

00524  
100



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO FITOQUIMICO DE  
*Salvia uruapana.*

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO**  
P R E S E N T A :  
**RENE MANJARREZ FIGUEROA**



**EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA**

MEXICO, D.F.

2003



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

Jurado asignado:

Presidente: Andrés Guillermo Martínez Casas  
Vocal: Francisco Rojo Callejas  
Secretario: Ricardo Jorge Cárdenas Pérez  
1er suplente: Eduardo Guillermo Delgado Lamas  
2do suplente: Alfonso Sebastián Lira Rocha

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

  
ASESOR DEL TEMA: M. en C. R. Jorge Cárdenas Pérez

  
SUSTENTANTE: René Manjarrez Figueroa

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: René Manjarrez  
Figueroa  
FECHA: 15/ octubre/03  
FIRMA: 

2

ESTA TESIS SE LLEVÓ A CABO  
BAJO LA DIRECCIÓN DEL  
MAESTRO EN CIENCIAS JORGE  
CÁRDENAS PÉREZ Y DEL Dr.  
BERNARDO FRONTANA URIBE  
EN EL INSTITUTO DE QUÍMICA  
DE LA UNAM.

A mis padres quienes han sabido apoyarme siempre y a quienes les agradezco la forma en la que me han educado, de otra manera no habría sido posible que pudiera realizar todas mis metas. Así también espero estén orgullosos de mi como yo lo estoy de ellos en todas sus formas.

A todos mis hermanos, pero especialmente a panchito por apoyo y tolerancia en todos los años que pasamos juntos. Ahora que empiezas una nueva vida, ten paciencia, si la tuviste conmigo lo demás es lo de menos. Gracias por el sobrino.

A mis amigos los bueyes, quiero decir, los tauro: Toño, échale muchas ganas a este nuevo proyecto que estas empezando, casi tienes todo, solo te falta casa, auto, dinero, etc. pero no te preocupes todo eso es material, lo importante ya lo tienes. Chente(a)Salvador, eres un muy buen amigo y espero continúe así por mas tiempo. Reynaldito espero te des cuenta que no vale la perder tiempo en cosas malas habiendo tantas cosas buenas, por cierto te tengo un regalito. Bueno ya saben que cuentan conmigo.

A mis amigas Fabis, por ser tan linda tierna e inocente sabes que te quiero mucho, a Licha compañera de muchas cafeaventuras, cómplice de otras mas. A la chaparrita consentida Italita por sus consejos o debería decir ordenes pues nunca pude diferenciarlos. A todas gracias.

A los ingeniebríos Cesar y Eduardo. Cesar no seas hipócrita, jamas vas a dejar de fumar. Lalo no que no ibas a caer? Bueno ya saben que se les quiere.

A todos los demás amigos y compañeros de los cuales prefiero no hacer lista por temor a omitir alguno y porque de cualquier manera debo suponer que lo saben y si no, pues no.

A los compañeros de los laboratorios de electroquímica y 2-8 del instituto que me han apoyado moral y técnicamente para la elaboración y conclusión de esta obra.

Al Dr. Bernardo por su apoyo técnico y al maestro Jorge por el apoyo en una etapa tan difícil como lo fue esta ultima.

A los miembros del H. Jurado por tomarse un tiempo en la revisión de esta tesis.

A Odeth.

A

Lo que es ya fue, lo que fue eso será. No hay nada nuevo bajo el sol. *Eclesiastés 1:9*

Para cada cosa hay una estación y un tiempo para cada propósito. Un tiempo para nacer, un tiempo para morir; un tiempo para plantar, un tiempo para cosechar lo sembrado. Un tiempo para reír, un tiempo para llorar. Un tiempo para trabajar, un tiempo para descansar. Un tiempo para destruir, un tiempo para construir. *Eclesiastés 3:1*

Lo que esta hecho por amor esta mas allá del bien y del mal. *Nietzsche*

Me molestaría abandonar un hecho por temor al desenlace, a las consecuencias. Cuando un asunto cualquiera termina mal, es que se ha carecido de buena mirada. Los remordimientos son hijos de esto, de una mala mirada. *Nietzsche*

El conocimiento es dolor. Los que mas sepan mas deben llorar esta verdad eterna. El árbol de la ciencia no es el de la vida. *Lord Byron*

No niego nada pero dudo de todo. *Lord Byron*

Dos pasos para la sabiduría: primero, criticarlo todo. Segundo, soportarlo todo. *Lichtenberg*

Es importante probar siempre cosas nuevas. De *Hannibal* El tiempo no es importante solo la vida es importante. De *El quinto elemento*

Siempre tendremos París. De *Casablanca*

Todo perece por ley universal. Aun este mundo tan bello y hermoso que habitamos, es el cadáver pálido y deforme de otro mundo que fue..... *José de Heredia*

## INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	2
II.	ANTECEDENTES	4
III.	PARTE EXPERIMENTAL	10
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
V.	CONCLUSIONES	30
VI.	ESPECTROS	32
VII.	BIBLIOGRAFÍA	56

## INTRODUCCIÓN

El género *Salvia* es uno de los mas abundantes dentro de la familia *Labiatae*, cuenta con mas de 900 especies de tipo tropical y subtropical. Este género pertenece a la tribu *Monardae* y posee las siguientes características: plantas herbáceas, de hojas enteras o dentadas, cáliz ovoideo, corola de tubo incluso o saliente.<sup>1</sup> De acuerdo con Bentham se divide en cuatro subgéneros: *Salvia*, *Leonia*, *Sclarea* y *Calosphace*<sup>6</sup>. Las salvias asiáticas y europeas se han incluido en el subgénero *Salvia* y *Sclarea*. En la parte de América del norte se localiza al subgénero *Leonia*. Por su parte el subgénero *Calosphace* se puede encontrar distribuido en México, América central y Sudamérica con mas de 500 especies. En México se pueden localizar mas de 300 especies de este subgénero dividido a su vez en 105 secciones.<sup>2</sup>

Las especies del genero *Salvia* han sido utilizadas dentro de la medicina tradicional para el alivio de ciertas enfermedades, debido a que poseen propiedades bacteriostáticas, bactericidas, carminativas, alucinógenas, por mencionar algunas. Como ejemplo son conocidas la *Salvia hispanica*, usada contra el estreñimiento, *Salvia lavanduloides* cuyo macerado combate la perdida del cabello, *Salvia microntha*, analgésico para el dolor de oídos y *Salvia divinorum*, usada en ritos religiosos por los indígenas mazatecos.<sup>3</sup>

También se pueden mencionar usos industriales de algunas plantas de este género, tales como la *Salvia officinalis* que es un saborizante dentro de la industria alimentaria, y la *Salvia sclarea* usada en perfumería,<sup>4</sup> además de las propiedades insecticidas naturales. Debido a estos usos se ha generado un interés por conocer los compuestos causantes de estas propiedades en especies del género *Salvia*.

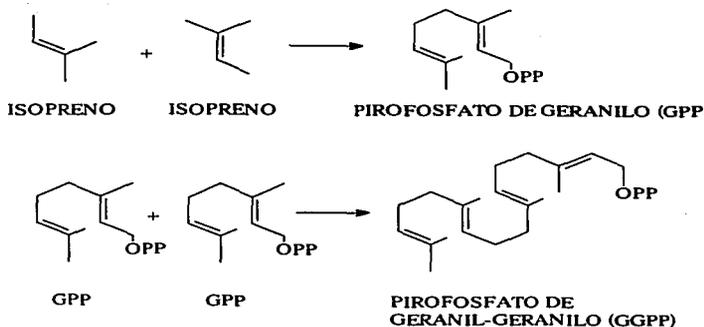
---

\* Actualmente se propone cambiar el nombre de *Calosphace* por *Jungia* por razones históricas.

## **ANTECEDENTES**

En las especies vegetales del género *Salvia* se han aislado mayoritariamente compuestos terpenoides que se pueden encontrar clasificados como monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenos, y además algunas flavonas. Estos compuestos mantienen la mayor parte de las veces una gran relación entre su distribución y la clasificación taxonómica de la planta, así como la ubicación geográfica de la misma.<sup>5</sup>

Los terpenos tienen su biogénesis en la ruta metabólica del acetato-mevalonato, la cual a partir de unidades de acetyl-CoA permite la síntesis del isopreno (molécula de cinco carbonos) que es la unidad básica de todos los terpenos (Esquema 1). Con la unión cabeza-cola de dos isoprenos se obtiene el pirofosfato de geranilo (GPP) con 10 átomos de carbono y que es el precursor de los monoterpenos.



Esquema 1

La unión cabeza-cola de dos pirofosfato de geranilo (GPP), genera el pirofosfato de geranil-geranilo (GGPP), el cual mediante una serie de ciclaciones y migraciones de metilos, da origen a la gran variedad de esqueletos diterpénicos conocidos.<sup>6</sup>

El estudio fitoquímico sistemático de las salvias mexicanas (*Salvia*, subgénero *Calospatha*) ha permitido el aislamiento de compuestos diterpénicos con esqueletos de abietano (1), clerodano (2), icetexano (3), riacofano (11), principalmente<sup>7</sup> (Figuras 1 y 2).

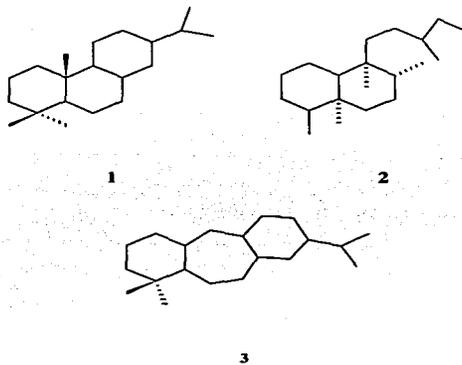


Figura 1. Algunos esqueletos de diterpenos encontrados en las salvias mexicanas.

La planta objeto de este estudio es la *Salvia uruapana* que pertenece al género *Salvia* de la familia *Labiatae*, subgénero *Calosphace*, sección *Angulatae*, subsección *Tiliaefoliae*. La subsección *Tiliaefoliae* comprende las especies *S. urolepis*, *S. tiliaefolia*, *S. leptostachys*, *S. rhyacophila* y *S. uruapana*.<sup>2</sup> De *Salvia urolepis* se aisló salvisousolido (4), un diterpeno con esqueleto de languidulano (5), el cual ya había sido aislado de *Salvia sousae* (sección *Polystachyae*); se aisló además un diterpeno con esqueleto de neo-clerodano. De *Salvia tiliaefolia* Vahl<sup>8</sup> se aisló isosalvipuberulina (6), un diterpeno con esqueleto isosalvipuberulano (7). Este ya se había aislado previamente de la *Salvia puberula*. También se aisló otro diterpeno, la tilifodiolida (8), que posee esqueleto de tilifolano (9), además del diterpeno salvifolina de tipo neo-clerodano. De *Salvia rhyacophila* Epl se aisló la salviarina, un diterpeno de tipo neo-clerodano, aislado previamente de *Salvia splendens*. Se aisló además un producto nuevo con estructura de 5,6 seco-clerodano. También se encontraron otros productos relacionados con la salviarina. De esta planta también se aisló la riacofilina (10), un diterpeno con esqueleto de riacofano (11), y la dehidrokertina cuya estructura esta relacionada con la kertina.<sup>9</sup>

De otras especies de *Salvia* tales como *Salvia languidula* (sección *Angulatae*, subsección *Glumacea*) se han aislado diterpenos como la languidulina y la salvilanguidulina A (12), cuyos esqueletos son el languidulano y el salvilanguidulano (13).<sup>10</sup>

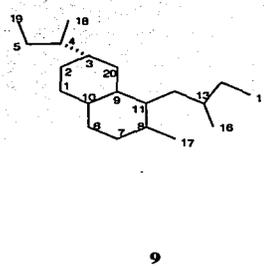
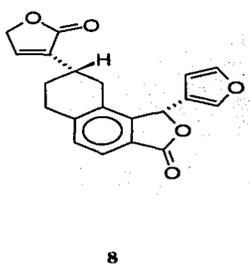
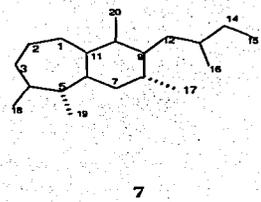
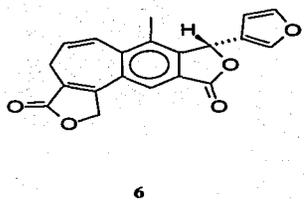
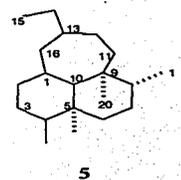
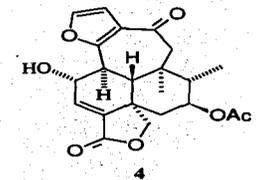
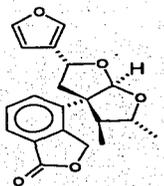
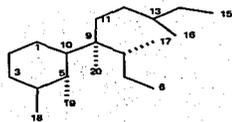


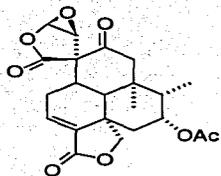
Figura 2a. Diterpenos encontrados en la subsección *Tiliaefoliae*, sección *Angulatae* de salviae del subgénero *Calosphaea*.



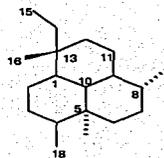
10



11



12



13

Figura 2b. Diterpenos encontrados en la subsección *Tiliaefoliae*, sección *Angulatae* de salvias del subgénero *Calosphaea*.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

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

La cromatografía de HPLC preparativa en fase normal se llevó a cabo en un cromatógrafo Waters Delta prep 4000, con detector de UV modelo 486. En una columna de  $\mu$ Porasil de 19 mm de diámetro por 300 mm de longitud y un tamaño de partícula de 10  $\mu$ m. 100 mg muestra se disolvieron en 1 ml de acetato y se introdujeron al cromatógrafo. La elución se realizó con una mezcla 50:50 de hexano-acetato de etilo.

Para las cromatografías relámpago se utilizó sílica gel de malla 230-240, y para las cromatografías al vacío se utilizó sílica gel para cromatografía en placa. La pureza de los productos se siguió mediante cromatoplaque de gel de sílice 60 Merck en aluminio, usando como revelador sulfato cérico al 1% en  $H_2SO_4$  2N. Las columnas tenían dimensiones de 1 a 3 cm de diámetro por 10 y hasta 20 cm de longitud.

Los espectros de I.R. fueron obtenidos en disolución en cloroformo o en pastilla de KBr en un espectrofotómetro Nicolet Magna IR spectrometer 750. Los espectros de masas se obtuvieron en un espectrómetro de masas Jeol JMS-AX5051HA mediante la técnica de impacto electrónico. Los de alta resolución y FAB<sup>+</sup> fueron obtenidos en un espectrómetro de masas Jeol JMS-SX102A.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^1H$  y  $^{13}C$ -RMN se obtuvieron en los espectrómetros: Gemini 200 MHz, Unity 300 MHz, Unity 500 MHz (Varian) ó en Eclipse 300 MHz (Jeol) y Avance 300 MHz (Bruker).

El material vegetal fue recolectado sobre el camino de brecha que va a Teretán y conduce a Zirimicuaro (estado de Michoacán), en noviembre de 1999 por el Dr. Bernardo Frontana Uribe y el M.C. Dagoberto Martínez, y fue identificado por la Biol. Irene Díaz

del Instituto de Biología de la UNAM. Se depositó un ejemplar en el herbario del mismo Instituto, bajo el folio Mexu # 967719 y 967718 La vegetación circundante de la recolección fue un bosque de pinos a 1580 msnm.

Aproximadamente 3 kg de planta seca se sometieron a maceración con acetona (12 L) durante un periodo de 3 días por tres veces sucesivas. El disolvente fue evaporado a presión reducida y el residuo fue sometido a una partición hexano-benceno (1:1) / metanol-agua (4:1). La fase polar se evaporó a presión reducida hasta la eliminación total de metanol, se extrajo con acetato de etilo, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida para obtener 21.5 g de residuo polar.

El residuo polar (21.5 g) se separó por cromatografía al vacío, en una columna de vidrio de 10 cm de diámetro, empacada con sílice para placa fina en una proporción de 1 a 10 con respecto al peso obtenido. La elución se efectuó con mezclas hexano-acetato de etilo de polaridad creciente, hasta llegar a mezclas de acetato de etilo-metanol al 20%.

**Salvifarinina** De la fracción obtenida con 50% de AcOEt en hexano y por recristalización por par de disolventes con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y éter (1:1) se aisló un producto blanco sólido cristalino, con un p.f. 214-216 °C con las siguientes características espectroscópicas:

IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu$  max  $\text{cm}^{-1}$ : 2964, 2943, 2904, 1755, 1670, 1579, 1465, 1238, 1164, 1052, 1008, 980, 875.

EM m/z (abundancia relativa): M+ 340(100); 282(22); 259(26); 244(23); 217(44); 189(22); 163(100); 135(72); 95(97); 81(61); 77(25); 55(26); 39(16).

<sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C -RMN ver tabla 1.

**Tonalensina.** De las aguas madres de la fracción obtenida con 50% de AcOEt en hexano y con recristalización por par de disolventes con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y éter (1:1) se aisló un producto blanco sólido cristalino, con un p.f. 182-184 °C. Este producto presentaba una ligera impureza por lo que fue sometido a una cromatografía de HPLC preparativa usando como eluyente una mezcla de hexano-AcOEt 1:1 a una velocidad de flujo de 15ml por minuto. La lectura se realizó a una longitud de onda de 254nm en el espectrómetro de UV. Obteniendo así un producto con las siguientes características espectroscópicas:

IR (CHCl<sub>3</sub>)  $\nu$  max cm<sup>-1</sup>: 1750, 1635, 1502, 1465, 1350, 1313, 1148, 1022, 946, 875.

EM m/z (abundancia relativa): M+ 340(73); 322(13); 294(42); 279(22); 265(24); 217(59); 201(54); 185(50); 171(45); 141(42); 128(54); 115(53); 94(100); 81(78); 77(53); 65(33).

<sup>1</sup>H-RMN, <sup>13</sup>C -RMN ver tablas 2 y 3.

**Mezcla de ácidos ursólico y oleanólico.** De la fracción obtenida con 25% de hexano en AcOEt, mas los restos de la fracción anterior, se obtuvo el producto mediante una cromatografía relámpago, usando una mezcla hexano-AcOEt de polaridad creciente. El producto es un polvo amorfo (p.f. 225-228°C) amarillento, que fue caracterizado como una mezcla de ácidos triterpénicos oleanólico y ursólico por comparación en cromatografía en placa fina usando una muestra auténtica.

**Luteolina 7-O-diglucósido.** De las fracciones obtenidas con 20% de metanol en acetato se tomaron 100 mg, los cuales fueron sometidos a una acetilación, usando para ello 1ml de piridina con 1 ml de anhídrido acético a temperatura ambiente. Después de 24 horas se llevó a sequedad a presión reducida. El residuo fue lavado con ácido cítrico, bicarbonato de sodio y salmuera, posteriormente se secó con sulfato de sodio anhidro. Después de la purificación en columna relámpago se obtuvo un producto verde amarillento con un p.f. de 121-124 °C. El producto obtenido tenía las siguientes características:

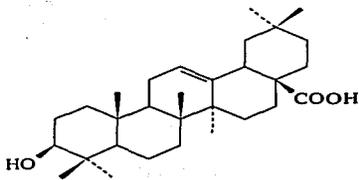
IR ( $\text{CHCl}_3$ )  $\nu$  max  $\text{cm}^{-1}$ : 1756, 1645, 1617, 1505.9, 1428, 1370, 1119, 1072, 1039, 906, 849.4.

EM m/z (abundancia relativa): M+ 1030.9 (25); 371(29); 331(40); 169(86); 154(54); 136(49); 127(25); 109(50); 55(25); 43(100).

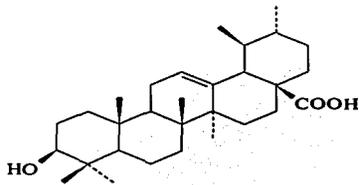
$^1\text{H-RMN}$ ,  $^{13}\text{C-RMN}$  ver tabla 4.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la fracción obtenida con 25% de hexano en AcOEt, de la columna inicial, se aisló un producto sólido amarillento amorfo con p.f. 225-228°C. Este producto presenta bandas (espectro 1) para ácido carboxílico (1696, 1733  $\text{cm}^{-1}$ ), además de bandas para la función R-OH (3515, 3608, 3691  $\text{cm}^{-1}$ ) y bandas anchas para funciones hidrocarbonadas saturadas a 2860, 2931  $\text{cm}^{-1}$ . Su peso molecular determinado por espectrometría de masas fue  $M^*=456$  (espectro 2), corresponde a un producto de fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ . Por comparación de los espectros de masas,  $^1\text{H}$ -RMN (espectro 3),  $^{13}\text{C}$ -RMN(espectro 4), y cromatografías en placa fina con una muestra auténtica, el producto fue caracterizado como una mezcla de ácidos triterpénicos oleanólico (14) y ursólico (15). Esta mezcla de productos es muy común en las salvas mexicanas, llegándose a obtener cantidades importantes de esta durante los estudios fitoquímicos.<sup>11</sup>



14



15

Por elución exhaustiva del extracto obtenido de las fracciones hexano-AcOEt (1:1) de la columna inicial, se aisló un producto sólido blanco cristalino con p.f. 214–216

°C. Su peso molecular determinado por espectrometría de masas fue  $M^+=340$  (espectro 6), corresponde a un producto de fórmula molecular  $C_{20}H_{20}O_5$ .

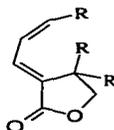
El espectro de I.R. de este producto (espectro 7), presenta señales en 1500 y 875  $cm^{-1}$ , características para un anillo furano. En 1755  $cm^{-1}$ , se observa una banda intensa para carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada y en 1670  $cm^{-1}$  señal para doble ligadura.

La presencia del anillo furano se confirma con el espectro de  $^1H$ -RMN (espectro 8), que presenta las señales en 7.39 y 7.36 ppm, que integran para dos protones y un singlete en 6.31 ppm que integra para un protón. Todas estas características son indicadoras de un anillo furano  $\beta$ -sustituido en la molécula aislada. Este tipo de funcionalidad es muy común en los productos aislados de salvias. Se tiene entonces el siguiente residuo:

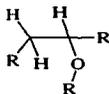


En el mismo espectro se observa una señal doble en 6.89 ppm ( $J= 5.1Hz$ ) que integra para un protón y que fue asignada al protón vinílico  $\beta$  al carbonilo de la  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada. Por la multiplicidad se deduce que esta acoplado a otro protón vinílico. También es posible observar en el mismo espectro la parte AB de un sistema ABX, una de cuyas ramas del sistema se encuentra en 4.97 ppm (d,  $J= 8.1$ ) y la otra en 4.07 ppm (dd,  $J= 8.1, J=1.5 Hz$ ), ambas señales integran para un protón cada una. El acoplamiento de 1.5 Hz es típico de uno a larga distancia. Estas señales corresponden al metileno unido al oxígeno de la  $\gamma$ -lactona.

Su desplazamiento y multiplicidad se explican si el metileno está unido a un oxígeno de éster y a un carbono totalmente sustituido, por lo que se propone que el siguiente residuo está presente en la molécula.



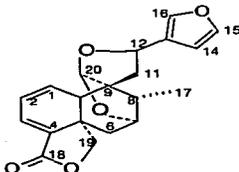
En 5.31 encontramos un triplete que integra para un protón y que por su desplazamiento debe estar unido a un oxígeno. La multiplicidad nos indica que el carbono adyacente debe ser un metileno. El oxígeno debe ser de naturaleza etérea, ya que en IR no hay indicaciones para otro tipo de funcionalidad aparte de las ya descritas. Con esto se propone el siguiente residuo:



En 5.22 se observa un singulete, por su desplazamiento, esta señal fue asignada a un carbono hemiacetálico, que debe estar unido al resto anterior dado que se trata del último oxígeno y el único con el cual podría estar enlazado. La función de tipo hemiacetálico ha sido observada en otros compuestos de tipo clerodano.<sup>10</sup> De esta manera se propone el residuo siguiente:



La fórmula molecular de este producto presenta 11 insaturaciones, de las cuales 7 ya han sido justificadas ( 3 del anillo furano, 2 de la  $\gamma$ -lactona, 2 del dieno), por lo que se propone la existencia de 4 anillos. Finalmente y considerando una posible relación con los compuestos de tipo diterpénico se propone la estructura siguiente.



Esta estructura concuerda con lo reportado para la salvifaricina,<sup>12</sup> que previamente se había aislado de *Salvia farinacea* (sección *Farinaceae*) junto con la salvifarina, y dos diterpenos de tipo neo-clerodano muy relacionados entre sí.<sup>13</sup>

Mediante los análisis de los experimentos de RMN, COSY y HETCOR (espectros 11 y 12) se confirmaron los acoplamientos y se realizaron las asignaciones carbono-hidrógeno, pudiéndose observar en el espectro COSY el acoplamiento en W para los protones 6- $\beta$  y 19- $\beta$ , explicando el acoplamiento a larga distancia para este último.

Tabla 1. Señales en  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz) y  $^{13}\text{C}$  (75 MHz) observadas para la salvifaricina.

Posición	$^{13}\text{C}$ RMN Desplazamiento (ppm)	$^1\text{H}$ RMN Desplazamiento (ppm)	J(Hz)
1	132.7	5.85 <i>dd</i>	$J_{1,2}=9.6$
2	123.9	6.27 <i>ddd</i>	$J_{1,10}=2.1$ $J_{2,3}=5.4$ $J_{2,10}=2.1$
3	127.4	6.89 <i>d</i>	
4	130.1		
5	39.1	2.11 <i>dd</i>	
6 $\alpha$	38.3		$J_{6\alpha,6\beta}=14.4$ $J_{6\alpha,7}=4.2$ $J_{6\beta,19}=1.5$
6 $\beta$		1.28 <i>dd</i>	
7	84.3	4.37 <i>d</i>	
8	41.9	2.03 <i>q</i>	
9	58.1	2.80 <i>m</i>	
10	49.3		
11 $\alpha$	39.1	1.88 <i>d</i>	$J_{11\alpha,11\beta}=13.2$ $J_{11\alpha,12}=7.8$ $J_{11\beta,12}=7.8$
11 $\beta$		2.79 <i>dd</i>	
12	75.5	5.31 <i>t</i>	
13	128.4		
14	108.2	6.31 <i>m</i>	
15	143.7	7.39 <i>m</i>	
16	138.5	7.36 <i>m</i>	
17	14.8	1.37 <i>d</i>	$J_{17,8}=7.5$
18	169.2		
19 $\alpha$	80.6	4.07 <i>dd</i>	$J_{19\alpha,19\beta}=8.1$
19 $\beta$		4.97 <i>d</i>	
20	109.6	5.22 <i>s</i>	

De las fracciones eluidas con hexano-AcOEt (1:1) de la columna inicial se aisló otro producto sólido blanco cristalino con p.f. 182–184 °C, el cual fue purificado por

HPLC preparativa (cromatograma 1) obteniendo de las fracciones mas polares el producto cristalino. Su peso molecular determinado por espectrometría de masas fue  $M^+=340$  (espectro 13), corresponde a un producto de formula molecular  $C_{20}H_{20}O_5$ , por lo que es un isómero del producto anterior. Algunas de las señales observadas para la salvifarinina, son semejantes a las que se observaron en este compuesto.

El espectro de I.R. de este producto (espectro 14), presenta señales en 1499 y 875  $cm^{-1}$ , características para un anillo furano. En 1746  $cm^{-1}$ , se observa una banda intensa para carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada.

La presencia del anillo furano se confirma con el espectro de  $^1H$ -RMN (espectro 15), que presenta las señales en 7.37 y 7.40 ppm, las que integran para dos protones y un singlete ancho en 6.30 ppm que integra para un protón. Todas estas características son indicadoras de un anillo  $\beta$ -furano sustituido. Con esto se tiene el siguiente residuo:



También es posible observar en el espectro de  $^1H$ -RMN una señal en 6.02 ppm que integra para un protón y que fue asignada al protón vinílico  $\beta$  del carbonilo de la  $\gamma$ -lactona  $\alpha$ - $\beta$  insaturada. Su multiplicidad indica que se encuentra acoplado a un protón vinílico. Se observan en 5.05 y 4.65 ( $J=17.2$  Hz) las ramas de un sistema AB, tratándose probablemente del metileno de la  $\gamma$ -lactona.

Todas las señales fueron fuertemente modificadas cuando se realizó el experimento de  $^1\text{H-RMN}$  a temperatura variable. Además el resto de las señales mostró un patrón muy complejo sin que se lograra simplificar el espectro a baja o alta temperatura durante la adquisición del espectro. Debido a la complejidad presentada en el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  y a que el producto cristalizó en forma monocristalina, se envió a rayos X, donde se obtuvo la estructura mostrada en la figura 3.

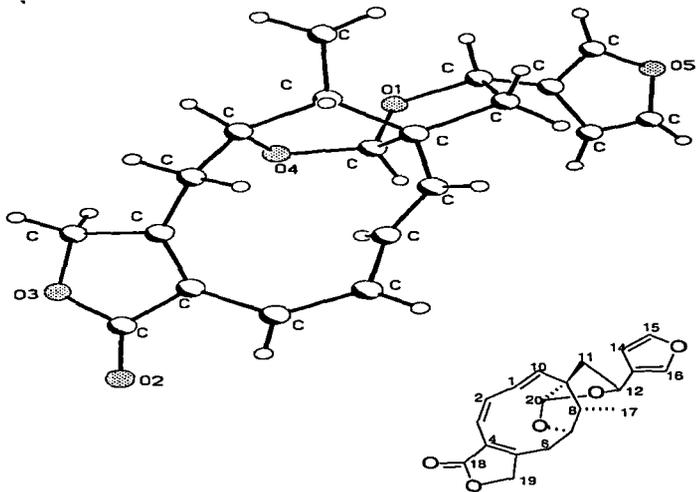


Figura 3.- Estereoproyección de rayos X y estructura de Tonalensina.

Esta estructura está reportada en la literatura<sup>14</sup> para un compuesto de nombre tonalensina, la cual presenta similitudes estructurales y de grupos funcionales con relación a la salvifáricina. Sin embargo, algunos desplazamientos no son similares aún y cuando el grupo funcional es el mismo, como en el caso del protón hemiacetalico cuyo desplazamiento paso de 5.2 en la salvifáricina a 5.7 en la tonalensina. En la tabla 2 se relacionan las señales obtenidas en este trabajo con las reportadas en estudios anteriores<sup>15</sup>, bajo las mismas condiciones de 25 °C y en CDCl<sub>3</sub>, siendo 1A y 1B los conforméromos hallados en solución y que presentan conformación de bote-silla y bote-bote respectivamente, para el anillo de seco-decalina.

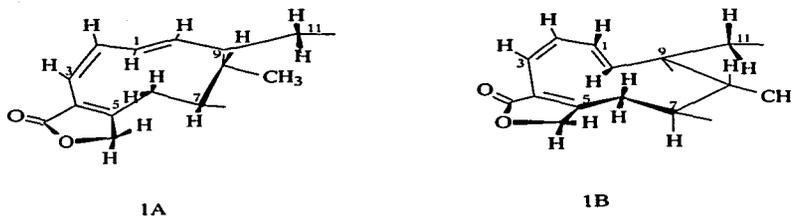


Figura 4.- Conforméromos de la Tonalensina en solución.

Tabla 2. Comparación de los valores reportados con los obtenidos.

H	1A	J	1B	J	Muestra	J
1	6.15		6.15		6.16	
2	6.50dd		6.63dd		6.61r	
3	6.05		6.05		6.02	
6 $\alpha$	3.07dd	14.1,8.2	2.70		3.07dd	13.8,8.1
6 $\beta$	2.75dd	14.1,8.5	2.70		2.79dd	14.1,7.8
7	4.48dd	8.5,8.2	4.65r		4.46r	
8	2.15		2.15		2.16	
10	5.55d	16.9	5.74d	16	5.55d	17.1
11 $\alpha$	2.55dd	13.7,6.6	2.75dd	12.7,7	2.53dd	13.8,6.6
11 $\beta$	2.0dd	13.7	2.1dd	12.7,7	2.06dd	13.8,7.2
12	5.25dd	9.3,6.6	5.18r	7	5.18r	7.6
14	6.38br		6.30br		6.30	
15	7.39br		7.37d		7.37	
16	7.40br		7.40br		7.40br	
17	1.35d	7	1.42d	7	1.40	7.2
19 $\alpha$	4.65s		5.05d	17.2	5.05d	17.2
19 $\beta$	4.65s		4.65d		4.65dd	17.2
20	6.02s		5.70d		5.7	

Tabla 3. Comparación de los valores reportados con los obtenidos.

Carbono	1A	1B	Muestra
1	126.5	130.5	126.7
2	133.4	132.0	133.7
3	122.4	120.4	120.7
4	124.0	125.8	124.3
5	160.8	155.7	155.6
6	36.9	36.6	36.7
7	86.5	86.7	86.6
8	42.9	54.7	54.8
9	59.7	58.9	59.8
10	133.6	130.7	130.8
11	39.2	36.9	39.3
12	75.4	72.8	73.0
13	127.0	128.7	127.2
14	108.3	108.2	108.4
15	143.6	143.5	143.7
16	139.0	138.3	139.1
17	17.0	17.6	17.6
18	173.1	174	-
19	71.7	72.9	71.6
20	110.8	110.2	110.9

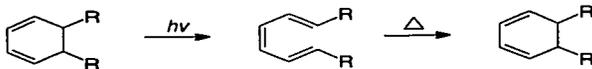
De estas tablas se concluye que el producto aislado posee las dos conformaciones previamente reportadas, lo que explica la complejidad presentada en el espectro.

Un producto similar fue aislado de las partes aéreas de *Salvia cardiophylla*, una especie paraguaya incluida en la sección *Rudes*, la cardiofilidina, también diterpeno del tipo 5,10-seco-clerodano.<sup>16</sup> Este tipo de diterpenos también han sido hallados en *Salvia thymoides* (sección *Flocculosae*), *Salvia tonalensis* (sección *Polystachyae*) y *Salvia*

*purpurea* (sección *Purpureae*) y previamente en *Pulicaria augustifolia*, así como *Conyza stricta*.<sup>17</sup>

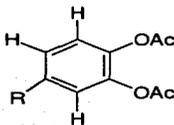
De la *Salvia tonalensis* (sección *Polystachyae*) se aislaron, al igual que en este estudio la salvifarina y tonalensina, además de la tonalenina y dos diterpenos de tipo languidulano,<sup>14</sup> lo cual permite proponer que existe una relación cercana entre la sección *Angulatae* y la sección *Polystachyae*.

De acuerdo con lo descrito en la literatura,<sup>18</sup> a partir de un 1,3-dieno y por calentamiento a temperaturas entre 100 y 200 °C se puede lograr la formación de un ciclohexano. Tal como lo muestra el siguiente esquema:

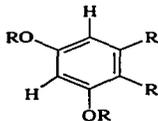


Por lo anterior se intentó la reacción del cierre de la tonalensina para generar salvifarina. Para ello se tomaron 30 mg de producto y usaron 15 ml de *cis*-decalina en condiciones anhidras y a una temperatura de 165 °C durante 24 horas. No se logró la reacción, y no hubo cambio alguno en el producto. Se reintentó una vez mas cambiando la *cis*-decalina, por tetralina dado que esta tiene un mayor punto de ebullición (207°C). En este caso tampoco se logró el objetivo observándose la descomposición en múltiples subproductos que no fueron estudiados y que no correspondieron al producto esperado.

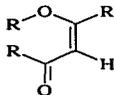
De las fracciones obtenidas con 20% de metanol en acetato y después de una acetilación por el método convencional (piridina, anhídrido acético) se obtuvo un producto verde amarillento con un p.f. de 121-124 °C. De acuerdo en el espectro de masas (FAB<sup>+</sup>) (espectro 19) el peso molecular fue de  $M^+=1030.9$ , lo que concuerda para una fórmula  $C_{47}H_{50}O_{26}$ . El espectro de  $^1\text{H-RMN}$  (espectro 20) revela señales en la zona de aromáticos. En 7.71 ppm ( $J=2.0$  Hz) hay un doblete que integra para un protón, por la magnitud de la constante de acoplamiento debe estar en posición *meta* a otro protón aromático. En 7.76 ( $J= 8.2$ ,  $J= 2.0$  Hz) existe un doble de dobles que integra para un protón, dado que posee una constante similar al anterior debe ser uno de sus acoplamientos, y por el tamaño de la segunda constante debe tratarse de una posición *orto* para el segundo protón. Esto es confirmado por la presencia de un doblete en 7.36 ( $J=8.2$  Hz) que integra para un protón y cuya constante es equivalente a la observada anteriormente. Estas señales se encuentran desplazadas a campo bajo muy probablemente debido a la existencia de grupos alcoxilo, los cuales se sugiere sean de los acetatos provenientes de la acetilación. Con esto se propone el residuo:



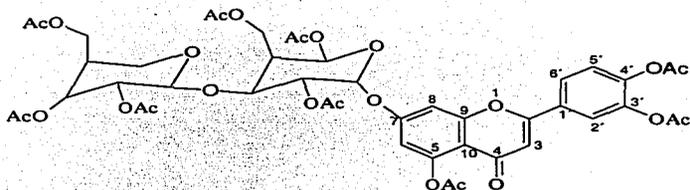
En 7.0 ppm ( $J = 2.4 \text{ Hz}$ ) se observa un doblete que integra para un protón con una constante pequeña, esta señal se encuentra acoplada a otro doblete en 6.7 ppm con la misma constante, indicando que se trata de un acoplamiento en posición *meta*. Por el desplazamiento se sugiere la presencia de grupos oxígeno sustituidos. Con esto se propone la presencia del residuo:



En 6.58 ppm hay un singulete que integra para un protón y su desplazamiento y tipo indica que se trata de un grupo vinílico y con carbonos vecinos unidos a oxígeno. Con todo esto se sugiere el siguiente residuo:



En lo referente a las demás señales, en la zona de 3.5 a 5.4 encontramos un multiplete característico que es originado por la presencia de los protones base de oxígeno típicos de un disacárido. De 1.9 a 2.45 ppm se localizan los protones correspondientes a los acetatos generados mediante la acetilación del producto. Con todo esto se sugiere la siguiente estructura para el producto:



Esta estructura concuerda con el diglucósido de la flavona conocida como Luteolina.

Tabla 4. Señales principales para la luteolina a 200MHz

Posición:	$^1\text{H}$	J(Hz)	$^{13}\text{C}$
2			167.7
3	6.58s		102.3
4			176.1
5			160.5
6	6.7d	2.4	100.8
7			167.9
8	7.0d	2.4	98.3
9			158.3
10			108.9
1'			129.8
2'	7.71d	2.0	121.5
3'			144.7
4'			150.6
5'	7.36d	8.2	124.2
6'	7.76dd	8.2,2.0	124.5

## CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de *Salvia uruapana*, y con la ayuda de técnicas cromatograficas se aislaron los siguientes metabolitos secundarios:

La mezcla de ácidos triterpénicos oleanólico y ursólico, ampliamente distribuidos en el género salvia.

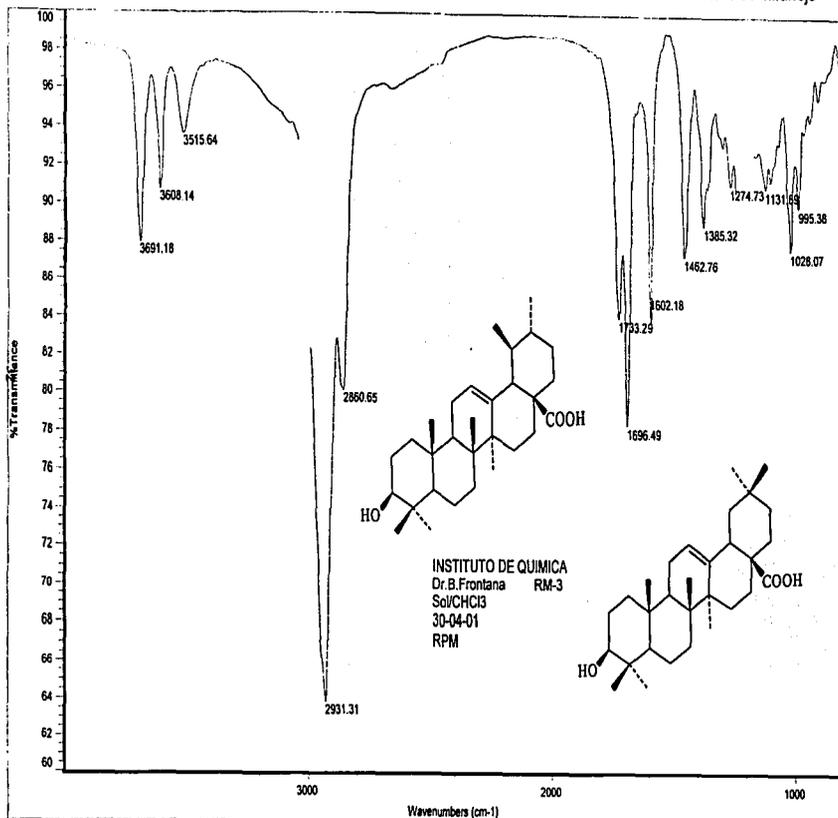
La salvifaricina reportada en *Salvia farinacea*.

La tonalensina previamente reportada en *Salvia tonalensis*.

La flavona luteolina 7-O-diglucósido; las flavonas son comunes en plantas del género Salvia y en particular la luteolina es una de las mas abundantes.

Otra planta de la que se aisló la salvifaricina y la tonalensina fue la *Salvia tonalensis* por lo que puede existir una relación botánica entre ambas.

## ESPECTROS



ESPECTRO 1

1 Mass Spectrum 1

Data : D:\Frontiera\Bernardo\252

Date : 10-May-10 01:46

Sample: RM-3

Note : -

Inlet : Direct

Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal [on (M+-Linear)]

RT : 1.84 min Scan# : (46,78)-(46,59)

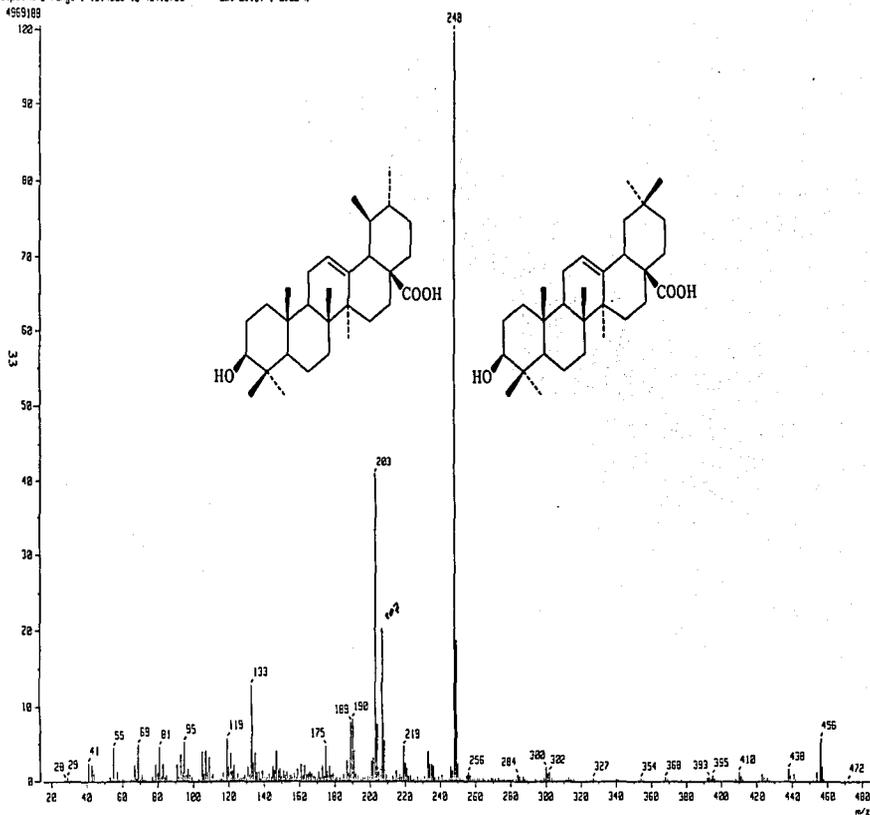
Temp : 318.7 deg.C

BP : m/z 248.0000

Int. : 471.18

Output m/z range : 15,4303 to 484,2738

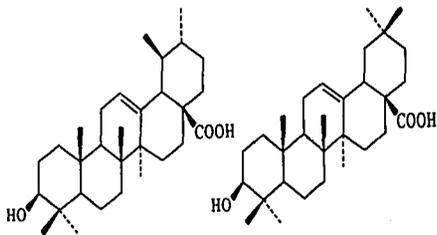
Cut Level : 0.00 %



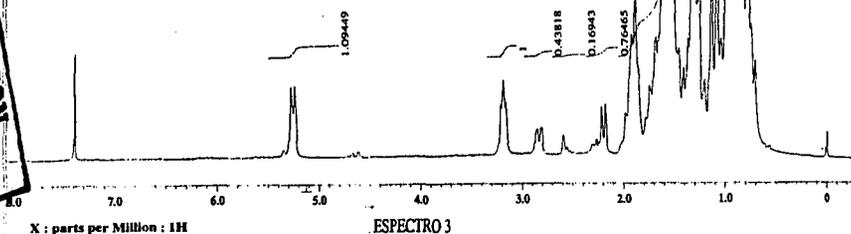
ESPECTRO 2

33

Dr. Bernardo Frontata  
 Rene Manjarres RM-3  
 300 MHz CDCl<sub>3</sub> 1965  
 (eclipse 300 jeol)



34



52.1033

TESIS CON  
 BATA DE ORIGEN

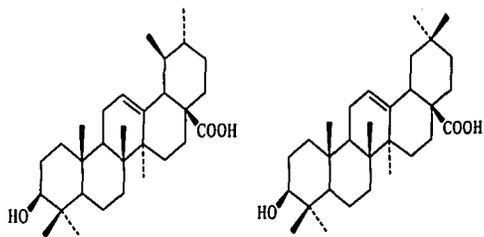
Dr. Bernardo Frontana

Rene Manjarrez RM-3

75 MHz CDCl<sub>3</sub>

(eclipse 300 jeol)

mg

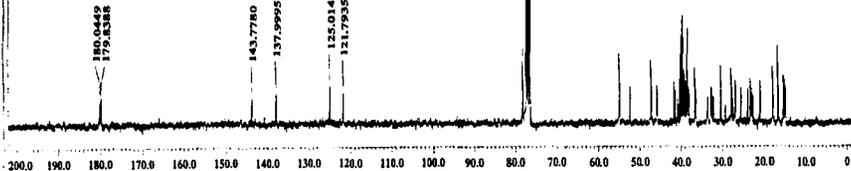


TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



TMS  
δ, ppm

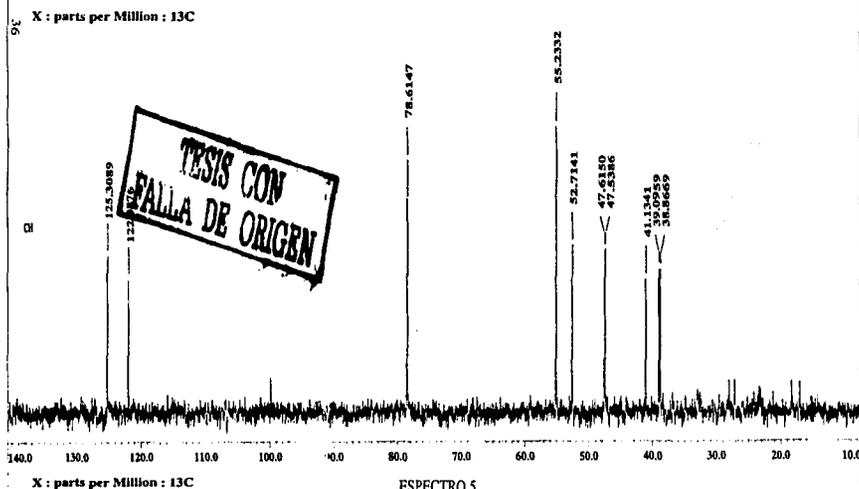
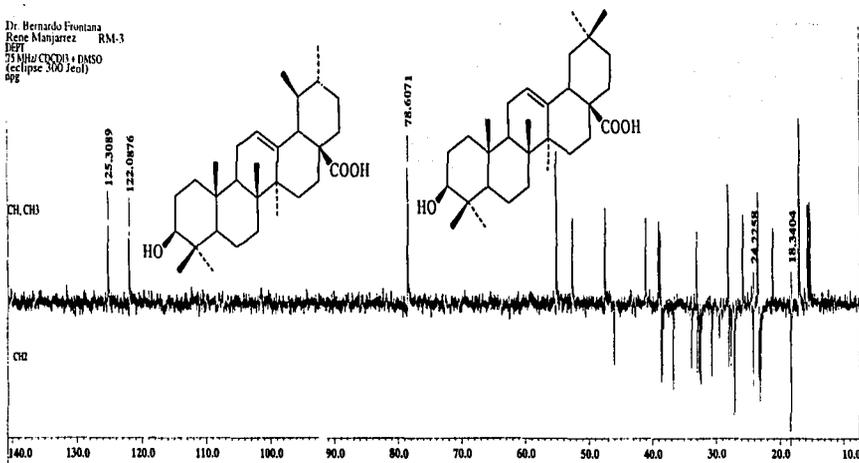
77.4198  
77.4198  
76.5725



X : parts per Million : 13C

ESPECTRO 4

Dr. Bernardo Fronzoni  
Rene Manjarrez RM-3  
1997  
75 MHz CDCl<sub>3</sub> + DMSO  
(eclipse 300 Jeol)  
992



ESPECTRO 5

[ Mass Spectrum ]

Data : Dr-Frontana-Bernardo-019 Date : 05-Apr-100 20:59

Sample : RM-2

Note : -

Inlet : Direct

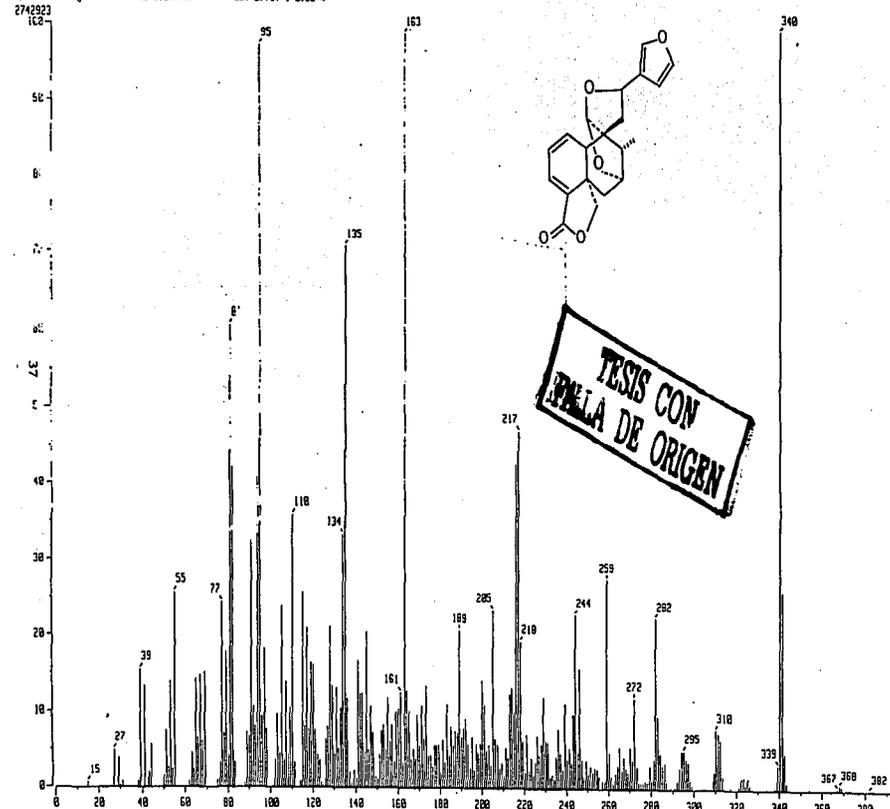
Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion (M<sup>+</sup>-Linear)

RT : 2.02 min Scan# : (39,99)-(38,53) Temp : 168.9 deg.C

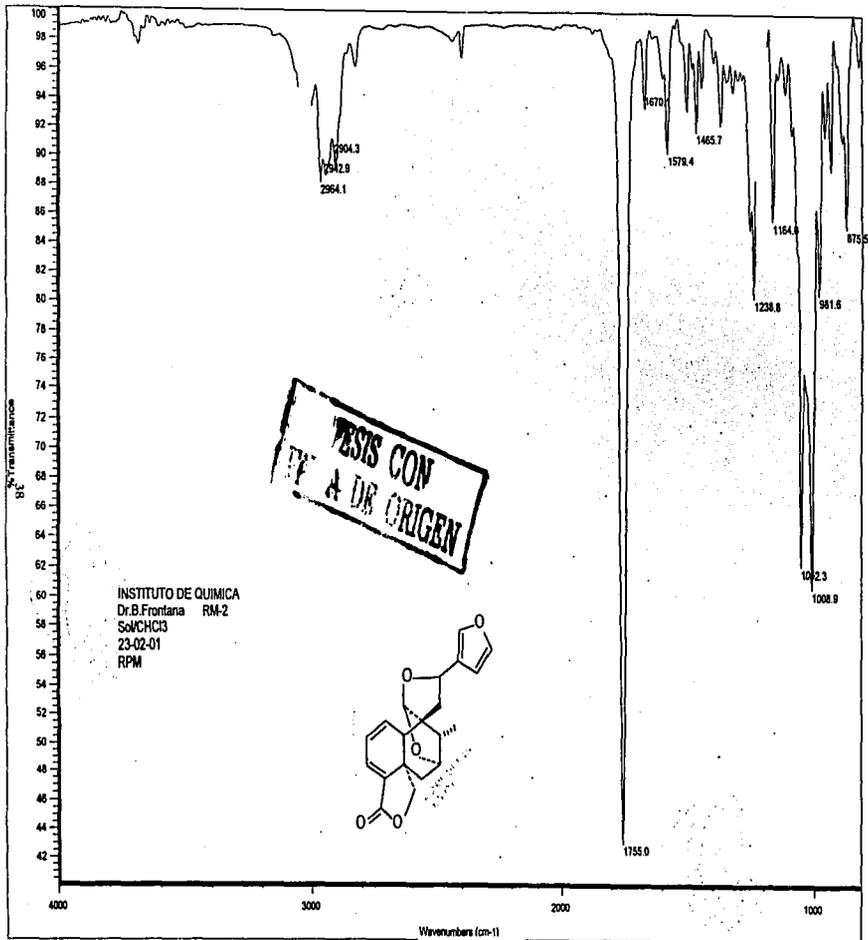
BP : m/z 348.0000 Int. : 261.59

Output m/z range : 0.0000 to 392.0703 Cut Level : 0.00 %



ESPECTRO 6

37



Wavenumbers (cm-1)

ESPECTRO 7

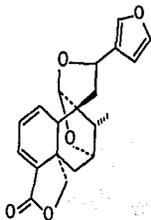


RW-2  
Dr. B. Frontana-Rene W.  
5-III-01  
AMH

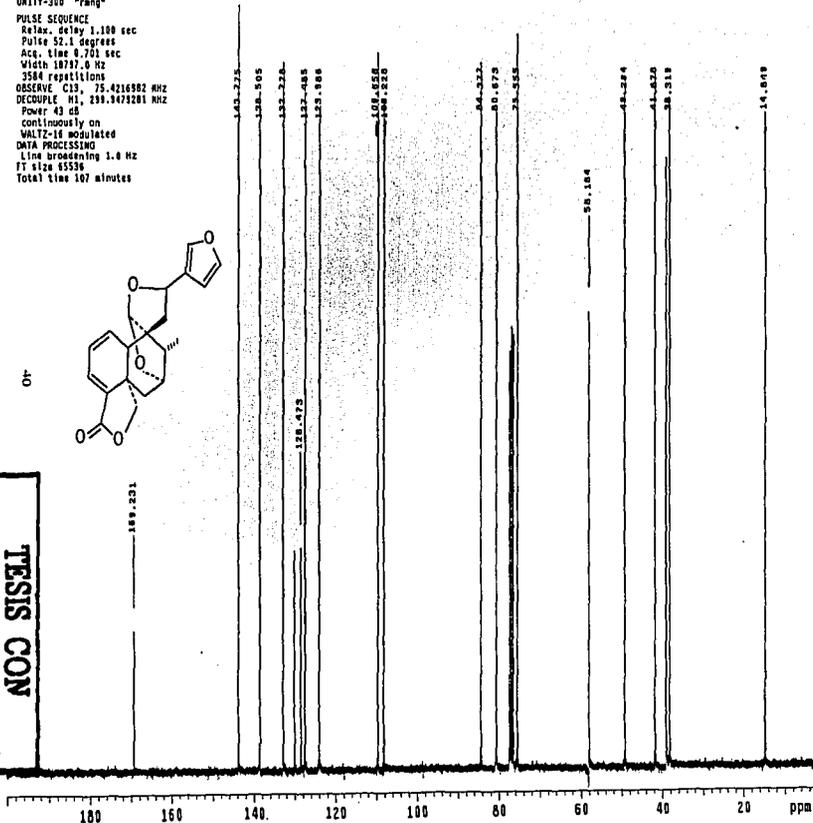
Solvent: cdc13  
Temp. 27.0 C / 300.1 K  
UNITY-300 "rang"

PULSE SEQUENCE  
Relax. delay 1.100 sec  
Pulse 32.1 degree  
Acq. time 0.701 sec  
Width 18797.0 Hz  
3584 repetitions  
OBSERVE CH3, 75.4216982 MHz  
DECOUPLE H1, 299.8479281 MHz  
Power 43 dB  
continuous by on  
WALTZ-16 modulated  
DATA PROCESSING  
1 line broadening 1.0 Hz  
FT size 65536  
Total time 107 minutes

40



TESIS CON  
PALA DE ORGEN

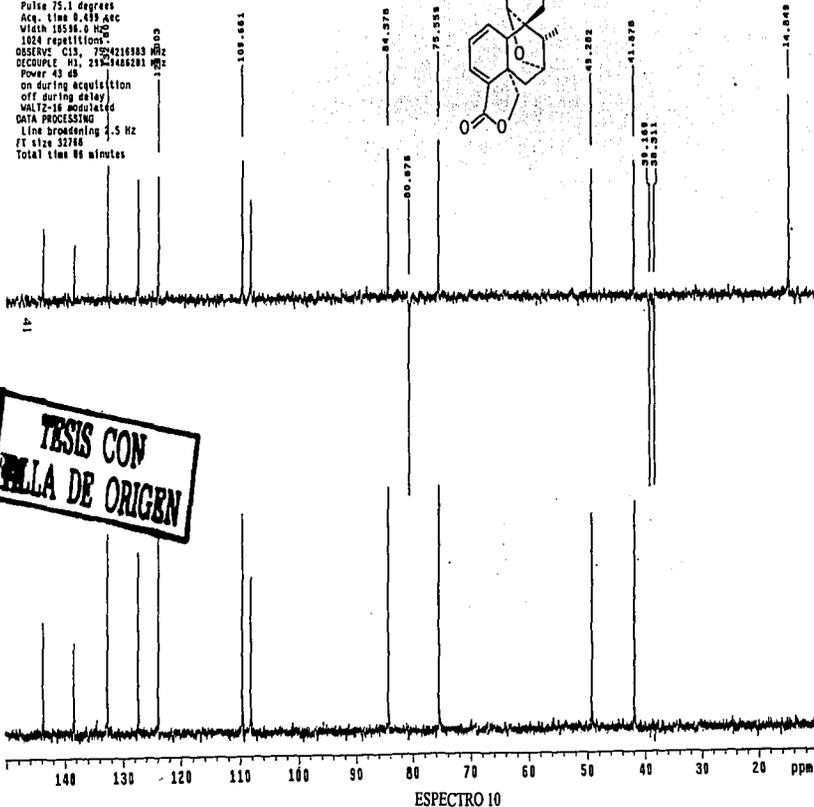
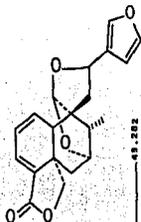


40

RR-2  
Dr. B. Frontana-Rene N.  
S-III-01  
AMH

Solvent: cdcl3  
Temp. 27.0 C / 300.1 K  
UNITY-300 "rang"

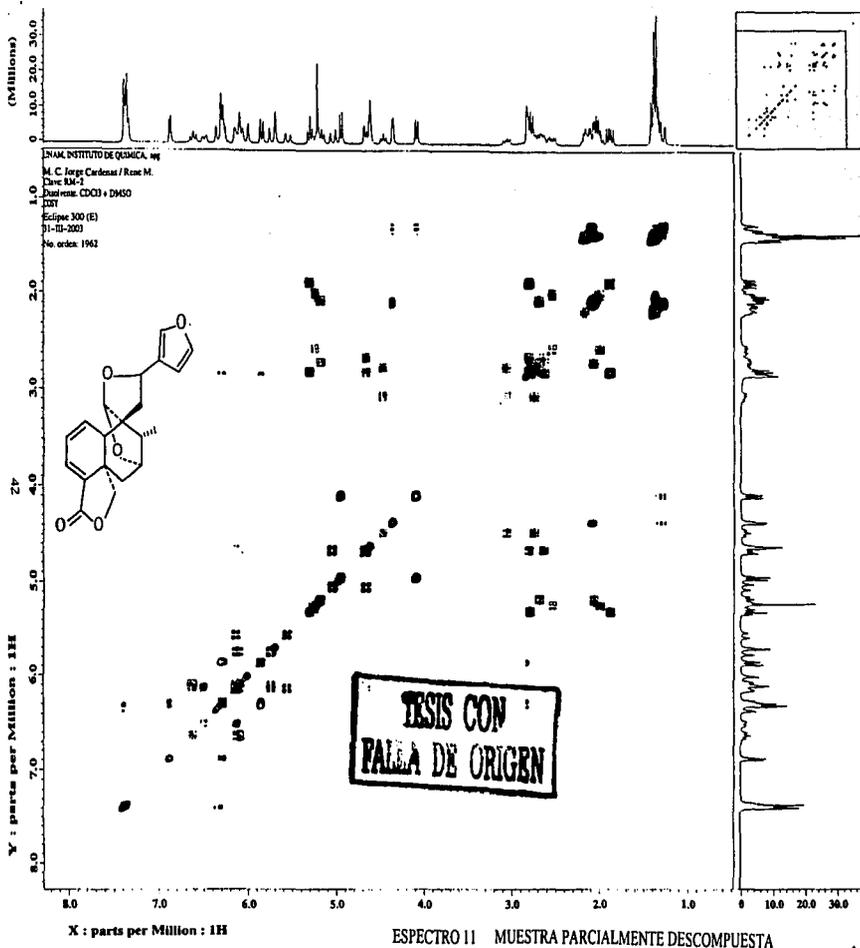
PULSE SEQUENCE: dept  
Relax. delay 2.000 sec  
Pulse 75.1 degree  
Acq. time 0.439 sec  
Width 10546.0 Hz  
1024 repetitions  
OBSERVE C13, 75.216983 MHz  
DECOUPLE H1, 250.13486201 MHz  
Power 43 dB  
on during acquisition  
off during delay  
MULTI-16 modulated  
DATA PROCESSING  
Line broadening 4.5 Hz  
FT size 32768  
Total time 06 minutes



TESIS CON  
FOLLA DE ORIGEN

ESPECTRO 10

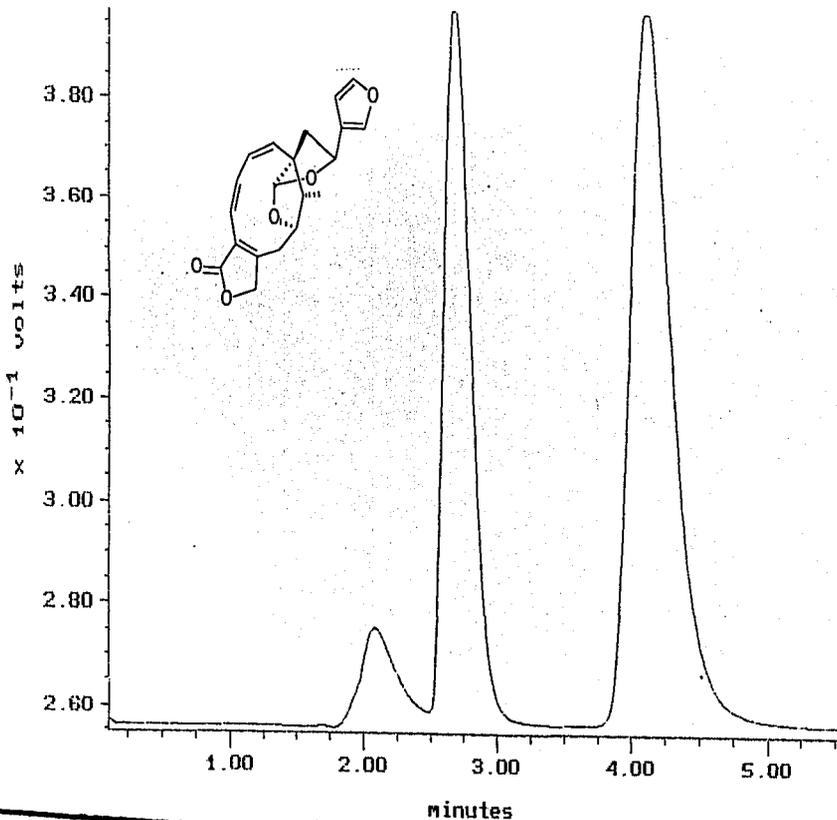
41





Sample: sesquit  
Acquired: 04-JAN-80 17:40  
Comments: sesquiterpenos Dr. Frontana hex/acetato 50/50 UV 254

Filename: sasq4  
Operator:



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

CROMATOGRAMA I

44

[ Mass Spectrum ]

Data : D:\Frontana-Bernardo-014 Date : 12-May-100 01:42

Sample: RM-1

Note : -

Inlet : Direct Ion Mode : EI+

Spectrum Type : Normal Ion [F-Linear]

RT : 1.60 min Scan# : (35,73)-(35,49)

Temp : 173.3 deg.C

BP : m/z 94, 0000

Int. : 99.92

Cut Level : 0.00 z

944515

100

50

10

0

20

30

40

0

20

40

60

80

100

120

140

160

180

200

220

240

260

280

300

320

340

360

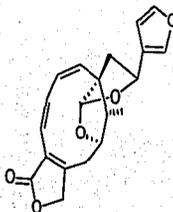
380

400

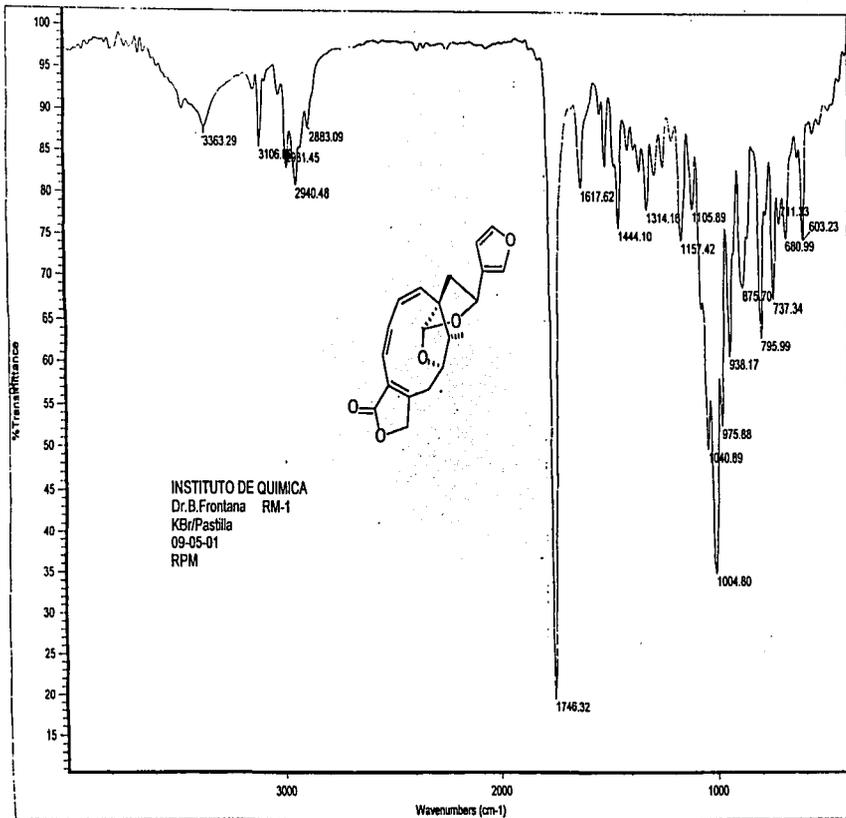
TESIS CON  
DE ORIGEN

ESPECTRO 13

m/z



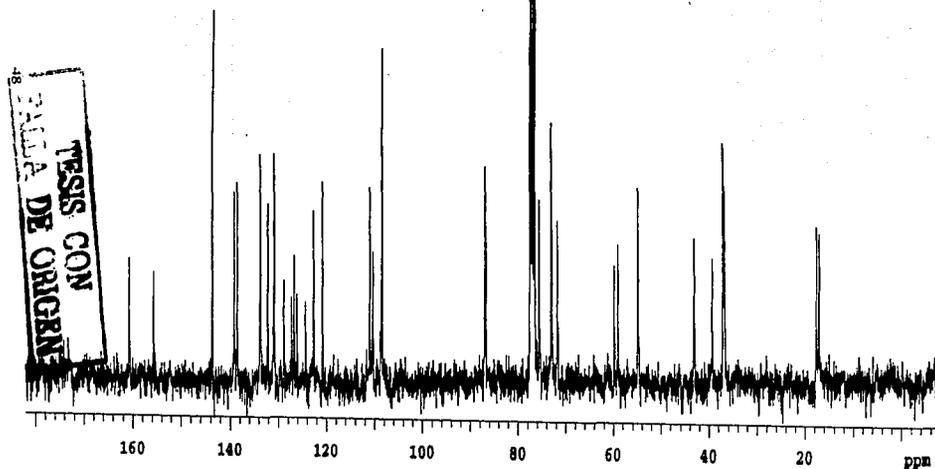
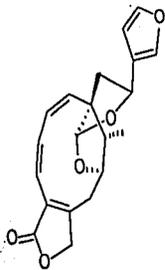
45



ESPECTRO 14



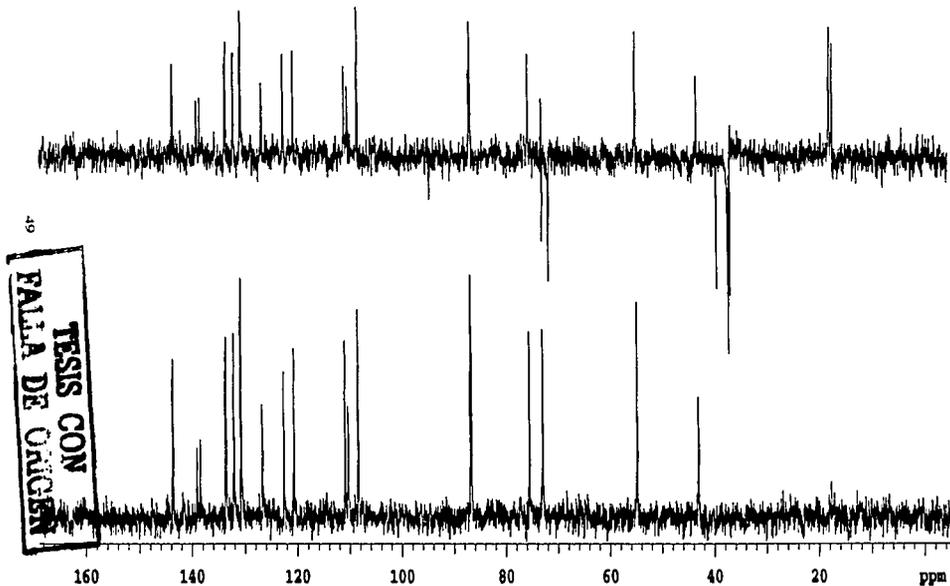
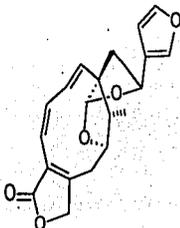
U.N.A.M. Instituto de Química IQR  
Dr. B. Frontana RMI  
75 MHz  
disolvente: CCl<sub>4</sub>



ESPECTRO 16

48

U.N.A.M. Instituto de Química IQR  
Dr. B. Frontana RMI  
75 MHz  
disolvente:CDCl<sub>3</sub>

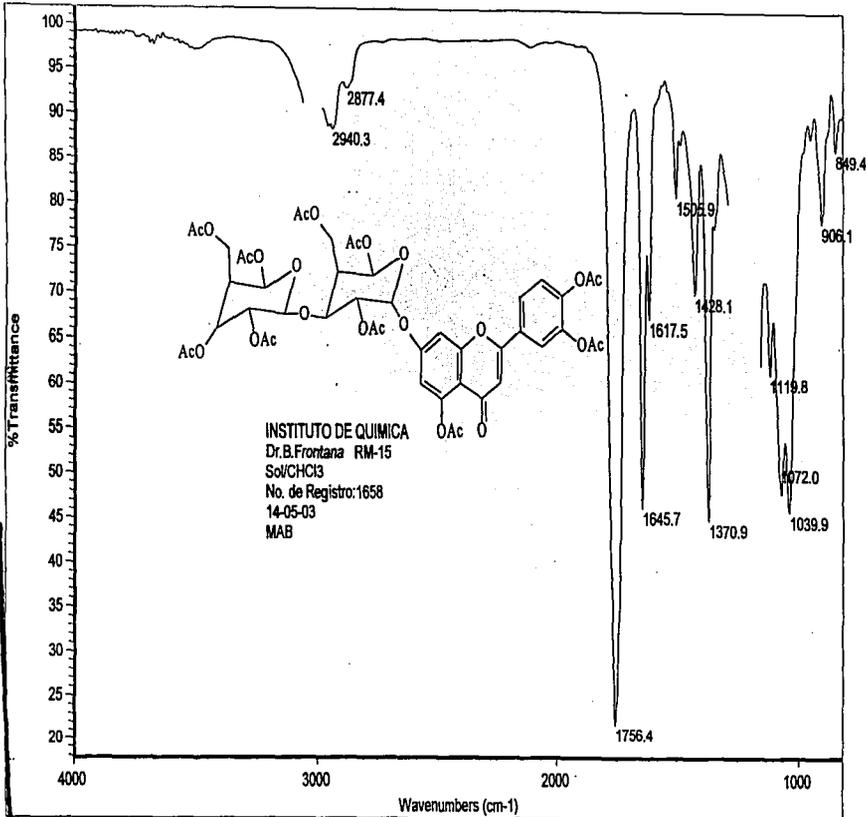


69  
TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

ESPECTRO 17

49



TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN

[ Mass Spectrum ]

Data : Dr-Bernardo-Fontana019

Date : 08-May-2003 15:36

Sample: 0010503-03

RM-15

Note : Luisa-Velasco

Ion Mode : FFB+

Inlet : Direct

Spectrum Type : Normal Ion (M<sup>+</sup>-Linear)

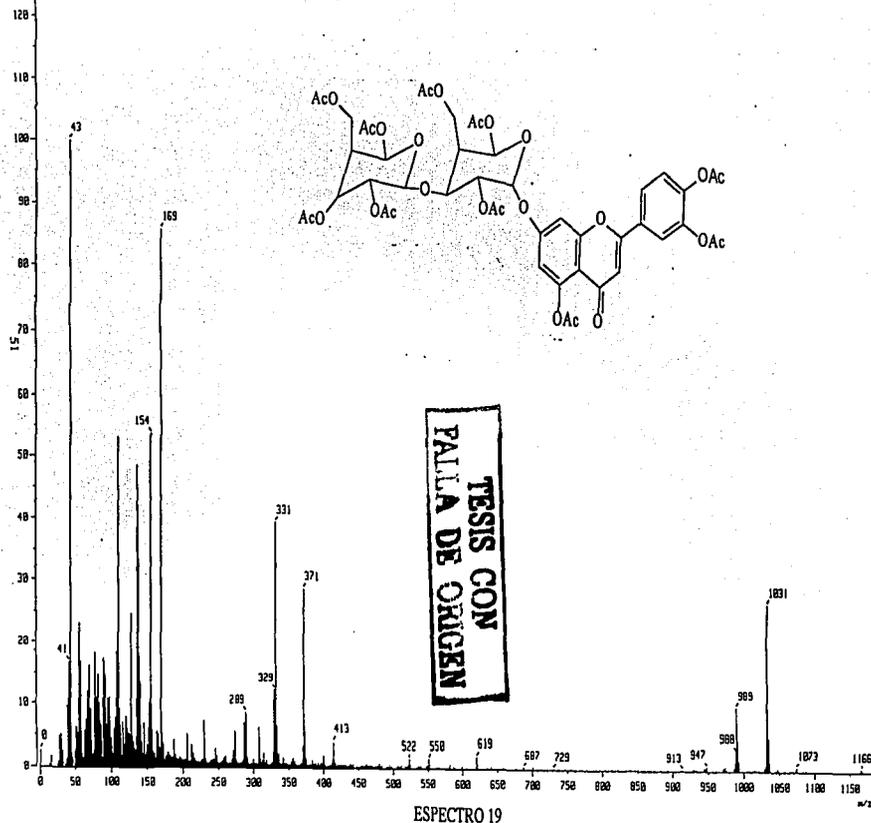
RT : 0.55 min Scan# : (1,5)

BP : m/z 43.0000 Int. : 45.65

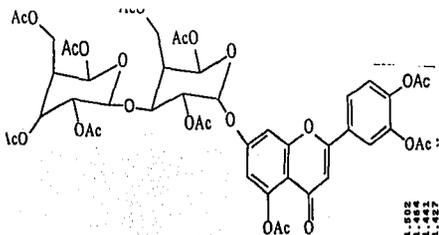
Output m/z range : 0.0000 to 1181.6024

Cut Level : 0.00 %

586024

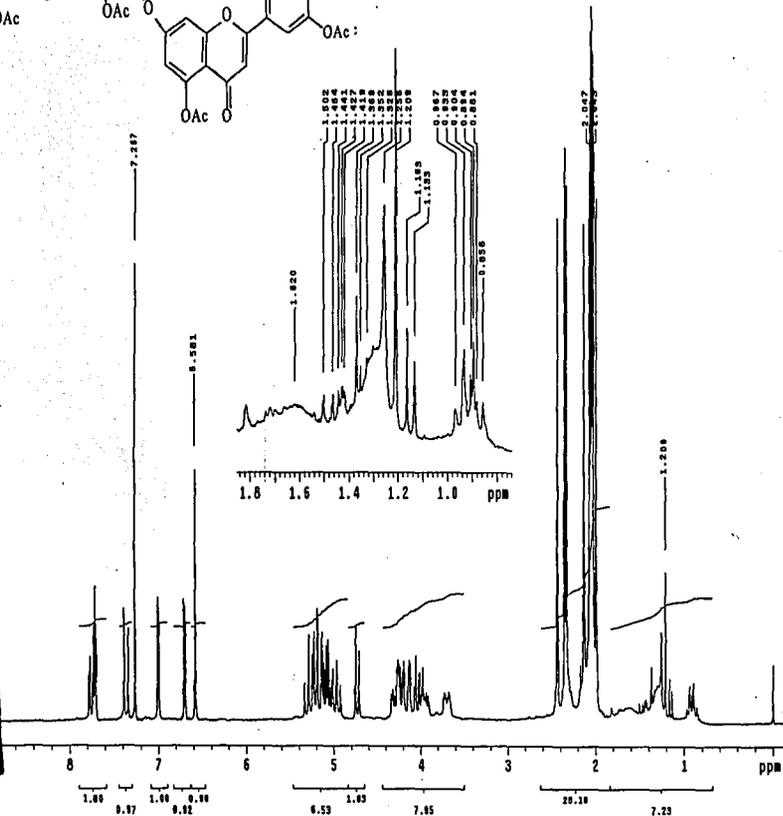


51



52

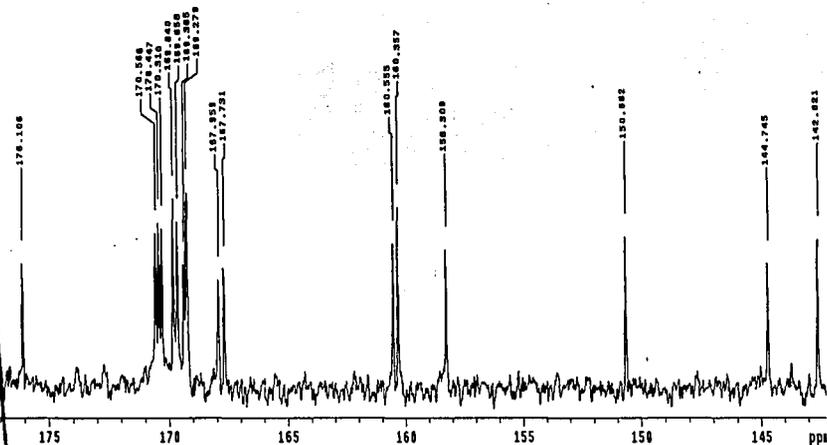
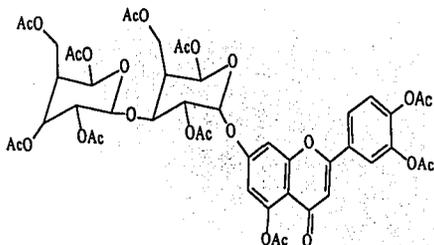
TESIS CON  
FALTA DE ORIGEN



ESPECTRO 20

52

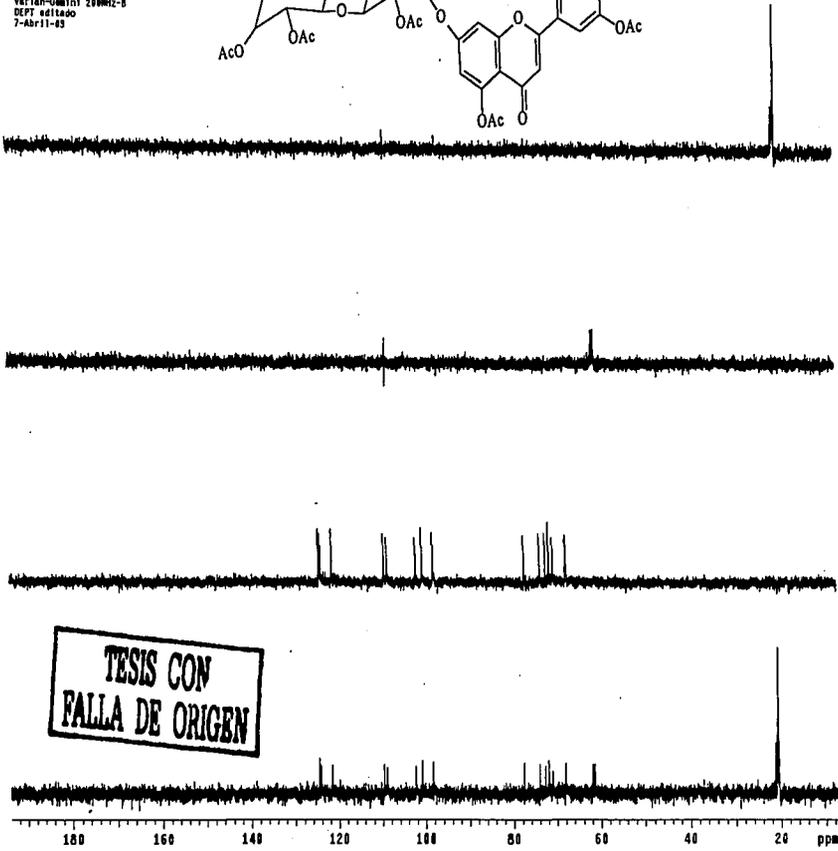
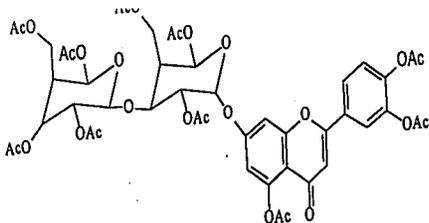
Instituto de Química UNAM MZ  
M.C. Jorge Cardenas/Bena  
Clave:FR15  
CXC15  
Vectra-Gemini 200MHz-5  
13C  
3-Abr-83



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 21

Instituto de Química UNAM MZ  
R.C. Jorge Cárdenas/Rene  
Clase: RM 15  
COC13  
Varian-Ominni 200MHz-D  
SEPT editado  
7-Abril-85



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESPECTRO 22

5A

## BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Méndez H. A. Estudio fitoquímico de *Salvia keertlii*. Tesis de licenciatura. UNAM (1986).
- <sup>2</sup> C. Epling. A revisión of *Salvia* subgenus *Calosphace*. Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Beth (1939) 234-241.
- <sup>3</sup> Martínez, M. Las plantas medicinales de México. 6ª. Edición. (1992) 389,411, 488, 496.
- <sup>4</sup> Rodríguez-Hahn, L. Secondary metabolites from Mexican plants: chemistry and biological properties. Research signpost (1996).
- <sup>5</sup> Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, A.A., Sánchez, C., Cárdenas, J.Y. Ramamoorthy, T.P. Rev. Latinoamer. Quím. 20 (1989) 105-115.
- <sup>6</sup> Harborne J.B. Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis. 6ª. edición. Editorial Chapman and Hall.(1998)
- <sup>7</sup> Esquivel, B., Sánchez, A.A., Aranda, E. Phytochemicals and Phytopharmaceuticals. Capítulo 34. Editorial AOCs. (2000).
- <sup>8</sup> Rodríguez-Hahn, L., O'Reilly, R., Esquivel, B., Maldonado, E., Ortega, A., Cárdenas, J. and Toscano. Tilifodiolide, tetralin-type diterpenoid of clerodanic origin from *Salvia tiliafoliae* A.J. Org. Chem. 55 (1990) 3522-3525.
- <sup>9</sup> Fernández de la rosa, Ma. del C. Estudio fitoquímico de *Salvia rhyacophila*. Tesis de licenciatura. U.N.A.M. (1990).
- <sup>10</sup> Rodríguez-Hahn, L., Esquivel B, Cárdenas, J. Clerodane diterpenes in *Labiatae*. Springer-Verlag (1994).
- <sup>11</sup> Cárdenas P. J. C. Estudio fitoquímico de *Salvia candicans*. Tesis de maestría. U.A.E.M. (1992).
- <sup>12</sup> Rodríguez B. Complete assignments of the <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectra of six highly functionalized neoclerodane diterpenoids. Magn. Reson. Chem. 39 (2001) 150-154.
- <sup>13</sup> Rodríguez, B., Pascual, C., Savona, G. The correct structure of salvifaricin, a *cis*-neoclerodane diterpenoid from *Salvia farinacea*. Phytochemistry. 23 (1984) 1193,1194.
- <sup>14</sup> Toscano R.A., Maldonado E., Ortega A. Tonalensin, a 5,10-seco-neoclerodane diterpenoid. J. of Chem. Cryst. 26 (1996) 239-242.
- <sup>15</sup> Maldonado E., Ortega A., Díaz E., Reynolds W.F. Variable temperature NMR studies on the conformation of tonalensin in solution. Spectrochimica Acta. 54 (1998) 659-670.

---

<sup>16</sup> González A.G., Herrera J.R., Luis J.G., Ravelo A.G., Rodríguez M.L. Cardiophylidin, a seco-ent-neoclerodane diterpenoid from *Salvia cardiophylla*. *Tetrahedron Letters* **29** (1998) 363-366.

<sup>17</sup> Tandon S, Rastogi R.P. Strictic acid, a novel diterpene from *Conyza stricta*. *Phytochemistry* **18** (1978) 494,495.

<sup>18</sup> Jerry March. *Advanced Organic Chemistry. Reactions, mechanisms, and structure.* 4a edición. Wiley interscience. (1992) 1110.