

CUMARINAS EN LAS RAICES DE *ANGOSTURA* *NICARAGUENSIS* (Standley, L.D. Williams) Elías

Carlos Hasbun Pacheco

Departamento de Química,
Universidad Nacional,
Heredia, Costa Rica

Ingrid Salas

Escuela de Medicina Veterinaria,
Universidad Nacional,
Heredia, Costa Rica

Oscar Castro

Centro de Investigaciones en Productos
Naturales (CIPRONA), Escuela de
Química, Universidad de Costa Rica,
San José, Costa Rica

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal. Se recolectaron raíces de *A. nicaraguensis* en Cutris de San Carlos, provincia de Alajuela, Costa Rica, el 10 de junio de 1989; un ejemplar herborizado se depositó en el Herbario del Musco Nacional, bajo el N° 135670.

Extracción y separación. Se extrajeron raíces secas y molidas (250 g.) por maceración con etanol al 95% durante ocho días. Los extractos alcohólicos una vez concentrados fueron particionados con hexano (1.2 g.), éter etílico (7.33 g.) y acetato de etilo (3.7 g.).

Los extractos de éter etílico y acetato de etilo mostraron el mismo comportamiento cromatográfico, por lo que se unieron, sometiendo la totalidad del extracto a cromatografía circular de capa delgada (CCCD) (Chromatotron Modelo 7924, Harrison Research, Palo Alto California); grosor de placa 2 mm gel de sílice (60 PF 254, Merck art N° 7749), éter etílico: hexano (1:1).

Identificación espectroscópica. Los espectros se obtuvieron en un infrarrojo, Perkin Elmer Modelo 727-B; un ultravioleta-visible, Beckman Modelo 25. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear ¹H en un Varian EM-360 A; ¹³C en un Joel 90, para los cuales las muestras se disolvieron en cloroformo deuterado en presencia de tetrametilsilano como patrón interno de referencia.

ENSAYO BIOLÓGICO

Se utilizaron para el ensayo biológico de las cumarinas, cultivos de ocho días de los hongos:

Microsporum gypseum (M-2), *Microsporum nanum* (M-29), *Trichophyton mentagrophytes* (T-39) y *Trichophyton tonsurans* (T-41), en medio agar papa dextrosa y *Candida albicans* (Ca-22), en medio Sabouraud agar. Las cepas de los diferentes hongos fueron obtenidas de la Micoteca de la Escuela de Medicina Veterinaria.

Se preparó una suspensión de una asada de conidias y levadura de cada cultivo en 10 mL de agua destilada estéril. Se agitaron fuertemente en un agitador (Vortex-Genie, Scientific Industries). 1 mL de cada suspensión se mezcló con 25 mL de medio Sabouraud agar a 42°, 43°C, se agitó suavemente y se vertió en una placa de petri (15 X 110 mm) que contenía moldes de metal, para que quedaran, luego de solidificar, hoyos de 8 mm de diámetro. A cada uno de estos moldes se agregó 100 mL de cada cumarina (0.02 M); propilenglicol como disolvente y control negativo y un antifúngico (tolnaftato 0.01 g/mL) como control positivo. Cada placa fue incubada a temperatura ambiente por seis días. El ensayo se repitió cinco veces (Chakraborty 1957).

De los extractos polares de raíces de *A. nicaraguensis* (Rutaceae) fueron identificadas dos

PROMEDIO DE LOS DIAMETROS DE INHIBICIÓN MOSTRADO POR CADA REACTIVO, CON CADA UNO DE LOS HONGOS

HONGO	CUMARINAS SESELINA (1) cm	ISOPENTENILO OXICUMARINA (2) cm	CONTROL NEGATIVO	CONTROL POSITIVO
M-2	3.38±0.17	0	0	5.2
M-29	3.42±0.43	0	0	5.2
T-39	3.76±0.32	0	0	5.6
T-41	3.27±1.07	0	0	5.0
Ca-22	0	0	0	0

cumarinas seselina y 7-isopenteniloxicumarina, mediante métodos espectroscópicos de análisis (¹H-RMN; ¹³C-RMN; U.V.; I.R.) El compuesto mayoritario seselina, mostró un efecto fungistático con algunos dermatófitos, no notándose ese mismo efecto con la 7-isopenteniloxicumarina. Además, no se observó efecto inhibitorio para la levadura *Candida albicans* con ninguna de estas dos.

Seselina I

Cristales levemente amarillos, Pf=117°, 118°C (EtOH), 520 mg. Rf=0.35 éter etílico-hexano, 1:1; U.V. (MeOH, max), 221, 285 sh, 295, 330, I.R. (, KBr, cm⁻¹) 1720, 1290, 1140, 910. ¹H-RMN (ppm, CDCl₃, 60 MHz), 7.60 (1H, d, J=9Hz), 6.63 (1H, d, J=9Hz), 6.88 (1H, d, J=10Hz), 5.80 (1H, d, J=10Hz), 1.47 (6H, s) (Murray R. 1982).

Hidrogenación de Seselina I

Obtención de dehidroseselina I a

Seselina (320 mg.) fue disuelta en 30 mL de ácido acético y colocada en contacto en PtO₂ (30 mg.). La reacción se realizó durante 3 horas en atmósfera de Nitrógeno a reflujo y temperatura ambiente. El producto de la reacción se neutralizó con NaHCO₃ al 5% y se extrajo con CH₂Cl₂. El aceite obtenido una vez recristalizado de MeOH:H₂O produjo dehidroseselina pura (300 mg.): Rf=0.45

éter etílico-hexano 1:1, Pf=104-105°C, U.V. (MeOH, max, nm), 212, 260, 331, I.R. (KBr, cm⁻¹) 1709, 1600, 1232, 1176, 1161, 1117, 1071, 1036, 1021, 978, 936, 920, 900. ¹H-RMN (ppm, CDCl₃, 60 MHz), 7.62 (1H, d, J=10), 6.20 (1H, d, J=10), 7.12 (1H, d, J=8.2), 6.57 (1H, d, J=8.2), 2.82 (2H, t, J=7.0), 1.75 (2H, t, J=7.0), 1.75 (2H, t, J=7.0 Hz), 1.38 (6H, s), cuyos datos resultaron superponibles a los reportados por este mismo compuesto (Waterman 1983).

7-isopenteniloxicumarina 2: Cristales blancos, Pf=76-77°C, 42 mg (Et₂O), Rf=0.11 éter etílico-hexano 1:1, U.V. (MeOH, max, nm), 325, I.R. (, KBr, cm⁻¹) 1700, 1580, 1480, 1400, 1320, 1340, 1220, 1240, 1280, 1120, 1185, 1080, 940. ¹H-RMN (ppm, CDCl₃, 60MHz): 6.22 (1H, d, J=9.68); 7.61 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.80 (1H, d, J=2Hz), 4.56 (2H, d, J=6.4), 5.46 (t, J=6.4), 1.75 (3H, s), 1.81 (3H, s) (Perelson 1975).

AGRADECIMIENTO

A International Foundation for Science (IFS) Suecia N° F/985-1, por la ayuda económica para la realización de la presente investigación. A la Dra. Savina Alla Alexevna del All Union Research Institute of Medicinal Plants de Moscú por proveer muestras auténticas de 7-isopenteniloxicumarina. Al Lic. L.J. Poveda, por la colección y clasificación de la planta y al Sr. Jorge Prendas Gamboa, por su colaboración en los ensayos biológicos.

REFERENCIAS

- Chakraborty, D.P., 1957. **Annual of Biochemistry and Experimental Medicine**. XVIII, 59-62(2).
- Murray, D.H., J. Méndez and A.B. Stewart, 1982. **The Natural Coumarins: Occurrence, Chemistry and Biochemistry**. Wiley and Sons Ltd.
- Perelson's, M.E. and A.A. Sheinker, 1975. **SpectriI Stralenle: Kumarinov, Xpomonov I Kcantonov**. Icdatelva Medicine.
- Porter, E., 1979. **Ann. Miss. Bot. Gard.** 66(2).
- Waterman, P.G. and M.F. Grundson, 1983. **Chemistry and Chemical Taxonomy of Rutales**. Academic Press, New York.