



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ACETILACIÓN DE LOS
ALCOHOLES DEL 3 β ,20,25-TRIHIDROXILUPANO DE *Salvia dugesii***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACOBIOLOGA

PRESENTA:

MONSERRAT GUADALUPE LUCIO BEJAR

DIRECTORAS:

D.C. ROSA ELVA NORMA DEL RÍO TORRES

M.C. ODESSA MAGALLÓN CHÁVEZ

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE ESQUEMAS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	iv
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRACT.....	vii
INTRODUCCIÓN	1
TERPENOS.....	1
TRITERPENOS.....	1
PRODUCTOS HIDROXILADOS Y ACETILADOS DE IMPORTANCIA	3
BETAMETASONA (1).....	3
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (2)	4
TAXOL® (3).....	4
ANTECEDENTES.....	5
ALCOHOLES	5
CLASIFICACIÓN DE ALCOHOLES	5
REACTIVIDAD DE ALCOHOLES	6
REACCIÓN DE ESTERIFICACIÓN DE UN ALCOHOL	6
EJEMPLO DE REACCIONES DE ACETILACIÓN.....	7
FAMILIA LAMIACEAE.....	8
GÉNERO <i>Salvia</i>	8
<i>Salvia dugesii</i> Fernald.....	9
ESTUDIO QUÍMICO DEL GÉNERO <i>Salvia</i>	10
JUSTIFICACIÓN	13
OBJETIVOS	14
OBJETIVO GENERAL	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
PARTE EXPERIMENTAL.....	15

MATERIA VEGETAL.....	15
OBTENCIÓN DEL $3\beta,20,25$-TRIHIDROXILUPANO (17).....	15
OBTENCIÓN DE $3\beta,25$ -DIACETOXI-20-HIDROXILUPANO (18).....)	16
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	17
OBTENCIÓN DEL $3\beta,20,25$-TRIHIDROXILUPANO (17).....	18
ACETILACIÓN DEL $3\beta,20,25$-TRIHIDROXILUPANO (17).....	21
CONCLUSIÓN	26
BIBLIOGRAFÍA.....	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Betametasona (1).....	3
Figura 2. Ácido acetilsalicílico (2).....	4
Figura 3. Taxol® (3).....	4
Figura 4. Diferentes tipos de alcoholes (4-6).....	5
Figura 5. Clasificación de alcoholes	5
Figura 6. Familia Lamiaceae.....	8
Figura 7. Flor característica del género <i>Salvia</i>	9
Figura 8. <i>Salvia dugesii</i>	9
Figura 9. Salvinorina A (7).....	10
Figura 10. Estructura de Salvigenólida (8).....	10
Figura 11. <i>Neo-clerodanos</i> aislados de <i>Salvia madrensis</i> (9-11).....	11
Figura 12. Salvinorina B (12).....	11
Figura 13. Triterpenos aislados de <i>Salvia deserta</i> (13-14).....	12
Figura 14. Triterpenos aislados de <i>Salvia buchananii</i> (15-16).....	12
Figura 15. Espectro de RMN de ¹ H del extracto hexánico de <i>Salvia dugesii</i>	17
Figura 16. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz en CDCl ₃ del 3β,20,25-trihidroxilupano (17).....	19
Figura 17. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz en CDCl ₃ del 3β,20,25-trihidroxilupano (17).....	20
Figura 18. Espectro de RMN de ¹ H a 400 MHz en CDCl ₃ del 3β,25-diacetoxi-20-hidroxilupano (18).....	22
Figura 19. Espectro de RMN de ¹³ C a 100 MHz en CDCl ₃ del 3β,25-diacetoxi-20-hidroxilupano (18).....	23

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Ruta biosintética para la generación de triterpenos.....	2
Esquema 2. Reacción general de esterificación.....	6
Esquema 3. Reacción general de acetilación de alcoholes.....	6
Esquema 4. Reacción de acetilación del etanol.....	7
Esquema 5. Reacción de acetilación del ácido salicílico.....	7
Esquema 6. Acetilación del 3 β ,20,25-trihidroxiupano con anhídrido acético y piridina...	21

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de condiciones de reacción.....	22
Tabla 2. Comparación de desplazamientos de RMN de ¹³ C en CDCl ₃	25

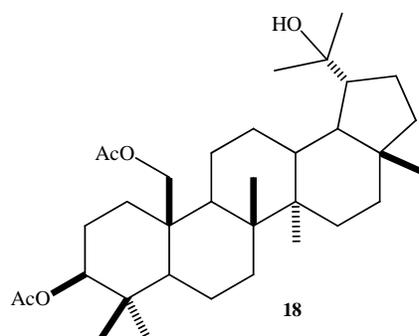
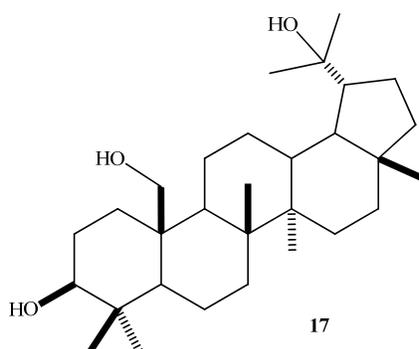
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AcOEt	Acetato de etilo
AAS	Ácido acetilsalicílico
cm	Centímetro
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
dd	Doble de dobles
°C	Grados Celsius
g	Gramo
Hz	Hertz
kg	Kilogramo
m	Metro
mg	Miligramos
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia magnética nuclear
¹ H	Hidrógeno
¹³ C	Carbono 13
s	Simple

RESUMEN

El hidroxilo es el grupo funcional de los alcoholes (OH) y es uno de los más versátiles en la química orgánica, ya que a través de ellos se pueden generar nuevos grupos funcionales. De la misma manera se sabe que dependiendo de su naturaleza presentan diferente reactividad ante un mismo tipo de reacción. En el presente trabajo se exploró la reactividad de los tres tipos de alcoholes presentes en el 3 β ,20,25-trihidroxilupano (**17**) aislado de *Salvia dugesii*.

La esterificación del 3 β ,20,25-trihidroxilupano (**17**) modificando las condiciones de reacción de acetilación, permitieron la obtención del compuesto 3 β ,25-diacetoxi-20-hidroxilupano (**18**).

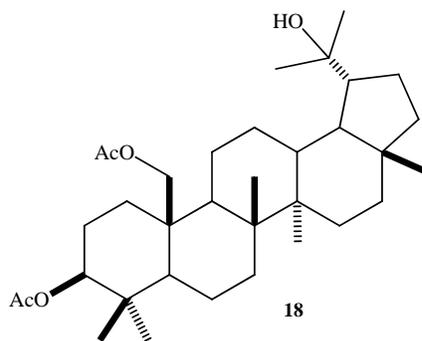
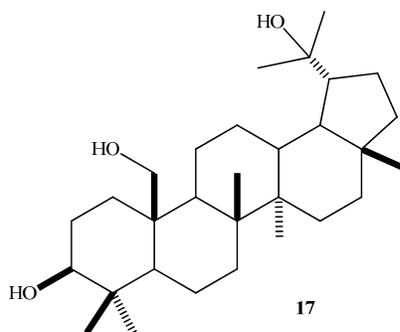


Palabras clave: *Salvia dugesii*, esterificación, triterpeno, reactividad, acetilación.

ABSTRACT

The alcohol (OH) functional group is one of the most versatile moiety in organic chemistry, since through them new functional groups can be generated. In the same way it is well known that OH reactivity depends on their nature. In the present work the reactivity of the three types of alcohols present in $3\beta,20,25$ -trihydroxylupane (**17**) isolated from *Salvia dugesii* is explored.

The esterification of $3\beta,20,25$ -trihydroxylupane (**17**) modifying the acetylation reaction conditions, allowing the $3\beta,25$ -diacetoxy-20-hydroxylupane (**18**) derivative.



Keywords: *Salvia dugesii*, esterification, triterpene, reactivity, acetylation

INTRODUCCIÓN

TERPENOS

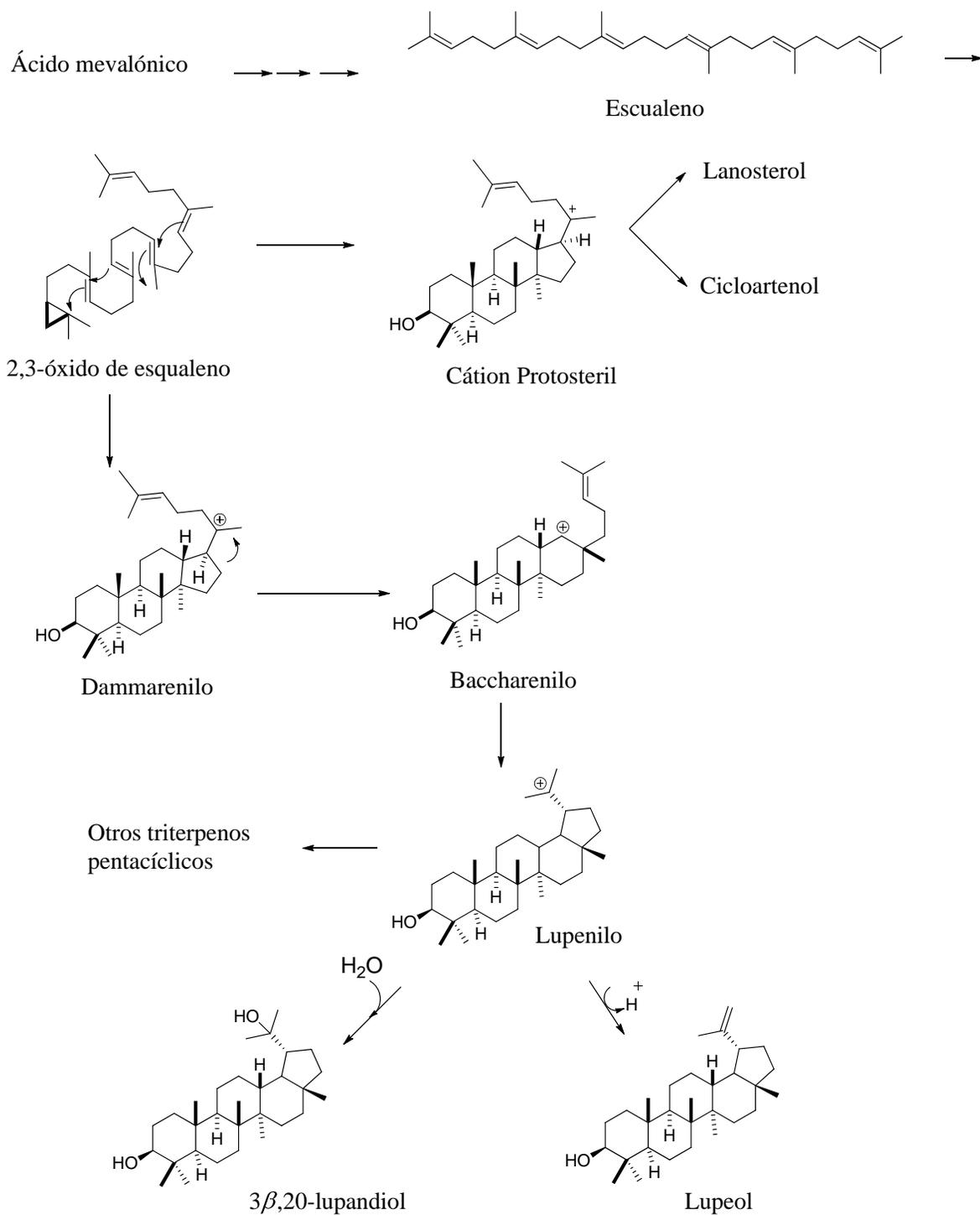
Los terpenos o isoprenoides constituyen unos de los grupos más grandes de metabolitos secundarios presentes en el reino vegetal y comprenden variadas y diferentes estructuras. Los isoprenoides se sintetizan a partir de unidades de isopreno, de acuerdo al número de moléculas de éstas, pueden ser clasificados en hemiterpenos (C₅), monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), triterpenos (C₃₀).¹

TRITERPENOS

Los triterpenos son terpenos de 30 carbonos, derivados de la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas formada por unidades de isopreno. Son uno de los grupos más numerosos y diversos de productos naturales. Son moléculas complejas que, en su mayor parte, están fuera del alcance de la síntesis química total. Los triterpenos simples y conjugados tienen una amplia gama de aplicaciones en los sectores de alimentos, salud y biotecnología industrial.²

El escualeno es un triterpeno lineal sintetizado a partir de la ruta del ácido mevalónico es el mayor constituyente del aceite de hígado de tiburón y el precursor de todos los triterpenos cíclicos.² La ciclación, rearreglo y desprotonación del escualeno conllevan a la formación del 2,3-óxido de escualeno, el cual adopta las posiciones adecuadas en las superficies enzimática para dar lugar a diferentes cationes.³ Mediante una serie de migraciones Wagner-Meerwein concertadas el óxido de escualeno genera el catión protosteril el cual es precursor del cicloartenol y lanosterol.⁴

Por otro lado, el óxido de escualeno también se pliega a otro tipo de enzima ciclasa formando el catión dammarenilo con características estereoquímicas distintas al catión protosteril. La expansión de uno de los anillos del catión dammarenilo produce al catión baccharenilo pasando de un carbocatión terciario a uno secundario. La ciclación de éste catión permite la obtención del catión lupenilo. El cual en condiciones acuosas forma el 3 β ,20-lupandiol y si es desprotonado genera el lupeol (Esquema 1).⁴



Esquema 1.- Ruta biosintética para la generación de triterpenos.

PRODUCTOS HIDROXILADOS Y ACETILADOS DE IMPORTANCIA

Los productos naturales son metabolitos secundarios de plantas, hongos y organismos marinos, poseen actividades biológicas por lo que se han utilizado en terapéutica o tomado como modelo para realizar modificaciones estructurales específicas y generar nuevos fármacos.⁵ El gran tamaño y la compleja estructura de los productos naturales facilitan que éstos puedan interactuar con procesos biológicos complejos. Un importante problema en la utilización de productos naturales para el desarrollo de nuevos fármacos es el agotamiento de las plantas. Por lo que la síntesis orgánica sigue siendo opción para la síntesis de muchos compuestos.⁶

Los grupos hidroxilo y acetilo son una constante en la estructura química de fármacos importantes para la industria, como los descritos a continuación, los cuales son productos naturales (como el taxol), semisintéticos (betametasona) y sintéticos (ácido acetilsalicílico).

BETAMETASONA (1)

La betametasona (1) y sus derivados son utilizados como agentes inmunosupresores y antiinflamatorios ya que tiene actividad mineralcorticoide. La betametasona (1) reduce la inflamación al inhibir la liberación de las hidrolasas ácidas de los leucocitos, previniendo la acumulación de macrófagos en los lugares infectados, interfiriendo con la adhesión leucocitaria a las paredes de los capilares y reduciendo la permeabilidad de la membrana de los capilares, lo que ocasiona una reducción del edema (Figura 1).⁷

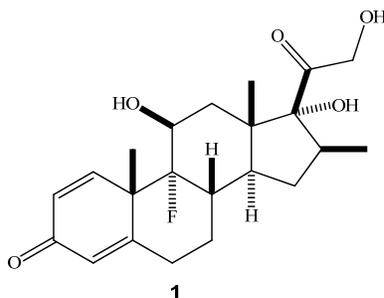
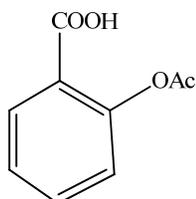


Figura 1. Betametasona (1)

ÁCIDO ACETILSALICÍLICO (2)

El ácido acetilsalicílico (2) o AAS, conocido comercialmente como aspirina, es un fármaco de la familia de los salicilatos. Se utiliza como medicamento para tratar el dolor, la fiebre y la inflamación, debido a su efecto inhibitorio, no selectivo, de la ciclooxigenasa (Figura 2).⁸

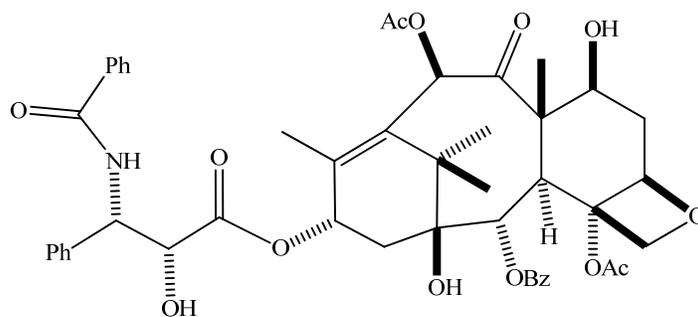


2

Figura 2. Ácido acetilsalicílico (2)

TAXOL® (3)

También llamado paclitaxel pertenece a una clase de agentes quimioterapéuticos llamados taxanos, fue aislado de la corteza del tejo, *Taxus brevifolia*, y muestra una actividad antitumoral frente a diversos tipos de tumores.⁹ Se utiliza en la clínica para tratar varios tipos de cáncer, incluyendo cáncer de mama y cánceres cervicales (Figura 3).¹⁰



3

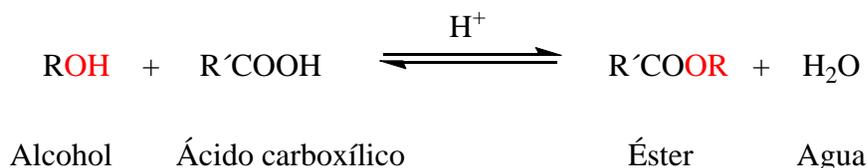
Figura 3. Taxol® (3)

REACTIVIDAD DE ALCOHOLES

Los alcoholes son las materias de partida más versátiles para la preparación de varios grupos funcionales. Por ejemplo, a los halogenuros de alquilo, éteres, alquenos, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres.¹³

REACCIÓN DE ESTERIFICACIÓN DE UN ALCOHOL

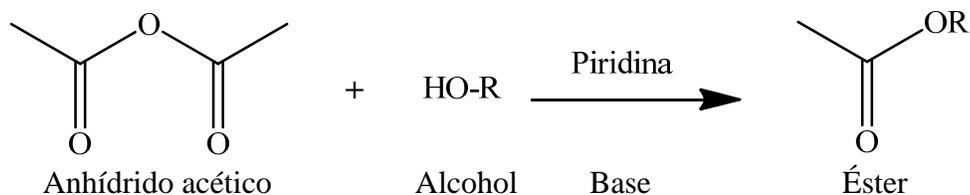
La condensación de un alcohol y un ácido carboxílico, catalizada en medio ácido es conocida como esterificación de Fischer, los productos de esta reacción corresponden a un éster y agua; esta es una reacción reversible. (Esquema 2).¹³



Esquema 2. Reacción general de esterificación

La reacción de acetilación es la esterificación más comúnmente realizada, un alcohol se hace reaccionar con cloruro de acetilo o anhídrido acético en presencia de piridina como catalizador. Cuando la reacción no se lleva a cabo con una rapidez adecuada, se hace uso de 4-(dimetilamino)piridina para acelerar el proceso.¹³

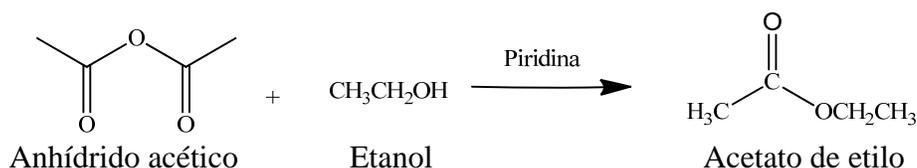
La reacción está indicada para alcoholes primarios y secundarios, aunque con estos últimos en ocasiones tiene lugar con dificultad; con los alcoholes terciarios raramente procede en estas condiciones (Esquema 3).¹¹



Esquema 3. Reacción general de acetilación de alcoholes

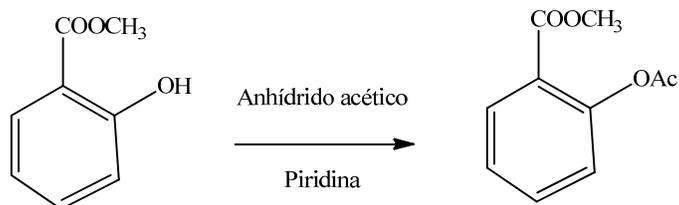
EJEMPLO DE REACCIONES DE ACETILACIÓN

Una de las aplicaciones de la acetilación de alcoholes, consiste en disminuir la polaridad que estos grupos presentan, con el objeto de facilitar su separación cromatográfica o favorecer su solubilidad en medios de reacción determinadas. En el esquema 4, se muestra la reacción de acetilación del etanol, para la obtención del acetato de etilo, empleando piridina como catalizador y anhídrido acético como agente acilante.¹¹



Esquema 4. Reacción de acetilación del etanol

La acetilación de grupos fenólicos también es posible que se lleve a cabo en las condiciones de anhídrido acético y piridina (Esquema 5).



Esquema 5. Reacción de acetilación

FAMILIA LAMIACEAE

La familia Lamiaceae es muy diversa en México y se distribuye con preferencia en las zonas templadas, incluye 236 géneros y 7173 especies, es una de las más diversas en el país, tiene importancia económica en varias partes del mundo, ya que muchas de sus especies se usan como condimentos (*Origanum*, *Thymus*, *Mentha*), para obtener aceites esenciales (*Lavandula*, *Pogostemon*, *Salvia*) y/o como ornamentales (*Coleus*, *Salvia*, *Scutellaria*). Son especies arbustivas o herbáceas, son plantas anuales o perennes, sus tallos son cuadrangulares, sus hojas son simples, opuestas o verticiladas, flores tetracíclicas.¹⁴



Figura 6. Familia Lamiaceae (Hermann Adolph Koehler)

GÉNERO *Salvia*

Salvia del latín *salvus*, salvo, intacto, seguro, refiriéndose al valor medicinal de estas plantas aporta sustancias antioxidantes, antiinflamatorias, son beneficiosas para el cerebro y para trastornos de la piel. Es el género más diverso de la familia Lamiaceae, cerca de 1000 especies distribuidas alrededor del mundo. Se divide en cuatro subgéneros: *Calosphace*, *Leonia*, *Salvia* y *Sclarea*. Son arbustos, sufrútices, hierbas perennes o anuales, a menudo aromáticas, hojas simples, opuestas, en ocasiones verticiladas.¹⁵

Los metabolitos secundarios producidos por plantas de *Salvia*, incluye monoterpenos, diterpenos principalmente abietanos y clerodanos, sesquiterpenos, triterpenos, flavonoides y polifenoles.¹⁶



Figura 7. Flor característica del género *Salvia dugesii* (Eva Bouzon Galizia)

***Salvia dugesii* Fernald**

Plantas arbustivas, de 0.5-2 m de alto; tallos ramificados, 1-3.5 cm de ancho, ápice agudo a obtuso, base truncada, redondeada, con 6-12 flores, cáliz tubular, corola azul a morada.¹⁵

Distribución: Aguascalientes, Durango, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Querétaro. Altitud 840 a 2400 m. Floración de marzo a diciembre.¹⁵



Figura 8. *Salvia dugesii*

ESTUDIO QUÍMICO DEL GÉNERO *Salvia*

Los estudios químicos del género *Salvia*, son muy diversos. Del extracto de acetonitrilo de hojas, tallos, raíces de *Salvia divinorum* Epling & Játiva, aislaron un compuesto llamado Salvinorina A (7) el cual mostró efectos biológicos como antiinflamatorio, antidepresivo y alucinógeno (Figura 9).¹⁷

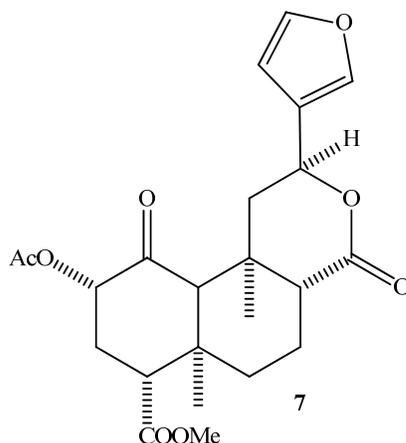


Figura 9. Salvinorina A (7)

De la parte aérea del extracto de acetona de *Salvia fulgens*, aislaron un diterpeno tipo *neo*-clerodano reordenado llamado Salvigenólida (8) el cual presentó actividad antitumoral y anti fúngica (Figura 10).¹⁸

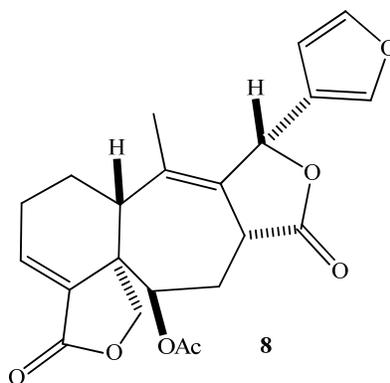


Figura 10. Salvigenólida (8)

Diterpenos de tipo *neo-clerodanos* fueron aislados del extracto con acetona de las partes aéreas de *Salvia madrensis* (**9-11**), a los cuales llamaron; salvimadrensina (**9**), salvimadrensina (**10**) y salvimadrensinol (**11**) (Figura 11).¹⁹

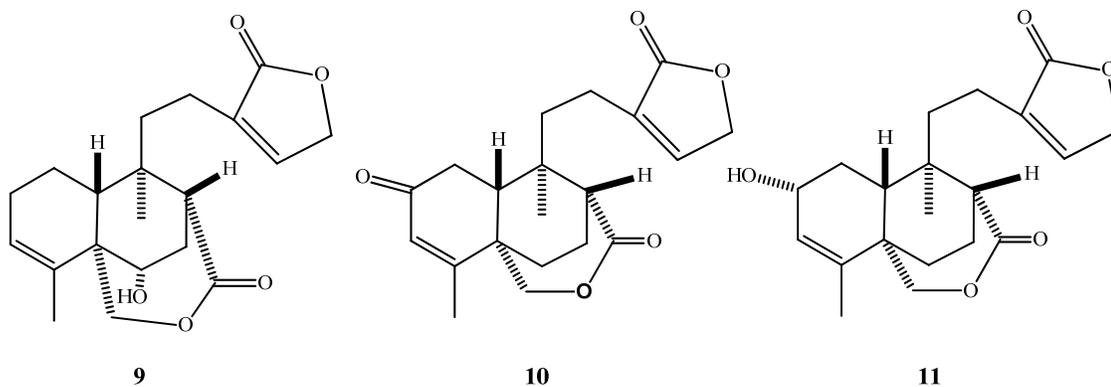


Figura 11. Neo-clerodanos aislados de *Salvia madrensis* (**9-11**)

De las hojas de *Salvia divinorum* aislaron un nuevo compuesto del extracto clorofórmico, al cual nombraron Salvinorina B (**12**) (Figura 12) que a diferencia de Salvinorina A (**7**), éste no posee efectos psicoactivos, aun cuando la única diferencia entre ellos es la presencia de un OH o su acetato en la posición 2.²⁰

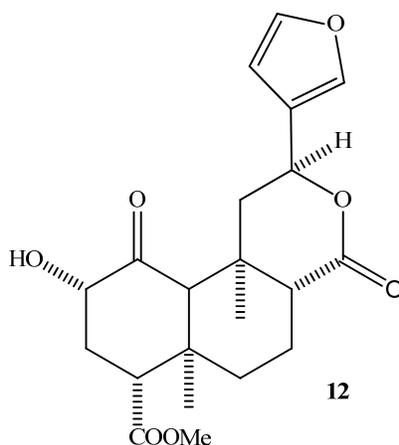


Figura 12. Salvinorina B (**12**)

Compuestos con esqueletos triterpénicos también han sido aislados del género *Salvia*. Del extracto etanólico de las raíces de *Salvia deserta*, aislaron un triterpeno hexacíclico llamado Salvisertin A o ácido $2\beta,3\beta,24\beta$ -trihidroxi-12,13-ciclotaraxer-14-en-28-

oico (**13**), junto con otro triterpeno conocido como ácido $2\alpha,3\alpha,23$ -trihidroxirs-12,20(30)-dien-28-oico (**14**) (Figura 13).²¹

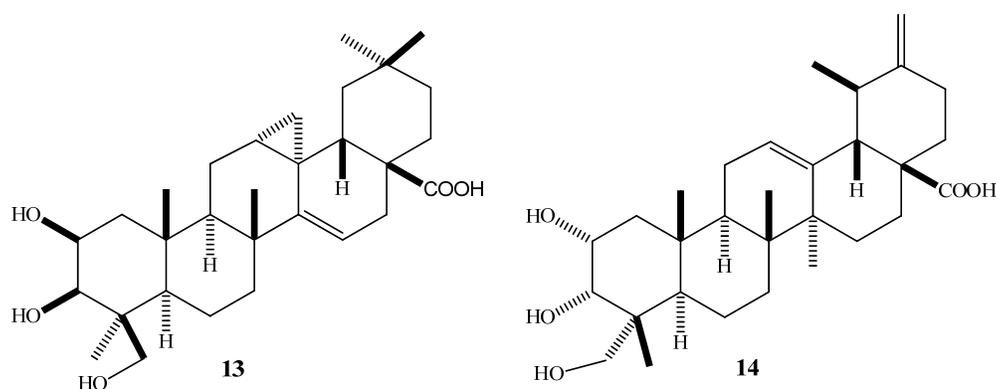


Figura 13. Triterpenos aislados de *Salvia deserta* (**13-14**)

De los extractos clorofórmicos y cloroformo-metanol de las raíces de *Salvia buchananii*, aislaron mediante cromatografías tipo flash y HPLC de fase reversa, un nuevo triterpeno con esqueleto *seco-oxo-lupano* hemiacetalico el ácido salvibuchanico (**15**), así como un triterpeno conocido como ácido hyptadienoico (**16**) (figura 14), ambos presentaron actividad antiproliferativa contra células HeLa y MCF7.²²

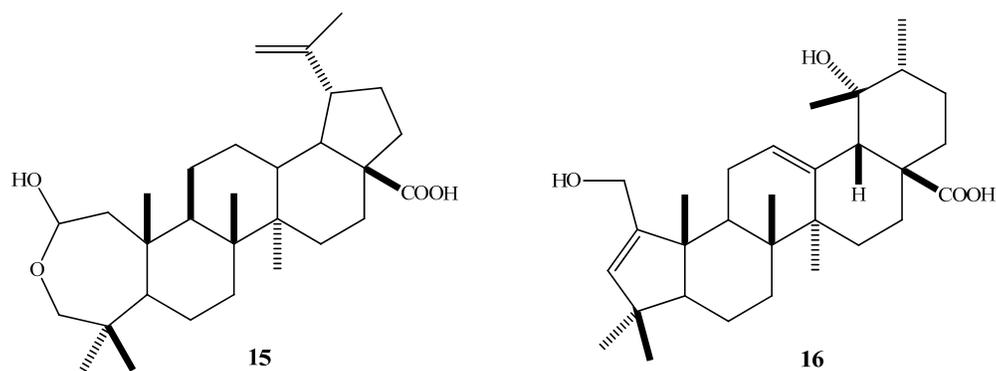
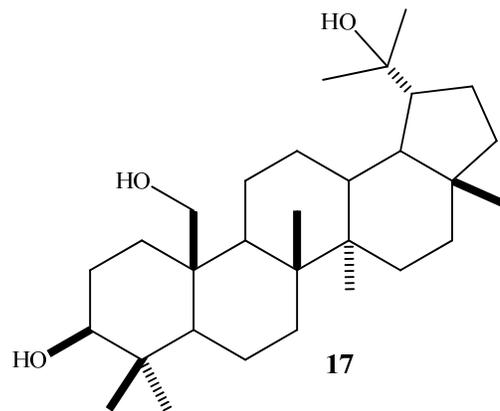


Figura 14. Triterpenos aislados de *Salvia buchananii* (**15-16**)

JUSTIFICACIÓN

Los triterpenos aislados del género *Salvia* presentan funciones OH en diferentes posiciones lo que los vuelve reactivamente diferentes, por lo que en el presente trabajo se pretende estudiar la reactividad de los tres grupos hidroxilo presentes en el compuesto $3\beta,20,25$ -trihidroxilupano (**17**) mediante una reacción de esterificación.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar un estudio preliminar de la acetilación de los hidroxilos del 3 β ,20,25-trihidroxilupano (**17**) de *Salvia dugesii*, para determinar su reactividad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener el extracto hexánico de hojas de *Salvia dugesii*.
- Aislar el 3 β ,20,25-trihidroxilupano.
- Obtener los derivados acetilados 3 β ,20,25-trihidroxilupano (**17**).
- Caracterizar mediante RMN de ^1H y ^{13}C los productos obtenidos.

PARTE EXPERIMENTAL

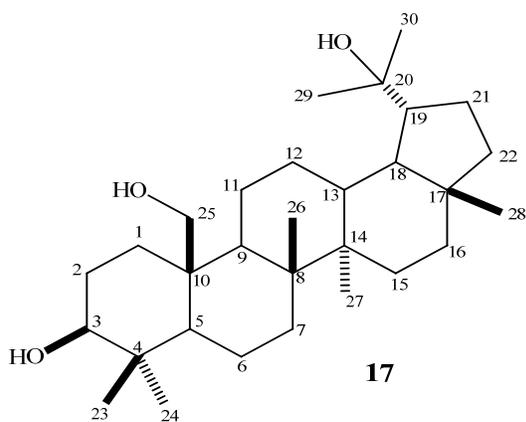
MATERIA VEGETAL

La planta de *Salvia dugesii*, se colectó en la parte alta de La Alberca de los Espinos, municipio de Jiménez, Michoacán de Ocampo, el 8 de abril de 2017. Se encontró en un hábitat subtropical, arbustos de 2.5 m de alto, flores azules y aromáticas.

OBTENCIÓN DEL 3 β ,20,25-TRIHIDROXILUPANO (17)

Un lote de 1.6 kg de hojas de *Salvia dugesii* previamente secadas en la sombra, se maceraron con hexanos durante tres días a temperatura ambiente. Una vez transcurrido el tiempo, se filtró y se concentró en rotavapor, posteriormente se repitió el proceso en tres ocasiones.

Un lote de 15 g de extracto hexánico se fraccionó mediante cromatografía en columna de 4 cm de diámetro con una altura de 15 cm, se utilizó como fase móvil mezclas de Hexanos-AcOEt en polaridades ascendentes. De las fracciones obtenidas con la polaridad 45:55 se obtuvieron 520 mg de un sólido blanco. Punto de fusión 135-138 °C.

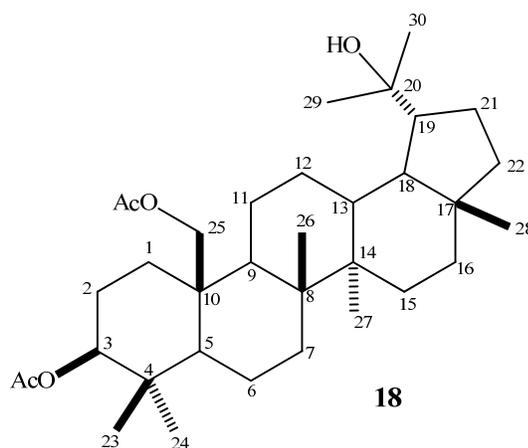


RMN de ^1H (400 MHz en CDCl_3), ppm 4.02 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-25a), 3.93 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-25b), 3.25 (1H, dd, $J = 10.9, 5.4$ Hz H-3), 1.22 (3H, s, H-26), 1.20 (3H, s, H-30), 1.12(3H, s, H-29), 1.00 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-28), 0.78 (3H, s, H-24).

RMN de ^{13}C (100 MHz) Ver tabla 2.

OBTENCIÓN DE 3 β ,25-DIACETOXI-20-HIDROXILUPANO (18)

A una solución de 100 mg de 3 β ,20,25-trihidroxilupano (17) en 1 mL de piridina, se le adicionó 1 mL de anhídrido acético, la mezcla de reacción se dejó reaccionar durante 4 horas a temperatura ambiente. Terminada la reacción se extrajo con acetato de etilo y se lavó tres veces con una solución de HCl al 10%, tres veces con agua, tres veces con NaHCO₃, tres veces con agua, se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó en rotavapor. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna utilizando gel de sílice como fase estacionaria y mezcla de Hexanos-AcOEt en polaridad 5:5 como fase móvil.



RMN de ¹H (400 MHz en CDCl₃), ppm 4.53 (1H, dd, $J = 10.8, 5.3$ H-3), 4.51 (1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-25a), 4.33 (1H, d, $J = 11.9$ Hz, H-25b), 2.04 (3H, s, OAc-25), 2.03 (3H, s, OAc-3), 1.25 (3H, s, H-26), 1.23 (3H, s, H-30), 1.12 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-27), 0.89 (3H, s, H-23), 0.88 (3H, s, H-28), 0.82 (3H, s, H-24).

RMN de ¹³C (100 MHz) Ver tabla 2.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El extracto hexánico de hojas de *Salvia dugesii* total fue analizado mediante RMN de ^1H ; en el espectro se observan señales correspondientes a protones aromáticos en 6.9 a 7.5 ppm, vinílicos en 4.7 a 6.7 ppm, protones bases de heteroátomos en 3.2 a 5.7 ppm, así como alifáticos en 0.9 a 2.5 ppm (Figura 15).

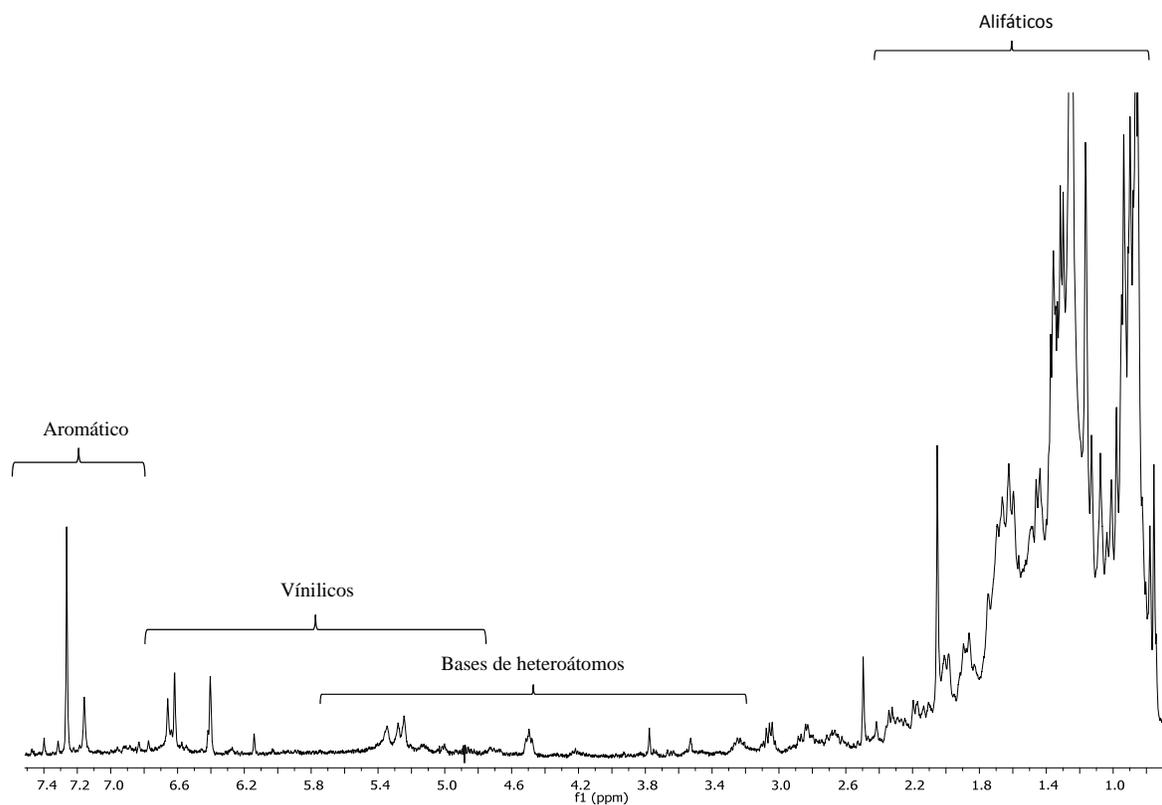


Figura 15. Espectro de RMN de ^1H del extracto hexánico de *Salvia dugesii*.

OBTENCIÓN DEL 3 β ,20,25-TRIHIDROXILUPANO (17)

El 3 β ,20,25-trihidroxilupano (**17**) se obtuvo por cromatografía del extracto hexánico de las hojas de *Salvia dugesii* como un sólido blanco, el cual fue analizado por espectroscopia de RMN.

En el espectro de RMN de ^1H (figura 16) se observa en 4.02 ppm una señal doble con $J = 12.0$ Hz, correspondientes al hidrógeno H-25a, en 3.93 ppm se muestra una señal doble con $J = 12.0$ Hz, correspondientes al hidrógeno H-25b, en 3.25 ppm se observa una señal doble de dobles con $J = 10.9, 5.4$ Hz correspondiente al hidrógeno H-3, en 1.22, 1.20, 1.12, 1.00, 0.97, 0.82, 0.78 ppm se aprecian señales simples correspondientes a los 7 metilos presentes en dicha estructura.

En el espectro de ^{13}C (figura 17) se observan las 30 señales esperadas, en 79.0, 73.9 y 62.4 ppm se muestran las señales de los carbonos base de alcohol, en las posiciones 3, 20 y 25. En 31.6, 28.7, 24.6, 19.1, 16.6, 15.7 y 15.3 ppm se presentan las señales correspondientes a los metilos del esqueleto.

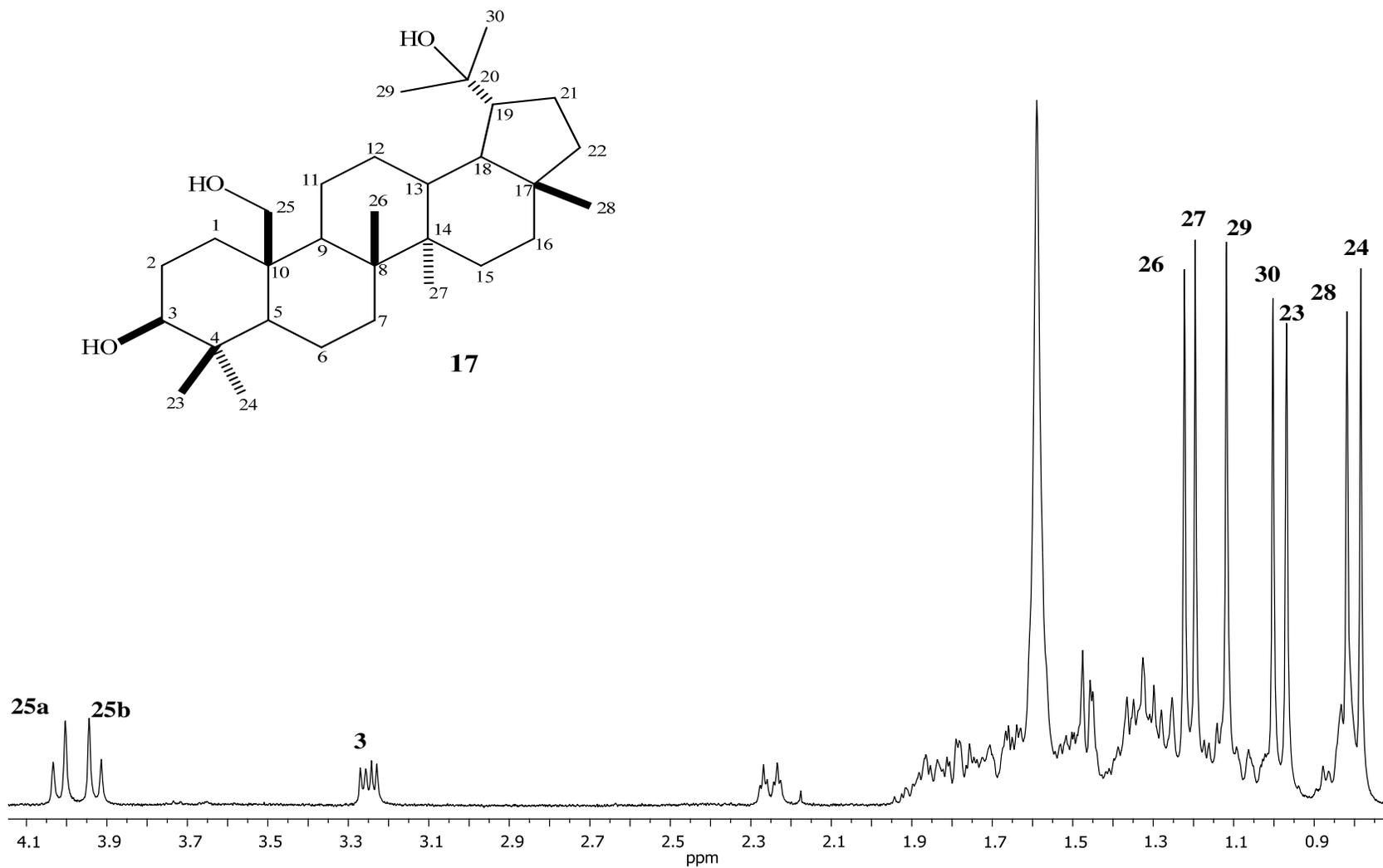


Figura 16. Espectro de RMN de ¹H a 400MHz en CDCl₃ del 3β,20,25-trihidroxilupano (17)

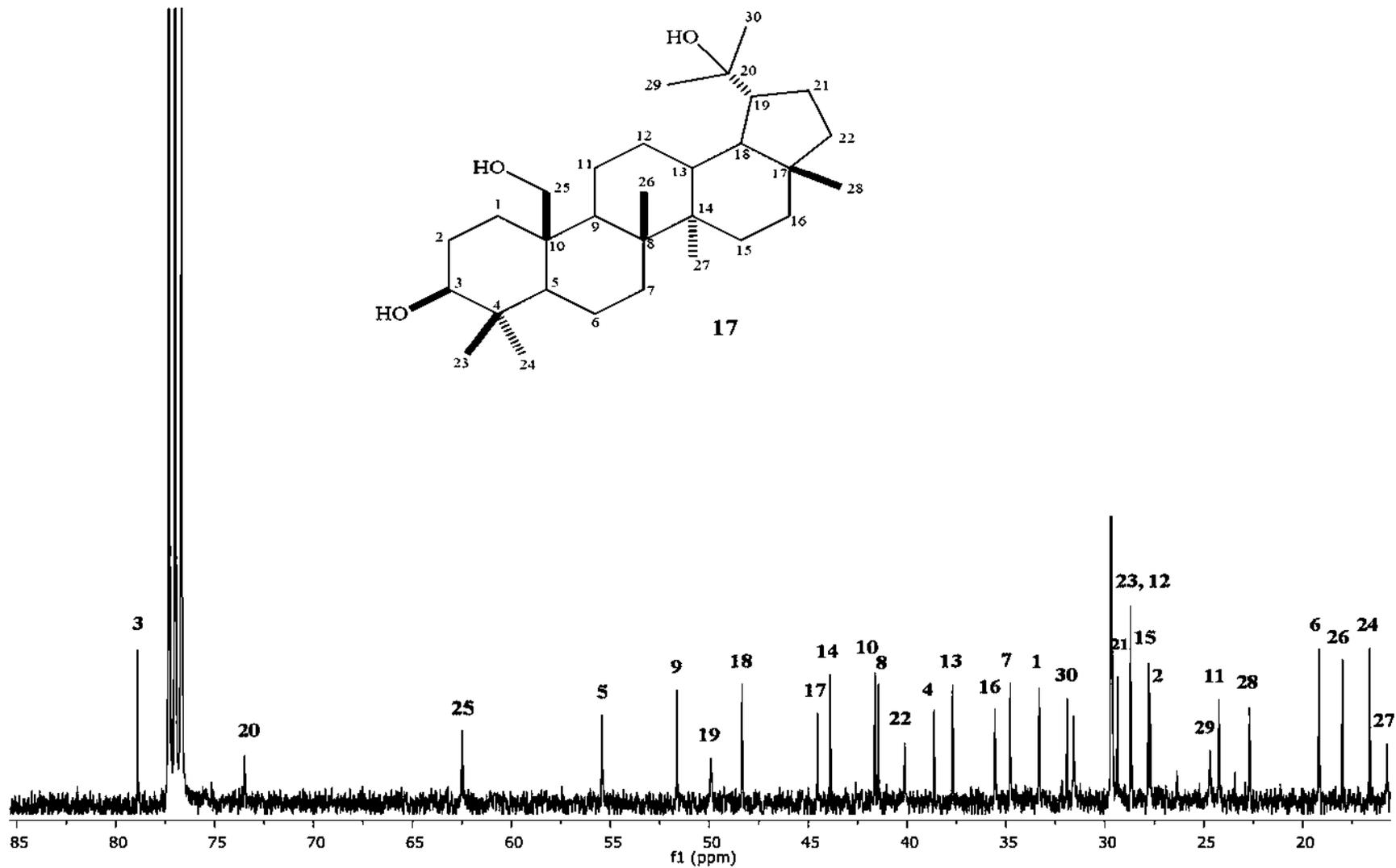


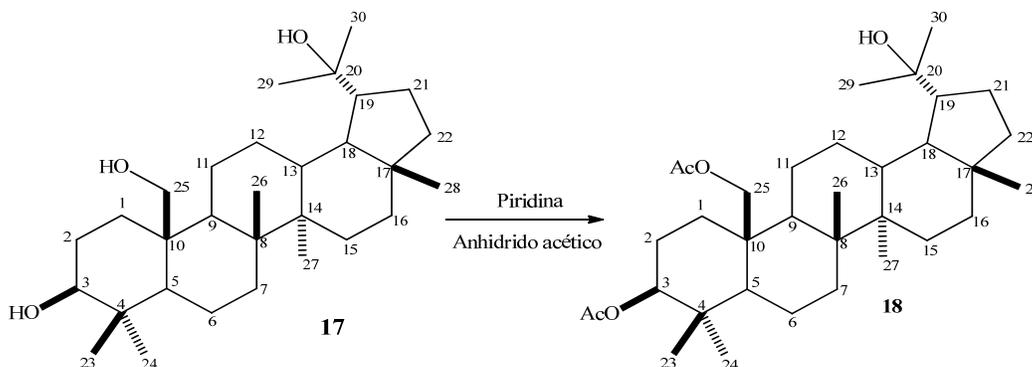
Figura 17. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz en CDCl₃ del 3β,20,25-trihroxilupano (17)

ACETILACIÓN DEL 3 β ,20,25-TRIHIDROXILUPANO (17)

Debido a que el producto natural **17** tiene tres grupos hidroxilo (primario, secundario y terciario) los cuales presentan distinta reactividad. Se realizaron una serie de reacciones de acetilación utilizando distintas condiciones de reacción para obtener el producto mono-di- y triacetilado. Inicialmente, **17** se hizo reaccionar con piridina y anhídrido acético a 4 °C durante 35 min, una vez extraída la reacción se purificó y analizó mediante RMN, con la finalidad de obtener un derivado monoacetilado.

En el espectro de RMN de ^1H (figura 18) se observan en 4.53 ppm una señal doble de dobles con una $J = 10.8, 5.3$ Hz correspondiente al H-3, en 4.51 ppm se encuentra una señal doble correspondiente al H-25a con una $J = 11.9$ Hz, en 4.33 ppm se muestra una señal doble correspondiente al H-25b con una $J = 11.9$ Hz, en 2.04 y 2.03 ppm se observan los metilos de los acetatos, en 1.25, 1.23, 1.12, 0.96, 0.89, 0.88 y 0.82 ppm se aprecian señales simples correspondientes a los metilos del esqueleto base. El corrimiento de los protones 3 y 25 base de alcohol a frecuencias más altas, indicaron que se había formado el derivado diacetilado.

En el espectro de RMN de ^{13}C (figura 19) se observa en 171.07 y 171.02 ppm las dos señales de los carbonilos de acetato de nuestra estructura, en 21.3 y 21.2 se observan los metilos del acetato, de 73.0 aproximadamente a 15.0 ppm se aprecian las señales del resto de los carbonos sin cambios significativos. Estos datos concuerdan con el espectro de RMN de hidrogeno. Obteniendo como único producto al compuesto diacetilado **18**. Los desplazamientos químicos se compararon con los reportados en la literatura²³ (tabla2).



Esquema 6. Acetilación del 3 β , 20,25-trihidroxilupano con anhídrido acético y piridina

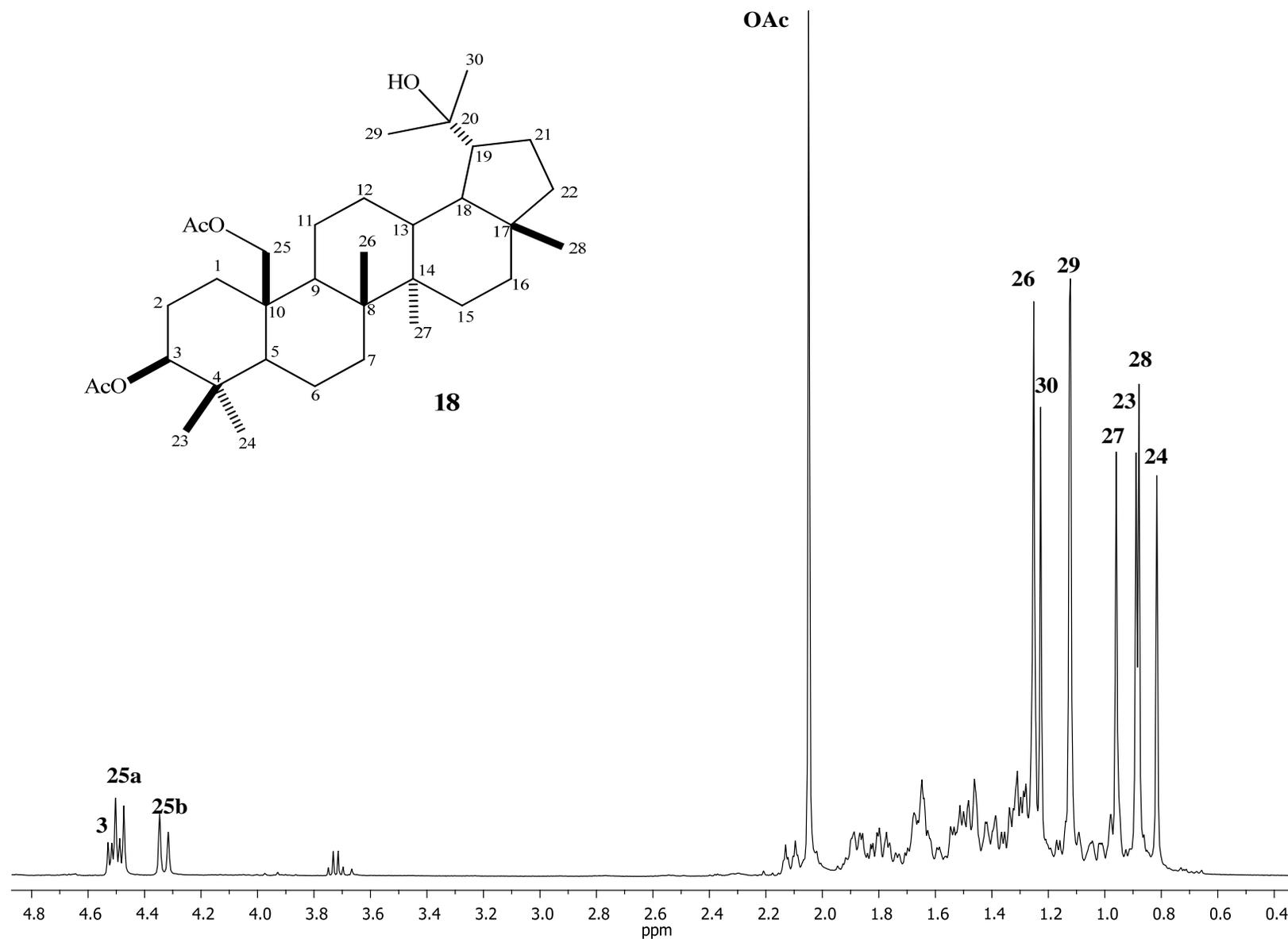


Figura 18. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz en CDCl₃ del 3β,25-diacetoxi-20-hidroxilupano (**18**)

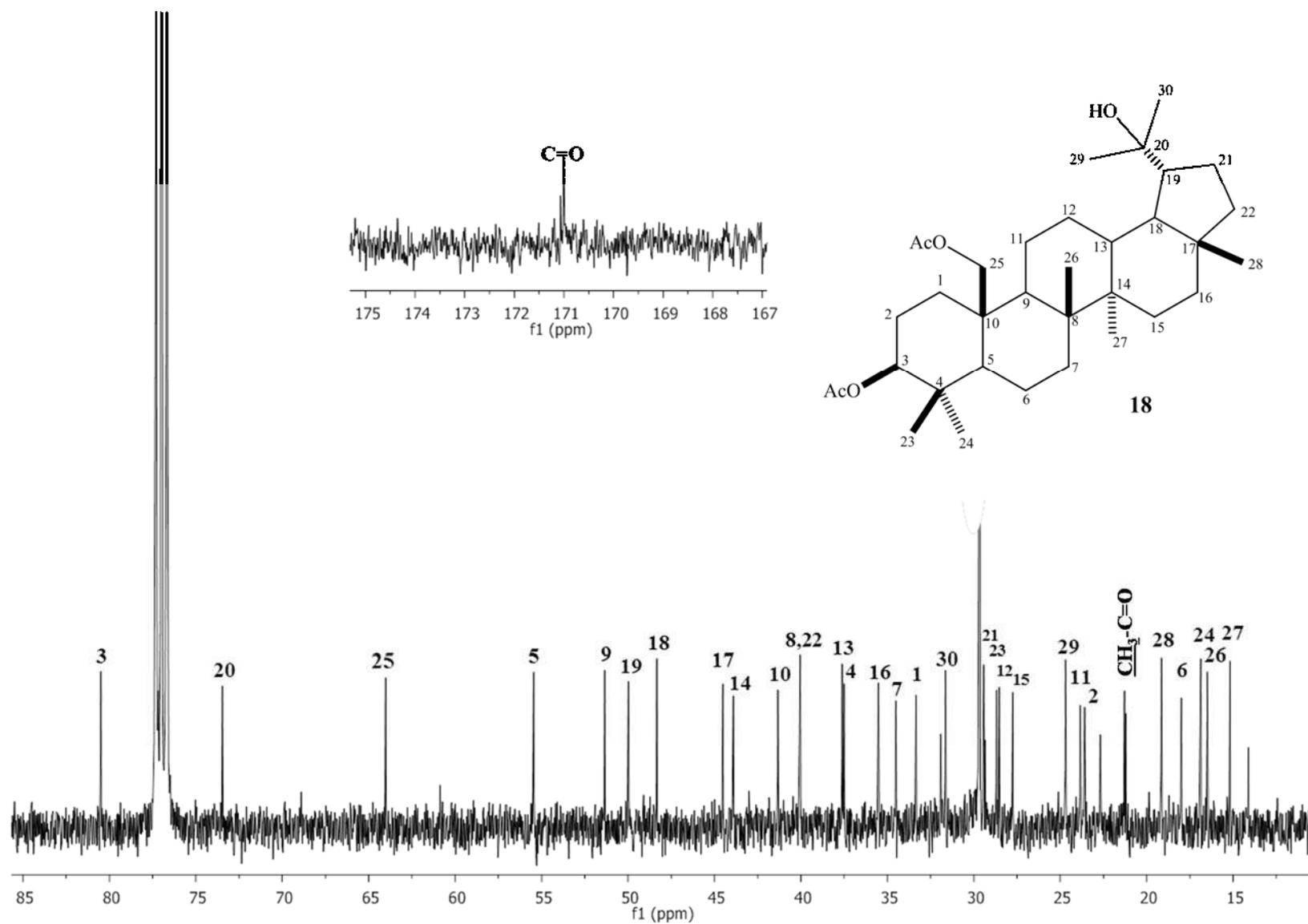


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 del 3 β ,25-diacetoxi-20-hidroxilipano (**18**)

Debido a los resultados obtenidos se decidió disminuir el tiempo de reacción a 10 minutos observando a **18** como único producto. Al mismo tiempo se colocó **17** con los mismos reactivos a temperatura ambiente durante 4 horas obteniendo nuevamente el compuesto **18**.

Con la intención de obtener el producto triacetilado se colocó en reflujo el compuesto **17** durante 6 y 24 horas. Finalmente se dejó reaccionar el compuesto a temperatura ambiente durante 15 días, obteniéndose siempre el producto **18**. Por lo cual, se observó que el alcohol terciario debido a su estabilidad no reaccionó bajo las condiciones ensayadas, mientras que no se obtuvo el producto monoacetilado, ya que el alcohol secundario reacciona de manera similar al primario. Lo que indica que para acetilar el hidroxilo terciario se requieren condiciones más drásticas.

Tabla 1. Tabla de condiciones de reacción

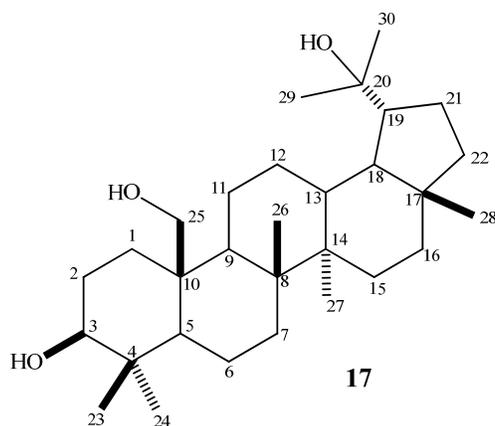
TEMPERATURA	TIEMPO	PRODUCTO
4 °C	10 minutos	18
4 °C	35 minutos	18
Temperatura ambiente 25 °C	4 horas	18
Temperatura ambiente 25 °C	15 días	18
Reflujo	6 horas	18
Reflujo	24 horas	18

Tabla 2. Comparación de desplazamientos de RMN de ^{13}C en CDCl_3

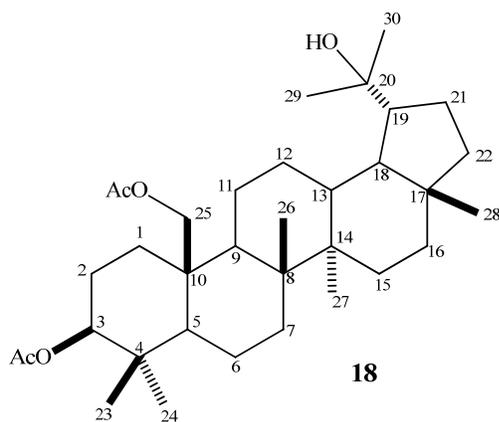
No. C	$3\beta,20,25$ -trihidroxilupano (17)	$3\beta,25$ -diacetoxi-20-hidroxilupano (18) exp.	$3\beta,25$ -diacetoxi-20-hidroxilupano (18) ²³
1	33.3	33.3	33.4
2	27.7	23.5	23.6
3	78.9	81.5	80.5
4	38.6	37.5	37.5
5	55.4	55.4	55.5
6	17.9	17.9	18.0
7	34.7	34.5	34.5
8	41.4	40.0	40.1
9	51.6	51.3	51.0
10	41.6	41.3	41.4
11	24.2	23.8	23.9
12	28.7	28.6	28.7
13	37.6	37.6	37.6
14	43.8	43.9	43.9
15	27.8	27.7	27.8
16	35.5	35.5	35.6
17	44.5	44.5	44.5
18	48.3	48.3	48.4
19	49.9	49.9	50.0
20	73.4	73.4	73.4
21	29.6	29.6	29.4
22	40.1	40.1	40.1
23	28.7	28.6	28.6
24	15.7	16.8	16.9
25	62.4	64.0	64.0
26	16.6	16.5	16.5
27	15.3	15.1	15.2
28	19.1	19.1	19.2
29	24.6	24.7	24.7
30	31.9	31.6	31.7
C=O		171.07, 171.02	171.1, 171.0
CH ₃ -C=O		21.3, 21.2	21.3, 21.0

CONCLUSIÓN

El 3 β ,20,25-trihidroxilupano (**17**) se aisló del extracto hexánico de hojas de *Salvia dugesii* y fue caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C .



La acetilación del compuesto (**17**) evidenció la similitud en la reactividad del OH-25 (primario) y el OH-3 (secundario) ya que, en las distintas condiciones de reacción ensayadas, se obtuvo al compuesto diacetilado **18** como único producto, el cual fue caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C .



BIBLIOGRAFÍA

1. Osbourn A. E., Lanzotti V. **2009**. "Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function, and Application". 7ª Edición. Ed. Springer, United Kingdom.
2. Thimmappa R., Geisler K., Louveau T., O'Maille P., Osbourn A. **2014**. Triterpene Biosynthesis in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, 65(1), 225–257.
3. AbdeL-Gwad M. M., El-amin S. M., El-sayed M. M., Refahy L. A. Sabry W. A. **1997**. Molluscicidal Saponins from *Cestrum parqui*. *Pharm. Sci*, 80-84. 2.
4. Dewick P. M. **2009**. Medicinal natural products: A biosynthetic approach. 3ª Edición. Ed. Wiley, United Kingdom. 198-201.
5. Kingston D. G., Newman, D. J. **2005**. Natural products as drug leads: An old process or the new hope for drug discovery. *Idrugs*, 8, 990-992.
6. Williams O. H., Stone M. J., Hauck P. R., Raham S. R. **1989**. Why are secondary metabolites (natural products) biosynthesized. *J. Nat. Prod.*, 52, 1189-1208.
7. Bajo-Arenas J, M. **2010**. Betametasona. *I Vademecum de la S.E.G.O* Sitio web: <https://www.vademecum.es/principios-activos-betametasona-h02ab01>.
8. Méndez, A. **2010**. Paracetamol Sitio web: <https://quimica.laguia2000.com/quimica-organica/paracetamol>.
9. Barrales-Cureño H., Ramírez-Sepúlveda M. **2013**. Una revisión sobre la producción de taxoides anticancerígenos en cultivos in vitro de callos y células de *Taxus* spp. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Sitio web: <http://www.scielo.org.co/pdf/biote/v15n2/v15n2a19.pdf>.
10. Rowinsky, E. K., & Donehower, R. C. (1995). Paclitaxel (Taxol). *New England Journal of Medicine*, 332(15), 1004–1014.
11. Hernández-Luna H., Flores-Rangel R., Arrazola-Domínguez F., Martínez-Reyes V., Gómez-Sierra C. **2004**. Grupos Funcionales I. *Instituto Politécnico Nacional*. 3: 65.
12. Morrison y Boyd. **1998**. Química Orgánica. 5ª Edición. Ed. Pearson Addison Wesley, México. 622.
13. Carey F. A. **2000**. Organic Chemistry. 4th. Ed. Mcgraw Hill. USA.

14. Martínez-Gordillo M., Fragoso-Martínez I., García-Peña M. del R., & Montiel, O. **2013**. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(1), 30–86.
15. Cornejo-Tenorio G., Ibarra-Manriquez G. **2011**. Diversidad y distribución del género *Salvia* (Lamiaceae) en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, 1279-1296.
16. Yi-Bing Wu, Zhi-Yu Ni, Qing-Wen Shi, Mei Dong, Hiromasa Kiyota, Yu-Cheng Gu, Bin Cong. **2012**. Constituents from *Salvia* Species and Their Biological Activities. *Chem. Rev.*, 112 (11), 5967–6026.
17. Soto-Restrepo V., Taborda-Ocampo G., Garzón-Méndez W. **2017**. Salvinorina A: terpeno alucinógeno presente en *Salvia divinorum* Epling & Játiva. *Colombia Forense*, 4(1), 2145-2146.
18. Esquivel B., Cárdenas J., Toscano A., Soriano-García M., Rodríguez-Hahn L. **1985**. Structure of salvigenolide, a novel diterpenoid with a rearranged neo-clerodane skeleton from *Salvia fulgens*. *Tetrahedron*, 41(16), 3213–3217.
19. Rodríguez-Hahn L., Alvarado G., Cárdenas J., Esquivel B., & Gaviño R. **1994**. Neo-clerodane diterpenoids from *Salvia madrensis*. *Phytochemistry*, 35(2), 447–450.
20. Harding W. W., Schmidt M., Tidgewell K., Kannan P., Holden K. G., Gilmour B., Prisinzano T. E. **2006**. Synthetic Studies of Neo-clerodane Diterpenes from *Salvia divinorum*: Semisynthesis of Salvinicins A and B and Other Chemical Transformations of Salvinorin A. *J. Nat. Prod.s*, 69(1), 107-112.
21. Wang Y. R., Yu Y., Li S. M., Liu W., Li W., Morris-Natschke S. L., Huang X.-F. **2018**. Salvisertin A, a New Hexacyclic Triterpenoid, and Other Bioactive Terpenes from *Salvia deserta* Root. *Chemistry & Biodiversity*, 15(4), 1-3.
22. Beladjila K. A., Cotugn, R., Berrehal D., Kabouche Z., De Tommasi N., Braca A., & De Leo M. **2018**. Cytotoxic triterpenes from *Salvia buehananii* roots. *Natural Product Research*, 32(17), 2025–2030.
23. Yürüker A., Orjala J., Sticher O., & Rali T. **1998**. Triterpenes from *Rhus taitensis*. *Phytochemistry*, 48(5), 863–866.