

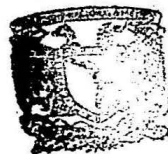
2ij. 92



**Universidad Nacional Autónoma
de México**

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE *Salvia lenta fern.*



**DIAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA**

T E S I S

Para obtener el título de
Químico Farmacéutico Biólogo

p r e s e n t a

JOSE JAVIER OCHOA GARDUÑO

México, D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

I. INTRODUCCION

II. PARTE TEORICA

III. PARTE EXPERIMENTAL

IV. CONCLUSIONES

V. ESPECTROS

VI. REFERENCIAS Y NOTAS

Los terpenos son un grupo de productos naturales que se encuentran ampliamente difundidos en el reino vegetal, siendo de gran interés para el hombre desde los albores de la civilización.

Estos compuestos fueron en un principio, asociados exclusivamente con aceites esenciales y fragancias, así tenemos que los egipcios ya los ocupaban en preparados para embalsamar a sus muertos.

Estos aceites esenciales y fragancias eran separados de las plantas por medio de un calentamiento suave y recolectados por condensación sobre una superficie fría. En un principio se les dió el nombre de "aceites etéreos", la producción y aplicación de estos aceites fue inicialmente para propósitos médicos, empezando a ser de importancia en el siglo XVI.

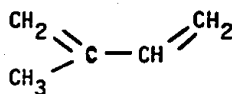
Entre los aceites esenciales de mayor popularidad durante esa época se encontraban los de anís, canela y algunos otros. El progreso en su manufactura fue rápido y en el Dispensatorium Valeri Cordi de 1652 se mencionan ya unos sesenta aceites esenciales.¹

Durante los dos siglos siguientes el desarrollo y aplicación de estos aceites correspondió a los farmacéuticos. Las investigaciones químicas de mayor relevancia sobre los terpenos comienzan en los albores de la química orgánica moderna, encabezados por Dumas y Berthelot¹, quienes en el año de 1830, hacen una recopilación de datos físicos y químicos de dichos aceites. Tres años más tarde, (1833) Dumas determina la fórmula del alcanfor ($C_{10}H_{16}O$) por esa época los químicos observan que en las fracciones más volátiles de muchos aceites esenciales se encontraba un gran número de hidrocarburos todos de fórmula general $C_{10}H_{16}$. De esta forma el término "terpeno" que deriva del alemán terpine (terpentina), se aplicó eventualmente a dichos compuestos hidrocarbonados mientras que los derivados que contenían oxígeno se conocieron como alcan-

-fores, aunque posteriormente también se incluyeron bajo el encabezado general de terpenos, dándose el termino "alcanfor" a un compuesto específico.

Más recientemente, con el descubrimiento de sustancias que contenían -- una amplia variedad de grupos funcionales, la terminación "eno" de terpeno --- (que originalmente significó hidrocarburo) pareció inapropiada y empezó la tendencia a usar el término terpenoide.

Estas sustancias que contienen 10 átomos de carbono están constituidas por fracciones de bajo punto de ebullición. Se reveló la presencia de compuestos de 15 átomos de carbono que son los sesquiterpenoides. Con el descubrimiento de nuevos terpenoides surge la necesidad de una clasificación para estos compuestos, por consiguiente se toma una unidad isoprénica que está constituida por cinco átomos de carbono y que presenta la siguiente estructura

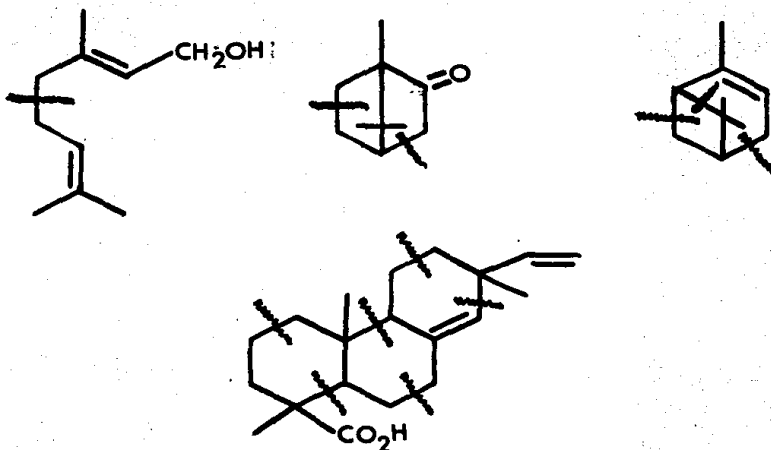


Isopreno

El isopreno se obtiene de la destilación destructiva del hule, así como por la pirólisis del limoneno, no obstante que el isopreno no se ha encontrado libre, ni en el reino vegetal ni en el animal, su relación con los terpenoides se aceptó como formal. Lo anterior llevó a la formulación de lo que se conoció como regla del isopreno,² es decir que un "terpenoide debe ser formalmente divisible en unidades de isopreno".

-Esta clasificación basada en unidades isoprénicas es la siguiente:

Hemiterpenos	C_5H_8
Monoterpenos	$C_{10}H_{16}$
Sesquiterpenos	$C_{15}H_{24}$
Diterpenos	$C_{20}H_{32}$
Triterpenos	$C_{30}H_{48}$
Tetraterpenos	$C_{40}H_{64}$
Politerpenos	$(C_5H_8)_n$



"Unidad estructural de los terpenos"

DITERPENOS.

Los diterpenos forman un grupo de sustancias de 20 átomos de carbono derivadas del Pirofosfato del geranil-geraniol. Presentan cuatro -

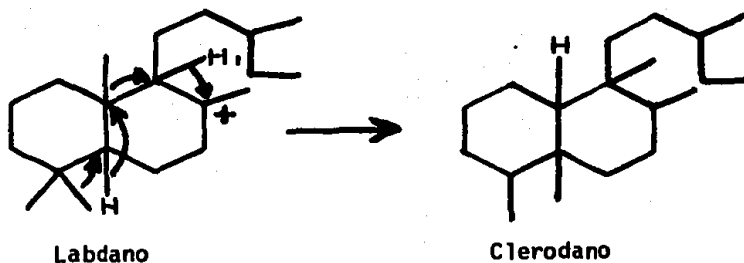
unidades de isopreno combinadas en uniones regulares cabeza-cola, según la regla biogénética del isopreno postulada por Ruzicka.²

De acuerdo con Ruzicka se propone al geranil-geraniol como el precursor biogénético de los diterpenos, formándose el geranil-geraniol a través de un mecanismo iónico. La posterior ciclación de éste tetrámero conduce a un precursor intermedio, del que se pueden derivar todos los diterpenos conocidos, por medio de ciclaciones y migraciones de metilos (esquema I).

De esta forma el mecanismo propuesto denota que las posibilidades para que exista complejidad molecular es muy alta pudiéndose encontrar diterpenos acíclicos (Fitol (I)) y cíclicos.

Entre estos últimos se pueden encontrar productos monocíclicos (acerofitol (I)), bicíclicos (labdano (III) y clerodano (IV)), tricíclicos (abietano (V)), tetracíclicos (kaurano (VI) y estacano (VII)), y pentacíclicos (traquilobano (VIII)), (esquema 2).³

Para transformar el esqueleto de labdano (III) en clerodano (IV) se llevan a cabo migraciones de metilos de C-4 a C-5 y de C-10 a C-9.



El nombre de clerodano se deriva de la Clerodina⁴ que se aisló de -- *Clerodendrum infortunatum*. La estructura propuesta fue objeto de nuevos análisis por difracción de rayos X de un derivado bromado para asignar co rrectamente la estereoquímica, obteniéndose la estructura (IV).

Debido a esto fue necesario hacer una revisión de la estereoquímica asignada a un gran número de clerodanos. Esto dió origen a una nueva terminología, en la cual los compuestos que se llamaban ent-clerodanos, se conocen ahora como neo-clerodanos.⁵

Los diterpenos tienen la interesante característica de poseer un--- gran rango en actividad biológica que varía desde sustancias inhibidoras de tumores, antileucémicos y antibióticos, hasta insecticidas y hormonas e inhibidores del desarrollo vegetal.⁶ Algunos diterpenos entkaurénicos⁷ poseen actividad antialimentaria, algunos otros de tipo oxépinico como -- son los aislados del Zoapatlé⁸ presentan actividad oxitocica.

El género *Salvia* es probablemente el más extenso en la familia de -- las labiadas (Labiatae) y se compone de aproximadamente 900 especies.⁹ En America, el género está representado por cerca de 500 especies, 275 cre-- en en México y de estas el 88% (26.7% del género) son endémicas a nuestro país.¹⁰

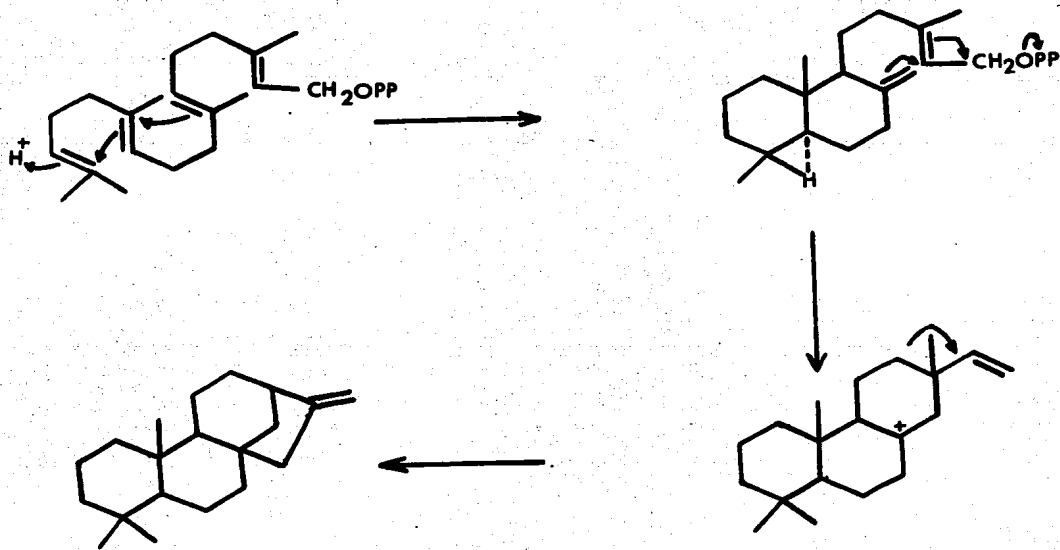
Las especies de éste género están clasificadas en 4 subgéneros: ---- *Leonia*, *Sclarea*, *Salvia* y *Calosphace*. Todas las especies americanas pertenecen a éste último subgénero.

Por otro lado, de las especies americanas estudiadas hasta la fecha-

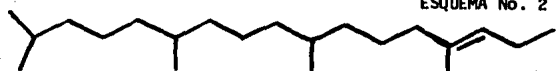
-se han aislado entre otros compuestos, diterpenos y la mayoría de estos - (aprox. el 80%) tienen esqueleto de neo-clerodano (ent-clerodano). Citando algunos ejemplos tenemos a la Kerlinā¹¹ (XV) y Kerlinolida^{1.1} (XVI) así como el ácido Melisodórico^{1.2} (XVII); que se aislaron de *Salvia kerlii* y *S. melissodora*.

En éste trabajo se estudió una *Salvia* más de la amplia gama de *Salvias* de la familia de las labiadas con el objeto de aislar nuevos compuestos diterpénicos. Esta *Salvia* es la *S. lenta fern* que pertenece a la sección *Polistachyae* de la ya mencionada familia de las labiadas, y presenta las siguientes características: arbusto perenne de ramas delgadas recubiertas de vello grueso, hojas laminadas o bien elípticas de 4 a 5 cm. de longitud, en ápice aguzado, de base redonda o en forma triangular, peciolo redondo de 1 cm. de longitud, borde dentado serrado, flores de 6 a 9 cm. en verticilos. Aparecen formas de espigas recubiertas de vello, cáliz -- veloso de 3 mm de espesor, corola en forma de tubo de 3 a 5 y de 4 a 7 mm de longitud.^{1 3}

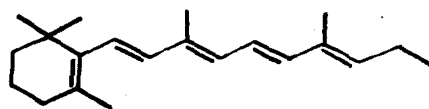
ESQUEMA No. 1



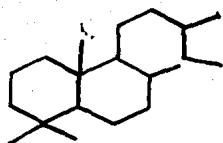
ESQUEMA No. 2



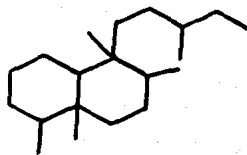
I



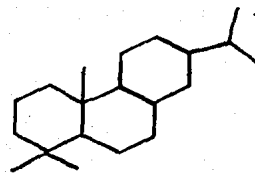
II



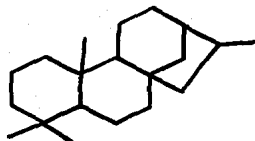
III



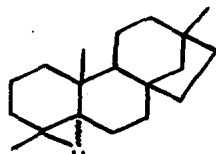
IV



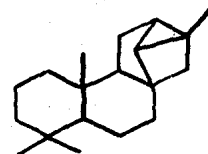
V



VI



VII



VIII

II. PARTE TEORICA

La *Salvia lenta fern* se recolectó en noviembre de 1984 en el estado de Puebla a 2 kilometros al sur de Acatepec. La clasificación fue llevada a cabo por el Dr. T.P. Ramamoorthy. No existen datos en la literatura sobre alguna aplicación medicinal de esta especie y en las regiones donde -- crece no se tiene noticias de que sea utilizada por los pobladores de la -- región.

Al cromatografiar el extracto acetonico de las partes aéreas de la planta se lograron aislar varios metabolitos secundarios, cuya caracterización se describe a continuación.

De las fracciones eluidas con hexano-AcOET (3:2) se aisló un compuesto de color amarillo que presentó un p.f. = 185°C, que fue identificado como 6,7,4'-trimetoxi-5,5'-dihydroxiflavona (Eupatorina IX), por comparación con datos descritos en la literatura para esta sustancia.^{1,4}

De las fracciones eluidas con hexano- AcOET (4:1) se aisló un sólido amorfo blanco. El espectro de I.R de esta sustancia mostró bandas características para una función ácido carboxílico (3000 y 1690 cm^{-1}). El tratamiento de éste producto con solución éterea de diazometano produce el correspondiente éster metílico. Las propiedades físicas y espectroscópicas del éster metílico de éste metabolito permiten caracterizarlo como ácido oleanólico.^{1,5} (X, esquema 3). La identidad de esta sustancia se comprobó -- por comparación directa del éster metílico (XI) con una muestra auténtica.^{1,6}

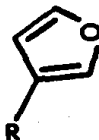
En esta misma polaridad se logró aislar un segundo flavonoide de color amarillo que fue identificado como 6,7-dimetoxi-5,3',4'-trihydroxi-- flavona (XII, Circilio1) por comparación con datos descritos en la literatura.^{1,7}

También en esta misma polaridad se aisló el componente diterpénico más abundante, producto cristalino con p.f. = 235-238 °C $I_{\alpha}I_D^{20} = -36.5$ (metanol, c.0.22). Su peso molecular determinado por E.M ($M^+ = 357.2$, 2.5%), - está de acuerdo para un compuesto de fórmula molecular $C_{20}H_{20}O_6$. A esta sustancia se le denominó Lenidina. La elucidación de esta estructura se describe a continuación.

El espectro de I.R (espectro No. 1, nujol) presenta bandas en 1785-cm^{-1} , que se asigna al carbonilo de una γ -lactona α,β -insaturada; en 1720-cm^{-1} presenta absorción de carbonilo atribuido a una δ -lactona de seis miembros; en 1650 cm^{-1} una banda que se asigna a dobles enlaces; 1500 y 875 bandas características de furano.

El espectro de U.V (metanol) presenta un máximo en 209 nm (10359)-- que confirma la presencia de una γ -lactona α,β -insaturada y de un anillo de furano.

El espectro de R.M.N ^1H de éste producto (espectro No.2) presenta una señal múltiple a 6.4 ppm, que integra para un protón y que se asignó - al H- β de un anillo furánico, y un multiplete a 7.4 ppm, que integra para dos protones asignados a los protones alfa de éste anillo de furano, estas señales ya se han observado en compuestos similares¹⁸. Para estas señales - se propone la siguiente estructura parcial A:

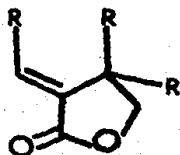


A

En el espectro de R.M.N ^{13}C (4, tabla A) se confirma la presencia de esta función, ya que se observan las siguientes señales: para el carbono tetrasustituido un singulete a 123.79 ppm, y para los tres carbonos restantes se observan tres dobletes en 108.68 ppm, en 143.59 ppm y en 139.87 ppm.

El espectro de masas de éste producto apoya la presencia de dicho grupo observandose una pérdida de 95 (18%) y 81 (2%) unidades, fragmentaciones correspondientes al ión furfurilo deslocalizado.¹⁹

En el espectro de R.M.N ^1H de la Lenidina se observa una señal triple ($J=4$ Hz) a 6.65 ppm, que integra para un protón y que se asigna al protón β -olefínico de la γ -lactona α,β -insaturada. Se observa también un sistema AB el cual se debe a los protones del metileno de la γ -lactona α,β -insaturada, cuya multiplicidad y desplazamiento indican que se encuentra unido a un oxígeno y a un carbono totalmente sustituido. De éste sistema-AB una rama se encuentra centrada a 4.2 ppm (doblete, $J= 4$ Hz), y la otra rama en 3.95 ppm (doble de dobles, $J= 8$ y 1 Hz). Con estos datos se obtiene la siguiente estructura parcial B:



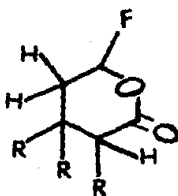
(B)

Esta estructura parcial se confirma con la ayuda de R.M.N ^{13}C en cuyo espectro, la señal para el carbonilo de la γ -lactona α,β -insaturada se observa a 168.2 ppm como un singulete, las señales de la insaturación se observan a 133.2-- ppm como un singulete, y a 135.7 ppm como un doblete. También se observa una señal triple en 29.1 ppm que se asigna como la señal del metileno alfa a la insaturación. La señal para el carbono del metileno de la γ -lactona α,β -insaturada se observa a 79.5 ppm como un triplete, y la del carbono totalmente sustituido se observa a 41.8 ppm (singulete).

El espectro de R.M.P de éste compuesto presenta una señal doble de dobles centrada en 5.15 ppm ($J= 12$ y 4 Hz), esta señal puede ser la correspondiente al cirre de la δ -lactona y por formar parte de un sistema ABX debe corresponder a H-12 ya que este lugar por ser alílico explica el bajo campo de esta señal. Este protón debe ser axial ya que presenta valores de constantes de acoplamiento de 12 y 4 Hz con los protones H-11 α y H-11 β . La parte AB de este sistema se localiza en 2.15 ppm doble de dobles ($J= 16$ y 4 Hz, H-11 α) y en 2.6 ppm doble de dobles -- ($J= 16$ y 4 Hz, H-11 β). Lo anteriormente dicho es apoyado por experimentos de doble resonancia en los cuales al irradiar el protón localizado en 5.15 ppm, provoca que el doble de dobles que se encuentra centrado en 2.15 ppm se afine a un doblete.

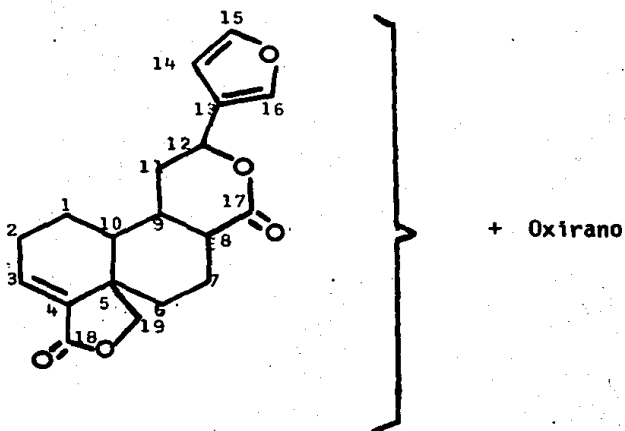
Con la ayuda de R.M.N ^{13}C se confirma la presencia de esta δ -lactona ya que dicho espectro presenta la señal para el carbonilo a 174.4 ppm (singulete), la señal para el carbono trisustituido se observa a 71.4 ppm (doblete), se observa también un triplete a 35.7 ppm, que se asigna al carbono del metileno de dicha lactona, para esta misma lactona se observa otro doblete a 45.5 ppm señal que corresponde al carbono trisustituido alfa al grupo carbonilo, por último se observa un singulete a 40.4 ppm, señal que se atribuye al carbono totalmente sus-

-tituido. Con estos datos se propone la siguiente estructura parcial C:



Hasta este momento se han asignado 5 de los 6 oxígenos presentes en la molécula; el oxígeno restante se considera etéreo (oxirano), ya que en el espectro de I.R de este producto no se observan señales para otro tipo de función oxigenada (OH de alcohol, carbonilo de cetona o de aldehído).

De acuerdo con la fórmula molecular $C_{20}H_{20}O_6$ de la Lenidina, se han determinado 8 de las 11 insaturaciones (α) presentes en la molécula, perteneciendo éstas a las dos lactonas y al anillo de furano; de esta forma y tomando en cuenta que dichas funciones son más factibles de arreglar en un esqueleto de clerodano, además como en un principio ya se mencionó en las especies americanas de *Salvias* estudiadas hasta la fecha la mayoría de los diterpenos aislados (80 % aprox.) tienen esqueleto de clerodano, se propone que este nuevo diterpeno (Lenidina) también tenga esqueleto de clerodano. De acuerdo con la discusión anterior, las otras tres insaturaciones que faltan por determinar -- son las pertenecientes a los dos ciclos de la molécula y a la función etérea -- propuesta (oxirano). De acuerdo con la discusión anterior se propone la siguiente estructura parcial D:



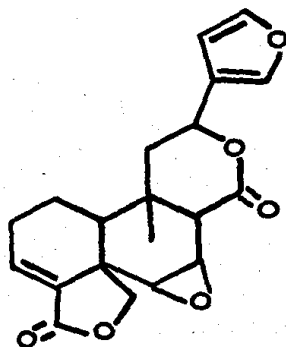
En el espectro de R.M.N ^1H de éste compuesto se aprecia una señal múltiple a 3.3 ppm, que integra para dos protones los cuales se asignan a los protones base de dicho oxirano.

Se podría pensar que este oxirano se encontrara en las posiciones C-1 y C-2, pero esta asignación se descarta ya que en el espectro de R.M.N ^1H (2) de éste producto, la multiplicidad que presenta el protón vinílico H-3 no apoya dicha asignación ya que se observa un triplete ($J = 4$ Hz, 1H, H-3) y no el doblete que se esperaría si C-2 se encontrara sustituido.

De esta forma el oxirano fue asignado a las posiciones C-6 y C-7 lo cual se ve apoyado por el espectro de R.M.N ^{13}C en el cual se observan las señales a 54.5 ppm (doblete), y a 50.8 ppm (doblete).

Finalmente se observa en el espectro de R.M.P de este producto una señal a 1.25 ppm (singlete), que se asigna a un metilo sobre carbono totalmente sustituido. Esta función se confirma en el espectro de R.M.N ^{13}C en el cual se observa la señal correspondiente a 33.2 ppm (cuarteto).

Las estructuras A, B, C y D concuerdan, como anteriormente se dijo, para ser arregladas en un esqueleto de clerodano (VI). La estructura finalmente propuesta para este compuesto es E:



(E)

ESTEREOQUIMICA

Una vez establecida la estructura de la Lenidina (E) se procedió a establecer la estereoquímica de la misma, para lo cual se recurrió nuevamente a los espectros de R.M.N ^1H y de ^{13}C .

Como ya se mencionó en el espectro de R.M.N ^1H (2) de la Lenidina, se observa un sistema AB en 4.2 y 3.95 ppm, asignado al metileno C-19. El protón pro- β de este metileno (3.95 ppm) presenta además un acoplamiento a larga distancia ($^4J = 1 \text{ Hz}$), este fenómeno permite proponer una orientación α -axial para el metileno de la posición C-19 y la ausencia de sustituyentes en la posición 6- β . Asimismo este acoplamiento a cuatro ligaduras permite asignar una fusión de anillos A/B TRANS por com-

-paración con moléculas descritas que presentan dicho fenómeno.⁻²⁰

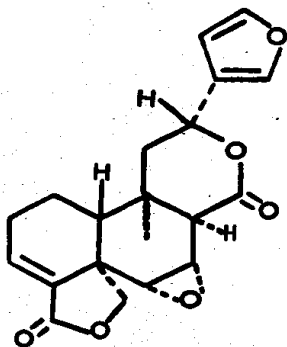
En el espectro de ^{13}C de (E) la señal para el metilo presente en la molécula se observa a 33.2 ppm(4). El desplazamiento químico de este -- grupo permite proponer una fusión CIS (8 β , 9 β) para la δ -lactona presente en la molécula por comparación con la 1,10- dehidrosalviarina y la 1 α ,10 α -epóxisalviarina, diterpenos aislados de la *Salvia lineata Benth.*²¹ (tabla - C). La comparación de los espectros de ^{13}C de los diterpenos referidos - con el de la Lenidina (tabla A) permite asimismo proponer una configura--- ción 12R para E la cual está de acuerdo con la orientación axial propuesta para H-12 con base en sus constantes de acoplamiento, (tabla B).

De acuerdo con la discusión falta por establecer la estereoquímica en los átomos de carbono C-6 y C-7. Para esto se recurrió a experimentos de doble resonancia. Al irradiar la señal compleja localizada en 3.3 ppm- (H-6 y H-7) la señal para el protón-19 pro-S pierde el acoplamiento a --- larga distancia lo cual permite proponer una orientación 6 α para esta parte del epóxido.

La estereoquímica en C-7 se estableció de la siguiente forma. Al - obtener el espectro de R.M.N ^1H de la Lenidina (E) en C_6D_6 (3) la señal - para el protón H-8 se observa en 0.85 ppm como un doblete de constante de - 1.5 Hz. Al saturar esta señal se observa la simplificación del protón H-7- (dd, 2.35 ppm, J =3.5 y 1.5 Hz) a un doblete (J = 2 Hz). La magnitud del- acoplamiento entre el protón H-7 y el protón H-8 indica una relación TRANS entre ellos, por lo tanto el protón H-7 debe ser α -ecuatorial.

De acuerdo con la discusión anterior la configuración de los centros quirales presentes en la molécula (E) es: C-5 (S), C-6 (S), C-7 (R), C-10-- (R) y C-12 (R). La siguiente estructura permite observar la estereoquímica

-de dicha molécula.



(E)

Por recromatografía de las aguas madres de la Lenidina (E) se obtuvo el segundo compuesto diterpénico, el cual tiene un peso molecular determinado por espectrometría de masas ($M^+ = 400$), que corresponde a una fórmula molecular $C_{22}H_{24}O_7$, (II, F).

El espectro de I.R. (No. 5 $CHCl_3$) muestra una banda a 3590 cm^{-1} que indica la presencia de un grupo oxhidrilo, en 1770 se observa una banda que se atribuye a carbonilo de γ -lactona α, β -insaturada; 1740 carbonilo de éster; 1670 cetona α, β -insaturada.

Comparando los espectros de R.M.P. (espectro 2 y 3) de la Lenidina y (espectros 6 y 7) del producto II(F), se observa una gran similitud en señales de grupos funcionales que contienen dichas moléculas, en consecuencia se tomó como base el esqueleto de clerodano para determinar la estructura del producto II (F).

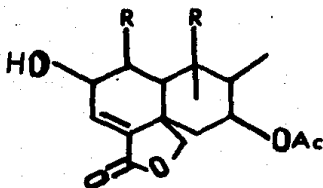
En el espectro de R.M.N. 1H (F) se observa una señal a 6.65 ppm ($d, J = 1\text{ Hz}$), que se asigna a H-3. La multiplicidad y constante de acoplamiento de esta señal indican la presencia de un sustituyente alfa en C-2. En este mismo espectro se observa una señal a 4.7 ppm como un doble de dobles ($J = 8\text{ y } -1\text{ Hz}$), debido a la multiplicidad de dicha señal y a su desplazamiento a campo bajo originado por la doble ligadura (posición alílica), esta señal se asignó al protón geminal de un sustituyente oxigenado localizado en C-2, -- que este grupo funcional es un hidroxilo se demostró por medio de una reacción de acetilación (piridina-anhídrido acético), la cual dió el acetato -- (G) con p.f mayor de 300° C . Su peso molecular ($M^+ = 442$) presenta una ganancia de 42 unidades lo que comprueba que se obtuvo el producto acetilado. En el espectro de I.R. (7) se nota la desaparición de la banda en 3590 cm^{-1} que se asignaba al grupo OH; también se observa en este mismo espectro de I.R. bandas en: 1770 carbonilo de γ -lactona α, β -insaturada; 1740 carbonilo de

-éster; 1670 carbonilo de cetona α,β -insaturada.

En el espectro de R.M.P (6) se observa, al igual que en la Lenidina, un sistema AB (d, 4.9 ppm, $J=8$ y dd, 4.05 ppm, $J=8,1$ Hz) debido a los protones del metileno C-19 que forma parte de la γ -lactona α,β -insaturada cuya multiplicidad y desplazamiento indican que dicho metileno se encuentra unido a un oxígeno y a un carbono totalmente sustituido. El protón pro-S de este metileno presenta un acoplamiento a larga distancia de tipo W ($J=1$ Hz) con el protón de la posición C-6.

En el espectro de R.M.P (6) del producto II (F) se observa un singulete a 2.15 ppm que se asigna al grupo metilo de un acetato. Por comparación de datos de este producto con la Kerlinolida (XVI), un diterpeno de tipo *trans-neo-clerodano* aislado de *Salvia keerlii* benth¹¹, se observa un efecto de desprotección sobre el protón 19-pro-R que se localiza en 4.9 ppm (d. $J=8$ Hz), provocando que el sistema AB anteriormente mencionado se observe más abierto que el que se observa en la Lenidina. Este fenómeno es provocado por un grupo acetato localizado en C-7, la señal del protón geminal H-7 se observa a 5.25 ppm (dd, $J=4$ y 2 Hz).

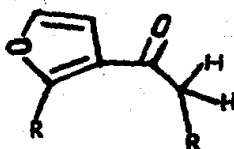
En este mismo espectro de R.M.P (6) se observa en la región de los metilos un singulete a 0.9 ppm, y un doblete a 1.1 ppm ($J=7$ Hz): señales asignadas a los grupos metilos en C-20 y C-17 respectivamente. Con estos datos se propone la siguiente estructura parcial W:



(W)

En el espectro de R.M.P (6) de este producto II (F), se observan dos señales dobles a 6.7 y 7.4 ppm ($J = 2$ Hz) que corresponden a los protones α y β de un anillo furánico doblemente sustituido²², las dos señales se encuentran ligeramente desplazadas hacia campo bajo, desplazamiento originado por un carbonilo que se encuentra alfa al anillo de furano en C-12, conjugado con dicho anillo de furano, lo que se ve apoyado por el espectro de U.V en el cual se observan dos máximos en 205 nm (19000) y 253 nm (5700).

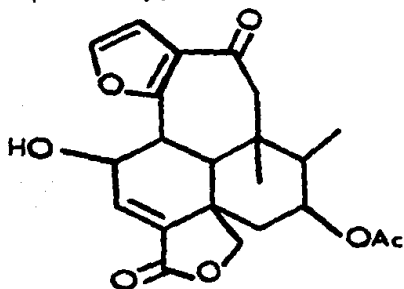
En el espectro de R.M.P de este producto II (F) se observa un sistema AB en 2.55 ppm ($d, J = 16$ Hz, H-11 β) y en 3.05 ppm ($d, J = 16$ Hz, H- α) que se asigna al metileno en C-11. Debido a la multiplicidad que presenta dicho metileno, se encuentra unido a un carbono totalmente sustituido. De esta forma se propone la siguiente estructura parcial X:



(X)

En el espectro (B) del producto acetilado (G) se observan las siguientes señales: un triplete ($J = 9$ Hz) en 3.2 ppm que se asigna al H-1, un doblete ($J = 9$ Hz) que se localiza en 2.35 ppm y que se asigna al H-10, se observa un doble de dobles ($J = 9$ y 1 Hz) localizado en 5.8 ppm y que se asigna ---

-al H-2. Estas asignaciones se comprobaron con experimentos de doble resonancia magnética nuclear, en los cuales al irradiar a H-1 se observa que el doblete que se asignó a H-10 se afina a un singulete, al mismo tiempo el doble de dobles que se había asignado a H-2 se transforma a un doblete ($J=9$ Hz). Con estos datos se propone la siguiente (F) para este producto, en la cual se observa un anillo de siete miembros unido entre C-1 y C-16. Esta estructura es --- semejante a la de un neo-clerodano aislado recientemente de *Salvia languidula* que fue confirmada por cristalografía de rayos-X (Jorge Cárdenas y colaboradores, comunicación personal).



(F)

ESTEREOQUIMICA.

La estereoquímica que presenta este compuesto se postula con base en -- los siguientes argumentos: en el espectro de R.M.N ^1H (8) se observa que el-- protón pro-S de la posición C-19, presenta un acoplamiento a larga distancia - ($^4J=1$ Hz) con el protón de la posición 6- β axial, la presencia de este acopla-- miento permite proponer una orientación α -axial para el metileno C-19 y la au-- sencia de sustituyentes en la posición 6- β .

En este mismo espectro se observan las señales correspondientes a los p-- protones H-1, H-2 y H-10 en 3.2 ppm (t, $J=9$ Hz), 5.8 (dd, $J=9$ y 1 Hz) y en-

2.35 ppm (d, $J = 9$ Hz) respectivamente. El valor de la constante de acoplamiento entre H-1 y H-10 (9 Hz) indica una relación *trans diaxial* entre ellos. Asimismo el valor de J entre H-1 y H-2 indica un ángulo dihedro de 180° entre ellos. Estas fueron corroboradas por experimentos de doble resonancia magnética nuclear y permite postular una orientación β -axial para el H-10, α -axial para H-1 y β -axial para H-2, por lo tanto la fusión de los anillos A/B es *trans* ($5\alpha, 10\beta$) y el alcohol de la posición C-2 debe ser α -ecuatorial. Por otro lado la unión entre las posiciones C-1 y C-16 es β -ecuatorial respecto a C-1 como se muestra en F. Como ya se ha mencionado previamente el acetato de la posición C-7 tiene una orientación α -axial. La orientación de este grupo se apoya en la desprotección que ejerce sobre el protón pro-R del metileno C-19.¹¹

La orientación propuesta en F para los metilos de las posiciones (C-8 y C-9) se apoya en consideraciones biogénéticas. Con base en la discusión anterior la configuración absoluta en los centros quirales de F es: 1(S), 5(S), 7(R), 8(S), 9(R), y 10 (R). Las siguientes estructuras muestran la estereoquímica del segundo producto aislado y del acetato formado a partir de este.

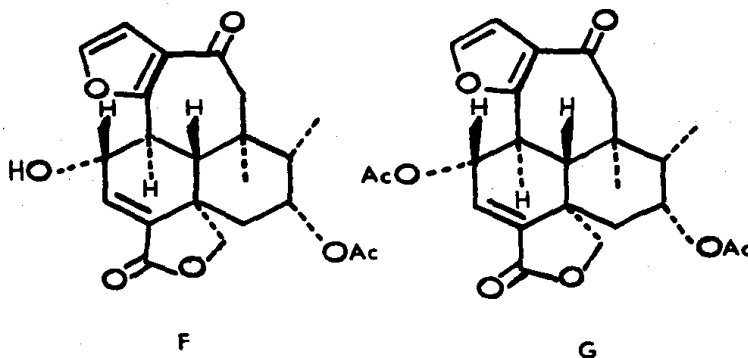


TABLA (A)

DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS RMN ¹³C

CARBON No.	LENIDINA "
1	18.9 (t)
2	29.1 (t)
3	135.1 (d)
4	133.2 (d)
5	41.8 (s)
6	54.5 (d)
7	50.8 (d)
8	45.5 (d)
9	40.4 (s)
10	47.1 (d)
11	35.7 (t)
12	71.4 (d)
13	123.8 (s)
14	108.7 (d)
15	143.6 (d)
16	139.9 (d)
17	174.4 (s)
18	168.2 (s)
19	79.5 (t)
20	33.2 (c)

Los valores de la columna vertical estan dados en ppm..La multi-
plicidad está entre paréntesis.

TABLA B
DESPLAZAMIENTOS QUIMICOS RMN ^1H

	E*	E**	F*	G*
H-1			3.1 t (8)	3.25 t (9)
H-2			4.7 dd (8,1)	5.8 dd (9,1)
H-3	6.65 t (4)	6.4 t (4)	6.65 d (1)	6.6 d (1)
H-6	3.3 m	2.45 dd (3.5,2)		
H-7	3.15 m	2.35 dd (3.5,1.5)	5.25 dt (4,2)	5.3 dt (4,2)
H-8	2.25 d (1.5)	0.85 d (1.5)		
H-10				2.35 d (9)
H-11A	2.15 dd (12,16)	1.1 dd (16,10)	2.5 dd (16)	2.55 d (16)
H-11B	2.6 dd (16,4)	1.95 dd (16,4)	3.05 d (16)	3.05 d (16)
H-12	5.15 dd (12,4)	5.05 dd (10,4)		
H-14	6.4 br s	6.15 br s	6.75 d (2)	6.7 d (2)
H-15	7.4 m	7.1 m	7.4 d (2)	7.25 d (2)
H-16	7.4 m	7.2 m		
19 pro- <u>S</u>	3.95 dd (8,2)	3.05 dd (8,2)	4.05 dd (8,1)	4.1 dd (8,1)
19 pro- <u>H</u>	4.2 d (8)	3.4 d (8)	4.9 d (8)	4.95 d (8)
H-17			1.1 d (7)	1.1 d (7)
Me-20	1.25 s	0.55 s	0.9 s	0.9 s
OCOC <u>H</u> ₃			2.15 s	2.1 s 2.15 s

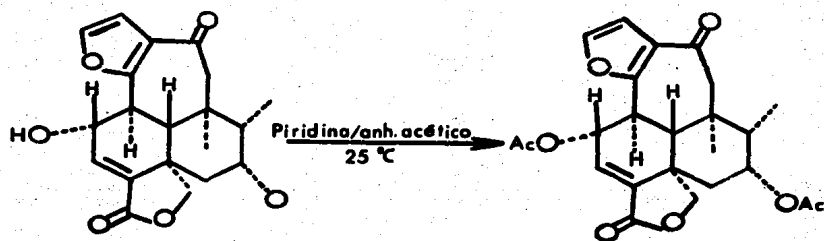
Los desplazamientos químicos están dados en ppm, usando como referencia interna TMS a 80 MHz en solución de CHCl_3 . La constante de acoplamiento (J) está dada entre paréntesis. * Corridos en CDCl_3 . ** Corridos en C_6D_6 .

TABLA (C)
COMPARACION DE LOS DATOS DE ^{13}C DE "E" CON
LOS DE XIII Y XIV

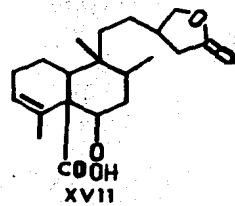
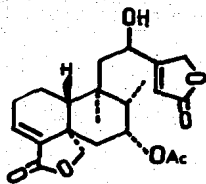
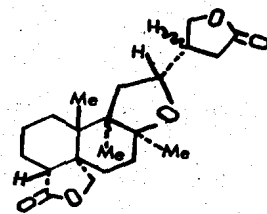
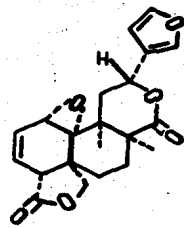
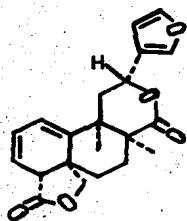
LACTONA

C No.	E	XIII	XIV
8	45.50	48.5	46.3
9	40.40	37.7	37.7
11	35.74	40.7	39.0
12	71.38	70.8	72.0
17	174.4	171.3	171.2

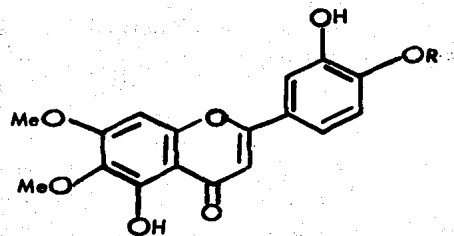
ESQUEMA No. 4



Continuación de esq.3

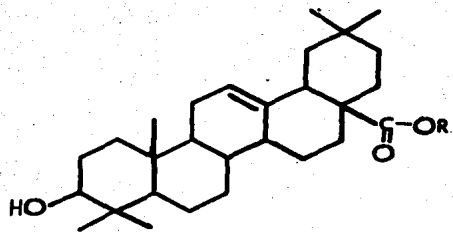


ESQUEMA No.3



IX R=Me

XII R=H



X R=H

XI R=Me

III. PARTE EXPERIMENTAL

La *Salvia lenta* fern se recolectó en noviembre de 1984 en el estado de -- Puebla a 2 Kilometros al sur de Acatepec.

Las hojas secas (2.695 K.) se extrajeron con acetona a temperatura am-- biénate durante 5 días. El extracto acetónico se concentró a vacío obtenien-- dose 161.5 g de extracto que se cromatografió en una columna empacada con gel -- de sílice (1500 g. desactivada al 10% con agua) eluyéndose con mezclas de Hexa-- no-AcOET y AcOET-metanol de polaridad ascendente.

De las fracciones eluidas con hex-AcOET (1:4) se obtuvieron 345.5 mg. (ren-- dimiento 0.0128% sobre planta seca) de un producto denominado Lenidina(E), blan-- co con p.f= 235-238 °C (recristalizado de acetona-hexano) que presenta en el I.R (espectro 1) v máx. en 1785 cm^{-1} (carbonilo de γ -lactona α , β -insaturada); 1720 - (Δ -lactona), 1650 (dobles ligaduras conjugadas), 1500 y 875 (furano β -sustituido), RMN ^1H (espectro No. 2) δ : 7.4 (m, 2H, H-15 y H-16), 6.4 (s, 1H, H-14), 6.65-- (t, J= 4 Hz, 1H, H-3), 5.15 (dd, J= 4 y 12 Hz, H-12), 4.2 y 3.95 (sistema AB, dd- J= 8 Hz, 1H, H-19 pro-R, y dd, J=8 y 1 Hz, 1H, H-19 pro-S), 3.3 (m, 1H, H-6), -- 3.15 (m, 1H, H-7), 1.25 (s, 3H, Me en C-9). RMN ^{13}C δ : tabla A; E.M fragmentos a-- m/z 357.2 (M^+ , 2.5%), 323 (2.8 %), 244 (5.8 %), 189 (5 %), 149 (2 %), 145 (- 2.8 %) , 131 (7 %), 95 (18 %), 94 (15 %), 90 (10 %), 81 (26 %), 16 (2 %). $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_6$ requiere M^+ en 357.2 ; $\text{IaI}_{\text{II}}^{20} = -36.2$ (c. 2.0 mg/ml, metanol); U.V $\times \frac{\text{MeOH}}{\text{máx.}}$ 209-- nm (10358.8) c. 0.2 mg/ml).

Las aguas madres del producto I (Lenidina) se recromatografiaron en una -- columna empacada con gel de sílice (200 g.), eluyéndose con una mezcla de aceto-- cloruro de metileno (1:9) con polaridad constante. De estas fracciones se ob

-tuvo un segundo compuesto (F) de color amarillo (150 mg. 0.00556 % de rendimiento sobre planta seca) que no cristalizó por métodos normales de laboratorio y que presenta en el I.R. ν máx. (espectro 5) : 3590 cm^{-1} (oxhidrilo), 1770 (carbonilo de γ -lactona α,β -insaturada) , 1740 (carbonilo de acetato); 1670 (cetona α,β -insaturada); RMN ^1H (espectro 6) δ : 7.4 ppm (d, J= 2 Hz, 1H, H-15), -- 6.75 (d, J= 2 Hz, 1H, H-14), 6.65 (d, J= 1 Hz, 1H, H-3), 4.7 (dd, J= 8 y 1 Hz, 1H, H-2), 3.1 (t, J= 8 Hz, 1H, H-1), 5.25 (dt, J= 4 y 2 Hz, 1H, H-7), 4.9 y -- 4.05 (sistema AB, d, J= 8 Hz, H-19 pro-R, y dd, J= 8 y 1 Hz, H-19 pro-S), 3.05-- (d, J= 16 Hz, 1H, H-11B), 2.5 (d, J= 16 Hz, 1H, H-11A), 3.65 (sa, 1H, OH en -- C-2), 2.15 (s, 3H, AcO en C-7), 1.1 (d, J= 7 Hz, 3H, Me en C-8), 0.9 (s, 3H, -- Me en C-9). E.M fragmentos a m/z 400.0 (M^+ 2.5 %), 308 (6%), 265 (4.5 %), 239-- (8 %), 219 (7 %), 189 (11 %), 179 (25 %), 150 (40 %), 131 (15 %), 95 (28 %), -- 94 (18 %), 81 (43 %); $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ requiere M^+ en 400.0.

ACETILACION DE F (PRODUCTO II, ESQ. 4)

Una solución del producto F (II), 110.0 mg. en piridina (1 ml) se trató con anhídrido acético a temperatura ambiente durante media hora se vertió sobre hielo, se extrajo con acetato de etilo 3 veces, lavándose sucesivamente con solución de HCL (10 %) y agua hasta pH neutro. Se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró a vacío, se obtuvieron 40 mg de un producto acetilado sólido, blanco con p.f mayor de 300 °C , que presenta en el I.R (espectro 7) ν max: 1770 (carbonilo de γ -lactona α,β -insaturada); 1740 (éster de acetato); 1670 (cetona α,β -insaturada); RMN ^1H (espectro 8) δ : 7.25 ppm (d, J= 2 Hz, 1H, H-15), 6.7 (d, J= 2 Hz, 1H, H-14), 6.6 (d, J= 1 Hz, 1H, H-3), 5.8 (dd, J= 9 y 1 Hz, 1H, H-2), 3.25 (t, J= 9 Hz, 1H, H-1), 5.3 (dt, J= 4 y 2 Hz, 1H, H-7), 4.95 y 4.10 (siste-

-ma AB, d, J= 8 Hz, 1H, pro-R, y dd, J= 8 y 1 Hz, 1H, pro-S), 2.35 (d, J= 9 Hz, 1H, H-10), 3.05 (d, J= 16 Hz, 1H, H-11A), 2.55 (d, J= 16 Hz, 1H, H-11B), 2.1 --- (s, 3H, AcO en C-7), 2.15 (s, 3H, Aco en C-2), 1.1 (d, J= 7 Hz, 3H, Me en C-8), 0.9 (s, 3H, Me en C-9) E.M fragmentos (M^+ , 10 %), 400 (60 %), 382 (8 %), 340-- (9 %), 311 (2 %), 285 (1.5 %), 189 (1 %), 179 (7 %), 161 (100 %), 159 (5 %), -- 95 (3 %), 90 (1 %), 81 (3 %), 43 (78 %), 28 (23 %), 18 (6 %), $C_{24}H_{26}O_9$ requiere M^+ en 442.0; $I_{\alpha}I_D^{20} = -179.72$ (c. 0.22 mg/ml, metanol); U.V λ_{\max}^{MeOH} 205 nm. (19000)- y 253 nm (5700). (c. 0.22 mg/ml).

De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo (4:1) se obtuvieron 51 g (rendimiento 1.89 %, sobre planta seca) de un producto sólido reportado en la literatura como ácido oleanólico, blanco recristalizado de metanol-éter isopropílico. El tratamiento de esta sustancia con solución etérea de diazometano produce el correspondiente éster metílico.

Las propiedades físicas y espectroscópicas de éste derivado permiten -- caracterizar la sustancia original como ácido oleanólico¹⁵ (X), la identidad de esta sustancia se comprobó por comparación directa del éster metílico (XI) esq. No. 3, con una muestra auténtica¹⁶ (p.f, I.R, RMN 1H).

De las fracciones eluidas con hexano-AcOET (2:3) se logró aislar por cristalización 523.1 mg (rendimiento 0.0194 %, sobre planta seca) de un producto - amarillo identificado como 6,7,4'-trimetoxi-5,5'-dihydroxiflavona (Eupatorina - IX) por comparación con datos descritos en la literatura.¹⁴

De las fracciones eluidas con hexano- AcOET (1:4) se obtuvieron 344.3 mg- (rendimiento 0.0127 % sobre planta seca), de un producto sólido, amarillo, identificado como 6,7-dimetoxi-5,3',4'-trihydroxiflavona (Circilioi, XII) por comparación con datos descritos en la literatura.¹⁷

IV. CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico realizado de *Salvia lentia* fern se derivan las siguientes conclusiones:

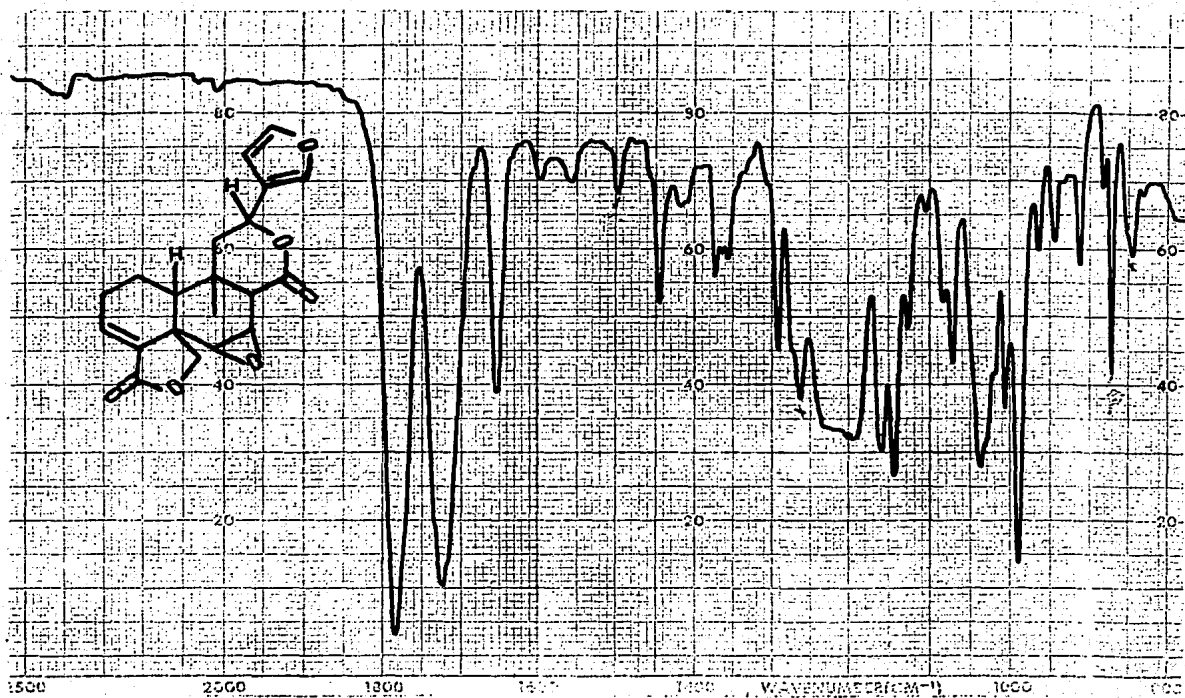
1.- Se aislaron un total de cinco compuestos (metabolitos secundarios) de dicha planta, los cuales fueron purificados por métodos de laboratorio rutinarios.

2.- La estructura propuesta para estos productos se estableció con base en métodos químicos y espectroscópicos.

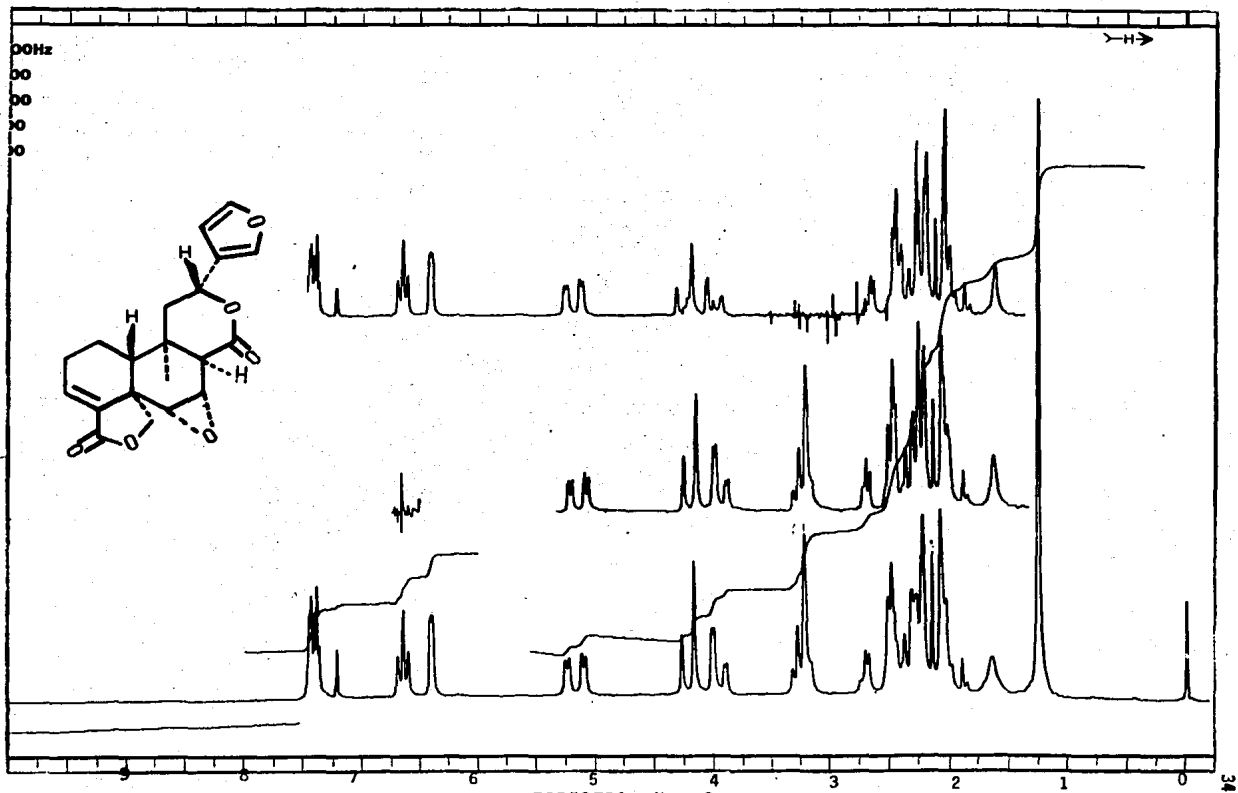
3.- Del total de los productos obtenidos, el ácido oleanólico, el circiliool y la eupatorina son estructuras previamente aisladas y de estructura conocida reportada en la literatura.

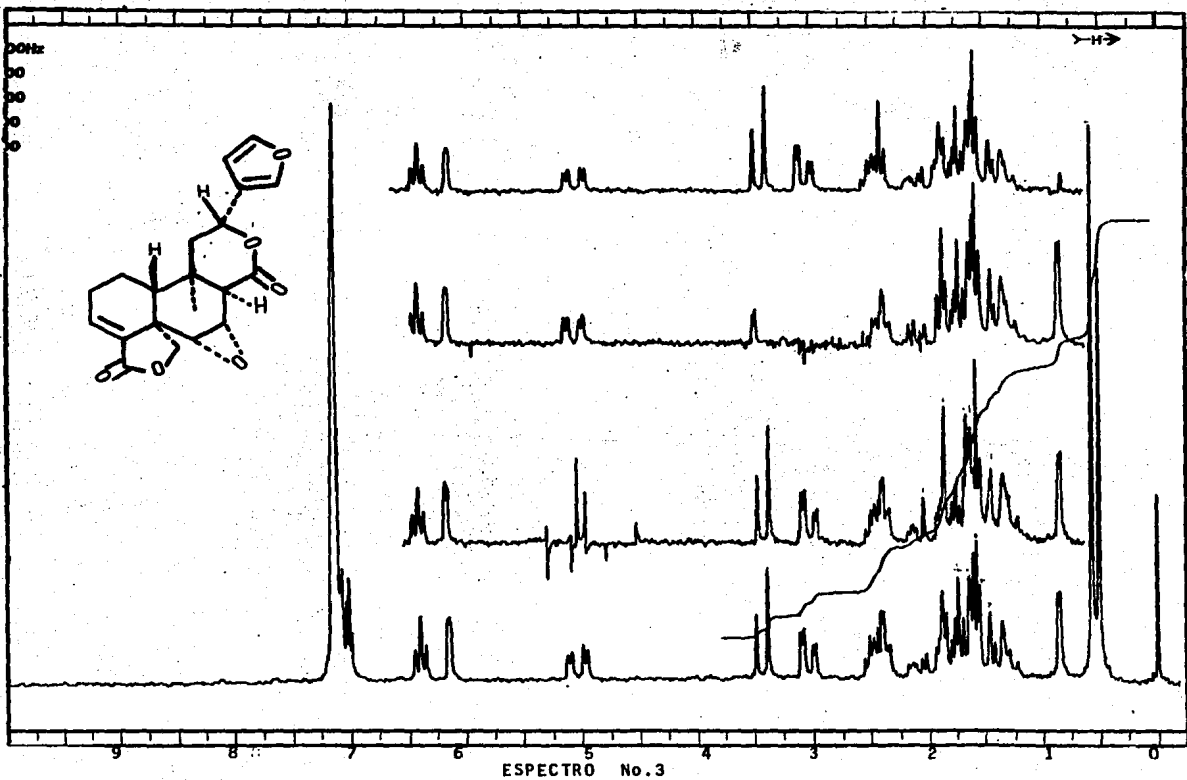
4.- Los productos I (Lenidina) y II (F) no están descritos en la literatura y son por consecuencia aportaciones nuevas a la gran variedad de estructuras diterpénicas.

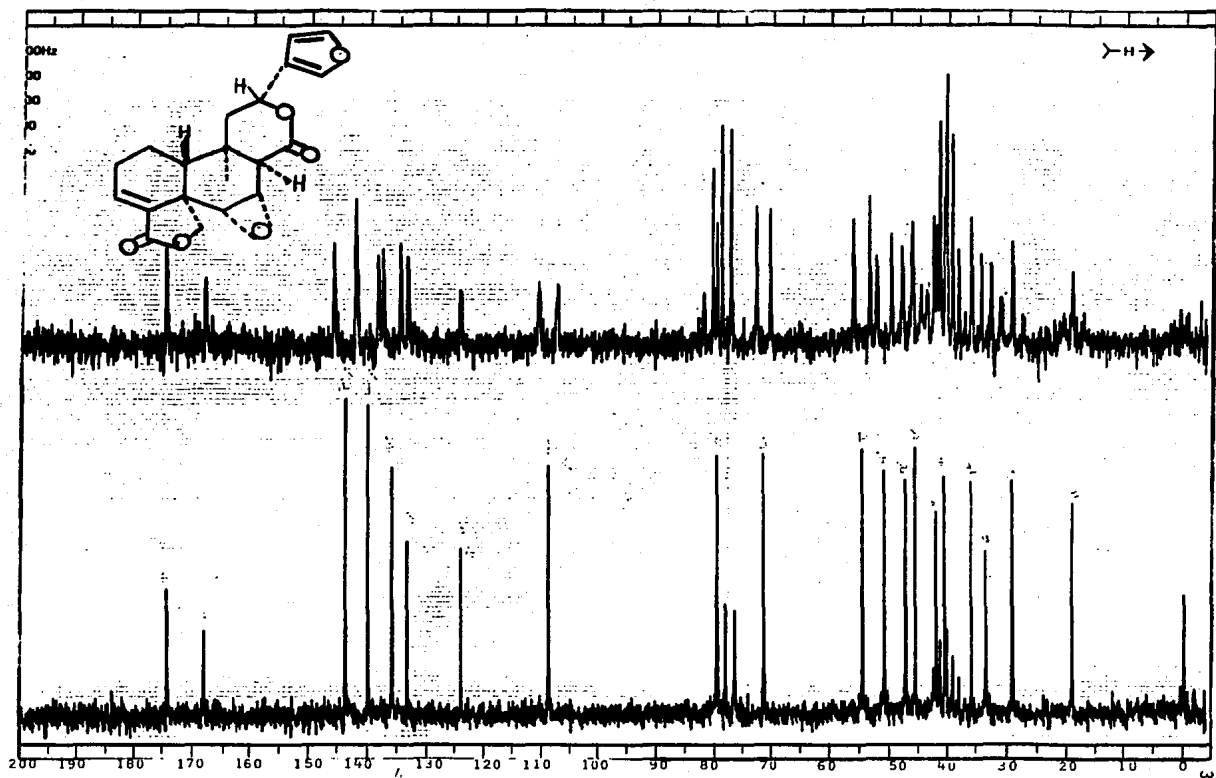
V. ESPECTROS.



ESPECTRO No. 1

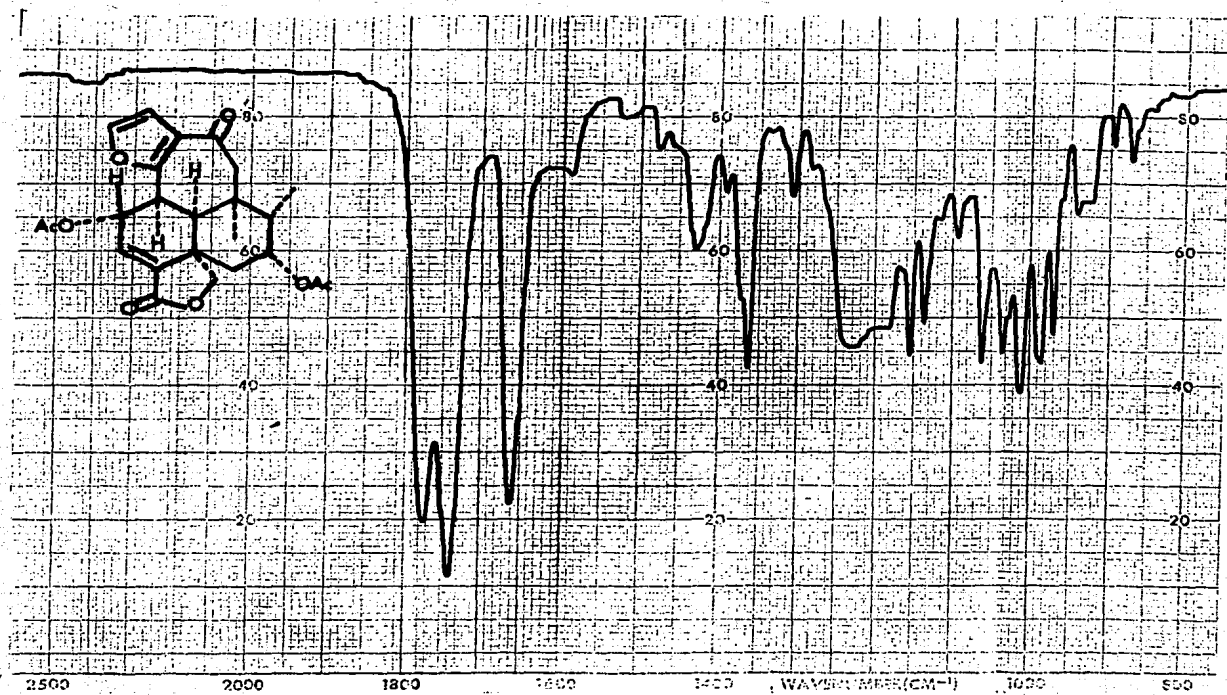




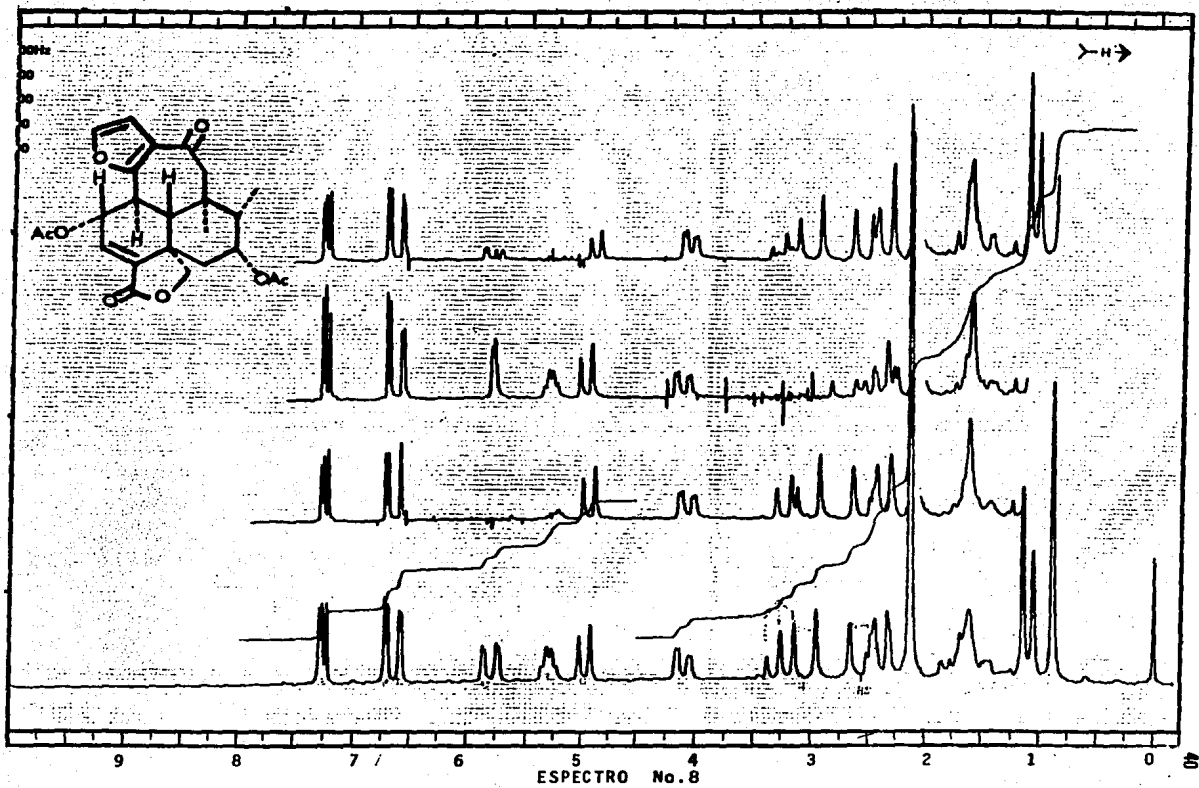


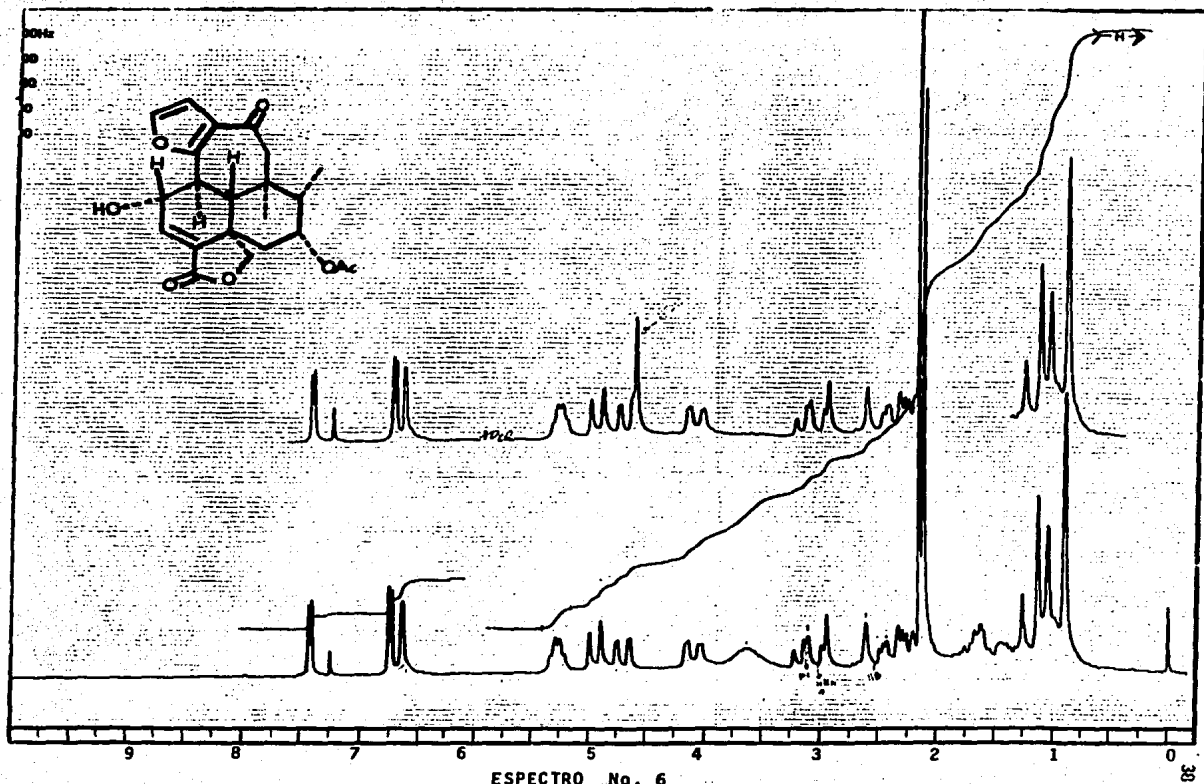


ESPECTRO No. 5



ESPECTRO No. 7





VI. REFERENCIAS Y NOTAS:

- 1.- A.A Newman
Chemistry of terpenes and Terpenoids, Academic press, London and New York,-
1972, pag. 1-9.
- 2.- Ruzicka, L.,
Experientia, 1953, 9, pag.357.
- 3.- Bernfeld, Peter.
Biogenesis of natural compounds
The Mc. Millan Co., New York.,1963, pag.670.
- 4.- Barton, D.H.R., Cheung, H.T., Cross, A.D., Jackman, L.M. & Martin. Smith, M.-
J.C.S., 1961, pag. 501.
- 5.- Rogers.,D., Unal.,G.G., Williams, D.S., Levy, S.V., Sim., G.,Joshin., B.S.,-
y Ravindranath, K.R.
J.C.S. Chem. Comm., 1979, pag.97.
- 6.- Hanson, J.R., Terpenoids and steroids, Specialist Periodical Reports. The--
Chemical Society, vol.9 y ants.
- 7.- Isao kubo Iwao Miura, and Koji Nakanishi
J.C.S Chem. Comm., 1979. pag. 1-24.
- 8.- Levine, S.D., Adams R.E., Chen. R., Coter, M.,Hirsh, A.F., Kane,V.V, Kano--
jia, R.M. Show., Ch., Wachter, M.R Chin, E., Hueltemana, R., Oski, P., Ma--
teos, J.L., Noriega. L. Guzmán, A. Mijares, A. Tovar.
J.Am. Chem. Soc. 1972, pags. 101, 3404.
- 9.- Standley P. and Williams L.
Labiatae Fieldana Bot. (1973), 24, 237.
- 10.- Ramamoorthy T.P.,
Jour. Arnold Arboretum (1984), 65, 135.
- II.- B. Esquivel, A.Méndez, A. Ortega, M. Soriano-García, A. Toscano y L. Rodrí

-guez-Hahn.

Phytochemistry, 1985, 24, 8, pags. 1769-1772.

- 12.- Rodríguez-Hahn L., Martínez G., Romo J.
Rev. Lat. Quím. (1973), 4, pag. 93.
- 13.- Epling, C., A. Revision of *Salvia* subgenus *Calosphaea*.
Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Beih (1973), 110, pags. 1-83.
- 14.- Barbara N. Timemann, Rudiger Muest. Tom, J. Mabry and A. Michael Powell.
Phytochem., 18, 1979.
- 15.- A.A Newman
Chemistry of terpenes and terpenoids, Academic press, London and New York,
pag. 258.
- 16.- La muestra autentica de oleanolato de metilo fue amablemente donada por --
los Drs. Brooks y Connolly de la Universidad de Glasgow.
- 17.- Rudiger Muest., Barbara N. Timemann, Nobuo Ohno and Tom J. Mabry., 6-meto
xiflavonoids from *Brickellia* Californica
Phytochem., 18, 1979, pags. 1379-1383.
- 18.- Hildebert Wagner, Renate Seitz, Herman Loter.
J. Organic. Chem., 43, 1978, pags. 3339-3345.
- 19.- Xorge Alejandro Domínguez, Ashot Merijanlian, Blanca I. González, Angeles--
Zamudio y Ana Laura Zalazar.
Rev. Lat. Quím., 5, 1975.
- 20.- Hildebert Wagner, Renate Seitz, Vendatha Mohan Chari, Herman Loter.
Tetrahedron Letters, 35, 1979, pags. 3039-3040.
- 21.- Baldomero Esquivel Rodríguez.
Estudio Quimiotaxonomico de la sección fulgentes del género *Salvia Labia--*
tae. Tesis, 1986, pag, 28.

22.- A. Balmain, K.Bjamer, J.F. Conolly and G. Ferguson. Department of Chemistry. Tetrahedron Letters. No. 49, 1967, pags.5027-5031.