



ACTIVIDAD GASTROPROTECTORA DE LOS TERPENOS ÁCIDO CIPERENOICO, JATROFONA, SUS DERIVADOS NATURALES Y SEMISINTÉTICOS

**MARIANO PERTINO
DOCTOR EN CIENCIAS, MENCIÓN INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO DE PRODUCTOS NATURALES**

RESUMEN

Jatropha isabelli Muell. Arg. (Euphorbiaceae), es conocida en Paraguay como “yagua rova” y una infusión, de ^Λcocción o maceración de los rizomas es usada en la medicina tradicional como digestivo. En el marco de esta Tesis se investigó la actividad gastroprotectora y citotoxicidad de productos naturales y sus derivados semisintéticos, obtenidos de *J. isabelli*. De los rizomas se aislaron el triterpeno ácido acetil aleuritólico (1), el sesquiterpeno ácido ciperenoico (2), los diterpenos jatrofona (3) y las jatrolonas A (4) y B (5), un nuevo diterpeno al cual hemos llamado 9β , 13β -dihidroxiisabellona (6) y el monoterpeno 1,4-epoxi-p-mentan-2-ol (7). Los compuestos mayoritarios (1-5) fueron evaluados como gastroprotectores, por vía oral, en el modelo de úlcera gástrica inducida por HCl/EtOH en ratones. Los compuestos 1, 2 y 4 se evaluaron a tres diferentes dosis (25, 50 y 100 mg/kg) y los compuestos 3 y 5 se ensayaron en cinco dosis (6, 12, 25, 50 y 100 mg/kg). Todos los productos mostraron efecto gastroprotector relevante y esta actividad fue dependiente de la dosis. Se seleccionaron para proseguir la investigación los compuestos mayoritarios 2, 3, 4 y 5. A partir del ácido ciperenoico (2) se prepararon 7 derivados (8-14) los cuales se ensayaron a una dosis de 50 mg/kg. El mejor efecto gastroprotector de esta serie fue presentado por el ácido 15-patchoulanoico (14), reduciendo el índice de lesión en un 86%, mientras que el efecto del ciperenol, metil éster del ácido ciperenoico y las etil y butilamidas del ácido ciperenoico se mantuvo en el mismo rango reduciendo las lesiones gástricas entre 72 y 77%. Sin embargo, el ciperenol y el metil éster del ácido ciperenoico fueron más citotóxicos que las amidas, con valores de IC₅₀ de 48 y 75 μ M para el

ciperenol y 44 y 75 μM para el metil ester, sobre células AGS y fibroblastos respectivamente. Partiendo de los diterpenos 4 y 5, se prepararon por reacciones de semisíntesis 16 derivados, de los cuales 12 son nuevos. La biotransformación de jatrofona (3) por *Aspergillus Níger* produjo el nuevo diterpeno 9 β -hidroxiisabelona (31). Jatrofona mostró efecto gastroprotector muy fuerte a las dosis de 25, 50 y 100 mg/kg, reduciendo las lesiones entre 80-93%, decreciendo su efecto a la dosis de 12 mg/kg (57%) y desapareciendo este a la dosis de 6 mg/kg. Mientras jatrolona A presentó efecto asociado a la dosis, con el efecto máximo (reducción de la lesión del 54%) a 100 mg/kg, la jatrolona B demostró acción gastroprotectora muy fuerte aun a la dosis más baja (6 mg/kg, 65% reducción de lesiones), disminuyendo las lesiones en un 83 a 91% entre las dosis de 12 a 100 mg/kg. Teniendo en cuenta las curvas de dosis respuesta de las jatrolonas A y B se decidió evaluar los derivados de la jatrolona A a 100 mg/kg y los derivados de la jatrolona B, así como los compuestos 27-30, a 25 mg/kg. En los derivados de jatrolona B, fue observada una disminución de la actividad gastroprotectora tanto para los derivados éteres como para los ésteres, en comparación con el compuesto de partida que presentaba un grupo OH libre en C-14. En los derivados de jatrolona A los éteres metílicos y propílicos de esta serie presentaron un efecto gastroprotector mejor que el producto natural. La esterificación del OH fenólico redujo el efecto gastroprotector a excepción del derivado 20. La adición de un grupo metilo adicional en C-2 condujo a la pérdida de selectividad estereoquímica en la molécula. La jatrofona presentó una citotoxicidad alta, con valores de IC₅₀ de 2,8 μM en fibroblastos y 2,5 μM para células AGS. La jatrolona B no fue citotóxica sobre fibroblastos y células AGS, mientras la jatrolona A exhibió una alta selectividad contra las células AGS (IC₅₀: 49 μM). Al comparar el efecto citotóxico de las jatrolonas A y B contra las células AGS, es clara la importancia de la estereoquímica, como puede comprobarse comparando los valores de IC₅₀ de 49 μM y >1000 μM para los isómeros β y α en C-16, respectivamente. En total, se aislaron y obtuvieron por semisíntesis 31 compuestos, de los cuales dos productos naturales son nuevos, así como 16 derivados de semisíntesis. Los resultados obtenidos sugieren un gran

potencial de los diterpenos de Euphorbiaceae como fuente de nuevos productos gastroprotectores de origen semisintético.

Palabras claves: *Jatropha isabelli*, Euphorbiaceae, Efecto gastroprotector, Citotoxicidad, Acido ciperenoico, Jatrofona, Jat rofolonas A y B, Semisintesis, Biotransformacion.

ABSTRACT.

Jatropha isabelli rhizomes have a long historical use as a digestive herbal remedy in Paraguayan traditional medicine. It is prepared as an infusion, decoction or maceration. The present work is aimed toward the study of gastroprotective and cytotoxic activities of natural compounds and some semisynthetic derivatives obtained from rhizomes of *J. isabelli*. The following compounds were isolated after carrying out the extraction procedures: the triterpene acetyl aleuritolic acid (1), the sesquiterpene cyperenoic acid (2), the diterpenes jatrophone (3) and jatropholones A (4) and B (5), a new jatrophone derivative (6) and a monoterpene (7). The gastroprotective effect of the compounds (1-5) was assessed in the HCl/EtOH-induced gastric lesions model in mice. The main plant compounds 2, 3, 4 and 5 were selected for further investigation. The biotransformation of jatrophone (3) by *Aspergillus niger* produced the new diterpene 9 β -hydroxyisabellione (31). The gastroprotective effect of cyperenoic acid and 7 semisynthetic derivatives (8-14) was assessed at a single oral dose of 50 mg/kg. The compound 15-patchoulanoic acid (14) presented the best gastroprotective effect, reducing gastric lesions by 86%. The gastroprotective effects shown by cyperenol, cyperenoic acid methyl ester and the ethyl- and butylamides obtained from cyperenoic acid were in the same range, reducing gastric lesions by 72-77%. Cyperenol and cyperenoic acid methyl ester, however, were more cytotoxic. Starting with the diterpenes 4 and 5, 16 derivatives were prepared by semisynthesis, 12 of which are reported for the first time. Jatrophone elicited a strong gastroprotective effect at doses of 25, 50 and 100 mg/kg reducing lesions between 88-93%. At a dose of 12 mg/kg the effect was reduced (57%) and no effect was observed at 6 mg/kg dose. Jatropholone A presented a dose-related response, with a maximum effect (54% lesion reduction) at 100 mg/kg. Jatropholone B showed a strong action at all the doses, reducing lesions by 65-91%. The jatropholone A derivatives were compared at 100 mg/kg while the jatropholone B derivatives and the compounds 27-30 were assessed at 25 mg/kg. A decrease in gastroprotective activity was observed both, for the ether as well as

for the ester derivatives of jatropholone B, compared with the parent compound presenting a free OH group at C-14. In the jatropholone A derivatives, the methyl and propyl ethers presented a better gastroprotective effect than the natural product. Esterification of the phenolic OH reduced the gastroprotective effect. The placement of an additional methyl group at C-2 led to stereochemistry selectivity loss at this place of the molecule. The cytotoxicity of compounds was assessed towards fibroblasts and AGS cells. Jatrophone was toxic against both cell lines (IC₅₀ values: 2.8 and 2.5 μ M, respectively). Jatropholone B (5) was not cytotoxic while jatropholone A (4) displayed a selective effect against AGS cells (IC₅₀: 49 μ M). The relevance of stereochemistry in the biological effects is clear comparing the effect of jatropholone A and B against AGS cells, with IC₅₀ values of 49 and >1000 μ M for the β and α C-16 isomers, respectively.

Altogether, 31 compounds were isolated or obtained by semisynthesis. Two natural products are described for the first time, as well as 16 semisynthesis derivatives. The obtained results suggest a great potential for Euphorbiaceae diterpenes as a source of new gastroprotective products of semisynthetic origin.

Keywords: *Jatropha isabelli*, Euphorbiaceae, Gastroprotective effect, Cytotoxicity, Ciperenoic acid, Jatrophone, Jatropholones A and B, Semisynthesis, Biotransformation.