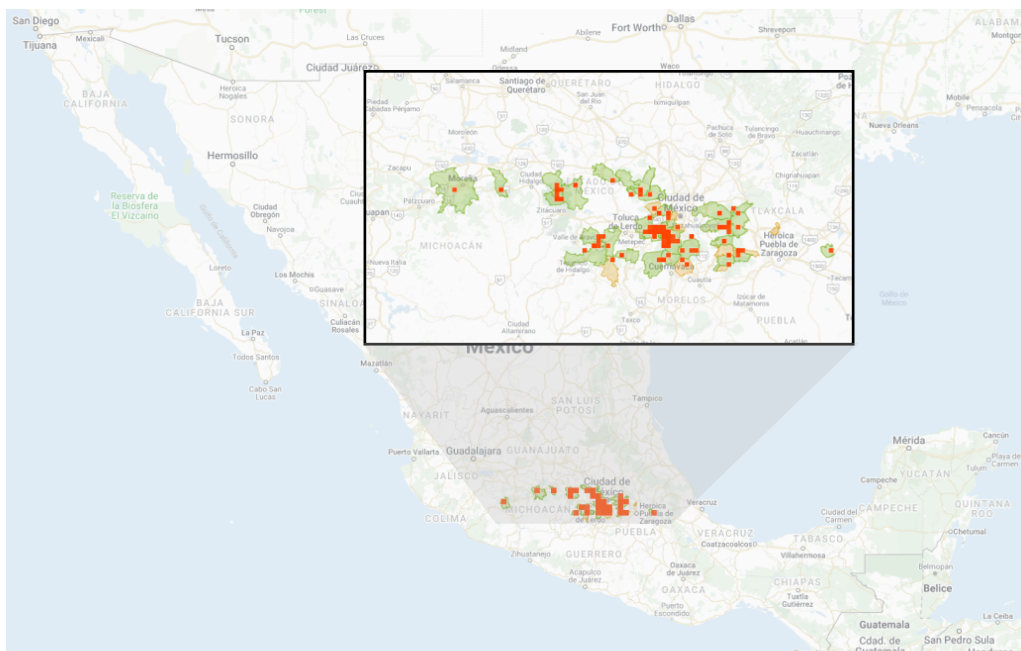


Figura 10. Distribución de *S. fulgens* en México.<sup>52</sup>

#### 2.4.1 Diterpenoides de salvias mexicanas de la sección *Fulgentes*

En México existen la mayoría de las especies pertenecientes a la sección *Fulgentes*, de las ocho especies pertenecientes a esta sección, siete crecen en nuestro país (Tabla 6). Con respecto a los estudios fitoquímicos realizados sobre éstas, solamente se cuentan con tres especies trabajadas, siendo *S. microphylla* la más estudiada.

Tabla 6. Especies mexicanas de la sección *Fulgentes*

Especie	Autor
<i>Salvia carranzae</i>	Zamudio & Bedolla
<i>Salvia dichlamys</i> <sup>‡</sup>	Epling
<i>Salvia fulgens</i> <sup>*‡</sup>	Cav.
<i>Salvia lineata</i> <sup>*‡</sup>	Benth.
<i>Salvia microphylla</i> <sup>*‡</sup>	Kunth

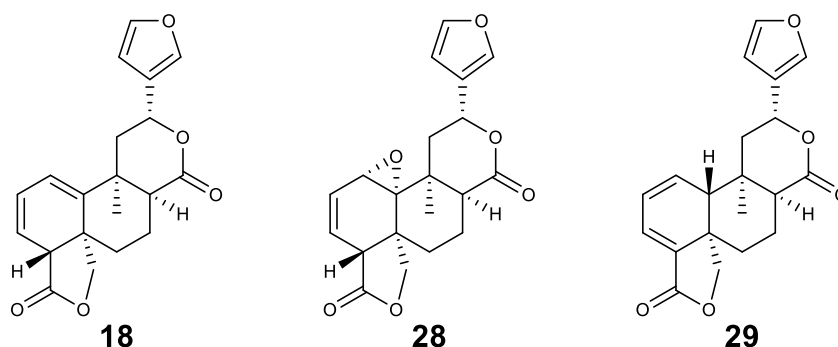
<sup>52</sup> Naturalista: *Salvia Mexicana Escarlata (Salvia fulgens)*. [naturalista.mx/taza/148383-Salvia-fulgens](http://naturalista.mx/taza/148383-Salvia-fulgens) (consultada marzo 28, 2022).

Especie	Autor
<i>Salvia modica</i> <sup>‡</sup>	Epling
<i>Salvia pulchella</i> <sup>‡</sup>	DC.

\*Especies que cuentan con estudios fitoquímicos.

<sup>‡</sup>Especies descritas en la sección *Fulgentes* por Epling.

El tipo de diterpenoides aislados de estas plantas han sido abietanos, pimaranos, *neo*-clerodanos y un microphyllano. De *S. lineata* se obtuvieron tres *neo*-clerodanos (Esquema 13), los cuales caracterizaron como 1(10)-dehidrosalviarina (**18**), 1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -epoxisalviarina (**28**) y linearifolina (**29**).<sup>41</sup>

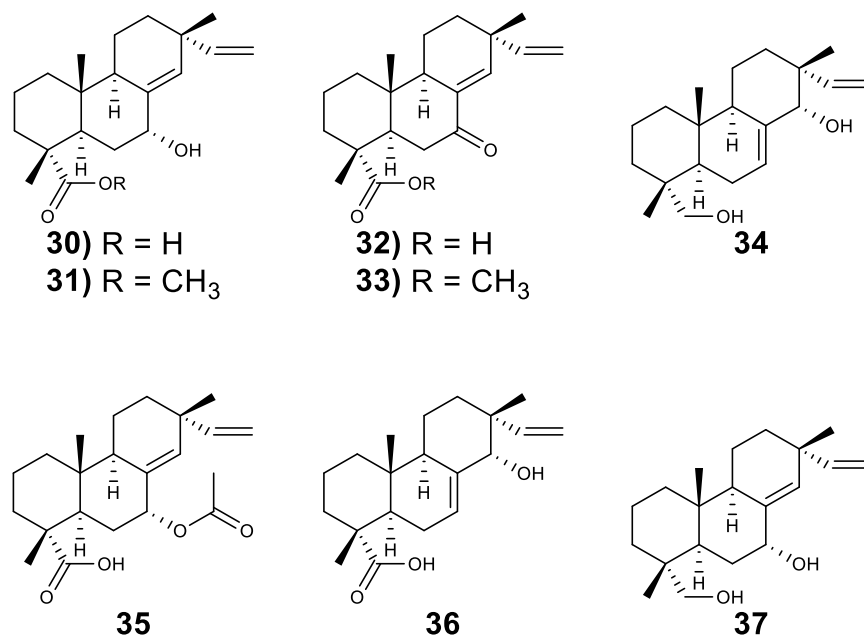


Esquema 13. *neo*-Clerodanos aislados de *S. lineata*. **18**) 1(10)-Dehidrosalviarina, **28**) 1 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -epoxisalviarina, **29**) linearifolina.

En 1987 y 1989 se realizaron los primeros estudios sobre poblaciones mexicanas de *S. microphylla*, se aislaron diterpenoides de tipo pimarano (Esquema 14), aunque también se describió la presencia de un *neo*-clerodano (Esquema 16). En el estudio de 1987 se trabajó con una especie colectada en el Valle de México. En este estudio se identificaron los ácidos 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimárico (**30**) y 7-oxo-sandaracopimárico (**32**), los cuales fueron aislados como sus ésteres metílicos **31** y **33**, respectivamente, además se identificó el 7,15-isopimaradien-14 $\alpha$ ,18-diol (**34**).<sup>53</sup> En 1989 se trabajó con una especie colectada en Zimapán, Hidalgo, y al igual que en el anterior estudio, se identificó el ácido **30** (aislado como su éster metílico **31**),

<sup>53</sup> Esquivel, B.; Cárdenas, J.; Rodríguez-Hahn, L. The diterpenoid constituents of *Salvia fulgens* and *Salvia microphylla*. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*(4), 738-740.

y los ácidos 7 $\alpha$ -acetoxisandaracopimárico (**35**), el 14 $\alpha$ -hidroxiisopimárico (**36**) y el 8(14),15-sandaracopimaradien-7 $\alpha$ ,18-diol (**37**).<sup>54</sup>



**Esquema 14.** Pimaranos aislados de *S. microphylla* en los trabajos de 1987 y 1989. **30)** ácido 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimárico, **31)** 7 $\alpha$ -hidroxisandaracopimarato de metilo, **32)** ácido 7-oxo-sandaracopimárico, **33)** 7-oxo-sandaracopimarato de metilo, **34)** 7,15-isopimaradien-14 $\alpha$ ,18-diol, **35)** ácido 7 $\alpha$ -acetoxisandaracopimárico, **36)** ácido 14 $\alpha$ -hidroxiisopimárico, **37)** 8(14),15-sandaracopimaradien-7 $\alpha$ ,18-diol.

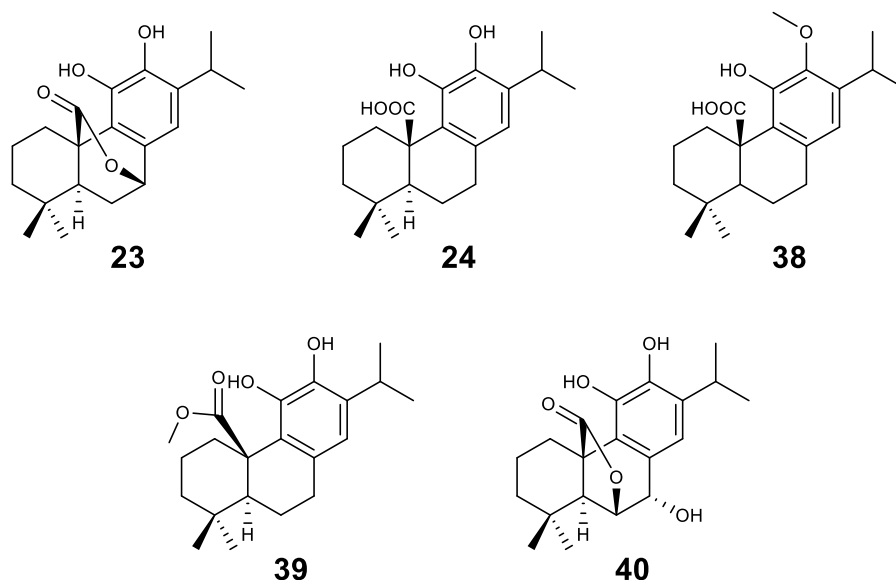
También se han aislado diterpenoides fenólicos de tipo abietano en varios trabajos. En el 2006 se reportó la presencia del ácido 12-metoxicarnósico (**38**) en el extracto de acetona de un espécimen de *S. microphylla* recolectado en el Jardín de la Facultad de Ciencias y Artes en Turquía,<sup>55</sup> mientras que el trabajo del 2008 con una planta cultivada, se identificó la presencia de carnosol (**23**) y ácido carnósico (**24**).<sup>49</sup> Estos mismos compuestos, junto con el carnosato de metilo (**39**) y el rosmanol (**40**), se identificaron en el extracto etanólico de un espécimen recolectado en la Granja Verde Egipcia, en Giza, Egipto.<sup>56</sup> Cabe resaltar que estos compuestos

<sup>54</sup> Esquivel, B.; del Socorro Martínez, N.; Cárdenas, J.; Ramamoorthy, T. P.; Rodríguez-Hahn, L. The Pimarane-Type Diterpenoids of *Salvia microphylla* var. *Neurepia*. *Planta Med.* **1989**, *55*, 62-63.

<sup>55</sup> Aydogmus, Z.; Yesilyurt, V.; Topcu, G. Constituents of *Salvia microphylla*. *Nat. Prod. Res.* **2006**, *20*(8), 775-781.

<sup>56</sup> Ayoub, I. M.; George, M. Y.; Menze, E. T.; Mahmoud, M.; Botros, M.; Essam, M.; Ashmawy, I.; Shendi, P.; Hany, A.; Galal, M.; Ayman, M.; Labib, R. M. Insights into the neuroprotective effects of

no se han identificado en ningún estudio sobre alguna población mexicana de *S. microphylla*.



**Esquema 15.** Diterpenoides fenólicos aislados de *S. microphylla*. **23)** Carnosol, **24)** ácido carnósico, **38)** ácido 12-metoxicarnósico, **39)** carnosato de metilo, **40)** rosmanol.

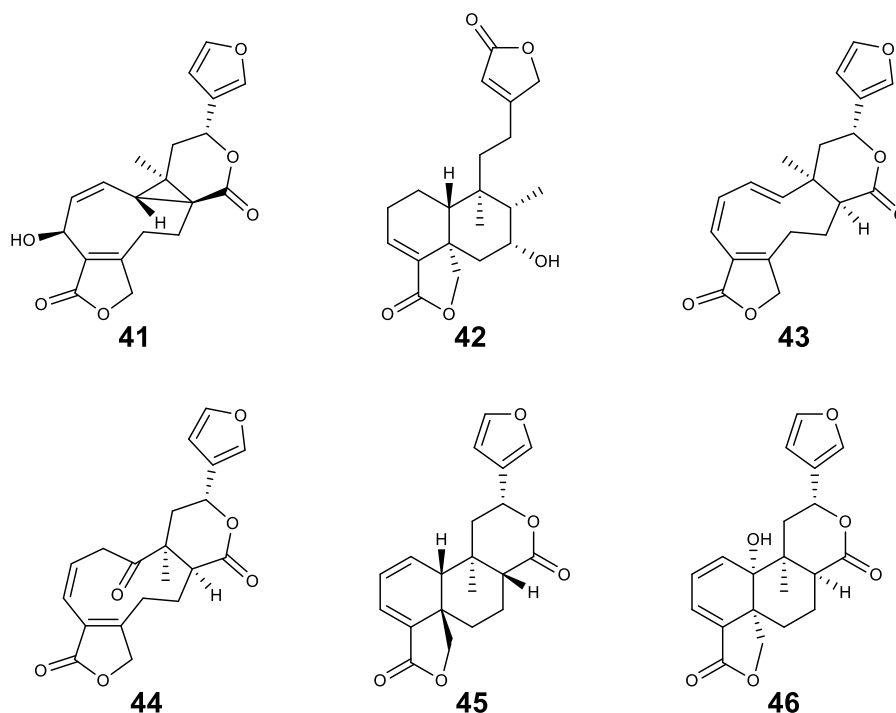
Por último, los diterpenoides **41-46** son compuestos que se han aislado de poblaciones mexicanas de *S. microphylla*. En 2013 se realizó un trabajo sobre una planta recolectada en la Ciudad de México, en donde se aisló la microphyllandiólida (**41**), la cual resultó ser el primer ejemplo de un nuevo tipo de diterpenoide transpuesto proveniente del clerodano y el cual se denominó microphyllano. En el Esquema 17 se muestra una propuesta biogenética de la generación este compuesto.<sup>57</sup> Un año después, se trabajó con una planta colectada en Topilejo, Ciudad de México, y se aislaron cuatro nuevos diterpenoides, dos 5,10-*seco-neo-clerodanos* (**43-44**) y dos *neo-clerodanos* (**45-46**).<sup>58</sup> En el caso de la

*Salvia officinalis* L. and *Salvia microphylla* Kunth in the memory impairment rat model. *Food Funct.* **2022**, 13(4), 2253-2268.

<sup>57</sup> Bautista, E.; Toscano, R. A.; Ortega, A. Microphyllandiolid, a New Diterpene with an Unprecedented Skeleton from *Salvia microphylla*. *Org. Lett.* **2013**, 15(13), 3210-3213.

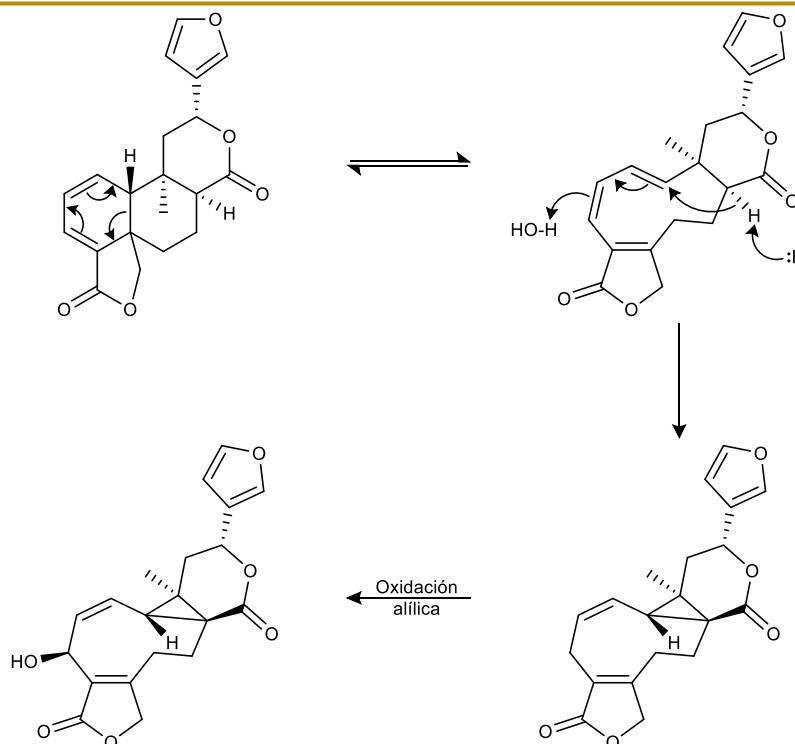
<sup>58</sup> Bautista, E.; Toscano, R. A.; Ortega, A. 5,10-*seco-neo-clerodanes* and *neo-clerodanes* from *Salvia microphylla*. *J. Nat. Prod.* **2014**, 77(4), 1088-1092.

salvimicrophyllina D (**46**), la configuración del alcohol en C-10 fue corregida (orientación  $\alpha$ ), ya que se había propuesto con orientación  $\beta$ .<sup>59</sup>



**Esquema 16.** Microphyllano y *neo*-clerodanos aislados de *S. microphylla*. **41)** Microphyllandiólida, **42)** 7 $\alpha$ -hidroxi-*neo*-cleroda-3,13-dien-18,19:15,16-diólida, **43)** salvimicrophyllina A, **44)** salvimicrophyllina B, **45)** salvimicrophyllina C, **46)** salvimicrophyllina D.

<sup>59</sup> Ortega, A.; Ortiz-Pastrana, N.; Bedolla-García, B. Y.; Toscano, R. A.; Bautista, E. NMR analysis and crystal structure of hydroxyclerodanes from Mexican *Salvia* species. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1141*, 157-162.



**Esquema 17.** Propuesta biogénica para la formación de la microphyllandiólida (41).

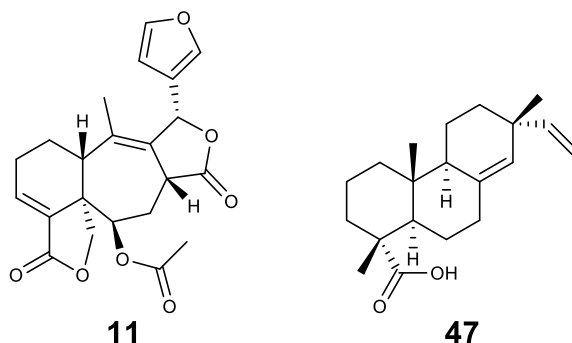
Es importante resaltar que, con respecto a los diterpenoides aislados de *S. microphylla*, se observa una diferencia estructural importante entre los estudios sobre especies recolectadas en México, donde se identificaron pimaranos y clerodanos, principalmente, y las recolectadas en otro país o de algún herbario (donde predominan los abietanos).

#### 2.4.2 Antecedentes sobre *S. fulgens*

El primer trabajo sobre la composición química de *S. fulgens* colectada en el Valle de México, resultó en el aislamiento de un nuevo tipo de diterpenoide (11), cuyo esqueleto se denominó salvigenano.<sup>60</sup> En un estudio posterior sobre un espécimen de *S. fulgens* colectado en Huitzilac, Morelos, también se aisló la salvigenólida (11) y el ácido sandaracopimárico (47).<sup>54</sup> Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la semejanza que existe entre *S. fulgens* y *S. gesneriiflora* hace muy difícil su correcta identificación, por lo que consideraciones taxonómicas recientes<sup>52</sup>

<sup>60</sup> Esquivel, B.; Cárdenas, J.; Toscano, A.; Soriano-García, M.; Rodríguez-Hahn, L. Structure of salvigenolide, a novel diterpenoid with a rearranged *neo*-clerodane skeleton from *Salvia fulgens*. *Tetrahedron* **1985**, *41*(16), 3213-3217.

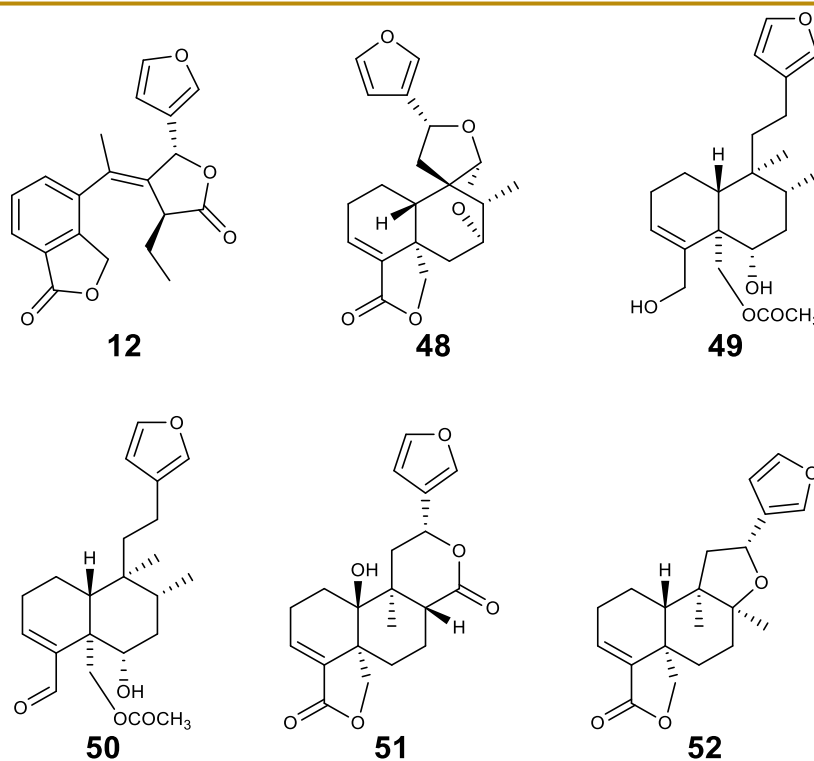
sugieren que la identificación de las plantas estudiadas en 1985 y 1987 era incorrecta, y se trataba en realidad de *S. gesneriiflora*.



**Esquema 18.** Diterpenoides aislados de poblaciones mexicanas de *S. fulgens* (ahora *S. gesneriiflora*). **11)** Salvigenólida, **47)** ácido sandaracopimárico.

Por otra parte, en un estudio sobre *S. fulgens* proveniente del Jardín Botánico de la Universidad de Farmacia de Kyoritsu, Saitama en Japón,<sup>61</sup> se identificaron *neo*-clerodanos y un salvixalapano, cuyas estructuras se muestran en el Esquema 19.

<sup>61</sup> Narukawa, Y.; Fukui, M.; Hatano, K.; Takeda, T. Four new diterpenoids from *Salvia fulgens* Cav. *J. Nat. Med.* **2006**, *60*(1), 58-63.



**Esquema 19.** Diterpenoides aislados de una población de *S. fulgens* proveniente Jardín Botánico de la Universidad de Farmacia de Kyoritsu, Saitama. **12)** Salvifulgenólida, **48)** *trans*-1(2)-dehidrosalvifaricina, **49)** *ent*-19-acetoxi-15,16-epoxi-3,13(16),14-clerodatrien-6,18-diol, **50)** *ent*-19-acetoxi-15,16-epoxi-6-hidroxi-3,13(16),14-clerodatrien-18-al, **51)** 10 $\beta$ -hidroxibacchotricuneatina A, **52)** dehidrokerlina.

## 2.5. Actividad biológica de diterpenoides aislados de salvias mexicanas

Los distintos compuestos aislados de especies del género *Salvia* han mostrado importantes propiedades insecticidas, herbicidas, alelopáticas y antifúngicas, las cuales pueden ser útiles en agricultura. En particular, algunos diterpenoides tienen propiedades antialimentarias contra insectos tales como *Spodoptera littoralis* y *Spodoptera frugiperda* y actividad fitotóxica relevante.<sup>62,43</sup> También se han descrito distintos diterpenoides con propiedades antibacterianas, antioxidantes, antiinflamatorias, antiparasitarias, citotóxicas, entre otras,<sup>7</sup> los cuales son de relevancia en el área de la medicina, ya que pueden servir para el desarrollo de

<sup>62</sup> Simmonds, M. S. J.; Blaney, W. M.; Esquivel, B.; Rodriguez-Hahn, L. Effect of clerodane-type diterpenoids isolated from *Salvia* on the feeding behavior of *Spodoptera littoralis*. *Pestic. Sci.* **1996**, *47*(1), 17-23.



nuevos fármacos para combatir distintas enfermedades. En este contexto, tan sólo en los últimos 40 años, un poco más del 50 % de los fármacos aprobados por la FDA han provenido de estudios y trabajos sobre productos naturales y sus derivados.<sup>63</sup>

Cabe destacar que numerosos diterpenoides, principalmente aquellos con esqueletos de tipo abietano, han mostrado una importante actividad citotóxica contra células tumorales. Esto es de gran relevancia, ya que el cáncer es una de las causas más importantes de muerte en el mundo. Tan sólo en 2020 se atribuyeron a esta enfermedad cerca de 10 millones de defunciones.<sup>64</sup>

---

<sup>63</sup> Newman, D. J.; Cragg, G., M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. *J. Nat. Prod.* **2019**, 83, 770-803.

<sup>64</sup> Organización Mundial de la Salud: Cáncer. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (consultada mayo 11, 2022).

### 3. JUSTIFICACIÓN

México es el país con el mayor número de especies del género *Salvia*, principalmente del subgénero *Calosphace*, las cuales se han diversificado en gran parte del territorio mexicano. Debido a esto, se han creado una amplia variedad de secciones para poder clasificarlas de acuerdo con sus similitudes taxonómicas, y se espera que también existan similitudes fitoquímicas, por lo que el aporte quimiotaxonómico de este trabajo es de gran relevancia.

Sobre los metabolitos secundarios aislados, en ocasiones se pueden identificar compuestos previamente reportados, y durante su elucidación estructural se pueden corregir errores en las asignaciones espectroscópicas originales, también se puede determinar la configuración absoluta de estos compuestos mediante el empleo de técnicas como Dicroísmo Circular Electrónico (DCE) o difracción de rayos X, esto es especialmente importante cuando se aíslan compuestos cuya elucidación estructural se realizó hace varios años, cuando los equipos con los que se hacían las determinaciones espectroscópicas no contaban con la resolución y sensibilidad de los equipos actuales.

Se ha documentado que para especies del género *Salvia*, su perfil metabólico puede variar dependiendo de las condiciones de desarrollo, como puede ser la ubicación geográfica, la época en que se colecta, si es una especie cultivada o silvestre, entre otras. En este sentido, el estudio de poblaciones mexicanas de especies como *S. involucreta*, que cuenta con dos estudios previos, uno de ellos bajo el sinónimo *S. puberula*, y *S. fulgens*, cuyo único trabajo previo proviene de un estudio de una planta cultivada en Japón, constituyen un gran aporte al conocimiento sobre la variación de su composición química, además, de ser el primer análisis químico de una población mexicana de *S. fulgens*.

Por último, como se ha mencionado, los productos naturales han sido de vital importancia en el desarrollo de compuestos con actividades biológicas de interés para el ser humano, como el desarrollo de fármacos para el tratamiento del cáncer, o en el área de la agricultura como herbicidas. En este sentido, aquí se evalúa la



actividad antiproliferativa en líneas de cáncer humano y el efecto fitotóxico de algunos compuestos aislados.

#### 4. OBJETIVOS

En esta tesis se presenta el estudio químico de las partes aéreas de dos poblaciones de *S. involucreta* Cav. colectadas en el municipio de Xilitla, San Luis Potosí, y una población de *S. fulgens* Cav. colectada en Los Azufres, Michoacán. Ambas especies pertenecen al subgénero *Calosphace* y las secciones *Holwaya* y *Fulgentes*, respectivamente. Los objetivos de este trabajo son:

1. Contribuir al conocimiento fitoquímico de especies mexicanas del género *Salvia*.
2. Llevar a cabo el primer estudio de una población mexicana de *S. fulgens*.
3. Aportar datos de relevancia quimiotaxonómica que corroboren y/o complementen los estudios de taxonomía que existen para especies de *Salvia* subgénero *Calosphace* de las secciones *Holwaya* y *Fulgentes*.
4. Evaluar la actividad biológica de los compuestos aislados como inhibidores de la proliferación de líneas celulares de diferentes tipos de cáncer humano y como agentes fitotóxicos.

Para cumplir los objetivos propuestos se llevará a cabo el aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados de las especies de estudio. Se trabajará con el extracto de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  de ambas plantas y el aislamiento se llevará a cabo mediante las técnicas cromatográficas convencionales. La elucidación estructural se realizará mediante el empleo de técnicas espectroscópicas, principalmente RMN, y para determinar la configuración absoluta de los compuestos se utilizará DCE o bien difracción de rayos X. De los compuestos aislados e identificados se llevarán a cabo ensayos biológicos que permitan evaluar su actividad antiproliferativa y fitotóxica.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1 Procedimientos generales

Para el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios se realizó mediante separaciones por cromatografía en columna (CC), cromatografía en columna “flash” (CC “flash”) en gel de sílice malla 230-400 (Macherey-Nagel), cromatografía en capa delgada preparativa (CCDp) en placas Macherey-Nagel Sil G/UV254 de 20 x 20 cm y de 0.25, 0.50 y 1.00 mm de espesor, y por HPLC en una columna C18 Gemini-NX (10.0 x 250 mm, 5  $\mu$ m de tamaño de partícula). Los análisis por HPLC se realizaron en un cromatógrafo Waters® equipado con los detectores de UV de arreglo de fotodiodos (PDA-2998) y de dispersión de luz tras evaporación (ELSD-2424). Para los análisis se emplearon una columna analítica Phenomenex® (C-18, 5 $\mu$ m, 4.6 x 250 mm) y una semipreparativa Phenomenex® (C-18, 5 $\mu$ m, 10.0 x 250 mm). La cromatografía en columna “flash” se realizó en un equipo Pure C-810 Flash utilizando columnas Biotage® SNAP Cartridge KP-Sil de 50 y 10 g empacadas con sílica gel 230-400 como fase estacionaria. El monitoreo del progreso de las separaciones cromatográficas se realizó mediante CCDa utilizando cromatofolios de 0.20 mm de espesor y con indicador de fluorescencia adquiridas de Macherey-Nagel. La visualización de las placas se llevó a cabo con una lámpara de luz UV Spectroline modelo ENF-240C a dos longitudes de onda (254 y 365 nm) y como agente revelador se empleó una solución de sulfato cérico amoniacal.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Los espectros en el infrarrojo se obtuvieron en un espectrómetro Bruker Tensor 27; los espectros en el UV se registraron en un espectrómetro UV-Visible Shimadzu; las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 323. Los experimentos de RMN 1D y 2D se realizaron en espectrómetros Bruker Avance III a 400 MHz para  $^1\text{H}$  y 100 MHz para  $^{13}\text{C}$ , HD Bruker Avance III a 500 MHz para  $^1\text{H}$  y 125 MHz para  $^{13}\text{C}$  y HD Bruker Avance III a 700 MHz para  $^1\text{H}$  y 175 MHz para  $^{13}\text{C}$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ , en ppm) están referenciados con la señal del disolvente residual del  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta_{\text{H}} = 7.26$ ,  $\delta_{\text{C}} = 77.16$ ) y la  $\text{CD}_3\text{COCD}_3$  ( $\delta_{\text{H}} = 2.05$ ,  $\delta_{\text{C}} = 29.84$ , 206.26) y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) están dadas en Hz. La

espectrometría de masas de alta resolución por la técnica DART (EM-DART-AR) se realizó en un espectrómetro de masas Jeol The AccuTOF JMS-T100LC y la espectrometría de masas por la técnica de impacto electrónico (EM-IE) se llevó a cabo en un espectrómetro MStation JMS-700. Los experimentos de RMN se procesaron en el programa MestReNova versión 12.0. La optimización de las estructuras se realizó con el programa ChemBio3D Ultra 13.0.

## 5.2 Material vegetal

### 5.2.1 *Salvia involucrata* Cav.

*Salvia involucrata* fue recolectada en el municipio de Xilitla, San Luis Potosí, México en mayo del 2017 y una segunda colecta se realizó en la misma zona en octubre del 2018. Un ejemplar de la primera colecta fue identificado por el Dr. J. García-Pérez y fue depositado en el Herbario Isidro Palacios del Instituto de Investigaciones Desérticas de San Luis Potosí (voucher SLPM-51136). El material vegetal de la segunda colecta fue identificado por la Dra. Brenda Yudith Bedolla-García y el Dr. Sergio Zamudio y depositado en el herbario del Instituto de Ecología, A. C., Centro Regional del Bajío (voucher IEB-266885).

Se realizó el estudio fitoquímico de ambas poblaciones, sin embargo, debido a la similitud en sus perfiles químicos y la reproducibilidad del análisis, el trabajo se referirá a *Salvia involucrata* sin considerar la época de colecta.

### 5.2.2 *Salvia fulgens* Cav.

*Salvia fulgens* fue recolectada en el municipio de Los Azufres, Michoacán, México en noviembre de 2018 por la Dra. Brenda Yudith Bedolla-García y Daniel Madrigal González, y depositado en el herbario del Instituto de Ecología, A. C., Centro Regional del Bajío (voucher IEB-263350).

### 5.3 Extracción y aislamiento

#### 5.3.1 Extracción y purificación de los metabolitos secundarios de *S. involucrata* Cav.

El material vegetal se secó a temperatura ambiente y en la sombra, posteriormente se separaron flores, tallos y hojas, y éstas últimas se molieron en un molino de cuchillas (1.39 kg). Se realizó una extracción por percolación con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.2 L), el extracto se concentró para producir 38 g de residuo. Se tomaron 37 g del extracto (1 g se guardó como referencia) y se sometieron a CC sobre sílica gel 230-400 usando un gradiente de elución con Hexano:AcOEt (100:0–0:100) hasta obtener 96 fracciones de ca. 300 mL cada una, que se reunieron en 32 fracciones primarias (A-E'). El compuesto **19** (350.0 mg) cristalizó a partir de la fracción C. La fracción P (389.0 mg) se purificó por CC sobre sílica gel con Hexano:AcOEt (9:1) como fase móvil para obtener 22 fracciones (PA1-PA22), se reunieron las fracciones PA15-PA18 (75.0 mg) y se purificaron por CCDp con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :M1<sup>65</sup> (9:1) como fase móvil para dar la 1-deoxibacrispina (**53**, 23.2 mg) y salvigenina (**57**, 6.5 mg). La fracción S (600.0 mg) se sometió a CC "flash" sobre sílica gel con una fase móvil isocrática de Hexano:Acetona (8:2) para obtener 68 fracciones de 25 mL cada una (SA1-SA68). La fracción SA8 (60.0 mg) se sometió a CCDp con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH (200:5) como fase móvil para producir el compuesto **54** (25.3 mg). La fracción X (803.0 mg) se sometió a CC eluyendo con Hexano:AcOEt (1:1) hasta obtener 23 fracciones (X1-X23). las fracciones X14-X21 se reunieron y se purificaron adicionalmente mediante CC eluyendo con Hexano:AcOEt (1:1) para producir los compuestos **55** y **25** como una mezcla (10.0 mg), que posteriormente se sometió a HPLC utilizando una columna semipreparativa de fase reversa (Gemini-NX C18) y un gradiente de elución con  $\text{CH}_3\text{CN}$ : $\text{H}_2\text{O}$  (ácido fórmico al 0.1%, 20:80–100:0) durante 30 min con un flujo de 4.6 mL/min, para producir los compuestos **55** (2.0 mg) y **25** (5.0 mg). El compuesto **56** (125.0 mg) precipitó a partir de la fracción Y, adicionalmente 11.0 mg de la fracción Y se sometieron a una reacción de acetilación con anhídrido acético y piridina, el producto de reacción se purificó por CCDp con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :M1 (95:5) como

<sup>65</sup> M1 = AcOEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (200:16:7).

fase móvil para dar los compuestos **56** y **58**. Los ácidos ursólico (**59**) y oleanólico (**60**) se identificaron como mezcla de la fracción D.

Ácido hardwickiico (**19**): polvo blanco;  $pf = 112-116\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{589} = -101.0$  ( $5.1\text{ mg mL}^{-1}$ , MeOH); IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu_{\text{máx}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 3523, 2961, 2926, 2873, 2862, 2824, 1718, 1682, 1629; ; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 700 MHz)  $\delta$  7.35 (1H, s, H-15), 7.20 (1H, s, H-16), 6.86 (1H, t,  $J = 3.3$ , H-3), 6.26 (1H, s, H-14), 2.43 (1H, dt,  $J = 13.1, 2.8$ , H-6 $\alpha$ ), 2.35-2.30 (2H, m, H-2 $\alpha$ , H-12a), 2.23-2.16 (2H, m, H-2 $\beta$ , H-12b), 1.69 (1H, dd,  $J = 13.7, 7.3$ , H-1 $\beta$ ), 1.66 (1H, td,  $J = 13.2, 5.0$ , H-11a), 1.60-1.55 (1H, m, H-8), 1.59-1.54, (1H, m, H-11b), 1.53-1.47 (1H, m, H-1 $\alpha$ ), 1.51-1.47 (1H, m, H-7 $\alpha$ ), 1.43 (1H, ddd,  $J = 17.8, 10.7, 3.7$ , H-7 $\beta$ ), 1.39 (1H, da,  $J = 12.2$ , H-10), 1.26 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1.17 (1H, td,  $J = 13.0, 3.7$ , H-6 $\beta$ ), 0.84 (3H, d,  $J = 6.7$ ,  $\text{CH}_3$ -17), 0.76 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20); RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 175 MHz)  $\delta$  173.0 (C, C-18), 142.9 (CH, C-15), 141.7, (C, C-4), 140.5 (CH, C-3), 138.5 (CH, C-16), 125.7 (C, C-13), 111.1 (CH, C-14), 46.8 (CH, C-10), 39.0 (C, C-9), 38.8 ( $\text{CH}_2$ , C-11), 37.7 (C, C-5), 36.4 (CH, C-8), 36.0 ( $\text{CH}_2$ , C-6), 27.7 ( $\text{CH}_2$ , C-2), 27.4 ( $\text{CH}_2$ , C-7), 20.7 ( $\text{CH}_3$ , C-19), 18.4 ( $\text{CH}_3$ , C-20), 18.3 ( $\text{CH}_2$ , C-12), 17.6 ( $\text{CH}_2$ , C-1), 16.1 ( $\text{CH}_3$ , C-17); EM-DART-AR  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  317.21205 (calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{29}\text{O}_3$ , 317.21167,  $\Delta = +1.20$ , IDE = 7).

Involucratina A (**25**): polvo amarillo;  $pf = 158-162\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;  $[\alpha]_{589} = +15.26$ ;  $\lambda_{\text{máx}}$  [nm] (log  $\epsilon$ ) 207 (3.21), 299 (3.40); IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu_{\text{máx}}$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) 2930, 2856, 1756, 1677, 1602, 1590, 1444, 1365, 1321, 1208, 1187, 1027, 954, 876; RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 700 MHz)  $\delta$  7.48 (1H, sa, H-16), 7.44 (1H, t,  $J = 1.7$ , H-15), 6.86 (1H, d,  $J = 5.4$ , H-3), 6.42 (1H, dd,  $J = 1.7, 0.6$ , H-14), 6.22 (1H, ddd,  $J = 9.7, 5.4, 3.0$ , H-2), 5.94 (1H, dd,  $J = 9.8, 2.6$ , H-1), 5.76 (1H, ddd,  $J = 9.4, 7.2, 4.8$ , H-7), 5.33 (1H, dd,  $J = 10.5, 4.0$ , H-12), 4.44 (1H, d,  $J = 8.3$ , H-19<sub>pro-R</sub>), 4.00 (1H, dd,  $J = 8.3, 2.2$ , H-19<sub>pro-S</sub>), 2.92 (1H, t,  $J = 2.5$ , H-10), 2.46 (1H, d,  $J = 4.8$ , H-8), 2.30 (1H, dd,  $J = 14.7, 9.4$ , H-6 $\beta$ ), 2.25 (1H, dd,  $J = 14.6, 4.1$ , H-11 $\beta$ ), 2.11 (1H, d,  $J = 14.6, 10.5$ , H-11 $\alpha$ ), 2.05 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -2'), 1.80 (1H, ddd,  $J = 14.7, 7.2, 2.2$ , H-6 $\alpha$ ), 1.35 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -20); RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 175 MHz)  $\delta$  170.2 (C, C-1'), 168.60 (C, C-17), 168.55 (C, C-18), 144.1 (CH, C-15), 139.9 (CH, C-16), 131.7 (CH, C-1), 128.8 (CH, C-3), 128.0 (C, C-4), 123.8 (C, C-13), 122.8 (CH, C-2), 108.4 (CH, C-14), 78.7 ( $\text{CH}_2$ , C-19), 70.6 (CH, C-12), 63.2 (CH, C-7), 52.2 (CH, C-10), 47.6



(CH<sub>2</sub>, C-11), 46.0 (CH, C-8), 39.0 (C, C-5), 34.2 (C, C-9), 32.0 (CH<sub>2</sub>, C-6), 27.6 (CH<sub>3</sub>, C-20), 21.2 (CH<sub>3</sub>, C-2'); EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 399.14588 (calculado para C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>, 399.14438,  $\Delta$  = +3.75, IDE = 12).

1-Deoxibacrispina (**53**): polvo blanco; pf = 200-202 °C;  $[\alpha]_{589} = -53.0$  (1.3 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH); RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C ver Tabla 7; EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 331.18969 (calculado para C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub>, 331.19093,  $\Delta$  = -3.74, IDE = 8).

Kingidiol (**54**): sólido blanco; pf = 85-87 °C;  $[\alpha]_{589} = -30.0$  (2.2 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  7.34 (1H, s, H-15), 7.19 (1H, s, H-16), 6.24 (1H, s, H-14), 5.76 (1H, t,  $J$  = 3.4, H-3), 4.20 (1H, d,  $J$  = 11.5, H-18a), 3.97 (1H, d,  $J$  = 10.7, H-19a), 3.83 (1H, d,  $J$  = 11.5, H-18b), 3.64 (1H, d,  $J$  = 10.7, H-19b), 2.31 (1H, ddd,  $J$  = 13.8, 13.5, 4.0, H-11a), 2.29-2.24 (2H, m, H-2a, H-6a), 2.16 (1H, ddd,  $J$  = 13.8, 12.8, 5.1, H-11b), 2.17-2.10 (1H, m, H-2b), 1.66 (1H, ddd,  $J$  = 14.5, 13.4, 5.1, H-12a), 1.64-1.57 (3H, m, H-1a, H-1b, H-8), 1.55 (1H, ddd,  $J$  = 14.5, 12.9, 4.2, H-12b), 1.51 (1H, dd,  $J$  = 11.8, 3.5, H-10), 1.46-1.40 (2H, m, H-7<sup>a</sup>, H-7b), 1.14 (1H, td,  $J$  = 12.7, 5.7, H-6b), 0.85 (3H, d,  $J$  = 6.8, CH<sub>3</sub>-17), 0.78 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  145.2 (C, C-4), 142.9 (CH, C15), 138.5 (CH, C-16), 129.9 (CH, C-3), 125.6 (C, C-13), 111.1 (CH, C-14), 65.4 (CH<sub>2</sub>, C-19), 64.6 (CH<sub>2</sub>, C-18), 46.5 (CH, C-10), 43.2 (C, C-5), 39.0 (C, C-9), 38.8 (CH<sub>2</sub>, C-12), 36.6 (CH, C-8), 31.4 (CH<sub>2</sub>, C-6), 27.1 (CH<sub>2</sub>, C-7), 26.6 (CH<sub>2</sub>, C-2), 19.0 (CH<sub>3</sub>, C-20), 18.5 (CH<sub>2</sub>, C-11), 17.5 (CH<sub>2</sub>, C-1), 16.1 (CH<sub>3</sub>, C-17).

(5*R*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*)-7-Hidroxicleroda-1,3,13(16),14-tetraen-17,12;18,19-diólida (**55**): polvo blanco;  $[\alpha]_{589} = -37.0$  (2.0 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH); IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>) 3524, 3028, 2967, 2931, 1758, 1677, 1651, 1602, 1505, 1454, 1402, 920, 875; RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  7.50 (1H, sa, H-16), 7.45 (1H, t,  $J$  = 1.6, H-15), 6.87 (1H, d,  $J$  = 5.4, H-3), 6.44 (1H, da,  $J$  = 0.9, H-14), 6.22 (1H, ddd,  $J$  = 9.7, 5.5, 3.0, H-2), 5.90 (1H, dd,  $J$  = 9.8, 2.6, H-1), 5.33 (1H, dd,  $J$  = 11.9, 3.2, H-12), 4.68 (1H, m, H-7), 4.36 (1H, d,  $J$  = 8.1, H-19<sub>pro-R</sub>), 4.15 (1H, sa, OH-7), 3.96 (1H, dd,  $J$  = 8.1, 2.1, H-19<sub>pro-S</sub>), 2.92 (1H, sa, H-10), 2.32 (1H, d,  $J$  = 4.4, H-8), 2.27 (1H, dd,  $J$  = 14.8, 3.4, H-11a), 2.20 (1H, dd,  $J$  = 14.7, 9.1, H-6 $\beta$ ), 2.07 (1H, dd,  $J$  = 14.5, 11.7, H-11b), 1.91 (1H, ddd,  $J$  = 14.6, 7.8, 1.7, H-6 $\alpha$ ), 1.37 (3H, s, CH<sub>3</sub>-20); RMN (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  173.5

(C, C-17), 168.8 (C, C-18), 144.2 (CH, C-15), 140.1 (CH, C-16), 131.5 (CH, C-1), 128.7 (CH, C-3), 128.1 (C, C-4), 123.0 (C, C-13), 122.7 (CH, C-2), 108.5 (CH, C-14), 78.7 (CH<sub>2</sub>, C-19), 71.1 (CH, C-12), 62.8 (CH, C-7), 52.6 (CH, C-10), 48.3 (CH<sub>2</sub>, C-11), 46.8 (CH, C-8), 39.2 (C, C-5), 34.5 (C, C-9), 32.4 (CH<sub>2</sub>, C-6), 28.3 (CH<sub>3</sub>, C-20).

7 $\alpha$ -Hidroxibacchotricuneatina A (**56**): cristal incoloro; pf = 248-253 °C;  $[\alpha]_{589} = -53.0$  (1.3 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH); RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C ver Tabla 8; EM-DART *m/z* [M+H]<sup>+</sup> 359 (calculado para C<sub>20</sub>H<sub>27</sub>O<sub>4</sub>, 359).

Salvigenina (**57**): RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  12.77 (1H, s, OH-5), 7.84 (2H, *da*, *J* = 8.9, H-2', H-6'), 7.02 (2H, *da*, *J* = 8.1, H-3', H-5'), 6.59 (1H, s, H-3), 6.54 (1H, s, H-8), 3.97 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-7), 3.92 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-6), 3.89 (3H, s, OCH<sub>3</sub>-4'); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  182.8 (C, C-4), 164.1 (C, C-2), 162.7 (C, C-4'), 158.9 (C, C-7), 153.4 (C, C-9), 153.2 (C, C-5), 132.8 (C, C-6), 128.1 (CH, C-2'), 128.1 (CH, C-6'), 123.7 (C, C-1'), 114.7 (CH, C-3'), 114.7 (CH, C-5'), 106.3 (C, C-10), 104.3 (CH, C-3), 90.7 (CH, C-8), 61.0 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-6), 56.5 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-7), 55.7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-4').

Diacetato de eupatorina (**58**): RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C ver Tabla 9. EM-IE ver Esquema 34.

### 5.3.2 Extracción y purificación de los metabolitos secundarios de *S. fulgens* Cav.

El material vegetal se secó a temperatura ambiente y en la sombra, se separaron flores, tallos y hojas, y éstas últimas se molieron en un molino de cuchillas (361 g). Se realizó una extracción por percolación con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 L). El extracto se concentró para producir 8.2 g de residuo. Se tomaron 8.0 g del extracto (200 mg se guardaron como referencia) y se sometieron a CC sobre sílica gel 230-400 usando un gradiente de elución con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Acetona (95:5-0:100) hasta obtener 134 fracciones de ca. 125 mL cada una, que se reunieron en 35 fracciones primarias (A-I'). La fracción D se sometió a CC "flash" sobre sílica gel 230-400 con un gradiente de elución de Hexano:AcOEt (21:79-0:100) y un flujo de 25 mL/min, se obtuvieron 41 fracciones de 50 mL cada una (D1-D41), en las fracciones D16-D18 precipitaron los compuestos **7** y **18** como mezcla (102.8 mg). 10.0 mg de esta mezcla se sometieron

a separación por HPLC utilizando una columna semipreparativa de fase reversa (Gemini-NX C18) y una fase móvil isocrática de CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (ácido fórmico al 0.1%, 40:60) durante 25 min con un flujo de 4.6 mL/min, para producir los compuestos **7** (4.3 mg) y **18** (0.8 mg). La salviarina (**7**) (186.2 mg) también precipitó a partir de la fracción E. La fracción G se sometió a CC “flash” sobre sílica gel 230-400 con una gradiente de elución de Hexano:AcOEt (80:20-0:100) y un flujo de 25 mL/min, se obtuvieron 45 fracciones de 50 mL cada una (G1-G45). Las fracciones G10-G13 se sometieron a CC “flash” sobre sílica gel 230-400 con un gradiente de elución de Hexano:AcOEt (72:28-0-100) y un flujo de 10 mL/min, se obtuvieron 77 fracciones de 10 mL cada una, en las fracciones 14-16 se identificó el compuesto **27** (17.1 mg). El compuesto **61** (53.3 mg) precipitó a partir de las fracciones G18-G23. Las fracciones G31-G34 se purificaron por CCDp con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:M1 (7:3) como fase móvil para dar el compuesto **62** (3.7 mg) como mezcla epimérica en C-15. La fracción M se sometió a CCDp con Hexano:Acetona (1:1) como fase móvil y se obtuvieron 7 fracciones (Ma-Mg), la fracción Mf se purificó por CCDp con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:M1 (1:1) como fase móvil para dar la kumatakenina (**64**, 1.5 mg). La fracción R se sometió a CC sobre sílica gel 230-400 con una fase móvil isocrática de Hexano:Acetona (1:1) hasta obtener 61 fracciones de 10 mL cada una, que se reunieron en ocho fracciones secundarias (RA-RH); la fracción RD se sometió a CCDp con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (9:1) como fase móvil y se obtuvieron 7 fracciones terciarias (RDa-RDg), la fracción RDc se sometió a HPLC utilizando una columna semipreparativa de fase reversa (GeminiNX C18) y una fase móvil isocrática de CH<sub>3</sub>CN:H<sub>2</sub>O (ácido fórmico al 0.1%, 25:75) durante 30 min con un flujo de 4.6 mL/min, para producir los compuestos **63** (5.4 mg) y **65** (1.0 mg), **63** se identificó como una mezcla epimérica en C-15. Los ácidos ursólico (**59**) y oleanólico (**60**) precipitaron a partir de la fracción G y se identificaron como mezcla.

Salviarina (**7**): polvo blanco; pf = 198-200 °C;  $[\alpha]_{589} = -133.22$  (0.9 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  7.46 (1H, s, H-16), 7.42 (1H, t,  $J = 1.7$ , H-15), 6.42 (1H, dd,  $J = 1.6, 0.6$ , H-14), 6.00 (1H, dddd,  $J = 9.8, 4.5, 3.7, 1.8$ , H-2), 5.65 (1H, dta,  $J = 10.1, 2.8$ , H-3), 5.36 (1H, dd,  $J = 12.5, 3.6$ , H-12), 4.26 (1H, d,  $J = 9.0$ , H-19<sub>pro-R</sub>),

4.20 (1H, *dd*,  $J = 8.9, 1.9$ , H-19<sub>pro-S</sub>), 2.79 (1H, *q*,  $J = 2.8$ , H-4), 2.48 (1H, *dq*,  $J = 14.6, 3.1$ , H-7 $\beta$ ), 2.45 (1H, *t*,  $J = 3.0$ , H-8), 2.23 (1H, *dd*,  $J = 14.8, 3.6$ , H-11 $\beta$ ), 2.16-2.10 (1H, *m*, H-1 $\beta$ ), 2.07 (1H, *dq*,  $J = 11.9, 2.6$ , H-1 $\alpha$ ), 2.03 (1H, *da*,  $J = 2.9$ , H-10), 1.91 (1H, *tt*,  $J = 14.1, 4.1$ , H-7 $\alpha$ ), 1.91-1.87 (1H, *m*, H-6 $\alpha$ ), 1.77 (1H, *dd*,  $J = 14.7, 12.6$ , H-11 $\alpha$ ), 1.36 (1H, *td*,  $J = 13.9, 4.1, 2.0$ , H-6 $\beta$ ), 1.02 (3H, *s*, CH<sub>3</sub>-20); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  175.6 (C, C-18), 171.5 (C, C-17), 144.0 (CH, C-15), 139.8 (CH, C-16), 128.9 (CH, C-2), 124.9 (C, C-13), 121.6 (CH, C-3), 108.5 (CH, C-14), 70.7 (CH, C-12), 70.1 (CH<sub>2</sub>, C-19), 52.3 (CH, C-4), 49.2 (CH, C-8), 41.5 (C, C-5), 41.1 (CH<sub>2</sub>, C-11), 38.4 (CH, C-10), 35.3 (C, C-9), 32.6 (CH<sub>2</sub>, C-6), 23.8 (CH<sub>3</sub>, C-20), 22.1 (CH<sub>2</sub>, C-1), 19.0 (CH<sub>2</sub>, C-7); EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 343.15558 (calculado para C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>O<sub>5</sub>, 343.15455,  $\Delta = +3.00$ , IDE = 10).

1(10)-Dehidrosalviarina (**18**): polvo blanco; pf = 193-195 °C;  $[\alpha]_{589} = -232.5$  (0.8 mg mL<sup>-1</sup>, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  7.49 (1H, *sa*, H-16), 7.44 (1H, *sa*, H-15), 6.44 (1H, *sa*, H-14), 6.15 (1H, *ddd*,  $J = 9.3, 6.0, 3.0$ , H-2), 6.03 (1H, *da*,  $J = 6.0$ , H-1), 5.61 (1H, *dd*,  $J = 9.4, 2.7$ , H-3), 5.52 (1H, *dd*,  $J = 12.3, 2.7$ , H-12), 4.50 (1H, *d*,  $J = 8.3$ , H-19<sub>pro-R</sub>), 4.00 (1H, *dd*,  $J = 8.4, 1.2$ , H-19<sub>pro-S</sub>), 3.08 (1H, *t*,  $J = 2.5$ , H-4), 2.59 (1H, *dd*,  $J = 15.0, 2.8$ , H-11 $\beta$ ), 2.54 (1H, *m*, H-8), 2.53 (1H, *dq*,  $J = 14.2, 3.1$ , H-7 $\beta$ ), 2.07 (1H, *tt*,  $J = 14.2, 3.4$ , H-7 $\alpha$ ), 1.96 (1H, *dd*,  $J = 14.8, 12.5$ , H-11 $\alpha$ ), 1.83 (1H, *dt*,  $J = 14.3, 3.1$ , H-6 $\alpha$ ), 1.39 (1H, *ta*,  $J = 14.0$ , H-6 $\beta$ ), 1.25 (3H, *s*, CH<sub>3</sub>-20); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  177.4 (C, C-18), 171.5 (C, C-17), 144.0 (CH, C-15), 139.8 (CH, C-16), 139.6 (C, C-10), 124.9 (C, C-13), 124.8 (CH, C-2), 119.8 (CH, C-1), 119.5 (CH, C-3), 108.5 (CH, C-14), 76.0 (CH<sub>2</sub>, C-19), 70.9 (CH, C-12), 51.7 (CH, C-4), 48.6 (CH, C-8), 42.6 (C, C-5), 40.9 (CH<sub>2</sub>, C-11), 37.8 (C, C-9), 32.4 (CH<sub>3</sub>, C-20), 32.2 (CH<sub>2</sub>, C-6), 19.3 (CH<sub>2</sub>, C-7). EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 341.13947 (calculado para C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>O<sub>5</sub>, 341.13890,  $\Delta = +1.68$ , IDE = 11).

Involucratina C (**27**): polvo blanco; pf = 223-228 °C;  $[\alpha]_{589} = -18.33$  (1.2 mg mL<sup>-1</sup>, CHCl<sub>3</sub>); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$  7.41 (1H, *dt*,  $J = 1.5, 0.7$ , H-16), 7.39 (1H, *t*,  $J = 1.8$ , H-15), 6.37 (1H, *dd*,  $J = 1.8, 0.8$ , H-14), 6.34 (1H, *da*,  $J = 11.6$ , H-2), 6.10 (1H, *da*,  $J = 11.6$ , H-3), 6.10-6.02 (2H, *m*, H-1, H-10), 5.66 (1H, *ddd*,  $J = 12.2, 6.1, 2.3$ , H-7), 5.36 (1H, *dd*,  $J = 11.9, 3.1$ , H-12), 4.88 (1H, *d*,  $J = 18.0$ , H-19<sub>pro-R</sub>), 4.73 (1H,

*d*,  $J = 18.0$ , H-19<sub>pro-s</sub>), 3.56 (1H, *t*,  $J = 12.9$ , H-6 $\alpha$ ), 2.71 (1H, *sa*, H-8), 2.63 (1H, *d*,  $J = 13.7$ , 6.1, H-6 $\beta$ ), 2.13 (1H, *dd*,  $J = 14.4$ , 2.1, H-11a), 2.08 (3H, *s*, CH<sub>3</sub>-2'), 1.94 (1H, *dd*,  $J = 14.7$ , 12.0, H-11b), 1.53 (1H, *s*, CH<sub>3</sub>-20); RMN <sup>13</sup>C; (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$  174.7 (C, C-18), 171.1 (C, C-17), 170.1 (C, C-1'), 152.0 (C, C-5), 143.9 (CH, C-15), 140.6 (CH, C-10), 140.0 (CH, C-16), 133.3 (CH, C-2), 124.8 (C, C-4), 123.6 (CH, C-1), 123.5 (C, C-13), 121.6 (CH, C-3), 108.4 (CH, C-14), 71.8 (CH<sub>2</sub>, C-19), 70.9 (CH, C-7), 70.2 (CH, C-12), 46.3 (CH, C-8), 45.0 (CH<sub>2</sub>, C-11), 39.1 (C, C-9), 33.1 (CH<sub>2</sub>, C-6), 23.5 (CH<sub>3</sub>, C-20), 21.1 (CH<sub>3</sub>, C-2'); EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 399.14358 (calculado para C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>, 399.14438,  $\Delta = -2.01$ , IDE = 12).

7 $\alpha$ -Acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**): polvo blanco; *pf* = 138-140 °C;  $[\alpha]_{589} = -95.00$  (1.8 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH);  $\lambda_{\text{máx}}$  [nm] (log  $\epsilon$ ): 212.0 (3.77), 300.0 (3.28); ATR  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>) 3040, 2968, 2942, 2909, 1735, 1665, 1568, 1380, 1369, 1220, 1192, 1042, 1017, 921, 875, 803, 727, 602; RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C ver Tabla 10; EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 399.14529 (calculado para C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>, 399.14438,  $\Delta = +2.29$ , IDE = 12).

(**62**): polvo blanco; descompone >177 °C;  $\lambda_{\text{máx}}$  [nm] (log  $\epsilon$ ): 212.0 (3.51), 298.0 (3.47); ATR  $\nu_{\text{máx}}$  (cm<sup>-1</sup>) 3381, 2938, 1738, 1572, 1432, 1368, 1240, 1210, 1189, 1001, 923, 687; RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C ver Tabla 11; EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 431.13319 (calculado para C<sub>22</sub>H<sub>23</sub>O<sub>9</sub>, 431.13421,  $\Delta = -2.35$ , IDE = 12).

(**63**): polvo blanco; *pf* = 180-182 °C;  $\lambda_{\text{máx}}$  [nm] (log  $\epsilon$ ): 225.0 (3.44); RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C ver Tabla 12; EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 375.14445 (calculado para C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>O<sub>7</sub>, 375.14438,  $\Delta = +0.19$ , IDE = 10).

Kumatakenina (**64**): polvo blanco; *pf* = 234-237 °C; RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  12.96 (1H, *s*, OH-5), 7.97 (2H, *da*,  $J = 8.8$ , H-2', H-6'), 7.03 (2H, *da*,  $J = 8.8$ , H-3', H-5'), 6.86 (1H, *d*,  $J = 2.6$ , H-8), 6.68 (1H, *d*,  $J = 2.8$ , H-6), 3.99 (3H, *s*, OCH<sub>3</sub>-7), 3.80 (3H, *s*, OCH<sub>3</sub>-3); RMN <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  183.5 (C, C-4), 165.3 (C, C-2), 162.1 (C, C-4'), 160.1 (C, C-7), 154.1 (C, C-9), 154.0 (C, C-5), 133.5 (C, C-3), 129.3 (2CH, C-2', C-6'), 123.2 (C, C-1'), 116.9 (2CH, C-3', C-5'), 106.5 (C, C-10), 104.0 (CH, C-6), 91.9 (CH, C-8), 60.5 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-3), 56.8 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-7); EM-DART-AR  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> 315.08567 (calculado para C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>O<sub>6</sub>, 315.08686,  $\Delta = -3.78$ , IDE = 11).

Melodinina A (**65**): aceite amarillo;  $[\alpha]_{589} = +6.67$  (0.6 mg mL<sup>-1</sup>, MeOH); RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz)  $\delta$  7.00 (1H, *sa*, H-2), 6.98 (1H, *d*,  $J = 1.8$ , H-2'), 6.96 (1H, *d*,  $J = 8.1$ , H-5'), 6.903 (1H, *sa*, H-6), 6.902 (1H, *d*,  $J = 1.3$ , H-4), 6.88 (1H, *dd*,  $J = 8.1, 1.8$ , H-6'), 5.66 (1H, *s*, OH-4'), 5.60 (1H, *s*, OH-5), 4.86 (1H, *d*,  $J = 4.9$ , H-7), 4.85 (1H, *sa*, H-7'), 4.54 (1H, *dd*,  $J = 9.1, 8.2$ , H-9 $\alpha$ ), 4.06 (1H, *d*,  $J = 9.3$ , H-9 $\beta$ '), 3.93 (3H, *s*, OCH<sub>3</sub>-3'), 3.913 (1H, *d*,  $J = 9.2$ , H-9' $\alpha$ ), 3.909 (3H, *s*, OCH<sub>3</sub>-3), 3.85 (1H, *dd*,  $J = 9.2, 6.3$ , H-9 $\beta$ ), 3.12 (1H, *ddd*,  $J = 8.1, 6.3, 5.0$ , H-8), 1.61 (1H, *s*, OH-8'); RMN <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz)  $\delta$  147.1 (C, C-3), 146.9 (C, C-3'), 146.2 (C, C-5), 145.6 (C-C4'), 132.6 (C, C-1), 127.2 (C, C-1'), 119.85 (CH, C-6), 119.77 (CH, C-6'), 114.9 (CH, C-5'), 114.4 (CH, C-4), 109.5 (CH, C-2'), 109.2 (CH, C-2), 91.8 (C, C-8'), 88.0 (CH, C-7'), 86.0 (CH, C-7), 74.9 (CH<sub>2</sub>, C-9'), 71.8 (CH<sub>2</sub>, C-9), 60.3 (CH, C-8), 56.2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-3'), 56.1 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-3).

## 5.4 Determinación de la configuración absoluta de los compuestos 25 y 61

### 5.4.1 Dicroísmo circular electrónico

Los conformeros más estables de la involucratina A (**25**) se obtuvieron utilizando modelos moleculares construidos en Spartan 10. El análisis conformacional se realizó mediante el mismo software. Todos los conformeros fueron filtrados y posteriormente se minimizaron y optimizaron y las propiedades termoquímicas, incluidos IR y análisis vibracionales, se obtuvieron con Gaussian 09 utilizando un campo de fuerza DFT en el nivel teórico B3LYP/DFDZVP.

Los cálculos de DCE en disolución de metanol se llevaron a cabo empleando un campo de fuerza TD-SCF en el nivel teórico B3LYP/DFDZVP. La energía de excitación calculada (nm) y la fuerza rotatoria ( $R$ ) en forma de velocidad de dipolo ( $R_{vel}$ ) fue simulada en una curva de DCE usando la ecuación 1 (donde  $E_k$  y  $R_k$  son la energía de transición y la fuerza rotatoria de la transición electrónica  $k^{th}$ , respectivamente, y  $\sigma$  es el ancho medio exponencial), tal como se implementa en el software SpecDis.

$$\Delta\epsilon(\lambda) = \frac{1}{2.296 \times 10^{-39}} \times \frac{1}{\sigma\sqrt{\pi}} \sum_k E_{0k} R_{0k} e \left[ -\left\{ \frac{E - E_{0k}}{\sigma} \right\}^2 \right] \dots \text{Ecuación 1}$$

Todos los cálculos se realizaron en la HP Cluster Platform 3000SL “Miztli”, una supercomputadora paralela con sistema operativo Linux, que contiene 25 312 núcleos y un total de 15 000 GB de RAM.

#### 5.4.2 Análisis por difracción de rayos X

Un cristal de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihydrogesnerofolina B (**61**) se colocó en una fibra de vidrio para la colección de los datos usando radiación de Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$ ) a 100(2) K en el modo barrido  $\omega/2\theta$ . Se utilizó un cristal blanco con dimensiones de 0.389 x 0.328 x 0.232 mm, C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>O<sub>7</sub>, M = 398.14, que cristalizó en un sistema cristalino ortorrómbico, con un grupo espacial P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>,  $a = 8.98790(10) \text{ \AA}$ ,  $b = 15.4156(3) \text{ \AA}$ ,  $c = 16.7032(3) \text{ \AA}$ ,  $V = 2314.29(7) \text{ \AA}^3$ ,  $Z = 4$ ,  $\rho = 1.486 \text{ mg/mm}^3$ ,  $\mu = 3.963 \text{ mm}^{-1}$ , se colectaron 24855 reflexiones totales y 4448 ( $R_{\text{int}} = 0.046$ ) independientes. Cada estructura fue resuelta por métodos directos usando el programa cristalográfico SHELXS-97 incluido en el software del paquete WinGX v1.70.01. El software lex2 v1.1.5 permitió calcular el índice de Flack. Éste índice para el compuesto **61** fue  $x = 0.01(4)$ .

### 5.5 Determinación de la actividad biológica

#### 5.5.1 Evaluación de la actividad antiproliferativa

Se evaluó la actividad antiproliferativa de algunos de los compuestos aislados utilizando las líneas celulares humanas: adenocarcinoma mamario (MCF-7), leucemia mieloide crónica (K562), glioblastoma (U251), adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1), cáncer de colon (HCT-15), cáncer de próstata (PC-3) y células sanas de riñón de mono (COS-7). Todas las líneas celulares fueron adquiridas del National Cancer Institute (NCI, USA) y de la American Type Culture Collection (ATCC). La evaluación se llevó a cabo utilizando el ensayo de la sulforrodamina B (SRB) en microcultivo para determinar el crecimiento celular, de acuerdo con el protocolo establecido por el NCI.<sup>66</sup> Para la determinación de la concentración inhibitoria 50

---

<sup>66</sup> Monks, A.; Scudiero, D.; Skehan, P.; Shoemaker, R.; Paull, K.; Vistica, D.; Hose, C.; Langley, J.; Cronise, P. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **1991**, *83*(11), 757-766.

(CI<sub>50</sub>) se llevaron a cabo tres experimentos independientes para cada concentración.

### 5.5.2 Evaluación de la actividad fitotóxica

El potencial fitotóxico de dos compuestos aislados de *S. fulgens* (**7** y **61**) se evaluó utilizando semillas de cuatro plantas, las cuales son consideradas como malezas.<sup>67</sup> Para los bioensayos se utilizaron *Amaranthus hypochondriacus* (amaranto), *Medicago sativa* (alfalfa), *Panicum miliaceum* (mijo) y *Trifolium pratense* (trébol). Las semillas fueron adquiridas en Casa Cobos S.A de C.V., Central de Abastos, Ciudad de México, México.

Para la realización de este bioensayo se utilizaron cajas de Petri de 5 cm de diámetro en las que se adicionaron 5 mL de agar 2 % y los compuestos evaluados a una concentración de 100 ppm, se colocaron 30 semillas por caja para cada una de las plantas de prueba. Como control se utilizaron cajas que contenían RIVAL® (glifosato) a 200 ppm. Cada experimento se repitió por cuadruplicado. Las semillas de *A. hypochondriacus* fueron incubadas por 24 h y las demás por 48 h, todas a una temperatura de 27 °C en condiciones de completa oscuridad. Una vez transcurrido el periodo de incubación se contabilizaron las semillas no germinadas y se midió la longitud de la raíz.

Los resultados de germinación y crecimiento de la raíz se analizaron mediante ANOVA de una vía y una prueba de Tukey HSD mediante el programa GraphPad Prism versión 6.01.

---

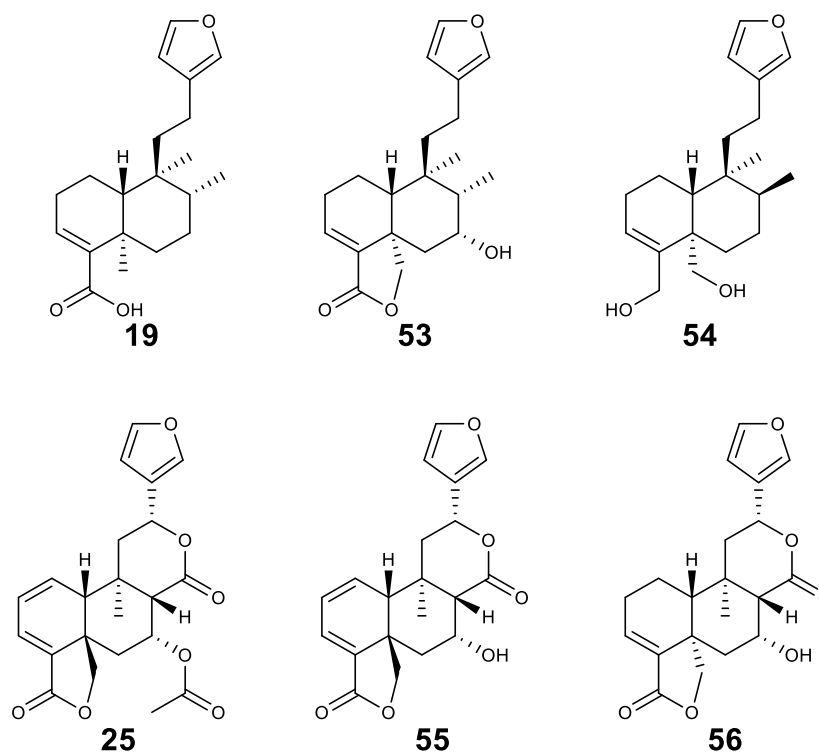
<sup>67</sup> Espinosa-García F. J.; Sánchez-Blanco, J.; Medina-Murillo, E.; Sánchez-Blanco, C. Malezas introducidas en México. Centro de Investigaciones en Ecosistemas. Universidad Nacional Autónoma de México, **2000**. Bases de datos SNIB-CONABIO, proyecto U024. México, Ciudad de México.



## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Compuestos aislados de *S. involucrata* Cav.

De las hojas de *S. involucrata* Cav. se aislaron mediante técnicas cromatográficas 10 compuestos (**19**, **25**, **53-60**), de los cuales seis son diterpenoides de tipo *neo*-clerodano (**19**, **25**, **53-56**), dos flavonas (**57-58**) y dos triterpenoides (**59-60**). Las estructuras de estos compuestos fueron establecidas mediante el empleo de técnicas espectroscópicas, principalmente RMN.



**Esquema 20.** *neo*-Clerodanos aislados de *S. involucrata* Cav. **19**) Ácido hardwickiico, **25**) involucratina A, **53**) 1-deoxibacrispina, **54**) kingidiol, **55**) (5*R*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*)-7-hidroxicleroda-1,3,13(16),14-tetraen-17,12;18,19-diólida, **56**) 7α-hidroxibacchotricuneatina A.

De acuerdo con la literatura química, todos los compuestos se encuentran descritos. El ácido hardwickiico (**19**) fue aislado por primera vez de la planta *Hardwickia pinnata* en 1964,<sup>68</sup> pero fue en 2004 cuando se determinó su configuración absoluta

<sup>68</sup> Misra, R.; Pandey, R. C.; Dev, S. Chemistry of the oleoresin from *Hardwickia pinnata*. A series of new diterpenoids. *Tetrahedron Lett.* **1964**, (49), 3751-3759.

por difracción de rayos X.<sup>69</sup> La 1-deoxibacrispina (**53**) se aisló por primera vez de *Baccharis crispa* en 1980,<sup>70</sup> además también se ha identificado en una especie de *Salvia* (*S. melissodora*) en 1988,<sup>71</sup> no obstante, en este trabajo se hará precisión sobre las asignación de sus espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, ya que se observaron discrepancias con las asignaciones originales. El kingidiol (**54**) también ha sido identificado en especies del género *Baccharis*,<sup>72,73</sup> el primer reporte que se tiene de este compuesto es en 1984, en el que se aisló de *B. kingii*, mientras que en 1991 se aisló de *B. lejía*. Con respecto al compuesto **55**, se ha aislado previamente de *S. chamaedryoides* en un trabajo del 2017,<sup>74</sup> en este mismo trabajo también se identificó la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (**56**), y esta última fue identificada por primera vez en *Baccharis incarum*, sin embargo, no se cuenta con la asignación completa de sus espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, por lo que se abordará en el presente trabajo.<sup>75</sup> En cuanto a la involucratina A (**25**) se identificó en un trabajo previo sobre *S. involucrata* Cav,<sup>50</sup> sin embargo, la configuración absoluta no fue establecida, por lo que en este estudio se determinará mediante el análisis de su espectro de dicroísmo circular electrónico (DCE).

<sup>69</sup> Chaichantipyuth, C.; Muangsin, N.; Chaichit, N.; Roengsumran, S.; Petsom, A.; Watanabe, T.; Ishikawa, T. Crystal structure of (-)-hardwickiic acid, C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>OCO<sub>2</sub>H. *Zeitschrift fuer Kristallographie - New Crystal Structures* **2004**, 219(2), 111-113.

<sup>70</sup> Tonn, C. E.; Giordano, O. S. A new furane diterpenoid from *Baccharis crispa* Sprengel. *An. Asoc. Quim. Argent.* **1980**, 68(5-6), 237-241.

<sup>71</sup> Esquivel, B.; Vallejo, A.; Gavino, R.; Cárdenas, J.; Sánchez, A. A.; Ramamoorthy, T. P.; Rodríguez-Hahn, L. Clerodane diterpenoids from *Salvia melissodora*. *Phytochemistry* **1988**, 27(9), 2903-2905.

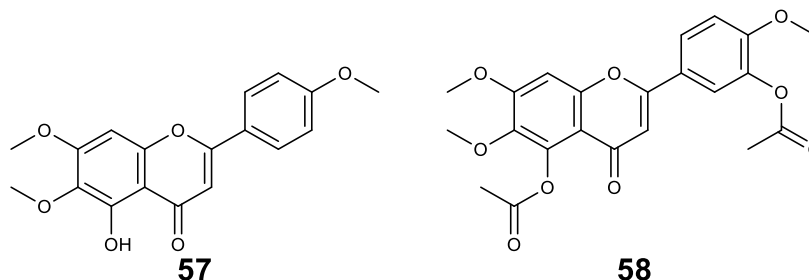
<sup>72</sup> Bohlmann, F.; Zdero, C.; King, R. M.; Robinson, H. Kingidiol, a kolavane derivative from *Baccharis kingii*. *Phytochemistry* **1984**, 23(7), 1511-1512.

<sup>73</sup> Labbe, C.; Castillo, M.; Hernández, M. Diterpenoids from *Baccharis lejía*. *Phytochemistry* **1991**, 30(5), 1607-1611.

<sup>74</sup> Bisio, A.; De Mieri, M.; Milella, L.; Schito, A. M.; Parricchi, A.; Russo, D.; Alfei, S.; Lapillo, M.; Tuccinardi, T.; Hamburger, M.; De Tommasi, N. Antibacterial and hypoglycemic diterpenoids from *Salvia chamaedryoides*. *J. Nat. Prod.* **2017**, 80(2), 503-514.

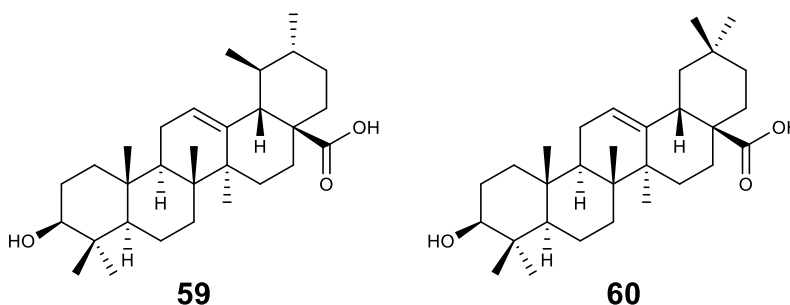
<sup>75</sup> Givovich, A.; San-Martin, A.; Castillo, M. Neoclerodane diterpenoids from *Baccharis incarum*. *Phytochemistry* **1986**, 25(12), 2829-2831.

Las flavonas identificadas corresponden a la salvigenina (**57**) y el diacetato de eupatorina (**58**). Esta última se obtuvo de una reacción de acetilación con anhídrido acético y piridina, por lo que se puede confirmar que en la planta se encuentra presente la eupatorina.



**Esquema 21.** Flavonas aisladas de *S. involucrata* Cav. **57)** Salvigenina, **58)** diacetato de eupatorina.

Los triterpenoides identificados en la planta, los ácidos ursólico (**59**) y oleanólico (**60**), fueron identificados en mezcla. Estos productos suelen estar presentes en muchas especies del género *Salvia*, indistintamente de la sección o subgénero al que pertenezcan.<sup>76,77</sup>



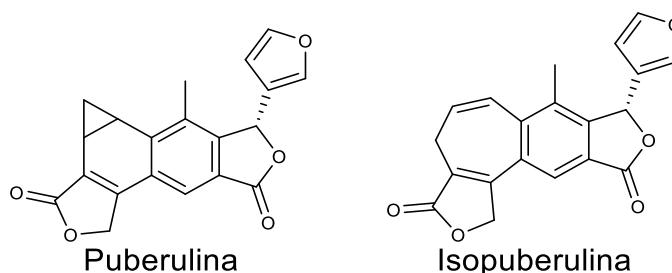
**Esquema 22.** Triterpenoides identificados en *S. involucrata* Cav. **59)** Ácido ursólico, **60)** ácido oleanólico.

Como se mencionó en los antecedentes, recientemente distintos autores consideran a *S. puberula* Fernald como un sinónimo de *S. involucrata* Cav.,<sup>34,35</sup> pero hace 34 años se publicó el contenido de diterpenoides de una población de *S. puberula* Fernald colectada en el municipio de Rayón, San Luis Potosí y se reportó

<sup>76</sup> Jash, S. K.; Gorai, D.; Roy, R. *Salvia* genus and triterpenoides. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2016**, *7*(12), 4710-4732.

<sup>77</sup> Abdollahi-Ghehi, H.; Sonboli, A.; Ebrahimi, S. N.; Esmaeili, M. A.; Mirjalili, M. H. Triterpenic Acid Content and Cytotoxicity of Some *Salvia* Species from Iran. *Nat. Prod. Commun.* **2019**, *14*(5), 1-8.

la presencia de puberulina e isopuberulina (Esquema 23), dos diterpenoides de origen clerodánico.<sup>78</sup> Sin embargo, estos compuestos (o compuestos similares) no se encontraron en ninguna de las dos colectas de *S. involucrata* aquí estudiadas y, por lo tanto, el contenido de diterpenoides es significativamente diferente entre estas dos poblaciones y la del trabajo de 1988. Aunque ha sido documentado que para algunas especies mexicanas de *Salvia* el contenido de diterpenoides puede variar dependiendo de la ubicación, la época del año en que se realiza la colecta y/o el ambiente local,<sup>79</sup> los estudios sobre las dos poblaciones de *S. involucrata* resultaron en un perfil químico idéntico a pesar de haber sido recolectadas en diferentes épocas del año.



**Esquema 23.** Diterpenoides aislados de *S. puberula* Fernald en 1988.

También es importante señalar que las dos poblaciones de *S. involucrata* estudiadas crecen en el municipio de Xilitla, San Luis Potosí, que se ubica en la vertiente oriental de la cordillera de la Sierra Madre Oriental, mientras que la población de *S. involucrata* analizada bajo el sinónimo de *S. puberula*, se cosechó en el municipio de Rayón, San Luis Potosí, pero en la vertiente occidental de la Sierra Madre Oriental, a unos 75 kilómetros de Xilitla (Figura 11). Este aislamiento geográfico impide el flujo genético entre las poblaciones, lo que probablemente resulte en las diferencias químicas observadas entre las colecciones. El aislamiento geográfico se considera uno de varios factores que han desencadenado la gran diversidad y riqueza del subgénero *Calosphace* de *Salvia* en México.<sup>24</sup>

<sup>78</sup> Rodríguez-Hahn, L.; Esquivel, B.; Sánchez, A. A.; Cárdenas, J.; Tovar, O. G.; Soriano-García, M.; Toscano, A. Puberulin and isopuberulin, benzonorcaradiene and benzocyclo-heptatriene diterpenoids of clerodanic origin from *Salvia puberula*. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*(17), 3933-3936.

<sup>79</sup> Bautista, E.; Fragoso-Serrano, M.; Ortiz-Pastrana, N.; Toscano, R. A.; Ortega, A. Structural elucidation and evaluation of multidrug-resistance modulatory capability of amarissinins A-C, diterpenes derived from *Salvia amarissima*. *Fitoterapia* **2016**, *114*, 1-6.

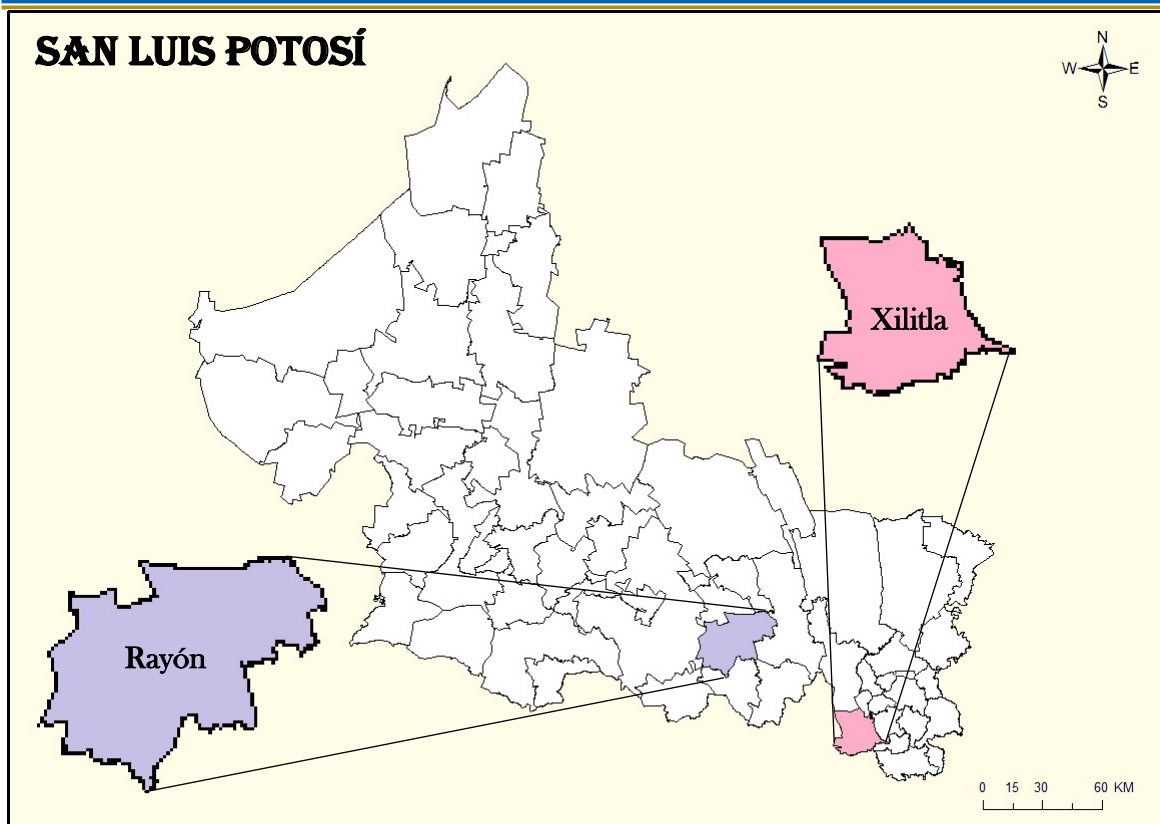
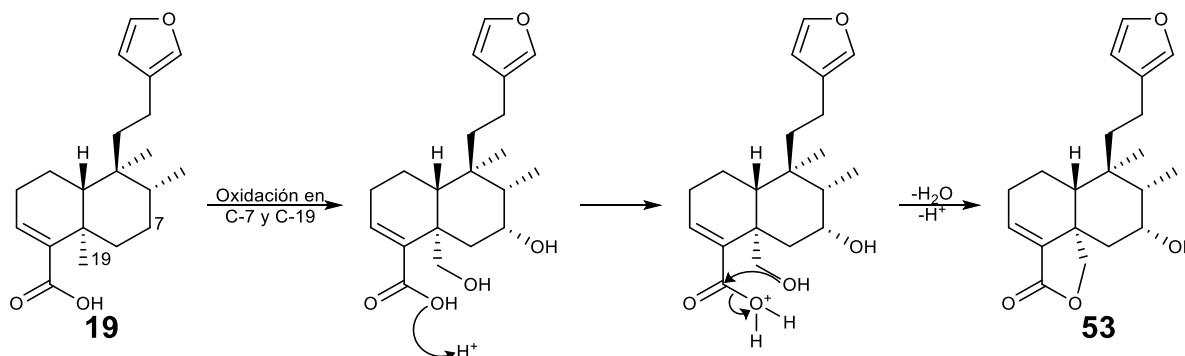


Figura 11. Municipios de San Luis Potosí en los que se colectaron *S. puberula* (Rayón) y *S. involucrata* (Xilitla).

A pesar de lo anterior, es necesario realizar análisis fitoquímicos de diferentes poblaciones de *S. involucrata* y su especie sinónima *S. puberula*, para establecer su variabilidad en la composición química y respaldar la conclusión taxonómica descrita anteriormente.

Con respecto al contenido de diterpenoides de tipo clerodano encontrado para *S. involucrata*, es consistente con el hecho de que este tipo de metabolitos secundarios son los más frecuentemente aislados de las especies de *Salvia* pertenecientes al subgénero *Calosphace*. También se observa una estrecha relación estructural con los diterpenoides aislados de salvias de la sección *Holwaya*, el ejemplo más claro de ello es el ácido hardwickiico (**19**), ya que éste se ha identificado en *S. wagneriana* y distintos derivados de este ácido se han aislado de *S. adenophora*.<sup>39,48</sup> Además, de este compuesto, también se puede generar la 1-deoxibacrispina (**53**), ya que únicamente difieren en la funcionalidad de las posiciones C-7, C-18 y C-19. En el Esquema 24 se propone una ruta biogénica para la formación de **53** a partir de

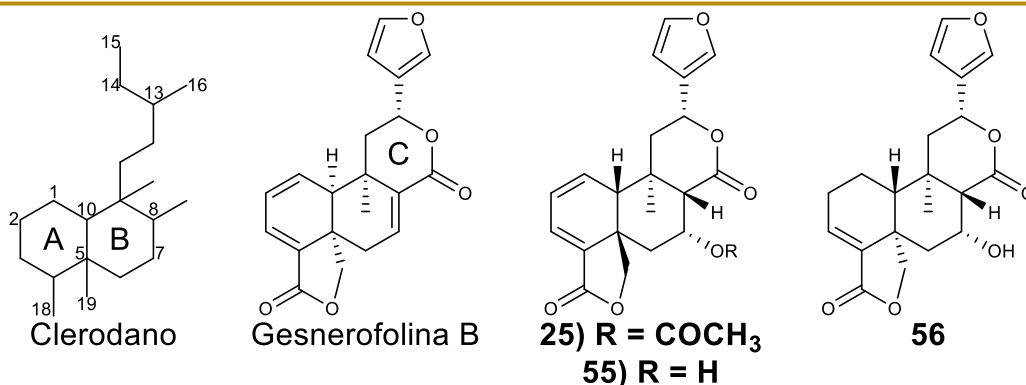
**19**, en la que al oxidarse las posiciones C-7 y C-19 se forman los alcoholes correspondientes y posteriormente se forma una  $\gamma$ -lactona por la condensación del ácido carboxílico de C-18 con el alcohol de C-19.



**Esquema 24.** Propuesta biogénica para la formación de **53** a partir de **19**.

Con respecto a los compuestos **25**, **55-56**, se observa una relación estructural muy estrecha con un compuesto identificado en *S. gesneriiflora*,<sup>40,42</sup> la gesnerofolina B (**8**) (Esquema 25). Los cuatro compuestos tienen la misma conectividad C-C en toda la molécula y comparten la mayoría de grupos funcionales, como lo son la  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada que se forma entre C4-C5-C18-C19, la  $\delta$ -lactona del anillo C y el anillo de furano en las posiciones 13-16. Adicionalmente se observa que el compuesto **56** es un *trans*-*neo*-clerodano, mientras que los compuestos **25**, **55** y la gesnerofolina B son *cis*-*neo*-clerodanos,<sup>80</sup> pero esta última difiere en la orientación de H-10 y C-19, orientados  $\alpha$ , a diferencia de los compuestos **25** y **55** donde están  $\beta$  orientados. Por último, los compuestos **25**, **55-56** tienen funciones oxigenadas en C-7, y en contraste con la gesnerofolina B (**8**), no tienen el doble enlace entre C7-C8, y en el caso de **56** tampoco está el doble enlace entre C1-C2.

<sup>80</sup> La denominación de *cis* y *trans* se hace con respecto a la fusión de los anillos A y B y se tiene reportado que alrededor del 75 % de los clerodanos aislados de fuentes naturales tienen una fusión *trans*, mientras que el 25 % restante es *cis*. Li, R.; Morris-Natschke, S. L.; Lee, K. H. Clerodane diterpenes: sources, structures, and biological activities. *Nat. Prod. Rep.* **2016**, 33(10), 1166-1226.



**Esquema 25.** Esqueleto de clerodano, gesnerofolina B, **25**) involucratina A, **55**) (5*R*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*)-7-hidroxicleroda-1,3,13(16),14-tetraen-17,12;18,19-diólida, **56**) 7α-hidroxiacchotricuneatina A.

### 6.1.1 Asignaciones completas de los espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la 1-deoxibacrispina (**53**) y la 7α-hidroxiacchotricuneatina A (**56**)

En 1997 se asignaron la mayoría de las señales en los espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C para la elucidación estructural de **53**, además de establecerse su configuración relativa.<sup>81</sup> Sin embargo, algunas señales de RMN <sup>1</sup>H no estaban bien definidas y otras señales de RMN <sup>13</sup>C están intercambiadas, por lo que en este trabajo se reporta la asignación total de las señales de RMN (Tabla 7).

**Tabla 7.** Comparación de los datos de RMN de la 1-deoxibacrispina (**53**) aislada en este trabajo y la reportada en 1997.

Posición	Tipo*	1-deoxibacrispina aislada en el presente trabajo <sup>a</sup>		1-deoxibacrispina reportada en 1997 <sup>b</sup>	
		δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (J en Hz)	δ <sub>C</sub>	δ <sub>H</sub> (J en Hz)
1β	CH <sub>2</sub>	19.4	1.74, <i>dda</i> (12.5, 4.8)	18.1	-
1α			1.16, <i>qd</i> (12.5, 3.9)		
2α	CH <sub>2</sub>	27.8	2.40, <i>dddd</i> (18.0, 7.4, 3.9, 2.0)	19.2	2.40, <i>m</i>
2β			2.17, <i>dddd</i> (18.0, 12.0, 4.9, 2.1)		
3	CH	135.3	6.73, <i>dd</i> (7.4, 2.0)	135.0	6.73, <i>t</i> (3.0)

<sup>81</sup> Cenal, J. P.; Giordano, O. S.; Rossomando, P. C.; Tonn, C. E. Neoclerodane diterpenes from *Baccharis crispa*. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60(5), 490-492.

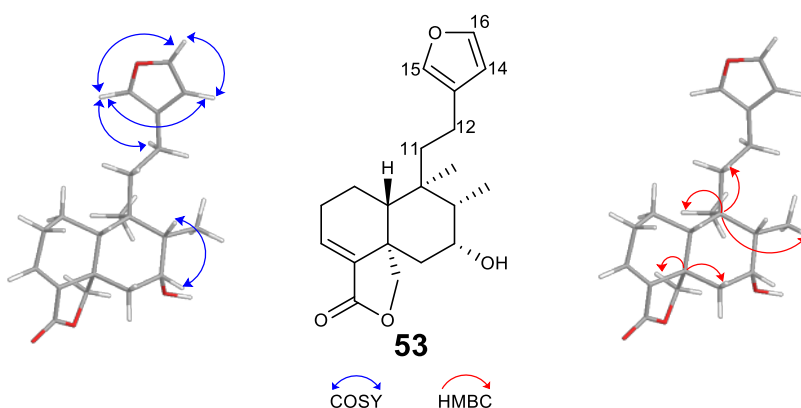
Posición	Tipo*	1-deoxibacrispina aislada en el presente trabajo <sup>a</sup>		1-deoxibacrispina reportada en 1997 <sup>b</sup>	
		$\delta_c$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (J en Hz)
4	C	139.3	-	138.3	-
5	C	45.1	-	38.8	-
6 $\alpha$	CH <sub>2</sub>	40.6	2.36, <i>dd</i> (14.3, 2.4)	40.3	2.35, <i>dd</i> (14.0, 5.0)
6 $\beta$			1.42, <i>ddd</i> (14.1, 3.5, 2.2)		1.42, <i>ddd</i> (14.0, 4.5, 1.5)
7	CH	72.9	4.12, <i>td</i> (3.6, 2.4)	72.2	4.15, <i>m</i>
	OH		5.30, <i>s</i>		-
8	CH	40.7	1.78, <i>qd</i> (7.1, 3.6)	48.1	1.78, <i>m</i>
9	C	38.7	-	44.9	-
10	CH	48.5	1.80, <i>da</i> (12.5)	40.3	1.81, <i>sa</i>
11a	CH <sub>2</sub>	38.8	1.68, <i>ddd</i> (14.7, 12.8, 4.7)	35.8	1.60-1.90, <i>m</i>
11b			1.57, <i>ddd</i> (14.7, 12.9, 4.6)		
12a	CH <sub>2</sub>	18.4	2.34, <i>td</i> (13.6, 4.6)	18.1	2.20-2.40, <i>m</i>
12b			2.16, <i>td</i> (13.6, 4.6)		
13	C	125.0	-	124.7	-
14	CH	111.0	6.27, <i>sa</i>	110.7	6.30, <i>sa</i>
15	CH	143.1	7.37, <i>t</i> (1.6)	142.8	7.40, <i>sa</i>
16	CH	138.6	7.22, <i>sa</i>	138.9	7.22, <i>sa</i>
17	CH <sub>3</sub>	12.1	1.07, <i>d</i> (7.2)	11.9	1.08, <i>d</i> (6.0)
18	C	170.1	-	170.3	-
19 <sub>pro-R</sub>	CH <sub>2</sub>	72.8	5.30, <i>d</i> (7.6)	72.8	5.33, <i>d</i> (9.0)
19 <sub>pro-S</sub>			3.92, <i>dd</i> (7.7, 2.2)		3.95, <i>dd</i> (9.0, 1.5)
20	CH <sub>3</sub>	19.5	0.87, <i>s</i>	19.2	0.91, <i>s</i>

a) <sup>1</sup>H 700 MHz, <sup>13</sup>C 175 MHz, CDCl<sub>3</sub>. \*Obtenido del espectro HSQC.

b) <sup>1</sup>H 500 MHz, <sup>13</sup>C 50 MHz, CDCl<sub>3</sub>.



La señal más desplazada en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  corresponde al carbonilo de la  $\gamma$ -lactona ( $\delta_{\text{C}}$  170.1). Por otro lado las señales en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  en  $\delta_{\text{H}}$  7.37, 7.22 y 6.27, corresponden con los hidrógenos del anillo de furano (H-15, H-16 y H-14), respectivamente. La multiplicidad de la señal de H-15 es un triple con una  $J$  de 1.6 Hz por los acoplamiento que tiene con H-14 y H-16, y estas últimas dos señales se observan como simples y anchas. En el espectro COSY se observa la correlación de H-16, H-15 y H-14, y adicionalmente se observan las correlaciones de H-14 y H-16 con las señales del metileno en la posición 12 (Esquema 26), cuyos H's se observan en el espectro en  $\delta_{\text{H}}$  2.34 y 2.16. Estos hidrógenos presentan acoplamiento geminal y acoplamiento vecinal con los hidrógenos del metileno  $\text{CH}_2$ -11, por lo que ambas señales se observan como triple de dobles.



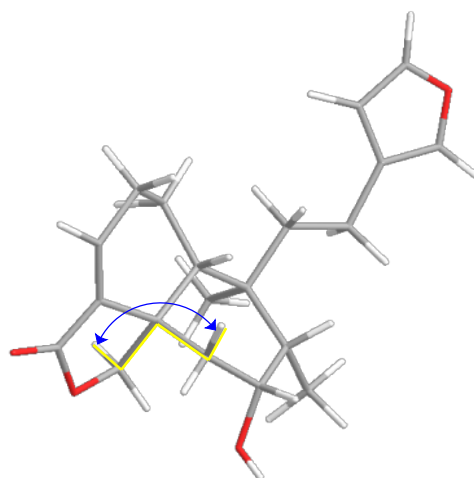
**Esquema 26.** Estructura geométrica optimizada de la 1-deoxibacrispina (**53**) con correlaciones observadas en el espectro COSY y HMBC.

Mediante el análisis del espectro HMBC se puede establecer que la señal en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  en  $\delta_{\text{C}}$  38.7 es asignable a C-9 ya que muestra acoplamiento con los hidrógenos del metileno  $\text{CH}_2$ -11 y con los hidrógenos de los metilos  $\text{CH}_3$ -17 y  $\text{CH}_3$ -20, los cuales se pueden diferenciar por la multiplicidad de sus señales, ya que el metilo 20 no presenta ningún acoplamiento al estar unido a un carbono cuaternario, mientras que el metilo 17 se observa como una señal doble debido al acoplamiento vecinal que tiene con el hidrógeno del metino  $\text{CH}$ -8 ( $\delta_{\text{H}}$  1.78,  $qd$ ,  $J = 7.1$  y  $3.6$  Hz). Esta asignación se puede confirmar por la correlación de  $\text{CH}_3$ -17 con  $\text{CH}$ -8 en el espectro COSY (Esquema 26), además el análisis del espectro HSQC

permite establecer la señal del C-8 en  $\delta_C$  40.7.<sup>82</sup> Por otra parte, la señal en RMN  $^1\text{H}$  del CH-7 ( $\delta_H$  4.12) se encuentra desprotegida por el OH-7, además, su multiplicidad (triple de dobles) se debe a los acoplamientos con los hidrógenos CH<sub>2</sub>-6 y CH-8. Las señales correspondientes al metileno CH<sub>2</sub>-6 se observan en  $\delta_H$  1.42 y 2.36, esta última está muy desplazada debido a que se encuentra en el plano de desprotección del OH-7 y de la  $\gamma$ -lactona formada por C4-C5-C18-C19. Adicionalmente, el H-6 menos desplazado tiene un acoplamiento a larga distancia con el hidrógeno pro-S del metileno 19 por lo que se observa como un doble de doble de dobles con  $J$ 's de 14.1, 3.5 y 2.2 Hz (Esquema 27), la constante de acoplamiento más grande corresponde al acoplamiento geminal con H-6 $\alpha$  y la más chica al acoplamiento a larga distancia con H-19<sub>pro-S</sub>. Este hidrógeno está en  $\delta_H$  3.92 y el H-19<sub>pro-R</sub> en  $\delta_H$  5.30, generalmente el sistema AB del metileno 19 se observa en  $\delta_H$  ~3.9 y ~4.3, pero debido a la presencia del alcohol en C-7, el H-19<sub>pro-R</sub> está en la zona de desprotección del OH-7 y provoca que la señal se desplace hasta  $\delta_H$  5.30. Por análisis del espectro HMBC se puede establecer la señal del C-5 en  $\delta_C$  45.1, ya que se observan correlaciones con los hidrógenos de los metilenos CH<sub>2</sub>-6 y CH<sub>2</sub>-19, además la correlación del CH<sub>2</sub>-19 con el carbono del metino en  $\delta_C$  48.5 permitió asignar la señal a CH-10,<sup>88</sup> cuya señal en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observa en  $\delta_H$  1.80 como señal doble ancha ( $J = 12.5$  Hz) por los acoplamientos vecinales con los hidrógenos del metileno CH<sub>2</sub>-1, la  $J = 12.5$  Hz, del doble se debe al acoplamiento axial-axial de H-10 ( $\beta$ -axial) y H-1 ( $\alpha$ -axial), sin embargo el acoplamiento axial-ecuatorial tiene una  $J$  mucho menor, por lo que la señal se ensancha. En cuanto a las señales del metileno CH<sub>2</sub>-1, el H-1 $\alpha$  axial se observa en  $\delta_H$  1.16 como un cuarteto de dobles con  $J$ 's de 12.5 y 3.9 Hz, la  $J$  más grande se debe a los acoplamientos axial-axial con H-10 $\beta$ , H-2 $\beta$  y geminal con H-1 $\beta$ , y la menor es por el acoplamiento axial-ecuatorial con H-2 $\alpha$ . La otra señal del CH<sub>2</sub>-1 (H-1 $\beta$  ecuatorial) se observa en  $\delta_H$  1.74 como un doble de dobles ancho ( $J = 12.5, 4.8$  Hz), las constantes de acoplamiento que se observan son la geminal (12.5 Hz) y la

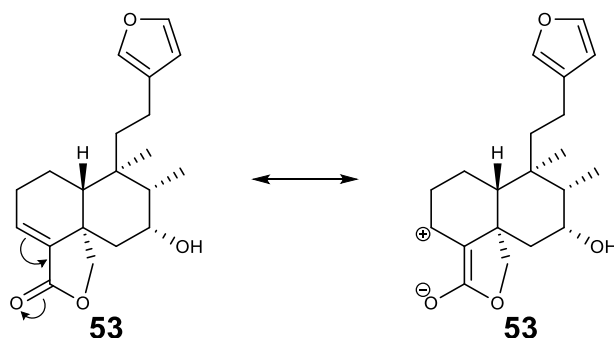
<sup>82</sup> Las señales en RMN  $^{13}\text{C}$  de C-9 y C-8 son diferentes a las reportadas en 1997, esto es porque en ese trabajo se encuentran intercambiadas con las señales de C-5 y C-10, respectivamente, debido a la similitud que existe entre estos carbonos, no obstante, el análisis de los espectros de COSY y HMBC permite confirmar los desplazamientos reportados en este trabajo.

ecuatorial-axial con H-2 $\beta$ , la señal se ensancha porque las constantes de acoplamiento que tiene con H-10 y H-2 $\alpha$  son muy pequeñas. En el caso de las señales de los hidrógenos del metileno CH<sub>2</sub>-2 están desplazadas hasta  $\delta_H$  2.40 y 2.17 debido a que son hidrógenos alílicos, ambas señales se observan como doble de doble de dobles (ver Tabla 7).



**Esquema 27.** Estructura geométrica optimizada de **53** con acoplamiento a larga distancia de H-19<sub>pro-S</sub> con H-6 $\beta$ .

Por último, la señal en  $\delta_H$  6.73 corresponde al H-3. Esta señal se encuentra desplazada a frecuencia más alta de lo habitual para un hidrógeno olefínico debido al efecto de desprotección ejercido por el efecto mesomérico de la  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada (Esquema 28), en cuanto a su multiplicidad se observa como un doble de doble por los acoplamientos que tiene con los hidrógenos del metileno CH<sub>2</sub>-2.



**Esquema 28.** Estructura resonante de la  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada de **53**.

Acerca de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (**56**), cuando se aisló por primera vez en 1986 se hicieron algunas asignaciones en RMN <sup>1</sup>H,<sup>76</sup> por lo que en este trabajo

se hace el aporte de la asignación completa de sus espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (Tabla 8).

**Tabla 8.** Comparación de los datos de RMN de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (56) aislada en este trabajo y la reportada en 1986.

Posición	Tipo*	7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A aislada en el presente trabajo <sup>a</sup>		7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A reportada en 1997 <sup>b</sup>
		$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)	$\delta_{\text{H}}$ (J en Hz)
1 $\beta$	CH <sub>2</sub>	20.0	1.77, <i>dda</i> (12.9, 4.8)	-
1 $\alpha$			1.33, <i>qd</i> (12.6, 4.1)	-
2 $\alpha$	CH <sub>2</sub>	27.8	2.45, <i>dddd</i> (18.1, 7.4, 4.1, 1.8)	-
2 $\beta$			2.23, <i>dddd</i> (18.1, 12.6, 4.9, 2.0)	-
3	CH	135.2	6.73, <i>dd</i> (7.4, 2.0)	6.73, <i>dd</i> (7.3, 2.1)
4	C	138.6	-	-
5	C	44.5	-	-
6 $\alpha$	CH <sub>2</sub>	38.7	2.53, <i>dd</i> (14.3, 2.5)	2.53, <i>dd</i> (14.4, 2.2)
6 $\beta$			1.41, <i>ddt</i> (14.3, 4.1, 2.2)	1.41, <i>m</i>
7	CH	66.1	4.63, <i>dt</i> (5.7, 2.8)	4.67, <i>m</i>
	OH		4.00, <i>sa</i>	-
8	CH	51.3	2.67, <i>d</i> (3.0)	2.67, <i>d</i> (3.0)
9	C	37.0	-	-
10	CH	54.6	1.941, <i>d</i> (11.6)	-
11 $\beta$	CH <sub>2</sub>	44.9	2.20, <i>dd</i> (13.9, 7.4)	-
11 $\alpha$			1.942, <i>dd</i> (13.7, 10.3)	-
12	CH	70.9	5.39, <i>dd</i> (10.3, 7.3)	5.39, <i>dd</i> (10.2, 7.4)
13	C	124.2	-	-
14	CH	108.6	6.44, <i>dd</i> (1.8, 0.8)	6.44, <i>sa</i>
15	CH	144.3	7.45, <i>t</i> (1.7)	7.48, <i>sa</i>
16	CH	139.9	7.48, <i>m</i>	7.45, <i>sa</i>

Posición	Tipo*	7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A aislada en el presente trabajo <sup>a</sup>		7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A reportada en 1997 <sup>b</sup>
		$\delta_C$	$\delta_H$ (J en Hz)	$\delta_H$ (J en Hz)
17	C	174.3	-	-
18	C	169.3	-	-
19 <sub>pro-R</sub>	CH <sub>2</sub>	72.4	5.32, <i>d</i> (7.5)	5.34, <i>d</i> (7.5)
19 <sub>pro-S</sub>			3.93, <i>dd</i> (7.5, 2.2)	3.93, <i>dd</i> (7.5, 2.2)
20	CH <sub>3</sub>	21.7	1.13, <i>s</i>	1.14, <i>s</i>

a) <sup>1</sup>H 500 MHz, <sup>13</sup>C 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>. \*Obtenido del espectro HSQC.

b) <sup>1</sup>H 250 MHz, CDCl<sub>3</sub>.

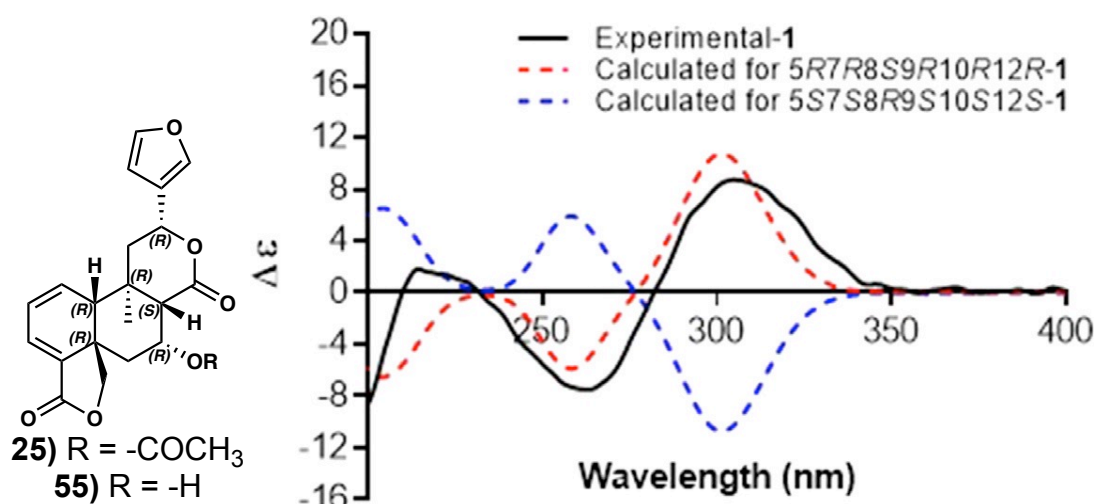
Los espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (**56**) son muy similares a los de la 1-deoxibacrispina (**53**) debido a la relación estructural que existe entre ambos compuestos, pues la única diferencia es la  $\delta$ -lactona que se forma en **56** entre C8-C9-C11-C12-C17, por lo que se hará énfasis en las señales que difieren entre los espectros de ambos compuestos, pero en la Tabla 8 se presentan los datos completos de RMN.

En el espectro de RMN <sup>13</sup>C de **56**, a diferencia de **53**, se observan dos señales alrededor de  $\delta_C$  170, correspondientes a los carbonilos de la  $\gamma$ -lactona ( $\delta_C$  169.3) y  $\delta$ -lactona ( $\delta_C$  174.3). El C-18 se encuentra menos desplazado debido al efecto de protección que ocasiona el doble enlace entre C3-C4. Otra diferencia sustancial es el metino en posición 12, pues al formar parte de la  $\delta$ -lactona y estar unido al oxígeno, provoca que en RMN <sup>1</sup>H su señal se desplace hasta  $\delta_H$  5.39, y por el acoplamiento vecinal que tiene con los hidrógenos del metileno 11, se observa como un doble de doble con *J*'s de 10.3 y 7.3 Hz; esta lactona también afecta el desplazamiento de los hidrógenos del CH<sub>2</sub>-11, ya que a diferencia de **53** se encuentran más desplazados, en  $\delta_H$  2.20 y 1.942, ambos se observan como doble de doble por los acoplamientos geminal y vecinal. Por último, el H-8 se desplace hasta  $\delta_H$  2.67 por estar en posición  $\alpha$  al carbonilo de la  $\delta$ -lactona, además sólo se acopla con el metino CH-7, por lo que se observa como una señal doble.

### 6.1.2 Determinación de la configuración absoluta de la involucratina A (**25**)

En un trabajo previo se describió la elucidación estructural de la involucratina A (**25**) y se estableció su configuración relativa conforme al análisis del espectro NOESY,<sup>50</sup> en este trabajo se determinó la configuración absoluta por medio del análisis del experimento de DCE.

Para establecer la configuración absoluta de **25**, la energía de excitación (nm) y la fuerza rotatoria (R) en velocidad dipolar ( $R_{vel}$ ) para el isómero 5*R*, 7*R*, 8*S*, 9*R*, 10*R*, 12*R* y su enantiómero se calcularon usando TD-DFT y se simularon en curvas DCE (Figura 12). El espectro experimental de DCE mostró dos efectos Cotton positivos a 217 y 307 nm y uno negativo a 263 nm, y coincidió con los datos calculados para el diastereoisómero 5*R*, 7*R*, 8*S*, 9*R*, 10*R*, 12*R*.



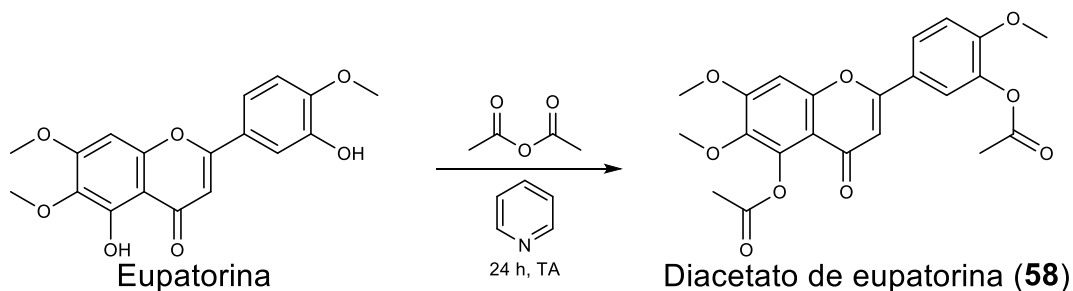
**Figura 12.** Comparación entre el espectro experimental (línea negra) y el espectro calculado para el compuesto **25** (5*R*, 7*R*, 8*S*, 9*R*, 10*R*, 12*R*)-línea punteada roja y su enantiómero (5*S*, 7*S*, 8*R*, 9*S*, 10*S*, 12*S*)-línea punteada azul.

Adicionalmente, el perfil de la curva de DCE experimental del compuesto **25** aislado de *S. involucrata*, coincide con el de la curva experimental reportada para el compuesto **55** aislado de *S. chamaedryoides*.<sup>75</sup>

Con base en la evidencia expuesta, se puede concluir que la configuración absoluta de la involucratina A (**25**) es 5*R*, 7*R*, 8*S*, 9*R*, 10*R*, 12*R*.

### 6.1.3 Determinación estructural del diacetato de eupatorina (58)

El diacetato de eupatorina (58) se obtuvo de la acetilación de una de las fracciones primarias del extracto de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , las condiciones de reacción en las que se acetiló la eupatorina se ilustran en el Esquema 29.

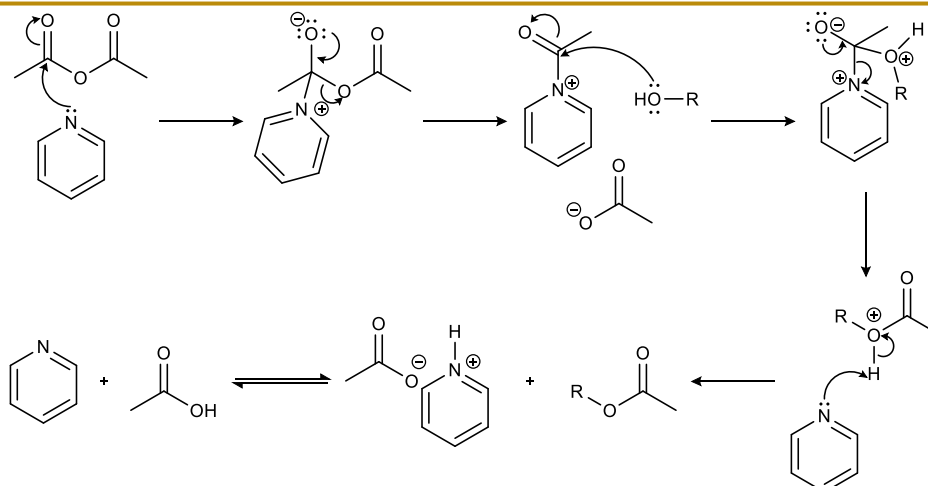


**Esquema 29.** Condiciones de reacción de la acetilación de la eupatorina.

En la reacción de acetilación la piridina tiene dos propósitos, el primero es que neutraliza los protones generados en la reacción y previene el desarrollo de altas concentraciones de ácido, el segundo es que está directamente involucrada en la reacción como un catalizador nucleofílico.<sup>83</sup>

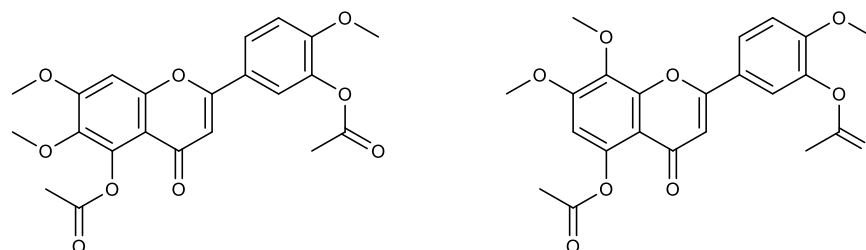
El mecanismo de reacción para la acetilación de un alcohol se ejemplifica en el Esquema 30, el primer paso involucra una adición nucleofílica de la piridina a uno de los carbonilos del anhídrido acético para formar el acetato de *N*-acilpiridinio como intermediario; el ión *N*-acilpiridinio es más reactivo al alcohol que el anhídrido original, por lo que se adiciona nucleofílicamente sobre el grupo carbonilo de éste. Posteriormente la piridina funge como grupo saliente y ésta abstrae el protón del alcohol que se adicionó al grupo carbonilo para producir el correspondiente acetato y acetato de piridinio, el cual mediante un equilibrio ácido-base regenera la piridina.

<sup>83</sup> Si un componente de la reacción es un nucleófilo más efectivo que el alcohol se dará la formación del derivado acilo del catalizador nucleofílico, si este derivado acilo es más rápidamente atacado por el alcohol que el anhídrido original, la reacción será más rápida en la presencia del catalizador que en su ausencia. Carey, F. A.; Sundberg, R. J. Addition, Condensation and Substitution Reactions of Carbonyl Compounds. *Advanced Organic Chemistry*, 5ª edición; Springer: Universidad de Virginia, Charlottesville, 2007; Vol. A, pp 657, 665-666.



**Esquema 30.** Mecanismo de reacción para la acetilación de un alcohol con anhídrido acético en piridina.

Para la elucidación estructural de la flavona obtenida se analizaron los espectros de RMN  $^1\text{H}$ , APT, COSY, HSQC, HMBC, NOESY y EM-IE. Cabe mencionar que el análisis de los espectros de RMN 1D y 2D no permite diferenciar entre el diacetato de eupatorina y la 3',5-diacetoxi-4',7,8-trimetoxiflavona, ya que, tanto los desplazamientos químicos como los acoplamientos serían muy similares entre ambos compuestos y por ende sería complicado diferenciarlas, sin embargo, mediante el análisis del espectro de masas por impacto electrónico se propone la estructura establecida para **58**, por lo que el análisis de sus señales en RMN se hace sobre este compuesto.



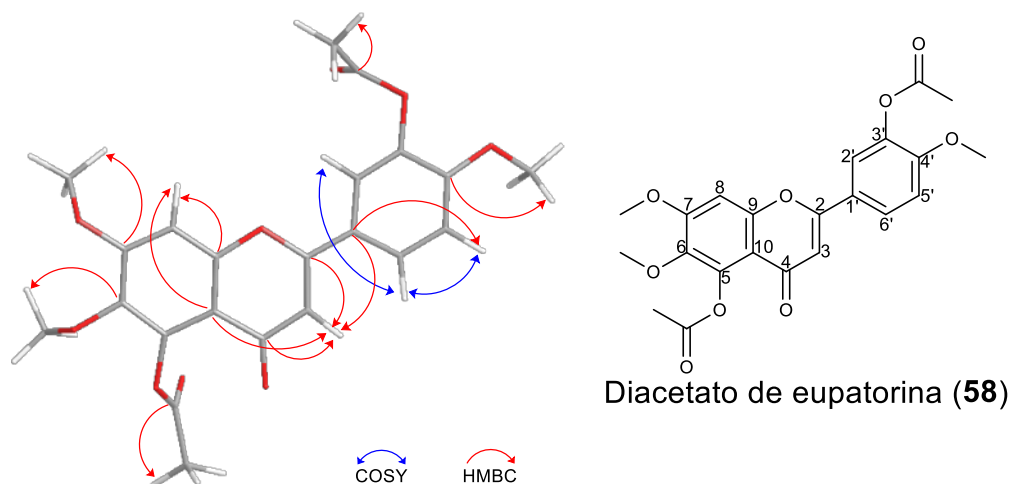
Diacetato de eupatorina (**58**)    3',5-Diacetoxi-4',7,8-trimetoxiflavona

**Esquema 31.** Estructuras del diacetato de eupatorina (**58**) y la 3',5-diacetoxi-4',7,8-trimetoxiflavona.

En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observan dos señales alrededor de  $\delta_{\text{H}}$  2.4, que debido a su integración (ambas señales integran para tres hidrógenos) y desplazamiento químico se asignan a los metilos de los grupos acetato de la molécula; otras tres



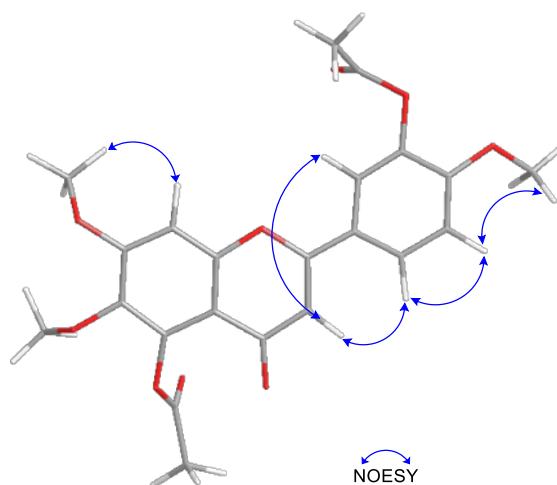
señales se observan alrededor de  $\delta_H$  3.9, correspondientes a  $\text{CH}_3$ 's de grupos metoxilos aromáticos. A frecuencias más altas se observan tres señales que forman parte de un sistema ABX de un anillo aromático, cuyas correlaciones en el espectro COSY son las únicas que se observan para este compuesto (Esquema 32). La señal más desplazada corresponde al H-6' ( $\delta_H$  7.72) y se observa como un doble de doble ( $J = 8.7, 2.3$  Hz) por el acoplamiento *orto* con H-5' y *meta* con H-2', la señal correspondiente a éste último se encuentra en  $\delta_H$  7.57 como una señal doble con  $J = 2.3$  Hz por el acoplamiento *meta* con H-6'. Por último, la señal del H-5' se observa en  $\delta_H$  7.05 como una doble con  $J = 8.7$  Hz. A frecuencias más bajas se observan dos señales aisladas que corresponden a H-8 ( $\delta_H$  6.90) y H-3 ( $\delta_H$  6.50), esta última presenta una correlación en el espectro HMBC con la señal en  $\delta_C$  176.7, la cual corresponde al carbonilo de la posición C-4.



**Esquema 32.** Estructura geométrica optimizada de **58** con correlaciones observadas en los espectros COSY y HMBC.

Mediante el análisis del espectro HSQC se lograron asignar las señales correspondientes a los carbonos de los metinos CH-3, CH-8, CH-2', CH-5' y CH-6' en el espectro APT en  $\delta_C$  107.4, 98.3, 121.0, 112.7 y 125.3, respectivamente. Para poder asignar los grupos metoxilo de la molécula se recurrió al análisis del espectro NOESY (Esquema 33), en éste se observa que el H-8 tiene una correlación con el metoxilo en  $\delta_H$  4.00, por lo que corresponde al  $\text{OCH}_3$ -7, también se observa una correlación de H-5' con el metoxilo en  $\delta_H$  3.91, por ello se trata del  $\text{OCH}_3$ -4'. Al tener

asignados los metoxilos de las posiciones 4' y 7 se puede asignar el de  $\delta_H$  3.86 al OCH<sub>3</sub>-6.



**Esquema 33.** Estructura geométrica optimizada de **58** con correlaciones observadas en el espectro NOESY.

Una vez establecidas las señales en RMN <sup>1</sup>H de los metoxilos se pueden determinar las señales de carbono en el espectro APT de C-4', C-6 y C-7 mediante el análisis del espectro HMBC (Esquema 32), ya que los hidrógenos de los metilos tienen una correlación a tres enlaces de distancia con dichos carbonos, por lo que los desplazamientos de estos carbonos son  $\delta_C$  154.0, 139.8 y 157.9, respectivamente. Con base en datos de RMN <sup>1</sup>H reportados para acetatos en C-5,<sup>84</sup> se asignó la señal de  $\delta_H$  2.48 a los hidrógenos del OCOCH<sub>3</sub>-5 y la señal de  $\delta_H$  2.36 a los hidrógenos de los OCOCH<sub>3</sub>-3'. Mediante el análisis del espectro HSQC se determinaron los desplazamientos de OCOCH<sub>3</sub>-5 en  $\delta_C$  21.2 y de OCOCH<sub>3</sub>-3' en  $\delta_C$  20.8, mientras que para asignar los carbonos del grupo carbonilo de ambos acetatos se analizó el espectro HMBC, ya que estos carbonos tienen una correlación a dos enlaces de distancia con los hidrógenos correspondientes, por lo que las señales de  $\delta_C$  169.7 y 168.9 corresponden al OCOCH<sub>3</sub>-5 y OCOCH<sub>3</sub>-3', respectivamente.

Por último, para asignar las señales de los carbonos cuaternarios restantes (C-1', C-2, C-5, C-9 y C-10) se analizaron las correlaciones de estos en el espectro HMBC

<sup>84</sup> De Pascual, T. J.; González, M. S.; Vicente, S.; Bellido, I. S. Flavonoids from *Chenopodium botrys*. *Planta Med.* **1981**, *41*(4), 389-391.

(Esquema 32). En el caso de C-1' y C-2 ambos tienen correlación con H-3 a tres y dos enlaces de distancia, respectivamente, pero C-1' tiene una correlación a tres enlaces de distancia con H-5', por lo que las señales de estos dos carbonos se pueden establecer en  $\delta_C$  124.3 (C-1') y  $\delta_C$  161.1 (C-2). Algo similar ocurre con las señales de C-9 y C-10, pues ambos carbonos tienen una correlación con H-8 a dos y tres enlaces de distancia, respectivamente, pero en el caso de C-10 también presenta una correlación con H-3 a tres enlaces de distancia, por ello se pueden establecer las señales de  $\delta_C$  154.1 para C-9 y la de  $\delta_C$  111.5 para C-10.

**Tabla 9.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del diacetato de eupatorina (58)

Posición	$\delta_C$	Tipo*	$\delta_H$ (J en Hz)
2	161.1	C	-
3	107.4	CH	6.50, s
4	176.7	C	-
5	142.2	C	-
	169.7	CO	-
	21.2	COCH <sub>3</sub>	2.48, s
6	139.8	C	-
	61.8	OCH <sub>3</sub>	3.86, s
7	157.9	C	-
	56.6	OCH <sub>3</sub>	4.00, s
8	98.3	CH	6.90, s
9	154.1	C	-
10	111.5	C	-
1'	124.3	C	-
2'	121.0	CH	7.57, d (2.3)
3'	140.3	C	-
	168.9	CO	-
	20.8	COCH <sub>3</sub>	2.36, s
4'	154.0	C	-

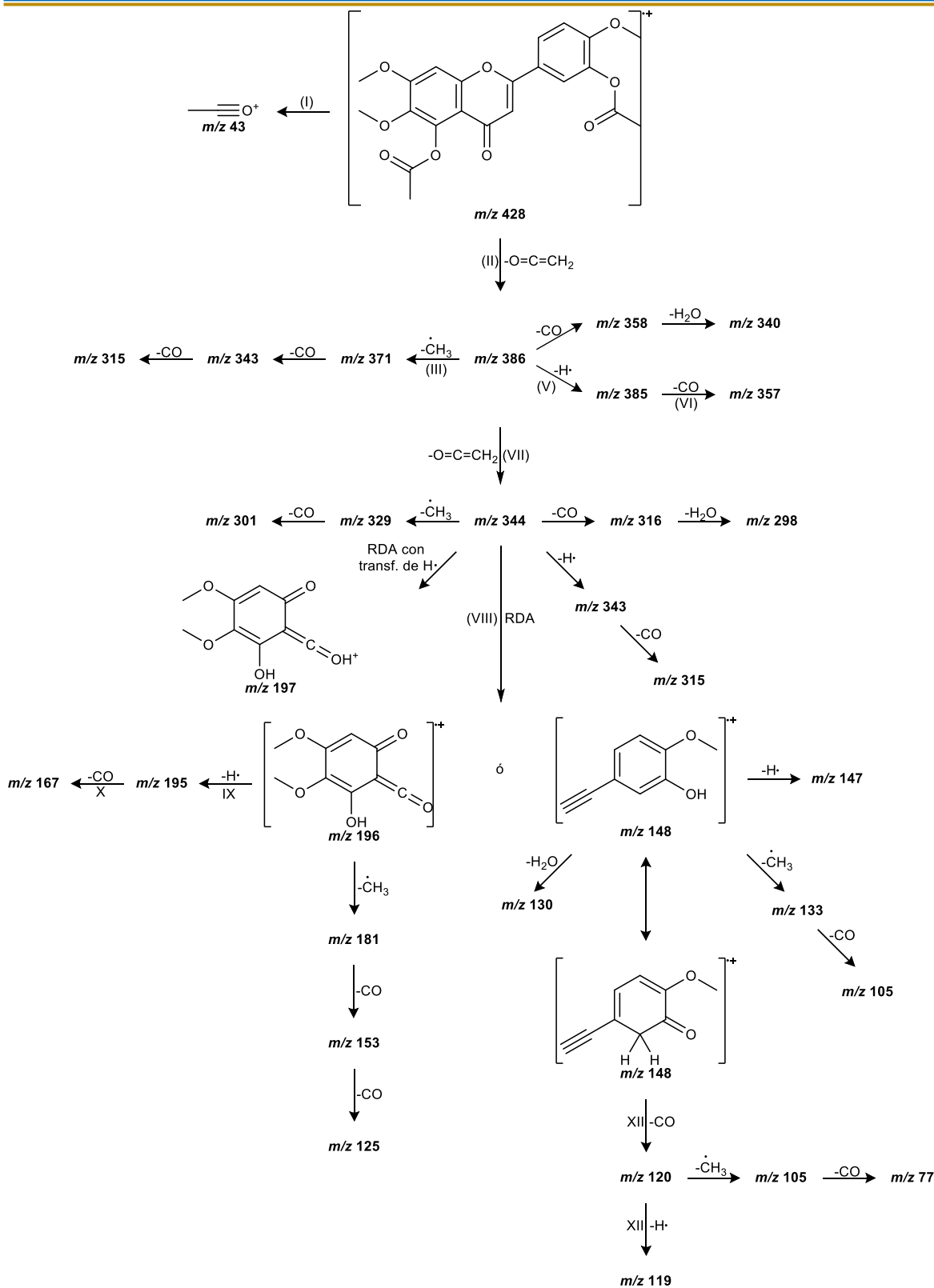
Posición	$\delta_c$	Tipo*	$\delta_H$ (J en Hz)
	56.3	OCH <sub>3</sub>	3.91, s
5'	112.7	CH	7.06, <i>d</i> (8.7)
6'	125.3	CH	7.72, <i>dd</i> (8.7, 2.3)

<sup>1</sup>H 500 MHz, <sup>13</sup>C 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>. \*Obtenido del espectro HSQC

El análisis del espectro de masas por impacto electrónico (Figura 13) permite proponer la estructura del diacetato de eupatorina (**58**).

El pico del ión molecular [M]<sup>+</sup> se observa en *m/z* 428. Éste da lugar al pico base *m/z* 386 y el *m/z* 43 como se observa en el Esquema 35. El mecanismo para generar el pico base implica que el catión radicalico se encuentre sobre el oxígeno de alguno de los acetatos y ocurre una transferencia 1,4 de un radical hidrógeno, seguido de una ruptura homolítica de uno de los enlaces  $\alpha$  al grupo carbonilo para provocar la pérdida de O=C=CH<sub>2</sub>; por otro lado, para explicar el pico *m/z* 43, el catión radicalico se encuentra sobre alguno de los oxígenos del grupo carbonilo de cualquiera de los dos acetatos y también ocurre una ruptura del enlace  $\alpha$  al grupo carbonilo.

Dos puntos clave que permitieron proponer la estructura del compuesto **58** fueron los siguientes. El primero de ellos corresponde al catión *m/z* 371, el cual puede provenir de distintas pérdidas de un radical metilo, además, cuando proviene de la pérdida del metilo del OCH<sub>3</sub>-6, una de sus estructuras resonantes genera el fragmento *para*-quinoide (Esquema 36), el cual es muy estable y por ende, este pico es el segundo más abundante (88.8 %). Esta abundancia no se observaría en el caso en el que el grupo metoxilo estuviera en C-8 (en la 3',5-diacetoxi-4',7,8-trimetoxiflavona), ya que el fragmento *m/z* 371 no sería tan estable como en el caso del compuesto **58**. El segundo punto es muy relacionado al primero, la única diferencia es que se parte del catión radicalico *m/z* 344 y se genera el catión *m/z* 329 (52.1 %), que corresponde al tercer pico más abundante del espectro y cuya abundancia se debe lo discutido en el primer punto.



Esquema 34. Patrón de fragmentación del diacetato de eupatorina (58).

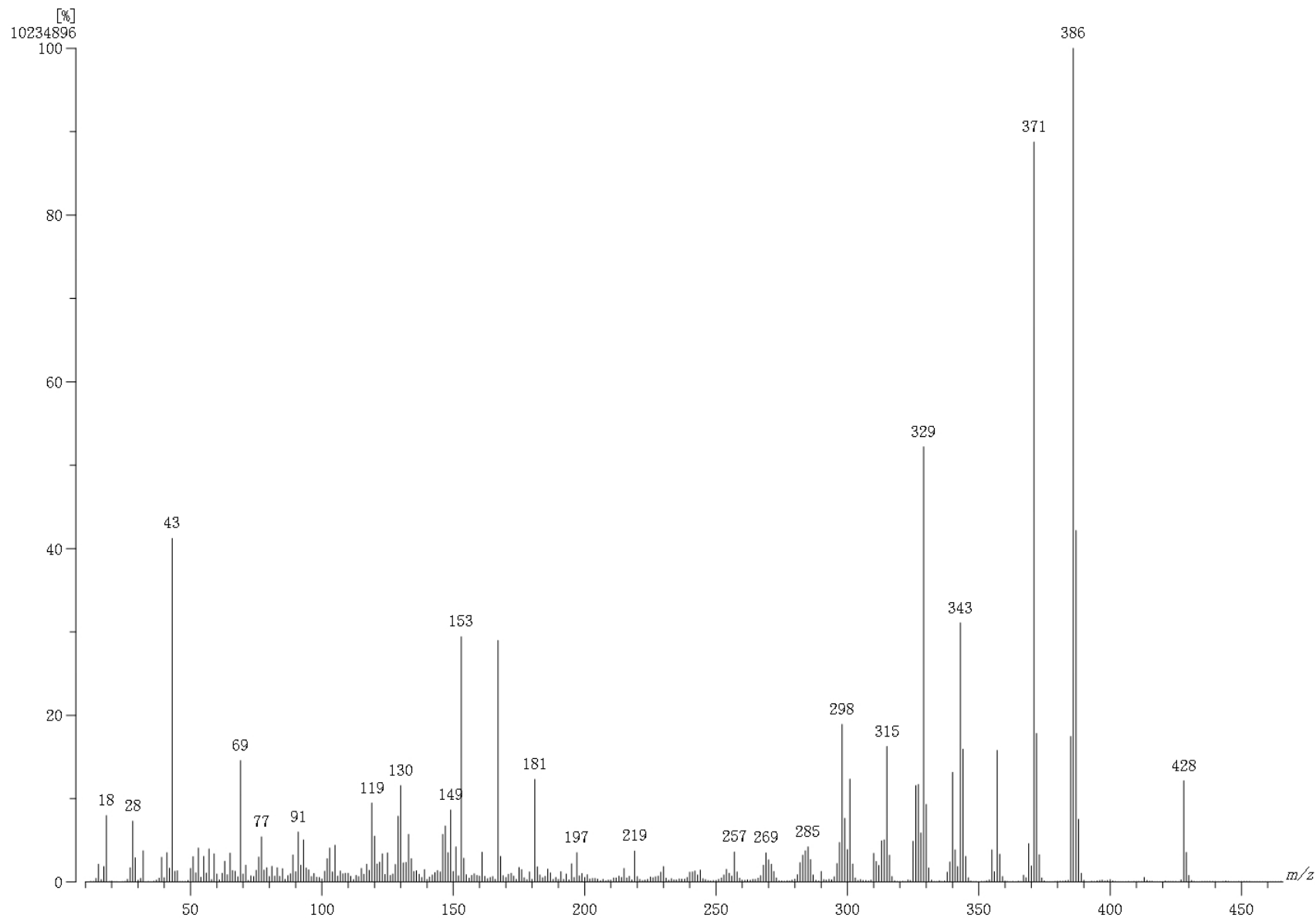
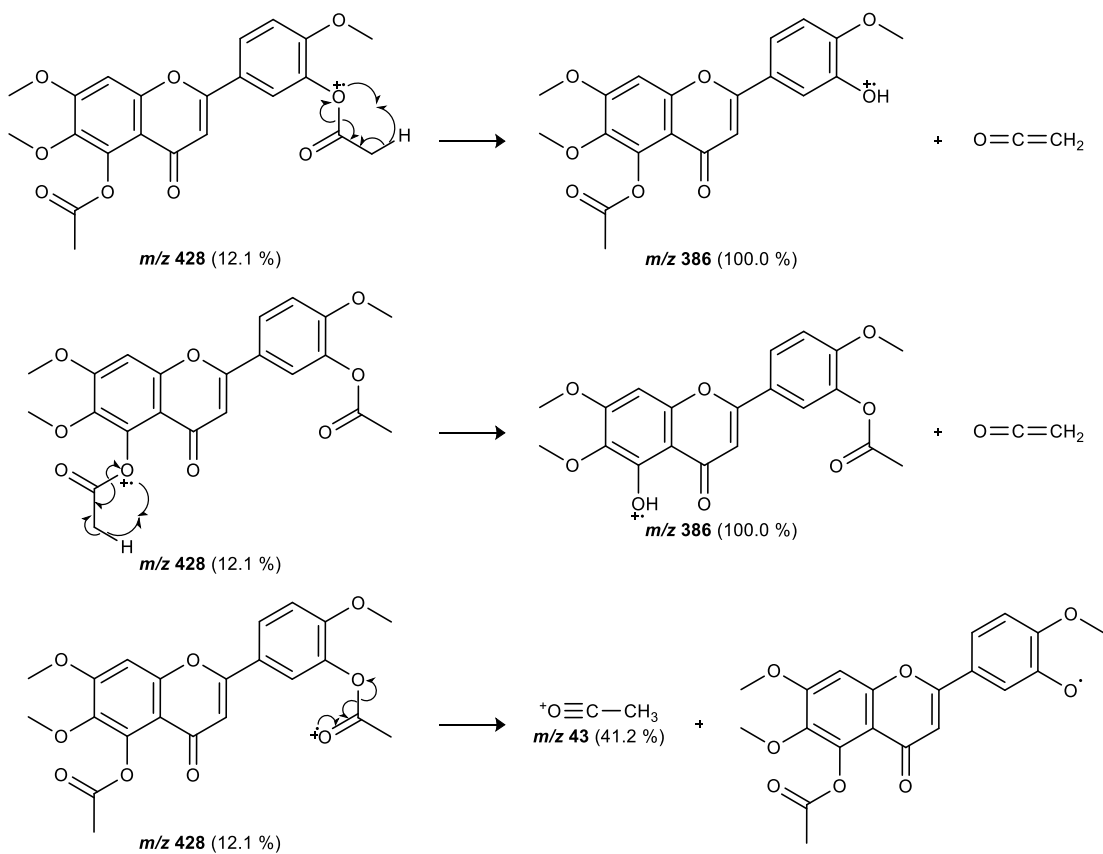
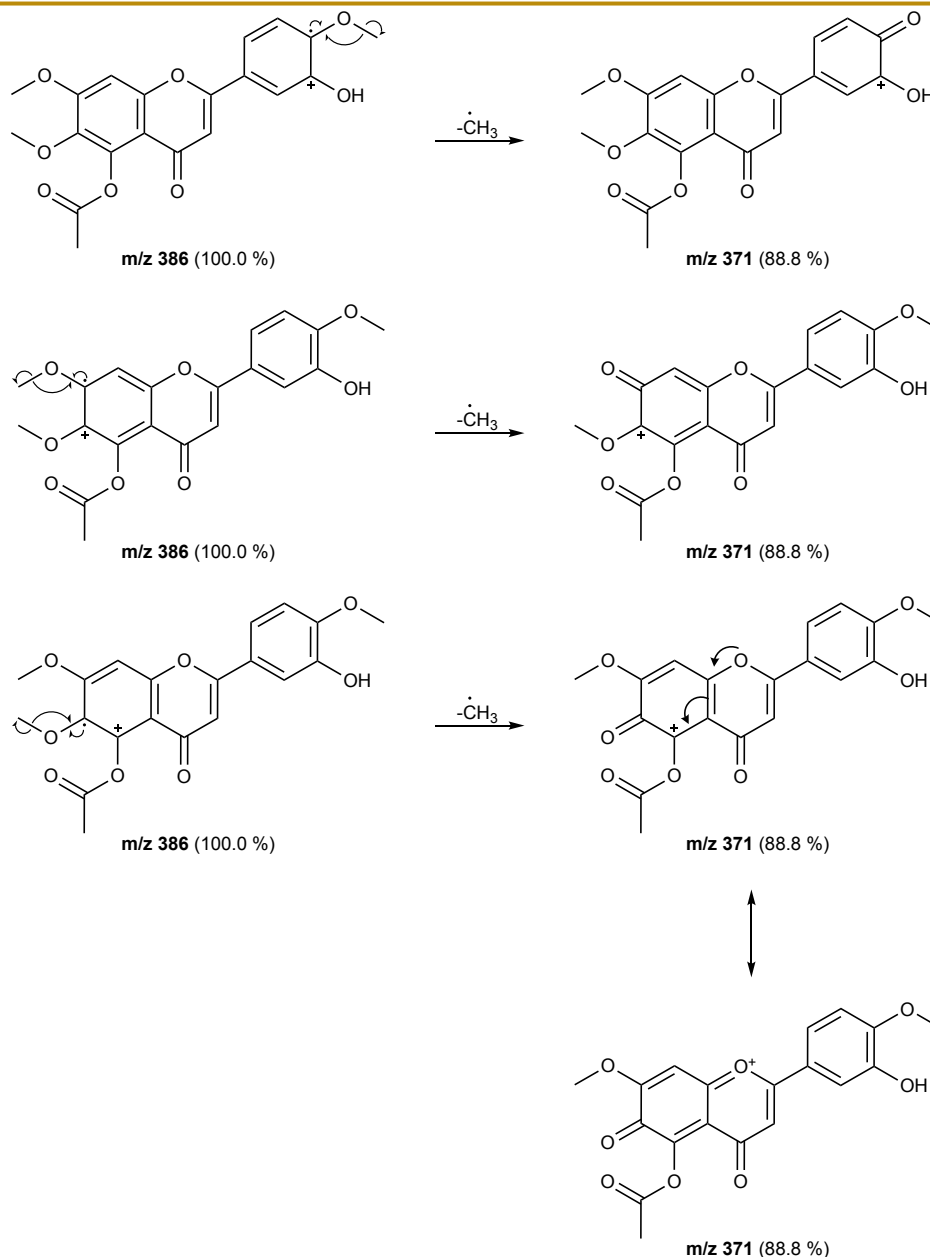


Figura 13. Espectro de masas del diacetato de eupatorina (58)



**Esquema 35.** Mecanismo propuesto para la formación del pico base  $m/z$  386 y el pico  $m/z$  43 (rutas I y II).

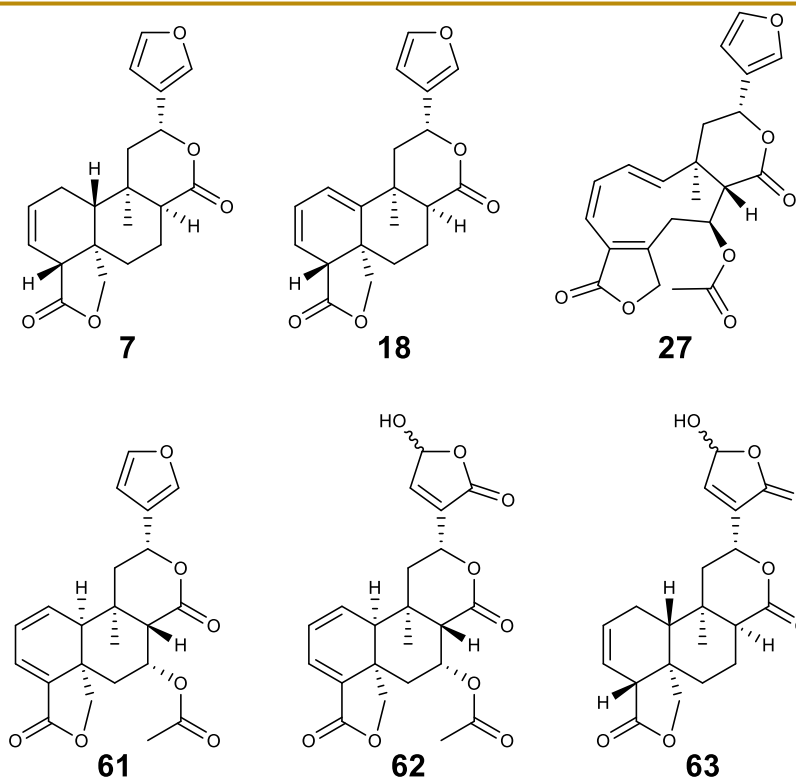


Esquema 36. Mecanismo propuesto para la formación del pico  $m/z$  371 (ruta III).

## 6.2 Compuestos aislados de *S. fulgens* Cav.

De las hojas de *S. fulgens* Cav. se aislaron mediante técnicas cromatográficas 10 compuestos (**7**, **18**, **27**, **59-65**), de los cuales seis son diterpenoides de tipo *neo*-clerodano (**7**, **18**, **27**, **61-63**), un flavonol metoxilado (**64**), un lignano (**65**) y dos triterpenoides (**59-60**). Las estructuras de estos compuestos fueron establecidas mediante el empleo de técnicas espectroscópicas, principalmente RMN.





**Esquema 37.** Diterpenoides aislados de *S. fulgens* Cav. **7)** Salviarina, **18)** 1(10)-dehidrosalviarina, **27)** involucratina C, **61)** 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B, **62, 63.**

De acuerdo con la literatura química ocho de los compuestos aislados e identificados se encuentran descritos (**7, 18, 27, 59-61** y **64-65**). La salviarina (**7**) es un *neo*-clerodano que se ha identificado en distintas especies de *Salvia*, como *S. buchananii*,<sup>85</sup> *S. greggii*,<sup>86</sup> *S. gesneriiflora*,<sup>42</sup> *S. sousae*,<sup>47</sup> *S. reflexa*,<sup>87</sup> *S. rhyacophila*<sup>88</sup> y *S. splendens*,<sup>89,90,91</sup> de esta última se aisló por primera vez en 1972

<sup>85</sup> Bisio, A.; Schito, A. M.; Parricchi, A.; Mele, G.; Romussi, G.; Malafronte, N.; Oliva, P.; De Tommasi, N. Antibacterial activity of constituents from *Salvia buchananii* Hedge (Lamiaceae). *Phytochem. Lett.* **2015**, *14*, 170-177.

<sup>86</sup> Kawahara, N.; Inoue, M.; Kawai, K. I.; Sekita, S.; Satake, M.; Goda, Y. Diterpenoid from *Salvia greggii*. *Phytochemistry* **2003**, *63*(8), 859-862.

<sup>87</sup> Nieto, M.; Gallardo V., Oscar; R., Pedro C.; Tonn, C. E. 8-Hydroxysalviarin and 7,8-didehidrorhyacophilina, two new diterpenes from *Salvia reflexa*. *J. Nat. Prod.* **1996**, *59*(9), 880-882.

<sup>88</sup> Fernández, M. C.; Esquivel, B.; Cárdenas, J.; Sánchez, A. A.; Toscano, R. A.; Rodríguez-Hahn, L. Clerodane and aromatic seco-clerodane diterpenoids from *Salvia rhyacophila*. *Tetrahedron* **1991**, *47*(35), 7199-7208.

<sup>89</sup> Pan, Z. H.; Cheng, J. T.; He, J.; Wang, Y. Y.; Peng, L. Y.; Xu, G.; Sun, W. B.; Zhao, Q. S. Splendidins A-C, Three New Clerodane Diterpenoids from *Salvia splendens*. *Helv. Chim. Acta* **2011**, *94*(3), 417-422.

<sup>90</sup> Fontana, G.; Savona, G.; Rodríguez, B. Clerodane Diterpenoids from *Salvia splendens*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*(12), 1734-1738.

<sup>91</sup> Savona, G.; Paternostro, M. P.; Piozzi, F.; Hanson, J. R.; Hitchcock, P. B.; Thomas, S. A. Salviarin, a new diterpenoid from *Salvia splendens*. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1978**, (6), 643-646.

y se determinó su configuración absoluta mediante difracción de rayos X.<sup>100</sup> El compuesto **18** está muy relacionado a la salviarina (**7**), pues la única diferencia es el doble enlace entre C1-C10. El primer reporte de este compuesto fue en 1973, donde se obtuvo como un producto de deshidratación de un diterpenoide con un grupo OH en C-10 y doble ligadura C3-C4 aislado de *S. rubescens*,<sup>92</sup> sin embargo, el primer trabajo en el que se reporta el aislamiento de este compuesto fue en 1986 en un estudio sobre *S. lineata*,<sup>41</sup> pero también se ha aislado de otras salvias, como *S. karwinskii*,<sup>47</sup> *S. wagneriana*<sup>48</sup> y *S. herbácea*.<sup>93</sup> La involucratina C (**27**) es un seco-clerodano de reciente descripción que se aisló en un trabajo previo sobre *S. involucrata*.<sup>56</sup> Con respecto a la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**) existe un compuesto estrechamente relacionado, la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\alpha$ -dihidrogenesnerofolina B (**9**) aislada de *S. gesneriiflora* en 2001,<sup>42</sup> sin embargo, se observó una discrepancia con dicho trabajo, pues de acuerdo con los datos espectroscópicos (principalmente RMN <sup>1</sup>H) y el valor de rotación óptica, la estructura propuesta en 2001 es errónea y se trata en realidad de **61**, por lo que en el apartado 6.2.1 se discutirá a fondo, además se hace el aporte de su configuración absoluta por medio de difracción de rayos X.

De esta planta también se aislaron dos compuestos fenólicos, un flavonol metoxilado (**64**) y un lignano (**65**). La kumatakenina (**64**) se ha aislado de distintas especies de *Salvia*, como *S. glutinosa*<sup>94,95</sup> y *S. cyanescens*,<sup>96</sup> mientras que la melodinina A (**65**) únicamente se ha aislado de *Melodinus suaveolens*.<sup>97</sup>

---

<sup>92</sup> Brieskorn, C. H.; Stehle, T. Bitter principles of Labiatae. New clerodane type compound. *Chem. Ber.* **1973**, *106*(3), 922-928.

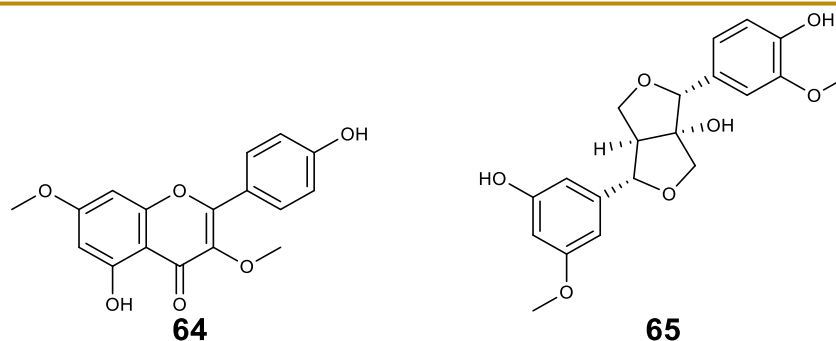
<sup>93</sup> Bautista, E.; Maldonado, E.; Ortega, A. neo-Clerodane Diterpenes from *Salvia herbácea*. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*(5), 951-958.

<sup>94</sup> Wollenweber, E. Flavones and flavonols in exudate of *Salvia glutinosa*. *Phytochemistry* **1974**, *13*(4), 753.

<sup>95</sup> Velickovic, D. T.; Nikolova, M. T.; Ivancheva, S. V.; Stojanovic, J. B.; Veljkovic, V. B. Extraction of flavonoids from garden (*Salvia officinalis* L.) and glutinous (*Salvia glutinosa* L.) sage by ultrasonic and classical maceration. *J. Serb. Chem. Soc.* **2007**, *72*(1), 73-80.

<sup>96</sup> Gokdil, G.; Topcu, G.; Sonmez, U.; Ulubelen, A. Terpenoids and flavonoids from *Salvia cyanescens*. *Phytochemistry* **1997**, *46*(4), 799-800.

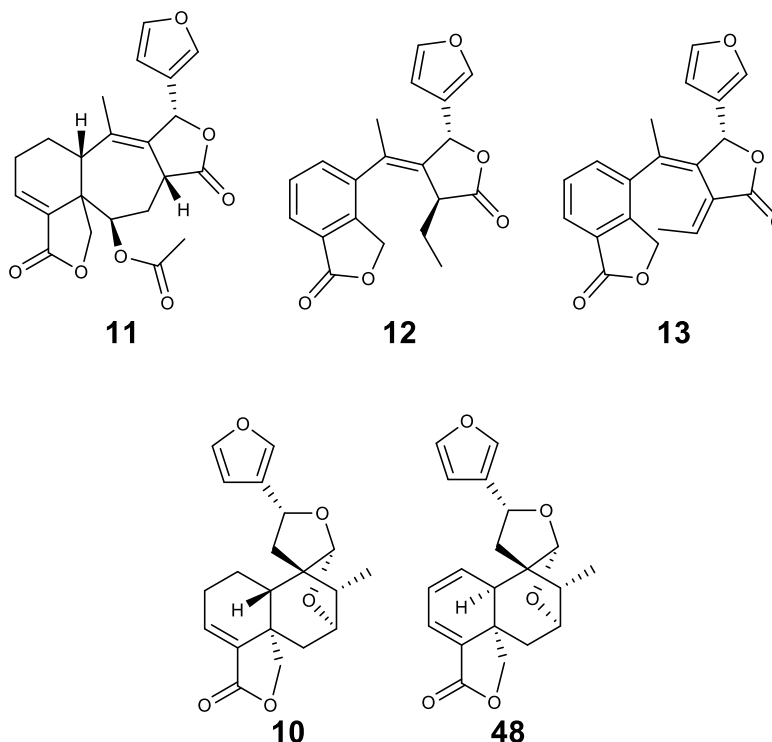
<sup>97</sup> Fang, L.; Fang, Z. Y.; Zhou, P.; Bao, J.; Yu, J. H.; Song, J. T.; Zhou, J.; Zhang, H. Anti-inflammatory lignans from *Melodinus suaveolens*. *Phytochem. Lett.* **2018**, *26*, 134-137.



**Esquema 38.** Lignano y flavona aislados de *S. fulgens* Cav. **64**) Kumatakenina, **65**) melodinina A.

Como se mencionó en los antecedentes, la similitud que existe entre *S. fulgens* y *S. gesneriiflora* hace muy difícil su correcta identificación. Por ello, este estudio es el primero sobre una población mexicana de *S. fulgens*, ya que las plantas que se trabajaron en 1985<sup>61</sup> y 1987<sup>54</sup> fueron identificadas erróneamente como *S. fulgens*. Tomando en cuenta consideraciones taxonómicas recientes se aclara la confusión con *S. gesneriiflora*, ya que las plantas colectadas en los 80's se describieron como arbustos de gran tamaño y la *S. fulgens* es una hierba de mucho menor tamaño.<sup>52</sup> Aunque otra incógnita surge con un trabajo realizado en Japón sobre una población de *S. fulgens* cultivada en el Jardín Botánico de la Universidad de Farmacia de Kyoritsu, ya que algunos de los compuestos que se aislaron e identificaron de esta planta son muy similares a los identificados en los últimos estudios de *S. gesneriiflora* (Esquema 39).<sup>44,45</sup> Este es el caso de la salvifaricina (**10**, identificada en dos trabajos sobre *S. gesneriiflora*)<sup>44,45</sup> y la *trans*-1(2)-dehidrosalvifaricina (**48**, identificada en el trabajo de *S. fulgens*).<sup>62</sup> Además la salvifulgenólida (**12**) se identificó en este mismo trabajo y en un trabajo sobre *S. gesneriiflora* en el 2016 (en el que también se identificó el isosalvixalapadieno, **13**),<sup>43</sup> los cuales tiene una relación estructural muy cercana con la salvigenólida (**11**), un diterpenoide descrito por primera vez en *S. fulgens* en 1985 (ahora corregida como *S. gesneriiflora*), el cual proviene de una transposición de un diterpenoide de tipo clerodano y que únicamente se ha identificado en estudios sobre *S. gesneriiflora* (tomando en cuenta que ambas salvia trabajadas en los 80's estaban erróneamente identificadas como *S. fulgens*). Es importante señalar que en el presente trabajo no se identificó la salvigenólida ni algún compuesto relacionado, y como se mencionó en el análisis de resultados de la *S. involucrata*, ha sido documentado que para algunas especies

mexicanas de *Salvia* el contenido de diterpenoides puede variar dependiendo de la ubicación, la época del año en que se realiza la colecta y/o el ambiente local.<sup>91</sup> Esta podría ser la razón por la que el contenido de diterpenoides entre la *S. fulgens* estudiada en este trabajo y la estudiada en Japón sean significativamente diferentes, por lo que se pueden proponer más estudios sobre otras poblaciones mexicanas de *S. fulgens* que permitan establecer la variabilidad de sus compuestos y también corroborar que la identificación de la planta de Japón sea la correcta.



**Esquema 39.** Comparación de los compuestos aislados de los últimos trabajos de *S. gesneriiflora* (**10-13**) con dos compuestos aislados de una población de *S. fulgens* cultivada en Japón (**12, 48**).

**10)** Salvifaricina, **11)** salvigenólida, **12)** salvifulgenólida, **13)** isosalvixalapadieno, **48)** *trans*-1(2)-dehidrosalvifaricina.

Otro punto notable que vale la pena analizar es la relación que existe entre las secciones *Holwaya* (a la que pertenece *S. involucrata*) y *Fulgentes* (a la que pertenece *S. fulgens*), ya que todos los diterpenoides identificados de *S. fulgens* tienen una relación estructural muy cercana con varios compuestos identificados en salvias de la sección *Holwaya*, incluso algunos son los mismos. Tal es el caso de la involucratina C (**27**), un diterpenoide de estructura novedosa recientemente descrito en *S. involucrata*, o el caso de los compuestos **7**, **18** y **61**, que se han identificado

en *S. gesneriiflora* (**7**, **61**), *S. karwinskii* (**18**) y *S. wagneriana* (**18**), todas ellas pertenecientes a la sección *Holwaya*, y los diterpenoides **62** y **63** cuya única diferencia con **61** y **7**, respectivamente, es la funcionalidad en las posiciones C13-C16. Esta relación estructural tan estrecha entre ambas secciones se puede fundamentar en cuestiones taxonómicas, ya que antes de 1984 la sección *Holwaya* era *Cardinales* (nombrada así por *S. cardinalis*), pero al realizarse los estudios taxonómicos pertinentes se concluyó que *S. cardinalis* era un sinónimo de *S. fulgens*, por lo que se erigió la sección *Holwaya* para albergar las salvias de *Cardinales*.<sup>36</sup>

### 6.2.1 Determinación de la configuración absoluta de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**)

Como se mencionó anteriormente, la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**) tiene una relación estructural muy estrecha con un compuesto aislado de *S. gesneriiflora* en 2001, ya que su única diferencia es la configuración del C-8, sin embargo, al realizar el análisis comparativo de los datos espectroscópicos de ambos compuestos, principalmente RMN <sup>1</sup>H y el valor obtenido de rotación óptica, no se encontró diferencia alguna.

**Tabla 10.** Comparación de datos de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**) con los reportados para la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\alpha$ -dihidrogenesnerofolina B (**9**).

Posición	$\delta_c$	Tipo*	$\delta_H$ (J en Hz)		
			a	b	c
1	134.7	CH	6.44, <i>dd</i> (9.6, 1.2)	6.10, <i>dd</i> (9.7, 2.1)	6.11, <i>dd</i> (9.5, 2.1)
2	127.1	CH	6.49, <i>ddd</i> (9.7, 4.7, 2.8)	6.49, <i>ddd</i> (9.6, 5.1, 3.1)	6.43, <i>ddd</i> (9.5, 5.0, 3.0)
3	128.9	CH	6.94, <i>da</i> (4.7)	7.00, <i>d</i> (5.1)	7.00, <i>d</i> (5.0)
4	133.7	C	-	-	-
5	39.5	C	-	-	-
6 $\beta$	31.8	CH <sub>2</sub>	1.83, <i>ddd</i> (15.2, 3.9, 1.7)	1.88, <i>dd</i> (15.4, 2.1)	-

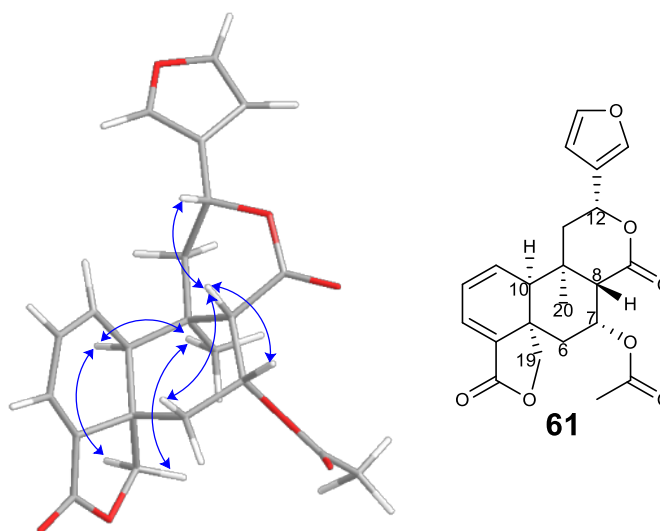
Posición	$\delta_c$	Tipo*	$\delta_H$ (J en Hz)		
			a	b	c
6 $\alpha$			1.75, <i>ddd</i> (15.1, 2.3, 0.6)	1.76, <i>ddd</i> (15.4, 3.8, 1.5)	-
7	66.2	CH	5.60, <i>dt</i> (3.6, 2.7)	5.69, <i>dt</i> (3.4, 2.8)	5.68, <i>dt</i> (5.7, 3.0)
8	44.6	CH	3.19, <i>d</i> (3.0)	2.81, <i>d</i> (3.0)	2.83, <i>d</i> (3.0)
9	36.2	C	-	-	-
10	51.1	CH	2.84, <i>sa</i>	2.68, <i>sa</i>	2.70, <i>ta</i> (2.1)
11 <sup>a</sup>	42.9	CH <sub>2</sub>	2.68, <i>dd</i> (15.3, 4.2)	2.52, <i>dd</i> (15.2, 4.1)	2.53, <i>dd</i> (15.3, 4.0)
11 <sup>b</sup>			1.96, <i>dd</i> (15.3, 12.6)	1.95, <i>dd</i> (15.2, 12.6)	1.95, <i>dd</i> (15.3, 12.3)
12	71.7	CH	5.64, <i>dd</i> (12.5, 4.2)	5.33, <i>dd</i> (12.4, 4.0)	5.35, <i>dd</i> (12.3, 4.0)
13	125.3	C	-	-	-
14	109.8	CH	6.63, <i>dd</i> (1.8, 0.7)	6.46, <i>m</i>	6.47, <i>dd</i> (2.0, 0.5)
15	144.6	CH	7.59, <i>t</i> (1.8)	7.45, <i>t</i> (1.7)	7.46, <i>t</i> (2.0)
16	141.1	CH	7.69, <i>dt</i> (1.4, 0.7)	7.51, <i>m</i>	7.53, <i>m</i>
17	170.9	C	-	-	-
18	168.7	C	-	-	-
19 <sub>pro-R</sub>	78.3	CH <sub>2</sub>	4.88, <i>d</i> (8.7)	4.87, <i>d</i> (8.7)	4.86, <i>d</i> (9.0)
19 <sub>pro-S</sub>			4.25, <i>dd</i> (8.7, 1.9)	4.15, <i>dd</i> (8.8, 1.6)	4.15, <i>dd</i> (9.0, 1.5)
20	29.5	CH <sub>3</sub>	1.36, <i>s</i>	1.36, <i>s</i>	1.35, <i>s</i>
1'	169.9	C	-	-	-
2'	21.3	CH <sub>3</sub>	2.07, <i>s</i>	2.10, <i>s</i>	2.10, <i>s</i>

a) <sup>1</sup>H 400 MHz, <sup>13</sup>C 100 MHz, CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> (**61**). \*Obtenido del espectro HSQC. b) <sup>1</sup>H 300 MHz, CDCl<sub>3</sub> (**61**). c) <sup>1</sup>H 300 MHz, CDCl<sub>3</sub> (compuesto aislado de *S. gesneriiflora* en 2001, **9**).

En la tabla anterior se puede observar la comparación de los datos de RMN <sup>1</sup>H de ambos compuestos, en la columna 'a' se reportan los datos de **61** obtenidos a 400 MHz y con CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> (en este equipo también se determinaron los demás experimentos con los que se llevó a cabo la elucidación estructural), mientras que en la columna 'b' y 'c' se reportan los datos de **61** y el compuesto aislado de *S.*

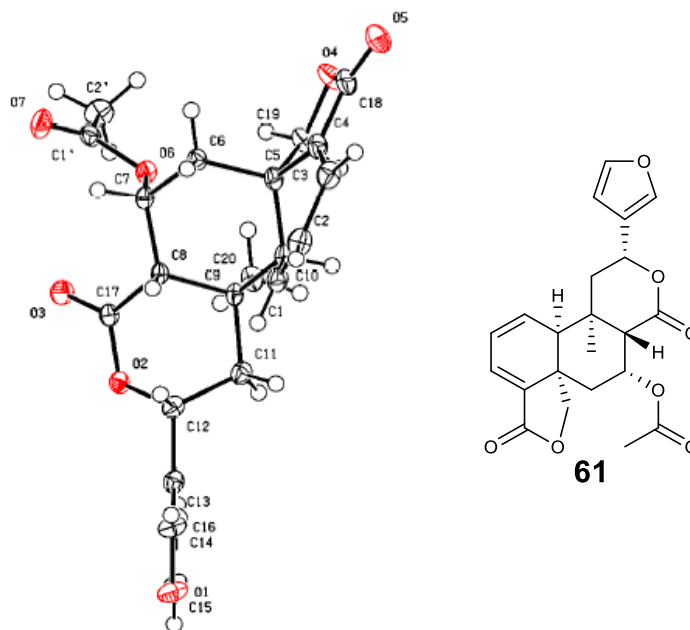
*gesneriiflora*, respectivamente, ambos se determinaron a 300 MHz y en  $\text{CDCl}_3$  y son prácticamente idénticos, tanto en el desplazamiento de sus señales como en sus multiplicidades y el valor de sus constantes de acoplamiento, además el valor de la rotación óptica específica es prácticamente el mismo.<sup>42</sup>

Para esclarecer las dudas sobre este compuesto se analizó el espectro NOESY. En este espectro se observan correlaciones de los hidrógenos del  $\text{CH}_3$ -20 con H-10 y H-19<sub>pro-S</sub>, por otro lado, se observan las correlaciones de H-8 con H-12, H-7 y H-6 $\beta$ , es por ello que se estableció la configuración relativa de **61** como se observa en el Esquema 40, además este análisis permitió resolver la incógnita sobre la configuración del H-8, ya que debe estar  $\beta$ -orientado para que pueda tener correlaciones con los hidrógenos que ya se mencionaron.



**Esquema 40.** Estructura geométrica optimizada de **61** con correlaciones observadas en el espectro NOESY.

Por último, mediante el análisis del experimento de difracción de rayos X se confirmó la estructura de la  $7\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B, ya que al calcular el parámetro de Flack ( $x = 0.01$  (4)) se corrobora la configuración absoluta mostrada en la estructura **61**, como  $5S$ ,  $7R$ ,  $8S$ ,  $9R$ ,  $10S$ ,  $12R$ .



**Esquema 41.** Perspectiva generada por computadora de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrognesnerofolina B (**61**) mostrando la configuración absoluta obtenida mediante el parámetro de Flack.

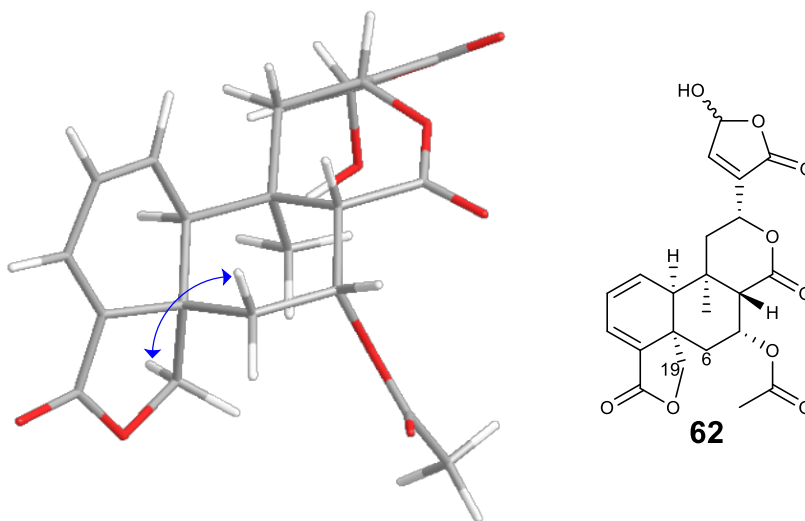
### 6.2.2 Determinación estructural del compuesto **62**

El compuesto **62** fue aislado como un polvo blanco. En su espectro de UV se observan dos máximos de absorbancia en 212.0 y 298.0 nm, el primero indica la presencia de una lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada, mientras que el segundo indica la presencia de un dieno conjugado homoanular. En el espectro de IR se observa una banda ancha en  $3381\text{ cm}^{-1}$  que se atribuye a un estiramiento O-H de un alcohol, también se observa una banda intensa en  $1737\text{ cm}^{-1}$ , la cual corresponde a un estiramiento C=O de un carbonilo de (al menos) una  $\gamma$ -lactona, alrededor de  $1650\text{ cm}^{-1}$  se observan bandas que se atribuyen al estiramiento C=C, además, en  $724\text{ cm}^{-1}$  se observa una banda correspondiente con la flexión =C-H fuera del plano; en  $1189\text{ cm}^{-1}$  se observa una banda intensa que corresponde con el estiramiento asimétrico CO-O de una  $\gamma$ -lactona, cuyo estiramiento simétrico se observa en  $1001\text{ cm}^{-1}$ .<sup>98</sup> El espectro de masas de alta resolución obtenido mediante la técnica DART de este compuesto permita establecer la fórmula molecular  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_9$ .

<sup>98</sup> Prestch, E.; Clerc, T.; Seibl, J.; Simon, W. Tablas para la elucidación estructural de compuestos orgánicos por métodos espectroscópicos. Alhambra, España, **1980**.



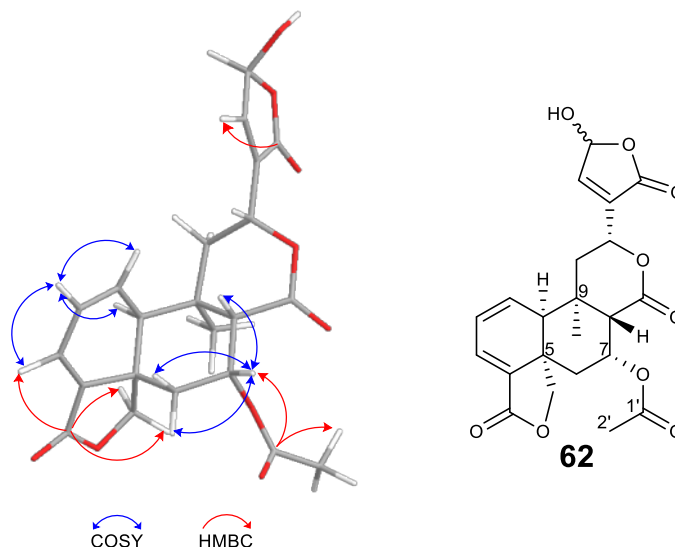
En su espectro APT se observan 26 señales, no obstante, cuatro de estas señales son duplicadas debido a que **62** se identificó como una mezcla epimérica en C-15, por lo que las 22 señales restantes se pueden clasificar con base en el espectro HSQC (Tabla 11) en dos metilos, tres metilenos, nueve metinos y ocho carbonos cuaternarios, estos últimos se pueden diferenciar (por sus desplazamientos en el espectro APT) como cuatro carbonilos, dos carbonos  $sp^3$  y dos carbonos olefínicos. Además, en el espectro de RMN  $^1H$  se observan un par de señales características para un metileno en C-19 de un diterpenoide de tipo clerodano con una  $\gamma$ -lactona en C4-C5-C18-C19, éstas se observan en  $\delta_H$  4.84 (*d*) y  $\delta_H$  4.13 (*da*), la multiplicidad de esta última se debe a que tiene un acoplamiento a larga distancia con el hidrógeno H-6 $\beta$  del CH<sub>2</sub>-6, lo cual se puede observar en el espectro COSY (Esquema 42).



**Esquema 42.** Estructura geométrica optimizada de **62** con acoplamiento a larga distancia de H-19<sub>pro-S</sub> con H-6 $\beta$  observado en el espectro COSY.

El sistema AB del C-19 generalmente se observa en  $\delta_H$  ~3.9 y ~4.3, pero esta última señal se desplaza dependiendo del tipo de sustituyente que haya en C-7, si es un alcohol se desplaza hasta  $\delta_H$  ~5.4, pero si es un acetato se desplaza a  $\delta_H$  ~4.9. Por esta razón el compuesto que se discute tiene un acetato en C-7, que se confirma por la señal simple y aguda de  $\delta_H$  2.11, que coincide con el desplazamiento para un metilo de un acetato alifático; una vez establecida dicha señal, por medio del análisis del espectro HMBC se pueden observar las correlaciones del carbono del grupo carbonilo del acetato con los hidrógenos del CH<sub>3</sub>-2' y con el del CH-7 ( $\delta_H$  5.67). Las

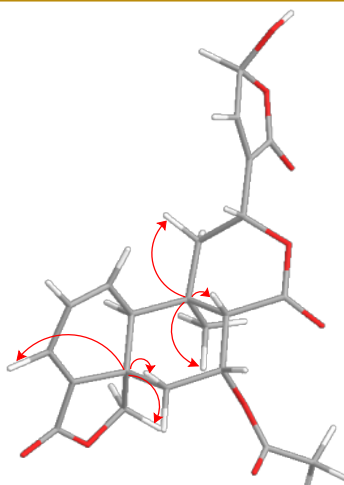
correlaciones en el espectro COSY del CH-7 permiten establecer la señal del H-8 en  $\delta_H$  2.83, cuyo desplazamiento indica que CH-8 está unido a un carbonilo de una  $\delta$ -lactona formada por C8-C9-C11-C12-C17.



**Esquema 43.** Estructura geométrica optimizada de **62** con correlaciones observadas en los espectros COSY y HMBC.

Otra de las señales que se puede asignar mediante el análisis del espectro HMBC con respecto a las correlaciones que tiene el CH<sub>2</sub>-19, es la del carbonilo C-18 ( $\delta_C$  168.4), el cual presenta una correlación con un hidrógeno olefínico ( $\delta_H$  7.02,  $J = 5.1$  Hz), esta señal se encuentra desplazada a frecuencia más alta que la habitual para un hidrógeno de este tipo debido a la desprotección ejercida por el efecto mesomérico de la  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada (ver Esquema 28). En el espectro COSY, el CH-3 tiene una correlación con otro hidrógeno olefínico, por lo cual se puede afirmar la presencia de un doble enlace entre C1-C2, el hidrógeno del CH-2 se observa en  $\delta_H$  6.52 como una señal doble de doble de dobles, la  $J$  más grande corresponde al acoplamiento *cis* que tiene con CH-1 mientras que la más pequeña (3.1 Hz) corresponde al acoplamiento alílico que tiene con CH-10.

Los carbonos cuaternarios C-5 ( $\delta_C$  38.9) y C-9 ( $\delta_C$  35.8) se pueden diferenciar entre sí por las correlaciones observadas en el espectro HMBC, ya que C-5 tiene correlaciones con los hidrógenos del CH<sub>2</sub>-19, el CH-3 y el CH<sub>2</sub>-6, mientras que C-9 tiene correlaciones con CH-8, CH<sub>2</sub>-11 y CH<sub>3</sub>-20.



**Esquema 44.** Estructura geométrica optimizada de **62** con correlaciones observadas para C-5 y C-9 en el espectro HMBC.

Por último, la señal más desplazada en RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta_{\text{H}}$  7.30) corresponde a un hidrógeno olefínico. Éste tiene una correlación en el espectro HMBC con el carbonilo de  $\delta_{\text{C}}$  168.8 y con el CH-12, por lo que esta señal se asigna al CH-14, el cual forma parte de una  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada formada por C13-C14-C15-C16. Con respecto al hidrógeno del CH-15, la señal se encuentra muy desplazada para ser un CH  $\text{sp}^3$  debido a que el carbono está unido a dos oxígenos (del alcohol y de la lactona) y se trata de un hidrógeno alílico, por ende se encuentra muy desprotegido y se desplaza hasta  $\delta_{\text{H}}$  6.23.

**Tabla 11.** Datos de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  del compuesto **62**

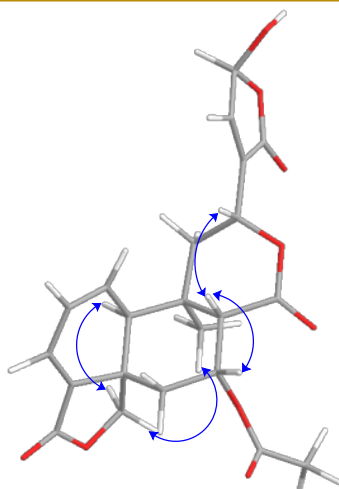
Posición	$\delta_{\text{C}}$	Tipo*	$\delta_{\text{H}}$ (J in Hz)
1	132.2	CH	6.19, <i>dd</i> (9.7, 1.6)
2	127.8	CH	6.52, <i>ddd</i> (9.5, 5.1, 3.1)
3	129.0	CH	7.02, <i>d</i> (5.1)
4	132.4	C	-
5	38.9	C	-
6 $\alpha$	31.4	CH <sub>2</sub>	1.87, <i>d</i> (15.4)
6 $\beta$			1.77, <i>dd</i> (15.5, 2.5)
7	64.8	CH	5.67, <i>dt</i> (4.4, 2.9)
8	44.4	CH	2.83, <i>m</i>

Posición	$\delta_c$	Tipo*	$\delta_H$ (J in Hz)
9	35.8	C	-
10	50.9	CH	2.70, <i>sa</i>
11 <sup>a†</sup>	40.4	CH <sub>2</sub>	2.83, <i>m</i>
11 <sup>b†</sup>	40.7		1.65, <i>m</i>
12 <sup>‡</sup>	71.1 71.2	CH	5.14, <i>m</i>
13	135.5	C	-
14	145.6	CH	7.30, <i>t</i> (1.3)
15 <sup>‡</sup>	97.5 97.9	CH	6.23, <i>sa</i>
16 <sup>‡</sup>	168.8 168.9	C	-
17	169.3	C	-
18	168.4	C	-
19 <sub>pro-R</sub>	77.9	CH <sub>2</sub>	4.84, <i>d</i> (8.8)
19 <sub>pro-S</sub>			4.13, <i>da</i> (8.5)
20	29.3	CH <sub>3</sub>	1.32, <i>s</i>
1'	169.7	C	-
2'	21.4	CH <sub>3</sub>	2.11, <i>s</i>

<sup>1</sup>H 700 MHz, <sup>13</sup>C 175 MHz, CDCl<sub>3</sub>. \*Obtenido del espectro HSQC. †Señales duplicadas en APT.

Como se mencionó anteriormente, en el espectro APT se observan 26 señales, sin embargo, el diterpenoide descrito solo tiene 22 átomos de carbono, esto se debe a que este compuesto se identificó como una mezcla epimérica en C-15, porque algunas señales correspondientes a los carbonos cercanos a C-15 se observan duplicadas (ver Tabla 11).

En cuanto a la configuración relativa de este compuesto, mediante el análisis del espectro NOESY (Esquema 45) se estableció la configuración mostrada en la estructura **62**.



**Esquema 45.** Estructura geométrica optimizada de **62** con correlaciones observadas en el espectro NOESY.

Luego de una búsqueda exhaustiva en la literatura química, no se encontró reporte previo sobre este compuesto, sin embargo, tiene una gran similitud con un compuesto descrito previamente en este trabajo, la  $7\alpha$ -acetoxi- $7,8\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**), lo cual se puede observar al comparar sus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 14), ya que las señales que difieren en su desplazamiento son las correspondientes a los anillos formados por C13-C14-C15-C16, además también se ven afectados los desplazamientos de las señales de los hidrógenos del CH-12 y el CH<sub>2</sub>-11, derivado de la presencia de la  $\gamma$ -lactona. Por esto, el diterpenoide **62** se nombró como  $7\alpha$ -acetoxi-16-oxo-15-hidroxi- $7,8\beta,15,16$ -tetrahidrogenesnerofolina B.

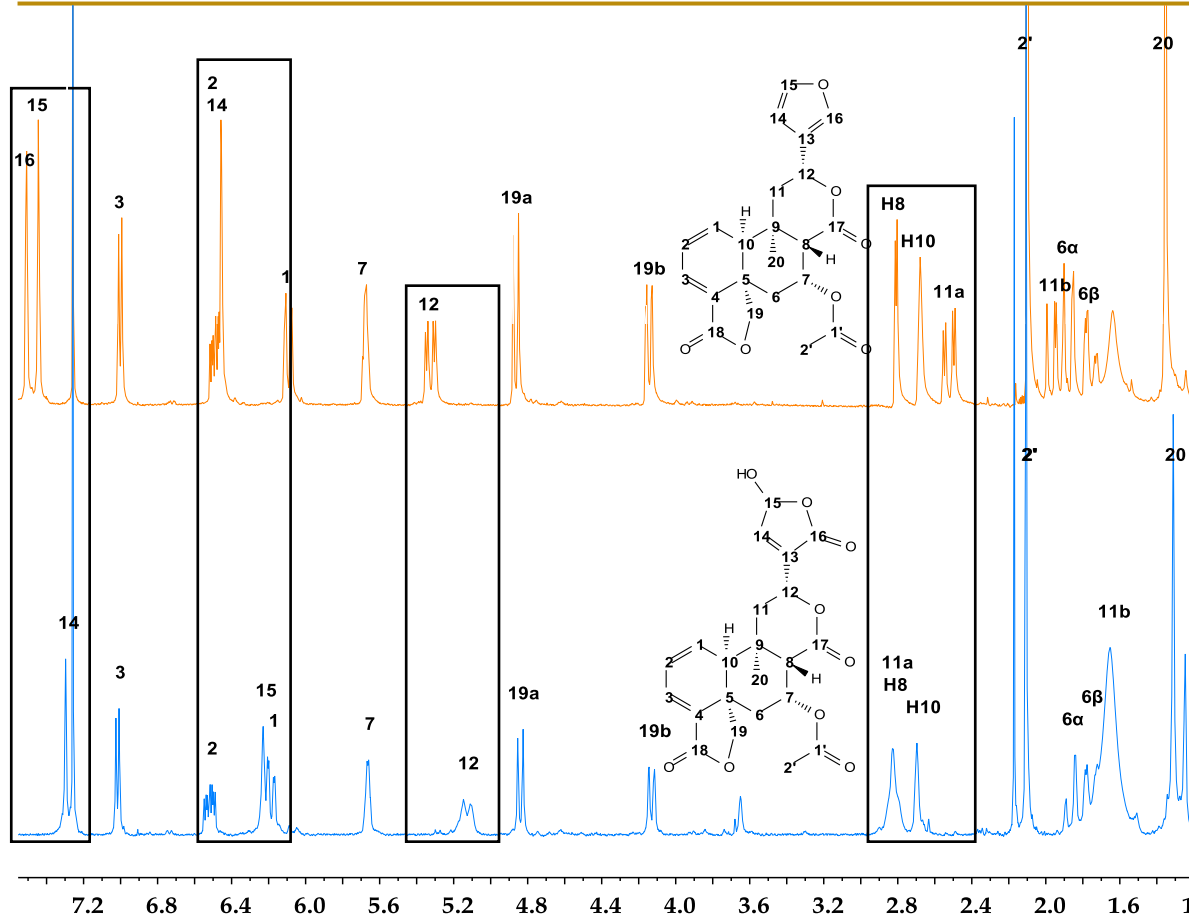


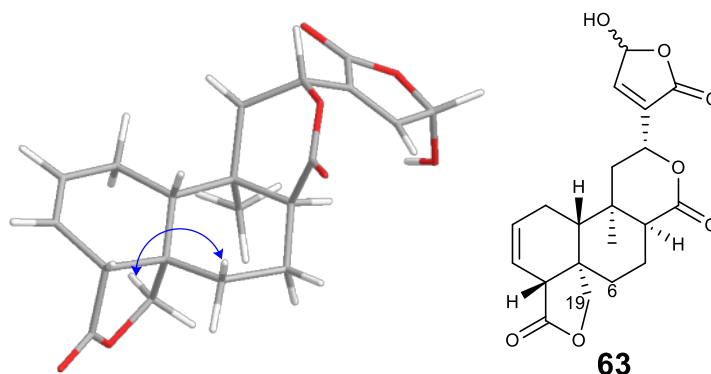
Figura 14. Comparación de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihydrogesnerofolina B (naranja) con **62** (azul).

### 6.2.3 Determinación estructural del compuesto **63**

El compuesto **63** fue aislado como un polvo blanco. En su espectro de UV se observan un máximo de absorbancia en 225.0 nm que indica la presencia de una lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada, y a diferencia de **62**, no se observa ninguna absorbancia alrededor de  $\sim 298$  nm, por lo que se puede descartar la presencia de un dieno conjugado homoanular. El espectro de masas de alta resolución obtenido mediante la técnica DART de este compuesto permite establecer la fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7$ .

En el espectro APT de **63** se observan 23 señales, no obstante, tres de estas señales son duplicadas debido a que **63** se identificó como una mezcla epimérica en C-15, por lo que las 20 señales restantes se pueden clasificar con base en el espectro HSQC (Tabla 12) en un metilo, cinco metilenos, ocho metinos y seis

carbonos cuaternarios, estos últimos se pueden diferenciar (por sus desplazamientos en el espectro APT) como tres carbonilos, dos carbonos  $sp^3$  y un carbono olefínico. En el espectro de RMN  $^1H$  se observan un par de señales características para un metileno en C-19 ( $\delta_H$  4.25 y 4.20) de un diterpenoide de tipo clerodano con una  $\gamma$ -lactona en C4-C5-C18-C19. La señal más desplazada tiene multiplicidad de doble, mientras que la menos desplazada se observa como un doble de dobles, debido al acoplamiento a larga distancia con el H-6 $\beta$  del CH<sub>2</sub>-6, lo cual se puede observar en el espectro COSY (Esquema 46). Este hidrógeno ( $\delta_H$  1.30) se observa como un triple de doble de dobles, la constante más pequeña (1.6 Hz) corresponde al acoplamiento con H-19<sub>pro-S</sub>, las constantes más grandes ( $J = 14.8$  Hz) se deben al acoplamiento geminal con H-6 $\alpha$  y el acoplamiento axial-axial con H-7 $\alpha$ , mientras que la  $J = 4.9$  Hz corresponde al acoplamiento axial-ecuatorial con H-7 $\beta$ .

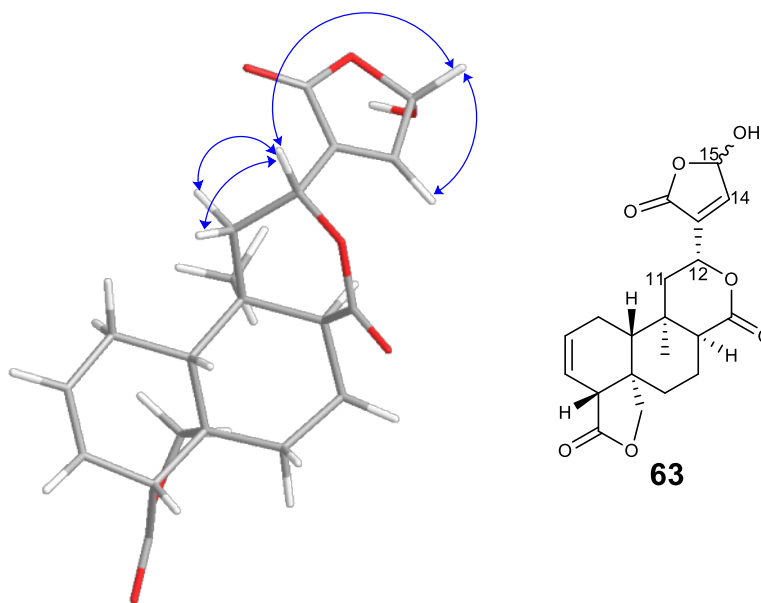


**Esquema 46.** Estructura geométrica optimizada de **63** con acoplamiento a larga distancia de H-19<sub>pro-S</sub> con H-6 $\beta$ .

Las señales más desplazadas en RMN  $^1H$  ( $\delta_H$  7.22 y 6.19) se observan como simples, la más desplazada corresponde a un metino olefínico, mientras que la de  $\delta_H$  6.19 corresponde a un metino  $sp^3$ ,<sup>99</sup> además ambas señales tienen una correlación en COSY con el hidrógeno de  $\delta_H$  5.17, el cual se asigna a un metino  $sp^3$  unido a un oxígeno, debido a que su señal en el espectro APT se observa en  $\delta_C$  71.1, asimismo, el hidrógeno de este metino tiene una correlación en COSY con los dos hidrógenos de un metileno  $sp^3$ . Una vez analizadas estas señales y sus

<sup>99</sup> El hidrógeno de este metino está desplazado a frecuencias muy alta para ser  $sp^3$ , por lo que debe estar muy desprotegido.

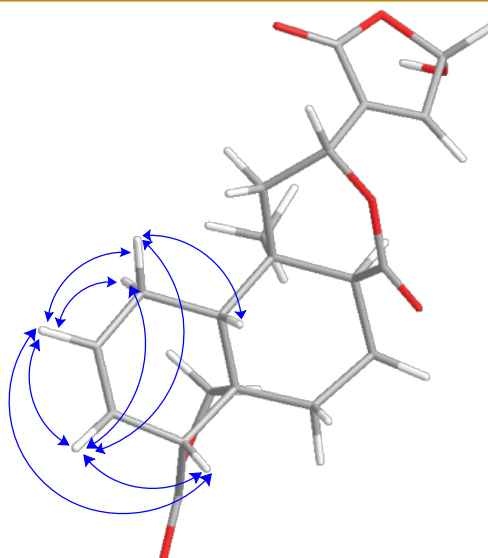
correlaciones, se puede establecer que el compuesto tiene una  $\gamma$ -lactona entre C13-C14-C15-C16, idéntica a la identificada en **62** y una  $\delta$ -lactona entre C8-C9-C11-C12-C17. La señal de  $\delta_H$  7.22 corresponde al H-14, la de  $\delta_H$  6.19 a H-15 y la señal del hidrógeno del CH-12 se observa en  $\delta_H$  5.17.



**Esquema 47.** Estructura geométrica optimizada de **63** con correlaciones observadas para H-11, H-12, H-14 y H-15 en el espectro COSY.

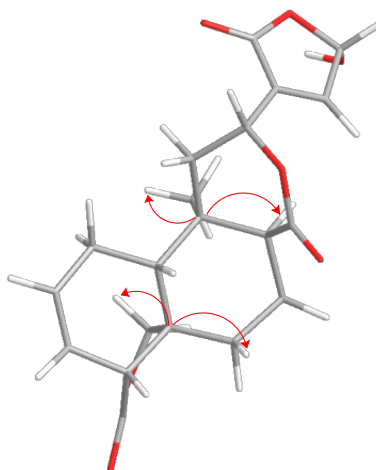
En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se observan dos señales en  $\delta_H$  6.02 y 5.63, cuyas señales en APT corresponden con  $\delta_C$  129.2 y 121.1, respectivamente, por lo que se trata de hidrógenos olefínicos. Por análisis del espectro COSY (Esquema 48) se puede concluir que son hidrógenos de metinos vecinos y se atribuyen a un doble enlace entre C2-C3. La señal del H-2 ( $\delta_H$  6.02) muestra efecto nuclear de Overhauser con los hidrógenos de un metileno (que de acuerdo con la estructura propuesta se trata de CH<sub>2</sub>-1), esta señal se observa como un doble de doble de triples, la  $J$  más grande (9.9 Hz) corresponde al acoplamiento *cis* que tiene con H-3, mientras que la  $J$  de 5.5 Hz es por el acoplamiento vecinal con H-1 $\beta$ , finalmente, las constantes más pequeñas (2.1 Hz) corresponden a los acoplamientos vecinal con H-1 $\alpha$  y alílico con H-4. La señal correspondiente al H-3 ( $\delta_H$  5.63) se observa como un doble de triple de dobles, la  $J = 9.8$  Hz se debe al acoplamiento *cis*, y las demás constantes corresponden a los acoplamientos vecinal con H-4 y alílicos con los hidrógenos del metileno CH<sub>2</sub>-1.





**Esquema 48.** Estructura geométrica optimizada de **63** con correlaciones observadas para H-1, H-2, H-3, H-4 y H-10 en el espectro COSY.

Por último, para asignar las señales en el APT de los C-5 y C-9 se analizó el espectro HMBC, donde se pueden ver correlaciones de C-5 con los hidrógenos del CH<sub>2</sub>-6 y el CH<sub>2</sub>-19, mientras que para el C-9 se observan correlaciones con los hidrógenos del CH-8 y el CH<sub>3</sub>-20.



**Esquema 49.** Estructura geométrica optimizada de **63** con correlaciones observadas para C-5 y C-9 en el espectro HMBC.

**Tabla 12.** Datos de RMN del compuesto **63**

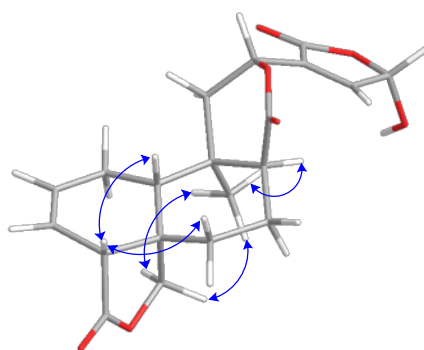
Posición	$\delta_c$	Tipo*	$\delta_H$ (J en Hz)
1 $\beta$	21.9	CH <sub>2</sub>	2.24, <i>dt</i> (17.6, 5.1)

Posición	$\delta_c$	Tipo*	$\delta_H$ (J en Hz)
1 $\alpha$			2.05, <i>m</i>
2	129.2	CH	6.02, <i>ddt</i> (9.9, 5.5, 2.1)
3	121.1	CH	5.63, <i>dtd</i> (9.8, 2.6, 1.3)
4	52.4	CH	2.80, <i>sa</i>
5	41.5	C	-
6 $\beta$	32.6	CH <sub>2</sub>	1.89, <i>m</i>
6 $\alpha$			1.30, <i>tdd</i> (14.8, 4.9, 1.6)
7 $\beta$	19.0	CH <sub>2</sub>	2.44, <i>m</i>
7 $\alpha$			1.91, <i>m</i>
8	49.5	CH	2.46, <i>m</i>
9	35.3	C	-
10	38.3	CH	1.95, <i>dd</i> (12.2, 4.9)
11 $\beta^\ddagger$	38.8	CH <sub>2</sub>	2.48, <i>m</i>
11 $\alpha^\ddagger$	39.0		1.52, <i>m</i>
12	71.1	CH	5.17, <i>da</i> (12.2)
13	136.6	C	-
14 $^\ddagger$	145.2 145.4	CH	7.22, <i>s</i>
15 $^\ddagger$	97.3	CH	6.19, <i>sa</i>
	97.7	OH	4.68, <i>sa</i>
16	168.9	C	-
17	171.4	C	-
18	175.7	C	-
19 <sub>pro-R</sub>	70.1	CH <sub>2</sub>	4.25, <i>d</i> (9.0)
19 <sub>pro-S</sub>			4.20, <i>dd</i> (9.1, 1.8)
20	23.6	CH <sub>3</sub>	1.00, <i>s</i>

<sup>1</sup>H 500 MHz, <sup>13</sup>C 125 MHz, CDCl<sub>3</sub>. \*Obtenido del espectro HSQC.  $^\ddagger$ Señales duplicadas en APT.

Como se mencionó anteriormente, en el espectro APT se observan 23 señales, sin embargo, el diterpenoide descrito solo tiene 20 átomos de carbono, esto se debe a que este compuesto se identificó como una mezcla epimérica en C-15, porque algunas señales correspondientes a los carbonos cercanos a C-15 se observan duplicadas (ver Tabla 12).

En cuanto a la configuración relativa de este compuesto, mediante el análisis del espectro NOESY (Esquema 50) se estableció la configuración mostrada en la estructura **63**.



**Esquema 50.** Estructura geométrica optimizada de **63** con correlaciones observadas en el espectro NOESY.

Luego de una búsqueda exhaustiva en la literatura química, no se encontró reporte previo sobre este compuesto, sin embargo, tiene una gran similitud con un compuesto descrito previamente en este trabajo, la salviarina (**7**), lo cual se puede observar al comparar sus espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 15), ya que en el espectro de **63** se observa la señal correspondiente al hidrógeno del alcohol, adicionalmente las señales que difieren en su desplazamiento son las correspondientes a los anillos formados por C13-C14-C15-C16 y también se ven afectados los desplazamientos de las señales de los hidrógenos del CH-12 y el CH<sub>2</sub>-11, derivado de la presencia de la  $\gamma$ -lactona. Por esto, el diterpenoide **63** se nombró como 16-oxo-15-hidroxi-15,16-dihidrosalviarina.

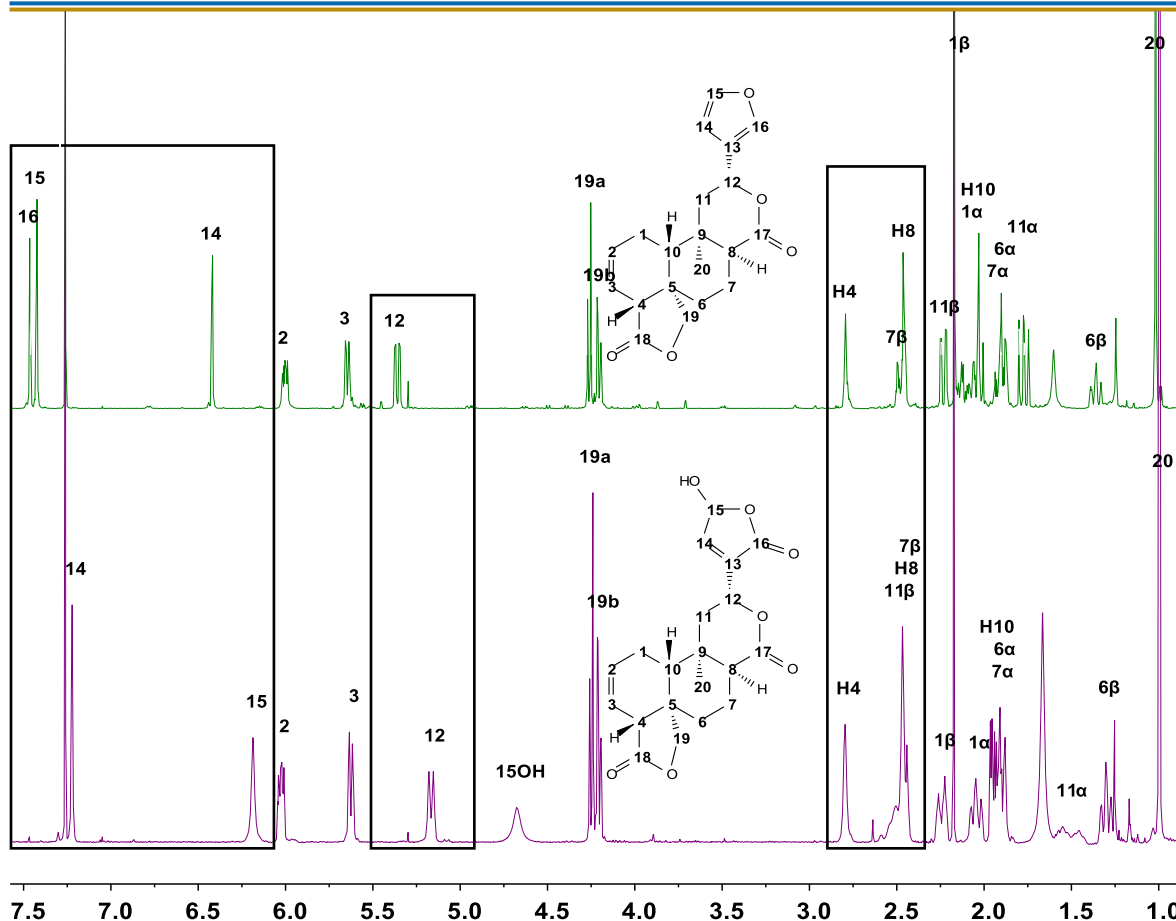


Figura 15. Comparación de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de la salvairina (verde) con **63** (morado).

### 6.3 Evaluación de la actividad biológica de algunos de los diterpenoides aislados de *S. involucrata* y *S. fulgens*

#### 6.3.1 Actividad antiproliferativa

Derivado del estudio de la actividad biológica de compuesto aislados de especies de *Salvia* se ha observado que algunos diterpenoides de tipo abietano tienen propiedades citotóxicas,<sup>100</sup> sin embargo, algunos clerodanos también han mostrado una importante actividad citotóxica, incluido el ácido hardwickiico.<sup>101</sup>

<sup>100</sup> Akaberi, M.; Mehri, S.; Iranshahi, M. Multiple pro-apoptotic targets of abietane diterpenoids from *Salvia* species. *Fitoterapia* **2015**, *100*, 118-132.

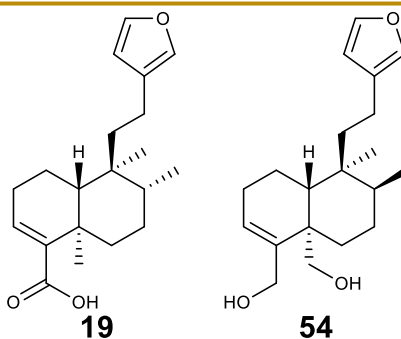
<sup>101</sup> Carneiro, L. J.; Tasso, T. O.; Santos, M. F. C.; Goulart, M. O.; dos Santos, R. A.; Bastos, J. K.; da Silva, J. J. M.; Crotti, A. E. M.; Parreira, R. L. T.; Orenha, R. P.; Veneziani, R. C. S.; Ambrósio, S. R. *Copaifera multijuga*, *Copaifera pubiflora* and *Copaifera trapezifolia* oleoresins: chemical characterization and in vitro cytotoxic potential against tumoral cell lines. *J. Braz. Chem. Soc.* **2020**, *31*(8), 1679-1689.

Los compuestos **19**, **25**, **54**, **56** y **61** fueron evaluados en seis líneas celulares obtenidas de cánceres humanos [(adenocarcinoma mamario (MCF-7), leucemia mieloide crónica (K562), glioblastoma (U251), adenocarcinoma de pulmón (SKLU-1), cáncer de colon (HCT-15) y cáncer de próstata (PC-3)] y un cultivo primario de células sanas de riñón de mono (COS-7)] a una concentración de 25.0  $\mu\text{M}$  utilizando el ensayo de la sulforrodamina B. Como blanco positivo se utilizó adriamicina a una concentración de 0.5  $\mu\text{M}$ . Los resultados de la evaluación primaria se muestran en la Tabla 13.

**Tabla 13.** Evaluación primaria de la actividad antiproliferativa de los diterpenoides **19**, **25**, **54**, **56** y **61** a una concentración de 25.0  $\mu\text{M}$ .

Compuesto	Inhibición del crecimiento por línea celular (%)						
	U251	PC-3	K562	HCT-15	MCF-7	SKLU-1	COS-7
<b>19</b>	22.4	1.8	45.5	10.4	1.4	11.5	19.8
<b>25</b>	49.6	14.7	24.8	-	NC	12.6	NC
<b>54</b>	22.4	13.0	51.6	15.5	0.8	22.9	19.7
<b>56</b>	3.8	12.8	20.2	13.3	NC	33.0	14.2
<b>61</b>	14.2	15.1	NC	12.8	8.8	6.0	13.1
<b>Adriamicina (0.5 <math>\mu\text{M}</math>)</b>	96.0	85.2	100	86.9	99.1	90.0	53.4

Los compuestos **19** y **54** presentan un porcentaje de inhibición en la línea celular K562 de alrededor del 50 %, ambos compuestos comparten una relación estructural muy cercana, como se puede observar en el Esquema 51, ya que únicamente difieren en la orientación del metilo 17 y la oxidación de los carbonos 18 y 19, pues en el caso de **19** C-18 está oxidado hasta el ácido carboxílico correspondiente, mientras que el C-19 no se encuentra oxidado, y en **54** tanto C-18 como C-19 están oxidados al alcohol correspondiente.



**Esquema 51.** Comparación estructural del ácido hardwickiico (**19**) y el kingidiol (**54**).

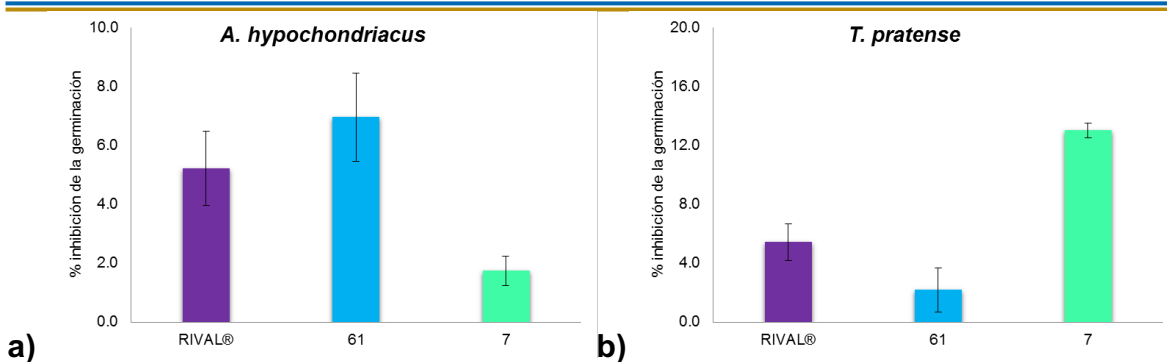
Por otro lado, los compuestos **25** y **56** también presentan un porcentaje de inhibición moderado en las líneas celulares U251 y SKLU-1, respectivamente.

Para los compuestos **54** y **25** se calculó la concentración inhibitoria 50 ( $CI_{50}$ ) en las líneas K562 y U251, respectivamente. El compuesto **54** mostró un efecto de inhibición moderado con una  $CI_{50} = 19.0 \pm 1.8 \mu\text{M}$ , mientras que **25** mostró un efecto de inhibición bajo con una  $CI_{50} = 66.8 \pm 5.7 \mu\text{M}$ .

### 6.3.2 Actividad fitotóxica

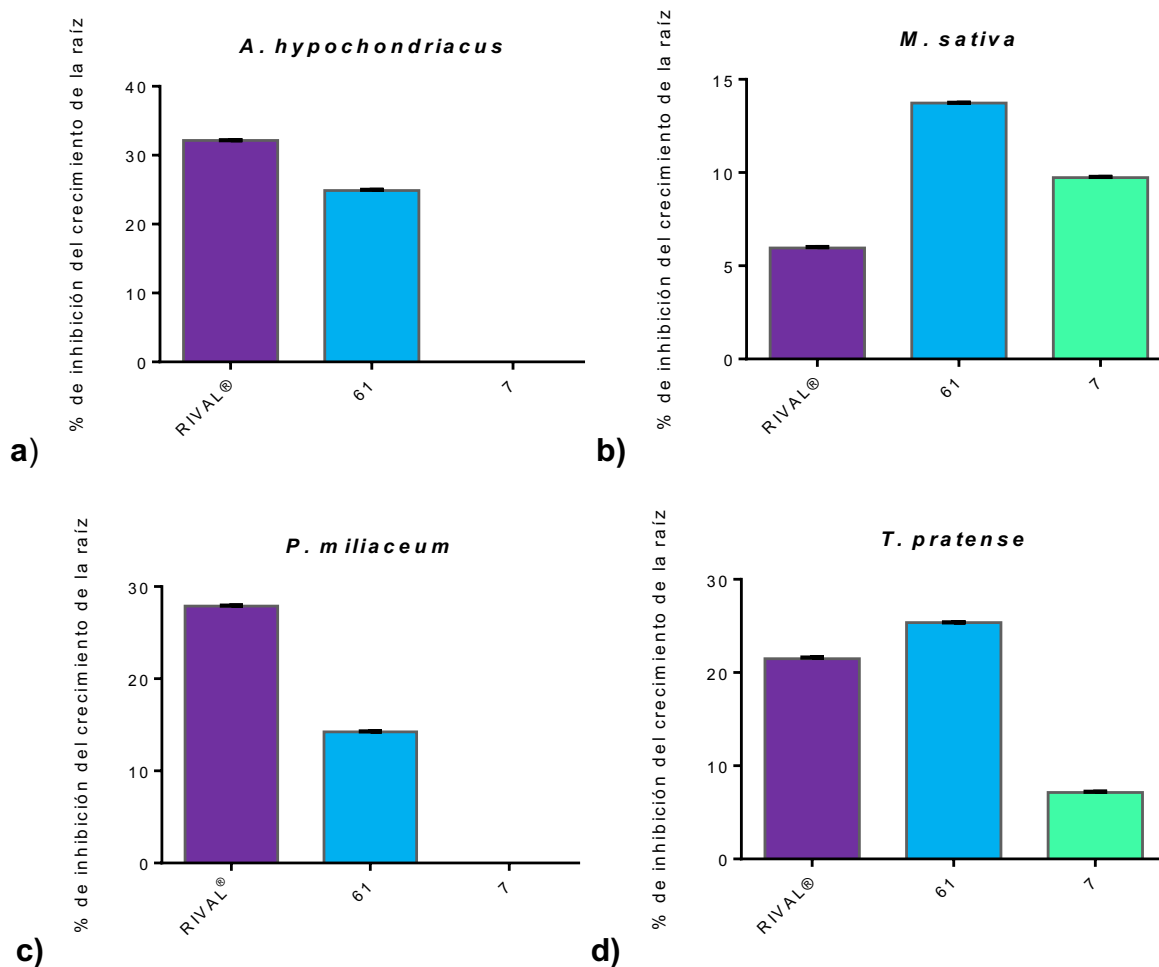
En el presente trabajo se llevó a cabo la determinación del potencial fitotóxico de los diterpenoides **7** y **61** sobre los procesos de germinación y crecimiento de la raíz de cuatro plantas consideradas malezas, *A. hypochondriacus*, *M. sativa*, *P. miliaceum* y *T. pratense*. Los resultados obtenidos se muestran a continuación.

En las Figuras 16 y 17 se observa el efecto fitotóxico de la  $7\alpha$ -acetoxi- $7,8\beta$ -dihidrogenofolina B (**61**) y la salviarina (**7**) sobre los dos procesos fisiológicos evaluados, los resultados se expresan como porcentaje de inhibición. En general, no se observó un efecto de inhibición significativo a la concentración evaluada (100 ppm). Sobre la germinación se observó un efecto de inhibición bajo para *A. hypochondriacus* y *T. pratense* (Figura 16), mientras que para *M. sativa* y *P. miliaceum* no se observó inhibición alguna.



**Figura 16.** Efecto fitotóxico de los compuestos **7** y **61** sobre la germinación de: **a)** *A. hypochondriacus*, **b)** *T. pratense*. Control positivo RIVAL®. Valores estadísticamente significativos ANOVA ( $P < 0.05$ ).

Con respecto al crecimiento de la raíz (Figura 17), la salviarina (**7**) no inhibió su crecimiento en *A. hypochondriacus* ni en *P. miliaceum*, mientras que en *M. sativa* y *T. pratense* mostró un % de inhibición bajo; en cuanto a la  $7\alpha$ -acetoxi- $7,8\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**) mostró efectos de inhibición moderado-bajo en *A. hypochondriacus* y *T. pratense* comparables al RIVAL®, mientras que para *M. sativa* y *P. miliaceum* el % de inhibición fue menor.



**Figura 17.** Efecto fitotóxico de los compuestos **7** y **61** sobre el crecimiento de la raíz de: **a)** *A. hypochondriacus*, **b)** *M. sativa*, **c)** *P. miliaceum*, **d)** *T. pratense*. Control positivo RIVAL®. Valores estadísticamente significativos ANOVA ( $P < 0.05$ ).



## 7. CONCLUSIONES

Del estudio de las partes aéreas de *Salvia involucrata* Cav. y *Salvia fulgens* Cav. se concluye lo siguiente:

1. Del extracto de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de *S. involucrata* se aislaron 10 compuestos, cuyas estructuras fueron determinadas mediante el análisis de técnicas espectroscópicas, principalmente RMN. De los compuestos aislados se identificaron seis diterpenoides de tipo *neo-clerodano*, dos flavonas y dos triterpenoides.
2. Se estableció la configuración absoluta del diterpenoide **25** por DCE.
3. Se obtuvieron los espectros de RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C (o en algunos casos APT), COSY, HSQC, HMBC y NOESY de todos los compuestos aislados. Además, se realizaron algunas correcciones en las asignaciones de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C del compuesto **53** y la asignación completa de **56**.
4. Los compuestos **19**, **25**, **54** y **56** fueron probados en el bioensayo de la sulforodamina B para evaluar su efecto antiproliferativo en seis líneas celulares de cáncer humano. Los cuatro compuestos mostraron una actividad moderada en contra de tres líneas celulares, la K562 (**19** y **54**), U251 (**25**) y SKLU-1 (**56**). Se calculó la CI<sub>50</sub> para los compuestos **54** (K562) y **25** (U251) y se observó una inhibición moderada y baja, respectivamente.
5. Conforme a los diterpenoides aislados de *S. involucrata*, se estableció la relación estructural que tiene con aquellos identificados de otras plantas pertenecientes a la sección *Holwaya*.
6. Del extracto de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> de *S. fulgens* se aislaron 10 compuestos, cuyas estructuras fueron determinadas mediante el análisis de técnicas espectroscópicas, principalmente RMN. De los compuestos aislados se identificaron seis diterpenoides de tipo *neo-clerodano*, un flavonol metoxilado, un lignano y dos triterpenoides.
7. Se obtuvieron los espectros de RMN <sup>1</sup>H, APT, COSY, HSQC, HMBC y NOESY de todos los compuestos aislados y se realizó la corrección de un compuesto aislado previamente de *S. gesneriiflora*, en dicho trabajo se identificó como la 7 $\alpha$ -acetoxi,7,8 $\alpha$ -dihidrogenesnerofolina B (**9**), pero mediante el análisis de los espectros de RMN en este trabajo se concluyó que la

- estructura correcta es la 7 $\alpha$ -acetoxi,7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (**61**), además se determinó su configuración absoluta mediante su análisis por difracción de rayos X.
8. Con respecto al análisis comparativo de los diterpenoides aislados de *S. fulgens* en los años 80's (corregida ahora como *S. gesneriiflora* con base en las consideraciones taxonómicas pertinentes) con los aislados en este trabajo se logró observar una diferencia significativa, ya que en los trabajos de los 80's se identificaron un salvigenano y un pimarano, mientras que en el presente estudio únicamente se identificaron *neo*-clerodanos.
  9. Se aislaron dos diterpenoides nuevos, **62** y **63**, ambos como mezclas epiméricas en C-15 y son estructuralmente muy parecidos a **61** y **7**, respectivamente.
  10. Se evaluó el efecto antiproliferativo de **61** en seis líneas celulares de cáncer humano y se observó un % de inhibición bajo en cinco de ellas (U251, PC-3, HCT-15, MCF-7 y SKLU-1) y nulo para la K562.
  11. Se evaluó la actividad fitotóxica de los compuestos **7** y **61** como inhibidores de la germinación y del crecimiento de la raíz de cuatro plantas. Sobre la germinación se observaron % de inhibición nulos (en contra de *M. sativa* y *P. miliaceum*) y bajos (en contra de *A. hypochondriacus* y *T. pratense*) para ambos compuestos. En cuanto al % de inhibición del crecimiento de la raíz, no se observó inhibición de **7** en contra de *A. hypochondriacus* ni *P. miliaceum*, y en los demás casos se observaron % de inhibición moderados-bajos y bajos.
  12. Se estableció una relación estructural de los diterpenoides aislados con los identificados de otras especies de la sección *Fulgentes*, además se observó una similitud muy cercana con los diterpenoides identificados en salvias de la sección *Holwaya*, lo que confirma el hecho de que ambas secciones también son muy parecidas en cuanto a su taxonomía se refiere.

## 8. ANEXOS

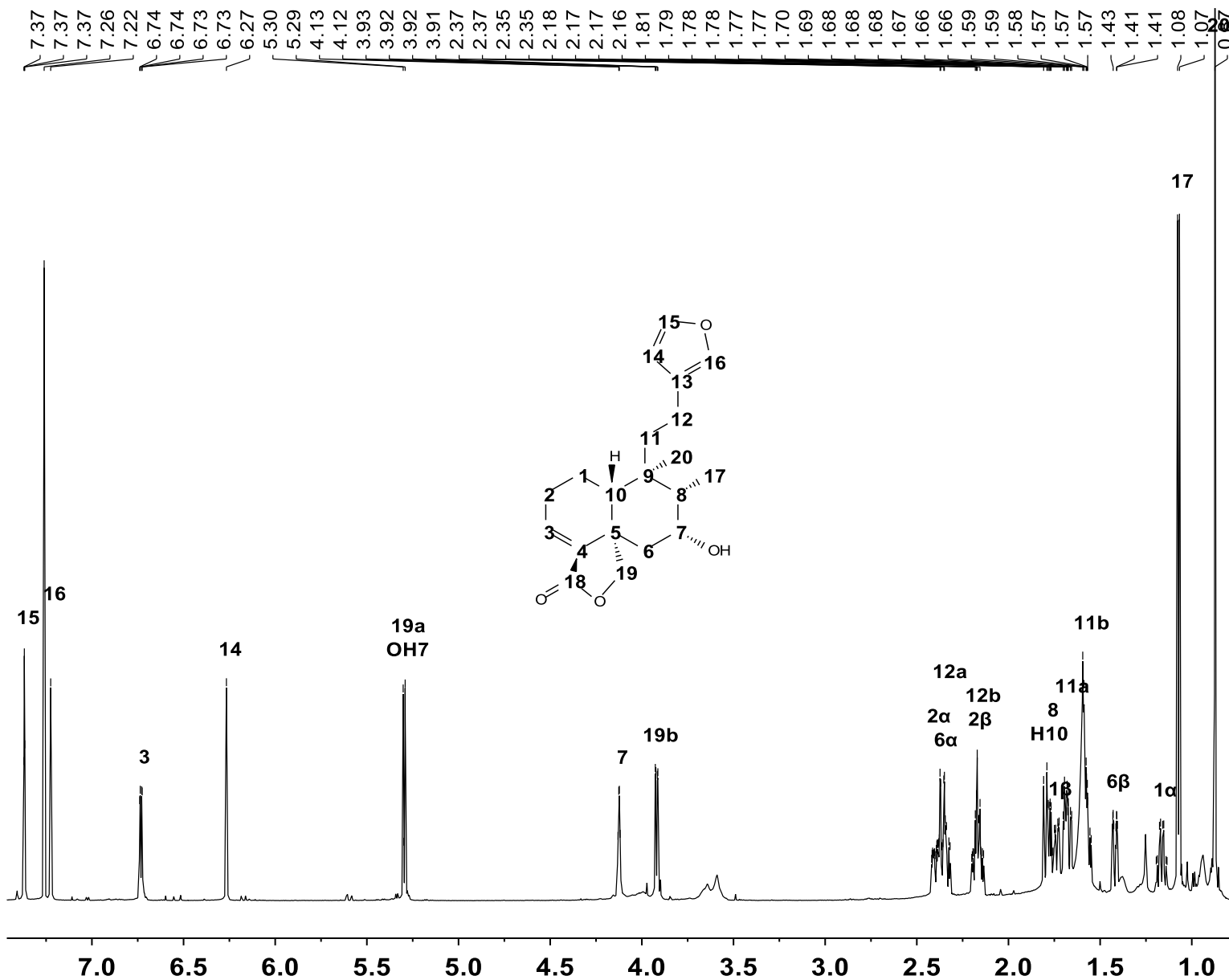
**Tabla A1.** Riqueza y endemismo de las especies de Lamiaceae en México

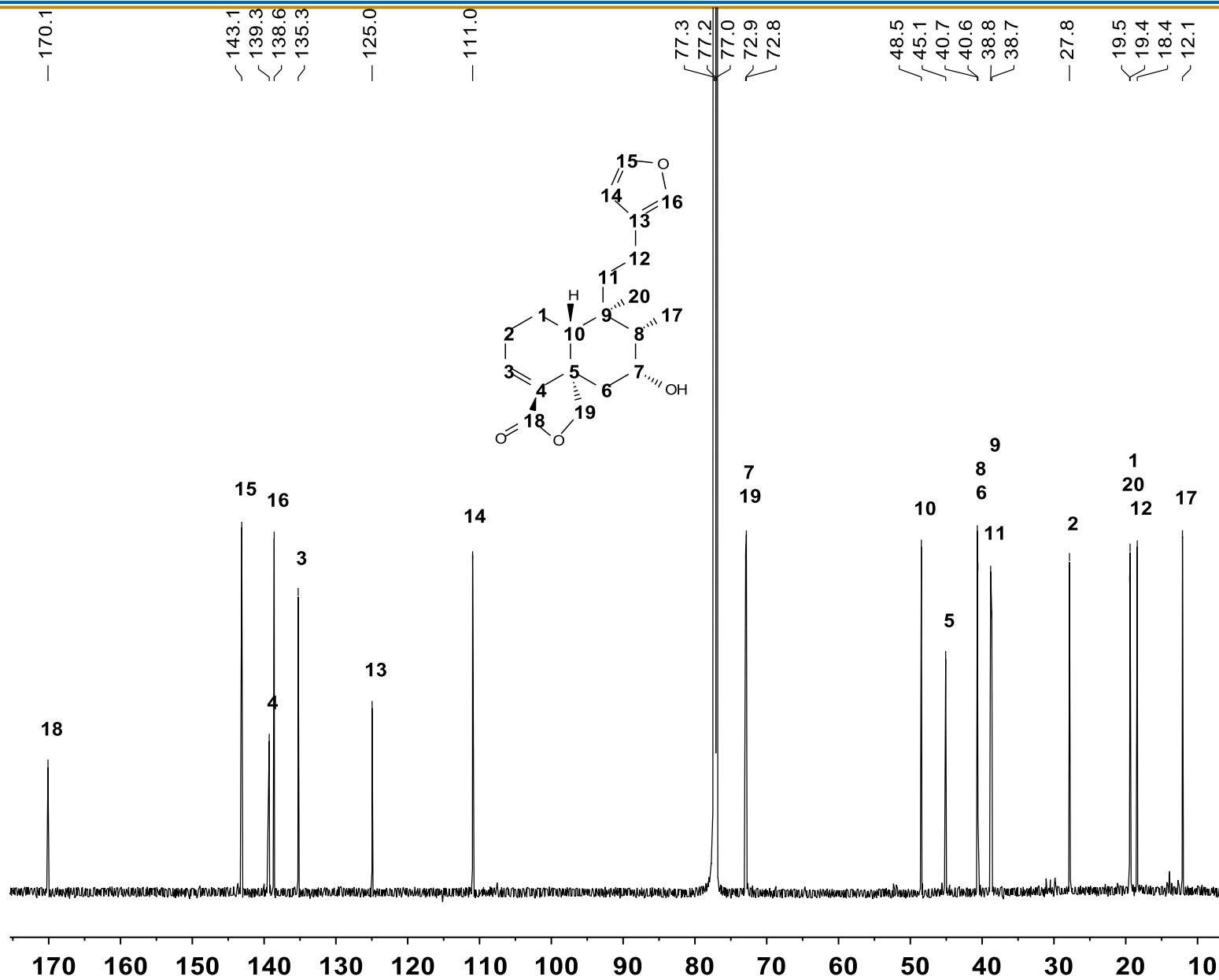
Géneros	Especies (%)	Endémicas (%)	Microendémicas (%)*
<i>Acanthomintha</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Aegiphila</i>	10 (1.67)	1 (10.00)	1 (10.00)
<i>Agastache</i>	13 (2.17)	7 (53.85)	1 (7.69)
<i>Asterohyptis</i>	2 (0.33)	1 (50.00)	0
<i>Callicarpa</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Catoferia</i>	3 (0.50)	1 (33.33)	1 (33.33)
<i>Clinopodium</i>	14 (2.34)	9 (64.29)	5 (35.71)
<i>Cornutia</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Cunila</i>	7 (1.17)	6 (85.71)	3 (42.86)
<i>Hedeoma</i>	28 (4.68)	20 (71.43)	11 (39.29)
<i>Hypenia</i>	1 (0.17)	1 (100.00)	0
<i>Hyptis</i>	35 (5.85)	16 (45.71)	7 (20.00)
<i>Leonotis</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Leonurus</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Lepechinia</i>	12 (2.01)	6 (50.00)	2 (16.67)
<i>Marrubium</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Marsypianthes</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Monarda</i>	6 (1.00)	3 (50.00)	1 (16.67)
<i>Monardella</i>	9 (1.51)	2 (22.22)	1 (11.11)
<i>Ocimum</i>	3 (0.50)	0	0

Géneros	Especies (%)	Endémicas (%)	Microendémicas (%)*
<i>Physostegia</i>	2 (0.33)	0	0
<i>Pogogyne</i>	3 (0.50)	1 (33.33)	1 (33.33)
<i>Poliomintha</i>	8 (1.34)	5 (62.50)	3 (37.50)
<i>Prunella</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Salvia</i>	306 (51.17)	236 (77.12)	102 (33.33)
<i>Scutellaria</i>	61 (10.20)	40 (65.57)	24 (39.34)
<i>Stachys</i>	45 (7.53)	33 (73.33)	14 (31.11)
<i>Tetraclea</i>	1 (0.17)	0	0
<i>Teucrium</i>	6 (1.00)	2 (33.33)	1 (16.67)
<i>Trichostema</i>	8 (1.34)	2 (25.00)	1 (12.50)
<i>Vitex</i>	4 (0.67)	2 (50.00)	0
<i>Volkameria</i>	2 (0.33)	0	0
<i>Warnockia</i>	1 (0.17)	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>598 (100)</b>	<b>396 (66.22)</b>	<b>179 (29.93)</b>

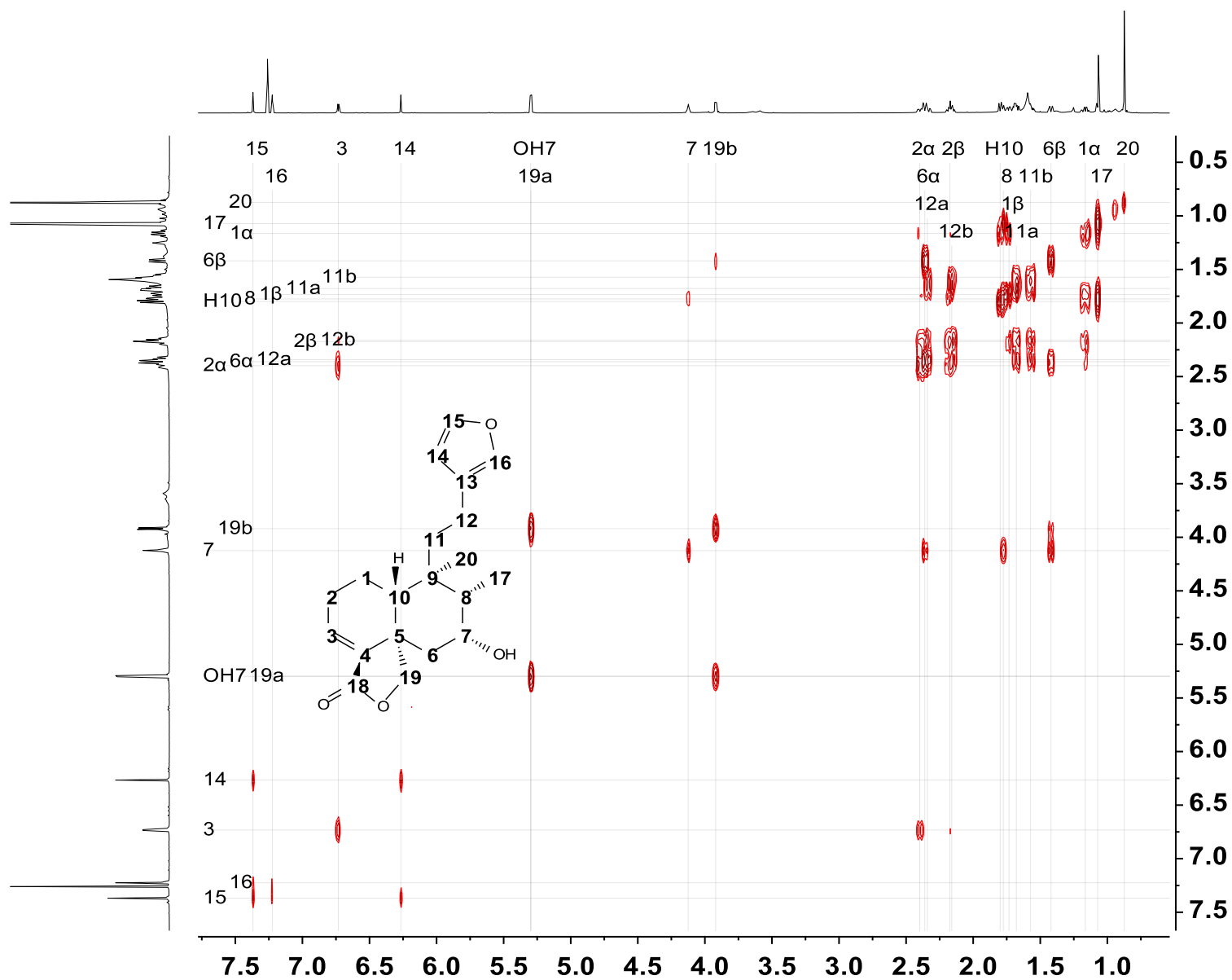
**Tabla A2.** Datos cristalográficos para la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihidrogenesnerofolina B (61).

<b>Identification code</b>	Cu_008ERB22_0m	
<b>Empirical formula</b>	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>7</sub>	
<b>Formula weight</b>	517.76	
<b>Temperature</b>	100(2) K	
<b>Wavelength</b>	1.54178 Å	
<b>Crystal system</b>	Orthorhombic	
<b>Space group</b>	P2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	
<b>Unit cell dimensions</b>	a = 8.98790(10) Å	$\alpha = 90^\circ$
	b = 15.4156(3) Å	$\beta = 90^\circ$
	c = 16.7032(3) Å	$\gamma = 90^\circ$
<b>Volume</b>	2314.29(7) Å <sup>3</sup>	
<b>Z</b>	4	
<b>Density (calculated)</b>	1.486 mg/mm <sup>3</sup>	
<b>Absorption coefficient</b>	3.963 mm <sup>-1</sup>	
<b>F(000)</b>	1072	
<b>Crystal size</b>	0.389 x 0.328 x 0.232 mm <sup>3</sup>	
<b>Theta range for data collection</b>	3.902 to 71.044°	
<b>Index ranges</b>	-11 ≤ h ≤ 11, -18 ≤ k ≤ 18, -20 ≤ l ≤ 20	
<b>Reflections collected</b>	24855	
<b>Independent reflections</b>	4448 [R(int) = 0.0456]	
<b>Completeness to theta = 67.679°</b>	100.0 %	
<b>Absorption correction</b>	None	
<b>Refinement method</b>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	
<b>Data / restraints / parameters</b>	4448 / 138 / 337	
<b>Goodness-of-fit on F<sup>2</sup></b>	1.054	
<b>Final R indices [I &gt; 2σ(I)]</b>	R1 = 0.0268, wR2 = 0.0710	
<b>R indices (all data)</b>	R1 = 0.0269, wR2 = 0.0711	
<b>Absolute structure parameter</b>	0.008(4)	
<b>Extinction coefficient</b>	n/a	
<b>Largest diff. peak and hole</b>	0.252 and -0.193 e.Å <sup>-3</sup>	



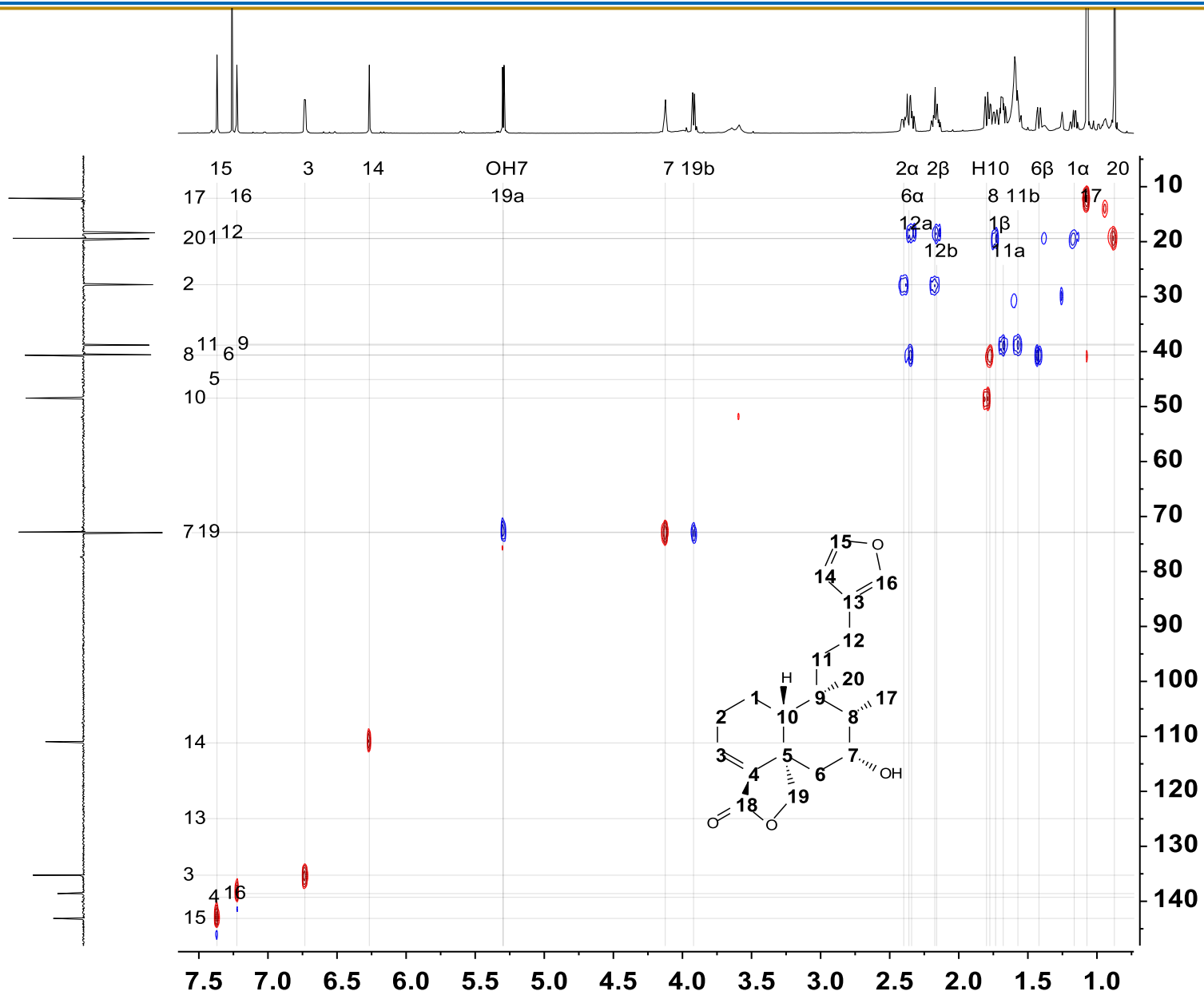


Espectro A2. RMN <sup>13</sup>C de la 1-deoxybacrispina (53) (CDCl<sub>3</sub>, 175 MHz).

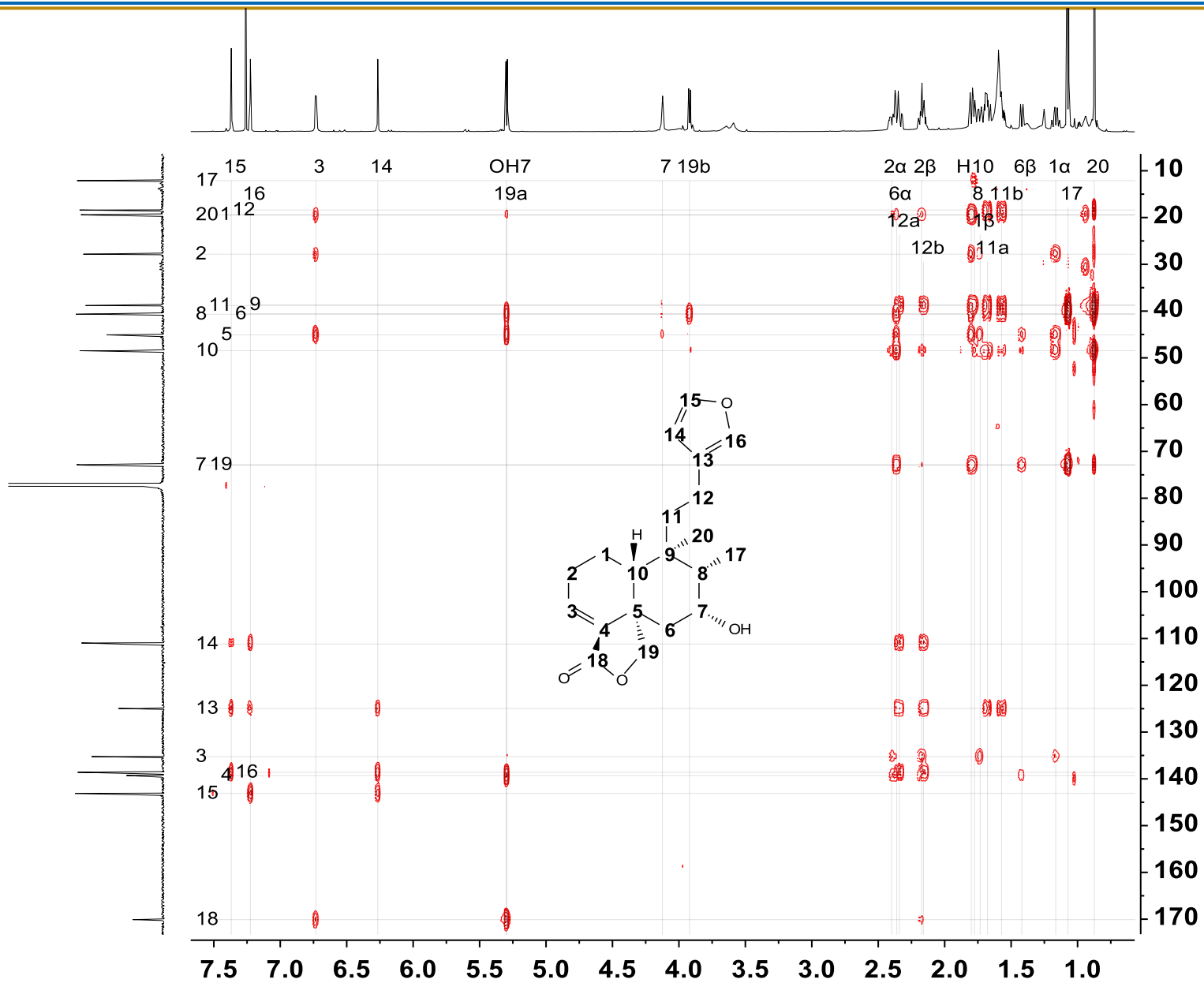


**Espectro A3.** COSY de la 1-deoxybacrispina (**53**) (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

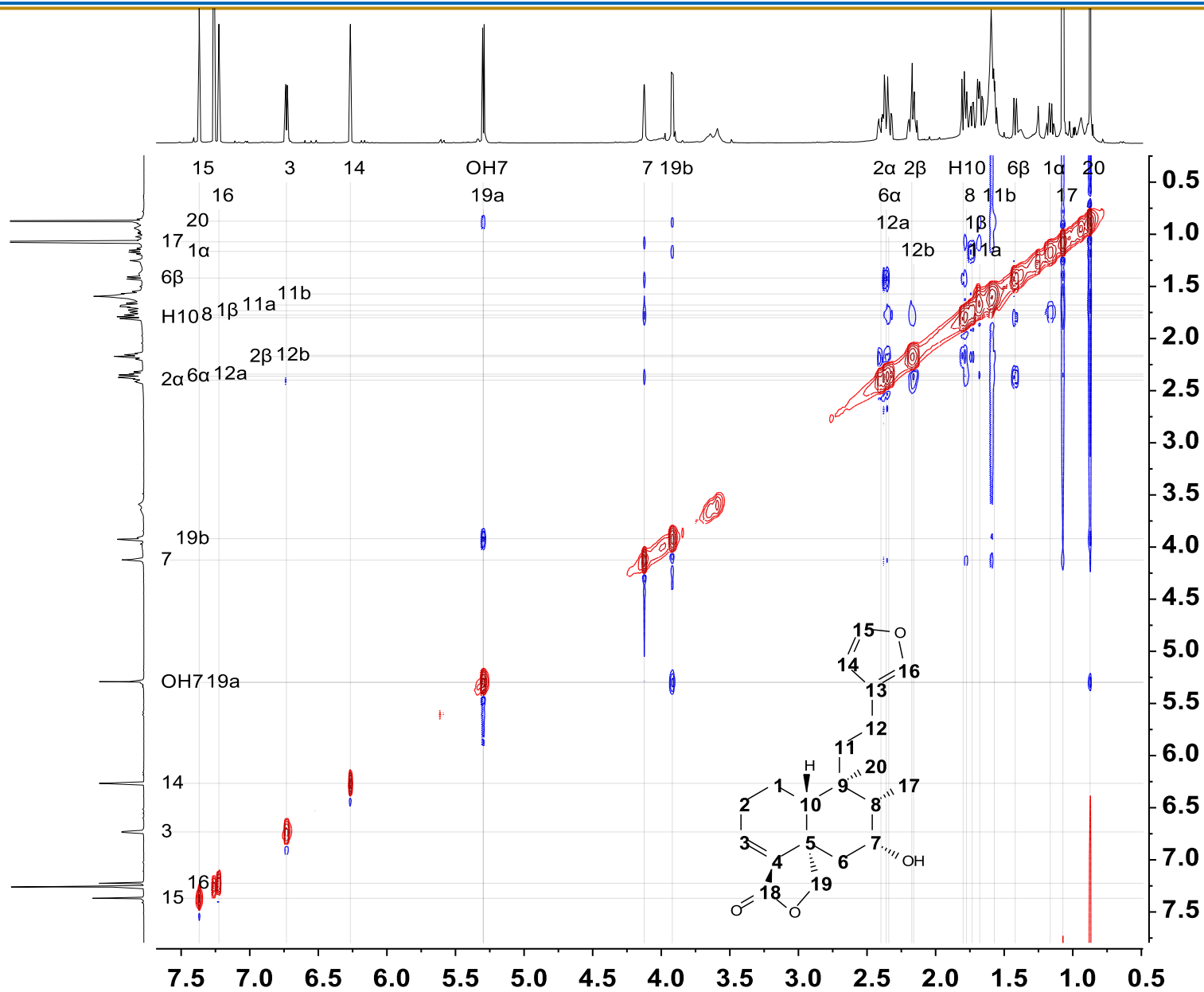




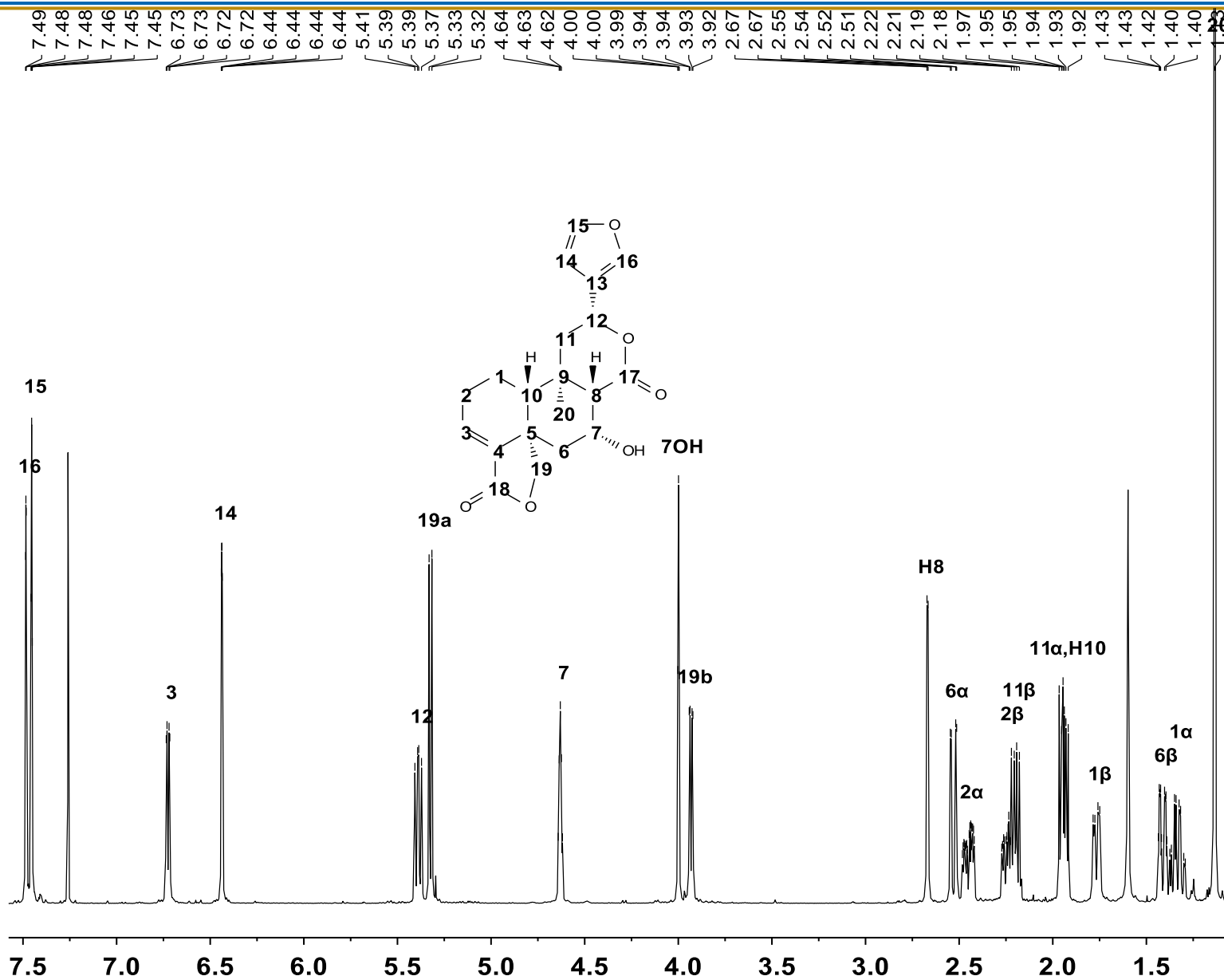
Espectro A4. HSQC de la 1-deoxyabacrispina (53) (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

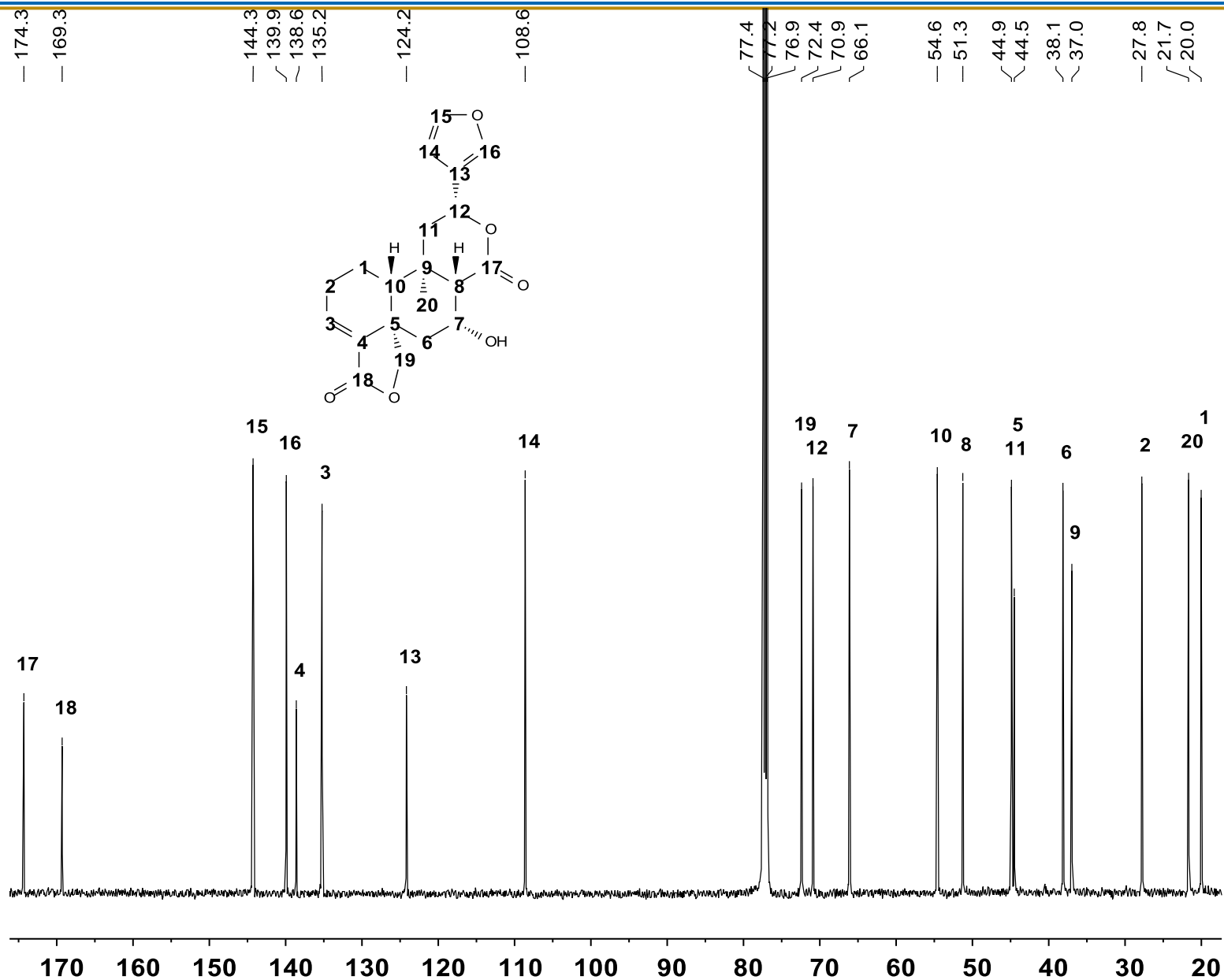


Espectro A5. HMBC de la 1-deoxibacrispina (53) (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

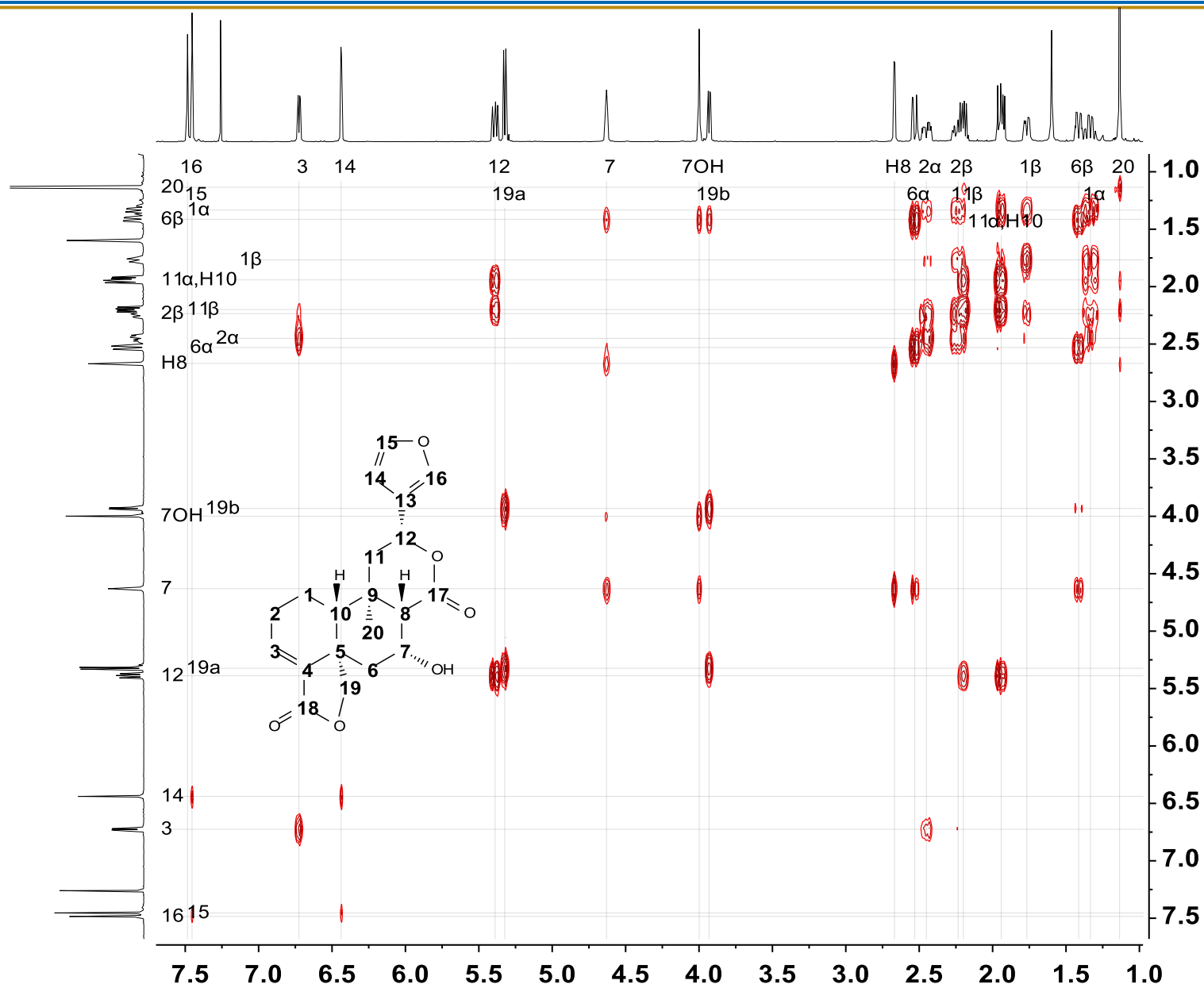


Espectro A6. NOESY de la 1-deoxibacrispina (53) (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

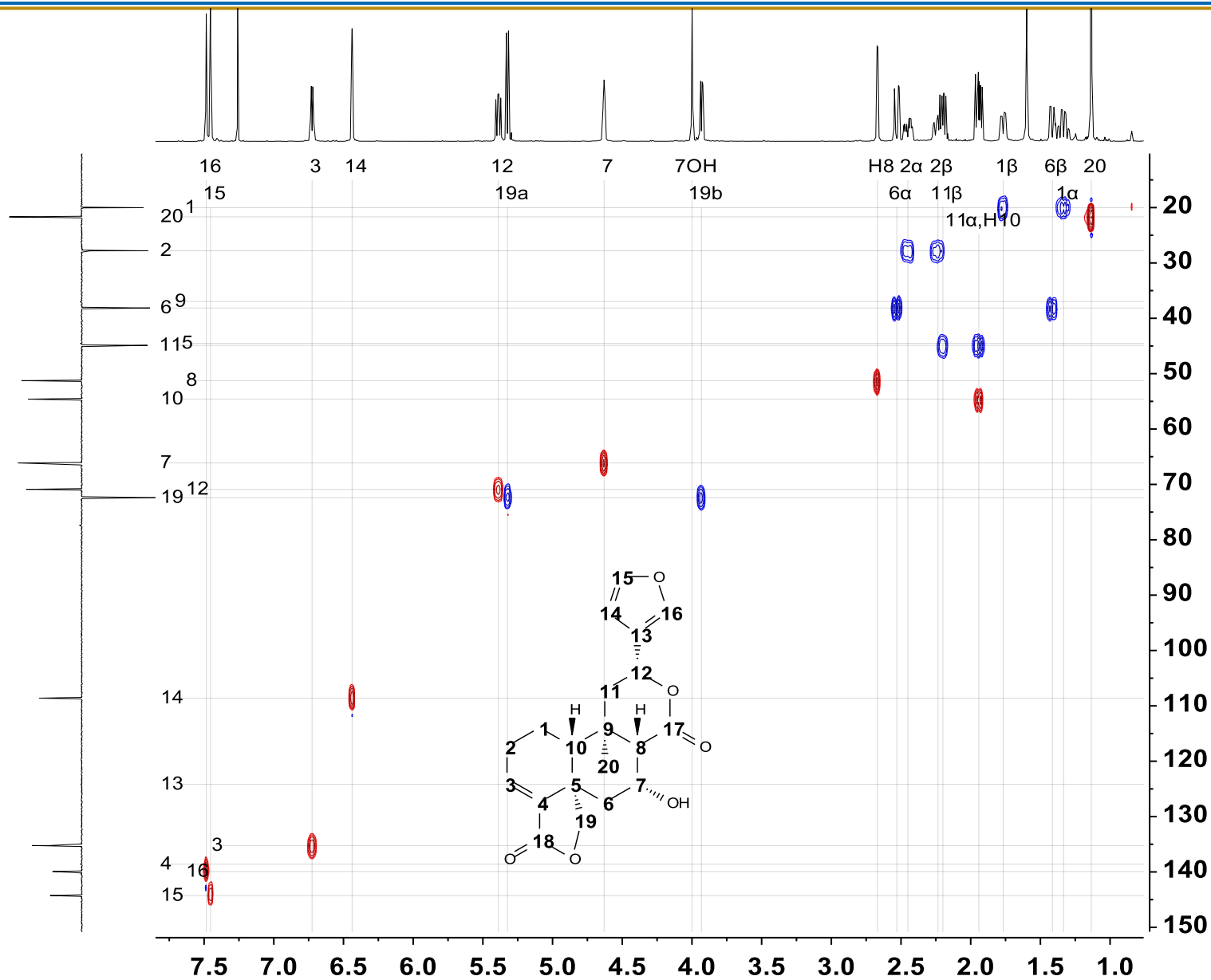




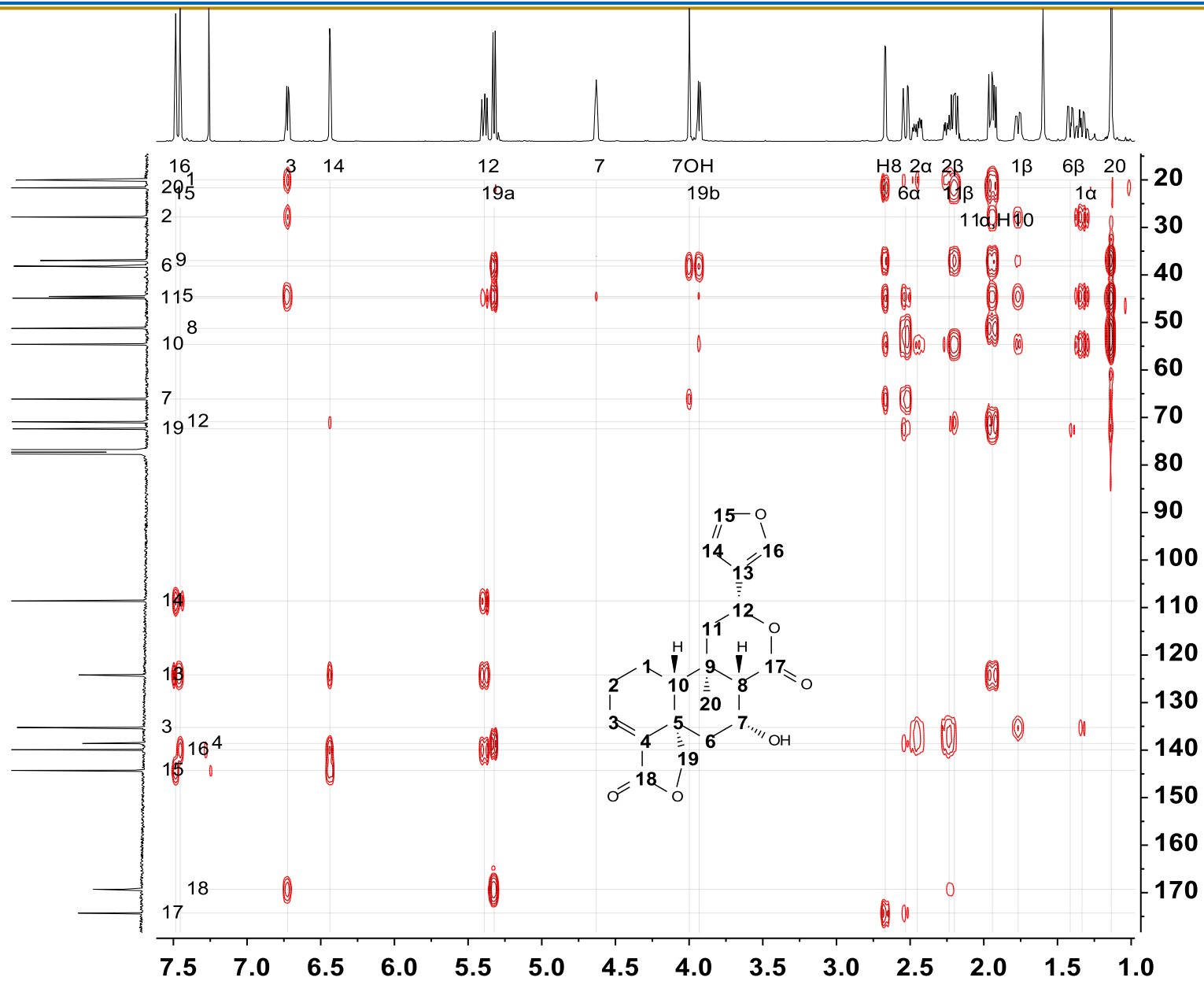
**Espectro A8.** RMN <sup>13</sup>C de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchoticuneatina A (56) (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz).



**Espectro A9.** COSY de la 7α-hidroxibacchotricuneatina A (56) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

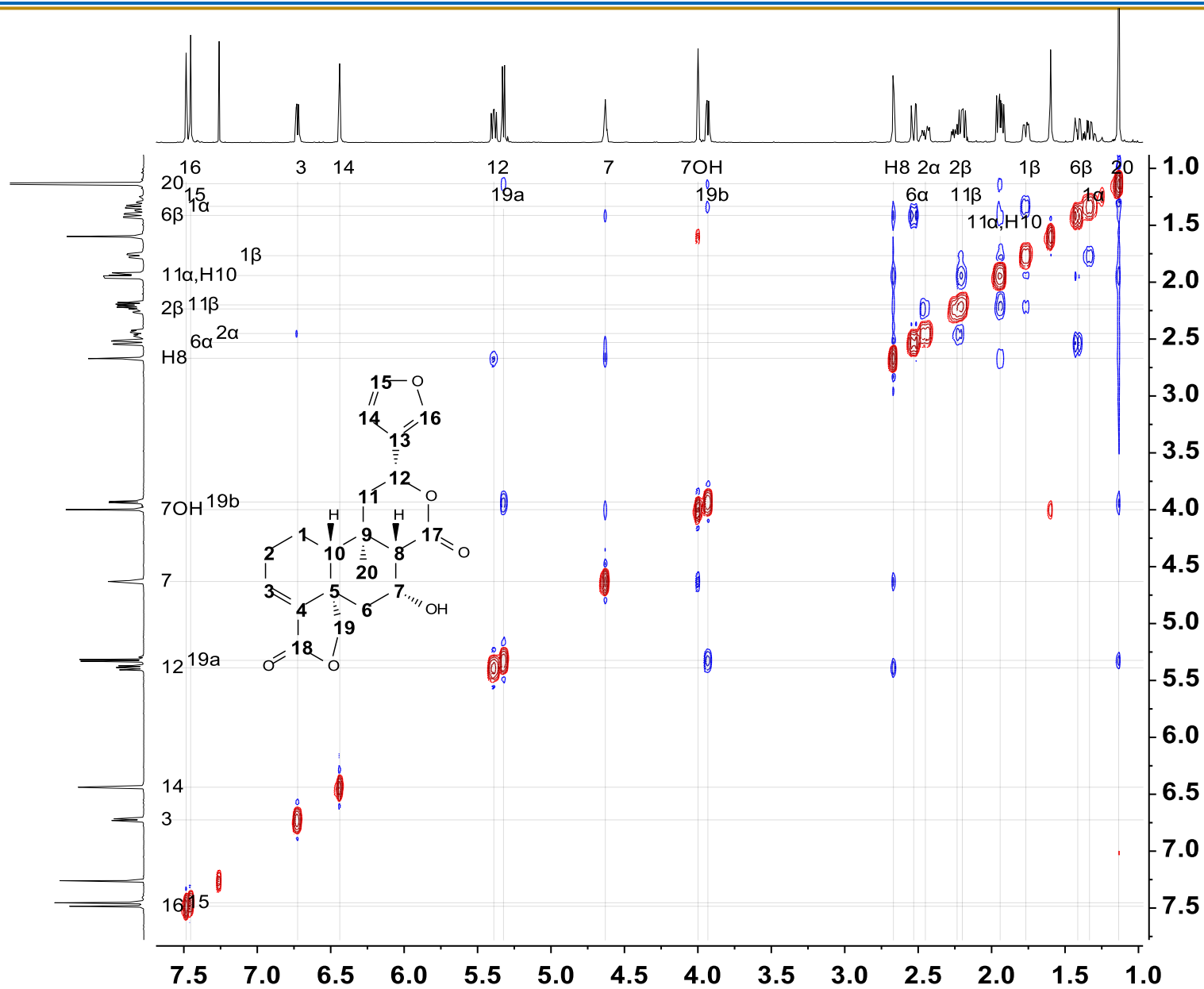


Espectro A10. HSQC de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (56) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

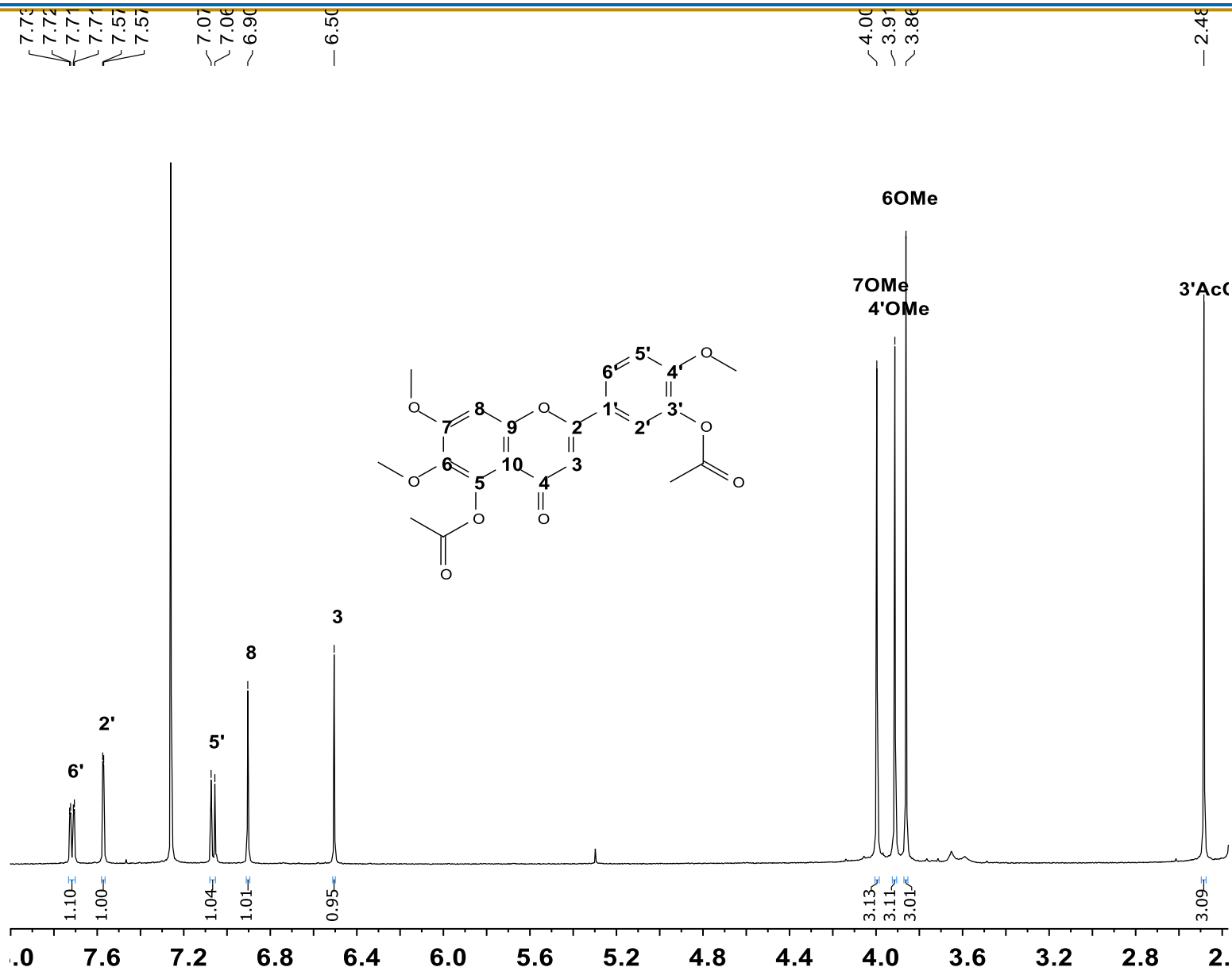


**Espectro A11.** HMBC de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (**56**) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

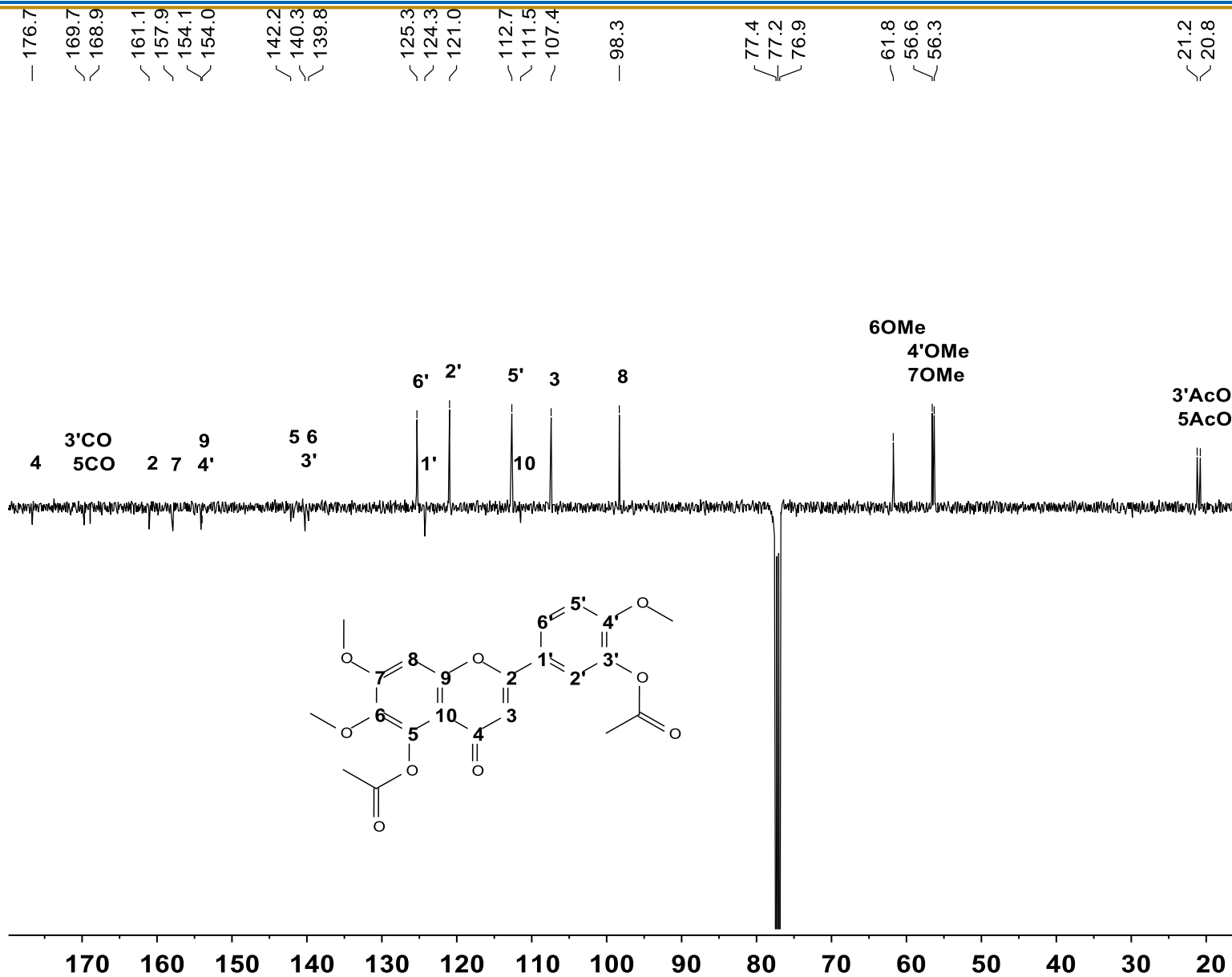


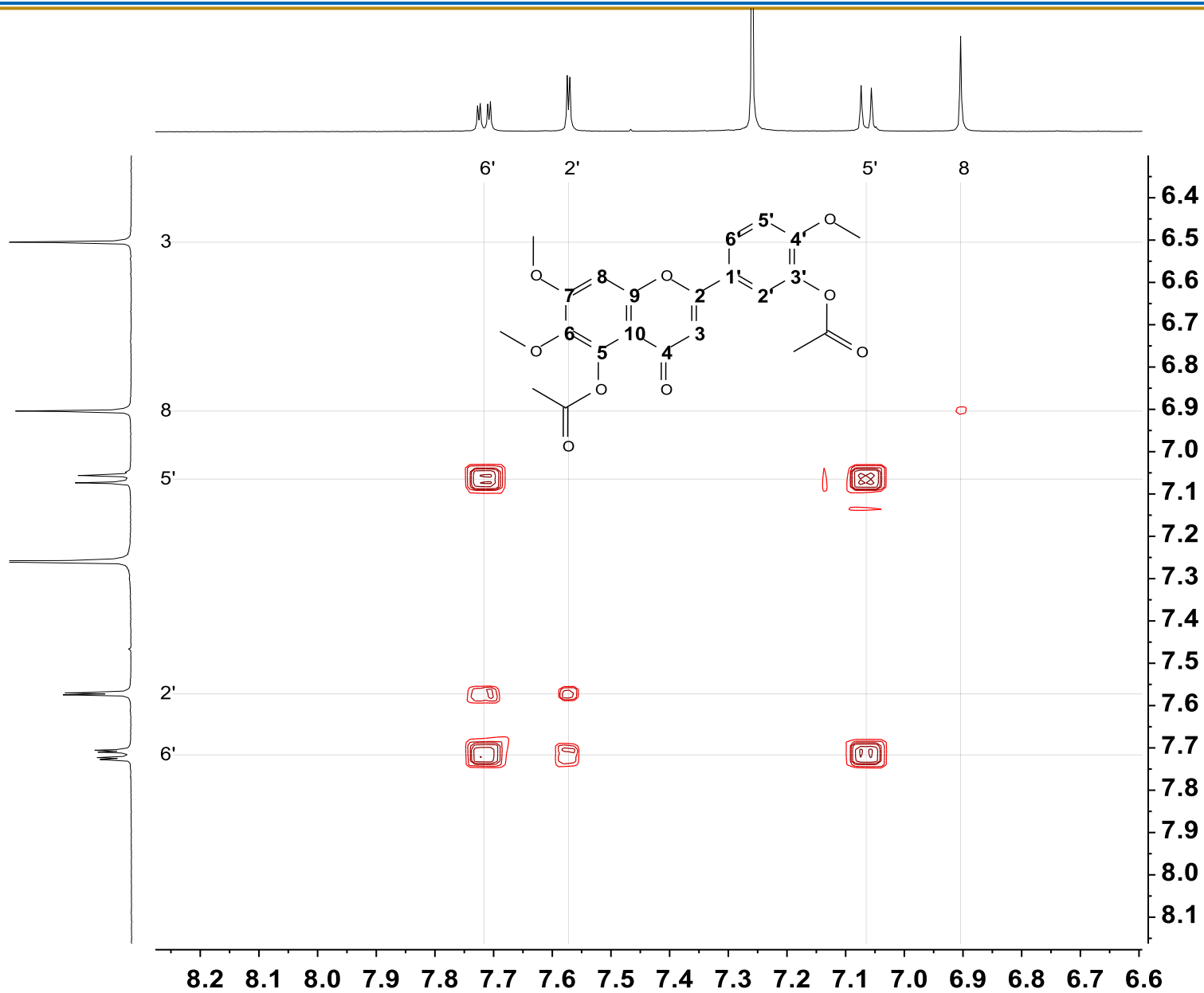


Espectro A12. NOESY de la 7 $\alpha$ -hidroxibacchotricuneatina A (56) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

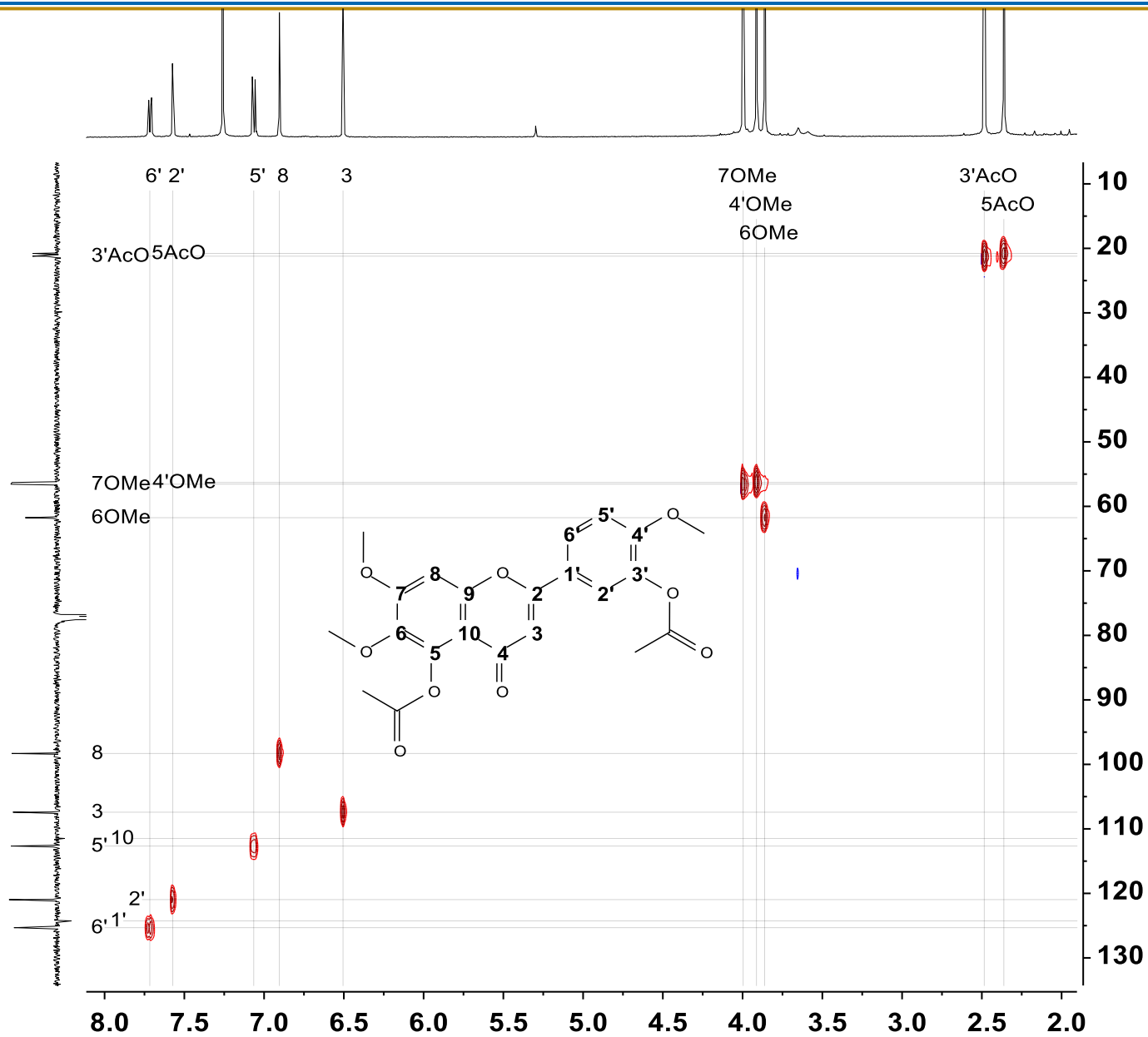


Espectro A13. RMN <sup>1</sup>H del diacetato de eupatorina (58) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

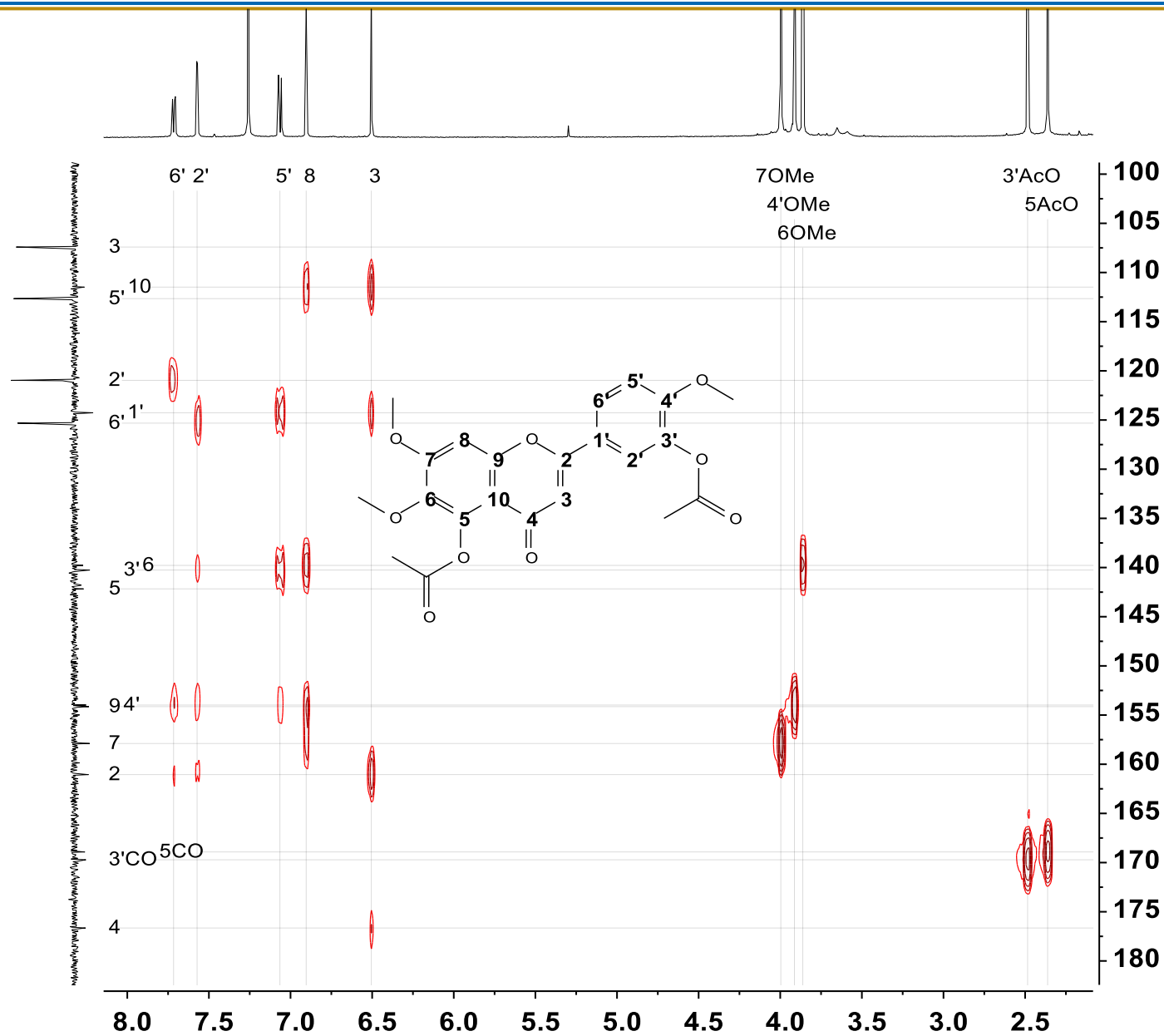




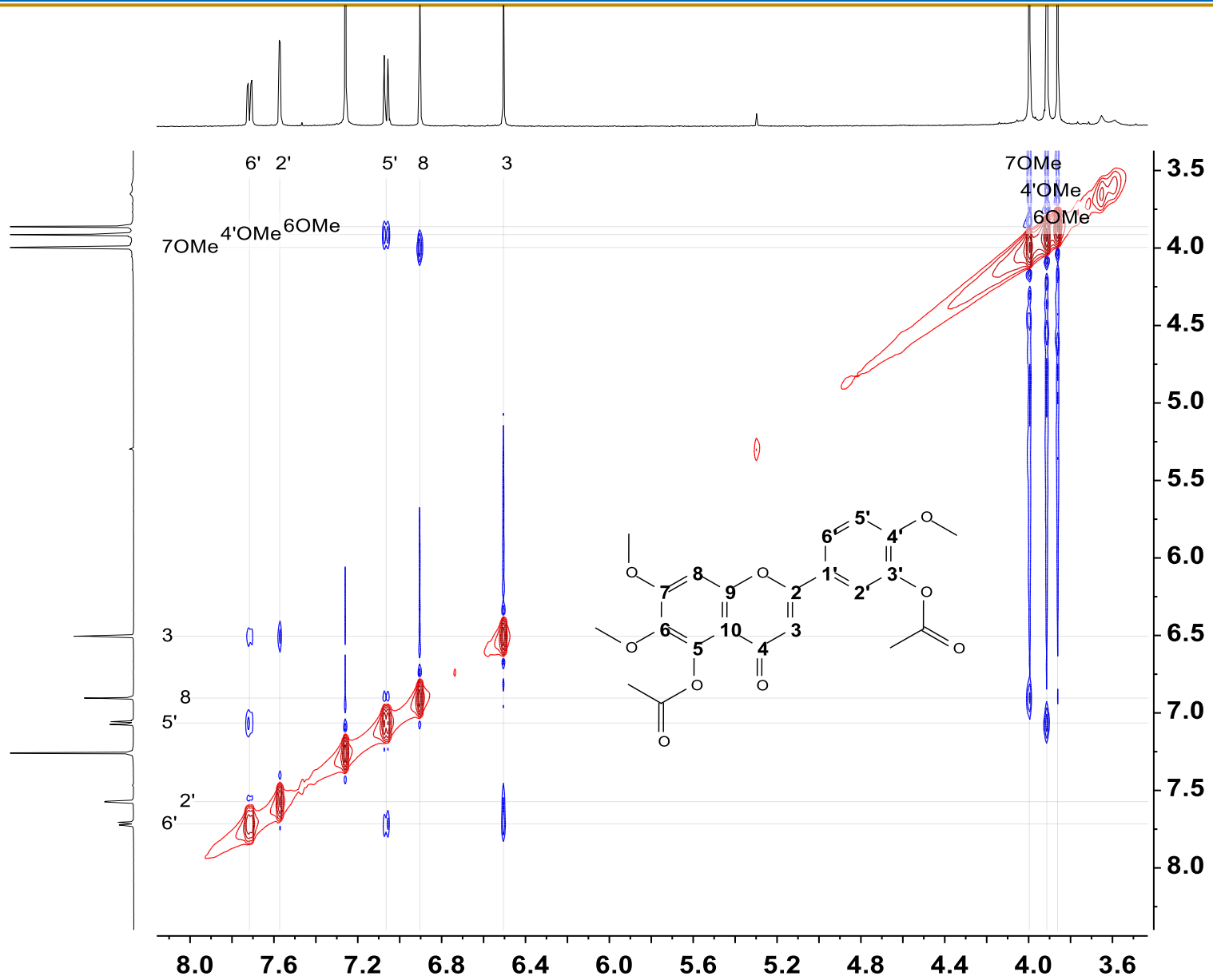
Espectro A15. COSY del diacetato de eupatorina (58) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

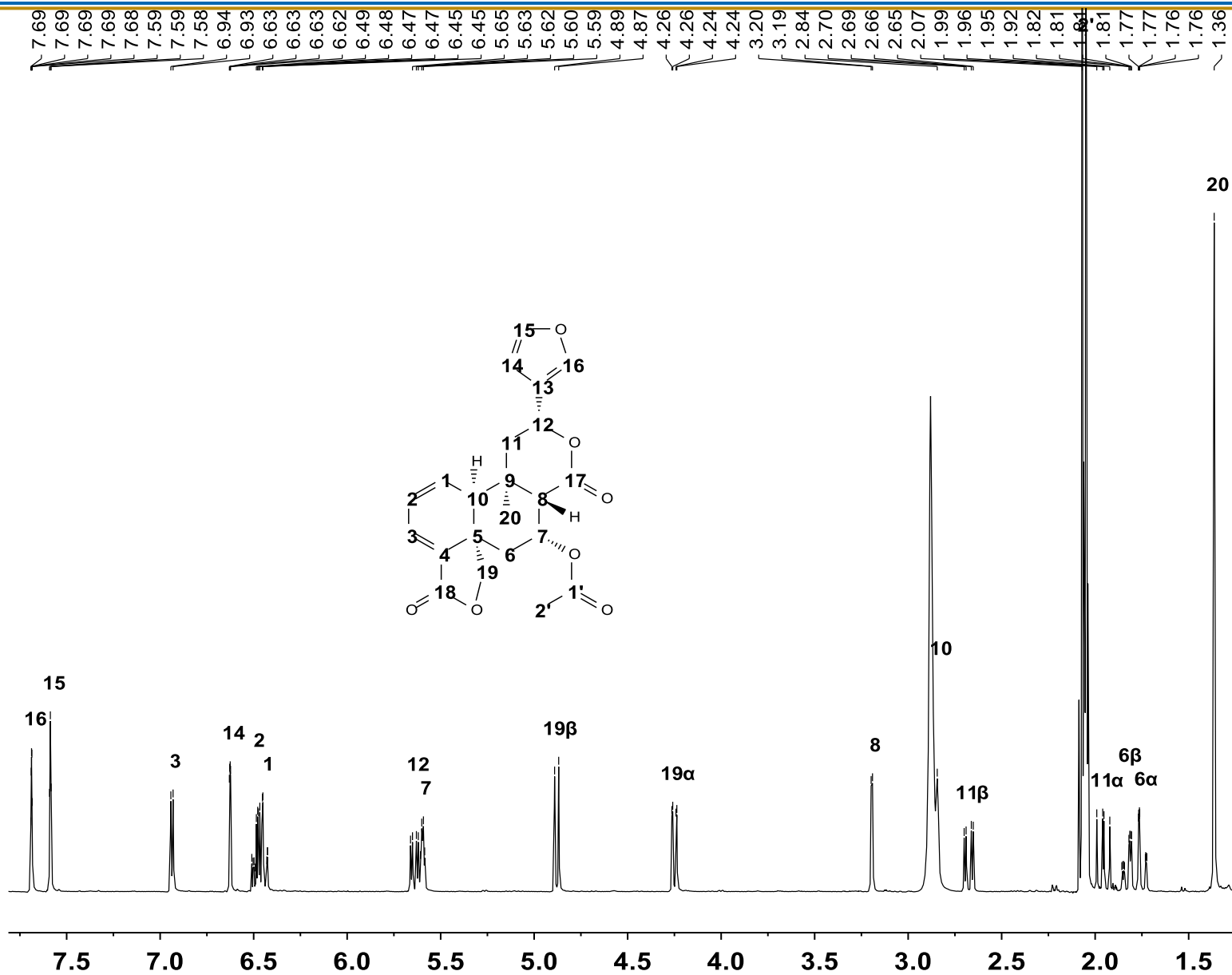


Espectro A16. HSQC del diacetato de eupatorina (58) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).



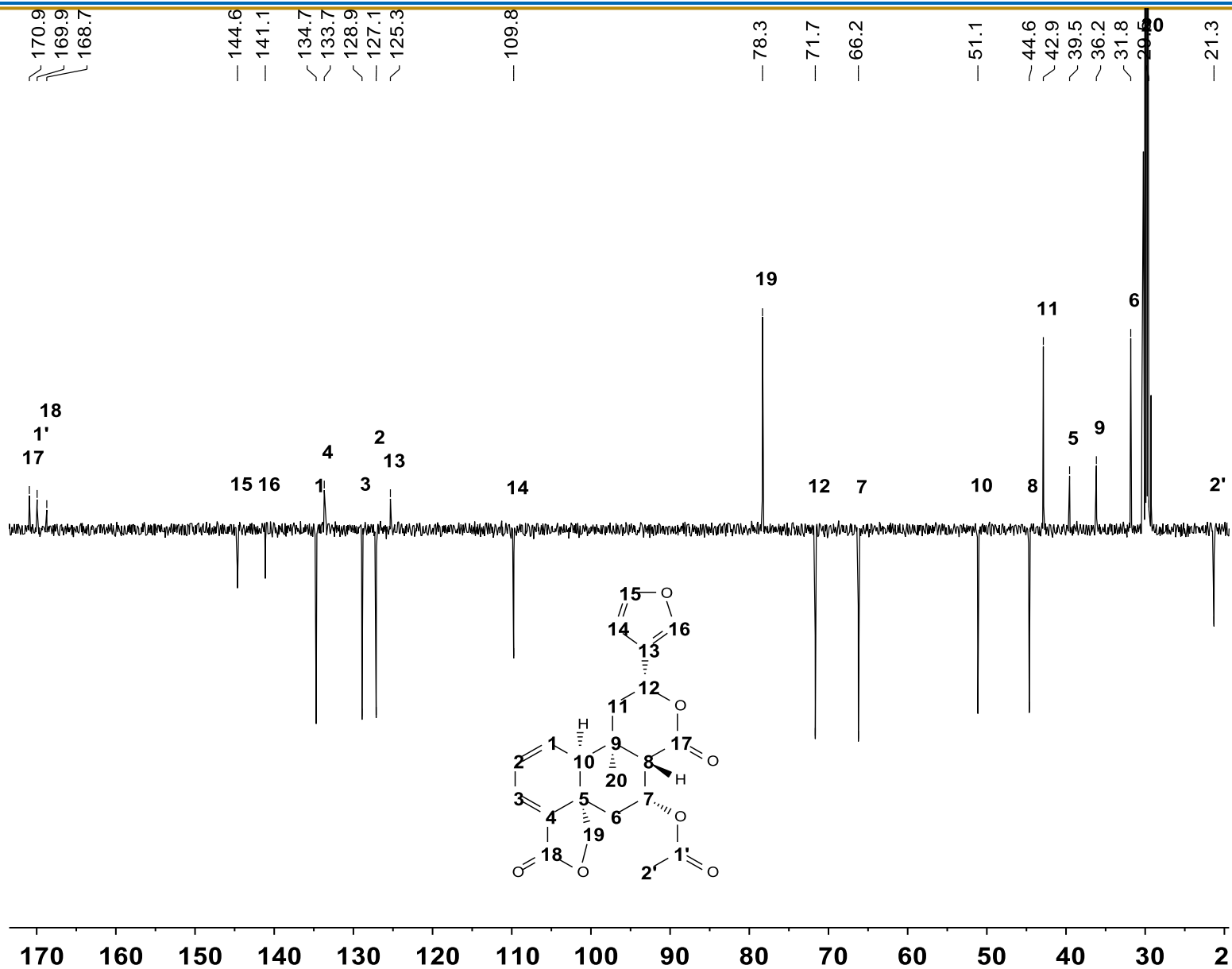
Espectro A17. HMBC del diacetato de eupatorina (58) (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).



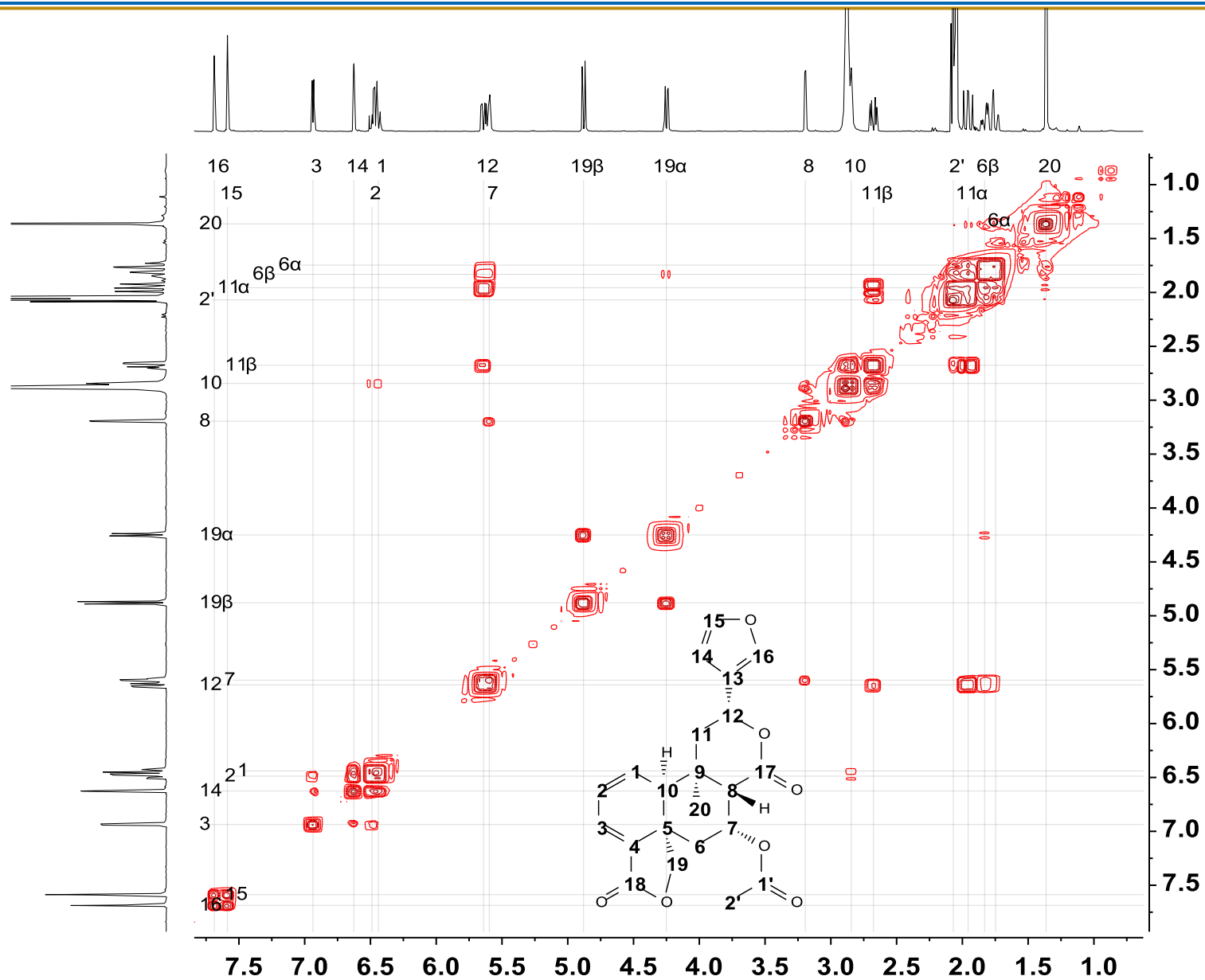


Espectro A19. RMN  $^1\text{H}$  de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihydrogesnerofolina B (61) ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 400 MHz).

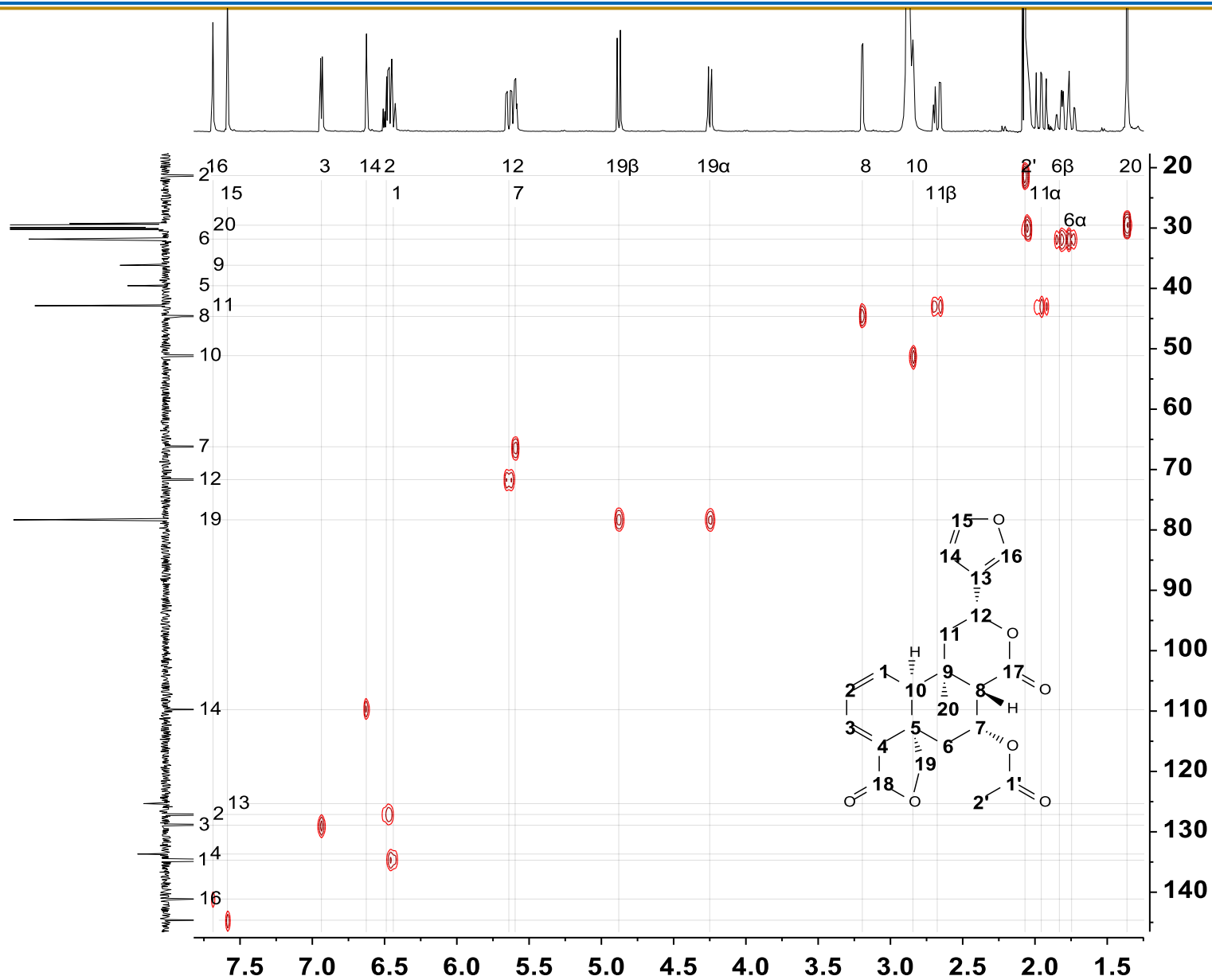




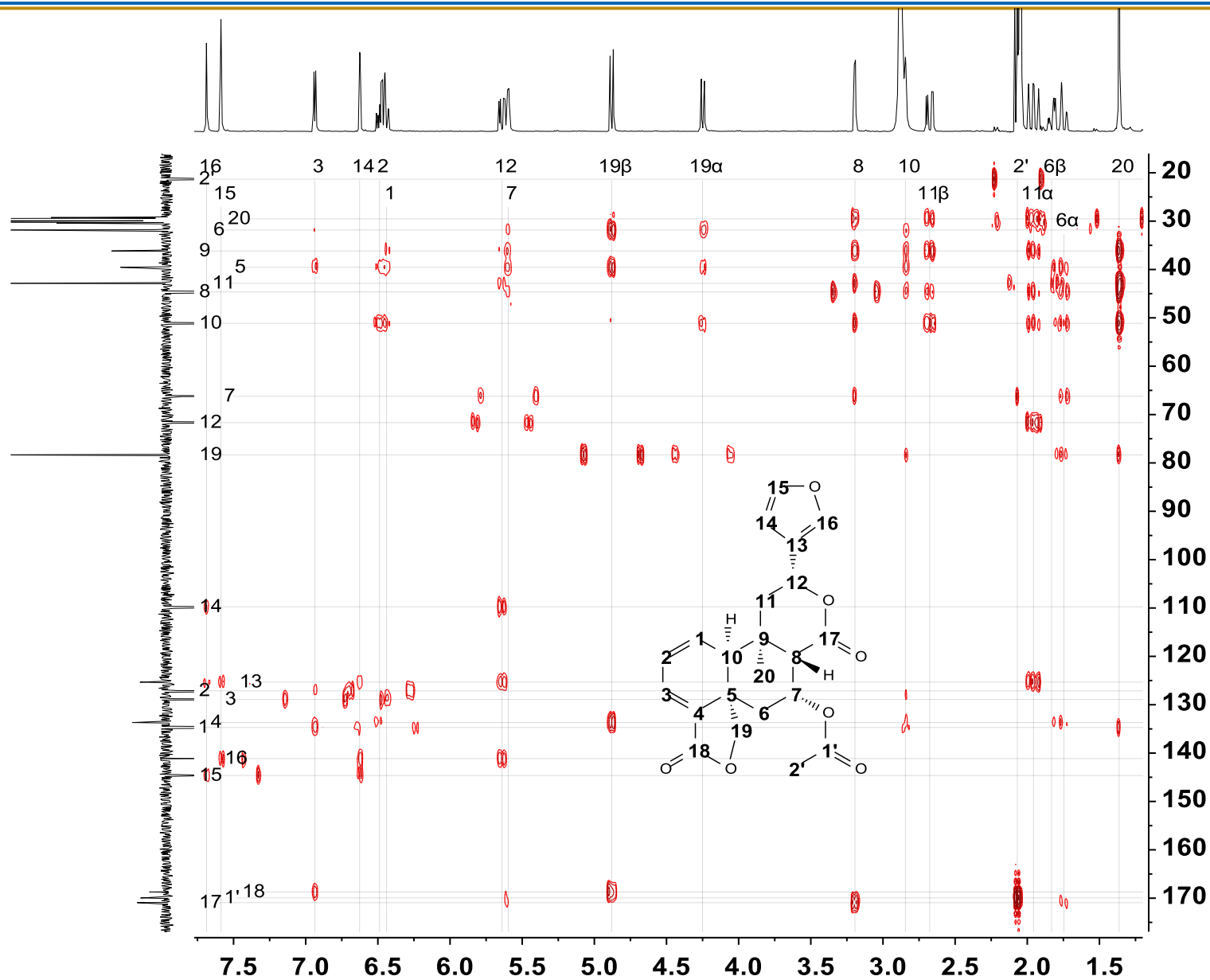
Espectro A20. APT de la 7α-acetoxi-7,8β-dihydrogesnerofolina B (61) (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 100 MHz).



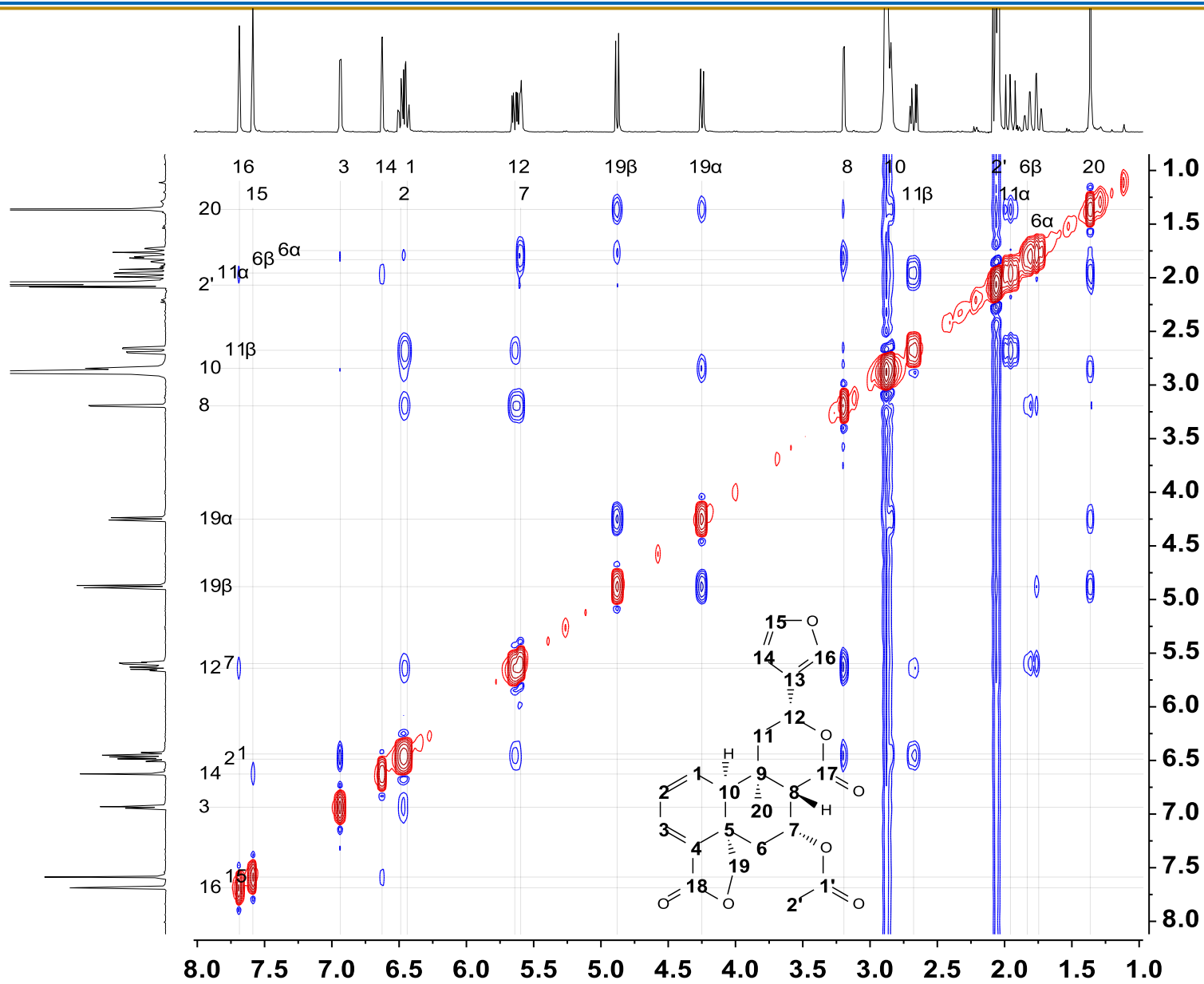
**Espectro A21.** COSY de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihydrogensnerofolina B (**61**) (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 400 MHz).



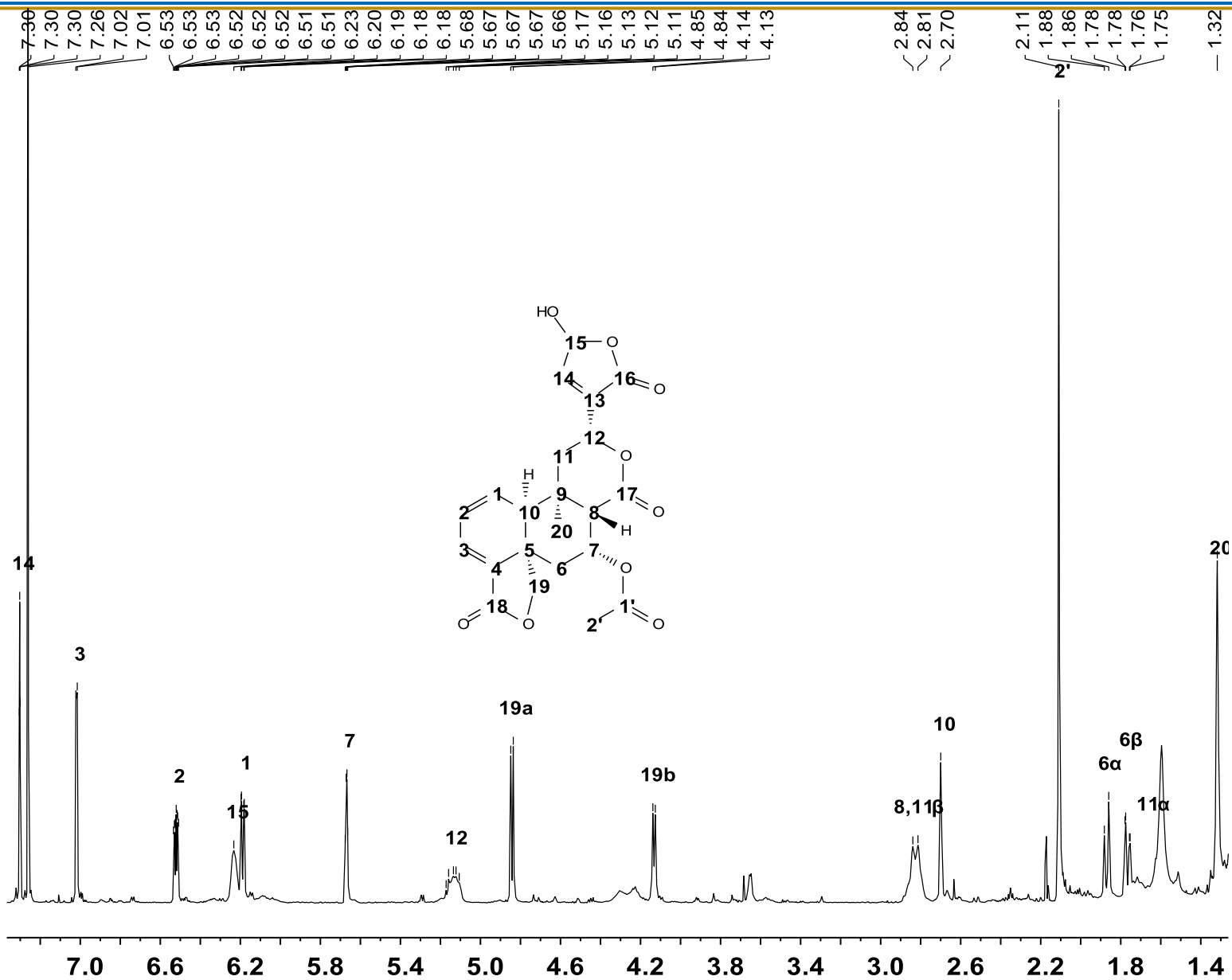
Espectro A22. HSQC de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihydrogesnerofolina B (61) (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 400 MHz).



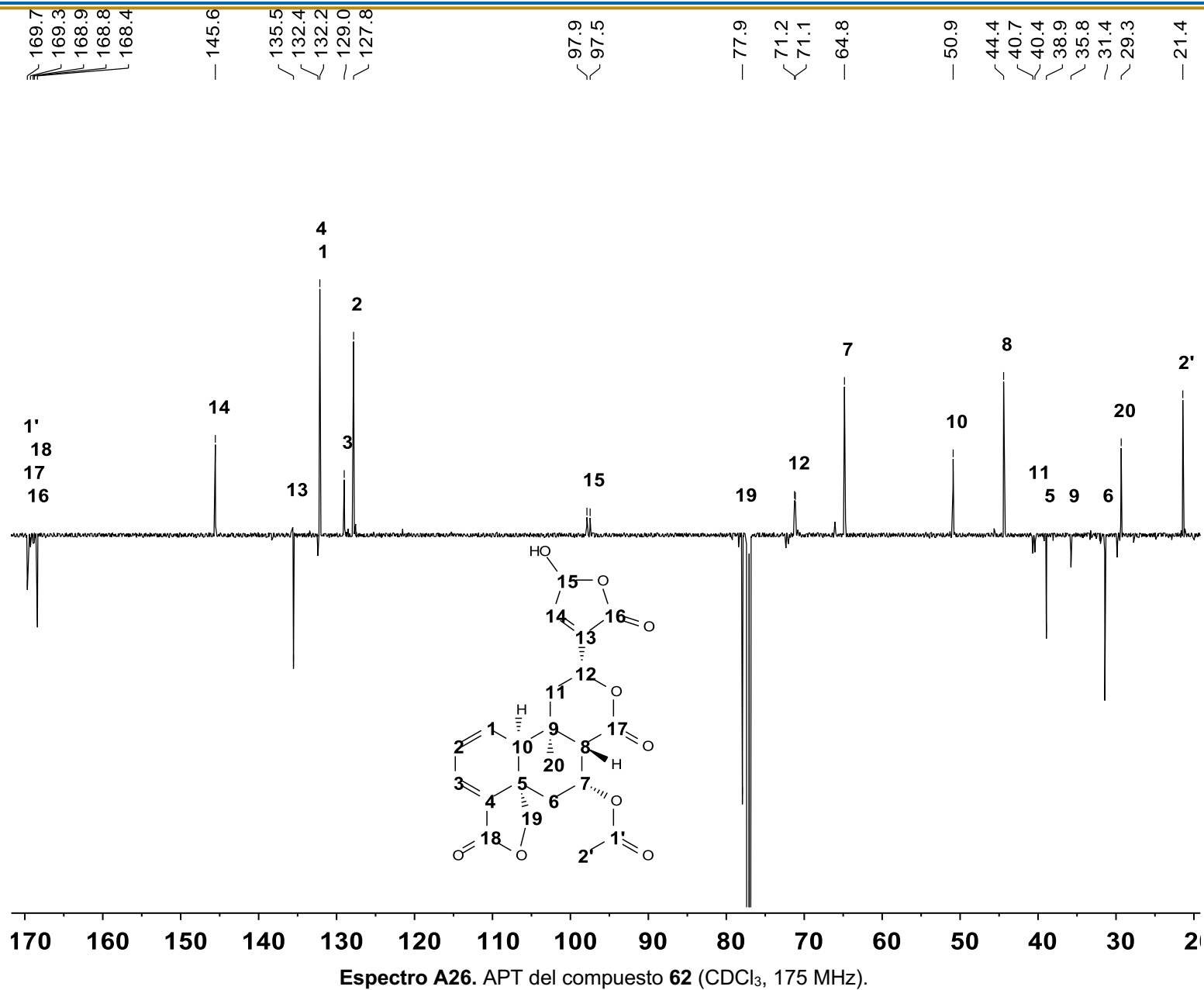
**Espectro A23.** HMBC de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8 $\beta$ -dihydrogesnerofolina B (61) ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 400 MHz).

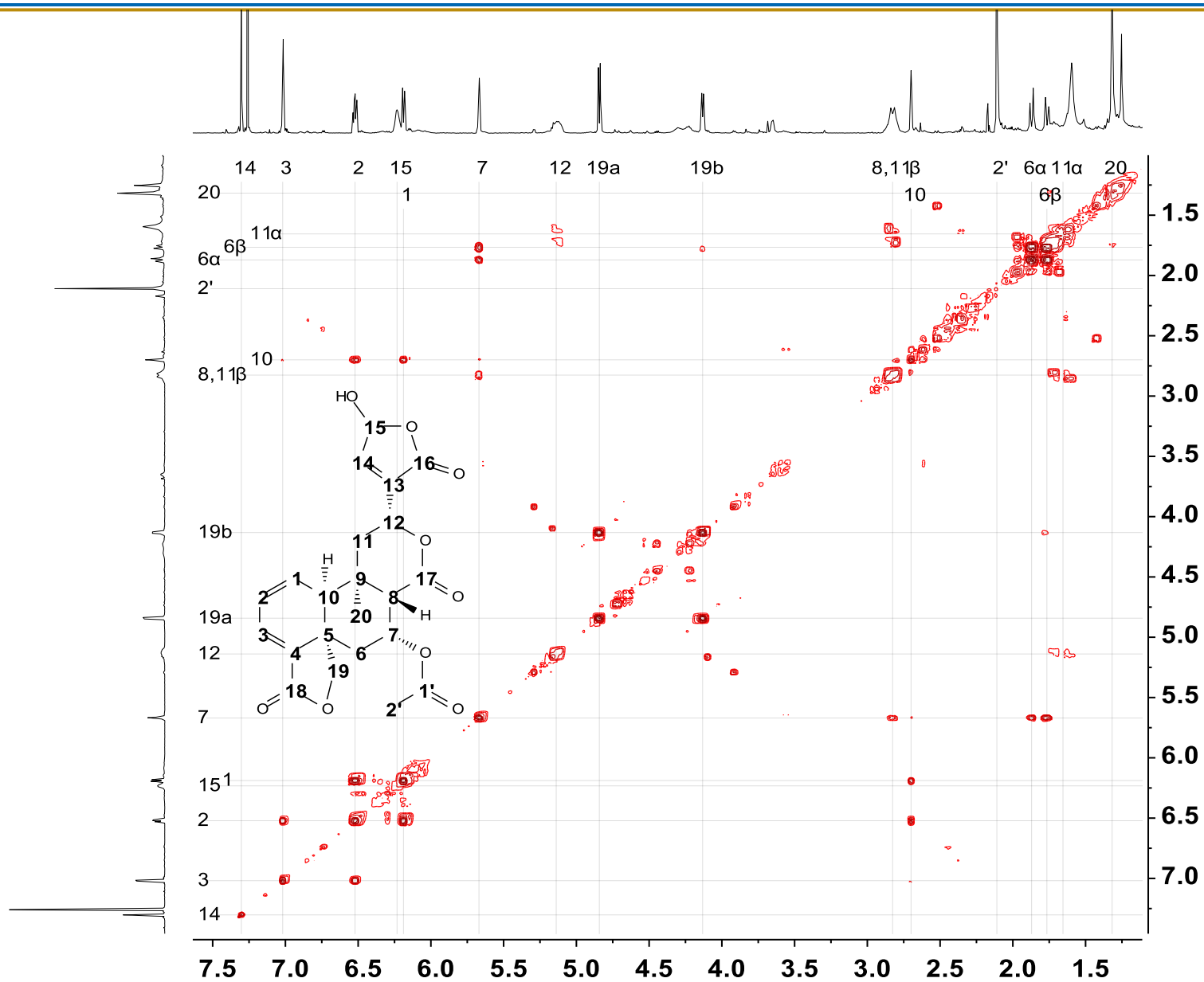


**Espectro A24.** NOESY de la 7 $\alpha$ -acetoxi-7,8-dihidrogenesnerofolina B (61) (CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub>, 400 MHz).



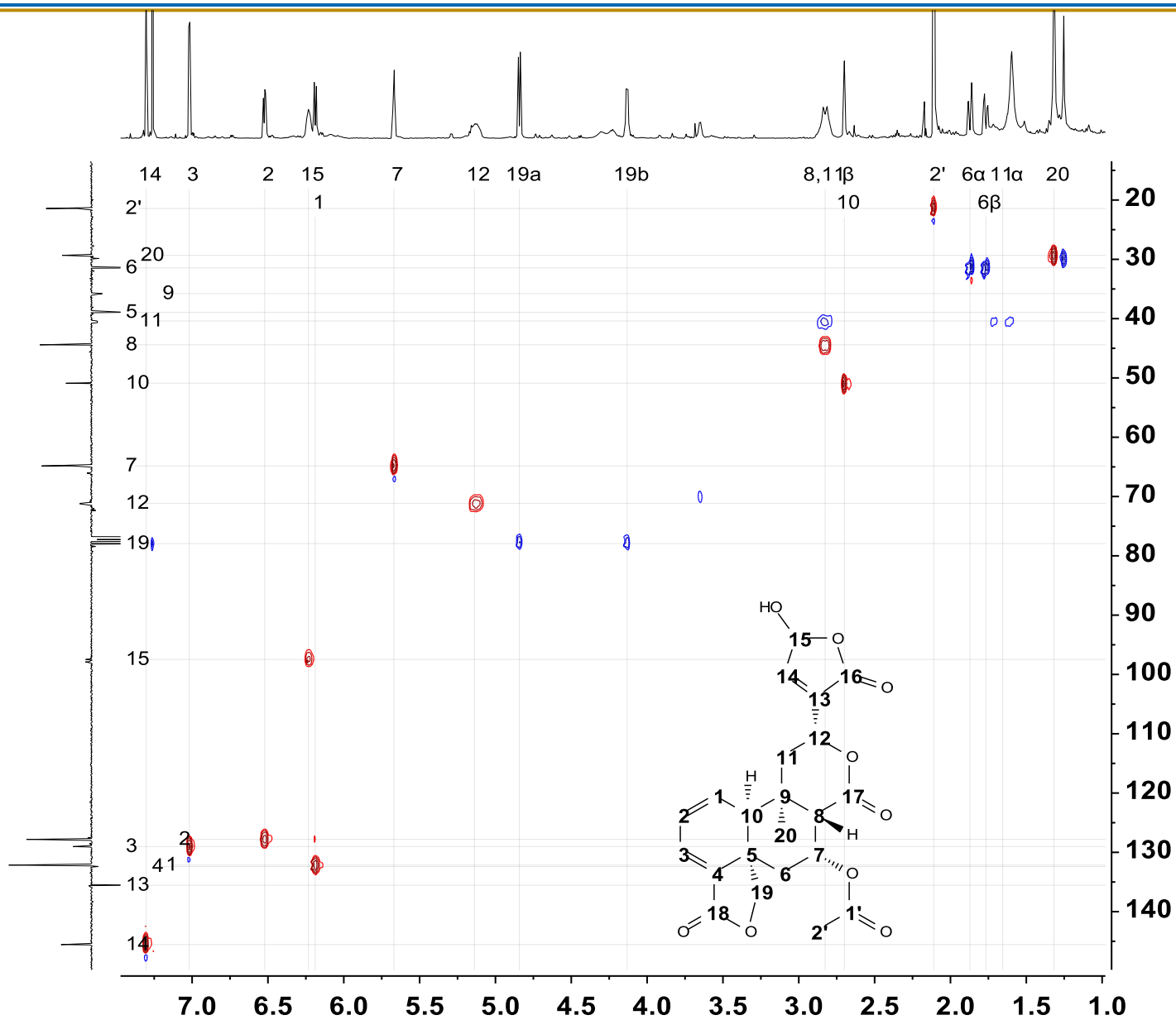
Espectro A25. RMN  $^1\text{H}$  del compuesto 62 ( $\text{CDCl}_3$ , 700 MHz).



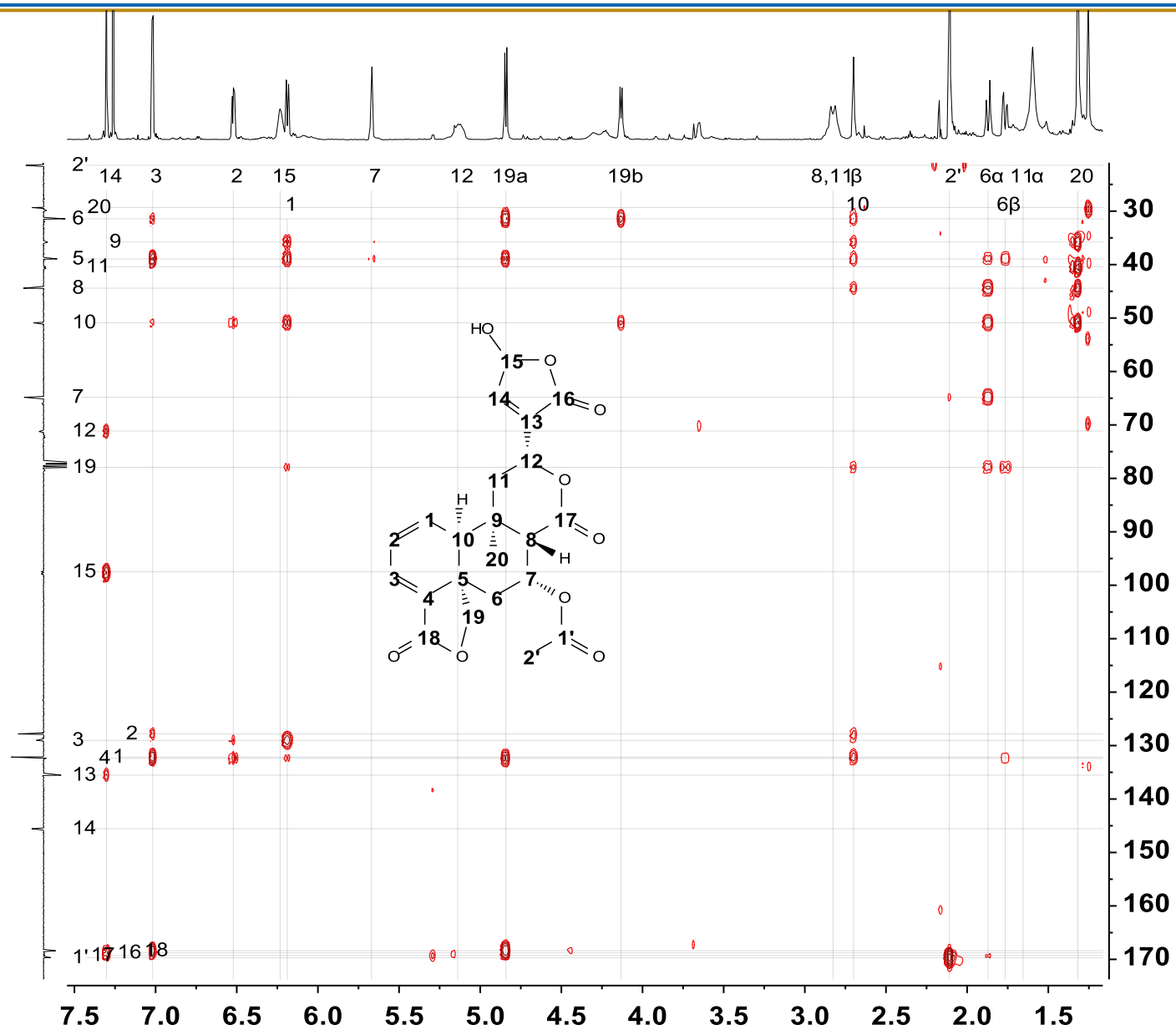


Espectro A27. COSY del compuesto 62 (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

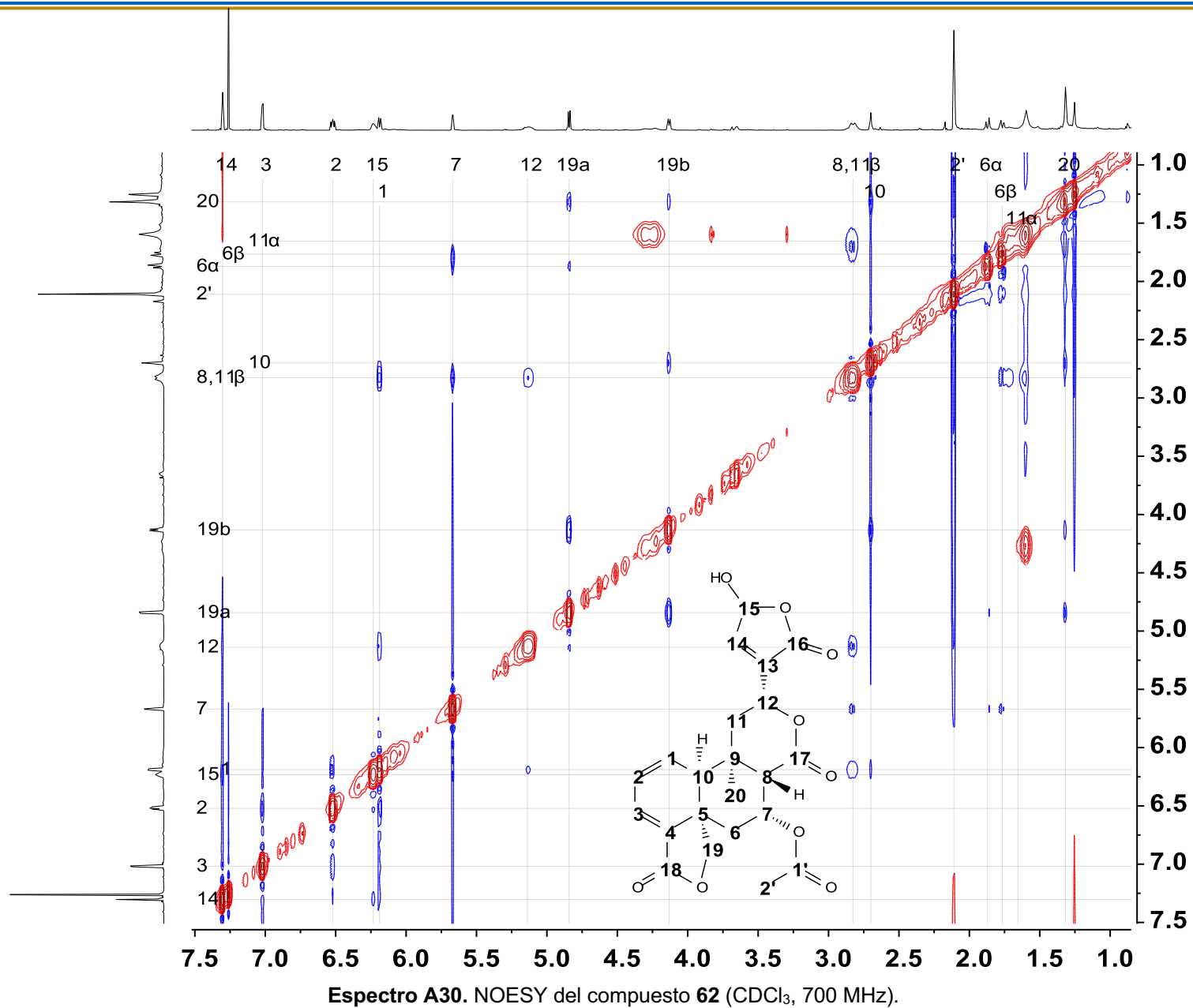


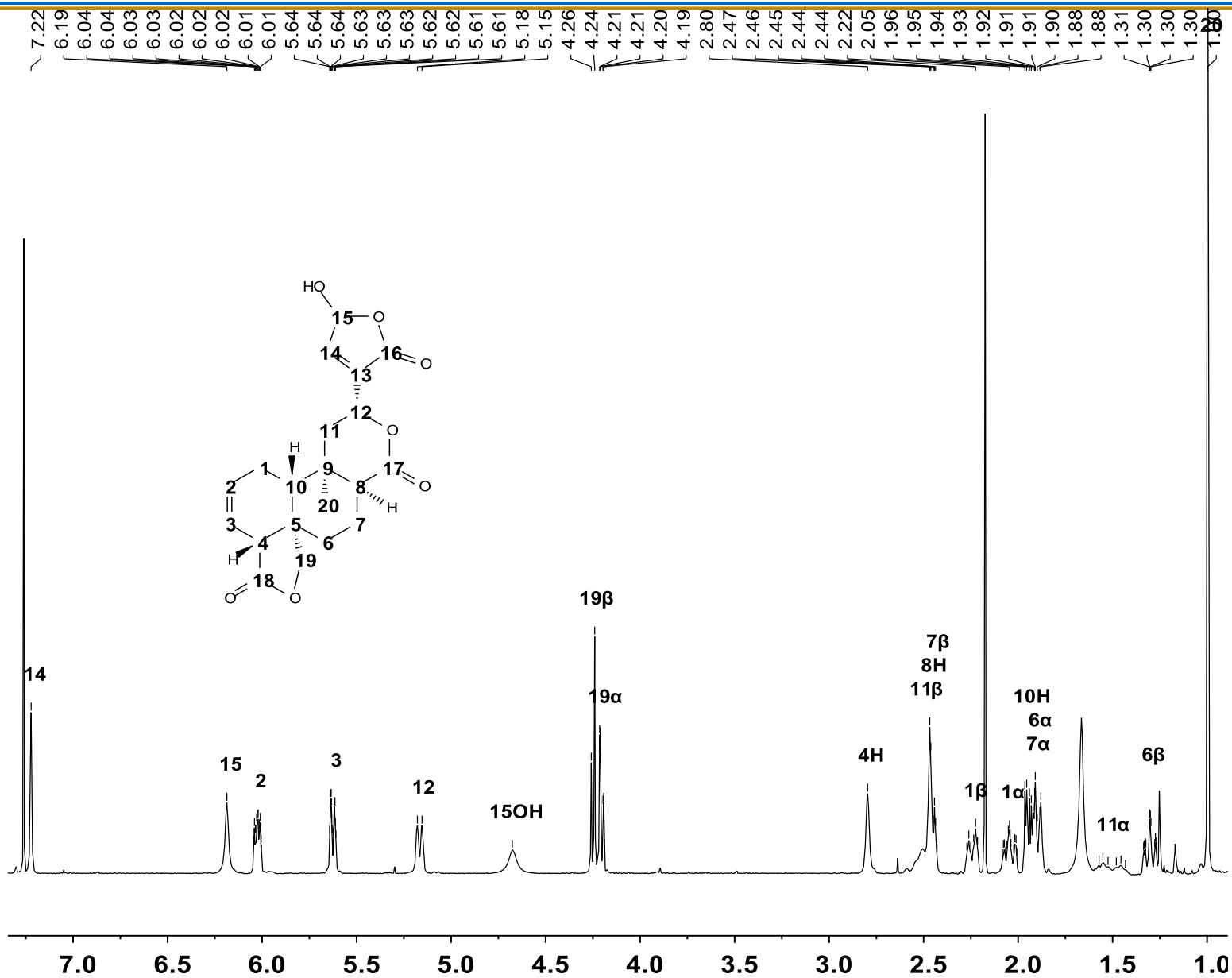


Espectro A28. HSQC del compuesto 62 (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

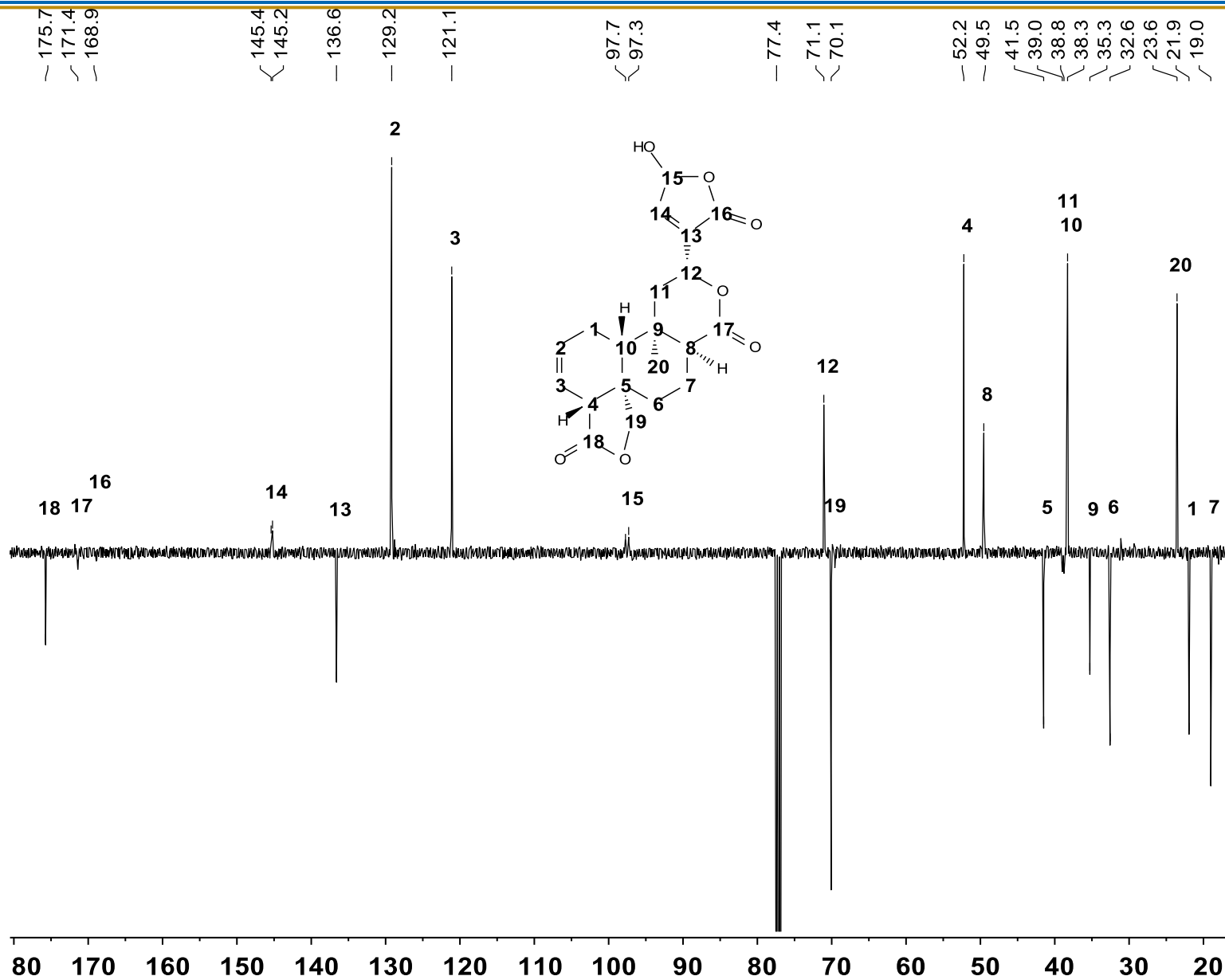


Espectro A29. HMBC del compuesto 62 (CDCl<sub>3</sub>, 700 MHz).

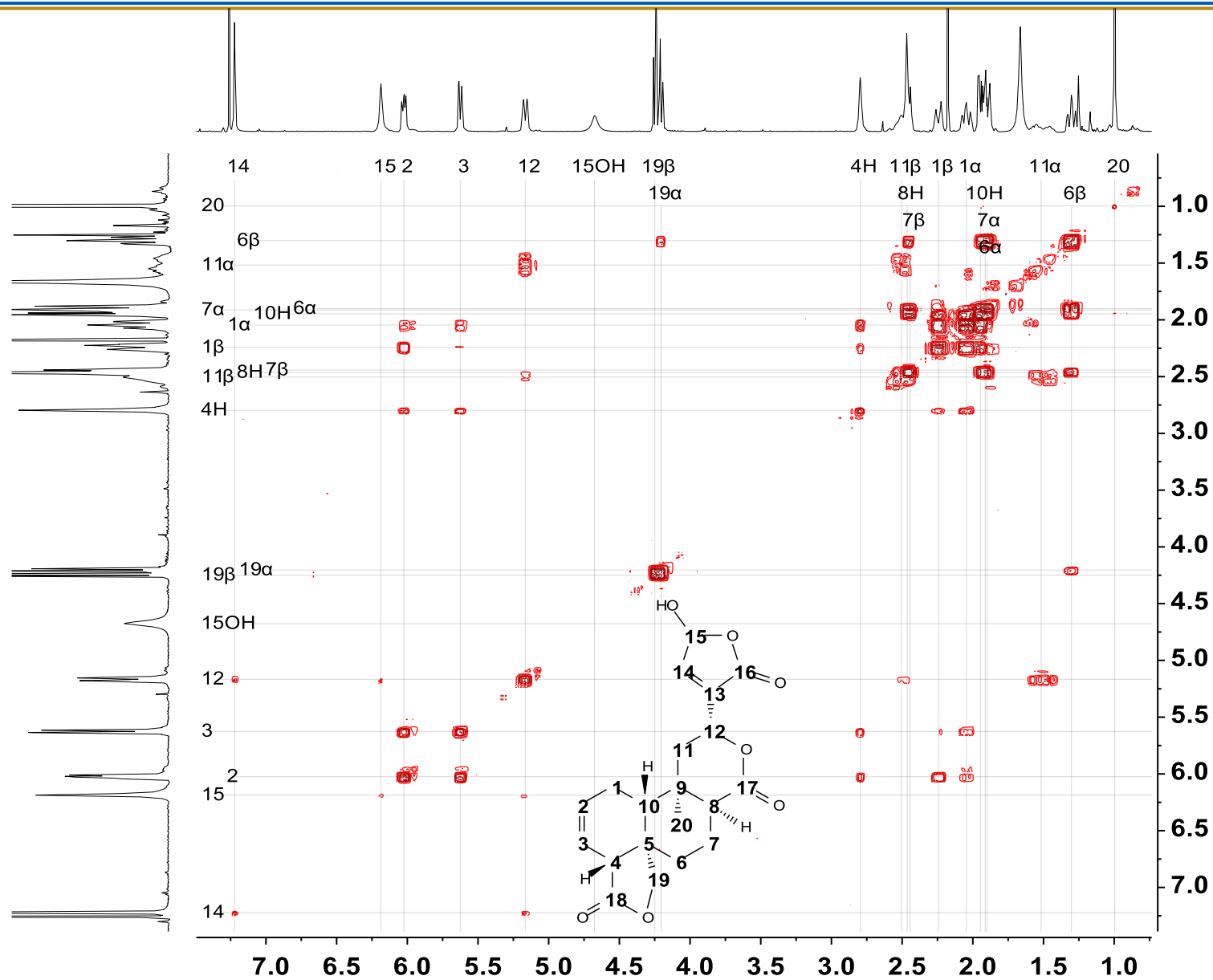




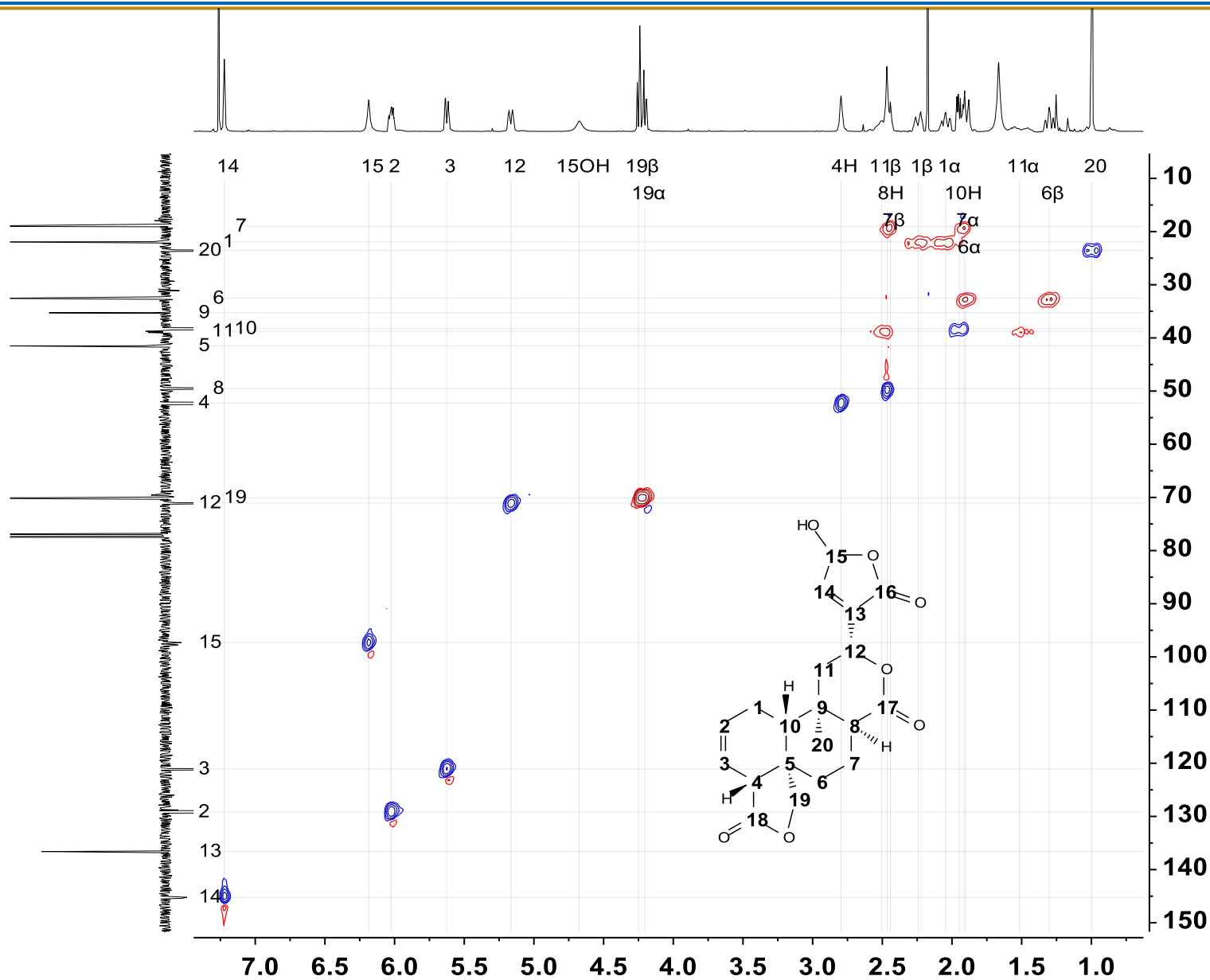
Espectro A31. RMN  $^1\text{H}$  del compuesto 63 ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz).



Espectro A32. APT del compuesto 63 (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz).



Espectro A33. COSY del compuesto 63 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).



Espectro A34. HSQC del compuesto 63 (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz).

