

DITERPENOS NATURALES Y SEMISINTÉTICOS: COMPOSICIÓN DE LA RESINA DE *Austrocedrus chilensis* Y EFECTO GASTROPROTECTOR DE DERIVADOS DEL LABDANO

**VERONICA RACHEL OLATE OLAVE
DOCTORADO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO DE PRODUCTOS BIOACTIVOS**

RESUMEN

Las úlceras gástricas y duodenales son enfermedades digestivas que afectan a un porcentaje relevante de la población mundial. Su tratamiento ha evolucionado desde el uso de antiácidos hasta drogas antisecretoras. Según datos de literatura, en las últimas décadas se han descrito numerosos compuestos gastroprotectores, que incluyen entre otros, varios terpenos de origen natural. Este hecho nos motivó a realizar una investigación tendiente a obtener nuevos productos con potencial como agentes gastroprotectores. Para ello, se realizaron modificaciones estructurales del diterpeno ácido 12-oxo-labda-8(17),13*E*-dien-19 oico (PMD) y su isómero 8(9)-en. Se prepararon una serie de amidas de este compuesto, empleando la función ácido carboxílico del diterpeno para formar nuevos productos con aminoácidos C-protectidos y aminas aromáticas. Además, se realizaron ensayos de preparación de compuestos híbridos utilizando terpenos y quinonas, mediante reacciones de esterificación. Los compuestos obtenidos en cantidad suficiente fueron evaluados como gastroprotectores en el modelo de las lesiones gástricas inducida por etanol-ácido clorhídrico en ratones y se determinó la citotoxicidad de todos los nuevos productos en tres líneas celulares humanas. Los resultados indican que las nuevas amidas mostraron el mejor efecto gastroprotector descrito hasta la fecha para ese tipo de compuestos, lo que podría estar relacionado con la configuración del ácido carboxílico en C-18, que difiere de otros labdanos. El compuesto con el que se realizó el estudio de efecto gastroprotector presenta similitudes estructurales con diterpenos que se han descrito en la familia Cupressaceae de las Gimnospermas. Las resinas de gimnospermas son una interesante fuente de metabolitos secundarios, principalmente terpenos y, junto a otros tipos de exudados, constituyen uno de los mecanismos de defensa más importantes de este grupo de plantas. Una de las gimnospermas nativas de Chile, es la cupresácea *Austrocedrus chilensis* [D. Don]

Florin *et* Boutelje, también llamada “ciprés de cordillera”. Es una especie endémica de los bosques 2 de Chile y Argentina. La información acerca de la composición química de su resina es escasa, por lo que se propuso investigar los metabolitos de la resina de *Austrocedrus chilensis*, con el fin de identificar sus principales constituyentes. Se identificaron en total, diecisiete diterpenos, de los cuales, catorce son reportados por primera vez en esta especie. Uno de ellos, el ácido 12-oxolabda- 8(17),13*E*-dien-19 oico es descrito como un producto natural nuevo. Esta investigación ha permitido elucidar la composición de la resina de esta especie nativa. Al comparar los perfiles cromatográficos de resinas de *Austrocedrus chilensis* se detectaron diferencias en la composición relativa de sus constituyentes, por lo que se llevó a cabo un estudio comparativo, analizando 44 muestras de resina provenientes de individuos masculinos y femeninos, recolectadas en tres fechas diferentes (primavera, verano e invierno) en la misma población de árboles maduros. Se calculó la proporción relativa porcentual de los diterpenos mayoritarios y se realizaron análisis estadísticos, incluyendo un Análisis de Componentes Principales (PCA) y pruebas de comparación de medianas. Se comprobó que existen diferencias significativas en la composición de diterpenos de la resina de *Austrocedrus chilensis* de acuerdo al sexo de los individuos (femenino o masculino) y de acuerdo a la fecha de colecta (estacionalidad). Se desarrolló una metodología rápida para la dereplicación de componentes de la resina de esta especie, aplicable a otras especies de gimnospermas.

ABSTRACT

Gastric and duodenal ulcers are digestive ailments affecting a relevant number of individuals all over the world. The treatment of gastric ulcers has evolved from the use of anti-acids to anti-secretory drugs. According to literature, in the last decades several gastroprotective compounds have been described, including terpenes. This fact prompted us to disclose the potential of new diterpene derivatives as gastroprotective compounds. Starting from the diterpene 12-oxo-labda-8(17),13E-dien-19 oic acid and its 8(9)-en isomer, several new amides were prepared using C-protected amino acids and aromatic amines. Some assays were also performed to prepare hybrid compounds using terpenes and quinones. The compounds obtained in sufficient amount were evaluated as gastroprotective agents in the ethanol-hydrochloric acid induced gastric ulcer model in mice. The cytotoxicity of all new compounds was assessed in three different human cell lines. The results showed that the new amides presented a high gastroprotective effect, that could be related with the configuration of the C-18 carboxylic acid, which differs from other labdanes previously investigated as well as the double bond in the side chain. The compound investigated for gastroprotective effect shows structural similarities with diterpenes described in some species of Cupressaceae, belonging to the gymnosperms. The resins of gymnosperms are an interesting source of secondary metabolites, mainly terpenes. The resins and other exudates are considered as one of the most important defense mechanisms in gymnosperms. The Cupressaceae *Austrocedrus chilensis* [D. Don] Florin et Boutelje is a native gymnosperm occurring in the western Andean slopes of southern Chile. It is known as "ciprés de cordillera" and is an endemic species from Chilean and Argentinian forests. Scarce information on the chemical composition of its resin is available. In order to identify the main constituents in the resin of *Austrocedrus chilensis*, a study was undertaken using resin from several individuals growing in a mature stand in central Chile. Seventeen compounds were detected in the resin; fourteen of them were reported by the first time for the species. The diterpene 12-oxo-labda-8(17),13E-dien-19 oic acid is reported as a new natural product. This work allowed to disclose the chemical composition of the resin of *A. chilensis*. When the chromatographic profiles from single drops of *Austrocedrus*

chilensis resin were compared, relevant differences on the relative composition of its constituents were detected. A comparative study of resin constituents was carried out analyzing 44 single resin samples from mature male and female individuals from the same population, collected in three different seasons of the year (spring, summer and winter). The percent relative composition of the main diterpenes in the resin was analyzed by GC-MS and NMR and the results were assessed by statistical means. A Principal Component Analysis (PCA) and median comparison tests were carried out. The results showed significant statistical differences in the resin diterpene composition of *A. chilensis* according to the gender (female or male) and collection time of the resin (season). A methodology for a fast dereplication of constituents in *A. chilensis* resin was developed and can be applied to the study of other gymnosperm species.