

Triterpenos y saponinas triterpénicas de *Phytolacca icosandra* y *Phytolacca rugosa*

Elier Galarraga M.^{1*}, Juan Manuel Amaro-Luis¹, Luis B. Rojas²,
Anne-Claire Mitaine-Offier³ y Marie-Aleth Lacaille-Dubois³

¹Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química, Facultad de Ciencias.

²Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
Universidad de Los Andes (ULA). Mérida 5101, Venezuela.

³Laboratoire de Pharmacognosie, UMIB, UPRES-EA 3660, Faculté de Pharmacie,
Université de Bourgogne. 7, Bd Jeanne d'Arc, BP 87900, 21079 Dijon Cedex, France.

Recibido: 19-06-2013 Aceptado: 10-03-2014

Resumen

El estudio fitoquímico de los extractos metanólicos de las hojas y ramas de *Phytolacca icosandra* y *P. rugosa*, especies utilizadas tradicionalmente en Venezuela como repelentes contra las garrapatas del ganado vacuno (*Boophilus ssp.*), permitió el aislamiento de dos triterpenos pentacíclicos y cinco saponinas triterpénicas. Estos compuestos fueron identificados mediante técnicas espectrales (FAB- o ESI-EM, RMN-¹H, RMN-¹³C y 2D-RMN) como ácido espergulagénico [1], ácido *epi*-acetilauritólico [2], ácido 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosil]-28-*O*- β -D-glucopyranosil-serjánico [3], ácido 3-*O*-(β -D-glucopyranosil)-28-*O*- β -D-glucopyranosil-serjánico [4], ácido 3-*O*-[β -D-glucopyranosil(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosil]-28-*O*- β -D-glucopyranosil-serjánico [5], ácido 3-*O*-[β -D-galactopyranosil(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosil]-28-*O*- β -D-glucopyranosil-serjánico [6] y ácido 3-*O*-[β -D-glucopyranosil(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranosil(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosil]-28-*O*- β -D-glucopyranosil-serjánico [7].

Palabras clave: Phytolaccaceae, *Phytolacca*, triterpenos pentacíclicos, saponinas triterpénicas, RMN.

Triterpenes and triterpene saponins from *Phytolacca icosandra* and *Phytolacca rugosa*

Abstract

Phytochemical investigation of the methanolic extracts from leaves and stems of *Phytolacca icosandra* and *P. rugosa*, species traditionally used in Venezuela as tick repellent (*Boophilus ssp.*) in cattle, has resulted in the isolation of two pentacyclic triterpene and five triterpene saponins. These compounds were identified by spectral techniques (FAB- or ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and 2D-NMR) as spergulagenic acid [1], *epi*-acetylauritolic acid [2], 3-*O*-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-serjanic acid [3], 3-*O*-(β -D-glucopyranosyl)-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-serjanic acid [4], 3-*O*-[β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl]-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-serjanic acid [5], 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl]-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-serjanic acid [6] and 3-*O*-[β -D-galactopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl]-28-*O*- β -D-glucopyranosyl-serjanic acid [7].

* Autor para la correspondencia: eliergalarraga@usb.ve. Dirección Actual: Departamento de Química, Edificio Química y Procesos, Universidad Simón Bolívar (USB). Apartado 89000. Caracas 1080A, Venezuela.

(1→3)-β-D-glucopyranosyl]-28-O-β-D-glucopyranosyl-serjanic acid [6] and 3-O-[β-D-glucopyranosyl (1→3)-β-D-galactopyranosyl (1→3)-β-D-glucopyranosyl]-28-O-β-D-glucopyranosyl-serjanic acid [7].

Keywords: Phytolaccaceae, *Phytolacca*, pentacyclic triterpenes, triterpene saponins, NMR.

Introducción

El género *Phytolacca* (Phytolaccaceae), según Judd *et al.* (1), incluye apenas 23 especies, las cuales se encuentran ampliamente distribuidas en las regiones templadas y tropicales. Varias especies de este género son reconocidas por sus propiedades medicinales (2-5) y tóxicas (6-8); de igual manera, las plantas de este género, y en particular la especie africana *P. dodocandra*, son notablemente apreciadas por sus propiedades molusquicidas (9, 10) y por el papel que esta propiedad juega en el control del molusco *Biomphalaria glabrata*, vector de la schistosomiasis (11).

Para Venezuela han sido descritas ocho especies del género *Phytolacca*, las cuales se encuentran distribuidas principalmente en la Región Andina (12). Tradicionalmente, en esta región, dichas plantas son apreciadas por sus propiedades medicinales, pero popularmente destacan por su utilidad para ahuyentar y controlar los ácaros e insectos que parasitan el ganado vacuno. En este contexto, es conocido que los campesinos de la región andina utilizan las partes aéreas de estas plantas, empapadas en agua, las cuales ponen en contacto con la piel del animal, logrando así eliminar las garrapatas y otros ácaros (dato obtenido directamente de los campesinos y ganaderos). En razón a este hecho, en el marco de un proyecto de investigación centrado en el estudio fitoquímico de plantas de los andes venezolanos con potenciales propiedades acaricidas, abordamos el estudio fitoquímico de las especies *Phytolacca rugosa* Braun & Bouché y *P. icosandra* L., para poder así, aislar y caracterizar sus principales metabolitos secundarios y conocer las estructuras de los posibles compuestos que les confieren esta propiedad.

Materiales y métodos

Técnicas generales

Para la cromatografía en columna a presión atmosférica (CC) se utilizó gel de sílice Merck 60 (0,63-0,2 nm). La cromatografía líquida al vacío (VLC) fue llevada a cabo, usando sílica gel Merck, de fase reversa RP-18 (25-40 μm). Para la cromatografía en columna a mediana presión (MPLC) se utilizó una bomba Gilson M 305 con columna de vidrio Büchi (460 × 25, 460 × 15 y 230 × 15 mm) y pre-columna (110 × 15 mm) con sílica gel Merck 60 (SiO₂ 15-40 μm). La cromatografía en capa fina (TLC) se desarrolló en placas prefabricadas Merck HF 254 de 0,25 mm de espesor. Los p.f. fueron determinados en un aparato Fisher-Johns y están sin corregir. Los espectros IR se realizaron en un espectrofotómetro infrarrojo-FT Perkin Elmer, modelo FT-1725X, en pastillas de KBr. Los espectros de RMN se tomaron en equipos Bruker-Avance DRX 400 y Varian VNMR 600. Como solvente se usó CDCl₃, CD₃OD y C₅D₅N. Para obtener los espectros bidimensionales se aplicaron secuencias de pulso estándar, usando un cabezal de detección inversa de 5 mm. Para los espectros de masas obtenidos por bombardeo de átomos rápido (FAB-MS), se usó un espectrómetro JEOL SX 102 con glicerol como matriz. Para la técnica de ionización por electrospray (ESI-MS), se utilizó un equipo Micromass Q-TOF-1. Los espectros de impacto electrónico (IE-MS), se tomaron en un equipo Hewlett-Packard 5930A operado a 70 eV.

Recolección, secado y extracción del material vegetal

La especie *Phytolacca icosandra* L. se recolectó a lo largo de los 5 Km iniciales de la carretera que conduce desde Lagunillas a los

pueblos del sur, vía San José de Acequias. La especie *Phytolacca rugosa* A. Braun & Bouché se recogió en el sector más alto del Páramo de San José de Acequias, Municipio Autónomo Arzobispo Chacón, Estado Mérida. Muestras botánicas de ambas especies fueron depositadas en el herbario MERF de la Facultad de Farmacia (ULA) (*Voucher Specimen*: J. M. Amaro-Luis, N° 2322 y 2321, respectivamente). El material vegetal (hojas y ramas) fue secado bajo sombra a temperatura ambiente durante quince días. Transcurrido este tiempo, el material seco fue molido [*P. icosandra* (2,1 Kg) y *P. rugosa* (1,8 Kg)] y luego se extrajo de manera continua en un sohxlet hasta agotamiento, utilizando metanol como solvente. Las disoluciones procedentes de las extracciones fueron filtradas y luego concentradas al vacío en un rotavapor a 40°C. Los extractos obtenidos fueron pesados [*P. icosandra* (122 g) y *P. rugosa* (97 g)] y conservados en recipientes de vidrio a 4°C, hasta su posterior análisis.

Fraccionamiento de los extractos, separación y purificación de los productos

Cada uno de los extractos (porciones de $\cong 10$ g) fueron disueltos en agua y fraccionados en cromatografía líquida al vacío (VLC) de fase reversa sobre gel de sílice RP-18, usando como eluyente agua (100%), metanol/agua (1:1) y metanol (100%). Las fracciones metanol/agua (1:1) fueron sometidas a cromatografía en columna de mediana presión (MPLC), usando como eluyente la fase inferior de la mezcla CHCl_3 -MeOH- H_2O (13:7:2). En el caso de la *P. icosandra* se recolectaron ocho fracciones (no estudiadas) y en el de la *P. rugosa* once fracciones (A_1 - A_{11}), las cuales fueron analizadas por TLC y de acuerdo a su composición fueron sometidas a diferentes procesos cromatográficos de separación (CC, VLC, MPL o TLC preparativa). Una porción mayor de extracto crudo de *P. icosandra* ($\cong 110$ g) fue cromatografiada en columna al vacío (VCL) mediante la técnica de Coll & Bowden (13), utilizando como adsorbente gel de sílice Merck 60 (0,63-0,2 nm) y como elu-

yente mezclas de diclorometano/metanol en orden de polaridad creciente. Se recolectaron fracciones de 500 mL, las cuales fueron analizadas por TLC, lo que permitió agrupar un total de doce fracciones (A-L).

Ácido espergulagénico [1]

Aislado de la reunión 6-21, fracción "I" de la cromatografía general, mediante CCG [gel de sílice Merck 60, Hex/EtOAc (2:3)] y finalmente purificado por TLC preparativa ($\cong 20,5$ mg). Sólido blanco; p.f. = 296-298°C. IR (KBr), $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 2.500-3.000 (OH), 1.707 (C=O), 1.666 (C=O), 1.234 (C-O) y 916 (=C-H). RMN- ^1H (CD_3OD , 400 Mz), δ_{H} : 3,24, *dd* ($J = 5,0$ y 11,3 Hz) (H-3); 0,85, *d* ($J = 3,9$ Hz) (H-5); 1,72, *m* (H-9); 5,41, *t* ($J = 3,4$ Hz) (H-12); 2,88 *dd* ($J = 3,8$ y 13,6 Hz) (H-18); 1,07, *s* (H-23); 0,87, *s* (H-24); 1,04, *s* (H-25); 0,90, *s* (H-26); 1,27, *s* (H-27); 1,25, *s* (H-28). RMN- ^{13}C (CD_3OD , 100 Mz) (tabla 1).

Ácido epi-Acetilauritólico [2]

Aislado de la fracción "D" de la cromatografía general, de la cual precipitó ($\cong 41,0$ mg); fue purificado por repetidas cristalizaciones en MeOH. Sólido blanco cristalino; p.f. = 191-193°C. IR (KBr), $\nu_{\text{máx}}$ (cm^{-1}): 2.944 (OH), 1.732 (C=O), 1.688 (C=O), 1.245 (C-O) y 930 (=C-H). RMN- ^1H (CDCl_3 , 400 Mz), δ_{H} : 4,45 *dd* ($J = 6,2$ y 10,3 Hz) (H-3); 0,86, *d* ($J = 6,5$ Hz) (H-5); 5,51, *dd* ($J = 3,3$ y 7,8 Hz) (H-15); 2,27 *dd* ($J = 2,4$ y 13,7 Hz) (H-18); 0,85, *s* (H-23); 0,88, *s* (H-24); 0,95, *s* (H-25 y H-26); 0,91, *s* (H-27 y H-30); 0,93, *s* (H-29) y 2,03, *s* (-O-CO- CH_3 , H-32). RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 100 Mz) (tabla 1).

Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopiranosil-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [3]

Aislado de la fracción "K" de la cromatografía general mediante cromatografía en columna de sephadex LH-20 (eluyente metanol). Sólido blanco amorfo ($\cong 32,0$ mg); p.f.

Tabla 1
Desplazamientos Químicos (δ) en RMN- ^{13}C ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz) de los Compuestos [1]-[7]

Carbón	[1]*	[2] †	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]*
C-1	39,8	37,5	39,7	38,4	38,7	38,4	38,7
C-2	27,9	23,6	26,9	27,9	26,5	26,1	26,5
C-3	79,7	81,0	92,2	88,8	89,0	88,9	89,0
C-4	40,5	38,1	40,6	39,1	39,5	39,1	39,5
C-5	56,8	55,7	57,0	55,5	55,9	55,5	55,8
C-6	19,5	18,9	19,3	18,6	18,5	18,6	18,6
C-7	34,1	40,9	34,0	32,8	33,2	32,7	33,2
C-8	39,8	39,2	40,5	39,5	39,9	39,5	40,0
C-9	47,9	49,2	48,1	47,6	48,0	47,6	48,1
C-10	38,2	37,4	37,9	36,6	36,9	36,5	37,0
C-11	24,5	17,4	24,3	23,4	23,7	23,2	23,8
C-12	124,1	33,5	124,4	123,3	123,8	123,1	123,1
C-13	144,9	37,8	144,4	143,5	143,8	143,5	143,9
C-14	42,8	160,6	42,8	41,7	42,0	41,7	42,1
C-15	28,9	117,0	28,8	28,1	28,2	27,9	28,4
C-16	24,3	31,4	24,5	23,2	23,5	23,4	23,6
C-17	47,1	51,6	47,4	46,3	46,5	46,3	46,6
C-18	43,9	41,5	43,9	42,8	43,2	42,8	43,2
C-19	43,4	35,6	43,3	42,1	42,5	42,1	42,5
C-20	44,6	29,4	45,0	43,7	44,0	43,7	44,0
C-21	31,3	33,8	31,3	30,2	30,6	30,1	30,6
C-22	35,1	30,8	34,4	33,6	34,0	33,6	34,0
C-23	28,7	28,1	28,8	28,0	28,3	27,9	28,2
C-24	16,3	16,7	16,9	16,6	16,8	16,7	17,0
C-25	15,9	15,8	15,9	15,2	15,5	15,2	15,6
C-26	17,7	26,3	17,7	17,1	17,4	17,1	17,5
C-27	26,3	22,6	26,2	26,2	26,1	25,7	26,1
C-28	181,6	184,5	177,6	176,1	176,0	176,1	176,1
C-29	29,0	31,8	28,6	28,1	28,3	28,0	28,4
C-30	180,8	29,4	178,8	177,0	176,9	177,0	176,9
C-31	-	171,1	52,4	51,6	51,7	51,6	51,7
C-32	-	21,4	-	-	-	-	-
C-1'	-	-	105,7	106,3	105,0	105,6	106,4
C-2'	-	-	78,2	75,2	83,3	74,1	74,5
C-3'	-	-	78,9	78,0	78,1	87,8	88,9

Tabla 1 (Continuación)

Carbón	[1]*	[2] †	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]*
C-4'	-	-	72,2	71,2	71,6	69,6	69,8
C-5'	-	-	78,1	77,7	77,9	78,6	77,9
C-6'	-	-	62,4	62,4	62,8	61,4	62,0
C-1 ^{iv}	-	-	102,1	95,3	105,9	105,6	106,0
C-2 ^{iv}	-	-	79,3	73,4	77,0	72,4	72,1
C-3 ^{iv}	-	-	77,8	78,1	78,4	74,4	84,6
C-4 ^{iv}	-	-	71,1	70,4	71,0	69,4	69,7
C-5 ^{iv}	-	-	78,2	78,7	77,9	76,8	77,1
C-6 ^{iv}	-	-	62,3	61,4	62,8	62,0	62,1
C-1 ⁱⁱⁱ	-	-	102,0	-	95,8	95,3	106,3
C-2 ⁱⁱⁱ	-	-	72,2	-	74,1	73,4	75,9
C-3 ⁱⁱⁱ	-	-	72,1	-	78,8	77,9	78,4
C-4 ⁱⁱⁱ	-	-	74,2	-	71,8	70,3	71,6
C-5 ⁱⁱⁱ	-	-	69,5	-	79,3	77,1	78,6
C-6 ⁱⁱⁱ	-	-	18,3	-	62,0	61,7	62,7
C-1 ^{iv}	-	-	95,7	-	-	-	95,8
C-2 ^{iv}	-	-	73,8	-	-	-	74,2
C-3 ^{iv}	-	-	78,7	-	-	-	79,3
C-4 ^{iv}	-	-	72,1	-	-	-	71,1
C-5 ^{iv}	-	-	79,6	-	-	-	78,9
C-6 ^{iv}	-	-	62,4	-	-	-	62,1

(*) [CD₃OD, (100 MHz)] (†) [CDCl₃(100 MHz)]

>300°C. RMN-¹H (CD₃OD, 400 Mz) (tabla 2);
RMN-¹³C (CD₃OD, 100 Mz) (tabla 1).

[M⁺-H-162]; 499 [M⁺-H-2 x 162]; 275; 183;
91.

Ácido 3-O-(β-D-glucopiranosil)-28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico [4]

Aislado de las fracciones 31-36 (reunión A₄), procedentes de la cromatografía general MPLC. Se purificó por cromatografía MPLC sucesiva [fase reversa RP-18, MeOH-H₂O (3:3) hasta MeOH 100%], aislándose como un sólido amorfo de color blanco (≅ 3,3 mg); p.f. = 196-198°C. RMN-¹H (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 2); RMN-¹³C (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 1). EM-FAB, *m/z*: 823 [M⁺-H] (C₄₃H₆₈O₁₅); 661

Ácido 3-O-[β-D-glucopiranosil (1→2)-β-D-glucopiranosil]-28-O-β-D-glucopiranosil-serjánico [5]

Se aisló las fracciones 53-66 (reunión A₇), de la cromatografía general MPLC y se purificó por cromatografía en columna MPLC de fase reversa [RP-18, MeOH-H₂O (4:1) hasta MeOH 100%]. Sólido blanco (≅ 13,3 mg); p.f.=210-213°C. RMN-¹H (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 2); RMN-¹³C (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 1). EM-ESI, *m/z* : 985 [M⁺-H] (C₄₉H₇₈O₂₀); 823

Tabla 2
Desplazamientos Químicos (δ) en RMN-¹H (C₅D₅N, 600 MHz) de los Compuestos [3]-[7]

H	[3]	[4]	[5]	[6]	[7](CD ₃ OD)
H-3	3,21 (m)	3,32 (dd) (J = 2,8 y 7,6)	3,28 (dd) (J = 4,5 y 11,8)	3,30 (dd) (J = 2,4 y 5,2)	3,37 (dd) (J = 4,1 y 11,4)
H-5	0,77 (m)	0,69 (d) (J = 8,0)	0,73 (d) (J = 11,8)	0,69 (d) (J = 8,0)	0,80 (d) (J = 11,8)
H-9	1,60 (m)	1,53 (m)	1,60 (dd) (J = 10,1 y 10,5)	1,53 (dd) (J = 5,2 y 6,4)	1,64 (t) (J = 8,7)
H-12	5,31 (t) (J = 3,3)	5,51 (t) 3,5	5,54 (t) (J = 3,7)	5,51 (t) (J = 3,7)	5,59 (t) (J = 3,7)
H-18	2,69 (dd) (J = 3,0 y 13,5)	3,12 (dd) (J = 3,6 y 13,2)	3,22 (dd) (J = 3,7 y 13,4)	3,13 (dd) (J = 3,6 y 9,2)	3,24 (dd) (J = 3,7 y 10,6)
H-23	1,11 (s)	1,22 (s)	1,29 (s)	1,21 (s)	1,32 (s)
H-24	0,87 (s)	0,91 (s)	1,10 (s)	0,89 (s)	1,01 (s)
H-25	0,96 (s)	0,74 (s)	0,84 s	0,72 (s)	0,85 (s)
H-26	0,79 (s)	0,99 (s)	1,08 (s)	0,98 (s)	1,11 (s)
H-27	1,17 (s)	1,21 (s)	1,27 (s)	1,21 (s)	1,30 (s)
H-29	1,14 (s)	1,11 (s)	1,20 (s)	1,14 (s)	1,22 (s)
H-31	3,70 (s)	3,56 (s)	3,60 (s)	3,57 (s)	3,61 (s)
H-1'	4,40 (d) (J = 7,8)	4,83 (d) (J = 5,2)	4,90 (d)	4,81 (d) (J = 5,2)	4,88 (d) (J = 5,1)
H-2'	3,66 (m)	3,96 (dd)	4,22 (m)	3,94 (dd)	4,02 (m)
H-3'	3,56 (m)	4,22 (m)	4,30 (m)	4,21 (m)	4,17 (m)
H-4'	3,75 (m)	4,09 (m)	4,13 (m)	3,96 (m)	4,07 (m)
H-5'	3,25 (m)	3,93 (m)	3,96 (m)	3,88 (m)	3,90 (m)
H-6'	3,64 y 3,87 (m)	4,26 y 4,46(dd) (J = 3,0 y 10,2)	4,46 y 4,52 (dd) (J = 3,1 y 10,2)	4,23 y 4,26 (m)	4,28 y 4,48 (m)
H-1''	4,87 (d) (J = 7,7)	6,12 (d) (J = 5,6)	5,35 (d) (J = 7,3)	5,17 (d) (J = 5,2)	5,23 (d) (J = 7,7)
H-2''	3,34 (m)	4,09 (dd)	4,09 (dd) (J = 8,9 y 14,6)	4,42 (dd) (J = 9,0 y 13,8)	4,67 (m)
H-3''	3,65 (m)	4,20 (m)	4,22 (m)	4,22 (m)	4,28 (m)
H-4''	3,34 (m)	4,22 (m)	4,27 (m)	4,36 (m)	4,69 (m)
H-5''	3,04 (t) (J = 9,4)	3,90 (m)	3,90 (dt) (J = 2,8 y 7,3)	4,04 (m)	4,09 (m)
H-6''	3,66 y 3,84 m	4,24 y 4,28(dd) (J = 3,0 y 11,2)	4,36 y 4,44(dd) (J = 3,3 y 11,8)	4,17 y 4,36 (m)	4,28 y 4,38 (m)
H-1'''	5,18 (d) (J = 1,1)	-	6,27 (d) (J = 8,1)	6,11 (d) (J = 5,6)	5,37 (d) (J = 7,7)

Tabla 2 (Continuación)

H	[3]	[4]	[5]	[6]	[7](CD ₃ OD)
H-2 ⁱⁱⁱ	3,92 (m)	-	4,16 (m)	4,09 (m)	4,42 (m)
H-3 ⁱⁱⁱ	3,74 (m)	-	4,24 (m)	4,20 (m)	4,27 (m)
H-4 ⁱⁱⁱ	3,37 (m)	-	4,34 m	4,07 (m)	4,22 (m)
H-5 ⁱⁱⁱ	4,13 (m)	-	3,90 (dt) (J = 2,8 y 7,3)	3,86 (m)	3,98 (m)
H-6 ⁱⁱⁱ	1,25 (d) (J = 6,1)	-	4,33 y 4,36 (dd) (J = 4,0 y 11,4)	4,19 y 4,35 (m)	4,38 y 4,44 (m)
H-1 ^{iv}	5,35 (d) (J = 8,1)	-	-	-	6,30 (d) (J = 8,1)
H-2 ^{iv}	3,31 (m)	-	-	-	4,17 (m)
H-3 ^{iv}	3,35 (m)	-	-	-	4,25 (m)
H-4 ^{iv}	3,24 (m)	-	-	-	4,36 (m)
H-5 ^{iv}	3,43 (m)	-	-	-	3,97 (m)
H-6 ^{iv}	3,52 y 3,82 (m)	-	-	-	4,28 y 4,38 (m)

[M⁺-H-162]; 661 [M⁺-H-2 x 162]; 500 [M⁺-3 x 162].

Ácido 3-O- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [6]

Se obtuvo de las fracciones 37-46 (reunión A₅), de la cromatografía general MPLC. Se purificó por recromatografía en columna de mediana presión (MPLC) en fase reversa [RP-18, MeOH-H₂O (3:2) hasta MeOH 100%]. Sólido amorfo blanco (\cong 7,2 mg); p.f. = >300°C. RMN-¹H (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 2); RMN-¹³C (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 1). EM-FAB, *m/z* : 985 [M⁺-H] (C₄₉H₇₈O₂₀); 823 [M⁺-H-162]; 661 [M⁺-H-2 x 162]; 500 [M⁺-3 x 162]; 401; 291; 159; 91

Ácido 3-O- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [7]

Aislado de fracciones 53-66 (reunión A₇), de la cromatografía general MPLC y purificado por recromatografía en columna MPLC en fase reversa [RP-18, MeOH-H₂O (4:1) has-

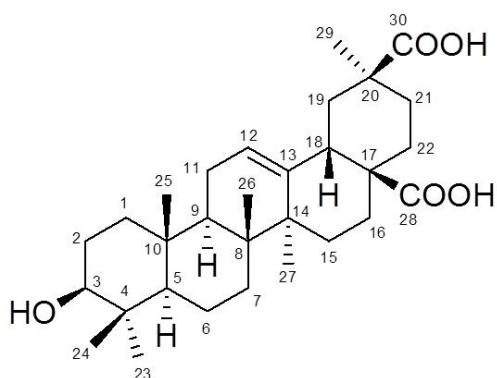
ta MeOH 100%]. Sólido amorfo blanco (\cong 4,1 mg); p.f. = >300°C. RMN-¹³C (C₅D₅N, 600 Mz) (tabla 1). EM-ESI, *m/z* : 1147 [M⁺-1], (C₅₅H₈₈O₂₅); *m/z* : 986 [M⁺-1-162]; *m/z* : 823 [M⁺-1-2 x 162].

Resultados y discusión

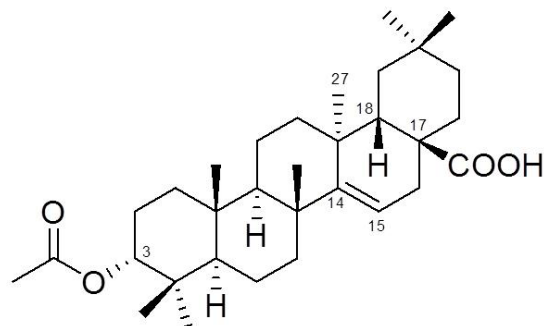
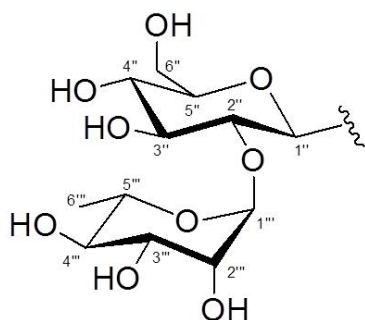
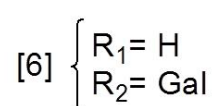
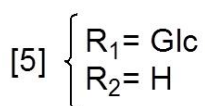
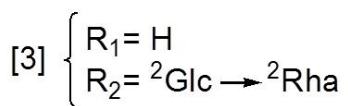
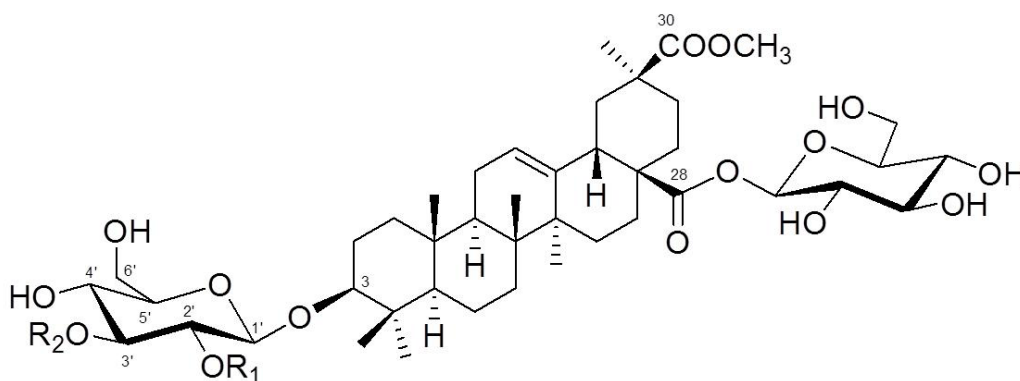
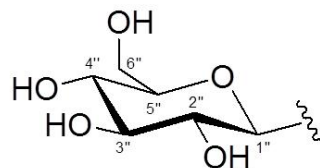
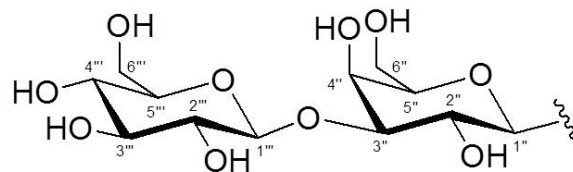
El extracto metanólico de la *P. icosandra*, después de repetidos procesos cromatográficos (ver parte experimental), proporcionó los triterpenos 1 y 2 y la saponina 3 (figura 1), los cuales fueron identificados con base en sus datos espectrales. A continuación se describe la caracterización de estos productos:

Ácido espergulagénico [1]

Sólido blanco; p.f. = 296-298°C. Su espectro IR mostró bandas típicas de grupos carboxilo [$\nu_{\text{máx.}}$: 2.500-3.000 cm⁻¹ (OH) y $\nu_{\text{máx.}}$: 1.707 y 1.666 cm⁻¹ (C=O)]. El análisis del espectro de RMN-¹H permitió identificar seis singuletes asignables a metilos terciarios, una señal típica de un protón geminal a un hidroxilo secundario [δ_{H} : 3,24, *dd* (*J* = 5,0 y



Ácido espegulagénico [1]

Ácido *epi*-acetilaleuritólico [2][4] $R_1 = R_2 = H$ [7] $R_1 = H; R_2 = {}^3\text{Gal} \rightarrow {}^3\text{Glc}$ Figura 1. Compuestos aislados de los frutos de *Phytolacca icosandra* y *P. rugosa*.

11,3 Hz) (H-3)] y un triplete [δ_{H} : 5,41, t ($J = 3,4$ Hz)] atribuible al protón olefínico de un doble enlace trisustituido vecinal a un grupo metileno [$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{C}<$ (H-12)]. El espectro de RMN- ^{13}C presentó un total de treinta carbonos, entre los que destacan dos carboxilos [δ_{C} : 180,8 (C-30) y 181,6 (C-28)], dos carbonos sp^2 que conforman un doble enlace trisustituido [δ_{C} : 124,1 ($=\text{CH}-$; C-12) y δ_{C} : 144,9 ($=\text{C}<$; C-13)] y un carbono oximetínico [δ_{C} : 79,7 (C-3)]. El estudio en profundidad de los espectros bidimensionales (COSY, HMQC, HMBC y ROESY) permitió identificar al compuesto como el ácido 3 β -hidroxi-olean-12-en-28,30-diólico [1], conocido como ácido espergulagénico. Este ácido fue descrito por primera vez como componente de la especie *Mollugo spergula* (familia Molluginaceae) (14,15), pero posteriormente ha sido reportado libre y glicosidado en varias especies del género *Phytolacca* (16-19).

Ácido *epi*-acetilaleuritólico [2]

Sólido cristalino blanco; p.f. = 191-193°C. Su espectro de IR presentó bandas intensas a ν_{max} : 2.944 cm^{-1} (O-H), ν_{max} : 1.732 cm^{-1} y 1.688 cm^{-1} (C=O) y ν_{max} : 930 cm^{-1} (C-H). El espectro de RMN- ^1H , puso en evidencia la presencia de un protón perteneciente a un metino oxigenado [δ_{H} : 4,45, dd ($J = 6,2$ y 10,3 Hz) ($>\text{CH}-\text{O}-$; H-3)], de un hidrógeno olefínico [δ_{H} : 5,51, dd ($J = 3,3$ y 7,8 Hz) ($=\text{CH}-$; H-15)] y de ocho metilos, uno de ellos integrando un grupo acetilo (δ_{H} : 2,03, $-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$; H-32). El espectro de RMN- ^{13}C exhibió un total de treinta y dos señales entre los que destacan, dos correspondientes a carbonilos [δ_{C} : 184,5 (C-28) y 171,1 (C-31)], dos a carbonos sp^2 [δ_{C} : 160,6 ($>\text{C}=\text{}$; C-14) y 117,0 ($=\text{CH}-$; C-15)], uno típico de un carbono sp^3 oximetínico [δ_{C} : 81,0 ($>\text{CH}-\text{O}-$; C-3)] y otro característico del metilo de un grupo acetilo [δ_{C} : 21,4 ($-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$; C-32)]. Estos datos resultaron congruentes con estructuras de triterpenos pentacíclicos acetilados, hecho este que fue confirmado al analizar los espectros bidimensionales COSY, HSQC y HMBC; las correlaciones en este último espectro, entre

el pico asignado al carbono cuaternario sp^2 (C-14) y los singuletes de los metilos a δ_{H} : 0,95 (H-26) y 0,91 (H-27), ubicaron al doble enlace entre los carbonos C-14 y C-15; esto se corroboró además por el inusual desapantallamiento de la señal del C-14 a δ_{C} : 160,6. Por otro lado, la secuencia HMBC: H-32 \leftrightarrow C-31 \leftrightarrow H-3 situó al grupo acetilo en C-3. Estos datos espectrales demostraron que el compuesto en estudio es el ácido 3 α -acetiltaraxer-14-en-28-óico [2]; este triterpeno fue aislado por primera vez de los frutos de *Phytolacca acinosa* y se le asignó el nombre de ácido *epi*-acetilaleuritólico (20). En el presente trabajo se reportan por primera vez sus datos de RMN- ^{13}C .

Ácido 3-O-[- α -L-rhamnopiranosil(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopiranosil(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopiranosil-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [3]

Sólido blanco amorfo; p.f. > 300°C. A primera vista sus espectros de RMN (tablas 1 y 2) indican que el compuesto es un triterpeno glicosidado, cuya estructura incluye cuatro unidades de monosacárido, ya que en el mismo se detectan señales asignables a cuatro hidrógenos anoméricos [δ_{H} : 4,40 [d , ($J = 7,8$ Hz); H-1'], 4,87 [d , ($J = 7,7$ Hz); H-1''], 5,18 [d , ($J = 1,1$ Hz); H-1'''], 5,35 [d , ($J = 8,1$ Hz); H-1'''], las cuales se correlacionan a través del HMQC con cuatro picos en el espectro de RMN- ^{13}C , atribuibles a carbonos hemiacetálicos ($-\text{O}-\text{C}-\text{O}-$) [δ_{C} : 105,7 (C-1'); 102,1 (C-1''); 102,0 (C-1'''); 95,7 (C-1''')]. Los espectros de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C también permitieron definir la naturaleza de la aglicona triterpénica la cual fue caracterizada como un 3-hidroxidiol- 12,13 -oleanano [δ_{H} : 3,21 [m solapado, ($>\text{CH}-\text{O}-$; H-3)] \leftrightarrow HMQC, δ_{C} : 92,2 ($>\text{CH}-\text{O}-$; C-3); δ_{H} : 5,31 [t , ($J = 3,3$ Hz) ($=\text{CH}-\text{CH}_2-$; H-12)] \leftrightarrow HMQC, δ_{C} : 124,4 ($=\text{CH}-$; C-12) y δ_{H} : 2,69 [dd , ($J = 3,0$ y 13,5 Hz) ($>\text{CH}-\text{CH}_2-$; H-18)] \leftrightarrow HMQC, δ_{C} : 43,9 ($>\text{CH}-\text{CH}_2-$; C-18)]; la presencia de señales típicas de sólo seis metilos terciarios [$\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$: 1,11/28,8 (H-23/C-23); 0,87/16,9 (H-24/C-24); 0,96/15,9 (H-25/C-25); 0,79/17,7 (H-26/C-26); 1,17/26,2 (H-27/C-27) y 1,14/28,6 (H-29/C-29)], indica

que dicha aglicona posee dos metilos oxidados, uno de los cuales es un carbometoxilo $\{\delta_{\text{H}}: 3,70 \text{ [s, (-OCH}_3\text{; H-31)]} \leftrightarrow \text{HMQC, } \delta_{\text{C}}: 52,4 \text{ (-OCH}_3\text{; C-31)} \text{ y } \delta_{\text{C}}: 178,0 \text{ (-O-C=O; C-30)}\}$; correlaciones HMBC: C-20 \leftrightarrow H-29 \leftrightarrow C-30 \leftrightarrow H-31} y el otro un carboxilo glicosidado $\{\delta_{\text{C}}: 177,6 \text{ (-O-C=O; C-28)}\}$; correlaciones HMBC: C-17 \leftrightarrow H-18 \leftrightarrow C-28 \leftrightarrow H-1^{iv}. La estereoquímica del grupo hidroxilo en C-3 (β -OH), y la de las uniones "trans" de los anillos A/B (5 α H, 10 β Me) y B/C (8 β Me, 9 α H) fueron confirmadas mediante las siguientes correlaciones en el espectro NOESY: H-3 \leftrightarrow H-23 \leftrightarrow H-5 \leftrightarrow H-9 \leftrightarrow H-27 y H-24 \leftrightarrow H-25 \leftrightarrow H-26. De igual manera, la estereoquímica β -axial del éster metílico (C-30) y la disposición "cis" (17 β COO-, 18 β H) en la fusión de los anillos D y E pudieron también ser determinadas a través del NOESY: Correlación H-12 \leftrightarrow H-18 y ausencia de interacción H-18/H-29. Estos datos, permitieron identificar la aglicona con el ácido-3 β -hidroxi-olean-12-en-30-carbometoxi-28-óico, al cual se le conoce con el nombre de ácido serjánico (21-23).

La caracterización de los cuatro monosacáridos presentes en la molécula, su ubicación en la misma y su secuencia de unión, fue llevada a cabo mediante el análisis de los espectros COSY, TOCSY, HMBC y NOESY. De esta manera se constató que tres de estos monosacáridos eran glucosas (Glc) y el cuarto rhamnosa (Rha), inequívocamente caracterizada por las señales de su grupo metilo $\{\delta_{\text{H}}: 1,25 \text{ [d, (} J = 6,1 \text{ Hz) (-CH}_3\text{; H-6''')]} \leftrightarrow \text{HSQC, } \delta_{\text{C}}: 18,3 \text{ (-CH}_3\text{; C-6''')}\}$. La interacción HMBC del carbono carboxílico C-28 ($\delta_{\text{C}}: 177,6$) con el protón anomérico a $\delta_{\text{H}}: 5,35$ (H-1^{iv}), ubicó a una de las unidades de glucosa glicosidando a carboxilo C-28; esta unidad no mostró otras conexiones interglicosídicas y en consecuencia las tres hexosas remanentes deben conformar un trisacárido, el cual, lógicamente, glicosida al hidroxilo situado en C-3. El cruce HMBC entre el multiplete de H-3 ($\delta_{\text{H}}: 3,21$) y el pico del carbono hemiacetalico a $\delta_{\text{C}}: 105,7$ (C-1') confirmó la unión del oxígeno en C-3 a una unidad de glucosa; los inusuales desplazamientos a campo bajo de las señales asignadas a los carbonos

C-2' ($\delta_{\text{C}}: 78,2$) y C-2'' ($\delta_{\text{C}}: 79,3$), indicaron una conexión interglicosídica en C-3 del tipo: 3-O-¹Glc \rightarrow ²Glc \rightarrow ²Rha. La configuración de los azúcares fue determinada sobre la base de los valores de las constantes de acoplamiento de los protones anoméricos, los cuales confirmaron tres unidades de β -glucosa ($J_{1,2'} = 7,8 \text{ Hz}$; $J_{1,2''} = 7,7 \text{ Hz}$ y $J_{1,2''}^{\text{iv}} = 8,1 \text{ Hz}$) y una de α -rhamnosa ($J_{1,2''} = 1,1 \text{ Hz}$). En conclusión, los datos anteriores permiten establecer que el compuesto en estudio es el ácido 3-O-[- α -L-rhamnopyranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosil (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosil]-28-O- β -D-glucopyranosil-serjánico **[3]**. Este producto fue descrito por primera vez como componente de la *Phytolacca bogotensis* (19) y también, posteriormente, fue identificado en los frutos de la *Phytolacca icosandra*, en un detallado estudio en el que se confirmó además su actividad molusquicida frente a *Biomphalaria glabrata* (MIC >50 $\mu\text{g/mL}$), así como su débil actividad espermicida (MIC >60 $\mu\text{g/mL}$) (24).

Del extracto metanólico de la *P. rugosa*, se lograron aislar cuatro saponinas triterpénicas (4-7) (figura 1), las cuales fueron purificadas por métodos cromatográficos (ver parte experimental). La identificación de estas saponinas se realizó mediante un detallado análisis de sus datos espectrales. A continuación se describe su caracterización estructural:

Ácido 3-O-(β -D-glucopiranosil)-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [4]

Sólido amorfo de color blanco, p.f. = 196-198°C. Su espectro de masas (EM) de bombardeo de átomos rápido (FAB) muestra un pico a $m/z: 823$ [$\text{M}^+\text{-H}$], congruente con la fórmula molecular $\text{C}_{43}\text{H}_{68}\text{O}_{15}$. Esta fórmula molecular (a la cual corresponden diez grados de insaturación), y los datos derivados del análisis de sus espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C (tablas 1 y 2), indican que el compuesto es una saponina triterpénica bidesmosídica. La detección en el EM de picos a $m/z: 661$ [$\text{M}^+\text{-H-162}$] y $m/z: 499$ [$\text{M}^+\text{-H-2 x 162}$] y la presencia en el espectro de RMN-¹H de dos

señales propias de hidrógenos anoméricos a δ_{H} : 4,83 [d, ($J = 5,2$ Hz); H-1'] y 6,12 [d, ($J = 5,6$ Hz); H-1''], las cuales, respectivamente, se correlacionan en el HSQC con picos a δ_{C} : 106,3 (C-1') y 95,3 (C-1'') indican la existencia en la molécula de dos hexosas; es razonable, ante la magnitud de los desplazamientos químicos de los hidrógenos anoméricos, que una de estas hexosas glicosida a un hidroxilo y la otra a un carboxilo. Los espectros de RMN (tablas 1 y 2) permitieron también caracterizar la aglicona, la cual mostró datos espectrales comparables a los de la aglicona de la saponina [3]; en consecuencia fue identificada como ácido serjánico. El análisis del espectro TOCSY permitió determinar la secuencia de hidrógenos en cada una de las hexosas presentes en la molécula, mientras que el espectro NOESY, a través de las correlaciones de los hidrógenos anoméricos (H-1' y H-1'') con las señales asignadas a H-3'/H-5' y H-3''/H-5'' (interacciones 1,3-*cis*-diaxiales), respectivamente, permitió concluir que todos estos hidrógenos eran α -axiales y en consecuencia ambos monosacáridos eran β -D-glucosa. De esta manera se pudo concluir que la estructura del compuesto en estudio correspondía a la del ácido 3-O- $[\beta$ -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [4]. Este compuesto ha sido descrito con anterioridad como componente de la *Phytolacca thyrsoflora* (18); la comparación de sus datos espectrales con los reportados en la literatura confirmó definitivamente su identidad.

Ácido 3-O- $[\beta$ -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [5]

Sólido blanco; p.f.=210-213°C. Su espectro de masas (en modo ESI, ionización por electrospray), mostró un ion a m/z : 985 [M⁺-H] (fórmula molecular C₄₉H₇₈O₂₀), y fragmentos a m/z : 823, m/z : 661 y m/z : 500, correspondientes a pérdida consecutiva de tres unidades de hexosa (162 u.m.a). La comparación de sus espectros de RMN-¹H y de RMN-¹³C (tablas 1 y 2) con los del compuesto [4] y el análisis de sus espectros de

RMN bidimensionales (COSY, TOCSY, HSQC y HMBC), confirmaron que la mayoría de las señales e interacciones H \leftrightarrow H y H \leftrightarrow C, coincidían con las detectadas en el estudio realizado al compuesto [4]; en consecuencia se concluyó que se trataba de un derivado de este compuesto, que poseía una unidad adicional de hexosa; con ello resultó procedente determinar la naturaleza de la tercera hexosa y su ubicación en la molécula.

El análisis de las señales de RMN correspondientes a la unidad de azúcar adicional, permitió confirmar la presencia de un grupo oximetilénico { δ_{H} : 4,36 y 4,44 [dd, ($J = 3,3$ y 11,8 Hz); H-6''] \leftrightarrow HSQC, δ_{C} : 62,8 [(CH₂O-); C-6'']}, con lo cual se dedujo que se trataba de una unidad de glucosa o galactosa. Debido a la superposición de las señales en el espectro de RMN-¹H, no fue posible determinar la multiplicidad del multiplete correspondiente al protón H-4'', pero las correlaciones en el espectro ROESY y la comparación de los desplazamientos químicos de los hidrógenos y carbonos con los reportados en la literatura (25, 26), confirmaron que esta tercera unidad era una glucosa (Glc), la cual formaba parte del resto disacárido que glicosidaba al hidroxilo situado C-3. La secuencia de cruces en el HMBC (H-1'' \leftrightarrow C-2' y C-1'' \leftrightarrow H-2') permitió establecer la conexión interglicosídica de las hexosas como ¹Glc \rightarrow ²Glc. Al quedar definida esta cadena glicosídica, se concluyó que el compuesto en cuestión era el ácido 3-O- $[\beta$ -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [5]. Este ácido había sido ya aislado de los frutos de las especies *Phytolacca thyrsoflora* y *P. icosandra* (18, 24).

Ácido 3-O- $[\beta$ -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [6]

Sólido amorfo blanco; p.f.= >300°C. Su FAB-EM presentó el ion de más alto valor masa/carga a m/z : 985 [M⁺-H] y el mismo patrón de fraccionamiento (iones a m/z : 823, 661 y 499) que el compuesto [5]. Según esto, se pudo inferir que el compuesto en es-

tudio era una saponina triterpénica con tres grupos hexosa, isómera de [5], pero dado que los R_f de ambos compuestos resultaron ser diferentes, se concluyó que las unidades de hexosa deberían también ser diferentes o bien estar unidas de manera distinta en el compuesto [6]. Esta suposición fue confirmada mediante el análisis comparativo de los espectros de RMN- ^1H (tabla 2) y de RMN- ^{13}C (tabla 1) de [5] y de [6], el cual demostró que una unidad de glucosa había sido reemplazada por una de galactosa. Más aún, el espectro COSY mostró correlaciones del protón anomérico H-1'' (δ_{H} : 5,17) con H-2'' (δ_{H} : 4,42) y este a su vez con H-3'' (δ_{H} : 4,22); sin embargo, la correlación H-3'' \leftrightarrow H-4'' no pudo ser observada; esto, unido al desplazamiento a campo inusualmente bajo de los protones H-4'' (δ_{H} : 4,36) y H-2'' (δ_{H} : 4,42) confirmó la presencia de una unidad de galactosa (Gal) (25, 27). La posición de esta unidad de galactosa en la molécula quedó fijada a través de las interacciones HMBC: H-1'' \leftrightarrow C-3' y H-3' \leftrightarrow C-1'', las cuales permitieron establecer un enlace interglicosídico $^1\text{Gal}\rightarrow^3\text{Glc}$, en la cadena que glicosida al hidroxilo situado en C-3; este hecho se vio apoyado por el desapantallamiento observado en el carbono C-3' (δ_{C} : 87,8), característico de glucosas sustituidas en esta posición (28, 29). En razón a estos datos, se reconoció al compuesto [6] como el ácido 3-O-[β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico, el cual fue aislado por primera vez de la especie *Phytolacca bogotensis* (19).

Ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [7]

Sólido amorfo blanco; p.f. = $>300^\circ\text{C}$. Su espectro de masas (ESI-MS) presentó un ion a m/z : 1147 [M^+-1], el cual se corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{55}\text{H}_{88}\text{O}_{25}$, y dos fragmentos notables a m/z : 986 [$\text{M}^+-1-162$] y m/z : 823 [$\text{M}^+-1-2 \times 162$], asignables a la pérdida sucesiva de uno y dos grupos hexosa. El posterior análisis de sus espectros de RMN- ^1H (tabla 2) y de RMN- ^{13}C (tabla 1) advirtieron

la presencia de dos unidades adicionales de hexosa, dado que en los mismos se distinguen claramente señales típicas de cuatro hidrógenos anoméricos [δ_{H} : 4,88 (H-1'); δ_{H} : 5,23 (H-1''); δ_{H} : 5,37 (H-1''') y δ_{H} : 6,30 (H-1'')], las cuales se corresponden a través del espectro HSQC con cuatro picos propios de carbonos hemiacetálicos [δ_{C} : 106,4 (H-1'); δ_{C} : 106,0 (H-1''); δ_{C} : 106,3 (H-1''') y δ_{C} : 95,8 (H-1'')]. A través de los espectros COSY, TOCSY, HSQC y HMBC fue posible identificar las señales de los hidrógenos y carbonos correspondientes a cada una de las cuatro hexosas presentes en la molécula. Nuevamente se observaron desplazamientos a campo bajo para dos señales, asignadas a los protones H-2'' (δ_{H} : 4,67) y H-4'' (δ_{H} : 4,69), presentes en una unidad de galactosa, la cual fue además caracterizada por la débil interacción ROESY H-1'' \leftrightarrow H-4''. La secuencia de las tres hexosas que conforman el trisacárido que glicosida al hidroxilo ubicado en C-3 y su respectiva conexión interglicosídica ($^1\text{Glc}\rightarrow^3\text{Gal}\rightarrow^3\text{Glc}$), fue determinada por la siguiente serie de correlaciones en el espectro HMBC: C-3 \leftrightarrow H-1' \leftrightarrow C-3' \leftrightarrow H-1'' / C-3'' \leftrightarrow H-1''' / C-1'' \leftrightarrow H-3' y C-1''' \leftrightarrow H-3''. Todos estos datos llevaron a la conclusión que el compuesto en estudio es el ácido 3-O-[β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil (1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil]-28-O- β -D-glucopiranosil-serjánico [7]. Este ácido había sido ya reportado como componente de la *Phytolacca rivinoides* (19).

La presencia de saponinas triterpénicas en estas dos especies puede explicar su utilidad en el control de las garrapatas (*Boophilus ssp.*), que parasitan el ganado bovino. La actividad acaricida y larvicida de plantas y extractos que contienen saponinas se encuentra bien documentada en la literatura (30-33). En ensayos preliminares, los extractos y fracciones de las especies estudiadas, y los triterpenos y saponinas presentes en los mismos mostraron actividad larvicida (LC_{50} en el rango 120-160 ppm) frente al mosquito vector del dengue (*Aedes aegypti* L.) Estudios orientados a probar la actividad repelente de estos extractos y productos, frente a garrapatas del género *Boophilus* están en progreso.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por el CDCHTA-ULA (Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes de la Universidad de Los Andes), Proyecto C-1759-11-08-ED y por el Ministerio de Ciencia y Tecnología, Misión Ciencia Subvención N° 2008000937. Los autores desean manifestar su agradecimiento al Ing. For. Juan A. Carmona Arzola, del Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos de la Facultad de Farmacia (ULA), por la identificación del material botánico.

Referencias bibliográficas

- JUDD W., CAMPBELL C.S., KELLOG E.A., STEVENS P.F., DONOGAHUE M.J., **Plant Systematics: A Phylogenetic Approach**, 3rd Ed. Sinauer. New York (USA). 322-324. 2007.
- UKAYAMA S., IKINO H. **J Nat Prod** 42 (6): 672-674. 1979.
- JOLLIFFE G. **Brit Homeopath J** 71 (1): 31-34. 1982.
- ESSER K.B., SEMAGN K., WOLDE-YOHANNES L. **J Ethnopharmacol** 85 (2-3): 269-277. 2003.
- RAVIKIRAN G., RAJU A.B., VENUGOPAL Y. **Int J Res Pharm Biomed Sci** 2 (3): 942-946. 2011.
- OGZEWALLA C.D., MOSSBERG B.E., BECK J., FARRINGTON O. **Proc Okla Acad Sci** 43 (1): 54-57. 1963.
- KIM Y.O., JOHNSON J.D., LEE E. J. **J Chem Ecol** 31 (12): 2963-2974. 2005.
- KARAMI M., NAGHSHVAR F., SAEIDNIA S., OMRANI N. **Afr J Biotechnol** 9 (8): 1211-1217. 2010.
- LEMMA A. **Bull WHO** 42 (4): 597-617. 1970.
- LAMBERT J.D.H., TEMMINK J.H.M., MARQUIS J., PARKHURST R.M., LUGT C.B., SCHOONEN A.J. M., HOLTZE K., WARNER J.E., DIXON G., WOLDE-YOHANNES L., DESAVIGNY D. **Regul Toxicol Pharmacol** 14 (2): 189-201. 1991.
- JURBERG P., BARBOSA J.V., ROTENBERG L. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 83 (1): 41-46. 1988.
- HOKCHE O., BERRY P. E., HUBER O. **Nuevo Catálogo de la Flora Vasculare de Venezuela**. Ed. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobias Lasser. Caracas (Venezuela). 544-545. 2008.
- COLL J. C., BOWDEN B. F. **J Nat Prod** 49 (5): 934-936. 1986.
- CHAKRABARTI P., MUKHERJEE D.K., BARUA A. K. **Tetrahedron** 22 (4): 1431-1435. 1966.
- CHAKRABARTI P., MUKHERJEE D.K., BARUA A. K. **Tetrahedron** 24 (3): 1107-1111. 1968.
- THEODORE H., HOWARD C. **Phytochemistry** 12 (9): 2307-2308. 1973.
- RAZDAN T.K., HARKAR S., KACHROO V., KOUL G. L., WAIGHI E. S. **Phytochemistry** 22 (8): 1797-1800. 1983.
- HARAGUCHI M., MOTIDOME M., GOTTLIEB O.R. **Phytochemistry** 27 (7): 2291-2296. 1988.
- NIELSEN S.E., ANTHONI U., CHRISTOPHERSEN C., CORNETT C. **Phytochemistry** 39 (3): 625-630. 1995.
- RAZDAN T.K., HARKAR S., KACHROO V., KOUL G.L. **Phytochemistry** 21 (9): 2339-2342. 1982.
- SAVOIR R., TURSCH B., KAISIN M. **Tetrahedron Letters** 8 (23): 2129-2130. 1967.
- ALVARADO M., MORENO M., RODRÍGUEZ V.M. **Phytochemistry** 20 (10): 2436-2438. 1981.
- SPENGLER S.M. **Phytochemistry** 43 (1): 179-182. 1996.
- TREYVAUD V., MARSTON A., DYATMIKO W., HOSTETTSMANN K. **Phytochemistry** 55 (6): 603-609. 2000.
- BOCK K., THØGERSEN H. **Ann Rep NMR Spectr** 13: 1-57. 1982.
- ROSLUND M.U., TÄHTINEN P., NIEMITZ M., SJÖHOLM R. **Carbohydr Res** 343 (1): 101-112. 2008.

27. AGRAWAL P.K. **Phytochemistry** 31 (10): 3307-3330. 1992.
28. BAUMANN H., JANSSON P.-E., KENNE L. **J C S Perkin Trans I** (2): 209-217. 1988.
29. JANSSON P.-E., KENNE L., SCHWEDA E. **J C S Perkin Trans I** (10): 2729-2736. 1988.
30. FERNANDES F. F., LELES R.N., SILVA I.G., FREITAS E.P.S. **Arq Bras Med Vet Zootec** 59 (1): 145-149. 2007.
31. HABEEB S. M. **World Appl Sci J** 11 (9):1047-1054. 2010.
32. EL-GENGAIHI S., DIMETRY N.Z., AMER S.A.A. **Arch Phytopathol Plant Protec** 44 (5): 419-425. 2011.
33. FERREIRA BORGES L.M., ALESSANDRA DIAS DE SOUSA L., DA SILVA BARBOSA C. **Rev Bras Parasitol Vet** 20 (2): 89-96. 2011.