

41
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



COMPOSICION QUIMICA DE LA RAIZ DE *Salvia lavanduloides*

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MARIA DE LOS ANGELES FLORES ALVAREZ

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	PAGINAS
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	3
III. GENERALIDADES	4
IV. ANTECEDENTES	13
V. DISCUSION DE RESULTADOS	
a) DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS	16
b) IMPLICACIONES QUIMIOTAXONOMICAS	26
VI. PARTE EXPERIMENTAL	29
VII. ESPECTROS	36
VIII. BIBLIOGRAFIA	47

I. INTRODUCCION

La investigación en el área de productos naturales tiene gran importancia, entre otras razones, por contribuir al estudio quimiotaxonómico de las diferentes familias en que se divide la vegetación de México en todo lo que abarca su extensión, desde los desiertos donde la aridez apenas permite el desarrollo de vida alguna, hasta las densas y frondosas selvas¹.

Así uno de los objetivos de la investigación en el área de productos naturales, es el aislamiento y la elucidación estructural de los metabolitos secundarios presentes en las diferentes especies, lo cual conduce a un conocimiento más amplio de la naturaleza, principalmente en las áreas de química y biología. Sin embargo, en la actualidad se observa cada vez una mayor tendencia de obtener resultados más prácticos de dichas investigaciones por lo que muchas de ellas se han dirigido al estudio de las plantas medicinales, cuyo uso se conoce desde la antigüedad.

Estas plantas eran utilizadas en su mayoría en forma de extractos o infusiones, aunque no se conocía cuál era en sí la sustancia o sustancias responsables de la acción farmacológica en el organismo. Posteriormente con el gran avance

científico se ha conseguido aislar y caracterizar algunas de estas sustancias y correlacionar sus estructuras con su actividad farmacológica. En la actualidad se conocen sustancias que han sido extraídas de las plantas y que son muy efectivas contra algunas enfermedades, pero que no ha sido posible utilizarlas por su toxicidad. Es entonces donde se aplican los conocimientos químicos para modificar la molécula y así obtener derivados en los que la toxicidad disminuya y/o se incremente la efectividad, aunque esto no se logra en todos los casos.

También se han encontrado sustancias con actividad farmacológica cuya aplicación resulta incosteable por el bajo rendimiento con que se aíslan de las plantas, pero estas sustancias pueden ser utilizadas como modelo para llevar a cabo su síntesis y obtener así un nuevo fármaco.

El presente trabajo de tesis está enfocado a establecer la composición química de la raíz de Salvia lavanduloides con lo que se espera contribuir a la caracterización quimio taxonómica de las plantas mexicanas, en especial las de la familia Labiatae, que han demostrado poseer actividad farmacológica⁴.

II. OBJETIVOS

1. Determinar la composición química de la raíz de Salvia lavanduloides adicionando estos resultados a los que se obtengan del estudio de las partes aéreas para establecer la composición total de la especie.

2. Contribuir al estudio químico de Salvias mexicanas del subgénero Calosphace.

III. GENERALIDADES

El género Salvia de la familia de las labiadas (Labiatae = Lamiaceae) es uno de los más abundantes y diversificados de esta familia ya que cuenta con más de 900 especies^{2,3}. Algunas plantas de esta familia son importantes desde el punto de vista económico y medicinal, por ejemplo Oreganum sp (orégano), Rosmarinus sp (romero), Thymus sp (tomillo) y Mentha sp (verbabuena), que se utilizan como condimentos o saborizantes^{4,5}.

Las semillas de Salvia hispánica y Salvia tiliaefolia se utilizan para preparar bebidas refrescantes (agua de chia), mientras que algunas especies de los géneros Salvia y Agastache tienen uso ornamental, otras especies tienen un uso muy difundido en medicina tradicional, como por ejemplo Salvia fulgens y Salvia microphylla, conocidas como " mirto ", que se emplean en algunas regiones para curar malestares estomacales.

También desde el punto de vista químico son interesantes estas plantas, por el elevado número de compuestos que de ellas se han aislado como son los monoterpenoides, diterpenoides, triterpenoides, flavonas, etc. Algunos de estos compuestos han presentado diferentes actividades farmacológicas

gicas como por ejemplo: antibiótica, antiséptica, antiviral, antifúngica, antitumoral, citotóxica, expectorante, hipotensiva, insecticida, antialimentaria, etc⁶⁻⁹.

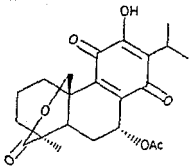
El género Salvia se divide en cuatro subgéneros: Salvia y Sclarea, a los que pertenecen la mayoría de las especies europeas y asiáticas; Leonia, representado por especies de América del norte y Calosphace, al que pertenecen la mayoría de las especies latinoamericanas, entre las que se encuentran cerca de 300 especies mexicanas.

La composición química de los subgéneros del viejo mundo se ha caracterizado por la presencia de diterpenoides abietánicos, tanto en la raíz como en las partes aéreas. En el caso de las Salvias mexicanas, los metabolitos que con mayor frecuencia se han aislado son diterpenoides con esqueleto de neoclerodano¹⁰. Este tipo de diterpenoides se ha aislado en el 80% de las especies analizadas, aunque cabe mencionar que en su mayoría los análisis se han limitado a las partes aéreas. Sin embargo, también se han aislado diterpenoides abietánicos de las Salvias mexicanas¹¹, pero su distribución se encuentra restringida a algunas secciones del género. A la fecha se han aislado únicamente de las secciones Tomentellae y Erytrostachys.

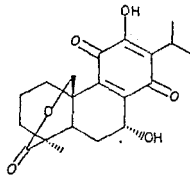
En la siguiente Tabla se describen los metabolitos secundarios con esqueleto de abietano de las Salvias Mexicanas estudiadas hasta el momento.

GENERO	ESPECIE	SECCION	No DE ESTRUCTURA	REF
<u>Salvia</u>	<u>sessei</u>	<u>Erytrostachys</u>	(1)	12
<u>Salvia</u>	<u>regla</u>	<u>Erytrostachys</u>	(1-3) (4-9)	13
<u>Salvia</u>	<u>pubescens</u>	<u>Erytrostachys</u>	(4-9)	14
<u>Salvia</u>	<u>ballotaeflora</u>	<u>Tomentellae</u>	(4, 10)	15
<u>Salvia</u>	<u>fruticulosa</u>	<u>Tomentellae</u>	(11-13)	16, 17

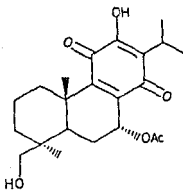
ESTRUCTURAS .



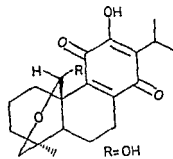
1. seseina



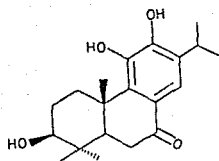
2. desacetil seseina



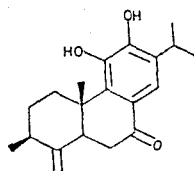
3. 19-hidroxi-7a-acetoxiroyleanona



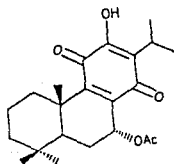
4. conacytona



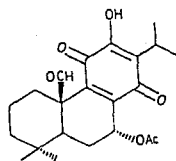
5. 3β-hidroxi-desmetil-criptojanonol



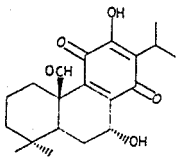
6. 19 (4 → 3)-abeo-0-desmetil-criptojanonol



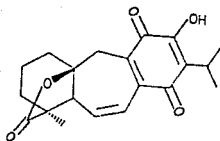
7. 7-α-acetoxireyanona



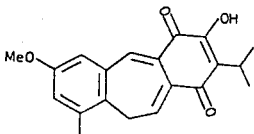
8. nemorona



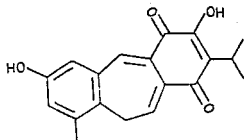
9. desacetil nemorona



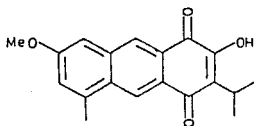
10. icetexona



11. fruticulina A



12. desmetilfruticulina A

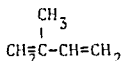


13. fruticulina B

BIOGENESIS DE DITERPENOIDES ABIETANICOS

Los abietanos son compuestos que pertenecen a un subgrupo de sustancias conocidas como diterpenoides, los que a su vez pertenecen a un grupo mas amplio que es el de los terpenoides^{10,11}.

Los terpenoides son productos naturales que se derivan de la unión de varias unidades biológicas del isopreno (2-metil-1,3-butadieno).

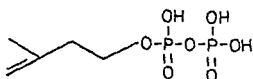


Dependiendo del número de unidades que contenga el --- compuesto terpenoide este recibirá un nombre diferente.

Hemiterpenoide	C- 5	...	1	unidad de isopreno.
Monoterpenoide	C-10	...	2	unidades de isopreno.
Sesquiterpenoide	C-15	...	3	unidades de isopreno.
Diterpenoide	C-20	...	4	unidades de isopreno.
Sesterterpenoide	C-25	...	5	unidades de isopreno.
Triterpenoide	C-30	...	6	unidades de isopreno.

Biogénicamente se considera que la formación de los precursores básicos para los compuestos terpenoides sigue la vía del ácido mevalónico (AMV) como se muestra en el esquema I ¹⁸⁻²².

Una vez formado el pirofosfato de 3-isopentenilo (PPI) éste sufre una reacción de isomerización, para posteriormente, por condensaciones sucesivas con otras moléculas de PPI, dar origen a los precursores básicos (A,B,C) de los diferentes compuestos terpenoides.



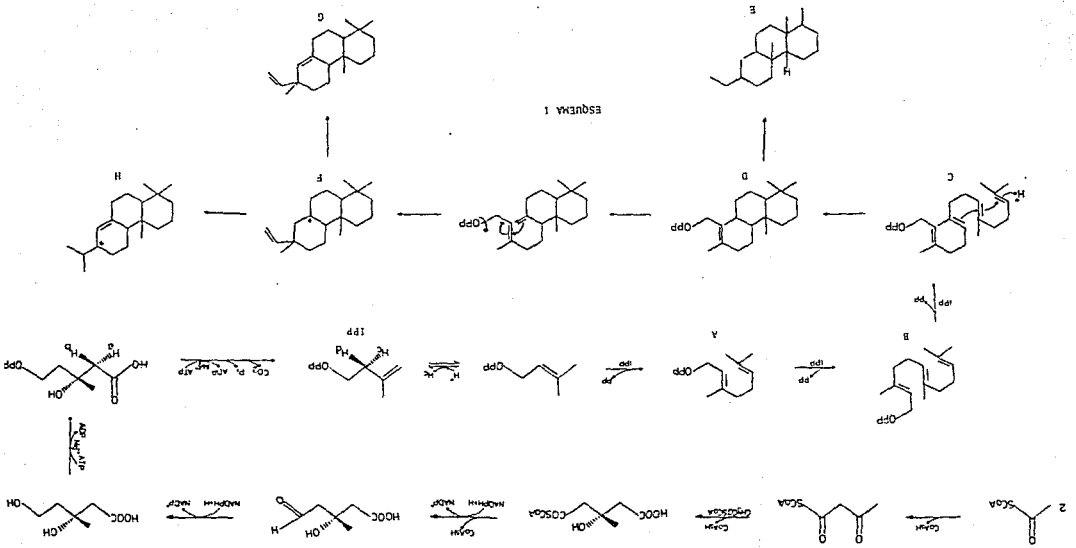
Pirofosfato de 3-isopentenilo

Así para los compuestos diterpénicos, el precursor es el pirofosfato de geranylgeranilo (G), mismo que sufre una serie de reacciones de ciclización que comprenden diferentes etapas y que se inician con la protonación del doble enlace de la unidad del isopropilideno para formar el intermediario bicíclico tipo D, que por transposición de hidrógeno dará lugar a la formación de clerodanos (E) o en una ruta alterna que implica ciclización y salida del piro

fosfato, dará origen al intermediario tricíclico F, que se transforma en pimaradieno (G). Una vez formado este último intermediario (G), sufre una protonación del doble enlace terminal, con posterior migración del metilo sobre C-13 para formar el carbocatión alílico (H), el cual es precursor de los compuestos diterpénicos con esqueleto de abietano, los cuales por lo general presentan un sistema aromático en el anillo C o en otros casos un sistema diénico 7, 13 ó 8,13. Se cree que ambos tipos de funcionalización son debidas a la intermediación del catión (H)²².

Los diterpenoides abietánicos han sido aislados de diferentes familias de plantas tales como Asteraceae, Podocarpaceae, Celastraceae y Labiatae, entre otras²³⁻²⁶.

ESQUEMA 1



IV. ANTECEDENTES

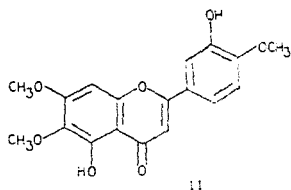
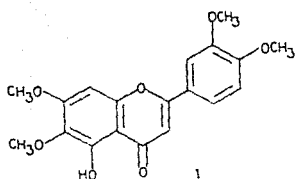
La Salvia lavanduloides es conocida con el nombre vulgar de " Cantueso " (Valle de México).

Es una planta herbácea de hojas opuestas, elípticas, tallos cuadrangulares, flores azules bilabiadas en espiga terminal y raíces fibrosas²⁷.

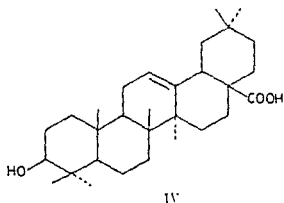
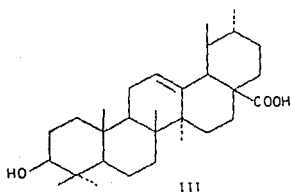
Esta especie se localiza en los estados de México, Michoacán, Morelos y Oaxaca. Pertenecce a la familia Labiatae, género Salvia, subgénero Calosphace, sección lavanduloides ²⁸.

En medicina tradicional se le atribuyen a esta especie propiedades espectorantes, antipiréticas, hemostáticas, oxitócicas y antidisentéricas. También se utiliza contra la alopecia⁹⁻¹¹.

Existen dos estudios químicos previos sobre esta especie. En el primero²⁹ se describe el aislamiento de dos flavonoides identificados como 5-hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxiflavona (I) y eupatorina, (5,3'-dihidroxi-6,7,4'-trimetoxiflavona) (II).



En la segunda investigación realizada a esta especie³⁰ son aislados dos componentes más, en esta ocasión se trata de los ácidos ursólico (III) y oleanólico (IV)



La presencia de estos triterpenos es común en el género Salvia y en otros géneros de la familia Labiatae como por ejemplo Hyptis, Lepechinia, etc¹⁵⁻¹⁷.

En ambos trabajos la parte analizada fué la aérea. La inquietud por analizar la raíz de Salvia lavanduloides surgió durante el análisis de un lote de esta especie compuesto principalmente por las partes aéreas pero que contenía algo de raíz. Como resultado de dicho análisis se aislaron compuestos de tipo neoclerodano y también una quinona abietánica. Estos resultados fueron sorprendentes ya que la coexistencia de clerodanos y abietanos no ha sido descrita en el género Salvia, al grado de que se llegó a pensar que los abietanos eran característicos de las Salvias europeas y asiáticas, mientras que los clerodanos lo eran de las del nuevo mundo.

Por lo anterior se emprendió un estudio muy cuidadoso tanto de las partes aéreas como de la raíz de esta especie correspondiendo este último al presente trabajo de tesis.

Se partió de la hipótesis de que los abietanos se encuentran en la raíz y no en las partes aéreas de esta planta. Los resultados obtenidos se describen a continuación.

V. DISCUSION DE RESULTADOS

a) DETERMINACION ESTRUCTURAL DE LOS METABOLITOS SECUNDA RIOS AISLADOS

La población de Salvia lavanduloides estudiada se recolectó en el mes de septiembre de 1988, a orillas de la carretera Cuernavaca-Toluca, en los alrededores de Huitzilac, Morelos.

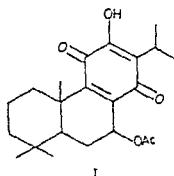
Se separaron cuidadosamente las partes aéreas de las raíces, estas últimas se dejaron secar, se molieron, se extrajeron con hexano y después con metanol.

Mediante cromatografía en columna de los extractos hexánico y metanólico se aislaron un total de 5 compuestos; 7 α -acetoxiroyleanona (I), 7 α -hidroxiroyleanona (II), β -sitosterol (III), salviandulona (IV) y ácido ursólico (V), este último fué caracterizado como el acetil derivado del ester metílico.

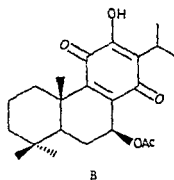
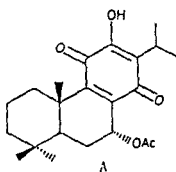
Los compuestos I, II, III y V ya han sido descritos previamente en la literatura por lo que su elucidación estructural solo se describirá brevemente. La estructura de salviandulona no fué elucidada totalmente, debido a su labilidad.

El compuesto I, se aisló de las primeras fracciones e--
luídas con hexano, como un sólido cristalino amarillo con
pf de 218-220°C, que mostró en el IR (espectro 1) absorcio-
nes para grupo oxhidrilo en 3380 cm^{-1} , en 1738 cm^{-1} para --
carbonilo de ester, en 1671, 1642 y 1605 cm^{-1} , las corres-
pondientes a una p-quinona, en 1395 y 1372 cm^{-1} , las origi-
nadas por metilos geminales. En el espectro de RMN^1H (es-
pectro 6) del compuesto I se observaron dos singuletes uno
en $\delta 0.87$ que integra para seis protones y otro en $\delta 1.23$ que
integra para tres protones que se asignan a tres metilos --
terciarios en la molécula. Este espectro muestra también -
dos dobletes en $\delta 1.17$ y $\delta 1.21$ ($J=7\text{Hz}$) que integra para tres
hidrógenos cada uno. Estas señales se atribuyen a un grupo
isopropilo. La presencia tanto de la p-quinona como del gru-
po isopropilo, permiten presuponer un esqueleto de abietano
para el compuesto I. El espectro de RMN^1H y la espectrome-
tría de masas de I permitieron corroborar la existencia de
un ester en la molécula, ya que en el primero se observa un
singulete en $\delta 2.02$ que integra para tres hidrógenos que se
asignan al metilo de un acetato y en el segundo se observa
la pérdida de una cetena (m/z 332) y de ácido acético (m/z
314 a partir del ión molecular (m/z 374). En la región de
campo bajo del espectro de RMN^1H se observan dos señales --

una en $\delta 7.11$ que intercambia con agua deuterada y que por su desplazamiento se atribuye a un oxhidrilo sobre el anillo - quinoide. La segunda señal aparece en $\delta 5.88$ como un multiplete ($W 1/2 = 7 \text{ Hz}$) cuyo desplazamiento es adecuado para un protón base de ester y vecino al anillo quinoide. Por lo anterior se propuso para el compuesto I la siguiente estructura.

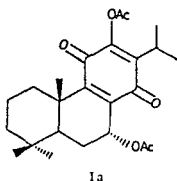


Al revisar la literatura se encontró que existen dos compuestos con esta estructura, que difieren en la estereoquímica de C-7. Estos compuestos son la 7 α -acetoxiroyleana (A)³¹ y la 7 β -acetil taxoquinona (B)^{32,33}



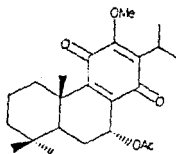
Los datos de RMN¹H descritos para A y B son diferentes siendo la principal diferencia la señal de H-7 que en ambos casos es un multiplete: en A con $W 1/2 = 7$ Hz, mientras que en B es de 18 Hz. De donde se concluye que al compuesto I le corresponde la estructura de 7 α -acetoxiroyleanona, diterpenoide quinónico aislado originalmente de Inula royleana³¹ así como de varias especies del género Salvia.

El compuesto I se sometió a una reacción de acetilación obteniéndose el derivado Ia como un sólido amarillo con mp 122-123°C, que presentó en el IR banda para ester saturado en 1737 cm^{-1} . En la RMN¹H (espectro 7), se observan dos - singuletes que integran para tres hidrógenos cada uno y que se asignan a los metilos de los dos acetatos, uno en $\delta 2.32$ atribuido al acetato en C-12 y el otro en $\delta 2.01$ correspondiente al del C-7. La espectrometría de masas permitió corroborar la existencia de este segundo acetato por la pérdida de dos cetenas (m/z 332), de ácido acético y de cetena (m/z 314) a partir del ión molecular (m/z 416). En la región de campo bajo del espectro de RMN¹H ya no son observadas las - señales que atribuían al oxhidrilo sobre el anillo quinoide por ser sustituido por un grupo acetato. Por lo anterior - se propuso la estructura siguiente para el compuesto Ia.



1a

Para comprobar la presencia del oxhidrilo sobre el anillo quinoide en el compuesto I, éste se trató con diazometano. El compuesto obtenido es un sólido amarillo con pf $186-188^{\circ}C$. su espectro de RMN^1H (espectro 8) muestra un singulete en $\delta 3.84$ que integra para tres hidrógenos que se asignan al metoxilo que se encuentra sobre el anillo quinoide. Con la espectrometría de masas se comprobó la presencia de esta funcionalidad ya que se observa un ión molecular de m/z 388. Por lo descrito anteriormente la estructura propuesta para el derivado Ib es la siguiente;



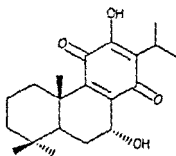
Ib

La obtención de los derivados Ia y Ib y la comparación de sus datos físicos, espectroscópicos y espectrométricos - con los descritos en la literatura, permitieron comprobar la identidad del compuesto I como la 7 α -acetoxiroyleanona.

El compuesto II, aislado de las fracciones eluidas con hexano, se obtuvo en forma de cristales amarillos con *pf* - 178-180°C, que mostró en el IR (espectro 2) absorciones para un grupo oxhidrilo en 3590, 1255 y 1160 cm^{-1} , en 1655 y 1635 cm^{-1} , las correspondientes a una *p*-quinona, en 1400 y 1380 cm^{-1} , las originadas por metilos geminales.

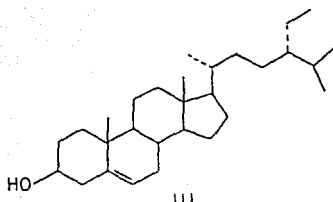
El espectro de RMN¹H (espectro 9) del compuesto II presenta una marcada semejanza con el del compuesto I (Tabla 1) excepto que en el de II no se observa la señal del meti

lo del acetato y la señal correspondiente de H-7 aparece a campo más alto, por lo que se propone para este compuesto la estructura de 7 α -hidroxiroyleanona (II). El ión molecular observado (m/z 332) es congruente con la estructura propuesta. Este compuesto ya había sido aislado anteriormente de Salvia lanata, Coleus carnosus Hassk y Plectranthus sp (labiatae), entre otras²⁴⁻²⁷.



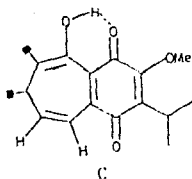
II

El β -sitosterol (III) aislado de las fracciones eluidas con hexano, es un sólido blanco. Se caracterizó mediante comparación de sus constantes físicas y espectroscópicas -- con las de una muestra auténtica.



De las fracciones de polaridad intermedia se aisló un líquido rojo viscoso al que llamamos salvianulona, ya que en el IR (espectro 3) mostró absorciones debidas a un grupo oxhidrilo en 3439 cm^{-1} , a una p-quinona en 1659 y 1627 cm^{-1} y a metilos geminales en 1375 y 1362 cm^{-1} . Su espectro de masas presentó un ión molecular de m/z 342, (en concordancia con una fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$ ó $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_5$) así como fragmentos importantes debido a la pérdida de isopropilo m/z 299 (100%) y metilo m/z 327 (87%). En la RMN¹H (espectro 10) se observaron dos singuletes en 61.36 y 61.26 que se usignaron a los dos metilos terciarios. También se observaron las señales correspondientes a un grupo isopropilo en 61.25 (d, $J=7.5\text{ Hz}$) y 63.37 (h, $J=7.5\text{ Hz}$). En 613.13 apa-

rece un singulete que se atribuye a un protón oxhidrónico quelatado, tanto por su desplazamiento químico, como porque intercambia con agua deuterada. En la región de protones vinílicos se pueden observar dos señales correspondientes a la parte AB de un sistema ABX. Tomando en consideración la constante de acoplamiento AB que es de 10.5 Hz, esta señal se asigna a los protones vinílicos de un doble enlace en anillo de 7 miembros, el cual debe estar fusionado con el anillo quinoide ya que uno de los protones vinílicos (A) aparece a campos muy bajos (δ 7.71) esto probablemente debido a que queda coplanar al carbonilo quinoide que ejerce un efecto de desprotección. El protón B resuena a δ 6.24 por interacción tanto como H-A como H-X, cuya señal aparece superpuesta en δ 4.02 con la de un grupo metoxilo, al que por su desplazamiento se le sitúa sobre el anillo quinoide. En base a lo anterior se puede proponer la estructura parcial C que aparece acorde con los datos espectroscópicos observa-



dos, pero en la que aún falta situar un fragmento de fórmula C_6H_{12} ó C_5H_8O que incluya a dos metilos terciarios.

De cualquier manera esta estructura es solo tentativa, puesto que los datos espectroscópicos que se obtuvieron no fueron suficientes para poder establecer definitivamente la estructura de salviandulona. Esto debido a que la muestra se descompuso antes de poder completar los análisis espectroscópicos.

Tanto del extracto hexánico como del metanólico se aisló una mezcla compleja de compuestos de tipo triterpénico de la que únicamente se logró caracterizar al ácido ursólico V. Aunque este compuesto no se aisló como tal sino después de metilar y acetilar la mezcla original, con lo que se obtuvo acetyl ursolato de metilo Vb, el cual fue caracterizado por comparación de sus propiedades físicas y espectrales con las de una muestra auténtica³⁰.

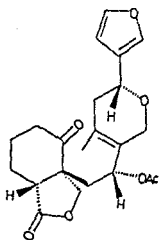
b) IMPLICACIONES QUIMIOTAXONOMICAS

El análisis químico de la raíz de Salvia lavanduloides permitió establecer que en ella se encuentran primordialmente quinonas abietánicas. Aunque en la presente tesis solo se describe el aislamiento de 2 de ellas, los análisis mostraron que posee un número mucho mayor, pero formando mezclas muy complejas que no fué posible resolver por los métodos empleados.

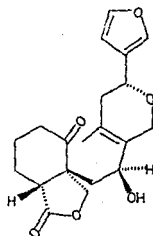
Por otra parte, el análisis de las partes aéreas de esta especie, que se efectuó paralelamente al de la raíz y de manera exhaustiva, condujo al aislamiento de los ácidos ursólico y oleanólico (triterpenoides), así como de las salvianulinas A, B y C (seco clerodanos)^{35,36}, no se detectaron sustancias de tipo abietánico en este estudio.

Así, los resultados obtenidos de ambos análisis son quimiotaixonómicamente revelantes, ya que en la Salvia lavanduloides es la primera especie del género, en la que se encuentra que coexisten abietanos y clerodanos, lo cual conduce a reconsiderar el planteamiento de que los abietanos son caracteres quimiotaixonómicos de las Salvias europeas y asiáticas y solo de algunas de las Salvias americanas, las cuales por otra parte, se han caracterizado por contener en su ma-

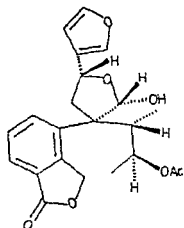
yoría clerodanos. Sin embargo en el caso de las Salvias americanas solo se han analizado partes aéreas, ahora habrá que considerar la posibilidad de las raíces de estas especies contengan abietanos. Desde luego será necesario analizar integralmente un mayor número de especies para establecer si el caso de la Salvia lavanduloides se inscribe dentro del patrón químico del sungénero o es un caso particular.



salviandulina A



salviandulina B



salviandulina C

Tabla 1 RMN¹H. Datos espectroscópicos de los constituyentes diterpénicos de Salvia lavanduloides y derivados.

	I	Ia	Ib	II
H-1 _s	2.73m	2.71m	2.65m	2.67m
H-7	5.88m(w1/2=7)	5.90m(w1/2=7)	5.83m(w1/2=7)	4.67(w1/2=8)
H-15	3.14hep(7)	3.13hep(7)	3.16hep(7)	3.15hep(7)
Me-16	1.21d(7)	1.23d(7)	1.26d(7)	1.25d(7)
Me-17	1.17d(7)	1.18d(7)	1.24d(7)	1.20d(7)
Me-18	0.87s	0.88s	0.85s	0.97s
Me-19	0.87s	0.88s	0.85s	0.96s
Me-20	1.23s	1.23s	1.21s	1.19s
OAc-7	2.02s	2.03s	2.03s	
OH-7				3.04s
OH-12	7.11s			7.24s
OAc-12		2.52s		
OMe-12			3.84s	

Los desplazamientos químicos están dados en δ . Estandar interno: TMS (80 MHz, solución CDCl₃). Las constantes de acoplamiento están dadas en Hz y se encuentran en paréntesis.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

29

VI. PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión de los compuestos obtenidos se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos.

Las cromatografías en columna se efectuaron con gel de sílice 60 Merck.

La pureza de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatoplaça de gel de sílice 60 Merck P-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en ácido sulfúrico 2N.

Los espectros de IR se obtuvieron en cloroformo o en pastilla de KBr en un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo 337 o en un espectrofotómetro Nicolet FT-5X.

Los espectros de RMN¹H se realizaron a 80 MHz en un aparato Varian FT- 80A. Los desplazamientos químicos están dados en ppm, con respecto al TMS. Los valores de J están dados en Hz.

Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato Hewlett Packard 5985-B, mediante la técnica de impacto electrónico, a 70 ev.

La planta Salvia lavanduloides analizada fué recolectada en Huitzilac, Morelos en el mes de septiembre de 1988. (se deposito un espécimen en el Herbario del Instituto de Biología, U.N.A.M., AOH-214)

Las raíces de Salvia lavanduloides secas y finamente molidas (1.850 Kg), fueron extraídas por percolación en una columna de vidrio con dos disolventes de diferente polaridad. Primero se trabajó con hexano y finalmente con metanol. Ambos extractos fueron concentrados a sequedad, obteniéndose 13.74g del extracto hexánico y 37.63g del extracto metanólico.

El extracto hexánico (13.74g) se separó de sus componentes por medio de cromatografía en columna empacada con gel de sílice. La elución de ésta se inició con hexano, aumentando gradualmente la polaridad con AcOEt y finalmente se lavó con acetona, (columna original). Se colectaron fracciones de 500 ml.

Aislamiento de 7 α -acetoxiroleanona (I).

De las fracciones 15-19 eluidas con hexano se aislaron 1.813g de (I) (0.098% respecto a raíz seca). como sólido -- cristalino amarillo, que se purificó por cristalizaciones -

sucesivas (AcOEt-hexano) hasta punto de fusión constante -- 218-220°C. IR $\nu_{\text{máx}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} . (espectro 1): 3380, 1738, 1671, 1642, 1605, 1395, 1372, 1255. EM-IE m/z : 374 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_5$), 332 $[\text{M}-\text{Cetena}]^+$, 314 $[\text{M}-\text{AcOH}]^+$, 299 $[\text{M}-\text{AcOH}-\text{Me}]^+$.

Aislamiento de 7 α -hidroxiroyleanona (II).

De las fracciones 7-14 eluidas con hexano se obtuvieron por cristalización 1.325g de un sólido cristalino amarillo.

El análisis por cromatografía en capa fina con un sistema AcOEt-benceno (1:49) reveló que se trataba de una mezcla de dos compuestos, de la cual se tomaron 28.1mg para separarlos por cromatografía en placa preparativa utilizando la mezcla ya mencionada. Después de la elución se observaron dos bandas las cuales fueron extraídas con AcOEt obteniéndose dos sólidos amarillos que se purificaron por sucesivas recristalizaciones con AcOEt-hexano, hasta obtener -- puntos de fusión constantes.

El compuesto menos polar fué identificado como 7 α -acetoxiroyleanona I, obtenido anteriormente.

El compuesto más polar (II) 4.3mg (15.30%), presenta un punto de fusión de 178-180°C. IR $\nu_{\text{máx}}^{\text{CHCl}_3}$ cm^{-1} . (espectro 2): 3570, 3339, 1680, 1655, 1635, 1605, 1400, 1380, 1100,

EM-IE m/z 332 [M]⁺ (C₂₀H₂₈O₄), 299 [M - H₂O - Me]⁺.

Aislamiento de β -sitosterol (III).

De las fracciones 28-40 eluidas con hexano se aislaron 0.689g (0.037% respecto a raíz seca) de un sólido blanco, que fué purificado por sucesivas recristalizaciones (AcOEt - MeOH), hasta obtener punto de fusión constante de 136-137 °C. Este compuesto fué caracterizado como β -sitosterol, -- por comparación con una muestra auténtica (pf, CCF en va-- rios sistemas e IR).

Aislamiento de salviandulona (IV).

Las fracciones 57-73 eluidas con hexano de la columna o riginal que contenían a la salviandulona se reunieron y fue ron sometidas a sucesivas cromatografías en columna empaca da con gel de sílice, en diferentes sistemas de eluyentes - sin ningún resultado. Finalmente 30.5mg (0.0016% respecto a raíz seca) de salviandulona (líquido viscoso rojo) fueron obtenidos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) columna (Si 10, 500 X 8 mm, fase móvil; hexano-AcOEt 80-20, flujo 250 ml/h), a partir de la mezcla original (62.3 mg; 0.0033% respecto a raíz seca). IR $\nu_{\text{máx}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹. (es- pectro 3): 3439, 1659, 1627, 1375, 1375, 1362. EM-IE m/z.

342 $[M]^+$ ($C_{21}H_{26}O_4$), 327 $[M - Me]^+$, 299 $[M - C_3H_7]^+$.

Aislamiento de la mezcla de triterpenoides (ácido ursólico V).

De las fracciones 94-99 eluidas con AcOEt-hexano (1:4) se aisló una mezcla de triterpenoides como un polvo blanco amarillento amorfo 1.32g (0.071% respecto a raíz seca) la cual fué reunida con 2.435g (0.132% de raíz seca) de esta misma mezcla, obtenida de las fracciones 1-58 (AcOEt-hexano 1:4) de la cromatografía en columna del extracto metanólico (37.63g). Esta mezcla se decoloró por sucesivas percolaciones en columna de vidrio empacada con carbón activado, empleando como eluyente metanol caliente. Los lavados se recolectaron y se evaporó el disolvente a presión reducida, de esta mezcla de triterpenos se tomaron 581mg y se metilaron con una solución etérea de diazometano. La reacción se siguió por CCF, después de observar la transformación de la mezcla original en una segunda mezcla menos polar, se evaporó el disolvente de la reacción y el residuo se disolvió en AcOEt, se adsorbió en celita y se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con la mezcla de AcOEt-hexano (0.5 : 9.5).

De las fracciones 3-7 se obtuvo el ester metílico del á

cido ursólico, como una mezcla (6.7mg) constituida al menos por dos esteroides metilicos más, la cual se acetiló con 0.5ml de piridina y 0.5ml de anhídrido acético, la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente y se siguió su desarrollo por CCF. La reacción se detuvo cuando se obtuvo un compuesto menos polar del que se partió originalmente. Este se purificó por sucesivas recristalizaciones hasta obtener un sólido blanco amorfo (4.6mg) con pf constante de 215-218°C, que se identificó por comparación directa del espectro de RMN¹H con el de una muestra auténtica.

Acetilación de 7 α -acetoxiroyleanona (I).

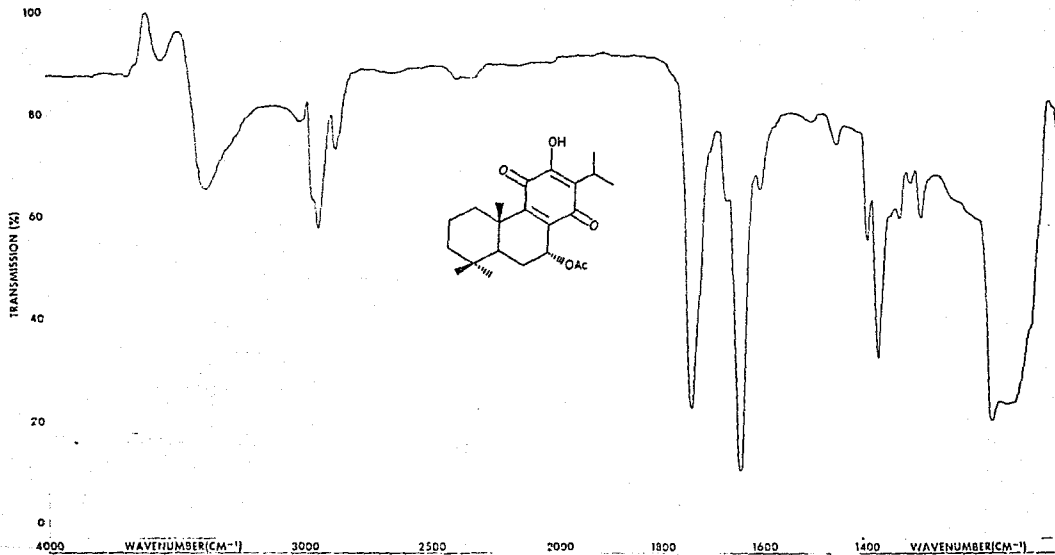
A 53.2mg del compuesto I se le adicionaron 1.0ml de piridina y 1.0ml de anhídrido acético, la mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente y se siguió su desarrollo por cromatografía en capa fina. Después de 5 días se observó la transformación total del compuesto I a un compuesto menos polar Ia. La mezcla de la reacción se agregó a una columna de vidrio empacada con celita y se le paso aire para eliminar los reactivos. Posteriormente el producto se eluyó con hexano y se purificó mediante recristalizaciones de AcOEt-hexano, obteniéndose 24.5mg del compuesto acetilado Ia, que es un sólido amarillo con pf 122-123°C. IR ν CHCl_3 máx

cm^{-1} . (espectro 4): 1735, 1646, 1602, 1371, 1025. EM-IE m/z 416 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_6$), 374 $[\text{M} - \text{cetena}]^+$, 332 $[\text{M} - \text{dos cetenas}]^+$ 314 $[\text{M} - \text{cetena} - \text{AcOH}]^+$, 299 $[\text{M} - \text{cetena} - \text{AcOH} - \text{Me}]^+$.

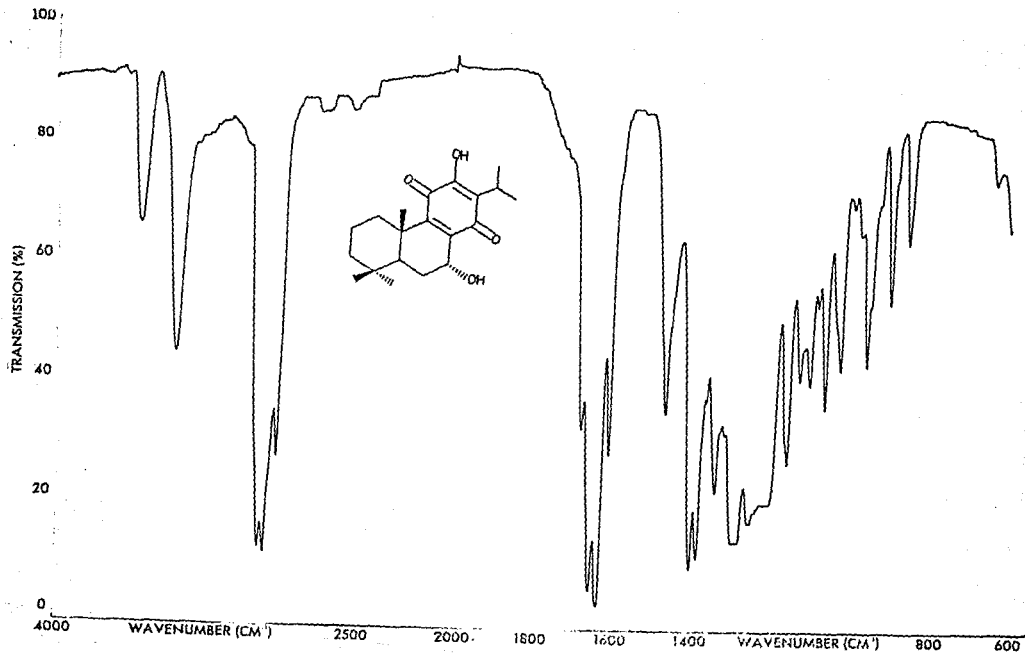
Metilación de 7 α -acetoxiroyleanona (I).

A una solución del compuesto I (52.3mg) en éter etílico (5 ml), mantenida en un baño con hielo se le adicionó poco a poco una solución etérea de diazometano. La reacción se siguió por CCF. Después de observar la transformación del compuesto I a un compuesto menos polar Ib, se evaporó el disolvente de la reacción y el residuo se disolvió en AcOEt se adsorbió en celita y se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con mezcla AcOEt-hexano, obteniéndose 39.7 mg del compuesto metilado Ib que es un sólido amarillo con pf 186-188 $^{\circ}\text{C}$. IR $\nu_{\text{máx}}^{\text{CHCl}_3} \text{cm}^{-1}$. (espectro 5): 1735, 1646, 1602, 1371, 1025. EM-IE m/z. 388 $[\text{M}]^+$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$), 346 $[\text{M} - \text{cetena}]^+$, 328 $[\text{M} - \text{cetena} - \text{AcOH}]^+$, 315 $[\text{M} - \text{cetena} - \text{AcOH} - \text{Me}]^+$.

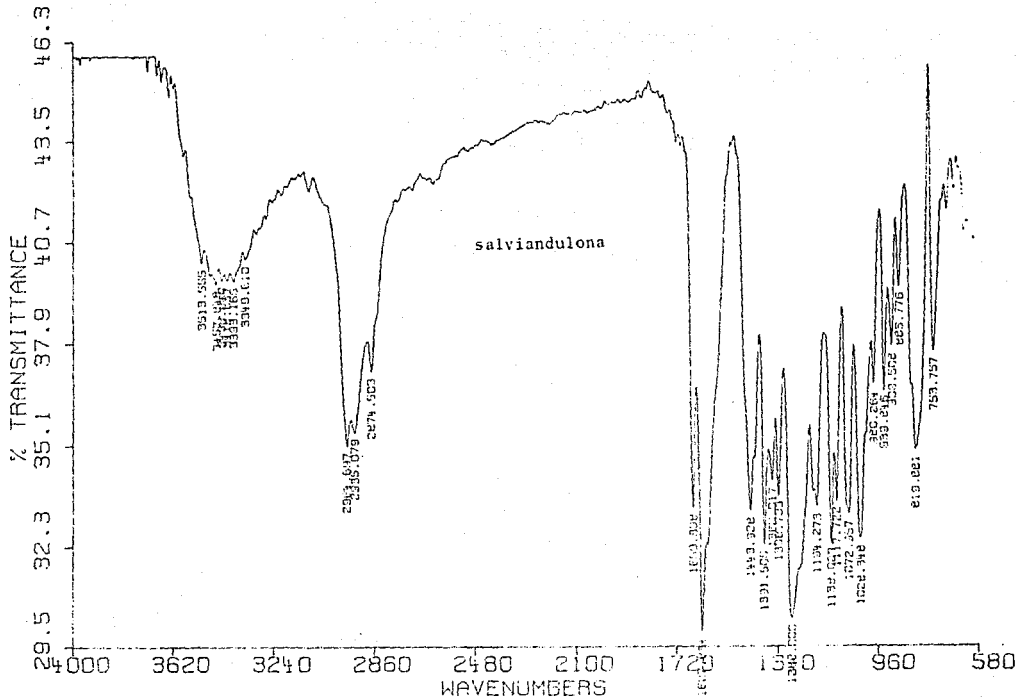
VII. ESPECTROS



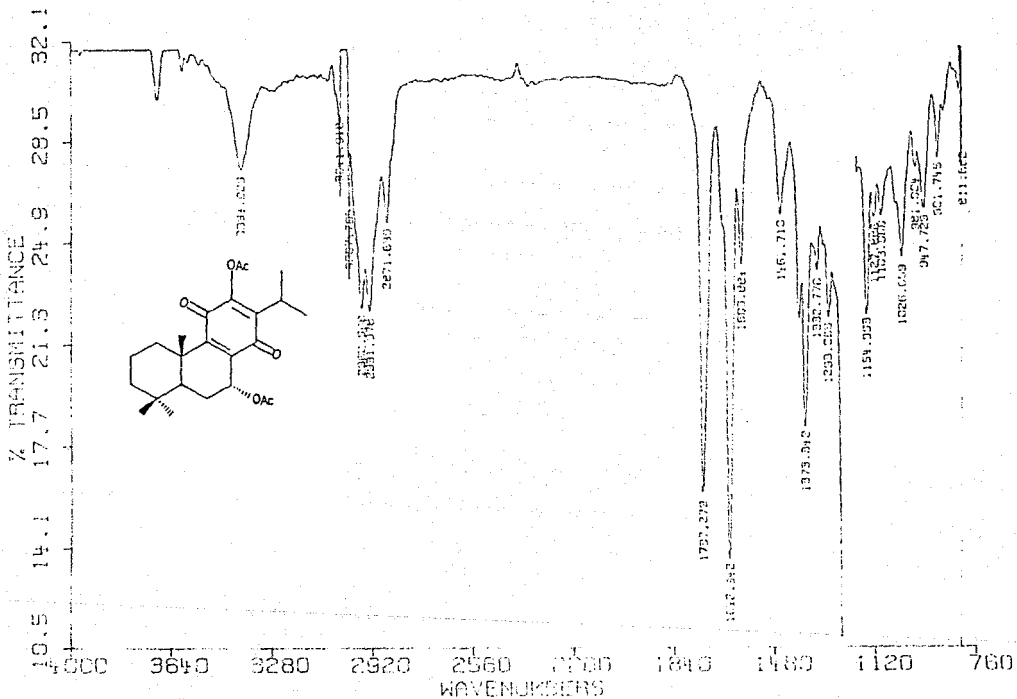
Espectro No 1



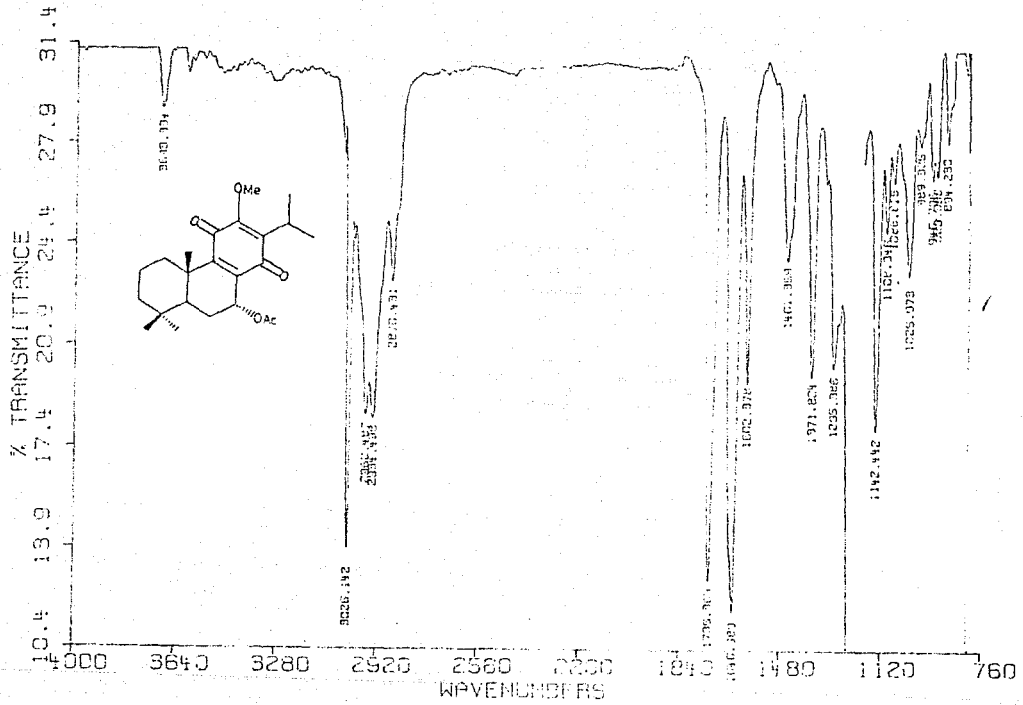
Espectro No 2



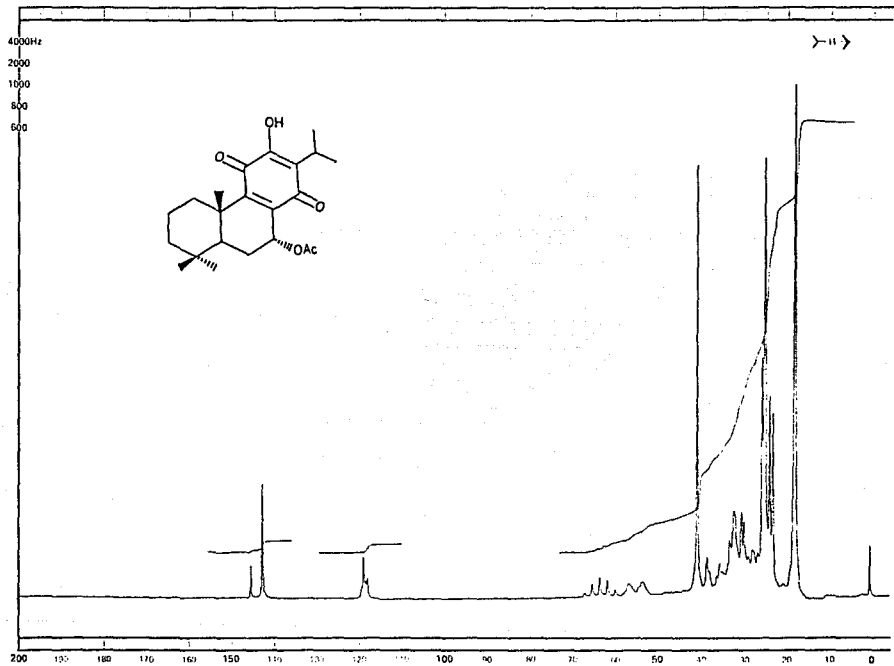
Espectro No 3



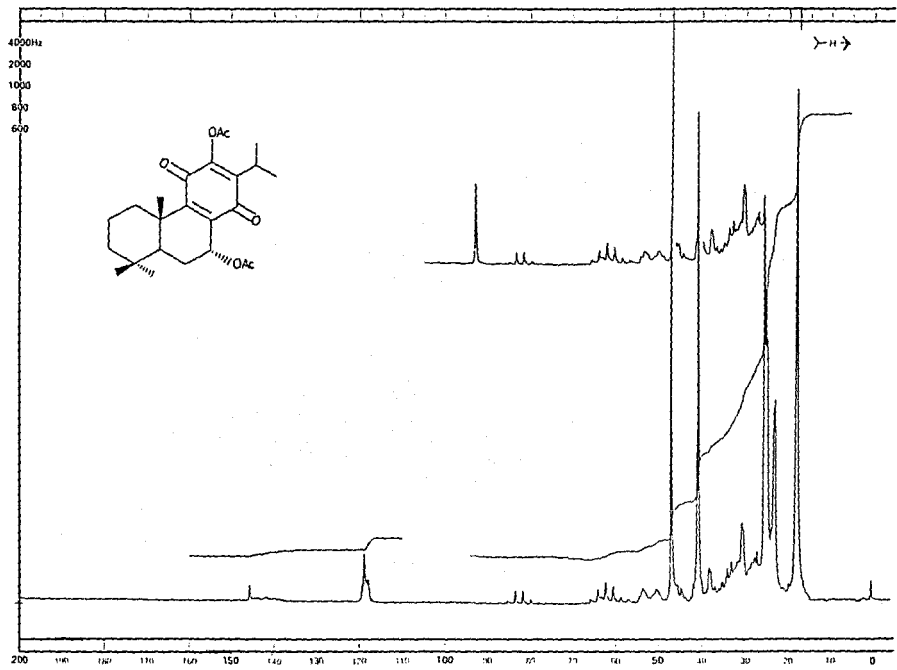
Espectro No 4



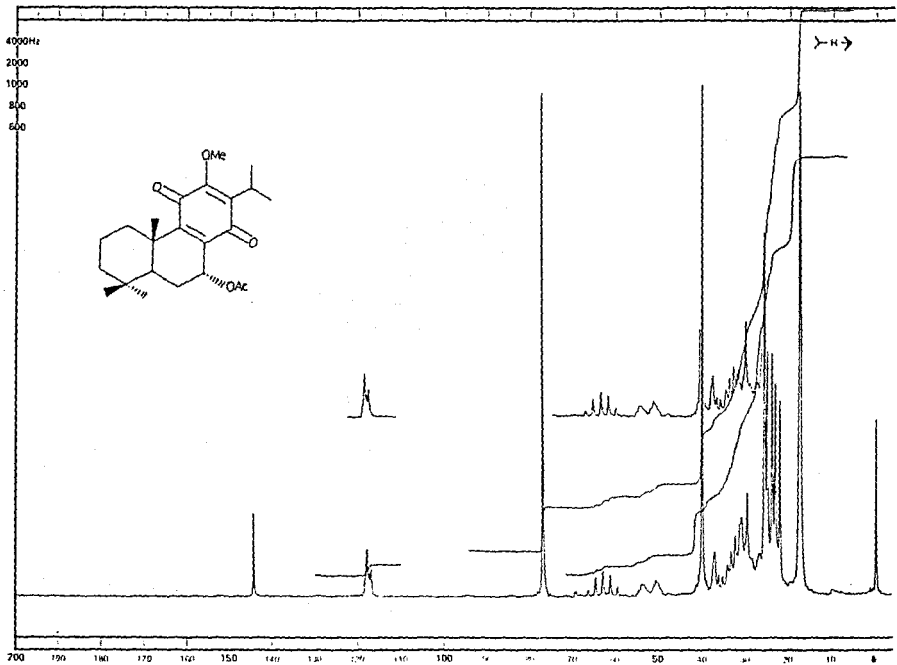
Espectro No 5



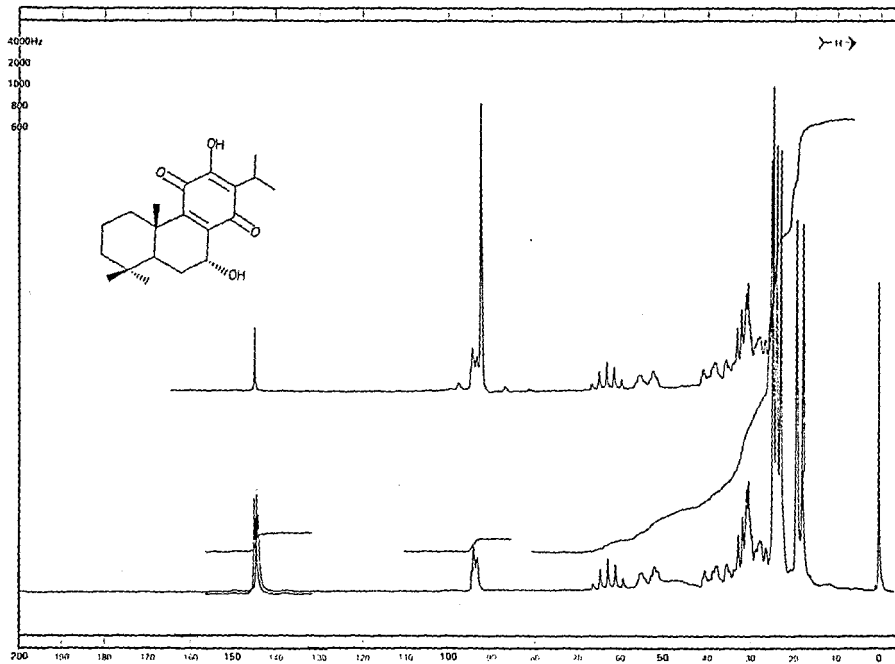
Espectro No 6



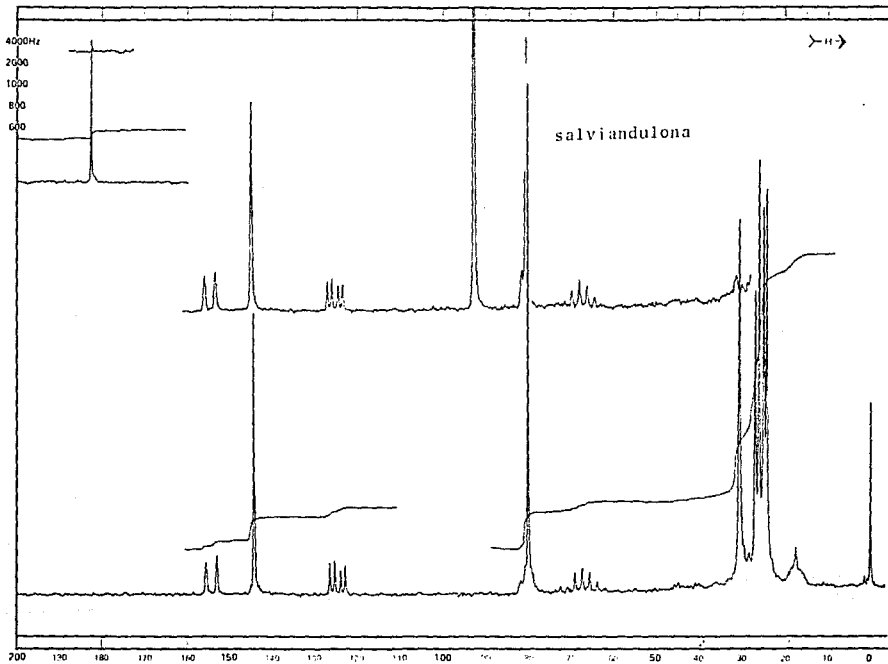
Espectro No 7



Espectro No 8



Espectro No 9



Espectro No 10

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Rzedowsky, J. Vegetación en México. (1983) p. 1-12 Ed. Limusa.
2. Ramamoorthy, T.P. (1984) Jour. Arnol. Arb. 65, 135.
3. Epling, C. (1939) Repert. Spec. Nov. Beih. Veg. 110, 1.
4. Wagner, H. (1977) Rev. Latinoamer. Quim. 8, 16.
5. Esquivel, B., Estudio Quimiotaxonómico de la sección fulgentes del género Salvia (labiatae). Tesis de Maestría, U.N.A.M., México, D.F., (1986).
6. Esquivel, B., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L. (1987) J. Nat.-Prod. 50, 738.
7. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, A.A., Sánchez, C., Cárdenas, J. y Ramamoorthy, T.P. (1987) Rev. Latinoamer. Quim. 18, 104.
8. Wagner, H. and Wolff, P. New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity. Ed Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. p. 137-176. (1977).
9. Kubo, I., Taniguchi, M. and Kubota, T. (1978) Rev. Latinoamer. Quim. 9, 157.
10. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, A.A., Cárdenas, J. y Ramamoorthy, T.P. (1987) Rev. Latinoamer. Quim. 18, 104.
11. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, A.A., Sánchez, C., Cárdenas, J. y Ramamoorthy, T.P. (1989) Rev. Latinoamer. Quim.

20, 105.

12. Jiménez , M., Portugal, E., Lira-Rocha, A., Soriano-García, M., Toscano, R. (1988) J. Nat. Prod. 51, 243.
13. Hernández, M., Esquivel, B., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L., Ramamoorthy, T.P.(1987) Phytochemistry. 26, 329.
14. Galicia, M., Esquivel, B., Sánchez, A.A., Cárdenas, J., Ramamoorthy, T.P., Rodríguez-Hahn, L. (1988) Phytochemistry. 27, 217.
15. Domínguez, X., González, F., Aragón, R., Cutiérrez, M., Marroquín, J., Watson, W. (1976) Planta Medica. 30, 237.
16. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, C., Cárdenas, J., Estebanés, L., Soriano-García, M., Toscano, R., Ramamoorthy, T.P. (1986) Tetrahedron, Lett. 27, 5459.
17. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, C., Estebanés, L., Cárdenas, J., Soriano-García, M., Toscano, R. and Ramamoorthy, T.P. (1988) Phytochemistry. 28, 567.
18. Ruzicka, L. (1953) Experientia. 9, 357.
19. Allinger, N.L. Terpenes and Related Natural Products in Organic Chemistry. Academic Press. Japan. (1974).
20. Manito, P. Biosynthesis of Natural Products. Ellis Horwood Limited. (1981) Chapter. 5.
21. Geissman, A. and Crout, D.H.G. Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism. Freeman, Cooper S. Co., San Francisco.

- (1969). p. 201-311.
22. Sukh Dev, Diterpenoids II. CRC, Handbook of Terpenoids. (1985) p. 3-63.
 23. Bohlmann, F., Fritz, U., King, R and Robinson. H. (1980) Phytochemistry. 19, 2656.
 24. Sandoval, A., Flores, H., Gil, J. (1954) Boletín del Instituto de Química. U.N.A.M. VI, 42.
 25. Martín, J. (1973) Tetrahedron. Lett. 29, 2555.
 26. Kelecom, A. (1984) Phytochemistry . 23, 1677.
 27. Martínez, M. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económica de México. p. 149, 590, 788. (1959).
 28. Martínez, M. Las Plantas Medicinales de México. 4a. ed., Botas. México. p. 389. (1959).
 29. Rodríguez, J., Tello, H., Quijano, L., Calderón, J., Gómez, F., Romo, J., Ríos, T. (1974) Rev. Latinoamer Quim. 5, 41.
 30. Romo de Vivar, A., González, M., Pérez, A. (1985) Rev. Latinoamer. Quim. 16, 51.
 31. Edwards, O., Feniak, G. and Los M. (1962) Can. J. Chem. 40, 1540.
 32. Yoshizaki, F., Ruedi, P., Eugster, C. (1979) Helv. Chim. Acta. 62, 2754.
 33. Hensch, M., Ruedi, P., Eugster, C. (1975) Helv. Chim. Acta. 58, 1921.

34. Sánchez, M.C., Estudio Quimiotaxonómico de *Salvia goldmanii* y *Salvia anastomosans*, Tesis de Maestría, U.N.A.M., México, D.F. 1987.
35. Ortega, A., Cárdenas, J., Reyes, C., Toscano, A., Maldonado, E. XVI Simposium Internacional de Química de Productos Naturales. Monterrey, N.L. México. (1989).
36. Maldonado, E., Salazar, B., Cárdenas, J., Toscano, A. y Ortega, A. XVII Simposium Internacional de Química de Productos Naturales. Monterrey, N.L. México. (1990).