

DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE VALENCIA

“SEMISINTESIS ESTEREOSELECTIVA DEL 3- β -D-GLUCOSIDO DEL
-SITOSTEROL, PRINCIPIO ANTIHIPERGLUCEMIANTE DE *CENTAUREA*
SERIDIS L. VAR. *MARITIMA* LGE.”

A. Villar del Fresno; M. Paya Peris y R. Zaragoza Moreno

RESUMEN

Se han establecido las condiciones operatorias para la semisíntesis estereoselectiva del 3- β -D-glucósido del β -sitosterol, principio antihiperglucemiante aislado de la sumidad florida de *Centaurea seridis* L. var. *maritima* Lge. El rendimiento del proceso fue de 11,6 por ciento, netamente superior al obtenido a partir de la especie vegetal que fue 0,03 por ciento.

SUMMARY

The stereoselective semisynthesis conditions have been established to obtain β -sitosterol 3- β -D-glucoside, which is an antihyperglycemic principle isolated from the aerial part of *Centaurea seridis* L. var. *maritima* Lge. The yield was 11,6 per cent, much higher than the one obtained from the vegetal species, which was 0,03 per cent.

INTRODUCCION

En anteriores trabajos se ha aislado, identificado y establecido el efecto antihiperglucemiante del 3- β -D-glucósido del β -sitosterol (1,2), heterósido esteroídico presente en la sumidad florida de *Centaurea seridis* L. var. *maritima* Lge. en la proporción 0,03 por ciento referida a droga seca. Dicha especie es ampliamente utilizada a nivel popular en la Comunidad Valenciana como antidiabética.

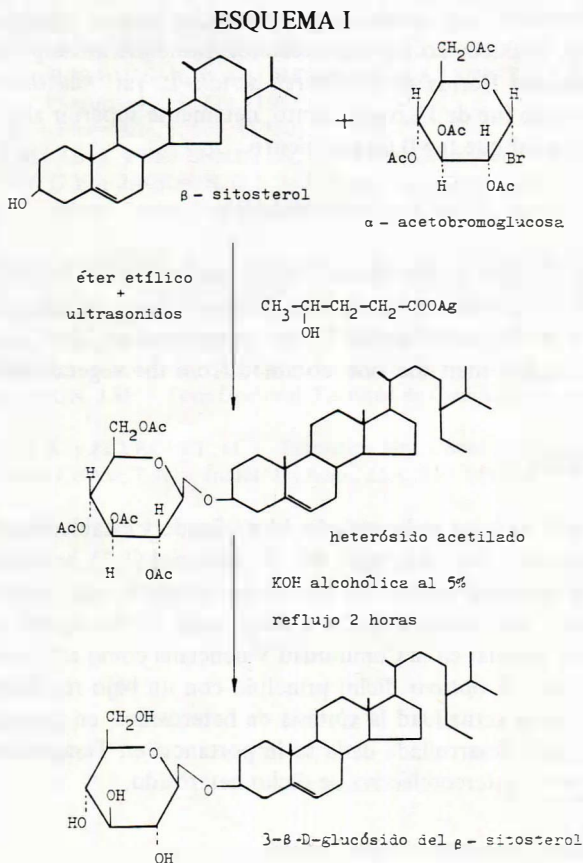
En base a que se obtuvo dicho principio con un bajo rendimiento (0,03 por ciento) y que en la actualidad la síntesis de heterósidos, en particular los esteroídicos se haya muy desarrollada dada su importancia en Terapéutica, nos planteamos la semisíntesis estereoselectiva de dicho heterósido.

Son diversos los métodos que se disponen para la obtención de heterósidos a partir de sus geninas correspondientes (3,4,5). No obstante, en general, presentan como inconveniente la formación de ambos estereoisómeros.

Nosotros hemos seleccionado el método propuesto por Wulff, Kruger y Rohle (6,7,8) en base a la estereoespecificidad del producto de reacción, siempre que se opere bajo unas condiciones determinadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

La reacción de formación del heterósido se ha llevado a cabo en obscuridad para evitar la desactivación del catalizador, a temperatura ambiente y bajo el efecto de ondas sonoras de alta frecuencia. En estas condiciones obtuvimos mejores rendimientos que los que cabría esperar por el método original de estos autores (agitación manual y temperaturas del orden de -10°C). Esquemáticamente el proceso empleado ha sido:



El producto de la saponificación fue purificado por cromatografía en columna de silicagel G Merck con fase móvil cloroformo/metanol (9:1) y posterior seguimiento de los distintos eluatos mediante CCF, empleando como revelador vainilina sulfúrica. El rendimiento en la obtención del 3- β -D-glucósido fue del 11,6 por ciento.

Para la ratificación de su estructura se han realizado pruebas de tipo físico y enzimáticas. Las de tipo físico (punto de fusión: 281-284^oC sin corregir y espectro IR) son perfectamente superponibles a las realizadas con el heterósido natural. La hidrólisis enzimática nos permitió ratificar que el heterósido obtenido vía semisintética sólo se encontraba en configuración β respecto al enlace éter, como así lo indicaba la ausencia de productos de hidrólisis (β -sitosterol y α -D-glucosa), al ser tratado dicho heterósido con una α -glucosidasa.

PARTE EXPERIMENTAL

1. *Obtención de la genina (β -sitosterol)*. Se obtuvo a partir de la especialidad comercial sitosterol^R de los laboratorios "Dr. Esteve". Dicho preparado se comercializa en sobres granulados conjuntamente con sacarina y excipientes apropiados.

La purificación se realizó por extracción líquida en ampolla de decantación con cloroformo y agua destilada saturada de bicarbonato sódico (solubiliza la sacarina en la fase acuosa). El extracto clorofórmico, una vez secado con sulfato sódico anhidro y concentrado a presión reducida en rotavapor, fue llevado a una columna cromatográfica de silicagel G, obteniendo tras su elución con cloroformo, en los primeros eluatos el β -sitosterol que cristalizó en agujas aciculares.

2. *Obtención del catalizador (γ -hidroxivalerato de plata)*. 12,5 g (0,3M) de NaOH se disuelven en 10 ml de agua destilada. A dicha solución se añaden agitando durante 30 minutos, una mezcla de 12,5 ml de etanol y 25,0 g (0,25M) de γ -valerolactona. Se calienta 30 minutos a reflujo y después de enfriar se forma una masa viscosa que es desecada a 60^oC mediante vacío. Se añaden 230 ml de etanol caliente con 30 ml de alcohol isopropílico. Al cabo de un día precipitan 21 g de la sal sódica. Rendimiento 60 por ciento. Posteriormente, 5 g (35,6mM) del γ -hidroxivalerato sódico se disuelven en 34 ml de agua destilada. Se ajusta a pH = 7 y se añaden, evitando la luz, una solución de nitrato de plata (8,5 g en 22 ml de agua destilada). El precipitado de la sal de plata formada, se lava con agua, acetona y éter etílico. Se conserva en desecador con pentóxido de fósforo. Rendimiento 75 por ciento a partir de la sal sódica.

3. *Obtención y purificación del heterósido semisintético*. 6g de α -acetobrogucosa Merck para síntesis, 6 g de β -sitosterol y 6,5 g de 4-hidroxivalerato de plata, fueron introducidos en un matraz erlenmeyer con 35 ml de éter etílico exento de humedad. El conjunto se protegía de la luz y era sometido durante 3 horas a la acción de ultrasonidos en un aparato Brasonic-220.

Posteriormente, el heterósido acetilado fue saponificado con 50 ml de potasa alcohólica al 5 por ciento en un matraz de boca esmerilada conectado a un sistema de reflujo, durante 2 horas y bajo la acción de un agitador magnético. A continuación se concentró en rotavapor, se añadió agua destilada y se realizó una extracción con cloroformo en ampolla de decantación. Los extractos clorofórmicos una vez desecados y reunidos fueron purificados por cromatografía en columna de silicagel G con fase móvil cloroformo/metanol (9:1) y posterior seguimiento de los distintos eluatos mediante CCF empleando como revelador vainillina sulfúrica. El rendimiento fue del 11,6 por ciento.

4. Ratificación estructura.

– Pruebas físicas: Se ha empleado un aparato tipo Kofler marca “Reichert Thermovar” monocular para la determinación del punto de fusión y un “Grating Infrared Spectrophotometer” Perkin Elmer para los espectros IR.

– Hidrólisis enzimática: Se disuelve 1 mg del heterósido semisintético en 2 ml de una solución tampón a pH = 5 (solución 0,5M de acetato sódico ajustada a pH = 5 con ácido acético) y 1 mg de α -glucosidasa “Sigma Corporation”. El conjunto se deja una noche a 37°C. El producto de la reacción, se cromatografía sobre cromatofolio de silicagel G con fase móvil: butanol ácido acético/éter etílico/agua (9:6:3:1), utilizando como revelador vainillina sulfúrica.

BIBLIOGRAFIA

1. VILLAR, A.; PAYA, M. – Arch. Farmacol. Toxicol., 5, 301 (1981).
2. VILLAR, A.; PAYA, M. – Plant. Med. et Phytother., en prensa.
3. KOCHETKOV, N.K.; KHORLIN, A.J.; BOCHKOV, A.F. – Tetrahedron, 23, 693 (1967).
4. HELFERICH, B.; ZIRNER, J. – Chem. Ber. 95, 2604 (1962).
5. FLOWERS, H.N.; JEANLOZ, R.W. – J. Org. Chem., 28, 2983 (1963).
6. WULFF, G.; KRUGER, W.; ROHLE, G. – Chem. Ber., 104, 1387 (1971).
7. WULFF, G.; KRUGER, W.; ROHLE, G. – Chem. Ber., 105, 1097 (1972).
8. WULFF, G.; ROHLE, G.; SCHMIDA, V. – Chem. Ber., 105, 1111 (1972).