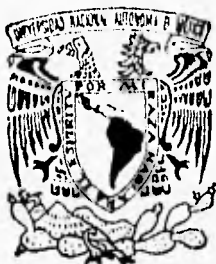


51
2y



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EXAMEN DE PROFESIONADO
FAC. DE QUIMICA

“ESTUDIO QUIMICO BIODIRIGIDO DE
SALVIA ADENOPHORA FERN.”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A I

MARIA EUGENIA IVETTE GOMEZ SANCHEZ



MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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


JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE	PROFRA. YOLANDA CABALLERO ARROYO
VOCAL	PROFRA. MARIA ISABEL AGUILAR LAURENTS
SECRETARIO	PROFR. BALDOMERO ESQUIVEL RODRIGUEZ
1er. SUPLENTE	PROFRA. MARTHA YOLANDA GONZALEZ QUEZADA
2do. SUPLENTE	PROFRA. PERLA CAROLINA CASTAÑEDA LOPEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:


INSTITUTO DE QUIMICA, UNAM.

ASESOR DEL TEMA



**M. EN C. BALDOMERO ESQUIVEL
RODRIGUEZ**

SUSTENTANTE



**MARIA EUGENIA IVETTE
GOMEZ SANCHEZ**

Esta tesis se llevó a cabo bajo la dirección del
M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez, en el Instituto
de Química de la UNAM, con una beca del proyecto
DGAPA - UNAM - PAPIIT IN-212594.

A TI:

Que has sido el único que compartió mis alegrías, mis tristezas y desilusiones, no sólo de esta tesis sino de toda mi vida. Porque me acompañaste en las noches a estudiar y cuando viste mi cansancio, pusiste tu mano en mi hombro alentándome a seguir. Por todo esto y más. GRACIAS.

A mis padres Iveth y José:

Porque me dieron lo más valioso que poseo: mi vida y mis valores, sin olvidar su cariño y comprensión.

A mis hermanas Ana Gabriela y Silvia Hever:

Por el cariño y paciencia que han tenido conmigo; porque sabemos que las tres nos podemos ayudar al estar unidas; pero ante todo no dejan que olvide lo hermoso que es la niñez y la adolescencia.

A mi abuelita Silvia:

Por su fortaleza y perseverancia ante la vida que son un ejemplo a seguir.

A mis abuelitos María y Romulo:

Porque han mostrado que con cariño y paciencia han logrado mantenerse juntos a través del tiempo.

A Ricardo:

Por su cariño y comprensión no solo en los momentos felices y por recordarme que mañana el sol brillará otra vez

A Elizabeth Méndez, Edgar Ruíz y Raúl Lugo:

Por que como amigos me han dado su cariño, ayuda y comprensión en las épocas difíciles que han fortalecido nuestra amistad.

A la UNAM:

Por que me dió la oportunidad de entrar en sus aulas en la E.N.P.# 5 "José Vasconcelos" y en la Facultad de Química. Instituciones en las cuales he aprendido mucho no sólo académicamente y por lo cual viviré agradecida.

A mis profesores:

Porque cada uno ha dejado un ejemplo distinto pero siempre bueno de superación profesional que trataré de seguir.

Al M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez:

Del cual he aprendido no solo como maestro en esta tesis; sino como humano, amigo y compañero que siempre brinda su ayuda.

A mis compañeros de la Facultad de Química (no solo Q.F.B.'s '91) y del Laboratorio 3 de UIPM del Instituto de Química que de alguna manera se interesaron por este trabajo y de los cuales aprendí mucho.

ÍNDICE

1.-	Introducción	2
2.-	Generalidades	4
3.-	Parte experimental	23
4.-	Parte teórica	35
5.-	Conclusiones	63
6.-	Bibliografía	64
7.-	Espectros	67

INTRODUCCION

El territorio mexicano tiene gran variedad de vegetación por la combinación de factores geográficos, esto hace de su flora una de las más diversas y ricas del planeta. ¹

Dentro de la flora mexicana sobresale la familia *LABIATAE*, que es una familia de plantas y pequeños arbustos que está constituida por 200 géneros de los cuales México cuenta con 27 de ellos. ²

Entre los géneros más extensos se presenta el *SALVIA* con aproximadamente 900 especies, que se concentran en áreas montañosas de México, los Andes Sudamericanos, Asia Central y el Mediterráneo. ³

Este género se dividió en 4 subgéneros: *Salvia*, *Sclarea*, *Leonia* y *Calosphace*; ⁴ cuya distribución es el territorio Euroasiático para *Salvia* y *Sclarea*; América del Norte para *Leonia*; México, Centro y Sudamérica (principalmente las regiones montañosas del Centro de México y Centroamérica, y en menor proporción hacia el norte de los Andes y zona montañosa de Brasil) para el último que tiene 500 especies ⁵ clasificadas en 105 secciones por sus datos morfológicos.

Dentro de los 105 grupos de especies del subgénero *Calosphace* ⁶ se encuentra la sección *Nobiles* a la cual pertenece *Salvia adenophora*, quedando su taxonomía de la manera siguiente:

Familia	<i>Labiatae</i>
Género	<i>Salvia</i>
Subgénero	<i>Calosphace</i>
Sección	<i>Nobiles</i>
Especie	<i>adenophora</i>

La localización descrita para esta planta es en Oaxaca, específicamente en Tlapacingo (1400-1600m), El Parian Etlá (1200-1400m), Nochixtlan (1000m) y Zoochila, Jayacatlán (1300m).

A ésta misma sección pertenecen especies como: *S. hilarii*, *S. sellowiana*, *S. benthamiana*, *S. baloustina*, *S. articulata*, *S. persicifolia* y *S. rivularia* que se encuentran en Brasil; además *S. disjuncta* en Chiapas y *S. gesneraeiflora* en Amecameca y Tres Marías.⁶

De esta familia se han aislado diversos metabolitos secundarios dentro de los que destacan: flavonoides, diterpenos, triterpenos, esteroides y fenilpropanoides, de éstos últimos en algunas ocasiones dépsidos; todos ellos cubren un espectro amplio de actividades biológicas como: antibacterianos, antitumorales, antialimentarios, etc.

Por lo anterior se tuvieron como objetivos para este estudio:

- i) Contribuir al estudio de la flora mexicana.
- ii) Aportar conocimientos de la composición química del género *Salvia* (*Labiatae*) que está siendo objeto de una investigación sistemática.
- iii) Aislar y caracterizar algunos metabolitos secundarios de *Salvia adenophora* que contribuyan con el estudio quimiotaxonómico de la familia *Labiatae*.
- iv) Valorar la actividad biológica de las fracciones y metabolitos aislados por medio de un bioensayo con *A. salina*.

GENERALIDADES

Los pueblos primitivos han tenido información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas; esto se debe al cúmulo de conocimientos de individuos, sacerdotes, curanderos, etc. que los han transmitido de generación en generación a sus descendientes o aprendices, en ocasiones a viajeros o historiadores que dejaron descripciones útiles sobre las plantas y sus aplicaciones. ⁷

El Papiro de Ebers describe varias enfermedades y las indicaciones para su tratamiento con plantas; Teofrasto, discípulo de Aristóteles escribió (372 a.de C.) 10 libros sobre: "La historia de las plantas" y 8 libros de "Las causas de las plantas", donde menciona usos de la canela, apio y cornezuelo de centeno; Dioscórides (77 a. de C) escribió su libro "De materia médica" donde menciona todas las plantas y medicinas conocidas por los griegos; siendo esta obra considerada la cumbre de la Botánica y la Farmacia por quince siglos.

Los conocimientos sobre plantas medicinales en América se transmitieron de aborígenes a misioneros; en 1535 Gonzálo Fernández de Oviedo publicó "De la natural historia de las Indias e Islas y tierra firme del mar oceáno", aparece la descripción del achiote, guaco, tabaco y cacao.

José de Acosta escribió "Historia natural y moral de las Indias" en 1590 reeditada en 1940 por el Fondo de Cultura Económica , aquí se describe la yuca, camotes, aguacate y liquidámbar.

Fray Bernardino de Sahagún escribió "Historia de las cosas de la Nueva España" a fines del S.XVI, mencionando muchas de las plantas medicinales para los aztecas y zapotecas.

Martín de la Cruz escribió un texto en náhuatl en 1552, que posteriormente Juan Badiano lo traduce al latín como: "Códice Badiano", aunque permaneció inédito hasta 1940 cuando Emmart lo tradujo. ⁷

Todo lo anterior despertó el interés por investigar cuales eran las sustancias contenidas en las plantas que eran responsables de las distintas actividades farmacológicas.

Entre los tipos de sustancias producidos por la planta se encuentran: alcaloides, aceites esenciales, terpenoides, flavonoides, glucósidos, etc. cuya presencia involucra cierta función en su metabolismo secundario y esto da características químicas útiles para su clasificación botánica o su aprovechamiento para el hombre.

La Quimiotaxonomía se define como la rama de la ciencia que usa las características químicas, en particular metabolitos secundarios mencionados anteriormente, de un conjunto de organismos para determinar su posición en una clasificación jerarquizada evolutivamente de los seres vivos, aunque en ocasiones solo es confirmativo de las clasificaciones taxonómicas.

El origen de sustancias y drogas económica y farmacéuticamente importantes se han conocido desde hace tiempo, en particular las familias ricas en sustancias terapéuticamente activas y otros materiales con valor nutritivo.⁸

Hasta hace poco tiempo su uso era conducido por bases empíricas de la medicina tradicional; pero los estudios químicos se han hecho sistemáticos alrededor de familias que tienen sustancias activas; de modo que la observación biológica y farmacológica de diferentes especies proporciona un sistema químico para su estudio y una valoración de principios activos.

Las especies de Labiadas son aromáticas pues tienen un alto contenido en aceites esenciales, también se han encontrado metabolitos como flavonoides que son pigmentos vegetales con esqueleto C₆-C₃-C₆ como: flavanonas, auronas, chalconas, flavonas; se conocen alrededor de 900 especies que se presentan en forma libre o glucosiladas, contribuyen a dar color a flores, frutos y hojas. Su solubilidad va desde soluble en agua o insoluble en ella pero soluble en éter etílico.⁹

Los flavonoides se han desarrollado bastante en el metabolismo de esta familia, ayudando con su quimiotaxonomía. La actividad farmacológica de estos compuestos extraídos de labiadas ha provocado interés y al respecto se han hecho algunos trabajos.⁹

Las infusiones y decocciones han sido usadas en la medicina tradicional de muchos lugares, mientras que los flavonoides aislados han mostrado un espectro amplio de actividad farmacológica; entre las que se encuentran: ⁹

a) Antiinflamatorios:

8- β -D-glucósido de Hypolaetina
Nepitrina

b) Antibacterianos:

Cirsimaritina
Baicaleina
5,7,2',6'-tetrametoxiflavona

c) Desórdenes gastrointestinales (carminativo o espasmolítico):

Thymonina
8-metoxicirsilineol
cirsiliol

d) Acción sobre el metabolismo de los lípidos:¹⁰

Wogonina
Skullcapflavona
Baicaleina*
Baicalina*

*También usados como antialérgicos

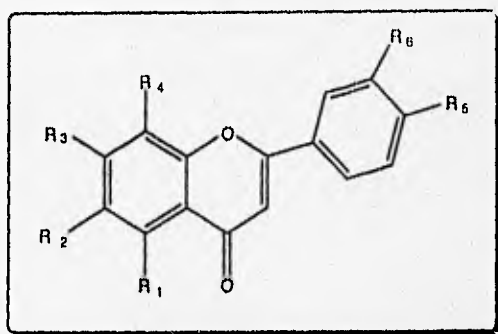
e) Citotoxicidad frente a cultivo celular de carcinoma humano nasofaríngeo:

Nepetin*¹¹
Eupatorin
Eupatilin
5,7,4'-OH, 6-metoxiflavona.*

*Inhibición respiratoria y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa

TABLA I. EJEMPLOS DE FLAVONOIDES AISLADOS DE LABIADAS. ⁹

NOMBRE	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Baicaleína	OH	OH	OH	H	H	H
Cirsiliol	H	OMe	OMe	H	OH	OH
Cirsimaritina	H	OMe	OMe	H	OH	H
Eupatilina	OH	OMe	OH	H	OMe	OMe
Eupatorina	OH	OMe	OMe	H	OMe	OH
8-β-D glucósido de hypolaetina	OH	H	OH	OGlu	OH	OH
Luteolina	OH	H	OH	H	OH	OH
Nepetina(Eupafolina)	OH	OMe	OH	H	OH	OH
Nepitrina	OH	OMe	O Glu	H	OH	OH
Skulcapflavona	OH	H	OMe	OMe	H	OH*2'
Thymonina	OH	OH	OMe	OMe	OH	OMe
Thymosina	OH	OH	OMe	OMe	OH	H
8-metoxicirsilineol	OH	OMe	OMe	OMe	OH	OMe
5,7,4'OH, 6 metoxi-flavona	OH	OMe	OH	H	OH	H
5,7,2',4',tetrametoxi-flavona	OMe	H	OMe	H	OH	OH(*2')
Wogonina	OH	H	OH	OMe	H	H



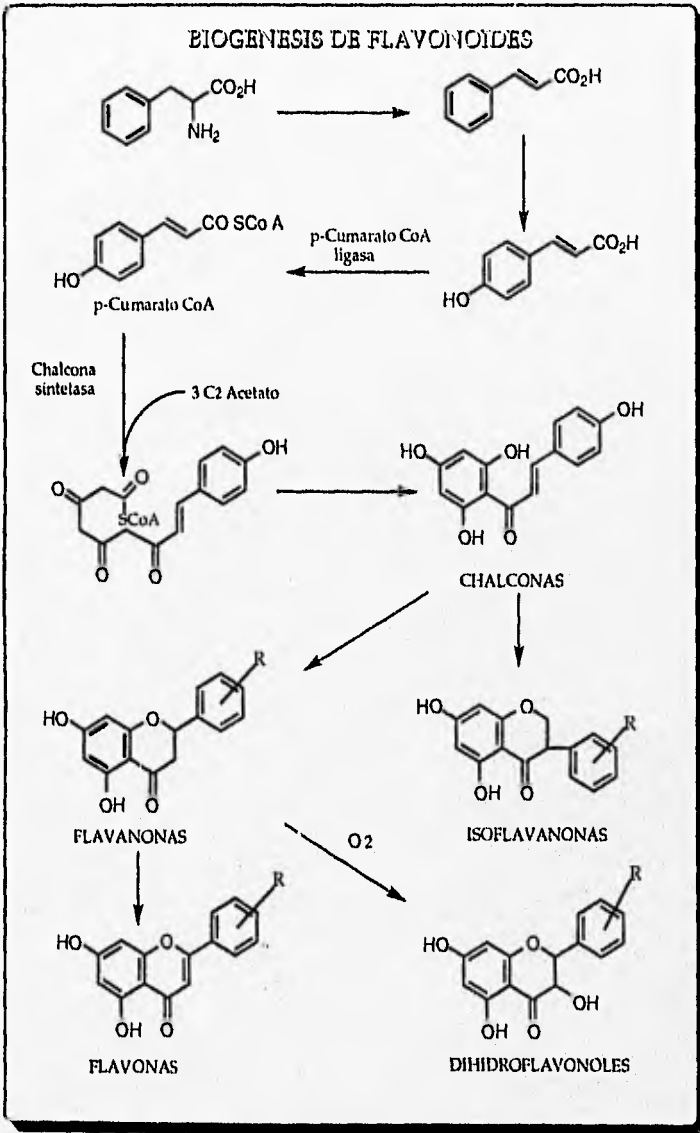
Por otra parte se han usado los extractos de las partes aéreas de la planta. Ejemplos de lo anterior son:

TABLA II. ACTIVIDAD FARMACOLOGICA DE ALGUNOS EXTRACTOS. ⁹

*Antibacteriano	<i>Salvia palaestina</i> <i>Sideritis angustifolia.</i> <i>Scutellaria sp.</i>
*Carminativo y desórdenes gastrointestinales	<i>Mentha piperita</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Salvia thymonin</i> <i>Melissa officinalis</i> <i>Thymus vulgaris</i>
*Enfermedades biliares	<i>Stachys neglecta</i> <i>Stachys recta</i>
*Enfermedades respiratorias	<i>Ocimum sp.</i> <i>Thymus sp.</i> <i>Coleus amboinicus (asma)</i>
*Efectos diuréticos	<i>Thymus sp.</i> <i>Nepeta sp.</i> <i>Mentha sp.</i> <i>Origanum sp.</i>
*Tratamiento de tumores	<i>Scutellaria sp.</i>
*Antiinflamatorio	<i>Stachys sp.</i> <i>Sideretis sp.</i> <i>Nepeta sp.</i>

La biogénesis de flavonoides se muestra en el esquema que se presenta a continuación:

BIOGENESIS DE FLAVONOIDES



Dentro del metabolismo secundario de las plantas existen compuestos fenólicos, entre los que destacan los derivados del ácido cinámico los cuales están ampliamente distribuidos; por esto se han utilizado como marcadores taxonómicos para esta familia; se les conoce también como: Fenilpropanoides .

Se han aislado fenilpropanoides con actividades biológicas importantes como el ácido cafeico que resultó activo contra: *M.tuberculosis*, *C.diphtheriae* y *S. proteus* la actividad de 1.44 mg equivale a 10 U de Penicilina y por esto se le puede considerar antibiótico.¹²

Además se han encontrado polímeros de fenilpropanoides llamados: Dépsidos, como el ácido rosmarínico (α -hidroxi-hidrocafeico y ác. cafeico) que favorece la polimerización de taninos.

Se observó que los extractos del género *Melissa* tenían actividad antiviral debida a estos ácidos, mostrándose como la inhibición del virus de Newcastle y el de Herpes.

Se realizaron estudios de ésteres de enol del ácido cafeico y se encontró que eran tóxicos al hongo *Cladosporium herbarium* , que parasita a varias plantas, por inhibir la formación de una colonia con 1 μ g de los compuestos; esto podría indicar que son fungicidas naturales, y probablemente fitoalexinas .¹³

Durante los estudios de la actividad biológica de estos compuestos (primeramente aislados de *S. miltiorrhiza*) se impulsó la investigación química en otras especies del género *Salvia* utilizadas en la herbolaria; encontrando varios dépsidos a los que se les llamó ácidos salvianólicos (A-J) y ácido isosalvianólico, aunque han aislado algunos conocidos como el ácido rosmarínico y litospérmico.^{14,15,16,17,18.}

En la medicina tradicional de China, se usan decocciones de varias salvias para el tratamiento de distintos padecimientos como son:

**Salvia miltiorrhiza* para enfermedades coronarias.¹⁴

**Salvia chinensis* para el tratamiento de hepatitis, nefritis, dismenorrea y algunos tipos de cáncer.¹⁵

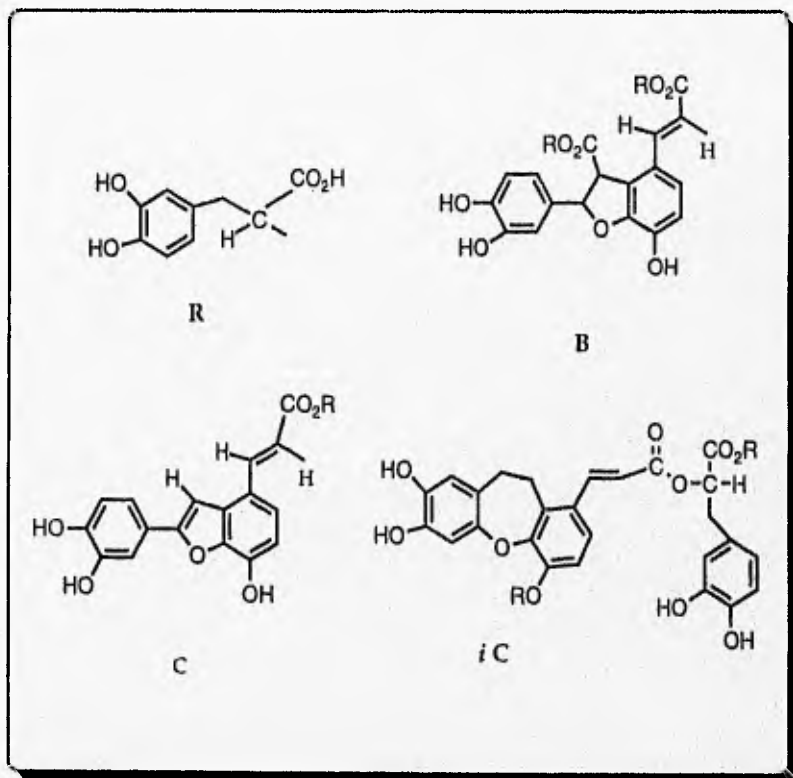
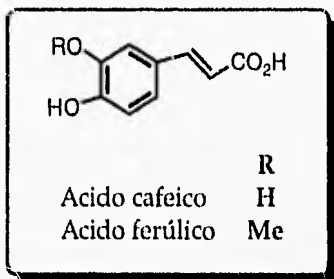
**Salvia cavaleriei* para tratar la disenteria, hemoptisis, contusiones.¹⁶

A continuación se muestra una tabla con algunos dépsidos y la planta de la cual se aislaron por primera vez o en forma subsecuente.

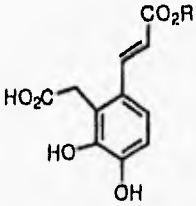
	<i>S.miltiorrhiza</i>	<i>S.chinensis</i>	<i>S.cavalerici</i>	<i>S.flava</i>
A	▲		□	□
B	▲	□	□	□
C	▲		□	
iC		▲	□	
D	▲	□		
E	▲			
H			□	
I			▲	
J				▲
Litospérmico		□	□	
Etil litos- pérmico	□			
Isoferúlico	□			
Protocate- chualdehído		□		
Rosmarínico	□	□	□	□
Cafeico		□		

- ▲ Compuesto aislado por primera vez.
- Compuesto ya descritos en la literatura.

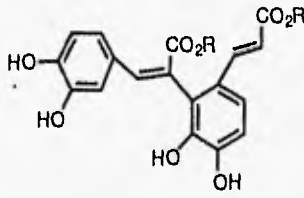
EJEMPLOS DE DEPSIDOS



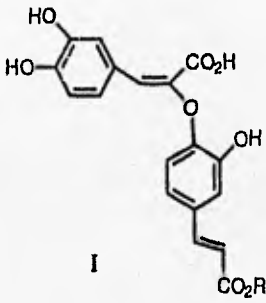
EJEMPLOS DE DEPSIDOS CONTINUACION



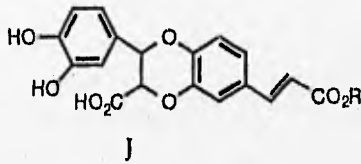
D



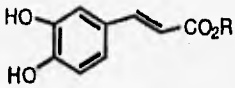
E



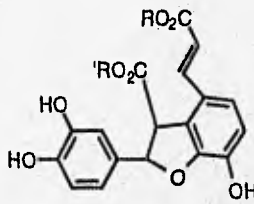
I



J



Ac. rosmarínico



Ac. litospermico
Etil-litospermato

R

H

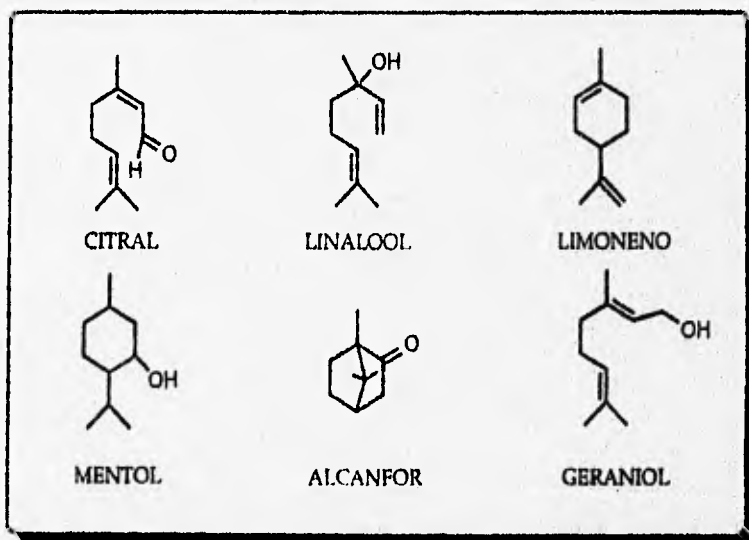
Et

Dentro de las plantas están ampliamente distribuidos los terpenoides; que derivan de la ruta biogénica del ácido meválonico, que se inicia con 2 moléculas de acetil Coenzima A, formando unidades de 5 carbonos ramificadas que son: pirofosfato de isopentenilo y pirofosfato de dimetilalilo, que al unirse en forma cabeza - cola dan origen a varios grupos dependiendo del número de Unidades Isopreno que formen la molécula; la forma en que se unen se conoce como Regla Biogénica del Isopreno.

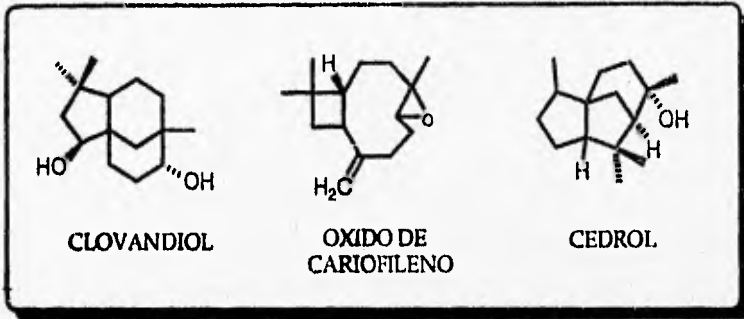
De este modo tenemos:

C10	monoterpenos	Se forma con 2 Unidades Isopreno
C15	sesquiterpenos	Se forma con 3 Unidades Isopreno
C20	diterpenos	Se forma con 4 Unidades Isopreno
C25	sesterterpenos	Se forma con 5 Unidades Isopreno
C30	triterpenos	Se forma con 6 Unidades Isopreno
C _n	politerpenos	Se forma con n Unidades Isopreno

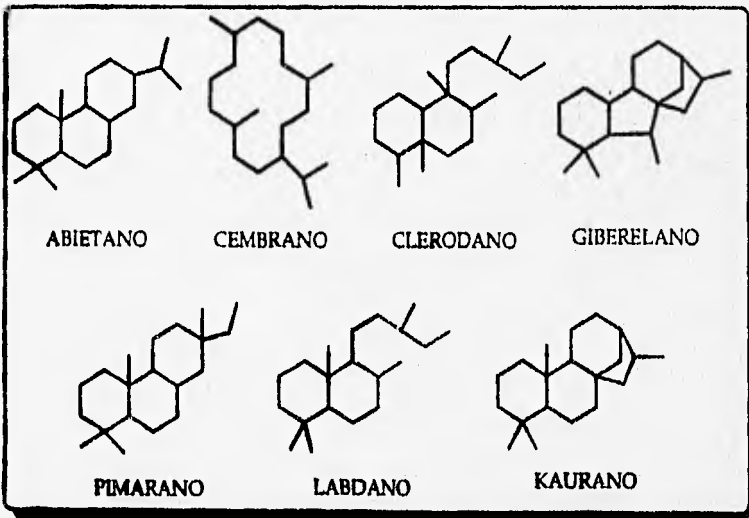
Entre los monoterpenos existen estructuras acíclicas, monocíclicas y bicíclicas, a las cuales se les atribuye la actividad carminativa, espasmolítica y colerética de algunos aceites esenciales. Ejemplos de monoterpenos son: Citral, Linalool, Limoneno, Mentol.¹⁷



Como ejemplos de sesquiterpenos aislados de Salvias se encuentran: cedrol, clovandiol y oxido de cariofileno.

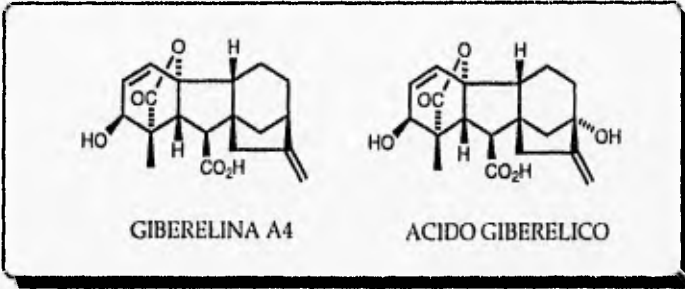


Los diterpenos han sido muy estudiados y están descritos alrededor de 2000, de los cuales la mitad se incluye en 7 tipos principales de esqueleto y el resto en 169 tipos. Los 7 esqueletos mayoritarios son: abietano, cembrano, clerodano, giberelano, kaurano, labdano y pimarano.

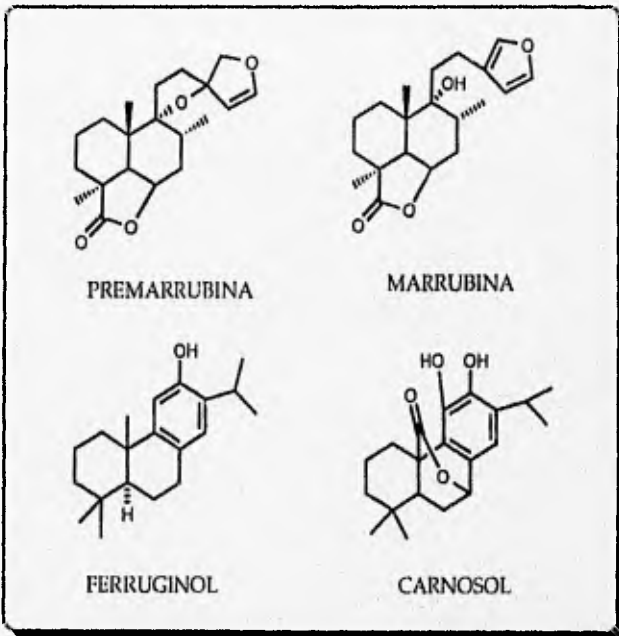


Entre las actividades biológicas que poseen se encuentran:

*Reguladores del crecimiento vegetal como las giberelinas y algunos neoclerodanos.



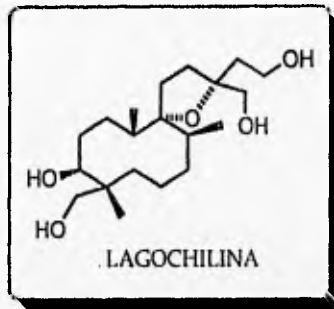
*Bactericida, bacteriostática o virostática como: ferruginol, premarrubín, marrubín y carnosol. ⁴



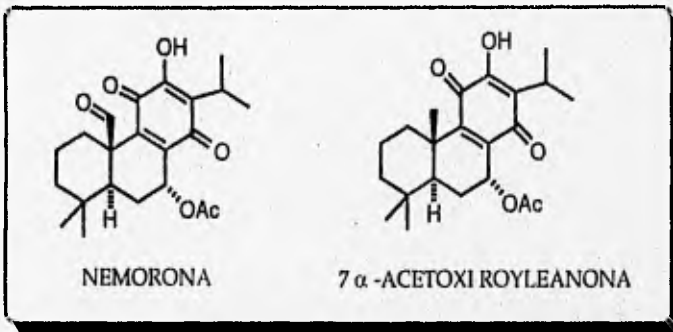
Antiprotozoario como : ácido kerlínico vs *T. cruzi*.

*(ver estructura más adelante)

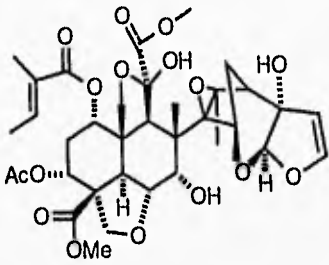
*Sedante como: Lagochilina.



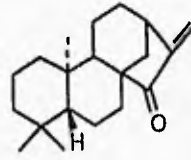
*Antitumorales con esqueleto abietánico²¹ como:



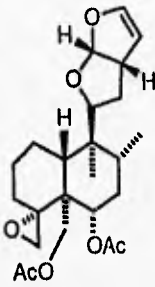
*Antialimentarios²² contra insectos, (que inhibe la alimentación del insecto pero no lo mata directamente, el insecto puede estar cerca de la planta y probablemente muera de hambre); son biodegradables y poco tóxicos al hombre, animales e insectos de utilidad; pero para insectos nocivos son tóxicos como: Azadiractina²³, ent-kaurano, ajugarin, clerodin²⁴, 1,10 - deshidrosalviarina, kerlina, kerlinólida, ácido kerlínico, lasiantina, linearolactona, semiatrina, brevifloralactona.



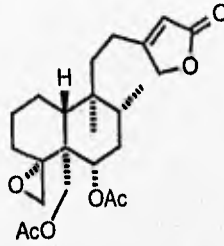
AZADIRACTINA



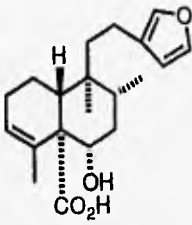
ENT-KAUREN-15-ONA



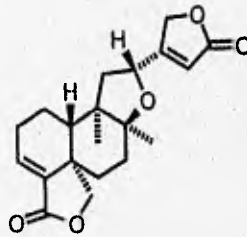
CLERODINA



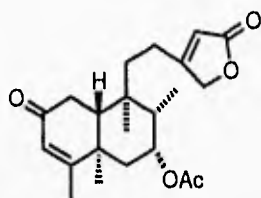
AJUGARINA II



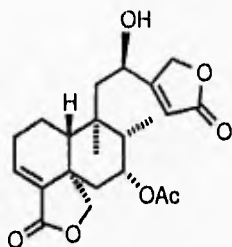
AC. KERLINICO



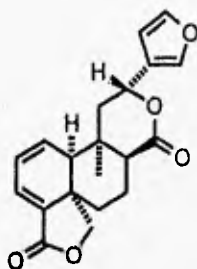
KERLINA



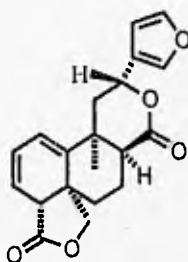
LASIANTINA



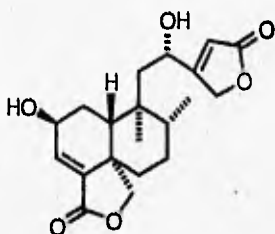
KERLINOLIDA



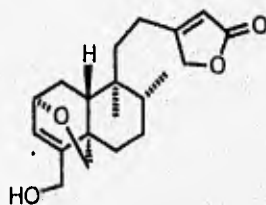
LINEAROLACTONA



1,10-DESHIDROSALVIARINA



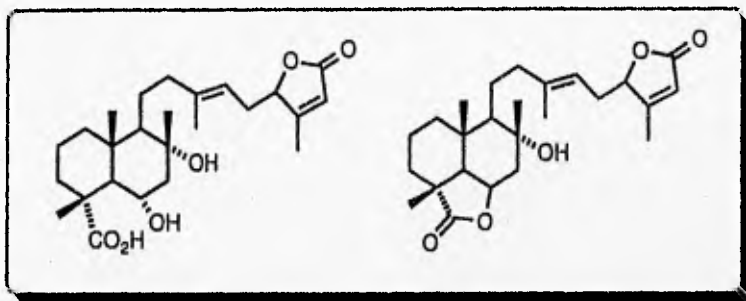
SEMIATRINA



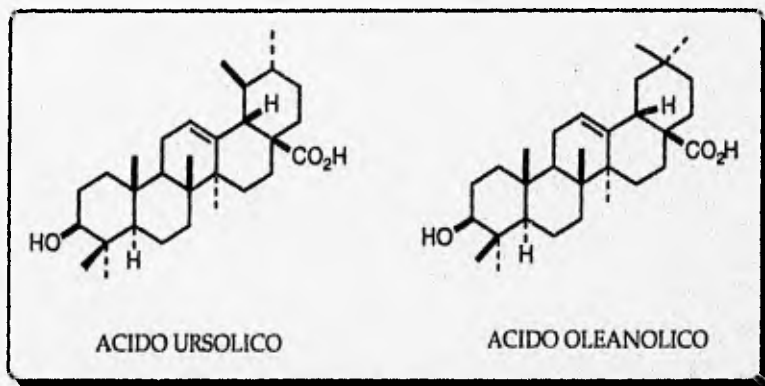
BREVIFLORALACTONA

Lo antes mencionado denota la utilidad e importancia del estudio de los diterpenos clerodánicos y otros esqueletos relacionados en plantas mexicanas del género *Salvia*.

Ejemplos de sesterterpenos aislados de *Salvias* (*S. hypoleuca* Benth) son:

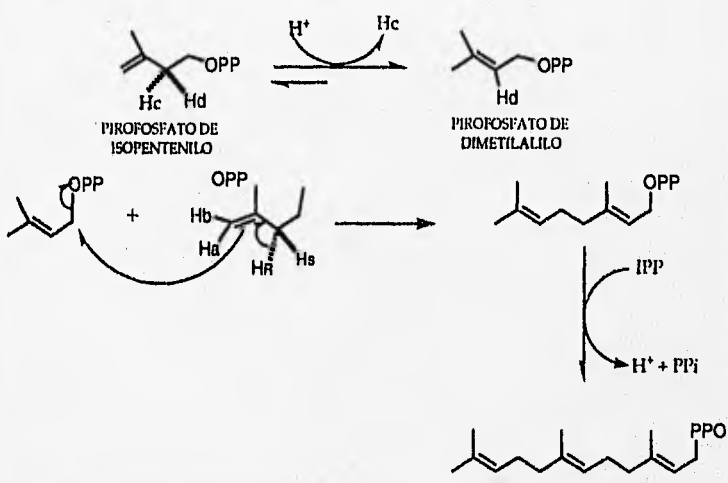
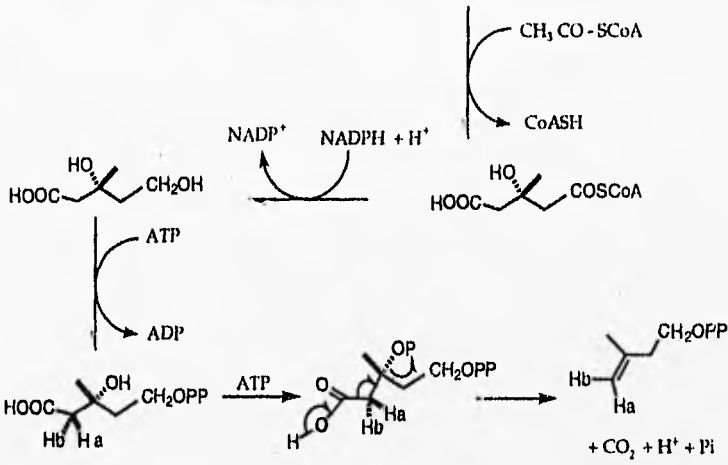


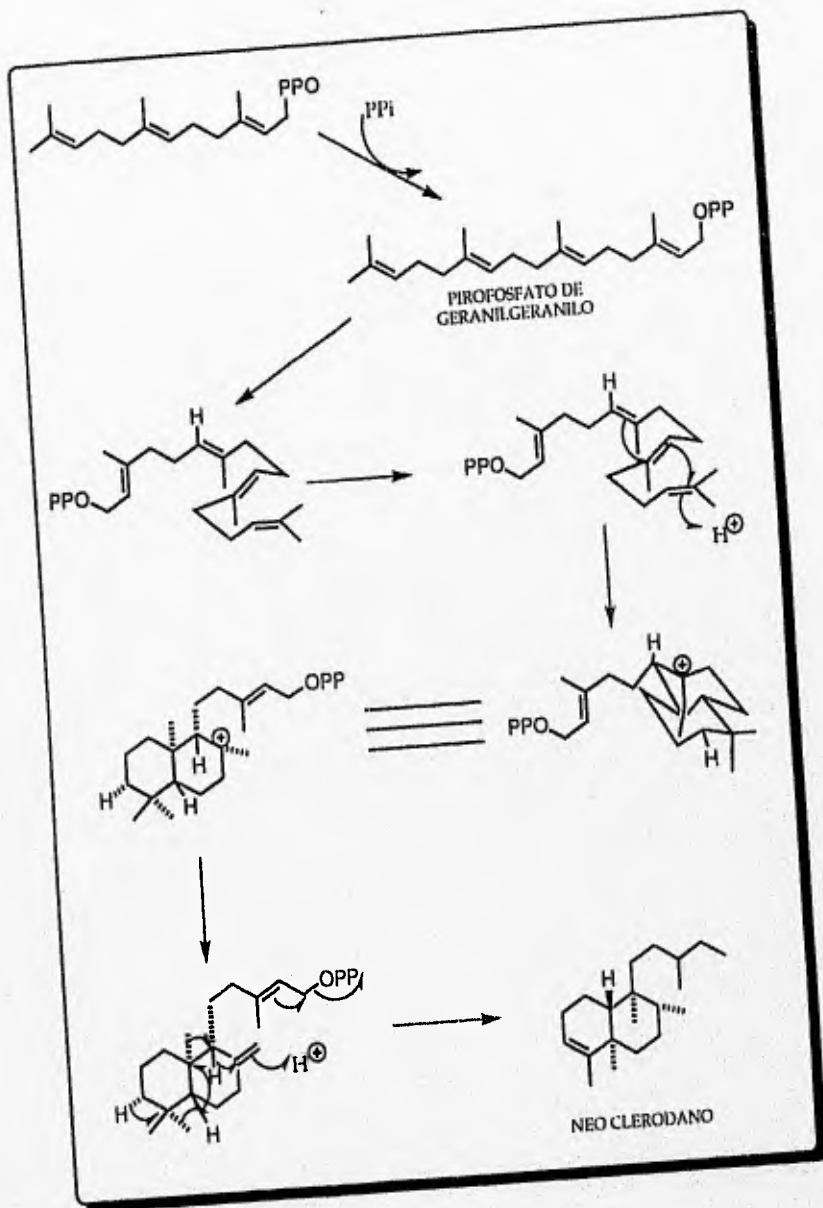
Dentro del grupo de los triterpenos es muy común encontrar la mezcla de ácido oleanólico y ursólico.



A continuación se muestra la biogénesis del esqueleto clerodano:

BIOGENESIS DE CLERODANOS





PARTE EXPERIMENTAL

1) MATERIAL Y APARATOS UTILIZADOS.

Los puntos de fusión de los compuestos aislados, fueron determinados en un aparato Mel-Temp II y no están corregidos.

En las columnas cromatográficas se utilizó como fase estacionaria, gel de sílice G seg Stahl para cromatografía en capa fina (Merck) y Silicagel 60: mallas 70-230 y 230-400 ASTM.

Para Cromatografía en capa fina (CCF) se usaron cromatofolios Alugram Sil G/UV₂₅₄ y se utilizó una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico 0.2N.

Los espectros de UV fueron corridos en el Espectrofotómetro UV-VIS Perkin-Elmer 552.

Los espectros de IR fueron corridos en el Espectrofotómetro Nicolet 55X

Los espectros de R.M.N. de ¹H y ¹³C fueron corridos en los espectrofotómetros Varian Gemini y VXR.

Los espectros de Masas fueron obtenidos en un espectrofotómetro Hewlett-Packard 5985B GC/MS System

II) RECOLECCION DE LA ESPECIE VEGETAL.

Con base a los datos del Herbario Nacional, la población de la planta fue recolectada en la zona de Zochila-Jayacatlán , Oaxaca.

La especie fue identificada por el Dr. T.P. Ramamoorthy quien es especialista en el género.

III) EXTRACCION.

Las partes aéreas secas (1.4 Kg) se maceraron con acetona por un período de 5 días, al término del cual se eliminó el disolvente a presión reducida, quedando 28 g de extracto que se reunieron con 8 g de una segunda extracción con el mismo disolvente repitiendo la operación de eliminación del disolvente a presión reducida ; se obtuvo en total 36 g de extracto .

IV) SEPARACION.

Con el fin de realizar una separación preliminar que nos ayude a separar los metabolitos de acuerdo a su polaridad; al extracto seco (36 g) se le practicó una partición entre dos sistemas de disolventes que fueron : una mezcla de metanol-agua (4:1) y la otra mezcla fue de hexano-benceno (1:1) La parte no-polar se concentró a presión reducida; mientras que en la fracción polar apareció un precipitado que al filtrarlo pesó 3.5 g

La parte soluble polar se concentró y se extrajo ahora con cloruro de metileno; la parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. Se trabajó con el extracto polar de cloruro de metileno; pues es en donde se encuentran generalmente los compuestos de nuestro interés.

Se aplicaron técnicas cromatográficas para la separación y purificación de los metabolitos secundarios mediante diversas técnicas como: cromatografía en capa fina y en columna, ésta última en dos modalidades que fueron al vacío y la llamada relámpago.

Otra técnica para aislar los productos naturales, consistió en el empleo de algunas reacciones que modificaron su polaridad para facilitar su separación y purificación .

Entre los disolventes utilizados en las técnicas mencionadas se encuentran: hexano, acetona, acetato de etilo, benceno, cloroformo y cloruro de metileno; que se usaron solos o en mezclas de ellos.

De éste modo, el extracto de cloruro de metileno ya seco (3.5 g) se sometió a una cromatografía en columna, usando como adsorbente sílica gel 60 para placas, elúida con mezclas de hexano - acetato de etilo y acetona - metanol de polaridad ascendente, usando vacío en el desarrollo de la columna.

Una vez reunidas las fracciones obtenidas, de acuerdo al aspecto de la cromatografía en capa fina tomada para cada una de ellas, se continua con la separación de los metabolitos.

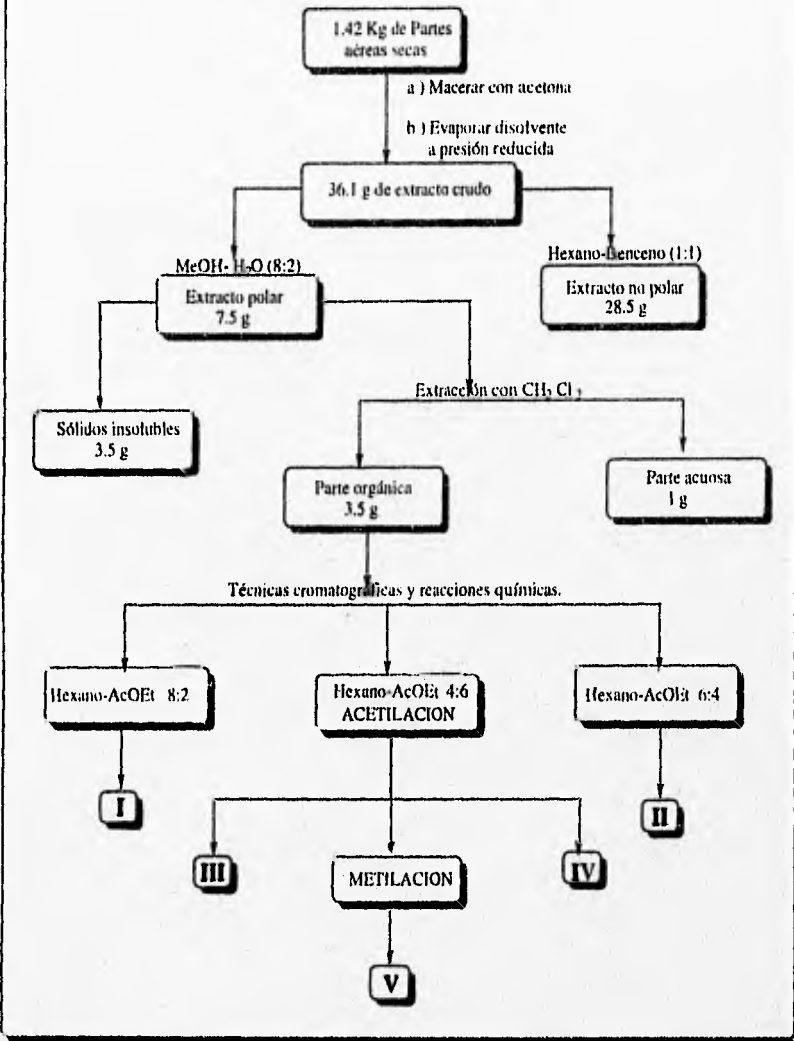
Paralelamente se realizó la prueba para actividad biológica con *A. salina* ensayo que consiste en colocar 10 crustáceos de 48 hrs de crecimiento en un vial (hacerlo por triplicado), que contengan una disolución del extracto o sustancia pura probando 3 concentraciones distintas, en este caso se utilizaron concentraciones de 10 a 1000 ppm para extractos y de 0.5 a 100 ppm para sustancias puras. A las 24 hrs de permanecer los crustáceos con las muestras, se cuenta el número de muertos para cada vial y se calcula la Dosis Letal 50 (DL₅₀).

Los resultados de las pruebas de actividad biológica se muestran a continuación indicando el número de sobrevivientes

EXTRACTOS	1 o 6.4* ppm	10 o 64* ppm	100 o 664* ppm
Ext. polar (CH ₂ Cl ₂)	10 10 10	10 10 10	10 9 9
Ext.polar (acuoso)	10 10 10	8 7 8	2 3 4
Ext.no polar	10 10 10	10 8 9	10 9 8

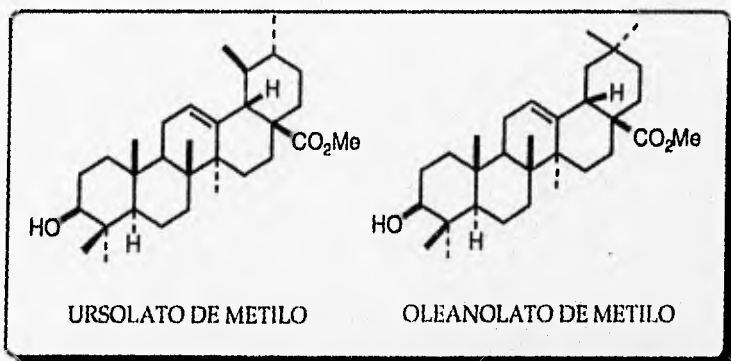
FRACCIONES DEL EXT. POLAR (CH ₂ Cl ₂)	0.5 ppm	5 ppm	50 ppm
1	10 10 10	10 10 10	10 9 9
4 - 5	10 10 10	10 9 10	10 9 3
6	10 10 10	10 10 9	10 9 8
7 - 8	10 10 9	10 8 8	4 2 4
9 - 10	10 10 10	10 10 10	10 8 8
11 - 13	10 10 10	10 10 9	10 9 8
14	10 10 10	10 10 9	10 8 8
15 - 18	10 10 10	10 9 10	10 9 6
21	10 10 10	10 10 10	10 10 8
22 - 24	10 10 10	10 9 9	10 9 9
25 - 26	10 10 10	10 10 10	10 9 8
37 - 38	10 10 10	10 9 10	10 9 9
43 - 44	10 10 10	10 9 10	10 9 8

DIAGRAMA DE TRABAJO



A continuación se describe el trabajo hecho para cada una de las fracciones estudiadas.

De la fracción 1 - 3 (Polaridad: hexano-acetato de etilo 8 : 2) , precipitaron sólidos blancos con un peso de 50 mg mostrando en CCD la presencia de un producto principal, contaminado con otros, su espectro de IR, indicó la presencia de un ácido carboxílico (señal entre $3400-3500\text{ cm}^{-1}$) y un grupo carbonilo (1680 cm^{-1}) por lo que se decidió esterificarlo disolviendo la muestra en éter etílico y agregando una solución etérea de diazometano, esta reacción se siguió por CCD dejando evaporar el éter y los restos de diazometano en la campana al final de la reacción. Se procedió a separar en columna relámpago obteniendo 2 compuestos que presentaron las características espectroscópicas para ésteres metílicos de los ácidos Ursólico y Oleanólico.



De la fracción 7 - 8 se realizó una cromatografía en placa preparativa que se eluyó con hexano - acetona al 15% durante 3 veces y se logró separar un sólido amarillo cuyo peso fue de 3mg (1).

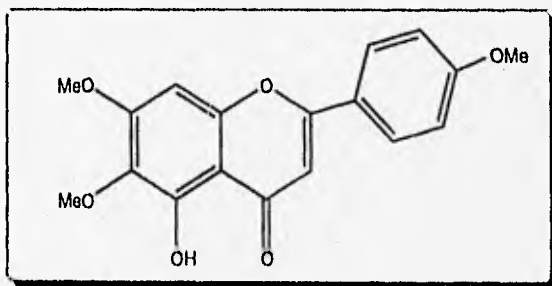
UV (metanol), λ_{max} , nm (log ϵ): 330 (6.03), 277 (5.97), 206 (6.32).

IR (CHCl₃) V_{max} , cm⁻¹ : 3380 (OH), 2854 (OCH₃), 1733 (R - C O - C = C), 1653 (C=O). Espectro I.1

EM m/z (% intensidad relativa) : 328 (pico base, 100) C₁₈ H₁₆ O₆, 313 (85), 285 (25), 282 (20), 181 (15), 153 (25), 133 (20), 111 (15), 97 (25), 83 (25), 57 (40).

RMN ¹H 200 MHz (CDCl₃) : δ 3.90, 3.93 y 3.97 (O CH₃), 6.55 (1H, s, H-3), 6.60 (1H, s, H-8), 7.02 y 7.85 (sistema A₂B₂, J=9Hz, 2',3',5',6'), 12.783 (1H, s, intercambiable con D₂O). Espectro I.2

Con los datos anteriores se concluye que este compuesto tiene la estructura que a continuación se muestra y corresponde a la Salvigenina:



De la fracción 14 precipitó un sólido amarillo con un peso de 30 mg. (II), con p.f. 160 - 163 °C.

UV (metanol), $\lambda_{\text{máx}}$, nm (log ϵ): 340 (6.93), 274 (6.76), 244 (6.75), 214 (7.06).

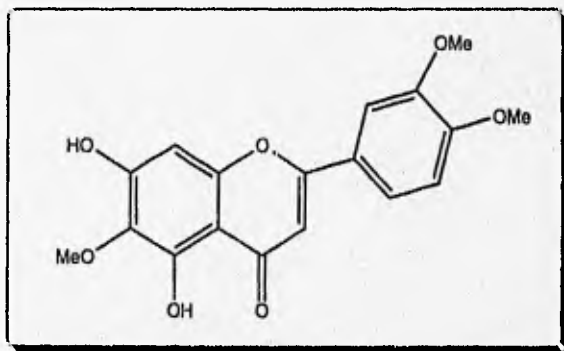
IR (CHCl₃) $\nu_{\text{máx}}$, cm⁻¹: 3541 (OH), 3018.5 (C-H de doble enlace o aromático), 2876.2 (CH₃-O-), 1656.4 (C=O conjugado). Espectro II.1

EM m/z (% intensidad relativa): 344 (pico base, 100), 329 (80), 315 (20), 301(17), 298 (17), 181 (10), 165 (5), 153 (15), 149 (10), 129 (5), C₁₈H₁₆O₇.

RMN ¹H 200 MHz (CDCl₃): δ 3.929, 3.974 y 3.99 (OCH₃), 6.552 (1H, s, H-3), 6.587 (1H, s, H-8), 6.96 (1H, d, J=8.6 Hz, H-5'), 7.48 (1H, d, J=2.02 Hz, H-2'), 7.44 (1H, dd, J=8.36 Hz y 2.25 Hz, H-6'), 5.736 y 12.76 (1H, s, intercambiable con D₂O). Espectro II.2

RMN ¹³C 50 MHz (CDCl₃): δ 163.8 (s, C-2), 104.5 (d, C-3), 182.9 (s, C-4), 153.2 (s, C-5), 124.5 (s, C-6), 153.0 (s, C-7), 90.6 (d, C-8), 158.8 (s, C-9), 106.2 (s, C-10), 132.6 (s, C-1'), 110.7 (d, C-2'), 149.6 (s, C-3'), 146 (s, C-4'), 112.3 (d, C-5'), 119.1 (d, C-6'), 60.8 (c, 6-OCH₃), 56.3 y 56.1 (c, 3' y 4'-OCH₃). Espectro II.3

Con la información espectroscópica se deduce que este compuesto es la Eupatilina cuya estructura se muestra a continuación:



Los constituyentes de las fracciones 22-24 en CCD no tenían una buena separación, por lo que se mandó a IR y al observar la señal característica de grupo -OH, se decidió acetilar con anhídrido acético en presencia de piridina y dejar a temperatura ambiente, siguiendo el curso de la reacción mediante cromatografía de capa fina. Se eliminaron los restos de los reactivos mediante alto vacío; posteriormente se realizó una extracción con acetato de etilo y agua saturada de cloruro de sodio, la parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente.

Se procedió a separar la fracción con una columna relámpago que tenía sílica gel 230 - 400 como fase estacionaria y como fase móvil hexano - acetona (9.5 : 0.5). Al realizar CCD de las fracciones obtenidas se reunieron algunas y se procedió a separar en placa preparativa eluída con CH_2Cl_2 - acetona (95-5); obteniéndose 3 mg de un sólido amarillo (III).

UV (metanol), $\lambda_{\text{máx}}$, nm (log ϵ): 298 (6.85), 258 (6.81), 206 (7.12).

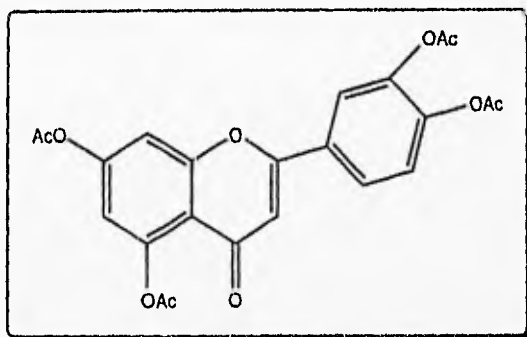
IR (CHCl_3) $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} : 3514 (-OH), 1775 (-O-C O-CH₃), 1728 (C=O conjugado), 1648 (C=C), 1230 (-O-C-O-CH₃). Espectro III.1

EM m/z (% intensidad relativa): 454 (pico base, 40) $\text{C}_{23} \text{H}_{18} \text{O}_{10}$, 370 (25), 328 (55), 327 (5), 286 (100), 285 (10), 257 (20), 229 (15), 213 (4), 173 (5), 153 (10), 129 (8), 97 (12), 83 (15), 55 (30), 43 (95).

RMN ¹H 200 MHz (CDCl_3): δ 2.33 (3H, CO CH_3), 2.35 (6H, CO CH_3) y 2.44 (3H, CO CH_3). 6.61 (1H, s, H-3), 7.36 (1H, d, J= 2.4 Hz, H- 6), 6.85 (1H, d, J= 2.4 Hz, H- 8), 7.71 (1H, d, J=2.4 Hz, H-2'), 7.37 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5'), 7.74 (1H, dd, J=8.4 Hz y 2.4 Hz, H-6'). Espectro III.2

RMN ¹³C 125 MHz (CDCl_3): δ 160.8 (s, C-2), 109 (d, C-3), 176.2 (s, C-4), 152.1 (s, C-5), 113.8 (d, C-6), 157.6 (s, C-7), 121.6 (d, C-8), 160.8 (s, C-9), 117.3 (s, C-10), 129.7 (s, C-1'), 121.6 (d, C-2'), 142.7 (s, C-3'), 144.8 (s, C-4'), 124.3 (d, C-5'), 124.5 (d, C-6'), 20.6, 20.64, 21.0 y 21.16 (c, 5, 7, 3', 4' - CO CH_3), 167.7, 167.9 (2) y 170.0 (c, 5, 7, 3', 4' - CO CH_3). Espectro III.3

Los datos anteriores corresponden al derivado tetraacetatilado de luteolina cuya estructura se muestra en la figura siguiente:



En las fracciones 25-32 en placa de capa delgada no se observaba una buena separación de la muestra; por lo que se mandó a IR en cuyo espectro se observó la señal característica de grupos -OH y se decidió acetilar con anhídrido acético en presencia de piridina (ambos reactivos recién destilados) y dejar a temperatura ambiente; siguiendo el curso de la reacción mediante cromatografía de capa fina. Se eliminaron los restos de los reactivos mediante alto vacío; posteriormente se realizó una extracción con acetato de etilo y agua saturada de cloruro de sodio, la parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente.

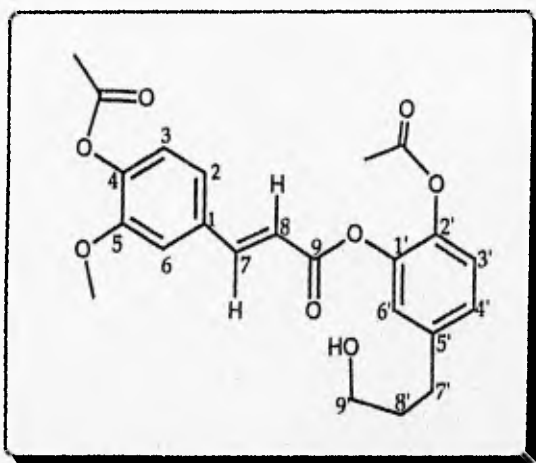
Posteriormente se procedió a separar la fracción con una columna relámpago que tenía sílica gel 230 - 400 como fase estacionaria y como fase móvil hexano - acetona en proporción 85 - 15. De una de las fracciones obtenidas se logró separar un producto que se purificó con una cromatografía en placa preparativa eluida con CH_2Cl_2 - acetona (95-5) obteniéndose 4 mg de un precipitado. (IV).

IR (CHCl_3) V_{max} , cm^{-1} : 3444 (-OH), 3014 (C - H insaturado), 2856 (O-CH₃), 1759 (O - CO - CH₃ aromático), 1668 (C=O conjugado o CH = CH). Espectro IV.1

EM m/z (% intensidad relativa): 425 ($\text{M}^+ - 31$), 397 (15), 55 (60), 235 (10), 219 (20), 192 (95), 177 (100), 145 (25), 134 (5), 120 (45), 107 (15), 43 (15). Espectro IV.2

RMN ^1H 200 MHz (CDCl_3): δ 2.3 y 2.32 (CO CH_3), 3.85 (CH_3), 7.1 (1H, m, H-2), 7.05 (1H, m, H-3), 7.21 (1H, m, H-6), 7.58 (1H, d, $J= 15.4$ Hz, H-7), 6.27 (1H, d, $J= 15.4$ Hz, H- 8), 7.04 (1H, m, H- 3'), 7.1 (1H, m, 4'), 7.2 (1H, m, H-6'), 2.89 (2H, t, $J=6.8$ Hz, H-7'), 2.1 (2H, m, H-8'), 3.66 (H, c, $J=6.4$ Hz, H-9'). Espectro IV. 3

Los datos anteriores corresponden a la estructura que se muestra a continuación:



De la columna antes mencionada pero de otras fracciones precipitó un sólido blanco impuro, en el cual estaba presente el grupo de ácido carboxílico cuya señal se veía en el espectro de IR , por lo que se decidió esterificarlo disolviéndolo en éter etílico y agregando una solución etérea de diazometano, esta reacción se siguió por CCF dejando evaporar el éter y los restos de diazometano en la campana al final de la reacción.

Se procedió a separar en columna relámpago eluída con CHCl_3 - hexano - acetona (1 : 1 : 0.5 %) obteniendo un precipitado de 3 mg aprox. (V).

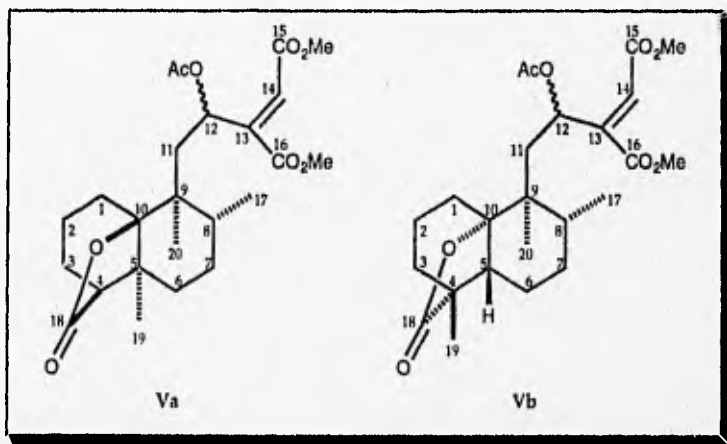
IR (CHCl_3) $\nu_{\text{máx}}$, cm^{-1} : 1779.65 (lactona de 5 miembros), 1737 ($\text{C}=\text{O}$ de acetato), 1696 ($\text{C}=\text{O}$ de éster metílico), 1237 ($\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$). Espectro V.1

EM m/z (% intensidad relativa) : 448 (5), 430 (5), 388 (30), 369 (20), 346 (pico base, 100), 328 (45), 310 (10), 284 (20), 256 (35), 236 (27), 219 (25), 213 (15), 173 (27), 149 (25), 129 (32), 105 (37), 83 (35), 57 (55), 43 (62). $C_{24}H_{34}O_8$ requiere de m/z = 450 (no observada). Espectro V.2

RMN 1H 200 MHz ($CDCl_3$) : 6.41 (d, 1H, J = 4.2 Hz, H=14), 5.36 (m, 1H, H=12), 3.71 y 3.65 (s, 3H c/u, Me 15 y 16), 2.05 (s, 3H, CH_3COO), 1.24 y 0.76 (s, 3H c/u, Me 19 y 20), 0.83 (d, 3H, J = 7 Hz, Me-17). Espectro V.3

RMN ^{13}C 125 MHz ($CDCl_3$) : Va: 32.74 (t, C-1), 24.62 (t, C-2), 29.69 (t, C-3), 42.03 (d, C-4), 38.03 (s, C-5), 26.99 (t, C-6), 27.57 (t, C-7), 36.09 (d, C-8), 38.03 (s, C-9), 77.18 (s, C-10), 35.23 (t, C-11), 66.94 (d, C-12), 147.28 (s, C-13), 130.08 (d, C-14), 174.62 (s, C-15), 174.62 (s, C-16), 15.7 (c, C-17) 170.31 (s, C-18), 18.9 (c, C-19), 17.82 (c, C-20), 51.56 (c, $COOCH_3 \times 2$). 21.08 (c, $OCOCH_3$), 167.33 (s, $OCOCH_3$). Vb: 38.03 (s, C-4), 42.03 (d, C-5). Espectro V.5

Con los datos anteriores se proponen 2 estructuras que se muestran en la figura siguiente:



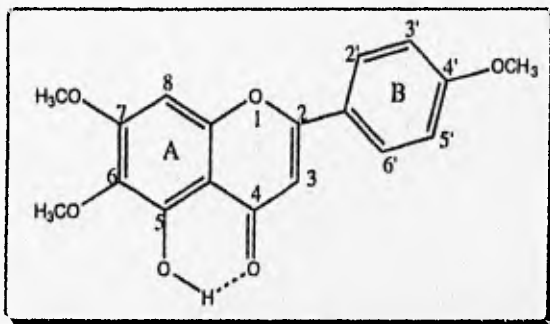
PARTE TEORICA

La *Salvia adenophora* Fern está clasificada en la sección Nobiles del subgénero Calosphace.

Del extracto acetónico de las partes aéreas se lograron aislar los siguientes metabolitos secundarios:

De las fracciones 1 - 3 precipitó un sólido amorfo cuyo espectro de IR mostraba señales características para grupo carboxílico en 3500 cm^{-1} y carbonilo en 1680 cm^{-1} , se compara en placa con referencias de triterpenos y por sus características espectroscópicas se concluye que se trataba de una mezcla de ácidos Ursólico y Oleanólico.

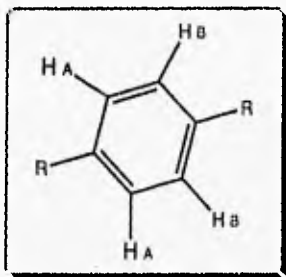
Para el compuesto I, con base en los datos de distintas técnicas espectroscópicas como: IR, RMN ^1H y ^{13}C y EM se propone la siguiente estructura:



Este compuesto está reportado en la literatura como Salvigenina y se aisló previamente de *Salvia aethiopsis*, *S. officinalis*, *S. palaestina*, *S. triloba*, *S. verbenaca*, y *S. virginata*.

En el espectro de IR (I.1) se observa una señal en 3383 cm^{-1} que indica la presencia del grupo hidroxilo, en 2854 cm^{-1} hay una señal que se atribuye a la

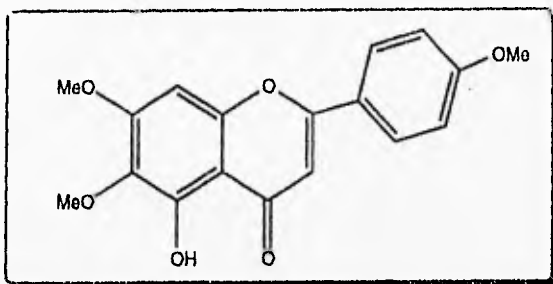
En el espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (Espectro I.2) de esta sustancia, se observan dos multipletes en 7.02 y 7.85 ppm, que integran para dos protones cada uno, con una constante de 9 Hz, que se asignan a un sistema A_2B_2 de un anillo aromático, como se muestra en la figura siguiente:



Asimismo se observa en el espectro I.2, un singulete en 12.8 ppm, que integra para un protón y que intercambia con agua deuterada. Como ya se mencionó en el espectro de IR se observaba la presencia del grupo $-\text{OH}$, por lo que se asigna esta señal a un grupo hidroxilo y por su desplazamiento se deduce que está formando un puente de hidrógeno intramolecular, este fenómeno se puede explicar si el oxhidrilo se localiza en la posición 5, de tal forma que el puente de hidrógeno se establece con el carbonilo de la posición 4. Este patrón de oxidación se ha encontrado frecuentemente en flavonas aisladas de plantas de la familia de las Labiadas.

Además se observan 3 singuletes en 3.90, 3.93 y 3.97 ppm, que integran para tres protones cada uno, y por su desplazamiento se asignan a tres grupos metoxilos. También se observan 2 singuletes en 6.55 y 6.60 ppm cada uno integra para un protón.

Con los datos anteriores y los del espectro de masas, se propone que el sustituyente del anillo aromático del diagrama anterior sería un grupo metoxilo y para el otro anillo aromático tenemos 3 sustituyentes y un protón, uno de los sustituyentes es el grupo hidroxilo en la posición 5 teniendo la estructura parcial siguiente:



Los sustituyentes del anillo A son los 2 grupos metoxilos restantes, y los singuletes que integran para un protón puede asignarse uno de ellos al doble enlace conjugado a la cetona en 6.55 ppm y el otro en 6.6 ppm al anillo aromático que tiene un grupo en posición orto que lo protege y lo desplaza a campo alto como puede ser un grupo metoxilo. Con estos datos se justifica la estructura propuesta al inicio.

La tabla muestra los desplazamientos químicos de los protones de esta estructura:

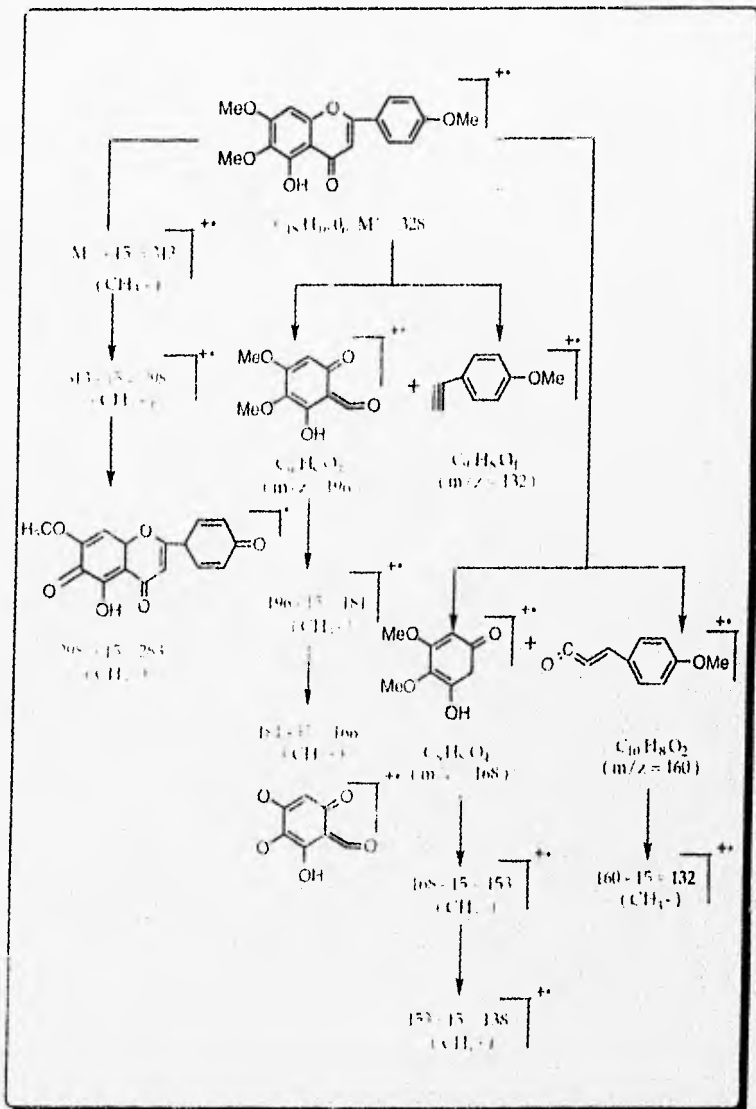
TABLA DE RMN ^1H DEL COMPUESTO I.

H	δ (ppm)	m^+ (J= Hz)
3	6.55	s
8	6.60	s
2'	7.85	A_2B_2 J= 9 Hz
3'	7.02	A_2B_2 J= 9 Hz
5'	7.02	A_2B_2 J= 9 Hz
6'	7.85	A_2B_2 J= 9 Hz
5 OH	12.8	s*
6, 7, 4' OCH ₃	3.90	s
	3.93	s
	3.97	s

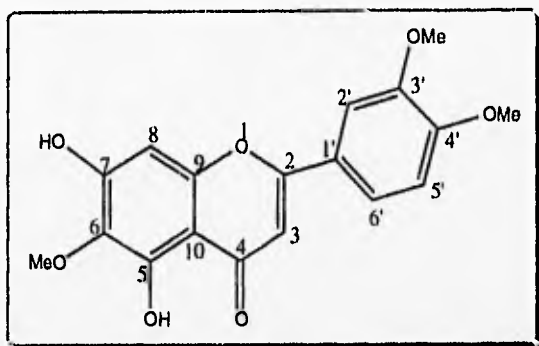
m^+ multiplicidad: s =singulete, * intercambiable con D₂O

CDCl₃, TMS, 200 MHz

En el espectro de masas se observa el ión molecular (M^+) a una relación masa-carga de 328 (100%) la cual corresponde a una fórmula molecular $C_{18}H_{16}O_6$.



Para el compuesto II , con base en los datos de distintas técnicas espectroscópicas como: IR, RMN ^1H y ^{13}C y EM se propone la siguiente estructura:



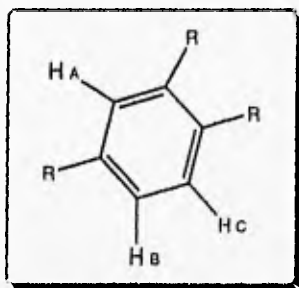
La cual corresponde a Eupatilina, aislada previamente de *Eupatorium sp.*, *Salvia palaestina* y *Salvia tomentosa* .

El espectro de masas presenta un ión molecular (M^+) que coincide con el pico base en 344 m/z y corresponde a una fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$.

En el espectro de IR (II.1) se observa una señal en 3541 cm^{-1} que indica la presencia del grupo hidroxilo, en 3018 cm^{-1} existe una señal debida a C-H de tipo aromático, en 1611 cm^{-1} hay una señal debida al grupo carbonilo de cetona conjugada.

El espectro de RMN ^1H (II.2) presenta un doble de dobles centrado en 7.44 ppm, que integra para un protón, presentando dos constantes de acoplamiento de 8.48 y 2.13 Hz, que se asigna a un protón aromático que está acoplado a un protón en posición orto y otro en meta.

También se observan 2 señales centradas en 7.48 y 6.96 ppm, cada una integra para un protón, cuyas constantes son: 2.13 y 8.48 Hz respectivamente, al relacionar éstas señales con las anteriores se puede plantear la siguiente estructura parcial:

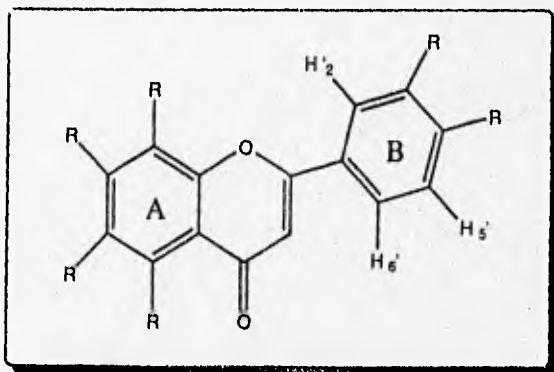


Se observan, asimismo 2 singuletes en 5.73 y 12.76 ppm, que integran para un protón cada uno, ambas señales intercambian con agua deuterada. Como ya se mencionó en su espectro de IR se observaba la presencia del grupo -OH, por lo que se asignan estas señales a 2 grupos hidroxilo.

Además se observan 3 singuletes, en 3.99, 3.97 y 3.92 ppm, que integran para tres protones cada uno, y por su desplazamiento se asignan a tres grupos metoxilos.

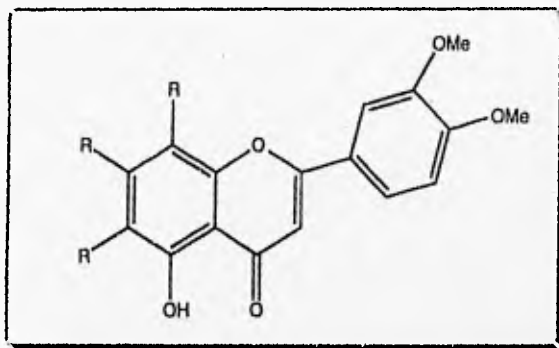
También se observan 2 singuletes en 6.55 y 6.59 ppm cada uno integra para un protón.

Con lo anterior 2 sustituyentes estarían en el anillo aromático del diagrama anterior y para el otro anillo aromático tenemos 3 sustituyentes y un protón, teniendo la estructura parcial siguiente:



Con los datos del espectro de masas puedo proponer que los sustituyentes del anillo B son 2 metoxilos y en el anillo A son 1 metoxilo y 2 hidroxilo, por las fragmentaciones características de flavonas.²⁵

De los datos de grupos hidroxilo, tenemos a uno de ellos a campo bajo por estar quelatado con un grupo carbonilo, como el de cetona conjugada (presente en el espectro de IR, II.1), de modo que estaría en la posición 5', teniendo la estructura que sigue:



De los singuletes que integran para un protón puede asignarse uno de ellos al doble enlace conjugado a la cetona en 6.55 ppm y el otro en 6.59 ppm al anillo aromático que tiene un grupo en posición orto que lo protege y lo desplaza a campo alto como puede ser un grupo -OH. Con estos datos obtengo la estructura propuesta al inicio.

La tabla muestra los desplazamientos químicos de los protones de esta estructura:

TABLA DE RMN ¹H DEL COMPUESTO II .

H	δ (ppm)	m ⁺ (J= Hz)
3	6.55	s
8	6.59	s
2'	7.48	d (2.13)
5'	6.96	d (8.48)
6'	7.44	dd (8.48 y 2.13)
6,3',4' O CH ₃	3.99	s
	3.97	s
	3.92	s
5 OH	5.73	s*
7 OH	12.76	s*

m⁺ multiplicidad: s =singulete, d = doblete

* intercambiable con D₂O

CDCl₃, TMS, 200 MHz

El espectro de RMN ¹³C (II.3), permite corroborar la estructura, se observan 18 señales, 10 singuletes, 5 dobletes y 3 cuartetos.

Una de las señales se presenta en la zona de carbonos de carbonilos, cuyo desplazamiento corresponde al de una cetona conjugada en 182.9 ppm que se asigna a C-4.

La señal de 163.8 ppm, es un singulete que corresponde a C-2 que está unido al oxígeno de la posición 1.

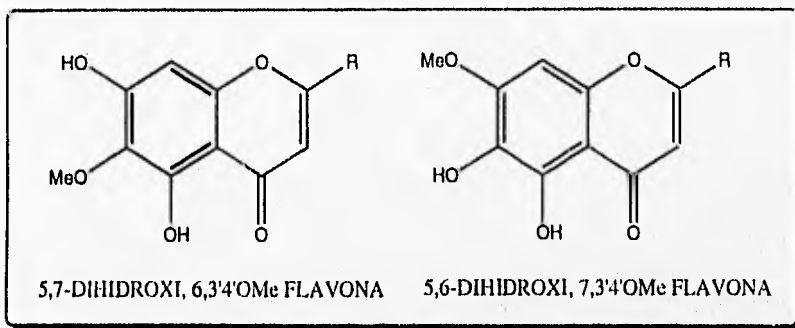
En 104.5 ppm se ve un doblete que corresponde a C-3 que tiene unido un protón y está en posición α al grupo carbonilo y forma parte de una doble ligadura.

En 153.2 y 153 ppm se ven dos singuletes que corresponden a C-5 y C-7, que están desplazados a campo bajo por estar unidos a grupos hidroxilo.

En 124.5 ppm se ve un singulete que corresponde a C-6 el cual está unido a un grupo metoxilo.

En 90.6 ppm se ve un doblete que corresponde a C-8 que tiene unido un protón y se encuentra desplazado hacia campo alto por el efecto del grupo -OH en posición orto.

Aquí cabe mencionar que esta señal es importante para distinguir entre 2 isómeros posibles:



Si C-8 tuviera en posición orto a un grupo metoxilo, su desplazamiento no sería hacia campo alto como el que tiene con el -OH.

Asimismo, el carbono de un grupo metilo se esperaría en aproximadamente 56-57 ppm pero en este caso se desplaza hacia campo bajo por estar entre los dos grupos hidroxilos y se observa la señal en 60.8 ppm.^{27,28}

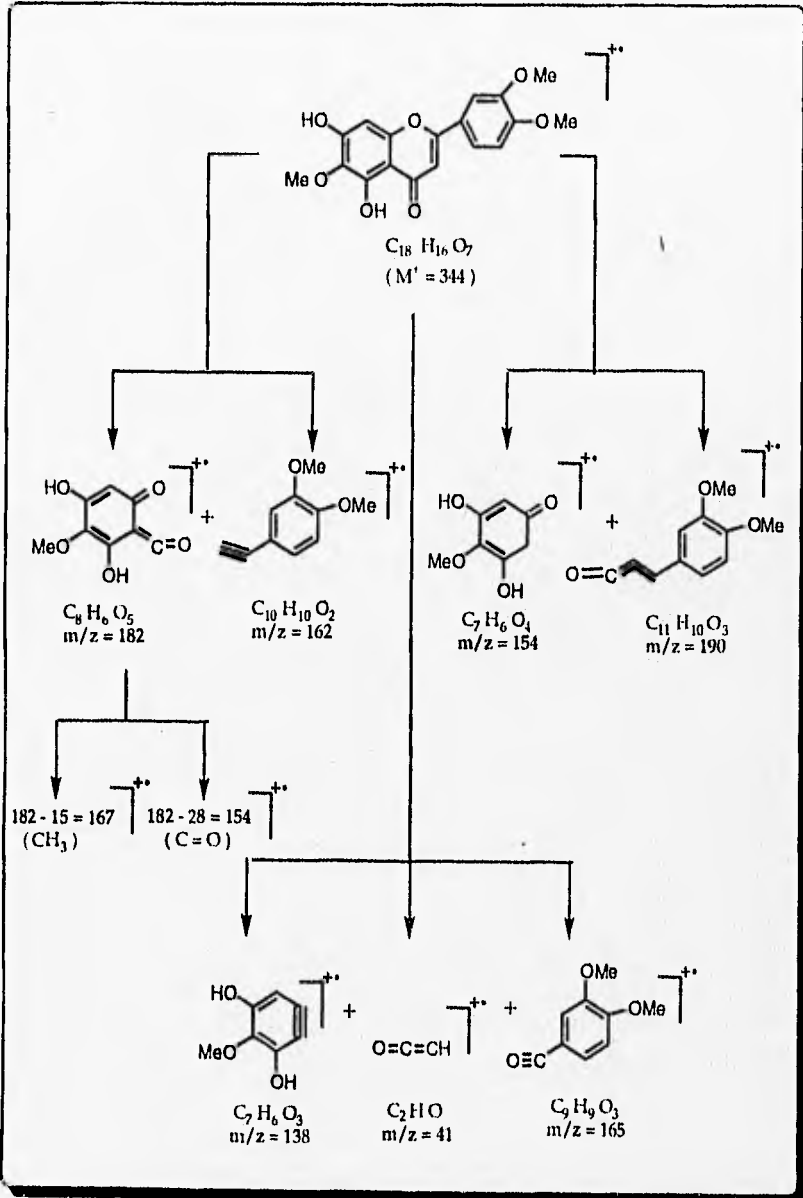
En la tabla se muestran los desplazamientos químicos de los átomos de carbono de esta estructura.

TABLA DE RMN ¹³ C DEL COMPUESTO II

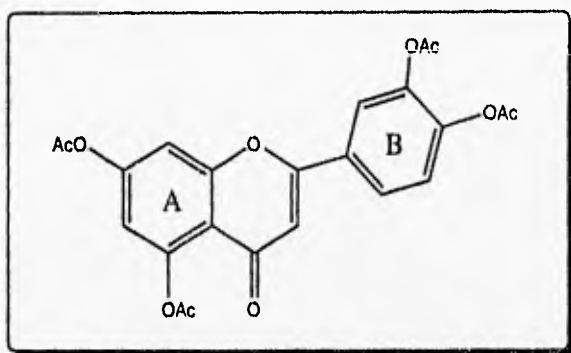
C	d (ppm)	m ⁺
2	163.8	s
3	104.5	d
4	182.9	s
5	153.2	s
6	124.5	s
7	153.0	s
8	90.6	d
9	158.8	s
10	106.2	s
1'	132.6	s
2'	110.7	d
3'	149.6	s
4'	146.0	s
5'	112.3	d
6'	119.1	d
6 OCH ₃	60.8	c
3', 4' OCH ₃	56.3	c
	56.1	c

m⁺ multiplicidad: s =singulete, d = doblete, c = cuarteto
 CDCl₃, TMS, 50 MHz

En su espectro de masas el ión molecular (M⁺ 344 m/z) corresponde a una fórmula molecular C₁₈ H₁₆ O₇ , su estructura es de tipo flavona cuyo ión molecular es frecuente que coincida con el pico base, que para ésta estructura se cumple y se observan las fragmentaciones principales ²⁵ en su espectro.



Para el compuesto III (separado de placa preparativa con CHCl_3 y acetona, 3 mg), con los datos espectroscópicos se propone la estructura siguiente:



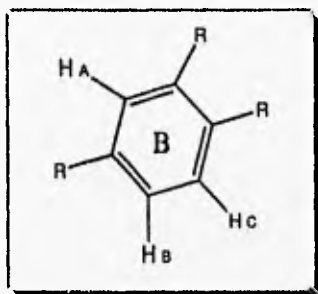
En la literatura se reporta el compuesto sin acetilar como Luteolina aislado de *Salvia deserta*, *S. officinalis*, *S. palaestina*, *S. verbenaca* y *S. nemorosa*.

Su espectro de masas presenta una señal de 412 que corresponde al ión molecular menos 42 unidades ($M^+ - 42$), obteniéndose un peso de 454 con una fórmula molecular $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_{10}$.

En su espectro de IR (III.1)se observan dos señales intensas entre 3000 y 3100 cm^{-1} que se debe a C-H de tipo aromático, en 1700 cm^{-1} hay una señal debida al grupo carbonilo de cetona conjugada, 1728 cm^{-1} aparece una señal de grupo éster y en 1240 cm^{-1} una banda debida al enlace -CO O de tipo acetato.

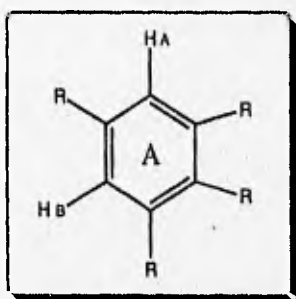
El espectro de RMN ^1H (III.2)presenta un doblete de dobles centrado en 7.74 ppm, que integra para un protón, presentando dos constantes de acoplamiento de 8.4 y 2.4 Hz, que se asigna a un protón aromático que está acoplado a un protón en posición orto y otro protón en meta.

También se observan dos dobletes centrados en 7.37 y 7.71 ppm, cada uno integra para un protón, cuyas constantes son: 8.4 y 2.4 Hz respectivamente, al relacionar éstas señales con las anteriores tenemos la siguiente sustitución para el anillo B:



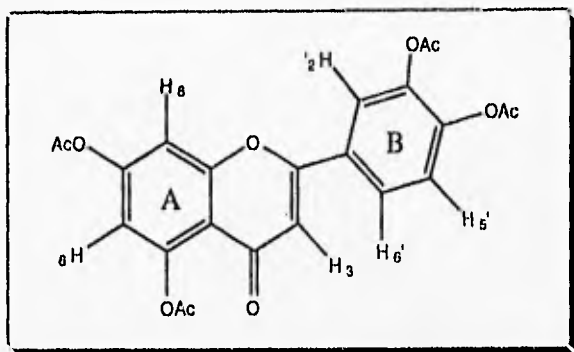
Además se observan 3 singuletes en: 2.33, 2.35 y 2.44 ppm, que integran para tres protones cada uno (excepto el de 2.35 que integra para 6 protones) y por su desplazamiento se asignan a cuatro grupos acetato.

Se observan dos dobletes, centrados en 6.85 y 7.36 ppm que integran para un protón cada uno, ambos tienen una constante de acoplamiento de 2.4 Hz, por el desplazamiento de estas señales se asignan a 2 protones aromáticos que están en posición orto, por lo que se propone la siguiente sustitución para el anillo A:



Se observa un singulete en 6.61 ppm que integra para un protón, se puede asignar al doble enlace conjugado a la cetona.

Al unir las dos estructuras anteriormente propuestas faltaría asignar los sustituyentes de ambos anillos que en total son cuatro y coinciden con los grupos acetatos.



La tabla muestra los desplazamientos químicos de los protones de esta estructura:

TABLA DE RMN ¹H DEL COMPUESTO III.

H	δ (ppm)	m ⁺ (J= Hz)
3	6.61	s
6	7.36	d (2.4)
8	6.85	d (2.4)
2'	7.71	d (2.4)
5'	7.37	d (8.4)
6'	7.74	d (8.4, 2.4)
5,7,3',4' OCH ₃	2.33	s
	2.35 x 2	s
	2.44	s

m⁺ multiplicidad: s = singulete, d = doblete

CDCl₃, TMS, 200 MHz

El espectro de RMN ¹³C (III.3), permite corroborar la estructura, se observan 23 señales, 13 singuletes, 6 dobletes y 4 cuartetos; cuyo desplazamiento es el esperado a excepción de algunas señales que a continuación se describen:

En 152.1 y 157.6 ppm se ven dos singuletes que corresponden a C-5 y C-7, que están desplazados a campo bajo por estar unidos a grupos acetato. En 113.8 ppm se observa un doblete que corresponde a C-6.

En 142.7 y 144.8 ppm se observan dos singuletes correspondientes a C-3' y C-4' que se desplazan a campo bajo por estar unidos a grupos acetatos.

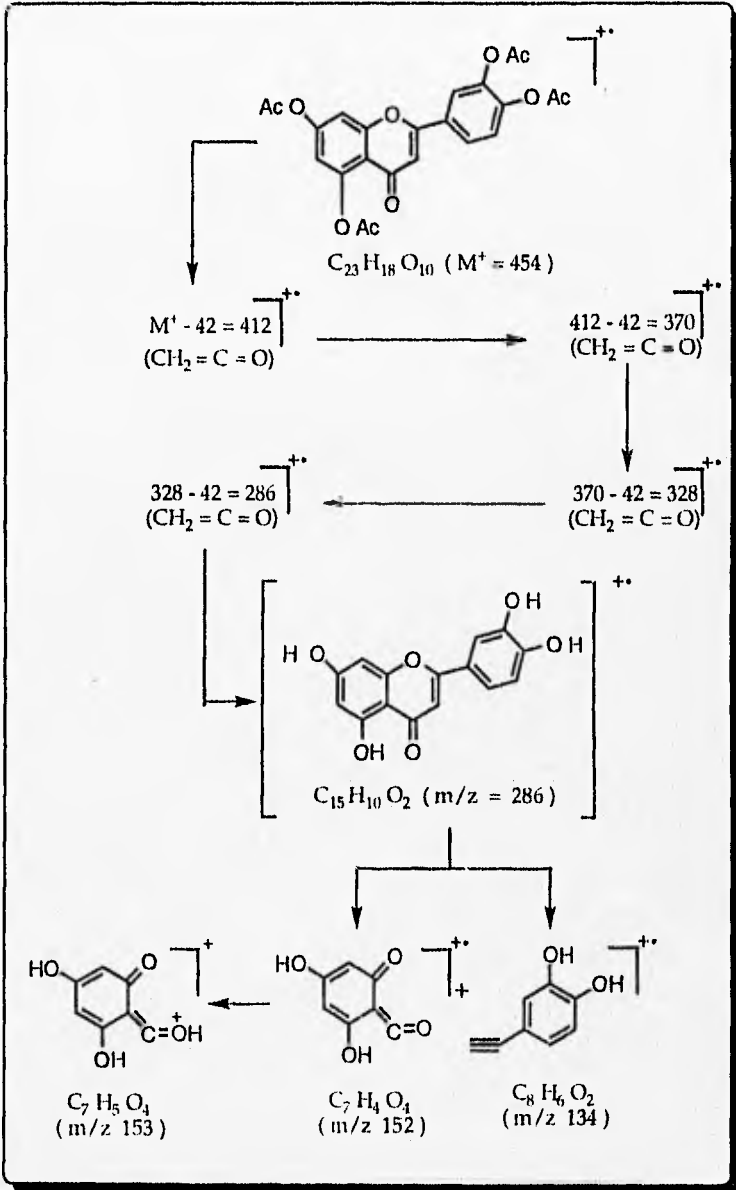
TABLA DE RMN ^{13}C DEL COMPUESTO III.

C	d (ppm)	m ⁺
2	160.8	s
3	109.0	d
4	176.2	s
5	152.1	s
6	113.8	d
7	157.6	s
8	121.6	d
9	160.8	s
10	117.3	s
1'	129.7	s
2'	121.6	d
3'	142.7	s
4'	144.8	s
5'	124.3	d
6'	124.5	d
5,7,3',4' -CO-CH ₃	20.60, 20.64 21.00, 21.16	c
5,7,3',4' -CO-CH ₃	167.7, 167.9 167.9, 170.0	s

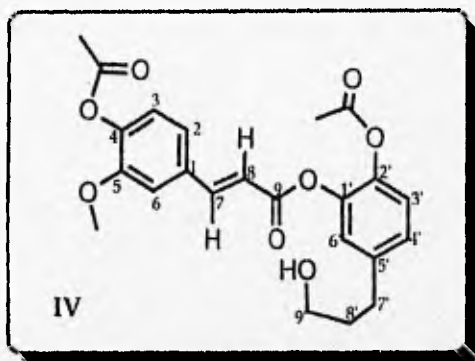
m⁺ multiplicidad: s =singulete, d = doblete, c = cuarteto

CDCl₃, TMS, 50 MHz

En su espectro de masas el ión molecular (M⁺ - 42 = 411 m/z) corresponde a una fórmula molecular C₂₃ H₁₈ O₁₀ , su estructura es de tipo flavona se observan las fragmentaciones principales ²⁵ en su espectro.



El siguiente compuesto denominado como IV fué aislado después de someter a una reacción de acetilación varias fracciones obtenidas de la columna original. Se aisló como un producto aceitoso de color amarillo pálido. Los datos espectrocópicos que a continuación se describen permiten asignar la estructura IV para este producto, la cual corresponde a un dépsido del ácido ferúlico y un producto de reducción del ácido cafeico. Es importante señalar que el espectro de RMN de ^1H de la mezcla de fracciones antes de acetilar, no mostró indicios de la presencia de acetatos, por lo que los que están presentes en el producto IV fueron introducidos durante el proceso de acetilación. Es importante destacar que este tipo de sustancias han sido descritas previamente de especies de *Salvia* originarias de China, sin embargo, es la primera vez que se describe este tipo de metabolito secundario de una *Salvia* americana.

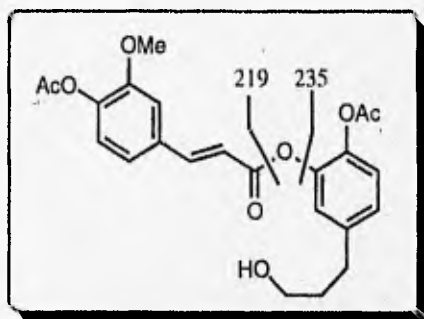


En el espectro de IR (Espectro IV.1) de esta sustancia se pueden observar bandas en 3444 cm^{-1} atribuidas a grupos $-\text{OH}$, en 1759 cm^{-1} para carbonilos de acetato unidos a anillo aromático, en 1668 para carbonilo conjugado y en 1628 y 1601 cm^{-1} para dobles ligaduras conjugadas.

En el espectro de masas de esta sustancia (Espectro IV.2) no se observa el ión molecular ($\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_8$ requiere M^+ a $m/z = 428$), se observa, sin embargo, una señal a una relación m/z de 397 la cual corresponde a M^+ menos la pérdida de 31 unidades de masa. Esta fragmentación es característica de un alcohol primario de tipo alifático, lo que es consistente con la presencia de la banda en 3444 cm^{-1} en el espectro de IR de esta sustancia, lo que conduce a pensar que el producto IV es resultado de una acetilación parcial. Este hecho se ve reforzado ya que en el espectro de RMN ^1H de esta sustancia se observa intercambio con D_2O (Espectro IV.2).

En el espectro de RMN de ^1H de este dépsido (Espectro IV.3,), se observa un sistema AB en 7.58 (1H, d, $J= 15.4$) y 6.27 (1H, d) característico de un derivado del ácido *trans* cinámico, el cual esta presente en otros dépsidos aislados de algunas especies de salvias estudiadas en China¹²⁻¹⁶, ya sea como derivado del ácido caféico o ferúlico. En este espectro se observa asimismo las señales para un grupo metoxilo en 3.85 ppm y dos grupos acetato aromáticos en 2.30 y 2.32 ppm (s, 3H cada uno), lo que permite inferir que en este dépsido tenemos un residuo de ácido ferúlico acetilado. Las señales de los protones aromáticos H-2, H-3 y H-6 se observan entre 7 -7.25 ppm sobrepuestas entre si y a las señales del otro anillo aromático de esta sustancia. Estas señales no forman sistemas de 1er orden por lo que no pudieron ser asignadas sin ambigüedad, sin embargo el desplazamiento químico observado corresponde razonablemente bien con los datos descritos en la literatura para este tipo de sustancias y con los calculos teóricos obtenidos para un sistema de este tipo.

En el espectro de masas de esta sustancia se observan fragmentos a una relación m/z de 219 y 235 que son consistentes con la discusión previa. Estas fragmentaciones se ilustran a continuación.



Asimismo en el espectro de masas se observa una señal a $m/z = 191$, la cual corresponde a la perdida de CO a partir del fragmento de 219 (un pico importante es el de $m/z=192$, el cual puede corresponder al fragmento anterior con la ganancia de un H).

Otra señal importante en el espectro de masas es la observada a $m/z = 177$, que corresponde a la pérdida de 42 unidades de masa ($\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$) a partir de la señal a $m/z = 219$. Por otro lado la pérdida de cetena a partir de 235 origina la señal a $m/z = 193$, que tiene una abundancia relativa muy alta de *c.a.* 75%. Estos hechos son consistentes con la estructura propuesta y apoyan la presencia de un residuo de ácido ferúlico en este dépsido.

En el espectro de RMN de ^1H de esta sustancia (Espectro IV.3, Tabla No. 4) se observa asimismo una señal cuadruple que integra para dos hidrógenos y que al equilibrar la muestra con D_2O se transforma en un triplete. Esta señal se asigna al metileno de la posición 9'. La multiplicidad de esta señal se explica si asumimos que se encuentra vecina a un metileno. En este mismo espectro se observa un triplete que integra para 2 hidrógenos en 2.89 ppm. El desplazamiento químico de esta señal sugiere que sea de naturaleza benclica, mientras que su multiplicidad indica que se encuentra vecino a un metileno, por lo cual se asigna al metileno de la posición 7'. Una señal multiple centrada en 2.1 ppm en el espectro de RMN de ^1H de este producto se puede atribuir a los protones de la posición 8'. Estos datos sumados a la espectrometría de masas indican la presencia de una cadena de n-propilo sustituida en la estructura de este producto. En el espectro de masas de IV, se observa la pérdida de 31 unidades de masa, previamente mencionada, para dar el pico a $m/z = 397$ y a partir de esta señal, la pérdida de cetena (42 unidades de masa) origina la señal a $m/z = 355$, lo que corrobora la presencia de una cadena de n-propilo en esta sustancia. De acuerdo con esto además de un residuo de ácido ferúlico, este dépsido tiene en su estructura un derivado de tipo fenilpropano, el cual puede derivarse del ácido cafeico, por reducción del ácido carboxílico α, β insaturado.

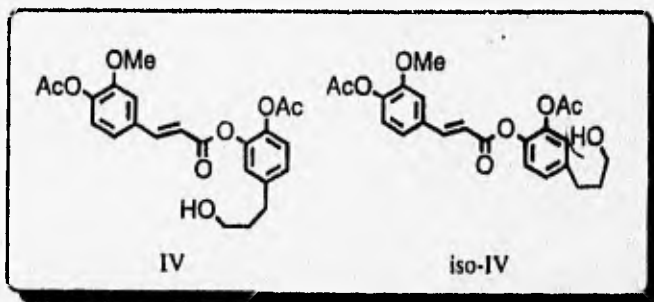
Las señales para los protones 3', 4' y 6' se observan sobrepuestas a las señales para los protones del anillo aromático del ferulato, como se indicó previamente, por lo cual no pudieron asignarse sin ambigüedad, sin embargo, como se ha mencionado previamente, el aspecto de las señales sugiere un patrón de sustitución aromático como el que se propone para esta sustancia.

TABLA DE RMN ¹H DEL COMPUESTO IV

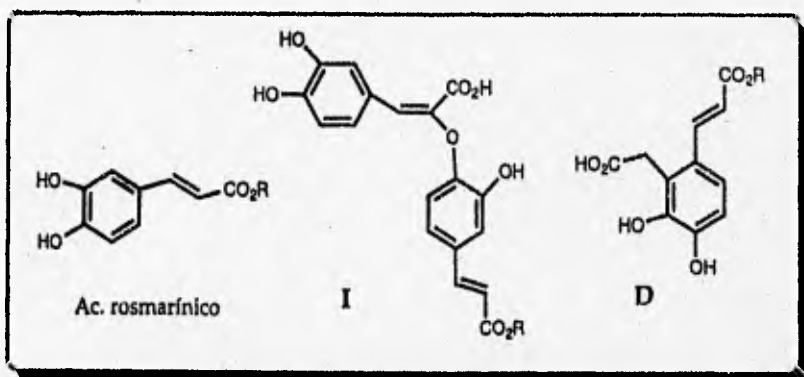
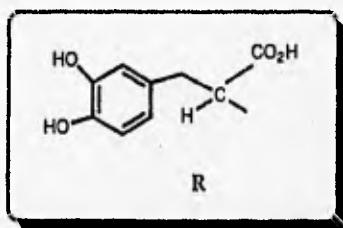
H	δ (ppm)	m ⁺ (J= Hz)
2	7.1	m
3	7.05	m
6	7.21	m
7	7.58	d (15.4)
8	6.27	d (15.4)
3'	7.04	m
4'	7.1	m
6'	7.2	m
7'	2.89	t (2H, 6.8)
8'	2.1	m
9'	3.66	c (2H, 6.4)
2 OCH ₃	3.85	s (3H)
1, 2' COCH ₃	2.30	s (3H)
	2.32	s (3H)

m⁺ multiplicidad: s =singuleto, d = doblete, t = triplete, c = cuadruplete
 CDCl₃, TMS, 200 MHz.

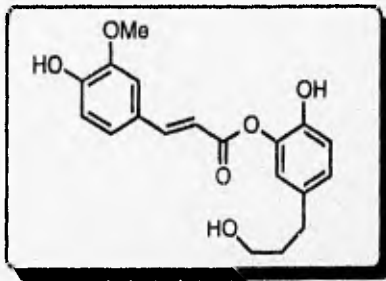
Con base en la discusión anterior, se pueden proponer dos estructuras isómeras para este pépsido, las cuales se muestran a continuación:



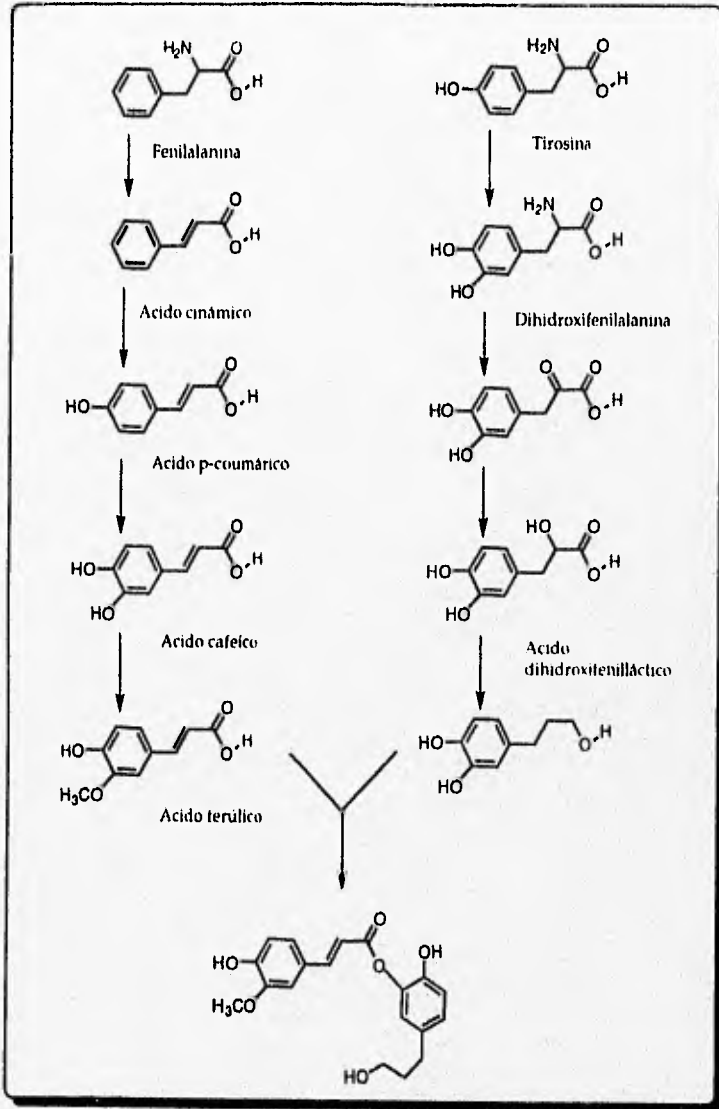
En ambas estructuras se justifica un residuo del ácido ferúlico y el patrón de sustitución aromática de ambos anillos. Los cálculos teóricos del desplazamiento químico para ambos isómeros no permite distinguir el tipo de unión entre el ferulato y el derivado *n*-fenilpropanoide, debido a que no se cuenta con datos de RMN de ^{13}C , se recurrió a argumentos de tipo biogénético para elegir la estructura de IV sobre su isómero. Si observamos la estructura de los dépsidos aislados de salvia del lejano oriente podemos notar que en la mayor parte de los casos el oxhidrilo de tipo fenólico que esterifica al ácido cafeico o ferúlico es el de la posición 1' (siguiendo la numeración para IV), de tal forma que la relación entre el oxhidrilo restante y la cadena de tres miembros guardan una relación para, con base en este argumento se propone la estructura IV. Si bien es claro que este no es un argumento contundente, consideramos válido su uso dada la gran homogeneidad química mostrada por el género *Salvia*.



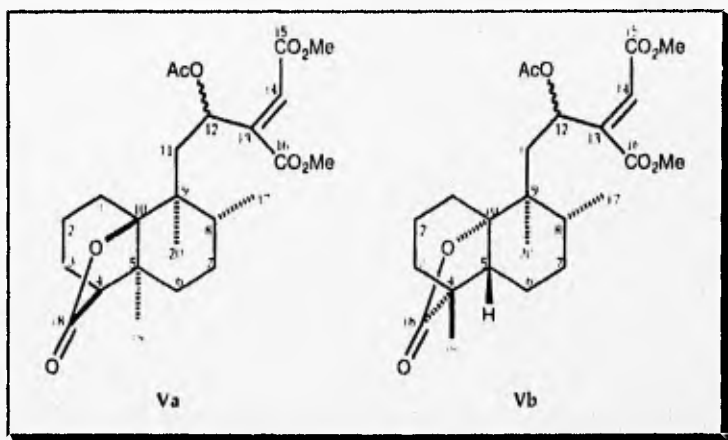
Debido a que esta sustancia fué aislada después de una reacción de acetilación se propone que la estructura del producto natural sea la que a continuación se muestra. Es importante señalar nuevamente que es la primera vez que este tipo de metabolito secundario se aísla de una *Salvia americana* y que la presencia de este producto abre un nuevo panorama en el estudio químico de este género ya que es necesario conocer la distribución de estos dépsidos para establecer su importancia como un nuevo tipo de marcador quimiotaxonómico para estas plantas y evaluar su posible actividad biológica.



La biogénesis propuesta para esta sustancia se ilustra a continuación, tomando como base la propuesta para el ácido rosmarínico ²⁶



El siguiente compuesto fue denominado **V** y fue aislado como un producto sólido amorfo, después de llevar a cabo una reacción de acetilación y una esterificación con diazometano para facilitar la separación (ver parte experimental) obteniéndose el producto con una pureza cercana al 90%. lo que permitió proponer la naturaleza de esta sustancia, aunque debido a la pequeña cantidad aislada (3 mg) no fue posible establecer la estructura inequívocamente. A continuación se discuten los datos espectroscópicos obtenidos así como dos posibles estructuras para esta sustancia. Una de ellas (**Va**) corresponde a un esqueleto de clerodano con un patrón de oxigenación en la cadena lateral no descrito hasta el momento de salvia mexicana, la otra estructura propuesta (**Vb**) corresponde a un esqueleto transpuesto de labdano.



En el espectro de IR (Espectro V.1) se observan bandas en 1779.65 1737 y 1696 cm^{-1} que se atribuyen a carbonilos de γ -lactona, de acetato y de éster α,β insaturado respectivamente y en 1647 cm^{-1} para dobles ligaduras, consistentes con ambas estructuras propuestas

En el espectro de RMN de ^1H de **V** (EspectroV.3) se observa un doblete en 6.41 ppm ($J = 4.2$ Hz) que se asigna por su desplazamiento químico y multiplicidad al protón de la posición 14. En 3.71 y 3.65 se observan dos singuletes que integran para tres protones cada uno y que se atribuyen a los metilos de éster de las posiciones 15 y 16.

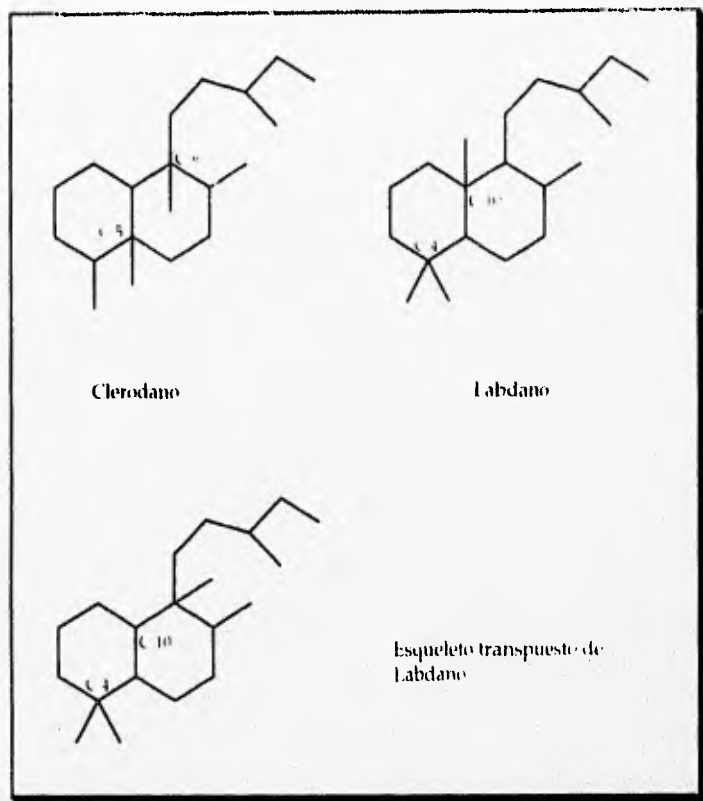
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

El desplazamiento químico de H-14 establece la configuración del doble enlace 13-14 como *E* por comparación con datos de la literatura (la señal para este protón en una configuración *Z* se esperaría a campo más alto (aprox. 5.7 ppm)²⁹. Este protón esta interaccionando con un protón responsable de una señal centrada en 5.36 (Espectro COSY, Espectro V.4) la cual se asigna a H-12, geminal a una función acetato. El metilo de este acetato se observa en el espectro V.3 en 2.05 ppm. La orientación de este grupo no se pudo establecer con base en la constante de acoplamiento con H-14 ($J = 4.2$ Hz). Para una configuración *R* se esperaría una constante de acoplamiento de aproximadamente 7 Hz, por comparación con la literatura ²⁹, sin embargo puesto que la cadena lateral tiene una considerable libertad conformacional, el valor encontrado para *V* no puede atribuirse sin ambigüedad a una configuración *S* por lo que no es posible establecer la configuración de C-12.

En el espectro de RMN de ¹³C de *V* (Espectro V.5) se observan las señales para esta región de la molécula en 66.94 (d, C-12), 21.08 (c, OCOCH₃), 167.33 (s, OCOCH₃), 147.28 (s, C-13), 130.08 (d, C-14), 170.31 (s, C-15), 174.62 (s, C-16) , 51.56 (c, COOCH₃ x 2). La señal para C-11 se observa en el espectro V.5 en 35.23 ppm (t).

En el espectro de RMN de ¹H de *V* (Espectro V.3) se observan las señales para tres metilos adicionales en 1.24 (s), 0.83 (d) y 0.76 (s), los cuales sugieren un esqueleto de tipo labdano o clerodano para esta sustancia. En el espectro de ¹³C de *V* se observan las señales para estos metilos en 15.7, 18.9 y 17.82 ppm, lo cual es consistente con una fusión de anillos A/B trans.

Como se puede concluir del espectro de IR en esta sustancia se encuentra una γ -lactona, sin embargo en el espectro de RMN de ¹H de *V* no se observan más señales que puedan ser atribuidas a protones geminales de una lactona, por lo que el oxígeno no-carbonílico de esta función debe de ser de naturaleza terciaria, tal como se representa en *Va* y *Vb*. En el espectro de ¹³C de *V* se observa un singulete en 77.18 ppm que puede atribuirse a C-10 en ambas posibles estructuras. Este hecho no puede ser explicado facilmente en un esqueleto de labdano normal en el cual la oxidación de cualquiera de los metilos de la posición 4 o de la 10 podrían explicar el origen del carbonilo de esta lactona, sin embargo la formación del anillo de 5 y la ausencia de protón geminal no pueden ser explicadas en este esqueleto por lo que se propone un esqueleto de labdano transpuesto como se muestra a continuación:



En un esqueleto transpuesto de labdano es posible explicar la existencia de una γ -lactona carente de protón geminal tal y como se muestra en **Vb**

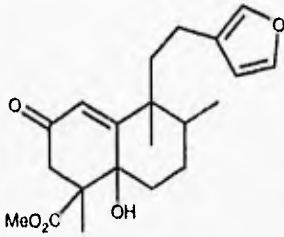
En este mismo espectro se observan dos señales doblete (CH) en 42.03 y 36.09 ppm. La presencia de estas señales puede ser asignada a C-4 y C-8 en la estructura **Va** y a C-5 y C-8 de la estructura **Vb** respectivamente. El desplazamiento para C-4 en **Va** puede explicarse, si asumimos que C-18 debe de ser β y que la presencia del metilo α axial unido a C-5 ejerce un efecto protector sobre C-4. Para el caso de **Vb** el desplazamiento químico de C-5 es comparable al observado para estructuras relacionadas³⁰

Para ambas estructuras propuestas se esperarían observar dos señales singuletes debidas a carbonos sp^3 , que corresponderían en el caso del clerodano a C-5 y C-9, mientras que en el caso del labdano transpuesto a C-4 y C-9. En el espectro de RMN de ^{13}C de V se observa una señal sencilla en 38 ppm. La intensidad de esta señal sugiere que es debida a dos carbonos, los cuales coinciden en su desplazamiento químico. Este hecho es más consistente con la estructura Va, aunque el desplazamiento esperado para C-4 de la estructura Vb, por comparación con estructuras relacionadas, es cercano a 40 ppm, por lo que la coincidencia es en principio factible también para Vb. Para confirmar este punto sería necesario efectuar el espectro de ^{13}C en un disolvente diferente, sin embargo debido a la pequeña cantidad de muestra obtenida, este experimento no fue factible en esta ocasión.

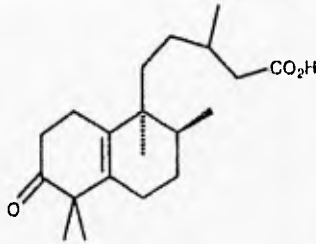
Asimismo se observan, en el espectro de ^{13}C de V, las señales para 5 metilenos más en 32.71, 29.66, 27.54, 26.96 y 24.59 ppm, congruentes con ambas estructuras. En este mismo espectro se pueden observar las señales para los 4 grupos carbonilos propuestos para V (174.62 X 2), 170.31 y 167.33).

En el espectro de masas de V (Espectro V.2) no se observa el ión molecular, pero se observan fragmentos congruentes con los grupos funcionales propuestos.

Debido a la pequeña cantidad de muestra obtenida y a que no fue posible obtenerla con una pureza del 100%, no fue posible establecer la estructura de V en forma inequívoca, sin embargo la naturaleza diterpénica de esta sustancia parece muy probable con base en los datos espectroscópicos. El patrón de oxigenación de este diterpeno difiere un poco al encontrado más frecuentemente en diterpenos aislados de salvias mexicanas, en el cual la cadena lateral esta oxidada a una butenólida o un furano. La oxidación en C-12 es frecuente en los diterpenos de salvia, pero en la mayor parte de los casos el metilo 18 forma parte de una γ -lactona con C-19, mientras que en el compuesto V este tipo de lactona no existe. La posibilidad de que V posea un esqueleto transpuesto de labdano es interesante, ya que este tipo de arreglo no ha sido descrito de una planta de este género. El esqueleto transpuesto propuesto en Vb ha sido descrito previamente para la Chettaphanina, aislada de *Adenochlaena siamensis* (Compositae) y el Ácido Salmántico, obtenido de *Cistus laurifolius* (Cistaceae)³¹.



Chetlaphanina



Acido Salmántico

CONCLUSIONES

Del estudio químico biodirigido de las partes aéreas de *Salvia adenophora* Fern., se tienen las siguientes conclusiones:

Se aislaron 7 metabolitos secundarios: 3 flavonas, 1 fenilpropanoide, 1 diterpeno y 2 ácidos triterpénicos.

De las tres flavonas, dos de ellas, I y II estaban reportadas en Salvias asiáticas, conocidas como Salvigenina y Eupatilina; la tercera flavona se aisló como tetracetato de Luteolina (III).

El fenilpropanoide aislado (IV) es un dépsido (unión de 2 ó más unidades fenilpropanoide) del ácido ferúlico y un derivado reducido del ácido cafeico, que no está reportado en la literatura y es el primero aislado en Salvias americanas.

Del estudio espectroscópico obtenido para el diterpeno (V) se proponen dos posibles estructuras: un esqueleto de tipo clerodano y uno de tipo labdano transpuesto, ninguno de ellos ha sido descrito anteriormente.

Los ácidos triterpénicos se identificaron como ésteres metílicos del ácido ursólico y oleanólico, que están ampliamente distribuidos en el género *Salvia*.

El perfil químico encontrado para la *Salvia adenophora*, aunque parecido en términos generales al encontrado para las salvias del subgénero *Calosphace*, es notable si consideramos la existencia en esta especie del dépsido previamente descrito, este hecho así como la posibilidad de la existencia de diterpenos con un esqueleto de labdano transpuesto hacen necesario un nuevo estudio de esta especie, en una etapa diferente de su ciclo vegetativo, en espera de aislar cantidades mayores de estos metabolitos secundarios.

BIBLIOGRAFIA

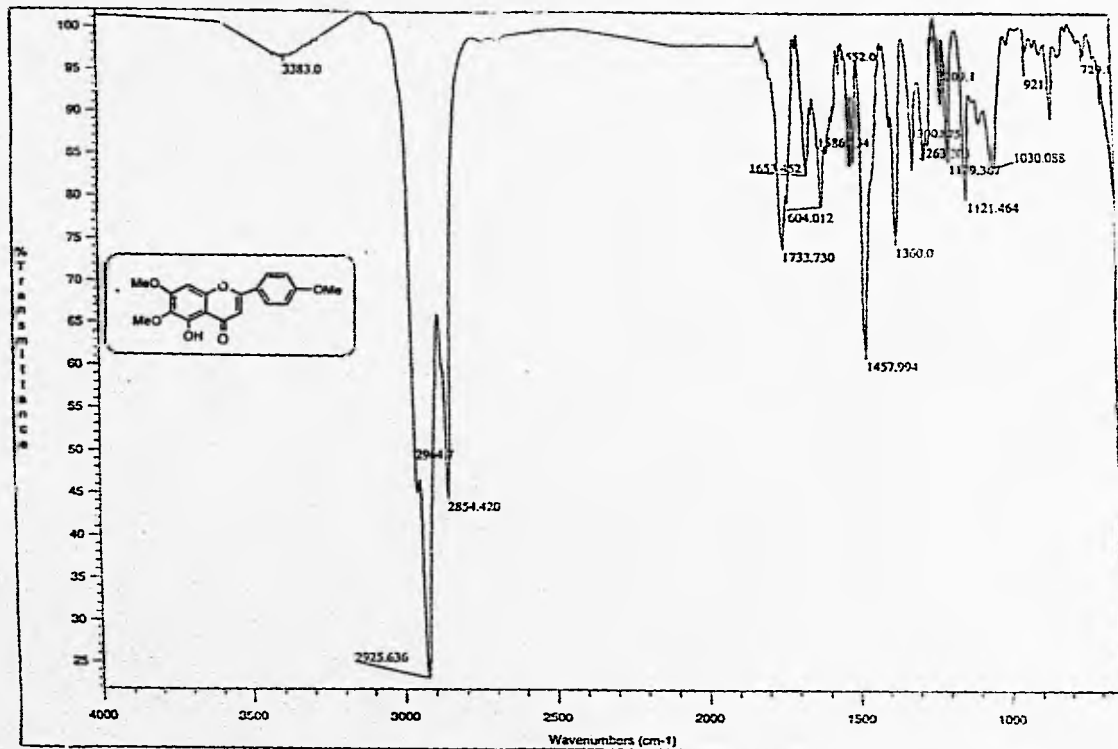
1. Rzedowski, J. ; "Vegetación de México", Ed. Limusa, México, 1983.
2. Ramamoorthy, T.P. & Elliot, M.
"Mexican Lamiaceae Evolution, Distribution and Endemism"
In Ramamoorthy, T.P.; Bye, R.; Lot, A. & Fa, J. Biological Diversity of México: Origins and Distribution. Oxford University Press, New York, (1991)
3. Standley, P. and Williams, L. Fieldana Bot. 1973, 24(9): 237-317.
4. Bentham, G. "Labiatae". In Bentham, G. & Hooker, J.D. Genera Plantarum 2: 1160-1223. Reeve & Co., London (1876).
5. Ramamoorthy, T.P. & Lorence, D.H. Bull. Mus. nat. Hist. nat. Paris 4, ser. 9, section B. Andansonian 2 : 167.
6. Epling, C. A revision of *Salvia* subgenus *Calosphaea*. Report. spec. Nov. Regni Veg. Beih. 110 : 1-383 , 1939.
7. Dominguez, Xorge A. : "Métodos de Investigación Fitoquímica". Ed. Limusa. México, 1985.
8. Warner H. "Pharmaceutical and economic use of de Labiatae and Rutacea Families Revista Latinoamericana de Química, vol. 8, p.16-25 , 1977.
9. Barberan, F.A.T , "The flavonoid compounds from the Labiatae Fitoterapia 1986, Vol 57, p.67
10. Kimura, Y., Kubo, M., Tani, T. Chem Pharm Bull 29, pp 2308, (1981).

- 11 Coleman, P.C. et al. *Phytochemistry* Vol. 23, pp 1202 (1984).
- 12 Dewick P.D. *Natural Products Report* Vol. 52, pp 495-51, 1985
- 13 Banthorpe, D.V., Bilyard, H.J. & Brown, G.D. "Enol esters of caffeic acid in several genera of the *Labiatae*" 2109-2113, 1989.
- 14 Chun-Bo Ai & Lian-Niang Li. "Stereostructure of salvianolic acid B and isolation of salvianolic acid C from *Salvia miltiorrhiza*" *Journal of Natural Products* Vol. 51, No.1, pp 145-49, 1988.
- 15 Tian-Xiu Qian & Lian-Niang Li. "Isosalvianolic acid C, a new depside possessing a dibenzoxepin skeleton" *Phytochemistry* Vol. 31 No.3, pp 1068-1070, 1992.
- 16 Hai-Jun Zhang & Lian-Niang Li. "Salvianolic acid I, a new depside from *Salvia cavaleriei*" *Planta Medica* 60, pp 70-72, 1994.
- 17 Chun-Bo Ai & Lian-Niang Li. "Salvianolic acids D and E: Two new depsides from *Salvia miltiorrhiza*" *Planta Medica* 58, pp 197-199, 1992.
- 18 Chun-Bo Ai, Qiao-Hong Deng, Wan-Zhi Song & Lian-Niang Li. "Salvianolic acid J, a new depside from *Salvia flava*" *Phytochemistry* Vol. 37, No.3, pp 907-908, 1994
- 19 Mann, I. *Secondary metabolism* 2nd Ed. Clarendon Press Oxford, Great Britain 1987
- 20 Rodriguez-Hahn, I., Esquivel, B., Cárdenas, J., & Ramamoorthy, T.P. "The Distribution of Diterpenoids in *Salvia*". In Harley, R.M. & Reynolds, I. (eds) *Advances in Labiatae Science* pp 335-347. Royal Botanic Gardens, Kew (1992).
- 21 Kupchan, S.M. *Journal of the American Chemical Society* 90:5923-24, 1968.

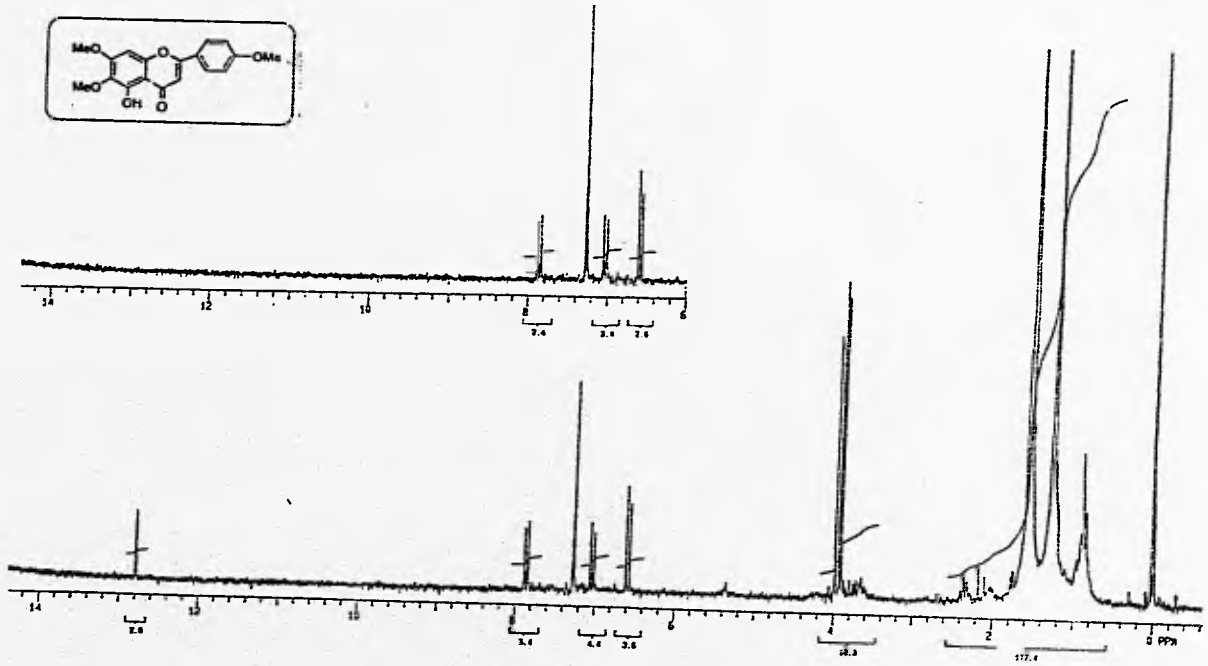
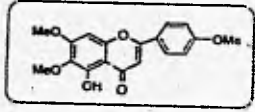
- 22 Katsura Munakata, Pure Appl. Chem. 42, 57, 1975.
- 23 T.A. van Beek and Ae. de Groot. Recueil des Travaux Chimiques des Pays-bas 105, 103 y 12, 513-527, 1986.
- 24 Marini, G. B., Beeltolo. Natural Products and The Protection of Plants, Elsevier Scientific, 1976.
- 25 Mabry, Tom J. and Markham, Ken R. " Mass Spectrometry of flavonoids" In Harborne, J.B., Mabry, T.J. & Mabry, Helga (Eds). The flavonoids. pp 78-126.
- 26 Agrawal, P.K. Carbon-13 NMR of flavonoids " Studies in Organic Chemistry " 39, pp 123 - 141, Ed. Elsevier 1989.
- 27 Kingsbury, Charles A. and Looker, James H. " Carbon-13 Spectra of methoxyflavones ". J. Organic Chemistry Vol. 40, No. 8, pp 1120-24, 1975.
- 28 Ellis, B. E. and Towers, G. H. N. "Biogenesis of Rosmarinic Acid in *Mentha*" Biochemistry Journal 118, pp 291 - 297, 1970.
- 29 Jefferies, P. R., Knox, J.R. & Scaf, B." Structure elucidation of some ent-Clerodane diterpenes from *Dodonaea boroniaefolia* and *Cyanoslegia angustifolia*." Australian Journal Chemistry Vol. 26, 2199-211, 1973.
- 30 Galicia, M. A., Esquivel, B., Sánchez, A. A., Cárdenas, J., Ramamoorthy, T.P., & Rodríguez-Hahn, L. "Abletane diterpenoids from *Salvia pubescens*" Phytochemistry Vol. 27, No. 1, pp 217-219, 1988.
- 31 Merritt, A. T., Ley, S.V. "Clerodane Diterpenoids" Natural Product Report 243 - 287, 1992.

ESPECTROS

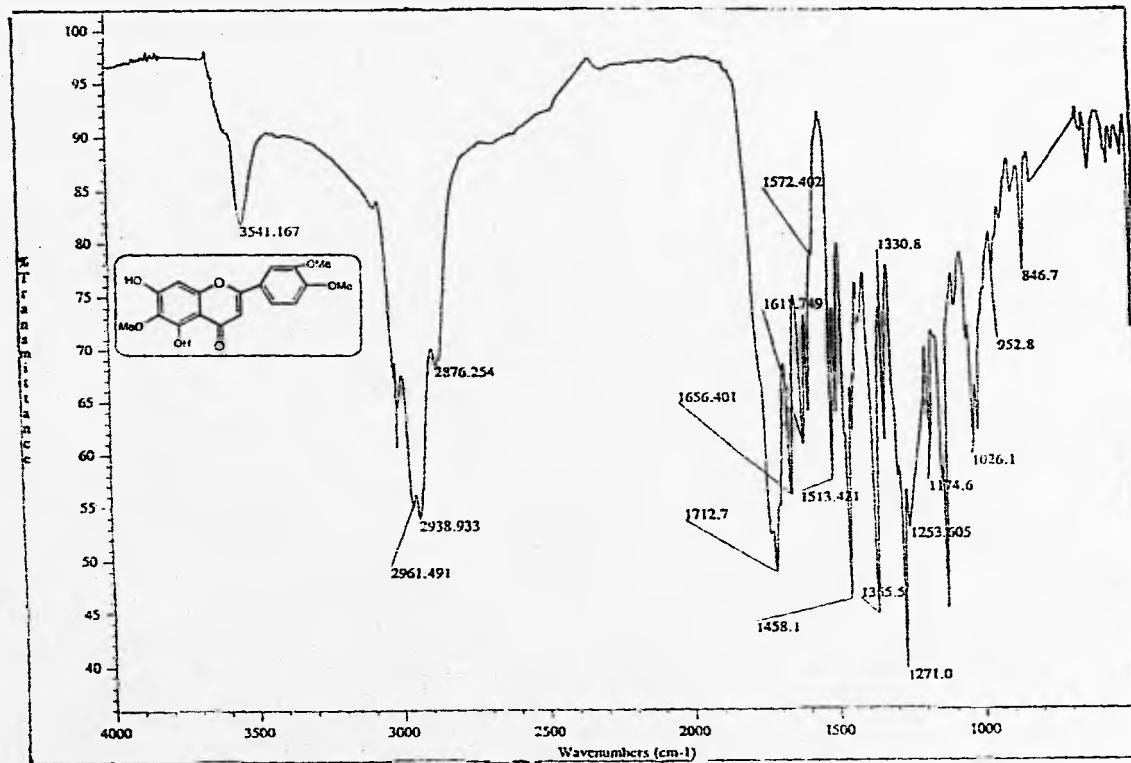
Número	Compuesto	Espectros
I	5-hidroxi, 6,7,4' trimetoxiflavona o Salvigenina	I.1 IR I.2 RMN ¹ H
II	5,7-dihidroxi, 6,3',4' trimetoxiflavona o Eupatilina	II.1 IR II.2 RMN ¹ H II.3 RMN ¹³ C
III	5,7,3',4' tetraacetilflavona o tetraacetato de Luteolina	III.1 IR III.2 RMN ¹ H III.3 RMN ¹³ C
IV	Etanoato 5- (2- (2-etanoiloxi -5- (3-hidroxi)propil) fenoxicarbonil) etenil) -2- fenilmetoxi.	IV.1 IR IV.2 EM IV.3 RMN ¹ H
V	Diterpeno	V.1 IR V.2 EM V.3 RMN ¹ H V.4 COSY V.5 RMN ¹³ C V.6 DEPT



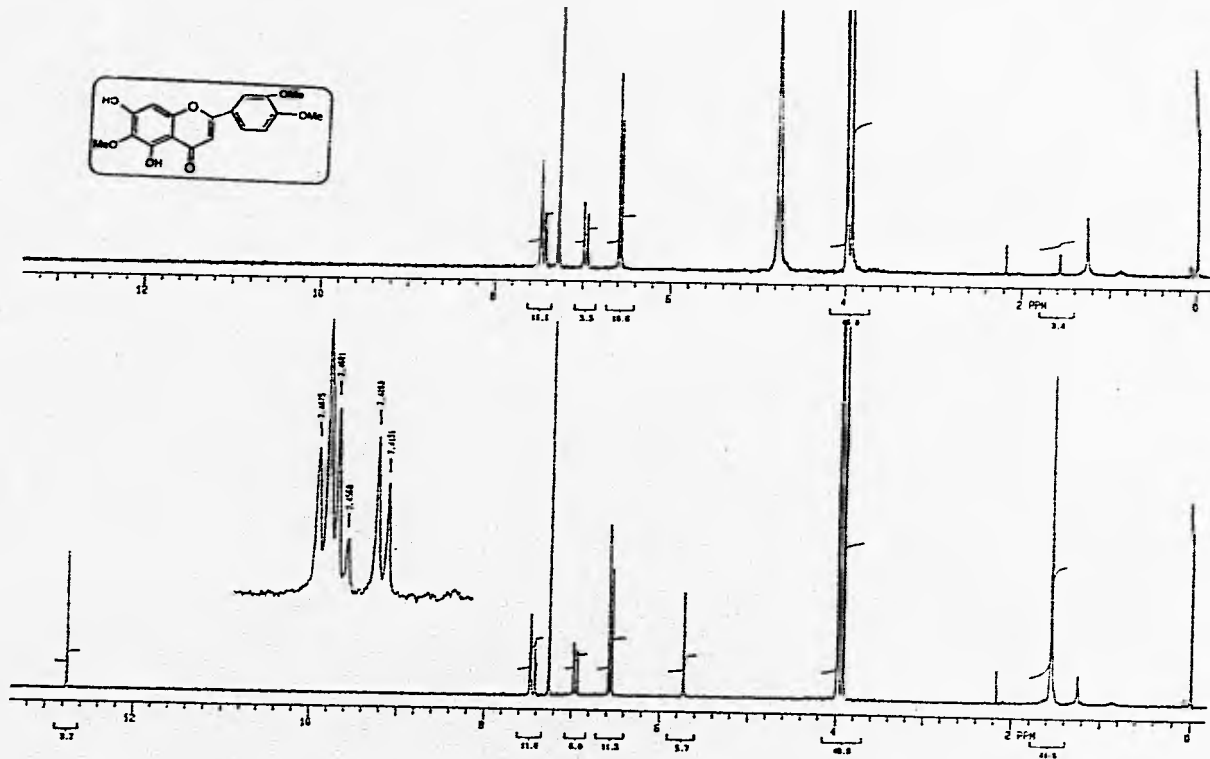
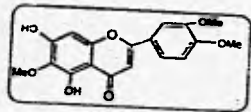
I.1 ESPECTRO IR DE SALVIGENINA



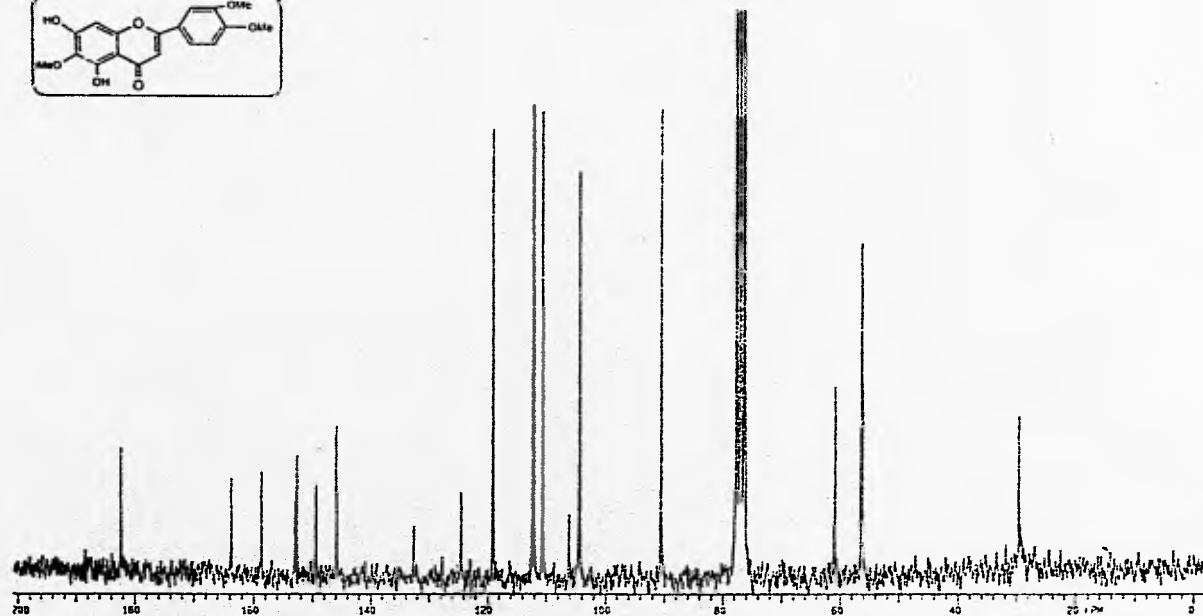
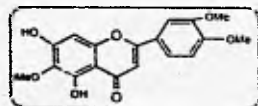
1.2 ESPECTRO RMN ^1H DE SALVIGENINA



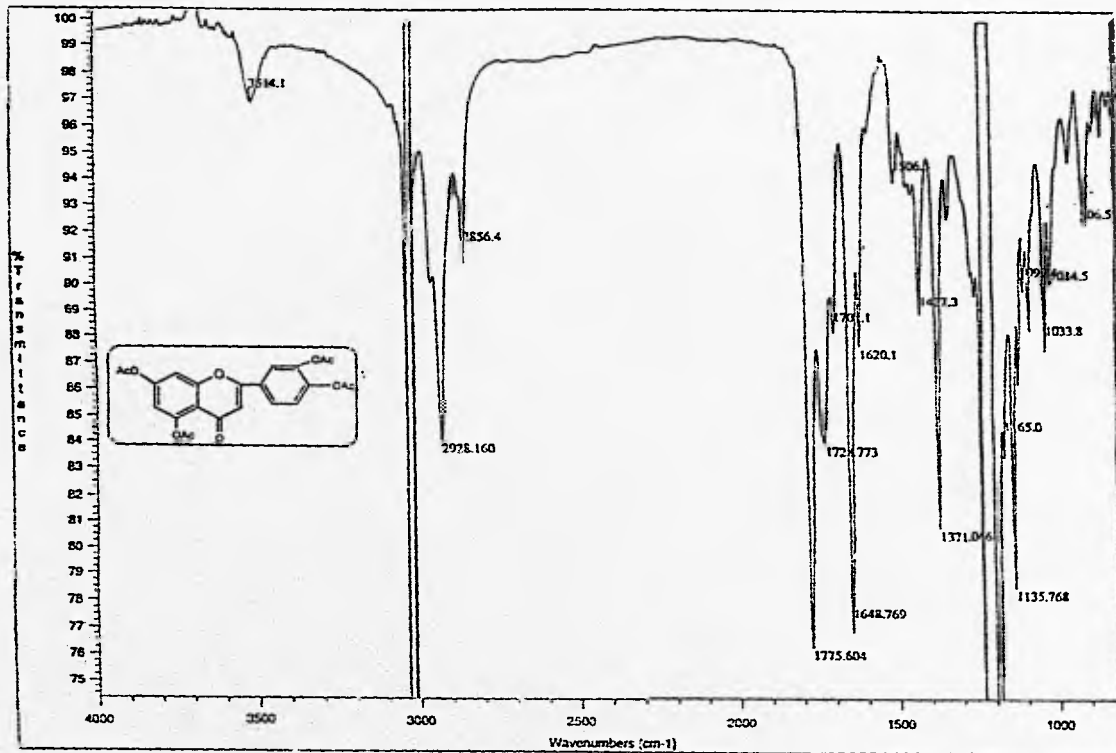
II.1 ESPECTRO IR DE EUPATILINA



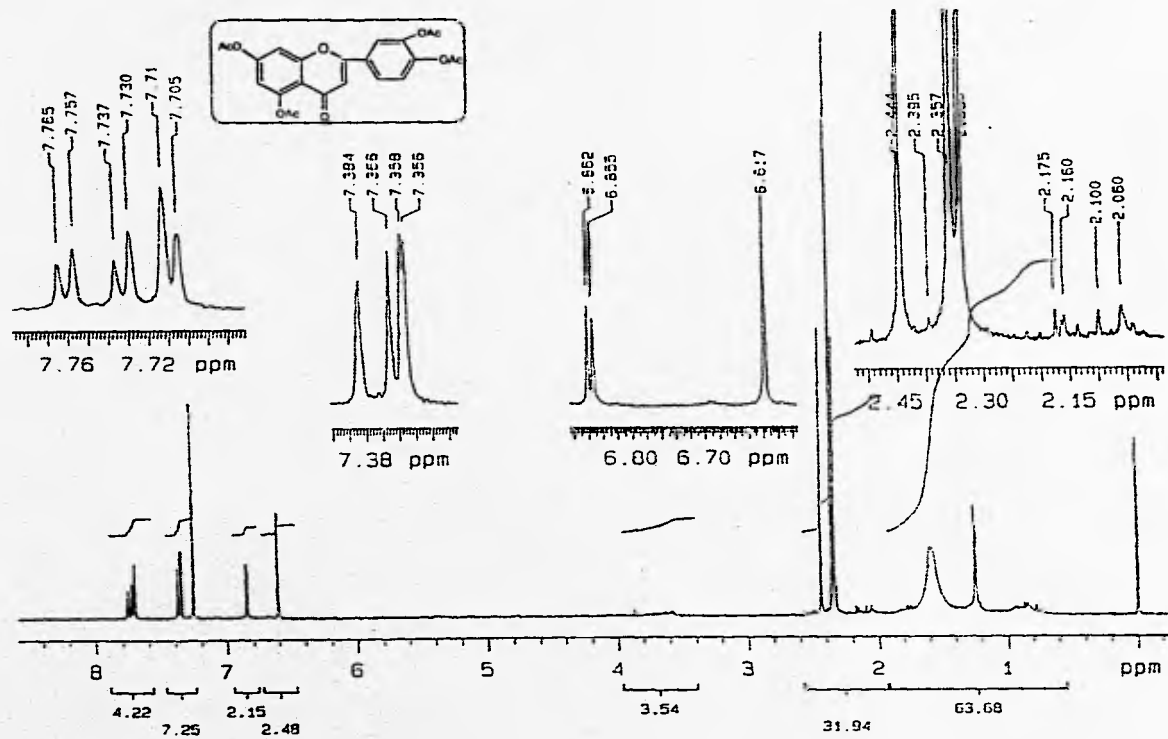
II.2 ESPECTRO RMN ^1H DE EUPATILINA



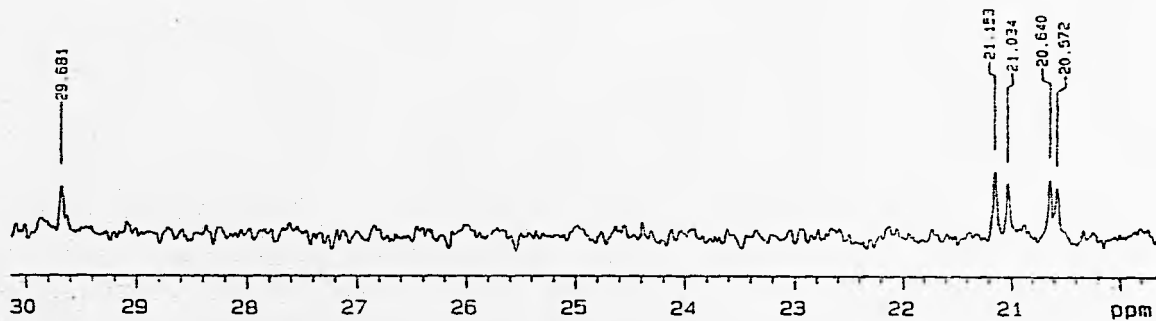
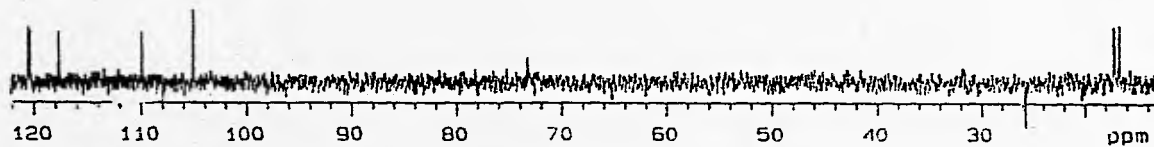
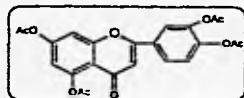
II.3 ESPECTRO RMN ^{13}C DE EUPATILINA



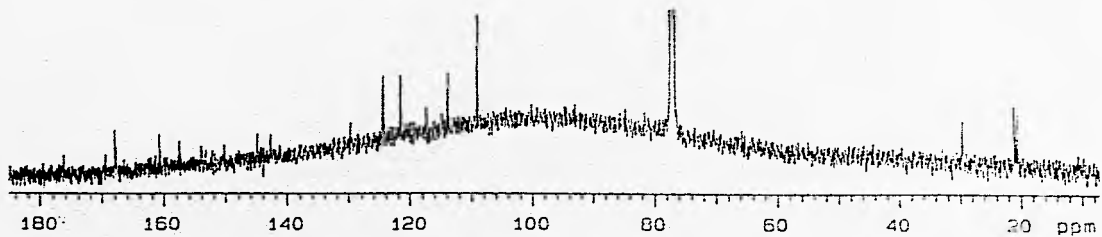
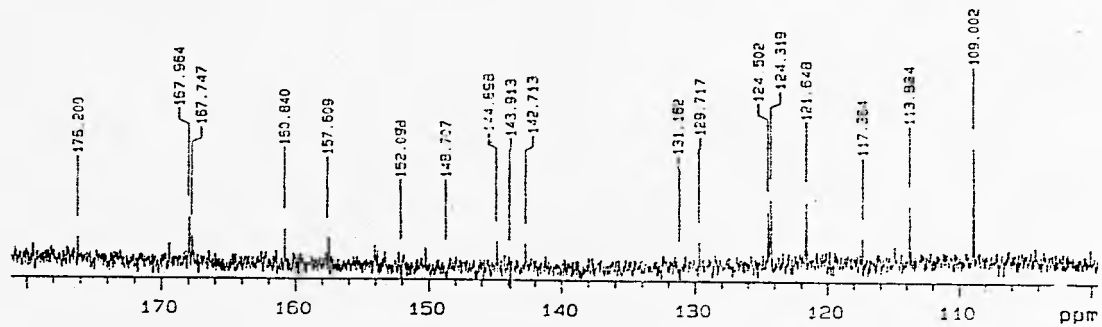
III.1 ESPECTRO IR DE TETRAACETATO DE LUTEOLINA



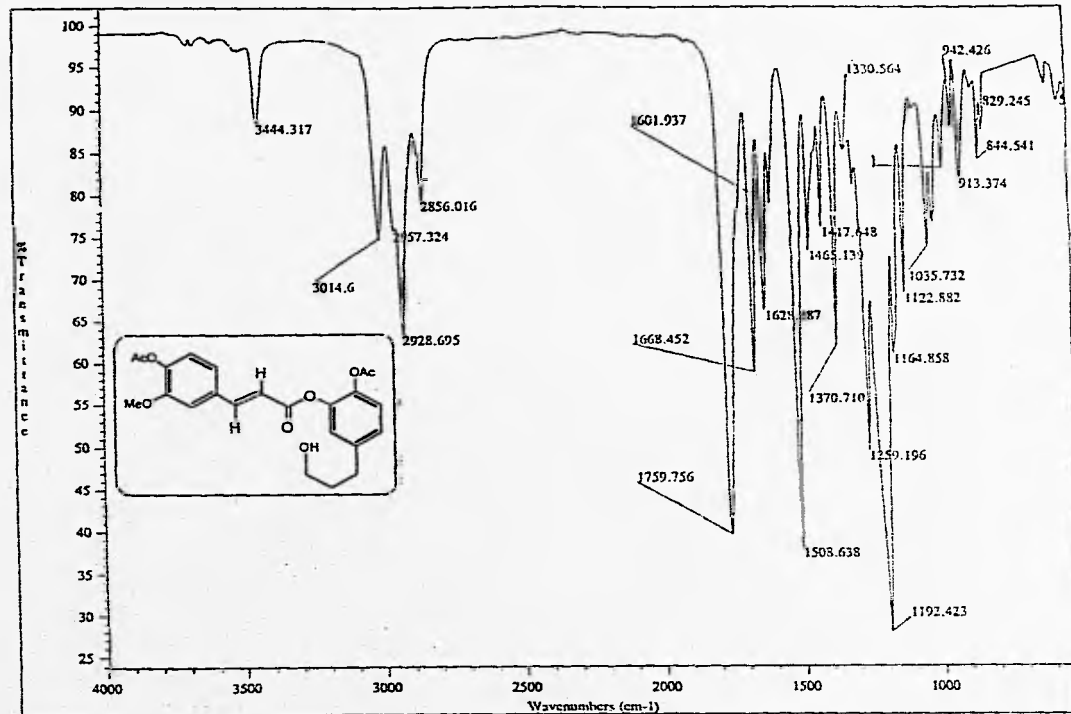
III.2 ESPECTRO RMN ¹H DE TETRAACETATO DE LUTEOLINA



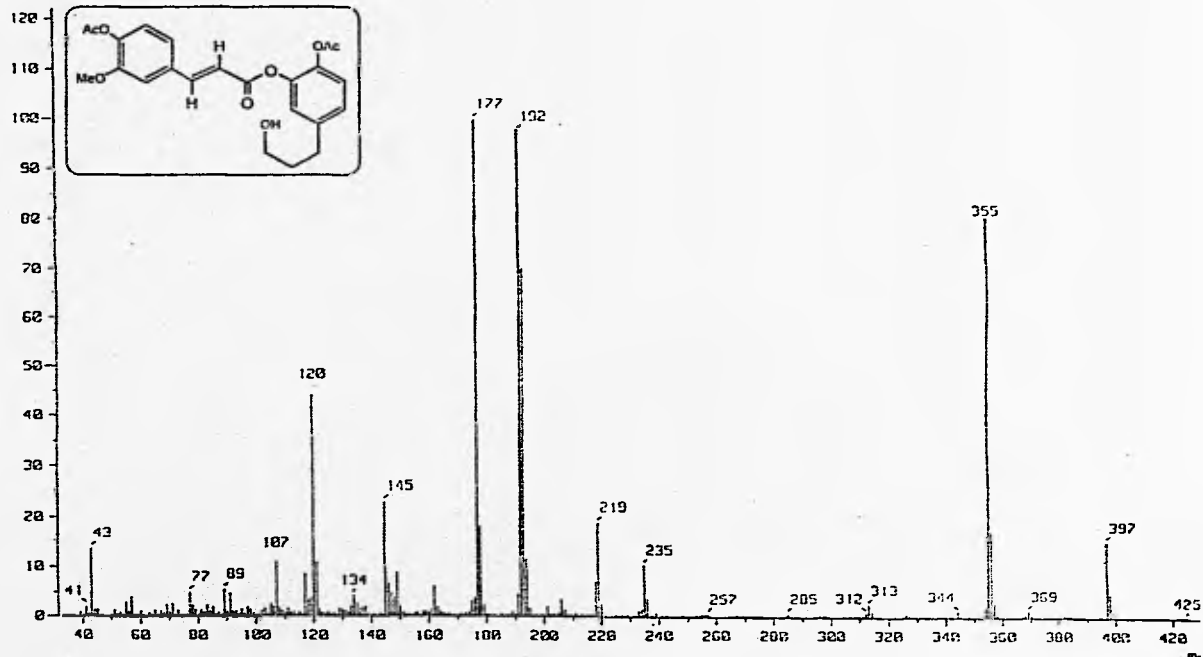
III.3 ESPECTRO RMN ^{13}C DE TETRAACETATO DE LUTEOLINA



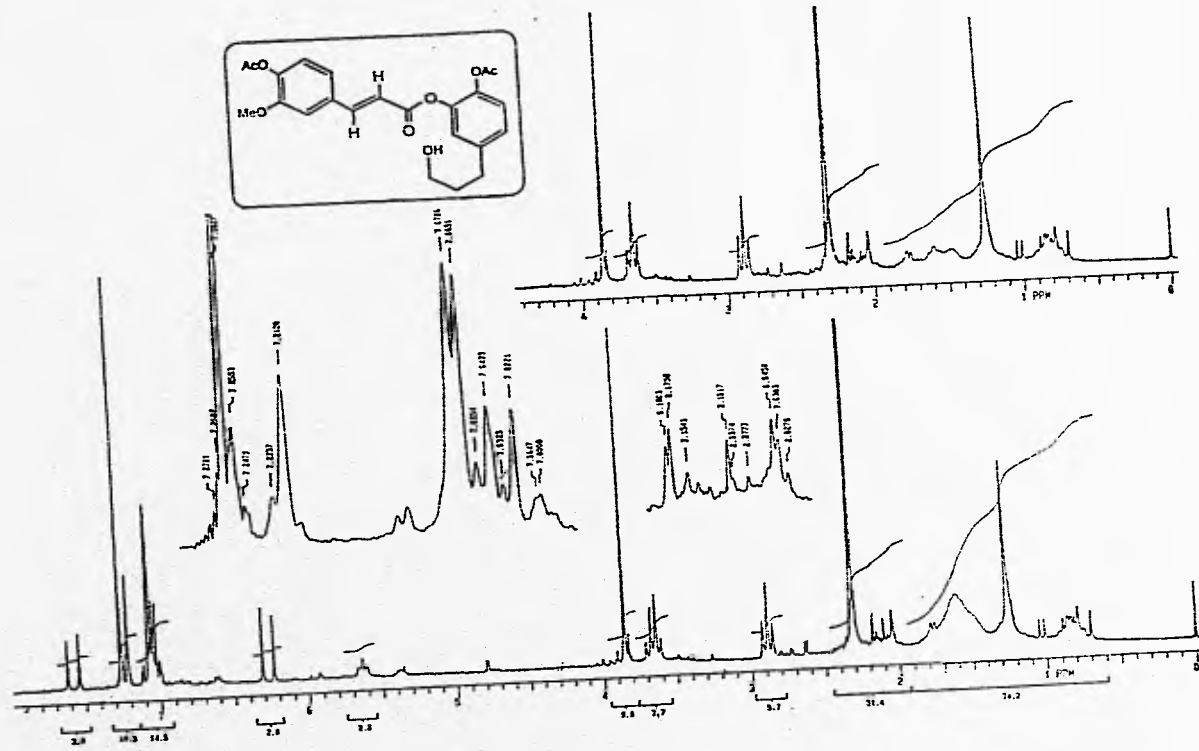
III.3 ESPECTRO RMN ¹³C DE TETRAACETATO DE LUTEOLINA



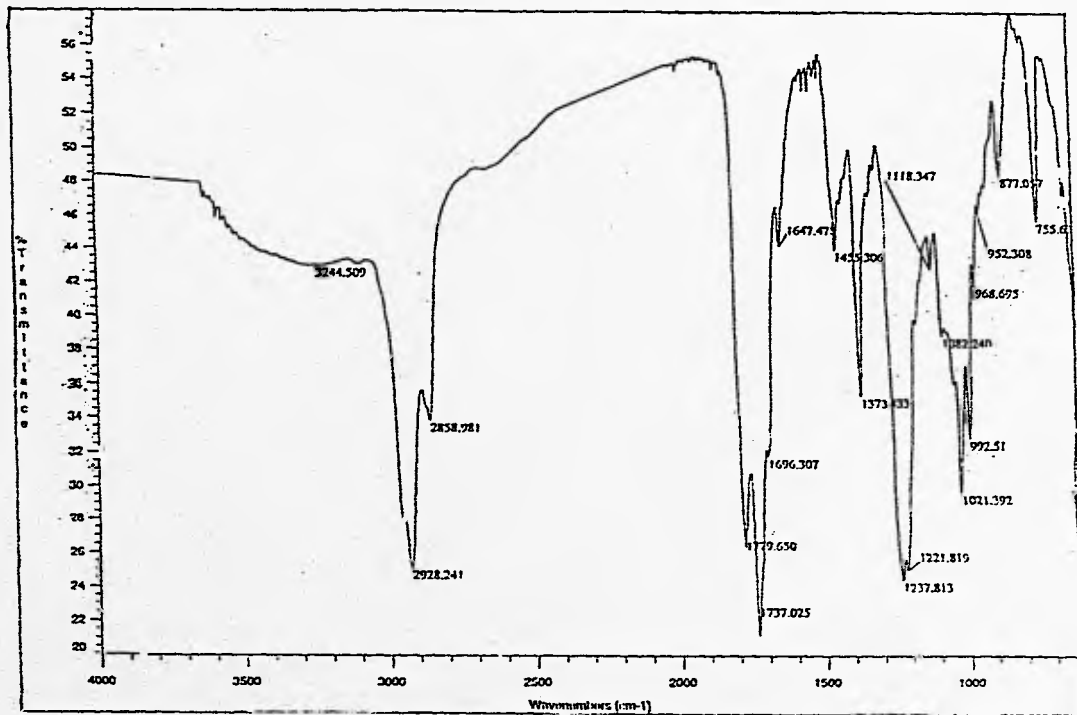
IV.1 ESPECTRO IR DEL DEPSIDO



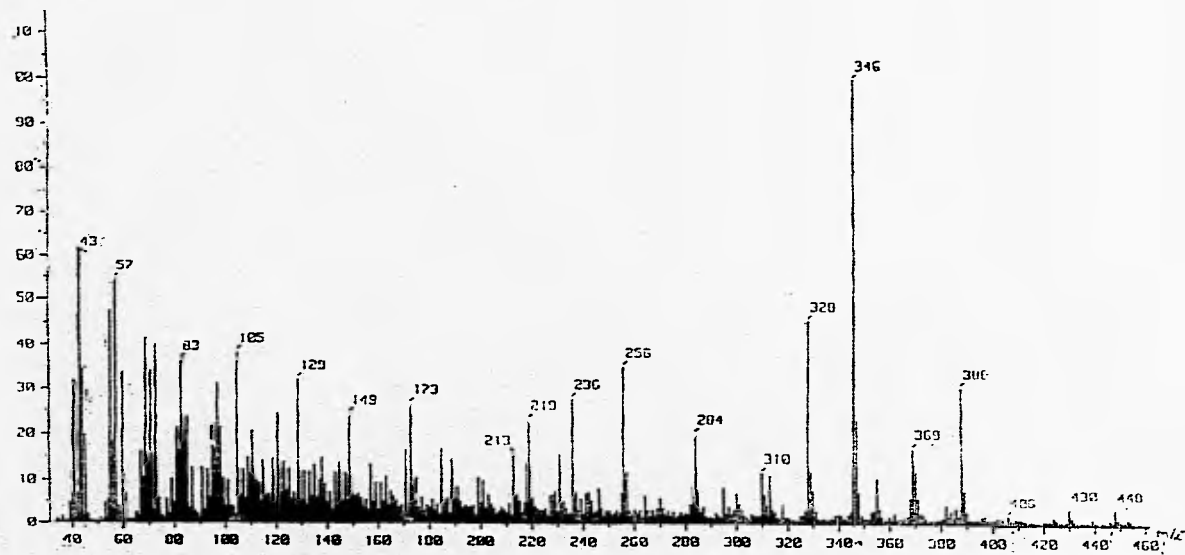
IV.2 ESPECTRO EM DEL DEPSIDO



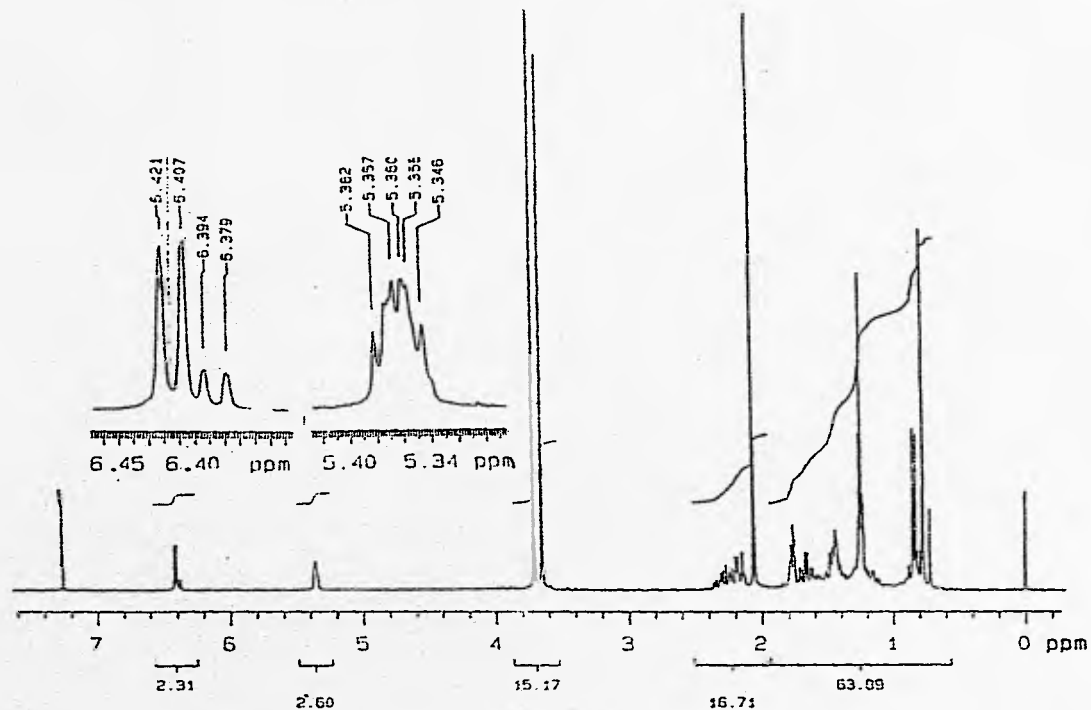
IV.3 ESPECTRO RMN ^1H DEL DEPSIDO



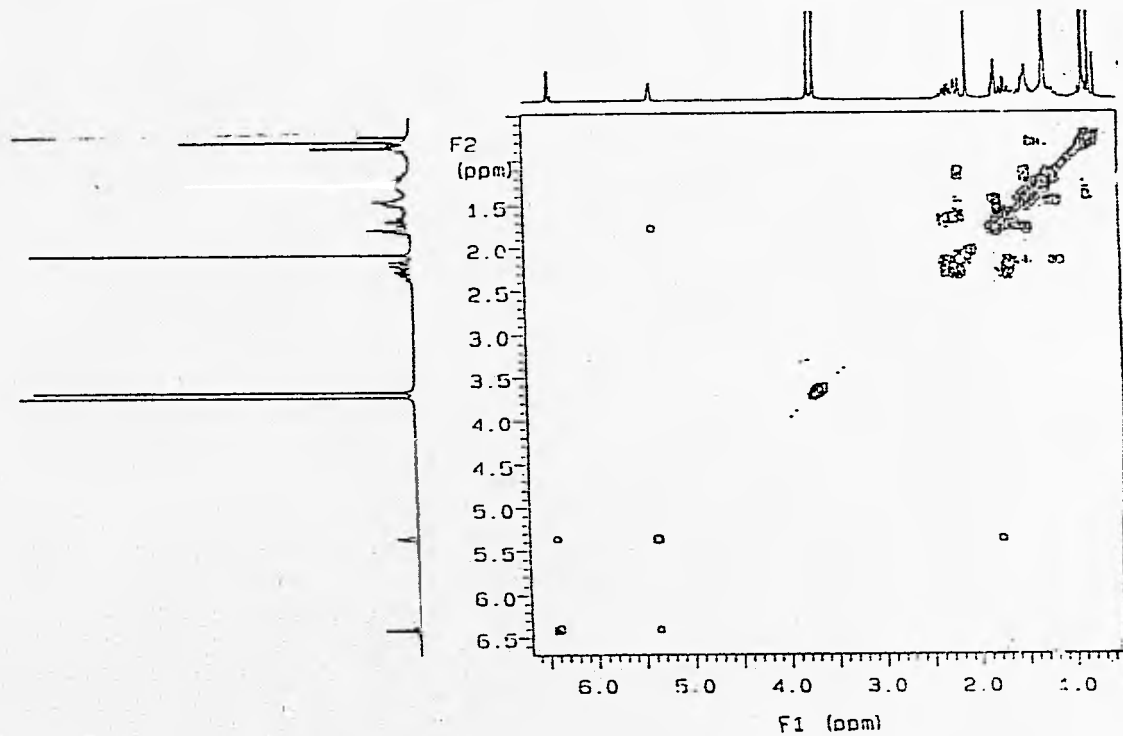
V.1 ESPECTRO IR DEL DITERPENO



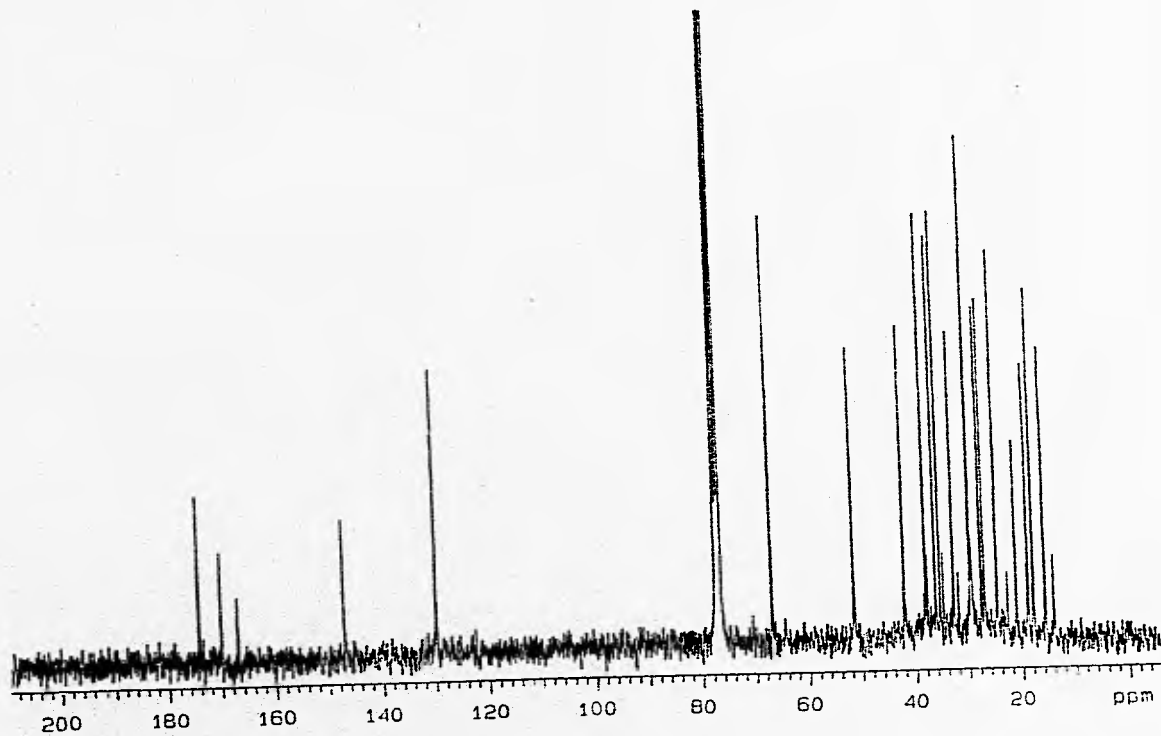
V.2 ESPECTRO EM DEL DITERPENO



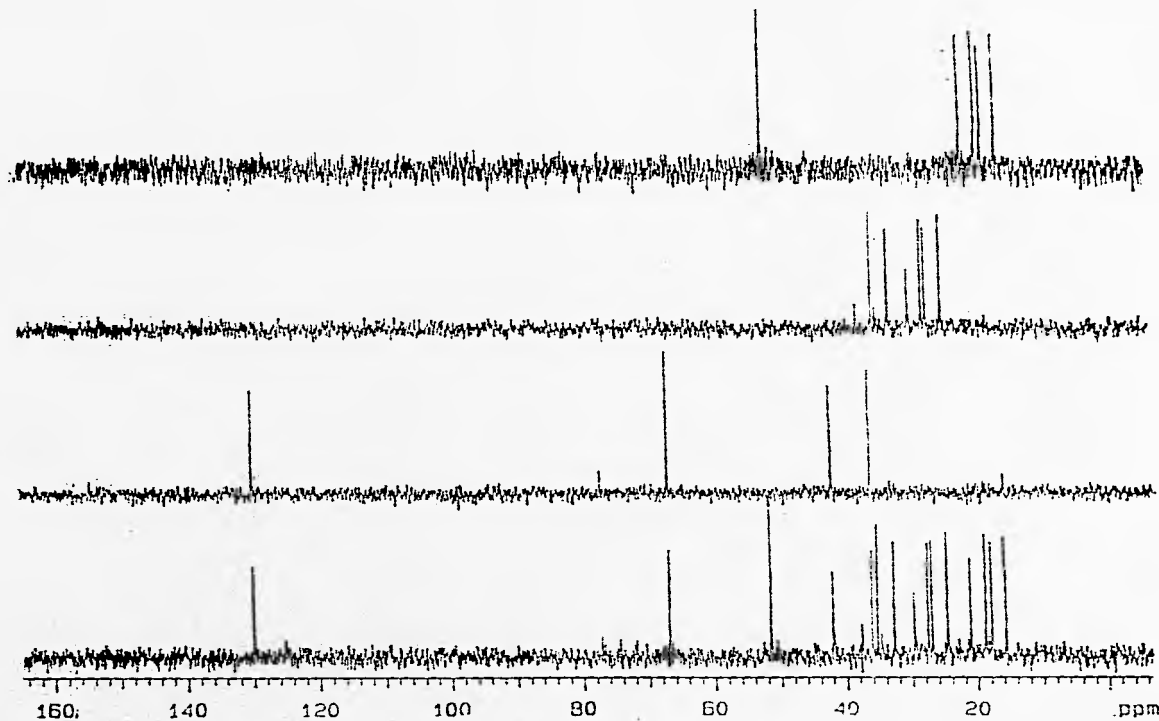
V.3 ESPECTRO RMN ^1H DEL DITERPENO



V.4 ESPECTRO COSY DEL DITERPENO



V.5 ESPECTRO RMN ^{13}C DEL DITERPENO



V.6 ESPECTRO DEPT DEL DITERPENO