

3

00573



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

24.

FACULTAD DE QUIMICA

Estudio Fitoquímico de
Scutellaria caerulea y *Scutellaria guatemalensis*
(Labiatae)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

(QUIMICA ORGANICA)

P R E S E N T A :

Q. ROSA MARIA DOMINGUEZ MARTINEZ

MEXICO, D. F.

1998.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

259365



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).

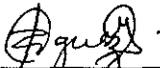
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. ALFONSO ROMO DE VIVAR
1er. Vocal: Dr. EUGENE BRATOEFF TITEFF
Secretario: Dr. ALFREDO ORTEGA HERNANDEZ
1er. Suplente: Dr. MANUEL JIMENEZ ESTRADA
2o. Suplente: Dra. RACHEL MATA ESSAYAG

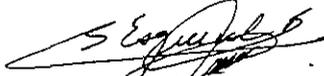
LUGAR DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:
INSTITUTO DE QUIMICA, U.N.A.M.

SUSTENTANTE:



Q. ROSA MA. DOMINGUEZ MARTINEZ

ASESOR DEL TEMA:



M. en C. BALDOMERO ESQUIVEL RODRIGUEZ

Este trabajo fué llevado a cabo en el laboratorio 3 de la Unidad de Investigación en Plantas Medicinales del Instituto de Química de la U.N.A.M., bajo la asesoría del M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez.

Durante el transcurso de este mismo se contó con el apoyo económico de una beca-crédito con número de registro 86619 otorgada por el CONACYT y con el apoyo parcial de una beca del proyecto DGAPA-UNAM PAPIIT IN 212594

CONTENIDO

Abreviaturas	pág.	vi
Resumen		vii
Abstract		viii
1 . Introducción		1
2 . Antecedentes		4
3 . Parte Teórica		
<i>Scutellaria caerulea</i> Moc. et Sessé		17
<i>Scutellaria guatemalensis</i> Leon.		58
4 . Conclusiones		
<i>Scutellaria caerulea</i> Moc. et Sessé		67
<i>Scutellaria guatemalensis</i> Leon.		68
5 . Parte Experimental		
Material y equipo utilizado		70
<i>Scutellaria caerulea</i> Moc. et Sessé		71
<i>Scutellaria guatemalensis</i> Leon.		79
6 . Bibliografía		83
7 . Espectros		88

ABREVIATURAS

UV	Ultravioleta
IR	Infrarrojo
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
COSY	Correlated Spectroscopy
PND	Proton Noise Decoupling
DEPT	Distortionless Enhancement Polarization Transfer
HMQC	Heteronuclear Multiple-quantum Coherence
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
EMIE	Espectrometría de Masas por Impacto Electrónico
EMFAB ⁺	Espectrometría de Masas por FAB ⁺
FAB	Fast Atom Bombardment
λ	longitud de onda
ϵ	coeficiente de extinción molar
ν	número de onda
δ	desplazamiento químico
ppm	partes por millón
J	constante de acoplamiento
Hz	hertz
m/z	masa/carga
[M] ⁺	ión molecular
abund. rel.	abundancia relativa
TMS	tetrametilsilano
MeOH	metanol
AcOEt	acetato de etilo
¹ PrOH	isopropanol
rend.	rendimiento
s	singulete
sa	singulete ancho
d	doblete
da	doblete ancho
dd	doble de dobles
dt	doble de tripletes
ddd	doble de doble de dobles
t	triplete
td	triplete de dobletes
tda	triplete de dobletes ancho
tt	triplete de tripletes
c	cuarteto
sept	septuplete
m	multiplete

RESUMEN

El género *Scutellaria* L., con 360 especies reconocidas actualmente a nivel mundial, es uno de los más grandes de la familia *Labiatae*. En México, este género está representado por alrededor de 32 especies y la mayoría de ellas crecen principalmente en zonas montañosas cercanas al centro del país.

Como resultado del estudio químico de *Scutellaria spp.* de origen asiático y europeo, han sido aislados varios diterpenos con esqueleto de *neo-clerodano*. Algunos de ellos han mostrado importante actividad antialimentaria como la jodrelina B (aislada de *S. woronowii* Juz.), que se considera el *neo-clerodano* antialimentario más potente aislado hasta ahora.

En México, el análisis químico de plantas pertenecientes al género *Scutellaria* ha sido iniciado recientemente con el estudio de *S. drummondii* Benth. En este trabajo de tesis, se describe el estudio químico de *S. caerulea* Moc. et Sessé y *S. guatemalensis* Leon. como parte del estudio químico sistematizado de la familia *Labiatae* en México.

A partir de *S. caerulea* se aislaron cinco *neo-clerodanos* no descritos en la literatura, denominados escuteruleínas A-D y desacetilescuteruleína B, sus estructuras fueron establecidas con base en métodos espectroscópicos. También fueron aislados a partir de esta especie los flavonoides oroxilina A y dihidrooroxilina A. Estos flavonoides han sido aislados previamente de otras *Scutellaria spp.*, entre éstas, *S. baicalensis*.

A partir de *S. guatemalensis* se aisló un *neo-clerodano* no descrito en la literatura. La estructura de este compuesto, denominado escuteguatemalina A, fué establecida por medio de métodos espectroscópicos. La flavona esculcapflavona II fué aislada también de esta planta.

El patrón de oxidación establecido para los seis *neo-clerodanos* aislados y descritos en esta tesis, está relacionado con aquél encontrado para los diterpenos provenientes de *Scutellaria drummondii* y de las especies chinas hasta ahora estudiadas. Este patrón de oxidación es diferente al encontrado para los *neo-clerodanos* aislados de especies europeas. Desde un punto de vista químico las plantas mexicanas y chinas parecen estar estrechamente relacionadas.

Es importante señalar que la escuteguatemalina A es el segundo *neo-clerodano* aislado de este género que presenta la posición C-12 sustituida. Esta es una característica poco común en los *neo-clerodanos* aislados del género *Scutellaria*, pero muy frecuente en otros géneros de la familia *Labiatae*, tales como *Salvia*, *Ajuga* y *Teucrium*.

La evaluación de los *neo-clerodanos* aislados de *S. caerulea* y *S. guatemalensis* contra *Spodoptera littoralis* y *S. frugiperda* está en proceso.

ABSTRACT

Scutellaria L., with 360 currently recognized species throughout the World, is one of the largest genera of the *Labiatae* family. In Mexico, *Scutellaria* is represented by over 32 species, most of them growing in the mountains nearby the center of the country

As a result of the systematic chemical studies on European and Asiatic *Scutellaria* plants, several neo-clerodane diterpenoids have been isolated. Some of them have showed a significant antifeedant activity such as jodrelin B (from *S. woronowii* Juz), which is considered the most potent antifeedant neo-clerodane diterpenoid isolated up to now.

In Mexico, the chemical analysis of *Scutellaria* plants has been started recently with the study of *Scutellaria drummondii* Benth. In this thesis, the chemical study of *S. caerulea* Moc. et Sessé and *S. guatemalensis* Leon. is described, as a part of the systematic chemical study of Mexican *Labiatae*.

From *S. caerulea* five new neo-clerodane diterpenoids, named scuterulein A-D and deacetylscuterulein B, have been isolated and their structures established based on spectroscopic methods. The flavonoids oroxilin A and dihydrooroxilin A were also isolated from this source. These flavonoids were previously isolated from others *Scutellaria* species, such as, *S. baicalensis*.

From *S. guatemalensis* a new neo-clerodane diterpenoid was isolated. The structure of this compound, named scuteguatemalin A, was established based on spectroscopic methods. The flavone skullcapflavone II was also isolated from this plant.

The oxidation pattern established from the six neo-clerodane diterpenoids isolated and described in this thesis, is related to that found for the diterpenoids from *Scutellaria drummondii* and from the Chinese species studies up to now. This oxidation pattern is different to that found for the neo-clerodane isolated from European plants. From a chemical point of view the Mexican and Chinese plants seem to be closely related

Scuteguatemalin A deserves a special mention since this is the second product isolated from this genus that exhibits a substituent at the C-12 position. This is a rare feature in the neo-clerodane diterpenoids from *Scutellaria*, but very frequent in other genera of *Labiatae* such as *Salvia*, *Ajuga* and *Teucrium*

The evaluation of the neo-clerodane diterpenoids from *S. caerulea* and *S. guatemalensis* against *Spodoptera littoralis* and *S. frugiperda* is in progress

1. INTRODUCCION

La ubicación y la forma del territorio del país, con una extensión de 1 972 544 Km², propician una amplia variedad de condiciones fisiográficas y climáticas que dan origen a una gran riqueza florística. Por otra parte, México sobre todo en el Cenozoico, fué centro importante de intensas migraciones de plantas de diversa procedencia así como de evolución de la flora¹, factores que se consideran que también han contribuído a la abundante y variada flora con que cuenta nuestro país.

De hecho, actualmente se considera que México ocupa el tercer lugar en diversidad biológica; y se estima que el número de especies de plantas vasculares asciende a 21 600, aproximadamente; por lo que se considera al país como una de las zonas florísticas más ricas del mundo.

Siendo México un país tan rico en este sentido se debe considerar prioritario el estudio de este importante recurso natural del que se han hecho varios usos, uno de los más importante quizás en medicina tradicional. Se calcula que de las 21 600 especies de plantas vasculares, 3 350 forman parte de la flora medicinal cuyos usos datan desde tiempos prehispánicos².

La familia *Lamiaceae* (*Labiatae*) es un importante constituyente de la flora nacional ya que se encuentra representada por aproximadamente 512 especies repartidas entre 27 géneros; se distribuye en todos los tipos de vegetación, aunque principalmente se localiza en zonas montañosas y en bosques de pino y encino³.

Esta familia está constituida a nivel mundial por 259 géneros y un total de 6 000 especies aproximadamente, y tiene como lugares de mayor diversificación la zona del Mediterráneo, Asia central y América entre otras⁴.

Gran parte de las especies pertenecientes a esta familia son utilizadas, no solo en México sino en diversas poblaciones del mundo como parte de la medicina tradicional, por lo que el estudio de ellas reviste gran importancia⁵.

Se han descrito interesantes actividades biológicas para algunos de los metabolitos secundarios aislados de estas plantas como son: antibacteriana, antiespasmódica, antiviral, antitumoral y antialimentaria contra insectos, entre otras. Además, los compuestos de tipo diterpénico en particular, han sido utilizados últimamente con fines taxonómicos⁶.

En México, han sido estudiadas numerosas especies pertenecientes a algunos géneros de esta familia tales como *Hyptis* ⁷ y principalmente el género *Salvia* ⁸, de los cuales se han aislado varios tipos de metabolitos secundarios entre los que destacan los diterpenos, algunos de los cuales han mostrado importantes actividades biológicas de las antes señaladas. Continuando con el estudio de la familia *Lamiaceae*, muy recientemente, se ha iniciado el estudio del género *Scutellaria*.

El género *Scutellaria* se distribuye principalmente en Euroasia central, desde Siria hasta el Himalaya y se encuentra representado por aproximadamente 360 especies; 113 de las cuales se distribuyen en América, desde el Círculo Ártico a la Tierra del Fuego, encontrándose su centro de mayor diversidad en México que cuenta con 32 especies, lo que lo hace en el contexto de la familia *Lamiaceae* el segundo género más abundante en el país (siendo antecedido únicamente por el género *Salvia* que cuenta con aproximadamente 312 especies); la mayoría de estas especies crecen en zonas montañosas⁹.

Este género ya ha sido estudiado en otros países principalmente en cuanto a su contenido en flavonoides¹⁰; sin embargo, recientemente se han aislado compuestos de tipo diterpenoide, algunos de los cuales han mostrado potente actividad antialimentaria contra ciertos insectos, los cuales atacan cultivos económicamente importantes, por lo que las plantas pertenecientes a este género han atraído un mayor interés.

En México sólo ha sido estudiada una especie¹¹ perteneciente al género *Scutellaria*, por lo que la aportación de este trabajo, en el cual se incluye el estudio de dos especies más, es de relevante importancia ya que forma parte del estudio sistematizado, recién iniciado en nuestro país, de un género poco estudiado a nivel mundial.

El presente trabajo incluye el estudio de las partes aéreas de las especies denominadas *S. caerulea* Moc. et Sessé y *S. guatemalensis* Leon, parte de su taxonomía es la siguiente:

Orden:	<i>Lamiales</i>
Familia:	<i>Lamiaceae</i>
Género:	<i>Scutellaria</i>
Sección:	<i>Uliginosae</i>
Especies:	<i>caerulea</i> Moc. et Sessé <i>guatemalensis</i> Leon.

S. caerulea Moc. et Sessé es una planta herbácea perenne de 30-60 cm de alto con flores de color morado-azul; aunque sus poblaciones son de escasa abundancia se encuentra ampliamente distribuida en bosques de pino, encino, abeto y cedro en los estados de Veracruz (*S. dumetorum* Schlecht.), Oaxaca, Jalisco (*S. distans* Fern.), San Luis Potosí y Puebla, entre otros^{9,12}.

S. guatemalensis Leon. es una planta herbácea perenne de 15-40 cm de alto con flores color morado intenso de regular abundancia, distribuida en bosques de pino y roble en Guatemala (*S. purpurascens* var. *heterophylla* Benth.) y México, en éste último en los estados de Nuevo León, Chiapas y Puebla ; también se encuentra cultivada⁹.

Esta especie es utilizada con fines medicinales bajo el nombre común Maltanzin morado o Maltanzi para el tratamiento de ciertos padecimientos como "susto", amenaza de embolia, nerviosismo infantil, dolor de espalda y regulación de desordenes menstruales¹³.

De acuerdo con la importancia manifestada por el estudio de la familia *Lamiaceae*, y en particular en este caso del género *Scutellaria*, en este trabajo de tesis se plantean los siguientes objetivos:

-Aislar, purificar y caracterizar los metabolitos secundarios contenidos en las especies denominadas *S. caerulea* Moc. et Sessé y *S. guatemalensis* Leon.

-Contribuir al conocimiento del perfil químico de este género en nuestro país.

-Aportar datos útiles tanto en quimiotaxonomía como para establecer relaciones filogenéticas del género *Scutellaria*.

-Continuar con el estudio sistematizado de algunos géneros de la familia *Lamiaceae* con el principal objeto de aislar compuestos diterpenoides con posible actividad antialimética contra insectos, para lo cual será evaluada su actividad contra *Spodoptera littoralis* y *S. frugiperda* en colaboración con otras instituciones.

-Contribuir al conocimiento de la flora nacional.

De acuerdo con datos actuales, el perfil químico descrito hasta ahora para el género *Scutellaria*, señala presencia de flavonoides, tanto libres como glicosidados¹⁰, diterpenos (uno incluso de tipo alcaloide¹⁴) y algunos iridoides glicosidados¹⁵ en extractos provenientes tanto de raíces como de partes aéreas.

Como se señaló en el capítulo anterior, el estudio de este género había sido enfocado, principalmente, hacia su contenido en flavonoides debido a su abundancia e importantes actividades farmacológicas, tales como antiinflamatorias y antibacterianas entre otras¹⁰.

Sin embargo, recientemente, se ha destacado también como una fuente importante de compuestos de tipo diterpenoide como puede verse en la tabla 1, en la que se presenta una revisión efectuada sobre los compuestos de este tipo aislados hasta ahora del género *Scutellaria*, todos ellos con una estructura de *neo*-clerodano.

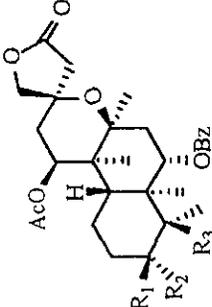
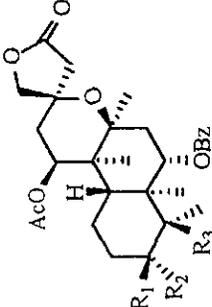
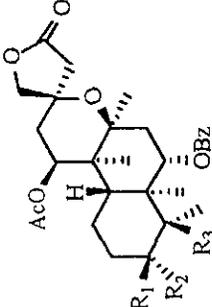
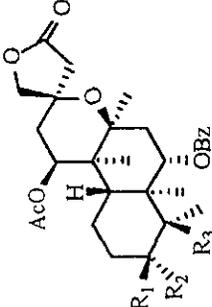
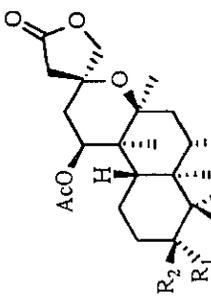
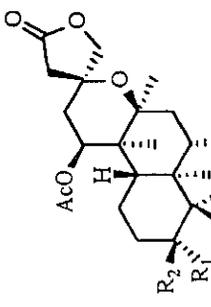
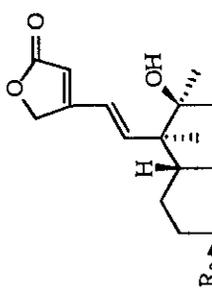
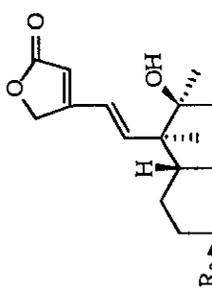
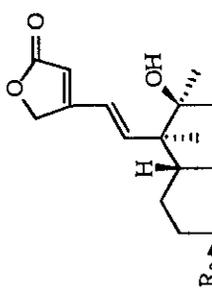
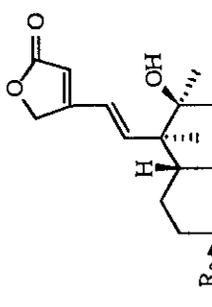
Se ha descrito en la literatura actividad de moderada a potente como antialimentario[†] contra *Spodoptera littoralis* (gusano de las hojas de algodón) para algunos compuestos aislados de *Scutellaria spp.* de origen europeo, como son: jodrelina A (11, *S. woronowii* Juz.²²), jodrelina B (12, *S. woronowii* Juz.²² y *S. galericulata*²³) y 14,15-dihidrojodrelina T (14, *S. galericulata*²³), entre otros, el segundo de éstos se considera el más importante ya que hasta ahora es el compuesto que ha mostrado una mayor actividad antialimentaria contra *S. littoralis*. Esto los coloca como posibles e importantes antialimentarios contra insectos

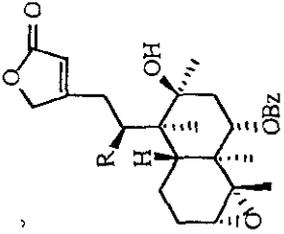
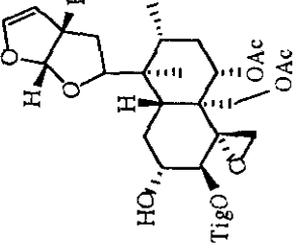
Además, para los compuestos denominados jodrelina A y B, también se ha encontrado que son activos contra ciertos hongos patógenos de plantas (*Verticillium tricorpus*, entre otros)⁴⁴.

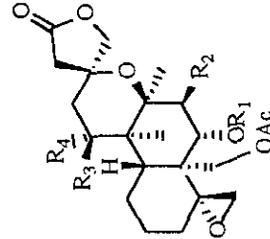
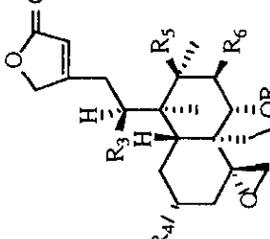
Cabe mencionar que las sustancias con actividad de tipo antialimentario se clasifican como insecticidas indirectos, y están incluidos en el grupo de semioquímicos, que son sustancias químicas que modifican el comportamiento. Son en su mayoría de origen natural por lo que son biodegradables y con alto grado de especificidad, características deseables en cualquier método de protección de cultivos, por lo que son una buena alternativa al uso de insecticidas sintéticos, dañinos a la salud y medio ambiente, frecuentemente utilizados⁴⁵.

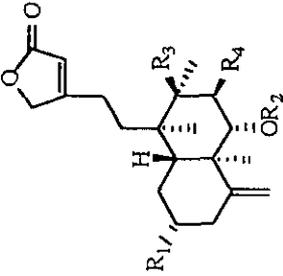
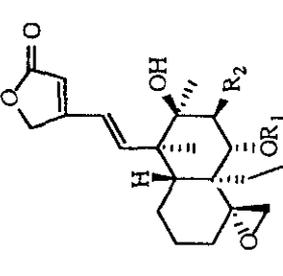
[†]"Producto que presente o aplicado a una planta, evita que un insecto se la coma. La muerte puede ocurrir por inanición"⁴⁵

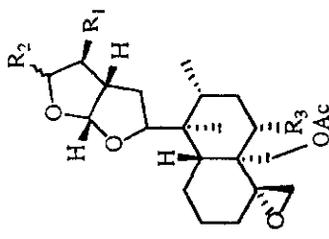
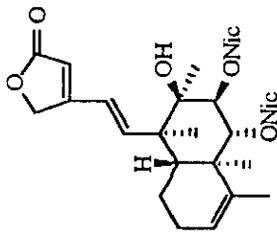
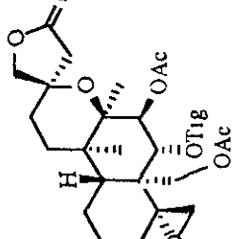
Tabla I. *Neo*-clerodianos aislados del género *Scutellaria*.

Estructura	Sustituyentes	Nombre	Ref.
	$R_1 = H$ $R_2 = OH$ $R_3 = OH$	escutelona A (escuterivulactona C1) (1)	16,17,39
	$R_1 = OH$ $R_2 = H$ $R_3 = OH$	escutelona C (4)	19
	$R_1, R_2 = O$ $R_3 = OH$	escutelona B (7)	21
	$R_1, R_2 = O$ $R_3 = H$	escuterivulactona B (65)	41
	$R_1 = OH$ $R_2 = H$ $R_3 = OH$	escuterivulactona C2 (2)	17,39
	$R_1, R_2 = O$ $R_3 = OH$	escutelona G (8)	21
	$R_1 = R_3 = OH$ $R_2 = H$	escutelona D (escuterivulactona D) (3)	18,20,39
	$R_1 = OH$ $R_2 = H$ $R_3 = OEt$	escutelona H (9)	21
	$R_1 = OH$ $R_2 = H$ $R_3 = OMe$	escutelona I (10)	21
	$R_1 = R_2 = O$ $R_3 = H$	escutelona E (6)	20

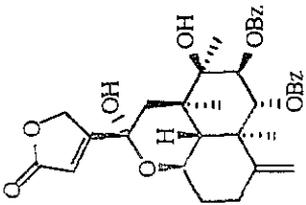
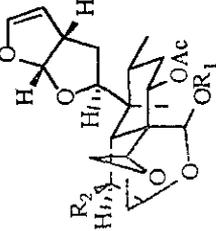
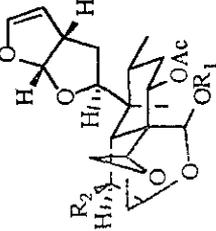
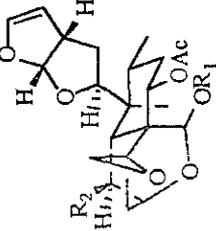
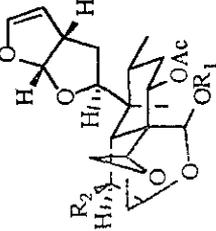
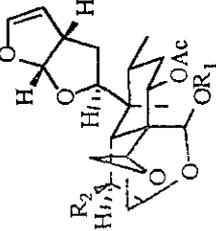
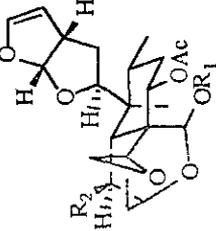
	<p>R= OAc R= H</p> <p>Δ 11,12 (<i>trans</i>)</p>	<p>escuterylulactona A (64) escutelona F (5)</p>	<p>39 19</p>
		<p>galeuculina (15)</p>	<p>23</p>

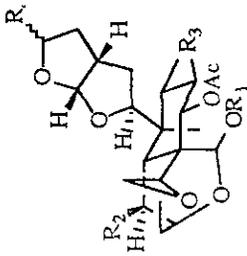
	$R_1 = (2\text{'-Me)Bu}$ $R_2 = \text{OAc}$ $R_3 = R_4 = \text{H}$	escutalpina A (22)	27
	$R_1 = \text{Tig}$ $R_2 = R_4 = \text{H}$ $R_3 = \text{OAc}$	escutalpina D (25)	28
	$R_1 = \text{Bz}$ $R_2 = R_4 = \text{H}$ $R_3 = \text{OAc}$	escutalpina G (35)	31
	$R_1 = \text{Ac}$ $R_2 = \text{OAc}$ $R_3 = R_4 = \text{H}$	escutalpina F (26)	29
	$R_1 = \text{iBu}$ $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$	escutorientalina A (51)	37
	$R_1 = \text{iBu}$ $R_2 = R_3 = \text{H}$ $R_4 = \text{OH}$	escutorientalina C (53)	37
	$R_1 = \text{iBu}$ $R_2 = R_4 = \text{H}$ $R_3 = \text{OAc}$	escutorientalina D (66)	40
	$R_1 = \text{Tig}$ $R_2 = R_4 = \text{H}$ $R_3 = \text{OH}$	11-desacetil-escutalpina D (67)	41
	$R_1 = R_3 = \text{OAc}$ $R_2 = \text{Tig}$ $R_4 = R_6 = \text{H}$ $R_5 = \text{OH}$	escutalpina B (23)	28
	$R_1 = \text{OAc}$ $R_2 = \text{Tig}$ $R_3 = R_5 = \text{OH}$ $R_4 = R_6 = \text{H}$	escutalpina C (24)	28
	$R_1 = R_3 = R_5 = R_6 = \text{H}$ $R_2 = \text{Ac}$ $R_4 = \text{OH}$	2 α -hidroxijugarina V (32)	11
	$R_1 = R_2 = R_3 = R_5 = R_6 = \text{H}$ $R_4 = \text{OH}$	2 α -hidroxí-desacetiljugarina V (33)	11
	$R_1 = R_3 = \text{OAc}$ $R_2 = (2\text{'-Me)Bu}$ $R_4 = R_6 = \text{H}$ $R_5 = \text{OH}$	escutalpina H (36)	31
	$R_1 = R_3 = \text{OAc}$ $R_2 = \text{Bz}$ $R_4 = R_6 = \text{H}$ $R_5 = \text{OH}$	escutalpina I (37)	31
	$R_1 = \text{OAc}$ $R_2 = \text{Bz}$ $R_3 = R_4 = \text{H}$ $R_5 = \text{OH}$ $R_6 = \text{OBz}$	escutalpina L (38)	31
	$R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{iBu}$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_4 = R_6 = \text{H}$ $R_5 = \text{OH}$	escutorientalina B (52)	37
	$R_1 = R_5 = \text{OH}$ $R_2 = \text{Tig}$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_4 = R_6 = \text{H}$	compuesto III (30)	30

	$R_1 = \text{OH}$ $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{Bz}$ $R_3 = \text{OH}$ $R_4 = \text{OBz}$	escutedrumonina (34) escutebaicalfina (50)	11 36
	$R_1 = \text{Bz}$ $R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{Tig}$ $R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{Bz}$ $R_2 = \text{OBz}$	compuesto I (o escutalpina J) (28) compuesto II (29) compuesto IV (o escutalpina K) (31)	30,31 30 30,31

	$R_1 = R_3 = \text{OAc}$ $R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$ $R_1 = R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$ $R_1 = R_2 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$	$R_2^* = \text{OH}$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_2 = \beta\text{OEt}$ $R_2 = \alpha\text{OEt}$ $R_2^* = \text{OH}$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_2 = \beta\text{OH}$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_3 = \text{OAc}$ $\Delta 14,15$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_3 = \text{OAc}$ $R_3 = \text{OH}$ $R_3 = \text{OAc}$	escutalpin A escutalpin A clerodina† compuesto 3 compuesto 4 compuesto 6 dihidroclerodina-1† 14-hidro-15β-hidroxiclerodina† (39) (44) (61) (54) (55) (56) (62) (63)	31 34 35,38 38 38 38 38 38
			escutebarbatina A (43)	14
			escutalpin E (27)	29

	<p> $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = \text{Ac}$ $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{Ac}$ $R_1 = \text{OH}$ $R_2 = (3^m\text{-OH})\text{Bu}$ </p>	<p> escupontina A (68) escupontina B (69) escupontina E (72) </p>	<p>42 42 42</p>
	<p> $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{Ac}$ $R_3 = \text{H}$ $R_1 = \text{H}$ $R_2 = \text{Ac}$ $R_3^* = \text{OH}$ $R_1 = \text{H}$ $R_2 = (3^m\text{-OH})\text{Bu}$ $R_3^* = \text{OH}$ </p>	<p> escupontina C (70) escupontina D (71) escupontina F (73) </p>	<p>42 42 42</p>

		escupontina G (74)	42
	$R_1 = \text{Ac}$ $R_2 = \text{H}$	jodrelina A (11)	22
	$R_1 = \text{iBu}$ $R_2 = \text{H}$	jodrelina B (12)	22
	$R_1 = \text{Ac}$ $R_2 = \text{OTig}$	jodrelina T (13)	23
	$R_1 = (2\text{'-Me})\text{Bu}$ $R_2 = \text{H}$	escatecolummina A (16)	24
	$R_1 = R_2 = \text{H}$	escatalbina A (47)	35,38
	$R_1 = \text{Tig}$ $R_2 = \text{H}$	escategrosina A (75)	43

	R ₁ = Ac	R ₂ = OTig	R ₁ =R ₄ = H	14,15-dihidrojoelreina T	(14)	23
	R ₁ = (2-Me)Bu	R ₂ =R ₃ =R ₄ = H		escutecolumbina B	(17)	24
	R ₁ =R ₂ =R ₃ =R ₄ = H			escutecolumbina C	(18)	24
	R ₁ = Tig	R ₂ =R ₄ = H	R ₃ = OTig	escutegalina A	(19)	25
	R ₁ = Tig	R ₂ =R ₃ =R ₄ = H		escuteciprina	(21)	26
	R ₁ =R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH		escutaltisina	(42)	33
	R ₁ = Tig	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH	escuteciprol B	(45)	34
	R ₁ = Bu	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH	ecutalsina	(46)	35
	R ₁ = (2-Me)Bu	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH	escutalbina B	(48)	35
	R ₁ =R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH		escutalbina C	(49)	35
	R ₁ = Et	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ = βOEt	compuesto 9	(57)	38
	R ₁ = Et	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ = αOEt	compuesto 10	(58)	38
	R ₁ = Et	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH	compuesto 11	(59)	38
	R ₁ = Ac	R ₂ =R ₃ = H	R ₄ [*] = OH	compuesto 12	(60)	38
R ₁ = OH			escutegalina B [*]	(20)	25	
R ₁ = OTig			escutegalina C [*]	(40)	32	
R ₁ = H			escutegalina D [*]	(41)	32	

Notas:

* Mezcla epimérica

† Compuestos aislados también de otros géneros

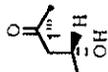
Ac= acetilo



(2'-Me)Bu= 2'-metilbutirollo



(3''-OH)Bu= 3''-hidroxibutirollo



Ibu= isobutirollo



Nic= nicotírollo



Tig= tigírollo



Bz= benzírollo



En México hay pérdidas importantes debido al ataque de plagas e insectos como *Spodoptera frugiperda* (gusano cogollero del maíz), entre otros, por lo que es importante en nuestro país la investigación en el área de productos naturales en búsqueda de compuestos con actividad antialimentaria, ya que representan un método más seguro para la protección de cultivos y granos almacenados.

Por otra parte, acerca de la revisión presentada en la tabla 1, se pueden hacer las siguientes observaciones:

Del total de especies estudiadas hasta ahora, se han aislado en total 75 diterpenos con esqueleto de *neo*-clerodano. Todos, excepto tres, son compuestos descritos exclusivamente para el género *Scutellaria*; de éstos, 3 provienen de la especie originaria de México¹¹, 4 de una especie proveniente de Japón³⁰, 11 de dos especies originarias de Nepal^{38,43}, 14 fueron aislados de especies originarias de China^{14,16-21,36,39} y los 43 restantes fueron aislados de especies provenientes de Europa^{22-29,31-35,37,40-42}.

Los tres *neo*-clerodanos denominados: clerodina (61), dihidroclerodina (62) y 14-hidro-15 β -hidroxiclerodina (63) aislados de *S. discolor* Colebr.³⁸ no son exclusivos del género *Scutellaria* ya que han sido aislados también del género *Clerodendrum* (*Verbenaceae*), entre otros⁴⁶.

Todos estos compuestos poseen diversos patrones de oxigenación, sin embargo, desde el punto de vista quimiotaxonomico es posible señalar ciertas tendencias, las cuales permiten hacer algunas generalizaciones sobre éstos, tomando como referencia los patrones de oxigenación que más sobresalen en sus estructuras.

De acuerdo con lo anterior, se hará un mayor énfasis en las diferencias observadas entre los diterpenos aislados de especies chinas y los aislados de el resto de las especies estudiadas hasta la fecha, casi todas de origen europeo; haciendo también algunos comentarios acerca de la única especie mexicana que ha sido estudiada:

a) De los 55 diterpenos aislados exclusivamente de *Scutellaria spp.* de origen japonés, nepalense y europeo, 35 poseen en la cadena lateral unida a C-9 una función tetrahydrofurano (3), tetrahydrofurofurano (22) ó furofurano (10), de éstos: 23 poseen además otra función 19-2 α hemiacetalica, 6 también presentan las posiciones C-2 y -19 oxidadas, pero sin formar un puente entre éstas y los 6 restantes presentan oxidación en la posición C-19 más no en la posición C-2

Del resto de los compuestos, 19 también presentan oxidación en la posición C-19. Es decir, de los 55 diterpenos, 54 presentan oxidación en esta posición y 29 en C-2.

En general, para estos compuestos se tiene presencia de funciones tetrahidrofurano, tetrahidrofurofurano y furofurano en el 64% aproximadamente, así como la posición C-19 oxidada casi en el 100%, de los cuales el 42% forman una función 19-2 α hemiacetálica, resultando en un 53% aproximadamente del total con la posición C-2 oxidada.

De lo anterior, se puede decir que éstas son características predominantes y compartidas por las estructuras de los diterpenos aislados de la especie provenientes de Japón, Nepal y Europa hasta ahora estudiadas.

b) Hasta la fecha se han aislado 14 compuestos de *Scutellaria spp.* de origen chino en los que las características señaladas anteriormente están totalmente ausentes, siendo evidente la diferencia en su patrón de oxidación.

En ninguno de estos compuestos (1-10, 43, 50, 64 y 65) se encuentran funciones furanoide, ni están oxidadas las posiciones C-2 y -19, por lo tanto ninguno presenta una función 19-2 α hemiacetálica. En cambio, 12 presentan la posición C-3 oxidada (80%) y todos ellos muestran una función butanólida ó butenólida α, β insaturada en las posiciones C-15 y -16.

c) En México se inició la investigación del género *Scutellaria* con el estudio de la especie denominada *S. drummondii* Benth.¹¹, de la cual se obtuvieron tres diterpenos (32-34), cuyos principales rasgos estructurales son la falta tanto de una función furanoide como del sustituyente oxigenado en la posición C-19 y por ende de la función 19-2 α -hemiacetálica, aunque cabe señalar que la posición C-2 si está oxidada. Así mismo es importante señalar también la presencia de una función butenólida α, β insaturada entre las posiciones C-15 y -16.

En general, las características mostradas por las estructuras de estos compuestos son compartidas por algunos de los aislados de las especies chinas *S. rivularis* Wall.^{16-21,39} (1-10, 64 y 65) y *S. baicalensis*³⁶ (50), lo cual los relaciona estructuralmente hablando y los hace diferir de los demás diterpenos hasta ahora descritos.

Lo anterior nos habla, en principio, de una posible relación entre las especies chinas y mexicanas pertenecientes al género *Scutellaria*, siendo evidente la necesidad de apoyarse en un mayor conocimiento del contenido de este tipo de metabolitos secundarios en especies de ambos orígenes.

En general, falta mucho por investigar acerca de éste género, ya que a la fecha sólo se ha estudiado, aproximadamente, menos del 4 % del total de especies pertenecientes al género *Scutellaria*.

Sin embargo y no obstante lo poco que ha sido estudiado éste género, resalta su importancia al abrirse la posibilidad de que pueda ser una fuente productora de sustancias con actividad antialimentaria contra insectos.

El presente trabajo incluye el estudio del extracto acetónico de las partes aéreas de las especies denominadas *Scutellaria caerulea* Moc. et Sessé y *Scutellaria guatemalensis* Leon., las cuales fueron recolectadas en el estado de Puebla, México.

Del estudio de estas especies se obtuvieron diferentes metabolitos secundarios; la forma en que se elucidaron sus estructuras se presenta a continuación, tratándose con mayor énfasis aquellos que no están descritos en la literatura. El orden en que serán presentados corresponde al orden en el que fueron obtenidos durante el trabajo experimental realizado.

Elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados de *Scutellaria caerulea* Moc. et Sessé.

Elucidación estructural de escuteruleína C

El primer compuesto aislado no está descrito en la literatura y se le denominó **escuteruleína C**. Este compuesto es un sólido cristalino incoloro con punto de fusión: 120-122° (cristalizado de benceno, 44.1 mg), cuya estructura corresponde a una (11S)-6 α -acetoxi-7 β ,11-disobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),13(14)-*neo*-clerodadien-15,16-ólida, establecida con base en el análisis de sus propiedades espectroscópicas:

En el espectro de masas de este compuesto se observa un ión molecular M⁺ 564 *m/z* que corresponde a una fórmula molecular de C₃₀H₄₄O₁₀; a partir de éste se calculan nueve insaturaciones.

El espectro de IR muestra bandas características para grupos hidroxilo centradas en 3585 cm⁻¹. Se propone la presencia de una γ -lactona α,β -insaturada, β -sustituída que presenta resonancia de Fermi⁴⁷ al observarse una banda débil en 1783 cm⁻¹ y otra muy intensa en 1747 cm⁻¹. Debido a la intensidad de ésta última y a la presencia de otras bandas de intensidad moderada en 1251 y 1148 cm⁻¹ se infiere la presencia también de ésteres de naturaleza alifática.

En 1643 cm⁻¹ se observa una banda que se atribuye al doble enlace conjugado de la γ -lactona mencionada, así como también a un metileno exocíclico; la presencia de éste último se confirma al observarse su banda complementaria^{36,48} en 893 cm⁻¹. En 1389 y 1371 cm⁻¹ se observan bandas características de un grupo isopropilo.

El espectro de UV confirma la presencia de la γ -lactona α,β -insaturada⁴⁸ al observarse en éste una banda situada en $\lambda= 202.3 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4.307$)

Los diferentes ésteres presentes en la molécula se determinan a partir del espectro de masas al observarse picos importantes en m/z 43 y 71, siendo el primero incluso el pico base, estos corresponden a los fragmentos de los grupos acilo de ésteres derivados de los ácidos acético e isobutírico, respectivamente.

Lo anterior se apoya en el espectro de RMN¹H (espectros 1 y 1a) al observarse las siguientes señales: una situada en 1.95 ppm (*s*, 3H), característica de un grupo acetato, dos en 2.60 (*sept*, $J= 7.0 \text{ Hz}$, 1H) y 2.55 ppm (*sept*, $J= 7.0 \text{ Hz}$, 1H) y cuatro en 1.22 (*d*, $J= 7.0 \text{ Hz}$, 3H), 1.18 (*d*, $J= 7.0 \text{ Hz}$, 3H), 1.16 (*d*, $J= 7.0 \text{ Hz}$, 3H), 1.14 ppm (*d*, $J= 7.0 \text{ Hz}$, 3H) características de dos grupos isobutirato.

En este mismo espectro se observa un sistema ABX situado en 4.83 (*dd*, $J= 2.0$ y 17.5 Hz , 1H), 4.63 (*dd*, $J= 2.0$ y 17.5 Hz , 1H) y 5.81 ppm (*m*, 1H); la parte AB se asigna a los protones diastereotópicos del carbono del cierre de la lactona y la parte X al protón vecino al grupo carbonilo de esta misma función. (ver fig. 1)

El espectro PND de ¹³C (espectro 2) apoya lo anterior al observarse las señales correspondientes en 73.1 (*t*) y 116.7 ppm (*d*), las cuales son asignadas por medio del espectro HMQC (espectro 4c)

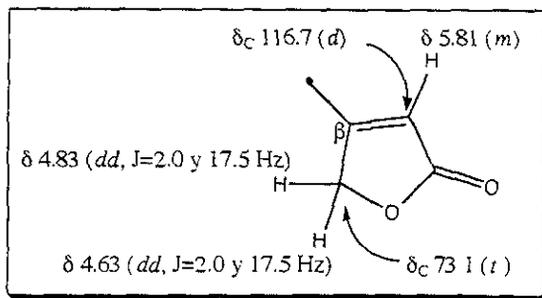


fig. 1. Estructura parcial de escutuleína C

La asignación de estas señales está de acuerdo con su desplazamiento químico y el valor de las constantes de acoplamiento según datos en la literatura^{32,41} para funciones de este tipo

La sustitución en la posición β se apoya principalmente en las siguientes evidencias:

a) Los desplazamientos químicos, tanto en ^1H como en ^{13}C de la parte X, son consistentes para tal efecto; de ser la sustitución en α se observarían hacia campos más bajos que los mostrados⁴⁹.

b) El valor de la constante de acoplamiento de la parte AB con la parte X (2.0 Hz) está de acuerdo con un acoplamiento tipo alílico como resultado de la sustitución en β , este valor tendría que ser mayor⁵⁰ si la sustitución fuera en la posición α .

En el espectro de RMN ^1H (espectros 1 y 1a) se observa otro sistema ABX ubicado en 3.38 (dd, $J= 10.5$ y 15.5 Hz, 1H), 3.19 (da, $J= 15.5$ Hz, 1H) y 5.76 ppm (dd, $J= 1.5$ y 10.5 Hz, 1H).

En el espectro HMBC (espectro 5a) se observa que la parte AB de este sistema correlaciona con la señal en 73.1 ppm asignada al C- γ de la lactona, tomando en cuenta que en este espectro sólo se observan acoplamientos C-H a dos y tres ligaduras⁵¹ además de las evidencias arriba señaladas, se propone que todo el sistema forma parte del sustituyente ubicado en la posición β de dicha función.

El desplazamiento químico de la parte X de este mismo sistema (5.76 ppm) indica un efecto desprotector para el protón correspondiente, es decir, debe estar vecino a un grupo electronegativo, por lo que se asigna a un protón en posición geminal a alguno de los ésteres (fig. 2); esto se ve apoyado por la señal perteneciente al átomo de carbono al cual tanto el éster como el protón se encuentran unidos, la cual se observa en el espectro de ^{13}C en 74.2 ppm (d, espectro 4c).

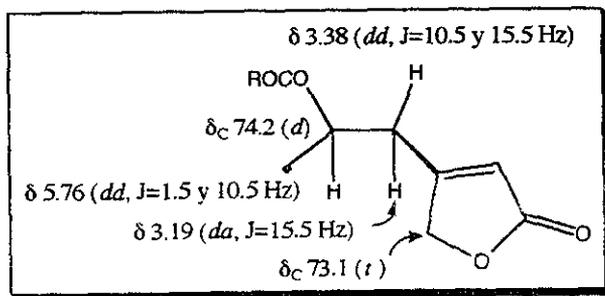


fig. 2 Estructura parcial de escutuleína C

Por otro lado, se observan dos señales en 4.69 (*d*, $J = 1.0$ Hz, 1H) y 4.62 ppm (*sa*, 1H), ambas correlacionan en el espectro HMQC (espectro 4c) con la señal ubicada en 105.6 ppm (*t*), por lo que se asignan a los hidrógenos en posición *gem* de un doble enlace disustituido como se muestra en la figura 3:

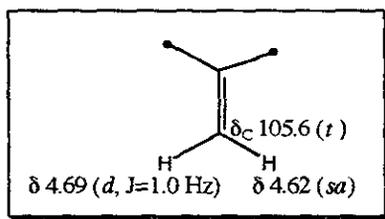


fig. 3 Estructura parcial de escuteruleína C

Este doble enlace constituye el metileno exocíclico evidenciado por el espectro de IR.

En el espectro de ^{13}C se observan seis señales singulete para carbonos sp^2 en 176.1, 175.8, 173.9, 170.5, 168.1 y 152.2 ppm; las cuales corresponden, las dos primeras a los carbonos carbonílicos de los grupos isobutirato, la tercera al de la γ -lactona, la cuarta al del grupo acetato; la quinta y la sexta se asignan, basándose en sus correlaciones mostradas en el espectro HMBC (ver fig. 11 y espectros 5d y f), al carbono β de la lactona y al carbono totalmente sustituido del metileno exocíclico, respectivamente.

En 3.56 ppm (*d*, $J = 1.5$ Hz, 1H) se observa una señal que se intercambia con D_2O , a la vez se afina el triplete de dobletes ancho situado en 4.27 ppm ($J = 4.0$ y 10.0 Hz, 1H); la señal correspondiente para éste mismo en ^{13}C se observa en 67.3 ppm (*d*). De acuerdo con estos datos, la señal ubicada en 4.27 ppm se asigna a un protón en posición geminal a un hidroxilo secundario.

Esta misma señal en el espectro COSY (espectro 3) correlaciona con las que se observan en 2.09 (*d*, $J = 10.0$ Hz, 1H), 1.53 (*m*, 1H) y 2.21 ppm (*m*, 3H), a su vez estas dos últimas correlacionan fuertemente entre sí, por lo que se propone la siguiente estructura parcial:

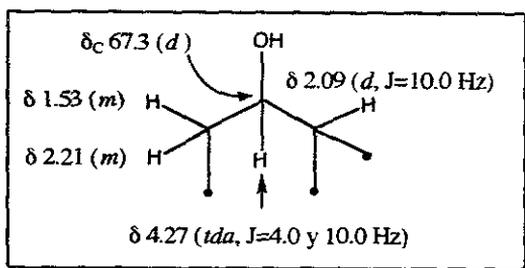


fig. 4 Estructura parcial de escuteruleína C.

Con respecto al múltiplete centrado en 2.21 ppm, cabe señalar que se intercambia sólo parcialmente con D₂O, por lo que sufre una modificación y la integración cambia a 2H, por lo tanto se deduce que ahí se ubica una señal para otro grupo hidroxilo; por otro lado, por las correlaciones mostradas en el espectro COSY (espectro 3a) es posible saber que ahí mismo están superpuestas las señales para otros dos hidrógenos diferentes, uno de los cuales es el que está acoplado con el geminal al hidroxilo como se señaló anteriormente (fig. 4).

En el espectro de ¹H, se observa otro sistema AB en 5.61 (*d*, *J*= 10.5 Hz, 1H) y 5.39 ppm (*d*, *J*= 10.5 Hz, 1H), cuyas señales en ¹³C se ubican en 72.1 (*d*) y 74.5 ppm (*d*), respectivamente (espectro 4c); estos desplazamientos químicos (tanto en ¹H como en ¹³C) se explican si se ubica un éster geminal a cada parte de dicho sistema. (fig. 5)

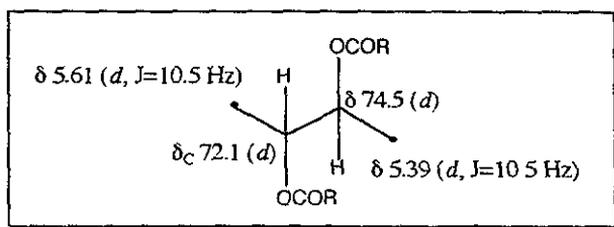


fig 5 Estructura parcial de escuteruleína C

En el espectro HMBC (espectro 5b), la señal en 72.1 ppm correlaciona con la de un grupo metilo ubicada en 1.31 ppm (*s*, 3H) y con la del hidrógeno observada en 2.09 ppm (ver fig. 4), la señal en 74.5 ppm correlaciona con la de otro grupo metilo situada en 1.33 ppm (*s*, 3H), por lo que se propone la extensión de la figura parcial anterior a la siguiente:

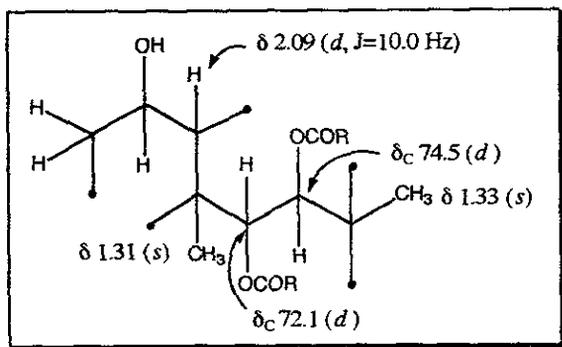


fig. 6. Estructura parcial de escuteruleina C.

Por otro lado, en el espectro HMBC (espectros 5d-f) la señal en 152.2 ppm (*s*), asignada a uno de los átomos de carbono del doble enlace *gem*-disustituido, correlaciona con las señales ubicadas en 1.31, 2.09 y 5.61 ppm de la figura anterior, así como también con las que se observan en 2.42 (*td*, $J = 5.0$ y 14.0 Hz, 1H) y 2.21 ppm (*m*, 3H).

Las dos últimas señales, según el espectro HMQC (espectro 4b), forman parte de un metileno puesto que ambas correlacionan con la señal observada en 31.2 ppm (*t*) aparte de correlacionar entre sí en el espectro COSY (espectro 3a). Por lo que se llega a la siguiente estructura parcial:

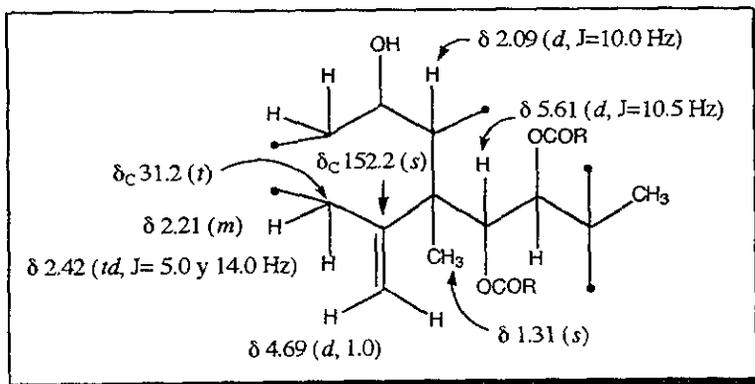


fig. 7 Estructura parcial de escuteruleina C.

Esto a su vez explica la correlación mostrada en el espectro COSY (espectro 3) de la señal en 2.42 ppm con la correspondiente a uno de los hidrógenos del doble enlace presente en la misma estructura (4.69 ppm, *d*, $J = 1.0$ Hz).

Se propone que la estructura anterior forma parte de un sistema bicíclico con base en lo siguiente:

a) De acuerdo al número de insaturaciones calculado para este compuesto, con las de los tres ésteres y la γ -lactona α,β -insaturada se justifican seis de ellas, las tres que faltan se explican precisamente con la presencia en la estructura del compuesto de dos anillos, localizándose en uno de ellos el metileno exocíclico.

b) Si se tienen en cuenta los valores de las constantes de acoplamiento de los sistemas AB ubicados en 5.61 y 5.39 ppm ($J= 10.5$ Hz), y en 4.27 y 2.09 ppm ($J= 10.0$ Hz) se puede decir que ambas están de acuerdo para una interacción *trans-diaxial* al formar parte de un anillo de seis miembros, por lo que se propone que todo forme parte de un sistema decalínico, con una conformación de silla para ambos anillos⁴⁸.

c) En el espectro COSY (espectro 3a), las señales ubicadas en 2.42 y 2.21 ppm aparte de estar correlacionando entre sí, ambas lo hacen también con el multiplete centrado en 1.53 ppm (1H); además queda justificada la multiplicidad de la señal en 2.42 ppm. Cabe señalar que en el multiplete centrado en 2.21 ppm (3H, RMN $^1\text{H}+\text{D}_2\text{O}$: 2H) deben estar superpuestas las señales para un H-2 y un H-3 de la decalina.

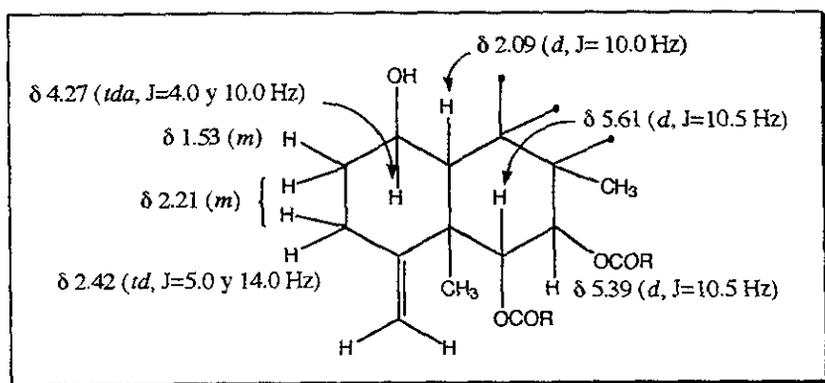


fig. 8 Estructura parcial de escuterulefina C

La propuesta de este sistema bicíclico está de acuerdo con toda la discusión anterior y con base en el tipo de compuestos aislados hasta el momento de las diversas especies de *Scutellaria* estudiadas hasta ahora (ver tabla 1), se postula que la estructura completa de este compuesto debe pertenecer al grupo de los diterpenos con esqueleto de clerodano.

Los dos sustituyentes que faltan en la posición 9 del sistema decalínico, deben ser, uno el que constituye la cadena lateral representada por la estructura parcial que contiene la γ -lactona α, β -insaturada (fig. 2); y el otro un grupo metilo, cuya señal se observa en 1.0 ppm (*s*, 3H).

El sustituyente que falta en la posición 8 debe ser el otro grupo hidroxilo previamente mencionado, con el que además se completa la fórmula molecular de este compuesto. La ubicación de este grupo se confirma por la multiplicidad y el desplazamiento químico del grupo metilo que se encuentra en esa misma posición (1.33 ppm, *s*, 3H) (fig. 9).

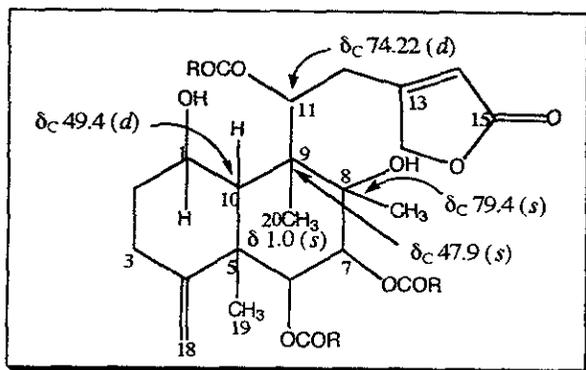


fig 9 Estructura parcial de escuteruleína C.

Las correlaciones observadas en el espectro HMBC (espectro 5b) entre la señal de C-11 (74.2 ppm, *d*) con las de H-10 (2.09 ppm, *d*, $J = 10.0$ Hz) y CH₃-20 (1.0 ppm, *s*) confirman la ubicación de ambos sustituyentes en la posición 9, refiriéndose ya a la numeración aceptada para los clerodanos⁶.

A su vez, la señal de CH₃-20 junto con la de H-11 (5.76 ppm, *dd*, $J = 1.5$ y 10.5 Hz) correlacionan con las observadas en 49.4 (*d*), 47.9 (*s*) y 79.4 ppm (*s*) pertenecientes a C-10, -9 y -8, respectivamente (espectros 5b y c).

La asignación de C-10 se basa en el espectro HMQC y la de C-8 en su desplazamiento químico, el cual está de acuerdo para un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno.

Según la discusión anterior, los ésteres se encuentran en las posiciones 6, 7 y 11; por medio de las correlaciones C-H a tres ligaduras, observadas en el espectro HMBC (espectro 5f), entre H-6, -7 y -11 y los carbonos carbonílicos de los diferentes ésteres se distinguió en que posición se encuentran cada uno de ellos.

Por ejemplo: la señal centrada en 5.61 ppm perteneciente a H-6 correlaciona con la señal ubicada en 170.5 ppm, que pertenece al carbonilo de un grupo acetato, por lo que se establece que éste se encuentra en la posición 6. De la misma forma se determina que en las posiciones 7 y 11 se ubican los dos grupos isobutirato (ver tabla 2).

Posición	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
6	5.61 correlaciona con:	170.5 (-COCH ₃)
7	5.39 correlaciona con:	176.1 (-COC ₃ H ₇)
11	5.76 correlaciona con:	175.8 (-COC ₃ H ₇)

Tabla 2. Algunas correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escuteruleína C.

En la siguiente figura se muestra la estructura total para este compuesto y en las tablas 3 y 4 las señales correspondientes en ^1H y ^{13}C . En la figura 11 se muestran las correlaciones más importantes observadas en el espectro HMBC.

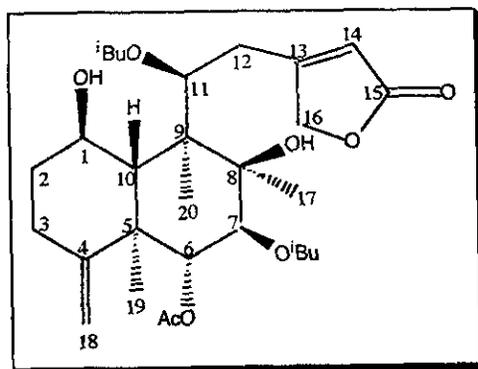


fig 10 Escuteruleína C

Tabla 3. RMN ¹H de escuterulefina C (fig. 10)

H	δ (ppm)	J (Hz)	H	δ (ppm)	J (Hz)
1	4.27 tda	4.0, 10.0	3H-17	1.33 s	-
2βax	1.53 m	-	18 pro E	4.69 d	1.0
2αec	2.21 m†	-	18 pro Z	4.62 sa	-
3αax	2.42 td	5.0, 14.0	3H-19	1.31 s	-
3βec	2.21 m†	-	3H-20	1.00 s	-
6	5.61 d	10.5	CH ₃ COO-	1.95 s	-
7	5.39 d	10.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.22 d	7.0
10	2.09 d	10.0	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.18 d	7.0
11	5.76 dd	1.5, 10.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.16 d	7.0
12A	3.38 dd	10.5, 15.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.14 d	7.0
12B	3.19 da	15.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	2.60 sept	7.0
14	5.81 m	-	(CH ₃) ₂ CHCOO-	2.55 sept	7.0
16 pro S	4.83 dd	2.0, 17.5	OH	3.56 d*	1.5
16 pro R	4.63 dd	2.0, 17.5	OH	2.23 sa*	-

(†) señales encimadas

(*) señal que se intercambia con D₂O

CDCl₃, TMS, 500 MHz

Tabla 4. RMN ^{13}C de escutuleína C (fig. 10)

C	δ (ppm)	C	δ (ppm)
1	67.3 <i>dt</i>	16	73.1 <i>t</i>
2	36.3 <i>t</i>	17	23.2 <i>c</i>
3	31.2 <i>t</i>	18	105.6 <i>t</i>
4	152.2 <i>s</i>	19	16.7 <i>c</i>
5	45.4 <i>s</i>	20	16.4 <i>c</i>
6	72.1 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	21.1 <i>c</i>
7	74.5 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.5 <i>s</i>
8	79.4 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	19.2 <i>c</i>
9	47.9 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	19.0 <i>c</i>
10	49.4 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	18.9 <i>c</i>
11	74.2 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	18.7 <i>c</i>
12	33.5 <i>t</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	34.3 <i>d</i>
13	168.1 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	34.1 <i>d</i>
14	116.7 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	176.1 <i>s</i>
15	173.9 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	175.8 <i>s</i>

(\dagger) la multiplicidad fué determinada a partir del espectro DEPT CDCl_3 , TMS; 125 MHz.

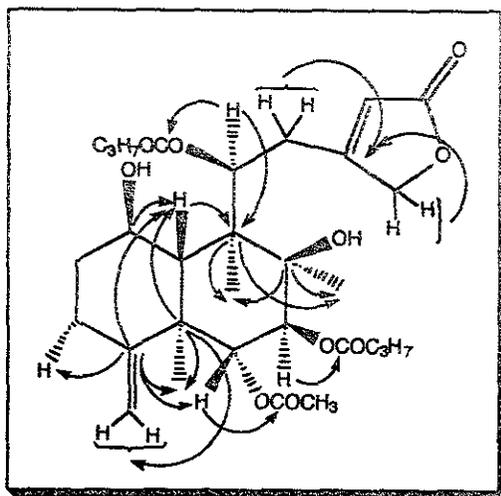


fig. 11. Principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escutulerina C

La estereoquímica señalada fué determinada basándose en datos de RMN ^{13}C , así como en el experimento NOESY, el cual ha sido ampliamente utilizado con éste propósito en compuestos orgánicos⁵⁰.

Para los compuestos diterpenoides de tipo clerodano, los desplazamientos químicos de CH_3 -19 y -20 en RMN ^{13}C son especialmente útiles en la determinación del tipo de fusión de los anillos A/B^{49,52}. En éste compuesto las señales para dichos grupos se observan en 16.7 (c) y 16.4 ppm (c), respectivamente; por lo que se establece que la fusión de dichos anillos A/B es *trans*.

En el espectro NOESY (espectro 6b) se logran observar las siguientes interacciones: para H-7 (5.39 ppm, *d*, $J= 10.5$ Hz) con los protones de los grupos metilos de las posiciones 17 (1.33 ppm, *s*), 19 (1.31 ppm, *s*) y 20 (1.0 ppm, *s*), a su vez éstos dos últimos interaccionan con H-1 (4.27 ppm, *tda*, $J= 4.0$ y 10.0 Hz).

Por otro lado, H-10 (2.09 ppm, *d*, $J= 10.0$ Hz) interacciona con H-6 (5.61 ppm, *d*, $J= 10.5$ Hz).

Lo anterior implica que H-1, -7, CH_3 -17, -19 y -20 están en el mismo lado con respecto al plano de la molécula y en el lado contrario H-6 y -10, lo que a su vez confirma la fusión de los anillos señalada. (fig. 12)

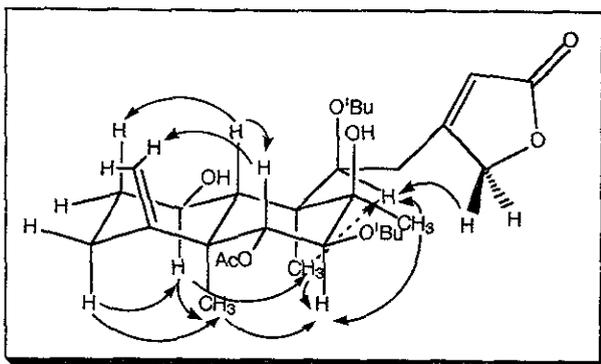


fig. 12 Principales interacciones H-H observadas en el espectro NOESY de escuteruleína C.

Ya que H-11 (5.76 ppm, *dd*, $J = 1.5$ y 10.5 Hz) muestra interacciones con CH₃-17 y -20, se establece una configuración *S* en C-11.

La señal para H-11 también correlaciona con otra ubicada en 4.83 ppm (*dd*, $J = 2.0$ y 17.5 Hz), correspondiente a uno de los hidrógenos de la posición 16, lo que permite distinguir a éste último como *pro S* y al otro (4.63 ppm, *dd*, $J = 2.0$ y 17.5 Hz) como *pro R* (espectro 6d).

Es posible distinguir los hidrógenos del metileno exocíclico ubicados en 4.62 (*sa*) y 4.69 ppm (*d*, $J = 1.0$ Hz) como *pro Z* y *pro E*, respectivamente, en vista de que el primero de ellos en este mismo espectro muestra una interacción importante con H-6 (5.61 ppm, *d*, $J = 10.5$ Hz).

La señal que se observa en 2.42 ppm (*td*, $J = 14.0$ y 5.0 Hz, 1H), se asigna como ya se ha discutido a uno de los hidrógenos de la posición 3; más específicamente, de acuerdo al valor de las constantes de acoplamiento, se asigna a H-3 α *axial*, debiendo por lo tanto permanecer del mismo lado del plano de la molécula que H-1 y CH₃-19, lo cual se corrobora en el espectro NOESY (espectros 6a y c).

El multiplete centrado en 1.53 ppm (1H), asignado a uno de los hidrógenos de la posición 2, pertenece concretamente a H-2 β *axial*, basándose en la interacción importante con H-10 mostrada en el espectro 6a.

De lo anterior, se infiere que las señales para H-2 α y H-3 β *ecuatoriales* son las que se encuentran superpuestas en el multiplete centrado en 2.21 ppm

De acuerdo con toda la discusión anterior, el nombre semisistemático para este compuesto es (11*S*)-6 α -acetoxi-7 β ,11-disobutiroyloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),13(14)-*neo*-clerodadien-15,16-*ólida*

Elucidación estructural de escuteruleína A

El segundo compuesto aislado tampoco está descrito en la literatura, se le denominó **escuteruleína A**; es un sólido cristalino incoloro con punto de fusión: 130-133° (cristalizado de acetona-benceno, 191.6 mg), cuyo análisis espectroscópico permitió establecer su estructura como una (13*R*)-1 β ,6 α ,7 β -triacetoxi-11 β -benzoiloxi-8 β ,13-epoxi-4(18)-*neo*-cleroden-15,16-*ólida*.

En el espectro de IR de este compuesto se observa una banda intensa en 1784 cm⁻¹ característica de una γ -lactona *espiro*^{29,41}; en 1744, 1731, 1244 y 1287 cm⁻¹ se observa un conjunto de bandas muy intensas propias de ésteres de naturaleza alifática y aromática⁵⁰. En 1641 y 919 cm⁻¹ se observan otras bandas que de nuevo indican la presencia de un metileno exocíclico^{36,48}.

Los diferentes ésteres presentes en la molécula se determinan por medio del espectro de masas, ya que en éste se observan picos importantes en *m/z* 43 y 105 (siendo éste último el pico base del espectro), que corresponden a los grupos acilo de ésteres del ácido acético y benzoico, respectivamente.

Lo anterior se confirma al observarse en el espectro de RMN ¹H (espectros 7 y 7a) tres señales en 1.79 (*s*, 3H), 1.98 (*s*, 3H) y 2.10 ppm(*s*, 3H) características de grupos acetato, y otras tres en 7.48 (*td*, J= 7.5 y 8.0 Hz, 2H), 7.60 (*tt*, J= 1.3 y 7.5 Hz, 1H) y 8.00 ppm (*dt*, J= 1.3 y 8.0 Hz, 2H) pertenecientes a los hidrógenos de un grupo benzoato.

En el espectro de UV se observan tres bandas en λ = 201 (log ϵ = 4.446), 228 (log ϵ = 4.226) y 272 (log ϵ = 3.061) nm, de acuerdo con datos en la literatura⁴⁸ éstas también confirman la presencia del grupo benzoato

En el espectro de ¹H se observa un sistema AB en 4.44 (*d*, J= 9.4 Hz, 1H) y 4.20 ppm (*d*, J= 9.4 Hz, 1H), el cual se asigna a los protones diastereotópicos del metileno vecino al átomo de oxígeno de la γ -lactona *espiro*^{28,41}.

Estas señales y la que se observa en 2.86 ppm (*sa*, 2H) correlacionan en el espectro HMBC (espectro 11e) con la de un grupo carbonilo ubicada en 174.0 ppm (*s*), la cual se asigna precisamente a la γ -lactona, por lo que se infiere que la señal en 2.86 ppm pertenece a los protones del metileno α de esta función. Además, el desplazamiento químico mostrado por esta señal es consistente para funciones de este tipo según datos en la literatura^{28,41}.

Las señales para C- α y - γ , según el espectro HMQC (espectros 10a y b), se ubican en 42.8 (*t*) y 79.2 ppm (*t*), respectivamente.

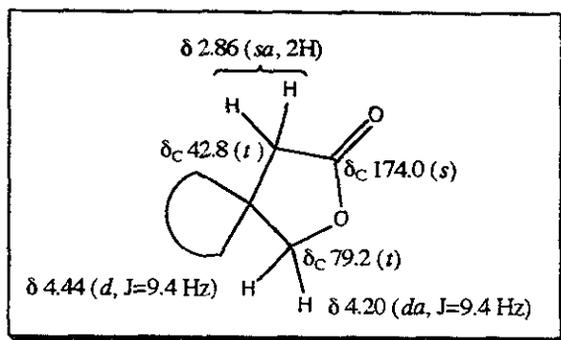


fig. 13. Estructura parcial de escutuleína A

Se observa otro sistema AB en 5.55 (*d*, $J=10.4$ Hz, 1H) y 5.33 ppm (*d*, $J=10.4$ Hz, 1H), las señales de los átomos de carbono a los cuales los protones de este sistema están unidos se observan en 72.5 (*d*) y 74.1 ppm (*d*) (ver espectro 10b), respectivamente; debido a los desplazamientos químicos de este conjunto de señales, se propone que cada átomo de hidrógeno de dicho sistema se encuentra en posición geminal a un éster, según se muestra en la figura 14.

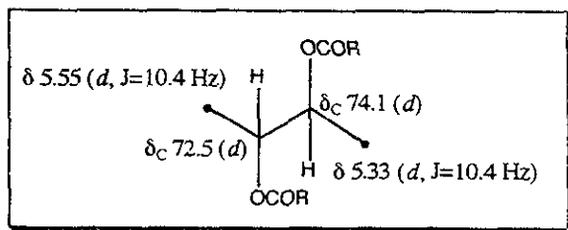


fig. 14. Estructura parcial de escutuleína A

En el espectro HMBC (espectros 11b y d) se observa que las señales de ^{13}C ubicadas en 72.5 y 74.1 ppm correlacionan con las pertenecientes a los grupos metilo que se ubican en 1.41 (*s*, 3H) y 1.39 ppm (*s*, 3H), respectivamente, por lo que la estructura de la figura 14 se extiende a la siguiente:

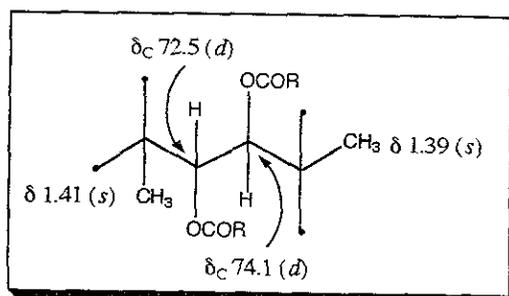


fig 15 Estructura parcial de escuteruleína A.

En el espectro de RMN ^1H se observan dos señales en 4.78 (*d*, $J= 1.4$ Hz, 1H) y 4.75 ppm (*sa*, 1H), mismas que se asignan a los protones de un doble enlace *gem*-disustituído, apoyándose en las correlaciones observadas en el espectro HMQC (espectro 10b) de ambas señales con la correspondiente a un carbono sp^2 situada en 106.5 ppm (*t*) y en el espectro HMBC (espectro 11e) con la que pertenece a otro carbono sp^2 observada en 150.9 ppm (*s*), entre otras (fig. 16).

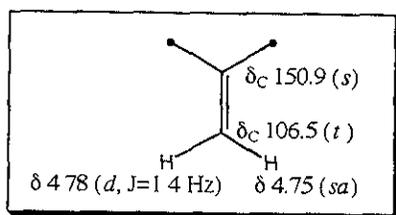


fig. 16 Estructura parcial de escuteruleína A.

Lo anterior es congruente con la presencia de un metileno exocíclico en la estructura completa del compuesto

La señal en 150.9 ppm en el mismo espectro HMBC (espectro 11e) también muestra una correlación con la que se observa en 5.55 ppm, previamente asignada (ver fig 14), por lo que se

propone que las estructuras de las figuras 15 y 16 se encuentren unidas como se muestra enseguida.

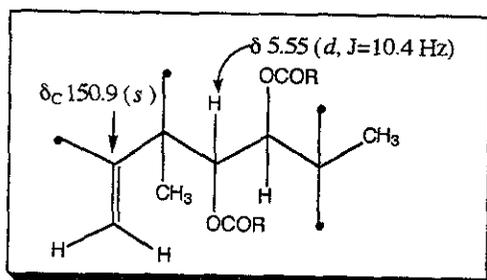


fig 17. Estructura parcial de escuteruleína A

Por otro lado, en el espectro PND de ^{13}C (espectro 8) se observan siete señales para átomos de carbonos unidos a átomos de oxígeno; de las cuales, cuatro pertenecen a los carbonos base de los ésteres, una más al carbono del cierre de la γ -lactona y las dos restantes se propone que formen parte de una unión éter.

Tomando en cuenta esto último, la presencia de una γ -lactona *espiro* y que la estructura parcial de la figura 17 es similar a una parte de la estructura del compuesto anteriormente descrito (fig. 10), se propone que este compuesto también sea un diterpeno con esqueleto de clerodano muy relacionado al primero, pero con la principal diferencia de que la cadena lateral se encuentra formando un tercer anillo justamente por medio de una unión éter entre C-8 y -13.

Lo anterior da origen a un compuesto *espiro* (fig. 18), lo cual es consistente con los antecedentes que hay sobre el género *Scutellaria* en este sentido (ver tabla 1).

Con base en fundamentos de tipo biogénico, se propone que en este compuesto, al igual que en la escuteruleína C, las posiciones C-1 y -11 también se encuentran oxidadas, por lo que en éstas se ubican los otros dos ésteres, como se muestra en la siguiente figura:

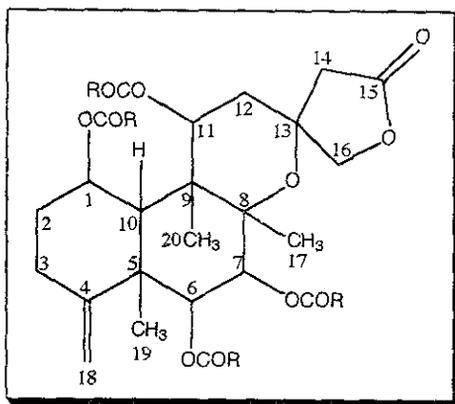


fig. 18 Estructura parcial de escuteruleína A

Los demás datos espectroscópicos disponibles para este compuesto apoyan totalmente la estructura propuesta en la figura anterior: en el espectro RMN ^1H se observan tres señales para grupos metilo, de las cuales solo falta por asignar la que se encuentra en 1.23 ppm (*sa*, 3H), que pertenece a CH_3 -20.

En el espectro de ^{13}C , de las siete señales que se observan para átomos de carbono unidos a átomos de oxígeno, dos se presentan como singuletes, cuatro como dobletes y una como triplete; éstas pertenecen a C-8, -13, -1, -6, -7, -11 y -16, respectivamente.

De estas señales las que faltan por asignar son las pertenecientes a C-1, -8, -11 y -13, que con base en el espectro HMBC (espectros 11a, b y d) son las que se observan en 71.7 (d), 84.0 (s), 74.6 (d) y 77.8 ppm (s), respectivamente, ver figura 20.

En el espectro de ^1H se observa en 5.59 ppm un multiplete bastante ancho que integra para dos hidrógenos, basándose en su desplazamiento químico y en sus correlaciones observadas en el espectro COSY (espectro 9a), se establece que en éste se encuentran superpuestas las señales para H-1 y -11.

Cabe mencionar que entre dichas correlaciones es posible observar que la parte del multiplete que se encuentra hacia campos más bajos correlaciona con la señal en 2.66 ppm (*sa*, 1H), la cual por su desplazamiento químico e integración pertenece a H-10, lo que confirma que en esta parte del multiplete se encuentra la señal para H-1.

En la figura siguiente se muestra la estructura completa para este compuesto:

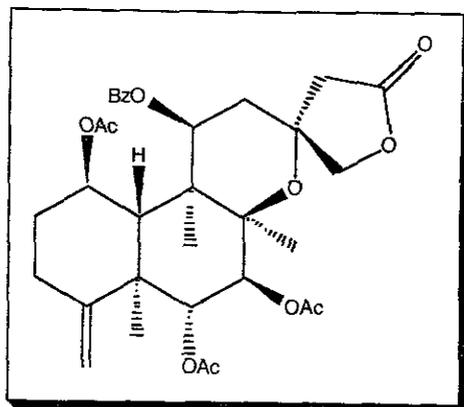


fig 19 Escuteruleína A.

La ubicación de los grupos acetato en las posiciones 6 y 7 se hizo procediendo de la misma forma que con la escuteruleína C, al observarse en el espectro HMBC (espectro 11e, fig. 20) las correlaciones a tres ligaduras entre los hidrógenos de dichas posiciones con los carbonos carbonílicos de los grupos acetato mostradas en la siguiente tabla:

Posición	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
6	5.55 correlaciona con:	169.9 ($-\text{COCH}_3$)
7	5.33 correlaciona con:	170.8 ($-\text{COCH}_3$)

Tabla 5 Algunas correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escuteruleína A.

Cabe señalar que la estereoquímica propuesta para este compuesto fué determinada de la misma forma que se hizo con el compuesto anterior como se explica más adelante, estableciéndose que los grupos éster ubicados en las posiciones 1 y 11 deben encontrarse en el plano β de la molécula.

En el modelo molecular Dreiding de este compuesto, se observa que al estar los grupos acetato y benzoato en dichas posiciones, surgen interacciones de tipo estérico entre ambos originando que haya cambios conformacionales en los anillos A y C.

Sin embargo, sólo si el grupo benzoato se encuentra en la posición C-11 es posible que los H-orto de éste interactúen con uno de los H-16, lo cual se observa en el espectro NOESY

(espectro 12). De acuerdo con ésto, se establece que dicho grupo benzoato ocupa la posición C-11 y por lo tanto el grupo acetato restante la posición C-1.

La asignación del total de las señales, tanto en ^1H como en ^{13}C , se muestra en las tablas 6 y 7 y las principales correlaciones observadas en el espectro HMBC se muestran en la figura siguiente

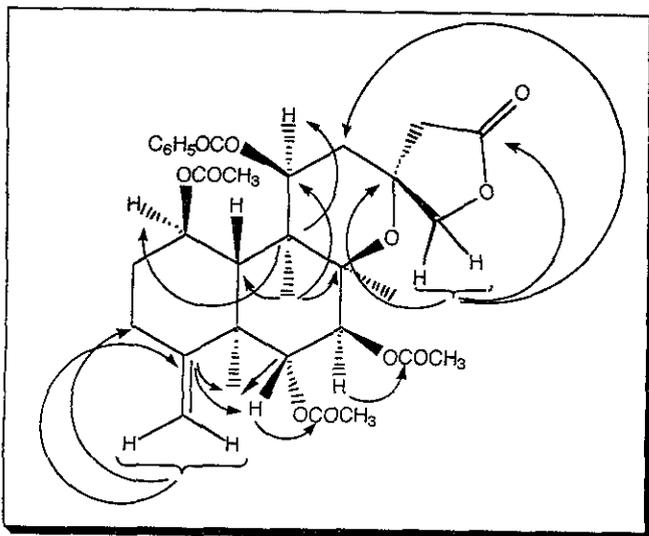


fig 20. Principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escutuleina A

Con respecto a la estereoquímica del compuesto, ésta fué determinada apoyándose en lo siguiente:

Nuevamente con base en los desplazamientos químicos de C-19 (18.7 ppm, *c*) y -20 (17.9 ppm, *c*), la fusión de los anillos A/B es *trans*^{49,52}

En el espectro NOESY (espectro 12b) se observa que H-7 (5.33 ppm, *d*, $J = 10.4$ Hz) y H-11 (5.59, *m*) interactúan con CH₃-20 (1.23 ppm, *sa*) y CH₃-17 (1.39 ppm, *s*), a su vez éste último correlaciona con CH₂-14 (2.86 ppm, *sa*). CH₃-20 también correlaciona con CH₃-19 (1.41 ppm, *s*), ver el espectro 12a.

Tabla 6. RMN ¹H de escuerulefina A (fig. 19)

H	δ (ppm)	J (Hz)	H	δ (ppm)	J (Hz)
1	5.59 <i>m</i> †*	-	3H-17	1.39 <i>s</i>	-
2H-2	§	-	18 <i>pro Z</i>	4.78 <i>d</i>	1.4
2H-3	§	-	18 <i>pro E</i>	4.75 <i>sa</i>	-
6	5.55 <i>d</i>	10.4	3H-19	1.41 <i>s</i>	-
7	5.33 <i>d</i>	10.4	3H-20	1.23 <i>s</i>	-
10	2.66 <i>sa</i> *	-	CH ₃ COO-	2.10 <i>s</i>	-
11	5.59 <i>m</i> †*	-	CH ₃ COO-	1.98 <i>s</i>	-
2H-12	§	-	CH ₃ COO-	1.79 <i>sa</i>	-
2H-14	2.86 <i>sa</i> *	-	C ₆ H ₅ COO-; 2',6'	8.00 <i>dt</i>	1.3, 8.0
16A	4.44 <i>d</i>	9.4	C ₆ H ₅ COO-; 3',5'	7.48 <i>td</i>	7.5, 8.0
16B	4.20 <i>da</i>	9.4	C ₆ H ₅ COO-; 4'	7.60 <i>tt</i>	1.3, 7.5

(†) señales encimadas

(§) señales no observadas

(*) señales a -50°C: H-1 δ= 5.64 *dt* (J= 5.5, 10.5 Hz), H-10 δ= 2.61 *d* (J= 5.5 Hz), H-11 δ= 5.55 *dd* (J= 4.0, 13.0 Hz); H-14A δ= 2.99 *d* (J= 17.0 Hz); H-14B δ= 2.92 *d* (J= 17.0 Hz).

CDCl₃, TMS; 500 MHz

Tabla 7. RMN ^{13}C de escutuleína A (fig. 19)

C	δ (ppm)	C	δ (ppm)
1	71.7 <i>dt</i>	17	20.00 <i>c</i>
2	29.6 <i>t</i>	18	106.5 <i>t</i>
3	27.0 <i>t</i>	19	18.7 <i>c</i>
4	150.9 <i>s</i>	20	17.9 <i>c</i>
5	44.7 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	21.4 <i>c</i>
6	72.5 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	20.9 <i>c</i>
7	74.1 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	20.7 <i>c</i>
8	84.0 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.8 <i>s</i>
9	44.1 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.1 <i>s</i>
10	46.4 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	169.9 <i>s</i>
11	74.6 <i>d</i>	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COO-: 1'}$	128.9 <i>s</i>
12	34.8 <i>t</i>	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COO-: 2', 6'}$	129.9 <i>d</i>
13	77.8 <i>s</i>	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COO-: 3', 5'}$	128.3 <i>d</i>
14	42.8 <i>t</i>	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COO-: 4'}$	133.6 <i>d</i>
15	174.0 <i>s</i>	$\text{C}_6\text{H}_5\text{COO-}$	167.00 <i>s</i>
16	79.2 <i>t</i>		

(\dagger) la multiplicidad fué determinada a partir del espectro DEPT
Run at 125 MHz. CDCl_3 . TMS

Por otra parte, H-6 (5.55 ppm, *d*, $J= 10.4$ Hz) correlaciona (espectro 12b) con H-10 (2.66 ppm, *sa*).

De lo anterior se obtiene que CH₃-17, -19 y -20, H-7, -11 y CH₂-14 se encuentran en el mismo lado con respecto al plano de la molécula y en el lado opuesto H-6 y -10; por lo tanto, la fusión de los anillos B/C es *cis* y la configuración en C-13 es *R* (fig 21).

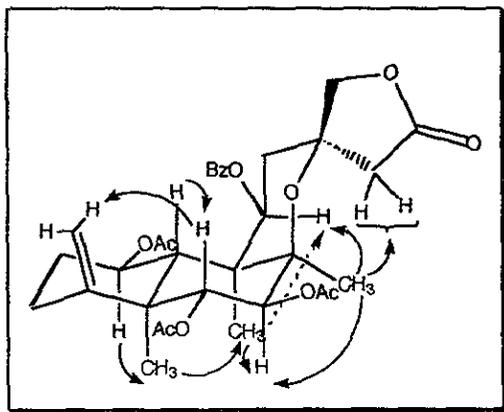


fig. 21. Principales interacciones H-H observadas en el espectro NOESY de escuteruleína A.

En el espectro de RMN ¹H (espectro 7) se puede observar que las señales para H-1, -10, -11, CH₂-14, CH₃-20 y el grupo metilo perteneciente al acetato de la posición C-1 son poco claras, esto se debe a los cambios conformacionales en la molécula de los que se habló anteriormente.

Para corroborar ésto, se llevo a cabo el experimento de RMN ¹H a -50 °C (espectros 13 y 13a), con ello se disminuye la velocidad de interconversión de los anillos A y C en la molécula de tal forma que ahora sí se observan con claridad las señales para los protones del metileno CH₂-14 como un sistema AB situado en 2.99 (*d*, $J= 17.0$ Hz, 1H) y 2.92 ppm (*d*, $J= 17.0$ Hz, 1H), así como las señales para H-1, -10 y -11 en 5.64 (*dt*, $J= 5.5$ y 10.5 Hz, 1H), 2.61 (*d*, $J= 5.5$ Hz, 1H) y 5.55 ppm (*dd*, $J= 4.0$ y 13.0 Hz, 1H), respectivamente.

Finalmente, la estructura propuesta para este compuesto es confirmada por el análisis de difracción de rayos X (fig. 22) efectuado en uno de los cristales de este compuesto, cuyo nombre semisistemático es (13*R*)-1 β ,6 α ,7 β -triacetoxi-11 β -benzoxi-8 β ,13-epoxi-4(18)-*neo*-clerodeno-15,16-ólida.

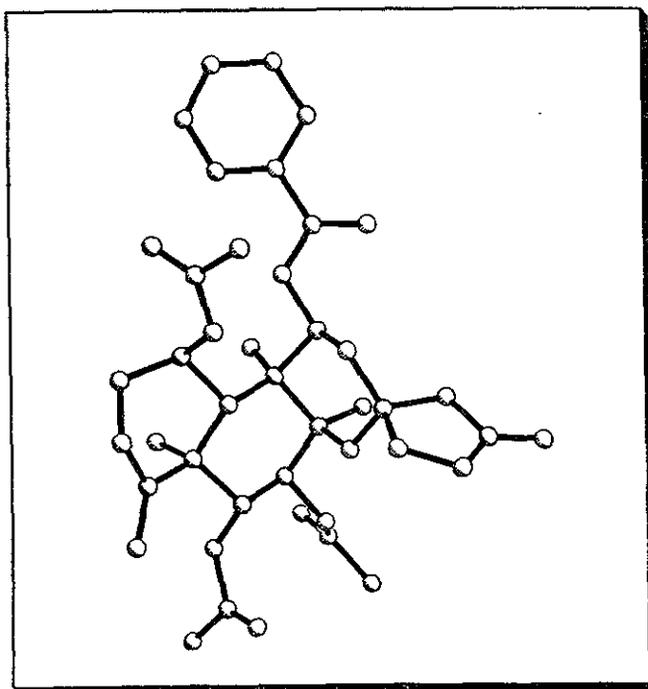


fig. 22. Estructura de rayos X de escuteruleína A.

Elucidación estructural de escuteruleína B

Este compuesto tampoco está descrito en la literatura y se le denominó **escuteruleína B**. Es un sólido amorfo blanco con punto de fusión: 155° (solidifica de benceno-acetona, 114.4 mg) y su estructura corresponde a una (11*S*)-1 β ,6 α ,11-triacetoxi-7 β -isobutiroiloxi-8 β -hidroxi-4(18),13(14)-*neo*-clerodadien-15,16-ólida.

El espectro de IR de este compuesto, muestra una banda ancha en 3463 cm^{-1} que señala la presencia de grupos hidroxilo, así como una función γ -lactona α,β -insaturada, β -sustituída que presenta resonancia de Fermi al observarse una banda débil en 1781 cm^{-1} y otra muy intensa en 1740 cm^{-1} . La intensidad de ésta última, junto con las bandas observadas en 1243 y 1154 cm^{-1} permiten establecer la presencia de ésteres de naturaleza alifática en este compuesto.

En 1642 cm^{-1} se deben encontrar superpuestas las bandas correspondientes tanto al doble enlace conjugado de la γ -lactona como a un metileno exocíclico, puesto que se observa la banda complementaria^{36,48} para éste último en 888 cm^{-1} .

El espectro de UV presenta una banda a $\lambda = 205.4\text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4.403$), la cual confirma la presencia de la γ -lactona α, β -insaturada.

En el espectro de masas se observa el ión molecular en m/z 578 que está de acuerdo para una fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$, y presenta el pico base en m/z 43, otro pico importante se ubica en m/z 71. Estos dos últimos pertenecen a los fragmentos correspondientes de los grupos acilo provenientes de ésteres derivados de los ácidos acético e isobutírico, respectivamente.

Los datos hasta ahora descritos son en general parecidos a los de escuteruleína C (fig. 10), los espectros de RMN ^1H también guardan cierta semejanza entre sí, sin embargo es posible señalar algunas diferencias:

a) En el espectro (espectros 14 y 14a) de este compuesto se observan tres señales en 2.11 (s, 3H), 1.99 (s, 3H) y 1.95 ppm (s, 3H), propias para 3 grupos acetato y en 2.59 (sept, $J = 7.0\text{ Hz}$, 1H), 1.21 (d, $J = 7.0\text{ Hz}$, 3H) y 1.18 ppm (d, $J = 7.0\text{ Hz}$, 3H) se observan señales consistentes con la presencia de un grupo isobutirato; es decir, en la estructura de este compuesto hay cuatro ésteres, en la escuteruleína sólo hay tres (un acetato y dos isobutiratos).

b) Para este compuesto sólo se observa una señal (2.22 ppm, sa, 1H) que se intercambia con D_2O , en escuteruleína C son dos las señales que presentan este comportamiento; esto quiere decir que en éste compuesto sólo hay un hidroxilo.

c) En el espectro de este compuesto se observa un triplete de dobletes ($J = 4.9$ y 11.2 Hz , 1H) centrado en 5.47 ppm, para escuteruleína C se tiene una señal semejante (td, $J = 4.0$ y 10.0 , 1H), pero ubicada en 4.27 ppm (ésta se asignó a H-1), es decir, hubo un desplazamiento de la señal en este compuesto hacia campos más bajos, el cual es apropiado para un protón geminal a un éster, según los desplazamientos químicos mostrados para este tipo de protones en los dos compuestos anteriormente descritos.

De acuerdo con las evidencias anteriores se propone que la estructura de este compuesto sea similar a la de la escuteruleína C, con la principal diferencia de que en C-1 no existe un grupo hidroxilo sino otro éster

El grupo hidroxilo presente en este compuesto debe encontrarse en la posición C-8, lo cual se confirma con la multiplicidad y el desplazamiento químico de CH₃-17 (1.32 ppm, s); de no ser así, la señal para éste último sería observada hacia campos más altos⁴⁹.

Como en el caso de los compuestos anteriores, las correlaciones C-H que se muestran en la siguiente tabla, observadas en el espectro HMBC (espectro 18a, fig. 24), permitieron ubicar los diferentes ésteres en la molécula:

Posición	¹ H (ppm)	¹³ C (ppm)
6	5.64 correlaciona con:	170.4 (-COCH ₃)
7	5.37 correlaciona con:	175.9 (-COCH(CH ₃) ₂)
11	5.69 correlaciona con:	170.9 (-COCH ₃)

Tabla 8. Algunas correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escuteruleína B

A partir de estos datos se establece que en C-1, lo mismo que en C-6 y -11 se ubican los tres grupos acetato y en C-7 el grupo isobutirato.

En la siguiente figura se muestra la estructura total propuesta para este compuesto:

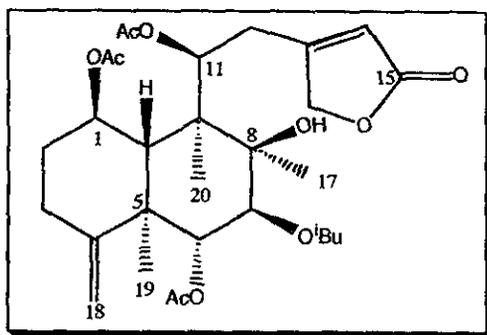


fig. 23 Escuteruleína B

El resto de las propiedades espectroscópicas de este compuesto (espectros 14-19) apoyan firmemente la estructura propuesta. Las señales observadas en RMN ¹H y ¹³C totalmente asignadas se muestran en las tablas 9 y 10 y en la figura 24 las principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.

Tabla 9. RMN ¹H de escuterulina B (fig. 23)

H	δ (ppm)	J (Hz)	H	δ (ppm)	J (Hz)
1	5.47 <i>td</i>	4.9, 11.2	16 <i>pro R</i>	4.65 <i>dd</i>	1.8, 17.5
2βax	1.49 <i>m</i>	-	3H-17	1.32 <i>s</i>	-
2αec	2.15 <i>m</i> [†]	-	18 <i>pro E</i>	4.70 <i>da</i>	1.0
3αax	2.44 <i>td</i>	5.5, 13.6	18 <i>pro Z</i>	4.66 <i>sa</i>	-
3βec	2.15 <i>m</i> [†]	-	3H-19	1.38 <i>s</i>	-
6	5.64 <i>d</i>	10.4	3H-20	0.89 <i>s</i>	-
7	5.37 <i>d</i>	10.4	CH ₃ COO-	2.11 <i>s</i>	-
10	2.31 <i>d</i>	11.2	CH ₃ COO-	1.99 <i>s</i>	-
11	5.69 <i>dd</i>	1.6, 10.7	CH ₃ COO-	1.95 <i>s</i>	-
12A	3.29 <i>dd</i>	10.7, 15.1	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.21 <i>d</i>	7.0
12B	3.11 <i>da</i>	15.1	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.18 <i>d</i>	7.0
14	5.82 <i>m</i>	-	(CH ₃) ₂ CHCOO-	2.59 <i>sept</i>	7.0
16 <i>pro S</i>	4.89 <i>dd</i>	1.8, 17.5	OH	2.22 <i>sr</i> [*]	-

([†]) señales encimadas

(*) señal que se intercambia con D₂O
CDCl₃, TMS; 500 MHz

Tabla 10. RMN ^{13}C de escuterulina B (fig. 23)

C	δ (ppm)	C	δ (ppm)
1	69.2 <i>d</i> [†]	16	73.1 <i>f</i>
2	34.7 <i>f</i>	17	23.3 <i>c</i>
3	30.8 <i>f</i>	18	106.0 <i>f</i>
4	151.3 <i>s</i>	19	16.9 <i>c</i>
5	45.7 <i>s</i>	20	15.6 <i>c</i>
6	71.8 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	22.5 <i>c</i>
7	74.6 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	21.1 <i>c</i>
8	79.7 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	20.6 <i>c</i>
9	48.5 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.9 <i>s</i>
10	47.6 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.4 <i>s</i>
11	73.9 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	169.9 <i>s</i>
12	33.3 <i>f</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	18.7 <i>c</i>
13	168.6 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	19.2 <i>c</i>
14	116.7 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	34.1 <i>d</i>
15	173.8 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	175.9 <i>s</i>

[†] La multiplicidad fue determinada a partir del espectro DEPT CDCl_3 , TMS, 125 MHz.

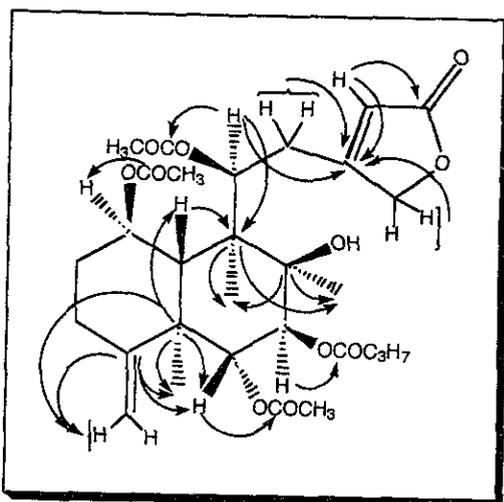


fig 24 Principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escutuleína B

A partir del espectro NOESY (espectro 19) se determinó la estereoquímica del compuesto al ser observadas las siguientes correlaciones:

H-6 (5.64 ppm, *d*, $J = 10.4$ Hz) correlaciona con H-10 (2.31 ppm, *d*, $J = 11.2$ Hz), H-7 (5.37 ppm, *d*, $J = 10.4$ Hz) correlaciona con CH₃-17 (1.32 ppm, *s*), -19 (1.38 ppm, *s*) y -20 (0.89 ppm, *s*); a su vez CH₃-17 correlaciona con H-11 (5.69 ppm, *dd*, $J = 1.6$ y 10.7 Hz); CH₃-19 y -20 correlacionan con H-1 (5.47 ppm, *td*, $J = 4.9$ y 11.2 Hz), ver espectro 19b.

De lo anterior se establece que H-6 y -10 se encuentran, al igual que en el caso de los compuestos anteriores, en el mismo lado con respecto al plano de la molécula y H-1, -7 y -11, CH₃-17, -19 y -20 en el opuesto, como se muestra en la figura 25; se establece también que la configuración en 11 es *S*. La fusión de los anillos A/B es *trans* con base en los desplazamientos químicos de C-19 (16.9 ppm, *c*) y -20 (15.6 ppm, *c*)^{49,52}.

El nombre semi-sistemático de este compuesto es (11*S*)-1 β ,6 α ,11-triacetoxi-7 β -isobutiroiloxi-8 β -hidroxi-4(18),13(14)-*neo*-clerodadien-15,16- δ lida.

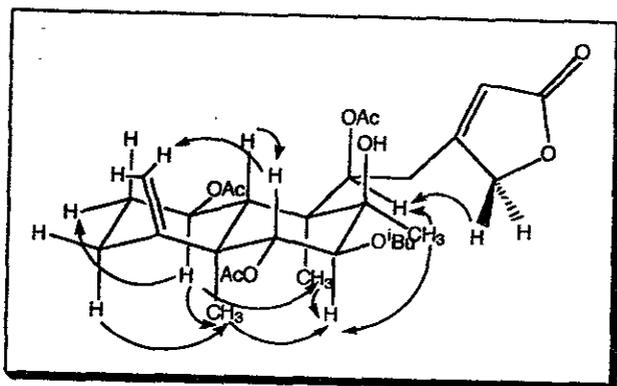


fig. 25 Principales interacciones H-H observadas en el espectro NOESY de escuteruleína B.

Elucidación estructural de desacetilescuteruleína B

La estructura de este compuesto corresponde a una (11*S*)-6 α ,11-diacetoxi-7 β -isobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),13(14)-*neo*-clerodadien-15,16- δ lida y al igual que los anteriores no está descrito en la literatura; se trata de un compuesto sólido cristalino, incoloro con punto de fusión: 180-184° (cristalizado de CH₂Cl₂-acetona, 16.3 mg), al cual se le denominó **desacetilescuteruleína B**.

En el espectro de IR se observan bandas centradas en 3585 cm⁻¹ que indican presencia de grupos hidroxilo, otras se observan en 1783 y 1747 cm⁻¹, propias de una γ -lactona α , β -insaturada, β -sustituída; la intensidad de la última y las bandas observadas en 1241 y 1149 cm⁻¹ indican que la molécula contiene ésteres de naturaleza alifática.

La banda centrada en 1642 cm⁻¹ se asigna al doble enlace conjugado de la γ -lactona, en ésta debe encontrarse superpuesta la de un metileno exocíclico ya que se observa su banda complementaria^{36,48} en 892 cm⁻¹.

La banda observada en el espectro de UV en $\lambda = 210$ nm (log $\epsilon = 4.243$) confirma la presencia de la γ -lactona α , β -insaturada.

En el espectro de masas se observan el ión molecular en m/z 536, el cual es congruente con

la fórmula molecular $C_{28}H_{40}O_{10}$, el pico base en m/z 43 y otro pico importante en m/z 71, éstos dos últimos indican la presencia de ésteres de origen acético e isobutírico en la molécula.

Los datos hasta ahora descritos para este compuesto son muy parecidos a los de la escuteruleína C, los espectros de RMN 1H de ambos compuestos son también similares, ya que se observan casi las mismas señales en ellos, por ejemplo:

En el espectro de este compuesto (espectros 20 y 20a) se observan dos señales en 2.21 (*s*, 1H) y 3.44 ppm (*d*, 1H) que se intercambian con D_2O , que indican que este compuesto, al igual que la escuteruleína C, contiene dos grupos hidroxilo.

Cuando dichas señales se intercambian con D_2O , el triplete de dobletes ancho situado en 4.25 ppm ($J= 4.3$ y 10.3 Hz, 1H) también se afina como en el caso de la señal observada en el espectro de la escuteruleína C en 4.27 ppm (*tda*, $J= 4.0$ y 10.0 Hz, 1H), perteneciente a H-1.

En el espectro de este compuesto se observa una señal en 1.32 ppm (*s*, 3H) que es similar a la que corresponde a CH_3 -17 (1.33 ppm, *s*) de la escuteruleína C.

De hecho, la única diferencia entre estos espectros es que en el de este compuesto se observan ciertas señales en 2.08 (*s*, 3H), 1.95 (*s*, 3H), 2.60 (*sept*, $J= 7.0$ Hz, 1H), 1.22 (*d*, $J= 7.0$ Hz, 3H) y 1.18 ppm (*d*, $J= 7.0$ Hz, 3H), características las dos primeras de grupos acetato y las tres últimas de un grupo isobutirato; mientras que en el de la escuteruleína C, aunque también se observan señales propias para tres ésteres, dos de éstos son isobutiratos y uno es acetato

De acuerdo con lo anterior se propone que la estructura para este compuesto es casi igual a la de la escuteruleína C, como se muestra en la siguiente figura:

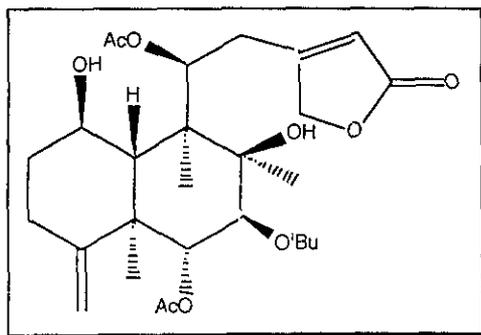


fig. 26 Desacetilescuteruleina B

Para especificar la posición en que se encuentran cada uno de los ésteres se procedió de la misma forma que en los compuestos anteriores, tomando en cuenta las correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC (espectro 24a) que se muestran en la siguiente tabla:

Posición	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
6	5.61 correlaciona con:	170.4 ($-\text{COCH}_3$)
7	5.39 correlaciona con:	175.9 ($-\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$)
11	5.73 correlaciona con:	169.5 ($-\text{COCH}_3$)

Tabla 11 Algunas correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de desacetilscuteruleína B

Todos los datos espectroscópicos de este compuesto (espectros 20-25) apoyan totalmente la estructura propuesta en la figura 26; en las tablas 12 y 13 se muestran las señales correspondientes en ^1H y ^{13}C totalmente asignadas y en la figura 27 se muestran las principales correlaciones observadas en el espectro HMBC.

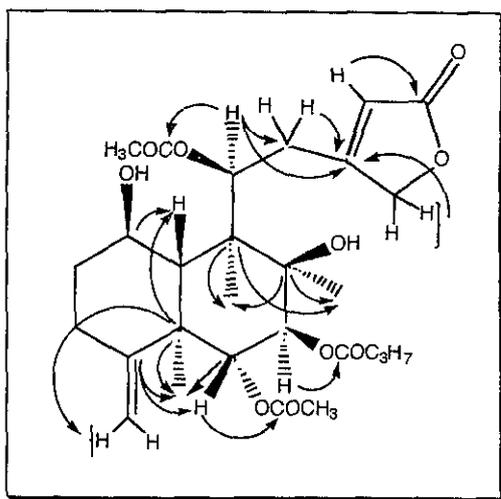


fig 27 Principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de desacetilscuteruleína B.

Tabla 12. RMN ¹H de desacetilescuterulina B (fig. 26)

H	δ ppm	J (Hz)	H	δ ppm	J (Hz)
1	4.25 <i>tda</i>	4.3, 10.3	16 <i>pro R</i>	4.64 <i>dd</i>	1.5, 17.5
2βax	1.52 <i>m</i>	-	3H-17	1.32 <i>s</i>	-
2αec	2.22 <i>m†</i>	-	18 <i>pro E</i>	4.69 <i>sa</i>	-
3αax	2.42 <i>td</i>	5.5, 13.8	18 <i>pro Z</i>	4.61 <i>sa</i>	-
3βec	2.22 <i>m†</i>	-	3H-19	1.31 <i>s</i>	-
6	5.61 <i>d</i>	10.5	3H-20	1.01 <i>s</i>	-
7	5.39 <i>d</i>	10.5	CH ₃ COO-	2.08 <i>s</i>	-
10	2.07 <i>d</i>	10.3	CH ₃ COO-	1.95 <i>s</i>	-
11	5.73 <i>dd</i>	1.0, 10.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.22 <i>d</i>	7.0
12A	3.36 <i>dd</i>	10.5, 15.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.18 <i>d</i>	7.0
12B	3.17 <i>da</i>	15.5	(CH ₃) ₂ CHCOO-	2.60 <i>sept</i>	7.0
14	5.83 <i>m</i>	-	OH	3.44 <i>d*</i>	§
16 <i>pro S</i>	4.82 <i>dd</i>	2.0, 17.5	OH	2.21 <i>s*</i>	-

(†) señales encimadas

(*) señal que se intercambia con D₂O

(§) no se calculó por falta de datos.

CDCl₃, TMS, 500 MHz

Tabla 13. RMN ^{13}C de desacetilcicuterulina B (fig. 26)

C	δ (ppm)	C	δ (ppm)
1	67.3 <i>dt</i>	15	173.9 <i>s</i>
2	36.3 <i>t</i>	16	73.1 <i>t</i>
3	31.2 <i>t</i>	17	23.2 <i>c</i>
4	152.2 <i>s</i>	18	105.6 <i>t</i>
5	45.4 <i>s</i>	19	16.7 <i>c</i>
6	72.1 <i>d</i>	20	16.3 <i>c</i>
7	74.5 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	21.1 <i>c</i>
8	79.3 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	20.8 <i>c</i>
9	47.9 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.4 <i>s</i>
10	49.4 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	169.5 <i>s</i>
11	74.8 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	19.2 <i>c</i>
12	33.4 <i>t</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	18.7 <i>c</i>
13	168.0 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	34.1 <i>d</i>
14	116.6 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	175.9 <i>s</i>

(*t*) la multiplicidad fué determinada a partir del espectro DEPT CDCl_3 , TMS, 125 MHz.

Los desplazamientos químicos de C-19 (16.7 ppm, c) y -20 (16.3 ppm, c) permiten establecer que la fusión de los anillos A/B es *trans*^{49,52}.

Al igual que en los compuestos anteriores, la estereoquímica de este compuesto se determina por medio del espectro NOESY (espectros 25 y 25a) en el que se observa que H-11 (5.73 ppm, *dd*, *J*= 1.0 y 10.5 Hz) interacciona con CH₃-17 (1.32 ppm, *s*) y -20 (1.01 ppm, *s*), éste último a su vez lo hace con CH₃-19 (1.31 ppm, *s*), y por otra parte H-7 (5.39 ppm, *d*, *J*= 10.5 Hz) interacciona con los tres grupos metilo, lo cual indica que todos ellos están en el mismo lado con respecto al plano de la molécula y en el lado opuesto a H-6 (5.61 ppm, *d*, *J*= 10.5 Hz) y H-10 (2.07 ppm, *d*, *J*= 10.3 Hz), los cuales interaccionan entre sí. (fig. 28)

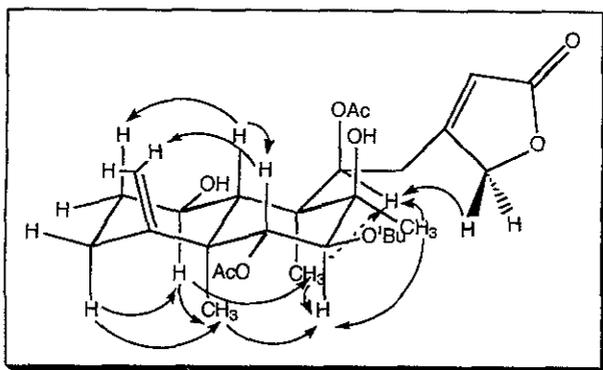


fig. 28 Principales interacciones H-H observadas en el espectro NOESY de desacetilscuteruleína B.

Lo anterior permite establecer que la configuración en 11 es *S* para este compuesto, cuyo nombre semisistemático es (11*S*)-6 α ,11-diacetoxi-7 β -isobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),13(14)-*neo*-clerodadien-15,16- δ lida

Elucidación estructural de escuteruleína D

El último de los compuestos aislados de esta especie fué un sólido amorfo blanco, cuyo punto de fusión es: 162-165° (solidifica de CH₂Cl₂-acetona, 9 mg); siguiendo la misma metodología que con los compuestos anteriores, se determinó su estructura como una 6 α -acetoxi-

7 β -isobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),11,13(14)-*neo*-clerodatnen-15,16-ólida y nuevamente se trata de un compuesto no descrito en la literatura, al cual se le denominó **escuteruleína D**.

El espectro de IR de este compuesto es similar a los de las escuteruleínas C, B y desacetilscuteruleína B (figs. 10, 23 y 26), puesto que muestra bandas que indican presencia de grupos hidroxilo (3595 cm^{-1}), una función γ -lactona α,β -insaturada, β -sustituída (1782, 1744 y 1641 cm^{-1}), ésteres alifáticos (1744, 1250 y 1151 cm^{-1}) y un metileno exocíclico^{36,48} (1641 y 914 cm^{-1}).

En el espectro de UV se observa una banda en $\lambda = 271 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4.209$), según datos en la literatura corresponde a una γ -lactona α,β -insaturada con conjugación extendida⁴⁸.

En el espectro de masas se observa el ión molecular en m/z 476, el cual es consistente con una fórmula molecular de $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_8$; el pico base está en m/z 43, siguiéndole en abundancia el pico en m/z 71, éstos últimos señalan nuevamente la presencia de grupos acetato e isobutirato en este compuesto.

A partir del espectro de RMN ^1H (espectros 26 y 26a) se determina que sólo hay uno de cada uno de los ésteres señalados al observarse las señales correspondientes en 1.96 (*s*, 3H), 2.60 (*sept*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 1H), 1.20 (*d*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 3H) y 1.17 ppm (*d*, $J = 7.0 \text{ Hz}$, 3H).

Se puede decir que el espectro en general guarda cierta semejanza con los de escuteruleína C (espectro 1) y desacetilscuteruleína C (espectro 20), aunque muestra algunas diferencias importantes, tales como:

a) La ausencia de las señales para H-11, -12A y -12B (ver tablas 2 y 8).

b) En cambio, muestra dos señales para un nuevo sistema AB ubicadas en 6.49 (*d*, $J = 16.8 \text{ Hz}$, 1H) y 6.27 ppm (*d*, $J = 16.8 \text{ Hz}$, 1H), que por sus características se atribuyen a los protones de un doble enlace *trans*-disustituído.

Las señales para los átomos de carbono a los que estos protones se encuentran unidos se observan en el espectro de ^{13}C en 150.6 (*d*) y 117.3 ppm (*d*), respectivamente.

El resto del espectro de ^1H de este compuesto es semejante a los de los ya mencionados, ya que también muestra entre otras, un triplete de dobletes en 4.13 ppm ($J = 4.8$ y 10.8 Hz , 1H) para H-1 y dos señales que se intercambian con D_2O en 2.10 (*s*) y 2.17 ppm (*s*), lo que indica que en

este compuesto también existen dos grupos OH. Aparte de observarse también el sistema AB en 5.77 (*d*, *J*= 10.0 Hz, 1H) y 5.37 ppm (*d*, *J*= 10.0 Hz, 1H) correspondiente a H-6 y -7, respectivamente.

De acuerdo a lo anterior, se propone que la estructura para este compuesto está relacionada con las de escuteruleína C y desacetilescuteruleína B, con la diferencia de que en este compuesto existe un doble enlace en las posiciones 11 y 12, como se muestra en la siguiente figura:

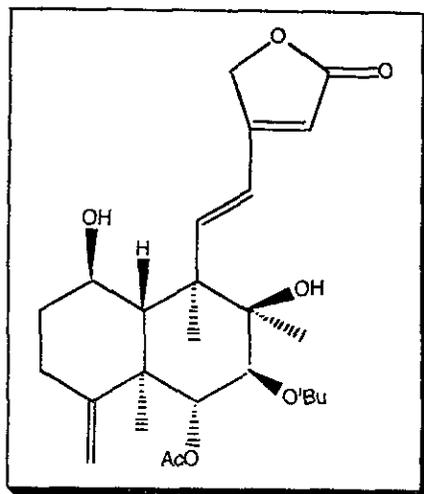


fig. 29 Escuteruleína D

La propuesta del doble enlace en dichas posiciones y la asignación de las respectivas señales se fundamenta en su desplazamiento químico tanto en ¹H como en ¹³C; esto mismo se confirma por las correlaciones observadas en el espectro HMBC (espectro 30), ya que la señal en 150.6 ppm (*d*) (C-11) correlaciona con CH₃-20 (1.330 ppm, *s*) y H-10 (2.20 ppm, *d*, *J*= 10.8 Hz), mientras que la señal en 117.3 ppm (*d*) (C-12) lo hace con H-14 (5.85 ppm, *m*). (ver fig 30)

Cabe señalar que la presencia de una γ -lactona $\alpha,\beta,\gamma,\delta$ -insaturada es consistente con la banda observada en el espectro de UV.

En el espectro HMBC (espectro 30a) también se observó la correlación de H-7 (5.37, *d*, 10.0) con el carbono carbonílico ubicado en 176.31 (*s*), perteneciente al grupo isobutirato, por lo que éste se ubica en la posición C-7 y por lo tanto el grupo acetato en C-6.

Los datos espectroscópicos (espectros 26-30) de este compuesto apoyan totalmente la estructura propuesta, en las tablas 14 y 15 se muestran las señales correspondientes en ^1H y ^{13}C totalmente asignadas. En la figura 30 se muestran las principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC.

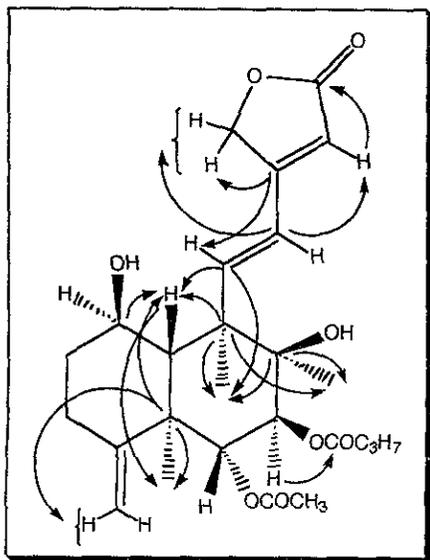


fig 30 Principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escutuleína D.

Con base en los desplazamientos químicos de C-19 (15.3 ppm, *c*) y -20 (17.9 ppm, *c*) la fusión de los anillos A/B se propone que sea *trans*^{49,52} nuevamente, y dado que H-10 (2.20 ppm, *d*, $J = 10.8$ Hz.) muestra un desplazamiento químico semejante al mostrado por su homólogo en las escutuleínas C, B y desacetilescutuleína B, que son los que poseen un grupo OH- β en 8 (figs 10, 23 y 26), se propone que en este compuesto se tenga un grupo similar.

El nombre semisistemático de este compuesto es 6 α -acetoxi-7 β -isobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),11,13(14)-*neo*-clerodatrien-15,16-ólida.

Tabla 14. RMN ¹H de escuterulefina D (fig. 29)

H	δ ppm	J (Hz)	H	δ (ppm)	J (Hz)
1	4.13 <i>dt</i>	4.8, 10.8	16B	4.94 <i>dd</i>	1.3, 16.8
2βax	1.42 <i>m</i>	-	3H-17	1.00 <i>s</i>	-
2αcc	2.14 <i>m†</i>	-	18A	4.66 <i>s†</i>	-
3αax	2.34 <i>td</i>	5.3, 14.0	18B	4.66 <i>s†</i>	-
3βcc	2.14 <i>m†</i>	-	3H-19	1.334 <i>s</i>	-
6	5.77 <i>d</i>	10.0	3H-20	1.330 <i>s</i>	-
7	5.37 <i>d</i>	10.0	CH ₃ COO-	1.96 <i>s</i>	-
10	2.20 <i>d</i>	10.8	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.20 <i>d</i>	7.0
11	6.49 <i>d</i>	16.8	(CH ₃) ₂ CHCOO-	1.17 <i>d</i>	7.0
12	6.27 <i>d</i>	16.8	(CH ₃) ₂ CHCOO-	2.60 <i>sept</i>	7.0
14	5.85 <i>m</i>	-	OH	2.17 <i>s*</i>	-
16A	4.99 <i>dd</i>	1.3, 16.8	OH	2.10 <i>s*</i>	-

(†) señales encimadas

(*) señal que se intercambia con D₂O
CDCl₃, TMS; 500 MHz

Tabla 15. RMN ^{13}C de escuterulicina D (fig. 29)

C	δ ppm	C	δ ppm
1	68.1 <i>dt</i>	14	114.2 <i>d</i>
2	37.7 <i>t</i>	15	174.2 <i>s</i>
3	30.9 <i>t</i>	16	70.8 <i>t</i>
4	143.9 <i>s</i>	17	21.4 <i>c</i>
5	45.6 <i>s</i>	18	105.3 <i>t</i>
6	72.9 <i>d</i>	19	15.3 <i>c</i>
7	74.6 <i>d</i>	20	17.9 <i>c</i>
8	77.7 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	21.1 <i>c</i>
9	47.4 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.4 <i>s</i>
10	53.8 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	19.3 <i>c</i>
11	150.6 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO}$	18.8 <i>c</i>
12	117.3 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	34.1 <i>d</i>
13	162.6 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	176.3 <i>s</i>

(\dagger) la multiplicidad fue determinada a partir del espectro DEPT CDCl_3 , TMS; 125 MHz.

Además de los compuestos descritos anteriormente, también fueron aislados de *S. caerulea* Moc. et Sessé dos flavonoides, sus estructuras fueron determinadas a partir de los espectros de IR, UV, EM, RMN ^1H y ^{13}C (ver Parte Experimental) y pertenecen a las de una flavona y una flavanona ya conocidas bajo los nombres comunes: oroxilina A y dihidrooroxilina A, respectivamente (fig. 31); éstas ya han sido aisladas previamente de *S. baicalensis* Georgi^{10,53}, entre otras.

Los datos físicos y espectroscópicos descritos en la literatura⁵⁴⁻⁵⁶ para estos compuestos son consistentes con lo anteriormente señalado.

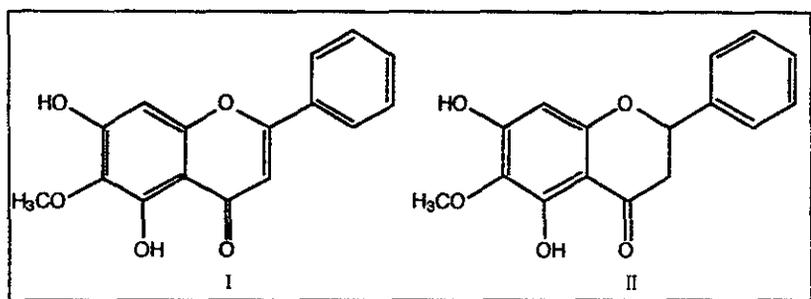


fig. 31 I) oroxilina A y II) dihidrooroxilina A.

Elucidación estructural de los metabolitos secundarios aislados de *Scutellaria guatemalensis* Leon.

Elucidación estructural de escuteguatemalina A

Este compuesto tampoco está descrito en la literatura y se le denominó **escuteguatemalina A**; se trata de un sólido cristalino incoloro, con punto de fusión: 233-234° (cristalizado de metanol, 62.2 mg), su estructura corresponde a una (13*R*)-6 α ,11 β -diacetoxi-1 β ,12 α -diisobutiroiloxi-4 α ,18,8 β ,13-diepoxi-*neo*-clerodan-15,16-ólida, la cual fué determinada por la misma metodología seguida con los compuestos anteriormente descritos, según se muestra a continuación:

El espectro de IR indica la presencia en este compuesto de una función γ -lactona *espiro* al observarse una banda intensa en 1790 cm⁻¹, también se cuenta con ésteres de tipo alifático cuyas bandas se observan en 1736, 1243 y 1153 cm⁻¹.

En el espectro de masas se observa el ión molecular en *m/z* 622, el cual está de acuerdo con una fórmula molecular de C₃₂H₄₆O₁₂, el pico base en *m/z* 43 y otro pico importante en *m/z* 71, estos últimos son asignados nuevamente a los fragmentos correspondientes a los grupos acilo de ésteres de origen acético e isobutírico, respectivamente.

A partir del espectro de RMN ¹H (espectros 31 y 31a) se establece que la molécula contiene dos grupos acetato, al ser observadas las señales correspondientes en 2.03 (*s*, 3H) y 1.98 ppm (*s*, 3H), y dos grupos isobutirato cuyas señales se observan en 2.71 (*sept*, *J*= 7.0 Hz, 1H), 2.43 (*sept*, *J*= 7.0 Hz, 1H), 1.18 (*d*, *J*= 7.0 Hz, 3H), 1.072 (*d*, *J*= 7.0 Hz, 3H), 1.071 (*d*, *J*= 7.0 Hz, 3H) y 1.05 ppm (*d*, *J*= 7.0 Hz, 3H).

En el espectro PND de ¹³C (espectro 32) se observan cinco señales singulete para grupos carbonilo en 169.8, 170.7, 176.7, 175.7 y 173.5 ppm, por su desplazamiento químico, la primera y la segunda corresponden a los grupos acetato, las dos siguientes a los grupos isobutirato y la última de éstas a la γ -lactona.

En el espectro de ¹H se observan dos sistemas AB ubicados en 3.03 (*d*, *J*= 16.8 Hz, 1H), 2.65 (*d*, *J*= 16.8 Hz, 1H) y 4.46 (*d*, 9.5, 1H), 4.23 ppm (*d*, 9.5, 1H), que por sus características

se asignan a los protones diastereotópicos α y γ de la lactona, respectivamente; ésto es consistente con datos en la literatura para funciones similares^{28,41}. Por medio del espectro HMQC (espectro 34) se determina que las señales para C- α y $-\gamma$ se observan en 38.2 (*t*) y 77.8 ppm (*t*), respectivamente.

Otras señales que también se observan en el espectro de ^1H son las siguientes: tres singuletes en 1.39 (*s*, 3H), 1.38 (*s*, 3H) y 1.09 ppm (*s*, 3H) que pertenecen a tres grupos metilo distintos de los pertenecientes a los ésteres ya mencionados; un sistema de acoplamiento AB, cuyas señales se presentan en 5.55 (*d*, $J= 11.5$ Hz, 1H) y 5.63 ppm (*d*, $J= 11.5$ Hz, 1H) y un sistema de acoplamiento tipo ABX, constituido por la señales observadas en 1.76 (*dd*, $J= 5.3$ y 14.0 Hz, 1H), 1.82 (*dd*, $J= 11.3$ y 14.0 Hz, 1H) y 4.97 ppm (*dd*, $J= 5.3$ y 11.3 Hz, 1H).

En el espectro de ^{13}C las señales correspondientes a dichos sistemas de acoplamiento se observan en 72.9 (*d*) y 70.8 ppm (*d*) para el sistema AB y en 38.6 (*t*) y 68.9 ppm (*d*) para el sistema ABX.

De acuerdo a los datos hasta ahora citados es posible establecer que este compuesto es del mismo tipo que los aislados de *S. caerulea* ya descritos anteriormente. Tomando en cuenta, además, que la molécula contiene una γ -lactona *espiro* y que no hay evidencias de que contenga grupos hidroxilo, como en el caso específico de la escuteruleína A (fig. 18), se propone que se trata de otro compuesto *espiro* del mismo tipo de éste último.

Sin embargo, aunque en la mayoría de los compuestos aislados de *S. caerulea* se observan también sistemas de acoplamiento AB y ABX de características similares a los descritos arriba correspondientes a los protones de las posiciones C-6, 7; 11, 12A y 12B respectivamente, los de este compuesto difieren notoriamente en el desplazamiento químico mostrado por sus señales tanto en ^1H como en ^{13}C , lo cual sugiere que éste posee un patrón de oxigenación distinto, recordando que en los otros compuestos las posiciones C-6, 7 y 11 se encuentran oxidadas.

En el espectro HMBC (espectros 35 y 35a) se observan algunas correlaciones que permiten confirmar lo anterior, entre otras, las más significativas son:

a) La señal de uno de los protones (5.63 ppm) del sistema AB arriba decrito, correlaciona con las señales correspondientes a los C- α (38.2 ppm, *t*) y $-\gamma$ (77.8 ppm, *t*) de la lactona; esto permite establecer que dicha señal corresponde a H-12 y por lo tanto la otra señal de éste sistema (5.55 ppm) a H-11.

b) La señal en ^{13}C para la parte X (68.9 ppm, *d*) del sistema ABX, también antes descrito, correlaciona con la de un grupo metilo observada en 1.38 ppm (*s*, 3H), la cual se asigna a CH₃-19, por lo que se establece que dicha señal pertenece a C-6 y por lo tanto el triplete observado en 38.6 ppm, correspondiente al átomo de carbono al que se encuentran unidos los protones de la parte AB de este mismo sistema a C-7.

Es decir, en este compuesto la posición C-12 también se encuentra oxidada y no así la C-7, esto constituye una diferencia importante con respecto al patrón de oxidación de los compuestos aislados de *S. caerulea* Moc. et Sessé anteriormente descritos.

Por otra parte, no hay evidencias que señalen la presencia en la molécula de un metileno exocíclico, en cambio se observa en 3.18 (*d*, J= 4.0 Hz, 1H) y 2.51 ppm (*d*, J= 4.0 Hz, 1H) otro sistema AB, el cual se asocia con una función oxirano, según datos en la literatura^{31,32}.

Estas señales correlacionan en el espectro HMQC (espectro 34) con el triplete ubicado en 54.1 ppm, cuyo desplazamiento indica que se trata de un átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno, lo que está de acuerdo para la función propuesta.

En el espectro HMBC (espectro 35), la señal de CH₃-19 correlaciona, entre otras, con una señal propia de otro átomo de carbono unido a un átomo de oxígeno situada en 63.8 ppm (*s*), la cual se asigna a C-4. Por lo que se propone que existe una función oxirano ocupando las posiciones 4 y 18, lo cual se ha llegado a encontrar en otros compuestos aislados de diversas especies de *Scutellaria* (Tabla 1).

Al igual que en todos los compuestos aislados de *S. caerulea*, se establecieron las posiciones que ocupan cada uno de los ésteres por medio de las correlaciones a tres ligaduras observadas en el espectro HMBC (espectro 35b) entre las señales de H-6, -11 y -12 y las de los carbonos carbonílicos de los diferentes ésteres, las cuales se muestran en la siguiente tabla:

Posición	^1H (ppm)	^{13}C (ppm)
6	4.97 correlaciona con:	169.8 (-C(=O)CH ₃)
11	5.55 correlaciona con:	170.7 (-C(=O)CH ₃)
12	5.63 correlaciona con:	175.7 (-COCH(CH ₃) ₂)

Tabla 16 Algunas correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escuteguatemalina A.

Con estos datos se establece que en las posiciones C-6 y -11 se encuentran los dos acetatos y en C-1 y -12 los dos isobutiratos.

La señal para CH₃-19, así como el resto de las señales para este compuesto, tanto en ¹H como en ¹³C se asignan con base en el análisis de todos sus datos espectroscópicos (ver tablas 17 y 18).

De acuerdo con toda la discusión anterior se propone la estructura total para este compuesto mostrada en la figura 32, en la figura 33 se presentan las principales correlaciones observadas en el espectro HMBC:

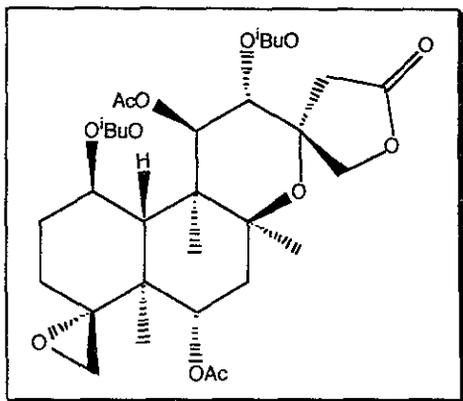


fig 32 Escuteguatemalina A

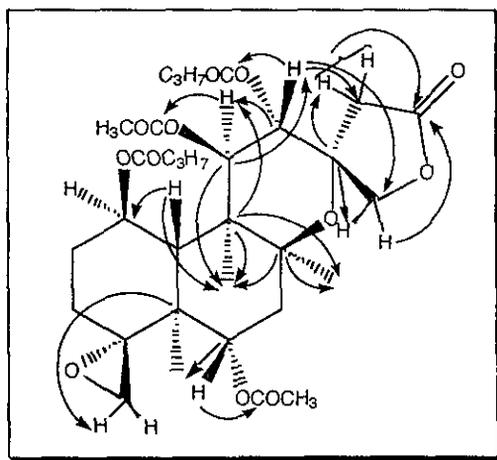


fig. 33. Principales correlaciones C-H observadas en el espectro HMBC de escuteguatemalina A

Tabla 18. RMN ^{13}C de escutiguatmalina A (fig. 32)

C	δ ppm	C	δ ppm
1	70.4 <i>dt</i>	17	23.9 <i>c</i>
2	25.6 <i>t</i>	18	54.1 <i>t</i>
3	26.4 <i>t</i>	19	15.7 <i>c</i>
4	63.8 <i>s</i>	20	18.3 <i>c</i>
5	40.3 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	21.1 <i>c</i>
6	68.9 <i>d</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	20.4 <i>c</i>
7	38.6 <i>t</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	170.7 <i>s</i>
8	81.9 <i>s</i>	$\text{CH}_3\text{COO-}$	169.8 <i>s</i>
9	46.1 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	19.9 <i>c</i>
10	46.8 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	18.7 <i>c</i>
11	72.9 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO}$	18.4 <i>c</i>
12	70.8 <i>d</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	17.7 <i>c</i>
13	79.8 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	33.8 <i>d</i>
14	38.2 <i>t</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	33.6 <i>d</i>
15	173.5 <i>s</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	176.7 <i>s</i>
16	77.8 <i>t</i>	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCOO-}$	175.7 <i>s</i>

(\dagger) la multiplicidad fue determinada a partir del espectro DEPT
 CDCl_3 , TMS, 125 MHz

La estereoquímica de la molécula fue determinada por medio del espectro NOESY (espectro 36) en el que se observó lo siguiente:

El protón H-6 (4.97 ppm, *dd*, $J = 5.3$ y 11.3 Hz) interacciona con H-10 (2.57 ppm, *d*, $J = 3.8$ Hz); H-7A (1.82 ppm, *dd*, $J = 11.3$ y 14.0 Hz) con CH₃-19 (1.38 ppm, *s*) y -20 (1.09 ppm, *s*), este último metilo a su vez interacciona con CH₃-17 (1.39 ppm, *s*), -19 y H-1, (5.59 ppm, *dt*, $J = 3.8$ y 6.5 Hz)

Lo anterior indica que H-6 y H-10 se encuentran en el mismo lado con respecto al plano de la molécula (fig. 34) y en el contrario H-1, -7A, CH₃-17, -19 y -20; de acuerdo con ésto y con la correlación de H-16A (4.46 ppm, *d*, $J = 9.5$ Hz) con H-12 (5.63 ppm, *d*, $J = 11.5$ Hz), observada en este mismo espectro, se establece que la fusión de los anillos B/C es *cis* y se confirma la fusión *trans* de los anillos A/B, la cual fué establecida con base en los desplazamientos químicos en ¹³C de CH₃-19 (15.7 ppm, *c*) y -20 (18.3 ppm, *c*)^{49,52}.

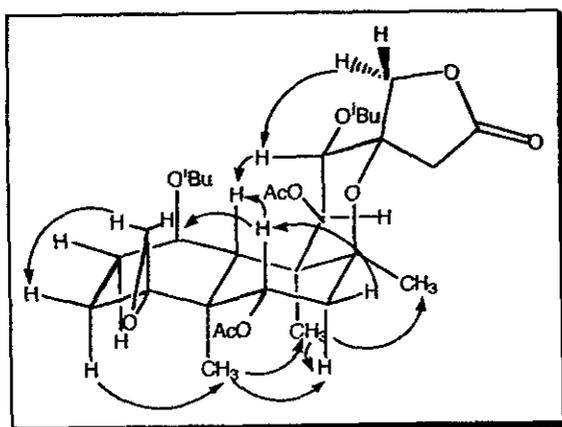


fig. 34. Principales interacciones H-H observadas en el espectro NOESY de escutiguatmalina A.

Por otra parte, H-14B (2.65 ppm, *d*, $J = 16.8$ Hz) interacciona con CH₃-17, por lo que se determina en ¹³C una configuración *R*, lo cual está de acuerdo también con la interacción de H-12 con H-16A ya señalada antes.

La interacción de H-6 con H-18A (3.18 ppm, *d*, $J = 4.0$ Hz), permite distinguirlo como *pro Z* y a H-18B (2.51 ppm, *d*, $J = 4.0$ Hz) como *pro E*.

La señal de H-1 correlaciona con la de H-10 y con los multipletes centrados en 2.13 (1H) y 1.94 ppm (1H) asignados a CH₂-2, a su vez el multiplete en 2.13 ppm correlaciona con la señal de CH₃-19, ésto aunado al valor de la constante de acoplamiento ente H-1 y -10 ($J= 3.8$ Hz) permite establecer que el anillo A tiene conformación de bote. Con esto se logra asignar a su vez, al multiplete observado en 2.13 ppm para H-2 α *axial* y por lo tanto la señal en 1.94 ppm se asigna a H-2 β *ecuatorial* . (fig. 35)

Las señales observadas en 2.03 (*m*, 1H) y 1.61 ppm (*ddd*, $J= 8.3, 10.8$ y 14.5 Hz, 1H) pertenecientes a CH₂-3 en el espectro NOESY correlacionan, la primera de ellas con la de CH₃-19 y la segunda con la de H-18 *proE*, por lo que se asignan a H-3 α *axial* y H-3 β *ecuatorial* , respectivamente. (fig. 34)

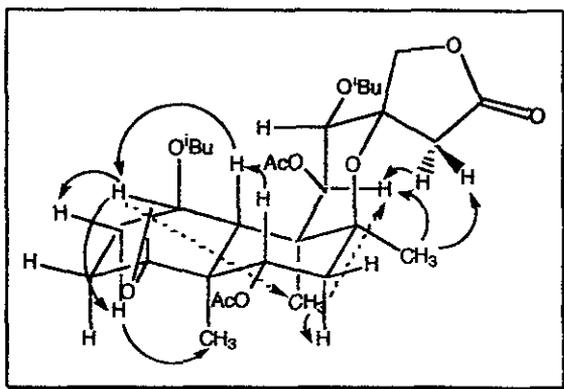


fig. 35. Principales interacciones H-H observadas en el espectro NOESY de escuteguatalina A.

El modelo molecular Dreiding de este compuesto permite establecer que el anillo A adopta la conformación de bote debido a que en ésta se minimizan las interacciones de tipo estérico que surgen entre los ésteres isobutirato en las posiciones 1 y 11 en la conformación de silla , por lo que en dicha conformación de bote la molécula debe ser mas estable.

La estructura propuesta para este compuesto se confirma por medio del análisis de rayos X (fig.36) efectuado en uno de los cristales de este compuesto, el cual recibe el nombre semi-sistemático: (13*R*)-6 α ,11 β -diacetoxi-1 β ,12 α -diisobutiroloxi-4 α ,18;8 β ,13-diepoxi-*neo*-clerodan-15,16-ólida.

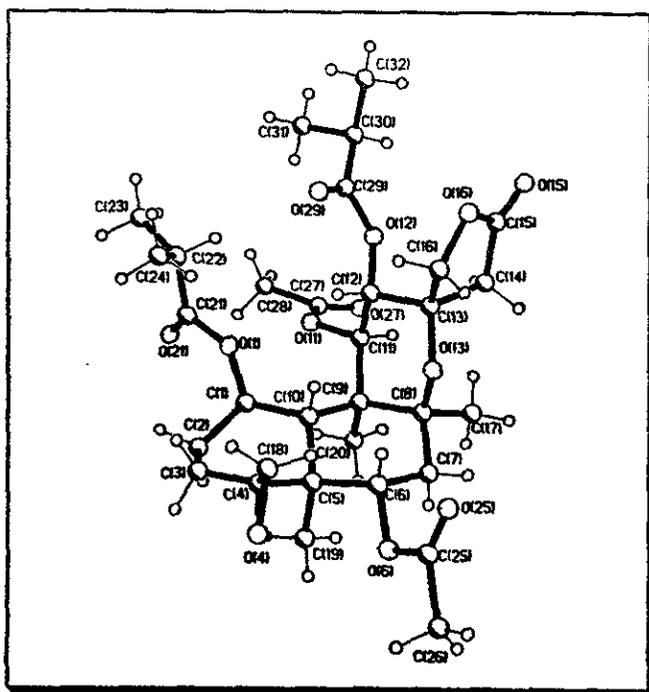


fig. 36. Estructura de rayos X de escutiguatmalina A.

Aparte del diterpeno descrito anteriormente, también se aisló de *S. guatemalensis* un flavonoide, cuya estructura fué determinada por medio de los espectros de IR, UV, EM y RMN ^1H (ver Parte Experimental), el esqueleto mostrado pertenece al de una flavona que ya es conocida bajo el nombre de esculcapflavona II, aislada previamente de *S. baicalensis* Georgi⁵³.

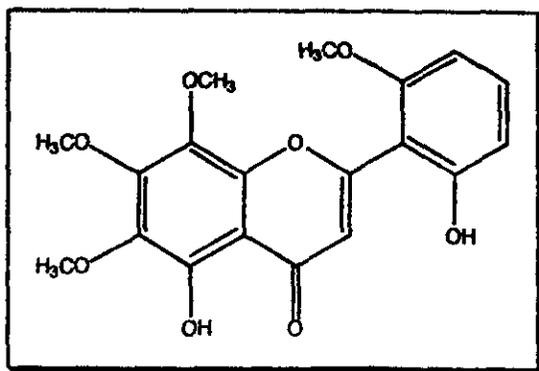


fig. 37. Esculcapflavona II.

Scutellaria caerulea Moc. et Sessé

Del estudio del extracto acetónico de las partes aéreas de esta especie se obtienen las siguientes conclusiones:

Se aislaron siete metabolitos secundarios, dos de ellos son flavonoides y los cinco restantes son terpenos, tratándose en específico de compuestos diterpénicos.

De los flavonoides obtenidos, uno presenta en su estructura un arreglo molecular del tipo de las flavonas, la cual ya es conocida bajo el nombre común oroxilina A, aislada previamente de *Oroxylum indicum* (Bignoniaceae)⁵⁸, así como de otras especies pertenecientes al género *Scutellaria*, entre éstas *S. baicalensis* Georgi⁵³.

El otro flavonoide obtenido es la dihidroflavona correspondiente del compuesto señalado anteriormente; es decir, se trata de una flavanona, la cual se conoce con el nombre común dihidrooroxilina A, aislada con anterioridad también de *S. baicalensis* Georgi⁵³.

Los cinco compuestos diterpénicos obtenidos muestran un arreglo molecular característico de los clerodanos, a los cuales se les han asignado los nombres comunes de escuteruleínas A, B, C, D y desacetilscuteruleína B, todos ellos constituyen nuevas aportaciones en el área de productos naturales, puesto que ninguno se encuentra descrito en la literatura.

Todos estos compuestos presentan un patrón de oxigenación específico y constante, en el que las posiciones C-1, -6, -7, -8 y -11 se encuentran oxidadas, y en las posiciones C-15 y -16 se encuentra una función butanólida (o butenólida).

Las características citadas anteriormente son, en parte, compartidas por los diterpenos obtenidos de las especies chinas *S. rivularis* Wall.^{16-21,39} (1-10, 64 y 65), *S. baicalensis* Georgi³⁶ (50) y *S. barbata* D. Don^{†14} (43), así como también con los obtenidos de la especie mexicana *S. drummondii* Benth.¹¹ (32-34), aunque en menor grado, ya que éstos últimos presentan oxidación en la posición C-2, lo cual no se observa en las escuteruleínas.

† En realidad, *S. rivularis* Wall. es un nombre sinónimo de *S. barbata* D. Don.⁵⁹

Desde un punto de vista quimiotaxonómico, es importante señalar que la oxidación en C-1, mostrada por todos los diterpenos obtenidos de esta especie, sólo había sido presentada por los compuestos denominados jodrellina T (13)²³, 14,15-dihidrojodrellina T (14)²³ y escupontina G (74)⁴².

***Scutellaria guatemalensis* Leon.**

Del estudio del extracto acetónico de las partes aéreas de esta especie se pueden enunciar las siguientes conclusiones:

Se aislaron dos metabolitos secundarios, uno de ellos es un flavonoide y el otro un diterpeno .

El flavonoide obtenido presenta la estructura general de una flavona, la cual ya es conocida bajo el nombre común de esculcaplavona II, aislada previamente de *S. baicalensis* Georgi⁵³. Cabe señalar que para este compuesto se describe en la literatura una notable actividad en el metabolismo de lípidos en ratas así como actividad citotóxica^{60,61}.

El diterpeno obtenido muestra un esqueleto de clerodano, el cual es otra aportación nueva al área de los productos naturales, puesto que tampoco se encuentra descrito en la literatura, éste fue denominado escuteguatemalina A.

El patrón de oxidación mostrado por éste compuesto difiere del encontrado para los aislados de la otra especie básicamente, en que en la escuteguatemalina A no se encuentra oxidada la posición C-7 y si la posición C-12. Esto es de notable importancia desde el punto de vista quimiotaxonómico, puesto que es el segundo clerodano aislado hasta ahora del género *Scutellaria* que presenta dicha posición oxidada, característica compartida sólo con el denominado scupontina G (74), y la cual es más bien presentada por algunos de los clerodanos aislados de otros géneros pertenecientes también a la familia *Lamiaceae*, tales como *Salvia*, *Teucrium* y *Ajuga* ⁶.

Sin embargo, se puede decir que algunas del resto de las características mostradas por la estructura de este compuesto son compartidas, principalmente, por los compuestos aislados de las especies *S. rivularis* Wall.^{16-21,39} (1-10, 64 y 65) y *S. drummondii* Benth¹¹ (32-34).

En general, acerca del presente trabajo se puede concluir lo siguiente:

El perfil químico encontrado es presencia de flavonoides y diterpenos en las partes aéreas de las especies estudiadas.

Ya que éste mismo fué descrito en su turno para la otra especie mexicana *S. drummondii* Benth.¹¹, se puede decir que este es el perfil químico encontrado hasta ahora para el género *Scutellaria* en México, el cual corresponde con el descrito en la literatura para las especies originanas de Europa y Asia.

Sin embargo, ya que los metabolitos secundarios obtenidos de las dos especies objeto del presente trabajo guardan una estrecha similitud (mas notoria que los aislados de *S. drummondii* Benth.¹¹) con los obtenidos de las especies de origen chino, es posible decir que las especies de ambos lugares, tanto México como China, están relacionadas entre sí desde un punto de vista estructural, y difieren marcadamente del resto de las especies estudiadas hasta ahora, provenientes en su mayoría de Europa.

Los compuestos del tipo flavonoide obtenidos de ambas especies han sido aislados también de la especie china *S. baicalensis* Georgi⁵³, entre otras, lo cual apoya la relación previamente mencionada, aunque en realidad es necesario continuar con el estudio de éste género el cual se puede considerar que aún se encuentra en una etapa inicial.

Para todos los compuestos de tipo clerodano obtenidos de las dos especies estudiadas, se determinó su configuración relativa por métodos espectroscópicos y con base en fundamentos de tipo biogénético, se asume que pertenecen a la serie de los *neo*-clerodanos, al igual que los obtenidos de la especie mexicana *S. drummondii* Benth.¹¹ y demás *Scutellaria spp.*, para algunos de los cuales se ha determinado su configuración absoluta por otros métodos.^{27,31,36}

Estos mismos se encuentran en proceso de evaluación de actividad antialimentaria contra *Spdoptera littoralis* y *S. frugiperda*.

Material y aparatos utilizados.

Los puntos de fusión de los productos obtenidos fueron determinados en un aparato Mel-Temp II y no están corregidos.

En todas las cromatografías en columna (CC) llevadas a cabo, se utilizó como fase estacionaria Gel de Sílice 60, malla 230-400 ASTM.

Para cromatografía en capa fina (CCF) se utilizaron cromatofolios Alugram Sil G/UV₂₅₄ (Macherey-Nagel Düren MN) y se utilizó como revelador una solución de sulfato cérico en ácido sulfúrico 0.2 N

Los espectros de I.R. fueron obtenidos en el Espectrofotómetro FT-IR Nicolet Magna 750.

Los espectros de R.M.N. ¹H y ¹³C fueron corridos en los Espectrofotómetros Varian Unity 300 (300 MHz.) y Varian Unity Plus 500 (500 MHz.).

Los espectros de U.V. fueron obtenidos en los Espectrofotómetros UV-VIS Perkin Elmer 552 y Shimadzu 160 U.

Las rotaciones ópticas fueron determinadas en el Polarímetro Jasco DIP-360

Los espectros de E.M. fueron obtenidos utilizando las técnicas de ionización por impacto electrónico a 70 eV y FAB⁺ en los Espectrofotómetros Jeol JMS-AX505HA y Jeol JMS-SX102A, respectivamente.

Los experimentos de difracción de rayos X para scuterulefina A y scuteguatemalina A fueron realizados en los Difractómetros Nicolet P3/F y Siemens P3/F, respectivamente; utilizando una radiación tipo CuK α ($\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$) para ambos.

Aislamiento y purificación de los componentes de *Scutellaria caerulea* Moc. et Sessé.

Recolección

La *Scutellaria caerulea* fué recolectada en el estado de Puebla, México en agosto de 1994 con base en los datos descritos en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M., y fué depositada una muestra de esta especie en él mismo bajo el número de registro MEXU PT-14122.

Extracción

Un total de 180 g de material seco y molido, perteneciente a las partes aéreas de la especie fué puesto a macerar por espacio de siete días en 5 L de acetona. Al término de este tiempo se concentró el extracto, evaporando el disolvente en un rotavapor y posteriormente se llevó a sequedad en una bomba de alto vacío.

De esta forma se obtuvo el extracto seco, cuyo peso fué de 4.55 g.

Separación

Al extracto seco obtenido (4.55 g) se le practicó una cromatografía en columna (CC) utilizando una columna de vidrio de 8 cm de diámetro y sílica gel como fase estacionaria (8 cm de altura) y mezclas de hexano-acetona y acetona-metanol de polaridad ascendente como eluyente, para el desarrollo de la columna se empleó vacío

Empleando diversas técnicas de purificación, entre éstas cromatografía en columna en la modalidad "relámpago"⁵⁷ para todos los casos en que hubo que practicar subsecuentes cromatografías en columna, se obtuvieron los metabolitos secundarios que a continuación se describen de las fracciones cuyas polaridades hexano-acetona fueron 8:2 y 6:4 (los rendimientos que se señalan se obtuvieron con base en el peso del extracto seco).

En el diagrama 1 se muestra la metodología general seguida durante este trabajo, mientras que en los diagramas 2 y 3 se muestra mas detalladamente el trabajo experimental llevado a cabo con el fin de que sea mas clara la forma en que fueron obtenidos los metabolitos secundarios de *S. caerulea*

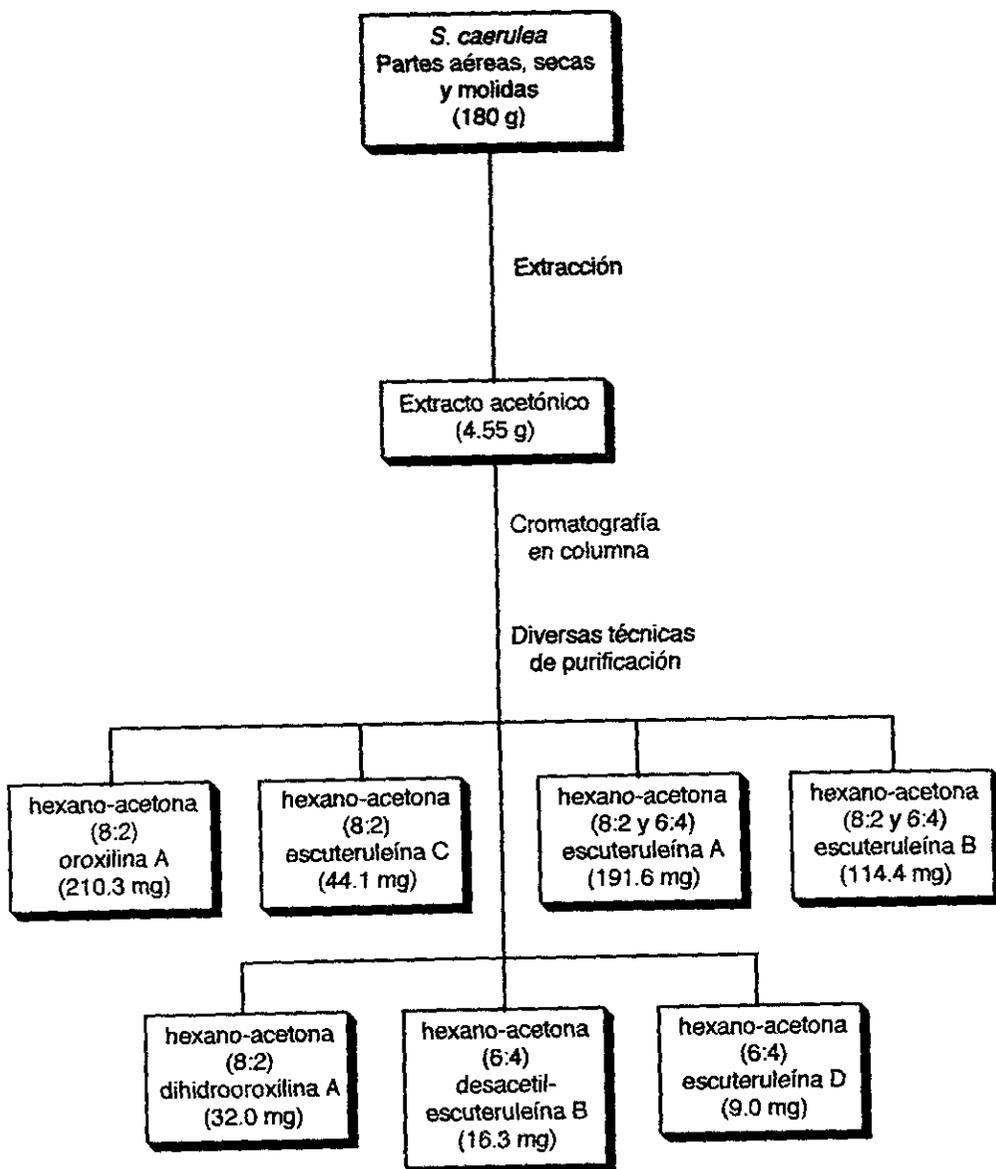


Diagrama 1. Metodología general seguida durante el estudio de *S. caerulea* Moc et Sessé

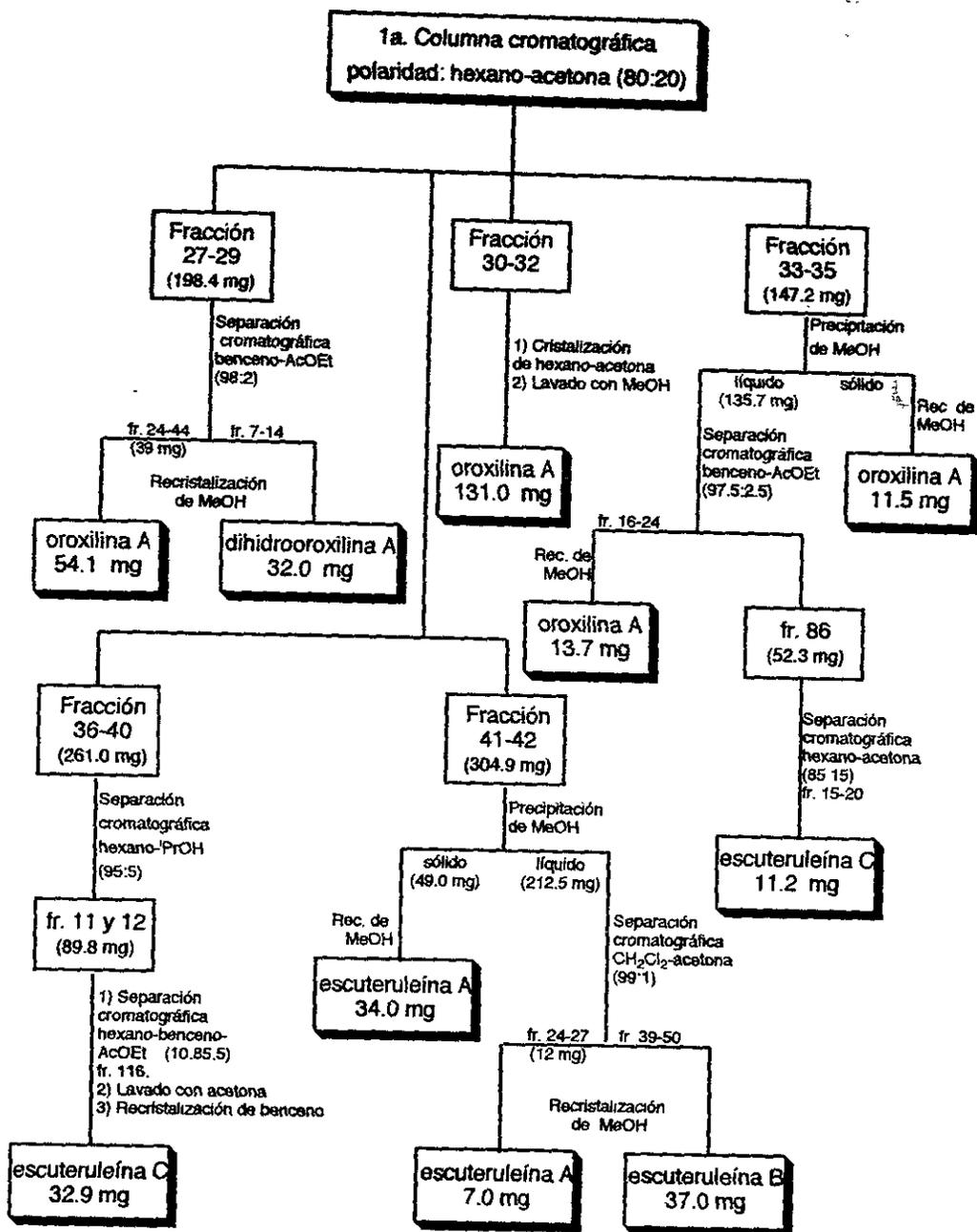


Diagrama 2. Aislamiento y purificación de oroxilina A, dihidrooroxilina A y las escuterueínas A-C.

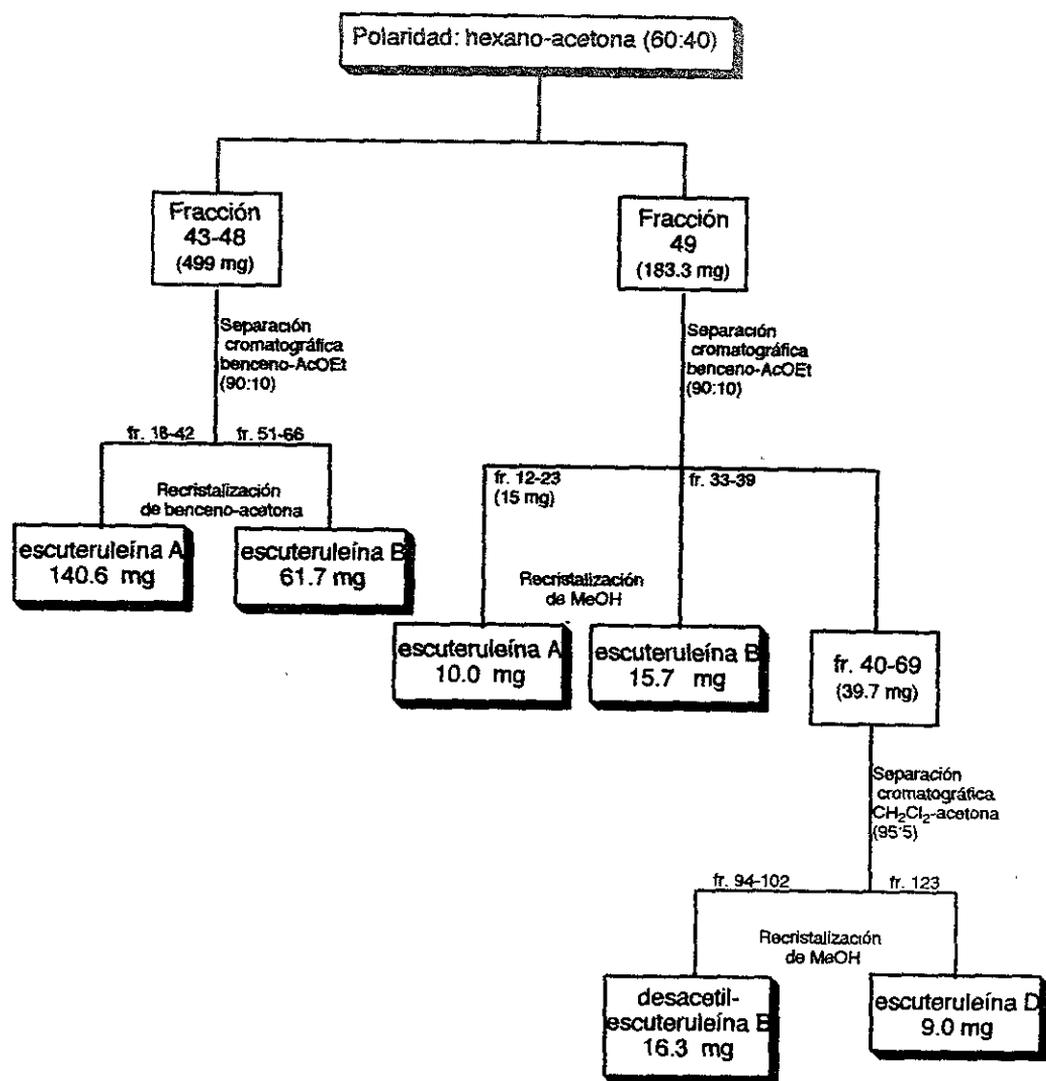


Diagrama 3. Aislamiento y purificación de las escuteruleínas A, B, D y desacetil-escuteruleína B.

Oroxilina A: sólido cristalino de color amarillo intenso (210.3 mg, 4.62 % rend.), punto de fusión: 205°C (hexano-acetona).

UV (Metanol), $\lambda_{\text{máx.}}$, nm (log ϵ): 208 (4.505) y 276 (4.453)

IR (KBr), $\nu_{\text{máx.}}$, cm^{-1} : 3089 (-OH), 1657.23 (C=O perteneciente a una cetona muy conjugada), 1612.39 (C=C conjugado), 1000-1200 (bandas muy finas características de $\text{Csp}^2\text{-H}$ típicas para compuesto de tipo aromático).

RMN ^1H , 300 MHz ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$, TMS); δ , ppm: H-3: 6.41 (s, 1H), H-8: 6.67 (s, 1H), H-2' y -6': 7.95 (m, 2H), H-3', -4' y -5': 7.55 (m, 3H), OH-5: 12.42 (s, 1H), OH-7: 9.89 (s, 1H), $\text{CH}_3\text{O-6}$: 3.98 (s, 3H).

RMN ^{13}C , 75 MHz ($\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-d}_6$, TMS); δ , ppm: C-2: 163.2 (s), C-3: 105.2 (d), C-4: 182.2 (s), C-5: 149.5 (s), C-6: 127.7 (s), C-7: 156.9 (s), C-8: 99.4 (d), C-9: 156.9 (s), C-10: 104.4 (s), C-1': 131.1 (s), C-2': 128.9 (d), C-3': 125.9 (d), C-4': 131.6 (d), C-5': 125.9 (d), C-6': 128.9 (d), $\text{CH}_3\text{O-6}$: 61.3 (c).

EMIE, m/z (abund. rel. %): 284 ($[\text{M}]^+$, 70), 285 ($[\text{M}+1]^+$, 13), 286 ($[\text{M}+2]^+$, 3.2), 269 (100), 241 (32.4), 182 (1.2), 167 (8.7), 153 (3.6), 139 (37.2), 105 (2.8), 102 (4.7).

Escuteruleína C ((11S)-6 α -acetoxi-7 β ,11-diisobutiroliloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),13(14)-neo-clerodadien-15,16- δ lida): sólido cristalino incoloro (44.1 mg, 0.97 % rend.), punto de fusión: 120-122°C (benceno)

$[\alpha]_{\text{D}} = -18^\circ$

UV (Metanol), $\lambda_{\text{máx.}}$, nm (log ϵ): 202 (4.307)

IR (Película), $\nu_{\text{máx.}}$, cm^{-1} : 3585 (-OH); 1783, 1747 y 1643 (C=O y C=C conjugado, pertenecientes a una γ -lactona α,β -insaturada); 1643 y 893 (C=CH₂, metileno exocíclico); 1747, 1251 y 1148 (C=O, C-C(=O)-O y -O-C-C, para ésteres de tipo alifático); 1389 y 1371 (-CH(CH₃)₂).

RMN ^1H , 500 MHz (CDCl_3 , TMS) (espectro 1) ver tabla 2.

RMN ^{13}C , 125 MHz (CDCl_3 , TMS) (espectro 2) ver tabla 3.

EMIE, m/z (abund. rel. %): 564 ($[\text{M}^+]$ 4.3), 493 (2.7), 476 (5.5), 416 (2.0), 398 (7.0), 388 (3.1), 370 (1.6), 328 (10.9), 310 (3.9), 220 (28.8), 187 (38.9), 105 (22.6), 71 (79.0), 43 (100).

EMFAB⁺ Alta resolución: m/z estimado para $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_{10}$ 564.3013, observado 564.3042.

Escuteruleína A ((13*R*)-1 β ,6 α ,7 β -triacetoxi-11 β -benzoiloxi-8 β ,13-epoxi-4(18)-*neo*-cleroden-15,16- δ lida): sólido cristalino incoloro (191.6 mg, 4.21 % rend.), punto de fusión: 130-133°C (acetona-benceno).

$[\alpha]_D = -101^\circ$

UV (Metanol), $\lambda_{\text{máx.}}$, nm (log ϵ): 201 (4.446), 228 (4.226) y 272 (3.061)

IR (CHCl₃), $\nu_{\text{máx.}}$, cm⁻¹: 1784 (C=O perteneciente a una γ -lactona spiro), 1744 (C=O de éster acetato), 1731 (C=O de éster benzoato), 1641 y 919 (C=CH₂, metileno exocíclico), 1244 y 1287 (C-C(=O)-O y -O-C-C, para ésteres de tipo alifático y aromático).

RMN ¹H, 500 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 7) ver tabla 4.

RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 8) ver tabla 5.

EMIE, m/z (abund. rel. %): 552 (1.2), 492 (1.2), 432 (10.6), 430 (1.2), 370 (3.3), 310 (15.5), 105 (100), 43 (24.5).

EMFAB+ Alta resolución: m/z estimado para C₃₃H₄₀O₁₁ 612.2649, observado 612.2642.

Escuteruleína B ((11*S*)-1 β ,6 α ,11-triacetoxi-7 β -isobutiroiloxi-8 β -hidroxi-4 (18), 13 (14)-*neo*-clerodadien-15,16- δ lida): sólido amorfo de color blanco-amarillo (114.4 mg, 2.51 % rend.), punto de fusión: 155°C (acetona-benceno).

$[\alpha]_D = -3.5^\circ$

UV (Metanol), $\lambda_{\text{máx.}}$, nm (log ϵ): 205 (4.403).

IR (Película), $\nu_{\text{máx.}}$, cm⁻¹: 3463 (-OH); 1781, 1740 y 1642 (C=O y C=C, pertenecientes a una γ -lactona α , β -insaturada); 1642 y 888 (C=CH₂, metileno exocíclico), 1740, 1243 y 1154 (C=O, C-C(=O)-O y -O-C-C, para ésteres de tipo alifático).

RMN ¹H, 500 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 14) ver tabla 6.

RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 15) ver tabla 7.

EMIE, m/z (abund. rel. %): 578 ([M⁺] 1.2), 518 (3.2), 500 (1.6), 458 (2.8), 430 (2.0), 398 (11.7), 370 (6.5), 352 (1.6), 310 (15.8), 292 (3.2), 71 (57.5), 43 (100).

EMFAB+ Alta resolución. m/z estimado para C₃₀H₄₂O₁₁ 578.2805, observado 578.2789.

Desacetilescuteruleína B ((11S)-6 α ,11-diacetoxi-7 β -isobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4(18),13(14)-neo-clerodadien-15,16-ólida): sólido cristalino incoloro (16.3 mg, 0.35 % rend.), punto de fusión: 180-184°C (CH₂Cl₂-acetona).

$[\alpha]_D = -6.0^\circ$

UV (Metanol), $\lambda_{m\acute{a}x}$, nm (log ϵ): 210 (4.243) y 222 (3.826)

IR (CHCl₃), $\nu_{m\acute{a}x}$, cm⁻¹: 3585 (-OH); 1783, 1747 y 1642 (C=O y C=C conjugado, pertenecientes a una γ -lactona α,β -insaturada); 1642 y 892 (C=CH₂, metileno exocíclico); 1747,1241 y 1149 (C=O, C-C(=O)-O y -O-C-C, para ésteres de tipo alifático).

RMN ¹H, 500 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 20) ver tabla 8.

RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 21) ver tabla 9.

EMIE, m/z (abund. rel. %): 536 ([M⁺] 6.7), 518 (1.3), 493 (2.9), 476 (6.3), 458 (1.3), 416 (2.1), 398 (7.5), 388 (5.0), 370 (2.1), 328 (12.6), 310 (4.2), 71 (57.7), 43 (100).

EMFAB⁺ Alta resolución: m/z estimado para C₂₈H₄₀O₁₀ 536.2700, observado 536.2719.

Dihidrooroxilina A: sólido cristalino de color amarillo paja (32.0 mg, 0.70 % rend.), punto de fusión: 148°C (metanol).

UV (Metanol), $\lambda_{m\acute{a}x}$, nm (log ϵ): 209 (4.517), 293 (4.228) y 337 (3.639)

IR (Película), $\nu_{m\acute{a}x}$, cm⁻¹: 3498.7 (-OH), 1643.05 (C=O conjugado).

RMN ¹H, 300 MHz (CDCl₃ + DMSO-d₆, TMS); δ , ppm (J, Hz): H-2: 5.48 (*dd*, 3.3 y 12.6, 1H), H-3A: 3.07 (*dd*, 12.6 y 17.3, 1H), H-3B: 2.86 (*dd*, 3.3 y 17.3, 1H), H-8: 6.13 (*s*, 1H), H-2'-6': 7.44 (*m*, 5H), OH-5: 11.86 (*s*, 1H), OH-7: 8.11 (*s*, 1H), CH₃O-6: 3.84 (*s*, 3H).

RMN ¹³C, 75 MHz (CDCl₃ + DMSO-d₆, TMS); δ , ppm: C-2: 79.4 (*d*), C-3: 43.4 (*t*), C-4: 195.4 (*s*), C-5: 153.3 (*s*), C-6: 128.1 (*s*), C-7: 158.9 (*s*), C-8: 96.3 (*d*), C-9: 159.7 (*s*), C-10: 102.6 (*s*), C-1': 138.4 (*s*), C-2': 125.9 (*d*), C-3': 128.8 (*d*), C-4': 128.7 (*d*), C-5': 128.8 (*d*), C-6': 125.9 (*d*), CH₃O-6: 61.3 (*c*).

EMIE, m/z (abund. rel. %): 286 ([M]⁺, 100), 287 ([M+1]⁺, 17.9), 288 ([M+2]⁺, 2.4), 285 (8.1), 271 (10.2), 243 (2.0), 183 (6.9), 182 (60.2), 167 (54.9), 154 (16.3), 153 (13.0), 139 (9.4), 104 (4.5).

Escuteruleína D (6 α -acetoxi-7 β -isobutiroiloxi-1 β ,8 β -dihidroxi-4 (18),11,13 (14)-*neo*-clerodatrien-15,16- δ lida): sólido amorfo blanco (9 mg, 0.19 % rend.), punto de fusión: 162-165°C (CH₂Cl₂-acetona).

UV (Metanol), $\lambda_{\text{máx.}}$, nm (log ϵ): 271 (4.209)

IR (CHCl₃), $\nu_{\text{máx.}}$, cm⁻¹: 3595 (-OH); 1782, 1744 y 1641 (C=O y C=C conjugado, pertenientes a una γ -lactona α,β -insaturada); 1641 y 914 (C=CH₂, metileno exocíclico); 1744, 1250 y 1151 (C=O, C-C(=O)-O y -O-C-C, para ésteres de tipo alifático).

RMN ¹H, 500 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 26) ver tabla 10.

RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 27) ver tabla 11.

EMIE, m/z (abund. rel. %): 476 ([M⁺] 8.0), 458 (1.3), 416 (2.1), 398 (22.4), 388 (3.8), 370 (2.9), 328 (29.5), 310 (4.6), 71 (60.8), 43 (100).

EMFAB⁺ Alta resolución: m/z estimado para C₂₆H₃₆O₈ 476.2410, observado 476.2400.

Aislamiento y purificación de los componentes de *Scutellaria guatemalensis* Leon.

Recolección.

Scutellaria guatemalensis fué recolectada en el estado de Puebla, México; en septiembre de 1995 con base en los datos descritos en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M., y fueron depositadas muestras de esta especie en éste mismo y en el Herbario del I.M.S.S. bajo los números de registro MEXU MA-2876 e IMSSM MA-2903, respectivamente.

Extracción.

Un total de 189.5 g de partes aéreas, secas y molidas fueron puestas a macerar por espacio de siete días en 5 L de acetona (dos veces), después se concentró y secó el extracto de la misma forma en que se hizo con el extracto de *S. caerulea*, obteniéndose así 4.6 g de extracto seco.

Separación.

Procediendo con la misma metodología utilizada en el estudio de *S. caerulea*^{en}, al total del extracto seco obtenido se le practicó una cromatografía en columna, utilizando sílica gel como fase estacionaria y mezclas de hexano-acetona y acetona-metanol de polaridad ascendente como eluyente, también se empleó vacío para la elución de la columna.

Los metabolitos secundarios obtenidos de esta especie, los cuales son descritos en seguida, procedieron de las fracciones cuya polaridad fué hexano-acetona (8:2). Los rendimientos señalados se obtuvieron con base en el peso del extracto seco.

En el diagrama 4 se muestra la metodología general seguida durante el estudio de esta especie y en el diagrama 5 se muestra con más detalle el trabajo experimental realizado.

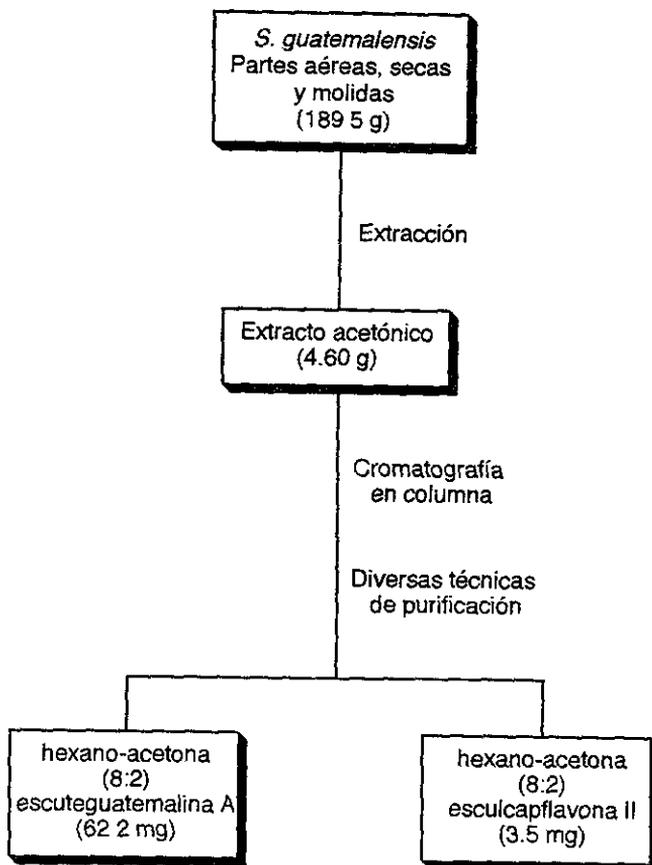


Diagrama 4 Metodología general seguida durante el estudio de *S. guatemalensis* Leon.

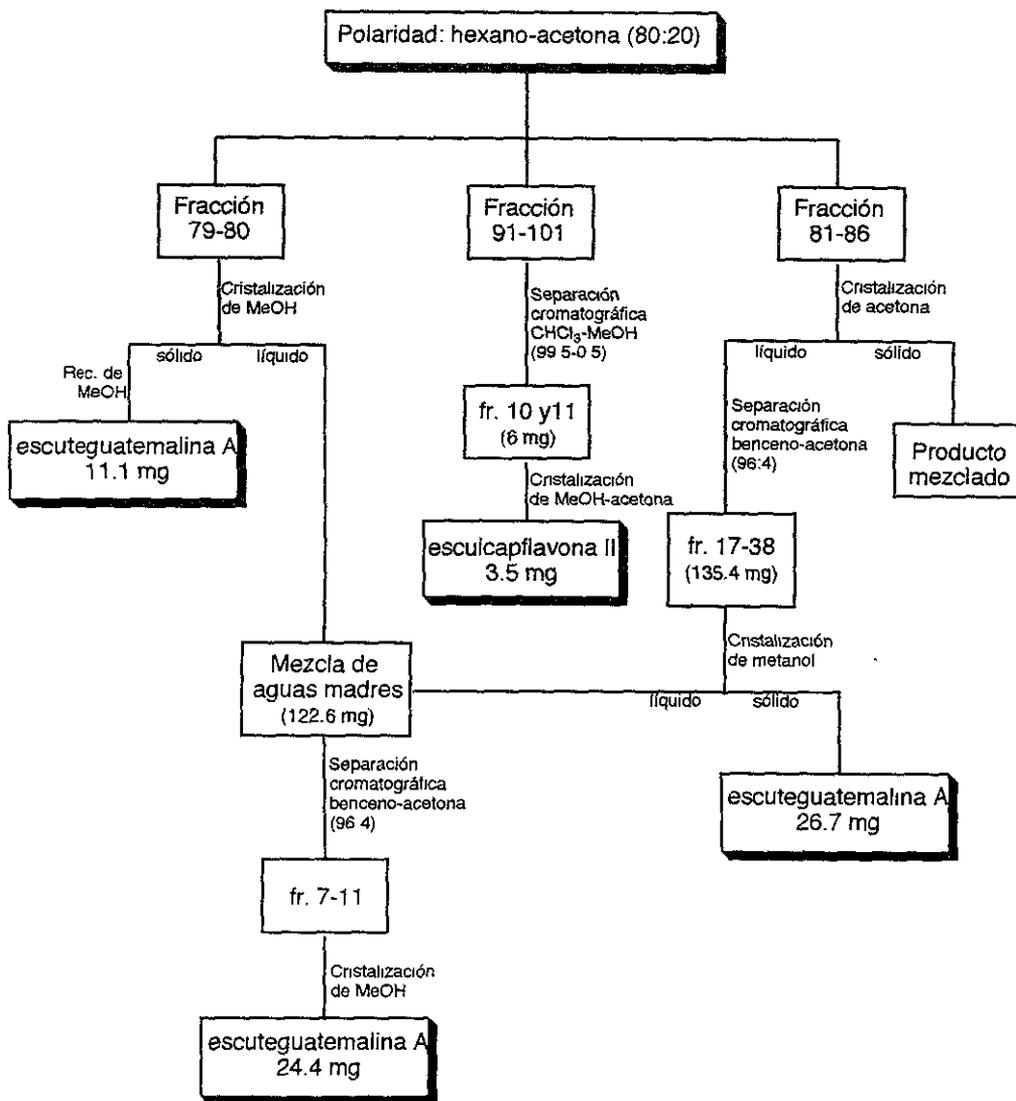


Diagrama 5. Aislamiento y purificación de esculcapflavona II y escuteguatalina A

Escuteguatemalina A ((13*R*)-6 α ,11 β -diacetoxi-1 β ,12 α -diisobutiroloxi-4 α ,18;8 β ,13-diepoxi-*neo*-clerodan-15,16- δ lida): sólido cristalino incoloro (62.2 mg, 1.35 % rend.), punto de fusión: 233-234°C (metanol).

$[\alpha]_D = -108^\circ$

IR (CHCl₃), $\nu_{\text{máx.}}$, cm⁻¹: 1790 (C=O perteniente a una γ -lactona spiro), 1736 (C=O de ésteres tipo alifático), 1243 y 1153 (C-C(=O)-O y -O-C-C, para ésteres de tipo alifático).

RMN ¹H, 500 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 31) ver tabla 12.

RMN ¹³C, 125 MHz (CDCl₃, TMS) (espectro 32) ver tabla 13.

EMIE, m/z (abund. rel. %): 645 ([M+23]⁺, 3.8), 623 ([M+1]⁺, 8.8), 535 (3.8), 475 (31.8), 415 (4.6), 387 (3.1), 327 (13.8), 71 (75.1), 43 (100).

EMFAB⁺ Alta resolución: m/z estimado para C₃₂H₄₆O₁₂ 622.3068, observado 622.3071.

Esculcapflavona II: sólido cristalino de color amarillo intenso (3.5 mg, 0.08 % rend.), punto de fusión: 175°C (acetona-metanol).

UV (Metanol), $\lambda_{\text{máx.}}$, nm (log ϵ): 205 (4.59) y 270 (4.34)

IR (KBr), $\nu_{\text{máx.}}$, cm⁻¹: 3508 (-OH), 1655 (C=O perteniente a una α -ona muy conjugada), 1607 (C=C conjugado), 1000-1200 (bandas muy finas características de C_{sp}²-H típicas para compuesto de tipo aromático).

RMN ¹H, 300 MHz (CDCl₃+DMSO-d₆, TMS); δ , ppm (J, Hz): H-3: 6.73 (*s*, 1H), H-3': 6.57 (*dd*, 1.2 y 8.4, 1H), H-4': 7.33 (*dd*, 8.4 y 8.4, 1H), H-5': 6.66 (*dd*, 1.2 y 8.4, 1H), OH-5: 12.36 (*s*, 1H), OH-2': 7.26 (*s*, 1H), 4 CH₃O-: 4.10, 3.95, 3.92 y 3.85 (*c/u*: *s*, 3H).

EMIE, m/z (abund. rel. %): 374 ([M]⁺, 78.7), 375 ([M+1]⁺, 17.6), 376 ([M+2]⁺, 3.4), 359 (100), 344 (2.9), 331 (1.7), 227 (0.84), 211 (25.1), 197 (2.9), 183 (7.95), 151 (1.7), 148 (1.3).

1. Rzedowski, J. *Vegetación de México*. Limusa, México, 1983.
2. Bye, R., Linares, E. and Estrada, E. (1995). Biological Diversity of Medicinal Plants in Mexico. In J.T. Arnason, R. Mata and J.T. Romeo (Editors). *Phytochemistry of Medicinal Plants, Recent Advances in Phytochemistry* **29**, pp. 65-82. Plenum Press New York.
3. Ramamoorthy, T.P. and Elliot, M. (1993). Mexican Lamiaceae: Evolution, Distribution and Endemism. In T.P. Ramamoorthy, R. Bye, A. Lot and J. Fa (Editors). *Biological Diversity of Mexico: Origins and Distribution*. Oxford University Press, New York.
4. Hedge, I.C. (1992). A Global Survey of the Biogeography of the Labiatae. In R.M. Harley and T. Reynolds (Editors). *Advances in Labiatae Science*, pp. 7-17. Royal Botanic Gardens, Kew. Información adicional más reciente: <http://www.rbgbkew.org.uk/lamiales/index.htm> Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, Surrey, TW9 3AE, U.K.
5. Wagner, H. *Rev. Latinoamer. Quím.* **8**, 16 (1977).
6. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B. and Cárdenas, J. (1994). Clerodane Diterpenes in Labiatae. In W. Herz, G.W. Kirby, R.E. Moore, W. Steglich and Ch. Tamm (Editors). *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products* **63**, pp. 107-196. Wien, Springer-Verlag New York.
7. Pereda-Miranda, R. (1995). Bioactive Natural Products from Traditionally Used Mexican Plants. In J.T. Arnason, R. Mata and J.T. Romeo (Editors). *Phytochemistry of Medicinal Plants, Recent Advances in Phytochemistry* **29**, pp. 83-112. Plenum Press New York.
8. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B. and Cárdenas, J. (1992). The Distribution of Diterpenoids in *Salvia*. In R.M. Harley and T. Reynolds (Editors). *Advances in Labiatae Science*, pp. 335-347. Royal Botanic Gardens, Kew.
9. Epling, C. *Univ. Cal. Publ. Bot.* **20**, 1 (1942).
10. Barberan, F.A.T. *Fitoterapia* **LVII**, 67 (1986)
11. Esquivel, B., Flores, E., Hernández-Ortega, S. and Toscano, R.A. *Phytochemistry* **38**, 175 (1995).

12. Rzedowski, J. and C. de Rzedowski, G. Flora Fanerogámica del Valle de México II: Dicotyledoneae. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional e Instituto de Ecología; México, 1985.
13. Martínez, M.A., Evangelista, O.V., Mendoza, C.M., Morales, G.G., Toledo, O.G. y Wong, L.A. Catálogo de Plantas Útiles de la Sierra Norte de Puebla, México Cuadernos 27. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México; México, 1995.
14. Quan, W.Z., Ming, X.F., Zhong, Y.X. and Yuan, Z. *Chin. Chem. Lett.* **7**, 333 (1996). *Chemical Abstracts* **124** 337909p
15. Calis, I., Ersoz, T., Saracoglu, I. and Sticher, O. *Phytochemistry* **32**, 1213 (1993).
16. Lin, Y.L. Kuo, Y.H., Lee, G.H. and Peng, S.M.. *J. Chem. Res (S)* 320 (1987).
17. Kikuchi, T., Tsubono, K., Kadota, S., Kizu, H., Imoto, Y. and Tomimori, T. *Chemistry Letters* 987 (1987).
18. Kizu, H., Imoto, Y., Tomimori, T., Tsubono, K., Kadota, S. and Kikuchi, T. *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 1656 (1987).
19. Lin, Y.L. and Kuo, Y.H. *Heterocycles* **27**, 779 (1988).
20. Lin, Y.L., Kuo, Y.H., Cheng, M.C. and Wanug, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 2642 (1988).
21. Lin, Y.L. and Kuo, Y.H. *Chem. Pharm Bull* **37**, 582 (1989).
22. Anderson, J.C., Blaney, W.M., Cole, M.D., Fellows, L.L., Ley, S.V., Sheppard, R.N. and Simmonds, M.S.J. *Tetrahedron Letters* **30**, 4737 (1989)
23. Cole, M.D., Anderson, J.C., Blaney, W.M., Fellows, L.E., Ley, S.V., Sheppard, R.N. and Simmonds, M.S.J. *Phytochemistry* **29**, 1793 (1990).
24. De la Torre, M.C., Bruno, M., Piozzi, F., Rodríguez, B., Savona, G. and Servettaz, O. *Phytochemistry* **31**, 3639 (1992).

25. Rodríguez, B., De la Torre, M.C., Rodríguez, B., Bruno, M., Piozzi, F., Savona, G., Simmonds, M.S.J., Blaney, W.M. and Perales, A. *Phytochemistry* **33**, 309 (1993).
26. Bruno, M., De la Torre, M.C., Piozzi, F., Rodríguez, B., Savona, G. and Arnold, N.A. *Phytochemistry* **33**, 931 (1993).
27. Bozov, P.I., Malakov, P.Y., Papanov, G.Y., De la Torre, M.C., Rodríguez, B. and Perales, A. *Phytochemistry* **34**, 453 (1993).
28. De la Torre, M.C., Rodríguez, B., Bruno, M., Malakov, P.Y., Papanov, G.Y., Piozzi, F. and Savona, G. *Phytochemistry* **34**, 1589 (1993).
29. Bozov, P.I., Papanov, G.Y. and Malakov, P.Y. *Phytochemistry* **35**, 1285 (1994).
30. Yukinori, M., Harahisa, K., Yumi, Y. and Tomimori, T. *Yakugaku Zasshi* **114**, 264 (1994).
Chemical Abstracts **121** 78349g
31. De la Torre, M.C., Rodríguez, B., Bruno, M., Piozzi, F., Savona, G., Vasallo, N. and Servettaz, O. *Phytochemistry* **38**, 181 (1995).
32. Rodríguez, B., De la Torre, M.C., Rodríguez, B. and Gómez-Serranillos, P. *Phytochemistry* **41**, 247 (1996).
33. Malakov, P.Y., Papanov, G.Y. and Boneva, I.M. *Phytochemistry* **41**, 855 (1996).
34. Bruno, M., Fazio, C. and Arnold, N.A. *Phytochemistry* **42**, 555 (1996).
35. Bruno, M., Piozzi, F., Rodríguez, B., De la Torre, M.C., Vasallo, N. and Servettaz, O. *Phytochemistry* **42**, 1059 (1996).
36. Hussein, A.A., De la Torre, M.C., Jimeno, M.L., Rodríguez, B., Bruno, M., Piozzi, F. and Servettaz, O. *Phytochemistry* **43**, 835 (1996).
37. Malakov, P.Y. and Papanov, G.Y. *Phytochemistry* **43**, 173 (1996).
38. Ohno, A., Kizu, H. and Tomimori, T. *Chem. Pharm. Bull.* **44**, 1540 (1996).

39. Kizu, H., Imoto, Y., Tomimori, T., Kikuchi, T., Kadota, S. and Tsubono, K. *Chem. Pharm. Bull.* **45**, 152 (1997).
40. Malakov, P.Y., Papanov, G.Y. and Spassov, S.L. *Phytochemistry* **44**, 121 (1997).
- 41.- Muñoz, D.M., De la Torre, M.C., Rodríguez, B., Simmonds, M.S.J. and Blaney W.M. *Phytochemistry* **44**, 593 (1997).
42. Rodríguez, B., De la Torre, M.C., Jimeno, M.L., Bruno, M., Vasallo, N., Bondi, M.L., Piozzi, F. and Servetaz, O. *J. Nat. Prod.* **60**, 348 (1997).
43. Ohno, A., Kizu, H. and Tomimori, T. *Chem. Pharm. Bull.* **45**, 1097 (1997).
44. Cole, M.D., Bridge, P.D., Dellar, J.E., Fellows, L.E., Cornish, M.C. and Anderson, J.C. *Phytochemistry* **30**, 1125 (1991).
45. Esquivel, B., Rodríguez-Hahn, L. and Simmonds, M. Actividad Insecticida de Diterpenos Clerodánicos Aislados de Salvias Mexicanas, 1er. Simposium "La Química en la U.N.A.M.", pp.140-150, Instituto de Química y Facultad de Química, México, 1992.
46. Barton, D.H.R., Cheung, H.T., Cross, A.D., Jackman, L.M. and Martin-Smith, M. *J. Chem. Soc.* 5061 (1961).
47. Jones, R.H., Angell, C.L., Ito, T. and Smith, R.J.D. *Can. J. Chem.* **37**, 2007 (1959).
48. Castells, T. y Camps, F. Tablas para la Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos por Métodos Espectroscópicos. 2a. edición, Alhambra; España, 1985.
49. Esquivel, B., Hernández, L.M., Cárdenas, J., Ramamoorthy, T.P. and Rodríguez-Hahn, L. *Phytochemistry* **28**, 261 (1989).
50. Silverstein, R.M. Spectrometric Identification of Organic Compounds. 5th. edition, John Wiley and Sons, Inc.; Singapore, 1991.
51. Atta-ur-Rahman, One and Two Dimensional N.M.R Spectroscopy. Elsevier Science Publishers B.V., pág. 409, Netherlands, 1989.

52. Manabe, S. and Nishino, Ch. *Tetrahedron* **42**, 3461 (1986).
53. Zhang, Y., Guo, Y., Onda, M., Hashimoto, K., Ikeya, Y., Okada, M. and Maruno, M. *Phytochemistry* **35**, 511 (1994).
54. Joshi, B.S. and Gawad, D.H. *Proc. Indian Acad. Sci.* **86A**, 41 (1977).
55. Saver, Hänsel, *Planta Med.* **15**, 443 (1967).
56. Carbon-13 NMR of Flavonoids 1989. In P.K. Agrawal (Editor). *Studies in Organic Chemistry* **39**. Elsevier Science Publishers B.V. 1989, Netherlands.
57. Still, W.C., Kahn, M. and Mitra, A. *J. Org. Chem.* **43**, 2923 (1978).
58. Harborne, J.B. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press London and New York, 1967.
59. Shou-liang, Ch., Gilbert, M.G., Xi-wen, L., Hedge, I.C., Zhi-yun, Z., An-ming, L. and D'Arcy, W. (1994). In W. Zheng-yi and P.H. Raven (Editors). *Flora of China* **17**, *Verbenaceae* through *Solanaceae*. Science Press (Beijing), Missouri Botanical Garden (St. Louis).
60. Kimura, Y., Kubo, M., Tani, T., Arichi, S., Ohminami, H. and Okuda, H. *Chem Pharm. Bull.* **29**, 2308 (1981).
61. *Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants*. In J.B. Harborne and H. Baxter (Editors), Taylor & Francis 1993, London-Washington, D.C.