

## ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD DE SAPOGENINAS TRITERPENICAS

### RESUMEN

La leishmaniasis es una enfermedad ampliamente difundida en América latina, desafortunadamente para su tratamiento hay muy pocas drogas, que también tienen una baja efectividad. Por esta razón el mundo urge de nuevas y más efectivas moléculas.

En la búsqueda de sustancias antiparasitarias se detectó una alta actividad leishmanicida de *Sapindus saponaria* ricas en sapogeninas. El fraccionamiento y posterior purificación se obtuvieron tres sapogeninas triterpénicas cuyas estructuras se describen en este artículo.

**PALABRAS CLAVES:** *Leishmania (V.) panamensis*, leishmaniasis cutánea, *Sapindus saponaria*, saponinas triterpénicas.

### ABSTRACT

Leishmaniasis is a disease widely spread in Latin America. Unfortunately, there are very few medicaments and also with low effectiveness for its treatment. Therefore the world is demanding new and more effective molecules.

In the searching of antiparasitic substances we detected a high leishmanicidal of *Sapindus saponaria*. Through the fractionation and later purification three triterpene sapogenin were obtained whose structure are described in this work.

**KEYWORDS:** *Leishmania (V.) panamensis*, cutaneous leishmaniasis, *Sapindus saponaria*, triterpene saponins.

### NATALIA HERRERA L.

Bióloga. Universidad de Antioquia  
nahelo241980@gmail.com

### EDWIN CORREA

Químico Farmacéutico  
Universidad de Antioquia

### DIANA CARDONA

Ph.D. Ciencias Químicas  
Universidad de Antioquia

### ROSENDO ARCHBOLD

MSc. Docencia  
Universidad de Antioquia

### FERNANDO TORRES

Ph.D. Ciencias Químicas  
Universidad de Antioquia

### WISTON QUIÑONES

Ph.D. Ciencias Químicas  
Universidad de Antioquia

### IVAN D. VELEZ

Ph. D.  
Universidad de Antioquia  
PECET

### SARA ROBLEDO

Ph. D.  
Universidad de Antioquia

### FERNANDO ECHEVERRI

Ph.D. Ciencias Químicas  
Universidad de Antioquia  
Grupo QOPN  
echeveri@quimbaya.udea.edu.co

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por parásitos son una de las principales causas de muerte en Colombia. La leishmaniasis es una de estas parasitosis humanas que en los últimos años esta presentando un aumento significativo generando mucho interés en salud pública debido a su gran poder epidémico, el riesgo de las lesiones que produce y la posibilidad de ser evitable mediante medidas preventivas y acciones regulares de vigilancia y control. En los últimos años se han reportado en promedio 5.000 casos nuevos de leishmaniasis en Colombia, siendo una patología endémica en casi todo el territorio colombiano, se estima que en el país existen alrededor de 10 millones de personas en riesgo, siendo la transmisión principalmente rural [1]. En el país se

presentan las tres formas clínicas de la enfermedad, siendo la más frecuente la cutánea (95% de los casos).

Se estima que hay una incidencia por año de 1.5 millones en los focos endémicos [2]. La gravedad creciente del problema de salud pública generado por las enfermedades tropicales transmitidas por vectores hace que se busquen nuevas alternativas y nuevos fármacos debido a que los parásitos van adquiriendo resistencia y por lo tanto se va perdiendo la capacidad efectiva de los compuestos disponibles para el control de estas enfermedades [3]. La identificación y utilización de diferentes compuestos bioactivos que tengan un mayor impacto en las parasitosis humanas, fortalecerían el

desarrollo de diferentes tratamientos y consecuentemente se podrían beneficiar millones de personas en Colombia y en América latina.

En un trabajo preliminar se detecto que extractos crudos de la especie colombiana *Sapindus saponaria*, (Sapindaceae), muestran un efecto leishmanicida. Las especies de esta familia se caracterizan por la presencia de saponinas triterpénicas, sustancias que poseen propiedades farmacológicas tales como hemolíticas, antimicrobiales, insecticidas, molusquicidas y antitumorales [4], [5]. Actualmente se reportan estos compuestos en especies de otras familias de plantas como *Quillaja saponaria* (Rosaceae) [6], *Zizyphus jujuba* var. *sapinoso* y [7] y el hongo *Ganoderma atrum* [8]. Las saponinas de *Maesa balansae* (Myrsinaceae) [9] se han estudiado contra parásitos que ocasionan la leishmaniasis visceral [10].

En este trabajo se describe el aislamiento y la elucidación estructural de dos saponinas presentes en las fracciones de *Sapindus saponaria* y se obtiene un perfil cromatográfico y de RMN de su composición

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Obtención de extractos

Los frutos de la planta fueron colectados la ciudad de Medellín; un ejemplar esta depositado en el HUA No. 156643

### 2.2 Aislamiento

Aproximadamente 3k de frutos secos de *Sapindus saponaria* fueron extraídos con EtOH al 96%, filtrado al vacío y evaporado hasta obtener el extracto totalmente seco.

### 2.3 Fraccionamiento y purificación de compuestos

El Extracto crudo se extrajo con la mezcla n-hexano-diclorometano-metanol (2:1:1); a continuación la mezcla se separo por una columna de sephadex LH-20 eluyendo con la misma mezcla y obteniéndose 25 fracciones, que fueron reunidas en solo cinco fracciones (1S-5S) de acuerdo a su composición en ccf, cromatoplas Merck, diclorometano-metanol 4.7-0.3, con la siguiente distribución; compuestos poco polares (1S), medianamente polares (2S, 3S y 4S) y muy polares (5S). Estas fracciones se analizaron en su actividad leishmanicida.

La fracción S3 fue posteriormente fraccionada Aproximadamente 12g de extracto crudo S3 fueron cromatografiados en una columna de sílica gel, utilizando una mezcla de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (95:5) como fase móvil (10L). Se obtuvieron 620 fracciones, de las cuales la 429,

462 y 562 produjeron compuestos puros cuya estructura se analizó por <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C RMN.

Los perfiles de la composición se obtuvieron realizando cromatografías en capa fina del extracto crudo y de varias fracciones en cromatoplas de sílica gel 0.25 (Merck) en el sistema CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH (4.5-0.5, v/v) y tratando las placas con revelador universal. En cuanto al perfil de RMN se tomaron los espectros del mismo material empleado para la cromatografía, en acetona o metanol deuterados, en un equipo Bruker AMX 300.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Perfil cromatográfico

En la figura 1 se muestra la cromatografía en capa fina de las fracciones 1S-5S, cuyo color al revelar la placa es característicos de triterpenoides. La fracción 1S está compuesta de sustancias poco polares, mientras que las 2S, 3S, 4S corresponden a sustancias medianamente polares y la última a compuestos muy polares (Figura 1). De esta manera se detectan 10-12 compuestos, aunque predominan en cantidad y en diversidad las saponinas medianamente y las muy polares.

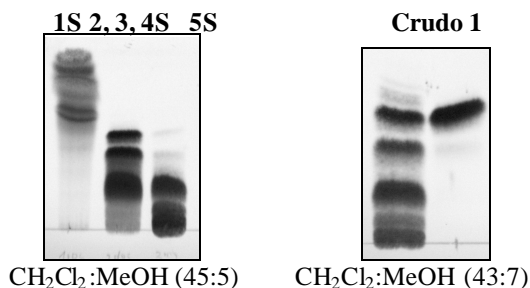


Figura 1. Perfil cromatográfico de saponinas de *S. saponaria*.

### 3.2 Estructura de los compuestos

Varias fracciones de *S. saponaria* mostraron en general una alta actividad y ocasionalmente también una alta actividad citotóxica.

La estructura de los compuestos aislados de la fracción de polaridad media es muy similar, puesto que los desplazamientos químicos del sistema de la aglicona son casi idénticos. Sus espectros de RMN muestran además una alta complejidad; así, el espectro de <sup>1</sup>H RMN indica ocho grupos metilo entre 0.70-1.30 ppm, entre ellos un doblete en 1.20 ppm asignable al metilo de la rhamnosa; así mismo se detectan otros dos metilos de grupos acetoxilo en 2.10 y 2.17 ppm y varios multipletes en la zona 3.4-5.5 ppm; finalmente hay una señal ancha en 5.4 ppm correspondiente a un protón anomérico y a otro vinílico.

El experimento JMOD permite detectar cerca de cuarenta y ocho átomos de carbono, entre los cuales se aprecian los correspondientes a grupos metilo en 14.2, 16.9, 1.3, 18.7, 21.3, 21.5, 24.5, 27.0 y 34.2 ppm; tres oximetilenos en 63.9, 64.6, 65.1 ppm, diez oximetinos entre 70.8 y 83.7 ppm, tres carbonos anoméricos en 101.3, 104.2 y 106.5 ppm, además de un doble enlace en 123.6 (CH) y 145.5 (Cq), señales para carbonilos de acetoxilo en 171.07 y 171.70 ppm y finalmente un carboxilo en 179.7 ppm. Esto indica una sapogenina triterpénica del tipo hederagenina [11] (figura 2), que posee un residuo triglicosídado unido en la posición C-3 de acuerdo al experimento HMBC.

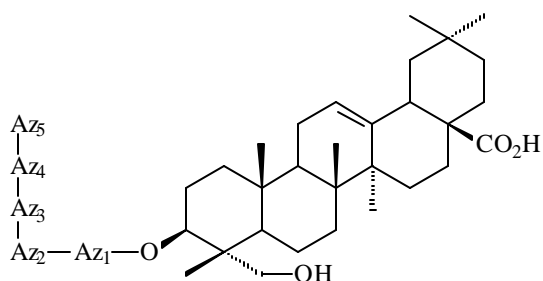


Figura 2. Estructura general de metabolitos de *S. saponaria*

La diferencia entre la estructura de los tres compuestos, radica en el tipo y la secuencia del resto glicosídico, que para el primer caso es del tipo Ara-Rha-Ar' (esta última diacetoxilada), y para los otros compuestos parecen incluir además una y dos unidades de glucosa respectivamente. Un perfil similar se aprecia para otros componentes mayoritarios de la compleja mezcla de sapogeninas de esta planta.

### 3. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia, Planeación Nacional y Colciencias por la financiación de este trabajo

### 4. BIBLIOGRAFÍA

[1]. Ministerio de Salud. 2005. Informe Leishmaniasis I Semestre De 2005. Sivegila Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. República de Colombia. [http://www.ins.gov.co/pdf/vcsp/informe\\_leishmaniasis\\_1sem\\_2005.pdf](http://www.ins.gov.co/pdf/vcsp/informe_leishmaniasis_1sem_2005.pdf). Fecha de acceso enero 13 de 2006.

[2]. Scientific Working Group, Report on Leishmaniasis, World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, Geneva, Switzerland. p.10,14,73. 2004. <http://www.who.int/tdr/>. Fecha de acceso mayo 20 de 2006.

[3]. U N D P / W o r l d B a n k / W H O Special Programme for Research and Training in Tropical

Diseases (TDR). Drugs against parasitic diseases: R&D methodologies and issues, Ed. A.H. Fairlamb, R.G. Ridley, H.J. Vial, Copyright © World Health Organization on behalf of the Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases 2003.

[4]. VINCKEN, Jean Paul., HENG, Lynn., DE GROOT, Aede, GRUPPEN, Harry. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom, *Phytochemistry* 68, 275–297 (2007).

[5]. CHAN, Pui-Kwong. Acylation with diangeloyl groups at C21–22 positions in triterpenoid saponins is essential for cytotoxicity towards tumor cells. *Biochemical Pharmacology* 7, 3341–3350 (2007).

[6]. DE SOUSA, Palatnik., SANTOS, C. B., CASAS, W. R., DE SOUZA, C. P., PARAGUAI, E., TINOCO, L. W., DA SILVA, B. P., PALATNIK, M., PARENTE, J. P. Protective vaccination against murine visceral leishmaniasis using aldehyde-containing *Quillaja saponaria* sapogenins. *Vaccine* 22, 2470–2479 (2004).

[7]. JINGJING, Liu., CHEN, Bo., SHOUZHUO, Yao. Simultaneous analysis and identification of main bioactive constituents in extract of *Zizyphus jujuba* var. *sapinosa* (*Zizyphi spinosi* semen) by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection–electrospray mass spectrometry, *Talanta* 71, 668–675, (2007).

[8]. YI, Chen., MING-YONG, Xie., XIAO-FENG, Gong. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. *Journal of Food Engineering* 81, 162–170 (2007).

[9]. MAES, Louis., BERGHE, Dirk Vanden., GERMONPREZ, Nils., QUIRIJNEN, Ludo., COS, Paul., DE KIMPE, Norbert., PUYVELDE, Luc Van. *In Vitro* and *In Vivo* Activities of a Triterpenoid Saponin Extract (PX-6518) from the Plant *Maesa balansae* against Visceral *Leishmania* Species, *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 48, 130–136 (2004)

[10] GERMONPREZ, Nils., MAES, Louis., PUYVELDE, Luc Van., TRI, Mai Van., TUAN, Duong Anh., DE KIMPE, Norbert., *In Vitro* and *In Vivo* Anti-Leishmanial Activity of Triterpenoid Saponins Isolated from *Maesa balansae* and Some Chemical Derivatives *J. Med. Chem.* 48 32–37 (2005)

[11] HUANG, HC, LIAO, S-C, CHANG, F-R., KUO, Y-H., WU, Y-C. Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of Golden Apple snail, *Pomacea canaliculata*. *J. Agric. Food Chem.* 57, 4916–4919 (2003)

[12] LAMIDI, M., DIGIORGIO, C., DELMAS, F., FAVELC, A., EYELE Mve-Mbaa, C., RONDI, M.L., OLLIVIER, E., NZE-EKEKANG, L., BALANSARD, G.

In vitro cytotoxic, antileishmanial and antifungal activities of ethnopharmacologically selected Gabonese plants, *Journal of Ethnopharmacology* 102,185–190 (2005).

[13] FERREIRA, M.E., ROJAS DE ARIAS, A., TORRES DE ORTIZ, S., INCHAUSTI, A., NAKAYAMA, H., THOUVENEL, C., HOCQUEMILLER, R., FOURNET, A. Leishmanicidal activity of two canthin-6-one alkaloids, two major constituents of *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*, *Journal of Ethnopharmacology* 80,199-202 (2002).

[14]. CHAN, Pui-Kwong., Acylation with diangeloyl groups at C21–22 positions in triterpenoid saponins is essential for cytotoxicity towards tumor cells, *biochemical pharmacology* 73, 341–350 (2007).