

AISLAMIENTO DE LOS ACIDOS ent-16-KAUREN-19-OICO Y 18-ANGELOILOXI-ent-16- KAUREN-19-OICO DE LAS RAICES DE *Smallanthus riparius*.

JAIRO CALLE*
AUGUSTO RIVERA**
JOSE HERRERA***
JAVIER GUTIERREZ-LUIS****
P. JOSEPH-NATHAN*****

- * Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- ** Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- *** Facultad de Medicina, Universidad del Valle, Colombia.
- **** Centro de Productos Naturales Orgánicos "Antonio González", Universidad de La Laguna, España.
- ***** Departamento de Química del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados, I.P.N., México D.F., México.

Key words: *Smallanthus riparius*, Kauranoid diterpenes.

SUMARIO

Del extracto de éter de petróleo (pe. 40-60°) de las raíces de *Smallanthus riparius* se aislaron ácido ent-16-Kauren-19-oico (I) y ácido 18-angeloyloxi-ent-16-Kauren-19-oico (II) con buenos rendimientos. Las estructuras se confirmaron por métodos espectroscópicos. Se asignaron inequívocamente las señales del grupo angelato en el espectro de RMN¹³C del compuesto (II) usando técnicas bidimensionales de correlación heteronuclear ¹H-¹³C.

ABSTRACT

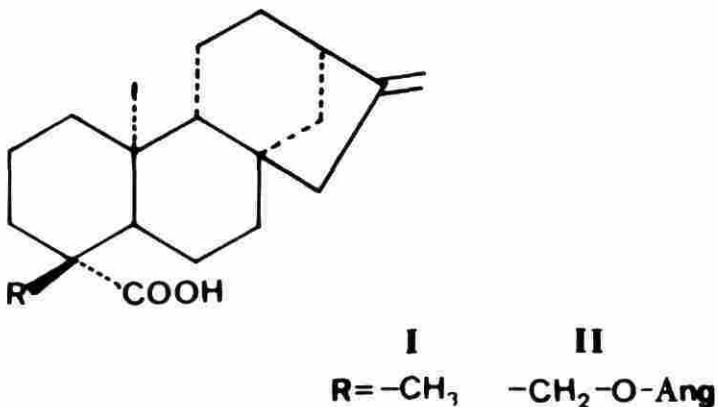
ent-16-Kauren-19-oic acid (I) and 18-angeloyloxi-ent-16-Kauren-19-oic acid (II) were isolated from the light petroleum ether (bp 40-60° C) extract of roots of *Smallanthus riparius*. Their structures were confirmed by spectroscopic methods. An unambiguous ¹³CNMR signal assignment of angelic ester residue of compound (II) was performed by two-dimensional ¹H - ¹³C chemical shift correlations.

INTRODUCCION

Conocida comúnmente como "Pauche", *Smallanthus riparius* es una planta empleada en medicina popular como hipoglicemiante y como emenagogo, aunque, no sólo es importante su estudio por las aplicaciones medicinales, sino también porque, en algunas regiones utilizan las raíces de esta planta con fines alimenticios (1).

En cuanto a constituyentes químicos, la presencia de diterpenoides tipo Kaureno y sus derivados, así como la de melampólicos, es de común ocurrencia en el género *Smallanthus*, del cual se han aislado ya de cinco especies (2). En nuestro estudio, no logramos aislar melampolídos.

Los dos ácidos cuyo aislamiento comunicamos en este artículo son compuestos ya conocidos, que previamente habían sido aislados de raíces de *S. riparius* recolectadas en Bolivia (3). Nosotros, comprobamos mediante técnicas de resonancia magnética nuclear en dos dimensiones las asignaciones de los respectivos espectros de RMN de ^1H y de ^{13}C de ambos compuestos, logrando además asignar inequívocamente las señales de los carbonos del residuo angelato en el espectro RMN ^{13}C del compuesto (II), ya que aunque los ésteres de los ácidos tíglico y angélico están ampliamente distribuidos en varios tipos de productos naturales, las señales de los grupos metilo en los espectros de RMN ^{13}C de estos ésteres han venido siendo asignadas inconsistentemente tal y como se puso de manifiesto en una investigación computarizada (4) efectuada recientemente. Puesto que *S. riparius* es una planta ampliamente distribuida en Colombia y de muy fácil propagación, puede llegar a constituirse en una fuente bastante barata y asequible de estos productos que podrían llegar a tener interés aleloquímico ya que según Harborne (5) hay evidencias en el sentido de que los terpenoides no volátiles de las plantas causan inapetencia en los insectos así como también son inhibidores de las etapas de crecimiento y desarrollo larvárico y que, dos diterpenos: los ácidos Kaurénico y trachylobanoico presentes en las flores de girasol (*Hellanthus annuus*) son inhibidores y larvicidas de varias especies de lepidópteros.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de éter de petróleo obtenido de las raíces de *S. riparius* se concentró a presión reducida casi a sequedad, obteniéndose un residuo muy viscoso, que al ser examinado por CCD mostró entre otros, al revelar las placas con vapores de yodo, la presencia de dos compuestos mayoritarios. Se sometió entonces una parte (12 g) de este extracto a separación de sus componentes mediante cromatografía de columna (sílica gel), empleando una mezcla de éter de petróleo (pe. 40-60° C):

Acetona (90:10) como eluyente. De esta manera se logró separar los dos compuestos mayoritarios puros que se recristalizaron en metanol. Las estructuras de estas dos sustancias se confirmaron empleando métodos espectroscópicos.

Así, la comparación de los espectros de RMN¹H y RMN¹³C de la sustancia menos polar (I) con los reportados en la literatura (6) (7) (8) para el ácido ent-16-Kauren-19-ólico, así como el punto de fusión (176-178°C) comparado con el de una muestra auténtica, permitieron confirmar que se trataba de dicho compuesto.

El espectro RMN¹H del compuesto más polar (II) (pf. 152-154°C) mostró, además de las señales características debidas a los protones de un esqueleto Kaurénico las ocasionadas por las de un grupo angelato. Este grupo se confirmó con el espectro RMN¹³C, cuyas señales coincidieron en desplazamiento químico con las recientemente reportadas (9) para el ácido angélico. Una vez asignados los espectros de

TABLA 1
Datos espectrales de RMN¹³C
de los dos ácidos diterpénicos
aislados de *S. Riparius*

C No.	(ppm) COMPUESTO I EXPERIM.	MULTI- PLICIDAD	(ppm) COMPUESTO I LITERAT	(ppm) COMPUESTO II EXPERIM.	MULTI- PLICIDAD
1	40.710	t	40.8	40.801	t
2	19.101	t	19.2	18.410	t
3	37.803	t	37.8	33.032	t
4	44.238	s	43.8	47.659	s
5	57.067	d	57.2	55.153	d
6	21.836	t	21.9	21.827	t
7	41.287	t	41.4	40.141	t
8	44.238	s	44.3	43.955	s
9	55.118	d	55.3	52.320	d
10	39.874	s	39.8	39.477	s
11	18.438	t	18.5	18.365	t
12	33.114	t	33.2	32.693	t
13	43.858	d	43.9	43.786	d
14	39.706	t	39.8	39.635	t
15	48.969	t	49.1	48.863	t
16	155.900	s	155.9	155.561	s
17	102.944	t	103.1	103.789	t
18	28.962	q	29.0	72.202	t
19	184.362	s	185.1	181.512	s
20	15.598	q	15.6	15.499	q
1'				167.561	s
2'				127.500	s
3'				138.842	d
4'				15.778	q
5'				20.528	q

s: Singulete

d: Doblete

t: Triplete

q: Cuarteto

RMN¹H se procedió a hacer experimentos HETCOR con el fin de confirmar los desplazamientos químicos de los carbonos protonados. Para corroborar la asignación, se estableció la multiplicidad de las señales y se hizo la respectiva diferenciación de las de los carbonos cuaternarios por medio de experimentos DEPT selectivos. Los valores obtenidos se muestran en la tabla 1.

Los espectros de masas de alta resolución permitieron comprobar completamente las estructuras, ya que aparte de mostrar los iones moleculares esperados para estos compuestos, mostraron todos los picos de diagnóstico y el patrón de fragmentación característico.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimientos Generales

Los espectros IR se registraron en un espectrofotómetro Perkin- Elmer 467; los de RMN¹H y RMN¹³C en un aparato Varian XL-300 operado a 299.943 MHz para los de hidrógeno y a 75.429 MHz para los de carbono 13, empleando TMS ($\delta = 0$) como referencia interna. Las multiplicidades de las señales en los espectros de RMN¹³C fueron establecidas mediante experimentos DEPT y la asignación inequívoca de las señales de estos espectros fue lograda con experimentos de correlación heteronuclear en dos dimensiones (HETCOR). Los espectros de masas de alta resolución se obtuvieron en un espectrómetro VG-Micromass ZAB-2F y los puntos de fusión en un fusiómetro marca Fisher- Johns y se expresan sin corregir.

MATERIAL BOTANICO

Las raíces de *S. riparius* se recolectaron en las laderas de las montañas circundantes a los municipios de San Francisco y La Vega (Cundinamarca-Colombia) a 2.000 m. de altura sobre el nivel del mar. La planta fue clasificada en el Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia y un ejemplar de la misma reposa en el Herbario Nacional Colombiano radicado bajo el número No. Col. 301235.

FRACCIONAMIENTO Y AISLAMIENTO

Las raíces secas y molidas (1.2 Kg) se sometieron a extracción continua (12 horas) con éter de petróleo (pe. 40-60° C) en un soxhlet. El extracto así obtenido se concentró a presión reducida en evaporador rotatorio sin llegar a sequedad. De esta manera se obtuvo un residuo muy viscoso (80 g) parte del cual (12 g) se purificó por cromatografía de columna (silíca gel) empleando una mezcla constante de éter de petróleo: acetona (90:10) como eluyente. La columna se controló por cromatografía de capa fina (silíca gel), se reunieron en grupos las fracciones que exhibieron igual comportamiento cromatográfico, se les evaporó el solvente y de dos de ellas se obtuvieron luego de recristalizar (metanol) dos compuestos puros que se identificaron como ácido ent-16-Kauren-19-oico (I) (2.69 g, 0.20%) y ácido 18- angeloioloxi-ent-16-Kauren-19-oico (II) (0.220 g, 0.015%).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la profesora Cecilia Espitia de Pérez del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, el suministro de una muestra auténtica del ácido ent-16-Kauren-19-oico.

REFERENCIAS

1. J. Idrobo, Profesor de Botánica, Universidad Nacional de Colombia, Comunicación personal.
2. F. Bohlmann, J. Jakupovic, A. Shuster, R.M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **24**, 1309 (1985).
3. F. Bohlmann, J. Jakupovic, C. Edero, R.M. King, H. Robinson, *Phytochemistry* **18**, 625 (1979).
4. M.R. Lindley, N.A.B. Gray, D.H. Smith, C. Djerassi, *J. Org. Chem.* **47**, 1027 (1982).
5. J.B. Harborne, "INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA ECOLOGICA", Editorial Alhambra, Madrid, (1985), p. 186.
6. F. Bohlmann, K. Knoll, H. Robinson, R.M. King, *Phytochemistry* **19**, 107 (1980).
7. A. Patra, A.K. Mitra, S.R. Mitra, C.L. Kirtaniya, N. Adityachaudrum, *Org. Magn. Reson.* **22** 190 (1984).
8. N. Ohno, T.J. Mabry, A. Zabel, W.H. Watson, *Phytochemistry* **18**, 1687 (1979).
9. P. Joseph-Nathan, J.R. Wesener, H. Gunther, *Org. Mag. Reson.* **22**, 190 (1984).