

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE *Brosimum rubescens* (MORACEAE), DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA

RESUMEN

Del estudio fitoquímico parcial de los extractos etanólicos de madera, hojas y corteza de la especie *Brosimum rubescens* (Moraceae) se aislaron tres cumarinas xantiletina (1), suberosina (2) y 7-demetil-suberosina (3) y 2 triterpenos acetato de lupeol (4) y lupeol (5), su estructura fue elucidada por resonancia magnética nuclear ^1H y ^{13}C . Se determinó la eficacia *in vitro*, contra *Plasmodium falciparum*, de los extractos etanólicos de madera, hojas y corteza, y del compuesto (1).

PALABRAS CLAVES: *Brosimum rubescens*, cumarina, terpenos, actividad antimalárica.

ABSTRACT

Three coumarins were isolated xanthyletin 1, suberosin 2 and 7-demethyl-suberosin 3 and two triterpenoids lupeol acetate 4 and lupeol 5, were isolated from the wood, leaves and bark of *Brosimum rubescens* (Moraceae). These structure were established by spectral data. The *in vitro* antimalarial activity was determined against *Plasmodium falciparum*, of the ethanolic extracts of wood, leaves and bark and the compound 1.

KEYWORDS: *Brosimum rubescens*, coumarins, triterpenoids, antimalarial activity

MARTHA PATRICIA ALBA SANDOVAL

Químico

Estudiante de Doctorado

Universidad Nacional de Colombia

Sede Bogotá

mpalbas@unal.edu.co

LUIS ENRIQUE CUCA SUÁREZ

Químico, Ph.D.

Cordinador Laboratorio Productos

Naturales Vegetales

Universidad Nacional de Colombia

Sede Bogotá

lecucas@unal.edu.co

1. INTRODUCCIÓN

La familia Moraceae comprende 37 géneros y 1100 especies ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales. Entre las especies sobresalientes de la familia esta *Brosimum rubescens* conocido en la región Amazónica como "palo sangre del rojo" o "granadillo del mas colorado", es un árbol de 25 a 40 metros de altura y su madera es muy apetecida en la elaboración de artesanías gracias al color rojo intenso de su madera y brillo natural. Además su madera, corteza y hojas son utilizadas en medicina tradicional como anticonceptivos, antihemorrágicos, tónicos y para tratar fiebres posiblemente causadas por malaria. Gracias a esta información etnobotánica se llevó a cabo un ensayo de actividad antimalárica[1] a los extractos etanólicos de hojas, corteza y madera obteniendo resultados promisorios entre un 40 y 90% de inhibición de invasión de *Plasmodium falciparum* a eritrocitos a 280, 140, 70 y 35 ppm.

En este trabajo se reporta el estudio fitoquímico parcial de *B. rubescens* se tiene que se han aislados tres cumarinas conocidas como xantiletina 1, suberosina 2 y 7-demetilsuberosina 3 [2], acetato de lupeol 4 y lupeol 5. La xantiletina no mostró actividad antimalárica a las concentraciones probadas.

2. CONTENIDO

2.1 Experimental

2.1.1. Procedimientos Generales

Los espectros de ^1H y ^{13}C uni y bidimensionales fueron tomados en cloroformo deuterado (CDCl_3) en un espectrometro BRUKER AMX 400, usando TMS como estándar interno.

2.1.2. Recolección del Material Vegetal

Las hojas, corteza y madera de *Brosimum rubescens* fueron colectadas en la Región Amazónica Colombiana y reposa un espécimen en el Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias Naturales.

2.1.3 Extracción y Aislamiento

Las hojas (857 g), madera (1595 g) y corteza (60 g) fueron secadas al aire y molidas. Luego llevadas al proceso de extracción con etanol al 96% a temperatura ambiente. El extracto etanólico de madera (60 g) se sometió a cromatografía en columna usando un gradiente de benceno:acetato de etilo (9:1-5:5), para dar 23 fracciones,. Las cuales se sometieron a proceso de purificación por CC repetitiva. De este proceso se obtuvieron las sustancias 1, 2 y 3. Igualmente el extracto etanólico de corteza (21 g) se eluyó con un gradiente de tolueno:acetato de isopropilo 9:1 en polaridad creciente. Las fracciones 8 a 12 fueron

purificadas por CC repetitiva, CCD preparativa y recristalización en una mezcla de acetona/metanol, obteniendo la sustancia 4.

El extracto de éter de petróleo fue eluido en un gradiente tolueno:cloroformo (9:1-1:9), las fracciones 8-12 fueron purificadas en CC repetitiva, CCD preparativa y lavados con acetona y metanol de este procedimiento se obtuvo la sustancia 5.

2.1.4. Ensayo de Inhibición de la Invasión

El efecto de cada extracto y de **1** sobre la invasión del merozoito al glóbulo rojo humano fue realizado usando la cepa FBC-2 de *Plasmodium falciparum* en ensayos *in Vitro*. El cultivo del parásito se tomo en el estadio de esquizonte con una parasitemia final de 0.5% y 5% de hematocrito en medio de cultivo RPMI. El cultivo fue sembrado en placas de 96 pozos en presencia de las muestras a probar en una concentración de 280, 140, 70 y 35 ppm. Cada muestra fue probada por triplicado y el la metodología usada es la reportada por Lopez R., et al., 2004[1]. Como controles se usaron DMSO, cloroquina, eritrocitos normales y parasitados.

2.2. Resultados y Discusión

El compuesto **1** fue aislado como un sólido de color blanco. Al cual se le tomo resonancia magnética nuclear de ^1H . El espectro de hidrogeno tomado en CDCl_3 muestra un par de dobletes en un desplazamiento de 7.55 ppm (1H, J= 9.4 Hz) y 6.15 ppm (1H, J= 9.4 Hz), estas señales son características de los hidrógenos de la posición 3 y 4 del núcleo básico de cumarina, lo cual se confirma con 2 singletes en 7.01 y 6.67 ppm, los cuales corresponden a los hidrógenos 5 y 8 del anillo aromático de la cumarina [3], además estos singletes están indicando que la cumarina se encuentra sustituida en las posiciones 6 y 7 de la estructura. Los desplazamientos de las señales en 6.30 ppm (1H, J= 10 Hz, d), 5.65 ppm (1H, J= 10 Hz, d), y 1.42 ppm (6H, s), son característicos de un anillo piranico, con 2 grupos metilos lo cual es común en las cumarinas piranicas naturales [3]. Analizando y comparando estos datos con la literatura se encuentra que estas señales corresponden a xantiletina **1**.

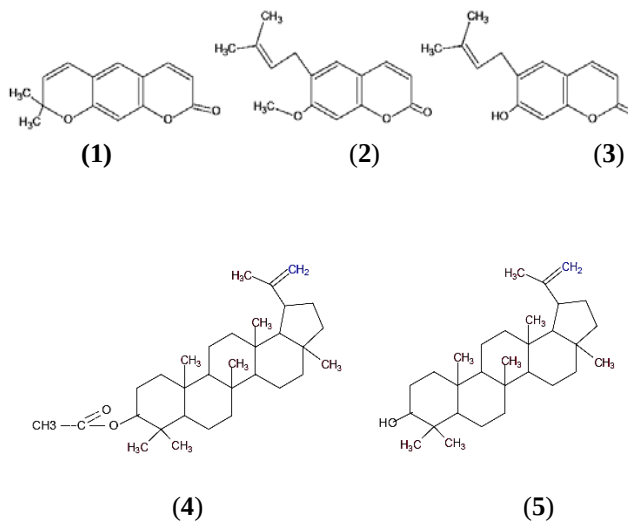
Los espectros de los compuestos **2** y **3** muestran señales similares a las de **1**, lo que indica que son cumarinas disustituidas, para **2** se observan las señales características de un grupo prenilo y de un metoxi que al compararlas con la literatura se nombra **2** como suberosina; para **3** se observa nuevamente las señales típicas de un grupo prenilo y analizando el espectro de ^{13}C se observa la presencia de un grupo hidroxilo unido a un carbono aromático, confrontando estos datos con la literatura se tiene que **3** es 7-demetilsuberosina.

Los espectros de ^1H y de ^{13}C para las sustancias **4** y **5** muestran un perfil similar, al analizar y comparar las

diferentes señales obtenidas con la literatura se afirma que estos compuestos son triterpenos derivados del lupano, el espectro de ^{13}C de **4** muestra 32 carbonos lo que indica la presencia de un sustituyente sobre el núcleo básico, que comparando los carbonos del lupano con las señales del espectro obtenido, se observa que sobra la señal del grupo carbonilo (171 ppm) y la de un grupo metilo (21.4 ppm), indicando que estos 2 grupos pertenecen al sustituyente del núcleo, analizando el espectro HMBC nos permite concluir que el compuesto **4** es acetato de lupeol [4]. Como se menciono anteriormente los espectros **4** y **5** son similares con la diferencia que en **5** no se observan en ^{13}C las señales del grupo acetilo, lo que muestra es un desplazamiento para el C-3 de 78.9 ppm, el que corresponde a un carbono aromático oxigenado unido a OH, indicando que el compuesto **5** es lupeol [4].

2.2.1. Actividad antimalarica.

Los extractos etanolicos de hojas, corteza y madera fueron probados contra la cepa FBC- 2 de *Plasmodium falciparum* y exhibieron inhibición de la invasión del *Plasmodium falciparum* al eritrocito. El extracto etanólico de madera mostró un porcentaje de inhibición de invasión de 91.1% a 280 ppm, 89.9% a 140 ppm, 87.0% a 70 ppm y 41.4% a 35 ppm, mientras que la xantiletina no fue capaz de inhibir la invasión a las concentraciones probadas.



3. CONCLUSIONES

Con los anteriores resultados se confirma la presencia de xantiletina, suberosina y 7-demetil suberosina en la madera de *Brosimum rubescens*, mientras que en las hojas y la corteza de esta especie se reportan la presencia de acetato de lupeol y lupeol. El extracto etanólico de madera es el que mejor actividad antimalarica presenta y se sabe que la xantiletina no es la responsable de dicha actividad.

4. BIBLIOGRAFIA

- [1]. Lopez R., Valvuená J., Curtidor H., et al. Plasmodium falciparum red blood cell binding studies using peptides derived from rhoptry-associated protein 2 (RAP-2). *Biochemie*. 2004. 86, 1-6.
- [2]. Gottlieb O, R., Leao Da Silv M., Soares Maia J. Distribution of coumarins in Amazonian Brosimum species. *Phytochemistry*. **1972**.11, 3479-3480.
- [3]. Murray R. The Natural Coumarins. Ocurrence, Chemistry and Biochemistry. **1982**. John Wiley & Sons LTD. 35-45.
- [4]. Chian Y. M., Ku Y. Novel triterpenoids from the aerial roots of *Ficus microcarpa*. *J.Org. Chem.* **2002**. 67, 7656-7661.