

Productos Naturales

Instituto de Ecología y Sistemática

ESTUDIO QUÍMICO EN ESPECIES CUBANAS DEL GÉNERO *ANNONA* II. *ANNONA SCLEROPHYLLA* SAFFORD

Daisy Sandoval López,¹ Armando Payo Hill² y Hermán Vélez Castro³

RESUMEN

Se informan los resultados obtenidos del estudio del contenido de alcaloides en las hojas y tallos de la especie endémica cubana *Annona sclerophylla*, de discreta actividad antimicrobiana. Para la extracción y purificación de dichos metabolitos se utilizaron solventes orgánicos y métodos cromatográficos de separación por columna. Con el empleo de técnicas espectroscópicas de UV, IR, masa y RMN¹ H y ¹³C, así como por la medición de sus constantes físicas, se identificaron los alcaloides isocorypalmina y lirioidenina, y los compuestos (-)-kau-16-en-19-oico y (-)-kauran-16 α -o1.

DeCS: PLANTAS MEDICINALES; ALCALOIDES; EXTRACTOS VEGETALES/farmacología; EXTRACTOS VEGETALES/química.

El interés en los últimos años de los investigadores por la actividad biológica de las Anonáceas, se debe fundamentalmente a la acción citotóxica, antitumoral, pesticida y antimicrobiana^{1,2} que presentan un gran número de plantas de esta importante familia.

Este trabajo forma parte del estudio iniciado con las especies endémicas cubanas³ del género *Annona*, en el cual se reporta la identidad de los constituyentes

mayoritarios presentes en las partes aéreas de *Annona sclerophylla* Safford, arbusto endémico⁴ que crece en la región oriental de la isla de Cuba.

MÉTODOS

El material vegetal fue colectado en Pinares de Mayarí, Holguín, Cuba; un ejemplar se encuentra depositado en el

¹ Licenciada en Química. Investigadora Agregada.

² Licenciado en Bioquímica. Investigador Agregado.

³ Doctor en Química. Investigador Titular. Centro de Química Farmacéutica.

Herbario HAC del Instituto de Ecología y Sistemática, catalogado como HAC 41416.

Las hojas y tallos (3,7 kg) secos y molidos de *A. sclerophylla* se extrajeron de acuerdo con el procedimiento descrito con anterioridad.³ El crudo, constituido por una mezcla, fue fraccionado con el empleo de cromatografía de columna sobre Kieselgel 40 (70-230 mesh); como eluyente se utilizó cloroformo (CHCl₃) y las mezclas cloroformo-metanol (CHCl₃MeOH) de polaridad creciente.

La purificación de los 4 compuestos obtenidos se realizó mediante cromatografía de columna sobre Kieselgel y mezcla benceno/metanol aumentando la polaridad.

La determinación del punto de fusión y rotación específica se realizó en un microscopio modelo MHK y un equipo Polartronic(Universal) respectivamente.

Los datos espectroscópicos se obtuvieron en equipo Specord (UV), Pye Unicam SP 1100 (IR), Jeol DX-300 (masa) y Jeol FX-90Q-90 MHz (RMN-¹H) -22,53 (RMN-¹³C).

RESULTADOS

Compuesto 1 (466 mg): C₂₀H₂₃NO₄, M⁺ m/z 341. Pf. 213-215 °C (descomposición). Cristalizado en CHCl₃MeOH; [α]_D²⁵ -326,2° (CHCl₃, ε=0,32); UV: λ_{max}^{EtOH} nm (log I) : 284 (3,72). IR: ν_{max}^{KBr} cm⁻¹ 3 490 (OH), 2 590, 1 623, 1 523, 1 296, 1 000, 876, 820. EM [m/z] (int. rel. %), M⁺ 341 (87), 326 (45), 310 (13), 178(9), 176(33), 164(100), 149 (76), 134(9). RMN¹H: [200 MHz, DMSO-d₆, TMS, δ (p.p.m.)]: 3,71; 3,74; 3,76 (9 H, 3O Me); 4,04 (J_{AB} = 16 Hz); 6,49; 6,81; 6,87 (1H, 1H, 2H aromáticos). RMN¹³C: [22,5 MHz, CDCl₃, DMSO, TMS, δ (p.p.m.)] (tabla).

TABLA. Datos espectroscópicos RMN¹³C de los compuesto 1,3 y 4

Carbón No.	Compuesto 1	Compuestos 3	Compuesto 4
1	108,7	41,4	42,2
1 a	128,2	-	-
2	144,6	19,1	18,7
3	146,1	37,9	42,2
4	115,0	43,8	33,2
4 a	127,2	-	-
5	28,5	57,2	56,2
6	51,8	21,8	20,5
7	-	40,7	40,5
8	54,0	44,2	45,5
8 a	127,6	-	-
9	150,5	55,2	57,1
10	145,5	39,7	39,5
11	111,5	18,4	18,1
12	124,2	33,1	27,0
12 a	128,7	-	-
13	36,0	43,8	49,2
14	59,5	39,7	37,8
15	-	49,0	58,4
16	-	155,6	79,3
17	-	103,1	24,5
18	-	28,9	33,6
19	-	184,6	21,5
20	-	15,5	17,8
3-OCH ₃	56,3(a)	-	-
9-OCH ₃	60,3	-	-
10-OCH ₃	56,0(a)	-	-

(a) señales intercambiables.

Compuesto 2 (10 mg): $C_{17}H_9NO_3$, M^+ m/z 275. Pf. 280 °C. Cristalizado en $CHCl_3$. UV: λ_{max} nm (log ϵ): 418 (3,92); 310 (3,27); 268 (4,22); 248 (4,30). IR: ν_{max} cm^{-1} : 1 654, 1 594, 1 576. EM [m/z] (int. rel. %): M^+ 275 (100), 246 (38), 219 (36), 217 (35), 162 (11). RMN 1H : [100 MHz, CF_3CO_2D , TMS, δ (p.p.m.)]: 6,52 (s, 2H, OCH_3O); 7,42 (s, 1H), 7,5 - 8,7 (m, 6H).

Compuesto 3 (715 mg): $C_{20}H_{30}O_2$, M^+ m/z 302. Pf. 160-163 °C. Cristalizado en n-hexano; $[\alpha]_D^{25} -99,9^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 0,91$). IR: ν_{max} cm^{-1} : 2 940, 1 961 (CO_2H), 882 ($=CH_2$). EM [m/z] (int. rel. %): M^+ 302 (63), 287 (38), 259 (55), 241 (34), 213 (32), 187 (18), 169 (15), 148 (19), 131 (57), 105 (62), 91 (100), 79 (72), 67 (57), 55 (51), 41 (94). RMN 1H : [200 MHz, $CDCl_3$, TMS, δ (p.p.m.)]: 0,97; 1,25 (6H, $2CH_3$). 4,79 (2H, $J = 11,4$ Hz = CH_2). RMN ^{13}C : [22,5 MHz $CDCl_3$ DMSO, TMS, δ (p.p.m.)] (tabla).

Compuesto 4 (72,7 mg): $C_{20}H_{34}$, M^+ m/z 290. Pf. 218-219 °C. Cristalizado en n-hexano; $[\alpha]_D^{25} -49^\circ$ ($CHCl_3$, $c = 0,24$). IR: ν_{max} cm^{-1} : 3 460, 2 952, 1 477, 1 382, 1 122 (OH), 940 (CCH_2). EM [m/z] (int. rel. %): M^+ 290, 272, 253, 243, 232, 217, 204, 187. RMN 1H : [90 MHz, $CDCl_3$, DMSO, TMS, δ (p.p.m.)] (tabla).

Ensayos preliminares realizados demuestran que el crudo obtenido a partir de los extractos etanólicos presenta una discreta actividad frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 15 006 (Martínez J.L. Comunicación personal).

DISCUSIÓN

El espectro IR del compuesto 1 muestra la presencia de un grupo hidroxilo en $3 490$ cm^{-1} , así como un cuarteto AB con la mitad a alto campo cubierta por las señales de los grupos metoxilos en $\delta 4,00$ y $\delta 4,08$ ($J_{AB} = 16$ Hz) en el espectro RMN 1H , que indican sustituciones en las posiciones 9 y 10 de una tetrahidroprotoberberina.⁵ Las asignaciones de los corrimientos del espectro de RMN ^{13}C (INEPT)

fueron comparadas con los datos reportados para compuestos tipos similares,^{6,7} identificándose al compuesto como el alcaloide isocorypalmina (fig.1).

Se observan en el espectro IR del

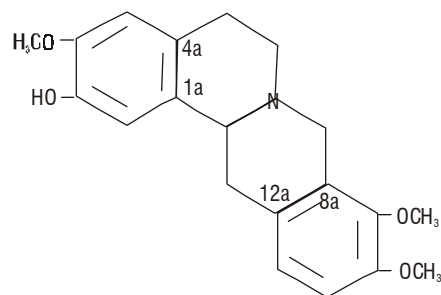


FIG. 1. *Isocorypalmina* (compuesto 1).

compuesto 2, la presencia de un grupo carbonilo en $1 654$ cm^{-1} , y las bandas aromáticas en $1 594$ y $1 576$ cm^{-1} . En el espectro RMN 1H la presencia de un singlete en $\delta 6,52$ propio de un grupo metilendioxi, así como las señales en $\delta 7,42$ y $\delta 7,5-8,7$ características de protones aromáticos nos indican que este alcaloide no es más que la oxoaporfina, liriodenina (fig.2).

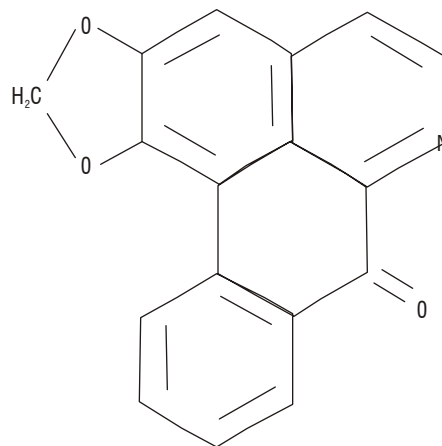


FIG. 2. *Liriodenina* (compuesto 2).

El espectro IR del compuesto 3 muestra la banda de un ácido carboxílico en 1691 cm^{-1} y de un doble enlace exocíclico en 878 cm^{-1} . En el espectro RMN ^1H se aprecian las señales de 2 grupos metilos terciarios δ 0,91 y δ 1,25, así como la señal correspondiente a 2 protones en δ 4,79. La presencia en el espectro RMN ^{13}C de los corrimientos en 184,6; 155,6 y $103,0\text{ p.p.m.}$ confirman la presencia del grupo carboxilo y del doble enlace respectivamente. Este compuesto se identifica con el ácido (-)-Kaur-16-en-19-oico (fig.3).

La presencia de un grupo hidroxilo

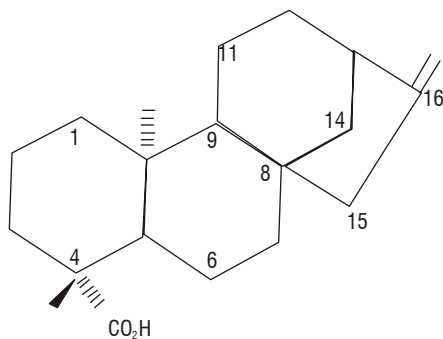


FIG. 3. Ácido (-)-kaur-16-en-19-oico (compuesto 3).

terciario con bandas en 1122 cm^{-1} y de 2 grupos metilos geminales en 940 cm^{-1} son verificados por las señales en δ 0,8; 0,83; 1,03 y 1,32 del espectro RMN ^1H del compuesto 4. El espectro RMN ^{13}C de este

coincide con el reportado⁸ para el (-)-kauran-16 α -ol (fig.4).

Los resultados permiten establecer la

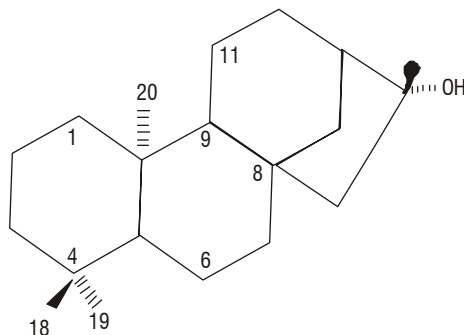


FIG. 4. (-)kauran-16 α -ol (compuesto 4).

presencia de isocorypalmina, liriodenina, ácido (-)-kaur-16-en-19-oico y (-)-kauran-16 α -ol en las hojas y los tallos de la especie endémica cubana *A. sclerophylla* Safford.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al doctor H. Ripperger el aporte brindado a la realización de este trabajo y al licenciado Pedro Herrera por la colecta e identificación del material vegetal.

SUMMARY

This paper presents the results of the study of the alkaloid contents in leaves and stems of the Cuban endemic species called *Annona sclerophylla* that has modest antimicrobial effects. For the extraction and purification of such metabolites, organic solvents and chromatographic methods of separation by columns are used. Spectroscopic techniques like UV, IR, mass and NMR ^1H and ^{13}C as well as the measurement of physical constants allowed identifying alkaloids isocorypalmine and liriodenine, and compounds (-)-kau-16-en-19-oico and (-)-kauran-16 α -ol.

Subject headings: PLANTS, MEDICINAL; ALKALOIDS; PLANT EXTRACTS/ pharmacology; PLANT EXTRACTS/chemistry.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rupprecht JK, Hui YH, McLaughlin JL. Annonaceous acetogenins. *J Nat Prod* 1990;53(2):237-78.
2. Boris C, Loiseau P, Cortes D, Myint SH, Hocquemiller R, Gayeal P, et al. Antiparasitic activity of *Annona muricata* and *Annona cherimola* seeds. *Planta Med* 1991;57:434.
3. Sandoval D, Ripperger H. Estudios químicos en especies cubanas del género *Annona*. I. *Annona bullata* Rich. *Rev Cubana Farm* 1986;20(1):83.
4. Sauget JS, Liogier EE. Flora de Cuba II. Contribuciones ocasionales del Museo de Historia Natural del "Colegio de la Salle". La Habana: Imp. P. Fernández y Cía, S.; 1951-175.
5. Chen CY, MacLean DB. Mass spectra and proton magnetic resonance spectra of some tetrahydroprotoberberine alkaloids. *Can J Chem* 1968;46:2501.
6. Cavé A, Kunesch N, Leboeuf M, Bévalot F, Chiaroni A, Riche C. Alcaloides des Annonacées XXV: la staudine, nouvel alcaloïde isoquinoléique du *Pachypodanthium staudtii* Engl. Et Diels. *J Nat Prod* 1980;43(1):103-11.
7. Shamma M, Hindenlang DM. Carbon 13 NMR shift assignments of amines and alkaloids. New York and London: Plenum Press; 1979:137.
8. Hanson JR. The ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectra of kauranoid diterpenes. *J Chem Soc Perkin Trans* 1976;1:114.

Recibido: 11 de enero del 2002. Aprobado: 4 de febrero del 2002.

Lic. *Armando Payo Hill*. Instituto de Ecología y Sistemática. Carretera de Varona km 3½ Capdevila, municipio Rancho Boyeros, Ciudad de La Habana, Cuba.