

QUIMICA DE PRODUCTOS NATURALES DE LA FLORA PRECORDILLERANA ANDINA DE LA II REGION DE CHILE

LUIS A. LOYOLA M. y JORGE BORQUEZ R.

LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES
UNIVERSIDAD DE ANTOFAGASTA, CHILE

La Química de Productos Naturales ha despertado siempre el interés de los científicos y en las últimas décadas ha experimentado un desarrollo espectacular debido a los avances en las técnicas de extracción, separación y medida de parámetros físico-químicos, así como por los nuevos conocimientos en métodos sintéticos, la consolidación de nuevos conceptos y por su aplicación en campos interdisciplinarios. La Química de los Productos Naturales, debido a la gran variedad de tipos de compuestos por ella estudiados, ha sido precisamente la actividad que ha propiciado el desarrollo y constante perfeccionamiento de los métodos instrumentales y ha contribuido de forma decisoria al esclarecimiento de aspectos fundamentales de la Química Orgánica.

En el momento actual, dos de los problemas más interesantes de la Química de los Productos Naturales, la determinación estructural y la síntesis total, son en ciertos casos un trabajo rutinario debido al cúmulo de datos existente en la bibliografía. Por ello existen grupos de trabajo en esta disciplina que dirigen sus esfuerzos hacia áreas inexploradas, abriendo así un enorme abanico de posibilidades para la investigación en productos naturales.

Sin embargo, la actividad clásica del aislamiento y estudio estructural de los metabolitos secundarios sigue teniendo un enorme interés. Son muchas las razones que pueden aducirse para justificar la continuada labor investigadora en este aspecto de la Química de los Productos Naturales y, entre esas razones, las más importantes son aquellas que se refieren al intrínseco interés químico-orgánico de estos compuestos y los derivados del estudio de las causas de su formación, significado y funciones en el ser vivo que lo produce.

La investigación en productos naturales se ve fomentada y mantenida en constante actualidad por el hecho de que muchos de los productos sintetizados por microorganismos, vegetales e insectos son compuestos de interesantes propiedades farmacológicas, de control del medio ecológico y una fuente renovable de materias primas de indudable interés económico.

Además de las razones señaladas anteriormente, el estudio de la composición química de los organismos vegetales está justificado hoy en día por su empleo en la resolución de problemas de sistemática botánica. Los caracteres químicos de una planta constituyen datos fiables sobre los cuales establecer una correcta clasificación botánica y la quimiotaixonómia es una parcela científica en constante auge, en la que la Química de Productos Naturales juega un papel fundamental y decisivo.

Desde el año 1978 el Grupo de Productos Naturales de la Universidad de Antofagasta ha venido desarrollando una línea de investigación que pretende estudiar la flora autóctona de la II Región desde un punto de vista químico con el objeto de aislar, purificar, caracterizar y determinar las estructuras moleculares de los metabolitos secundarios que estas plantas biosintetizan. Las plantas han sido seleccionadas de acuerdo con sus antecedentes químicos, botánicos, biológicos y de la medicina popular llevándonos a centrar el estudio fundamentalmente en especies de las familias Asteraceae, Umbelliferae y Verbenaceae, significando el aislamiento de numerosos metabolitos secundarios: lactonas sesquiterpénicas, diterpenoides, alcaloides, flavonoides, cumarinas y derivados de la p-hidroxiacetofenona.

En los últimos años, disponiendo de un número importante de productos naturales, hemos iniciado los estudios de evaluación de la actividad biológica de estos metabolitos, así se han obtenido resultados de sus efectos anti-*Trypanozoma cruzi*, efectos antioxidante y de toxicidad general de algunos de ellos. Los resultados serán presentados desde un punto de vista químico y desde un punto de vista biológico.

Desde un punto de vista químico hemos estudiado las siguientes especies botánicas, indicando en cada caso los productos naturales aislados y la referencia correspondiente. La clasificación botánica fue realizada por el Prof. Clodomiro Marticorena del Departamento de Botánica de la Facultad de Ciencias Biológicas y Recursos Naturales de la Universidad de Concepción.

ASTERACEAE

***Senecio graveolens* (chachacoma):** derivados de la p-hidroxiacetofenona:

- Dihidroeuparin
- 3-Hidroxi-2,2-dimetil-6-acetilcromano
- 4-Hidroxi-3-(isopenten-2-il)-acetofenona
- 3-(3'-Hidroxiisopentil)-4-Hidroxiacetofenona (2)*
- 5-Acetilalcaloides (1) (Loyola *et al.*, 1985).

* Los Números corresponden a las fórmulas de Fig. 1

Senecio viridis (moco-moco o mocoro):

- Dihidroeuparin
- 2,2-Dimetil-6-acetilcromano

Senecio rosmarinus: Lactonas sesquiterpénicas del tipo eremofilanólida y un compuesto aromático:

- Oxo-10 β H-eremofila-7-(11)-en-8, 12-olida (3)
- 1-Oxo-8 β -hidroxi-10 β -H-eremofilanólida
- 1-Oxo-8 β -H-10 β -H-eremofilanólida
- Acetovanillona (Morales *et al.*, 1986)

Senecio phylloleptus:

- 3-(3'-hidroxiisopentil)-4-Hidroxiacetofenona
- 2,2-Dimetil-6-acetilcromano.

Chersodoma jodopappa: Lactonas sesquiterpénicas del tipo eremofilanólida y un alcaloide pirrolicidínico:

- 6 β -Hidroxi-8 β H-eremofila-7(11)-en-8, 12-olida
- 6 β ,8 β -Dihidroxi- 10 β H-eremofila-7(11)-en-8, 12-olida
- Senkirkina (Morales *et al.*, 1985)

Parastrephia quadrangularis: 2 cumarinas simples, un derivado de p-hidroxiacetofenona y un nuevo flavonoide.

- Escopoletina
- Umbeliferona
- p-Cumaroiloxi tremetona
- 5,7-Dihidroxi-3,3',4',8'-tetrametoxiflavolla, (Loyola *et al.*, 1985a)

Parastrephia teretiusscula: 2 flavonopides.

- 5,4'-Dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavanona
- 5,3',4'-Trihidroxi-7-metoxiflavanona

Parastrephia phyllicaeformis: 2 flavonoides y una cumarina simple.

- 5,4'-Dihidroxi-7-metoxiflavona (genkwanina)
- 5,4'-Dihidroxi-7,8'-dimetoxiflavona
- Escopoletina

Baccharis boliviensis: flavonoides y diterpenoides.

- 5,3'-Dihidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona
- 5,7,4'-Trihidroxi-3,6,8,3'-tetrametoxiflavona
- 5,4'-Dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona
- 7,4'-Dihidroxi-5,6,8-trimetoxiflavona
- 5,4'-Dihidroxi-6,7,8,3'-tetrametoxiflavona
- 15,16-epoxi-trans-clerodano-3,13(16),14-trien-17-ol (4)
- 17-succinoiloxi-ent-cleroda-3,13(16),14-trien-15, 16-óxido
- Acido 3,15,16-epoxi-trans-cleroda-3,13(16),14-trien-17-oico (Morales *et al.*, 1990)

***Haplopappus rigidus* (baylahuén)**: 1 flavonoide y 2 diterpenoides.

- 3,5,7-Trihidroxi-8,4'-dimetoxiflavona
- 18-Acetil-neo-sagittariol (5)
- β -D-Xilopiranósido de manool (6)

UMBELLIFERAE

***Molinum crassifolium* (chuquicán o chuquicandia)**: Diterpenoides con un nuevo esqueleto carbonado que hemos denominado "mulinano"

- Acido mulínico (7)
- Acido isomulínico (8)
- Acido 17-acetoximulínico (9)
- Acido mulinénico (10) (Loyola *et al.*, 1990a, 1990b, 1991).

VERBENACEAE

Lampaya medicinalis (lampayo): Cuatro flavonoides, p-hidroxiacetofenona y un diterpenoide:

- 5-Hidroxi-7,3',4'-trimetoxifavona
- 5,4'-Dihidroxi -7,3'-dimetoxiflavona (velutina)
- 5-Hidroxi-7,4'-dimetoxiflavona
- 5,4'-Dihidroxi-6,7,3'-trimetoxiflavona (cirsilenol)
- p-hidroxiacetofenona
- Genipina.

Verbena origenes (rica-rica):

- β -Sitosterol.

Las plantas estudiadas fueron recolectadas en la zona de Toconce y El Tatio al interior de Calama, II Región, Chile. Crecen en condiciones muy particulares de un microclima de grandes diferencias de temperatura entre el día y la noche, con dos inviernos anuales y a una altura sobre el nivel del mar sobre 3000 metros. La mayor parte de ellas, son utilizadas con fines medicinales por los lugareños para contrarrestar el efecto de la "puna o soroche", la tos, la diabetes, como ocurre con los casos respectivos de la "Chachacoma, "Tola" y "Chuquicán".

En un análisis de los resultados de importancia química se destacan los compuestos aislados con estructuras moleculares nuevas, tales como diterpenoides, derivados de p-hidroxiacetofenona y flavonoides, cuyas estructuras se representan a continuación.

Especial mención requieren los productos aislados de *Mulinum crassifolium*, que corresponden a un nuevo esqueleto reordenado de diterpenoide que hemos denominado **MULINANO**. La numeración de los carbonos es la del tipo labdano, por considerar que biogenéticamente puede ser derivado de este tipo de diterpenoide.

La elucidación estructural de los productos naturales se realizó mediante el uso intensivo de modernas técnicas espectroscópicas, tales como UV, IR, EM, RMN¹H, RMN¹³C, DOR, DC, análisis elemental, actividad óptica, análisis de difracción de Rayos-X, etc.

Desde un punto de vista biológico, y atendiendo a la disponibilidad de cantidades adecuadas de algunos productos naturales, en nuestro laboratorio se ha iniciado el estudio del efecto tóxico o lítico sobre tripomastigotes de *Trypanosoma cruzi* "in vitro", con medición de la toxicidad general; del efecto antioxidante de flavonoides en la peroxidación de aceite de pescado; y del efecto hipotensor a nivel preclínico de derivados de la p-hidroxiacetofenona.

Se evaluó el efecto anti-*T. cruzi*, usando técnicas standard, de unos 25 compuestos puros aislados de especies de *Parastrephia*, *Senecio*, *Baccharis*, *Chersodoma*, etc.

La evolución del efecto tripanosomicida se realizó en las siguientes condiciones:

- Se infectó ratas de la cepa C3H con *T. cruzi* de la cepa Tulahuén.
- Después de 7 días se sangró el animal, la sangre infectada se mezcló con heparina y se diluyó con suero fetal bovino hasta obtener una densidad de tripomastigotes de 2×10^6 /ml.
- Se determinó la concentración tripanosomicida mínima por microtitulación en placas de poliestireno, comenzando con una solución de 1 mM.
- Como control negativo se usó una suspensión de parásitos en Krebs's Ringer glucosa y como control positivo una suspensión de parásitos más violeta genciana (10^{-3} M) en Krebs's Ringer glucosa.
- La aplicación se mantuvo a 4°C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se evaluó el efecto, contabilizando al microscopio (25 campos x 400) el número de tripomastigotes vivos por campo.
- Se asignó la actividad como (+++), (++) , (+) o (-) para efecto marcado, efecto moderado, efecto leve, o sin efecto; cuando se observó cero, de 1 a 5, de 6 a 10, ó de 11 a 20 tripomastigotes vivos por campo, respectivamente.

Los resultados más relevantes obtenidos hasta ahora se muestran en la tabla siguiente.

TABLA 1:
ACTIVIDAD ANTI *T. CRUZZI* DE PRODUCTOS NATURALES (0,5mM)

Compuestos	Efectos
p-cumaroiloxitremetona	+++
3-hidroxi-2,2-dimetil-6-acetilcromano	++
4-hidroxi-3-(3'-isopentil)-acetofenona	++
2,2-dimetil-6-acetilcromano	+
4-hidroxi-5-isopentil-3-hidroxiacetofenona	+
4,5-dihidroxi-3,3',6,7,8-pentametoxiflavona	++
6β,8β-dihidroxi-eremofilanólida	+
1-oxo-8H-eremofilanólida	+

El estudio de biotoxicidad de los productos naturales aislados permitió determinar el grado de toxicidad evaluando el parámetro LD₅₀, considerando que un producto no es tóxico si presenta una LD₅₀ mayor que 1000 ppm. Es necesario señalar que este bioensayo, que utiliza un pequeño crustáceo "Artemia salina", se fundamenta en el principio básico que **"TOXICIDAD NO ES OTRA COSA QUE EFECTO FARMACOLOGICO A DOSIS ELEVADAS"**. Esto significa que un material tóxico a una dosis puede tener un efecto fisiológico importante una dosis menor.

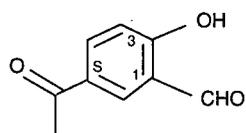
Los productos naturales de mayor toxicidad corresponden a:

- 5,4'-Dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona
- 5,3',4'-Trihidroxi-7-metoxiflavona
- 5,4'-Dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona
- p-Cumaroiloxitremetona
- Dihidroeuparin

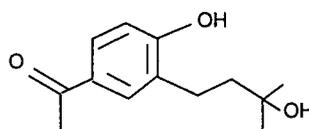
siendo dihidroeuparin, aislado de *Senecio graveolens* y *Senecio viridis*, el compuesto que muestra mayor dosis tóxica (LD₅₀ 15.3 ppm). El derivado acetilado de este producto mostró poseer una mayor LD₅₀ al bioensayo (LD₅₀ 11.13 ppm).

TABLA 2:
ACTIVIDAD BIOTOXICA FRENTE A ARTEMIA SALINA

COMPUESTO	LD ₅₀
Dihidroeuparin	15.30
Dihidroeuparin acetilado	11.13
5,4'-Dihidroxi-7,3'-dimetoxiflavona	116.30
5,3',4'-Trihidroxi-7-metoxiflavona	486.00
p-Cumaroiloxitremetona	196.40
5,4'-Dihidroxi-3,6,7,8,3'-pentametoxiflavona	129.30

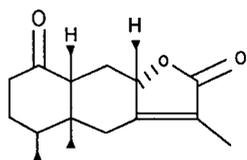


1

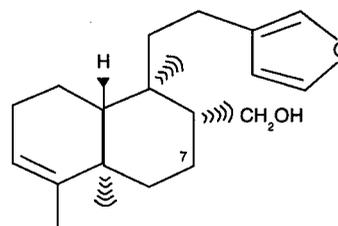


2

SENECIO GRAVEOLENS



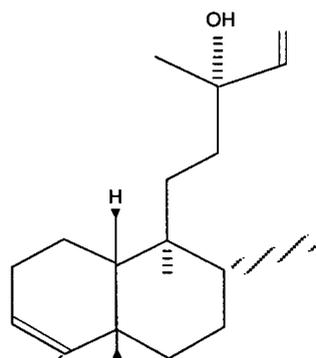
3



4

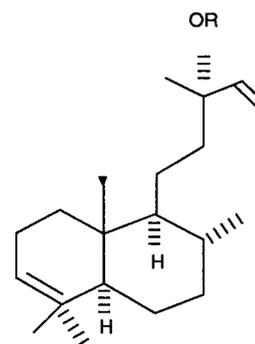
SENECIO ROSMARINUS

BACCHARIS BOLIVIENSIS

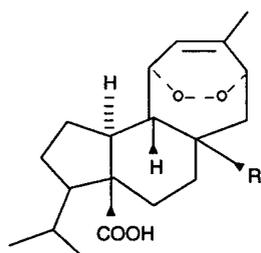


5

HAPLOPAPPUS RIGIDUS

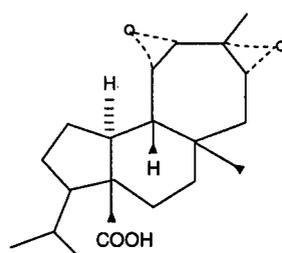


6 R= beta - xilopiranósil



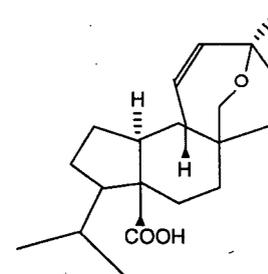
7: R = Me

9: R = CH₂OAc



8

MULINUM CRASSIFOLIUM



10

En relación al estudio biológico de los derivados de la p-hidroxiacetofenona, aislados de dos especies de *Senecio*: la 6-hidroxi-2-isopropenil-5-acetil-2,3-dihidrobenzofurano (**dihidro euparin**) y la 4-hidroxi-3-(2'-isopentenil)-acetofenona. Los resultados muestran que estos productos presentan:

- Un efecto hipotensor del orden de +/- 30% en todos los modelos biológicos utilizados, sin efectos significativos en la actividad cardíaca y respiratoria.
- Un efecto relajador de la musculatura lisa de tráquea y arteria aorta de rata, del orden del 20 al 30%. Este efecto es similar e incluso mejor que el logrado por el Salbutamol, utilizado como referencia y que se emplea para aliviar las crisis asmáticas.
- Un efecto significativo de inhibición del transporte del aminoácido L-histidina en intestino de rata.
- Un efecto diurético (natriurético y kaliurético) en los modelos biológicos usados.
- El mecanismo de acción de estos metabolitos es mediado por el sistema adrenérgico (beta)-adrenaltociclasa-AMP cíclico y es independiente del Calcio.

Los resultados obtenidos con los ensayos de los derivados de la p-hidroxiacetofenona, en diferentes modelos biológicos (anfibios, reptiles y ratas) muestran que poseen un buen efecto hipotensor, logrado a nivel vascular, actuando a nivel de la musculatura lisa de los vasos sanguíneos y que se refuerza con una acción diurética. Adicionalmente presentan un efecto relajador de la musculatura lisa de tráquea de rata, provocando broncodilatación.

Las evidencias obtenidas nos permiten augurar un buen futuro para la utilización de estos metabolitos en seres humanos que presentan patologías hipertensivas o asmáticas, ya que los ensayos realizados en los modelos biológicos muestran efectos similares o mejores (menores efectos secundarios) que las drogas utilizadas como referencia y que actualmente son ocupadas por la medicina y terapéutica.

REFERENCIAS

- Loyola, L., A., Pedreros, S., L. y Morales, G., 1985. p-hydroxyacetophenone derivatives from *Senecio graveolens*, Weed. Phytochemistry, 24 (7) 1600-2.
- Loyola, L., A., Naranjo, S. J. y Morales, B., G., 1985 a. 3,8,3', 4-tetramethoxy-5,7-dihydroxyflavone, from *Parastrephia quadrangularis*. Phytochemistry, 24 (8) 1871-2.
- Loyola, L., A., Morales, G., Rodríguez, B., Jiménez, J., De la Torre, M., Perales, A., y Torres, M., 1990a. Mulinic and isomulinic acids rearranged diterpenoids with new carbon skeleton from *Mulinum crassifolium*. Tetrahedron, 46: 5413.
- Loyola, L., A. Morales, G., De la Torre, M. C., Pedreros, S. y Rodríguez, B., 1990b. 17-acetoxymulinic acid, a rearranged diterpenoid from *Mulinum crassifolium*. Phytochemistry 29: 3950.
- Loyola, L. A., Morales, G., De la Torre, M. C., Pedreros, S. y Rodríguez, B., 1991. Mulinemic acid a rearranged diterpenoid from *Mulinum crassifolium*. J. of Nat. Prod., 54: 1404
- Morales, G., Bórquez, J., Mancilla, A., Pedreros, S. y Loyola, L., 1985. Constituentes of *Chersodoma jodopappa*. J. of Nat. Prod. 49 (6) 1140-1.
- Morales, G. Bórquez, R. J., Mancilla, P. A., Pedreros, T. S. y Loyola, L., A., 1986. An eremophilanolide from *Senecio rosmarinus*, Phytochemistry. 25 (10) 2442-14.
- Morales, G., Mancilla, A., Gallardo, O., Trujillo, R. y Loyola, L., A., 1990. Diterpenoids and flavonoids from *Baccharis boliviensis*. Bol. Soc. Chil. Quím. 35: 257.