Latin American Journal of Pharmacy
(formerly *Acta Farmacéutica Bonaerense)*
Lat. Am. J. Pharm. **27** (1): 85-8 (2008)

Comunicaciones breves

Recibido el 27 de septiembre de 2007
Aceptado el 24 de diciembre de 2007

Una Entidad Química Aislada de *Erythroxylum confusum* Britton: Palmitato de β-Amirina

José A. GONZÁLEZ-LAVAUT *, Nelson GARCÍA GONZÁLEZ,
Osmín GORDO ÁLVAREZ & Herman VÉLEZ-CASTRO

Centro de Química Farmacéutica, Ave 200 y Esq. 21,
Atabey, Playa, Apdo. Postal 6990, La Habana, Cuba.

RESUMEN. Varios triterpenos pentaciclicos y derivados han sido identificados y aislados de plantas; estos compuestos poseen diversas acciones biológicas incluyendo actividades anti-VIH y anticancerígena. El género *Erythroxylum* se encuentra ampliamente representado en la flora cubana por 22 especies, donde algunas de las especies han sido utilizadas con fines etnomédicos e incluso se investiga las propiedades antivirales de algunos extractos. La composición química de este género esta básicamente formado por terpenos, flavonoides y alcaloides; particularmente identificados en mayor proporción en las hojas. De acuerdo a la amplia búsqueda de información realizada, palmitato de β-amirina sólo ha sido identificado en dos especies del género. Sin embargo, para este compuesto se menciona una potente acción antidepresiva sobre el Sistema Nervioso Central. En el presente trabajo se hace referencia al aislamiento y caracterización estructural de este compuesto aislado e identificado por primera vez de la especie *Erythroxylum confusum* Britt. que crece en Cuba, donde su presencia es alta. Esto abre las perspectivas de su extracción y uso para fines farmacéuticos en el país.

SUMMARY. "A Chemical Entity Isolated from *Erythroxylum confusum* Britton: β-amyrin palmitate". Several pentacyclics triterpenes and derivatives have been identified and isolated from plants; these compounds possess diverse biological actions including anti-HIV and anticancer activities. Genus *Erythroxylum* is broadly represented in the Cuban flora by 22 species, some of which have been used in etnomedicine and the antiviral properties of some extracts were investigated. The chemical composition of this genus is basically formed by terpenes, flavonoids and alkaloids; mainly present in more amount in the leaves. β-amyrin palmitate has only been identified in two species of the genus. However, for this compound a potent antidepressive action on the Central Nervous System is mentioned. In this work reference is made about the isolation and structural characterization of this compound, which has been identified for the first time in *Erythroxylum confusum* Britt. that vastly grows in Cuba. This opens perspectives of their extraction and use for pharmaceutical purposes in the country.

INTRODUCCIÓN

La fitoterapia tiene sus orígenes en los albores de la humanidad, desde que aparecen registros o referencias fiables. Al principio se utilizaba a través de rituales mágicos realizados por brujos en las tribus primitivas. El uso, desde tiempos antiguos, de las plantas para curar se pone de manifiesto en la existencia de herbarios que datan de la época de los sumerios, los asirios, los babilonios y los fenicios. Muchas drogas usadas por los antiguos se emplean de la misma manera entre los médicos de hoy. Si bien es cierto que la extracción, separación, aislamiento e identificación de los constituyentes de las drogas vegetales y animales se han efectuado en años relativamente recientes, el propósito para el cual estas sustancias medicinales se emplean hoy, es el mismo que le dieron nuestros predecesores en la cura de las enfermedades [1].

La flora cubana posee un número elevado de géneros de plantas (aproximadamente 1200) cuyas especies poseen propiedades medicinales reconocidas. Debido a esto, muchas han sido empleadas por la medicina tradicional en el

PALABRAS CLAVE: Cuba, *Erythroxylum confusum,* palmitato de β-Amirina.
KEY WORDS: Cuba, *Erythroxylum confusum,* β-amyrin palmitate.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. *E-mail:* josea.lavaut@infomed.sld.cu

combate de diversas afecciones, y actualmente se sigue investigando en el campo de la búsqueda de nuevos agentes, dada la expectativa de novedad científica y del potencial vegetal [2].

El género *Erythroxylum* se encuentra bien representado en la flora cubana con la existencia de 21 especies, de las cuales 16 son endémicas [2]. Especies de este género muestran una gran variedad en cuanto a sus actividades biológicas, tales como herbicida, antimicrobiano y estimulante, entre otras [3-6].

Erythroxylum es un género poco estudiado tanto química como farmacológicamente para fines medicinales. No obstante, se señala a los alcaloides, terpenoides y flavonoides como familias químicas fundamentales, siendo las hojas y el tronco las partes más estudiadas. Se destacan entre las propiedades etnomédicas el uso como estimulante, para producir euforia, contra la fatiga, alivio de la sensación de hambre, problemas estomacales, cefaleas y dolor de garganta. También han sido utilizadas contra desórdenes hepáticos y renales, como anestésico local, afrodisíaco, antihemorrágico, anti-inflamatorio, cicatrizante y contra la fiebre. Farmacológicamente se han estudiado extractos de varias de las especies del género evaluando el efecto citotóxico, la actividad antibacteriana y la actividad antiviral, entre otras [2].

Las propiedades farmacológicas asociadas a varios triterpenos son disímiles, entre estas se citan la acción sobre el SNC como antidepresivos y ansiolíticos, además de efectos antimicrobianos, antihepatotóxicos, antioxidantes, antiartríticos, anti-VIH y anticancerígenos [7,8].

Erythroxylum confusum Britt., conocido vulgarmente como "arabo colorado" o "arabo" es una especie que crece abundante en Cuba; sin embargo, ha sido casi prácticamente inexplorada en cuanto al estudio de la composición fitoquímica y menos aún de sus potencialidades farmacológicas. Teniendo en cuenta que para esta especie se citan pocos estudios en general, se procedió a realizar un esquema de extracción con el objetivo de aislar específicamente los triterpenos, por ser estos los menos estudiados del género.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la caracterización estructural del compuesto aislado se empleó la combinación de diferentes técnicas espectroscópicas, tales como espectroscopia infrarroja (IR; Bruker, Modelo: vector - 22, Alemania), resonancia magnética nuclear (RMN-^{1}H = 400 MHz (Cl_3CD) y RMN-^{13}C = 100,6 MHz (Cl_3CD-MeOD) y espectrometría de masa (EM; Agilent-MSD 5973, Alemania).

Recolección y procesamiento del material vegetal

Erythroxylum confusum Britt., fue identificado por el Dr. Armando Urquiola, director del Jardín Botánico de Pinar del Río, Cuba. El material vegetal se colectó en la localidad María la Gorda de dicha provincia, el 8 de enero de 2006 a las 9:30 a.m. Para la investigación, las ramas se secaron a la sombra (atmósfera ambiental, temperatura 25 °C ± 3 °C) durante 14 días y luego, se separaron y pulverizaron las hojas en un molino de cuchillas, obteniendo 2 Kg. que fueron conservados en bolsas de nylon hasta su utilización.

Preparación de extractos

Se maceró un 1g de material vegetal con diferentes proporciones etanol:agua (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 5:5; v/v) para un volumen total de 50 mL durante 72 h (3 réplicas); las diferentes soluciones fueron decantadas y concentradas hasta sequedad en un rotaevaporador a una temperatura de 60 °C a 130 rpm. Los extractos secos se trasvasaron a frascos de 10 mL, conservándose a -20 °C.

Según los resultados de la evaluación fitoquímica de los extractos hidroalcohólicos, según el procedimiento de Schabra *et al.* [5] se comprobó la existencia de triterpenos en el material vegetal sólo en el extracto etanólico, por lo que se utilizó el siguienteesquema de extracción. Se pesaron 50 g de material vegetal y se maceraron durante cinco días en 500 mL de etanol (96°) con agitación ocasional. Luego se calentó el frasco durante 20 min en baño de agua (~ 60 °C) y transcurrido el tiempo se filtró rápidamente al vacío. El sólido remanente (material vegetal) se sometió dos veces más al procedimiento descrito anteriormente. La fase líquida se dejó reposar 72 h; posteriormente el sólido que precipitó se filtró al vacío. El líquido obtenido se concentró hasta sequedad en un rotaevaporador y el sólido se dejó llegar a temperatura ambiente. Esta técnica de extracción se realizó por triplicado.

Con vista a la identificación estructural, una fracción del sólido obtenido se recristalizó en acetato de etilo, obteniendo un sólido de color blanco sucio que por CCD (n-hexano:acetato de etilo; 1:1; v/v) y visualización con ácido sulfúrico, se muestra como una sola mancha.

Maceraciones	Réplicas					
	I		II		III	
	Mt (mg)	Me.s (mg)	Mt (mg)	Me.s (mg)	Mt (mg)	Me.s (mg)
1	431,53	6834,50	429,32	6743,38	427,28	6362,77
2	245,48	3501,83	231,29	3109,88	233,60	3152,25
3	49,17	1038,99	50,55	1132,25	52,95	1299,95
Total	726,18	11375,32	711,16	10985,51	713,83	10814,97

Tabla 1. Rendimientos obtenidos en la extracción de triterpenos por maceración. **Mt**: masa del triterpeno; **Me.s**: masa del extracto seco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evaluación del proceso de extracción

Después de realizada las extracciones con diversas composiciones porcentuales de etanol y agua, se pudo comprobar la existencia de triterpenos sólo al realizar la extracción con etanol, mientras que en los extractos que contienen agua no se detecta la presencia de compuestos con esta agrupación química.

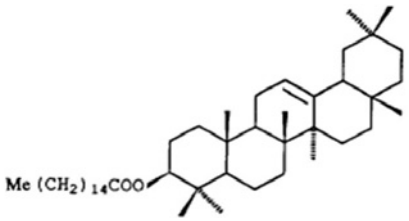

Figura 1. Estructura del palmitato de β-amirina.

Rendimientos en la extracción por maceración

En la Tabla 1 se muestra el rendimiento obtenido en la extracción de triterpenos.

La identificación del triterpeno aislado (Fig. 1) fue posible por la comparación directa de los registros espectrales experimentales, con lo descrito en la literatura para los espectros de RMN-13C y EM, el cual se corresponde con el palmitato de β-amirina (ácido graso esterificado con triterpeno), compuesto que fue descrito con anterioridad para especies del género *Erythroxy-*

Palmitato de β-amirina		
Literatura [10] (ppm)	Experimental (ppm)	Asignación
173,6	173,71	COO
145,0	145,20	C-13
121,6	121,63	C-12
80,6	80,56	C-3
55,2	55,23	C-5
47.8	47,53	C-18
47,4	47,21	C-19
47,1	46,76	C-9
41,6	41,69	C-14
39,7	39,79	C-8
38,2	38,23	C-1
37,7	37,74	C-4
37,1	37,12	C-22
36,9	36,83	C-10
35,6	34,86	C-21

Tabla 2. Asignaciones de señales por RMN-^{13}C

lum pero por primera vez para la especie en estudio [9,10].

El espectro de RMN-^{13}C indica que el compuesto es un triterpenoide con esqueleto oleano (Tabla 2). Esta identificación del grupo terpenoide fue establecida por las absorciones características de los ocho grupos metilos (δ 23,59; 33,32; 28,04; 25,95; 16,90(d); 15,20; 28,39 ppm) y el valor de los carbonos sp^2 a δ 121,63 y 145,20 ppm, característicos de triterpenos oleananos.

La señal del carbono-3 fue observada a δ 80,56 ppm, lo que indica que el compuesto corresponde a un éster de ácido graso. El pico de ión molecular registrado en el espectro de masa con m/z 664,1 fue conclusivo de la naturaleza esterificada del triterpeno, pues nos brinda el peso molecular del compuesto, que corresponde con lo citado en la literatura para el Palmitato de β-Amyrilo en el género *Erythroxylum*.

En el extracto metanólico de hojas del *Erythroxylum leal costae* se identificó la presencia de triterpenos: palmitato de β-amirina y lupenil palmitato, a través de cromatografía gaseosa acoplada a masa y RMN-13C 9. Adicionalmnte se comprobó que el palmitato de β-amyrina aislado del extracto hexánico de las hojas del *Erythroxylum passerinum* tiene una potente acción antidepresiva sobre el Sistema Nervioso Central [10].

Se puede concluir que se aisló de forma abundante el palmitato de β-amirina, un triterpeno, de las hojas de *Erythroxylum confusum* Britt. a través de un proceder sencillo. Este producto puede tener aplicabilidad en la medicina humana, considerando que tiene acción sobre el SNC.

Agradecimientos. Los autores desean agradecer el soporte brindado por el Proyecto Ramal MINSAP/Cuba para la ejecución del trabajo.

REFERENCIAS

1. Claus, E.P., H. Tyler & E.Varro (1985) *Farmacognosia,* Edición Revolucionaria, Cuba, págs 1-20.
2. González, K., J.A. González, J.L. González & S. Prieto (2005) *Acta Farm. Bonaerense* **24**: 274-81.
3. Srinivasan, P., S. Nathan, T, Suresh & P.L. Perumalsamy (2001) *Ethnopharmacol.* **74**: 217-20.
4. Payo Hill, A.L., R. S. Domínguez, M. O. Suárez, B. Báez, M. Vélez, H. T. Castro, L. Rastrelli & R. Aquino (2000) *Phytochemistry* **54**: 927-932.
5. Schabra, S.C., F.C. Ulso & E.N. Mshiu, (1984) *J. Etnopharmacol.* **11**: 157-79.
6. González, J.L; H. Vélez, K; González, A; Payo, J.A; González, J; Molina & S. Prieto (2006) *Biochem. System. Ecol.* **34**: 539-42.
7. Alonso, J.R. (1998) *"Tratado de Fitomedicina".* ISIS Ediciones S.R.L. Disponible en <http://www.alfabeta.net/fitoterapia/fito-centella.xtp> [Consulta: marzo, 2006]
8. Etcheverry, S. (2005) *Revista de la AQFU* **2** (42): 1-3.
9. Chavez, J.P., I.D. Dos Santos, F.G. Gruz & J.M. David (1996) *Phytochemistry* **41**: 941-43.
10. Barreiros, M.; J. David, P. Pereira, M. Guedes & J. David (2002) *J. Braz. Chem. Soc.* **13**: 1-8.