



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

Estudio químico preliminar de *Salvia pineticola*

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA

MITZY ALEJANDRA GARCÍA ZAMUDIO

DIRECTORAS

D.C YLIANA LÓPEZ CASTRO

D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

MORELIA, MICHOACÁN

OCTUBRE 2022

*“No me canso nunca de ver
los árboles,
el cielo, las personas... La
belleza, la verdad;
eso es lo importante,
lo único capaz de llenar la
existencia y darle sentido.”*

“Estar vivo”, Inés Arredondo

DEDICATORIA

A mi familia, por su apoyo incondicional y eterno.

AGRADECIMIENTOS

Sé por experiencia que, en la vida, solo en contadas ocasiones encontramos a personas con quién podamos establecer un entendimiento mutuo, afortunadamente, me he rodeado de aquellas personas que me han hecho aprender a valorar esta suerte inesperada.

Empiezo por agradecer a mi familia, por todo el apoyo, por el tiempo que me han dedicado para ayudarme a cumplir mis metas y por darme aliento a lo largo de mi vida.

A mis amigos, por compartir parte de nuestras vidas, gracias por la amabilidad, la compañía, paciencia y sobre todo la amistad que me han brindado.

A mis compañeros de laboratorio, gracias porque desde el primer día todos fueron muy amables conmigo y muy solidarios, fue muy grato haber tenido la experiencia de trabajar con ustedes, aprecio y guardo con cariño los momentos que compartimos, sus consejos y enseñanza.

A mis asesoras la D.C Yliana López Castro y la D.C Rosa Elva por darme la oportunidad de estudiar y aprender en su laboratorio, a la Dra. Brenda Y. Bedolla García por la aportación de la especie vegetal, así mismo, a mis revisores de tesis, por su tiempo, gracias por la confianza, su ayuda, paciencia y dedicación.

Infinitas gracias por estar presentes en mi camino, a cada uno de ustedes les agradezco que hayan contribuido en mi crecimiento personal, les escribo y ofrendo mi presente.



Este trabajo fue realizado en los Laboratorios de Síntesis y Química de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección de la D.C. Yliana López Castro y la D.C. Rosa Elva Norma del Río Torres, con el apoyo financiero de los proyectos CONACYT (286638), CIC-UMSNH y con una beca otorgada por el CONACYT del proyecto CB-286638.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	VII
SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Metabolismo vegetal.....	3
2.1.1 Producción de metabolitos secundarios.....	3
2.1.2 Biosíntesis.....	5
2.2 Diversidad vegetal en México.....	6
2.2.1 Familia Lamiaceae.....	7
2.2.2 Género <i>Salvia</i>	7
2.2.2.1 Localización geográfica.....	8
2.2.2.2 Descripción botánica	9
2.2.2.3 Constituyentes químicos.....	10
2.2.2.4 Actividad biológica.....	15
2.2.2.5 Importancia de los triterpenos	16
2.3 <i>Salvia pineticola</i> Epling.....	17
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. OBJETIVOS	19
5. PARTE EXPERIMENTAL	20
5.1 Metodología general.....	20

5.2 Material vegetal.....	21
5.3 Obtención de extractos.....	21
5.4 Estudio químico.....	21
5.5 Espectroscopia y métodos físicos.....	22
6. RESULTADOS.....	23
6.1 Extracto crudo diclorometano.....	23
6.2 Extracto crudo de metanol	24
6.3 Purificación del ácido ursólico.....	24
7. CONCLUSIONES.....	30
8. REFERENCIAS.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Eventos en los cuales los metabolitos secundarios se inducen durante la respuesta de defensa de las plantas.....	4
Figura 2. Esquema general de biosíntesis de metabolitos primarios y secundarios en plantas.....	6
Figura 3. Principales centros de diversidad del género <i>Salvia</i>	8
Figura 4. Algunas especies de <i>Salvia</i> con flores azules y/o moradas.....	10
Figura 5. Algunas especies de <i>Salvia</i> con flores de color lila, rojo y/o rosa.....	10
Figura 6. Terpenos presentes en el aceite esencial de <i>Salvia officinalis</i>	11
Figura 7. Polifenoles en <i>Salvia officinalis</i>	12
Figura 8. Esqueletos de diterpenos comunes.....	12
Figura 9. Diterpenos de <i>Salvia divinorum</i>	13
Figura 10. Esqueletos de triterpenos comunes.....	13
Figura 11. Triterpenos presentes en <i>S. officinalis</i> y <i>S. lavandulifolia</i>	14
Figura 12. Estructuras triterpénicas aisladas de <i>Salvia grossheimii</i> y <i>Salvia russellii</i>	14
Figura 13. Triterpenos aislados de <i>Salvia urmiensis</i>	15
Figura 14. Tallos, hojas y flores de <i>Salvia pineticola</i> Epling.....	17
Figura 15. Diagrama general de la metodología.....	20
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del extracto de diclorometano total de las partes aéreas de <i>Salvia pineticola</i>	23
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en DMSO_{d6} del extracto metanólico total de las partes aéreas de <i>Salvia pineticola</i>	24

Figura 18. Espectro de IR del ácido ursólico.....	25
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en $\text{DMSO}_{\text{d}6}$ del ácido ursólico.....	26
Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en $\text{DMSO}_{\text{d}6}$ del ácido ursólico.....	27

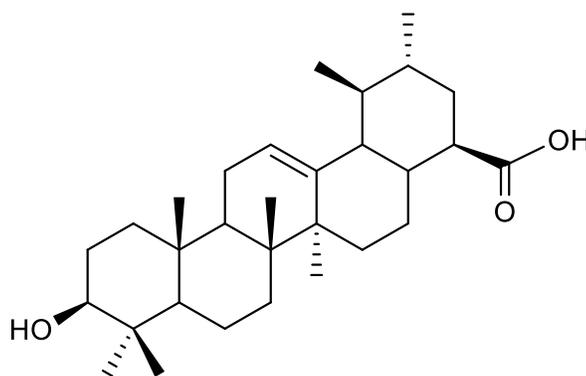
SÍMBOLOS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

°C	Grados Celsius
δ	Desplazamiento químico
¹³ C NMR	Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13
¹ H NMR	Resonancia Magnética Nuclear de protón
CCF	Cromatografía en capa fina
CG-EM	Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas
cm	Centímetros
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
DMSO	Dimetil sulfóxido
g	Gramos
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
mg	Miligramos
mL	Mililitros
MHz	MegaHertz
N	Latitud
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
TMS	Tetrametilsilano
W	Longitud

RESUMEN

En el presente trabajo se describe el primer estudio químico a partir del extracto de diclorometano y metanol de las partes aéreas de *Salvia pineticola*, una especie perteneciente a la extensa familia Lamiaceae. De acuerdo a los estudios químicos que han sido realizados en la mayoría de las especies es posible encontrar compuestos que resaltan por sus actividades biológicas. Dentro de los principales constituyentes del género destacan los terpenoides, son un grupo de compuestos con importancia farmacológica.

El compuesto mayoritario aislado e identificado fue el ácido ursólico (**19**), el cual fue caracterizado por espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de 1D y 2D, además de ser comparado con datos reportados en la literatura.



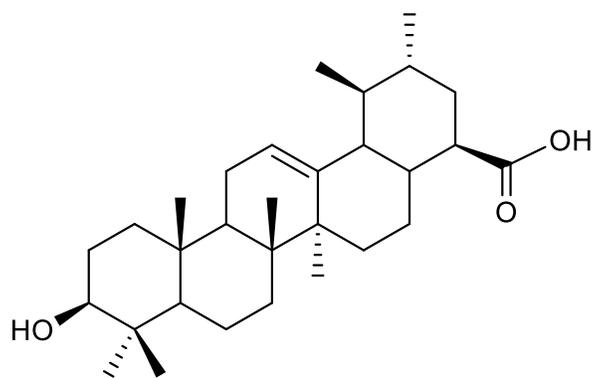
19

Palabras clave: Estudio químico, Terpenos, *Salvia pineticola*.

ABSTRACT

This work describes the first chemical study of the dichloromethane and methanol extracts from the aerial parts of *Salvia pineticola*, a species belonging to the extensive family Lamiaceae. According with chemical studies that have been carried out on most species, it is possible to find compounds that highlight for their biological activities. Among the main constituents of the genus, terpenoids stand out, a group of compounds with pharmacological importance.

The main compound isolated and identified was ursolic acid (**19**), which was characterized by 1D and 2D Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, in addition to being compared with data reported in the literature.



19

Keywords: Chemical study, Terpenes, *Salvia pineticola*.

1.INTRODUCCIÓN

Con el paso del tiempo los humanos han acudido a la Naturaleza para satisfacer sus necesidades básicas (Prieto et al., 2004), desde la prehistoria se conocen plantas cuyos extractos han sido utilizados en pócimas o curaciones y aún las plantas sin un tratamiento se han empleado para los mismos fines (Marcano y Hasewaga, 2018). En todas las culturas del mundo existe una venerable tradición en el uso de algunas fuentes naturales para diversos propósitos, entre los cuales se encuentran los usos medicinales, aromáticos, cosméticos, agronómicos, tóxicos, entre otros, enfatizando su empleo en la medicina tradicional (Delgado, 2005).

Las plantas han constituido la base de los sistemas de Medicina Tradicional para mantener la salud e incrementar la calidad de vida del hombre. Durante muchos años los remedios naturales, fueron el principal y único recurso terapéutico disponible. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y se ampliara la experiencia en el empleo de los productos que se extraen a partir de ellas (Newman y Cragg, 2020).

El aislamiento y estudio de las sustancias naturales ha sido una preocupación central de las Ciencias Químicas y Biológicas por más de 200 años (Prieto et al., 2004); donde se encuentra la fitoquímica, la cual ha aportado a la ciencia nuevos descubrimientos en lo referente al estudio de los vegetales, basando su importancia en el estudio de aquellas sustancias que poseen propiedades con función biológica.

Las sustancias que se extraen para el análisis químico son llamados productos naturales los cuales provienen del metabolismo secundario de las plantas, que son compuestos químicos derivados del metabolismo primario que cumplen múltiples funciones no vitales en las plantas, interviniendo en las interacciones ecológicas entre ellas y su ambiente para protegerlas de los depredadores herbívoros, virus, hongos y bacterias (Shilpa et al., 2010). La importancia de los productos naturales radica en la propia función biológica en la que son biosintetizados (Gutiérrez y Estévez, 2009). Se estima que varios productos naturales y biomoléculas han sido aislados y caracterizados a partir de plantas, hongos, organismos marinos y líquenes, entre otros. Tan solo de fuentes vegetales se han aislado y caracterizado

diversos metabolitos secundarios, y se estima que solo se han analizado una ínfima parte de las fuentes naturales disponibles (Pietra, 2002).

En el Diccionario de Productos Naturales de Buckingham (1996) se describen datos químicos, estructurales y bibliográficos para aproximadamente 165 000 productos naturales y sustancias relacionadas. Se conoce, además, que la potencialidad de compuestos biológicamente activos es muy elevada, puesto que están por investigar más de la mitad de las especies de plantas (Reid et al., 1993). Hacer un estudio químico preliminar consiste en determinar la presencia de los principales grupos de metabolitos secundarios en una especie vegetal y así orientar investigaciones posteriores.

El género *Salvia* pertenece a la familia Lamiaceae, una de las familias más diversas a nivel global, cabe destacar su importancia en la medicina tradicional ya que el uso de especies locales que poseen propiedades curativas es una práctica ampliamente distribuida en las culturas de todo el mundo, lo cual se puede explicar por la presencia de compuestos activos (Harley et al., 2004) como los triterpenos.

En décadas recientes, con el aumento en el conocimiento farmacológico sobre el efecto benéfico de *Salvia*, especialmente de *S. officinalis*, se ha logrado determinar su actividad biológica destacando como antibacteriano, antioxidante, antiinflamatorio y antitumoral. Sus componentes han sido muy eficaces en el desarrollo de nuevos fármacos naturales para prevenir, controlar o tratar problemas de salud, como la diabetes, el Alzheimer y el cáncer (Assaggaf et al., 2022; Hamidpour et al., 2014). Además de *S. officinalis*; otras especies como *S. miltiorrhiza* y *S. lavandulifolia* ofrecen un amplio uso en las industrias farmacológica, cosmética y de alimentos (Georgiev y Pavlov, 2017).

En comparación con otros géneros de la familia Lamiaceae, el género *Salvia* ha sido poco estudiado fitoquímicamente, aproximadamente se ha estudiado solo un 6.5% de las especies descritas (Medina, 2006), por lo que sus especies representan un excelente material para el estudio y aislamiento de compuestos con propiedades biológicas distintas.

2. ANTECEDENTES

2.1 Metabolismo vegetal

Las plantas son organismos fotosintéticos multicelulares que llevan a cabo un conjunto de reacciones químicas donde participan moléculas comunes a todas las células necesarias para su funcionamiento (Ávalos y Pérez, 2009). Las células vegetales realizan estos procesos metabólicos ya que son esenciales para la vida celular y en conjunto constituyen el metabolismo primario, algunas plantas pueden desarrollar rutas que conducen al metabolismo secundario y a la formación de compuestos denominados metabolitos secundarios (Valares, 2011) o también conocidos como productos naturales.

Entre los organismos que presentan metabolismo secundario se encuentran bacterias, hongos, levaduras y animales siendo los vegetales los organismos con mayor actividad y riqueza de las sustancias que derivan del metabolismo (Allué, 2003). No todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas, se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género, a una familia, o incluso a algunas especies (Lustre-Sánchez, 2022).

2.1.1 Producción de metabolitos secundarios

La formación de metabolitos secundarios viene estrictamente regulada por los factores internos y externos que afecten a la fisiología del vegetal (acción de factores no biológicos o abióticos) (Allué, 2003). Las plantas han desarrollado diversas estrategias de defensa que están implicadas en la producción de la mayoría de los metabolitos secundarios como parte de la protección química que, a su vez, se combinan con el desarrollo de estructuras contra sus depredadores (Croteau et al., 2000), en general, participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente (Sepúlveda et al., 2004).

Una síntesis activa se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico (Figura 1). (Sepúlveda et al., 2004).

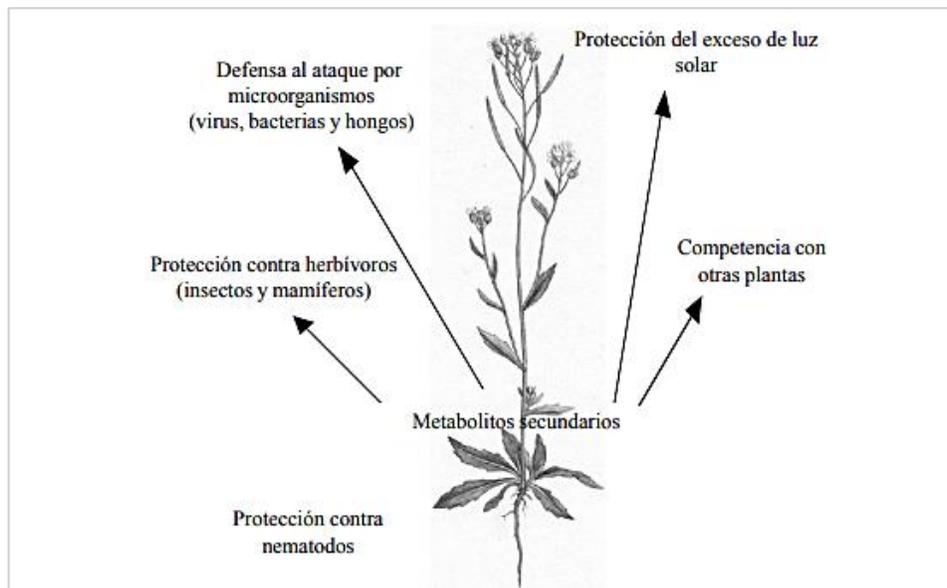


Figura 1. Eventos en los cuales los metabolitos secundarios se inducen durante la respuesta de defensa de las plantas. Tomado de Sepúlveda et al., 2004.

Los metabolitos secundarios en principio fueron considerados productos finales en procesos metabólicos, sin alguna función específica, o directamente como productos de desecho de las plantas. Fueron percibidos como insignificantes para los biólogos, por lo que históricamente han recibido poca atención por parte de los botánicos y muchas de las funciones que presentan aún son desconocidas. El estudio de estas sustancias fue iniciado por químicos orgánicos del siglo XIX y de principios del siglo XX, que estaban interesados en estas sustancias por su importancia y uso como drogas medicinales, venenos, saborizantes, pegamentos, y en otros materiales utilizados en la industria (Taiz et al., 2006).

Dentro de los productos naturales se encuentran constituyentes activos, responsables de los efectos terapéuticos, así como también están presentes constituyentes inertes entre los cuales se pueden mencionar la celulosa, la lignina y la suberina, el almidón, la albúmina y algunas otras materias colorantes que no tienen una actividad farmacológica definida (Valencia, 1995).

La clasificación de los metabolitos secundarios puede hacerse de acuerdo a sus estructuras, a su bioformación, a la fuente de producción o a su acción biológica. Aparentemente el criterio más acertado es aquel que usa la biosíntesis como denominador común, la cual, en su esquema básico, engloba la formación de los metabolitos primarios y secundarios (Marcano y Hasegawa, 2018).

2.1.2 Biosíntesis

La formación de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que tiene lugar en plantas superiores, es un proceso endotérmico que requiere de la luz solar. Aquellos organismos incapaces de absorber la luz obtienen su energía de la degradación de carbohidratos. Los fragmentos pequeños se recombinan para generar las grandes moléculas y de acuerdo a la figura 2, se observa como los metabolitos secundarios se forman por distintas vías (Marcano y Hasegawa, 2018). Existen tres intermedios químicos principales como son el acetil-CoA, el ácido shikímico y el ácido mevalónico, a partir de estos compuestos se biosintetizan los principales grupos de productos naturales como son los ácidos grasos, antraquinonas, flavonoides, terpenos, esteroides, alcaloides, cumarinas, lignanos, entre otros. (Gutiérrez y Estévez, 2009; Chomel et al., 2016).

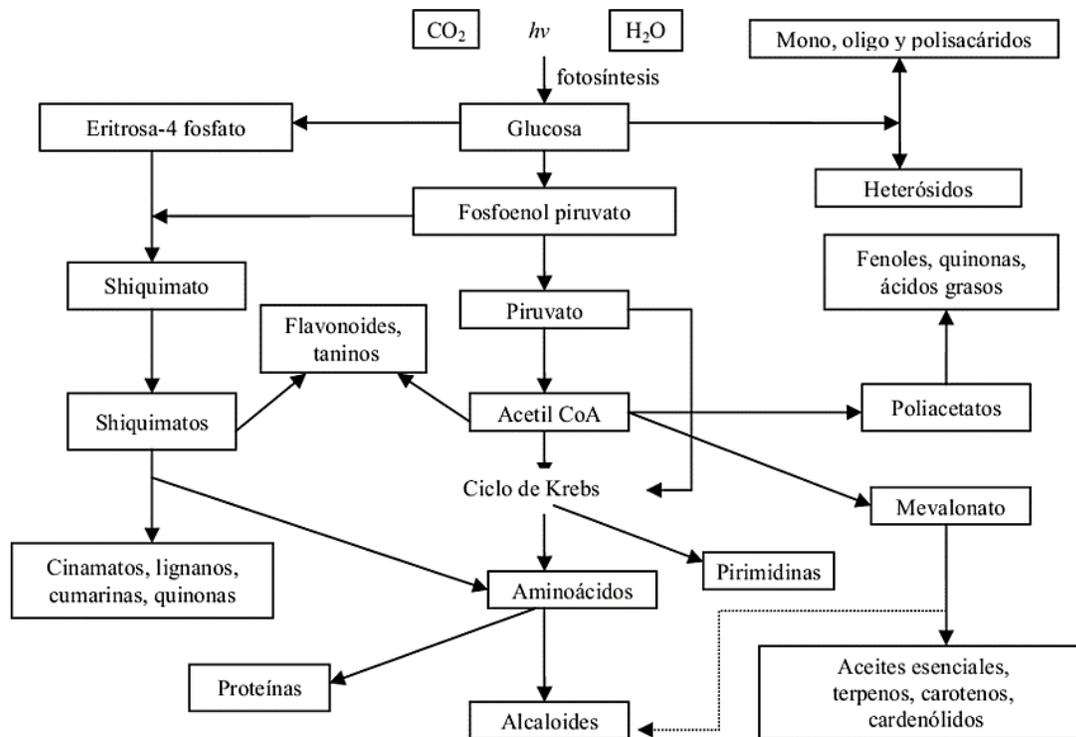


Figura 2. Esquema general de biosíntesis de metabolitos primarios y secundarios en plantas, Tomado de Leyva et al., 2011.

2.2 Diversidad vegetal en México

México cuenta con un área de alta biodiversidad de plantas vasculares, Lorente-Bousquets y Ocegueda (2008), incluyen 22,332 especies de las cuales entre el 50 y 60% son endémicas. Los estados que ocupan los primeros lugares en mayor riqueza de especies son Oaxaca, Chiapas, Veracruz, Jalisco, Guerrero y Michoacán (Villaseñor y Ortiz, 2014).

Las angiospermas son las que tienen mayor diversidad vegetal en el territorio nacional, en este grupo las familias que destacan principalmente por su número de géneros y especies son: Asteraceae, Fabaceae, Orchidaceae, Poaceae, Euphorbiaceae, Rubiaceae, Cactaceae y Lamiaceae (Villaseñor, 2016).

2.2.1 Familia Lamiaceae

La diversidad que reúne la familia Lamiaceae a escala global es de 241 géneros y 7530 especies (Christenhusz y Byng, 2016) las cuales se distribuyen en todo el mundo con excepción de las áreas de mayor latitud y altitud (Hedge, 1992). México resguarda una riqueza de 32 géneros y 591 especies nativas o naturalizadas, de las cuales 379 son endémicas al país (Martínez-Gordillo et al., 2009), lo que posiciona a la familia como la octava más diversa entre las plantas vasculares de la flora mexicana (Villaseñor, 2003). Oaxaca reúne la mayor cantidad de géneros (25) y especies (157) nativas o naturalizadas de Lamiaceae. También resaltan los estados de Puebla, Veracruz y Chiapas, con más de 20 géneros cada uno (Martínez et al., 2017).

En la República Mexicana, la familia Lamiaceae presenta una riqueza considerable en la mayoría de sus tipos de vegetación; se ha adaptado muy bien a las regiones con climas templados y húmedos, aunque también existe un número significativo de especies que prosperan en zonas secas, con temperaturas relativamente altas (Martínez et al., 2017).

Las especies de esta familia se caracterizan por poseer glándulas epidérmicas que secretan compuestos volátiles aromáticos, por lo que son apreciadas desde el punto de vista culinario (albahaca, menta, tomillo, orégano, romero), medicinal (marrubio, menta, poleo, salvia, toronjil) y dentro de la industria de la perfumería (lavanda, pachuli) (El-Gazzar y Watson 1970, Heinrich 1992, Lawrence 1992, Rivera-Núñez y Obón de Castro 1992, Kintzios 2000, Jenks y Kim 2013). Además, algunas especies de Lamiaceae se consumen a diario como alimento, especias o tisanas, dado que sus altas propiedades nutricionales y farmacológicas son capaces de producir diversos efectos nutraceuticos benéficos (Frezza et al., 2019).

2.2.2 Género *Salvia*

El género *Salvia* es considerado el género más diverso del país (Villaseñor, 2016), con aproximadamente 295 especies y un endemismo del 82% (González-

Gallegos et al., 2020). Tradicionalmente se han reconocido los subgéneros *Calosphace* Raf., *Leonia* Ruiz, *Salvia* L. y *Sclarea* Mill. (Bentham, 1876), aunque de acuerdo con Drew y colaboradores (2017) se reconocen 11 subgéneros, bajo este último criterio se incorporan 5 géneros pequeños (*Dorystaechas* Boiss. & Heldr. Ex Benth., *Meriandra* Benth., *Perovskia* Kar., *Rosmarinus* L. y *Zhumeria* Rech.f. & Wendelbo) para considerar a *Salvia* como un grupo monofilético. Casi la totalidad de las especies mexicanas de *Salvia* se incluyen dentro del subgénero *Calosphace*, a excepción de las especies distribuidas en Baja California que pertenecen al subgénero *Audibertia*. (Epling, 1938; Walker et al., 2004).

2.2.2.1 Localización geográfica

A nivel mundial las regiones que se distinguen por ser los centros de mayor diversidad son Centro y Sudamérica, incluyendo a México; la región asiática central Mediterránea y la región del Este asiático (Figura 3) (Walker et al., 2004).

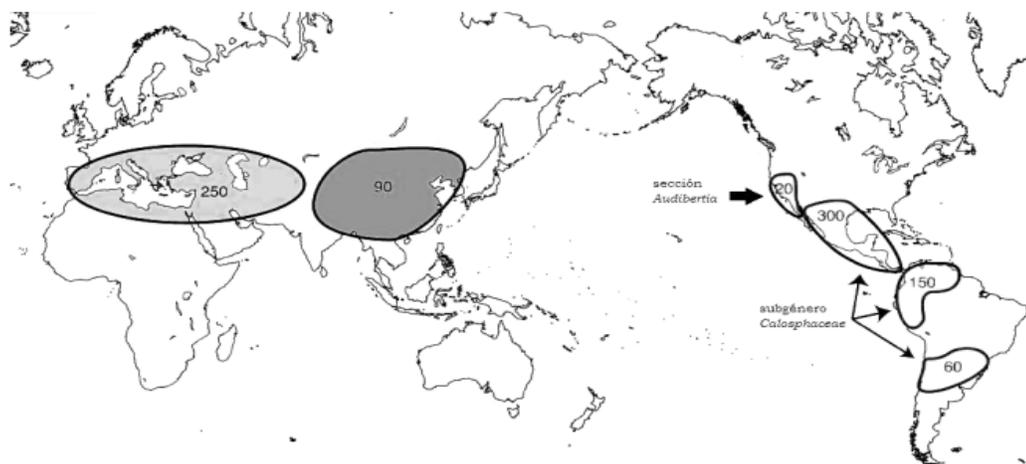


Figura 3. Principales centros de diversidad del género *Salvia*. Región Asiática-central Mediterránea (gris claro), Este asiático (gris oscuro) y México, Centro y Sudamérica (blanco). Modificado de Walker et al., 2004.

En México la mayor diversidad de especies del género *Salvia* se presentan en las zonas montañosas, principalmente en las del centro–sur del país (Espejo y Ramamoorthy, 1993). Los bosques templados y en particular los de coníferas y encinares, son los tipos de vegetación que albergan la mayor proporción de especies (Ramamoorthy y Lorence, 1987). Destacan los estados de Oaxaca, Puebla, Guerrero, Michoacán y Jalisco como las zonas donde la concentración de endemismos de esta familia es mayor (Ramamoorthy y Elliot, 1998).

2.2.2.2 Descripción botánica

Las formas de crecimiento en *Salvia* incluyen hierbas anuales o perennes o arbustos; inflorescencias terminales y/o axilares, tirsoes espiciformes, racemiformes, paniculadas o en verticilastros de una a numerosas flores, cáliz bilabiado con el labio superior generalmente entero a 3-lobulado y de 9 a 15 venas; y corola bilabiada, tubo recto, ventricoso o invaginado, labio superior galeado, el inferior 3-lobulado; androceo con 2 estambres, conectivo alargado, a veces dentado, articulado sobre un filamento corto cáliz y corola bilabiados, el ovario se divide en 4 lóculos y el estilo es ginobásico (Ramamoorthy, 2001). La característica diagnóstica para las especies americanas de *Salvia* (subgénero *Calosphace*) de *Salvia* respecto a los otros géneros de Lamiaceae es la presencia de 2 estambres (Wood y Harley, 1989; Pool, 2001), en los cuales la parte estéril del conectivo funciona como una palanca, lo que permite que el polen se adhiera a la cabeza o cuerpo de los polinizadores (Walker y Sytsma, 2007).

Con base en la revisión hecha por Cornejo y Ibarra (2011), el grupo de especies de *Salvia* se presentan en mayor número con flores azules y/o moradas (incluye las de color púrpura o violeta), también se pueden presentar en menor número con flores de color lila (fucsia o rosa oscuro), rosa, rojo y/o guinda (rojo oscuro), en tanto que las flores blancas se han encontrado en menor cantidad en especies como *S. assurgens* Kunth y *S. leucantha* Cav. y las amarillas en *S. subhastata* Epling (Figuras 4 y 5). Es importante destacar que los colores o tonalidades de las flores pueden variar marcadamente dentro de una especie. El

periodo de floración de las especies de *Salvia* se extiende a lo largo de todo el año, con su máximo en el mes de octubre (Cornejo y Ibarra, 2011).



Figura 4. Algunas especies de *Salvia* con flores azules y/o moradas. A) *S. amarissima*; B) *S. lavanduloides*; C) *S. laevis*; D) *S. reptans*. Modificado de Cornejo y Ibarra, 2011.



Figura 5. Algunas especies de *Salvia* con flores de color lila, rojo y/o rosa. A) *S. carnea*; B) *S. elegans*; C) *S. iodantha*; D) *S. purpurea*. Modificado de Cornejo y Ibarra, 2011.

2.2.2.3 Constituyentes químicos

El estudio químico de un gran número de especies de *Salvia* ha permitido establecer un perfil químico interesante para este género (Esquivel, 2017). Es reconocido por presentar diversos metabolitos secundarios de los cuales en su mayoría son de naturaleza terpénica: monoterpenos y sesquiterpenos constitutivos

de sus aceites esenciales, diterpenos y triterpenos derivados del ursano y oleanano. También poseen abundantes compuestos fenólicos: flavonoides y ácidos fenólicos (Ortega et al., 2002). A medida que avanza la investigación fitoquímica de este género se elucidan nuevas estructuras con esqueletos derivados principalmente de precursores clerodánicos, abietánicos y pimaránicos (Bustos, 2011).

Dada su composición química tienen la propiedad de ser aromáticas, esta característica ha permitido que se aprovechen de diferentes maneras a través del uso de sus aceites esenciales en la medicina tradicional y en la industria (Lawrence, 1992; Jenks y Kim, 2013; Calderón-Oropeza et al., 2021).

Dentro del género las plantas aromáticas cuyos aceites esenciales tienen más demanda, se encuentra la salvia común (*Salvia officinalis* L.) y la salvia española (*Salvia lavandulifolia* Vahl) (Usano, 2012), en el estudio de los aceites esenciales realizado en *Salvia officinalis* se encontró que forman parte de sus componentes principales el sesquiterpeno cariofileno (**1**) (Ghorbani & Esmailizadeh, 2017), cetonas monoterpénicas bicíclicas: α -tuyona (**2**), y en menor proporción, β -tuyona (**3**). Además, contiene alcanfor (**4**) y borneol (**5**) libre y esterificado. (Figura 6). Se ha comprobado que la composición varía considerablemente según el órgano vegetal utilizado en la extracción y la estación del año en que se haya recolectado (Santos y Fernandes, 2001).

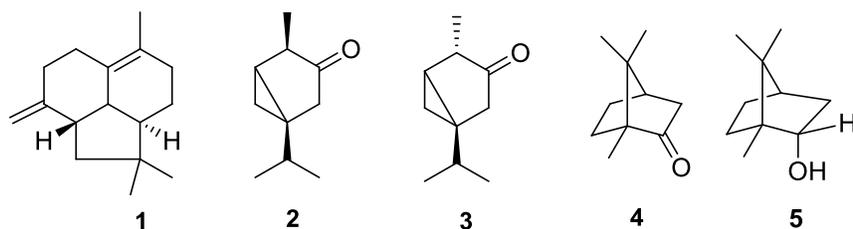


Figura 6. Terpenos presentes en el aceite esencial de *Salvia officinalis*.

De igual manera, los polifenoles (principalmente flavonoides) son de los principales constituyentes fitoquímicos de *Salvia*, siguiendo en el estudio de *Salvia officinalis* L. con referencia a estos compuestos, destacan polifenoles como el ácido

rosmarínico (**6**) y el ácido elágico (**7**), en infusión están presentes otros flavonoides como epicatequina (**8**), y quercetina (**9**) (Figura 7). (Ghorbani y Esmailzadeh, 2017).

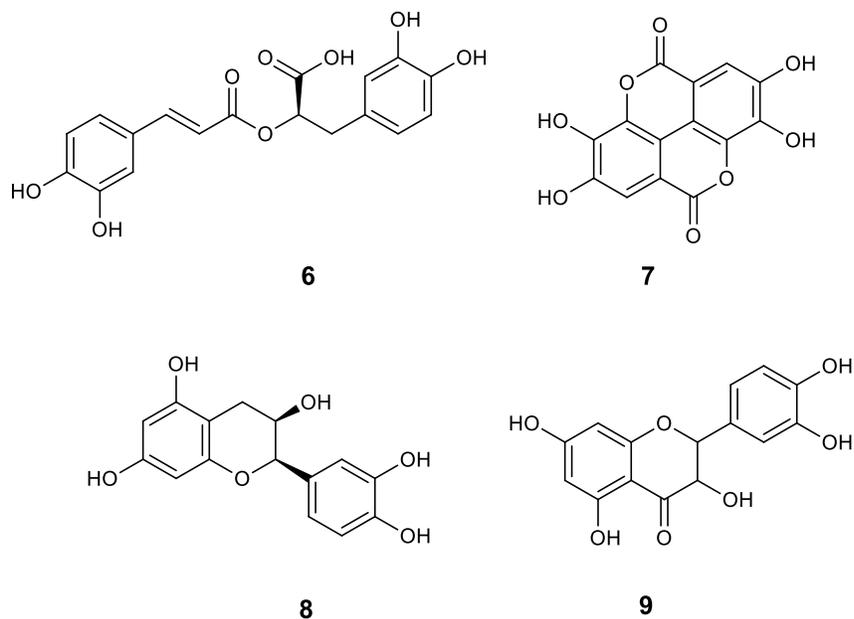


Figura 7. Polifenoles en *Salvia officinalis*.

Con respecto a los diterpenos aislados en este género los principales compuestos presentan esqueletos derivados del abietano (**10**), clerodano (**11**), pimarano (**12**) y labdano (**13**) (Figura 8) (Ulubelen, 1997).

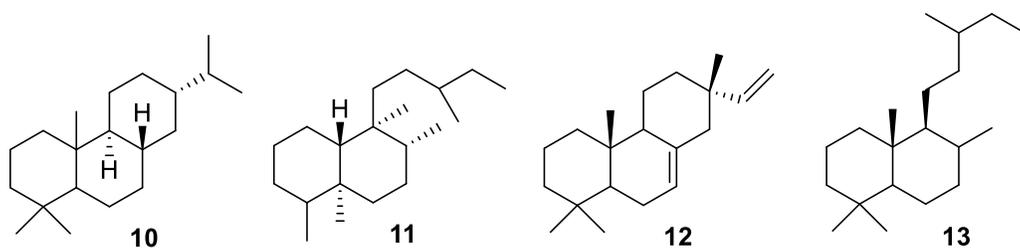


Figura 8. Esqueletos de diterpenos comunes.

En 1982 Ortega y colaboradores, aislaron un diterpeno *neo-clerodano* de los más conocidos llamado salvinorina A (**14**), que es el principal compuesto activo de *Salvia divinorum* Epling, también aislaron la salvinorina B (**15**) de la misma planta (Figura 9). Actualmente, estudios realizados en otras salvias como en *Salvia polystachya* mejor conocida como “chía”, han revelado tener en su composición química la presencia de diterpenos de tipo clerodano como las polistaquinas. (Ortega et al., 2017).

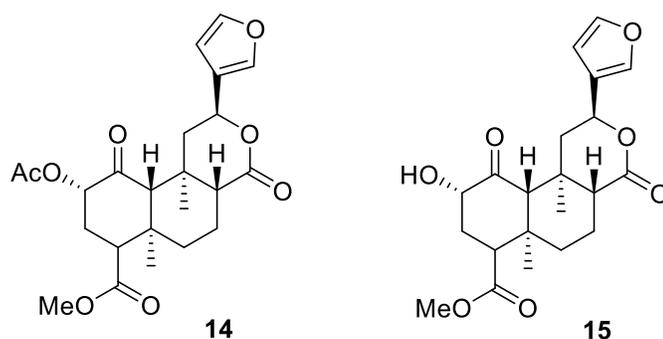


Figura 9. Diterpenos de *Salvia divinorum*.

Referente a los triterpenos desde una perspectiva biológica, se asume que los esqueletos del oleanano (**16**), ursano (**17**) y lupano (**18**) son los más importantes dentro de los triterpenos (Figura 10). Dichas estructuras policíclicas pueden encontrarse, ya sea en su estado libre o en forma de glicósidos.

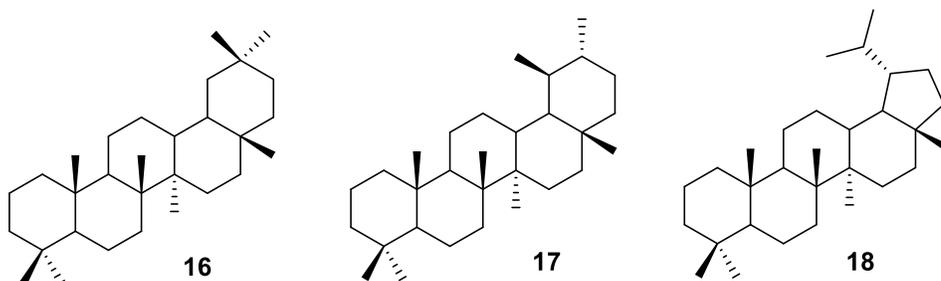


Figura 10. Esqueletos de triterpenos comunes.

Como consecuencia, presentan una gran diversidad estructural. (Cano-Flores, 2013). La mayor parte de los triterpenoides descritos pertenecen a derivados del ácido ursólico (**19**) y oleanólico (**20**) (Figura 11) ambos presentes en *Salvia officinalis* L y *Salvia lavandulifolia* Vahl, entre otras especies (Máthé et al., 2010; Qiang et al., 2011).

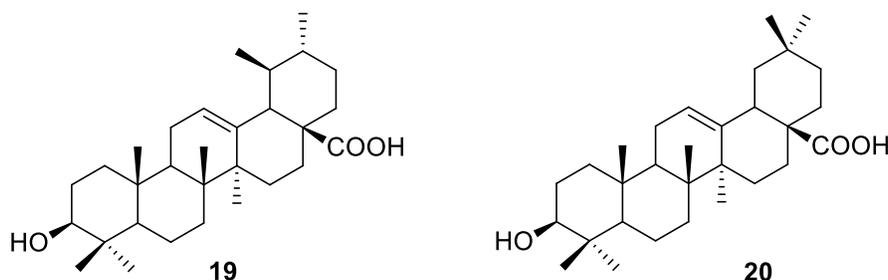


Figura 11. Triterpenos presentes en *Salvia officinalis* y *Salvia lavandulifolia*.

Recientemente se han elucidado estructuras de ursano **21** altamente hidroxilados de *Salvia grossheimii* Sosn que *in vitro* mostró tener actividades inhibitoras y citotóxicas de la α -glucosidasa contra MCF-7, una línea celular de cáncer de mama humano (Zare et al., 2020). Así mismo, un triterpeno aislado de *Salvia russellii* Benth cuya estructura posee un esqueleto glucosilado de dammarano **22** (Figura 12) ha presentado propiedades citotóxicas. (Hafez et al., 2021).

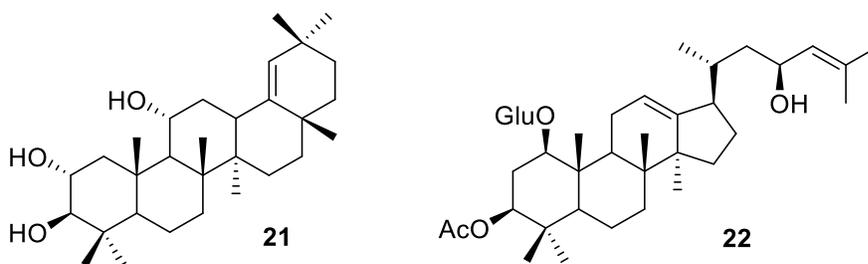


Figura 12. Estructuras triterpénicas aisladas de *Salvia grossheimii* y *Salvia russellii*.

Los triterpenoides con esqueleto de ursano podrían considerarse como nuevos agentes anticancerígenos terapéuticos multidiana. Salvurmina A (**23**) y Salvurmina B (**24**) (Figura 13), son nuevos triterpenoides citotóxicos aislados de las partes aéreas de *Salvia urmiensis* Bunge una especie endémica de Irán, que mostraron actividad citotóxica con líneas celulares de adenocarcinoma de colon humano (HT29), carcinoma de pulmón alveolar humano (A549) y células de mama normales humanas (MCF10a). (Hashemi, et al., 2022).

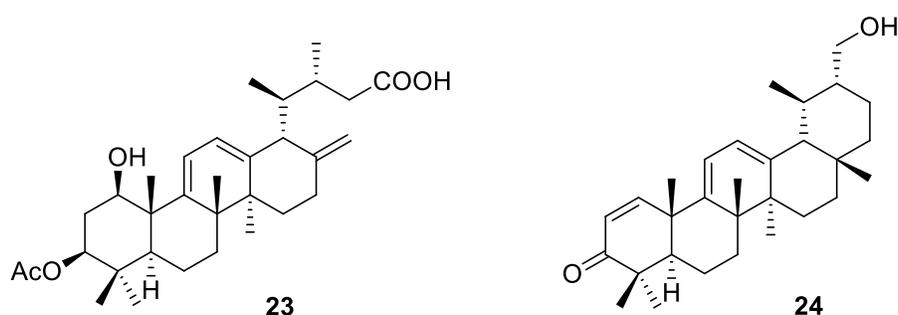


Figura 13. Triterpenos aislados de *Salvia urmiensis*.

2.2.2.4 Actividad biológica

La gran variedad de metabolitos secundarios que se encuentran en especies del género *Salvia* les confiere importancia económica, principalmente para la industria farmacéutica. Algunas especies han sido utilizadas desde hace ya un tiempo en la medicina tradicional y en la actualidad son estudiadas por su potencial actividad biológica (Fragoso, 2011; Tavan et al., 2022).

Las principales acciones farmacológicas de este género son debidas a los grupos de componentes previamente descritos. Al grupo de polifenoles se le atribuyen efectos como la capacidad estrogénica, antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatoria y antioxidante (Das & Rosazza, 2006; Wang et al., 2010; Gião et al., 2012). De los derivados terpénicos se han descrito actividades antituberculosas (Ulubelen et al., 1997), antiinflamatorias (Pferschy-Wenzig et al., 2008), antiparasitarias y nematocidas (Fokialakis et al., 2007; Samoylenko et al., 2008). Además, resultan dianas farmacológicas frente al mal de Alzheimer, las dos

especies más estudiadas a este respecto son *Salvia officinalis* L y *Salvia lavandulifolia* Vahl (Usano et al., 2012).

En China, extractos de los rizomas de *Salvia miltiorrhiza* Bunge, denominada Tang Seng, han sido empleados para el tratamiento de afecciones coronarias, especialmente para angina de pecho, e infarto al miocardio (Chen et al., 2014). De importancia culinaria, *Salvia hispanica* L., mejor conocida como chía, en México se le atribuye además de un uso medicinal, un uso artístico ya que el aceite extraído, se empleaba en la elaboración de barnices, pinturas y cosméticos (Cahill, 2003). Por último, se debe mencionar la especie *Salvia divinorum* Epling cuyo diterpeno salvinorina A (también llamado divinorina A) parece poseer actividad psicotrópica. Esta especie se ha consumido tradicionalmente en fresco (mascada o en forma de zumo) por los indios Mazatecos (Oaxaca, México) como remedio tradicional y en ritos de adivinación, las hojas secas son fumadas como sustitutivo de la marihuana en Estados Unidos y algunos países europeos como Suiza. (Valdés, 1994; Giroud et al., 2000).

2.2.2.5 Importancia de los triterpenos

Dada la abundancia reconocida de los triterpenos de origen vegetal, se han reportado diversas propiedades de estos compuestos dependientes de la dosis, entre las que se resaltan el efecto anticancerígeno, presentan capacidad para mejorar la función hepática y capacidad para estimular la excreción de ácidos biliares y propiedades antihipertensivas y antiinflamatorias (Cely et al., 2014).

Se ha probado la actividad biológica en diferentes estudios, una extensa revisión en 2012 se centró en los efectos anticancerígenos de los triterpenoides de tipo ursano y sus derivados semisintéticos, proporcionando una plataforma para descubrir fármacos contra el cáncer de fuentes naturales (Zare et al., 2020). También se ha reportado actividad antiprotozoaria atribuida al triterpeno ácido ursólico (**19**) (Llurba y Schmidt, 2018). Este triterpeno posee un amplio rango de propiedades biológicas que aún quedan por examinar, anteriormente ya se han

identificado algunas otras actividades como anti-VIH y se han descrito biotransformaciones que resultan de interés (Cano, 2013).

2.2.3 *Salvia pineticola* Epling

Salvia pineticola es una planta endémica de México. Dentro de la familia Lamiaceae, sólo 5 especies presentan distribución restringida a Veracruz, entre ellas *S. pineticola* Epling.

Es una herbácea, perenne de 40 a 70 cm de alto, hojas ovadas, base subtruncada a ligeramente cordada, margen serrado, ápice acuminado, con escasos tricomas dispersos en el envés, inflorescencias terminales, compactas de 5 a 15 cm de largo, cáliz verde claro con labios acuminados, el superior con 3 venas, escasos tricomas concentrados sobre las venas, flores blancas, tubo de 7 a 9 mm de largo. Crece a la sombra en bosques mesófilos de montaña y de pinos. (Epling, 1941).



Figura 14. Tallos, hojas y flores de *Salvia pineticola*. Fotografía 103899837 por Díaz, S. (2020). Recuperado de iNaturalist.org.

3. JUSTIFICACIÓN

El estudio fitoquímico de las plantas ha permitido aislar una gran variedad de metabolitos secundarios; durante muchos años los metabolitos secundarios han sido empleados y aprovechados por el ser humano en vista de las propiedades que presentan.

En comparación con otros géneros de la familia *Lamiaceae*, las especies del género *Salvia* han sido poco estudiadas; sin embargo, los resultados que se han expuesto de estudios previos han revelado la presencia de compuestos que resultan de utilidad biológica, por ello surge el interés en realizar un estudio químico preliminar de *Salvia pineticola* que no cuenta a la fecha con ningún estudio químico, por lo que se propone su exploración fitoquímica para la contribución a la quimiotaxonomía de este género.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Realizar un estudio químico preliminar de los extractos de diclorometano y metanol de las distintas partes de la especie *Salvia pineticola*.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener extractos de diclorometano y metanol
- Aislar e identificar los compuestos mayoritarios mediante métodos físicos y espectroscópicos.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 Metodología general



Figura 15. Diagrama general de la metodología.

5.2 Material vegetal

La colecta del material vegetal se realizó en el Estado de Veracruz; dos ejemplares de la especie fueron depositados en el Herbario del Centro Regional del Bajío, Instituto de Ecología A.C. La planta fue identificada por Brenda Y. Bedolla García y los datos de recolección fueron los siguientes:

***Salvia pineticola* Epling**

Localidad: 2 a 3 km de Cruz Blanca por la carretera Las Minas, municipio de Las Minas, Veracruz, 19°39'54.7" N; 97°10'00.7" W, altitud 2195 msnm, 12/diciembre/2021, colectores: *J. G. González Gallegos, S. Zamudio, B. Bedolla-García y J. Noriega-Villa* 2159. Hábitat: bosque de pino-encino, sobre laderas de rocas basálticas; con *Pinus montezumae, Tilia mexicana, Quercus* spp.

5.3 Obtención de extractos

Las distintas partes aéreas de la planta (hojas, tallos y flores) se secaron a la sombra a temperatura ambiente obteniendo un lote de 900 g, se colocaron en maceración con diclorometano por tres días, se filtró el disolvente con un embudo de filtración y posteriormente se evaporó en un rotavapor, repitiendo este proceso por tres ocasiones consecutivas obteniendo un peso total de extracto de 31 g de color café y textura viscosa con un rendimiento de 3.4%. Para el extracto de metanol se siguió el mismo procedimiento, obteniendo un peso total de extracto de 59 g de color café oscuro y textura viscosa con un rendimiento de 6.5%.

5.4 Estudio químico

La separación de los compuestos se hizo por medio de una cromatografía en columna abierta, utilizando una columna de vidrio con diámetro de 4 cm y empleando gel de sílice de la marca MERCK con tamaño de poro de 230-400 μm

como fase estacionaria cubriendo una altura de 12 cm y utilizando como fase móvil mezclas de disolventes Hexanos-Acetato de etilo en orden de polaridad creciente, colectando fracciones gruesas de 50 mL cada una.

La cromatografía de columna fue monitoreada por cromatografía en capa fina con el mismo sistema de disolventes.

5.5 Espectroscopia y métodos físicos

El análisis espectroscópico de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H a 400 MHz y ^{13}C a 100 MHz se llevó a cabo en un espectrómetro Varian Mercury Plus 400, utilizando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl_3) o dimetilsulfóxido deuterado DMSO_{d6} y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los espectros fueron procesados en el programa MestReNova. Los espectros de infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrómetro Thermo Scientific Nicolet iS10 usando la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) ($\bar{\nu}$, cm^{-1}).

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Scientific y no están corregidos.

6. RESULTADOS

6.1 Extracto total de diclorometano

El extracto de diclorometano de las partes aéreas de *Salvia pineticola* se analizó por RMN de ^1H (Figura 16), en el cual se aprecian señales de protones aromáticos entre 8.0-6.5 ppm, hidrógenos vinílicos entre 6.2 y 5.2 ppm, bases de heteroátomo alrededor de 4.2-3.0 ppm y grupos alifáticos entre 2.5-0.5 ppm, destacando la presencia señales de metilos secundarios en 1.2 ppm.

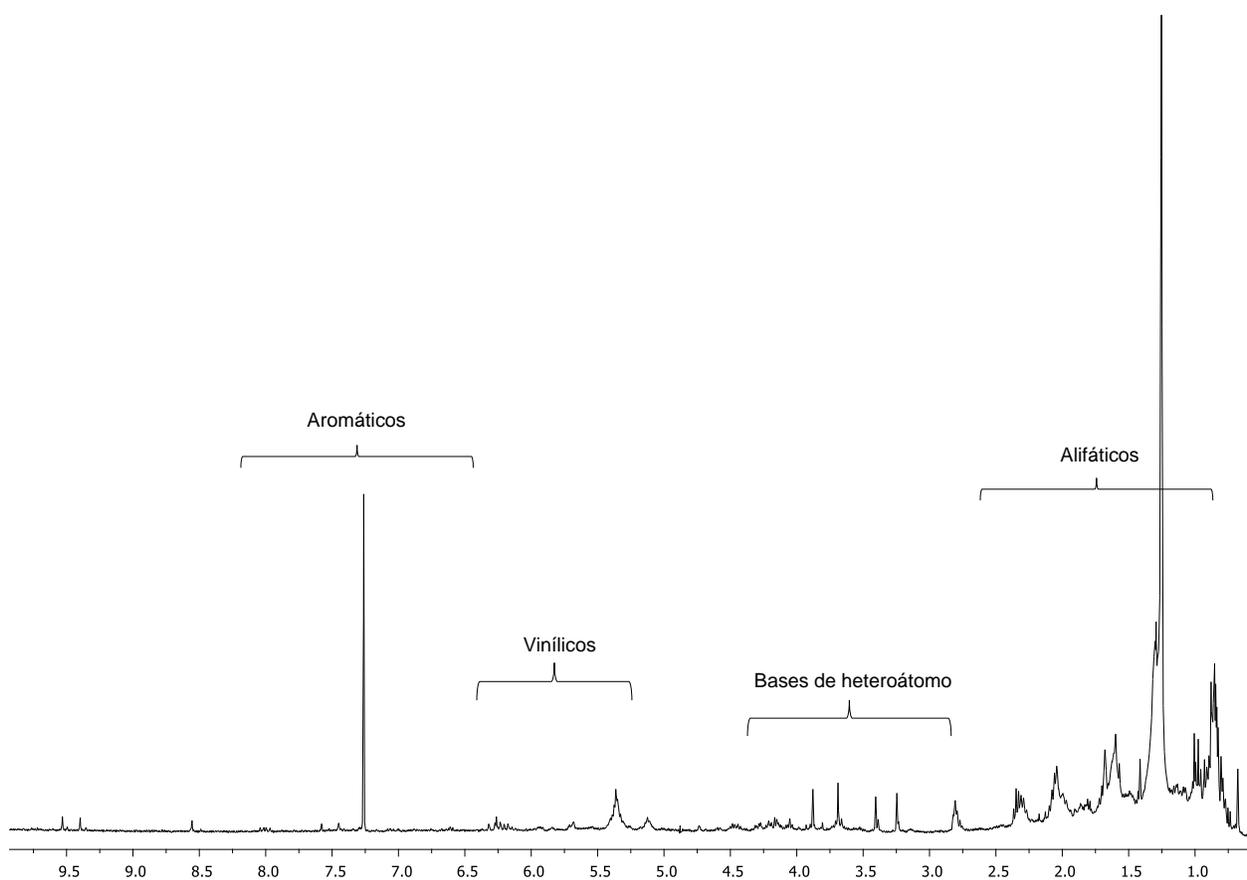


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en CDCl_3 del extracto de diclorometano total de las partes aéreas de *Salvia pineticola*.

6.2 Extracto total de metanol

En el espectro del extracto metanólico (Figura 17), se observaron señales en la región de 6.6 a 7.3 ppm correspondientes a hidrógenos aromáticos. Entre 4.7 y 3.2 ppm se encontraron las señales de hidrógenos base de heteroátomo. A frecuencia baja en 1.5-0.8 ppm se observaron señales de los metilos e hidrógenos alifáticos.

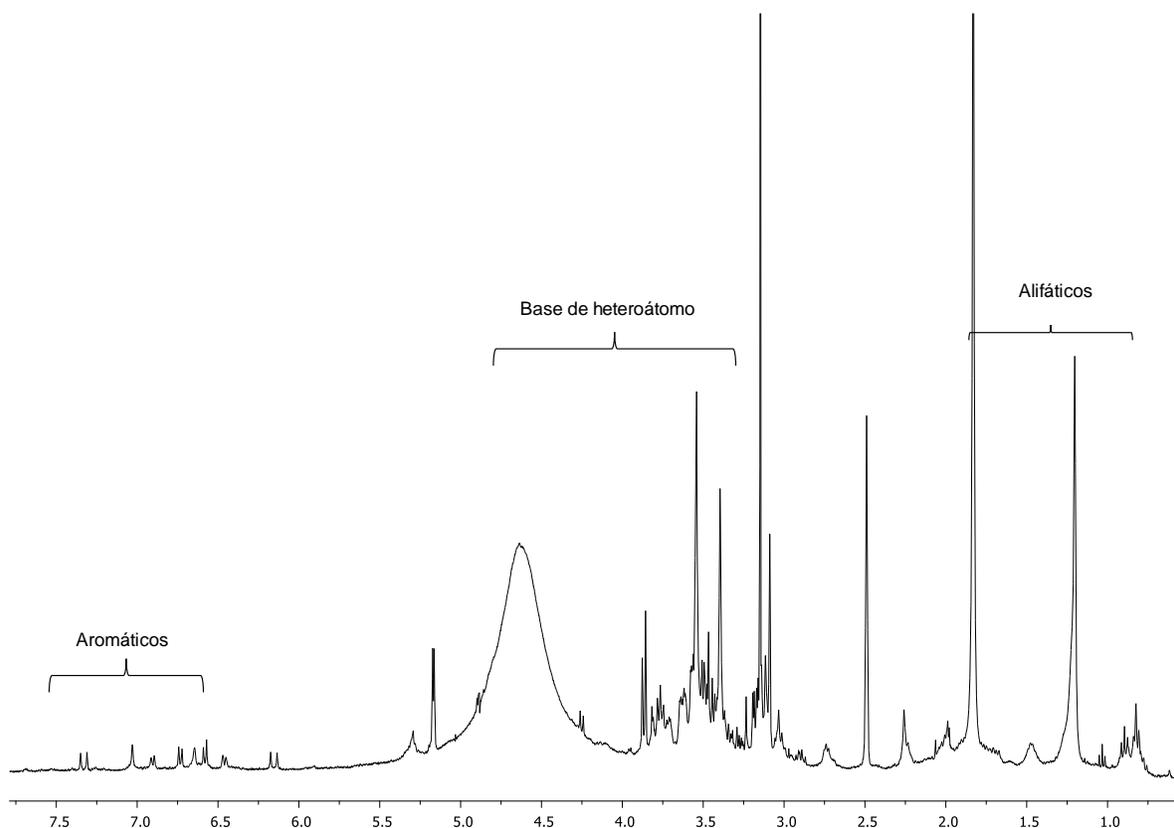


Figura 17. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz del extracto metanólico total de las partes aéreas de *Salvia pineticola*, en $\text{DMSO}_{\text{d}6}$.

6.3 Purificación del ácido ursólico

De las fracciones 5-6, polaridad 3:2 Hexanos-AcOEt del extracto de cloruro de metileno, se obtuvieron 0.80 g de una miel color oscuro; dicha miel se sometió a una recromatografía de la cual se obtuvieron 200 mg de un polvo blanquecino en

las fracciones 20 a 34 en la polaridad 7:3 hexanos-AcOEt; presentó un punto de fusión de 258-260 °C.

En su análisis por espectroscopia de infrarrojo (IR) (Figura 18) se observan bandas de estiramiento en 3463 cm^{-1} característica del grupo OH, en 2967 al 2866 cm^{-1} característica de C-H y en 1685 cm^{-1} la banda de adsorción correspondiente al C=O.

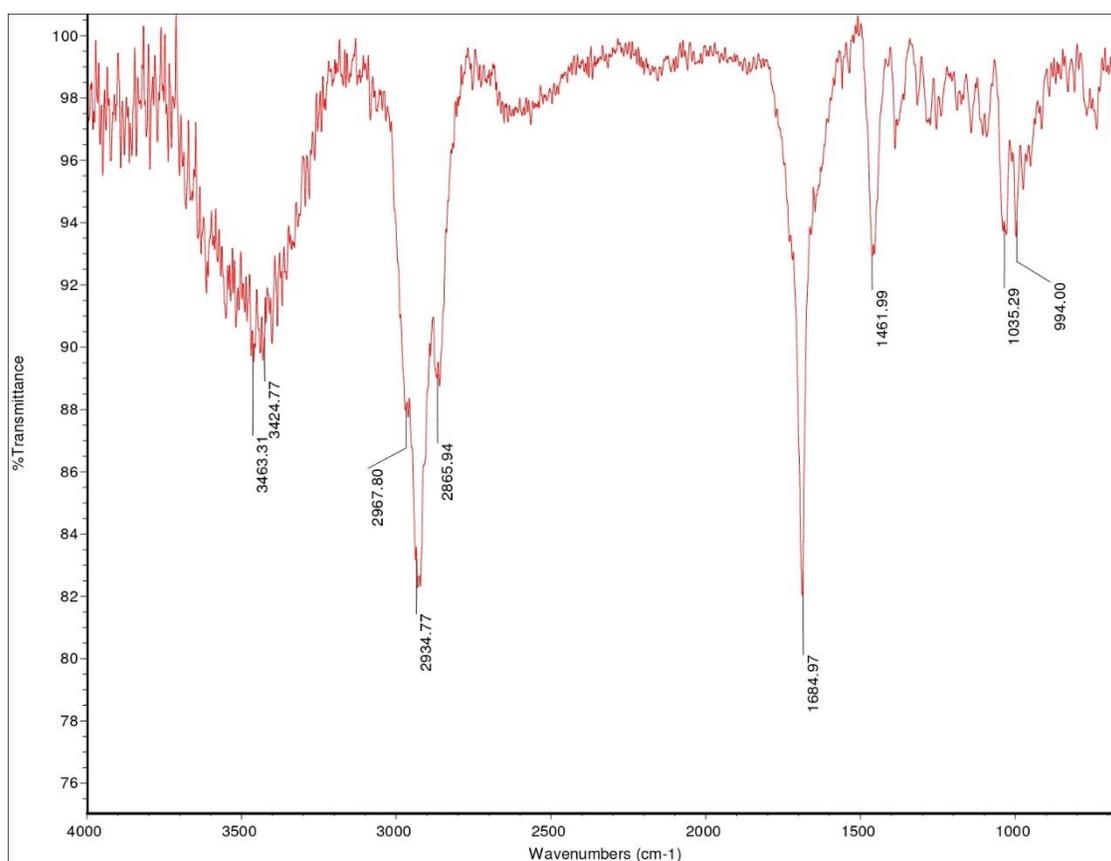


Figura 18. Espectro de IR del ácido ursólico (19).

En el espectro de RMN de ^1H (**Fig.19**) se observaron las señales correspondientes al ácido ursólico, la señal del hidrógeno vinílico en posición 12 se apreció en 5.13 ppm, el H-3 base de hidroxilo se observó en 3.02 ppm; además, en 2.10 ppm se encontró una señal doble que integra para un hidrógeno con una $J = 11.2$ Hz correspondiente al H-18. Por último, en frecuencias bajas de 1.04 a 0.67 ppm se encuentran las señales correspondientes a los metilos CH_3 -27, CH_3 -29, CH_3 -23, CH_3 -25, CH_3 -30, CH_3 -24 y CH_3 -26, respectivamente, los datos fueron comparados con los reportado por Rout et al., 2012.

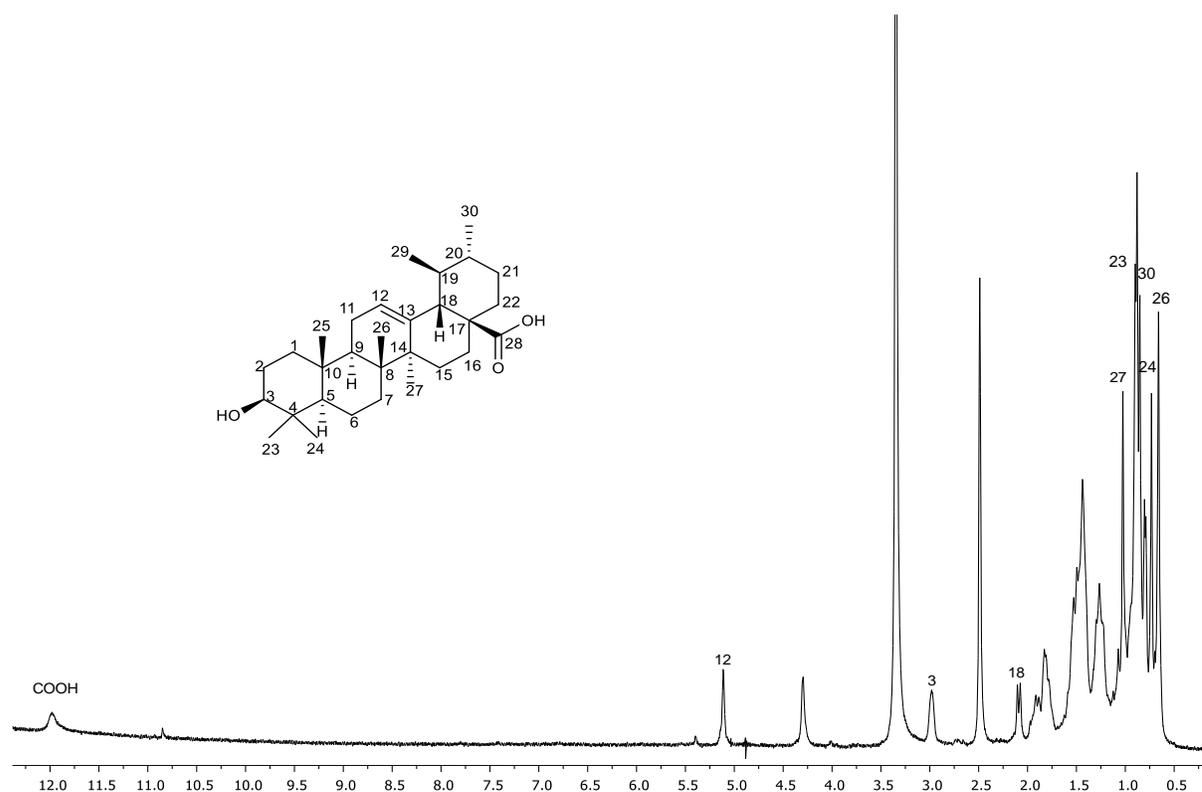


Figura 19. Espectro de RMN de ^1H a 400 MHz en DMSO-d_6 del ácido ursólico (**19**).

Mientras que en el espectro de RMN de ^{13}C (**Fig.20**) se observan en δ 178.7 la señal correspondiente al carbono del ácido carboxílico C-28; también se observaron dos señales de carbonos olefínicos C-13, C-12 en δ 138.6 y δ 125.1, respectivamente. En δ 77.3 se observó la señal del carbono C-3 base de alcohol. Finalmente, en δ 28.8, 23.8, 22.6, 17.5, 17.4, 16.6 y 15.7 se apreciaron las señales correspondientes a los metilos CH_3 -24, CH_3 -27, CH_3 -30, CH_3 -29, CH_3 -26, CH_3 -23 y

CH₃-25. Las señales restantes ubicadas entre δ 55 y δ 15 corresponden a los carbonos del esqueleto del triterpeno.

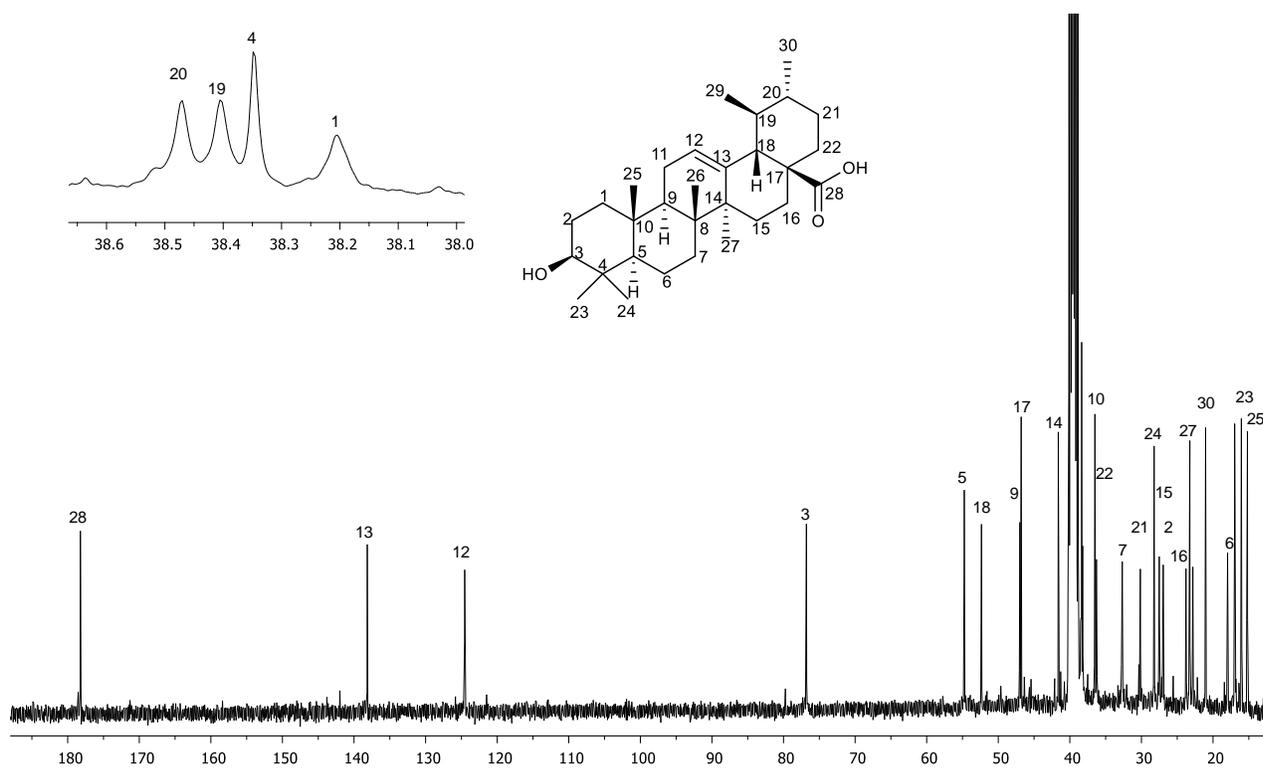
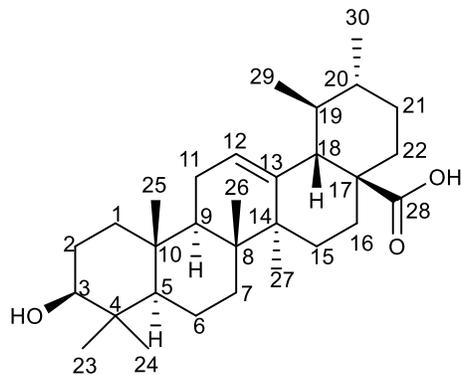


Figura 20. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en DMSO₆ del ácido ursólico (19).

Los datos anteriores de ¹³C se compararon con los reportados por *Ludeña et al.*, (2021) para el ácido ursólico (19) (**Tabla 1**).

Carbono	Experimental en δ	Ludeña <i>et al.</i> , 2021
1	38.7	38.7
2	27.5	27.5
3	77.3	77.3
4	38.8	38.8
5	55.3	55.3
6	18.5	18.15
7	33.2	33.2
8	39.6	39.6
9	47.6	47.5
10	37.1	37.0
11	23.3	23.3
12	125.1	125.0
13	138.6	138.6
14	42.1	42.1
15	28.0	28.0
16	24.3	24.3
17	47.3	47.3
18	52.9	52.8
19	38.9	38.9
20	39.0	39.0
21	30.7	30.7
22	36.8	36.8
23	16.6	16.5
24	28.8	28.7
25	15.7	15.7
26	17.4	17.4
27	23.8	23.7
28	178.7	178.7
29	17.5	17.5
30	21.6	21.6

Tabla 1. Desplazamientos químicos del ácido ursólico (**19**). RMN de ^{13}C a 100 MHz en DMSO_{d6} .



Ácido ursólico RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) δ 11.98 (1H, s), 5.13 (1H, sa, H-12), 4.31(1H,s OH), 3.02 (1H, sa, H-3), 2.10 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-18), 1.04 (3H, s, CH_3 -27), 0.90 (3H, d, $J = 7.1$ Hz- CH_3 -29), 0.89 (3H, s, CH_3 -23), 0.86 (3H, s, CH_3 -25), 0.81(3H, d, $J = 6.0$ Hz, CH_3 -30), 0.74 (3H, s, CH_3 -24), 0.67(3H, s, CH_3 -26).

Ácido ursólico RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) Ver Tabla 1.

7.CONCLUSIONES

Del estudio químico preliminar de los extractos de cloruro de metileno de las partes aéreas de *Salvia pineticola* se logró la separación e identificación del compuesto de tipo triterpeno pentacíclico, llamado ácido ursólico (**19**), como componente mayoritario. La presencia del ácido ursólico ha sido reportada en la familia Lamiaceae (19 géneros, 66 especies, 8 subespecies, 9 variedades y 5 híbridos) en diferentes especies del género *Salvia*, en un trabajo de revisión realizado de triterpenos aislados del género *Salvia* Topçu, G. (2006) reportó la presencia del ácido ursólico en aproximadamente 60 especies de salvias de diferentes regiones, entre las que se encuentran *S. officinalis*, nativa de la región mediterránea (Baricevic, 2001), Kalaycioğlu y colaboradores en 2018 encontraron la presencia de ácido ursólico en 14 especies de Salvias de Turquía; se descubrió también en *S. miltiorrhiza* de China (Steinkamp-Fenske et al., 2007). Adicionalmente en América, se aisló de *S. apiana* perteneciente al sur de California y en diversas especies mexicanas entre las que se encuentran *S. karwinskii*, *S. melissodora*, *S. anastomosans*, *S. mexicana*, *S. mexicana* var. *Mexicana*, *S. nicolsoniana*, *S. connivens*, *S. circinata*, *S. elegans*, *S. filipes*, *S. involucrata*, entre otras (Martínez-Gordillo et al., 2017; Frontana et al., 2011; Argumedo et al., 2003). Debido a las actividades demostradas en el 2022 se ha propuesto como una alternativa contra el Covid 19 por Al-kuraishy y colaboradores.

Del extracto metanólico no se logró aislar ningún metabolito secundario puro; sin embargo, dadas las señales analizadas en los espectros de RMN del extracto, se sugiere puede contener, compuestos que podrían ser de tipo fenólicos y glucósidos, por lo que merece la pena continuar con el estudio de este extracto. Finalmente cabe resaltar que es el primer estudio fitoquímico realizado a esta especie, aportando así a la quimiotaxonomía de esta planta.

8. REFERENCIAS

- Allué, J. (2003). Fisiología y Metabolismo los seres vivos. Cambios. *Natura Medicatrix*, 21 (6), 336-341.
- Al-kuraishy, H.M., Al-Gareeb, A.I., Negm, W.A., Alexiou, A. y El-Saber Batiha, G. (2022). Ursolic acid and SARS-CoV-2 infection: a new horizon and perspective. *Inflammopharmacology*. 30, 1493-1501.
- Argumedo Delira, R., Parra-Delgado, H., Ramírez Apan, M. T., Nieto Camacho, A., y Martínez-Vázquez, M. (2003). Isolation and chemical transformations of some anti-inflammatory triterpenes from *Salvia mexicana* L. var. *minor* Benth. *Revista de la Sociedad Química de México*, 47(2), 167-172.
- Assaggaf, H.M., Naceiri Mrabti, H., Rajab, B.S., Attar, A.A., Alyamani, R.A., Hamed, M., El Omari, N., El Menyiy, N., Hazzoumi, Z., Benali, T., Al-Mijalli, S.H., Zengin, G., AIDhaheri, Y., Eid, A.H., Bouyahya, A. (2022). Chemical analysis and investigation of biological effects of *Salvia officinalis* essential oils at three phenological stages. *Molecules*. 27(16), 5157.
- Ávalos, A y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2(3), 119-145.
- Baricevic, D., Sosa, S., Della Loggia, R., Tubaro, A., Simonovska, B., Krasna, A. y Zupancic, A. (2001). Topical anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L. leaves: the relevance of ursolic acid. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 125-132.
- Buckingham, J. (1996). *Dictionary of Natural Products*. Ed. Chapman & Hall.
- Bustos, C. (2011). Estudio biodirigido de los componentes antiinflamatorios de *Salvia thymoides* Benth. [Tesis para optar el grado de Maestra en Ciencias]. UNAM.
- Cahill, J.P. (2003). Ethnobotany of chia, *Salvia hispanica* (Lamiaceae). *Economic Botany* 57(4), 604-618.

- Calderón-Oropeza, M.A., Ramírez-Briones, E., Rodríguez-García, G., Salvador-Hernández, J.L., Bedolla-García, B.Y., Zamudio, S., Maldonado-Bonilla, L.D., del Río, R.E. y Gómez-Hurtado, M.A. (2021). Metabolic correlations of *Salvia dugesii* Fernald and *Salvia gesneriiflora* Lindl. & Paxton with native *Salvia* plants from four continents using essential oils compositions. *Records of Natural Products*. 4,312-323.
- Cano-Flores, A. (2013). Biotransformación de triterpenos con diferentes microorganismos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 44 (2), 7-16.
- Cely W. F., Matulevich, J. A. y Castrillón, W. F. (2014). Triterpenos y esteroides de *Salvia leucantha* (Lamiaceae) y evaluación de su capacidad antioxidante. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 10 (1), 69-79.
- Chen, X., Guo, J., Bao, J., Lu, J. y Wang, Y. (2014). The anticancer properties of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen): A systematic review. *Medicinal Research Review*, 34 (4), 768-794.
- Chomel, M., Guittonny-Larchevêque, M., Fernandez, C., Gallet, C., DesRochers, A., Paré, D., y Baldy, V. (2016). Plant secondary metabolites: a key driver of litter decomposition and soil nutrient cycling. *Journal of Ecology*, 104(6), 1527-1541.
- Christenhusz M. J. M., y Byng J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa*. 261 (3), 201-217.
- Cornejo Tenorio, G. y Ibarra Manríquez, G. (2011). Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, 1279-1296.
- Croteau, R., Kutchan, T.M. y Lewis, N.G. (2000). Productos naturales (metabolitos secundarios). *Bioquímica y Biología Molecular de Plantas*, 24, 1250-1319.
- Das, S. y Rosazza, J.P.N. (2006). Microbial and enzymatic transformations of flavonoids. *Journal of Natural Products*, 69(3), 499-508.
- Delgado, G. (2005). Los productos naturales orgánicos: su diversidad estructural y su origen químico. *La química*, 6-16.

- Epling (1941). Supplementary Notes on American Labiatae II. Bulletin of the Torrey Botanical Club, 68(8), 552-568.
- Epling, C. (1938). The Californian salvias. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 25, 95-188.
- Espejo, S. y Ramamoorthy, T. (1993). Revisión taxonómica de *Salvia* sección Sigmoideae (Lamiaceae). *Acta Botánica Mexicana*, 23, 65-102.
- Esquivel, B. (2017). Contribución al estudio químico sistemático del género *Salvia* (Lamiaceae) en México. [Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias]. UNAM.
- Fokialakis, N., Kalpoutzakis, E., Tekwani, L. B., Khan, S. I., Kobaisy, M., Skaltsounis, L. y Duke, S.O. (2007). Evaluation of the antimalarial and antileishmanial activity of plants from Greek island of Crete. *Journal of Natural Medicines*, 61, 38-45.
- Fragoso, I. (2011). Revisión taxonómica de la sección Membranaceae del género *Salvia* en México. [Tesis para obtener el título de químico farmacobiólogo]. UNAM.
- Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., Bianco, A. (2019). Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceuticals of Lamiaceae, Editor(s):Atta-ur-Rahman, *Studies in Natural Products Chemistry*, 62, 125-178.
- Frontana-Uribe, B.A., Escárcega-Bobadilla, M.V., Estrada-Reyes, R., Morales-Serna, J.A., Salmón, M. y Cárdenas J. (2011). A New languidulane diterpenoid from *Salvia mexicana* var. *mexicana*. *Molecules*, 16(10), 8866-8873.
- Georgiev, V., & Pavlov, A. (2017). *Salvia* Biotechnology. En V. Georgiev & A. Pavlov (Eds.), *Springer*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-73900-7>.
- Ghorbani, A. y Esmailizadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med.*, 7(4), 433-440.

- Gião, M.S., Gomes, S., Madureira, A. R., Faria, A., Pestana, P., Conceição C., Pintado, M., Azevedo I. y Malcata, F. X. (2012). Effect of in vitro digestion upon the antioxidant capacity of aqueous extracts of *Agrimonia eupatoria*, *Rubus idaeus*, *Salvia* sp. and *Satureja montana*. *Food Chemistry*, 31, 761-767.
- Giroud, C., Felber, F., Augsburger, M., Horisberger, B., Riier, L. y Mangin P. (2000). *Salvia divinorum*: an hallucinogenic mint which might become a new recreational drug in Switzerland. *Forensic Sci Int*, 112(2-3), 143-150.
- González-Gallegos, J.G., Bedolla-García, B.Y., Cornejo-Tenorio, G., Fernández-Alonso, J.L., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M del R., Harley, R.M., Klitgaard, B., Martínez-Gordillo, M.J., Wood, J.R.I., Zamudio, S., Zona, S. y Xifreda, C.C. (2020). Richness and distribution of *Salvia* subg. *Calosphace* (Lamiaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 181, 831-856.
- Gutiérrez, R. y Estévez, B. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el s. XXI. *Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 103, 409-419.
- Hafez, S., Firuzi, O., Asadollahi, M., Stuppner, H., Alilou, M. y Reza, A. (2021). Dammarane-type triterpenoid saponins from *Salvia russellii* Benth. *Phytochemistry*, 184, 112653.
- Hamidpour, M., Hamidpour, R., Hamidpour, S., y Shahlari, M. (2014). Chemistry, pharmacology, and medicinal property of Sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, dupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4(2), 82-88.
- Hashemi, S., Seradj, H., Kiani, R., Jassbi, A.R. y Erfani, N. (2022). Salvurmin A and salvurmin B, two ursane triterpenoids of *Salvia urmiensis* induce apoptosis and cell cycle arrest in human lung carcinoma cells. *Pharmaceutical Sciences*, en prensa. <https://doi.org/10.34172/ps.2022.32>

- Hedge, C. (1992). A global survey of the biogeography of the Labiatae. *Advances in Labiatae Science, Royal Botanic Gardens*. 7-17.
- Heinrich, M. (1992). Economic botany of American Labiatae. *Advances in Labiatae Science. Royal Botanic Gardens*, 475-488.
- Jenks, A. y Kim S. (2013). Medicinal plant complexes of *Salvia* subgenus *Calosphace*: an ethnobotanical study of new world sages. *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 214-224.
- Kalaycıoğlu, Z., Uzaşçı, S., Dirmenci, T. y Erim, F. B. (2018). α -Glucosidase enzyme inhibitory effects and ursolic and oleanolic acid contents of fourteen Anatolian *Salvia* species. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 155, 284-287.
- Kintzios, S. (2000). *Sage: the genus Salvia*. Amsterdam: Harwood Academic Publishers.
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Ed. Omega.
- Lawrence, B. (1992). Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. *Royal Botanic Gardens*, 399-436.
- Leyva, E., Navarro, G., Loredó, S y Santos, M. (2011). Biosíntesis y actividad biológica de fitoestrógenos y fitoesteroides. *Sociedad Química de México*, 5 (2,3), 35-43.
- Llorente-Bousquets, J. y Ocegueda, S. (2008). *Estado del conocimiento de la biota*. Capital natural de México. Conocimiento actual de la biodiversidad.
- Llurba-Montesino, N. y Schmidt, T. J. (2018). *Salvia* species as sources of natural products with antiprotozoal activity. *Internacional Journal of Molecular Sciences*, 19, 264.

- Ludeña-Human, M. A., Tupa-Quispe A.L., Huamán-Quispe, R.I., Serrano-Flores, C.A. y Robles-Caycho, J. (2021). A simple method to obtain ursolic acid. *Results in Chemistry*, 3, 100144, 1-5.
- Lustre-Sánchez, H. (2022). Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. *Revista Digital Universitaria*, 23(2), 1-8.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (2018). *Fitoquímica Orgánica*. Universidad Central de Venezuela.
- Martínez, A. (2020). *Química de Productos Naturales*. Universidad de Antioquia.
- Martínez-Gordillo, M. J., Bedolla-García, B., Cornejo-Tenorio, G., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M. del R., González-Gallegos, J. G., Lara-Cabrera, S. I., y Zamudio, S. (2017). Lamiaceae de México. *Botanical Sciences*, 95 (4), 780-806.
- Martínez-Gordillo, M.J., Fragoso-Martínez, I., García-Peña, M y Montiel, O. (2013). Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84, 30-86.
- Martínez-Gordillo, M.J. y Valencia-Ávalos, S. (2009). Una nueva especie de *Hypernia* (Lamiaceae) de México. *Brittonia*, 61, 67-70.
- Máthé, I., Máthé, A., Hohmann, J. y Janicsák, G. (2010). Volatile and some nonvolatile chemical constituents of Mediterranean *Salvia* species beyond their native area. *Israel Journal of Plant Sciences*, 58, 273-277.
- Medina-Iñiguez, J. (2006). Aislamiento de metabolitos secundarios de la parte aérea de *Salvia clevelandii* y su actividad antitumoral. [Tesis que para obtener el título de Químico Farmacobiólogo]. Universidad Autónoma de Baja California.
- Newman, D.J. y Cragg, G.M. (2020). Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, 83(3), 770-803.

- Ortega, A., Arévalo, X., Ortiz, N., Toscano, R. A. y Bautista, E. (2017). Diterpenos adicionales de *Salvia polystachya*. *Química de Productos Naturales*. 133-134.
- Ortega, A., Blount, J. F., y Manchand, P. S. (1982). Salvinorin, a new *trans*-neoclerodane diterpene from *Salvia divinorum* (Labiatae). *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2505-2508.
- Ortega, T., Carretero, M. y Villar, A. (2002). *Salvia*. Fitoquímica, farmacología y terapéutica. *Química de Productos Naturales*, 16(7), 59-64.
- Ortiz-Mendoza, N., Aguirre-Hernández, E., Fragoso-Martínez, I., González-Trujano, M.E., Basurto-Peña, F.A., Martínez-Gordillo, M.J. (2022). A review on the ethnopharmacology and phytochemistry of the neotropical sages (*Salvia* Subgenus *Calosphace*; Lamiaceae) emphasizing mexican species. *Frontiers in Pharmacology*, 13,867892, 1-20.
- Pferschy-Wenzig, E. M., Kunert, O., Presser, A. y Bauer, R. (2008). In vitro antiinflammatory activity of Larch (*Larix decidua* L.) sawdust. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 11688-11693.
- Pietra, F. (2002), *Biodiversity and Natural Product Diversity*. Ed. Pergamont.
- Pool, A. (2001). *Salvia* (Lamiaceae). In Flora de Nicaragua, W. D. Stevens, C. U. Ulloa, A. Pool y O. M. Montiel (eds.). *Missouri Botanical Garden Press, St. Louis*, 85, 1179–1186.
- Prieto, S., Garrido, G., Gonzáles, J y Molina, J. (2004). Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 35(1), 19-36.
- Qiang, Z., Ye, Z., Hauck, C., Murphy, P.A., McCoy, J., Widrlechner, M.P., Reddy, M.B. y Hendrich, S. (2011). Permeability of rosmarinic acid in *Prunella vulgaris* and ursolic acid in *Salvia officinalis* extracts across Caco-2 cell monolayers. *Journal of Ethnopharmacology*, 137, 1107-1112.
- Ramamoorthy, T. P. (2001). *Salvia* L. In Flora fanerogámica del Valle de México, G. Calderón de Rzedowski y J. Rzedowski (eds.). *Comisión Nacional para el*

Conocimiento y Uso de la Biodiversidad/ Instituto de Ecología, Pátzcuaro, Michoacán, 632–644.

- Ramamoorthy, T. P. y Elliott, M. (1998). Lamiaceae de México: diversidad, distribución, endemismo y evolución. Instituto de Biología, UNAM, México, D. F., 501-526.
- Ramamoorthy, T. P. y Lorence, D. H. (1987). Species vicariance in the Mexican flora and description of a new species of *Salvia* (Lamiaceae). *Bulletin du Musée National d' Histoire Naturelle section B*, 9(2), 167-175.
- Reid, W., Laird, S., Meyer, C., Gámez, R., Sittenfeld, A., Janzen, D., Gollin, M. y Juma, C. (Foreword, L). (1993). *Biodiversity Prospecting: Using Genetic Resources for Sustainable Development*. World Resources Institute.
- Rivera-Núñez, D. y Obón de Castro C. (1992). The ethnobotany of old world Labiatae. In: Harley RM, Reynolds T, eds. *Advances in Labiatae Science*. Kew: *Royal Botanic Gardens*, 455-473.
- Rout, K.K., Singh, R.K., Barik, D.P., y Mishra, S.K. (2012). Thin-layer chromatographic separation and validated HPTLC method for quantification of ursolic acid in various *Ocimum* species. *Journal of Food and Drug Analysis*, 20(4), 865-871.
- Samoylenko, V., Dunbar, D.C., Gafur, M.D. Abdul., Khan, S.I., Ross, A.S., Mossa, J.S., El-Ferally, F.S., Tekwani, B.L., Bosselaers, J. y Muhammad, I. (2008). Antiparasitic, nematocidal and antifouling constituents from *Juniperus berries*. *Phytotherapy Research*, 22, 1570-1576.
- Santos-Gomes, P.C. y Fernandes-Ferreira M. (2001). Organ and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), 2908-2916.
- Sepúlveda, G., Porta, H y Rocha, M. (2004). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355-363.

- Shilpa, K., Varun, K. y Lakshmi, B.S. (2010). An alternate method of natural drug production: Eliciting secondary metabolite production using plant cell culture. *Journal of Plant Sciences*, 5 (3), 222-247.
- Steinkamp-Fenske, K., Bollinger, L., Völler, N., Xu, H., Yao, Y., Bauer, R., Förstermann, U. y Li, H. (2007). Ursolic acid from the Chinese herb Danshen (*Salvia miltiorrhiza* L.) upregulates eNOS and downregulates Nox4 expression in human endothelial cells. *Atherosclerosis*, 195(1), e104-e111.
- Taiz I., Lincoln L. y Geiger E. (2006). *Secondary Metabolites and Plant defense*. Plant Physiology, Fourth Edition.
- Tavan, M., Azizi, A., Sarikhani, H., Mirjalili, M.H. y Rigano, M.M. (2022) Induced polyploidy and broad variation in phytochemical traits and altered gene expression in *Salvia multicaulis*. *Scientia Horticulturae*, 291,110592.
- Topçu, G. (2006). Bioactive Triterpenoids from *Salvia* Species. *Journal of Natural Products*, 69 (3), 482-487.
- Ulubelen, A. (1997). Norditerpenoids and diterpenoids from *Salvia multicaulis* with antituberculous activity. *Journal of Natural Products*, 60 (12), 1275-1280.
- Usano-Aleman, J. (2012). Estudio del efecto de los factores ambientales y agronómicos sobre la producción de los aceites esenciales de *Salvia lavandulifolia* VAHL. [Memoria para optar el grado de Doctor]. Universidad Complutense de Madrid.
- Valdes L. J. (1994). *Salvia divinorum* and the unique diterpene hallucinogen, Salvinorin (divinorin) A. *J Psychoactive Drugs*, 26(3), 277-83.
- Valares, C. (2011). *Variación del Metabolismo Secundario en Plantas Debida al Genotipo y al Ambiente*. [Tesis doctoral, Universidad de Extremadura]. Repositorio institucional de la Universidad de Extremadura. <http://hdl.handle.net/10662/477>.
- Valencia, C. (1995). *Fundamentos de Fitoquímica*. Ed. Trillas.

- Villaseñor, J. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87 (3), 559-902.
- Villaseñor, J. (2003). Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia*, 28 (3), 160-167.
- Villaseñor, J. y Ortiz, E. (2014). Biodiversidad de las plantas con flores (División Magnoliophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 134-142.
- Walker, J. B. y Sytsma. K. J. (2007). Staminal evolution in the genus *Salvia* (Lamiaceae): Molecular phylogenetic evidence for multiple origins of the staminal lever. *Annals of Botany*, 100, 375–391.
- Walker, J. B. Sytsma K. J., Treutlein, J. y Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91 (7), 1115-1125.
- Wang, A., Zhang F., Huang, F., Yin, X., Li, H., Wang, Q., Zeng, Z. y Xie, T. (2010). New progress in biocatalysis and biotransformation of flavonoids. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4, 847-856.
- Wood, J. R. I. y Harley, R. M. (1989). The genus *Salvia* (Labiatae) in Colombia. *Kew Bulletin*, 44, 211-278.
- Zare, S., Mirkhani, H., Firuzi, O., Moheimanian, N., Asadollahi, M., Pirhadi, S., Chandran, J., Schneider, B. y Reza, A. (2020). Antidiabetic and cytotoxic polyhydroxylated oleanane and ursane type triterpenoids from *Salvia grossheimii*. *Bioorganic Chemistry*, 104, 104297.