

ÁCIDOS Y ÉSTERES DITERPÉNICOS DE *Mikania banisteriae*

DITERPENE ACIDS AND ESTERS FROM *Mikania banisteriae*

Cecilia Espitia de Pérez*

Recibido: 16/09/03 – Aceptado: 12/12/03

RESUMEN

De la fracción soluble en diclorometano, del extracto etanólico de la parte aérea de *Mikania banisteriae* se aislaron y purificaron por métodos cromatográficos cinco compuestos cuyas estructuras fueron determinadas por métodos espectroscópicos. Las estructuras aisladas corresponden a los ácidos kaurénico y grandiflórico y a tres ésteres: benzoato, cinamato e isobutirato del ácido grandiflórico. Estos resultados contrastan con los obtenidos previamente para la misma especie, procedente de diferente zona geográfica, de la cual se aislaron otros diterpenos derivados del kaurano.

Palabras clave: *Mikania banisteriae*, Asteraceae, ácido kaurénico, ácido grandiflórico, ésteres del ácido grandiflórico.

ABSTRACT

The dichloromethane fraction from ethanolic extract of aerial parts of *Mikania banisteriae*, afforded kaurenoic acid, grandifloric acid and its ester derivatives: the benzoate, the cinnamate and the isobutirate. The structures were elucidated on the

basis of spectroscopic analysis. This results contrast with these obtained previously from the same specie, but gather in different geographic region, from which was isolated another kaurane derivatives.

Key words: *Mikania banisteriae*, Asteraceae, *Eupatoriae*, kaurenoic acid, grandifloric acid, grandifloric acid esters.

INTRODUCCIÓN

Del género *Mikania* se han estudiado químicamente cerca de 33 especies. Se han aislado principalmente terpenos altamente oxigenados, predominando las lactonas sequiterpénicas y los diterpenos. Entre los diterpenos (1-9), varios son derivados del kaureno. En Colombia las especies de este género son popularmente conocidas como "guaco" y han sido utilizadas en medicina popular, atribuyéndole a algunas de ellas propiedades contra la picadura de culebra (10).

En estudios previos sobre *M. banisteriae* se han identificado mono y sesquiterpenos en su aceite esencial (7) y derivados del kaureno dentro de los componentes fijos de su parte aérea (2,9).

* Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.
Correo electrónico: cespitiad@unal.edu.co

PARTE EXPERIMENTAL

La especie *Mikania banisteriae* se recolectó en las afueras de Villavicencio (Meta), fue clasificada taxonómicamente por el doctor Santiago Díaz, en el Herbario Nacional de Colombia reposa un ejemplar bajo el N.º COL 191514.

La parte aérea de la planta se secó al aire, se molió y se extrajo en soxhlet con etanol de 96% durante 48 horas. El extracto etanólico se evaporó a presión reducida hasta sequedad, se redissolvió en etanol acuoso (80%) y se sometió a una extracción líquido-líquido con CH_2Cl_2 . El extracto en diclorometano se secó con cloruro de calcio anhídrico y el solvente se evaporó a presión reducida. El extracto obtenido se fraccionó por CC en sílica gel utilizando como eluyente CH_2Cl_2 y mezclas CH_2Cl_2 -MeOH de polaridad creciente. Las fracciones obtenidas se purificaron por sucesivas CV y CCDP en sílica gel G 60 (CH_2Cl_2 -MeOH 9:1). Se obtuvieron cinco compuestos (1-5) cuyas estructuras se elucidaron por análisis espectroscópico. Los espectros RMN se tomaron en un equipo Bruker FT-200 Mhz.

Las características de estos compuestos se presentan a continuación.

Ácido 15α -hidroxikaur-16-en-19-oico (Ácido grandiflórico) 1

Cristales blancos (hexano-acetona), pf 227-229 °C; IR (KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3421 (OH), 1700 (CO); RMN¹H, CDCl_3 , δ : 0,97 (s,3H) CH_3 -20, 1,23 (s,3H) CH_3 -18, 2,73 (señal ancha,1H) H-13, 3,80 (s,1H) H-15, 5,07 (s,1H) H-17, 5,20 (s,1H) H-17; RMN¹³C MHz, CDCl_3 ; Tabla 1, asignaciones confirmadas por COSY y DEPT; EM: (70 eV) m/z (% int. rel.): 318 (50) [M]⁺, 303 (52) [M-CH₃]⁺, 300 (50) [M - H₂O]⁺, 285 (40) [300-CH₃]⁺, 272 (16) [300-CO]⁺

(% int. rel.): 318 (50) [M]⁺, 303 (52) [M-CH₃]⁺, 300 (50) [M - H₂O]⁺, 285 (40) [300-CH₃]⁺, 272 (16) [300-CO]⁺

Ácido 15α -benzoiloxikaur-16-en-19-oico (ácido benzoil grandiflórico) 2:

IR (KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3090, 1720, 1660, 1605; RMN¹H, CDCl_3 , δ : 0,98 (s,3H) CH_3 -20, 1,20 (s,3H) CH_3 -18, 2,85 (m,1H) H-13, 5,12 (s,1H) H-17, 5,18 (s,1H) H-17, 5,52 (s,1H) H-15, 7,5 (m,3H) H-Ar, 8,1 (m,2H) H-Ar; RMN¹³C, CDCl_3 , δ : Tabla 1, asignaciones confirmadas por COSY y DEPT; EM (70 eV) m/z (% int. rel.): 422 (26) [M]⁺, 407 (5) [M-CH₃]⁺, 300 (30) [M-C₆H₅COOH]⁺, 285 (22) [300-CH₃]⁺, 105 (100) [C₆H₅CO]⁺

Ácido 15α -cinamoiloxikaur-16-en-19-oico (ácido cinamoil grandiflórico) 3:

Cristales blancos (hexano-acetona), pf 210-212 °C; $[\alpha]^{18}_{\text{D}}$ (CHCl₃) -72°; IR (KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3420, 2865, 2928, 1718, 1700, 1640; RMN¹H, CDCl_3 , δ : 0,99 (s,3H) CH_3 -20, 1,28 (s,3H) CH_3 -18, 2,85 (señal ancha, 1H) H-13, 5,0 (s,1H) H-17, 5,1 (s,1H) H-17, 5,42 (s ancho,1H) H-15, 6,48 (d,J=16Hz,1H) H-3', 7,71 (d,J=16Hz,1H) H-2', 7,3 (m,3H) H-Ar, 7,5 (m,2H) H-Ar; RMN¹³C, CDCl_3 , δ : Tabla 1, asignaciones confirmadas por COSY y DEPT; EM (70 eV) m/z (% int. rel.): 448(7) [M]⁺, 300(37) [M-C₆H₅CH=CHCOOH]⁺, 285 (24) [300-Me]⁺, 147(16) [C₆H₅CH=CHCOO]⁺, 131(100) [C₆H₅CH=CHCO]⁺, 103(31) [C₆H₅CH=CH]⁺

Ácido 15α -Isobutiriloxikaur-16-en-19-oico (ácido isobutiril grandiflórico) 4:

IR (KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3090, 1720, 1660; RMN¹H: δ 0,92 (s,3H) CH_3 -20, 0,94

(d,3H) CH_3 -3', 1,15 (d,3H) CH_3 -4', 1,19 (s,3H) CH_3 -18, 2,50 (m,1H) H-2', 2,74 (s ancha,1H) H-13, 5,07 (s ancha,1H) H-15, 5,20 (s ancha,1H) H-17, 5,30 (s ancha,1H) H-17; RMN¹³C, CDCl_3 , δ : Tabla 1, asignaciones confirmadas por COSY y DEPT; EM (70 eV) m/z (% int. rel.): 388(40) [M]⁺, 373(24) [M- CH_3]⁺, 318(16) [M- H_2O]⁺, 300(100) [M- $\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$]⁺, 285(86) [300- CH_3]⁺, 71(28) [(CH_3)₂ CHCO]⁺, 43(62) [$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$]⁺.

Ácido Kaur-16-en-19-oico 5:

Se identificó por comparación con una muestra auténtica (11).

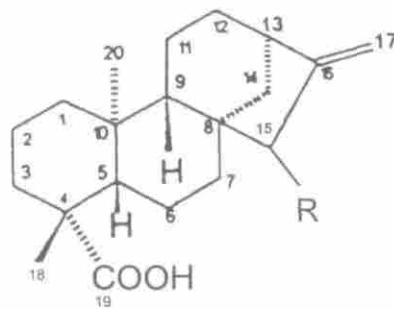
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto en diclorometano de la parte aérea de *M. banisteriae* se aislaron cinco compuestos. Las señales para los grupos metilo en RMN¹H y el espectro RMN¹³C (Tabla 1) de los compuestos 1-4 sugieren estructuras diterpénicas.

El espectro de masas de 1 indica un ión M⁺ a m/z 318 para una fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_3$. Se evidencia la presencia de un hidroxiácido. El espectro RMN¹³C muestra señales a δ 181,2 y 82,5, asignables a carbonos de un carboxilo y un hidroxilo respectivamente. Se observa la señal de un protón a δ 3,80, que por su desplazamiento debe corresponder al protón geminal al hidroxilo, estas asignaciones se confirman con los datos de su espectro RMN¹³C (ver Tabla 1). También en su espectro RMN¹H se encuentran señales a δ 5,07 y 5,20 asignables a los protones de un exometileno. Teniendo en cuenta el anterior análisis y las otras asignaciones hechas para el espectro RMN¹³C

(ver Tabla 1) la estructura de la sustancia 1 corresponde al ácido grandiflórico (Figura 1), sus constantes físicas y sus datos RMN¹H concuerdan con los datos en la literatura (8).

Las estructuras 2-4 se analizaron comparando sus datos espectroscópicos con los datos obtenidos para el compuesto 1. Los compuestos 1-4 muestran espectros RMN¹³C muy similares a la estructura 1 con señales adicionales diferentes, indicando para los tres compuestos la estructura básica del ácido grandiflórico con diferencia en sus sustituyentes. La diferencia estructural entre 1 y 2-4 resulta en la esterificación del hidroxilo en C-15. En la estructura 2 la presencia de un sustituyente benzoato en C-15 es evidente en los espectros RMN¹H y RMN¹³C (Tabla 1) por las señales de protones y carbonos aromáticos a δ 7,5 y 128,3-132,8 respectivamente y del grupo carbonilo en el espectro RMN¹³C a δ 166,5. El EM muestra un ión molecular a m/z 422, indicando



1: R = OH

2: R = OCOC₆H₅

3: R = OCOCH = CHC₆H₅

4: R = OCOCH(CH₃)₂

5: R = H

Figura 1

una fórmula molecular de $C_{27}H_{34}O_4$ con una señal a m/z 300 [$M - C_6H_5COOH$]⁺ y el pico base a m/z 100 [C_6H_5CO]⁺ que muestra la presencia de un sustituyente benzoato en el ácido grandiflórico, confirmándose así la estructura **2** como el benzoato del ácido grandiflórico (Figura 1). La presencia de esta estructura se ha indicado en la especie *M. cordata*, de donde no se aisló libre de la planta sino

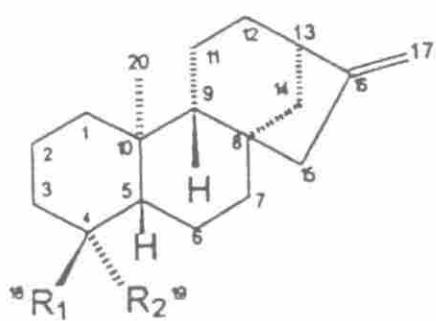
como su derivado ester metílico cuya estructura se determinó con base en sus espectros IR y EM (5).

Para la estructura **3** se deduce una fórmula molecular $C_{29}H_{36}O_4$ (M^+ a m/z 448). La comparación de los datos espectroscópicos de este compuesto con el compuesto **2** muestra diferencia en el sustituyente de la función ester. El compuesto **3** presenta dos carbonos más y el RMN¹H presenta dos señales dobles a δ 6,48 y 7,71, típicas de un sistema AB que debe corresponder a H-2' y H-3' en posición trans ($J_{AB} = 16$ Hz), de un sustituyente cinamato, confirmado por el espectro de masas que muestra un ión a m/z 300, que corresponde a la pérdida de ácido cinámico del ión molecular. Esta estructura concuerda con la aislada previamente de la especie *Mikania oblongifolia*, pero la rotación específica de **3** es de signo contrario, $[\alpha]^{18}_D = -72$, lo cual indica que esta estructura corresponde al enantiómero de la previamente aislada, $[\alpha]^{22}_D = +70^\circ$ (8).

El compuesto **4** presenta en su EM un ión molecular m/z 388, que corresponde a una fórmula $C_{24}H_{36}O_4$; se observa cómo en los casos anteriores un ión a m/z 300, explicable por la pérdida de $C_4H_8O_2$, concuerda con la pérdida de ácido butírico, indicando que **4** corresponde al butirato del ácido grandiflóri-

Tabla 1. RMN¹³C (CDCl₃) δ , ppm. Compuestos **1-4**

Asignación	1	2	3	4
C-1	40,7	40,5	40,7	40,5
C-2	18,1	18,4	18,5	18,4
C-3	37,9	37,7	37,8	37,8
C-4	43,4	43,8	43,8	43,6
C-5	56,8	58,5	56,8	56,5
C-6	20,9	20,7	20,9	20,7
C-7	35,1	34,9	35	34,9
C-8	47,8	47,9	48	47,9
C-9	53,2	52,9	53,1	52,9
C-10	39,8	39,8	39,9	39,8
C-11	19	19	19,1	19
C-12	32,5	32,8	32,7	32,6
C-13	42,2	42,8	42,7	42,6
C-14	39,7	37,4	37,4	37,4
C-15	82,5	83,5	83,1	82,2
C-16	160,1	155,1	155,4	155,1
C-17	108,8	110,4	110,1	109
C-18	28,9	28,7	28,9	28,8
C-19	181,2	183	184,3	184,4
C-20	15,7	15,7	15,8	15,7
C-1'		166,5	166,9	168
C-2'		130,6	130,1	47,8
C-3'		132,8	144,7	34
C-4'		129,6	134,6	37,1
C-5'			128,8	
C-6'		129,6	128	
C-7'		128,3	118	
C-8'			128	
C-9'			128,8	



- 1: $R_1 = CH_3OH$; $R_2 = CH_3$
 2: $R_1 = CH_2OAc$; $R_2 = CH_3$
 3: $R_1 = CHO$; $R_2 = CH_3$
 4: $R_1 = COOH$; $R_2 = CH_3$
 5: $R_1 = CH_2OAc$; $R_2 = CH_2OAc$

Figura 2

co. En el espectro RMN¹H se observan las señales típicas de un grupo isobutirilo a δ 2, 50 ppm, señal múltiple que integra para un protón y las señales correspondientes a los grupos metilo. Esta estructura, al igual que la 2, se ha aislado previamente de *M. cordata* como su derivado ester metílico, y su estructura se ha determinado con base en los espectros IR y EM (5).

Las estructuras anteriores fueron confirmadas por RMN¹³C (ver Tabla 1), donde se pueden apreciar muy bien las correlaciones de éstas con la del ácido grandiflórico.

La estructura del compuesto 5 corresponde al ácido kaurénico. Sus datos espectroscópicos y constantes físicas coinciden con una muestra auténtica, previamente aislada (11).

Los resultados obtenidos en este trabajo contrastan con los obtenidos en estudios previos sobre la misma especie (2,9), donde se indica el aislamiento de otros terpenos derivados del kaureno (Figura 2), compuestos que no fueron encontrados en este estudio. Igualmente resulta interesante haber aislado este tipo de esteres, de rara ocurrencia en las plantas, y aislar los compuestos 2 y 4 en su forma libre y no derivatizados, que es como se han reportado. La variación encontrada en los constituyentes de la especie *M. banisteriae* estudiada en este trabajo, con la estudiada previamente por otros autores, constituye una base para continuar los estudios tendientes a establecer si este hecho se debe a diferencias taxonómicas de la especie, a su variedad, o a otros factores tales como los ambientales o geográficos. Igualmente, al encontrar el enantiómero 3 se plantean interrogantes con relación a la biosíntesis de dichos compuestos.

Agradecimientos

A la DIB, Universidad Nacional de Colombia por la financiación del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Herz, W.; Kulanthaivel, P. (1985). Diterpenes and sequiterpene lactones from *Mikania congesta*. Phytochemistry. **24**(8): 1761-68.
2. Castro, V.; Jakupovic, J. (1985). 4 β -19-epoxy-nor- kaurene and other diterpenes from *Mikania banisteriae*. Phytochemistry. **24**(10): 2450-51.

3. Cruz, F. G.; Roque, F. N. (1992). Diterpene acids from *Mikania triangulifolia*. *Phytochemistry* **31**(8): 2793-2796.
4. Knudsen, F.; Vilegas, W.; Oliveira, F.; Roque, N. (1986). Pimaradiene diterpenes from *Mikania triangulifolia*. *Phytochemistry* **25**(5): 1240-42.
5. Bohlmann, F.; Natu, A. A.; Mahanta, P. K. (1978). Neue diterpene und germacranolide aus *Mikania-Arten*. *Phytochemistry* **17**: 483-85.
6. Bohlmann, F.; Adler, A.; Schuster, A.; Gupta, R. K.; King, R. M.; Robinson, H. (1981). Diterpenes from *Mikania species*. *Phytochemistry* **20**(8): 1899-1902.
7. Da Silva, M.; Luz, A. I. R.; Zoghbi, M. G. B.; Ramos, L. S.; Maia, J. G. S. (1984). Essential oils of some amazonian *Mikania species*. *Phytochemistry* **23**(10): 2374-76.
8. Vichnewski, W.; Filho, H.; Mura-ri, R.; Herz, W. (1977). Cinnamoyl-grandifloric acid from *Mikania oblongifolia*. *Phytochemistry* **16**: 2028-29.
9. Lobitz, G.O.; Tamayo-Castillo, G.; Merfort, I. (1997). Diterpenes and sesquiterpenes from *Mikania bani-steriae*. *Phytochemistry* **46** (1): 161-164.
10. García Barriga, H. (1975). Flora Medicinal de Colombia: Bogotá, pp. 362-69.
11. Espitia de Pérez, C.; Cocunubo, J. (1989). Constituyentes de *Ageratina arbutifolia*. *Rev. Col. Quim.* **18**: 47-51.