

16  
59

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



Estudio fitoquímico de *Salvia thymoides* Benth

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
Q U I M I C O  
P R E S E N T A  
EUGENIO ALEJANDRO FLORES OROPEZA  
MEXICO, D. F. 1989



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.

## INDICE

I. Introducción	1
II. Generalidades	4
III. Parte teórica	10
IV. Parte Experimental	41
V. Conclusiones	48
VI. Bibliografía	50
VII. Espectros	53

## 1. INTRODUCCION

## I.-INTRODUCCION

La familia de las Labiadas, esta constituida por aproximadamente 180 géneros y 3500 especies [1].

El estudio fitoquímico de Labiadas ha permitido aislar metabolitos secundarios que presentan diferentes actividades biológicas, [ 2,3,4 ], principalmente flavonas [5], diterpenos [6], y triterpenos [7]. En algunos casos, el aislamiento de ciertos metabolitos secundarios han contribuido a establecer la Taxonomía de esta familia.

Por ejemplo, las flavonas aisladas del género Thymus, se utilizaron para diferenciar la especie Thymus capitatus de otras especies del subgénero Thymus. También se han utilizado en un estudio quimiotaxónomico del género Sideritis [ 5 ].

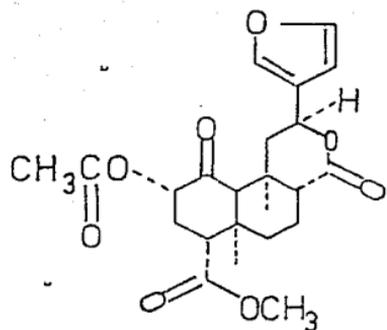
En nuestro país, esta familia de plantas, esta representada por 42 géneros y 550 especies. El género más abundante de esta familia de plantas, en México y en el Mundo es el género Salvia [ 8, 9 ], constituido por 275 y 900 especies respectivamente.

Las especies de este género estan divididas en 4 subgéneros: Salvia, Sclarea, Leonia, y Calosphace. Todas las especies americanas pertenecen a este último subgénero [ 10 ].

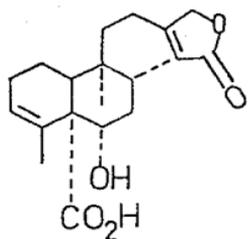
En los estudios fitoquímicos de Salvias americanas realizadas hasta la fecha, la mayoría de los diterpenos aislados tienen esqueleto de neo-clerodano ( ent-clerodano ). [ 11, 12 ]

Por ejemplo, la Salvivorina ( I ), y el ácido melissodórico ( II ), se aislaron de Salvia divinorum y de Salvia melissodora respectivamente.

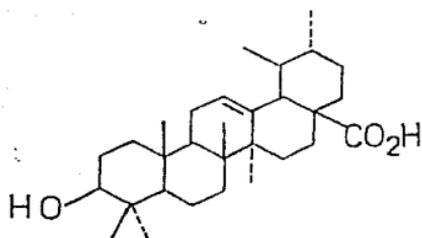
Por lo que se refiere a los triterpenos, se han aislado con mucha frecuencia, ácido ursólico ( III ) [ 13 ] y ácido oleanólico ( IV ) [ 13 ] y con menor frecuencia, triterpenos con esqueleto de Lupano ( V ).



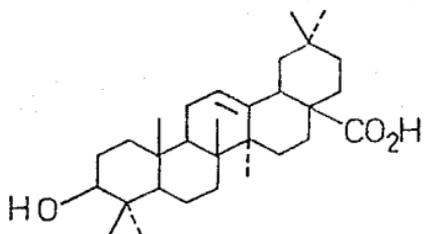
*Salvinorina* (I)



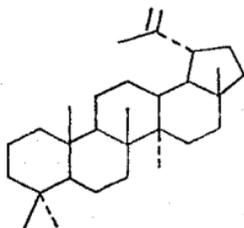
*Acido melissodorico* (II)



*Acido Ursólico* (III)



*Acido Oleanólico* (IV)



*Lupano* (V)

## 11. GENERALIDADES

## II.- GENERALIDADES

La Salvia thymoides Benth esta clasificada de acuerdo con - Epling, en la sección Flocculosae del subgenero Calosphace del genero Salvia.

La sección Flocculosae del subgenero Calosphace esta constituido por las siguientes especies:

<u>S. thymoides</u>	<u>S. flocculosa</u>	<u>S. chamaedryoides</u>
<u>S. incumbens</u>	<u>S. griseifolia</u>	<u>S. coahuilensis</u>
<u>S. cognata</u>	<u>S. Cruikshanksii</u>	<u>S. macellaria</u>
<u>S. chionophylla</u>	<u>S. cedrosensis</u>	<u>S. Greggii</u>
<u>S. armentosa</u>	<u>S. muelleri</u>	<u>S. lycioides</u>
<u>S. inornata</u>	<u>S. serpyllifolia</u>	<u>S. cyanotropa</u>

Previo al presente trabajo, hay una especie analizada de la sección Flocculosae, y es S. Greggii [ 14 ], de la cual se describe el aislamiento de pimaranos ( ácido isopimarico; ácido 14- $\alpha$ -hidroxi-iso-pimárico; ácido 3- $\beta$ -hidroxi-iso-pimárico; 14- $\alpha$ , 18-dihidroxi-7, 15-isopimaradieno y un clerodano; 7, 9- $\beta$ -dihidroxisalviacoccina.

Además, existe la hipótesis, parcialmente apoyada por un estudio fitoquímico, de que S. Greggii y S. microphylla son la misma especie [ 15 ], ya que de ambas, se aislaron diterpenos con esqueleto de clerodano y pimarano. La S. microphylla se encuentra clasificada en la sección Fulgentes del subgenero Calosphace.

La biosíntesis de los terpenoides, sigue la vía del ácido mevalónico, como se muestra en el esquema No. 1. La biosíntesis de los flavonoides se presenta en el esquema No. 2.

Todo lo anterior hace evidente la necesidad de realizar un estudio químico sistemático de las Salvias mexicanas, para obtener más datos que permitan establecer una clasificación químico-sistemática.

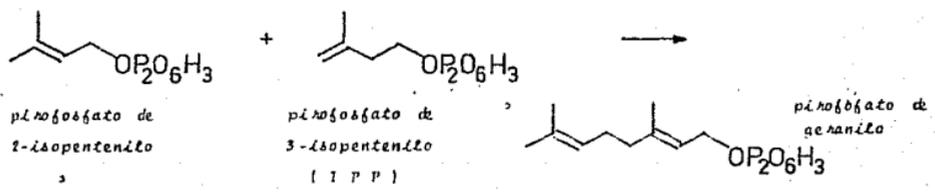
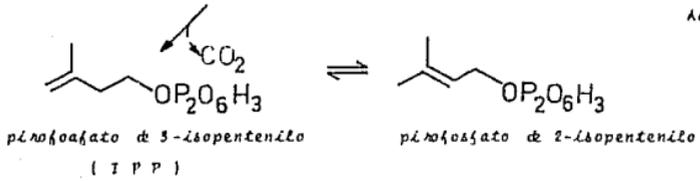
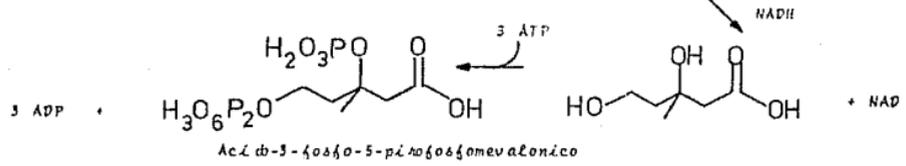
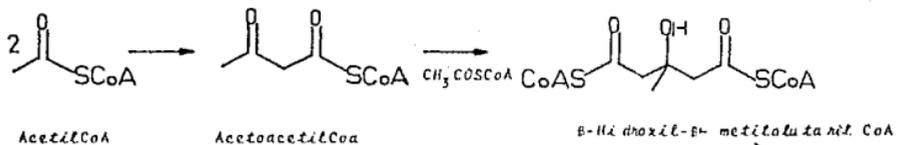
Por lo tanto los objetivos de este trabajo son:

a).- Aislar y caracterizar los metabolitos secundarios de una población de Salvia thymoides Benth., utilizando técnicas cromatográficas y espectroscópicas.

b).- Obtener información y aportar datos, para delinear el perfil químico de las Labiadas y así como resolver problemas quimiotaxonómicos de la Sección.

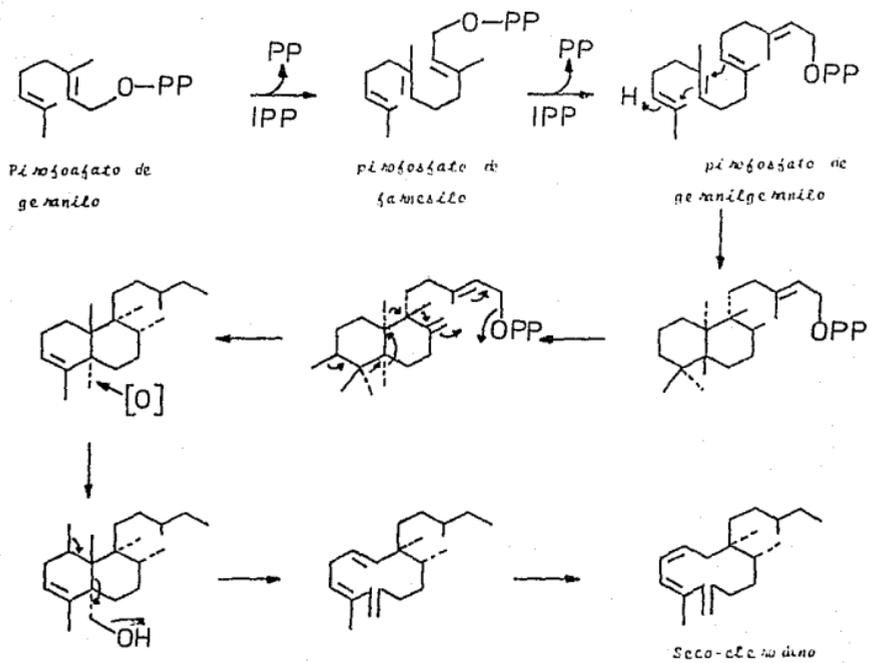
c).- Contribuir al estudio sistemático de las Labiadas y en especial del género Salvia en México.

d).- Obtener los metabolitos secundarios de esta planta para investigar su posible actividad biológica.



Biosíntesis de Terpenos

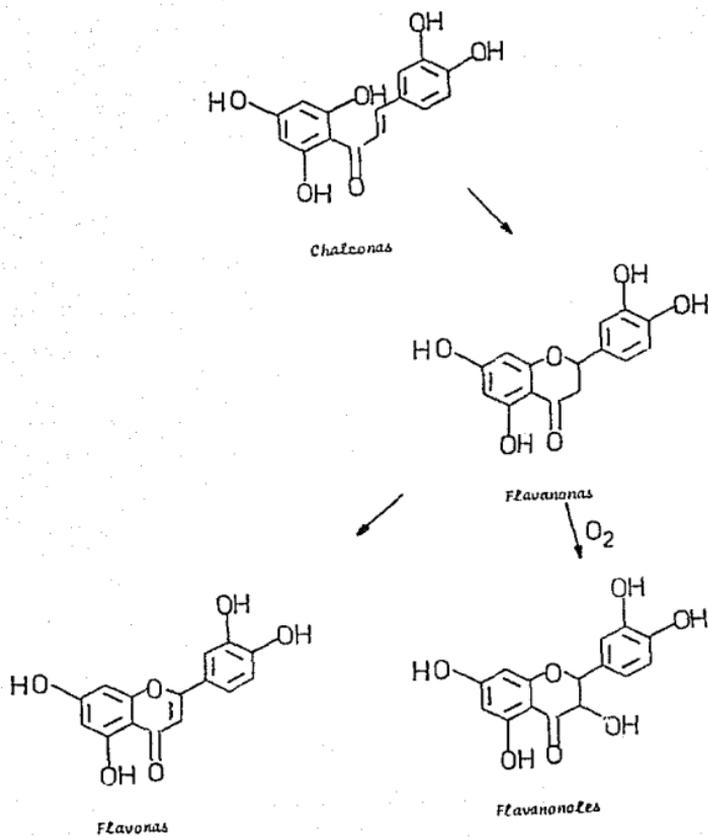
[ Esquema No 1 ]



Βιοσύνθεσις de Terπενος  
 ( Έσούμα Νο. 1 )



Esquema No. 2

BiosIntesis de Flavonoides<sup>16</sup>

## 111. PARTE TEORICA

## III.- PARTE TEORICA

Estudio fitoquímico de Salvia thymoides Benth.

La Salvia thymoides Benth. esta clasificada de acuerdo con - Epling [ 10 ], en la seccion Flocculosae del subgénero Calosphace del género Salvia. Crece en los Estados de Puebla y Oaxaca. El espécimen de Salvia thymoides analizado, fue recolectado en el Estado de Oaxaca y clasificado por el Dr. T.P. Ramamoorthy.

Del extracto acetónico, de las partes aéreas, de esta planta se aislaron los siguientes metabolitos secundarios, cuya caracterización se describe a continuación.

El componente aislado en mayor cantidad, se obtiene de las fracciones de polaridad intermedia y es un producto cristalino amarillo con p.f. 192°C-194°C ( Acetona-Hexano ). ( VI ).

Su espectro de I.R. ( Espectro No.1 ) muestra en 1656 cm(-1) ( carbonilo de cetona conjugada ) 1612 cm(-1), 1591 cm(-1), 1551 cm(-1) y 1548 cm(-1) ( aromáticos ), y 2846 cm(-1) y 1023 cm(-1) (metoxilo). Este espectro sugiere se trata de una flavona. ( Figura 1 ).

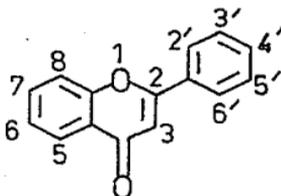


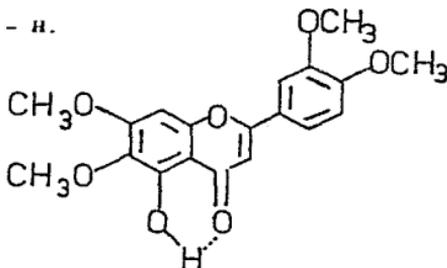
FIGURA 1

El espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de ( VI ) ( 80 MHz ) (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 2 ) muestra las siguientes señales :

$\delta$ (ppm)	6.52s	6.56s	6.95d	7.35d	7.5dd	3.9s	3.95s
			J=9Hz	J=2Hz	J=2; 9Hz		

Integral 1-H 1-H 1-H 1-H 1-H 3-H 9-H

y además, en  $\delta$  12.64 un singulete intercambiable con  $\text{D}_2\text{O}$  y que integra para 1 - H.



( VI ) 5 - Hidroxi-6, 7, 3',4' - tetrametoxiflavona

Así, la señal en  $\delta$  12.64 que intercambia con  $\text{D}_2\text{O}$ , se asigna al protón fenólico en posición 5 del anillo A, el cual forma un enlace de Hidrógeno con el grupo carbonilo.

La señal dd en  $\delta$  7.5 ( J = 2, 9 Hz ), se asigna al protón 6 del anillo C. Presenta un acoplamiento meta ( J = 2 Hz ), con el protón 2' y un acoplamiento orto ( J = 9 Hz ) con el protón 5'.

La señal doble en  $\delta$  7.35 ( J = 2 Hz ), se asigna al protón 2', tiene un acoplamiento meta ( J = 2 Hz ) con el protón 6'.

La señal doble en  $\delta$  6.95 corresponde al protón 5' y está acoplado en posición orto (  $J = 9 \text{ Hz}$  ) con el protón 6'.

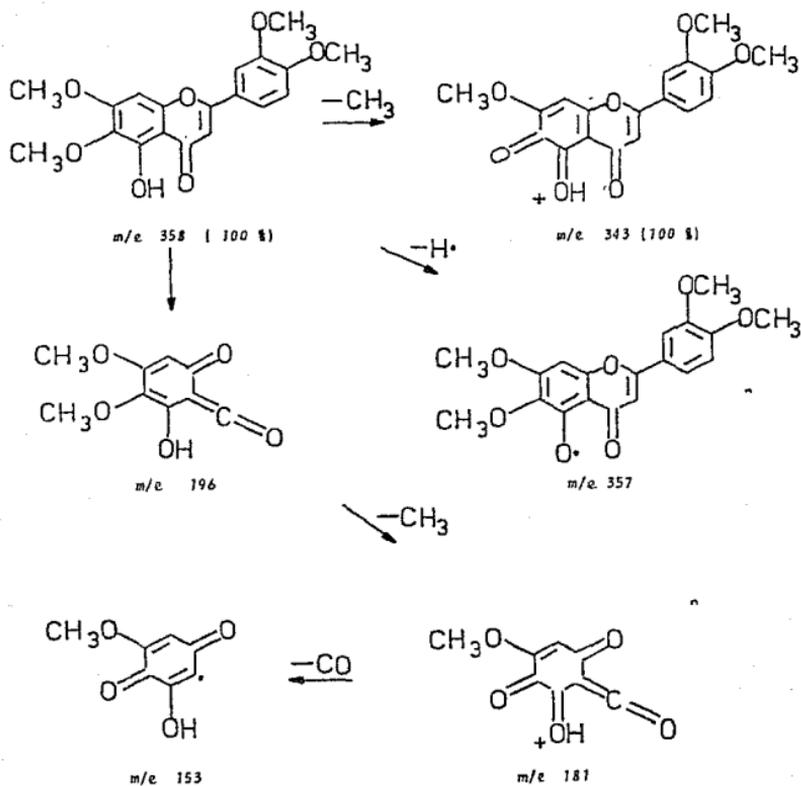
Por comparación de los desplazamientos químicos, de las señales simples en  $\delta$  6.52 y  $\delta$  6.56, con los descritos en la literatura [ 18 ], se asignan a los protones en las posiciones 3 y 8 respectivamente. En  $\delta$  3.9 se observa un singulete ( 3H ), que corresponde al metoxilo en posición 4' y en  $\delta$  3.95 un singulete que integra para 9 átomos de Hidrógeno y que se asigna a los metoxilos en posición 6, 7 y 3'.

El peso molecular de esta flavona, fue determinado por espectrometría de masas y esta de acuerdo para una fórmula condensada  $C_{17}H_{16}O_6$ , y su fragmentación se indica en el Esquema No.3.

Como fragmentos más importantes, se tienen los siguientes:  
 $m/z$  M :358 ( 100% ), M-15:343 ( 100% ), M-18:341 ( 10% ), A<sub>1</sub>:53 ( 55% ), 69 ( 40% ).

La comparación de las propiedades físicas y espectroscópicas de esta sustancia corresponden con las descritas en la literatura [ 19, 20 ]. ( p. f.  $190^{\circ}\text{C} - 194^{\circ}\text{C}$  ) [ 19 ], para la 5 - Hidroxi-6, 7, 3', 4'-tetrametoxiflavona.

Esquema No. 3



5-Hidroxi-5,7,3',4'-tetrametoksi-  
flavona

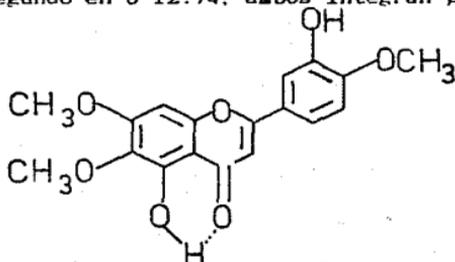
A partir de las fracciones de polaridad intermedia, se obtuvo un compuesto cristalino amarillo ( VII ), de p. f. 187 °C-189 °C ( Acetona-Hexano ), que en su espectro de I. R. ( Espectro No.3 ) presenta bandas características para flavonoide ( Fig. 1 )

A si en  $\nu$  máxima se observan las siguientes bandas: 1648  $\text{cm}^{-1}$  ( carbonilo de cetona conjugada ); 1604  $\text{cm}^{-1}$ , 1587  $\text{cm}^{-1}$ , 1534  $\text{cm}^{-1}$  y 1460  $\text{cm}^{-1}$  ( aromáticos ); 2854  $\text{cm}^{-1}$  y 1014  $\text{cm}^{-1}$  metoxilo).

El espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de ( VII ) ( 80 MHz ) (  $\text{CDCl}_3$  ) ( Espectro No. 4 ) presenta las siguientes señales:

$\delta$ ( ppm )	6.52 s	6.55 s	6.93 d	7.4 dd	7.44 s
			J = 9 Hz	J = 2, 9 Hz	
Integral	1 - H	1 - H	1 - H	1 - H	1 - H
$\delta$ ( ppm )	3.98 s	3.96 s	3.92 s		
integral	3 - H	3 - H	3 - H		

Además presenta dos intercambios con  $\text{H}_2\text{O}$ , el primero en  $\delta$  5.79 y el segundo en  $\delta$  12.74, ambos integran para 1 - H.



( VII ) 5, 3' - dihidroxí - 6, 7, 4' - trimetoxiflavona

La señal en  $\delta$  12.74, intercambiable con  $D_2O$ , corresponde al proton fenolico, en posicion 5 del anillo A, que ademas esta formando un puente de Hidrógeno con el grupo carbonilo. El segundo intercambio con  $D_2O$  se asigna al hidroxilo en posicion 3' del anillo C.

Los tres singuletes en  $\delta$  3.92,  $\delta$  3.96 y  $\delta$  3.98 se asignan a los metoxilos en las posiciones 4', 6, y 7 respectivamente.

La señal doble de dobles en  $\delta$  7.4 (  $J = 2, 9$  Hz ), se asigna al proton 6'; el cual presenta un acoplamiento orto (  $J = 9$  Hz ) con el proton en 5' y un acoplamiento meta (  $J = 2$  Hz ) con el protón en 2'. El doblete en  $\delta$  6.93, corresponde al protón 5' y tiene un acoplamiento orto (  $J = 9$  Hz ) con el protón 6'.

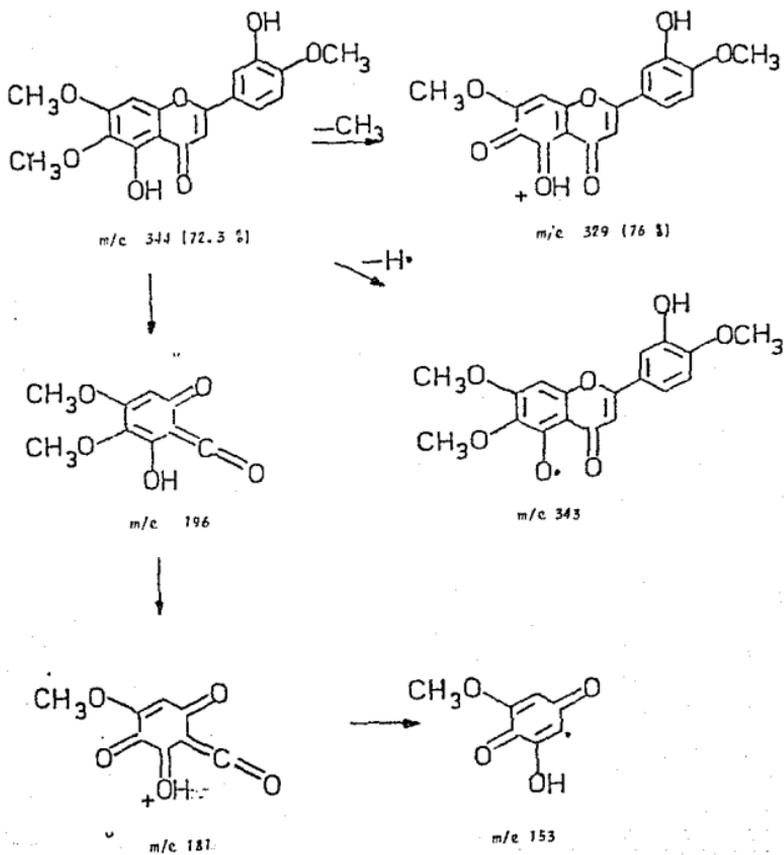
La comparación de los desplazamientos quimicos, de los singuletes en  $\delta$  6.52,  $\delta$  6.55 y  $\delta$  7.44 con los descritos en la literatura [ 18 ], permite se asignen los protones de las posiciones 3, 8 y 2' respectivamente.

El peso molecular de esta flavona fue determinado por espectrometria de masas y esta de acuerdo para una fórmula condensada  $C_{15}H_{10}O$ , y su fragmentación se indica en el esquema No. 4, siendo los fragmentos mas importantes:  $m/z$  M :344, M-H:343 ( 13% ), M-Me:329 ( 76% ), M-COMe:301, 153 ( 70.8% ), 69.1 ( 100% ).

Las propiedades descritas previamente mencionadas, estan de acuerdo con las descritas en la literatura, para esta flavona ( VII ), que recibe el nombre común Eupatorina, la cual esta distribuida ampliamente en la naturaleza [ 21, 22 ].

( p. f.  $196^{\circ}C-198^{\circ}C$  ).

## Esquema No. 4



5,3'-Dihidroxi-6,7,4'-trimetoksi-flavona

Varias fracciones de polaridad intermedia Hexano-AcOEt (4:6) indicaron en su espectro de I.R. ( Espectro No.5 ), las bandas en 2700-3200  $\text{cm}^{-1}$  y 1710  $\text{cm}^{-1}$  ( características para ácido carboxílico ), 1740  $\text{cm}^{-1}$  y 1778  $\text{cm}^{-1}$  (  $\gamma$ -lactona ), 3463  $\text{cm}^{-1}$  ( hidróxilo) 1611 y 1636  $\text{cm}^{-1}$  (dobles enlaces). ( VIIIa ).

Para facilitar su purificación, se obtuvo su éster metílico ( VIIIb ) por tratamiento con disolución etérea de diazometano.

El éster metílico ( VIIIb ) es un sólido blanco cristalino con p. f. 146 °C-148 °C ( Hexano-Acetona ) y  $[\alpha]_{20}^D = -223.85$ .

El espectro de I.R. ( Espectro No.6 ), de ( VIIIb ):  
 MUESTRA en 1612  $\text{cm}^{-1}$ , 1638  $\text{cm}^{-1}$  ( dobles ligaduras ), en 1711  $\text{cm}^{-1}$  ( carbonilo de éster ) en 1783 y 1748  $\text{cm}^{-1}$  (  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada ) [ 23, 24 ]. Estas señales se observan como una banda doble y corresponden al fenómeno conocido como Resonancia de Fermi [ 25 ].

La absorción máxima en el Ultravioleta ( U.V. ) a 205 nm apoya la existencia de una  $\gamma$ -lactona- $\alpha,\beta$ -insaturada [ 23 ].

En el espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  ( Espectro No.7 ) (Tabla No.1) de esta sustancia, ( VIIIb ) se observa un multiplete en  $\delta$  5.84 ( las señales comprendidas entre  $\delta$  5.75 y  $\delta$  5.1, integran para 2 protones ), y un doblete (  $J=2$  Hz ) en  $\delta$  4.74 ( 2H ), que se asignan a los protones de una  $\gamma$ -lactona- $\alpha, \beta$ -insaturada, sustituida en  $\beta$ .

En el espectro de R.M.N. de  $^{13}\text{C}$  ( Espectro No.8 ) ( VIIIb ) ( Tabla No.2 ) de esta sustancia, se observan señales que apoyan esta aseveración.

Se observa un singulete en  $\delta$  174.0 que corresponde al carbono del carbonilo; un singulete en  $\delta$  171.03 que corresponde al carbono totalmente sustituido del doble enlace; un doblete en  $\delta$  115.19 para el carbono trisustituido y un triplete en  $\delta$  73.04 para el metileno.

Para el caso de las  $\gamma$ -lactonas- $\alpha, \beta$ -insaturadas, sustituidas en  $\alpha$ , el proton vinilico aparece en  $\delta$  7.17 y el desplazamiento quimico en R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , del carbono, al cual se encuentra unido aparece en 145-146 ppm [ 27 ].

Esta información, permite proponer la siguiente estructura parcial. ( Figura 2 ).

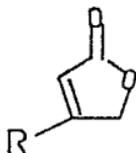
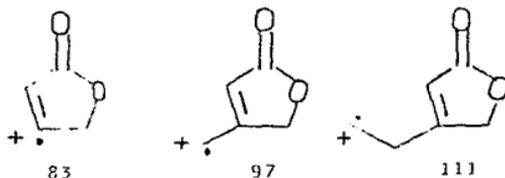


FIGURA 2

En el espectro de Masas de esta sustancia ( M. 344 ) se observa la fragmentación típica para las  $\gamma$ -lactonas [ 28 ], además se observan los fragmentos cuya relación m/z es 83, 97, y 111, siendo este último fragmento, el más abundante de los tres.

Estos fragmentos están representados así:



Con esto, la estructura parcial anterior, se expande a la siguiente. ( Figura 3 ).

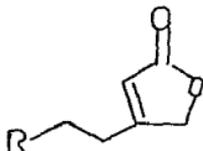


FIGURA 3

Por otra parte, en el espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de ( VIIIb ) (Espectro No.7) ( Tabla No.1 ), se observa un multiplete en  $\delta$  7.2 que se asigna a un proton  $\beta$  a un carbonilo y en  $\delta$  5.95 se observa una señal ( ddd ) (  $J=10, 4, 4$  Hz ), ( las señales comprendidas entre  $\delta$  5.75 y  $\delta$  6.1, integran para 2 protones ).

Las señales en  $\delta$  7.2 y  $\delta$  5.95 se asignan a 2 protones olefinicos que están en posición cis entre sí y en posición  $\beta$ ,  $\gamma$  a un grupo carbonilo respectivamente.

La J para la posición trans tiene un valor de 13-18 Hz.

En  $\delta$  5.25 se observa un ddt (  $J=10, 4, 4$  Hz ) que integra para un protón, que también esta en posición cis, respecto a los dos protones listados anteriormente y que además esta vecino a un metileno; este protón esta en posición  $\delta$  al grupo carbonilo.

( Figura 4 ).

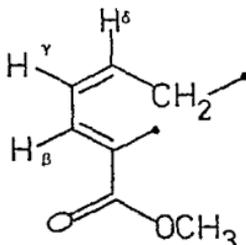


FIGURA 4

Los átomos de Carbono, a los cuales están unidos estos tres protones aparecen en R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , como un doblete, cada uno, a  $\delta$  126.76,  $\delta$  129.42 y  $\delta$  140.48 respectivamente.

También se observa un singulete en  $\delta$  3.75 ( 3H ), que corresponde al metilo del éster metílico. ( VIIIb ).

Se realizaron experimentos de doble resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  de ( VIIIb ) y se observó en el espectro ( Espectro No.9 ), que al irradiar la zona comprendida entre  $\delta$  7.05 y  $\delta$  7.25 (  $\text{H}_\beta$  a un carbonilo ), la señal en  $\delta$  5.25,  $\text{H}_\delta$ , se simplifica de un ddt a un dt (  $J = 10, 4$  Hz ) y por la multiplicidad se infiere que este protón es vecino a un metileno y al protón  $\gamma$ . Así mismo por el valor de  $J = 10$  Hz, se puede deducir que  $\text{H}_\delta$ , se encuentra en posición cis respecto a  $\text{H}_\gamma$ .

Con la saturación de la señal centrada en  $\delta$  7.25, se observa también que la señal en  $\delta$  5.95 pasa de ddd a dd (  $J=10,4$  Hz ), y que está en posición cis, respecto a H  $\delta$ .

El compuesto VIIIb muestra también en R.M.N. de  $^1\text{H}$  ( Espectro No. 7 ), un singlete ancho en  $\delta$  4.83 ( 1H,  $H_A$  ),  $W_{1/2} = 4$  Hz y un triplete (  $J=2$  Hz ) en  $\delta$  5.04 ( 1H,  $H_B$  ). Por la multiplicidad, de cada una de estas señales, se propone que estos protones estén cercanos a un grupo  $-\text{CH}_2-$ .

Con base en lo anterior, estas señales se asignan a un metileno terminal y a un carbonilo, lo que permite establecer la siguiente estructura parcial. ( Figura 5. )

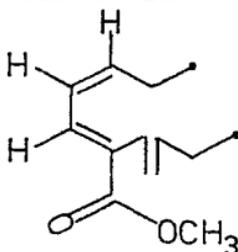


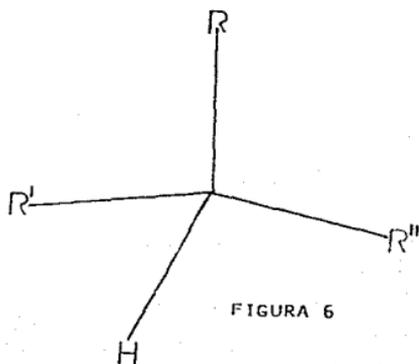
FIGURA 5

También se obtuvo el espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$ , de esta sustancia, corrido en  $\text{CDCl}_3 + \text{C}_6\text{D}_6$  ( Espectro No. 10 ) y se observa un desplazamiento de las señales a campo alto, en comparación con el espectro corrido en  $\text{CDCl}_3$  ( Espectro No. 7 ).

El espectro de R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , de VIIIb ( Espectro No. 8 ), muestra la presencia de 21 átomos de Carbono, de los cuales, uno corresponde al metilo del éster metílico, por lo tanto, este metabolito secundario tiene la estructura de un diterpeno (  $\text{C}_{20}$  ).

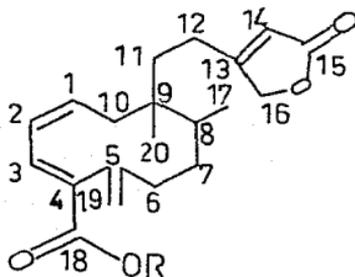
El peso molecular determinado por Espectrometría de Masas (  $M^+$ , 344 ) concuerda para una fórmula condensada  $C_{21}H_{20}O_4$ , y tiene un IDH ( Índice de deficiencia de hidrógeno ) de 8. En las estructuras parciales, mostradas hasta el momento se justifica un IDH=7, y no existiendo en el espectro de R.M.N. de  $^1H$  más dobles enlaces o enlaces con heteroátomos por justificar, el restante IDH solo puede corresponder a un anillo.

A partir de los datos de R.M.N. de  $^{13}C$ , se observa que sólo 5 átomos de Carbono, se muestran como un doblete. Cuatro de ellos ya están asignados, el último tiene un desplazamiento químico de 35.83 ppm, lo que indica que es un carbono  $sp^3$  y por la multiplicidad ( es un doblete ), se infiere que es un carbono trisustituido, esto permite establecer la siguiente estructura parcial. ( Figura 6 ).



A partir de los datos de R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , se observa que hay tres átomos de carbono,  $\delta$  51.89,  $\delta$  13.85 y  $\delta$  18.59 cuya multiplicidad es un cuarteto, lo que permite afirmar, que se trata de 3 grupos metilo; el primero de ellos ya esta asignado y corresponde al metilo del éster metílico. En el espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$ , se observa una señal simple en  $\delta$  0.70 ( 3H ) y un doblete en  $\delta$  0.76 ( 3H ), estas señales confirman la presencia de los otros dos grupos metilo.

Con base en los datos previamente discutidos y tomando en cuenta el antecedente de que, del total de diterpenos aislados de Salvias mexicanas, el 80% son clerodanos; se infiere que este metabolito secundario, aislado como éster metílico presenta esqueleto de 5, 10-Seco-clerodano, proponiéndose así, la siguiente estructura plana ( VIIIb ).



( VIIIa )    R = H

( VIIIb )    R = CH<sub>3</sub>

Esta estructura corresponde a un diterpeno con esqueleto de 5,10-Seco-clerodano y se denomina como el Ester metilico del Acido 5,10-seco-clerodan-1, 3, 5( 19 ), 13-tetraen-15,16-olida-18-oico.

De acuerdo con la metodologia utilizada para aislar este metabolito secundario, se afirma que el diterpeno esta presente, en la planta como ácido carboxilico.

Este diterpeno con esqueleto de 5,10-seco-clerodano fue previamente aislado y caracterizado, como una mezcla aceitosa, por Bohlmann y colaboradores [ 29 ], a partir de una planta denominada Pulicaria angustifolia; trabajo en el cual, no se asigna ni la estereoquímica, ni se describen todas las propiedades físicas y espectroscópicas.

Se han aislado diterpenos con estructura de 5,10-seco-clerodano, a partir de plantas del género de las Compuestas tales como Nidorella [ 30 ], Conyza stricta [ 31 ], Heteropappus altaicus [ 32 ], Grangea maderaspatana [ 32, 33 ], Baccharis flabellata [ 35 ], Conyza sacabrada [ 36 ] y por último Conyza japonica [ 34 ]. En el género Salvia, ésta es la segunda ocasión que se aísla un diterpeno con esta estructura, anteriormente se obtuvo de la planta Salvia cardiophylla [ 37 ].

A continuación, se enlistan los desplazamientos químicos en R.M.N. de  $^1\text{H}$ , para los hidrógenos en posición 1, 2, 3, 19 y 19', del anillo 5,10-Seco-clerodano, de algunos diterpenos aislados del género de las compuestas. ( Tabla No. 3 ).

Tabla No. 3

Desplazamiento químico en R.M.N. de  $^1\text{H}$ , de los protones del anillo 5,10-Seco-clerodano, de algunos diterpenos aislados de las

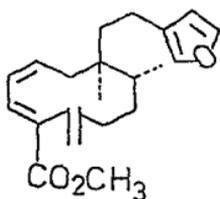
Compuestas

Posición del	Estructura			
H	VIIIb	IX	X	XI
1	5.25 ddt J = 10,4,4 Hz	5.38 dddd J = 12,5,12, 4.5,1.5 Hz	5.22 dda J = 12,4, 1.5 Hz	5.35 dda J = 12, 2.5 Hz
2	5.95 ddd J = 10,4,4 Hz	5.92 dd J = 12,3,2 Hz	5.87 da J = 12,2 Hz	5.93 da J = 2.5 Hz
3	7.2 m -	7.27 m J = 3,1.5 Hz	7.24 dda J = 1.5,1.5 Hz	7.25 ddd J = 2.5, 2.5,2.5 Hz
19	5.04 t J = 2 Hz	5.06 t J = 1.5 Hz	5.03 sa -	5.06 sa -
19'	4.83 sa W $\frac{1}{2}$ = 4 Hz	4.84 sa -	4.79 sa -	4.84 sa -
Ref.	<u>S. thymoides</u>	30	32	33

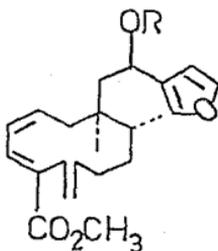
s = singulete    d = doblete    t = triplete    m = multiplete

sa = singulete ancho

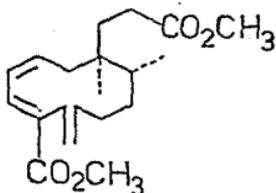
da = doblete ancho



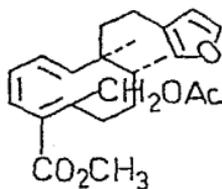
Ester metilico del  
Acido estriptico ( IX )



Ester metilico del Acido  
(2-metilbutiroxi) estriptico ( X )



Ester metilico del  
Acido Non-estriptico ( XI )



Ester metilico del Acido  
19-acetoxi-estriptico ( XII )

A partir de la Tabla No.3, se observa que el diterpeno aislado de Salvia thymoides, presenta desplazamientos químicos en R.M.N. de  $^1\text{H}$ , similares a los descritos para los diterpenos obtenidos de algunas plantas del genero de las Compuestas. La comparación anterior confirma la estructura de VIIIb.

El anillo 5,10-Seco-clerodano, presenta varias conformaciones, no obstante, la disposición de los dobles enlaces es tal, que permite que los metilos C - 17 y C - 20, muestren desplazamientos químicos semejantes en R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , a los que presentan los mismos metilos en Clerodanos que tienen anillos fusionados A / B trans. ( Tabla No. 4 ) [ 27 ].

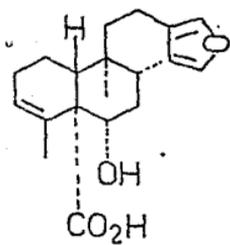
Tabla No. 4

Desplazamiento químico en R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , de C - 20 y C - 17 de Clerodanos con fusión de anillo A / B trans [ 27 ]

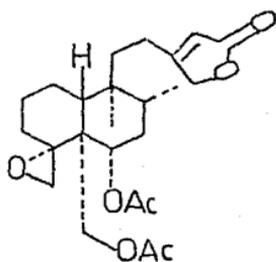
---

Estructura	Nombre	$\delta$ C - 20	$\delta$ C - 17
XIII	Acido kerlinico	15.5	16.1
XIV	Ajugarina I	17.3	15.3
XV	Ajugarina IV	17.8	15.4
XVI	Fruticolona	19.2	15.5
XVII	18-Acetato de bacchalineol	17.9	15.8
VIIIb	Diterpeno de <u>S. thymoides</u>	18.59	13.85

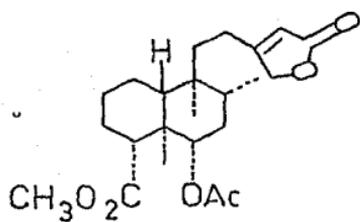
---



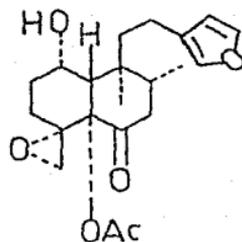
Acido kerlinico ( XIII.1 )



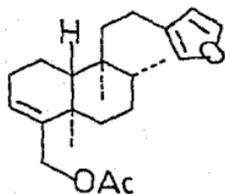
Afugarina I ( XIV )



Afugarina IV ( XV )



Fruticolona ( XVI )



18-Acetato de Bacchalincol ( XVII )

La comparación de los datos de  $\delta$  en R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , de la Tabla No. 4, permite se asigne al metilo - 17, orientación  $\alpha$  - ecuatorial y al metilo - 20, orientación  $\alpha$  - axial.

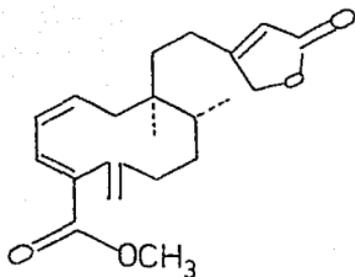
La esteoquímica de los diterpenos con estructura de 5,10-Seco-clerodano, fue establecida por Herz y colaboradores [ 34 ], para el diterpeno, denominado, éster metílico del ácido estrictico ( IX ).

La siguiente Tabla muestra los desplazamientos químicos en R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , para los metilos, C - 17 y C - 20, de dos diterpenos con anillo de 5,10-Seco-clerodano y del compuesto VIIIb.

Tabla No. 5

Estructura	$\delta$ C - 17	$\delta$ C - 20	Ref.
IX	13.84	18.62	30
XII	13.5	18.1	35
VIIIb	13.85	18.59	<u>S. thymoides</u>

Con lo cual, se confirma la esteoquímica propuesta para los metilos C -17 y C - 20, por lo tanto, la estructura del diterpeno aislado en este trabajo, es la siguiente:



( VIIIb )

Asignandose las configuraciones de los centros quirales como sigue: C - 8 ( R ) y C - 9 ( R ).

Tabla No.1

Datos de R.M.N. de  $^1\text{H}$  del Ester metilico del Acido 5.10-seco-clerodan-1,3,5 (19),13-tetraen-15,16-ólida,18-oico.

Posición del H	$\delta$ (ppm)	multiplicidad	J ( Hz )
1	5.25	ddt	10,4,4
2	5.95	ddd	10,4,4
3	7.2	m	-
14	5.84	m	2,1
16	4.74	d	2
17	0.76	d	7
19	5.04	t	2
19'	4.83	s, ancho	$W_{1/2} = 4$
20	0.70	s	-
OMe	3.75	s	-

Corrido en  $\text{CDCl}_3$ . Referencia interna TMS

s = singulete d = doblete t = triplete m = multiplete

Tabla No.2

Datos de R.M.N.de <sup>13</sup>C del Ester metilico del Acido 5,10-seco-clerodan-1,3,5,(19),13-tetraen-15,16-ólide,18-oico

Carbono	δ (ppm)	multiplicidad
1	140.48	d
2	128.42	d
3	126.76	d
4	144.94	s
5	137.12	s
6	33.92	t
7	29.30	t
8	35.83	d
9	37.97	s
10	34.93 <sup>a</sup>	t
11	35.83 <sup>b</sup>	t

Tabla No. 2  
( Continua )

12	23.64	t
13	171.03	s
14	115.19	d
15	174.00	s
16	73.04	t
17	43.85	c
18	166.50	s
19	117.93	t
20	18.59	c
21	51.89	c

\* Señales intercambiables. s=singulete d=doblete t=triplete  
c=cuarteto Corrido en CDCl<sub>4</sub> a 20 MHz.Referencia interna TMS

De las fracciones menos polares, eluidas con Hexano-AcOEt ( 8:2 ), se logro separar, un sólido amorfo blanco. El espectro de I.R. de esta sustancia ( XVIII )( Espectro No. 11 ), muestra bandas en 2700-3200  $\text{cm}^{-1}$  y 1688  $\text{cm}^{-1}$  ( ácido carboxílico ), y 883  $\text{cm}^{-1}$  ( metileno terminal. Se obtuvo su éster metílico, tratando esta sustancia con solución etérea de diazometano.

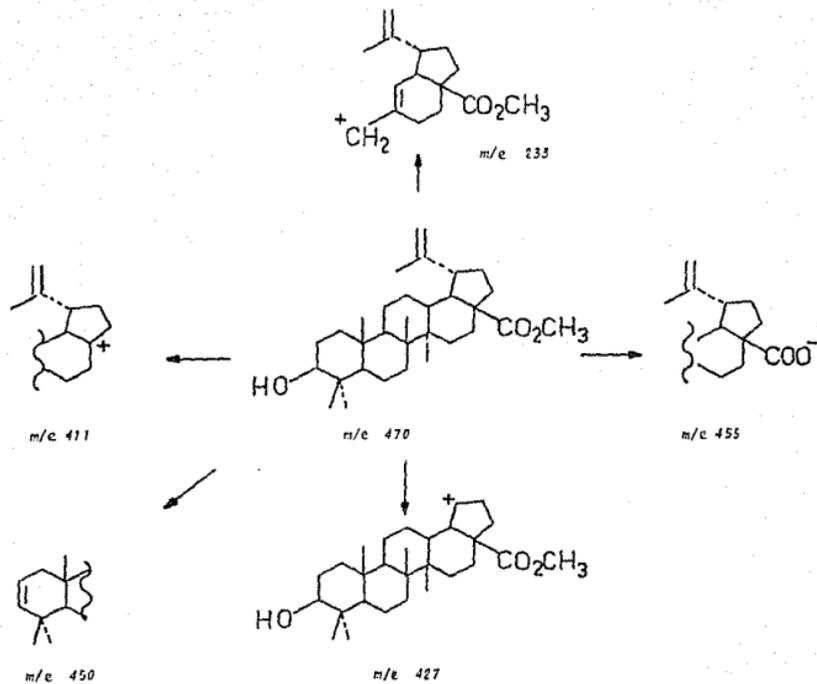
El éster metílico ( XVIIIa ) es un sólido cristalino blanco, de punto de fusión 199 - 201 °C. Esta sustancia muestra en su espectro de I.R. ( Espectro No.12 ) las siguientes bandas:

3618  $\text{cm}^{-1}$ (alcohol secundario ), 1641  $\text{cm}^{-1}$  ( dobles enlaces ), 889  $\text{cm}^{-1}$  (metileno terminal), 1719  $\text{cm}^{-1}$ ( carbonilo de éster), 1376 y 1455  $\text{cm}^{-1}$  ( metilos y metilenos).

El espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de ( XVIIIa )( Espectro No.13 ), muestra dos singuletes anchos  $W_{1/2} = 4 \text{ Hz}$ , en  $\delta$  4.56 ( 1H ), y  $\delta$  4.69 ( 1H ), atribuibles a los protones de un metileno terminal de un isopropenilo; un singulete en  $\delta$  0.74 ( 3H ),  $\delta$  0.79 ( 3H ),  $\delta$  0.91 ( 3H ) y  $\delta$  0.94 ( 6H ), que corresponden a 5 grupos metilos; un singulete en  $\delta$  3.64 (3H ) para el grupo -COOMe; un singulete en  $\delta$  1.66 ( 3H ), que corresponde al metilo del isopropenilo. También muestra un multiplete centrado en  $\delta$  3.1 ( 1H ) que se asigna al proton axial al grupo hidroxilo ecuatorial, además presenta intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$  en  $\delta$  4.69.

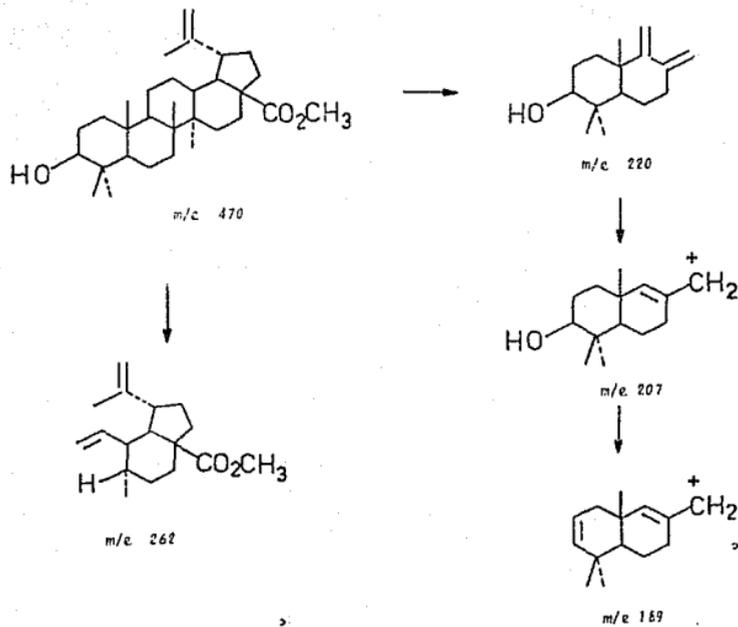
Su peso molecular determinado por Espectrometria de Masas ( M, 470 ), esta de acuerdo con una fórmula condensada  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$ , y presenta la fragmentación [ 33 ], indicada en el Esquema No.6.

Esquema No. 6

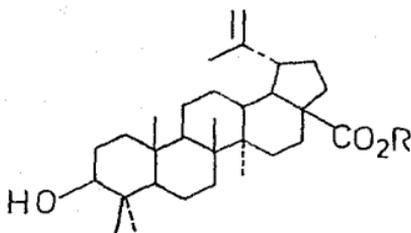


Betulinato de Metilo

Esquema No. 6



Por lo tanto se propone la siguiente estructura ( XVIIIa ), para este metabolito secundario, previamente aislado y caracterizado [ 39, 40 ].



( XVIII ) Acido betulinico            R = H

( XVIIIa ) Betulinato de Metilo    R = CH<sub>3</sub>

De las últimas fracciones eluidas con Hexano-AcOEt ( 8:2 ), se logro separar, otro sólido blanco amorfo. ( IV ). El espectro de I.R. de esta sustancia ( Espectro No.14 ), muestra bandas en 2700-3200 cm<sup>-1</sup> y 1690 cm<sup>-1</sup> ( acido carboxílico ), 3465 cm<sup>-1</sup> ( hidroxilo ). Se obtuvo su éster metílico, tratando esta sustancia con solución etérea de diazometano.

El éster metílico ( IVa ) es un sólido amorfo blanco, esta sustancia muestra en su espectro de I.R. ( Espectro No.15 ) las siguientes bandas: 1729 cm<sup>-1</sup> ( carbonilo ), 3500 cm<sup>-1</sup> ( alcohol ), y 1460 cm<sup>-1</sup> y 1378 cm<sup>-1</sup> ( metilos y metilenos ).

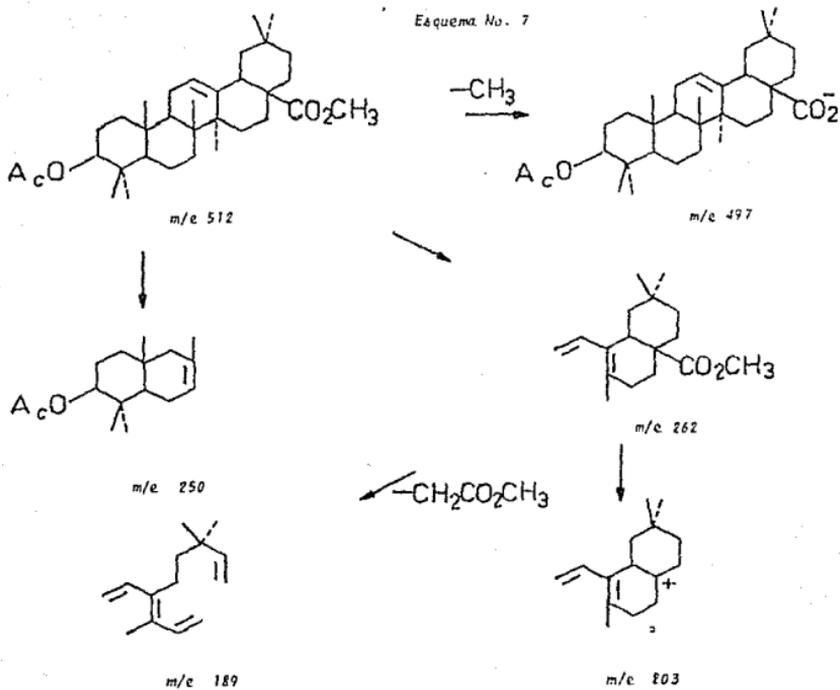
Para facilitar la purificación de esta sustancia, se acetiló el éster metílico mediante un tratamiento con anhídrido acético en piridina. El éster metílico acetilado ( IVb ) es una sustancia que cristaliza en forma de agujas blancas y tiene un p.f. de 220 °C-222 °C.

En su espectro de I.R. de IVb ( Espectro No.16 ), se observan las siguientes bandas: 3024  $\text{cm}^{-1}$  ( insaturación ), 1719  $\text{cm}^{-1}$  ( carbonilo de éster ), 1370  $\text{cm}^{-1}$  ( metilo adyacente a un carbonilo correspondiente al grupo acetilo ), 1256  $\text{cm}^{-1}$  ( vibración asimétrica de  $\text{CH}_2\text{-CO-OR}$  ), 1168  $\text{cm}^{-1}$  ( vibración asimétrica de  $\text{R-CO-OCH}_3$  ), y 1370  $\text{cm}^{-1}$  y 1462  $\text{cm}^{-1}$  ( metilos y metilenos ).

El espectro de R.M.N. de  $^1\text{H}$  de IVb ( Espectro No.17 ), muestra un triplete en  $\delta$  5.25 (  $J=3$  Hz, 1H ) correspondiente a un doble enlace trisustituido; un singlete en  $\delta$  3.59 ( 3H ) que se asigna al grupo -COOMe; un singlete en  $\delta$  2.02 ( 3H ) para el grupo funcional acetilo; un singlete en  $\delta$  0.71 ( 3H ),  $\delta$  0.84 ( 6H ),  $\delta$  0.88 ( 3H ),  $\delta$  0.91 ( 6H ), y  $\delta$  1.11 ( 3H ) que se asignan a 7 grupos metilo; un triplete centrado en  $\delta$  4.45 (  $J = 8$  Hz, 1H ) atribuible al proton axial al grupo acetilo ecuatorial; un doble de doble centrado en  $\delta$  2.84 (  $J = 12, 5$  Hz ) que se asigna al proton unido a 18 - B .

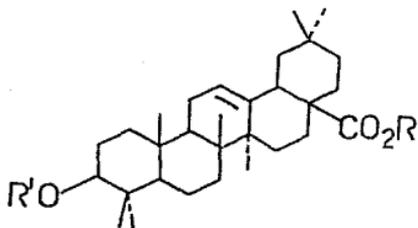
El peso molecular determinado por Espectrometría de Masas esta de acuerdo para una fórmula condensada  $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4$  ( M. 312 ) y su fragmentación es la siguiente [ 38 ]: ( Esquema No.7 )

Esquema No. 7



Acetato del Oleato de Metilo

Por lo tanto, considerando la evidencia espectroscópica y por comparación directa con una muestra autentica, se asigna la siguiente estructura, para esta sustancia aislada como el éster metílico acetilado del ácido oleanólico ( IVb ). ( 38, 41 ).



- |         |                                  |                     |          |
|---------|----------------------------------|---------------------|----------|
| ( IV )  | Acido Oleanólico                 | R = H               | R' = H   |
| ( IVa ) | Oleanolato de metilo             | R = CH <sub>3</sub> | R' = H   |
| ( IVb ) | Acetato del oleanolato de metilo | R = CH <sub>3</sub> | R' = AcO |

De acuerdo con la metodología utilizada en el aislamiento e identificación de esta sustancia, se establece que el metabolito secundario esta presente en la planta como ácido carboxílico.

#### **IV. PARTE EXPERIMENTAL**

## IV.-PARTE EXPERIMENTAL

## a).-Material

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

Las cromatografías en columna se empacaron con Silica Gel 60 Merck ( 35-70 y 70-230 Mesh ASTM ).

La cromatografía en capa fina se realizó utilizando cromatoplaque 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, en pastilla de KBr o en Ventana de Irtran, en un Espectrofotómetro Perkin-Elmer Mod.337 o en un Espectrofotómetro Nicolet FT-SX.

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 R.M.N. de  $^1H$  y  $^{13}C$  se realizaron a 80 MHz y 20 Mhz respectivamente en un aparato Varian FT-80A.

Los desplazamientos químicos están dados en ppm, en unidades  $\delta$  con respecto al TMS. Los valores de J están dados en Hz, las asignaciones en  $^{13}C$  se hacen 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 70 electrón-Volts.

b).-Aislamiento de Compuestos

El espécimen de Salvia thymoides estudiado fue recolectado en el Estado de Oaxaca y clasificado por el Dr.T.P.Ramamoorthy.

Las partes aéreas,secas y molidas de la Salvia thymoides ( 3297g ) fueron extraidos con acetona ( 20 litros ) a temperatura ambiente durante 5 dias. Transcurrido este tiempo, el disolvente fue evaporado a presión reducida, obteniendose 93g de extracto, el cual fue separado en sus componentes, mediante una cromatografía en columna, empacada con Silica Gel ( 35-70, 1500g) desactivada al 10% de agua(150g). y utilizando como eluyentes, mezclas de Hexano - AcOEt y ACOEt - MeOH de polaridad creciente.

De las fracciones eluidas con Hexano-ACOEt ( 8:2 ), se aislaron 221mg ( 0.006%, peso seco ), de un sólido amorfo blanco.

( XVIII ) El espectro de I.R. ( Espectro No.11 ) muestra las bandas características para el grupo funcional ácido carboxilico (2700-3200  $\text{cm}^{-1}$ ) y 1690  $\text{cm}^{-1}$ ).

Se sometieron a esterificación 40 mg del ácido carboxilico, con una disolución eterea de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  y despues de eliminar el exceso de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  con AcOH, extraer con AcOEt, neutralizar con solución al 10 % de  $\text{NaHCO}_3$ , lavar con  $\text{H}_2\text{O}$  y secar con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y concentrar a vacio, se obtuvieron 21 mg de un sólido cristalino blanco. ( XVIIIa ), punto de fusión de 199 °C-201 °C.

Sus propiedades espectroscópicas son las siguientes:

I.R. ( Espectro No.12 )  $\text{CHCl}_3$ , y max, $\text{cm}^{-1}$ ):3618,1719,1641,1455, 1376,889.

R.M.N. de  $^1\text{H}$  ( Espectro No.13 ) 80 MHz (  $\text{CDCl}_3$  ):

$\delta$  4.56 ( sa,  $W_{1/2} = 4$  Hz, 1H ),  $\delta$  4.69 ( sa,  $W_{1/2} = 4$  Hz, 1H ),  
 0.74 ( s, 3H ), 0.79 ( s, 3H ), 0.91 ( s, 3H ) 0.94 ( s, 6H ),  
 3.64 ( s, 3H ), 1.66 ( s, 3H ), 3.1 ( m, 1H ), 4.69 intercambio  
 con agua deuterada.

E.M. (  $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_2$  ) m/z ( abundancia relativa ): 470 ( 6.8 ),  
 455 ( 2.0 ), 452 ( 2.2 ), 189 ( 91.6 ), 69 ( 72.9 ), 55 ( 14.5 ),  
 43 ( 100, pico base ).

Las propiedades físicas y espectroscópicas de esta sustancia corresponden con las descritas en la literatura [ 39, 40 ], para el éster metílico del Acido Betulinico ( XVIII ).

De la misma polaridad se obtuvo otro sólido amorfo blanco ( 1.1275 g, 0.034 % peso seco ). ( 1V ).

En su espectro de I.R. ( Espectro No.14 ) se observan las señales para el grupo funcional ácido carboxílico ( 2700-3200  $\text{cm}^{-1}$  ) y para facilitar su purificación, se obtuvo su éster metílico ( IVa ), al tratar 78 mg del ácido carboxílico con solución etérea de  $\text{CH}_2\text{N}_2$ , y despues de tratarse en la forma previamente descrita, se obtuvieron 45 mg del producto metilado, de punto de fusión, superior a 300  $^{\circ}\text{C}$ .

En su espectro de I.R. ( Espectro No.15 ), se observan las siguientes bandas: 1729  $\text{cm}^{-1}$  ( carbonilo de éster ), 3500  $\text{cm}^{-1}$  ( alcohol ), 1460 y 1378  $\text{cm}^{-1}$  ( metilos y metilenos ).

Posteriormente, se acetilo el éster metílico, para ello se disolvieron las aguas madres ( 20 ml ) en Piridina y se adicionaron 5 ml de anhídrido acético, y se dejó reaccionar durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se vertió la mezcla en hielo y se lava sucesivamente con HCl, NaHCO<sub>3</sub>, y H<sub>2</sub>O; se seco con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a vacío, obteniendo 80 mg del éster metílico acetilado ( IVb ). Esta sustancia cristaliza en forma de agujas blancas, funde a 220 °C-222 °C, ( el punto de fusión descrito es 223 °C ) [ 42 ].

Las propiedades espectroscópicas de ( IVb ) son:

I.R. ( Espectro No.17 ) ( CHCl<sub>3</sub> )  $\nu$  cm(-1): 3024, 1719, 1370, 1256, 1168, 1462.

R.M.N.de <sup>1</sup>H ( Espectro No.17 ) ( CDCl<sub>3</sub> ) ( 80 MHz )  $\delta$ :  
 5.25 ( t, J=3 Hz, 1H ), 3.59 ( s, 3H ), 2.02 ( s, 3H ),  
 0.71 ( s, 3H ), 0.84 ( s, 6H ), 0.80 ( s, 3H ), 0.91 ( s, 6H ),  
 1.11 ( s, 3H ), 4.45 ( t, J=8 Hz, 1H ), 2.84 ( dd, J=12.5 Hz, 1H ).

E.M. ( C<sub>30</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub> ) m/z ( abundancia relativa ): 512 ( 1.7 ),  
 497 ( 0.2 ), 262 ( 39.4 ), 203 ( 100, pico base ), 189 ( 27.0 ),  
 73 ( 34.2 ).

La comparación de estas propiedades físicas con las descritas en la literatura [ 38, 41, 42 ], permiten caracterizar a esta sustancia como el Acetato del Oleanolato de metilo ( IVb ).

El componente aislado en mayor cantidad ( 1.9218 g. 0.058 %, peso seco ), es un producto cristalino amarillo, ( VI ) con punto de fusión 192 °C-194 °C, obtenido a partir de las fracciones eluidas con Hexano-AcOEt ( 6:4 ).

Sus propiedades espectroscópicas son las siguientes:

I.R. ( Espectro No.1 ) (  $\text{CHCl}_3$  )  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 2846, 1023, 1656, 1612, 1591, 1515, 1458.

R.M.N.de  $^1\text{H}$  ( Espectro No.2 ) (  $\text{CDCl}_3$  ) ( 80 MHz )  $\delta$ :  
 6.56 ( s, 1H, H-8 ), 6.95 ( d, J = 9 Hz, H-5' ),  
 7.32 ( d, J = 2 Hz, 1H, H-2' ), 7.50 ( dd, J = 2; 9 Hz, 1H, H-2' ),  
 3.9 ( s, 3H, -OMe-4' ), 3.95 ( s, 9H, -OMe-3', 6, 7 ).  
 12.64 ( Intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$  ).

E.M. (  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_7$  ) m/z ( abundancia relativa ): 358 ( 100, pico base )  
 343 ( 100, pico base ), 153 ( 55 ), 69 ( 40 ), y corresponden con  
 las descritas en la literatura [ 19, 20 ], para la 5-Hidroxi - 6,  
 7, 3', 4' - tetrametoxiflavona ( VI ).

De la polaridad Hexano-AcOEt ( 4:6 ), se aislaron 0.039 g  
 ( 0.001 %, peso seco ), de una sustancia cristalina amarilla con  
 punto de fusión  $187^\circ\text{C}$ - $189^\circ\text{C}$ , identificada por comparación con da-  
 tos descritos en la literatura [ 21, 22 ] como Eupatorina ( VII )  
 ( 5, 3'- Dihidroxi - 6, 7, 4'- trimetoxiflavona ) y muestra las  
 siguientes propiedades espectroscópicas:

I.R. ( Espectro No.3 ) ( Nujol )  $\nu_{\text{max}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ : 2854, 1648, 1604,  
 1587, 1534, 1460, 1014.

R.M.N.de  $^1\text{H}$  ( Espectro No.4 ) (  $\text{CDCl}_3$  ) ( 80 MHz )  $\delta$ :  
 6.52 ( s, 1H, H-3 ), 6.55 ( s, 1H, H-8 ), 6.93 ( d, J = 9 Hz, 1H,  
 H-5' ), 7.4 ( dd, J = 2, 9 Hz, 1H, H-6' ), 7.44 ( s, 1H, H-2' );  
 3.98 ( s, 6H, -OMe-6 ), 3.96 ( s, 3H, -OMe-7 ), 3.92 ( s, 3H,  
 -OMe-4' ), 5.79 ( intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$ , 1H, -OH-3' ),  
 12.74 ( intercambio con  $\text{D}_2\text{O}$ , 1H, -OH-5 ).

E.M. (  $C_{11}H_{16}O_2$  )  $m/z$  ( abundancia relativa ): 344; 343 ( 13 ),  
329 ( 76 ), 158 ( 70.8 ), 69.1 ( 100, pico base ).

Algunas fracciones de polaridad intermedia Hexano-Acetato de Etilo ( 4:6 ), mostraron en su espectro de I.R. ( Espectro No.5 ), las bandas características para el grupo funcional ácido carboxílico ( 2700-3200  $cm^{-1}$  ) y 1710  $cm^{-1}$  , además presenta las siguientes señales: 1740 y 1776  $cm^{-1}$  (  $\gamma$ -lactona ), 3464  $cm^{-1}$  , ( hidroxilo ), 1611 y 1636  $cm^{-1}$  (dobles enlaces ). ( Villa ).

Se obtuvo su éster metílico ( VIIIb ), al tratar 2.6704 g de producto crudo, con una disolución de  $CH_2N_2$ , y después del tratamiento usual se obtuvo el producto esterificado, el cual fue separado en sus componentes, mediante una cromatografía en columna ( 80 g, Silica Gel 70-230 ), eluida con mezclas de Hexano-AcOEt de polaridad creciente, y se obtuvieron 0.8029 g del éster metílico a partir de la polaridad Hexano-AcOEt ( 4:6 ).

El producto metilado, ( VIIIb ) es un sólido blanco, cristaliza en forma de agujas y tiene un punto de fusión de  $146^{\circ}C-148^{\circ}C$  ( Hexano-Acetona ) y  $[\alpha]_{20}^D = -223.85$

El espectro de I.R. de VIIIb muestra, ( Espectro No.6 ) (  $CHCl_3$  ),  
 $\nu_{max,cm^{-1}}$ : 1783, 1748, 1711, 1612, 1638.

U.V. (  $CH_3OH$  ) (  $\lambda_{max,nm,\epsilon}$  ): 205, ( 39285 )

R.M.N.de  $^1H$  ( Espectro No.7 ) (  $CDCl_3$  ) ( 80 MHz )  $\delta$  :

( Ver Tabla No. 1 )

R.M.N. de  $^{13}C$  ( Espectro No.8 ) (  $CDCl_3$  ) ( 20 MHz )  $\delta$  :

( Ver Tabla No. 2 )

R.M.N. de  $^1\text{H}$  ( Espectro No.10 ) (  $\text{CDCl}_3 + \text{C}_6\text{D}_6$  ) ( 80 MHz )  $\delta$ :

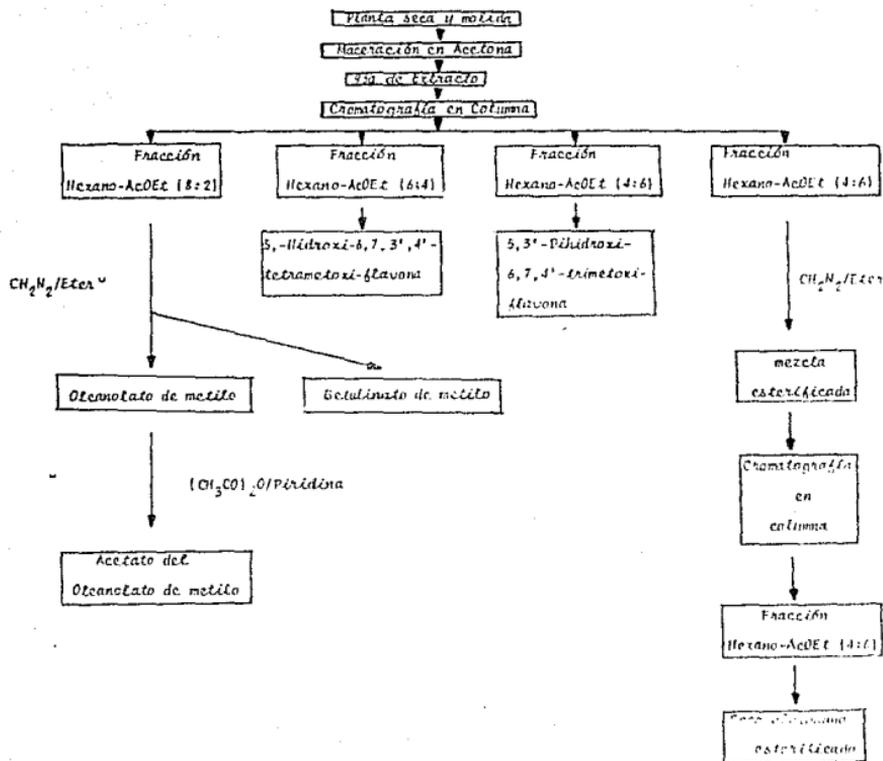
5.1 ( dt,  $J=10.4$  Hz, 1H, H-1 ), 5.79 ( dd,  $J=10, 4$  Hz, 1H, H-2 ),  
 7.17 ( m, 1H, H-3 ), 5.46 ( t, 1H, H-14 ), 4.05 ( d,  $J = 2$  Hz,  
 1H, H-16 ), 0.64 ( d,  $J = 7$  Hz, 3H, H-17 ), 5.01 ( m, 1H, H-19 ),  
 4.00 ( s, 1H, H-19' ), 0.46 ( s, 3H, H-20 ), 3.5 ( s, 3H, -OMe ).

El nombre semisistemático de esta sustancia es:

Ester metílico del Acido 5, 10-Seco-Clerodan-1, 3, 5 ( 19 ), 13-tetraen- 15, 16-ólida ( VIIIb ).

De acuerdo con la metodología seguida para el aislamiento de esta sustancia, se establece que este diterpeno, se encuentra en la planta, como ácido carboxílico.

La posible actividad farmacológica de este diterpeno será investigada, como una continuación de este trabajo.



Esquema de Trabajo

*Salvia thymiflora*

## V. CONCLUSIONES

## V.-CONCLUSIONES

Del estudio fitoquímico de Salvia thymoides Benth., se pueden obtener, desde el punto de vista químico, las siguientes conclusiones.

A partir de 3297g de planta seca y molida se aislaron 5 metabolitos secundarios, los cuales son:

- a ) 5 - Hidroxi - 6, 7, 3', 4' - tetrametoxiflavona ( VI ).  
Rendimiento = 0.058 %
- b ) 5, 3' - Dihidroxi - 6, 7, 4' - trimetoxiflavona ( VII )  
( Eupatorina ) Rendimiento = 0.001 %
- c ) Acido Oleanólico ( IV ) Rendimiento = 0.034 %
- d ) Acido Betulinico ( XVIII ) Rendimiento = 0.006 %
- e ) Diterpeno Seco-clerodano ( VIIIb ) Rendimiento = 0.024 %

Del total de productos aislados, los primeros cuatro son de estructura conocida. El diterpeno Seco-clerodano ( VIIIb ), también es de estructura conocida y fue aislado por primera vez por Bohlman y colaboradores [ 29 ]. Ellos describen la obtención de ( VIIIb ), como una mezcla aceitosa, enunciando solo los datos de R.M.N. de  $^1\text{H}$  y Espectrometría de Masas.

El presente trabajo, además de aislar a ( VIIIb ) en forma cristalina y pura, se asigna la estereoquímica del éster metílico del Acido 5, 10 - Seco - clerodan - 1, 3, 5 ( 19 ), 13 - tetraen-15, 16 - ólida, ( VIIIb ) así como también se completa el estudio de las propiedades físicas y espectroscópicas.

Aportando los datos de R.M.N. de  $^{13}\text{C}$ , Rotación Óptica, punto de fusión y U. V., siendo estos a su vez, aportaciones nuevas al conocimiento de la composición química de las Salvias mexicanas.

Esta es la segunda vez, que se obtiene un diterpeno con esqueleto de 5, 10 - Seco - clerodano a partir de una Salvia.

La primera vez se aisló de Salvia cardiophylla.

El perfil químico, encontrado para la Salvia thymoides Benth es similar al encontrado, hasta el momento, en la mayoría de Salvias mexicanas.

Por último la Salvia greggi y la Salvia thymoides Benth, son las dos plantas estudiadas hasta la fecha, de la sección Flocculosae.

## VI. BIBLIOGRAFIA

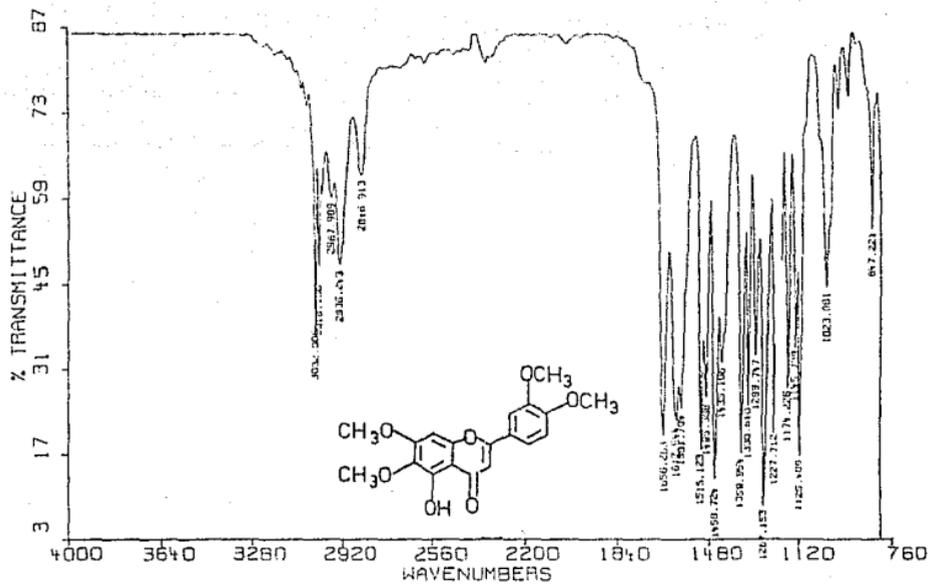
## VI.-BIBLIOGRAFIA

- 1.-Briquet, J. Labiatae en Engler-Prantl. Die Natural Pflanzenfamilien IV. 3a Engelmann Leipzig 1879.
- 2.-Rogers, D., Unal, G.G., Williams, D.J., Levy, S.V., Joshi, B.S., Rabin-dranath, K.R., J. Chem. Soc. Chem. Commun. 97 ( 1979 ).
- 3.-Fayos, J., Fernandez-Gadea, F., Pascual, C., Perales, A., Piozzi, F., Rico, M., Rodriguez, B., Savona, G., J. Org. Chem. 49 1789 ( 1984 ).
- 4.-Camps, F., Coll, J., Cortel, A., Rev. Latinoam. Quim. 12 81 ( 1981 ).
- 5.-Barberan, F.A.T., Fitoterapia LVII 67 ( 1986 ).
- 6.-Marco, J.L., Rodriguez, B., Savona, G., Piozzi, F., Phytochemistry 21 2567 ( 1982 ).
- 7.-Romo de Vivar, A., Gonzalez, J.M., Perez, A.L., Rev. Latinoam. Quim. 16 51 ( 1985 ).
- 8.-Ramamoorthy, T.P., Pl. Syst. Evol. 146 141 ( 1984 ).
- 9.-Standley, P., Williams, L., Fieldiana Bot. 24 237 ( 1973 ).
- 10.-Epling, C., Repert. Spec. Nov. Regni. Veg. Beih. 110 ( 1939 ).
- 11.-Ortega, A., Blaunt, J.F., Manchand, P.S., J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I 2505 ( 1982 ).
- 12.-Rodriguez-Hahn, L., Martinez, G., Romo, J., Rev. Latinoam. Quim. 4 93 ( 1973 ).
- 13.-Sanchez, M.C. Estudio Quimiotaixonomico de Salvia goldmani y Salvia ananmosans. Tesis Maestria UNAM ( 1987 ).
- 14.-Bruno, M., Savona, G., Fernandez-Gadea, F., Rodriguez, R., Phytochemistry 25 475 ( 1986 ).

- 15.-Martinez,N.del S.,Estudio Fitoquimico de Salvia microphylla variedad neurepia.Tesis de Licenciatura.Universidad Veracruzana ( 1988 ).
- 16.-Mann,J. Secondary Metabolism. Oxford University Press (1987).
- 17.-Mabry,T.J. and Mabry,H. The Flavonoids. Ed.Chapman and Hall-London ( 1975 ).
- 18.-Mabry,T.J.,Markham,K.R.,and Thomas,M.B. The Systematic identification of Flavonoids. Springer-Verlag New York ( 1970 ).
- 19.-Fraser,A.W. and Lewis,J.R.,Phytochemistry **13** 1561 ( 1974 ).
- 20.-Ulubelen,A.,Misky,M.,Neumann,P.,Mabry,T.J.,J.Nat.Prod. **42** 261 ( 1979 ).
- 21.-Kupchan,S.M.,Sigel,C.W.,Hemingway,R.J.,Knox,J.R.,Udayamurthy,M,S. Tetrahedron **25** 1603 ( 1969 ).
- 22.-Timmermann,B.N.,Mues,R.,Mabry,T.J.,Powel,M. Phytochemistry **18** 1855 ( 1979 ).
- 23.-Jones,R.N.,Angell,C.L.,Ito,T.,Smith,R.J.D.,Canad.J.Chem. **37** 2007 ( 1959 ).
- 24.-Bellamy,L.J. The Infrared Spectra of Complex Molecules. Methuen Co. Ltd. New York ( 1958 ).
- 25.-Cooper,J.W. Spectroscopic Techniques for Organics Chemists John Wiley and Sons ( 1980 ).
- 26.-Scott,A.I. Interpretation of The U.V. Spectra of Natural Products. Mc Millan Co. New York ( 1964 ).

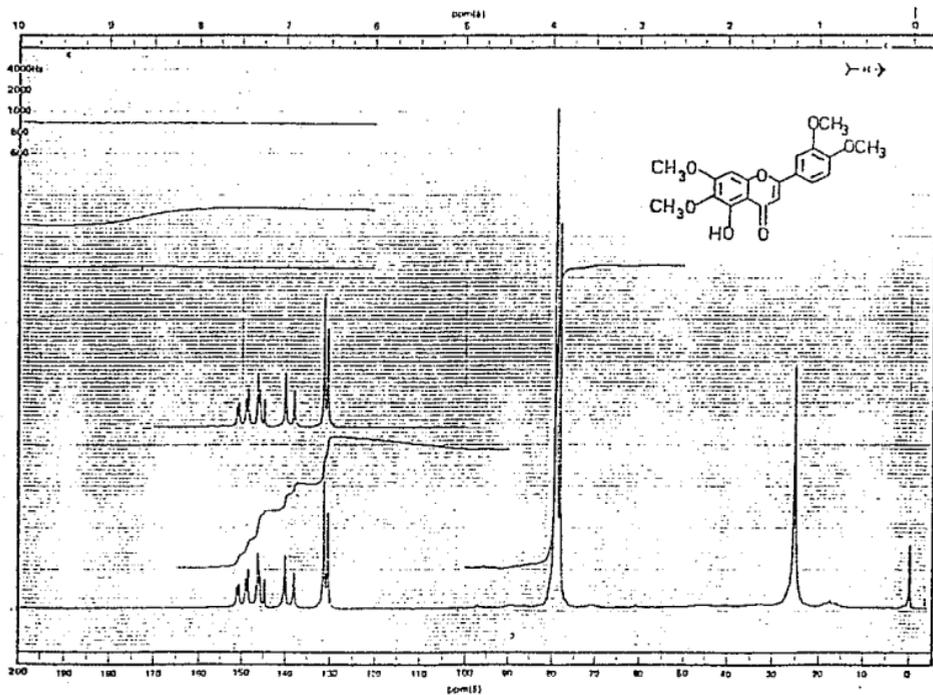
- 27.-Hernández, L.M., Estudio Fitoquímico de Salvia melissodora.  
Tesis de Licenciatura. Universidad Veracruzana, Xalapa, Ver.  
México ( 1988 ).
- 28.-Seibl, J. Espectrometría de Masas. Ed. Alhambra ( 1973 ).
- 29.-Singh, P., Sharma, M.C., Joshi, K.C., Bohlmann, F., Phytochemistry 24  
190 ( 1985 ).
- 30.-Bohlmann, F., Fritz, U., Phytochemistry 17 1769 ( 1978 ).
- 31.-Tandon, S., Rastogi, R.P., Phytochemistry 18 494 ( 1979 ).
- 32.-Bohlmann, F., Zdero, C., Huneck, S., Phytochemistry 24 1027 (1985).
- 33.-Singh, P., Jain, S., Jakupovic, J., Phytochemistry 27 1537 (1988).
- 34.-Pandey, U.C., Singhal, A.K., Barua, N.C., Sharma, R.P., Barua, J.N.,  
Watanabe, K., Kulanthavel, P., Herz, W., Phytochemistry 23  
391 ( 1984 ).
- 35.-Saad, J.R., Davicino, J.G., Giordano, O.S., Phytochemistry 27  
1884 ( 1988 ).
- 36.-Bohlmann, F., Grenz, M., Wegner, P., Jakupovic, J., Liebigs. Ann. Chem.  
2008 ( 1983 ).
- 37.-Gonzalez, A.G., Herrera, J.R., Luis, J.G., Ravelo, A.G.,  
Rodríguez, M.L., Ferro, E., Tetrahedron. Lett. 29 363 ( 1988 ).
- 38.-Budzikiewicz, H., Wilson, J.M., Djerassi, C., J. Amer. Chem. Soc.  
85 3688 ( 1963 ).
- 39.-Tiwari, K.P., Minocha, P.K., Phytochemistry 19 701 ( 1980 ).
- 40.-Robinson, F.P., Martel, H., Phytochemistry 9 907 ( 1970 ).
- 41.-Singh, P.N., Singh, S.B., Phytochemistry 19 2056 ( 1980 ).
- 42.-Elsevier's Encyclopaedia of Organic Chemistry 14 540 ( 1940 )

## VII. ESPECTROS



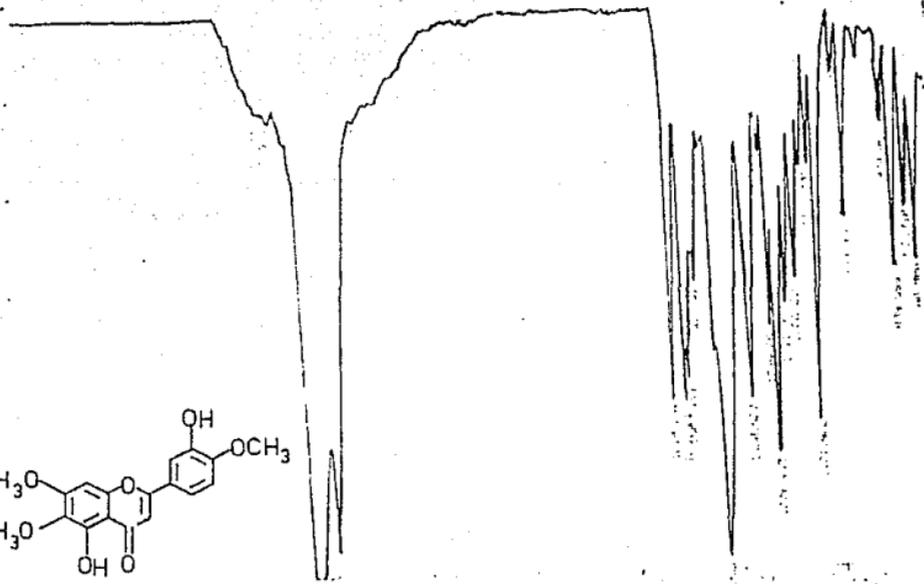
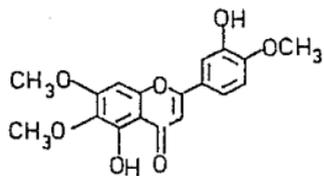
Espectro No. 1

I.R. 5-Hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxi-flavona



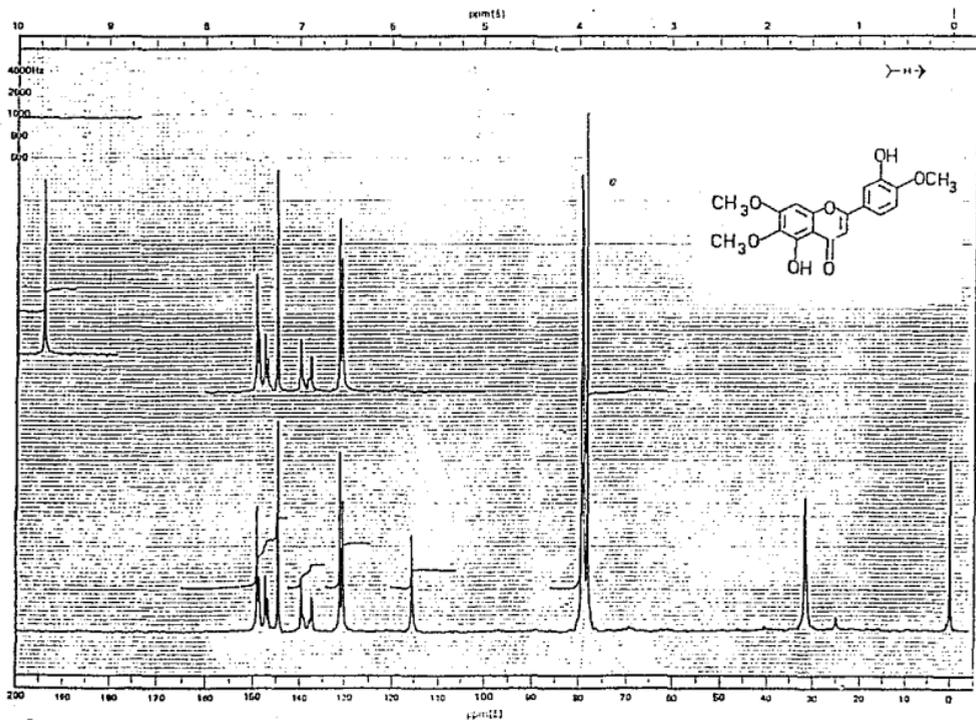
Espectro No. 2

R.M.N. de  $^1\text{H}$  5-Hidroxi-6,7,3',4'-tetrametoxi-flavona



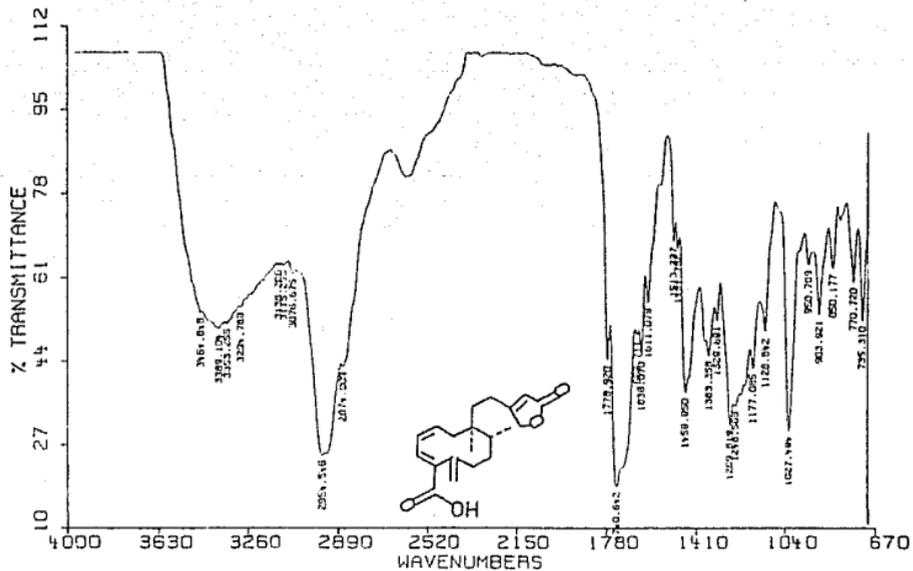
Espectro No. 3

I.R. 5,3'-Dihidroxi-6,7,4'-trimetoxi-flavona



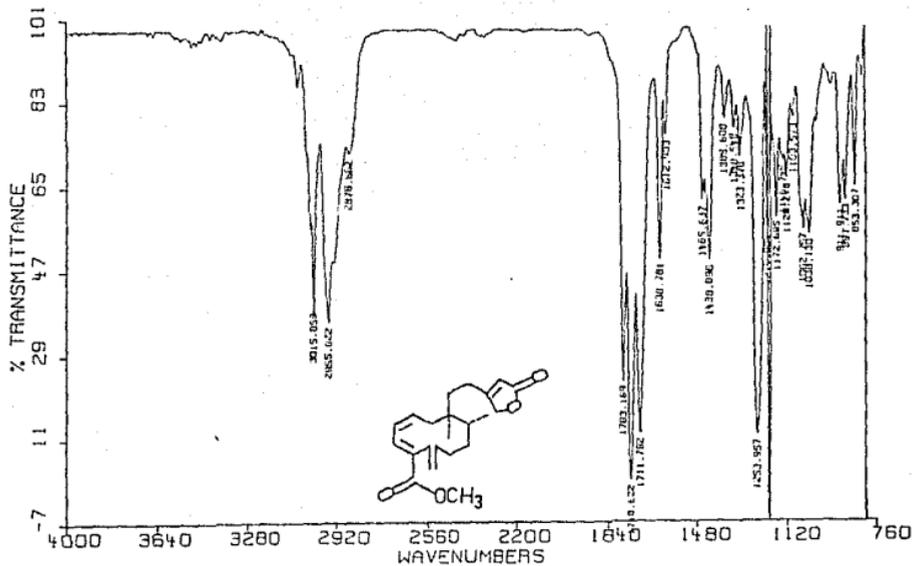
Espectro No. 4

R.M.N. de  $^1\text{H}$  5,3'-Dihydroxi-6,7,4'-trimetoxi-flavona



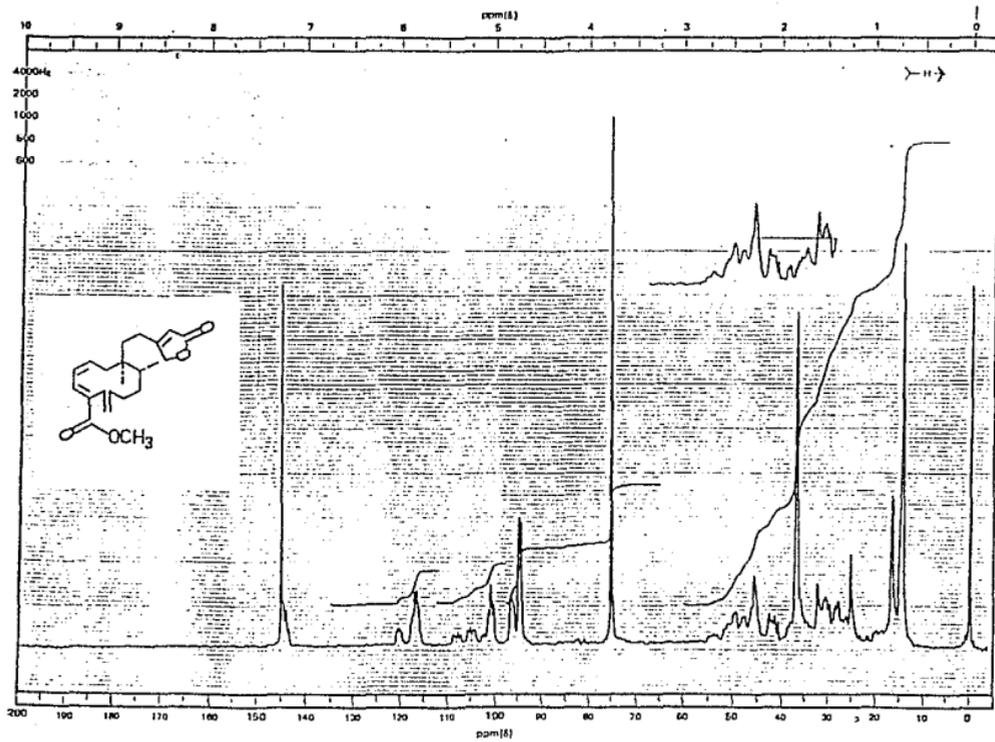
Espectro No. 5

I.R. Acido 5,10-Seco-clerodan-1,3,5(19),13-tetraen-15,16-Glida,18-oico



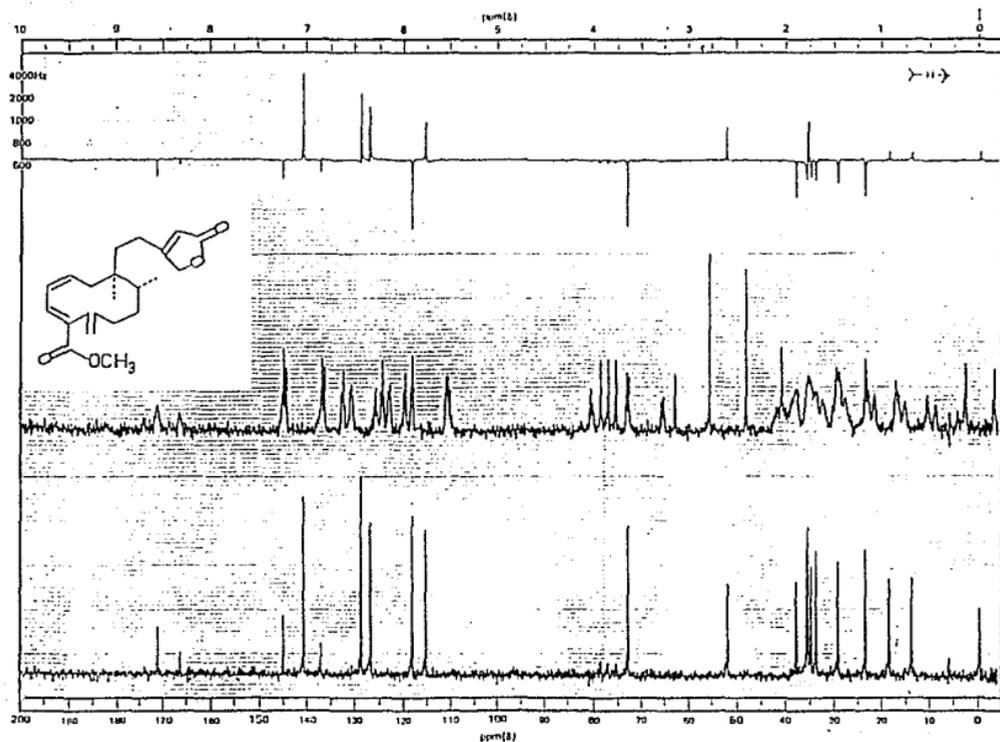
Espectro No. 6

I.R. Ester metilico del ácido 5,10-Seco-clotodan-1,3,5(19)-15,16-óxido,18-oico



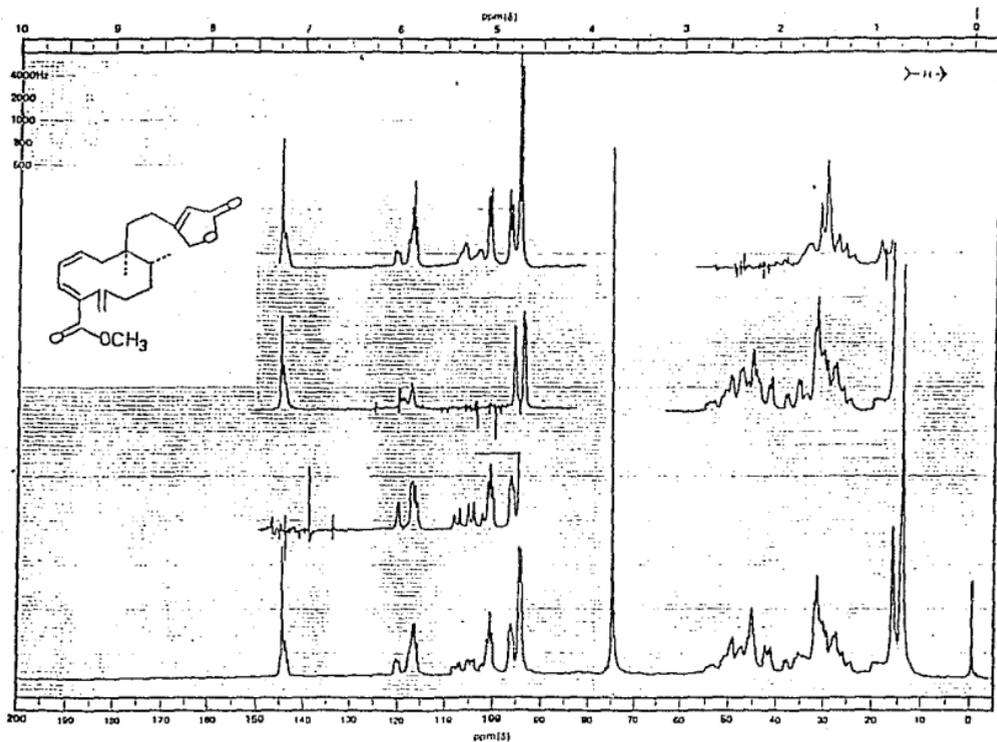
Espectro No. 7

R.M.N. de  $^1\text{H}$  Ester metílico del ácido 5,10-Seco-clerodan-1,3,5(19)-15,16-érido,18-oico



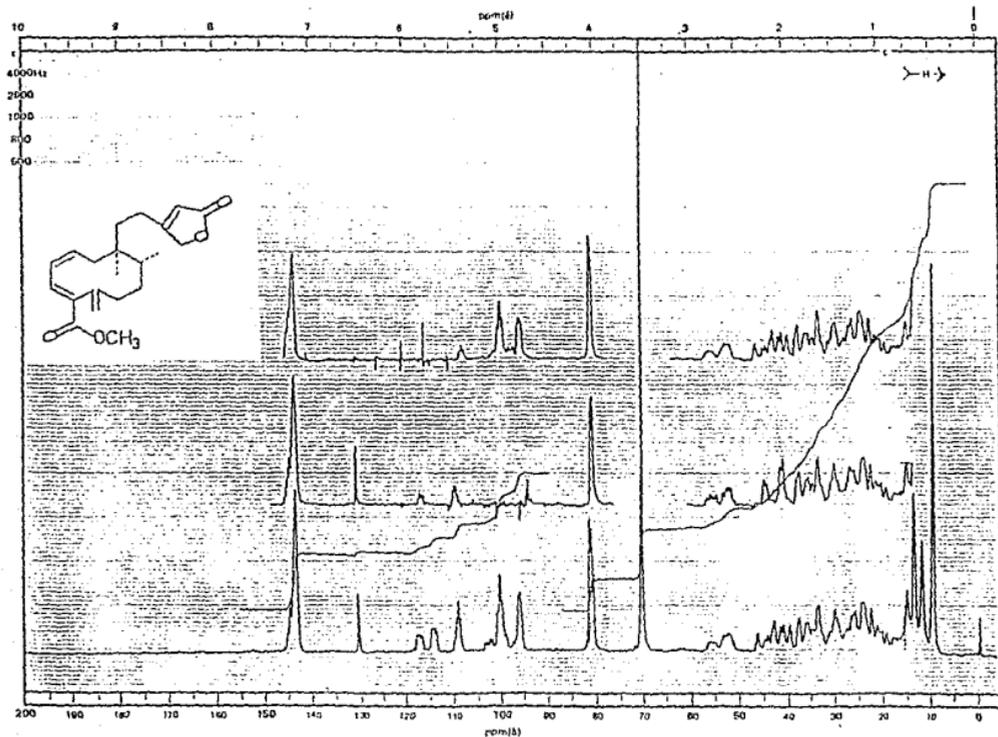
Espectro No. 8

R.M.N. de  $^{13}\text{C}$  Ester metílico del ácido 5,10-Seco-clerodan-1,3,5(19)-15,16-éxido,18-oico



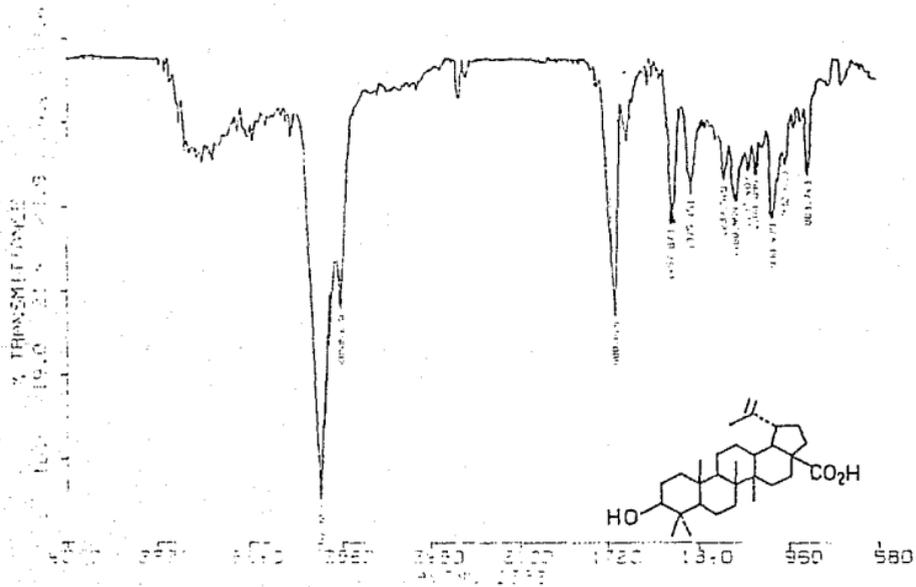
Espectro No. 9

R.M.N. de  $^1\text{H}$  Ester metílico del ácido 5,10-Seco-elaeodan-1,3,5(19)-15,16-ólido, 16-oico



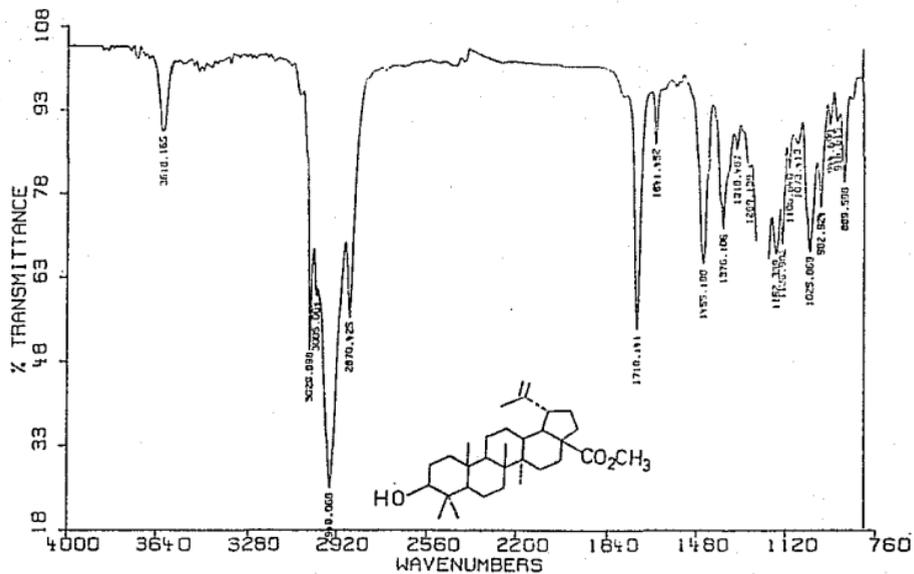
Espectro No. 10

R.M.N de  $^1\text{H}$  Ester metílico del ácido 5,10-Seco-clerodan-1,3,5(19)-15,16-dieno,18-oico



Espectro No. 11

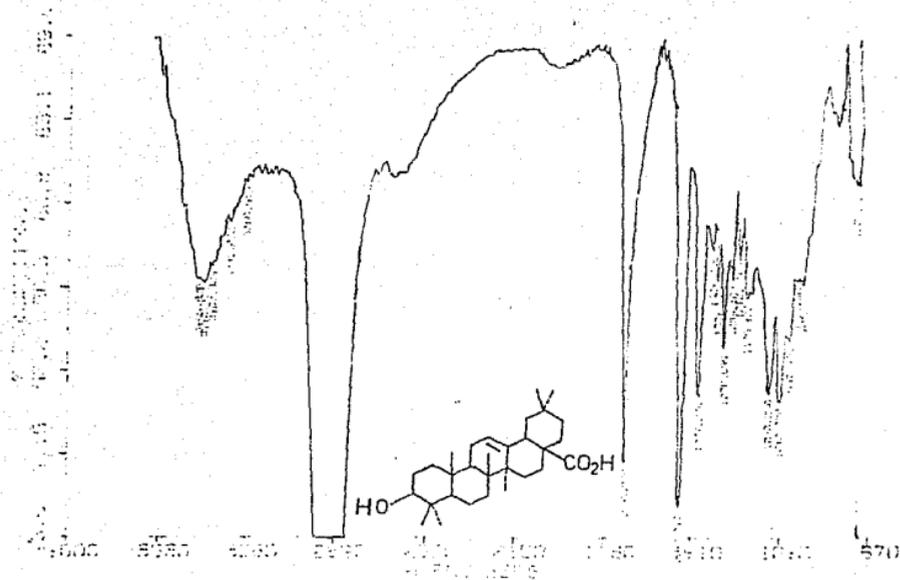
I.R. Acido Betulínico



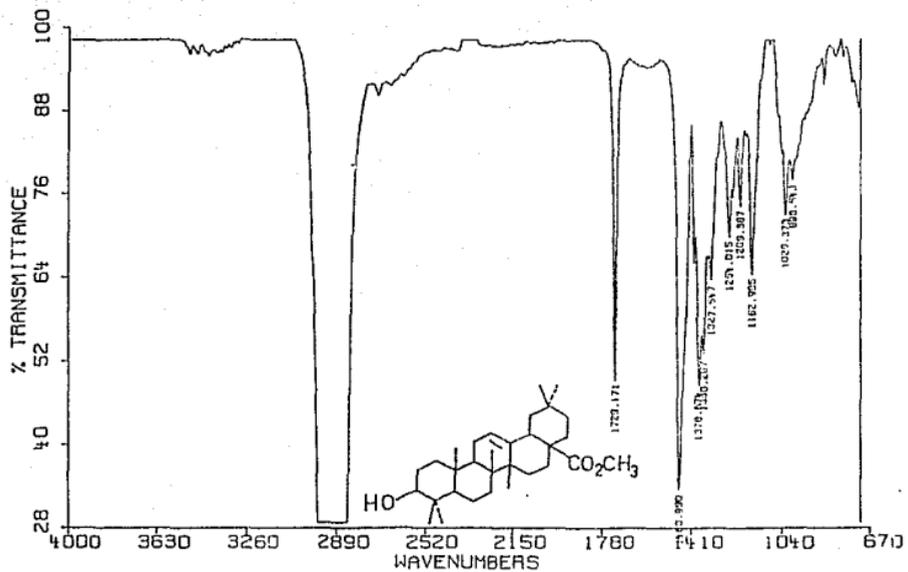
Espectro No. 12

I.R. Betulinato de Metilo



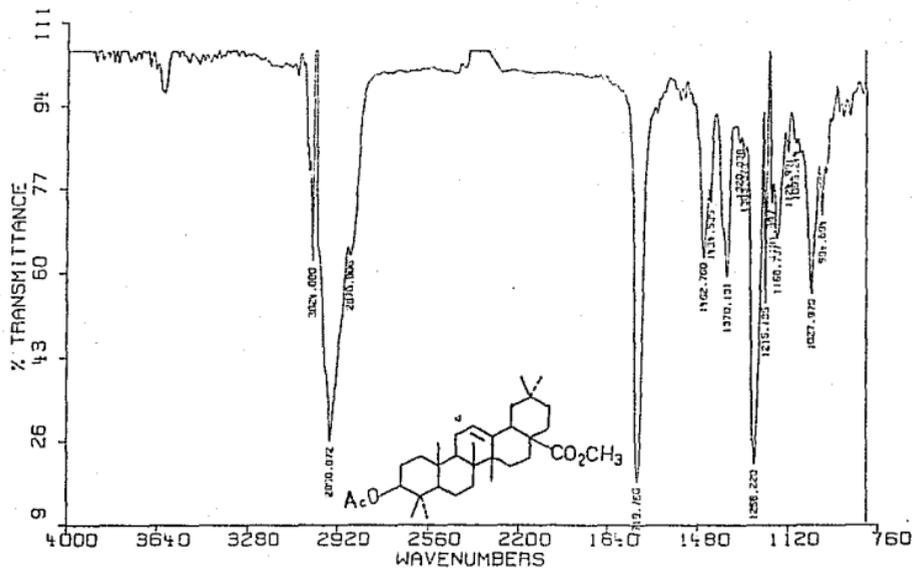


Espectro No. 14  
I.R. Acido Oleico



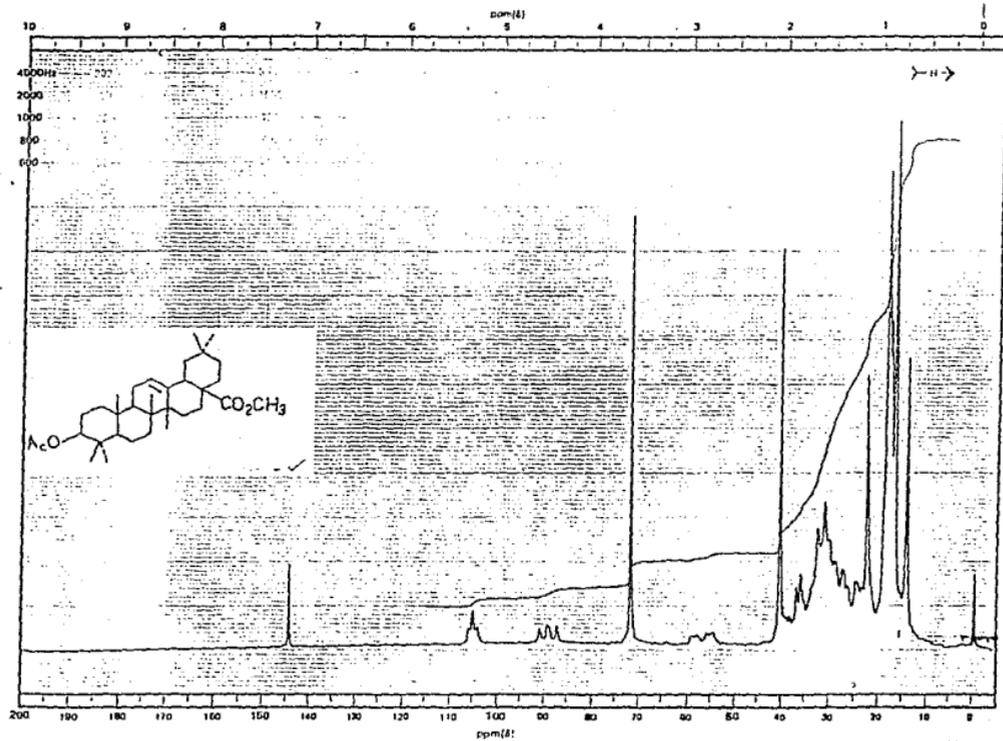
Espectro No. 15

I.R. Oleato de Metilo



Espectro No. 16

I.R. Acetato del Oleato de Metilo



Fábrica No. 17

R.M.N. de  $^1\text{H}$  Acetato del Oleato de Metilo