

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

“ Z A R A G O Z A ”



ESTUDIO QUIMICO DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS  
DE *Salvia lavanduloides* (LAB,) ("CANTUESO")

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A

JOSE MARIO GONZALEZ ORTA

MEXICO, D. F.

1984



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

# C O N T E N I D O

	PÁGINA
I. INTRODUCCION	1
II. FUNDAMENTACION DEL TEMA	
ANTECEDENTES	
GENERO SALVIA	4
LOS TERPENOS	9
LOS TRITERPENOS	10
GENERALIDADES DE LA PLANTA	13
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
IV. OBJETIVOS	16
V. HIPOTESIS DE TRABAJO	17
VI. MATERIAL	18
VII. METODOS	21
VIII. DESARROLLO	
1. CONSIDERACIONES PREVIAS	23
2. DESARROLLO DEL TRABAJO	23

	PÁGINA
2.1. EXTRACCION	23
2.2. SEPARACION EN COLUMNA	24
2.3. FORMACION DE DERIVADOS	25
3. RESULTADOS	31
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	
1) CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO <u>1</u> COMO ÁCIDO URSOLICO	76
2) CARACTERIZACIÓN DEL COMPUESTO <u>2</u> COMO ÁCIDO OLEANÓLICO	87
X. CONCLUSIONES	92
XI. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES	93
XII. BIBLIOGRAFIA	95

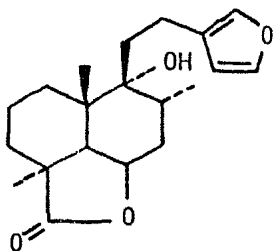
## I. INTRODUCCION

Los productos naturales siempre han significado una alternativa muy importante, en la búsqueda de sustancias con actividad terapéutica, que presenten un mayor efecto o bien una menor toxicidad, que ciertos fármacos ya empleados.

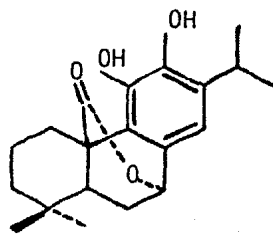
Numerosos estudios concluyen, que una familia de plantas medicinales, la familia Labiatae, es una considerable fuente de sustancias farmacológicas, que a nivel experimental han demostrado sus propiedades y su potencial aplicación terapéutica<sup>1</sup>.

Las principales propiedades que presentan estos productos naturales son : antivirales, antibacterianos, carminativos, cloréticos y espasmolíticos<sup>1</sup>.

Los compuestos diterpénicos o monoterpénicos, poseen actividad virostática y antibacteriana; compuestos como la Marrubina (I), aislada de *Marrubium vulgare*, son activos frente a virus del tipo Herpes; el Carnosol (II), aislado de *Salvia officinalis*, es activo frente a *Staphylococcus* y *Escherichia coli*<sup>1</sup>.

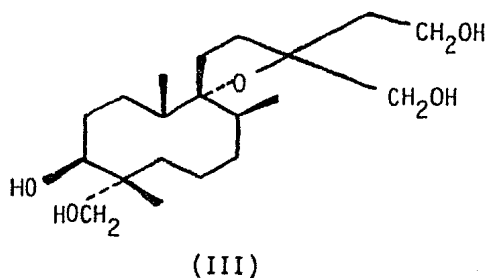


(I)

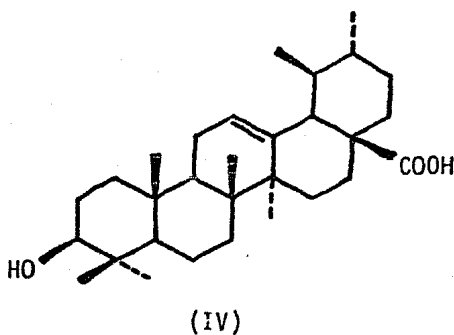


(II)

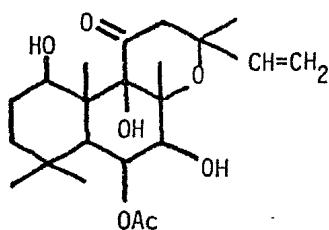
Un alcohol diterpénico que presenta la estructura (III) aislado de *Lagochilus inebrians*, posee actividad sedativa<sup>2</sup>.



Compuestos de tipo triterpénico, como el ácido ursólico (IV), y su correspondiente acetato, presentan un notable efecto sobre el metabolismo de lípidos, en la arterosclerosis experimental<sup>3,4</sup>.



También se reporta la propiedad antibiótica de compuestos presentes en *Moleculia laevis*<sup>5</sup>. Otra sustancia farmacológica, la Co-*teforsina* (V), ha sido extraída de *Coleus forskohlii*<sup>6</sup>.



(V)

Todo lo anterior lleva a destacar la gran importancia que tiene la familia Labiatae, en el campo científico.

En virtud de ello, nuestro equipo de investigación, se avocó a realizar el estudio de *Salvia lavanduloides*, una planta perteneciente a la familia Labiatae, con el fin de determinar cuáles son sus principales metabolitos secundarios, posibles responsables de las propiedades medicinales, por las que esta planta es conocida<sup>7-12</sup>.

## II. FUNDAMENTACION DEL TEMA

En nuestro país desde la época prehispánica, se tenía ya un amplio conocimiento, sobre las propiedades medicinales y estimulantes de numerosas plantas<sup>7,8,13</sup>. La tradición popular ha mantenido hasta nuestros días, el uso empírico de muchas de esas plantas medicinales<sup>9-12</sup>.

Si se toma en cuenta, que cualquier planta medicinal, es usada por un amplio sector de la población, por su bajo costo, resulta interesante desde los puntos de vista químico y farmacológico, precisar cuáles son los compuestos, presentes en ella, que le otorgan una determinada propiedad curativa.

El "cantueso" es una planta que a pesar de haber sido conocida desde hace mucho tiempo<sup>7,8</sup>, no había sido estudiada químicamente, por lo que, a fin de establecer sus componentes, surgió el interés de llevar a cabo el presente trabajo.

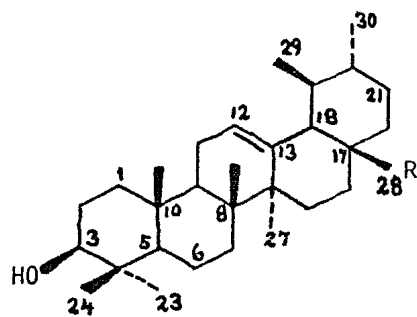
### ANTECEDENTES

#### GENERO SALVIA

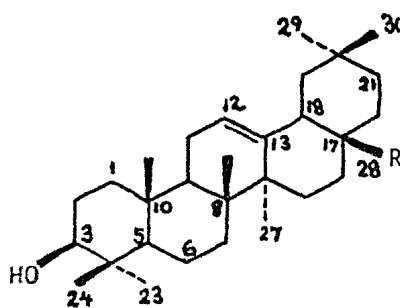
Se han encontrado en especies del género *Salvia*, principalmente, compuestos del grupo de los triterpenos pentacíclicos, así como flavonas, flavonoles, sesterterpenos, diterpenos y monoterpenos.

A continuación se enlistan algunos de los productos naturales que han sido reportados y sus estructuras fundamentales :



1. Triterpenos Pentacíclicos

(IV) a, R = COOH

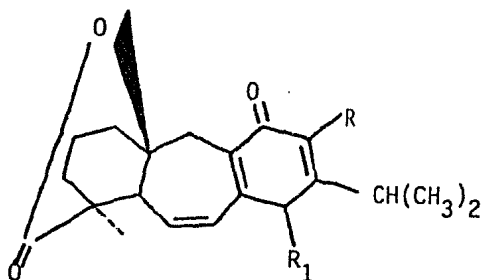
b, R = CH<sub>3</sub>

(VI) a, R = COOH

b, R = CH<sub>3</sub>

Nombre	Origen	Referencia
Acido ursólico (IVa) α-amirina (IVb)	<i>S. glutinosa</i>	14
Acido ursólico ácido oleanólico (VIa) β-amirina (VIb) α-amirina	<i>S. apiana</i>	15
Acido ursólico	<i>S. karwinskii</i>	15
Salviólida	<i>S. mexicana</i>	16
Acido micromérico	<i>S. horminum</i>	17
Acido ursólico ácido oleanólico	<i>S. triloba</i>	18,19
	<i>S. calycina</i>	21
	<i>S. cryptantha</i>	
	<i>S. syriaca</i>	
	<i>S. grandiflora</i>	

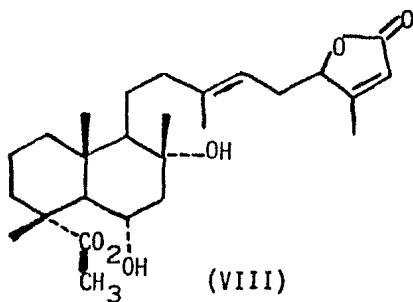
Nombre	Origen	Referencia
	<i>S. sclarea</i>	22
Acido ursólico	<i>S. verbenaca</i>	23
Acido dehidroursólico		
$\alpha$ -amirina	<i>S. amplexicaulis</i>	24
$\beta$ -amirina		
ácido oleanólico		
Acido virgático	<i>S. virgata</i>	25
Acido ursólico	<i>S. limbata</i>	26
Lupeol	<i>S. horminum</i>	27
lup-(20)29-en-2 $\alpha$ , 3 $\beta$ -diol		
olean-(13)18-en-2 $\beta$ ,3 $\beta$ -diol		
Dehydrouvaol	<i>S. coccinea</i>	28
uvaol		
Lupeol	<i>S. phlomooides</i>	29
lup-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,20-triol		
3 $\beta$ -acetoxi-lupan-11 $\alpha$ , 20-diol		
3-ceto-lupan-11 $\alpha$ , 20-diol		
lup-20(29)-en-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diol		
Ursa-9(11),12-dien-3 $\beta$ -yl acetato	<i>S. broussonetti</i>	30

2. Diterpenos

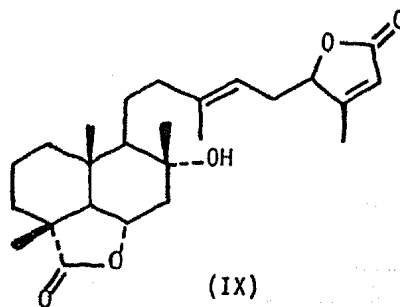
(VII) R = OH ó O

R<sub>1</sub> = OH ó O

Nombre	Origen	Referencia
Quinonas diterpénicas (VII)	<i>S. ballotaeiflora</i>	31
Carnosol (II)	<i>S. officinalis</i>	1
Arucatriol Galdosol	<i>S. canariensis</i>	20

3. Sesterterpenos

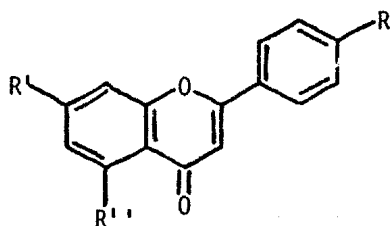
(VIII)



(IX)

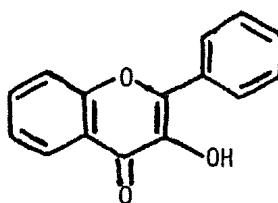
Nombre	Origen	Referencia
Salvileucólido (éster metílico) (VIII) salvileucólido-6,23-lac- tona (IX)	<i>S. hypoleuca</i>	32

#### 4. Flavonas y flavonoles



(X)  $R = R' = R'' = OH$

(XI)  $R = R'' = OH, R' = OCH_3$



Nombre	Origen	Referencia
Apigenina (X) Gengkwanina (XI) Isokaempferido Kumatakenina	<i>S. glutinosa</i>	14
Apigenina	<i>S. limbata</i>	26

#### 5. Monoterpenos

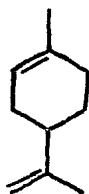
Se ha reportado también la presencia de monoterpenos, junto con diterpenos, en los aceites esenciales de *S. officinalis*<sup>33</sup> y *S. triloba*<sup>34</sup>.

## LOS TERPENOS

Entre los metabolitos secundarios que se encuentran con más frecuencia y abundancia en Salvias, se hallan los terpenos, que son productos naturales formados por la combinación de dos o más unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno).

Los terpenos se clasifican en base al número de unidades isoprénicas que poseen; de ese modo, se dividen en: monoterpenos (contienen dos unidades de isopreno), sesquiterpenos (poseen tres unidades isoprénicas), diterpenos (contienen cuatro unidades), triterpenos (tienen seis unidades de isopreno), etc. Las diversas unidades de isopreno de los terpenos, generalmente se encuentran enlazadas con un orden de "cabeza con cola", especialmente en los segmentos lineales<sup>35,36</sup>.

Se han aislado de los vegetales, numerosos terpenos; como ejemplo de monoterpeno, se puede mencionar al Limoneno, el componente principal del aceite de limón<sup>36</sup>.



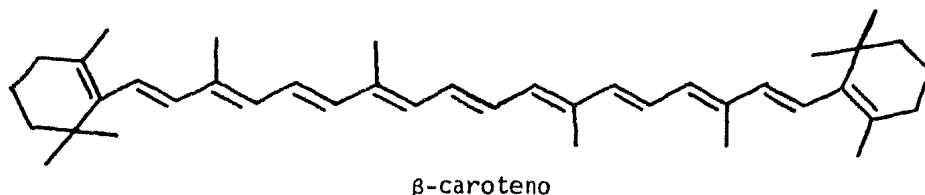
Limoneno

Entre los diterpenos se encuentra el Fitol, un alcohol terpenoide lineal, componente esencial de la clorofila<sup>36</sup>.

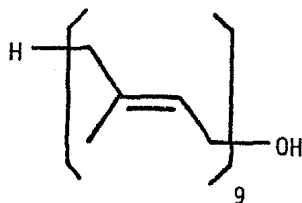
Perteneciente al grupo de los triterpenos está el Escualeno, precursor del Colesterol<sup>35,36</sup>.

Otro tipo de terpenos, los carotenoides (contienen ocho unidades de isopreno), también son muy importantes, pues al parecer,

son auxiliares en la fotosíntesis<sup>36</sup>.



Los poliprenoles son compuestos poliisoprenoides con un grupo alcohol primario terminal; como ejemplo se tiene al Solanesol:



Los poliprenoles en forma de ésteres fosfóricos, poseen una funciónseudocoenzimática<sup>35</sup> y un papel estructural en las membranas<sup>36</sup>.

Una clase más de compuestos terpenoides, son los pertenecientes al grupo de la Ubiquinona o coenzima Q, los cuales actúan como transportadores de hidrógeno en las oxidaciones mitocondriales<sup>35</sup>.

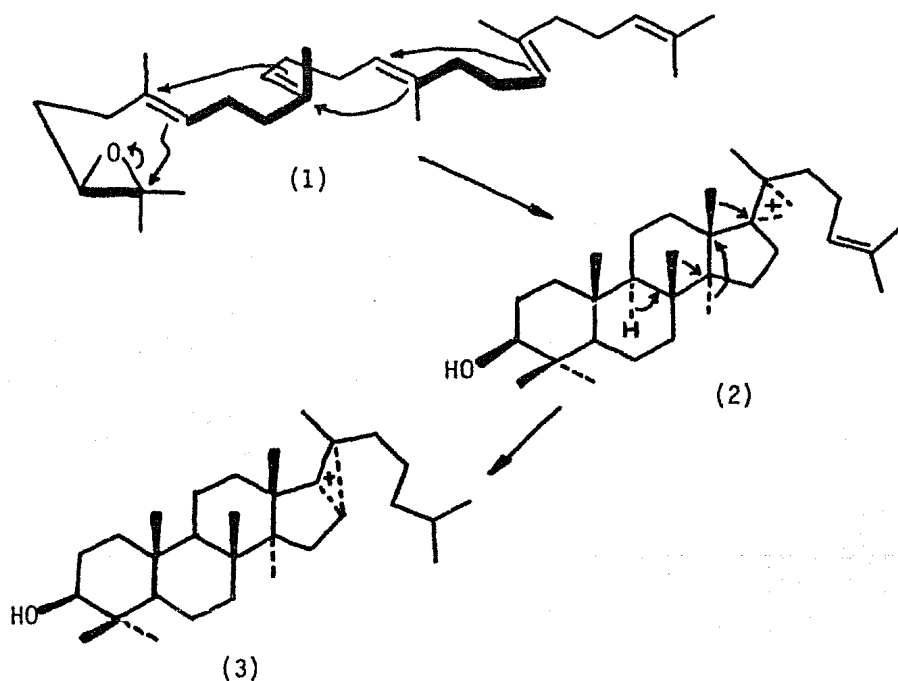
## LOS TRITERPENOS

Los triterpenos son productos naturales muy abundantes, que se encuentran ampliamente distribuidos en el Reino Vegetal. Los triterpenos junto con los esteroides, han tenido un papel muy importante en ciertos fundamentos de la Química Orgánica; en particular,

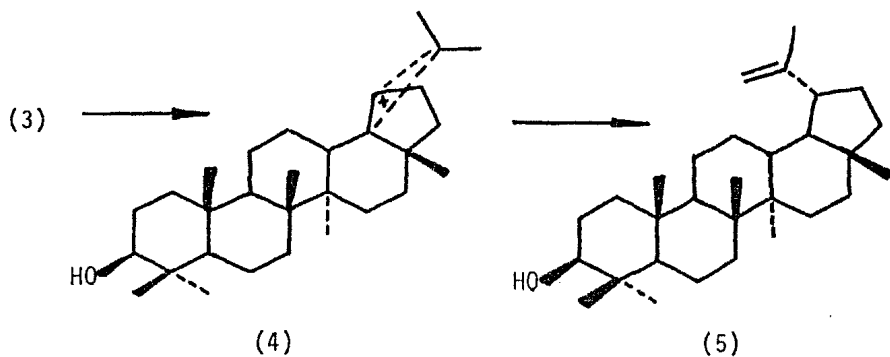
proporcionaron una excelente base experimental, para los principios del Análisis Conformacional<sup>36</sup>.

El escualeno es el precursor biológico inmediato de todos los triterpenos. La biosíntesis de estos compuestos, se realiza mediante las etapas siguientes<sup>36-38</sup>:

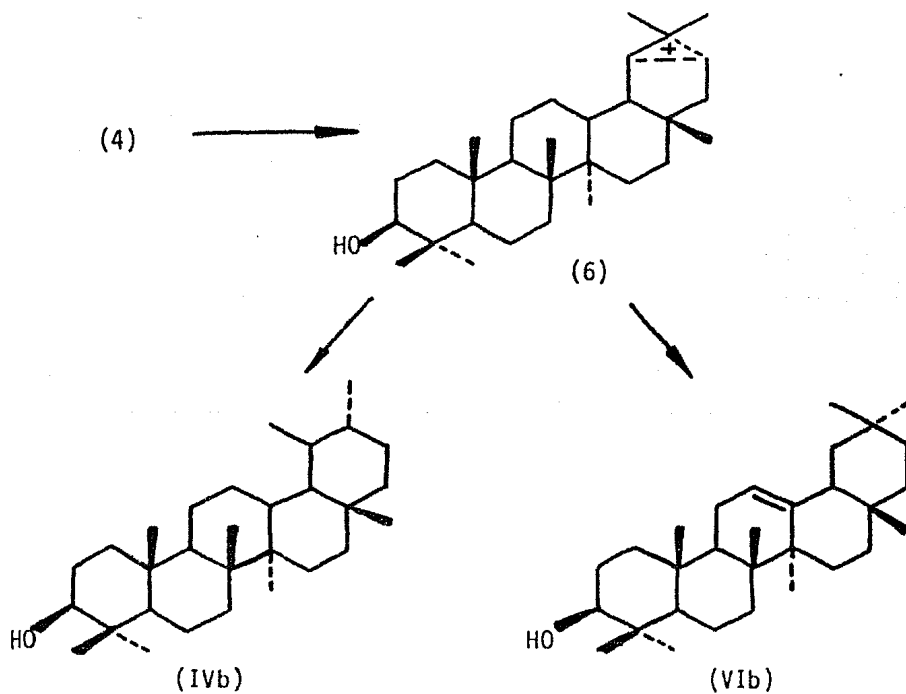
a).- La ciclización del epóxido de escualeno (1) conduce a la formación de un puente catiónico (2), que origina al ion (3):



b).- La unidad de isopreno terminal se cicliza sobre el núcleo tetracíclico, para producir el intermediario (4), el cual, al perder un protón de uno de los grupos metilo, conduce directamente al Lupeol (5) :



c).- Una transposición en el esqueleto de carbono del catión (4) (hay migración del metileno C-20, desde C-21 hasta C-22), produce la entidad (6), la cual, por migración de hidruro y un grupo metilo, puede originar la  $\alpha$ -amirina (IVb), o bien, la  $\beta$ -amirina (VIb).





## GENERALIDADES DE LA PLANTA

## NOMBRE CIENTIFICO :

*Salvia lavanduloides* (H.B.K.)

Clave Herbario Nacional : MEXU 331 237.

## NOMBRE VULGAR :

Se le conoce como "cantueso", aunque también así se le nombra a la *Salvia longispicata*<sup>11</sup>.

## DESCRIPCION :

Es una planta de raíz grande y fibrosa, posee tallos cuadrados largos, en cuyos extremos hay espigas llenas de flores azules. Su sabor es amargo<sup>11</sup>.

## DISTRIBUCION GEOGRAFICA :

Vegeta en el Valle de México, Morelos, Michoacán, Oaxaca, Sinaloa, etc.<sup>11</sup>.

## REFERENCIAS :

Se le menciona en la obra de Hernández<sup>7</sup>, bajo el nombre de Chichiántic ocoitucense. Es citada también en el libro de Sahagún<sup>8</sup>; lo que demuestra que era conocida desde la época prehispánica.

Se le describe también en el libro de Martínez<sup>11</sup> y en los trabajos de recopilación realizados por el Instituto Mexicano para el estudio de las plantas medicinales<sup>9,10</sup>.

## PROPIEDADES MEDICINALES :

Ha sido ampliamente utilizada, dado que popularmente se le atribuyen las siguientes propiedades<sup>9-11</sup> :

- Antipirética
- Expectorante
- Hemostática
- Oxitócica
- Contra la disentería
- Contra la alopecia
- Contra la tos de tuberculosos

Se administra la planta entera o una determinada parte de ella, por vía local u oral<sup>9-11</sup>.

No se han comprobado científicamente sus virtudes curativas; el conocimiento que se tiene es sólo empírico.

Posee un aceite volátil, de uso común, el cual se menciona en la Farmacopea<sup>39</sup>.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando todos los estudios reportados sobre especies del género *Salvia*, se puede observar que no hay trabajos de investigación, efectuados con la planta *Salvia lavanduloides*.

En consecuencia, el presente estudio es el primer análisis químico que se hace, para determinar los componentes del "cantueso".

El aislar e identificar a sus metabolitos secundarios, es de utilidad tanto quimiotaxonómica, como científica, pues de este modo, se pueden relacionar las propiedades medicinales que se atribuyen a la planta, con el tipo de compuestos presentes en ella.

La meta de toda investigación, es aportar nuevos conceptos al conocimiento; por ello, surgió el interés de realizar este estudio.

El trabajo se enfoca a la parte aérea, por ser ésta, la parte de la planta que usualmente se emplea para fines medicinales.

#### IV. OBJETIVOS

- 1.- Efectuar el aislamiento de los principales metabolitos secundarios de *S. lavanduloides*, Lab. ("cantueso").
- 2.- Realizar la elucidación estructural de los productos naturales obtenidos, identificándolos en base a sus constantes físicas (punto de fusión, características de solubilidad, etc.), su comportamiento en ciertas reacciones químicas (lo que dependerá de los grupos funcionales presentes), y considerando la información proporcionada por las técnicas espectroscópicas usuales (absorción en Infrarrojo, Resonancia Magnética Nuclear, Espectrometría de Masas y Difracción de Rayos X).
- 3.- Contribuir al conocimiento de los productos naturales llevando a cabo la investigación química de una planta medicinal mexicana, que aún no había sido estudiada.
- 4.- Contar con bases científicas, para realizar en estudios posteriores, la comprobación de las propiedades observadas empíricamente.

## V. HIPOTESIS DE TRABAJO

Según los estudios realizados con plantas pertenecientes al género *Salvia*<sup>1,14-32</sup>, dentro del cual, se encuentra la planta que se investiga, es de suponer que en el presente proyecto, se aislen triterpenos pentacíclicos que son metabolitos muy comunes en este tipo de plantas.

Al identificar a los principales componentes de *S. lavanduloides*, se determinarán cuáles son sus posibles principios activos.

En este estudio se pueden encontrar productos naturales, que quizá hayan sido ya reportados, pero que no habían sido hallados en la planta medicinal que se investiga.

## VI. MATERIAL

### 1. APARATOS

1. Espectrofotómetro Infrarrojo Perkin-Elmer 283 B.
2. Espectrómetro Varian FTA-80.
3. Espectrómetro de Masas Hewlett-Packard modelo 5985-B GC/MS System.
4. Difractómetro Nicolet R3m (Rayos X).
5. Aparato Fisher-Johns.
6. Balanza analítica Bosch
7. Balanza granataria Ohaus.
8. Rotavapor Buchi.
9. Lámpara Ultraviolet USVL-25.
10. Calentador de vapor.
11. Bomba de vacío y bomba de aire.
12. Agitadores magnéticos.
13. Refrigerante Sargent-Welch.

### 2. MATERIAL DE LABORATORIO

1. Matraces Erlenmeyer (5, 10, 25, 50, 125, 250, 500, 1000 y 5000 ml).
2. Matraces Kitasato (25, 125, 250, 500, 1000 y 5000 ml).
3. Embudos Buchner (varios tamaños).
4. Columnas cromatográficas (50x5 cm, 70x10 cm, 80x12 cm, 100x5 cm).
5. Matraces bola (50, 100, 250, 500, 1000 ml).
6. Embudos talle corto y largo.

7. Cromatoplasmas de gel de sílice 60-F-254 de 0.25 mm de espesor.
8. Probetas de vidrio (10, 25, 50, 100, 500 y 1000 ml).
9. Placas para cromatografía de 20 x 20 cm.
10. Vasos de precipitados (50, 100, 250, 500 y 1000 ml).
11. Embudos de extracción (60, 250, 500, 1000 y 2000 ml).
12. Refrigerantes (varios tamaños).
13. Equipo para destilación simple y fraccionada.
14. Termómetros.
15. Pipetas (1, 5, 10 ml).
16. Espátulas de níquel-cromo.
17. Soportes universal.
18. Pinzas para bureta y de tres dedos.
19. Pissetas de 500 ml.
20. Frascos ámbar.
21. Trampas para vacío
22. Capilares.
23. Pipetas Pasteur.
24. Barras magnéticas (varios tamaños).
25. Perilla de seguridad.

### 3. SUSTANCIAS

1. 2 Kg de parte aérea de *S. lavanduloides*.
2. Solventes orgánicos (cloroformo, acetato de etilo, éter etílico, éter isopropílico, acetona, hexano, metanol, benceno, piridina, etanol).
3. Solución de sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2 N.

4. Reactivo de Jones (267 g de ácido crómico en 230 ml de ácido sulfúrico concentrado y 400 ml de agua; esta solución se afora a un litro).
5. Acido acético, ácido nítrico, ácido perclórico.
6. KOH, p-talil-sulfonil-metil-nitrosamida.
7. Sulfato de sodio (anhidro), cloruro de calcio.
8. Anhídrido acético.
9. Tetrahidrofurano,  $\text{LiAlH}_4$ .
10. Borhidruro de sodio.
11. Celita, Tonsil ( $\text{SiO}_2$  72.5%,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  5%,  $\text{CaO}$  0.8%,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  13%,  $\text{MgO}$  1.5%, agua 8.5%, pH 3).
12. NaCl, NaOH.
13. Malla molecular, ácido p-toluensulfónico.
14. Hielo, hielo seco.
15. Algodón.
16. Sílica gel (mallas 30-70 y 70-230).



## VII. METODOS

### a).- Separación :

Primero debe realizarse la extracción<sup>40,41</sup> de la planta seca, empleando varios disolventes que posean diferente polaridad. Los extractos correspondientes, se purifican por Cromatografía en columna<sup>41</sup>, utilizando sílica gel como material adsorbente y como eluyentes, varios disolventes de menor a mayor polaridad e inclusive, mezclas de ellos. En base a cromatoplasas, se reúnen las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna, que presenten un mismo Rf. Las fracciones de mayor cantidad de materia se pasan a través de una segunda columna cromatográfica, para facilitar la separación de un producto. Si es necesario, se puede emplear la Cromatografía en placa fina<sup>41</sup>, utilizando el sistema de eluyentes más adecuado. Cuando ya se han corrido las placas de cromatografía, se cortan las bandas que posean productos de interés, y se extraen con mezcla de solventes (cloroformo: acetato de etilo:acetona), la cual posteriormente se evapora, para obtener al producto separado.

### b).- Purificación :

Los productos aislados de la extracción y los resultantes de las reacciones realizadas, se purifican por Cromatografía en capa fina<sup>41</sup>, Cromatografía en grueso (Percolación)<sup>42</sup>, o bien por Recristalización<sup>40,41</sup>.

## c).- Identificación :

Con el propósito de identificar a los productos aislados y purificados, así como a los obtenidos en las reacciones, se determinan constantes físicas tales como : punto de fusión y solubilidad. A fin de determinar la estructura de los compuestos, se utilizaron los siguientes métodos espectroscópicos :

1. Espectrometría Infrarroja<sup>43,44</sup> : para determinar qué grupos funcionales posee la molécula, en base a las bandas de absorción que se tengan a diferentes longitudes de onda.
2. Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear<sup>43,45</sup>: para la determinación de las características y de las interacciones entre los diversos protones de la molécula.
3. Espectrometría de Masas<sup>43,46</sup>: técnica que unida al análisis elemental, proporciona información sobre el tipo de estructura y el peso molecular de las sustancias y sus fragmentos.
4. Difracción de Rayos X<sup>47,48</sup> : técnica basada en la difracción de un haz de rayos X, al hacerlo incidir sobre la celda unitaria de un compuesto; con ella se obtienen los correspondientes ángulos y longitudes de los enlaces de todos los átomos presentes en la estructura. Proporciona, de acuerdo con datos procesados por computadora, un espectro tridimensional de la molécula estudiada. Esta técnica es particularmente usada en la determinación de la estructura y estereoquímica de moléculas complicadas.

## VIII. DESARROLLO

### 1. CONSIDERACIONES PREVIAS

La parte aérea del cantueso que se analizó en el presente estudio, previamente se dejó secar, a temperatura ambiente, a fin de eliminarle todo el contenido de agua; esto se hizo debido a que, para realizar la extracción se iban a utilizar disolventes orgánicos (n-hexano y cloroformo) con los cuales interferiría la proporción acuosa de la planta, pues podrían originarse emulsiones, que disminuyen la efectividad del proceso de extracción.

La elección de n-hexano y cloroformo como disolventes para dicha extracción, se fundamenta en el hecho de que, la experiencia adquirida en otros estudios, demuestra que estos disolventes son los más apropiados para llevar a cabo la obtención de productos naturales.

### 2. DESARROLLO DEL TRABAJO

#### 2.1. EXTRACCION

##### 2.1.1 Extracción con n-hexano

Una muestra de la planta *Salvia lavanduloides*, se recolectó en el mes de octubre de 1981, en las cercanías de Cuernavaca, Edo. de Morelos.

La parte aérea de la planta seca (1.28 kg), se extrajo con n-hexano (10 l), a reflujo durante una hora; posteriormente, se decantó el material y se concentró a sequedad. La operación se repitió dos veces más obteniéndose 17.8 g de extracto total.

Del extracto hexánico, precipitó un sólido blanco amorfo

(Compuesto 1), que pesó 0.922 g, y que por cristalizaciones sucesivas en metanol, dió un punto de fusión de 271-173°C. Se llevó a cabo la determinación de los espectros de IR, RMP y Masas, así como su correspondiente análisis elemental.

### 2.1.2. Extracción con cloroformo

Al material vegetal, libre de n-hexano, se le agregó cloroformo (10 l) y se procedió a realizar la extracción, de la manera descrita anteriormente. Se logró la obtención de 85 g de extracto.

Del extracto clorofórmico, también se obtuvo por precipitación, un sólido blanco amorfo que pesó 4.304 g y que después de ser recristalizado en metanol, tuvo el mismo p. f. que el Compuesto 1; esto, junto con el hecho de que, en placas de cromatografía, se observaba el mismo Rf para los dos productos aislados, llevó a concluir que se trataba, en realidad, de un mismo compuesto.

## 2.2 SEPARACION EN COLUMNA

### 2.2.1 Preparación del extracto

Las aguas madres del Compuesto 1, aislado del extracto hexánico, se sometieron a una percolación, a través de una columna de tonsil, eluyendo con n-hexano; las primeras fracciones contenían ceras y compuestos no polares de poca importancia, por lo que fueron desechadas.

Las fracciones de mayor polaridad mostraron, por cromatografía en capa fina, que contenían los mismos compuestos que los presentes en el extracto clorofórmico, por lo que se reunieron con este último, a fin de someter todo a una separación en columna.

### 2.2.2. Cromatografía en columna

La cromatografía del extracto se realizó, empleando gel de sílice como adsorbente (en proporción 30:1); como eluyente, se utilizó cloroformo y para aumentar progresivamente la polaridad, se le mezcló con acetona.

De las fracciones eluidas con cloroformo:acetona (98:2), se obtuvo 1 g de un sólido blanco amorfo (Compuesto 2), que recristalizado de acetona, dió un p.f. de 300-305°C. Se determinaron sus espectros de IR y RMP.

De las fracciones eluidas con cloroformo:acetona (96:4), se logró la obtención de 4 g adicionales del Compuesto 1.

### 2.3. FORMACION DE DERIVADOS

Se realizaron las siguientes reacciones, para los productos naturales aislados de *Salvia lavanduloides*:

#### a) METILACION DEL COMPUESTO 1

##### a.1) Preparación de diazometano<sup>49</sup>

A una solución de KOH (5 g en 7.5 ml de agua), 25 ml de etanol y 15 ml de éter etílico (anhídrido), se les fue añadiendo lentamente, una solución de Diazald (21.5 g de p-tolilsulfonilmetilnitrosamida en 100 ml de éter etílico). La reacción se llevó a cabo, a una temperatura de 58-60°C, con agitación constante. El diazometano se recolectó sobre 25 ml de éter etílico, en un baño de hielo-sal.

##### a.2) Obtención del éster metílico del Compuesto 1<sup>50-52</sup>

A 1 g del Compuesto 1, disuelto en 100 ml de metanol, se

fue añadiendo paulatinamente, diazometano; la reacción se realizó en un baño de hielo, con agitación constante. La adición de diazometano se efectuó hasta que ya no hubo desprendimiento de nitrógeno, a la vez que se seguía la reacción por cromatografía en capa fina (cloroformo:acetona, 95:5).

Una vez completada la reacción, se añadieron unas gotas de ácido acético, hasta obtener un pH neutro; después, se agregó un poco de acetato de etilo. Posteriormente, la mezcla resultante fue concentrada a sequedad, y cristalizando de acetato de etilo/hexano, se obtuvieron 0.986 g como sólido blanco amorfo, de un producto que fue identificado como el éster del Compuesto 1, y que por recristalizaciones sucesivas, tuvo un p.f. de 111-114°C. Compuesto 1a.

b) ACETILACION DEL COMPUESTO 1a<sup>53-55</sup>

A 112 mg del Compuesto 1a, se agregaron 1 ml de piridina y 1 ml de anhídrido acético; la mezcla de reacción se dejó por 45 minutos en baño maría, siguiendo el curso de la acetilación, por medio de cromatografía en capa fina (cloroformo:acetona, 95:5).

Una vez concluida la reacción, se le agregó agua, precipitando unos sólidos amorfos, que fueron filtrados, disueltos en cloroformo, y secados con sulfato de sodio anhidro; las aguas madres se lavaron con una solución acuosa de HCl (al 20%) hasta pH ácido, posteriormente, se lavaron con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>, hasta pH neutro; después se lavaron con agua, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se concentraron.

El residuo obtenido por extracción, y los sólidos que precipitaron inicialmente, presentaron la misma composición, por lo que, se

reunieron y se purificaron por medio de una cromatografía en placa preparativa (hexano:acetona, 9:1, eluída 2 veces). De este modo, se obtuvieron 49 mg de un producto que cristaliza de metanol, como sólido blanco amorfo, con un p.f. de 212-215°C. Compuesto 1b.

c) OXIDACION DEL COMPUESTO 1a<sup>50,51,56</sup>.

Se disolvieron 157 mg del Compuesto 1a, en aproximadamente 10 ml de acetona; la solución se colocó en baño de hielo y paulatinamente, se le agregó gota a gota, reactivo de Jones, con agitación continua, hasta que persistió un color café rojizo, siguiendo el curso de la oxidación por medio de cromatografía en capa fina (cloroformo:acetato de etilo, 95:5).

Cuando se completó la reacción, se agregó agua, observándose la precipitación de unos sólidos amarillentos, los cuales fueron filtrados, disueltos en cloroformo y secados con sulfato de sodio anhidro; el líquido filtrado se extrajo con cloroformo, y la fracción orgánica recolectada, fue secada con sulfato de sodio anhidro; la solución anterior y la de los sólidos amarillentos, presentaron la misma composición, por lo que fueron reunidas y llevadas a sequedad. El residuo obtenido fue recrystalizado con hexano, recolectándose sólidos blancos amorfos, 98.5 mg, con p.f. de 184-187°C. Compuesto 1c.

d) REDUCCION DEL COMPUESTO 1c<sup>57,58</sup>.

A una solución de 92.3 mg del Compuesto 1c, en 7 ml de metanol y 5 ml de tetrahydrofurano, se le añadieron 94.3 mg de borhidruro de sodio, manteniendo la mezcla de reacción, en un baño de hielo. Se siguió el curso de la reducción mediante cromatografía en capa fina (hexano:acetato de etilo, 9:1).

Una vez concluida la reacción (10 minutos), se agregó agua y posteriormente, se aciduló la mezcla con ácido acético, hasta pH 6, sometiéndola después a extracción con acetato de etilo; la fase orgánica obtenida fue concentrada y el residuo se purificó mediante una percolación a través de gel de sílice, eluyendo con hexano:acetato de etilo (8:2). Se obtuvieron 41.3 mg de un sólido amorfo que cristaliza de hexano, p.f. 112-114°C, y que fue identificado, por espectro de infrarrojo en paralelo, como el Compuesto 1a.

e) REDUCCION DEL COMPUESTO 1<sup>57,60</sup>.

Una solución de 204 mg del Compuesto 1, en 50 ml de tetrahidrofurano, fue añadida gota a gota, sobre una suspensión de 700 mg de hidruro de litio y aluminio en 60 ml de tetrahidrofurano; dicha adición se realizó en condiciones anhidras, sometiéndola a calentamiento a reflujo, con agitación continua. El curso de la reducción, se siguió por medio de cromatografía en capa fina (cloroformo:acetona, 8:2).

Después de dos horas, se suspendió el calentamiento y posteriormente, se agregaron lentamente, 70 ml de acetato de etilo, a temperatura ambiente; se le añadió agua y con ello, se provocó la precipitación de hidróxido de aluminio, el cual fue filtrado y lavado varias veces con metanol, juntando finalmente, toda la parte orgánica, llevándola después a sequedad.

El residuo resultante fue purificado por medio de una cromatografía en placa preparativa (cloroformo:acetona, 9:1). De las franjas obtenidas, se extrajo con mezcla de solventes (acetato de etilo:



lo:acetona:cloroformo), al producto reducido, el cual fue purificado nuevamente, disolviéndolo en cloroformo, con lo que se eliminó al Compuesto 1 remanente; se llevó a sequedad y el residuo se recrystalizó con hexano, obteniéndose 41 mg de un producto con p.f. de 214-216°C. Compuesto 1e.

f) REDUCCION DEL COMPUESTO 1a<sup>57,60</sup>.

Una solución de 221 mg del Compuesto 1a, en 30 ml de tetrahidrofurano, se agregó gota a gota sobre una suspensión de 700 mg de hidruro de litio y aluminio, en 60 ml de tetrahidrofurano; la reducción se realizó de manera semejante, a la efectuada con el Compuesto 1. El curso de la reacción se siguió por medio de cromatografía en capa fina (cloroformo:acetona, 9:1).

Después de tres horas, se puso fin al calentamiento y después se añadieron lentamente, 50 ml de acetato de etilo, a temperatura ambiente. Se colocó la mezcla de reacción en un baño de hielo, provocándose así la precipitación del hidróxido correspondiente, el cual se filtró y se lavó varias veces con metanol. Los extractos orgánicos reunidos fueron evaporados a sequedad.

El residuo obtenido fue disuelto en cloroformo, secado con sulfato de sodio anhidro, y purificado por cromatografía en columna de sílice; se comenzó la elución con hexano y se fue aumentando la polaridad, con cloroformo, hasta el 100% de éste, y posteriormente, se le agregó acetona, hasta el 100%, con el mismo objeto.

De las fracciones eluidas con cloroformo:acetona (95:5), se recolectó un sólido amorfo de color blanco, que recrystalizado de he-

xano dió un p.f. de 214-216°C y un peso de 30.6 mg. Compuesto 1e.

g) METILACION DEL COMPUESTO 2<sup>50-52</sup>

A una solución de 195.9 mg del Compuesto 2, en 15 ml de metanol, se agregó lentamente diazometano, hasta que cesó el desprendimiento de nitrógeno; la reacción se llevó a cabo, en un baño de hielo, con agitación constante. El curso de la esterificación, se siguió por cromatografía en capa fina (cloroformo:acetona, 9:1).

A los treinta minutos de reacción, se agregó ácido acético (hasta un pH 6), y la mezcla total se llevó a sequedad. El residuo obtenido se disolvió en cloroformo, y se purificó por medio de cromatografía en columna de sílice, eluyendo con cloroformo, aumentando paulatinamente la polaridad con acetona.

De las fracciones eluidas con cloroformo:acetona (95:5), se obtuvo un producto, que recristalizado de metanol, como sólido blanco amorfo, pesó 63.4 mg, con p.f. de 190-193°C. Compuesto 2g.

h) ACETILACION DEL COMPUESTO 2g<sup>53-55</sup>.

43.6 mg del Compuesto 2g, disueltos en 0.5 ml de anhídrido acético y 0.5 ml de piridina, se dejaron en reposo durante toda una noche a temperatura ambiente.

Posteriormente, se añadió agua a la mezcla de reacción, y se procedió a extraer en la misma forma que para el Compuesto 1b.

Se obtuvieron agujas blancas, que recristalizadas de hexano, dieron un p.f. de 216-217°C y un peso de 33.6 mg. Compuesto 2h.

i) OXIDACION DEL COMPUESTO 2g<sup>50,51,56</sup>.

A 17.2 mg del Compuesto 2g, disueltos en 10 ml de acetona,

agregó gota a gota, una solución de reactivo de Jones, manteniendo la mezcla de reacción en baño de hielo. El curso de la oxidación se siguió por medio de cromatografía en capa fina (cloroformo:acetona, 9:1), y por la permanencia de un color café rojizo.

Se paró la reacción, añadiéndole agua y se sometió la mezcla a extracción con acetato de etilo; la parte orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y posteriormente, se concentró. El residuo obtenido se purificó por medio de una percolación a través de una columna de gel de sílice, eluyendo con hexano y empleando acetato de etilo para aumentar la polaridad.

De las fracciones eluidas con hexano:acetato de etilo (9:1), se recolectó un producto, que fue recristalizado de metanol, como sólido blanco amorfo; tuvo un p.f. de 168-171°C y pesó 2.1 mg. Compuesto 2i.

### 3. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio, se describen a continuación, mencionando constantes físicas y datos espectroscópicos, de los dos productos naturales aislados y de sus diversos derivados sintetizados.

#### Compuesto 1 :

Este compuesto se aisló en forma directa, por precipitación al concentrar los extractos de hexano y de cloroformo; se obtuvieron cantidades adicionales, al efectuar la cromatografía en columna del extracto total. Se aislaron 9.226 g de un sólido amorfo blanco con

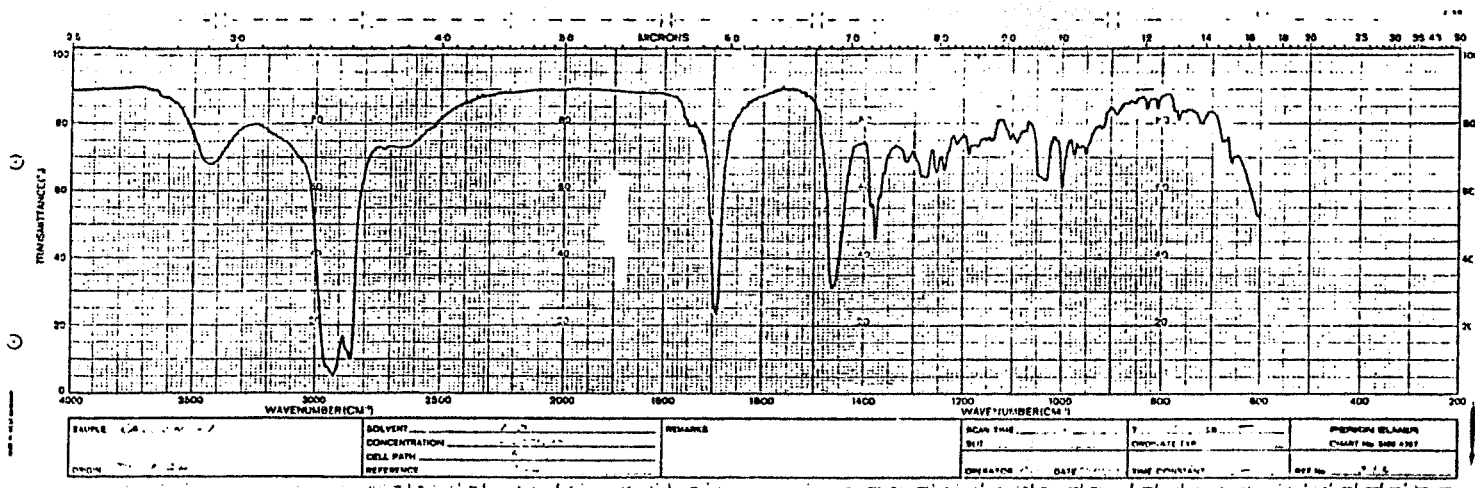
p.f. 271-273°C. El compuesto es soluble en metanol e insoluble en hexano y cloroformo. En el espectro de Infrarrojo (espectro No. 1), se observan bandas de absorción significativas a 3440 (OH), 2920 (CH<sub>3</sub>), 2860 (CH<sub>2</sub>), 1690 (COOH), 1465 (CH<sub>2</sub>), 1380 (dos CH<sub>3</sub> gem), y 1000 (C-O) cm<sup>-1</sup>. En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H (espectro No. 2), se tienen singuletes a 0.78, 0.80, 0.91, 0.94, 0.99, 1.15 y 1.27 ppm, 21 H (-CH<sub>3</sub>); un multiplete a 1.85 ppm, 1H (OH); una señal doble de doble a 3.15 ppm, 1H (HC-OH); y un triplete a 5.25 ppm, 1H (H-C=). En el espectro de masas (espectro No. 3), se observan señales de m/e y sus correspondientes porcentajes a 457.3 (0.6), 456.3 (1.5) M<sup>+</sup>, 454.3 (0.5), 446 (0.3), 248.2 (100), 203.3 (52.8), 133.2 (75.1), y 69.1 (38.9). Análisis elemental\* para C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>. % Calculado: C, 78.89; H, 10.59; O, 10.51. % Encontrado: C, 78.24; H, 10.43; O, 10.40.

#### Compuesto 2:

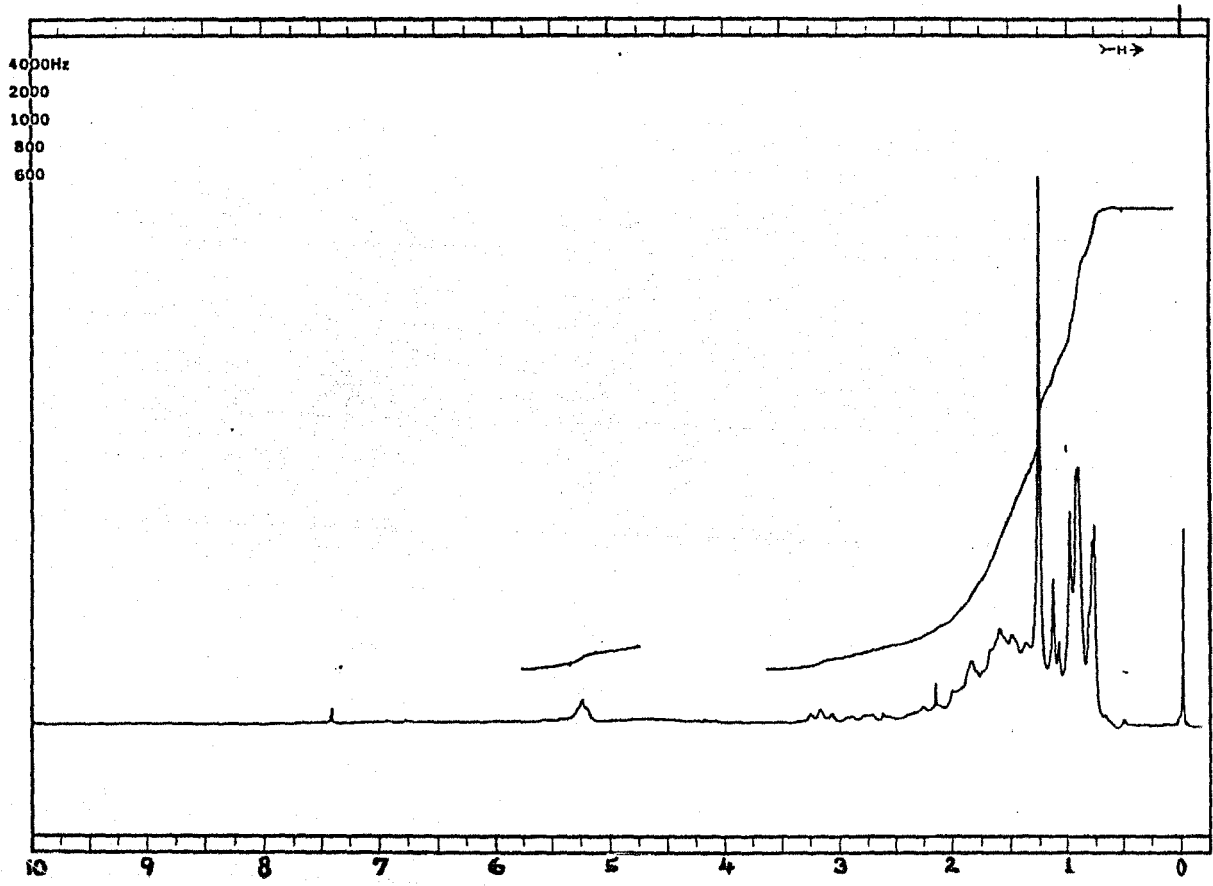
Este compuesto fue aislado mediante la cromatografía en columna del extracto total. Se obtuvo 1 g de un sólido blanco amorfo, con un p.f. de 300-305°C. El compuesto es soluble en acetona y cloroformo. En el espectro de Infrarrojo (espectro No. 4), se tienen las principales bandas de absorción a 3620 (OH), 3520, 2950, 1700 (COOH), 1465 (CH<sub>2</sub>), 1390 y 1030 cm<sup>-1</sup>. En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H (espectro No. 5), se observan singuletes a 0.78, 0.93, 1.00, 1.15 y 1.25, 21 H (-CH<sub>3</sub>); un multiplete a 1.65 ppm, 1H (OH); una señal doble de doble a 3.20 ppm, 1H (HC-OH); y un triplete a 5.27 ppm, 1H (H-C=). Como el compuesto presenta un alto punto de fusión, no fue factible obtener

---

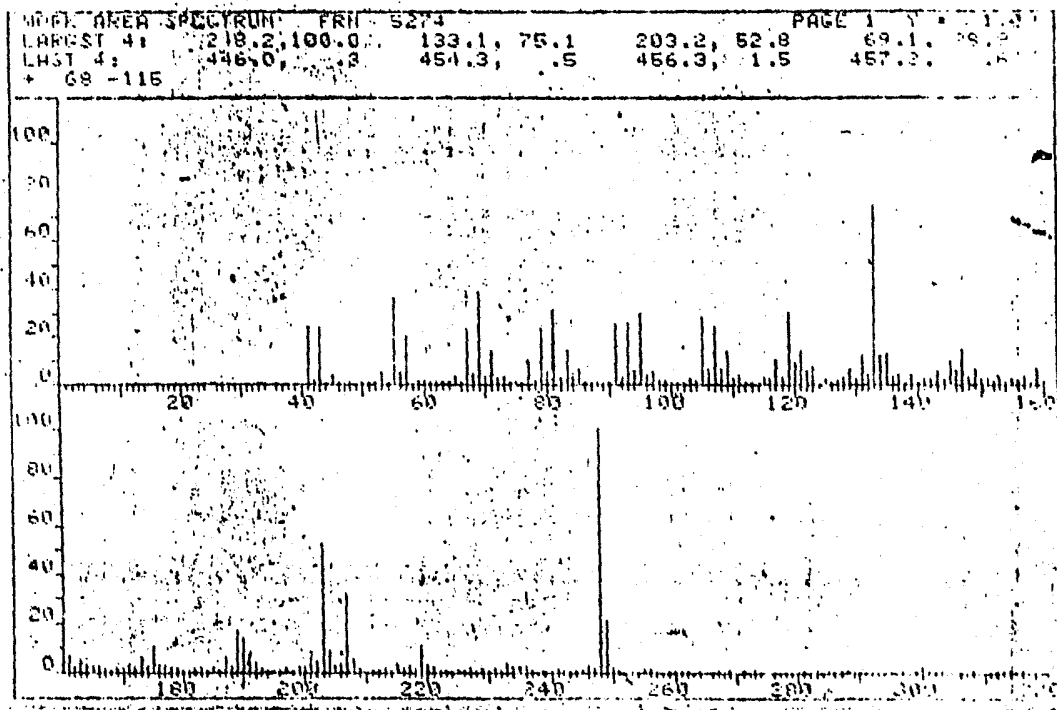
\* Este análisis fue realizado por la Dra. Ellen Pascher, en Bonn, República Federal Alemana.



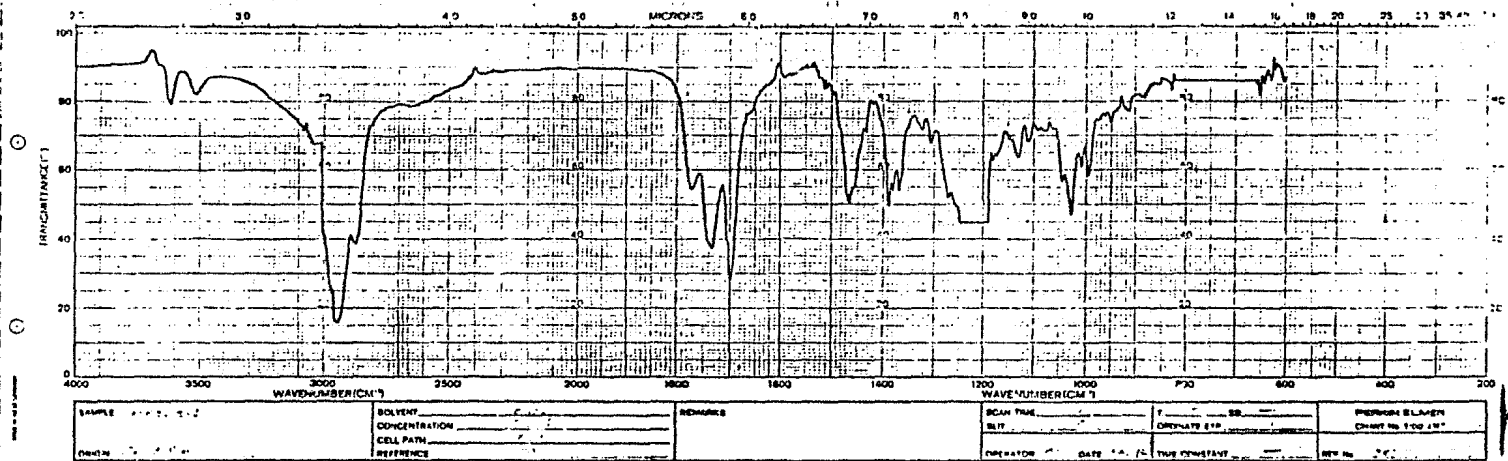
Espectro No. 1



Espectro No. 2

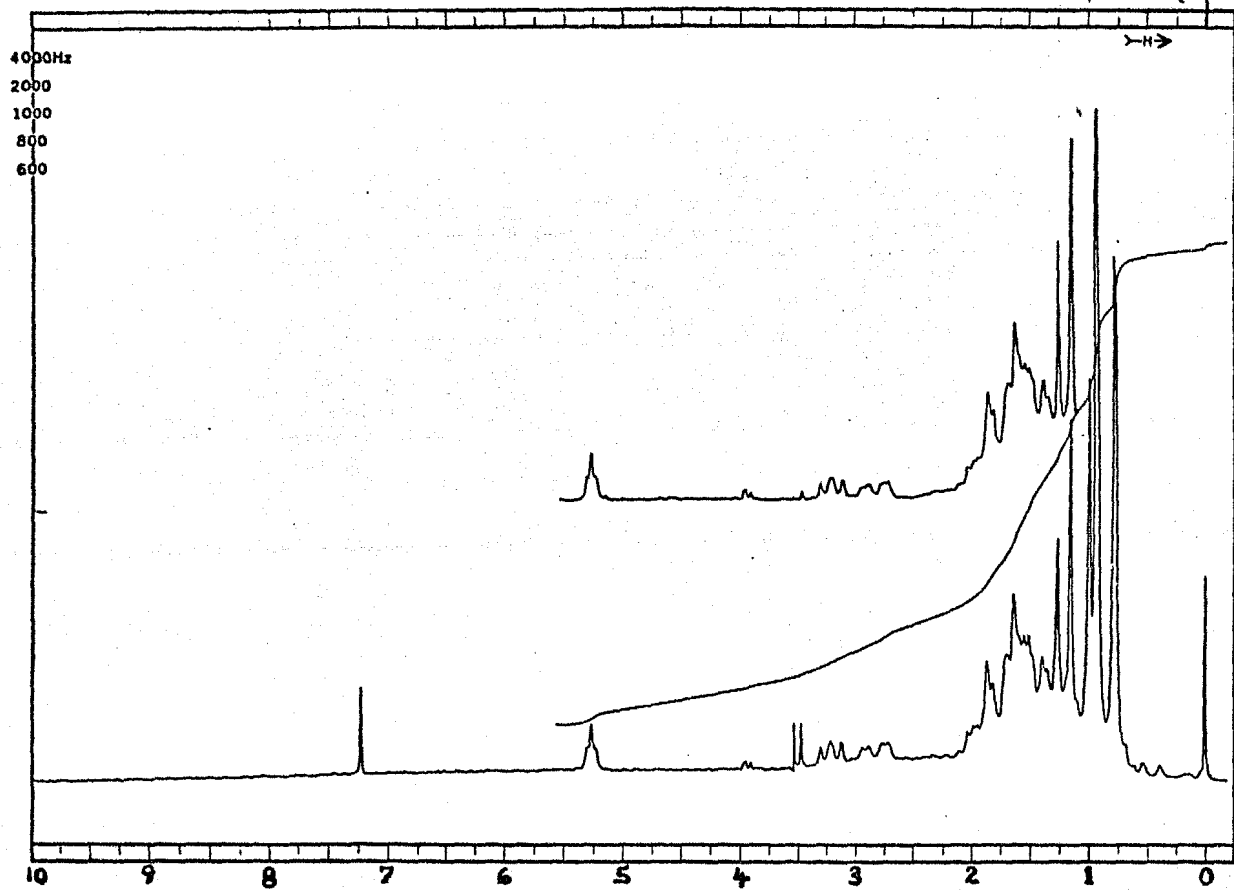


Espectro No. 3



Espectro No. 4





Espectro No. 5

su correspondiente espectro de masas.

Compuesto 1a:

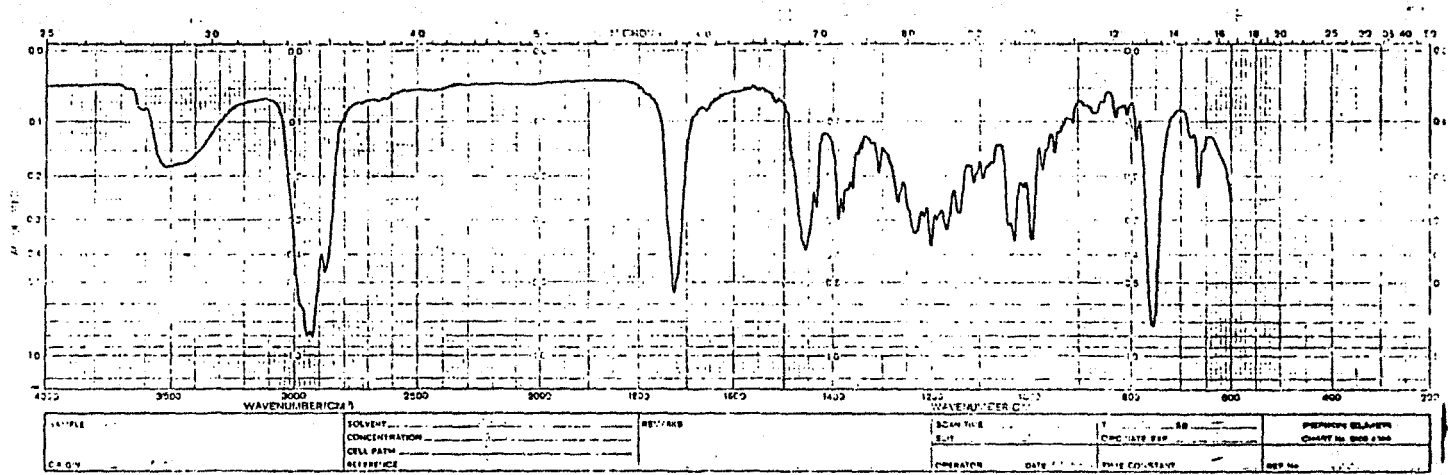
Este compuesto es producto de la reacción fue metilación del Compuesto 1. Tiene un p.f. de 111-114°C. El compuesto es soluble en cloroformo, éter isopropílico, y acetato de etilo. En su espectro de Infrarrojo (espectro No. 6), se presentan bandas significativas a 3520 (OH), 2960, 2030, 2880, 1720 (éster y anillo carbonílico), 1460, 1170, 1030 y 999  $\text{cm}^{-1}$ . En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 7), se tienen singuletes a 0.78, 0.75, 0.91, 0.99, 1.09, 1.14, 1.25 ppm, 21H ( $\text{CH}_3$ ); una señal doble de doble a 3.18 ppm, 1H ( $\text{HC-OH}$ ); un singulete a 3.6 ppm, 3H ( $\text{COOCH}_3$ ); y un triplete a 5.14 ppm, 1H ( $\text{H-C=}$ ). En su espectro de masas (espectro No. 8) se observan señales m/e y porcentajes de abundancia, a 472.4 (0.5), 471.4 (1.1), 470 (2.5)  $\text{M}^+$ , 536.3 (0.3), 542.3 (0.5), 263.2 (28.8), 262.2 (100), 207.3 (36.5), 203.2 (97.9). Análisis elemental para  $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3^*$ . % Calculado: C, 79.10; H, 10.71; O, 10.20. % Encontrado: C, 77.99; H, 10.48, O, 10.04.

Compuesto 1b:

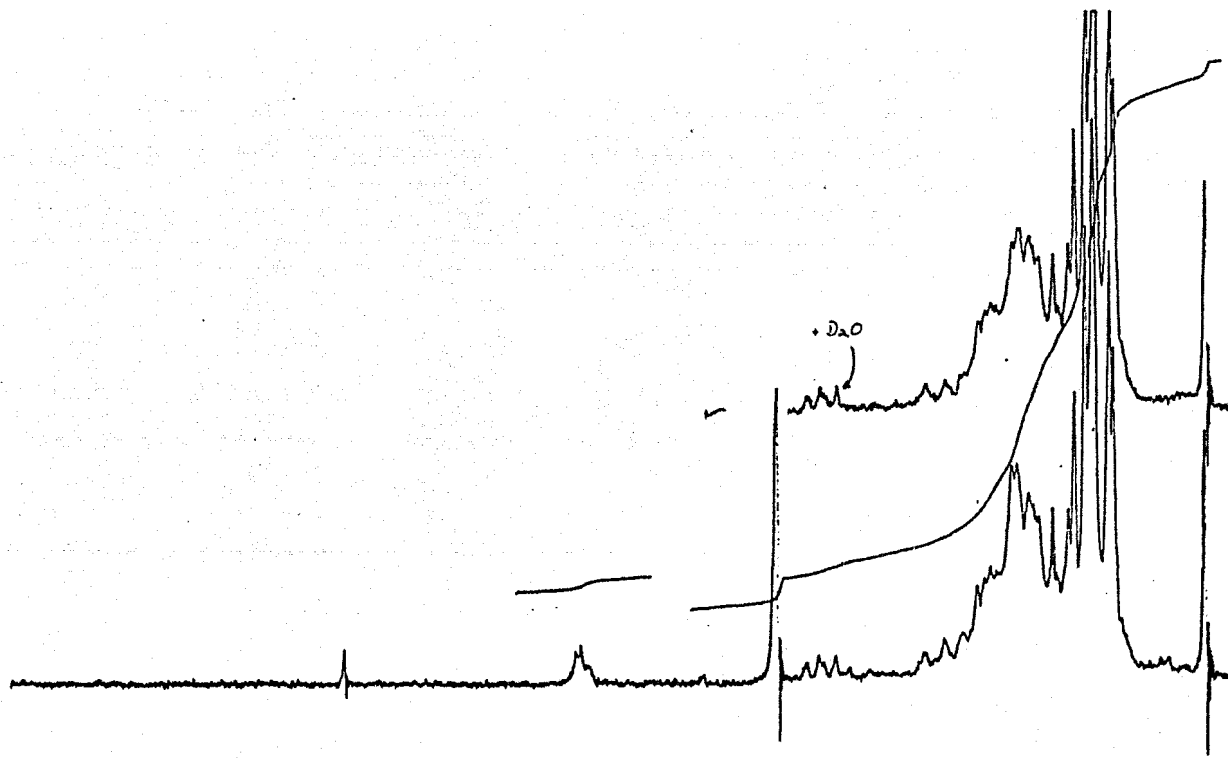
Este compuesto fue obtenido por medio de la reacción de acetilación del Compuesto 1a. Tiene un p.f. de 212-215°C. Es soluble en cloroformo. En el espectro de Infrarrojo (espectro No. 9), se observan las principales bandas de absorción a 2950, 2930, 2880, 1738 (acetil y éster carbonílico), 1248 (metil acetoxi), 1030 y 760  $\text{cm}^{-1}$ . En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 10), aparecen singuletes a 0.76, 0.90, 0.96, 1.09, 1.14 y 1.26, 21H ( $\text{CH}_3$ ); un singulete a 2.05 ppm, 3H

---

\* Análisis realizado también por la Dra. Ellen Pascher.

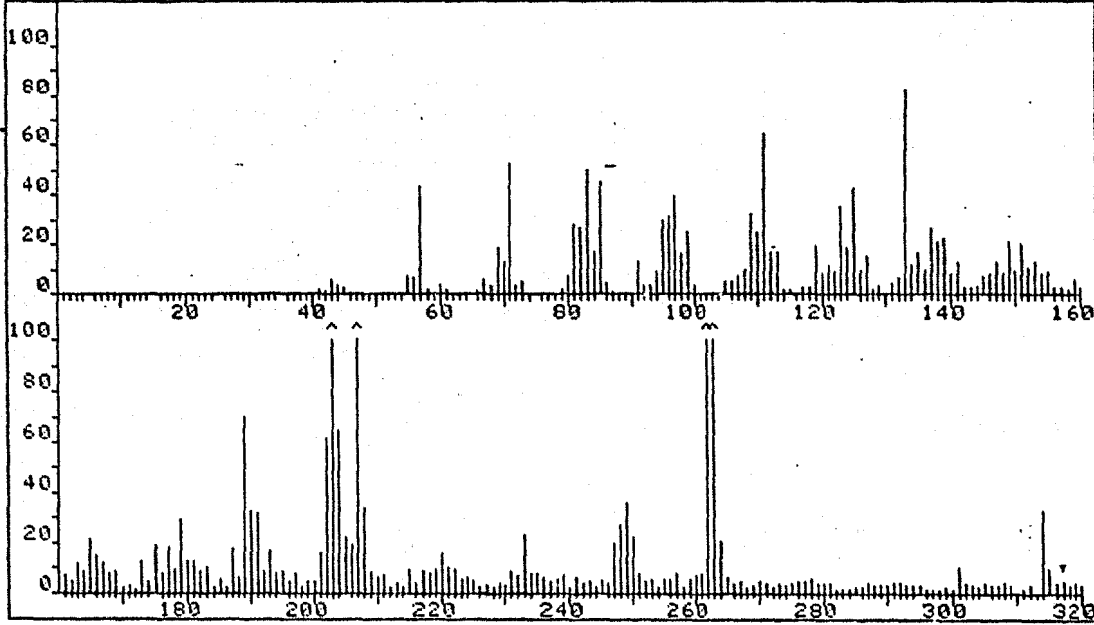


Espectro No. 6

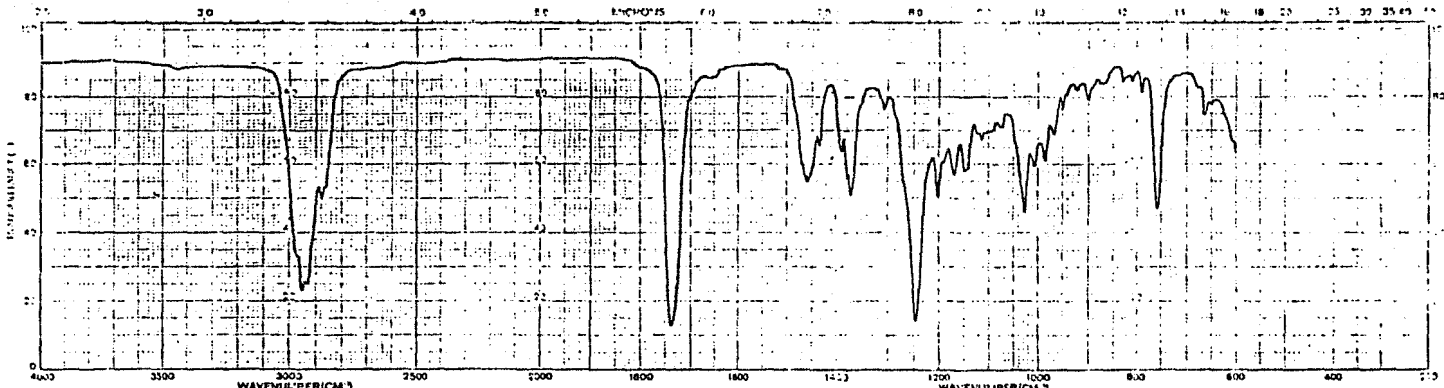


Espectro No. 7

FRN 5278	SPECTRUM 51		RETENTION TIME 2.1	
LARGST 4:	262.2, 100.0	203.2, 97.9	207.3, 36.5	263.2, 28.8
LAST 4:	471.4, 1.1	472.4, .5	536.3, .3	542.3, .5
				PAGE 1 Y = 4.00

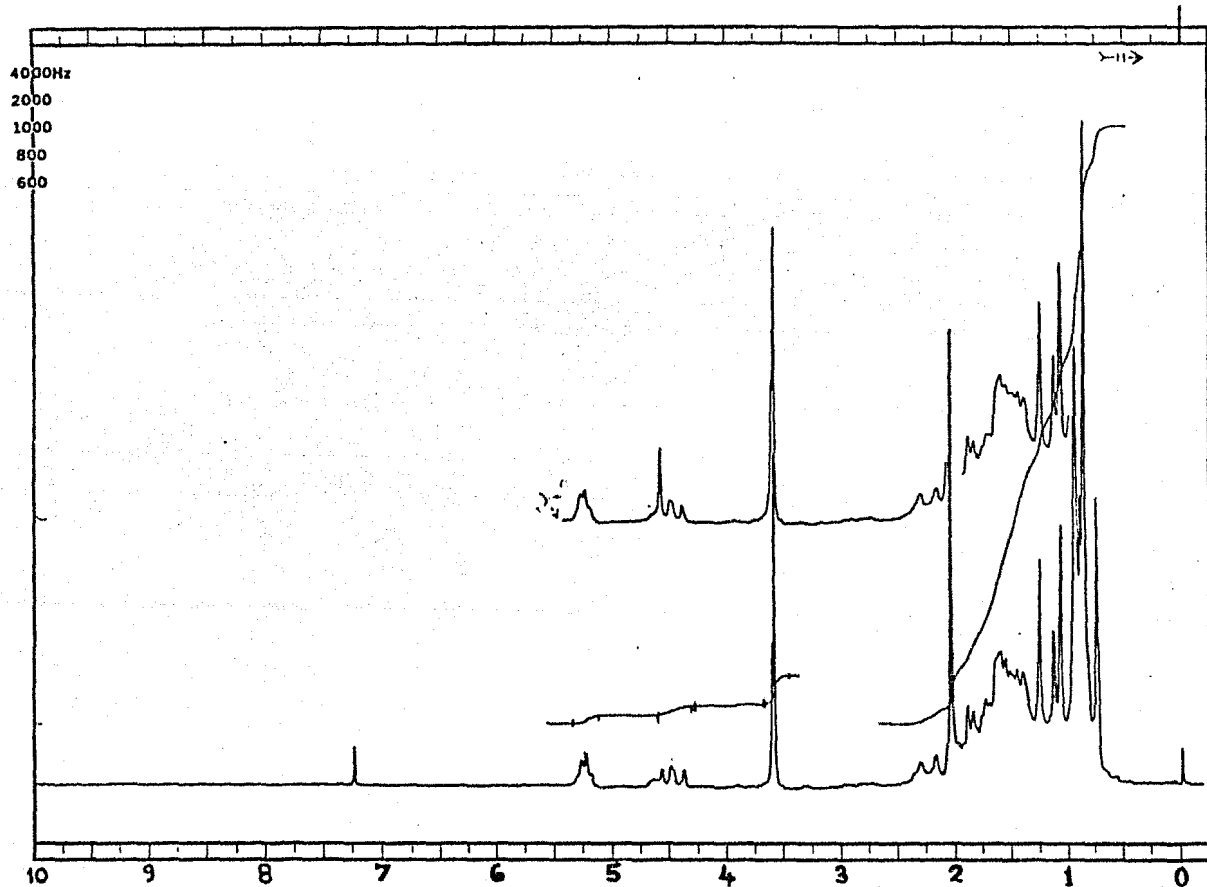


Espectro No. 8



SAMPLE _____ PREPARED BY _____ DATE _____	SOLVENT _____ CONCENTRATION _____ CELL PATH _____ REFERENCE _____	REVIEWED _____ DATE _____	SCAN LINE _____ INSTRUMENT _____ OPERATOR _____ DATE _____	IR TRANSMITTANCE _____ CHEMIST'S SIGNATURE _____ DATE _____
---	--	------------------------------	--	---

Espectro No. 9



Espectro No. 10

( $\text{H}_3\text{CCOO}^-$ ); un singulete a 3.6 ppm, 3H ( $-\text{COOCH}_3$ ); una señal doble de doble a 4.5 ppm, 1H ( $\text{CH}(\text{OCOCH}_3)$ ); y un triplete a 5.25 ppm, 1H (C=C-H). En el correspondiente espectro de masas (espectro No. 11), aparecen señales de m/e y sus correspondientes porcentajes a 514.4 (0.2), 513.4 (0.7), 511.4 (0.4), 512.4 (2.1)  $\text{M}^+$ , 262.2 (100), 203.3 (71.5), 133.1 (31.4) y 43.1 (55.7).

Compuesto 1c:

Este compuesto es la correspondiente cetona del Compuesto 1a. Posee un p.f. de 184-187°C. Es soluble en cloroformo. En su espectro de Infrarrojo (espectro No. 12), se tienen bandas significativas a 2970, 2950, 2930, 2880, 2860, 1725 (carboxilo), 1720 (carbonilo), 1460, 1200, 1000 y 760  $\text{cm}^{-1}$ . En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 13), se observan singuletes a 0.80, 0.90, 0.95, 1.05, 1.10 y 1.26 ppm, 21H ( $\text{CH}_3$ ); un singulete a 3.6 ppm, 3H ( $\text{COOCH}_3$ ); y un triplete a 5.25 ppm, 1H (C=C-H). En el espectro de masas (espectro No. 14), aparecen señales de m/e y porcentajes de abundancia a 485.4 (0.2), 484.4 (0.3), 482.2 (0.3), 470.2 (0.4), 469 (1.2)  $\text{M}^+$ , 263.2 (23.8), 262.2 (100), 203.2 (88.8) y 133.1 (33.5).

Compuesto 1d:

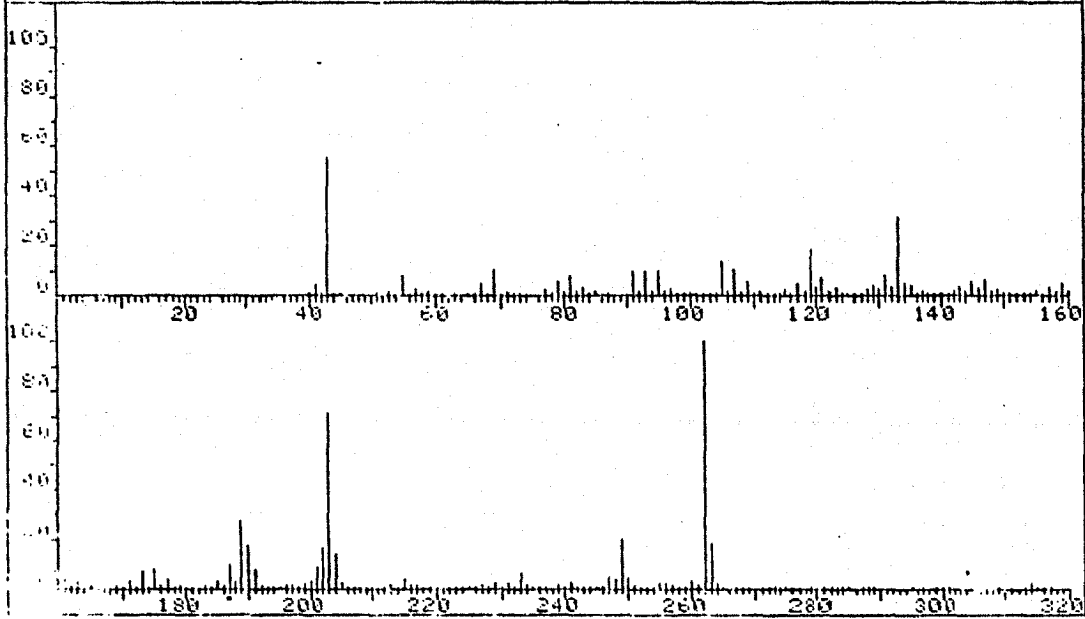
Este compuesto es el producto de la reducción estereoselectiva del Compuesto 1c. Tiene un p.f. de 112-114°C. Posee los mismos datos espectroscópicos que el Compuesto 1a. En el espectro No. 15, se muestra la absorción en Infrarrojo, en paralelo, de ambos Compuestos.

Compuesto 1e:

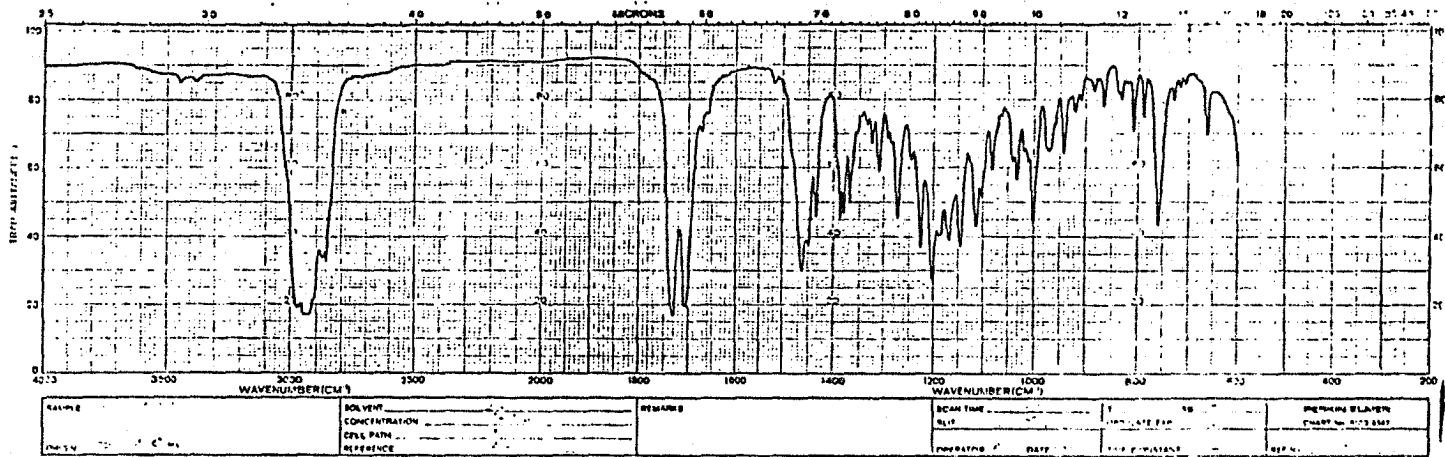
Este compuesto fue obtenido por medio de la reducción del



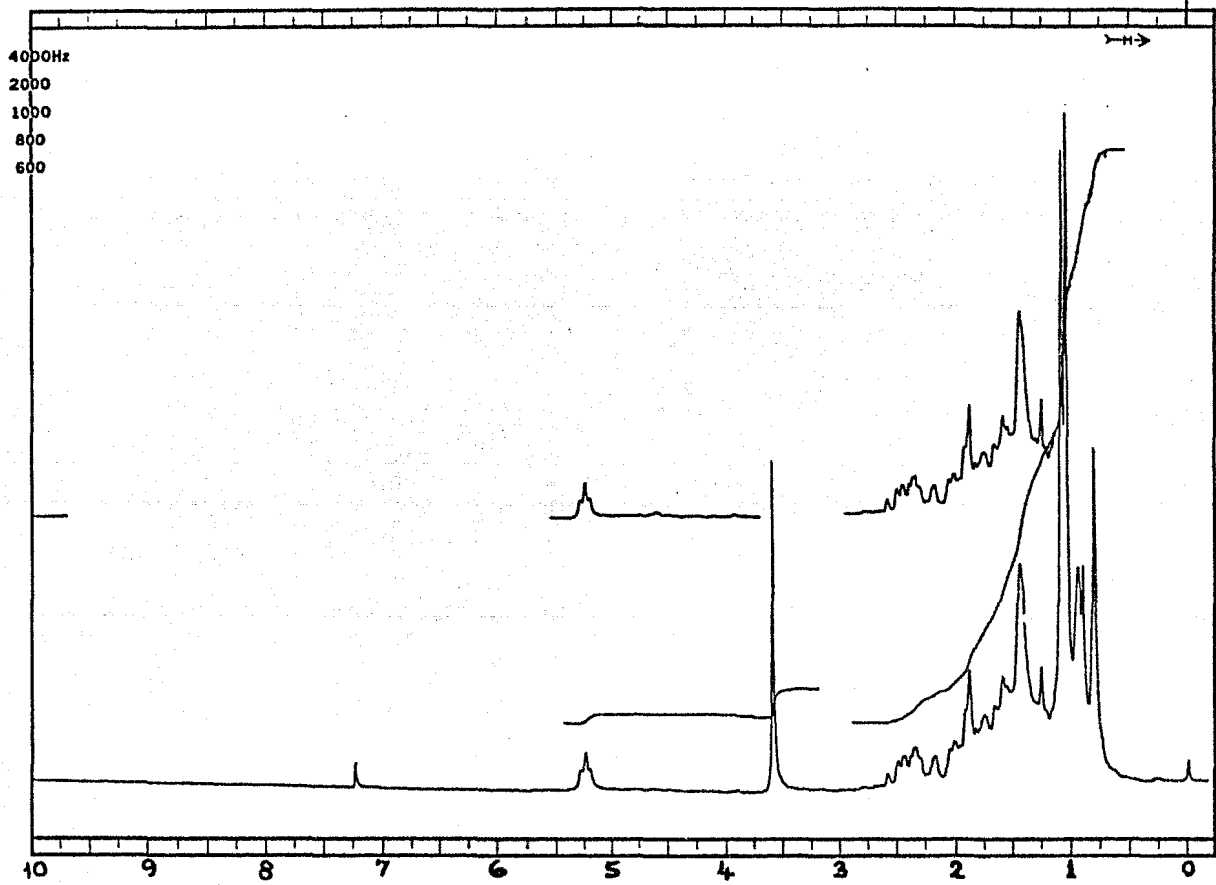
FKN 5317	SPECTRUM 109	RETENTION TIME 4.8
LARGST 4: 262.2, 100.0	203.3, 71.5	43.1, 55.7 133.1, 31.4
LAST 4: 511.4, .4	512.4, 2.1	513.4, .7 514.4, .2
		PAGE 1 Y = 1.00



Espectro No. 11

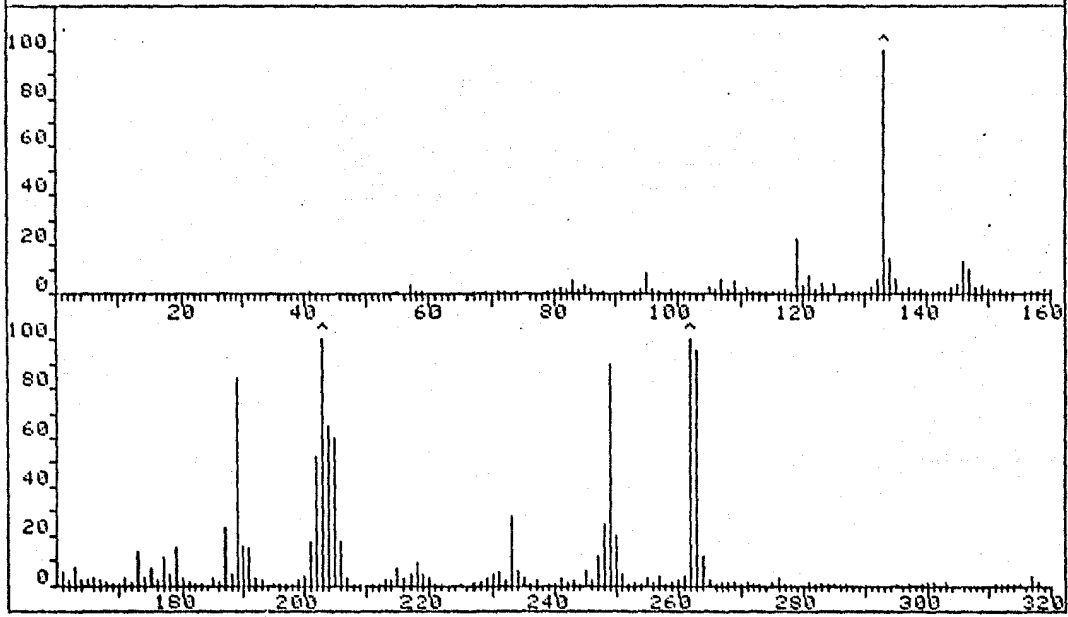


Espectro No. 12

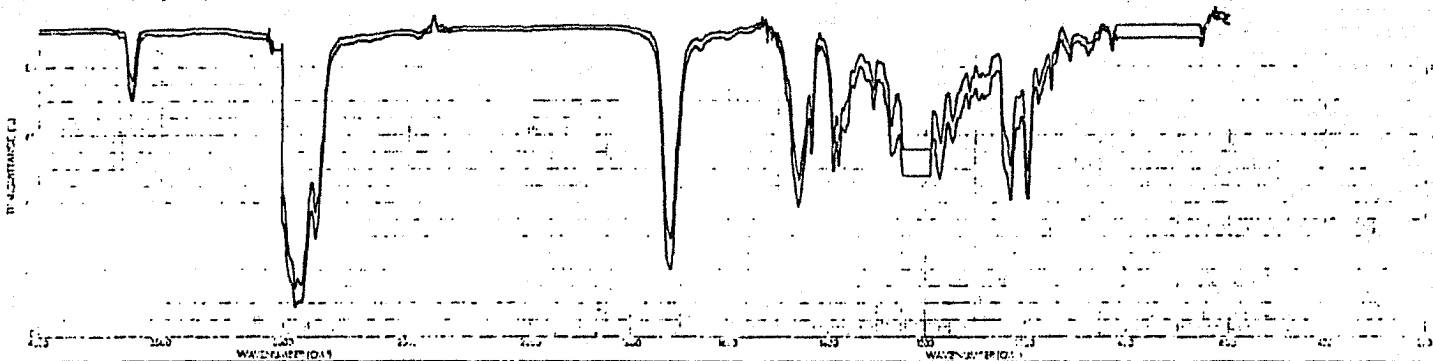


Espectro No. 13

WORK AREA SPECTRUM FRN 5276 PAGE 1 Y = 4.00  
 LARGST 4: 262.2, 100.0 203.2, 88.8 133.1, 33.5 262.2, 23.8  
 LAST 4: 470.2, .4 482.2, .3 484.4, .3 485.4, .2  
 + 78 -92



Espectro No. 14



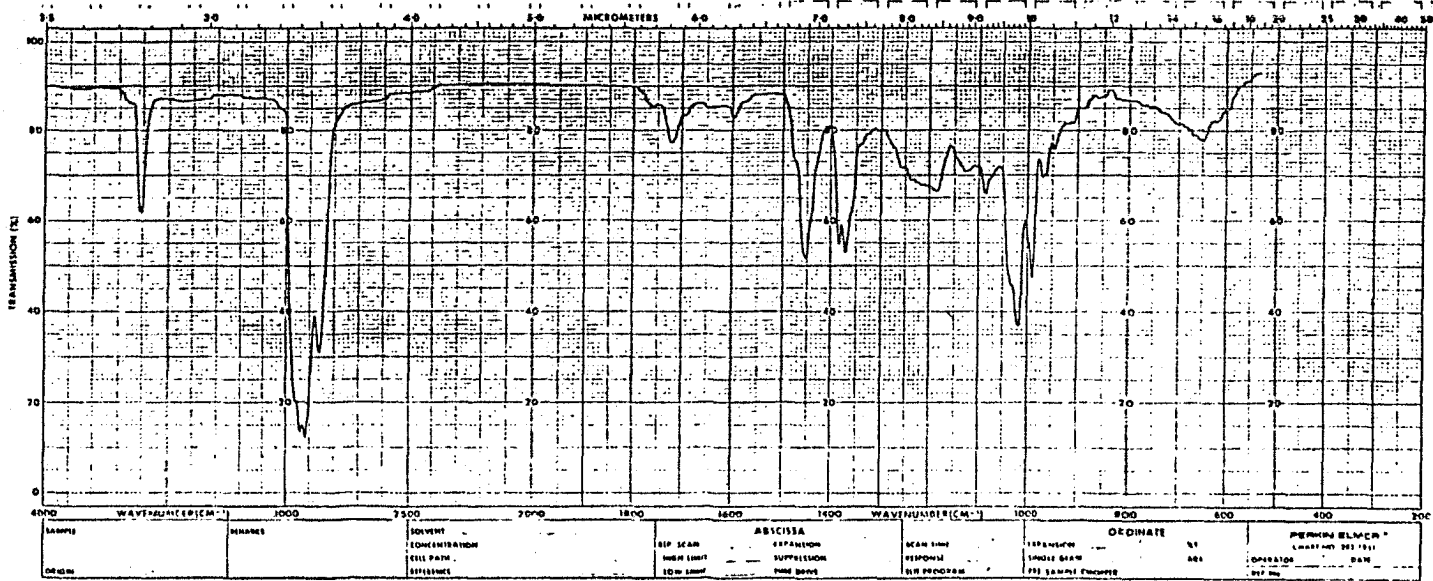
SAMPLE OPON <u>PARANISY</u>	SOLVENT	<u>CCl₄</u>	REMARKS	SCIN MODE	OPERATOR
	CONCENTRATION	<u>5.000</u>		REF. NO. CONSTANT	DATE
	CELL PATH	<u>1.000</u>		REF. NO. PART NO. 3200-472	REP. NO. <u>16.4.87.2.6</u>
	REFERENCE	<u>CCl₄</u>			

Espectro. No. 15

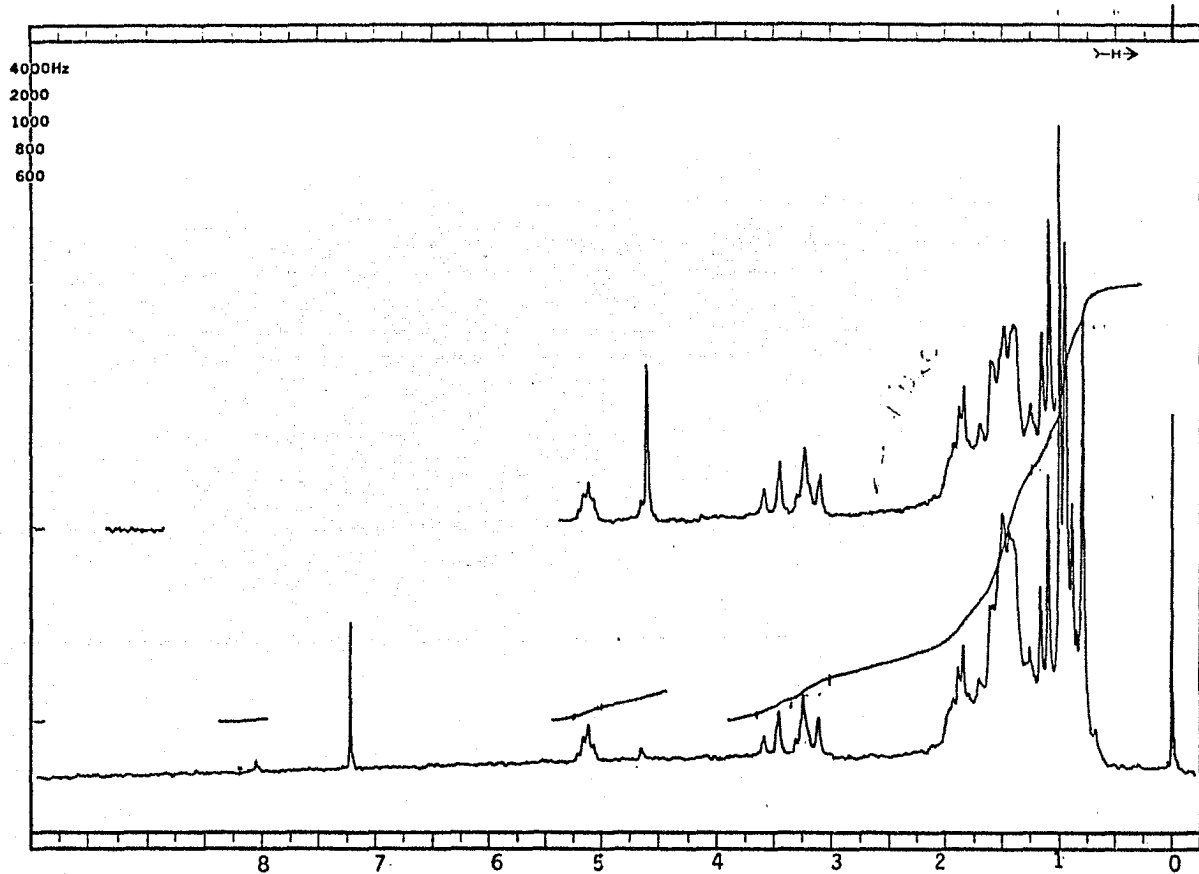
Compuesto 1 y del Compuesto 1a. Tiene un p.f. de 214-216°C. Es soluble en cloroformo. En el espectro de Infrarrojo (espectro No. 16), se observan las principales bandas de absorción a 3610 (OH), 2940, 2920, 2860, 1450, 1370, 1020 (CH<sub>2</sub>OH) y 990 cm<sup>-1</sup>. En su espectro de RMN de <sup>1</sup>H (espectro No. 17), se tienen singuletes a 0.80, 0.89, 0.95, 1.00, 1.10, 1.18, 1.25 ppm, 21 H, (CH<sub>3</sub>); una señal doble de doble a 3.25 ppm (J:7,8), 1H (HC-OH); un sistema AB a 3.35 ppm (J:11) (CH<sub>2</sub>-OH); y un triplete a 5.11 ppm, 1H (C=CH). En su correspondiente espectro de Masas (espectro No. 18), se tienen señales de m/e y porcentajes de abundancia a 444.5 (0.6), 443.5 (3.0), 442.5 (8.5) M<sup>+</sup>, 411 (63.4), 440.5 (0.8), 203.3 (100), 69.2 (25.8), 57.1 (59.4) y 43.1 (28.4).

Compuesto 2g :

Este compuesto es el correspondiente éster metílico del Compuesto 2. Tiene un p.f. de 190-193°C. Es soluble en cloroformo, acetona; poco soluble en hexano. En su espectro de Infrarrojo (espectro No. 19), se tienen fuertes bandas de absorción a 3350 (OH), 2950, 2870, 1730 (éster), 1465, 1390, 1165, 1030 y 760 cm<sup>-1</sup>. En el espectro de RMN de <sup>1</sup>H (espectro No. 20), se observan singuletes a 0.73, 0.79, 0.91, 1.00, 1.15 y 1.25 ppm, 21H (CH<sub>3</sub>); una señal doble de doble a 3.20 ppm, 1H (HC-OH); un singulete a 3.61 ppm, 3H (COOCH<sub>3</sub>); y un triplete a 5.26 ppm, 1H (C=C-H). En el espectro de masas (espectro No. 21), se presentan señales de m/e y respectivos porcentajes, a 472.5 (0.4), 471.6 (1.9), 470.5 (5.2) M<sup>+</sup>, 455.5 (0.5), 207 (17), 203 (100), 262 (87.8), 57.1 (24.7) y 43.2 (22.9).



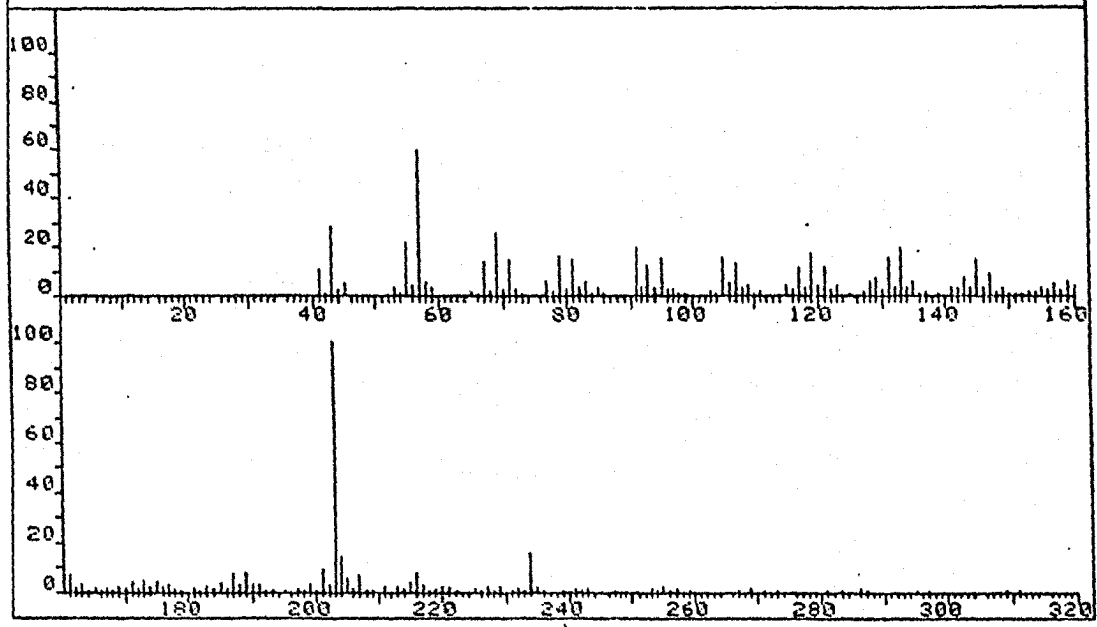
Espectro No. 16



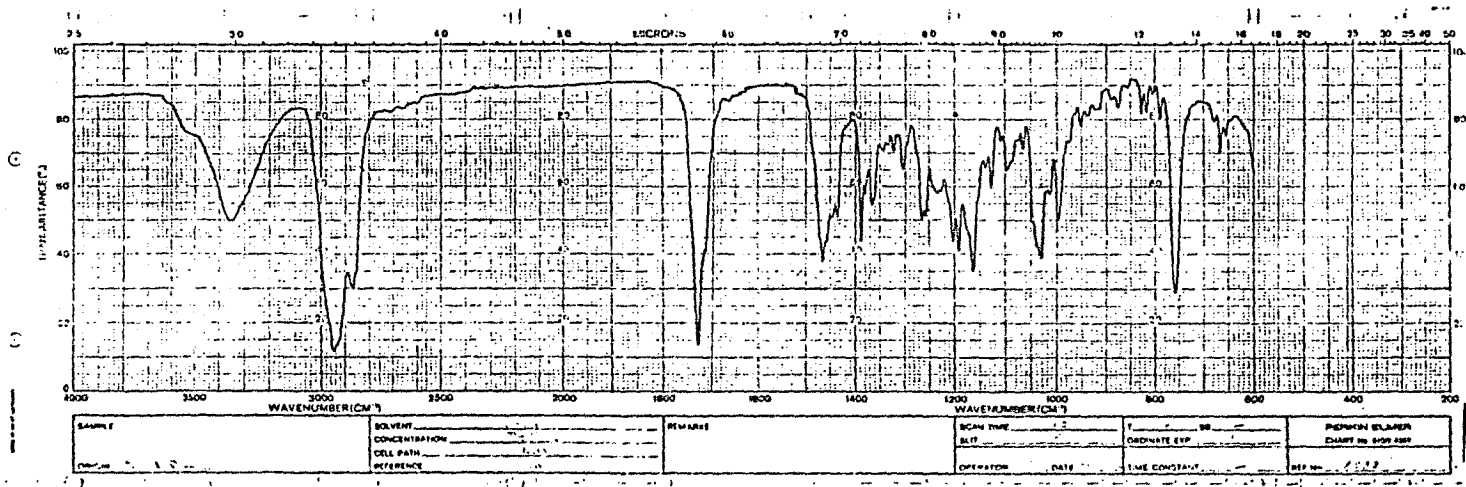
Espectro No. 17



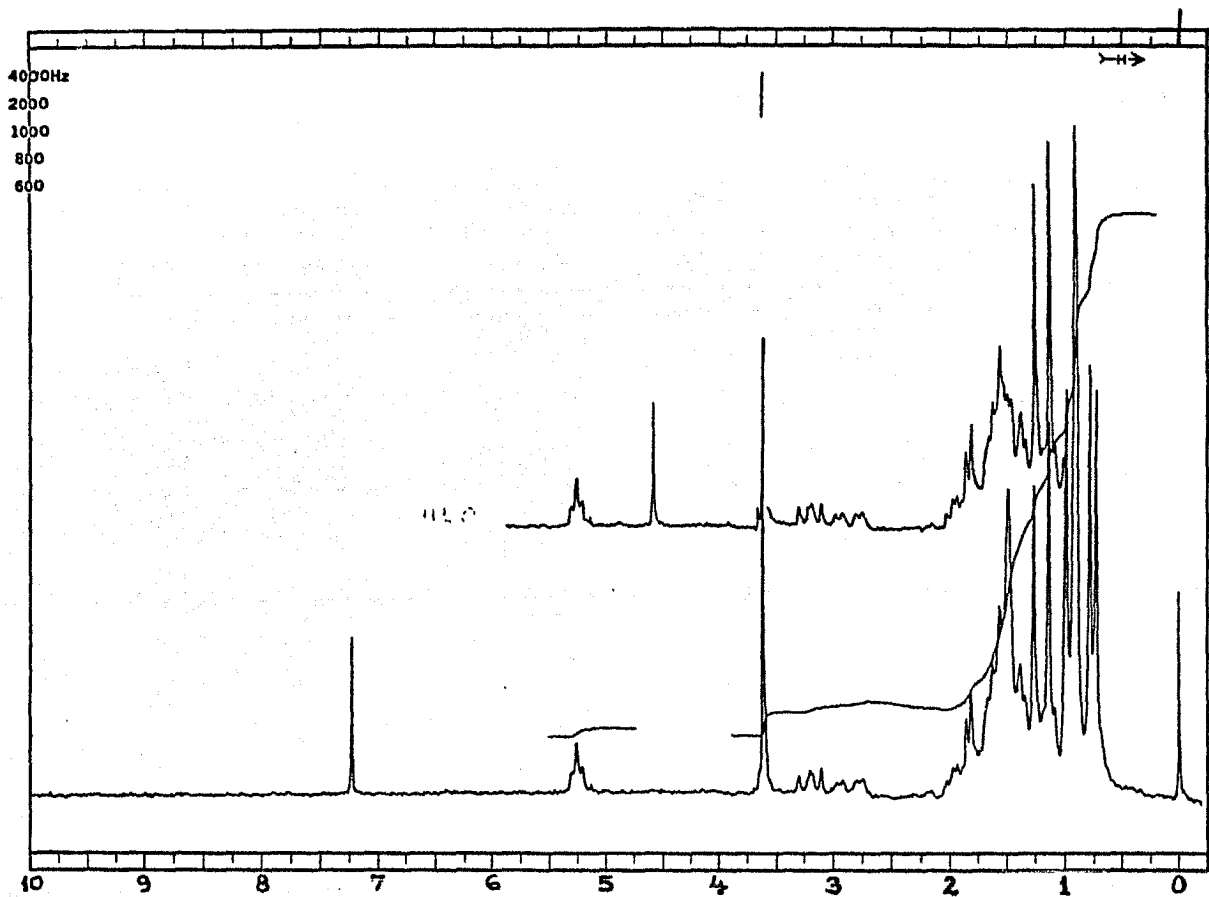
FRN 5057	SPECTRUM 72	RETENTION TIME 2.9
LARGST 4: 203.3, 100.0	57.1, 59.4	43.1, 28.4
LAST 4: 440.5, .8	442.5, 8.5	443.5, 3.0
		69.2, 25.8
		444.5, .6
		PAGE 1 Y = 1.00



Espectro No. 18

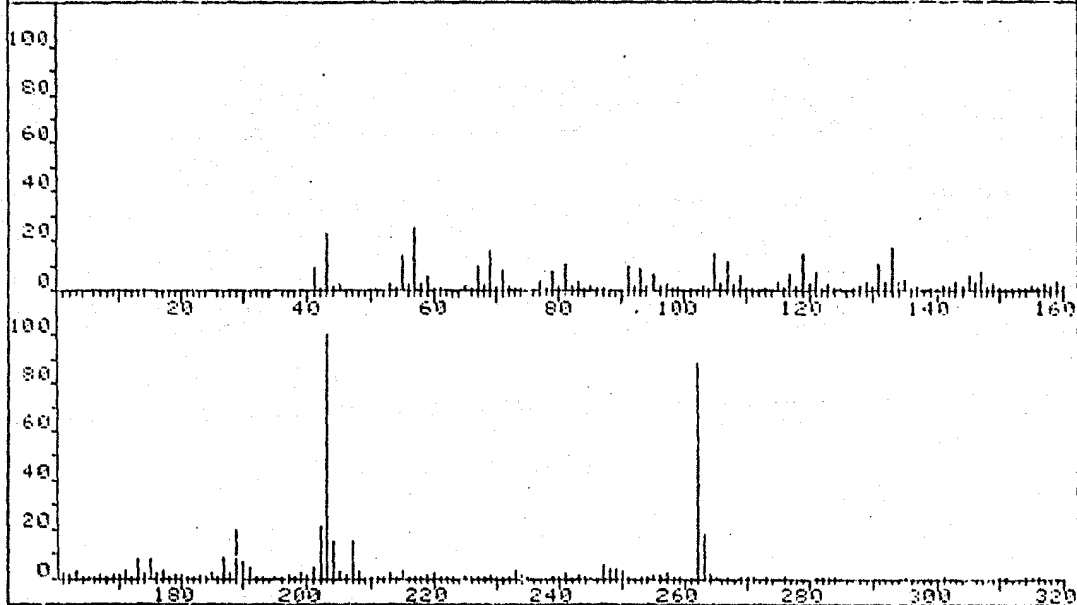


Espectro No. 19



Espectro No. 20

FRN 5355	SPECTRUM 64	RETENTION TIME 2.6
LARGST 4: 203.3, 100.0	262.3, 37.8	57.1, 24.7
LAST 4: 455.5, .5	470.5, 5.2	492.5, .4
		PAGE 1 Y = 1.00



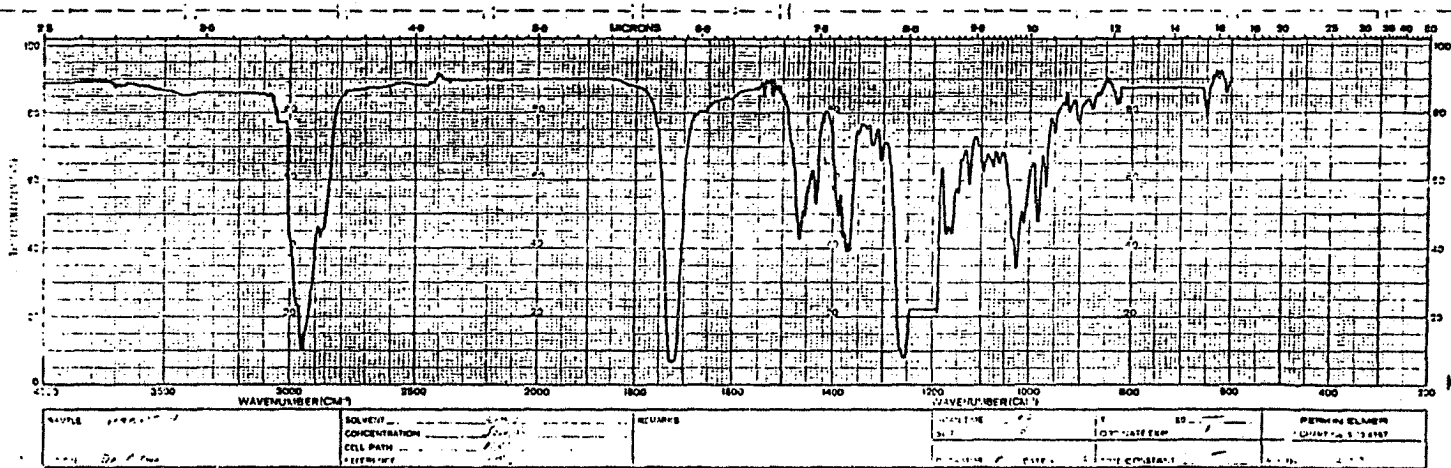
Espectro No. 21

Compuesto 2h:

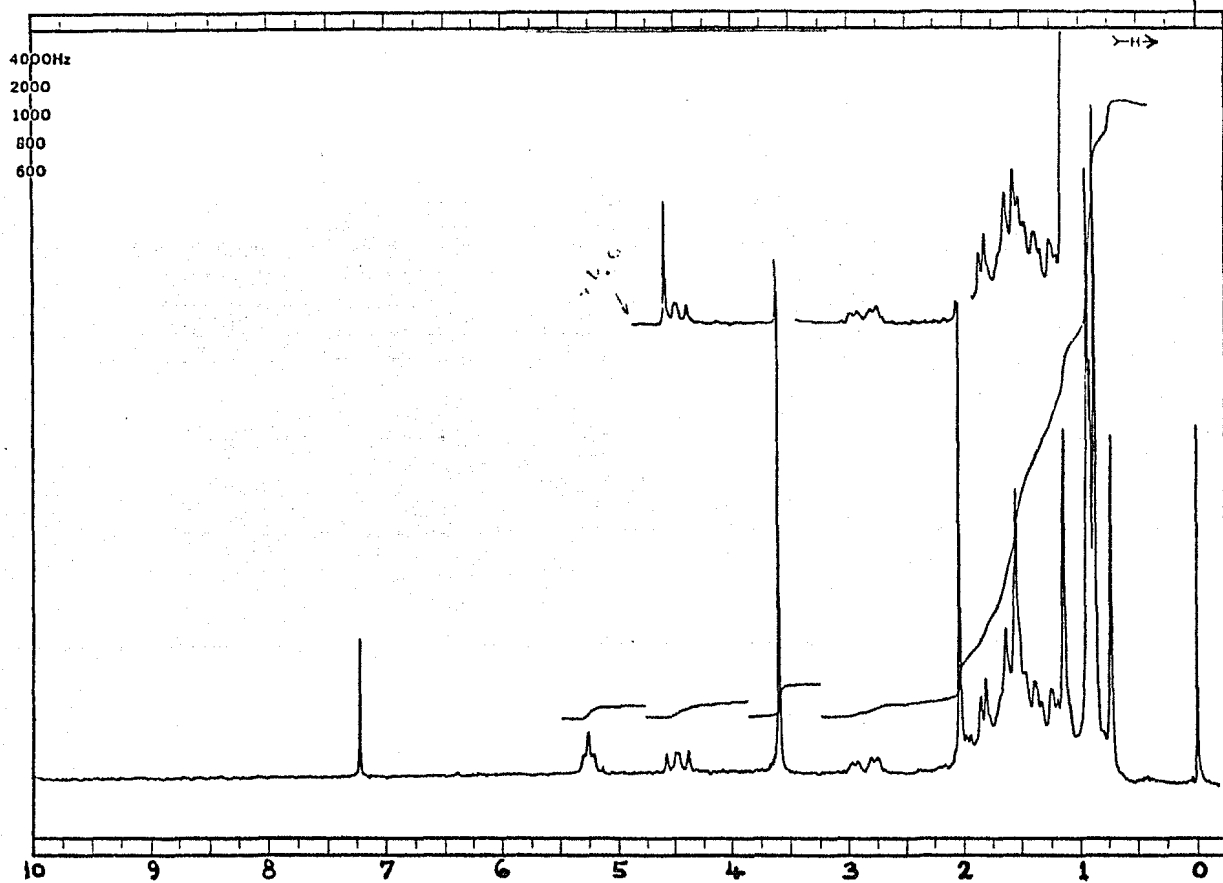
Este compuesto es el producto resultante de la acetilación del Compuesto 2g. Posee un p.f. de 216-217°C. Es soluble en acetato de etilo, acetona, y cloroformo. En el correspondiente espectro de Infrarrojo (espectro No. 22), se observan las principales bandas de absorción, a 2950, 2880, 1725 (acetato), 1720 (éster), 1465, 1370, 1255, 1025 y 985  $\text{cm}^{-1}$ . En el espectro de RMP (espectro No. 23), aparecen singuletes a 0.73, 0.86, 0.90, 0.93, 1.12 ppm, 21H ( $\text{CH}_3$ ); un singulete a 2.04 ppm, 3H ( $\text{H}_3\text{CCOO}-$ ); un singulete a 3.62 ppm, 3H ( $-\text{COOCH}_3$ ); una señal doble de doble a 4.45 ppm, 1H ( $\text{CH}(\text{OCOCH}_3)$ ); y un triplete a 5.25 ppm, 1H ( $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ ). En su espectro de masas (espectro No. 24), se tienen señales de m/e y sus porcentajes a 514.3 (0.2), 513.3 (0.8), 512.3 (2.2)  $\text{M}^+$ , 497.3 (0.3), 262.2 (78.8), 203.3 (100), 189.2 (27), 133 (19.5) y 43.1 (45.4).

Compuesto 2i:

Este compuesto es la correspondiente cetona del Compuesto 2g. Tiene un p.f. de 168-171°C. Es soluble en acetona, cloroformo y acetato de etilo. En el espectro de Infrarrojo (espectro No. 25), se tienen las bandas de absorción significativas, a 2940, 2860, 1710 (cetona en anillo de 6 miembros), 1690, 1455, 1380, 1160 y 1255  $\text{cm}^{-1}$ . En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 26), se presentan singuletes a 0.79, 0.90, 0.92, 1.05, 1.08, 1.15 y 1.25 ppm, 21H ( $\text{CH}_3$ ); un singulete a 3.6 ppm, 3H ( $\text{COOCH}_3$ ); y un triplete a 5.25 ppm, 1H ( $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ ). En el espectro de masas (espectro No. 27), aparecen señales de m/e y porcentajes respectivos, a 524.1 (1.7), 523.1 (1.1), 522 (2.0), 510.9 (1.6), 469.8 (100)  $\text{M}^+$ , 451.8 (79.7), 409.8 (77.1), 262 (58.5), 203.5 (66.3), 133 (9.7).

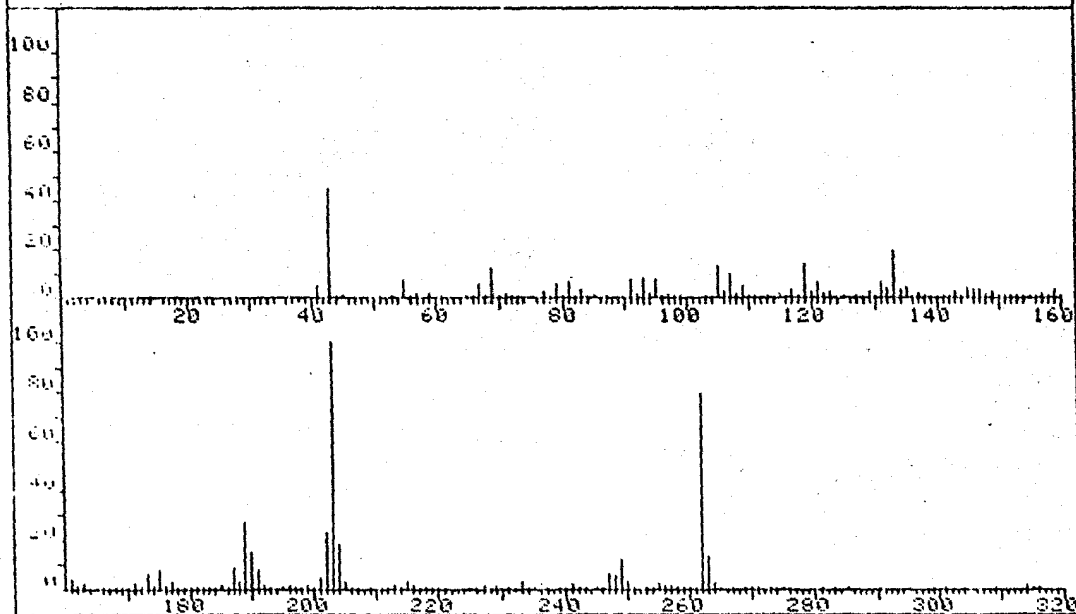


Espectro No. 22



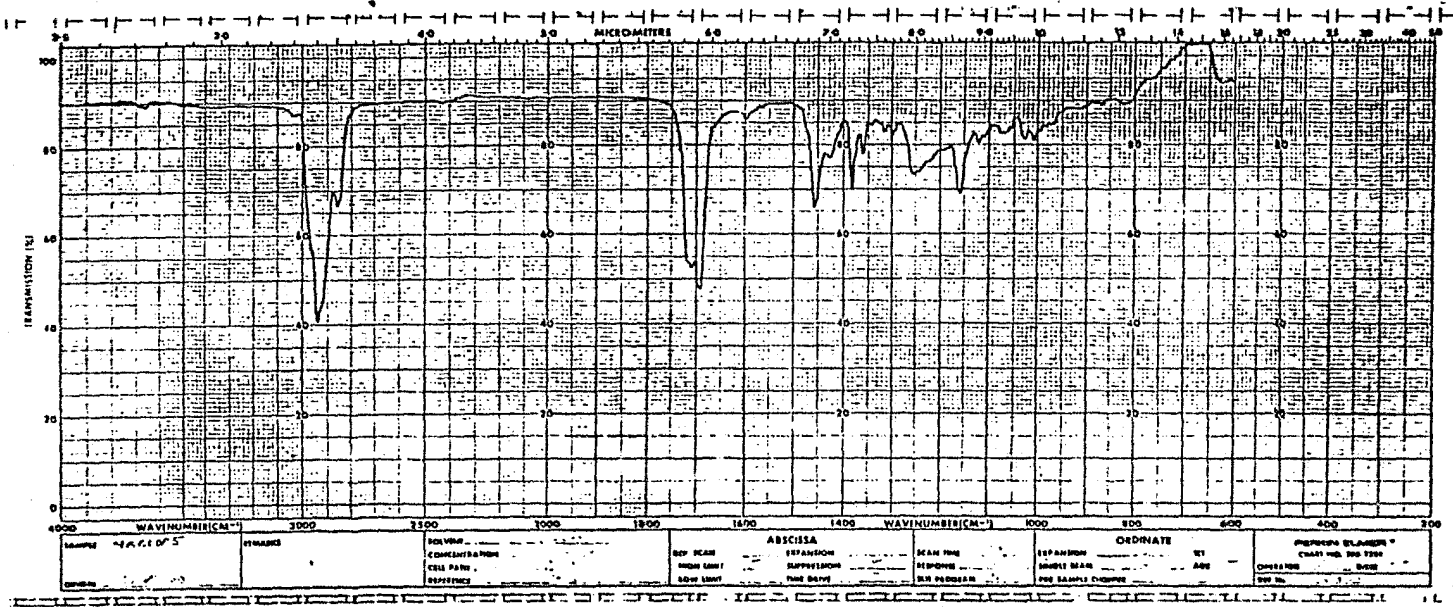
Espectro No. 23

FRN 5129	SPECTRUM 113		RETENTION TIME 4.6	
LARGST 4:	203.3, 100.0	262.2, 78.8	43.1, 45.4	189.2, 27.0
LAST 4:	497.3, .3	512.3, 2.2	513.3, .8	514.3, .2
PAGE 1 Y = 1.00				



Espectro No. 24



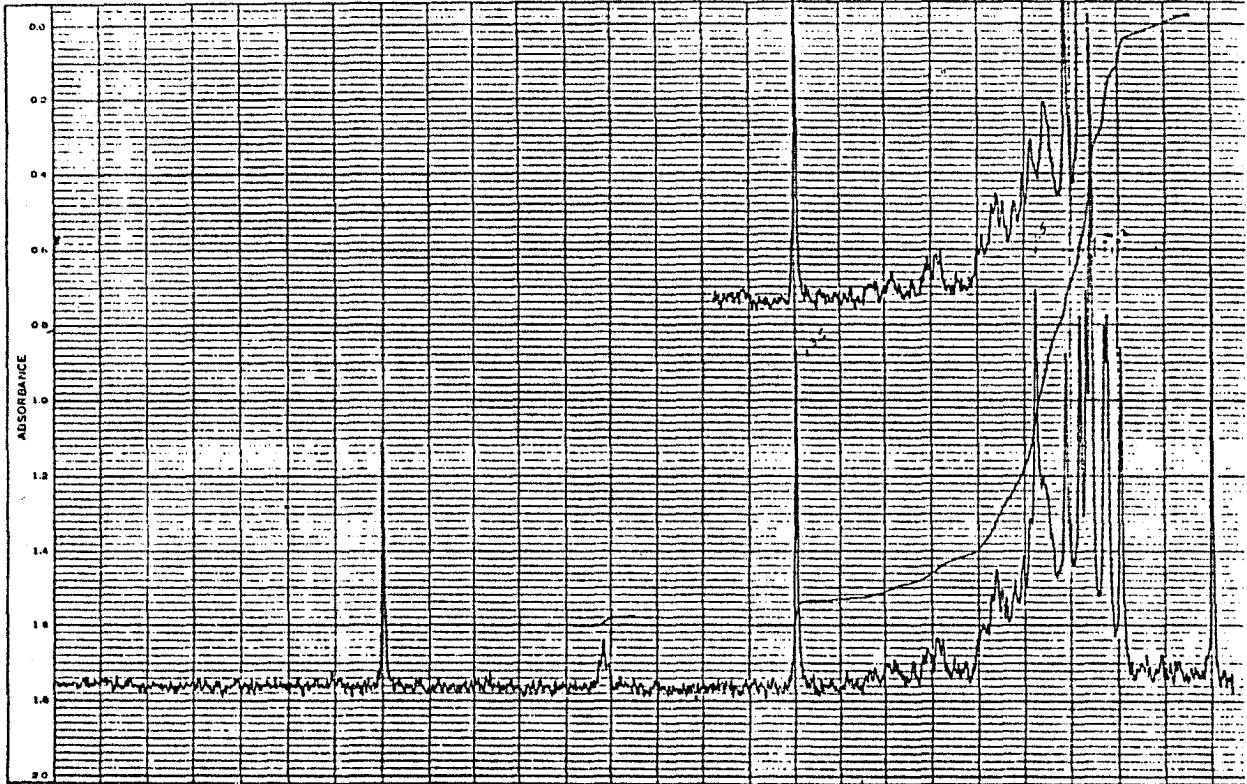


Espectro No. 25

SOLVENT \_\_\_\_\_  
CONC. \_\_\_\_\_  
CELL \_\_\_\_\_

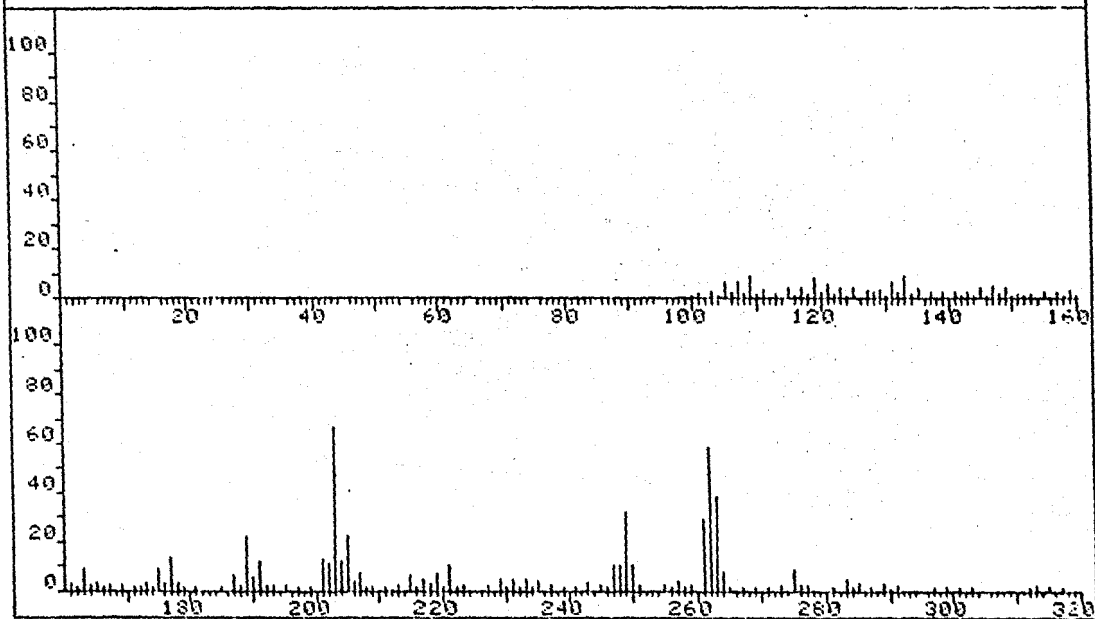
THE PERKIN-ELMER CORP.  
NORWALK, CONN.

SLIT \_\_\_\_\_  
SCANNING TIME \_\_\_\_\_  
DATE \_\_\_\_\_



Espectro No. 26

FRN 5475	SPECTRUM 65		RETENTION TIME 2.6	
LARGST 4:	469.8, 100.0	451.8, 79.7	409.8, 77.1	203.5, 66.3
LAST 4:	510.9, 1.6	522.0, 2.0	523.1, 1.1	524.1, 1.7
PAGE 1 Y = 1.00				



Espectro No. 27

ANÁLISIS CRISTALOGRAFICO DE LA ESTRUCTURA DEL COMPUESTO 1c

La muestra del Compuesto 1c seleccionada para el análisis por difracción de rayos X, fue cristalizada de acetona. Los cristales incoloros tuvieron un diámetro máximo de 0.5 mm.

Los datos de rayos X fueron obtenidos, usando radiación de  $\text{Cu K}\alpha$  en un difractómetro Nicolet R3m, equipado con un monocromador de grafito.

Los datos cristalográficos fueron :

$\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_3$ . P.M.: 468, ortorrómbico, grupo espacial  $P2_12_12_1$ ,  $a = 8.1089(3)$ ,  $b = 8.6184(2)$ ,  $c = 39.1480(8)$  Å,  $z = 4$ ,  $d_c = 1.136$  g/cm<sup>3</sup>,  $V = 2735.88$  Å<sup>3</sup>,  $\lambda = 1.54718$  Å,  $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 5.14$  cm<sup>-1</sup>. Se midieron todos los datos en un octante (9,9,40), teniendo un rango  $3^\circ < 2\theta < 115^\circ$ .

La tabla 1 muestra las coordenadas atómicas. Las longitudes de los enlaces y sus correspondientes ángulos, se indican en las tablas 2 y 3, respectivamente. La tabla 4 registra los factores anisotrópicos de temperatura.

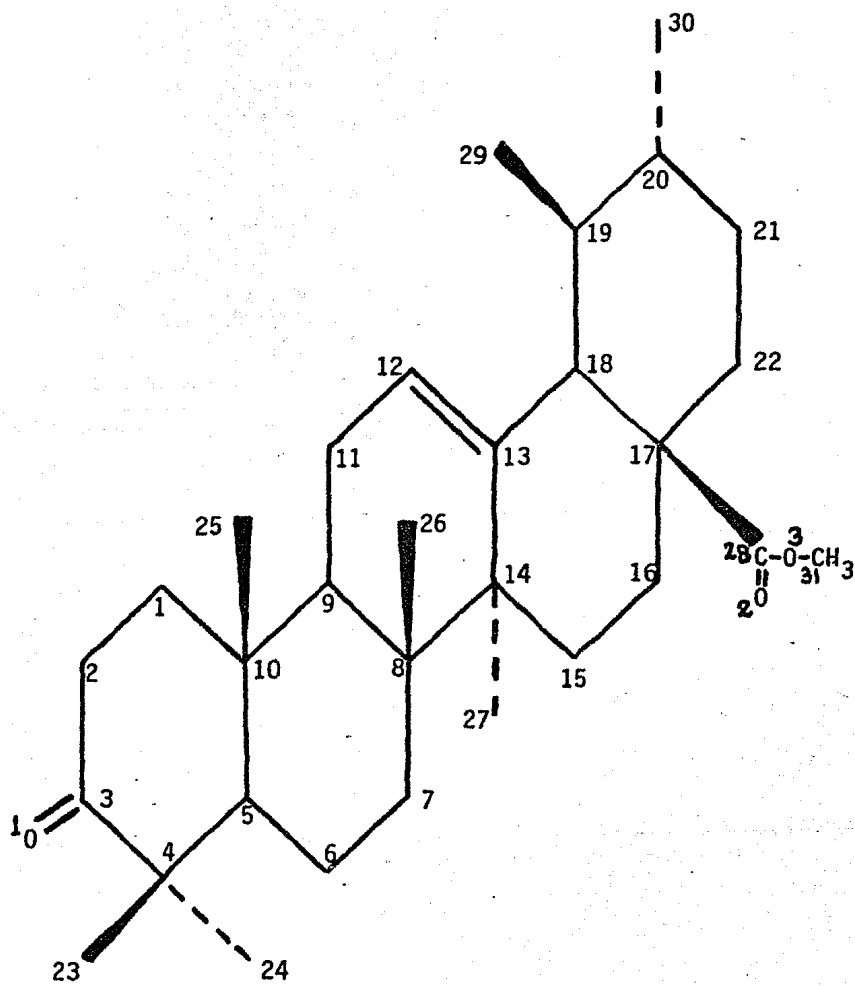
FIGURA 1 : Compues to 1c

TABLA 1

COORDENADAS ATOMICAS ( $\times 10$ ) Y FACTORES DE TEMPERATURA ( $A \times 10$ )

átomo	x	y	z	U
O(1)	10015(3)	2465(3)	7862(1)	73(1)*
O(2)	3987(3)	12297(3)	8947(1)	72(1)*
O(3)	1493(3)	11215(3)	8941(1)	74(1)*
C(1)	9670(4)	6143(4)	8245(1)	48(1)*
C(2)	10355(4)	5162(4)	7948(1)	56(1)*
C(3)	9363(4)	3735(4)	7885(1)	47(1)*
C(4)	7504(4)	3923(4)	7847(1)	44(1)*
C(5)	6870(4)	5038(4)	8134(1)	37(1)*
C(6)	5027(4)	5353(4)	8119(1)	43(1)*
C(7)	4405(3)	5942(4)	8662(1)	42(1)*
C(8)	5269(3)	7408(3)	8591(1)	34(1)*
C(9)	7203(3)	7209(4)	8552(1)	37(1)*
C(10)	7847(4)	6567(4)	8201(1)	38(1)*
C(11)	8086(4)	8701(4)	8669(1)	54(1)*
C(12)	7274(4)	9500(4)	8963(1)	46(1)*
C(13)	5868(4)	9117(3)	9110(1)	35(1)*
C(14)	4906(3)	7674(4)	8986(1)	37(1)*
C(15)	3011(4)	7873(4)	9028(1)	40(1)*
C(16)	2474(4)	8773(4)	9341(1)	43(1)*
C(17)	3346(4)	10346(4)	9371(1)	41(1)*
C(18)	5214(4)	10085(4)	9408(1)	39(1)*
C(19)	5714(4)	9453(4)	9770(1)	44(1)*
C(20)	4953(4)	10475(4)	10054(1)	49(1)*
C(21)	3119(4)	10614(4)	10017(1)	54(1)*
C(22)	2625(4)	11296(4)	9673(1)	53(1)*
C(23)	7181(5)	4497(5)	7480(1)	57(1)*
C(24)	6686(5)	2337(4)	7889(1)	69(1)*
C(25)	7723(4)	7751(4)	7904(1)	50(1)*
C(26)	4688(4)	8826(4)	8384(1)	48(1)*

Tabla 1 (continuación)

átomo	x	y	z	U
C(27)	5432(4)	6289(4)	9212(1)	45(1)*
C(28)	3025(4)	11377(4)	9063(1)	48(1)*
C(29)	7572(4)	9357(5)	9801(1)	59(1)*
C(30)	5401(5)	9927(4)	10414(1)	65(1)*
C(31)	1065(6)	12217(6)	8661(1)	106(2)*

\* Equivalente isotrópico U.

TABLA 2

## LONGITUDES DE ENLACES (Å)

O(1) - C(3)	1.219(4)	O(2) - C(28)	1.202(4)
O(3) - C(28)	1.338(4)	O(3) - C(31)	1.436(6)
C(1) - C(2)	1.542(5)	C(1) - C(10)	1.532(4)
C(2) - C(3)	1.490(5)	C(3) - C(4)	1.524(4)
C(4) - C(5)	1.565(4)	C(4) - C(23)	1.543(4)
C(4) - C(24)	1.528(5)	C(5) - C(6)	1.521(4)
C(5) - C(10)	1.560(4)	C(6) - C(7)	1.523(4)
C(7) - C(8)	1.541(4)	C(8) - C(9)	1.564(4)
C(8) - C(14)	1.595(4)	C(8) - C(26)	1.547(4)
C(9) - C(10)	1.571(4)	C(9) - C(11)	1.541(5)
C(10) - C(25)	1.551(4)	C(11) - C(12)	1.493(5)
C(12) - C(13)	1.320(4)	C(13) - C(14)	1.546(4)
C(13) - C(18)	1.530(4)	C(14) - C(15)	1.555(4)
C(14) - C(27)	1.545(4)	C(15) - C(16)	1.515(4)
C(16) - C(17)	1.534(4)	C(17) - C(18)	1.538(5)
C(17) - C(22)	1.553(4)	C(17) - C(28)	1.522(4)
C(18) - C(19)	1.570(4)	C(19) - C(20)	1.548(4)
C(19) - C(29)	1.514(5)	C(20) - C(21)	1.500(5)
C(20) - C(30)	1.530(4)	C(21) - C(22)	1.521(4)

TABLA 3  
ANGULOS DE ENLACES (GRADOS)

C(28)-O(3)-C(31)	115.6(3)	C(2)-C(1)-C(10)	113.2(3)
C(1)-C(2)-C(3)	112.4(3)	O(1)-C(3)-C(2)	121.3(3)
C(1)-C(3)-C(4)	121.1(3)	C(2)-C(3)-C(4)	117.6(3)
C(3)-C(4)-C(5)	108.6(2)	C(3)-C(4)-C(23)	107.1(2)
C(5)-C(4)-C(23)	114.6(3)	C(4)-C(4)-C(24)	108.9(3)
C(5)-C(4)-C(24)	109.2(3)	C(23)-C(4)-C(24)	108.3(3)
C(4)-C(5)-C(6)	113.9(2)	C(4)-C(5)-C(10)	118.3(2)
C(6)-C(5)-C(10)	110.8(3)	C(5)-C(6)-C(7)	110.5(2)
C(6)-C(7)-C(8)	114.1(2)	C(7)-C(8)-C(9)	110.5(2)
C(7)-C(8)-C(14)	110.0(2)	C(9)-C(8)-C(14)	107.8(2)
C(7)-C(8)-C(26)	109.1(2)	C(9)-C(8)-C(26)	110.6(2)
C(14)-C(8)-C(26)	109.4(2)	C(8)-C(9)-C(10)	116.9(2)
C(8)-C(9)-C(11)	109.8(2)	C(10)-C(9)-C(11)	113.5(2)
C(1)-C(10)-C(5)	107.9(3)	C(1)-C(10)-C(9)	107.9(2)
C(5)-C(10)-C(9)	106.1(2)	C(1)-C(10)-C(25)	107.6(2)
C(5)-C(10)-C(25)	113.4(2)	C(9)-C(10)-C(25)	113.7(2)
C(9)-C(11)-C(12)	114.1(3)	C(11)-C(12)-C(13)	127.1(3)
C(12)-C(13)-C(14)	120.0(3)	C(12)-C(13)-C(18)	119.8(3)
C(14)-C(13)-C(18)	120.2(2)	C(8)-C(14)-C(13)	108.6(2)
C(8)-C(14)-C(15)	108.2(2)	C(13)-C(14)-C(15)	112.2(2)
C(8)-C(14)-C(27)	112.8(2)	C(13)-C(14)-C(27)	107.7(2)
C(15)-C(14)-C(27)	107.4(2)	C(14)-C(15)-C(16)	115.1(2)
C(15)-C(16)-C(17)	112.5(2)	C(16)-C(17)-C(18)	109.4(3)
C(16)-C(17)-C(22)	110.5(3)	C(18)-C(17)-C(22)	112.1(2)
C(16)-C(17)-C(28)	112.1(2)	C(18)-C(17)-C(28)	109.2(3)
C(22)-C(17)-C(28)	103.5(2)	C(13)-C(18)-C(17)	110.4(2)
C(13)-C(18)-C(19)	114.2(2)	C(17)-C(18)-C(19)	113.0(2)
C(18)-C(19)-C(20)	110.4(3)	C(18)-C(19)-C(29)	110.3(2)
C(20)-C(19)-C(29)	111.7(3)	C(19)-C(20)-C(21)	111.8(3)



C(19)-C(20)-C(30)	113.1(3)	C(21)-C(20)-C(3)	110.5(3)
C(20)-C(21)-C(22)	112.3(3)	C(17)-C(22)-C(21)	111.7(3)
O(2)-C(28)-O(3)	122.5(3)	O(2)-C(28)-C(17)	125.0(3)
O(3)-C(28)-C(17)	112.4(3)		

TABLA 4

## FACTORES ANISOTROPICOS DE TEMPERATURA (A x 10)

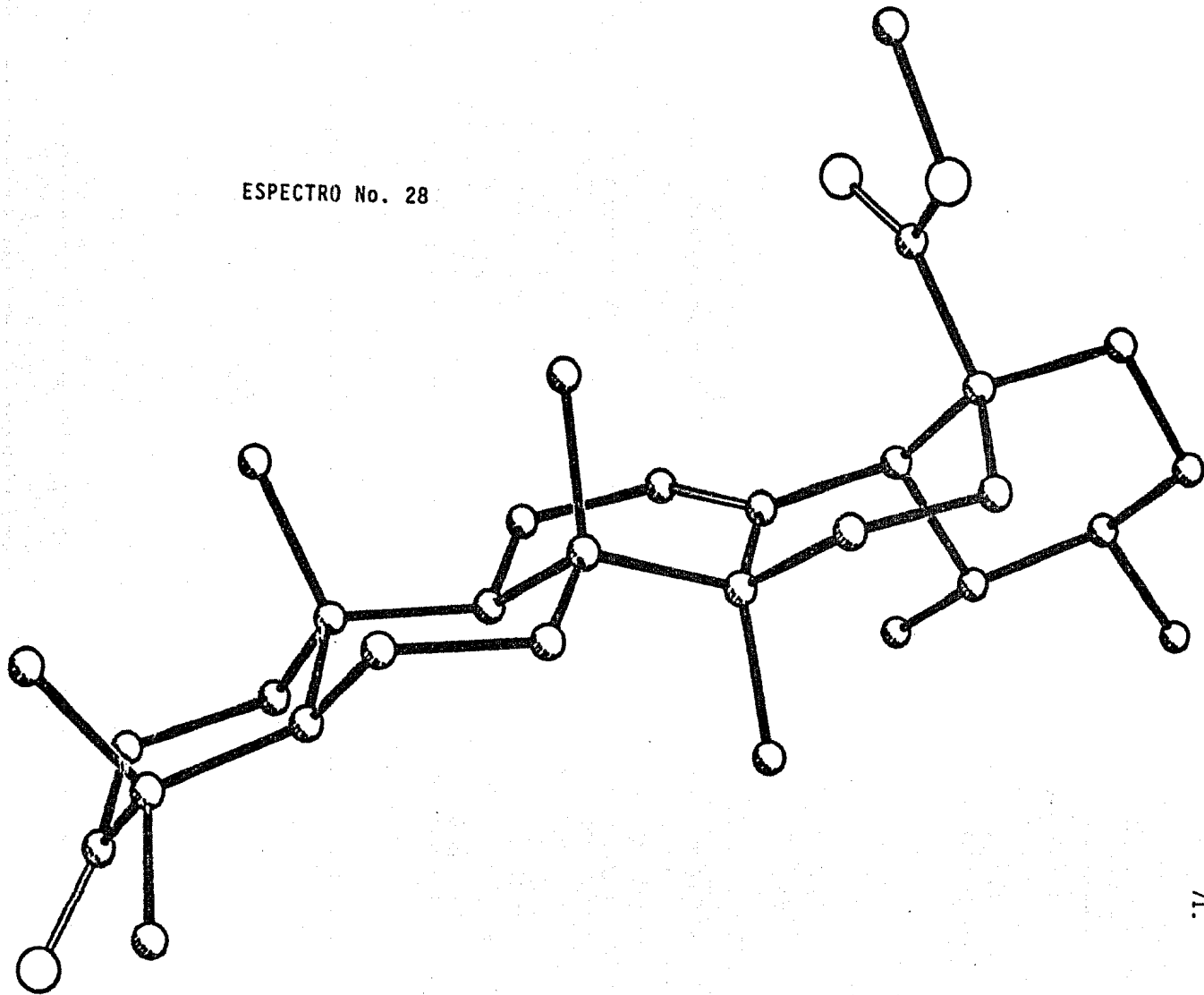
átomo	U	U	U	U	U	U
O(1)	74(2)	75(2)	68(2)	-15(1)	1(1)	32(2)
O(2)	73(2)	60(2)	83(2)	29(1)	-14(1)	-10(2)
O(3)	69(2)	79(2)	75(2)	34(2)	-31(1)	-7(2)
C(1)	34(2)	63(2)	46(2)	-5(2)	-1(1)	2(2)
C(2)	36(2)	77(3)	55(2)	-8(2)	1(2)	7(2)
C(3)	49(2)	68(2)	25(1)	-5(1)	0(1)	14(2)
C(4)	51(2)	44(2)	36(1)	-6(1)	-2(1)	1(2)
C(5)	35(2)	44(2)	32(1)	0(1)	-0(1)	-1(1)
C(6)	38(2)	52(2)	39(2)	-9(1)	-2(1)	-6(2)
C(7)	28(1)	54(2)	44(2)	-11(2)	-1(1)	-6(2)
C(8)	36(1)	35(2)	30(1)	-0(1)	-3(1)	-2(2)
C(9)	35(1)	41(2)	35(1)	1(1)	-1(1)	-4(1)
C(10)	35(1)	46(2)	33(1)	1(1)	-1(1)	0(2)
C(11)	45(2)	66(2)	50(2)	-16(2)	4(1)	-10(2)
C(12)	45(2)	48(2)	45(2)	-10(2)	-2(1)	-13(2)
C(13)	39(2)	32(2)	35(1)	-1(1)	-4(1)	-0(1)
C(14)	38(2)	42(2)	32(1)	-1(1)	-3(1)	-2(2)
C(15)	36(2)	46(2)	39(2)	-3(1)	3(1)	-8(2)
C(16)	46(2)	42(2)	39(2)	2(1)	1(1)	-3(2)
C(17)	48(2)	38(2)	36(2)	-2(1)	-3(1)	4(2)
C(18)	46(2)	37(2)	34(1)	-2(1)	-2(1)	-1(2)
C(19)	52(2)	41(2)	39(2)	-0(1)	-8(1)	-2(2)
C(20)	66(2)	42(2)	39(2)	-3(2)	-5(2)	2(2)

Tabla 4 (continuación)

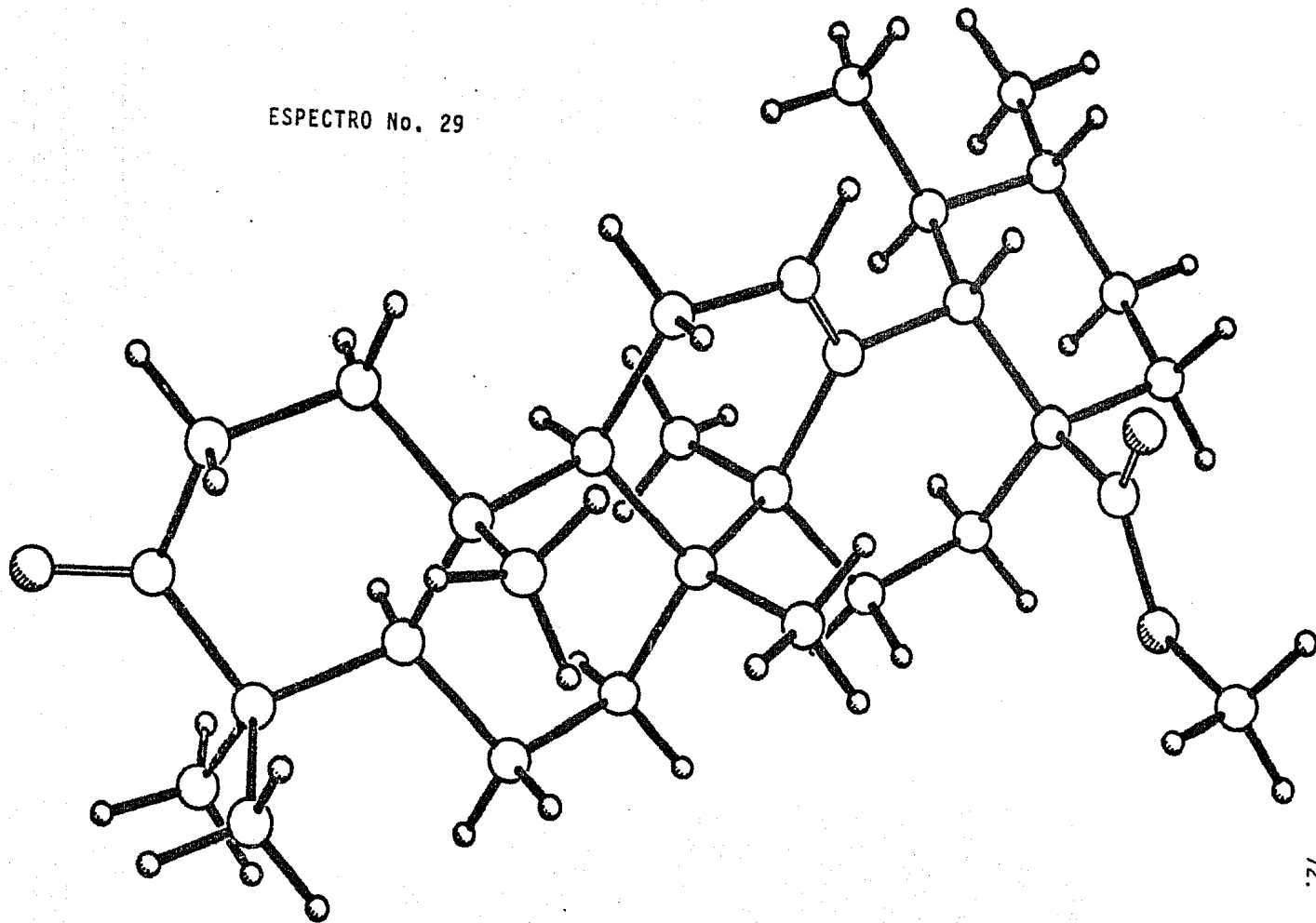
átomo	U	U	U	U	U	U
C(21)	68(2)	51(2)	41(2)	-13(2)	7(2)	3(2)
C(22)	60(2)	46(2)	51(2)	-10(2)	2(2)	11(2)
C(23)	61(2)	71(2)	39(2)	-15(2)	-7(2)	5(2)
C(24)	81(3)	51(2)	74(2)	-19(2)	13(2)	-6(2)
C(25)	56(2)	52(2)	42(2)	4(2)	7(2)	-3(2)
C(26)	50(2)	53(2)	40(2)	6(2)	-2(1)	8(2)
C(27)	56(2)	41(2)	39(2)	3(1)	1(1)	-1(2)
C(28)	53(2)	40(2)	51(2)	-1(2)	-4(2)	0(2)
C(29)	58(2)	74(20)	47(2)	-1(2)	-10(2)	6(2)
C(30)	87(3)	65(2)	41(2)	-3(2)	-5(2)	2(2)
C(31)	100(4)	110(4)	109(3)	61(3)	-49(3)	-9(3)

En los espectros No. 28 y 29 se observa la estructura tridimensional del Compuesto 1c.

ESPECTRO No. 28



ESPECTRO No. 29



Compuesto 1:

Acido ursólico (IV)

 $R = OH; R_1 = COOH$ Compuesto 1a:

Ester del ácido ursólico

 $R = OH; R_1 = COOCH_3$ Compuesto 1b:

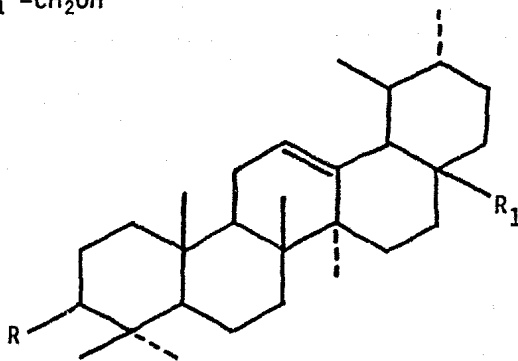
Acetato del éster del ác. ursólico

 $R = H_3CCOO; R_1 = COOCH_3$ Compuesto 1c:

Cetona del éster del ac. ursólico

 $R = O; R_1 = COOCH_3$ Compuesto 1e:

Urs-12-en-3,28-diol

 $R = OH; R_1 = CH_2OH$ 

(IV)

FIGURA 2

Compuesto 2j:

Acido oleanólico (VIa)

$R = OH$ ;  $R_1 = COOH$

Compuesto 2g:

Ester del ác. oleanólico

$R = OH$ ;  $R_1 = COOCH_3$

Compuesto 2h:

Acetato del éster del ác. oleanólico

$R = H_3CCOO$ ;  $R_1 = COOCH_3$

Compuesto 2i:

Cetona del éster del ác. oleanólico

$R = O$ ;  $R_1 = COOCH_3$

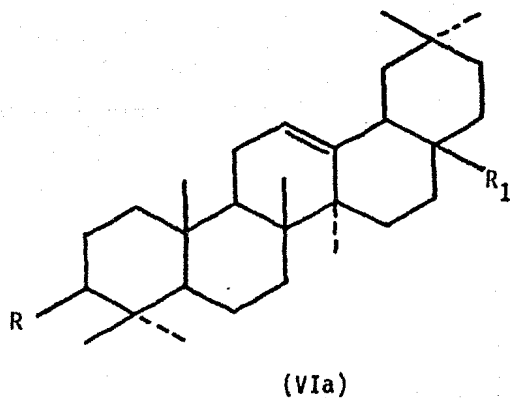


FIGURA 3

En consecuencia, reuniendo toda la información obtenida de datos espectroscópicos (IR, RMN de  $^1\text{H}$ , EM y Rayos X), y constantes físicas (p.fusión, solubilidad), de los dos productos naturales aislados y de sus derivados, el Compuesto 1, fue identificado como el ácido ursólico (ácido  $3\beta$ -hidroxi-urs-12-en-28-oico) (IV, Fig. 2), y el Compuesto 2 se identificó como el ácido oleanólico (ácido  $3\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-oico) (VIa, Fig. 3). Ambos ácidos están descritos en la literatura, como componentes de ciertos vegetales<sup>59,61-65</sup>, aunque si bien no habían sido aislados, hasta el momento, de *Salvia lavanduloides*.

## IX. DISCUSION DE RESULTADOS

### 1) CARACTERIZACION DEL COMPUESTO 1 COMO ACIDO URSOLICO

El compuesto 1 mostró un p.f. de 271-273°C. Tiene la fórmula  $C_{30}H_{48}O_3$ , determinada por análisis elemental, y espectrometría de masas (P.M.: 456).

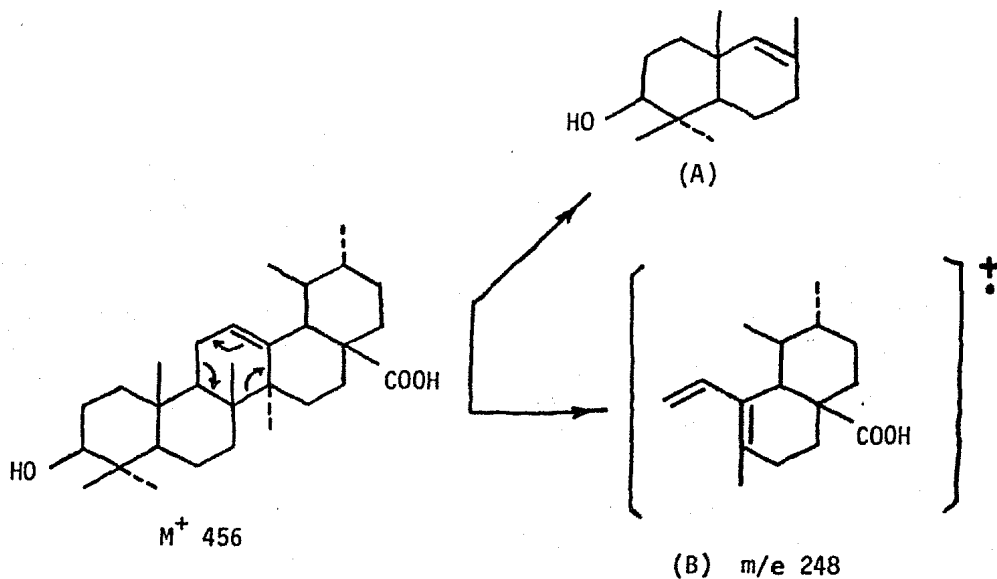
En su espectro de Infrarrojo (espectro No. 1), este compuesto indicó la presencia de un grupo OH (banda de absorción a 3440  $cm^{-1}$ ), la banda característica de un grupo carboxilo (a 1690  $cm^{-1}$ ), así como bandas debidas a grupos metilos y metilenos, a 2920 y 2860  $cm^{-1}$ , respectivamente; una banda a 1380  $cm^{-1}$ , denotaba la presencia de dos metilos geminales. Su naturaleza ácida se comprobó al observar su solubilidad en solución acuosa de bicarbonato de sodio.

La Resonancia Magnética Nuclear del principal ácido del cantueso, mostró señales de metilo a 0.78, 0.80, 0.91, 0.94, 0.99, 1.15 y 1.27 ppm, y de un protón de hidroxilo a 1.85 ppm (intercambia  $D_2O$ ); a campo bajo, pueden verse: una señal doble de doble a 3.15 ppm (J:7,8), que muestra la presencia de un protón cercano a un grupo hidroxilo, lo que corresponde a la base del alcohol, y un triplete a 5.25 ppm, que denota un protón vinílico, y en consecuencia, una doble ligadura.

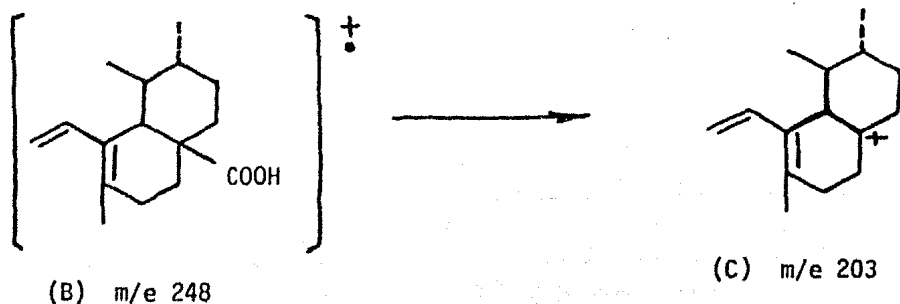
La naturaleza de la estructura y la posición del doble enlace del Compuesto 1, se determinaron por medio de espectrometría de masas, la cual mostró que dicho compuesto tenía el comportamiento característico de un triterpeno pentacíclico (derivado de la  $\alpha$ -amirina),



que posee una doble ligadura a nivel del C-12<sup>66-68</sup>. En dicho espectro de masas (espectro No. 3), se observa que al molécula origina los iones más abundantes, en base a una fragmentación tipo retro-Diels-Alder, que se efectúa en el anillo C del esqueleto triterpénico:



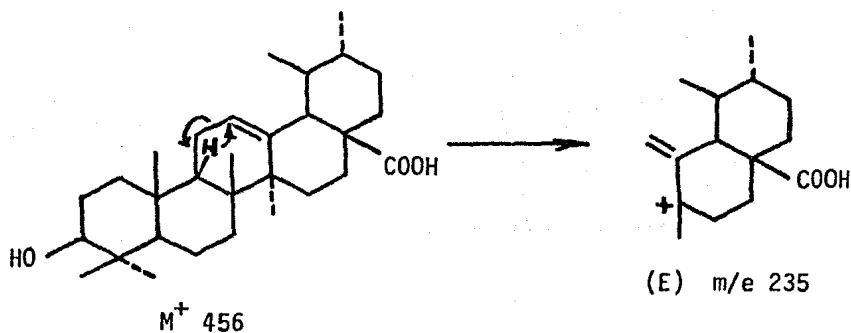
Ocurre, en consecuencia, una retención de la carga en el fragmento (B), el cual, después sufre una descarboxilación, para dar origen al pico observado a m/e 203 (C), característico de ácidos triterpénicos que poseen el grupo carboxilo en C-28<sup>68,69</sup> :



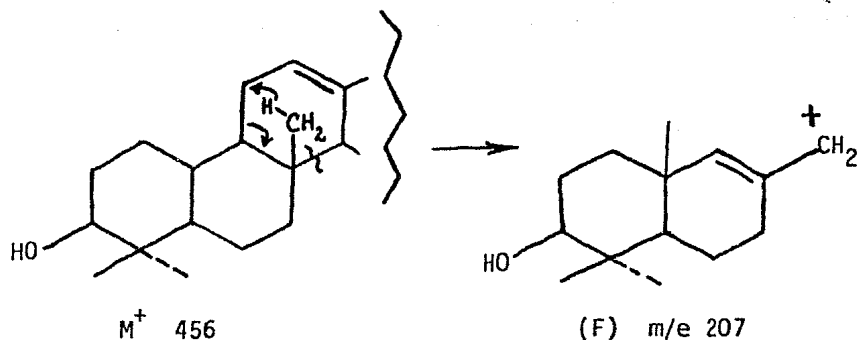
La especie (C) tiene una descomposición adicional, al perder 70 unidades de masa, para originar al ion (D), bastante estable :



En el espectro de masas del Compuesto 1, se observa también, que partiendo de la especie  $M^+$ , se origina el fragmento (E), proceso que al parecer, involucra la transferencia de un protón y la ruptura de un enlace alílicamente activo<sup>66-68</sup> :



El fragmento (F) observado también en el espectro, contiene los anillos A y B, y es formado por la transferencia de un átomo de hidrógeno del metilo localizado en C-8, hacia C-11, con formación de un doble enlace entre C-8 y C-9 :



Para comprobar la existencia del grupo carboxilo en la molécula del Compuesto 1, se realizó una reacción de esterificación con diazometano; el producto obtenido (Compuesto 1a) fue identificado como el éster metílico correspondiente, ya que presentó bandas significativas, en Infrarrojo (espectro No. 6), a  $3620 \text{ cm}^{-1}$  (grupo OH libre) y a  $1720 \text{ cm}^{-1}$  (carbonilo de éster); además mostró en RMP (espectro No. 7), un singulete a 3.6 ppm, que integra para 3H y que denota al grupo metilo del éster.

La fragmentación del producto esterificado (Compuesto 1a), en espectrometría de masas (espectro No. 8), tuvo un comportamiento semejante al del ácido original (Compuesto 1), variando sólo la posición de algunos picos, que como era de esperarse, aumentaron 14 unidades de masa, por la introducción del metilo. La semejanza entre ambos comportamientos de fragmentación, se debe a que la principal escisión de la estructura del triterpeno, es orientada por el mecanismo retro-Diels-Alder que ocurre a nivel de C-12; esto se puede confirmar, observando que los picos base fueron: m/e 248 para el ácido y m/e 262 para el éster, especies que precisamente provienen del mecanismo indicado.

Para confirmar la presencia del grupo OH, se efectuaron dos reacciones : oxidación y acetilación.

Por medio de la oxidación, se obtuvo el Compuesto 1c, cetona que muestra en Infrarrojo (espectro No. 12), una absorción importante a  $1705\text{ cm}^{-1}$ , banda característica de una ciclohexanona, así como la desaparición en RMP (espectro No. 13), de la señal doble de doble debida a la base del alcohol (3.18 ppm), y del singulete a 1.85 ppm, correspondiente al protón del hidroxilo.

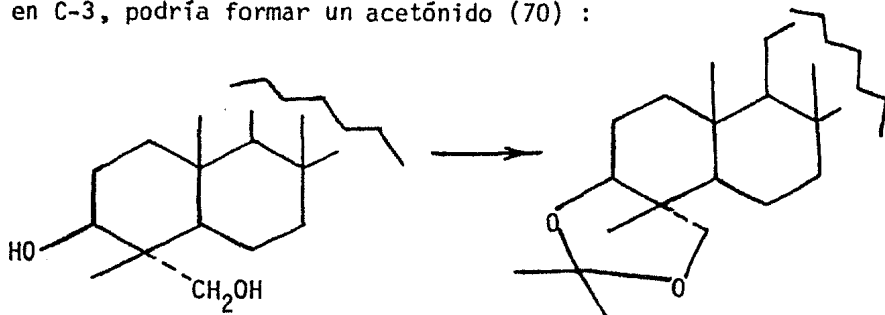
Al realizar la acetilación, se obtuvo el Compuesto 1b; su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 10), muestra desplazada hacia campo bajo, la señal asignada inicialmente a la base del alcohol (3.18 ppm), precisamente hasta 4.5 ppm (J:7,9), además de que se puede ver la presencia del metilo del grupo acilo, con el singulete que aparece a 2.05 ppm. Esto se ratifica con la banda de absorción en Infrarrojo (espectro No. 9), a  $1248\text{ cm}^{-1}$ , debida a dicho metilo.

Suponiendo que el grupo OH del Compuesto 1, se encuentra en C-3, como es común en triterpenos, y con el fin de precisar su estereoquímica, se llevó a cabo una reducción estereoselectiva del derivado cetónico 1c, con borhidruro de sodio<sup>57,58</sup>.

Como en el producto de la reacción anterior, debe haber predominio del alcohol con orientación  $\beta$ , el hecho de que, la comparación de espectros (espectro No. 15), en el Infrarrojo, muestre que los dos compuestos (1a y 1d) son idénticos, nos lleva a la conclusión de que tiene configuración  $\beta$ , el grupo OH del Compuesto 1

Como algunos ácidos triterpénicos poseen el grupo carboxilo en C-23 ó en C-24, se pensó que dicho grupo funcional, podría encontrarse en cualquiera de esas posiciones. Para comprobar esto, se in-

tentó preparar el acetónido correspondiente, partiendo del diol, considerando que, si efectivamente el carboxilo, en el Compuesto 1, estuviera situado en C-23 ó C-24, por su cercanía espacial con el grupo OH en C-3, podría formar un acetónido (70) :

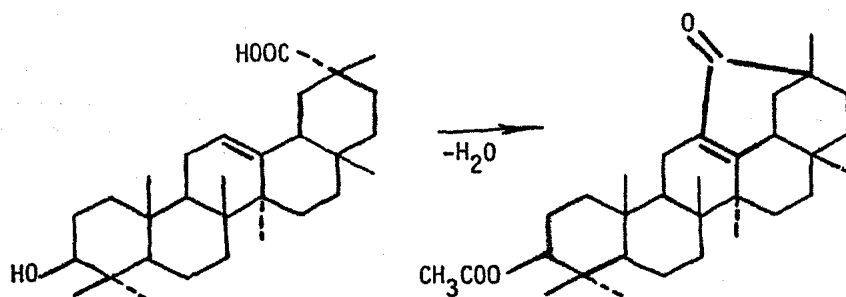


Se procedió entonces a la preparación del diol (Compuesto 1e), por reducción con hidruro de litio y aluminio, a partir del ácido original (Compuesto 1) y de su éster correspondiente (Compuesto 1a). El producto obtenido, mostró en Infrarrojo (espectro No. 16), una importante banda de absorción a  $1020\text{ cm}^{-1}$ , y en RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 17), señales de sistema AB a 3.35 ppm (J:11), todo esto denotaba la presencia en la estructura, de un grupo  $\text{CH}_2\text{OH}$ , que confirmaba la obtención del diol (Compuesto 1e).

Una vez obtenido este derivado, se procedió a la formación del acetónido; reacción que para el Compuesto 1e, fue negativa, puesto que, como habría de determinarse después, el grupo  $\text{CH}_2\text{OH}$ , al estar en C-17, se encontraba demasiado lejos del hidroxilo, como para poder unirse a él.

A fin de tener mayor información sobre la posición del grupo  $\text{COOH}$  en el Compuesto 1 (en un momento en que aún no se había - identificado plenamente a dicho producto natural), se pensó en practicar

la reacción de acetilación "anómala" descrita por King y Morgan<sup>71</sup>. Esta reacción, al parecer se lleva a cabo, sólo cuando el grupo carboxilo se encuentra situado en C-29, y aparentemente involucra la pérdida del protón vinílico, por reacción del doble enlace, con el grupo COOH, para originar una cetona cíclica, que muestra absorción máxima en ultravioleta, a 273 nm ( $\epsilon = 8900$ ). La reacción para poder efectuarse, además provoca cambios conformacionales en los anillos superiores de la molécula del triterpeno, ya que, el anillo D adquiere la conformación de "bote", mientras que el anillo E toma la de "silla":



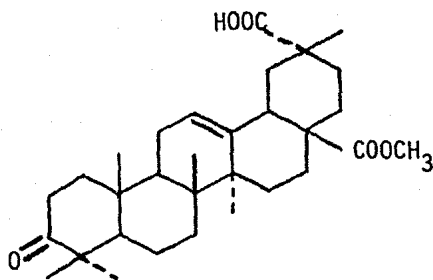
Cabe aclarar que la validez de la reacción anterior, es discutida por Tursch y colaboradores<sup>72</sup>, pues al realizar dicha reacción con la cetona del ácido mesembriantenoidigénico (XII), se obtiene un producto, con máximo de absorción a 269 nm ( $\epsilon = 7500$ ), que en RMN de <sup>1</sup>H, muestra el triplete a 5.25 ppm, correspondiente al protón vinílico<sup>73</sup>; lo cual estaría en total desacuerdo con la fórmula estructural sugerida por King y Morgan.

Así pues, la reacción de acetilación "anómala", se realizó con el Compuesto 1. Dicha reacción fue otra más que arrojó resultados negativos ya que el grupo carboxilo del compuesto mencionado, como posteriormente se determinó, no podía ciclizarse con el doble enlace, pues no se encontraba situado en C-29.

Cabe mencionar que también se le realizaron las siguientes reacciones al Compuesto 1:

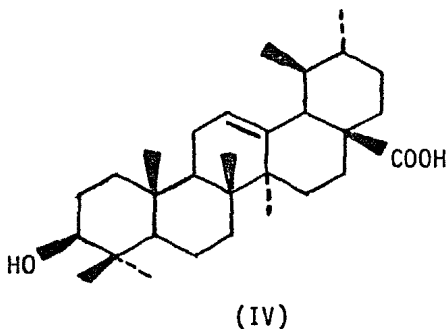
- Acetilación<sup>74,75</sup>
- Deshidratación<sup>76</sup>
- Formación de mesilato<sup>77</sup>
- Hidrogenación<sup>78</sup>
- Halogenación de la cetona<sup>79</sup>

Sin embargo, no se obtuvo en dichas reacciones el producto deseado o bien el producto resultante se descomponía fácilmente, lo que impedía su manejo para obtención de datos espectroscópicos.



(XII)

Considerando todos los datos espectroscópicos obtenidos del compuesto 1 y de su comportamiento químico, se concluye que se trata del ácido ursólico (IV) :



El grupo OH quedó demostrado por la banda de absorción en IR, las señales en RMN de  $^1\text{H}$ , así como por las reacciones de acetilación y oxidación. Su estereoquímica se definió por un lado, por las altas constantes de acoplamiento, observadas en RMP para la base del alcohol, lo que sugería una posición  $\alpha$  para dicha base; y por la reducción estereoselectiva con  $\text{NaBH}_4$ , cuyo producto con OH en  $\beta$  es idéntico, en Infrarrojo, al éster del Compuesto 1.

Se determinó la posición C-3, para el OH, porque además de ser biogénicamente, la más favorecida<sup>80</sup>, está acorde con la señal doble de doble observada en RMP (el valor de 3.15 ppm es característico); además de que los picos que se tienen en EM para el Compuesto 1, indican que el grupo OH debe encontrarse en el anillo A, pues si estuviera en alguno de los otros anillos de la estructura, ciertos picos estarían desplazados a 16 unidades más, que las posiciones observadas.

La posición del doble enlace quedó definida por la fragmentación observada en espectrometría de masas del compuesto original



y derivados, y por el triplete determinado por RMN de  $^1\text{H}$  a 5.25 ppm, característico de un protón vinílico en esa posición<sup>73</sup>.

La posición del grupo carboxilo, también se definió por EM, ya que el pico que aparece a m/e 203 y su correspondiente abundancia, denota la posición C-28 para el COOH.

Considerando los espectros de rayos X (espectros Nos. 28 y 29), se confirma que el Compuesto 1 es un ácido triterpénico pentacíclico, derivado de la  $\alpha$ -amirina, que posee el grupo OH situado en C-3 (los espectros de rayos X, como ya se mencionó, fueron realizados con cristales de la correspondiente cetona, por lo que, sólo se puede ver la unión C=O en C-3, y no la estereoquímica del OH), el grupo COOH en C-28 (que en el espectro, se mira en su forma esterificada), y una doble ligadura a nivel de C-12 y C-13 de la molécula (en los espectros puede observarse que los anillos A, B, D y E poseen la conformación de "silla", mientras que el anillo C por tener la doble ligadura, sufre una ligera distorsión, pues como los carbonos 12 y 13 poseen una hibridación  $sp^2$ , hacen que la unión sea planar, en ese nivel, lo que provoca que el anillo C se encuentre como "semisilla").

En los espectros de rayos X se ve claramente, cómo el doble enlace en C-12, se encuentra "rodeado" de los protones de C-11 y C-18, así como por los metilos de C-26, C-27 y C-29; esto explicaría por qué, debido a impedimentos estéricos, el triterpeno no puede ser hidrogenado en esa ligadura.

De acuerdo a los datos de la Tabla 2, se confirma como era de esperarse<sup>81,82</sup>, que las menores longitudes de enlaces, de las diversas uniones establecidas en la estructura del ácido triterpénico pen-

tacíclico, corresponden precisamente, a las dobles ligaduras: la cetónica O(1)-C(3), la del carbonilo del éster O(2)-C(28), y la del protón vinílico en C(12)-C(13).

En consecuencia, reuniendo toda la información anterior, el principal metabolito secundario de *S. lavanduloides*, el Compuesto 1, queda plenamente identificado como el ácido ursólico (ácido 3 $\beta$ -hidroxi-urs-12-en-28-oico) (IV).

## 2) CARACTERIZACION DEL COMPUESTO 2 COMO ACIDO OLEANOLICO

El compuesto 2 (p.f.: 300-305°C), tiene una menor polaridad que el Compuesto 1, y es precisamente, esta característica, lo que facilitó su separación, mediante la cromatografía en columna del extracto total de *S. lavanduloides*.

El compuesto 2 es también un triterpeno pentacíclico, que se encuentra en la planta en menor proporción que el Compuesto 1.

El espectro de Infrarrojo del Compuesto 2 (espectro No. 4), muestra bandas significativas a  $3620\text{ cm}^{-1}$  (OH) y en la región de carbonilos, a  $1700\text{ cm}^{-1}$  (COOH).

En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 5), se determinaron cinco singuletes debidos a grupos  $\text{CH}_3$ , a 0.78, 0.93, 1.00, 1.15 y 1.25 (que integran para 21H); una señal doble de doble a 3.20 ppm, que denota la base del alcohol y un triplete de protón vinílico a 5.27 ppm.

Debido a que el Compuesto 2, presenta un punto de fusión demasiado alto (arriba de 300°C), no fue factible, por razones técnicas, obtener su espectro de masas.

En consecuencia, para poder observar la fragmentación de su molécula se preparó un derivado, realizando una reacción de esterificación.

En el espectro de masas (espectro No. 21), del éster del Compuesto 2 (Compuesto 2g) (P.M.: 470), se puede ver que su fragmentación corresponde a la de un triterpeno pentacíclico, que posee un doble enlace en C-12, derivado de la  $\beta$ -amirina<sup>66-68</sup>, ya que al igual que en los espectros de masas del Compuesto 1 y sus derivados, se observa como la principal fragmentación, es provocada por un mecanismo tipo

retro-Diels-Alder, a nivel de la doble ligadura.

En el espectro de Infrarrojo (espectro No. 19) del Compuesto 2g, se nota la banda de absorción a  $1730\text{ cm}^{-1}$  (característica del grupo éster). En su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 20), dicho grupo funcional queda indicado por el singulete situado a 3.61 ppm.

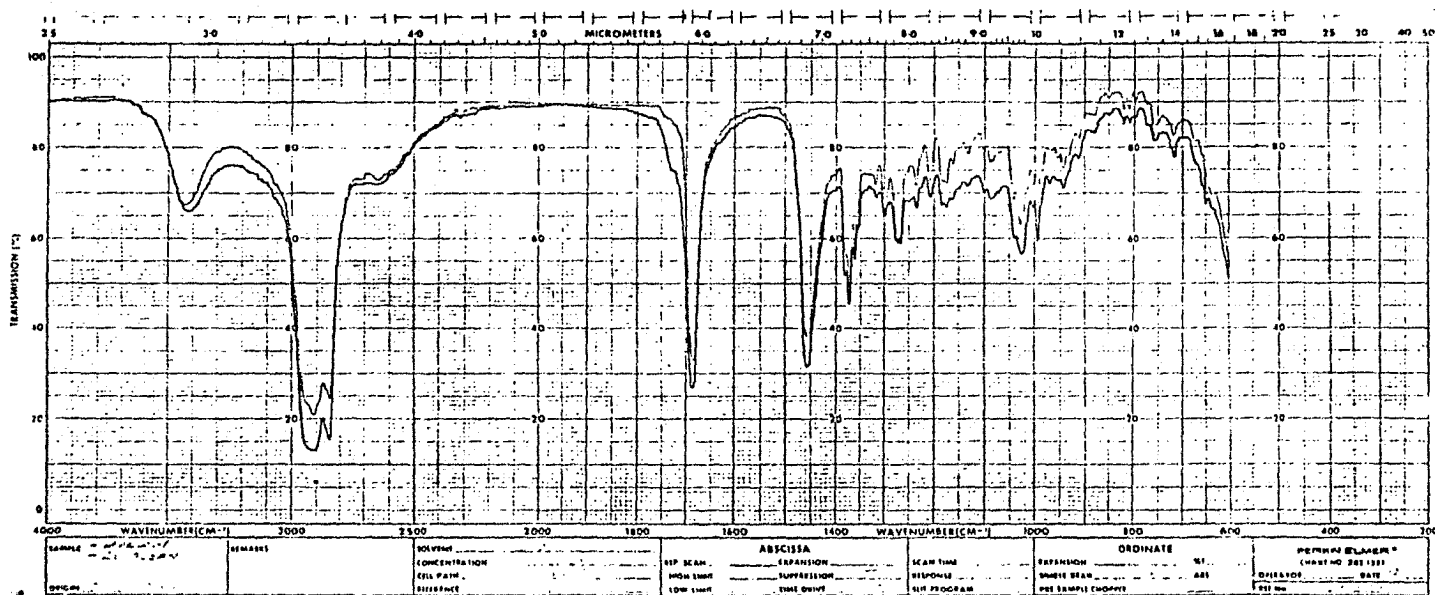
Dado que se tenía un grupo OH en la molécula, se procedió a la preparación del acetato correspondiente.

El acetato del Compuesto 2g (Compuesto 2h), muestra en Infrarrojo (espectro No. 22), una banda de absorción significativa a  $1725\text{ cm}^{-1}$  (debida al carbonilo del acetato), así como, una banda importante a  $1255\text{ cm}^{-1}$ , que denota al grupo acetoximetil. Su RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 23), mostró un singulete a 2.04 ppm (que integra para 3H), que corresponde al grupo acetilo, y la señal doble de doble a 4.5 ppm, originada por la base del acetato.

También, aprovechando la presencia del OH en la molécula, se realizó una reacción de oxidación del Compuesto 2g. La cetona obtenida (Compuesto 2i) (P.M.: 468, determinado por espectrometría de masas), indica en su espectro de IR (espectro No. 25), la absorción (a  $1710\text{ cm}^{-1}$ ) de una cetona en anillo de seis miembros. Su espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No. 26), denota la desaparición del grupo OH, y en consecuencia, del protón del C secundario, unido a él.

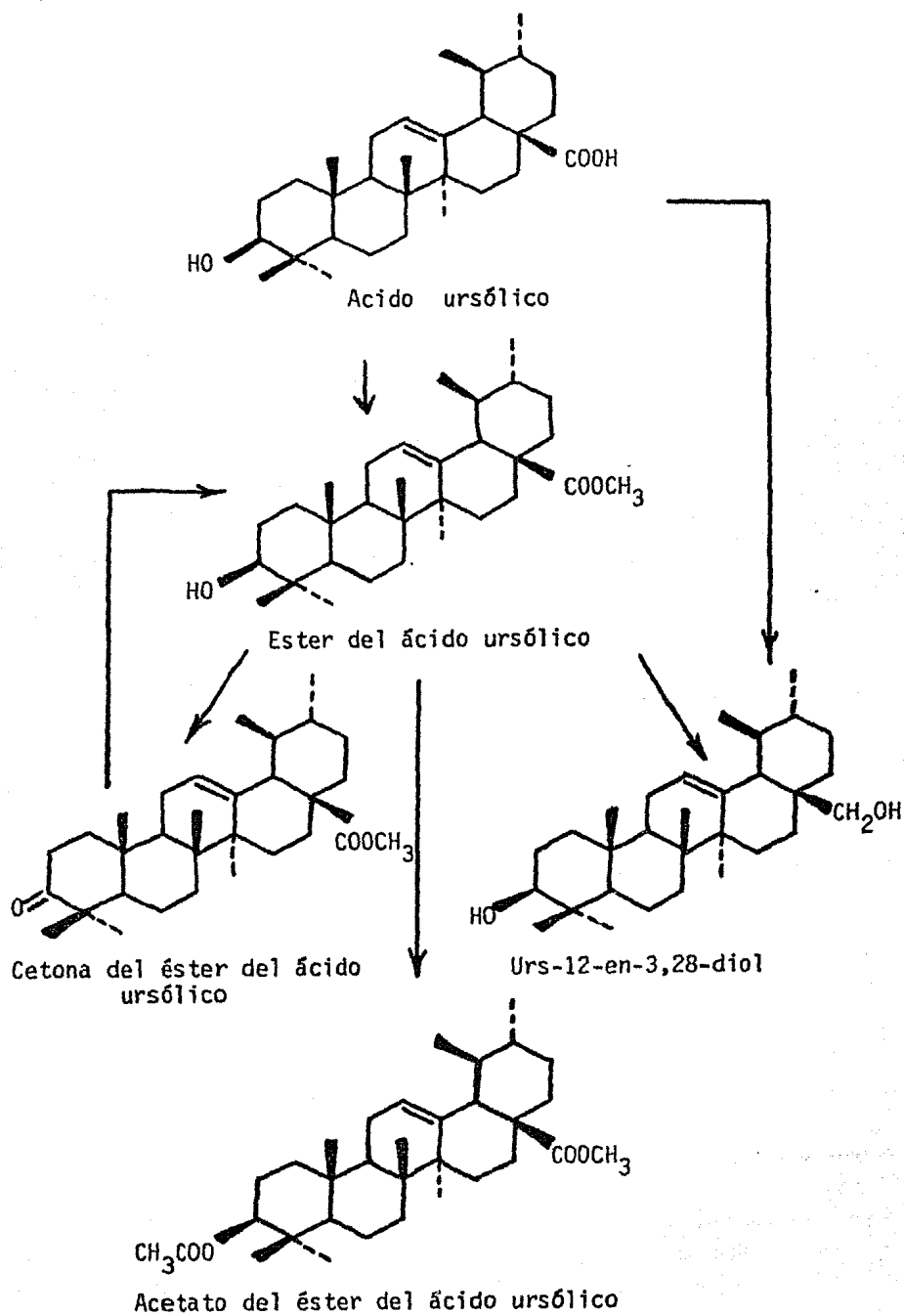
El ácido triterpénico aislado (Compuesto 2), quedó plenamente identificado, al realizar punto de fusión de mezcla, y espectro de Infrarrojo en paralelo (espectro No. 30), con una muestra auténtica de ácido oleanólico.

De este modo, el segundo producto natural extraído del canchaleso, fue el ácido oleanólico (ácido  $3\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-oico)(VIa).

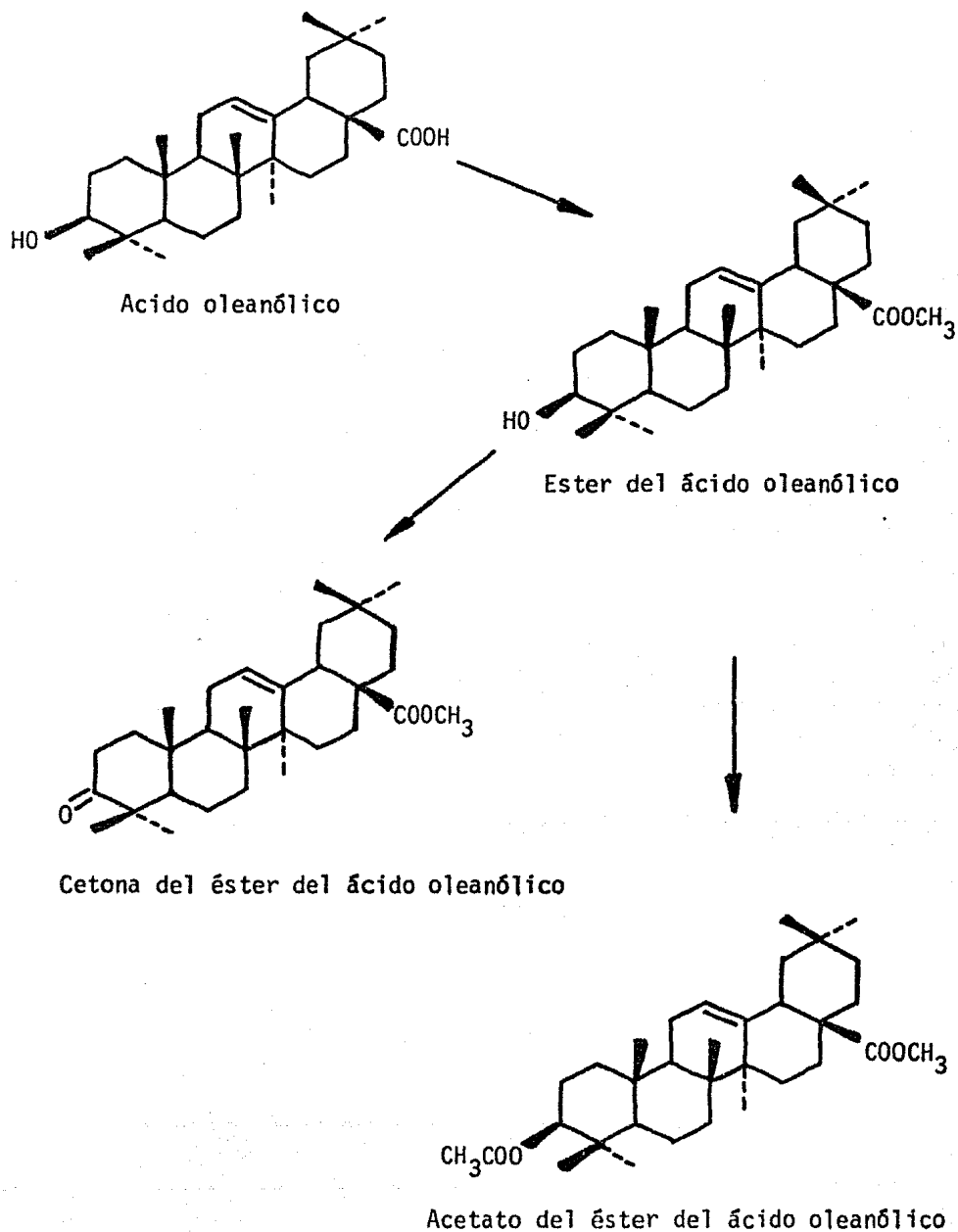


Espectro No. 30

## ESQUEMA DE REACCIONES DEL ACIDO URSOLICO (Compuesto 1)



## ESQUEMA DE REACCIONES DEL ACIDO OLEANOLICO (Compuesto 2)



## X. CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas del presente estudio se indican a continuación :

-Se describe el aislamiento y la elucidación estructural de dos ácidos triterpénicos pentacíclicos, presentes en *Salvia lavanduloides*:

el ácido ursólico (ácido 3 $\beta$ -hidroxi-urs-12-en-28-oico) y el ácido oleanólico (ácido 3 $\beta$ -hidroxi-olean-12-en-28-oico).

-Este es el primer trabajo de investigación, en el cual, se reporta la presencia, en el cantueso de los dos ácidos mencionados.

-Se destaca la importancia de *S. lavanduloides*, como importante fuente de ácido ursólico, un potente agente hipolipidémico, que como se encuentra en gran cantidad en la planta, se puede obtener con facilidad y con aceptable rendimiento, lo que hace que el cantueso adquiera interés industrial, no sólo a nivel de laboratorio.



## XI. PROPUESTAS Y RECOMENDACIONES

El presente trabajo es el primer estudio que se realiza para determinar a los componentes del cantueso. En el se describe una metodología para la extracción y purificación de los productos aislados, con la cual se obtiene un rendimiento bastante aceptable; sin embargo, cambiando ciertas condiciones experimentales (proceso de secado del material vegetal, someterlo a molienda antes de efectuar la extracción, cambiar el sistema de eluyentes, etc.), en estudios futuros, se podría aumentar el rendimiento del proceso, además de que, tal vez podrían aislarse sustancias no detectadas en este estudio.

Además debe tenerse presente, que sólo se analizó la parte aérea de la planta y que queda por determinar cuáles son los metabolitos que se encuentran en la raíz. Se puede pensar, que dadas las diversas propiedades medicinales que se le han atribuido, la planta debe de poseer otros compuestos de interés químico y farmacológico, que sería interesante precisar.

Por ahora, como ya se mencionó, se enfatiza la importancia del cantueso como fuente de ácido ursólico, un producto natural, que según estudios recientes<sup>3</sup> posee un notable efecto sobre la arteriosclerosis, lo que lo hace ser una alternativa en el tratamiento de esta enfermedad tan común. El ácido ursólico ha sido empleado como emulsificante, lo que indica su bajo toxicidad; considerando esto y su actividad biológica, se tiene entonces, un prometedor fármaco, que por encontrarse en abundancia en una planta medicinal mexicana, hace pensar,

que después de hacer los estudios terapéuticos correspondientes, nuestro país tendría a su alcance y a bajo costo, un fármaco muy adecuado, pues ciertos compuestos utilizados actualmente en el tratamiento de la arterosclerosis, no poseen una acción realmente eficaz<sup>83-86</sup>.

De este modo, en este estudio, se da la pauta para la realización de varios trabajos futuros de gran interés, puesto que el desarrollo de nuevos fármacos siempre será una importante necesidad humana.

En nuestra época contemporánea, el pensamiento universal reclama que la Ciencia sea benéfica, que sirva realmente al hombre; sea pues, este sencillo trabajo, una contribución en ese sentido.

## XII. BIBLIOGRAFIA

- 1.- Wagner, H., Rev. Latinoamer. Quím., 8, 16 (1977) .
- 2.- Aslidinov, F. A. 1956. Sb. Nauchn. Tr. Samarkand. Med. Inst. 11 : 177;  
C. A., 52 : 6614 (1958) .
- 3.- Parfent'eva, E. P., Vasilenko, Yu. K., Lisevitskaya, L. I., Oganessian,  
E. T.; Vopr. Med. Khim., 26, 174 (1980); C. A., 93 : 778e (1980).
- 4.- Vasilenko, Yu. K., Parfent'eva, E. P., Lisevitskaya, L.I.; Deposited  
Doc. 1980, VINITI, 5232 ; C. A., 96 : 46042a (1982) .
- 5.- Webb, L. J. y T. B. Talcott, Aust. J. Sci., 10, 82 (1947) .
- 6.- Hoechst A.-G. Belg. 853, 264 (Cl. A61K), 05 Oct. 1977, Ger. Appl. - -  
2,640,275, 08 Sept. 1976 ; C. A., 89 : 30750z (1978) .
- 7.- Hernández, F. Historia Natural de Nueva España .  
Libro Segundo. Vol. I Dirección General de Publicaciones .  
U. N. A. M. México, 1976 .
- 8.- Sahagún, Fray B. de . Florentine Codex .  
traducido al inglés por C. E. Dibble y A. J. O. Anderson .  
The School of American Research and the University of Utah .  
Santa Fé, Nuevo México . 1950-1969 .
- 9.- Dfiaz, J. L. (editor) . Indice y sinonimia de las plantas medicinales  
de México . I. M. E. P. L. A. M. México, 1976 .
- 10.- Dfiaz, J. L. (editor). Usos de las plantas medicinales de México .  
I. M. E. P. L. A. M. México, 1976 .

- 11.- Martínez, M. Las plantas medicinales de México .  
4a ed. Ed. Botas México, 1959 .
- 12.- Kaplan, L. I. A selected guide to the literature on the flowering  
plants of México . University of Pennsylvania .  
U. S. A. , 1964 .
- 13.- Romo de Vivar, A., Ciencia, 32, 163 (1981) .
- 14.- Wollenweber, E., Phytochem., 13, 753 (1974) .
- 15.- Pettit, G. R., H. Klinger y N. N. Jorgensen, Phytochem., 5, 301 -  
(1966) .
- 16.- Collera, O., E. Gomora y F. G. Jiménez, Rev. Latinoamer. Quím., 11 -  
60 (1980) .
- 17.- Ulubelen, A. y C. H. Brieskorn, Phytochem., 4, 820 (1975) .
- 18.- Ulubelen, A., S. Ozturk y S. J. Isildatici, J. Pharm. Sci., 6, 1037  
(1968) .
- 19.- Brieskorn, C. H., H. Klinger y W. Polonius, Arch. Pharm. 294, 839 -  
(1961) ; C. A., 56 : 711c (1962) .
- 20.- González, G. A., B. M. Fraga, J. G. Luis, A. G. Ravelo, An. Quím. -  
71, 701 (1975) ; C. A., 85 : 2505x (1976) .
- 21.- Brieskorn, C. H. y S. Dalferth, Kongr. Pharm. Wiss., Vortr. Originalmitt. 23. Muenster (Westfalen), Ger., 341 (1963) ;  
C. A., 62 : 7805b (1965) .

- 22.- Pourrat, H., y J. Le Men, *Ann. pharm. franc.*, 11, 190 (1953) ; -  
C. A., 47 : 8320c (1953) .
- 23.- Saleh, M. R. I., y N. N. Sabri, *J. Drug. Res.*, 12, 131 (1980) ; -  
C. A., 95 : 93316v (1981) .
- 24.- Ulubelen, A. y C. H. Brieskorn, *Planta Med.*, 31, 80 (1977) ; - -  
C. A., 87 : 28899v (1977) .
- 25.- Ulubelen, A. y E. Ayanoglu, *Phytochem.*, 15, 309 (1976) .
- 26.- Shamsudinov, S., S. F. Dzhumyrko, A. V. Simonyan, *Khim. Prir. Soe-  
din.* (1), 95 (1979) ; C. A., 91 : 35706r (1979) .
- 27.- Ulubelen, A., C. H. Brieskorn y N. Ozdemir, *Phytochem.*, 16, 790 -  
(1977) .
- 28.- Mukherjee, K. S., y P. K. Ghosh., *J. Indian Chem. Soc.*, 55, 850 - -  
(1978) .
- 29.- García-Alvarez, M. C., G. Savona, y B. Rodríguez, *Phytochem.*, 20, -  
481 (1981) .
- 30.- González, G. A., B. M. Fraga y A. G. Ravelo, *An. Quim.*, 68, 1433 -  
(1972) ; C. A., 78 : 108202s (1973) .
- 31.- Domínguez, X. A., F. H. González, R. Aragón, M. Gutiérrez, J. S. Ma-  
rroquín y W. Watson, *Planta Med.*, 30, 237 (1976) ;  
C. A., 86 : 27658h (1977) .
- 32.- Rustaiyan, A., A. Niknejad, L. Nazarians, J. Jakupovic y F. Bohlmann,  
*Phytochem.*, 21, 1812 (1982) .

- 33.- Burgar, M. I., D. Karba y D. Kikelj, Farm. Vestn. (Ljubjana), 30, -  
253 (1979) ; C. A., 93 : 53754a (1980) .
- 34.- Tanker, M., E. Sarer y N. Tanker, Amkara Univ. Eczacilik Fak. Mecm.  
6, 198 (1976) ; C. A., 87 : 172700r (1977) .
- 35.- Lehninger, A. L. Bioquímica . 2nda ed.  
Ediciones Omega Barcelona, 1981 .
- 36.- Newman, A. A. Chemistry of Terpenes and Terpenoids .  
Academic Press London, 1972 .
- 37.- Hertmann, E. Phytochem., 22, 1843 (1983) .
- 38.- Richards, J. H. et al . The Biosynthesis of Steroids, Terpenes -  
and Acetogenins . W. A. Benjamin New York, 1964 .
- 39.- Wade, A. Martindale. The Extra Pharmacopoeia . 27 ed.  
The Pharmaceutical Press . London, 1978 .
- 40.- Shrainer, R. L., R. C. Fuson y D. Y. Curtin . Identificación sis-  
temática de compuestos orgánicos . Ed. Limusa .  
México, 1977 .
- 41.- Bates, R. B. y J. P. Schaefer. Técnicas de Investigación en quí-  
mica orgánica . ed. Prentice/Hall Internacional .  
España, 1977 .
- 42.- Heftmann, E. Chromatography .  
Reinhold Publishing Co. New York, 1961 .

- 43.- Silverstein, R. M. y G. C. Bassler . Spectrometric Identification of Organic Compounds. 2nd ed.  
John Wiley & Sons . New York, 1967 .
- 44.- Nakanishi, K. Infrared Absorption Spectroscopy-Practical .  
Holden Day San Francisco, 1962 .
- 45.- Dyer, J. R. Aplicaciones de espectroscopía de absorción en compuestos orgánicos. ed. Prentice/Hall Internacional .  
España, 1973 .
- 46.- Pavia, D. L., G. M. Lampam y G. S. Kriz. Introduction to spectroscopy : A guide for students of organic chemistry .  
W. B. Saunders Co. U. S. A., 1979 .
- 47.- Nyburg, S. C. X-Ray Analysis of Organic Structures .  
Academic Press London, 1961 .
- 48.- Dunitz, J. D. X-Ray Analysis and the Structure of Organic Molecules  
Cornell University Press . U. S. A. 1979 .
- 49.- De Boer, Th. J. y H. J. Backer, Org. Syntheses, Coll. Vol. 4, 250 -  
(1963) .
- 50.- Ulubelen, A. y E. Ayanoglu, Phytochem., 15, 309 (1976) .
- 51.- Shashi, B. M., C. D. Manik y P. S. Niranjana, Phytochem., 20, 171 -  
(1981) .
- 52.- Pardhy, R. S. y S. C. Bhattacharyya, Indian J. Chem., 16B, 176 - -  
(1978) .

- 53.- Tandon, R., G. K. Jain, P. Raghwendra y N. M. Khanna, Indian J. -  
Chem., 20B, 46 (1981) .
- 54.- Djerassi, C. y H. G. Monsimer, J. Am. Chem. Soc., 79, 2901 (1957) .
- 55.- Djerassi, C. y J. S. Mills, J. Am. Chem. Soc., 80, 1236 (1958) .
- 56.- Bowers, A., T. G. Halsall, E. R. H. Jones y A. J. Lemin, - -  
J. Chem. Soc., 2555 (1953) .
- 57.- Rodríguez-Hahn, L., A. Romo de Vivar, A. Ortega, M. Aguilar y J. Romo,  
Rev. Latinoamer. Quím., 1, 24 (1970) .
- 58.- Majumder, P. L., R. N. Maiti, S. K. Panda y D. Mal, J. Org. Chem., -  
44, 2811 (1979) .
- 59.- Sando, C. E., J. Biol. Chem., 56, 457 (1923) .
- 60.- Romo de Vivar, A., C. Guerrero y G. Wittgreen, Rev. Latinoamer. -  
Quím., 1, 39 (1970) .
- 61.- Huneck, S., Tetrahedron, 19, 479 (1963) .
- 62.- Zechmeister, L. Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe .  
Progress in the Chemistry of Organic Natural Products .  
Progrès dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles .  
Springer-Verlag/Wien Austria, 1964 .
- 63.- Ruzicka, L. y K. Hofmann, Helv. Chim. Acta, 19, 114 (1936) .
- 64.- Ruzicka, L., A. Rudowski, J. Norymberski y O. Jeger, Helv. Chim. -  
Acta, 29, 210 (1946) .



- 65.- Ruzicka, L., O. Jeger, J. Redel y E. Volli, *Helv. Chim. Acta*, 28, 199 (1945) .
- 66.- Budzikiewicz, H., C. Djerassi y H. D. Williams. *Structure Elucidation of Natural Products by mass spectrometry* . Vol. 2  
Holden-Day San Francisco, 1964 .
- 67.- Domínguez, X. A. y L. Brener, *Rev. Latinoamer. Quím.*, 1, 68 (1970) .
- 68.- Budzikiewicz, H., J. M. Wilson y C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 3688 (1963) .
- 69.- Adam, G., M. Lischewski, H. V. Phiet, A. Preiss, J. Schmidt y T. V. -  
Sung, *Phytochem.*, 21, 1385 (1982) .
- 70.- Quintero, Garnica Ma. de Lourdes. *Nuevo sesquiterpeno de Verbesina virgata, Cav.* Tesis Facultad de Química  
U. N. A. M., 1981 .
- 71.- King, F. E. y J. W. W. Morgan, *J. Chem. Soc.*, 4738 (1960) .
- 72.- Tursch, B., J. Leclerq y G. Chiurdoglu, *Tetrahedron Lett.*, 4161, -  
(1965) .
- 73.- Romeo, G., P. Giannetto y M. C. Aversa, *Org. Magn. Reson.*, 9, 29 -  
(1977) .
- 74.- Chakrabarti, P., D. K. Mukherjee y A. K. Barua, *Tetrahedron*, 22,  
1431 (1966) .
- 75.- Chakrabarti, P., D. K. Mukherjee y A. K. Barua, *Tetrahedron*, 24,  
1107 (1968) .

- 76.- Romo de Vivar, A., E. A. Bratoeff y T. Ríos, J. Org. Chem., 31, -  
673 (1966) .
- 77.- Romo, J., P. Joseph-Nathan, A. Romo de Vivar y C. Alvarez,  
Tetrahedron, 23, 259 (1967) .
- 78.- House, H. O. Modern Synthetic Reactions .  
W. A. Benjamin Inc. New York, 1965 .
- 79.- Djerassi, C. Steroid Reactions .  
Holden-Day, Inc. San Francisco, 1963 .
- 80.- Ourrison, G. y P. Crabbé . Les triterpènes tétracycliques .  
Actualités Scientifiques et Industrielles 1287 .  
Hermann París, 1961 .
- 81.- Morrison, R. T. y R. N. Boyd. Química orgánica .  
Fondo Educativo Interamericano . E. U. A., 1976 .
- 82.- March, J. Advanced Organic Chemistry . 2nd ed.  
McGraw-Hill Tokyo, 1977 .
- 83.- Applezweig, N. Steroid Drugs .  
McGraw-Hill New York, 1962 .
- 84.- Jucker, E. Fortschritte der Arzneimittelforschung .  
Progress in Drug Research . Progrès des recherches pharmaceu-  
tiques . Vol. I .  
Birkhauser Verlag Basel . Switzerland, 1959 .

- 85.- Goodman, L. S. y A. Gilman. The pharmacologica basis of therapeutics. sixth ed. Macmillan Publishing Co. New York, 1980 .
- 86.- Korolkovas, A. y J. H. Burckhalter. Compendio esencial de Química Farmacéutica . ed. Reverté . España, 1979 .