

Nº/68  
261



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"COMPONENTES TERPENICOS DE LA  
SALVIA MELISSODORA LAG"



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

**T E S I S**

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

MEXICO, D. F.,

1992

**FALLA DE ORIGEN**



## **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.

# I N D I C E

I.- INTRODUCCION

II.- PARTE TEORICA

III.- CONCLUSIONES

IV.- PARTE EXPERIMENTAL

a) MATERIAL Y METODOS

b) OBTENCION DE COMPUESTOS

V.- ESPECTROS

VI.- BIBLIOGRAFIA Y NOTAS

# I. I N T R O D U C C I O N

## INTRODUCCION

El territorio de los Estados Unidos Mexicanos está comprendido entre los paralelos  $14^{\circ}33'$  y  $32^{\circ}43'$ . Sus tierras son atravesadas por dos altas cordilleras unidas por numerosos contrafuertes, produciendo una variación muy importante en la orografía, lo cual determina una gran variedad de climas. En México se encuentran 18 climas perfectamente definidos de los 32 tipos existentes en el mundo, aún cuando de estos solo siete se hallan representados en regiones mayores del 5% de su área total [1].

Esto hace que la vegetación de México participe tanto de los climas meridionales, sudamericano como los boreales, norteamericano-euroasiáticos y al mismo tiempo tienen algunos climas únicos en su género probablemente de origen autóctono. Por lo que, tomando en consideración estas características fisiográficas, geológicas y climatológicas, hacen que la cubierta vegetal de México sea una de las más variadas y abundantes en su género en la tierra [2].

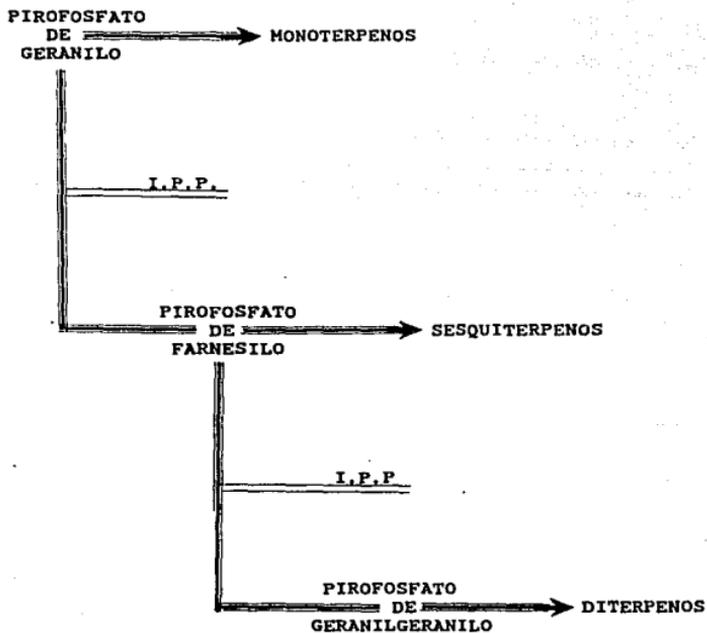
Esta gran variedad en la vegetación del país trajo como consecuencia que desde tiempos precortesianos sus habitantes se interesaran por estudiar las propiedades medicinales, estimulantes y alimenticias de las plantas y que posteriormente en nuestros días se empleen a nivel industrial [3].

En las últimas décadas los investigadores mexicanos y de todo el mundo especializados en productos naturales, han llevado a cabo los estudios sistemáticos principalmente de triterpenos y lactonas sesquiterpénicas.

La familia de las labiadas es uno de los grupos de plantas que han sido objeto de este tipo de estudios en nuestro país y que tiene una gran importancia desde los puntos de vista económico y farmacológico ya que de algunas plantas de diferentes géneros perteneciente a ella, se han aislado compuestos con diferente actividad biológica y sustancias de importancia industrial [4].

Esta familia se encuentra muy difundida en la República Mexicana ya que de 3500 especies en el mundo, 550 se localizan en nuestro país contando además con 42 géneros de los cuales el más abundante es el género *Salvia* [5]. Desde un punto de vista químico, las salvias son una fuente muy rica en metabolitos secundarios entre los cuales se destacan: monoterpenos, diterpenos, triterpenos y flavonas[6].

Los compuestos terpenoides conocidos son productos vegetales en su mayor parte y puede considerarse que se forman por unidades isoprenicas en un número que varía de 2 a 6 unidades o más (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterterpenos y triterpenos) [7,8].



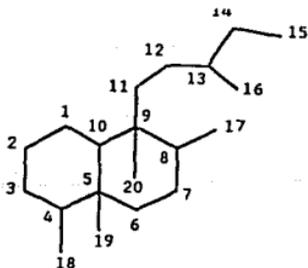
El significado de las abreviaturas es :

I.P.P. = Isopentenilpirofosfato

La unidad biológica, a partir de la cual todos los terpenoides son biosintetizados, es el pirofosfato isopentilo el cual se forma a partir de tres moléculas de acetil-CoA, vía ácido mevalónico.

Un grupo importante de terpenoides corresponde a los diterpenos, sustancias de veinte átomos de carbono, derivados del pirofosfato de geranylgeranilo.

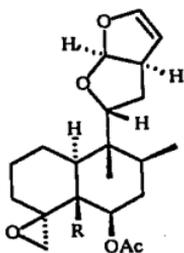
Gracias a los estudios fitoquímicos de la familia de las labiadas (*Labiatae*) se han determinado las estructuras de varios diterpenos bicíclicos y tricíclicos [9,10,11]. Un grupo importante de diterpenos lo constituyen los clerodanos cuyo esqueleto carbonado se presenta a continuación:



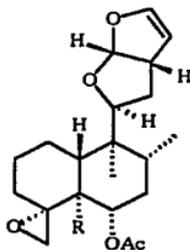
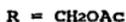
ESQUELETO CARBONADO  
DE LOS CLERODANOS

El interés específico de este grupo de compuestos radica en la actividad biológica que presentan y se han descrito para estos compuestos actividades tales como: antialimentario para insectos, antitumoral, antibacteriano [12,13].

El primer miembro descrito de la serie de los clerodanos, es la Clerodina aislada a partir de *Clerodendron infortunatum* (*Verbenaceae*) [14]. Su configuración absoluta se determinó mediante un análisis de rayos X [15] asignándose la estructura (1a). Dieciocho años más tarde se revisó y modificó la configuración de este compuesto (figura 1b) al ser analizado con datos de Dicroísmo Circular (D.C.), se observó que la estereoquímica obtenida mediante este método difería de la obtenida inicialmente para la Clerodina por rayos X. Se volvió a analizar este compuesto utilizando métodos de D.C. y rayos X se llegó a la conclusión que la estructura era enantiómerica a la obtenida anteriormente [16].



CLERODINA (1a)  
CONFIGURACION ASIGNADA  
ORIGINALMENTE



CLERODINA (1b)  
CONFIGURACION REAL

Estas modificaciones obligaron a sugerir cambios en la nomenclatura [17,18]. Se propuso nombrar *neo-clerodanos* a los compuestos que presentaban la estereoquímica correcta y los de configuración enantiómerica como *ent-neo-clerodanos*.

Recientemente se ha sugerido que a los *neoclerodanos* se les denomine *ent-clerodanos* y a los *ent-neo-clerodanos* simplemente *clerodanos* para evitar confusiones. Esto se apoya en argumentos biogénéticos, ya que los primeros (*neoclerodanos=ent-neo-clerodanos*) derivan de los *ent-labdano*s y los *clerodanos* (*ent-neoclerodanos*) del esqueleto normal del *labdano* [17,19,20].

El estudio del género *Salvia* ha conducido a la caracterización de aproximadamente 100 diterpenoides con esqueleto de abietano, pimarano, *clerodano*, *labdano* y *fenalano* [21]. Del total de diterpenoides aislados de las salvias mexicanas, el 80% son *ent* o *neo-clerodanos*. Actualmente este género se investiga sistemáticamente en el Instituto de Química de la U.N.A.M.

La información sobre los tipos de compuestos característicos (metabolitos secundarios) de un determinado conjunto o taxon vegetal, han constituido un apoyo adicional a la clasificación sistemática dando lugar a la quimiotaxonomía, la cual usa estos metabolitos para determinar su posición en una clasificación jerarquizada evolutivamente de los seres vivos [8].

Las salvias mexicanas han sido poco estudiadas tanto desde el punto de vista químico como taxonómico presentándose además problemas en cuanto a su clasificación como es el caso de la *Salvia*

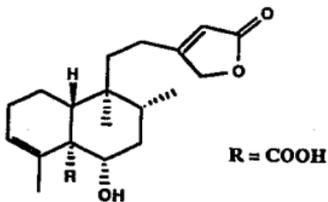
*melissodora* y *Salvia keerlii* ambas de la sección *Scorodonia* según Epling [6,22], diferenciadas botánicamente por la presencia de glándulas en el cáliz de la *Salvia melissodora*, ausentes en la *Salvia keerlii*, fuera de esto, las dos plantas son idénticas. Actualmente se piensa que en realidad se trata de una sola especie y que la diferencia descrita no es suficiente para mantenerlas como especies separadas.

El estudio de los metabolitos secundarios de la *Salvia melissodora* y *Salvia keerlii* es útil para apoyar o descartar esta hipótesis. Para contribuir a la resolución de este problema ha sido investigada y recabada información acerca de la composición química de varias poblaciones de ambas plantas como antecedentes previos a esta investigación fitoquímica que a continuación se presenta|

AÑO

COMPUESTO

NOMBRE Y  
PROCEDENCIA



1973

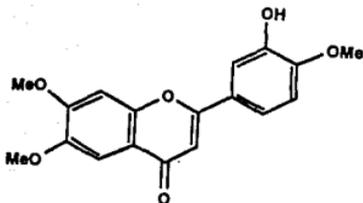
ACIDO  
MELISODORICO

*Salvia*  
*melissodora*  
D.F.[23]

AÑO

COMPUESTO

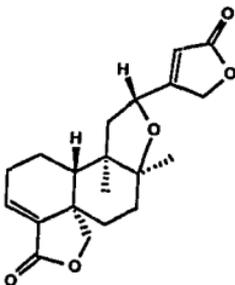
NOMBRE Y  
PROCEDENCIA



1985

EUPATORINA  
(Flavonoide)

Salvia  
melissodora  
(Pachuca, Hgo)  
estudios no  
concluidos  
[21]



1985

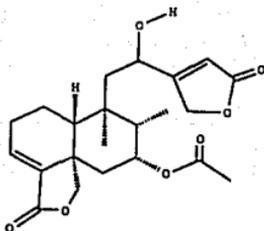
KERLINA

Salvia  
Keerlii  
(Oaxaca)  
[24]

AÑO

COMPUESTO

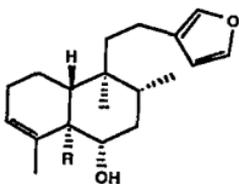
NOMBRE Y  
PROCEDENCIA



1985

KERLINOLIDA

Salvia  
keerlii  
(Oaxaca)  
[24]



R = COOH

ACIDO  
KERLINICO

Salvia  
Keerlii  
(Queretaro)  
[26]

1987

+

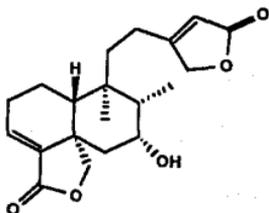
EUPATORINA

AÑO

COMPUESTO

NOMBRE Y  
PROCEDECENCIA

1988

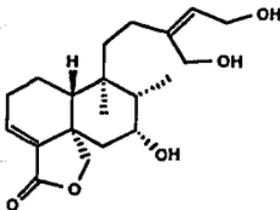


COMPUESTO SIN  
NOMBRE

Salvia  
melissodora  
(Edo. de México)  
Este Compuesto ha sido  
encontrado en: Baccharis  
trimera [26]  
Salvia semiatrata [27]  
Salvia microphilla [28]

1987

PORTULACA "C"  
DITERPENO



Salvia  
melissodora  
(Edo. de México)  
diterpeno aislado  
de Portulaca cv.  
jewel [29]

El aislamiento y determinación estructural de los metabolitos secundarios han constituido un apoyo adicional a la clasificación sistemática dando lugar a la quimiotaxonómia por medio de la cual podrá existir la posibilidad de conocer el perfil químico de las plantas.

En esta tesis se presenta una investigación fitoquímica realizada con una población de *Salvia melissodora* procedente de Tolantongo, Hidalgo.

Los objetivos que se pretenden lograr en esta tesis son los siguientes:

-Elucidación estructural de nuevos metabolitos secundarios que permitan conocer las posibles rutas biogénéticas y que puedan ser de un valor quimiosistemático.

-Contribución al estudio sistemático del género *Salvia* en México.

-Aislar nuevos compuestos para futuros estudios de actividad biológica.

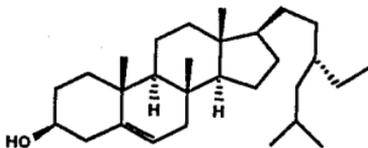
## II. PARTE TEORICA

---

## PARTE TEORICA

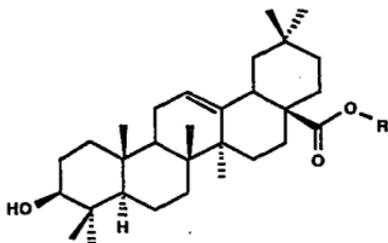
La planta *Salvia melissodora* Lag. se recolectó en Tolantongo, en el estado de Hidalgo. Del extracto acetónico de las partes aéreas de esta planta se aislaron cuatro componentes principales:  $\beta$ -sitosterol, ácido oleanólico, breviflora-lactona y un nuevo compuesto no descrito en la literatura al cual se le denominó: *Alva-lactona*.

El aislamiento y caracterización de estos compuestos en orden de polaridad ascendente se presenta a continuación: De las fracciones eluidas con hexano-acetato de etilo(9.5-0.5) se aisló un compuesto blanco cristalino con p.f.:130-134°C. Sus propiedades físicas y espectroscópicas están de acuerdo con las descritas en la literatura [30,31] para el  $\beta$ -Sitosterol (I). Lo anterior se comprobó por comparación directa del espectro de I.R. y la cromatografía en capa delgada de esta sustancia con una muestra auténtica de  $\beta$ -Sitosterol.



$\beta$ -SITOSTEROL

Las fracciones eluidas con una mezcla hexano/acetato de etilo (8:2) permitió el aislamiento del siguiente compuesto cuyo espectro de I.R mostró bandas características para una función ácido carboxílico ( 1690 y 3000  $\text{cm}^{-1}$ ) el cuál por tratamiento con solución etérea de diazometano produce el correspondiente éster metílico 2b con un P.F.: 300°C .La comparación directa de este derivado contra una muestra auténtica permite caracterizarlo como Oleanolato de metilo .Por lo tanto la sustancia original corresponde al Acido oleanólico [32]; (fig.No 2a). Esta sustancia está ampliamente distribuida en el reino vegetal y ha sido aislada frecuentemente del género *Salvia*.



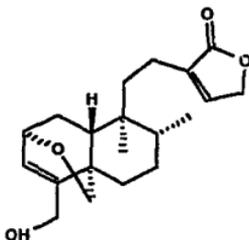
2a R = H

2b R = CH<sub>3</sub>

#### OLEANOLATO DE METILO

El siguiente compuesto aislado, fué identificado como la breviflora-lactona , sustancia aislada previamente de la *Salvia breviflora* [34].El espectro de I.R.(No 1) de esta sustancia presenta bandas características para una función oxhidrilo (3400  $\text{cm}^{-1}$ ) y función carbonilo de  $\gamma$ -lactona, $\alpha,\beta$ -insaturada

a  $1740\text{ cm}^{-1}$ . Los datos espectroscópicos de RMN- $^1\text{H}$  de esta sustancia (tabla No 1 y espectro No 2 ) corresponden a las descritas en la literatura [33] y su estructura es la siguiente:



*breviflora-lactona*

El desarrollo del cromatograma con polaridad hexano/acetato de etilo(6:4) permitió el aislamiento de una sustancia no descrita aún en la literatura al que se le denominó *Alva-lactona*, con un rendimiento de 0.04% con base en peso seco de la planta.

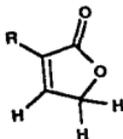
Es un sólido cristalino con p.f.:  $178-180^{\circ}\text{C}$  y  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -154$  (C.O.165  $\text{CHCl}_3$ ). El peso molecular determinado por espectrometría de masas ( $\text{M}^+346$ ) y el análisis elemental concuerdan [34] para la fórmula  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$ . El espectro de I.R. de esta sustancia (espectro No 3) muestra bandas a  $3311\text{ cm}^{-1}$  indicativas del grupo oxhidrilo; a  $1746$  y  $1725\text{ cm}^{-1}$  bandas de  $\gamma$  lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada [35]; y en  $1646\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a dobles enlaces.

La absorción máxima en ultravioleta U.V. (espectro No 4) a 205 nm apoya la existencia de la butenólida  $\alpha,\beta$ -insaturada [36]. El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro No 5, tabla No 2), muestra un singlete ancho que integra para un protón a  $\delta$  7.1 y un doblete (2H,  $J = 2$  Hz) a  $\delta$  4.75 que se asignan a los protones de una butenólida  $\alpha,\beta$ -insaturada. En la RMN de  $^{13}\text{C}$  (tabla No 2 y espectro No 6) se observa la señal del carbonilo a 174.04 ppm (singlete) el carbono totalmente sustituido de C-13 del doble enlace a 132.26 ppm (singlete); el metino de C-14 (doblete) a 146.63 ppm y el metileno de C-15 a 70.35 ppm (triplete).

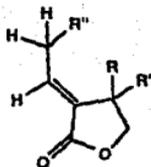
A continuación se presentan ejemplos de butenólidas  $\alpha$ -sustituidas con sus respectivos valores de desplazamiento químico en C-13 del carbono totalmente sustituido del doble enlace, cuyo promedio es 133 ppm.

NOMBRE DEL COMPUESTO (ppm)	SM-1	SM-2	SM-3	SM-4	SM-5
Referencia (37)	134	132.9	132.65	133.91	134.18
	El promedio de estos valores es de 133.36				

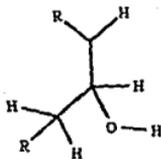
Tanto la RMN de  $^1\text{H}$  como la de  $^{13}\text{C}$  aportan datos que confirman lo anterior y permiten proponer que la  $\gamma$ -lactona está sustituida en  $\alpha$ . Esta información lleva a proponer la siguiente estructura parcial:



En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observa en  $\delta$  6.7, una señal doble de doble que integra para un protón, cuyo desplazamiento químico sugiere que se debe a un átomo de hidrógeno vinílico en posición  $\beta$  a una función carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado (39) y que se asigna a la posición 3. La multiplicidad (dd) de este protón vinílico indica que se encuentra vecino a un metileno que se asigna a la posición 2. En la RMN de  $^{13}\text{C}$  se observa una señal del carbonilo a 169.07 ppm (singulete). Estos datos permiten proponer que en esta agrupación el grupo carbonilo mencionado forma parte de otra  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada. El metileno de esta agrupación presenta un triplete en RMN de  $^{13}\text{C}$  a 71.92 ppm y en RMN de  $^1\text{H}$  se observa un sistema AB (39) con señales en 3.85 ppm (dd, 1-H,  $J=8$  y  $J=2\text{Hz}$ ) y a 5.21 ppm (d, 1-H,  $J=8$ ), indicando que está unido a oxígeno por un lado y a un carbono totalmente sustituido por el otro.



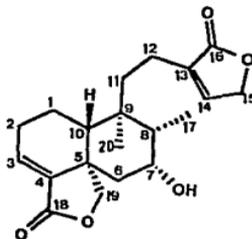
La banda a  $3311\text{ cm}^{-1}$  en el I.R. es asignada a un grupo oxhidrilo cuya presencia se ve apoyada por el espectro de masas ya que se observa un fragmento a  $m/z = 328$  que corresponde a  $M^+ - 18$ . El protón geminal de esta agrupación se observa en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la Alva-lactona como un dt, 1-H a  $\delta$  4.1 cuya multiplicidad indica que de un lado de este carbono se encuentra un metileno y del otro un metino. Esto se confirma en la RMN de  $^{13}\text{C}$  ya que se observa la señal para el carbono a 70.35 ppm de acuerdo a la estructura parcial siguiente:



En el espectro de RMN de  $^1\text{H}$  se observa un doblete a  $\delta$  1.05 (3H, J=7Hz) esta señal es asignada al Me-17 y otro singulete a  $\delta$  0.85 (3H), al Me-20, cada una de las señales integra para tres protones. Esta información es apoyada por la RMN de  $^{13}\text{C}$  en la que se observan cuartetos a 12.04 ppm y a 18.78 ppm que se asignan a grupos metilo, los cuales se encuentran uno unido a un carbono totalmente sustituido y el otro a un carbono trisustituido

De acuerdo a la fórmula molecular ( $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_5$ ), este compuesto presenta 8 grados de insaturación ( $\omega=8$ ) [40]. Las deducciones presentadas hasta ahora dan cuenta de 6 de ellos; los dos grados restantes deben ser el resultado de dos anillos, ya que en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  no se observan mas señales para los carbonos olefínicos o grupos carbonilo.

En base a consideraciones biogénéticas y a los antecedentes del estudio fitoquímico de otras poblaciones de *Salvia melissodora* y *Salvias keerlii* se propone que este producto presente esqueleto de ENT-CLERODANO llegándose así a la siguiente estructura:

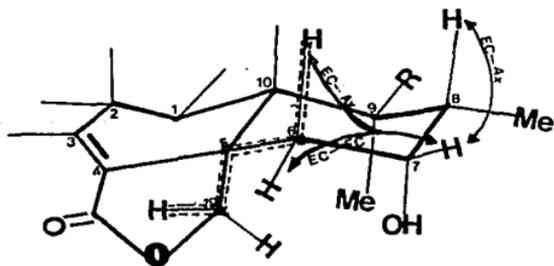


## ESTEREOQUIMICA

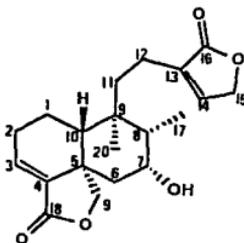
Las deducciones de la estereoquímica de este compuesto se basan en RMN de  $^1\text{H}$  y de  $^{13}\text{C}$  gracias a que son métodos espectrométricos que proporcionan información directa y bastante completa de la estructura y distribución espacial de los compuestos orgánicos [41]. La fusión de los anillos A y B en esta molécula se propone que sea TRANS de acuerdo a la información proporcionada por el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$ . Se ha visto [42] que los Clerodanos con fusión A/B Cis de anillos presentan la señal de resonancia de  $^{13}\text{C}$  del carbono metílico 20 con un valor mayor o igual a 20 ppm mientras que los TRANS presentan esta señal entre 15 y 19 ppm (menor de 20 ppm). Este valor concuerda con el obtenido para el C-20 a 18.78 ppm en la R.M.N. de  $^{13}\text{C}$  del compuesto *Alva-lactona* y apoya esta proposición. La tabla No 3 que muestra ejemplos de Clerodanos con fusión A/B Cis y Trans con sus respectivos valores de desplazamiento químico de C-20 en RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Establecida la fusión de los anillo A/B como Trans se propone que el metilo 17 presenta orientación  $\alpha$ -ecuatorial y el metilo 20  $\alpha$ - axial por razones biógenéticas.

La señal de H-7 a  $\delta$  4.1 (dt,  $J= 4$  y 2Hz) asignada al protón geminal de la función alcohol en posición 7, presenta una  $J=4$  y 2Hz. La magnitud de esta constante es indicativa de que el protón en C-7 presenta interacciones axial-ecuatorial con el hidrógeno en C-8 y por otra parte presenta interacciones ecuatorial-ecuatorial y ecuatorial-axial con los hidrógenos en C-6 lo que lleva a proponer que el grupo oxhidrilo presenta una orientación  $\alpha$ -axial. Si el grupo oxhidrilo tuviese una orientación  $\beta$ -ecuatorial, el proton en el C-7 presentaría una constante de valor alto ( $J=8-11\text{Hz}$ ) y la señal observada para H-19 pro-R no estaría desplazada a campo bajo



Los protones diastereotópicos [43] del Met-19 forman un sistema AB característico de los Ent-Clerodanos [44]. La orientación del oxhidrilo ejerce un profundo efecto desprotector a través del espacio, sobre H-19, pro-R desplazando su señal a campo bajo ( $d, 1-H, J_{AB} = 8\text{HZ}$ ). La señal para H-19 pro-S muestra un doble de doble ocasionado por el acoplamiento a larga distancia tipo "W" [44,45] con el protón  $\beta$ -axial de C-6, indicando con esto que el metileno 19 se encuentra orientado  $\alpha$ -axial. Por lo que su estereoquímica corresponde a un ent-clerodano y es la siguiente:



Para comprobar la estructura de Alva-lactona se realizaron las siguientes reacciones:

a) Oxidación con el reactivo de Jones ( $\text{CrO}_3 / \text{H}_2\text{SO}_4$ )

Se obtuvo el derivado oxidado que permite confirmar la orientación y localización del grupo OH en C-7, reforzando con ello

las señales obtenidas en RMN de  $^1\text{H}$  de este producto para H-19 pro-R cuya señal no esta desplazada hacia campo bajo y en I.R .no se observa la banda correspondiente al grupo OH.

b) Hidrogenación catálitica

Se obtuvo el derivado hidrogenado que permite confirmar las  $\gamma$ -lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ - insaturadas respectivamente cuyas señales en R.M.N.de  $^1\text{H}$  no se observan para los protones H-3 y H-14 así como también en I.R no se observan señales correspondientes a dobles ligaduras.

### III. C O N C L U S I O N E S

Del estudio fitoquímico de *Salvia melissodora* Lag. recolectada en Tolantongo, Hidalgo pueden obtener las siguientes conclusiones:

1.- Se aislaron cuatro metabolitos secundarios los cuales fueron identificados por los métodos espectroscópicos rutinarios e identificados como  $\beta$ -sitosterol, ácido oleanólico, breviflora lactona y una sustancia no descrita en la literatura la cual se denominó *Alva-lactona* a la cual se le asignó la estructura II. El nombre semisistemático de esta sustancia es : 7 $\alpha$ -hidroxi-ent-clerodan-3,13-dien-18,19 : 16,15-diólida. La estructura de esta molécula fué confirmada por métodos químicos.

2.- La sustancia II presenta una lactona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturada  $\alpha$ -sustituida en la cadena lateral. Este hecho es poco frecuente en clerodanos de Salvias, en los cuales en la gran mayoría se observa este tipo de agrupación con sustitución  $\beta$ .

3.- La presencia de la brevifloralactona en esta especie tiene importancia quimiotaxonómica, ya que esta sustancia fué aislada previamente de *Salvia breviflora*, especie perteneciente también a la Sección *Scorodonia* del Género *Salvia*.

4.- Tomando en cuenta los resultados presentes y sumando estos a los resultados previos sobre diferentes poblaciones de *Salvia melissodora* y *Salvia keerlii* ( Mapa 1 ) y considerando la mínimas diferencias morfológicas entre estas especies, se puede concluir que desde el punto de vista químico, existen 2 variedades químicas de una misma especie, la cual debe de llamarse *Salvia melissodora* por razones históricas. Como puede observarse en este mapa, existe gran similitud en el grado de oxidación de los diterpenos aislados de la población de *S. keerlii*, recolectada en Oaxaca, con la mayoría de los aislados de *S. melissodora*. Asimismo el ácido kerlínico ( *S. keerlii*, Querétaro ) tiene una estrecha relación química con el ácido melisódorico ( *S. melissodora* Valle de México). El nombre de *S. keerlii* debe de ser por consiguiente abandonado o ser considerado como sinonimia de *S. melissodora*.

## IV. PARTE EXPERIMENTAL

#### a) MATERIAL Y METODOS

Los puntos de fusión de los compuestos obtenidos se determinaron en un aparato Fisher-Johns y no están corregidos. Las cromatografías en columna se empacaron con silica-gel 60 Merck (35-70 y 70-230 Mesh ASTM).

Las purezas de los productos y el desarrollo de las reacciones se siguió por cromatoplaça de silica-gel Merck F-254, usando como revelador sulfato cérico al 1% en  $H_2SO_4$  2N. Los espectros de I.R. se obtuvieron en cloroformo, nujol o en pastilla de KBr en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod.337, o en un espectrofotómetro Nicolet FT-5X. Los espectros de U.V. fueron determinados en un espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod 552. Las rotaciones ópticas se obtuvieron en un polarímetro Perkin-Elmer Mod. 241. Los espectros de RMN de  $^1H$  y de RMN de  $^{13}C$  se realizaron a 80 y 20 MHz respectivamente en un aparato Varian FT-80A . Los experimentos de doble resonancia se efectuaron con ayuda de un audiooscilador Wavetek Mod.171.

Los desplazamientos químicos están dados en ppm en unidades con respecto al TMS. Los valores J estan dados en Hz. Las asignaciones en RMN de  $^{13}C$  fueron hechas con ayuda de los espectros parcial y

totalmente desacoplados. Los espectros de masas se obtuvieron en un aparato Hewlett Packard 5985-B, mediante la técnica de impacto electrónico a 70eV; para el tratamiento de las reacciones se usaron soluciones acuosas saturadas de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl.

b) OBTENCION DE COMPUESTOS

La *Salvia melissodora* Lag. se recolectó en octubre de 1986 en Tolantongo, Hidalgo. La identificación fué realizada por Dr. T.P. Ramamoorthy del Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M. Las partes aéreas de la planta (1290 g) se maceraron con acetona(20l); el extracto crudo fué concentrado a presión reducida, obteniéndose 204.5g de extracto seco, el cual fué separado en sus componentes por cromatografía en columna empacada con sílica-gel(35-70), desactivada con el 10% en peso de agua. Como eluyentes se utilizaron mezclas de hexano-ACOEt y ACOEt-MeOH de polaridad ascendente, recolectándose fracciones de 500 ml.

De las fracciones 23-26, eluidas con hexano-ACOEt (9.5-0.5) se aislaron por cristalización 147.8 mg (rendimiento 0.0114%, sobre planta seca) de un producto cristalino cuyas constantes físicas permiten caracterizarlo como  $\beta$ -sitosterol compuesto ampliamente distribuido en la naturaleza y aislado recientemente de varias especies de Salvias

De las fracciones 45-47 eluidas con hexano-AcOEt (8:2) se aislaron 67 g de un producto sólido caracterizado como ácido oleánico el cuál fué caracterizado por comparación del correspondiente éster metílico con una muestra auténtica.

De las fracciones 81-88 (hexano-AcOEt 8:2) se aislaron por cristalización 76.4mg ( 0.073%, sobre planta seca) de un producto cristalino cuyas propiedades físicas y espectroscópicas corresponden con las descritas para la Breviflora-lactona, sustancia aislada originalmente de la *Salvia breviflora* y que a continuación se mencionan!

P.F.: 165-167°C

I.R. (nujol) (ESPECTRO No.1)  $\nu(\text{cm}^{-1})$  :3400 (oxhidrilo);  
1740 (carbonilo de  $\gamma$ -lactona,  $\alpha, \beta$ -insaturado)  
1650 (dobles ligaduras conjugadas).

RMN de H-1 80MHz(CDC1<sub>3</sub>), (espectro No 2, tabla No 1),  $\delta$ (ppm):

4.45(m, 1H; H-2); 6.25(dt, 1H,  $J_1=1.6$  Hz,  $J_2= 5.5$  Hz; H-3);

7.0(T, 1H;  $J= 1.0$  Hz; H-14); 4.74(C, 2H;  $J= 3.0$  Hz; 2H-15);

0.86(d, 3H;  $J= 6$ Hz; Me-17); 4.24(d, 2H;  $J= 1.6$ Hz; H-18);

4.10(d, 1H;  $J_{AB} = 8.2$ Hz; H-19 pro-R);

2.83(dd, 1H;  $J_{AB} = 8.2$ Hz,  $J_w = 1.1$ Hz; H-19 pro-S).

De las fracciones 69-72 y 74-75 de la cromatografía original se lograron aislar después de sucesivas purificaciones por cromatografía en columna, 622 mg (rendimiento 0.048%, sobre planta seca) de un producto no descrito en la literatura, al cual se le denominó Alva-lactona. Las constantes físicas y espectroscópicas de esta sustancia se describen a continuación:

P.F. : 178-180°C

R.O. :  $[\alpha]_D^{20} = -154$  (CHCl<sub>3</sub>, c 0.165)

U.V. (MeOH) (espectro No.4)  $\lambda_{max}$  : 205nm (  $\epsilon=20370$  )

I.R. (nujol) (espectro No.3), ( $\nu$  cm<sup>-1</sup>): 3311 (oxhidrilo)  
1746 y 1725 (carbonilo de  $\gamma$ -lactona  $\alpha,\beta$ -insaturada);  
1646 (dobles ligaduras conjugadas).

RMN de H-1 80 MHz (CDCl<sub>3</sub>), (espectro No.5; tabla No 2),  $\delta$  (ppm):

6.7 ( dd, 1H; J<sub>1</sub> = 4 Hz, J<sub>2</sub> = 6 Hz; H-3 ); 4.1 ( dt, 1H; J<sub>1</sub> = 4 Hz, J<sub>2</sub> = 2 Hz; H-7 ); 7.1 ( T, J = 2 Hz, 1H; H-14 ); 4.75 ( d, 2H; J = 2 Hz; 2H-15 ); 3.85 ( dd, 1H; J<sub>AB</sub> = 8 Hz y J<sub>w</sub> = 2 Hz; H-19 pro-S ); 5.25 ( d, 1H; J<sub>AB</sub> = 8 Hz; H-19 pro-R ); 1.05 ( d, 3H; J = 7 Hz; Me-17 ); 0.85 ( s, 3H; Me-20 ).

RMN DE C-13, 20 Mhz(DMSO-d<sub>6</sub>), (espectro No 6 y tabla No 2):  
:18.47(t,C-1); 27.15(t,C-2); 134.8(d,C-3) 138.89 (S,C-4);  
44.59(S,C-5); 40.19(t,C-6); 70.63(d,C-7); 39.94(d,C-8)  
38.08(S,C-9); 47.5(d,C-10); 36.25(t,C-11); 18.56(t,C-12)  
132.26(d,C-13); 146.63(d,C-14); 70.35(t,C-15); 174.06(S,C-16)  
12.04 (C,C-17);1609 (S,C-18);71.92 (t,C-19);18.78 (C,C-20).

E.M.,m/z(abundancia relativa %): 346 (M<sup>+</sup>1.1); 3.28(M<sup>+</sup>18,3.7);  
316(20); 310(10); 298(20); 273(10); 255(10); 217(25);  
205(100); 159(35); 105(MO); 93(20); 91(50); 79(30);  
77(30); 41(30).

Hidrogenación Catalítica de II.- 100 mg del compuesto nuevo se hidrogenaron a temperatura ambiente usando como catalizador Pd/C al 10% (25mg). El curso de la reacción fué seguida por cromatografía en capa fina. Una vez concluída la reacción(10hr),el catalizador se separó por filtración sobre celita. La solución obtenida se concentró a presión reducida obteniéndose 31.5 mg de un producto blanco cristalino con un punto de fusión 208-210°C.El espectro de infrarojo de esta sustancia (espectro No 7) muestra bandas a  $3508\text{ cm}^{-1}$  indicativas del grupo oxhidrilo y a  $1757\text{ cm}^{-1}$  de carbonilode  $\nu$ -lactona saturada. Sus constantes espectroscópicas se mencionan a continuación:

RMN de H-1 80 MHz(CDCl<sub>6</sub>) (espectro No.8 y tabla No 1)  $\delta$ (ppm):  
4.0(dt,1H,J= 4Hz,H-7);4.3(dd,1H;J<sub>AB</sub>= 8Hz;y J<sub>w</sub>= 2 Hz;  
H-19 pro-S);5.15(d,1H;J<sub>AB</sub> = 8Hz;H-19 pro-R);  
1.0(d,3H;J=.6Hz;Me-17);0.85(d,3H;Me-20).

Oxidación de II con reactivo de Jones.- A 100 mg del nuevo compuesto aislado, disueltos en 100 ml de acetona y en baño de hielo, se adicionó gota a gota reactivo de Jones, con ligero exceso, siguiendo el curso de la reacción por C.C.F. Transcurridos 20 minutos se adicionó hielo y se extrajo el producto con acetato de etilo. Se lavo repetidas veces la fase orgánica con solución saturada de NaCl hasta neutralidad y finalmente se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La solución orgánica se concentró a presión reducida. El producto se recrystaliza en acetona/acetato de etilo obteniéndose 76.4 mg de un producto sólido blanco cuyas propiedades físicas y espectroscópicas se mencionan a continuación:

P.F. : 116-118 °C

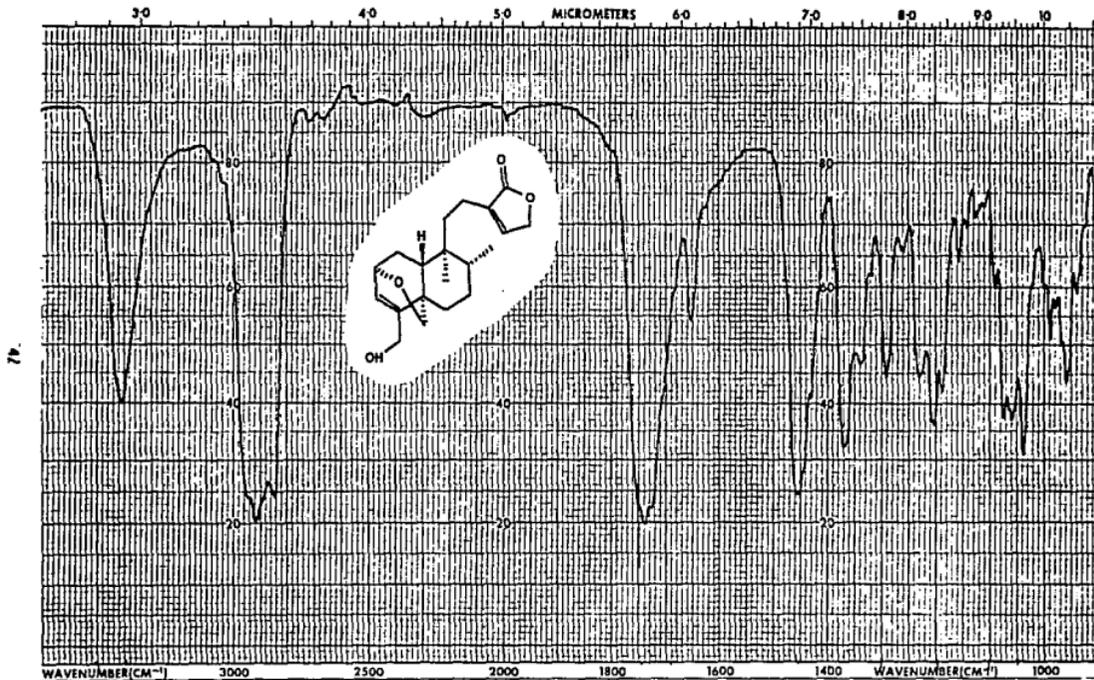
I.R. ( $\text{CHCl}_3$ ) (espectro No 9)  $\nu$  máx ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1710-1770 (carbonilo de banda ancha de cetona de 6 miembros y  $\gamma$ -lactona  $\alpha$   $\beta$ -insaturada; 1638 (dobles enlaces conjugados conjugados).

RMN de H-1 80 Mz ( $\text{CDCl}_3$ ) (espectro No. 10 y tabla No 1),  $\delta$  (ppm):

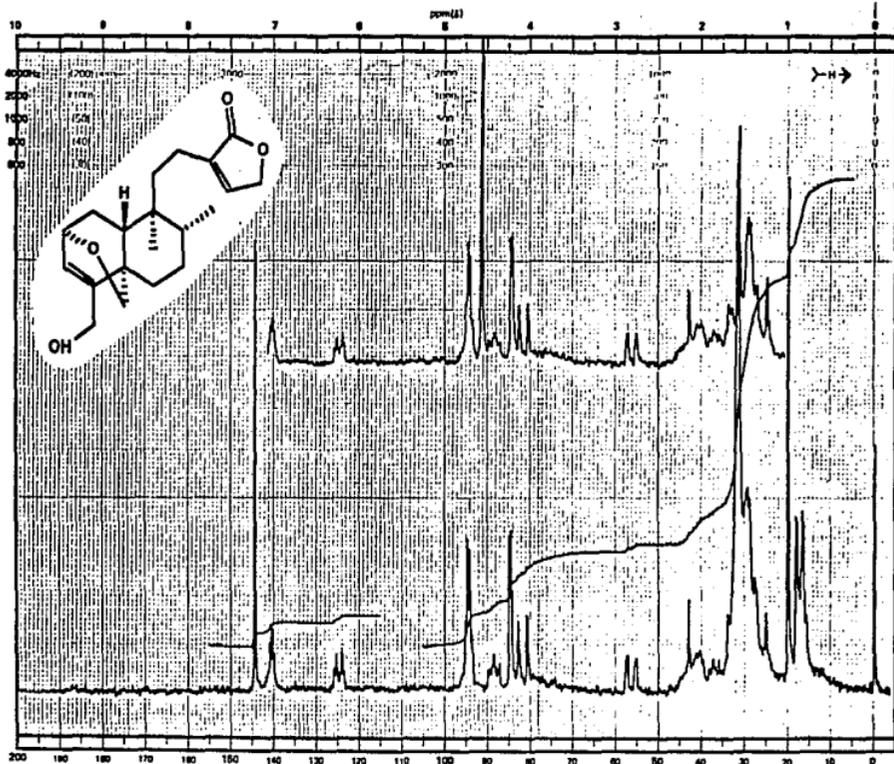
6.85 (dd, 1H;  $J_A = 6\text{Hz}$  y  $J_B = 4\text{Hz}$ ; H-3); 7.15 (S ancho, 1H;  $J = 1\text{Hz}$  H-14)  
4.8 (d, 1H,  $J = 1\text{Hz}$ ; 2H-15); 4.0 (d, 1H;  $J_{AB} = 8\text{Hz}$ ; H-19 pro-R);  
3.85 (dd, 1H;  $J_{AB} = 8\text{Hz}$  y  $J_W = 1\text{Hz}$ ; H-19 pro-S); 1.05 (d, 3H;  
 $J = 6\text{Hz}$ ; Me-17); 0.65 (S, Me-20).

## V. E S P E C T R O S

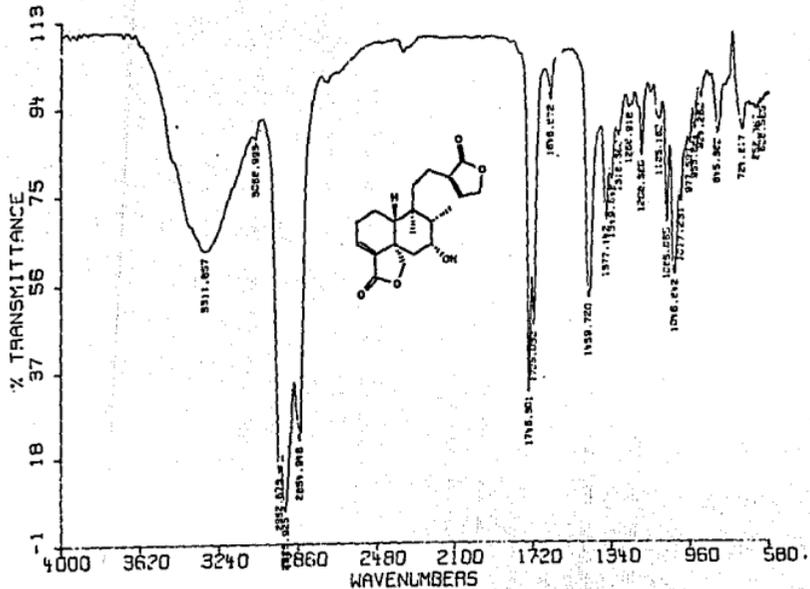
E S P E C T R O N o 1



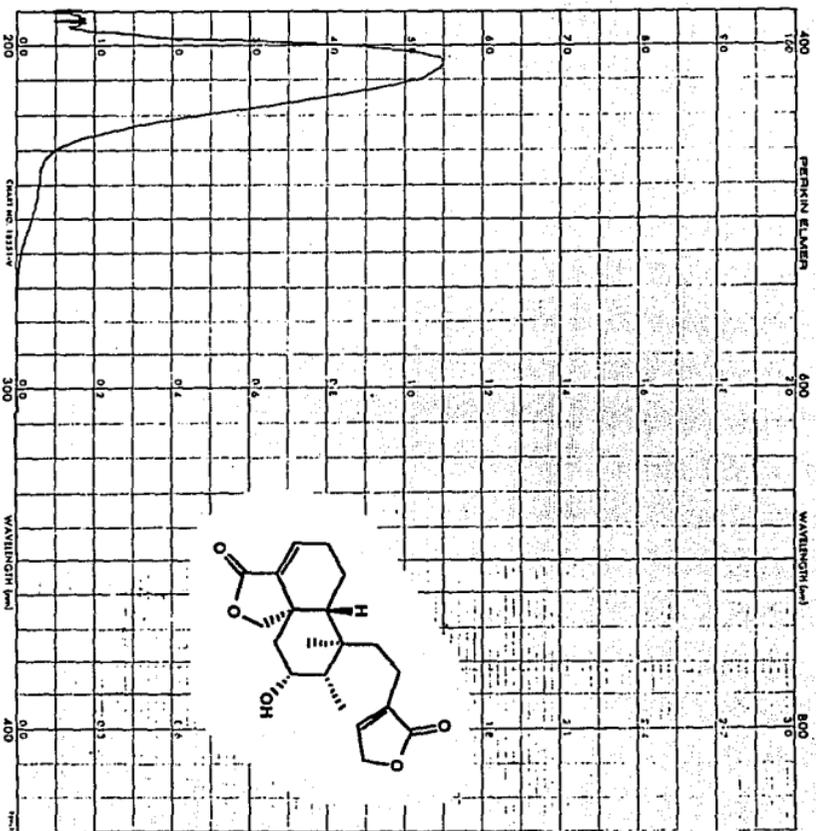
E S P E C T R O No 2



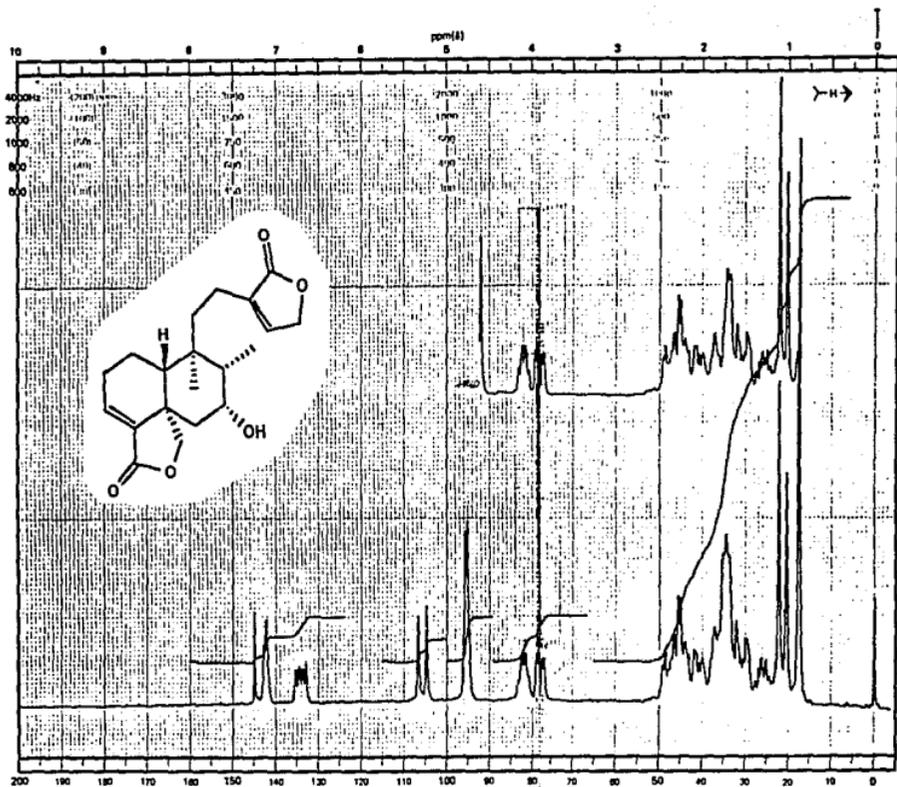
E S P E C T R O N o 3



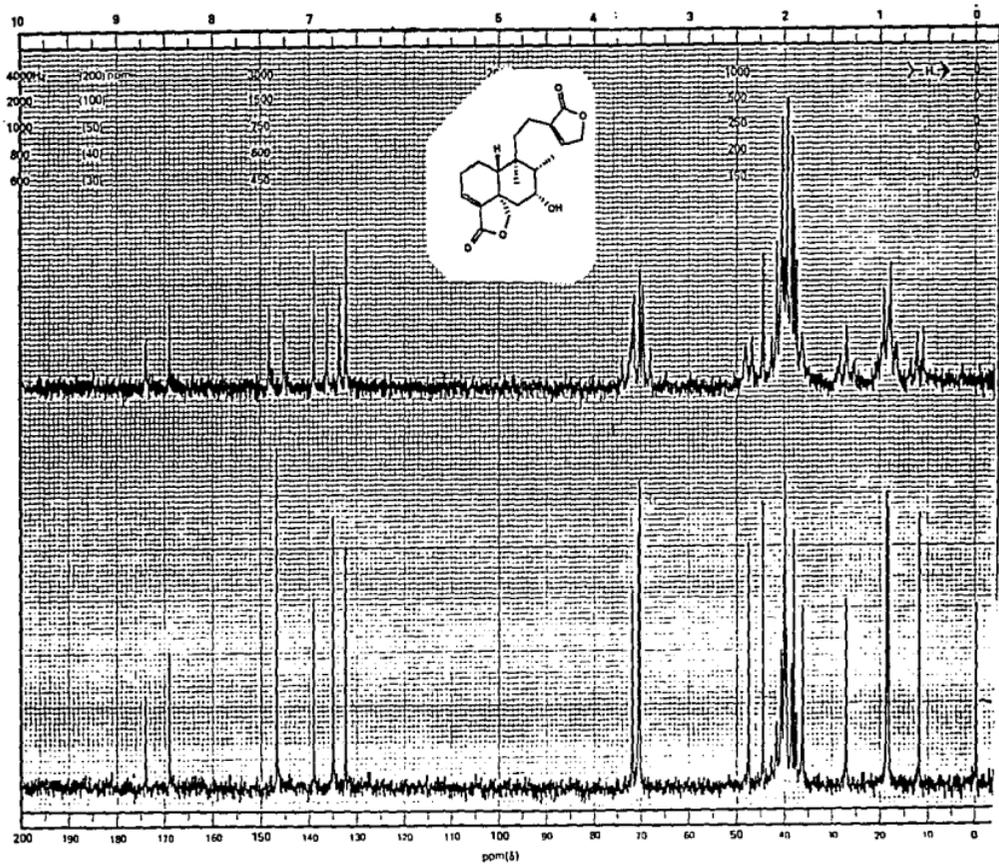
E S P E C T R O N o 4



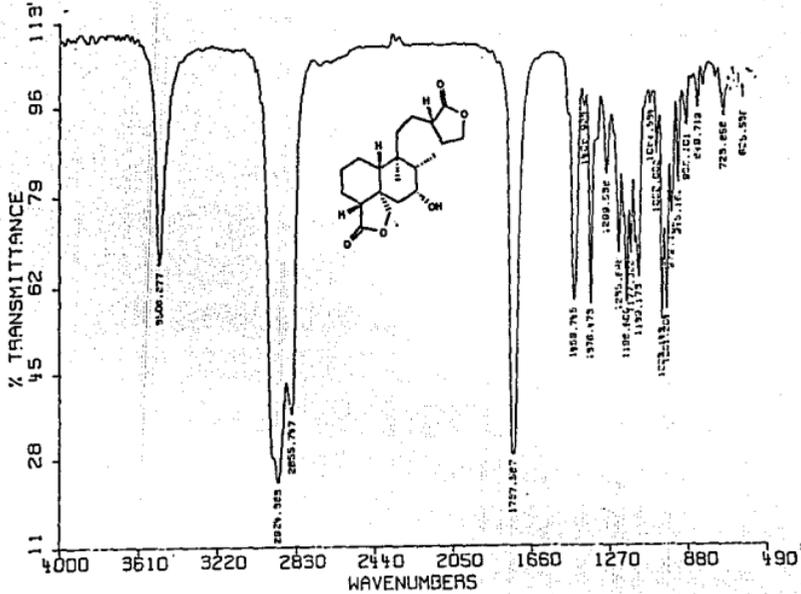
E S P E C T R O N o 5



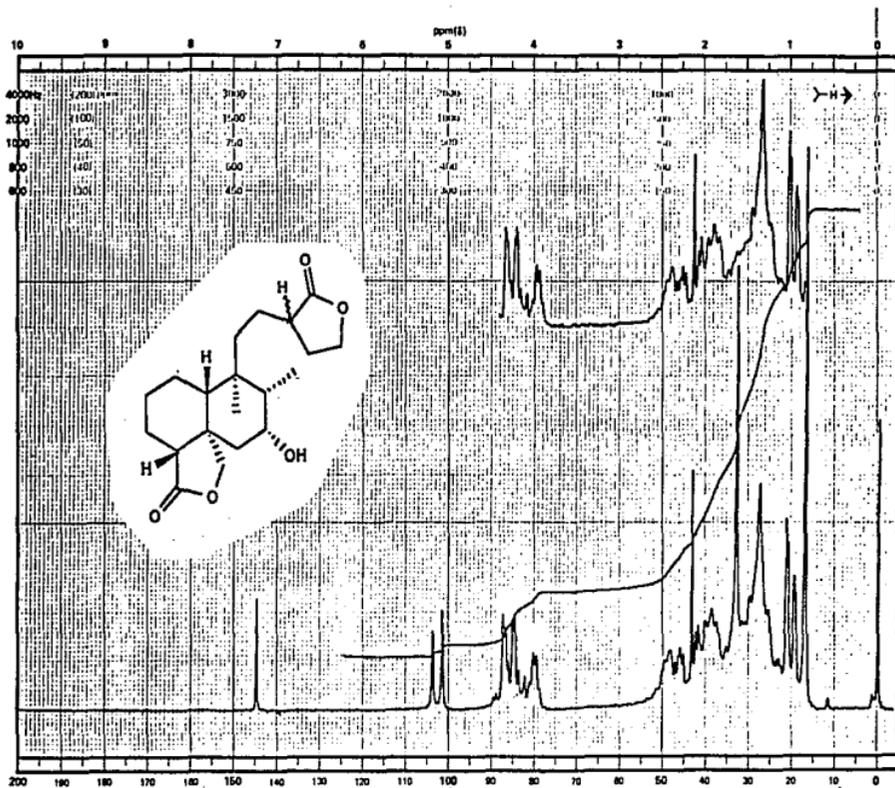
E S P E C T R O N o 6



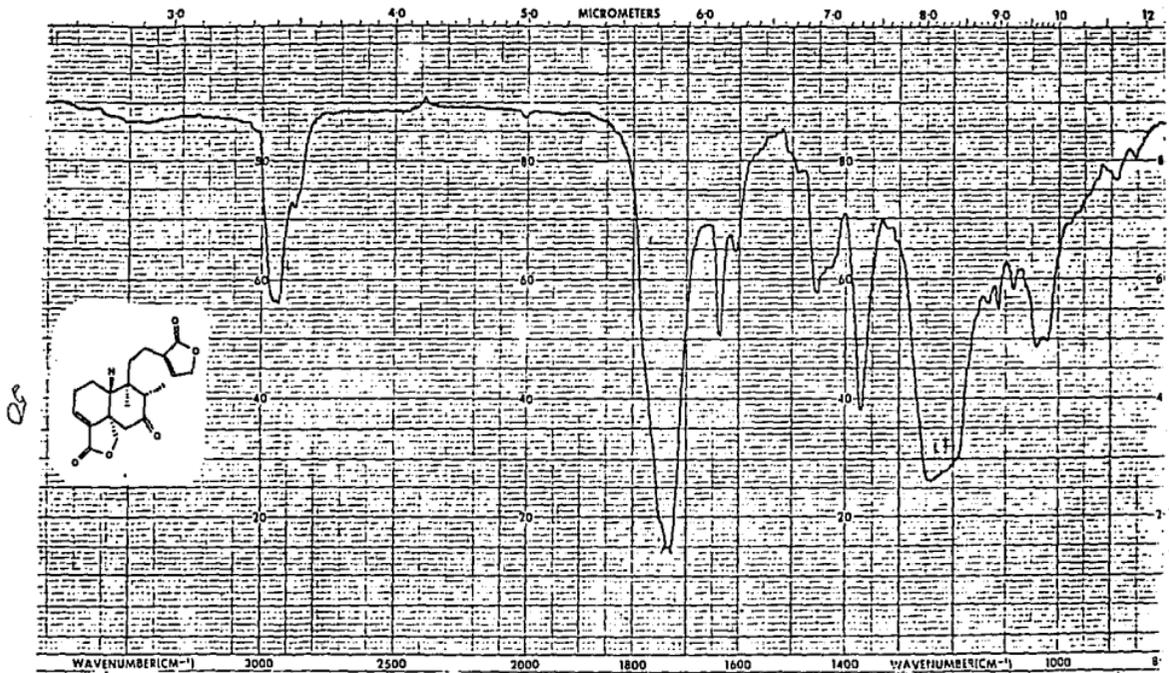
E S P E C T R O No 7



E S P E C T R O N o 8



E S P E C T R O No 9



# E S P E C T R O N o 10

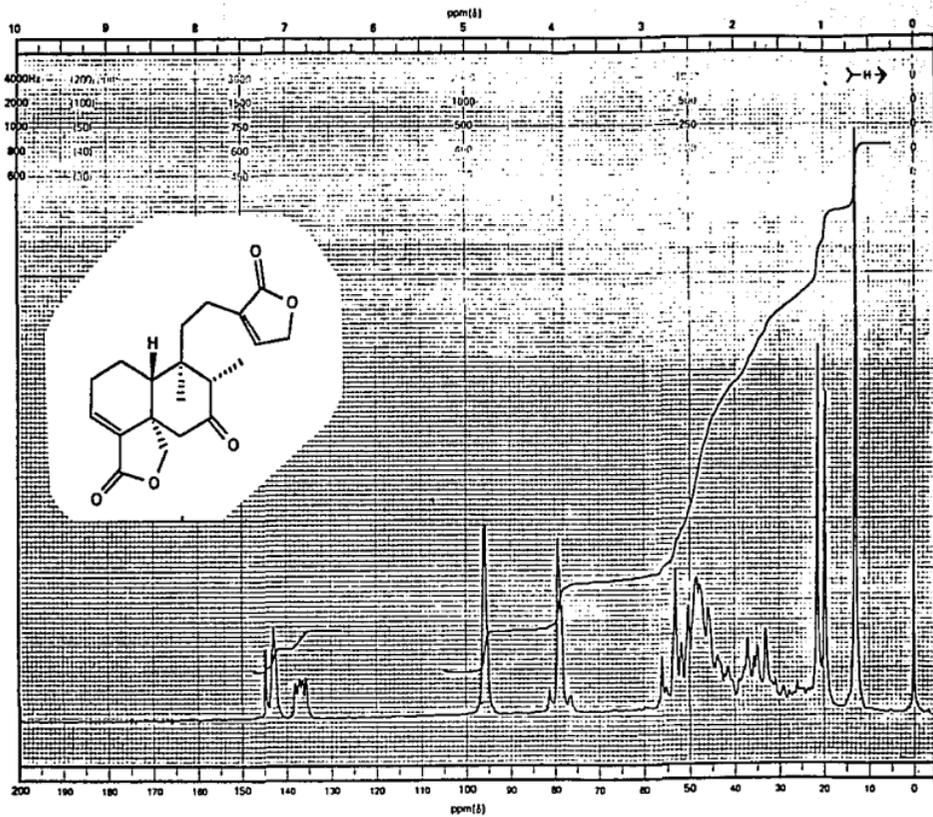


TABLA # 1

RMN de <sup>1</sup> H DE BREVIFLORA - LACTONA								
PROTON	H-2	H-3	H-14	2H-15	H-17	2H-18	H-19 pro-S	H-19 pro-R
DESPLAZAMIENTO QUIMICO (ppm)	4.45	6.25	7.0	4.74	0.86	4.24	4.10	2.83
CONSTANTE DE ACOPLAMIENTO (Hz)	---	1.8 y 5.5	1.0	3.0	6.0	1.6	8.2	8.2 y 1.1
MULTIPLICIDAD	m	dt	q	c	d	d	d	dd

RMN de <sup>1</sup>H

PROTON	HIDROGENACION CATALITICA DE ALVA - LACTONA					OXIDACION DE ALVA - LACTONA						
	H-7	H-19 PRO-S	H-19 PRO-R	Met-17	Met-20	H-3	H-14	2H-15	H-19 PRO-R	H-19 PRO-S	Met-17	Met-20
DESPLAZAMIENTO QUIMICO (ppm)	4.0	4.3	5.15	1.0	0.85	6.85	7.15	4.0	4.0	3.85	1.0	0.65
CONSTANTE DE ACOPLAMIENTO (Hz)	4.0	8 y 2	8	6.0	---	4 y 9	---	1.0	8.0	8	6.0	---
MULTIPLICIDAD	dt	dd	d	d	d	dd	s	d	d	dd	d	s

Espectros obtenidos a 80MHz, utilizado como disolvente CDC13. Los desplazamientos quimicos estan dados en ppm con respecto al T.M.S.

El significado de las abreviatura son:

s = singulete      d = doblete      dd = doble de doble

dt = doble de triple      m = multiplete

TABLA NO. 2

R. M. N. DE $^1\text{H}$				R. M. N. DE $^{13}\text{C}$		
PROTON	DESPLAZAMIENTO QUIMICO.	MULTIPLICIDAD.	CONSTANTE DE ACOPLAMIENTO	DESPLAZAMIENTO QUIMICO	MULTIPLICIDAD	
H-3	6.7	dd	4 Y 6 Hz	C-1	18.78	t
				C-2	27.15	t
				C-3	134.8	d
H-7	4.1	dt	4 Y 2 Hz	C-4	138.89	s
				C-5	44.59	s
H-14	7.1	S.A.	---	C-6	40.19	t
				C-7	70.63	d
				C-8	39.94	d
2H-15	4.75	d	2Hz	C-9	38.08	s
				C-10	47.5	d
H-19 pro-S	3.85	dd	8 Y 2 Hz	C-11	36.25	t
				C-12	18.56	t
				C-13	132.26	s
H-19 pro-R	5.25	d	8 Hz	C-14	146.63	d
				C-15	70.35	t
MET-17	1.05	d	7 Hz	C-16	174.06	s
				C-17	12.04	c
				C-18	169.07	s
MET-20	0.85	s	---	C-19	71.92	t
				C-20	18.78	c

TABLA NO. 3  
 DESPLAZAMIENTO QUIMICO EN R.M.N.  
 DE  $^{13}\text{C}$  PARA C-20  
 DE ALGUNOS CLERODANOS

NOMBRE DEL COMPUESTO CON FUSION AB-TRANS	C-20	REF.	NOMBRE DEL COMPUESTO CON FUSION AB-CIS	C-20	REF.
BREVIFLORA LACTONA	16.36	33	SOLIDAGOLACTONA IV	28.34	41
ACIDO KERLINICO	15.5	25	SOLIDAGOLACTONA V	24.24	41
SEMIATRINA	16.4	27	SOLIDAGOLACTONA VII	27.64	41
KERLINOLIDA	19.01	24	SOLIDAGOLACTONA VIII	27.46	41



## VI. BIBLIOGRAFIA Y NOTAS

## BIBLIOGRAFÍAS Y NOTAS

- 1.-Jésus Patiño Navarrete. Los recursos Vegetales de México. Plants and Plants. Science in Latinamerica. Chronica Botanica Company Vol. XVI, pp. 48-51 (1945).
- 2.-Jerzy Rzedowski. Vegetación en México.
- 3.-Romo de Vivar A. La Química de los Productos Naturales de México: Lactonas Sesquiterpénicas. Ciencia. Vol. 32 México (1981) p.p. 163.
- 4.-Wagner, H., Revista Latinoamericana de Química 8, 16-25 (1977).
- 5.-Ramamoorthy, T.P. Plants Systematic and Evolution Vol. 146.
- 6.-Esquivel, B. Estudio Quimiotaxonomico de Sección Fulgentes del género Salvia. (Labiatae) Tesis de Maestria, U.N.A.M. México (1986).
- 7.-Geissman, T.A. and Crout, D.G.H., Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism, Freeman Cooper and Co., San Francisco (1989), p.p. 270-274.
- 8.-Dominguez Xorge Alejandro. Métodos de Investigación Fitoquímica p.p. 52-55.
- 9.-Fujita E. Uchida I. Terpenoids. Part. XXXII. Structure and Stereochemistry of Teucrium, a Novel Norclerodane-type Diterpene from Teucrium Viscidum var., Miquelianum. Chem. Soc. Perkin. Trans. I. 1547, (1974).
- 10.-Martínez M., Fayos J., Rodríguez B. The Absolute Stereochemistry of some Clerodane Diterpenoids from Teucrium species. J. Chem. Perkin. Trans I. 1186 (1981).

- 11.-Paul I.C.Sim G.A.,Hamor T.A.Monteath "The Structure of Clerodin: X-ray analysis of Clerodin : Bromo-lactona.J. Chem. Soc. 4133 (1962).
- 12.-Goodwin T. (Ed)."Aspects of Terpenoid Chemistry and Biochemistry".
- 13.-Neuman A. (Ed)."Chemistry of terpenes and Terpenoids.Academic Press,N.Y. (1972).
- 14.-Barton,D.H.R., Cheung,H.T., Cross,A.D. Jackman,L.M. y Martin Smith M."diterpenoid Bitter principles Part III.The Constitution of Clerodin",Journal of the Chemical Society,parte IV,pp 5061 (1961)
- 15.-Sim,G.A.,Hamer,T.A.,Paul,I.C. y Robertson,J.M."The Structure of Clerodin",Proceedings of the Chemical Society,pp 75 (1961)
- 16.-Roger D. Unal G.,Williams J.,Ley S."The Crystal Structure of the 3-epicaryoptin and the Reversal of the Currently Accepted Absolute Configuration of Clerodin".J.Chem.Commun pp 97 (1979).
- 17.-Marqu ez Et,Al.Diterpenes from Teucrium Capitatum L. X-ray cristal and Molecular Structure of Lolin Tetrahedron letters, Vol. 22,2823 (1981).
- 18.-Rodríguez B.Savona G.,Piozzi F. Two New Inusual Diterpenoids from Ballota hispanica,J.Org.Chem.44,2219 (1979).
- 19.-Esquivel,B;Estudio Quimiotaxonomico de la Sección Fulgentes del género Salvia(Labiatae)Tesis de Maestria,U.N.A.M.,México D.F.(1986)
- 20.-Piozzi,F.,The Diterpenoids of Teucrium Species.Heterocycles Vol. 15, No.2,1489 (1981).

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 21.-Comunicación personal del M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez del Instituto de Química de la U.N.A.M.
- 22.-Epling, C.A., A Revision of Salvia Subgenus Calosphaea. Repertorium Specierum Novarum Regni Vegetabilis Vol. 110 Verlag Des Repertorium Berlin (1939).
- 23.-Rodríguez-Hahn, L., Martínez, G. Y Romo, J., " Estructura del Acido melisodorico, un diterpeno aislado de la Salvia melissodora,, Lag." Revista Latinoamericana de Química, Vol. 4, pp 93 (1973).
- 24.- Esquivel, B., Méndez, A., Ortega, A., Soriano-García, M., Toscano, A. y Rodríguez-Hahn, L. "Neo-Clerodane Type Diterpenoids from Salvia keerlii", Phytochemistry, Vol. 24, No. 8, pp 1769 (1985).
- 25.- Rodríguez-Hahn, L., García, A., Esquivel, B. y Cardenas, J. "Structure of kerlinic acid from Salvia keerlii. Chemical Correlation with melisodorico acid", Canadian Journal of Chemistry, Vol. 65 (1987) prensa.
- 26.- Herz, W., Pilotti, A.M., Soderholm, A.C., Shushame, I.K y Vichniewski, W., New Ent-Clerodane Type Diterpenoids from "Baccharis trimera" Journal of Organic Chemistry, Vol. 42, No 24, pp 3913 (1977).
- 27.-Esquivel, B., Hernández, M., Ramamorthy, T.P., Cardenas, J. Rodríguez Hahn, L. "Semiatriin a Neo-Clerodane-Type Diterpenoid from Salvia semiatratha", Phytochemistry, Vol. 25 No. 6, pp 1484 (1986).
- 28.- Esquivel B., Cárdenas, J., Rodríguez-Hahn, L. y Ramamoorthy, T.P. "The Diterpenoid Constituents of Salvia fulgens Cav. And Salvia microphylla Kunt. (Labiatae)", Journal of Natural Products, (1987). Vol. 50, No. 4 pp. 738-740 (1987).

- 29.- Ohsaki, A., Ohno, M., Shibata, K., Tokoroyama, T. y Kubota, L. "Clerodane Diterpenoids from *Portulaca* cv. jewel," Phytochemistry, Vol. 25, No. 10, pp 2414 (1986).
- 30.- Heilbron, I.M., Dictionary of Organic Compounds Vol. 4, Oxford University Press, N.Y. (1953).
- 31.- Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S., Natori, S y Nozoe, S., Natural Products Chemistry, Vol. 2, Academic Press, Japon (1974).
- 32.- Halsall, T.G. y Aplin, R.T., " A Pattern of Development in the Chemistry of Pentacyclic Triterpenes" Progres in the Chemistry of Organic Natural Products, Vol. 22, pp. 176 (1964).
- 33.- Cuevas, G., Collera, O., García, F., Cárdenas, J., Maldonado, E. y Ortega, A., "Diterpenoids from *Salvia breviflora*," Phytochemistry, Vol. 26, pp. 2019-2021 (1987).
- 34.- Gysel, H., Tables of Percentage Composition of Organic Compounds Birkhauser Verlag Basel, and Stuttgart, Berlin (1951).
- 35.- Bellamy, L.J., The Infrared Spectra of Complex Molecules, Methuen and Co., LTD., N.Y. (1964).
- 36.- Scott, A.I., Interpretation of the U.V. Spectra of Natural Products McMillan Co., N.Y. (1964).
- 37.- Hernández Alonso, L.M., Contribución al Estudio Fitoquímico de la Salvia melissodora lag.
- 38.- Silverstein, R.M., Bassler, G.C. y Morrill, T.C., Identificación Espectrofotométrica de Compuestos Orgánicos, Diana, México (1980).
- 39.- Nathan, P., y Díaz, E., Introducción a la Resonancia Magnética Nuclear, Limusa México (1970).

- 40.- Creswell, C.J., Runquist, O. y Campbell, M.M., Análisis espectral de compuestos Orgánicos Diana, México (1979).
- 41.- Manabe, S. y Nishino, C., "Stereochemistry of Cis-clerodane Diterpenes", Tetrahedron, Vol. 42, No 13, pp. 3461 (1986).
- 42.- Mislou, K., Introducción to Stereochemistry, W.A., Benjamin, Inc., Nueva York (1965).
- 43.- Overton, K.H. y Hanson, J.R., Terpenoids and Steroids. A Specialist periodical report, Vol. 1-12, The Chemical Society, Londres.
- 44.- Pinhey, J.T., Simpson, R.F. y Batey, I.L., "The Constituents of Olearia heterocarpa. The structure of Olearin, a diterpene of the Cascarillin group", Australian Journal of Chemistry, Vol. 25, pp 2621 (1972).
- 45.- Shoolery, J.N., "Spin-Spin coupling between the methyl protons in gem-dimethyl groups", Varian Instruments at work, No 12, Varian Co. (1980).