

2eje



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

CONTRIBUCION FITOQUIMICA DE *Salvia mexicana*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

LOURDES AGUILERA ARREOLA

Asesor: M. en C. René Miranda Ruvalcaba

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1994



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Contribución Fitoquímica de Salvia mexicana

que presenta la pasante: Lourdes Aguilera Arreola
con número de cuenta: 8958890-5 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 31 de Agosto de 1994

PRESIDENTE	<u>M. en C. René Miranda Ruvalcaba</u>
VOCAL	<u>M. en C. Enrique Angeles Anguiano</u>
SECRETARIO	<u>Q. Mario A. Morales Delgado</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>M. en C. José Luis Arias Téllez</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho</u>

A mis padres, por su apoyo y sacrificio.

A DIOS, por darme la portunidad de disfrutar las bondades de la vida.

A Miguel Angel Muñoz Arámbula, por su gran amor y paciencia.

A mí tía Ana , por su confianza y solidaridad.

A mis profesores, por su paciencia y empeño, muy en especial a:

M. en C. René Miranda Ruvalcaba, por sus enseñanzas y gran calidad humana.

M. en C. Enrique Angeles Anguiano, por su ejemplo y camaradería.

Bióloga M. Beatriz Vilchis Argueta, por su amistad.

A mis compañeros y amigos, por su tiempo y compañía, muy en especial a:

Martha E. Doniz R., por su cariño , buen humor y por ser la mejor amiga.

Alberto Ramírez M. , por su consejo y amistad.

Italo J. Menconi C., por ser un buen hombre y un gran amigo.

J. Francisco May M. , por su eterna amistad.

Olivia Morfin O., por haber reencontrado el camino de la amistad.

A la FES-C, C-1, UNAM, por haberme recibido con los brazos abiertos y brindarme la oportunidad de convertir mis sueños en realidad.

Y a todos aquellos que directa o indirectamente hicieron posible el llevar a feliz término la presente.

El hombre por naturaleza, desea saber.....

Aristóteles.

El presente trabajo de tesis fué realizado en el Laboratorio de Investigación de la Sección de Química Orgánica L-122, de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, bajo la dirección del M. en C. René Miranda Ruvalcaba.

I N D I C E

	pág
INTRODUCCION.....	1
GENERALIDADES.....	4
PARTE EXPERIMENTAL.....	26
DISCUSION.....	32
CONCLUSIONES.....	37
APENDICE.....	38
BIBLIOGRAFIA.....	48

INTRODUCCION

INTRODUCCION.

Una de las más viejas actividades humanas es el estudio de plantas y animales. Desde la antigüedad el hombre primitivo adquirió información sobre las propiedades medicinales de un gran número de plantas propias de su medio ambiente; conocimiento que fue transmitiendo al principio verbalmente y después de forma escrita, como en los papiros, tablas de barro cocido, pergaminos, tratados de plantas, primero escritos y finalmente impresos.

En la actualidad una de las metas del investigador en productos naturales es averiguar la estructura de las nuevas sustancias aisladas, esto ayuda a comprender la fisiología y bioquímica de los organismos que las producen y lograr su mejor aprovechamiento con fines científicos y económicos (útiles tanto en la medicina como la industria).

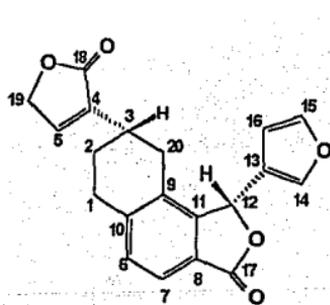
México posee una gran riqueza vegetal, dentro de la cual el género *Salvia* perteneciente a la familia *Labiatae* (*Lamiaceae*) es uno de los géneros más abundantes y diversificados de esta familia, que comprende

ca de 900 especies distribuidas en zonas tropicales y subtropicales¹, al respecto en nuestro país existen ca de 300 especies de *Salvias* que se encuentran en bosques de pinos, abetos y encinos, por encima de los 1000 m de altura.

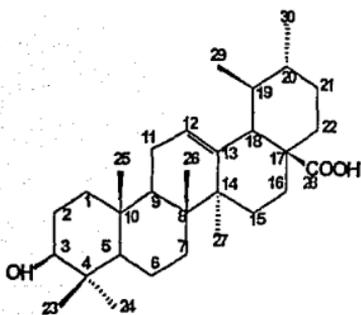
El estudio de los metabolitos secundarios del género *Salvia* ha despertado marcado interés ya que algunas especies se usan en la medicina tradicional en el tratamiento de enfermedades estomacales^{1,2}, circulatorias³ y cardíacas²⁻⁷ o por sus propiedades antitumorales^{1,6}, sedantes^{6,8-10}, antibacterianas^{1,5,9-11}, antipiréticas², diuréticas^{5,12} y antihepatotóxicas¹³, entre otras, a diferencia de éstas se ha atribuido toxicidad al aceite esencial de otras especies de *Salvia* (efectos abortivos en roedores, crisis epileptiformes y tetaniformes, trastornos psíquicos y sensoriales en humanos).^{14,15}

En este trabajo de tesis se presentan los resultados de una contribución al estudio de *S. mexicana*, también conocida como Tacote (Sinaloa) o Tapachichi (Morelos)¹⁶. De la parte aérea y subterránea se obtuvieron dos terpenoides, los cuales no fueron aislados en estudios

previos^{8,17}, estos son la Tilifodiólida (I)¹⁸ y el Ac. Ursólico (II)¹⁹ ; tales metabolitos fueron identificados por correlación de algunos de sus datos físicos y espectroscópicos con los previamente reportados en la literatura (*vide supra*).



I



II

GENERALIDADES

GENERALIDADES.

Los productos naturales de origen vegetal son recursos de múltiple uso para el hombre. Le proporcionan alimento para la subsistencia, fibras textiles para vestirse y material para construir casas; deleitan por su aroma y colorido; curan o intoxican, según sus propiedades; y regeneran el aire que respiramos.

El metabolismo de las plantas se realiza gracias a la presencia de especies químicas esenciales como los azúcares, aminoácidos, ácidos grasos y biopolímeros (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos), los que son conocidos como **metabolitos primarios**.²⁰

Del mismo modo, estas plantas presentan metabolitos secundarios o **productos naturales**²⁰ que son definidos como compuestos característicos de una o varias especies relacionadas, algunos de estos productos no tienen un papel biológico para la planta, sin embargo, algunos presentan actividad hormonal, otros proporcionan mecanismos de defensa contra el medio ambiente.²¹

Como se muestra en el **Esquema 1**, la biosíntesis de estos metabolitos secundarios depende de los ciclos metabólicos fundamentales de los tejidos vegetales, en los cuales los metabolitos primarios son los precursores obligados de los restantes metabolitos.²²

Lo anterior nos revela que el mundo de las plantas es abundante en compuestos orgánicos, los cuales cuentan con una amplia y diversificada gama de estructuras químicas, siendo una clara necesidad el clasificarlos, según Nakanishi existen cuatro formas de hacerlo:²³

- I. En base a su estructura química.
- II. A su actividad fisiológica.
- III. En su taxonomía.
- IV. Su ruta de biogénesis.

I. Clasificación basada en su estructura química.

Esta se basa principalmente en el esqueleto que presenta la molécula:

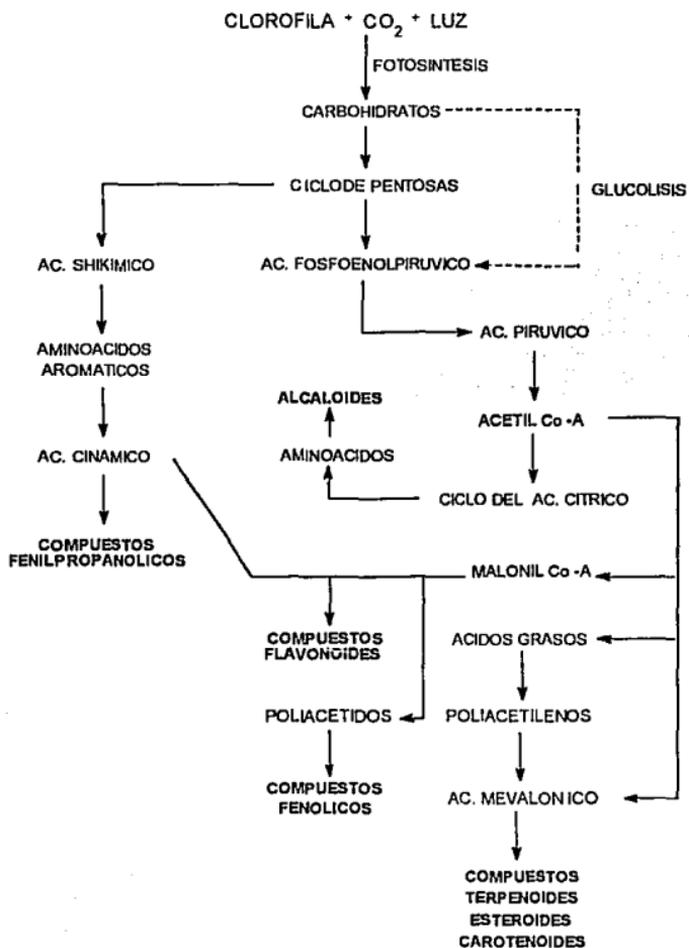
1. Compuestos de cadena alifática abierta (ácidos grasos, azúcares y aminoácidos).
2. Compuestos homocíclicos (terpenoides, esteroides y algunos alcaloides).
3. Compuestos aromáticos (quinonas o fenoles).
4. Compuestos heterocíclicos (alcaloides, flavonoides y bases de los ácidos nucleicos).²³

II. Clasificación basada en su actividad fisiológica.

El interés por los productos naturales fue adquirida por las propiedades curativas de algunos de ellos, los que se fueron clasificando de acuerdo a la actividad fisiológica que presentan. Dentro de esta clasificación se encuentran:²³

1. Hormonas
2. Vitaminas.
3. Antibióticos.
4. Micotóxicas.

Esquema 1 : Biosíntesis de los Metabolitos Secundarios.



III. Clasificación basada en su taxonomía.

Esta clasificación se basa en los estudios comparativos de la morfología o taxonomía de la planta y surge de la idea de que algunos metabolitos son exclusivos de algunas especies, es decir no están ampliamente distribuidos en todo el reino vegetal.

Además, el número de constituyentes de la infinidad de plantas es tan ilimitado, que éstas no están completamente analizadas, con esto, se hace más difícil la clasificación quimiotaxonómica, pues esta usa los caracteres químicos, en particular los llamados metabolitos secundarios (alcaloides, terpenoides, flavonoides, etc.) de un conjunto de organismos para determinar su posición en una clasificación jerarquizada evolutivamente.²⁴

IV. Clasificación basada en la biogénesis.

Las rutas metabólicas básicas representadas en el **Esquema 1** (*vide supra*), constituyen los orígenes del metabolismo secundario de las plantas, dando lugar a una vasta serie de compuestos.

Aunque diversos grupos biogénéticos están caracterizados por

determinadas estructuras y rutas metabólicas, las propiedades químicas propiamente dichas de ciertos compuestos se determinan por la adquisición de grupos funcionales.

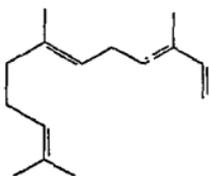
Un determinado grupo de compuestos pueden también reunir entidades biogénicas diferentes; así, los complejos alcaloides indólicos contienen fracciones moleculares derivadas tanto de la ruta de shikimato como de la isoprenoide. Por el contrario, la misma estructura como ocurre en diferentes compuestos, puede proceder de rutas distintas.²⁴

A título de ejemplo, los orígenes biosintéticos de los terpenos, que son metabolitos secundarios de interés se trataran con cierto detalle a continuación.

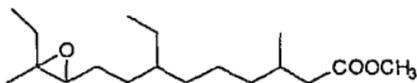
Compuestos terpenoides.

Los terpenoides, comúnmente conocidos como terpenos constituyen un amplio conjunto de metabolitos secundarios de los vegetales²⁵; la inmensa mayoría de estos es específica del reino vegetal encontrándose almacenados en cantidades relativamente grandes en ciertas plantas, por lo

cual son de interés taxonómico²⁶. Por otro lado no es rara la presencia de sesquiterpenos y diterpenos de estructura variada en diversos animales,²⁷ como los furofamesenos que han sido detectados en esponjas marinas y hormigas, tal es el caso del β -Fameseno (III) aislado de *Populus balsamifera*, una esponja marina, así mismo feromonas terpénicas obtenidas de insectos, como la hormona juvenil*(IV).²⁸



III



IV

En la naturaleza existe un enorme número de terpenoides, algunos de los cuales vienen suscitando creciente interés en cuanto a su actividad como agentes medicinales,¹⁵ mientras que otros son de importancia como materiales en la perfumería, farmacia, así como, saborizantes;³⁰ algunos terpenos se encuentran en presencia de otras sustancias como glicósidos, ésteres de ácidos orgánicos y en otros casos con algunas proteínas.³¹

* Esta feromona previene la metamorfosis de larva en adulto.

Los miembros más sencillos de ésta clase de entidades químicas (C_{10} y C_{15}), suelen ser obtenidos de plantas frescas y secas por arrastre de vapor, mientras que los integrantes con más de 20 carbonos generalmente son aislados por extracción con disolventes, éstos a su vez son separados y purificados por cristalización, destilación y/o métodos cromatográficos.

Los terpenoides, estrictamente hablando, son hidrocarburos cíclicos y acíclicos cuyas formas moleculares son múltiplos de C_5H_8 ; esta definición incluye alcoholes, aldehídos, cetonas y otros derivados, que posean el mismo grupo biosintético fundamental. Esto sugiere que se forman por el acoplamiento de un número entero de unidades pentacarbonadas ramificadas, derivadas del 2-metil-1,3-butadieno o isopreno (Figura 1).²⁵

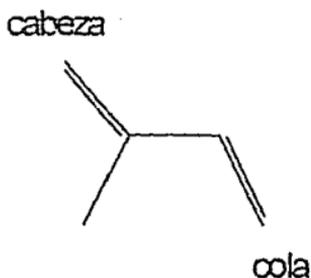


Figura 1

El propio isopreno no interviene en la biosíntesis, y esta <<regla isoprénica>> es por lo tanto teórica; sin embargo, tiene la ventaja de mostrar perfectamente la unidad biosintética de la mayoría de los integrantes de este grupo, y de dar cuenta de la existencia de una clasificación basada en el número de unidades que intervienen, la cual se muestra en la **Tabla 1.1**

La regla del isopreno, explica la condensación de unidades isoprenoides, para justificar no solo la formulación del caucho y de los monoterpenos, sino también de muchos otros metabolitos, como los triterpenos más complejos, un caso específico es el de los hemiterpenos, cuya estructura no existe en la naturaleza, pero es frecuente encontrar la unidad isoprénica en diversos compuestos como los alcaloides, cumarinas y flavonoides³², entre otros.

Los terpenoides pueden ser clasificados además como: acíclicos (cadena abierta), monocíclicos (de un anillo), bicíclico (de dos anillos), tricíclicos (de tres anillos), etc.

Tabla 1. Clasificación de los terpenoides.

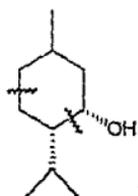
GRUPO	N. C.	U. I.	F. C.
Hemiterpenos	5	1	C ₅ H ₈
Monoterpenos	10	2	C ₁₀ H ₁₆
Sesquiterpenos	15	3	C ₁₅ H ₂₄
Diterpenos	20	4	C ₂₀ H ₃₂
Sesterpenos	25	5	C ₂₅ H ₄₀
Triterpenos	30	6	C ₃₀ H ₄₈
Tetraterpenos	40	8	C ₄₀ H ₆₄
Politerpenos	(5)n	n>8	(C ₅ H ₈)n

N.C.: Número de átomos de carbono.

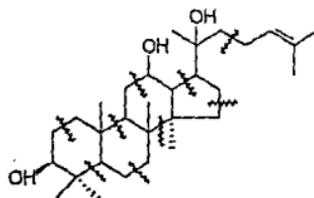
J. I. : Número de unidades isoprénicas.

F.C.: Fórmula condensada.

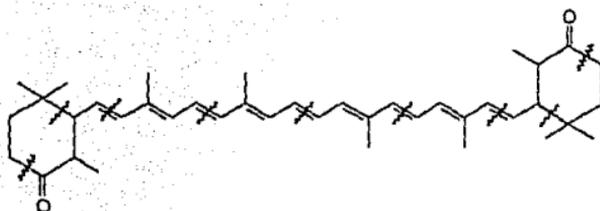
A continuación, en la **Figura 2** se ejemplifica la regla del isopreno propuesta por Rusicka³³, que establece que el esqueleto de carbono de los terpenoides está compuesta de unidades isoprénicas unidas en un arreglo regular e irregular, es decir, suelen formarse uniones: cabeza-cola o cola-cabeza; existiendo anomalías en la regla como las uniones cola-cola o cabeza-cabeza.



neomentol



20-S-protopanaxatriol



cantaxantina

Figura 2

Generalidades sobre la biosíntesis.^{15,34}

La existencia de los terpenos está condicionada por tres reacciones secuenciales básicas:

a). Formación del <<isopreno activo>> a partir del acetato vía ácido mevalónico.

b). Acoplamiento <<cabeza-cola>> de unidades de C₅, que justifica la existencia de mono-, sesqui-, di-, sester- y politerpenos.

c). Acoplamiento <<cola-cola>> de las unidades de C₁₅ o C₂₀, que justifica la existencia de triterpenos, esteroides y carotenos.

a). Origen del <<isopreno activo>>.

Inicialmente, el marcado isotópico permitió demostrar que el esqueleto carbonado de los terpenoides provenía del acetato; posteriormente se demostró que el ácido mevalónico es el precursor universal de los terpenos.

Como se muestra en la **Figura 3**, la etapa inicial implica a tioésteres del ácido acético: condensación aldólica de la acetilcoenzima A sobre la acetoacetilCoA. El compuesto formado: 3(S)-3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A, a continuación se reduce irreversiblemente (ADNPH)

formando el ácido 3(R)-mevalónico (AMV).

La conversión del AMV en isopentenilpirofosfato (IPP), comienza por una fosforilación seguida de una descarboxilación asistida (E₂) por pérdida del grupo fosfato.

El IPP se isomeriza reversiblemente en un compuesto altamente reactivo, el dimetilalilpirofosfato (DMAPP) susceptible de efectuar diversas alquilaciones.

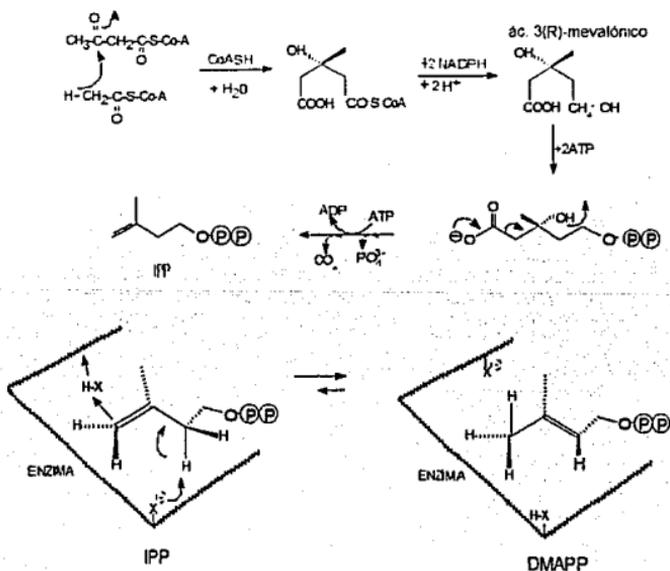


Figura 3

b). Condensación de dos unidades de C₅: prenilación del IPP.

Según los estudios realizados sobre modelos de síntesis, es muy probable que exista ionización del pirofosfato de alilo sincronizado con la alquilación del IPP y la salida del protón, así se explica la formación de una unidad de C₁₀, el geranyl pirofosfato (GPP), tal como se muestra en la

Figura 4.

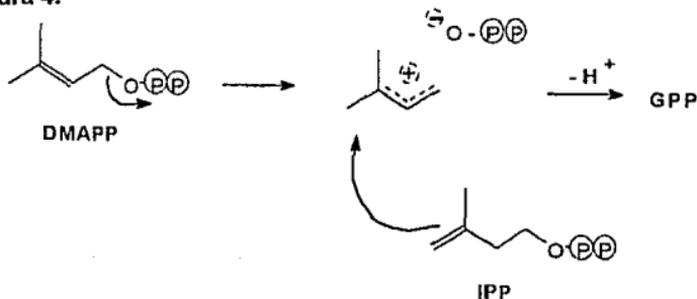


Figura 4

Si la reacción de prenilación continua: la alquilación del GPP por DMAPP, da lugar al farnesil pirofosfato (FPP), el cual a su vez es alquilado por un DMAPP originando geranylgeranilpirofosfato (GGPP), y así sucesivamente.

c). Acoplamiento <<cola-cola>> de unidades de C₁₅ (FPP) o C₂₀ (GGPP).

La elucidación del mecanismo de acoplamiento <<cola-cola>> se ha logrado gracias a el aislamiento de otro intermediario: el pirofosfato de prescualeno, de estructura ciclopropénica. El enlace π C2-C3 de un FPP se alquila con otra molécula de FPP, posteriormente la eliminación estereoespecífica de un protón, permite la formación del anillo ciclopropánico. Si el medio es deficiente en ADNPH, el pirofosfato de prescualeno se acumula, pero en caso contrario, se reordena en escualeno vía un carbocatión ciclobutánico, tal como se muestra en la Figura 5.

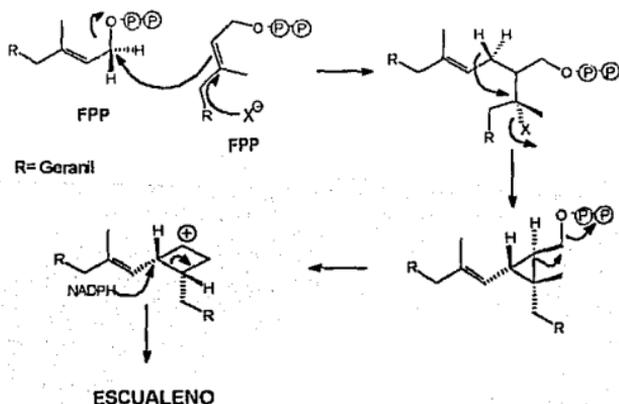
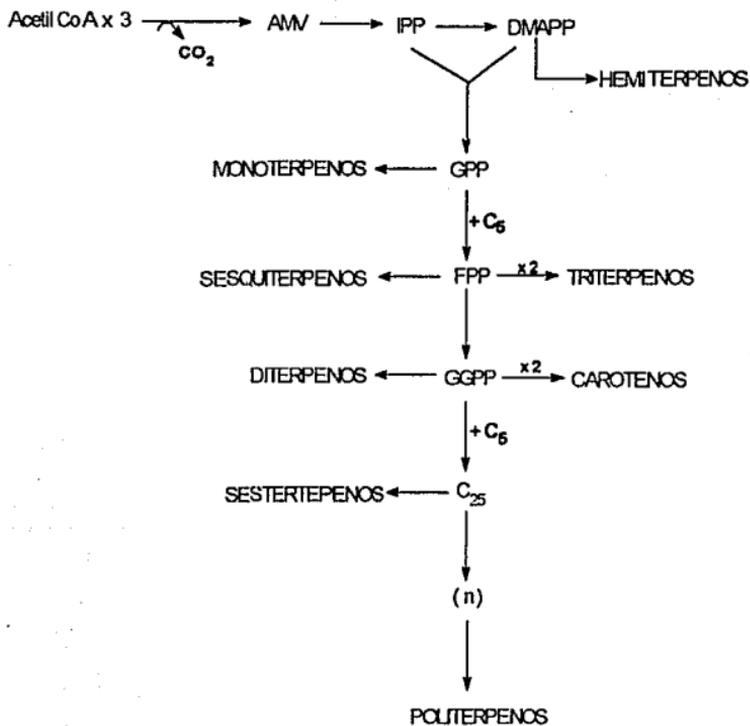


Figura 5

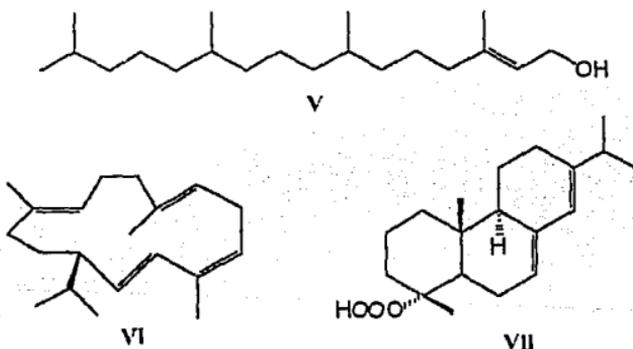
Al respecto en el Esquema 2, se resume la filiación del conjunto de los terpenoides.¹⁵



Esquema 2

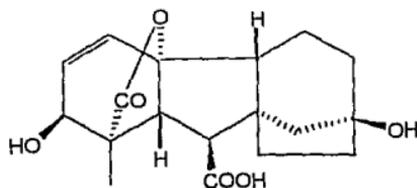
Diterpenos.

Los diterpenos forman un conjunto de compuestos de C_{20} , procedentes del metabolismo del geranylgeranolpirofosfato (GGPP). Pueden ser lineales, como el fitol (V), macrocíclicos como los cembranos (VI) o policíclicos como el ácido abiético (VII).^{15,28}



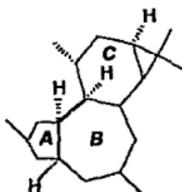
Son constituyentes frecuentes de las resinas, éstos se encuentran frecuentemente en las *Labiadas*. Algunas drogas deben toda o parte de su actividad a los constituyentes diterpénicos; ello explica que estas drogas sean la base de formas galénicas que se encuentran en ciertas

especialidades farmacéuticas. Principalmente son antitusivas, antiespasmódicas, ansiolíticas y algunas sedantes del SNC; otros como las giberilinas tienen un lugar fundamental en la biología vegetal, pues poseen un marcado efecto sobre la germinación (Ac. giberélico, VIII).^{24,28,36}

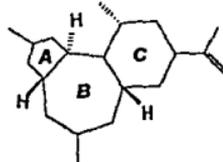


VIII

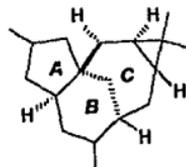
Muchos otros confieren propiedades tóxicas, irritantes y cancerígenas, tal es el caso de diterpenos relacionados con los esqueletos del tigliano (IX), dafnano (X) o del ingenano (XI).²⁴



IX

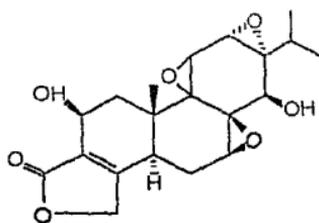


X

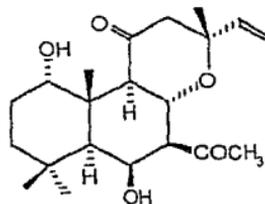


XI

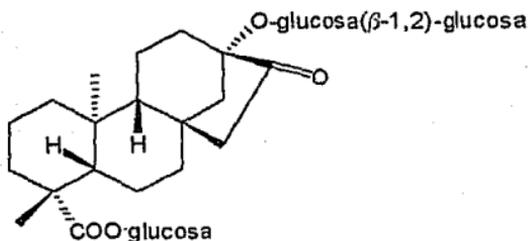
Algunos diterpenos pueden tener importancia en el futuro, pudiendo ser utilizados como: citostáticos (tripdiólido, XI), antihipertensores (forskolina, XII) o edulcorantes (estebiósido, XIII).^{15,36}



XI



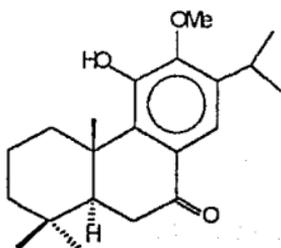
XII



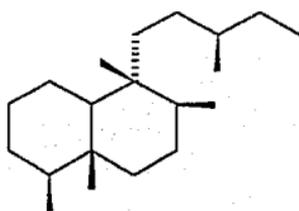
XIII

En el género *Salvia*, la presencia de diterpenos con esqueleto de abietano, especialmente en la raíz, se ha considerado como una característica quimiotaxonómica.¹

Así el cryptojaponol (XIV), producto natural con esqueleto de abietano y anillo C aromático, ha sido aislado de especies europeas y asiáticas. Por otro lado, se cree que cerca del 80% de los diterpenos aislados de las especies de Salvias mexicanas, están relacionados con los diterpenos cleródánicos (Clerodano, XV).^{1,37-40}



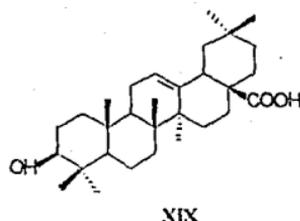
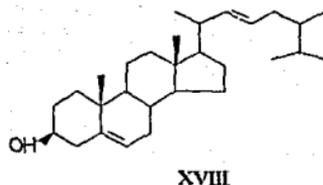
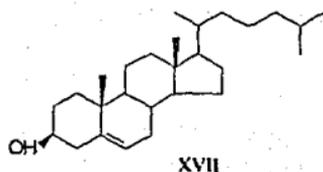
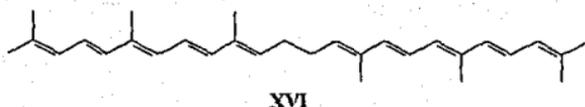
XIV



XV

Triterpenos.

Estos compuestos de C₃₀, procedentes de la ciclación del escualeno, son abundantes en la naturaleza, especialmente en las resinas y pueden encontrarse como ésteres o como heterósidos, poseen una estructura alifática, como el escualeno (XVI), tetracíclica, como el sitosterol (XVII) y el estigmasterol (XVIII) o pentacíclica como el Ac. oleanólico (XIX) y el Ac. ursólico (II).¹⁵



Casi siempre hidroxilados en 3, presentan al contrario de los demás terpenoides una unidad estructural bastante fuerte en donde se observa que no existe una diferencia fundamental entre los triterpenos y los esteroides, considerándose estos últimos, triterpenos pentacíclicos que han perdido como mínimo, tres metilos. Aún en este caso, la unidad estructural es fuerte: compuestos tan diferentes en sus propiedades como los esteroides, saponósidos, glucósidos cardiotónicos o alcaloides esteroidicos, tienen todos él mismo esqueleto básico.

El interés terapéutico e industrial de los triterpenos y de los esteroides es grande ya que entre otros compuestos: las sapogeninas, el sitosterol y el estigmasterol, son materias primas difícilmente reemplazables para cubrir las necesidades de la industria farmacéutica en lo que a hormonas esteroídicas se refiere (anticonceptivos, antiinflamatorios, anabolizantes).¹⁵

Es muy común encontrar triterpenos pentacíclicos en diversos géneros y familias, entre ellos, en el género *Salvia*. Tal es el caso del ácido oleanólico, el ácido ursólico y el β -sitosterol, entre otros.⁴¹⁻⁴⁸

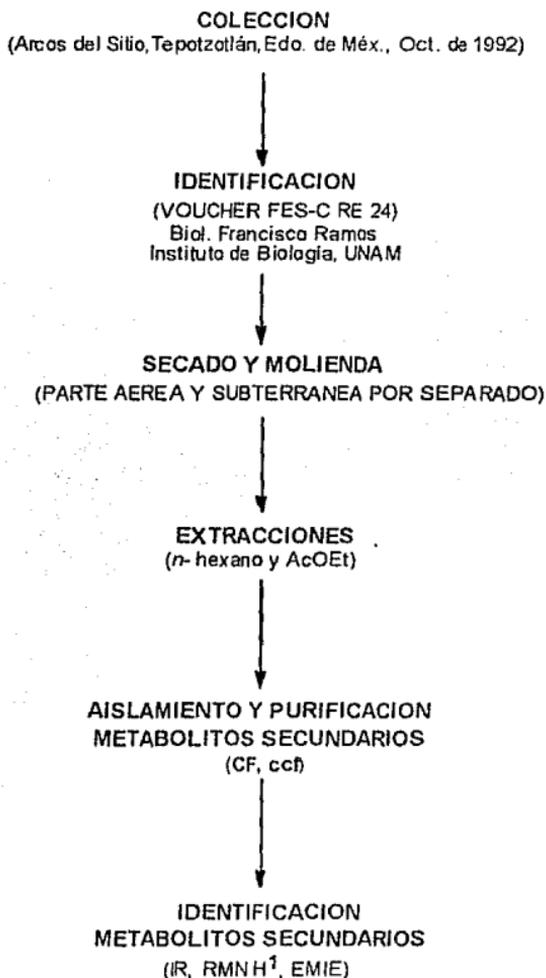
**PARTE
EXPERIMENTAL**

PARTE EXPERIMENTAL

El punto de fusión se determinó en un aparato Fisher-Jones y no está corregido. La espectrofotometría de absorción en el infrarrojo (IR) se obtuvo en un espectrofotómetro Perkin Elmer modelo 283 utilizando la técnica de pastilla (KBr). Los espectros de masas fueron determinados en un espectrómetro Hewlett Pakard 5985 B, mediante la técnica de impacto electrónico a 70 eV y 250 °C en la cámara de ionización. Los espectros de resonancia magnética nuclear fueron generados en un espectrofotómetro Varian FT-200; los desplazamientos químicos (δ) están dados en ppm, y referidos al tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Para indicar los patrones de acoplamiento se usan las siguientes abreviaturas: s= señal simple, d= señal doble, t= señal triple, dd= señal doble de doble, m= señal múltiple, mc= señal múltiple compleja, s/sp= señal sobrepuesta con; y las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hertz(Hz). La separación de los metabolitos secundarios fue realizada por cromatografía en columna técnica flash (CF) empleando como soporte gel de sílice tamaño de partícula 60 μm , la purificación de los mismos fue detectada por cromatografía en capa fina (ccf) el sistema eluyente fue *n*-hexano/AcOEt

en diferentes gradientes de polaridad; el revelador aplicado fue una disolución de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ 1% en H_2SO_4 . En términos generales, en el **Esquema 3** se muestra la metodología seguida durante el desarrollo del presente trabajo.

Esquema 3 : Cuadro Metodológico.



Material Vegetal: El espécimen *Salvia mexicana*, fue recolectado en el mes de Octubre de 1992 en Arcos del Sitio, Tepetzotlán, Edo. de México, un ejemplar Voucher (FES-C RE 24) fue depositado en el Herbario Nacional del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, éste fue identificado por el Biólogo Francisco Ramos.

Extracción, Separación e Identificación.

Tanto la parte aérea (338 g) como la subterránea (126.59 g) de *S. mexicana* fueron secadas a temperatura ambiente y molidas por separado. Ambas partes de la planta fueron extraídas sucesiva y separadamente con *n*-hexano y AcOEt. Los extractos obtenidos se concentraron a presión reducida y se soportaron en celita previamente a su separación por cromatografía, los sistemas de elución fueron escogidos en pruebas preliminares por *ccf*. Así, en cada separación cromatográfica, fueron reunidas las fracciones que presentaron el mismo *R_f* .

Del extracto *n*-hexánico de la parte aérea, se obtuvieron 2.3 g de concentrado, los cuales se eluyeron sobre gel de sílice (*CF*); 1.65 g del concentrado anterior fueron eluidos con una mezcla de *n*-hexano/AcOEt

(1:1), obteniéndose 10 mg de Tilifodiólida(I). Aceite amarillo; RMN H^1 δ ppm, mc 3.05 (2H, C-1), mc 2.15, 1.8 (2H, C-2), mc 2.80 (2H, C-3), d/d 7.00 (1H, C-5), d 7.30 (1H, C-6), d 7.70 (1H, C-7), s 6.30 (1H, C-12), d/d 7.52 (1H, C-14), dd 7.37 (1H, C-15), d/d 6.09 (1H, C-16), dd/dd 4.75 (2H, C-19), m 2.9,2.2 (2H, C-20); EMIE m/z (% a.r.): 44 (100.0) CO_2 , 55 (54.5) $[C_3H_3O]^+$, 67 (12) $[C_4H_3O]^+$, 94 (4) $[C_6H_6O]^+$, 95 (8) $[C_5H_3O_2]^+$, 96 (9) $[C_5H_4O_2]^+$, 241 (1) $[M-95]^+$, 267 (1) $[M-69]^+$, 268 (1) $[M-68]^+$, 281 (0.8) $[M-55]^+$, 297 (0.7) $[M-39]^+$. Ver los Espectros I y II respectivamente.

Los 1.65 g de concentrado restantes fueron eluidos con mezcla de *n*-hexano/AcOEt (9:1), obteniéndose 100 mg de Ac. ursólico (II), sólido amarillo amorfo, pf. 210-212 °C, IR ν cm^{-1} (KBr), 3440 (OH), 2920 (CH₃), 2860 (CH₂), 1690 (C=O), 1465 (CH₂), 1380 (*gem* CH₃), 1000 (C-O); RMN H^1 δ ppm, s 0.76 (3H, C-26), s 0.78 (3H, C-24), s 0.92 (3H, C-30), s 0.93 (3H, C-23), s 0.97 (3H, C-25), s 1.14 (3H, C-27), s 1.25 (3H, C-29), dd 3.15 (1H, CH-OH), m 5.25 (1H, H-C=); EMIE m/z (% a.r.): 203 (80) $[C_{15}H_{23}]^+$, 207 (27) $[C_{14}H_{23}O]^+$, 208 (2.0) $[C_{14}H_{24}O]^+$, 219 (15.0) $[C_{15}H_{23}O]^+$, 235 (5.0) $[C_{15}H_{23}O_2]^+$, 248 (100) $[C_{16}H_{24}O_2]^+$, 249 (10.0) $[C_{16}H_{25}O_2]^+$, 410

(10) [M-46]⁺, 411 (8) [M-45]⁺, 454 (1.1) [M-2]⁺, 456 (1.2) M⁺. Sus Espectros de RMN H¹, IR y EMIE, son respectivamente III, IV y V. Es conveniente mencionar que II fue aislado también al trabajar el extracto AcOEt de la raíz de *Salvia mexicana* (30 mg).

DISCUSION

DISCUSION.

Es conveniente mencionar que la planta *Salvia mexicana* ha sido estudiada previamente^{8,17}. Dichos estudios reportan el aislamiento de Salviólida, β -Sitosterol, así como, algunos Monoterpenos y Sesquiterpenos. A su vez el presente trabajo de tesis realiza una contribución fitoquímica al estudio de esta planta al obtener los productos naturales (I) y (II), que aunque ya reportados para otras especies y géneros, no habían sido anteriormente aislados de *S. mexicana*. La caracterización de los compuestos aislados fue realizada por correlación de los datos físicos y espectroscópicos obtenidos para ellos con respecto a los reportados en la literatura química.

De la mitad del extracto *n*-hexánico de la parte aérea de *Salvia mexicana* sometido a CF (SiO₂ *n*-hexano/AcOEt; 1:1), se obtuvieron 10 mg de un aceite amarillo, el cual se identificó como Tilifodiólida (I), un producto natural ya conocido¹⁸. La **Tabla II**, resume la correlación de datos espectroscópicos de RMN H¹ de la tilifodiólida con los reportados (*vide supra*). El espectro de RMN H¹ determinado a 200 MHz presentó: en 3.05 y

2.80 ppm señales múltiples complejas que integran para dos protones cada una, asignadas a los hidrógenos de C-1 y C-3 respectivamente, en 1.80 y 2.15 ppm se observan señales múltiples que integran para dos protones particularmente** Ha y He unidos a C-2, a su vez se detecta en 7.00 ppm una señal doble sobrepuesta con una señal triple la que integra para un protón particularmente el de C-5.

Posteriormente se distinguen en 7.30 y 7.70 ppm dos señales dobles ambas con un valor de constante de acoplamiento de 8 Hz, cada una integra para un protón siendo estas asignadas a C-6 y C-7 respectivamente, dado este patrón de acoplamiento (sistema AB) y su respectivo desplazamiento químico se sugiere un anillo aromático tetrasustituido, además la presencia de una señal simple en 6.30 ppm que integra para un protón indica sustitución de hidrógeno en C-12, por otro lado hay en 7.52 ppm ($J=1$ Hz) y 6.09 ppm ($J=2$ Hz) una señal doble sobrepuesta con otra señal doble, estas integran para un protón cada una siendo asignadas a las sustituciones de hidrógeno en C-14 y C-16 respectivamente, centrada en 7.37 ppm ($J=2$ Hz) se contempla una señal doble de doble que integra

* a= axial e= ecuatorial.

para un protón particularmente el de C-15, estas tres últimas señales son características de una γ -lactona α,β insaturada, acto seguido se presenta en 4.75 ppm ($J=1\text{Hz}$) una señal doble de doble sobrepuesta con otro patrón de acoplamiento análogo esta integra para dos protones y es asignada para los hidrógenos α y β de C-19, finalmente en el espectro se tiene entre 2.09 y 2.2 ppm una señal múltiple con integración de dos protones asignable para la sustitución en C-20. A su vez, el espectro de masas de (I) obtenido por impacto electrónico empleando aproximadamente 70 eV para el filamento, manifiesta un fragmento de m/z 44(100) correspondiente a CO_2 , por otro lado y de acuerdo a la literatura⁴⁹ hay un ión de m/z 95(8) asignado a un fragmento $[\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_2]^+$ que nos confirma la presencia de un anillo de furano en C-12 (*vide supra*), asimismo se manifiestan los picos m/z 55, m/z 67, m/z 94 y m/z 96 asignados a $[\text{C}_4\text{H}_3\text{O}]^+$, $[\text{C}_6\text{H}_6\text{O}]^+$, $[\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2]^+$ respectivamente, además se observan los fragmentos de m/z 241, m/z 267, m/z 268, m/z 281 y m/z 297 congruentes para las pérdidas M^+-95 , M^+-69 , M^+-68 , M^+-55 y M^+-39 de manera correspondiente (Ver patrón de fragmentación para I en el Esquema 4 y Espectro II).

Del resto del Extracto *n*-hexánico de la parte aérea de *Salvia mexicana* sometido a CF (SiO₂ *n*-hexano/AcOEt; 9:1) se aislaron 100 mg de un sólido amarillo amorfo, el cual se identificó como Acido ursólico (II), metabolito secundario ampliamente conocido^{2,19}. La correlación de los datos de IR (**Espectro III**) con los reportados en la literatura es perfecta (*vide supra*). En el espectro de IR (KBr) se observa una banda de absorción a 3440 cm⁻¹ que indica la presencia de un grupo OH, asimismo se presenta la banda característica de un grupo carbonilo a 1690 cm⁻¹, también se presentan bandas debidas a grupo metilo y metileno en 2420 cm⁻¹ y 2860 cm⁻¹ respectivamente, por último hay una banda a 1380 cm⁻¹ la que denota la presencia de *gem* metilos. Por otro lado el Espectro de RMN¹ efectuado a 200 MHz (**Espectro IV**) presentó: en 0.78, 0.80, 0.91, 0.94, 0.99, 1.15 y 1.27 ppm señales de metilo que integran para tres protones cada una y que corresponden a C-26, C-24, C-30, C-23, C-25, C-27 y C-29 respectivamente, asimismo se presenta una señal doble de doble en 3.15 ppm que muestra la presencia de un protón base de OH, dicha señal se asignó a C-3, también en 5.25 ppm esta una señal múltiple que integra para un protón particularmente para C-12, lo que indica la presencia de un doble enlace (**Tabla III**). Por último la correlación de los datos de espectrometría

de masas coincide con lo reportado en la literatura¹⁷; el **Espectro V** presentó el ión molecular en m/z 456 (1.1), asimismo se manifestaron picos m/z 248 (100) $[C_{16}H_{24}O_2]^+$ y m/z 208 (2.0) $[C_{14}H_{24}O]^+$ originados por una fragmentación tipo *retro*-Diels-Alder (RDA) comportamiento característico de un triterpeno pentacíclico¹⁹, también se observa el fragmento m/z 411 (8) que indica una descarboxilación típica. Por otro lado la fragmentación de M^{+} origina los picos m/z 249, m/z 207, m/z 235, m/z 219 asignados a $[C_{16}H_{25}O_2]^+$, $[C_{14}H_{23}O]^+$, $[C_{15}H_{23}O_2]^+$ así como m/z 410 y m/z 454 se asignan para las pérdidas $M^{+}-46$ y $M^{+}-2$ respectivamente (Patrón de Fragmentación para II en el Esquema 5).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

1.- Se realizó una contribución fitoquímica de *Salvia mexicana*, la cual contempla el estudio de la parte subterránea de la planta, dicho estudio no ha sido descrito en la literatura química.

2.- Del extracto *n*-hexánico de la parte aérea de *S. mexicana* se aisló Tilifodiólida y Ac. Ursólico.

3.- Del extracto en AcOEt de las raíces de *S. mexicana* se obtuvo Acido Ursólico, un producto natural , que según estudios recientes⁵⁰ posee un notable efecto sobre la arteriosclerosis, además de que ha sido empleado como emulsificante.¹⁹

4.- Los Productos Naturales aislados se identificaron por correlación de los datos físicos y espectroscópicos obtenidos (IR, RMN H¹, EMIE) con los reportados en la literatura.

APENDICE

Tabla II : Correlación de datos espectroscópicos de RMN H^1 del producto I con la Tilifodiólida (CDCl₃, TMS).

C	200 MHz ^a δ ppm (J ; Hz)	400 MHz ^b δ ppm (J ; Hz)
1	mc 2H 3.05	m 2H 3.01a, e
2	mc 2H 2.15 ; 1.8	m 2H 2.18e, 1.7a
3	mc 2H 2.80	m 2H 2.79
5	d/t 1H 7.00	dt 1H 6.95
6	d 1H 7.30(8)	d 1H 7.3(8)
7	d 1H 7.70(8)	d 1H 7.7(8)
12	s 1H 6.30	s 1H 6.33
14	d/d 1H 7.52(1)	t 1H 7.52(1)
15	dd 1H 7.37(2)	t 1H 7.37(2)
16	d/d 1H 6.09	dd 1H 6.08(2.1)
19 (H α , H β)	dd/dd 2H 4.75(1)	t 2H 4.75(1.5)
20	m 2H 2.9 ; 2.2	m 2H 2.90a ; 2.2e

a. Datos de RMN H^1 obtenidos en este trabajo para el producto I aislado de *S. mexicana*.

b. Datos de RMN H^1 reportados en la literatura para la tilifodiólida¹⁸.

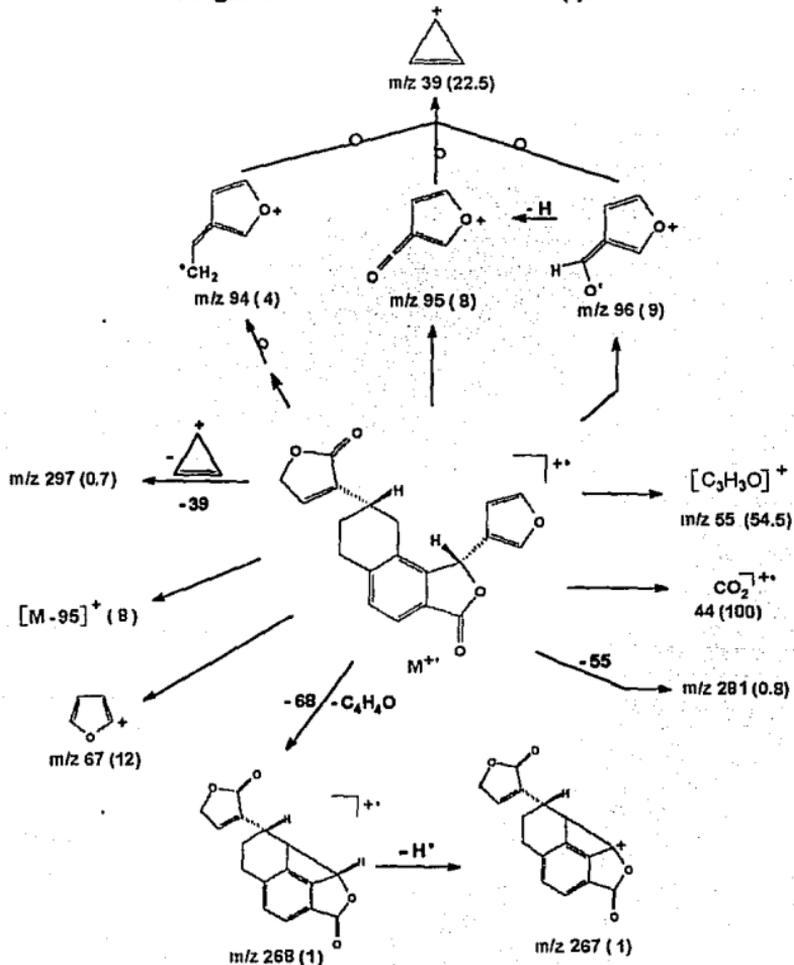
Tabla III : Correlación de datos espectroscópicos de RMN H^1 del producto II con el Ac. ursólico ($CDCl_3$, TMS).

C	200 MHz ^a δ ppm (J ; Hz)	80 MHz ^b δ ppm (J ; Hz)
3	dd 1H 3.15	dd 1H 3.15
23	s 3H 0.93	s 3H 0.94
24	s 3H 0.76	s 3H 0.80
25	s 3H 0.97	s 3H 0.99
26	s 3H 0.76	s 3H 0.78
27	s 3H 1.14	s 3H 1.15
28	m 1H 5.25	t 1H 5.25
29	s 3H 1.25	s 3H 1.27
30	s 3H 0.92	s 3H 0.91

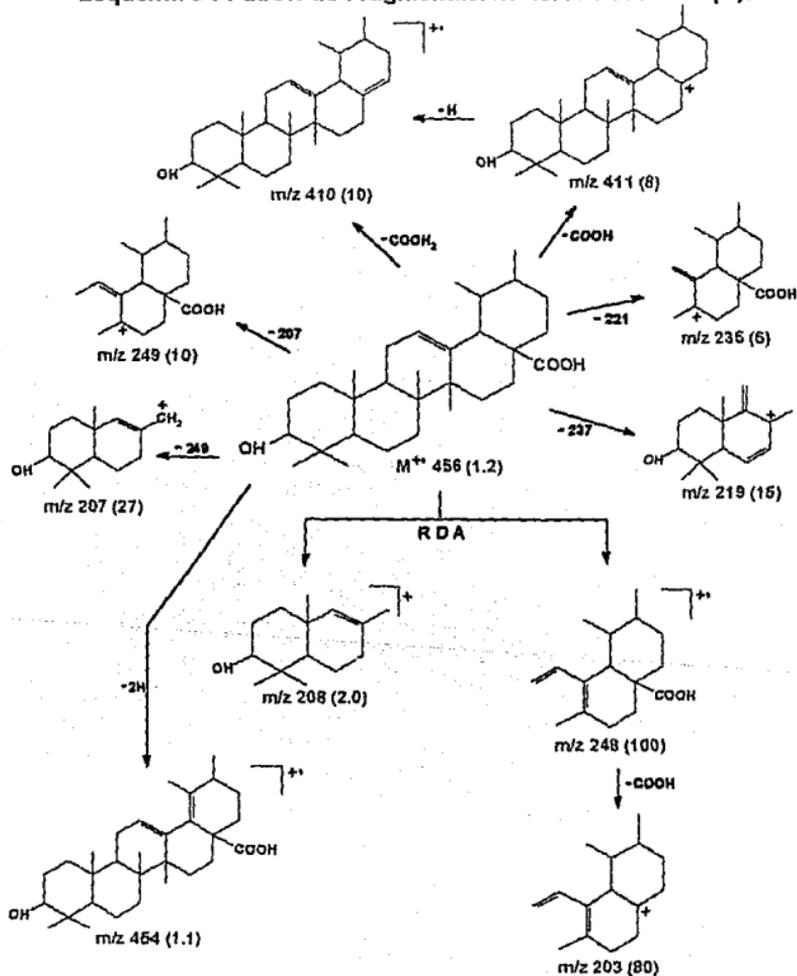
a. Datos de RMN H^1 obtenidos en este trabajo para el producto II aislado de *S. mexicana*.

b. Datos de RMN H^1 reportados en la literatura para el Ac. ursólico¹⁹.

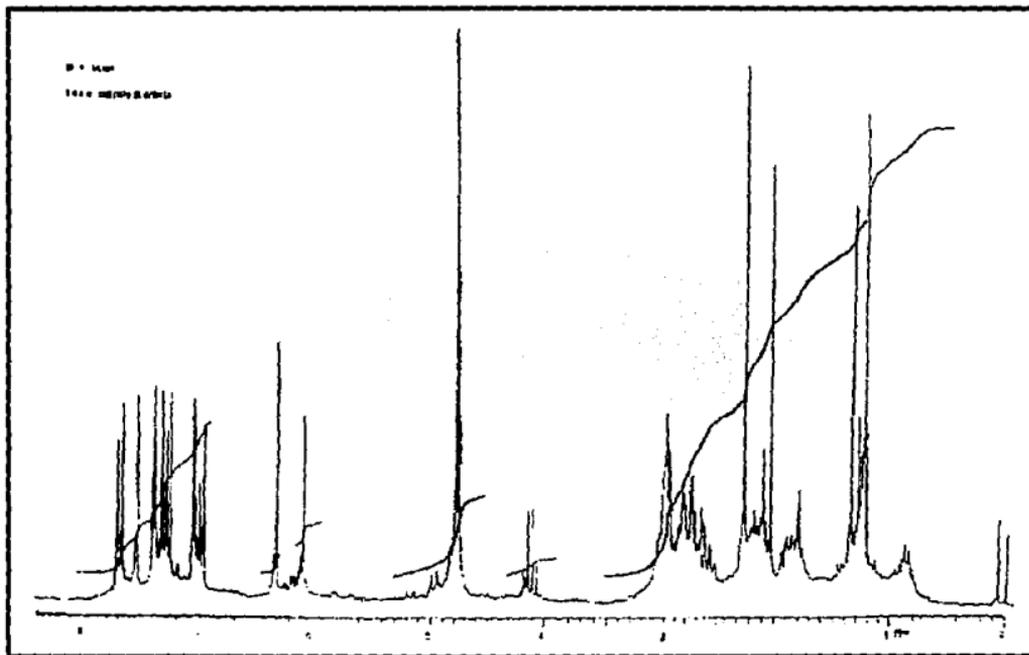
Esquema 4 : Patrón de Fragmentación de la Tillifodiólida (I).



Esquema 5 : Patrón de Fragmentación del Ac. Ursólico (II).

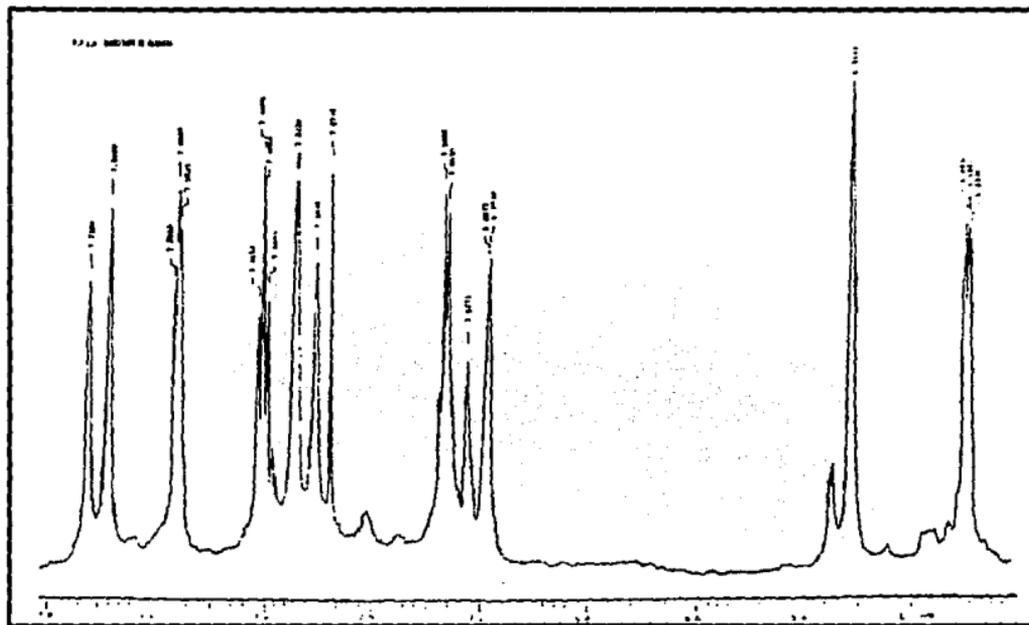


Espectro I



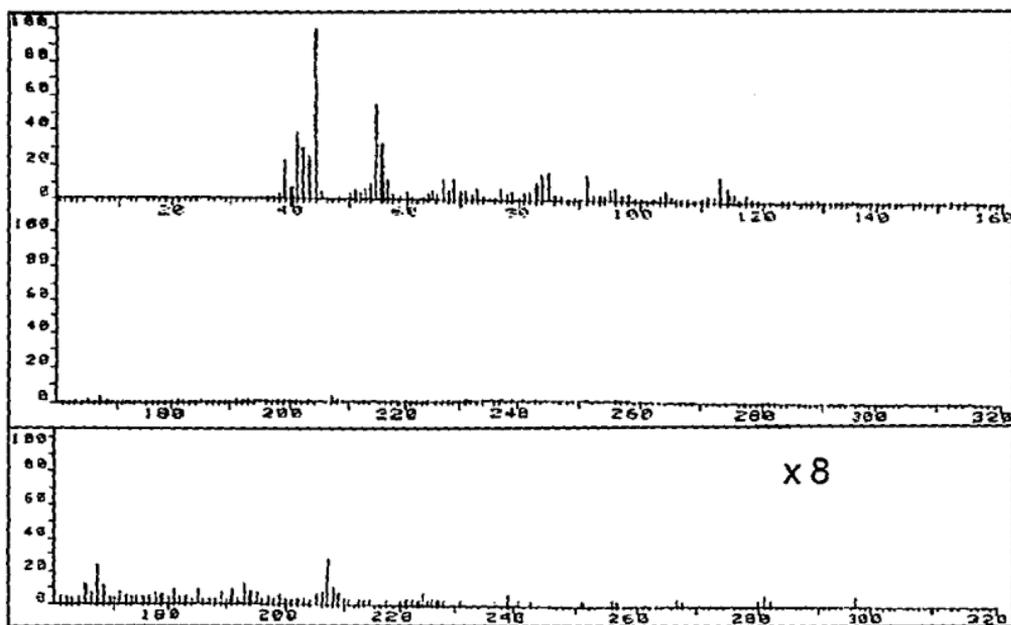
Espectro de RMN H^1 de la Tilifodiólida

Espectro Ia



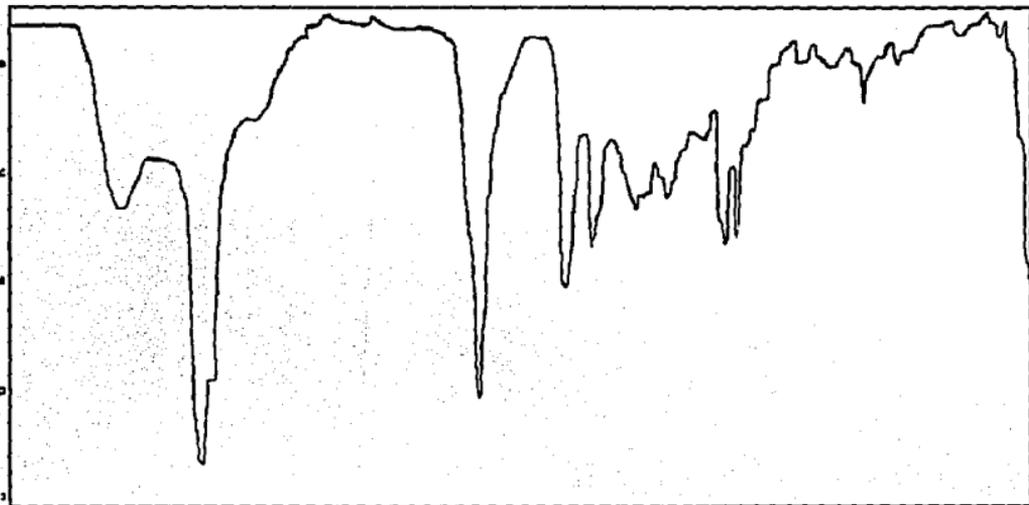
Apertura de la ventana espectral (RMN H¹) de la Tilifodiólida; región 6 a 7.8 ppm

Espectro II



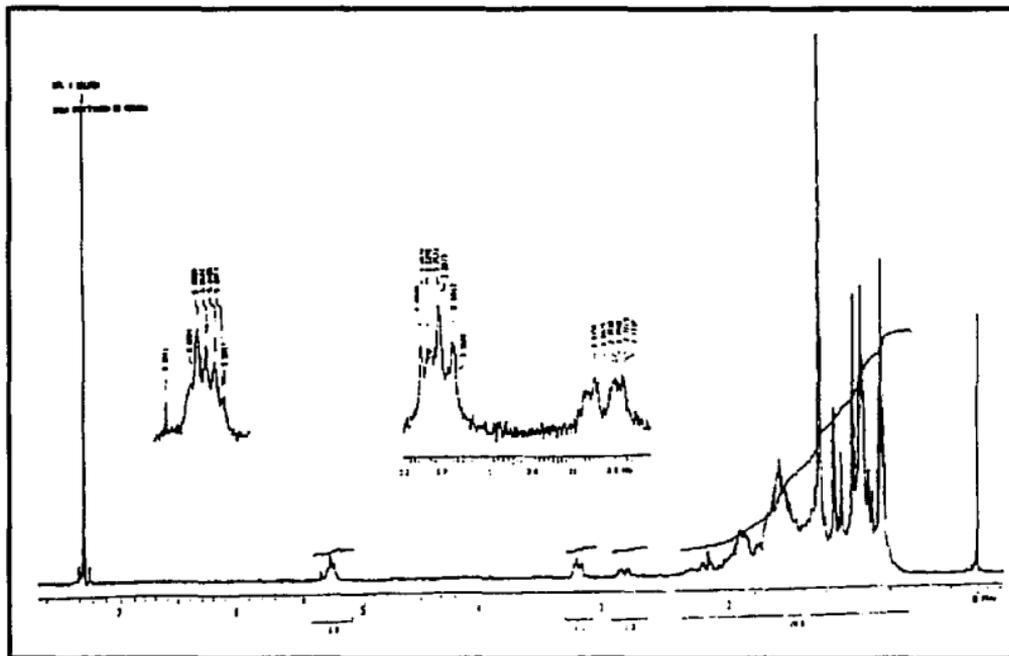
Espectro de Masas de la Tilifodiólida

Espectro III



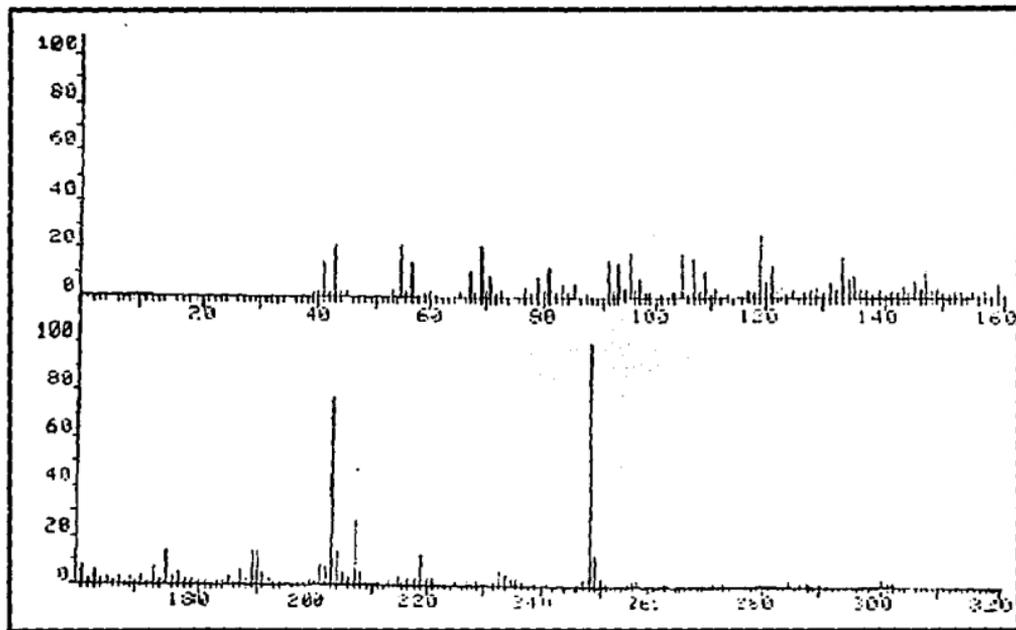
Espectro de IR del Acido Ursólico

Espectro IV



Espectro de RMN H^1 del Acido Ursólico

Espectro V



Espectro de Masas del Acido Ursólico

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

1. Rodríguez-Hanh, L., Esquivel, O., Cárdenas, J., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **20**, 105 (1989).
2. Romo de Vivar, A., González, J. Pérez, L., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **16**, 51 (1985).
3. *Pharmaceutical Anal.*, **110**, 199294s (1985).
4. Ikeshiro, Y., Hashimoto, I., Iwamoto, Y., Mase, I., Tomita, Y., *Phytochemistry*, **30**, 2791 (1991).
5. Ulubelen, A., Topcu, G., *Phytochemistry*, **30**, 2085 (1991).
6. Ulubelen, A., Topcu, G., Tan, N., *Phytochemistry*, **31**, 3637 (1992).
7. Ikeshiro, Y., Mase, I., Tomita, Y., *Phytochemistry*, **28**, 3139 (1989).
8. Collera, O., Gomora, E., García Jimenez, F., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **11**, 60 (1980).
9. *Chem. Abs.*, **86**, 117603r (1977).
10. *Chem. Abs.*, **43**, 5907d (1950).
11. *Chem. Abs.*, **112**, 4342s (1990).
12. Ulubelen, A., Tuzlaci, E., *Fitoterapia*, **61**, 185 (1990).
13. *Chem. Abs.*, **102**, 56094a (1985).
14. Funier, G., Pages, N., Cosperec, I., *Planta Med.*, **59**, 96 (1993).
15. Bruneton, J., *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia*, Ed. Acribia, España, 1991, pág. 226-29, 243.
16. Martínez, M., *Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas*, Ed. Fondo de Cultura Económica, México, 1987, pág. 1210.

17. *Chem. Abs.*, **118**, 187789j (1993).
18. Rodríguez-Hanh, L., Esquivel, O., Maldonado, E., Ortega, A., Cárdenas, J., Toscano, R., *J. Org. Chem.*, **55**, 3522 (1990).
19. Gonzalez, M., Estudio Químico de los Metabolitos Secundarios de *Salvia lavanduloides* (LAB.) ("Cantueso"), ENEP- Zaragoza, UNAM, 31-38, 76-79, 92 (1984).
20. Williams, P., Stone, M., Hauck, P., Rahman, S., *J. Nat. Prod.*, **52** 1189 (1989).
21. Domínguez, S. X. A., *Phytochemistry Methods Frontiers, Firs Special, Rev. Latinoamer. Quím.*(1980).
22. Geissman, T., Crout, D., *Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism*, Freeman, Cooper and Company, San Francisco, Cal., USA, 1969, pág. 25, 35, 235.
23. Nakanishi, K., Goto, T., Ito, S., Nozoe, S., *Natural Products Chemistry*, Academic Press Inc., New York, 1974, pág. 41.
24. Trease, G., Evans, W., *Tratado de Farmacognosia*, 12ava. ed., Ed. Interamericana, México, 534-537 (1986).
25. (a) Harborne, J. B., *Biochem. Syst. Ecol.*, **5**, 7 (1977); (b) Ingham, J., Harborne, J., *Nature*, **260**, 243 (1976); (c) Cagnin, M., Gomes, C., Gottlieb, O., Marx, M., da Rocha, A., da Silva, M., Temperini, A., *Plant Syst. Evol., Supl. 1*, 53 (1977).
26. (a) Romo, J., Romo de Vivar, A., Treviño, R., Nathan, J., Díaz, E., *Phytochemistry*, **9**, 1615 (1970); (b) Parker, W., Roberts, J., Ramage, R., *Quart Rev.*, **21**, 331 (1967); (c) Friedrich, H., *Lloydia*, **39**, 1 (1976); (d) Domínguez, X., Yopez, A., *Phytochemistry*, **13**, 1292 (1974); (e) Morris, S., Smilh, R., *J. Org. Chem.*, **42**, 115 (1977); (f) Tamura, M., *Acta Phytotax. Geobot.*, **20**, 71 (1971).
27. (a) Rodríguez-Hahn, L., Romo de Vivar, A., Ortega, A., Aguilar, A., Romo, J., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **1**, 24 (1970); (b) Rodríguez, E., Yoshioka, H., Mabry, T., *Phytochemistry*, **10**, 1145 (1971).

PART: FERNIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

28. Torsell, K. B., *Natural Product Chemistry, A Mechanistic and Biosynthetic Approach to Secondary Metabolism*, J. W. & S. L., Gran Bretaña, 1983, pág. 182.
29. (a) Bierl, A., Beroza, M., Collier, *Science*, **170**, 87 (1970); (b) Brown, H., Basavaiah, D., *J. Org. Chem.*, **47**, 3806 (1982); (c) Basavaiah, D., *J. Org. Chem.*, **47**, 1792 (1982); (d) Brown, H., Basavaiah, D., *Heterocycles*, **18**, 153 (1982); (e) Brown, H., *Pure Appl. Chem.*, **47**, 49 (1976); (f) Sánchez, E., Arseno, H., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **7**, 143 (1976); (g) Hernández, J., Cisneros, A., Fernández, S., *Synth. Commun.*, **13**, 191 (1983).
30. (a) Shaurygin, *J. Applied. Chem.*, (USSR), **12**, 1201 (1939); Ruzicka, L., *Helv. Chim. Acta*, **9**, 175 (1926); (b) Blomquist et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 34 (1948); (c) Huseey, Baker, *J. Org. Chem.*, **25**, 1434 (1960).
31. (a) Chirkdjian, J., *Naturforsch*, **128C**, 32 (1973); (b) Chirkdjian, J., *Sci. Pharm.*, **71**, 206 (1973); (c) Fowden, L., *Phytochemistry*, **8**, 95 (1974); (d) Chang-Hung, C., Ulubelen, A., Mabry, T., *Rev. Latinoamer. Quím.*, **10**, 136 (1979).
32. (a) Bolhmann, F., Franke, H., *Phytochemistry*, **12**, 726 (1973); (b) Shriner, R., Sharp, A., *J. Org. Chem.*, **4**, 574 (1939); (c) Markham, K., Brehm, L., *Phytochemistry*, **8**, 2193 (1969); (d) Steinegger, E., Brantschen, A., *Pharm. Acta Helv.*, **34**, 334 (1954).
33. Ruzicka, L., *Experientia*, **9**, 357 (1953).
34. Andrade de Mata Rezende, C., Gottlieb, O., *Biochem. System. Ecol.*, **1**, 11, (1973).
35. Domínguez, X. A., *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Ed. Limusa, 1979, pág. 67.
36. Angeles, E., *Estudio Químico de diferentes Especies del Género Stevia (Compositae)*, Universidad Autónoma del Estado de Morelos **2**, (1985).

37. Savona, G., Patemostro, G., Piozz, F., Hanson, J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 533 (1979).
38. Esquivel, B., Cárdenas, J., Toscano, R., Soriano-García, M., Rodríguez-Hahn, L., *Phytochemistry*, **28**, 261 (1989).
39. Cárdena, J., Esquivel, B., Toscano, R., Rodríguez-Hahn, L., *Heterocycles*, **27**, 1809 (1988).
40. Rodríguez-Hahn, L., Esquivel, B., Sánchez, A., Tovar, O., Soriano-García, M., Toscano, R., *J. Org. Chem.*, **53**, 3933 (1988).
41. Passanti, S., Patemostro, M., Piozzi, F., *Phytochemistry*, **22**, 1044 (1983).
42. Ulubelen, A., Ayanoglu, E., *Phytochemistry*, **15**, 309 (1976).
43. Timmermann, B., Mues, R., Mabry, T., Powell, A., *Phytochemistry*, **18**, 1855 (1979).
44. Esquivel, B., Esquivel, O., Cárdenas, J., Sánchez, A., Ramamorthy, T., Toscano, A., Rodríguez-Hahn, L., *Phytochemistry*, **30**, 2335 (1991).
45. Ulubelen, A., Brieskorn, C., *Phytochemistry*, **14**, 820 (1975).
46. Ulubelen, A., Brieskorn, C., Özdemiir, N., *Phytochemistry*, **16**, 790 (1977).
47. Mukherjee, K., Ghosh, P., *J. Indian Chem. Soc.*, **40**, 850 (1978).
48. Pereda-Miranda, R., Delgado, G., Romo de Vivar, A., *J. Nat. Prod.*, **49**, 225 (1980).
49. Fugita, E., Uchida, I., Fugita, T., *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, 1547 (1974).
50. *Chem. Abs.*, **93**, 778e (1980).