

## Estudio de la Relación Estructura-Actividad Citoprotectora Gástrica de Lactonas Sesquiterpénicas y Compuestos Estructuralmente Relacionados

Ricardo D. ENRIZ \*, Ana M. RODRIGUEZ y Esteban A. JAUREGUI

*Departamento de Química. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia.  
Universidad Nacional de San Luis. Chacabuco y Pedernera. 5700 San Luis. Argentina*

---

**RESUMEN.** En el presente trabajo se reporta un estudio de la relación estructura-actividad citoprotectora gástrica de numerosas lactonas sesquiterpénicas y otros compuestos estructuralmente relacionados. Nuestros resultados muestran claramente la importancia que tienen los estudios de correlación estructura-actividad, ya que los mismos nos han permitido explicar la actividad citoprotectora de lactonas sesquiterpénicas, determinando cuales son los mínimos requerimientos estructurales para producir la respuesta biológica. Además estos estudios han permitido encontrar nuevos agentes citoprotectores en otras familias de compuestos. Por otro lado, un estudio del posible mecanismo de acción a nivel molecular para estos compuestos, nos ha permitido establecer las bases para una correlación estructura-reactividad con respecto a las adiciones nucleofílicas que tendrían lugar en la serie. Este criterio discriminante de reactividad, que está directamente ligado a las propiedades de las moléculas, serviría como punto de partida para predecir la habilidad que tendrían compuestos de estas series que aún no han sido probados y que podrían tener estructuras adecuadas para desarrollar efectos citoprotectores.

**SUMMARY.** "Structure-Gastric Cytoprotective Activity Relationship of Sesquiterpene Lactones and Structurally Related Compounds". In the present paper a structure-activity relationship in the gastric cytoprotective effect of several sesquiterpene lactones and structurally related compounds is reported. On the basis of our results it was possible to determine the minimal structural requirements to produce the biological response; in addition, new compounds showing cytoprotective effect in other series were found. On the other hand we evaluate a possible molecular mechanism for these compounds. The discriminating properties discussed can thus become the basis for structure-reactivity correlations in these compounds with respect to a nucleophilic addition. Such discriminant reactivity criteria that is anchored in the properties of the molecules should provide useful tools for predicting the ability of untested compounds in this series to exhibit similar cytoprotective effect.

---

**PALABRAS CLAVE:** Citoprotección gástrica; Función carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturada; Mecanismo de acción; Relación estructura-actividad.

**KEY WORDS:** Gastric cytoprotective effect; Mechanism of action; SAR (structure-activity relationship);  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl function.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia.

## INTRODUCCIÓN

Son bien conocidas las propiedades antitumorales, antimicrobianas, citotóxicas, antifúngicas, alergénicas y dermatíticas de las lactonas sesquiterpénicas, las cuales han sido reportadas desde hace bastante tiempo <sup>1-5</sup>. La actividad citoprotectora gástrica de estos compuestos en cambio, es más reciente ya que fue reportada por primera vez en el año 1990, en base a estudios desarrollados en nuestro grupo de trabajo <sup>6</sup>. Diversos estudios posteriores nos han permitido encontrar nuevos agentes citoprotectores, determinar los mínimos requerimientos estructurales para producir efecto citoprotector, como así también poder inferir el mecanismo de acción a nivel molecular de esta serie de compuestos <sup>7-13</sup>. En el presente trabajo se presenta un resumen de los principales resultados obtenidos anteriormente, como así también algunos resultados recientemente obtenidos que aún no han sido reportados.

## RELACIÓN ESTRUCTURA-ACTIVIDAD CITOPROTECTORA GÁSTRICA DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

La Figura 1 muestra la estructura de dehidroleucodina (I), compuesto que ha sido tomado como "cabeza de serie" en la familia de lactonas sesquiterpénicas estudiadas (Tabla 1).

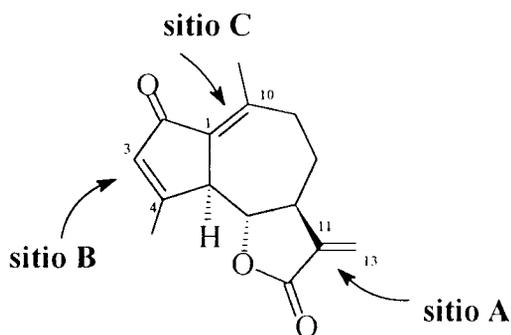
Uno de los primeros objetivos de nuestro estudio fue determinar qué partes de las moléculas mostradas en la Tabla 1 eran las responsables del efecto citoprotector y cuáles podían ser consideradas partes superfluas o prescindibles. Para este estudio fueron muy útiles los resultados obtenidos a través de los análisis electrónicos realizados utilizando potenciales electrostáticos moleculares (PEMs) <sup>14,15</sup>. Estos estudios señalan a dos grupos como los sitios potencialmente reactivos de estos compuestos: el grupo  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona y el sistema ciclopentenona  $\alpha,\beta$ -insaturado. La característica más saliente de estos mapas son los dos mínimos altamente localizados en los dos sitios mencionados anteriormente. En la Figura 2 se muestran los PEMs obtenidos para dehidroleucodina (I) y helenalina (II) que pueden ser tomados como resultados representativos para el resto de los compuestos de la serie.

Una característica en común de los sistemas  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona y ciclopentenona  $\alpha,\beta$ -insaturado es que, en principio, ambos grupos funcionales podrían actuar como aceptores de grupos sulfhidrilo (SH) de la mucosa gástrica.

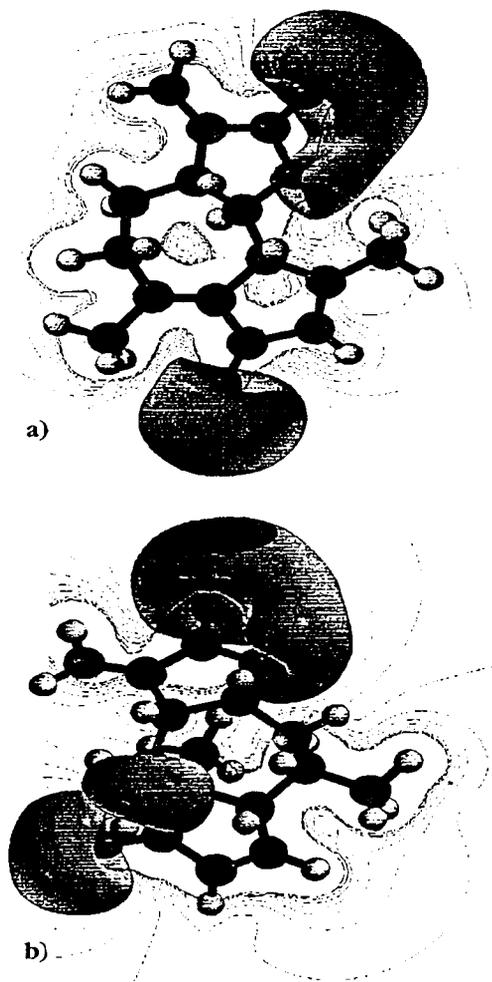
Comparando las estructuras del compuesto I y 11,13-dihidro-dehidroleucodina (III) es interesante notar que, a pesar de la similitud estructural entre ellos, I es una de las moléculas más activa de la serie, mientras que el compuesto III es inactivo. Este hecho puede ser interpretado de dos formas: a) es necesaria la presencia de los dos grupos funcionales para producir citoprotección, lo que implicaría una actividad complementaria o sinérgica de ambos grupos y b) sólo un grupo es necesario para producir la respuesta biológica, aunque si esta fuera la respuesta correcta, dicho sitio debería tener determinadas características estructurales que nos permita explicar la diferente actividad encontrada para I y III. Un exhaustivo estudio conformacional realizado sobre más de 30 lactonas sesquiterpénicas <sup>7,8</sup> nos permitió obtener la respuesta a este interrogante. Analizando las distancias interatómicas entre los grupos potencialmente reactivos se observó que no era posible encontrar una distancia característica en común para los diferentes compuestos, por lo que la primera hipótesis fue descartada.

Compuesto	Estructura	Efecto Citoprotector	Compuesto	Estructura	Efecto Citoprotector
dehidroleucodina (I)		0.25 ± 0.045	mexicanina I (VII)		0.25 ± 0.05
helenalina (II)		0.33 ± 0.059	ludarina (VIII)		0.50 ± 0.079
11,13-dihidro-dehidroleucodina (III)		3.50 ± 0.308	helenalina-6-acetato (IX)		1.00 ± 0.245
11,13-dihidro-helenalina (IV)		0.66 ± 0.055	mexicanina A-6-acetato (X)		0.90 ± 0.173
2,3-dihidro-helenalina (V)		1.00 ± 0.158	himenina (XI)		0.25 ± 0.035
2,3,11,13-tetrahidro-helenalina (VI)		3.70 ± 0.210	11,13-dihidro-himenina (XII)		4.00 ± 0.380

Tabla 1. Efecto Citoprotector de Lactonas Sesquiterpénicas a una Dosis Oral de 40 mg/kg



**Figura 1.** Esquema general de dehidroleucodina (I) mostrando los potenciales centros reactivos propuestos para la molécula.



**Figura 2.** Mapa de potencial electrostático molecular (PEM) obtenido para: a) compuesto I. b) compuesto II. Los respectivos PEMs fueron confeccionados utilizando funciones de onda AM1. Las curvas de energía están separadas cada 1 kcal/mol partiendo de un valor mínimo de -50 kcal/mol.

Paralelamente a este estudio tratamos de encontrar una descripción de los requerimientos estructurales que debía tener el sistema carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado para poder ser considerado "activo", lo que nos permitiría explicar la diferente actividad encontrada para I y III.

Considerando como un mecanismo altamente factible una reacción de adición nucleofílica entre los grupos SH de la mucosa con el doble enlace  $C_\beta=C_\alpha$  de los grupos potencialmente reactivos, realizamos una simulación de la supuesta interacción molecular entre estos grupos. En esta simulación se seleccionó al residuo cisteína bloqueado para que jugara el rol de la parte "activa" del glutatión, el cual es el compuesto sulfhidrilo no-proteico mayoritario de la mucosa gástrica<sup>16,17</sup>

Las interacciones moleculares fueron simuladas utilizando cálculos de mecánica molecular, empleando un método desarrollado por nuestro grupo de trabajo<sup>7,18</sup>, el cual ha sido utilizado previamente en otros sistemas biológicos con muy buenos resultados<sup>19-23</sup>. Una explicación detallada del método de interacciones moleculares (IM) utilizado puede ser obtenida en las referencias citadas<sup>7,18</sup>

Todas las moléculas utilizadas en la simulación, incluyendo cisteína, fueron mantenidas fijas en las conformaciones obtenidas previamente a partir de cálculos semi-empíricos AM1. El ataque sobre el residuo cisteína fue simulado para todas las conformaciones obtenidas previamente y desde diferentes orientaciones espaciales, encontrándose que las interacciones moleculares energéticamente preferidas eran aquellas en las que el grupo SH de cisteína se ubica prácticamente perpendicular al plano del doble enlace carbono-carbono (Figura 3). Estos resultados están de acuerdo con reportes previos de adiciones nucleofílicas de tioles<sup>24</sup> y también con resultados teóricos recién-

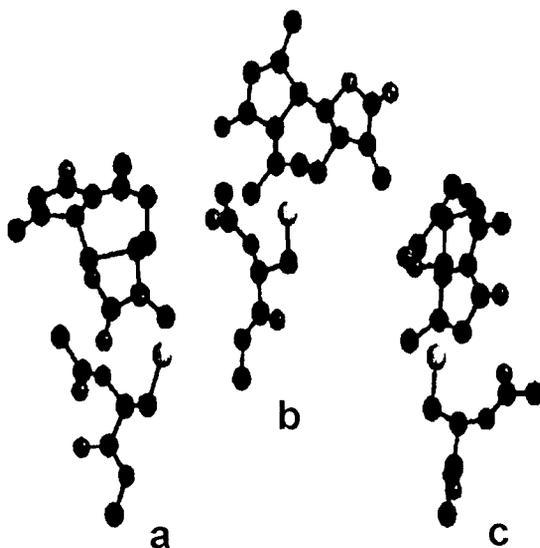
temente obtenidos por nosotros utilizando cálculos *ab initio* 6-31G\*<sup>12</sup>.

Las interacciones moleculares fueron evaluadas incluyendo distancias entre el S de cisteína y el C $\beta$  del doble enlace desde 5 Å a 2 Å, con el objeto de incluir en esta evaluación el posible estado de transición que debería producirse en algún lugar entre 1,8 Å (distancia del enlace covalente C-S) y 3,6 Å (la suma de los radios de van der Waals de C y S).

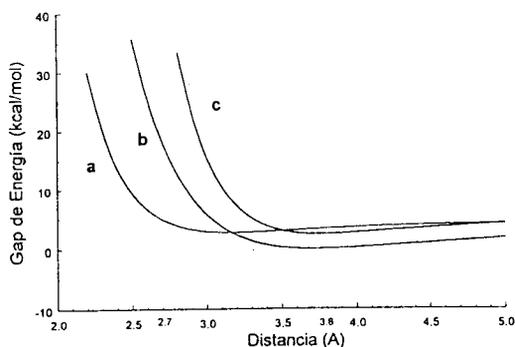
La Figura 4 muestra los perfiles de energía obtenidos para los cálculos de IM en tres sitios diferentes de la molécula I (A, B y C, Figura 1).

El estudio de IM en el C<sub>13</sub> (sitio A) muestra que el mínimo de energía se ubica a una distancia C-S de 3 Å, obteniéndose una diferencia de energía ( $\Delta E$ ) menor de 2 kcal/mol para distancias que van desde 3 Å a 2,7 Å. Este aumento de energía podría ser fácilmente superado por la energía liberada en el proceso de formación del enlace, ya que el mismo es fuertemente exotérmico con una liberación de energía próxima a las 20 kcal/mol, como lo señalan los datos experimentales y cálculos *ab initio*<sup>12</sup>. Resultados diferentes a estos se obtuvieron cuando se simularon IM en el C<sub>4</sub> (sitio B) y C<sub>10</sub> (sitio C). En estos casos el mínimo de energía se obtuvo para una distancia C-S próxima a 3,8 Å, la cual es mayor a la suma de los radios de van der Waals de C y S. Además en estos casos se observa un fuerte aumento de energía cuando se acercan los átomos de S y C desde 3,8 a 2,7 Å (superior a las 20 kcal/mol). Este aumento de energía impediría el acercamiento entre los átomos para alcanzar la distancia adecuada para la formación del estado de transición. Dicho acercamiento no sería factible debido al impedimento estérico producido por los sustituyentes metilo en C<sub>4</sub> y C<sub>10</sub>. Esto puede ser apreciado en la Figura 3, que muestra una vista espacial de la IM entre el residuo cisteína bloqueado y los sitios A, B y C de la molécula I.

Sobre la base de estos resultados consideramos como grupos "activos" aquellos que se comportan como el sitio A, e "inactivos" aquellos que se comportan en forma similar a los sitios B y C. A partir de esta clasificación es posible explicar el



**Figura 3.** Vista espacial de las interacciones intermoleculares entre dehidroleucodina (I) y el residuo cisteína bloqueado. a) interacción en el doble enlace C<sub>11</sub>-C<sub>13</sub>, b) interacción en el doble enlace C<sub>10</sub>-C<sub>1</sub>, c) interacción en el doble enlace C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>.



**Figura 4.** Perfiles de energía para las interacciones intermoleculares entre dehidroleucodina (I) y el residuo cisteína bloqueado. a) cisteína-doble enlace C<sub>11</sub>-C<sub>13</sub>, b) cisteína-doble enlace C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>, c) cisteína-doble enlace C<sub>10</sub>-C<sub>1</sub>.

comportamiento de toda la familia de compuestos mostrados en la Tabla 1. Así, la falta de actividad del compuesto III se debe a que la hidrogenación del doble enlace  $C_{11}=C_{13}$ , en el anillo  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona, convierte al único grupo "activo" de I en "inactivo".

Resulta interesante analizar el comportamiento de helenalina (II) y sus derivados 11,13-dihidro-helenalina (IV), 2,3-dihidro-helenalina (V) y 2,3,11,13-tetrahidro-helenalina (VI). Helenalina (II) es activa y posee dos grupos activos, los anillos  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona y ciclopentenona  $\alpha,\beta$ -insaturado. El compuesto IV, en el cual se ha hidrogenado el doble enlace  $C_{11}=C_{13}$ , se puede considerar que mantiene su efecto citoprotector debido a la presencia del anillo ciclopentenona. En el caso del compuesto V que también es activo, su actividad en cambio puede ser atribuida a la presencia del anillo  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona. Tal como esperábamos el compuesto VI fue inactivo, ya que los grupos potencialmente reactivos de ambos anillos,  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -lactona y ciclopentenona, fueron respectivamente hidrogenados.

La excelente concordancia entre los resultados de simulaciones de IM obtenidas a través de cálculos teóricos y los resultados experimentales nos indican que la presencia de un grupo carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado, estéricamente no impedido, es un requerimiento estructural necesario para producir el efecto citoprotector y sugieren por otro lado que la presencia de más de un grupo "activo" no aumenta la actividad biológica. Esto último puede ser apreciado comparando los efectos citoprotectores similares encontrados para los compuestos I, IV, V y VIII (con un solo sitio activo) con aquellos de II, VII, IX y X, que presentan dos sitios.

11,13-dihidro-himenina (XII), a diferencia de himenina (XI), es inactiva. La falta de efecto citoprotector en el compuesto XII no puede explicarse en términos de impedimentos estéricos en el grupo ciclopentenona, sino que este comportamiento puede ser atribuido a una reacción de competición por el grupo aceptor entre el grupo SH del residuo cisteína y el grupo OH de  $C_1$ . Un soporte adicional a esta hipótesis fue obtenido posteriormente cuando evaluamos la actividad citoprotectora de los compuestos XIII-XIV y XV-XVI respectivamente (Tabla 2). Estos compuestos, que son componentes minoritarios de *Artemisia douglasiana*<sup>10</sup>, presentan una situación completamente análoga a la de himenina (XI) y su derivado XII.

## OTROS COMPUESTOS ESTRUCTURALMENTE RELACIONADOS QUE PRESENTAN EFECTO CITOPROTECTOR

Una vez identificado el grupo farmacóforo de estos compuestos, una segunda etapa en nuestras investigaciones fue realizar la búsqueda de nuevas estructuras que pudieran tener efecto citoprotector gástrico. De este modo encontramos actividad citoprotectora en otro tipo de estructuras tales como: derivados de limoneno<sup>9</sup>, constituyentes minoritarios de *Artemisia douglasiana*<sup>10</sup> y también en algunas olefinas electrofílicas de estructuras muy simples<sup>11</sup> (Tabla 2).

Un resultado particularmente interesante fue la importante actividad citoprotectora encontrada en compuestos estructuralmente muy simples tales como  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -butirolactona (XVII), 2-ciclopenten-1-ona (XVIII), 5,6-dihidro-2H-piran-2-ona (XIX), aldehído 1 (XX) y aldehído 2 (XXI). Estos resultados nos permitieron demostrar que el esqueleto guaianólido y/o pseudoguaianólido presente en las lactonas sesquiterpénicas no es imprescindible para producir citoprotección. Sin

Compuesto	Estructura	Efecto Citoprotector	S.M.V.W.	Compuesto	Estructura	Efecto Citoprotector	S.M.V.W.
3-β-hidroxi-carvoagenona (XIII)		3.60 ± 0.49	6.25	3-metil-2-ciclopenten-1-ona (XXII)		4.30 ± 0.50	3.07
3-β-acetoxi-carvoagenona (XIV)		1.50 ± 0.55	6.23	5,6-dihidro-4-hidroxi-6-metil-2H-piran-2-ona (XXIII)		4.66 ± 0.57	4.06
3-α-hidroxi-carvoagenona (XV)		3.60 ± 0.49	6.35	ácido 3-furan-acrílico (XXIV)		4.60 ± 0.30	4.09
3-α-acetoxi-carvoagenona (XVI)		1.50 ± 0.55	6.20	ácido cinámico (XXV)		5.00 ± 0.01	4.84
α-metilen-γ-butirolactona (XVII)		0.25 ± 0.001	7.37	cinamaldehído (XXVI)		4.50 ± 0.01	4.85
2-ciclopenten-1-ona (XVIII)		1.30 ± 0.40	5.40	metilcinamato (XXVII)		2.90 ± 0.01	4.90
5,6-dihidro-2H-piran-2-ona (XIX)		0.55 ± 0.05	5.40	metil-3,3-dimetilacrilato (XXVIII)	$(CH_3)_2C=CHCOOCH_3$	4.50 ± 0.80	3.08
aldehído 1 (XX)		0.70 ± 0.16	7.75	ácido íglico (XXIX)	$CH_2CH=C(CH_3)COOH$	5.00 ± 0.001	5.06
aldehído 2 (XXI)		0.90 ± 0.17	7.73	ácido angélico (XXX)	$CH_3CH=C(CH_3)COOH$	3.50 ± 0.50	5.00
				metiltiglató (XXXI)	$CH_3CH=C(CH_3)COOCH_3$	5.00 ± 0.001	5.07
				metilangelato (XXXII)	$CH_3CH=C(CH_3)COOCH_3$	5.00 ± 0.001	4.99
				etilglatol (XXXIII)	$CH_3CH=C(CH_3)COOC_2H_5$	4.80 ± 0.30	5.03
				aldehído tiglico (XXXIV)	$CH_3CH=C(CH_3)CHO$	4.60 ± 0.50	5.05
				etilacrilato (XXXV)	$CH_2=CHCOOCH_2CH_3$	4.30 ± 0.40	7.39
				propenenitrilo (XXXVI)	$CH_2=CH-C\equiv N$	3.50 ± 0.50	7.39
				metacrilato de metilo (XXXVII)	$CH_2=C(CH_3)COOCH_3$	4.80 ± 0.30	7.39

Tabla 2. Efecto Citoprotector y Superficies Moleculares de van der Waals (SMVW).

embargo, no podemos descartar que esta parte de la estructura de las moléculas puedan cumplir algún rol en la fase farmacocinética del proceso, sobre todo porque en general la toxicidad encontrada en las olefinas electrofílicas es muy alta si se la compara con la de dehidroleucodina (I).

Los resultados anteriormente mencionados fueron obtenidos en un estudio muy reciente en el cual se evaluaron numerosos compuestos de estructuras simples, algunos de los cuales pueden actuar como aceptores nucleofílicos <sup>11</sup>. En este estudio, además de aspectos conformacionales y electrónicos, se incluyó el análisis de los tamaños de las superficies moleculares de van der Waals (SMVW) de los centros potencialmente reactivos, cuyos valores pueden ser utilizados como un índice de la accesibilidad molecular. Estos cálculos de SMVW se realizaron utilizando un método de cálculo analítico que ha sido recientemente desarrollado por nuestro grupo de trabajo <sup>25</sup>.

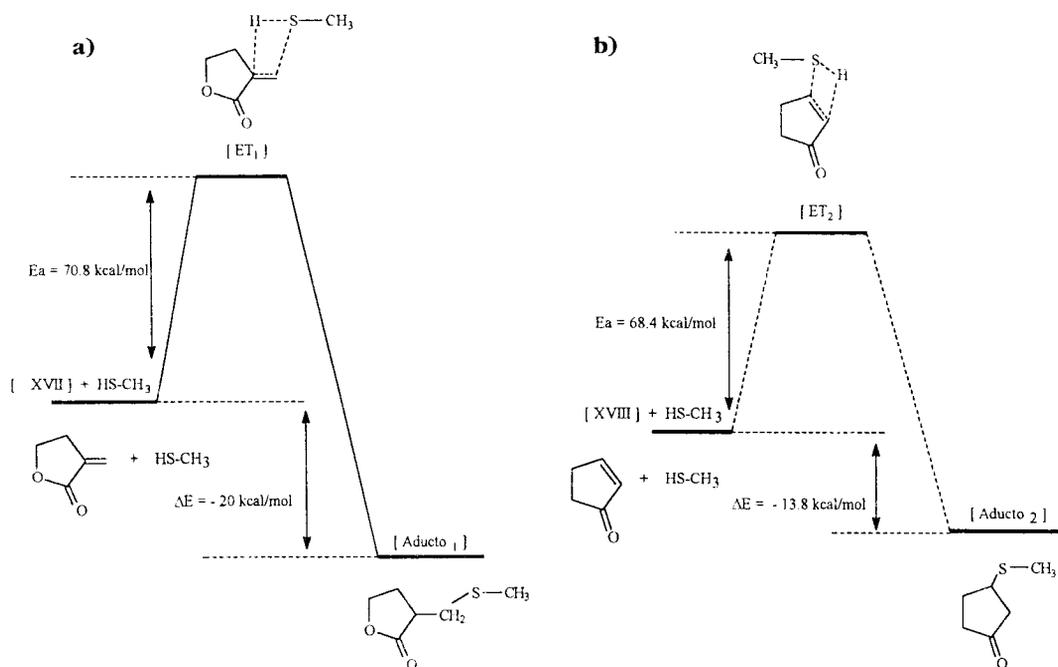
Observando los valores de SMVW obtenidos para los compuestos de la Tabla 2 resulta evidente que una alta accesibilidad molecular (un valor elevado de SMVW) sería esencial para la citoprotección, ya que aquellas moléculas que tienen valores de SMVW menores a 5 fueron muy poco activas o inactivas. Sin embargo, sobre la base de factores estéricos no podemos explicar porqué  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -butirolactona (XVII) es activo mientras etilacrilato (XXXV) no lo es, a pesar de la similitud de sus estructuras. Resulta evidente que los parámetros estéricos no son aplicables a aquellos casos en los cuales cálculos de SMVW indican una adecuada accesibilidad molecular, como por ejemplo, los compuestos XXXV, XXXVI y XXXVII. Los cálculos teóricos (AM1 y *ab initio* 3-21G) predicen que el ordenamiento espacial preferido (conformaciones de menor energía) para los compuestos no cíclicos son conformaciones extendidas o parcialmente extendidas. Estas formas presentan una disposición espacial y forma molecular que es diferente a la adoptada por las moléculas cíclicas. Por otro lado, debería notarse que todos los compuestos no-cíclicos fueron inactivos. Sobre la base de estos resultados podríamos pensar en un nuevo requerimiento estructural para la actividad citoprotectora gástrica de estos compuestos, que es que el aceptor electrofílico debe estar incluido en una estructura cíclica o al menos muy próximo a un sistema cíclico (probablemente debido a razones hidrofóbicas).

Sobre la base de estos resultados se puede concluir que la presencia de un sistema carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado parece ser un requerimiento estructural necesario pero no suficiente para producir citoprotección. Además, nuestros resultados sostienen importantes hechos vinculando estructura química con efecto citoprotector. Primero una adecuada accesibilidad molecular parece ser necesaria para producir la respuesta biológica y el segundo es que cuando el sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado está incluido en una estructura cíclica da lugar a los agentes citoprotectores más potentes. En realidad este resultado no es sorprendente, ya que en general los derivados cíclicos (como por ejemplo cicloalquienonas) son más reactivos que sus contrapartes acíclicas (como es el caso de las alquienonas no cíclicas <sup>26</sup>).

## UN POSIBLE MECANISMO DE ACCIÓN A NIVEL MOLECULAR

Con el objeto de corroborar si una reacción de adición nucleofílica sería el mecanismo de acción molecular de estos compuestos, recientemente realizamos un estudio, utilizando cálculos *ab initio* 6-31G\*, en el cual se evaluó la reacción entre MeSH con  $\alpha$ -metilen- $\gamma$ -butirolactona (XVII) y 2-ciclopenten-1-ona (XVIII) <sup>12</sup>.

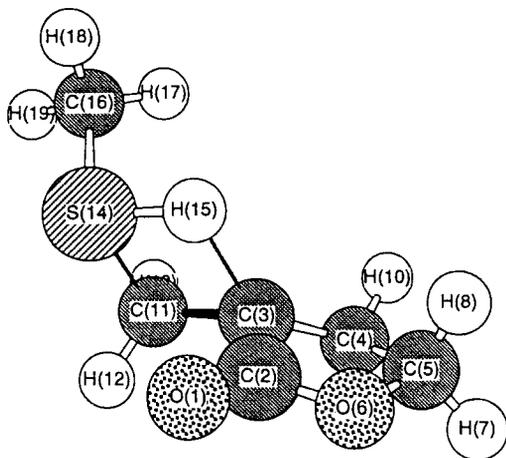
Estos estudios nos han permitido encontrar la formación de los respectivos estados de transición  $ET_1$  y  $ET_2$  (Figuras 5a y 5b). Estas estructuras tienen las características de verdaderos estados de transición, con un único valor negativo en la matriz del Hessiano de constantes de fuerzas.



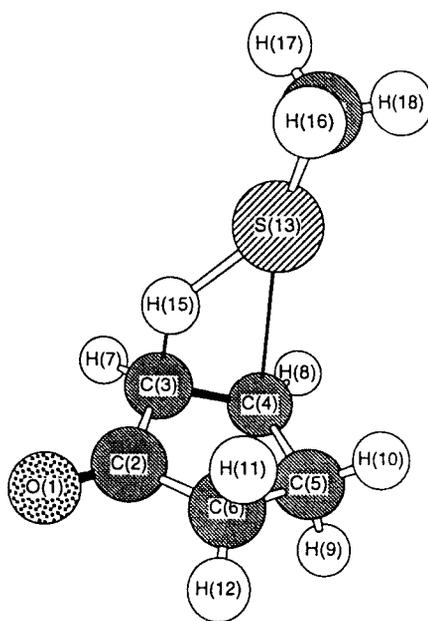
**Figura 5.** Perfil de energía mostrando la coordenada de reacción para: **a)** compuesto XVII + HS-CH<sub>3</sub> → [Aducto 1]. **b)** compuesto XVIII + HS-CH<sub>3</sub> → [Aducto 2].

Observando ciertas diferencias apreciables en los parámetros geométricos de ambos estados de transición, como por ejemplo las longitudes de enlace S-C<sub>11</sub>, S-H<sub>15</sub>, C<sub>3</sub>-H<sub>15</sub> y los ángulos de enlace H<sub>15</sub>-S-C<sub>11</sub> y S-C<sub>11</sub>-C<sub>3</sub> en el  $ET_1$  (Figura 6) y sus equivalentes S-C<sub>4</sub>, S-H<sub>15</sub>, C<sub>3</sub>-H<sub>15</sub>, H<sub>15</sub>-S-C<sub>4</sub> y S-C<sub>4</sub>-C<sub>3</sub> para el  $ET_2$  (Figura 7), es posible obtener interesantes conclusiones. Los resultados *ab initio* sugieren claramente mecanismos diferentes para las interacciones entre MeSH con los compuestos XVII y XVIII, respectivamente. Mientras para XVII sugieren un ataque nucleofílico directo sobre el doble enlace carbono-carbono, para el compuesto XVIII el mecanismo es llevado de concertado a sécuencial. En este último caso, el ataque del alquitiol ocurriría como una adición en dos etapas consecutivas; la primera involucrando el ataque del H<sub>15</sub> al átomo de C<sub>3</sub>, mientras que la segunda sería el ataque del S sobre el C<sub>4</sub>.

Es interesante notar que esta diferencia en el mecanismo puede ser tomada como un indicador de la respuesta biológica de XVII y XVIII, permitiendo explicar el notable mayor efecto citoprotector de XVII con respecto a XVIII. El buen acuerdo entre los resultados *ab initio* y los hallazgos experimentales ponen de manifiesto el poder discriminante de las propiedades moleculares y dan un soporte muy importante a nuestra hipótesis, que propone una adición nucleofílica como mecanismo molecular para estos compuestos que tienen un sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado con una funcionalidad carbonilo.



**Figura 6.** Vista espacial del estado de transición ET<sub>1</sub> de  $\alpha$ -metileno- $\gamma$ -butirolactona (XVII) interactuando con HS-CH<sub>3</sub>. Los principales parámetros estructurales son: S-C<sub>11</sub> = 1.861 Å; S-H<sub>15</sub> = 1.443 Å; C<sub>3</sub>-H<sub>15</sub> = 1.809 Å; H<sub>15</sub>-S-C<sub>11</sub> = 76.3°; S-C<sub>11</sub>-C<sub>3</sub> = 100.4°.



**Figura 7.** Vista espacial del estado de transición ET<sub>2</sub> de 2-ciclopenten-1-ona (XVIII) interactuando con HS-CH<sub>3</sub>. Los principales parámetros estructurales son: S-C<sub>3</sub> = 2.705 Å; S-H<sub>15</sub> = 1.783 Å; C<sub>3</sub>-H<sub>15</sub> = 1.274 Å; H<sub>15</sub>-S-C<sub>4</sub> = 48.7°; S-C<sub>4</sub>-C<sub>3</sub> = 79.3°.

Los resultados aquí presentados muestran claramente la importancia que tienen los estudios de correlación estructura-actividad, ya que los mismos nos han permitido explicar la actividad citoprotectora de lactonas sesquiterpénicas, determinando cuáles son los mínimos requisitos estructurales para producir la respuesta biológica. Gracias a esto último ha sido posible encontrar nuevos agentes citoprotectores en otras familias de compuestos. Por otro lado, el estudio del mecanismo de acción a nivel molecular nos ha permitido establecer las bases para una correlación estructura-reactividad con respecto a las adiciones nucleofílicas que tendrían lugar en la serie. Este criterio discriminante de reactividad, que está directamente ligado a las propiedades de las moléculas y basado en claras hipótesis mecánicas, serviría como punto de partida para predecir la habilidad que tendrían compuestos relacionados estructuralmente que aún no han sido probados y que podrían desarrollar efectos citoprotectores similares.

## SECCIÓN EXPERIMENTAL

### Química y Productos Naturales

Todos los productos naturales empleados en el presente estudio han sido aislados y caracterizados como se detalla en las referencias 6 (compuestos I, II, VII, VIII y XI) y 10 (compuestos XIII y XV). Los detalles experimentales realizados para obtener el resto de los compuestos aquí reportados se pueden obtener a partir de las referencias 7 (compuestos III, IV, V, VI, IX, X y XII), 9 (compuestos XX y XXI), 10 (compuestos XIV y XVI) y 11 (compuestos XVII, XVIII, XIX, XXII al XXXVII).

### **Inducción de las Lesiones Gástricas**

Las lesiones gástricas fueron producidas siguiendo el método de Robert *et al.* <sup>27</sup>. El grado de erosión en la porción glandular del estómago fue cuantificado de acuerdo a la escala diseñada por Marazzi-Uberti y Turba <sup>28</sup>, como sigue: 0, sin erosiones; 1, 1-3 erosiones pequeñas (4 mm de diámetro o menor); 2, más de 3 erosiones pequeñas o 1 erosión grande; 3, 1 erosión grande y más de 3 erosiones pequeñas; 4, 3-4 erosiones grandes; 5, más erosiones grandes o perforación ulcerosa. Los resultados fueron expresados como un factor ulcerogénico obtenido como la gravedad promedio de las erosiones por rata y por cada grupo en una escala de 0 a 5. La suma de esos valores fue dividida por el número de animales.

En la referencia 6 se reporta en forma detallada el ensayo de inducción de las lesiones gástricas.

### **Métodos de cálculo utilizados**

Los cálculos de interacciones moleculares se realizaron utilizando un potencial átomo-átomo empírico desarrollado por nuestro grupo de trabajo. Una explicación detallada de este método de cálculo puede obtenerse en las referencias 7 y 18. Un estudio comparativo de la utilización de este método simple con cálculos semiempíricos y *ab initio* fue recientemente reportada en la bibliografía <sup>22</sup>.

Los cálculos semiempíricos se realizaron utilizando las aproximaciones MNDO <sup>29</sup> y AM1 <sup>30</sup>, tal como está implementada en el programa MOPAC en su versión 6.0 <sup>31</sup>.

Todos los cálculos *ab initio* aquí presentados se realizaron empleando los programas MONSTERGAUSS <sup>32</sup>, utilizando la base 3-21G y GAUSSIAN 94 <sup>33</sup>, utilizando el grupo de base 6-31G\*. Con el objeto de obtener resultados confiables se realizaron optimizaciones de todos los parámetros estructurales tanto a nivel semiempírico como *ab initio*.

El cálculo de potenciales electrostáticos moleculares (PEM)<sup>14, 15</sup>, se realizó a partir de funciones de onda AM1, utilizando el programa SPARTAN <sup>34</sup>. Los PEMs se calcularon a 2 Å por encima del plano del anillo cicloheptano, teniendo en cuenta las sugerencias de Pullman <sup>35, 36</sup>.

El método utilizado para el cálculo de áreas accesibles ha sido desarrollado por nuestro grupo de trabajo. En la referencia 11 se reporta una versión muy resumida del método de cálculo, mientras que en la referencia 25 se reporta en forma detallada dicho método.

**Agradecimientos.** Agradecemos a los Dres. O. S. Giordano (Area de Química Orgánica) y J. A. Guzmán (Area de Farmacología) de la Universidad Nacional de San Luis, en donde se realizaron la obtención, purificación y síntesis, como así también los ensayos biológicos de los compuestos reportados en este trabajo. Este trabajo ha sido financiado por la Universidad Nacional de San Luis. El Dr. R.D. Enriz y la Dra. A.M. Rodríguez son respectivamente miembro de la Carrera del Investigador Científico y becaria posdoctoral del CONICET (Argentina).

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Lee, K.H., E.C. Mar, C.O. Starnes, S.A. El Gabaly, T.G. Waddell, R.I. Hadgraft, C.G. Ruffner & I. Weidner (1977) *Science* **196**: 533-5
2. Hanson, R.L., H.A. Lardy & S.M. Kupchan (1970) *Science* **168**: 378-80
3. Amaron, J.T., M.B. Isman, B.J. Philogene & T.G. Waddell (1987) *J. Nat. Prod.* **50**: 690-4

4. Rodríguez, E., G.H. Towers & J.C. Mitchell (1976) *Phytochemistry* **15**:1573-6
5. Rodríguez, E. (1977) *Rev. Latinoamer. Quím.* **8**: 56-8
6. Giordano, O.S., E. Guerreiro, M.J. Pestchanker, J. Guzmán, D. Pastor & T. Guardia (1990) *J. Nat. Prod.* **53**: 803-6
7. Giordano, O.S., M.J. Pestchanker, E. Guerreiro, J.R. Saad, R.D. Enriz, A.M. Rodríguez, E.A. Jáuregui, J. Guzmán, A.O. María & G. Wendel (1992) *J. Med. Chem.* **35**: 2452-8
8. Enriz, R.D., A.M. Rodríguez, E.A. Jáuregui, M.J. Pestchanker, O.S. Giordano & J. Guzmán (1994) *Drug Des. Discovery* **11**: 23-8
9. Rodríguez, A.M., R.D. Enriz, E.A. Jáuregui, M.J. Pestchanker, O.S. Giordano & J. Guzmán (1994) *An. Asoc. Quím. Argent.* **82**: 399-414
10. Guerreiro, E., E.E. García, M.J. Pestchanker, R.D. Enriz, A.M. Rodríguez, A. María & G. Wendel (1995) *Nat. Prod. Lett.* **6**: 269-80
11. Rodríguez, A.M., R.D. Enriz, L.N. Santagata, E.A. Jáuregui, M.J. Pestchanker & O.S. Giordano (1997) *J. Med. Chem.* **40**: 1827-34
12. Enriz, R.D., A.M. Rodríguez, E.A. Jáuregui & F. Tomás-Vert.(resultados no publicados)
13. Enriz, R.D., A.M. Rodríguez, H.A. Baldoni, F.D. Suvire, F.A. Giannini, M.A. Zamora & E.A. Jáuregui (1996) *International Symposium on Theoretical and Experimental Aspects of Protein Folding*. San Luis, Argentina. Abstr. N° 7
14. Scrocco, E. & J. Tomasi (1973) "*Topics in Current Chemistry, New Concepts II, N° 42*". Springer-Verlag, Berlín
15. Politzer, P. & D.G. Truhlar (1981) "*Chemical Applications of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials*" (P. Politzer & D.G.Truhlar, eds.) Plenum., New York, págs 1-15
16. Szabo, S., J.S. Trier & P.W. Frankel (1981) *Science* **214**: 200-2
17. Boyd, S.C., A. Sasame & M.R. Boyd (1979) *Science* **205**: 1010-3
18. Enriz, R.D. & E.A. Jáuregui (1991) *An. Asoc. Quím. Argent.* **79** (1): 41-52
19. Enriz, R.D., G.M. Ciuffo & E.A. Jáuregui (1991) *J. Mol. Struct. (Theochem)* **226**: 327-38
20. Enriz, R.D., M.R. Estrada, E.A. Jáuregui, C.A. Ponce & F. Tomás-Vert (1993) *J. Mol. Struct. (Theochem)* **280**: 5-15
21. Enriz, R.D., H.A. Baldoni, E.A. Jáuregui, M.E. Sosa, C.E. Tonn & O.S. Giordano (1994) *J. Agric. Food. Chem.* **42**: 2958-69
22. Suvire, F.D., R.D. Enriz & E.A. Jáuregui (1995) *Acta Farm. Bonaerense* **14**: 237-47
23. Baldoni, H.A., R.D. Enriz, E.A. Jáuregui & I.G. Csizmadia (1996) *J. Mol. Struct. (Theochem)* **363**: 167-78
24. (a) Shenhav, H., Z. Rappoport & S. Patai (1970) *J. Chem. Soc. B*: 469-76 (b) Friedman, M. & J.A. Romersberger (1968) *J. Org. Chem.* **33**: 154-9
25. Santagata, L., J. Luco & R.D. Enriz (1996) *An. Asoc. Quím. Argent.* **84**: 573-84
26. Perlmutter, P. (1992) "*Conjugate Addition Reactions in Organic Synthesis*" (J.E. Baldwin & P.D. Magnus, eds.) Pergamon Press, Vol 9, págs 1-61
27. Robert, A., J.E. Nezomis, C. Lancaster & A.J. Hanchar (1979) *Gastroenterology*. **77**: 433-43
28. Marazzi-Uberti, E. & C. Turba (1984) *Arzneim-Forsch.* **34**: 468-73
29. Dewar, M.S. & W. Thiel (1977) *J. Am. Chem. Soc.* **99**: 4899
30. Dewar, M.S., E.G. Zoebisch, E.F. Healy & J.P. Stewart (1985) *J. Am. Chem. Soc.* **107**: 3902-9
31. Stewart, J.J.P (1990) "*MOPAC 6.0 Manual: A Semiempirical Molecular Orbital Program*". 6th ed., F.J. Seiler Research Laboratory, United States Air Force Academy: Boulder, CO.
32. Peterson, M.R. & R.A. Poirier (1991) "*MONSTERGAUSS Program*". UNX Version. University of Toronto, Ontario
33. Gaussian 94, M.J. Frisch y colab., Gaussian, Inc., Pittsburgh PA (1995)
34. SPARTAN version 4.0. Wavefunction, Inc.: Irvine, CA, USA (1995)
35. Pullman, B., A. Goldblum & H. Berthod (1977) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **77**: 1166-9
36. Goldblum, A. & B. Pullman (1978) *Theor. Chim. Acta* **47**: 345-57