

## ARISTOLACTAMA Y ESTEROLES DEL TALLO DE *Piper chiadoense*

Luz Angela Peña O. y Aura M. P. de Díaz\*.

\*Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, Colombia.

**Keywords:** *Piper chiadoense*; Piperaceae; aristolactam alkaloid; sterols.

### RESUMEN

Del extracto etanólico del tallo de *Piper chiadoense* Junker (Piperaceae) fueron aislados por métodos cromatográficos la aristolactama identificada como lactama del ácido 10-amino-3,4-dimetoxifenantreno-1-carboxílico (cepharanone B); campesterol; estigmasterol y  $\beta$ -sitosterol. Sus estructuras fueron determinadas por métodos espectroscópicos y por comparación con datos reportados en la literatura.

### ABSTRACT

From the ethanolic extract of *Piper chiadoense* Junker (Piperaceae) stem, were isolated by chromatographic methods an aristolactam characterized as 10-amino-3,4-dimethoxyphenanthrene-1-carboxylic acid lactam (cepharanone B); campesterol; stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol. Their structures were elucidated by spectroscopic methods and by comparison with literature.

### INTRODUCCION

El género *Piper* comprende un gran número de arbustos y hierbas antófilas, gimnantas, angiospermas y dicotiledoneas que crecen en forma silvestre en regiones tropicales y subtropicales (1); en el territorio colombiano se encuentran entre 5 y 3800 m de altitud (2) y son utilizadas en ornamentación y en medicina popular (3).

El estudio químico del tallo de *P. chiadoense*, arbusto trepador localizado en las riberas del Río Chiadó (Antioquia), muestra la presencia de esteroides

identificados como campesterol **1** reportado en este trabajo por primera vez en Piperaceae, estigmasterol **2** y  $\beta$ -sitosterol **3** y de derivados del ácido chiquímico de los cuales se aisló una aristolactama caracterizada como lactama del ácido 10-amino-3,4-dimetoxifenantreno-1-carboxílico (cepharanone B) **4** aislada recientemente de *Piper longum* (6) siendo esta la segunda vez que se registra dentro de la familia Piperaceae. Las aristolactamas son un pequeño grupo de alcaloides de algunas familias de Magnoliales (4-8, 11) y son interesantes por su actividad selectiva contra bacterias Gram-positivas y por su acción citotóxica contra HeLa (carcinoma cervical en humanos) (9).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Material Vegetal

El arbusto *P. chiadoense* fue colectado en la región denominada Tapón del Darién cerca de Apartadó, Antioquia, Colombia e identificado botánicamente por el Dr. Jorge Brand. Un espécimen reposa en el Herbario de la Fundación "Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe" de Medellín, Colombia (JAUM 7063).

### Extracción y Aislamiento de los Metabolitos Secundarios

El tallo (1.7 Kg) seco y molido fue sometido a extracción en soxhlet con etanol; el extracto etanólico (18.5 g) fue fraccionado por extracciones sucesivas con éter de petróleo [40-60°C (3.8 g)], tolueno (3.0 g) y cloroformo (3.5 g).

El extracto en éter de petróleo fue sometido a fraccionamiento sobre columna cromatográfica usando sílica gel (70 g) como adsorbente; elución con éter de petróleo-acetato de etilo (95:5) dio una mezcla de ésteres de ácidos grasos (250 mg); por elución con éter de petróleo-acetato de etilo (7:3) se obtuvo una mezcla que dio positiva la prueba de Lieberman-Buchard [112 mg; EM 70 eV, m/z (int. rel.): 416(6.5), 415(17.5), 414(57.1), 412(56.8), 400(42.3)]. La separación e identificación de los compuestos presentes en la mezcla, fue realizada por CG-EM usando un cromatógrafo Hewlett Packard SERIES II, 5890, con columna CPSIL-5 (25 m x 0.32 mm), utilizando He como gas de arrastre, un programa de temperatura entre 50-300°C a 5°C/min, inyección "on column"; de esta forma fueron separados el compuesto **1** [tiempo de retención ( $t_r$ ) = 44.35 min.], compuesto **2** ( $t_r$  = 44.85 min.) y compuesto **3** ( $t_r$  = 45.55 min.).

Los extractos toluénico y clorofórmico fueron sometidos a fraccionamiento en columna sobre sílica gel en proporción de 60 g y 70 g respectivamente.

Además de las mezclas anteriores, la elución del extracto toluénico con éter de petróleo-acetato de etilo (7:3) y con cloroformo permitió la separación del compuesto impuro **4** (40 mg) el cual se purificó por sucesivos fraccionamientos usando cromatografía en columna y éter de petróleo-acetato de etilo (7:3) como eluyente, para dar finalmente 6 mg del compuesto puro. Del extracto clorofórmico se lograron separar 4 mg de **4** usando acetato de etilo como eluyente.

**Campesterol 1.** EM 70 eV,  $m/z$ (int. rel.): 402(11.49)[M+2], 401(22.58)[M+1], 400(76.34)[M<sup>+</sup>], 385(21.24)[M<sup>+</sup> - Me], 382(30.38)[M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O], 367(M<sup>+</sup> - Me - H<sub>2</sub>O), 315(30.91)[M<sup>+</sup> - 85], 289(30.65)[M<sup>+</sup> - 111], 273(19.89)[M<sup>+</sup> - R], 271(1.63), 255(28.23)[M<sup>+</sup> - R - H<sub>2</sub>O].

**Estigmasterol 2.** EM 70 eV,  $m/z$ (int. rel.): 414(3.28)[M+2], 413(8.01)[M+1], 412(23.99)[M<sup>+</sup>], 397(2.14)[M<sup>+</sup> - Me], 394(3.93)[M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O], 379(2.97)[M<sup>+</sup> - Me - H<sub>2</sub>O], 327(1.56)[M<sup>+</sup> - 85], 301(6.55)[M<sup>+</sup> - 111], 273(12.15)[M<sup>+</sup> - R], 271(37.30), 255(36.49).

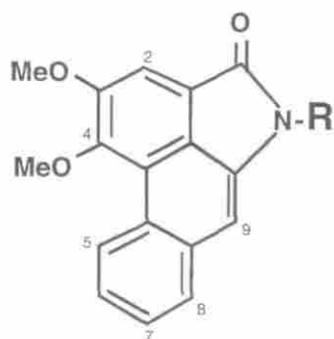
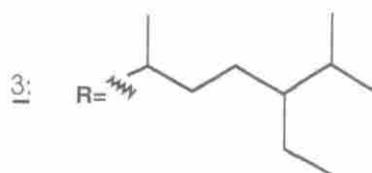
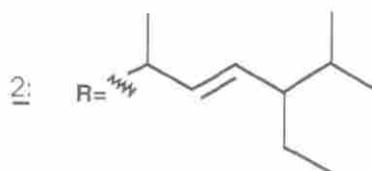
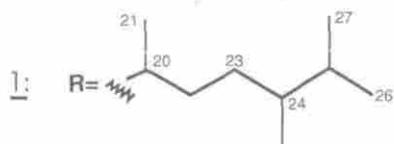
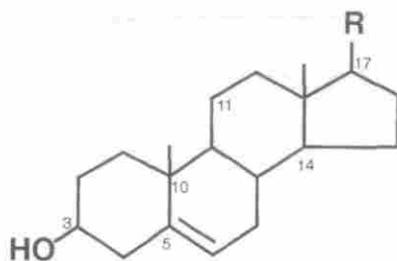
**β-Sitosterol 3.** EM 70 eV,  $m/z$ (int. rel.): 416(8.47)[M+2], 415(26.84) [M+1], 414(80.37)[M<sup>+</sup>], 399(22.85)[M<sup>+</sup> - Me], 396(35.74)[M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O], 329(44.79)[M<sup>+</sup> - 85], 303(41.72)[M<sup>+</sup> - 111], 273(34.97)[M<sup>+</sup> - R], 271(4.75), 255(44.17).

**Lactama del ácido 10-amino-3,4-dimetoxifenantreno-1-carboxílico (cepharanone B) 4.** Cristales amarillentos, *mp* 258°C (CHCl<sub>3</sub>)[Lit. 257-258°C (11)]; IR(KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3175, 3057, 3015, 2954, 1717, 1655, 1616, 1499, 1441, 1379, 1270, 1183, 1161, 1138, 1110, 1058, 966, 865, 742; UV  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ): 232(4.27), 263(4.19), 276(4.24), 286(4.23), 316(3.65), 383(3.61); RMN <sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub> + Piridina-d<sub>5</sub>, 200 MHz)  $\delta$ : 4.05(3H, s, CH<sub>3</sub>O-3), 4.10(3H, s, CH<sub>3</sub>O-4), 7.02(1H, s, H-9), 7.54(2H, m, H-6,7), 7.76(1H, d, J= 6.0 Hz, H-8), 7.80(1H, s, H-2), 8.81(1H, m, H-5); RMN <sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>, 90 MHz)  $\delta$ : 4.08(3H, s, CH<sub>3</sub>O-3), 4.10(3H, s, CH<sub>3</sub>O-4), 7.10(1H, s, H-9), 7.55(2H, m, H-6,7), 7.75(1H, m, H-8), 7.80(1H, s, H-2), 9.25(1H, m, H-5); EM 70 eV,  $m/z$ (int. rel.): 280(18.9)[M+1], 279(100)[M<sup>+</sup>], 278(3.2), 264(13.7), 236(18.4), 221(18.0), 218(10.0), 209(12.3), 208(6.7), 193(23.4), 181(16.2), 165(19.5), 164(21.7), 138(8.7), 82(10.4); CCD R<sub>f</sub>[solvente]: 0.30 [éter de petróleo-acetato de etilo (1:1)], 0.57 [cloroformo-acetato de etilo (7:3)]. **Acetato de 4:** Una solución de **4** (5 mg) en una mezcla de Ac<sub>2</sub>O (0.5 ml) y C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N (0.5 ml) fue sometida a reacción a presión y temperatura normales, durante 24 horas y el producto acetilado **5**, separado de la manera usual; IR (película)  $\text{cm}^{-1}$ : 2926, 2855, 1741, 1711; CCD R<sub>f</sub>[solvente]: 0.66 [cloroformo/acetato de etilo (7:3)].

## RESULTADOS Y DISCUSION

El compuesto **4** presenta carácter aromático por las absorciones en el espectro de IR (3057, 1616-1441  $\text{cm}^{-1}$ ), por las señales entre  $\delta$  7.10 y  $\delta$  9.25 en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  que integran para seis protones, por el intenso ión molecular en  $m/z$  279(100%) y por las absorciones en el espectro de UV (232, 263, 276, 286, 316,383 nm) similares a las del cromóforo fenantreno (10). Este compuesto presenta además una absorción fuerte en el espectro de IR en 1717  $\text{cm}^{-1}$  (C=O) y una banda en 3175  $\text{cm}^{-1}$  que no corresponde a hidroxilo fenólico ya que en el espectro de UV no ocurre desplazamiento batocrómico al adicionar EtONa a la muestra. Los datos anteriores y el análisis del espectro EM con un ión molecular en  $m/z$  279 y una secuencia de fragmentación 264( $\text{M}^+ - \text{Me}$ ), 236( $\text{M}^+ - \text{Me} - \text{CO}$ ), 221( $\text{M}^+ - 2\text{Me} - \text{CO}$ ), 165( $\text{M}^+ - 2\text{Me} - 3\text{CO}$ ) y 138( $\text{M}^+ - 2\text{Me} - 3\text{CO} - \text{HCN}$ ), permiten clasificar el compuesto **4** como una aristolactama (11, 12) de fórmula condensada  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$ . El espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 90 MHz) de este compuesto presenta dos señales simples de grupos metoxilo ( $\delta$  4.08 y  $\delta$  4.10) los cuales se pueden localizar sobre los carbonos C-3 y C-4 por comparación con datos reportados en la literatura (11,12). El efecto de desprotección ejercido por el metoxilo en C-4 sobre H-5 explica su aparición a campo bajo en  $\delta$  9.25 (11). En la región de los protones aromáticos se observan además dos señales simples correspondientes a los protones en C-2 ( $\delta$  7.80) y en C-9 ( $\delta$  7.10) y señales múltiples en  $\delta$  7.55 (H-6,7) y en  $\delta$  7.75 (H-8). La presencia del N-H en la molécula se evidencia por la reacción de acetilación de **4**; el espectro de IR del derivado acetilado **5** muestra la desaparición de la banda en 3175  $\text{cm}^{-1}$  del compuesto original y la aparición de una absorción en 1741  $\text{cm}^{-1}$  (CO). Esta sustancia fue reportada en *Stephania cepharantha* (Menispermaceae), *Schefferomitra subaequalis* (Annonaceae), *Aristolochia Argentina* (Aristolochiaceae) (11) y *Piper longum* (Piperaceae) (6).

El análisis de los espectros de masa de los esteroides **1**, **2** y **3** permite proponer las fórmulas condensadas  $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$ ,  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$  y  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$  respectivamente. Los tres espectros de EM presentan la misma fragmentación a valores menores o iguales a  $m/z$  273 indicando la existencia en estos compuestos del núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno (13); los tres compuestos presentan en su estructura un hidroxilo sobre el C-3 y un doble enlace sobre el C-5 corroborados por los fragmentos típicos en el EM en  $[\text{M}^+ - 85]$  y  $[\text{M}^+ - 111]$  (13). La diferencia entre los compuestos **1**, **2**, y **3** radica en la cadena lateral **R** localizada en C-17 y cuya composición respectiva es de  $\text{C}_9\text{H}_{19}$ ,  $\text{C}_{10}\text{H}_{19}$  y  $\text{C}_{10}\text{H}_{21}$ . La identificación de los compuestos **1**, **2** y **3** como campesterol, estigmasterol y  $\beta$ -sitosterol respectivamente, se hizo tanto por el análisis de los espectros de EM como por comparación con espectros publicados para estas sustancias (14).



4: R = H

5: R = Ac

## AGRADECIMIENTOS

Al Programa COLCIENCIAS - UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA (1101-05-002-92).

## BIBLIOGRAFIA

1. Wettstein, R. *Tratado de Botánica Sistemática*. Labor, Barcelona, **1944**, 594.
2. Franco, R. P. *Mutisia (Acta Botánica Colombiana)*, **1985**, 63, 1.
3. García Barriga, H. *Flora Medicinal de Colombia, Botánica Económica*. Vol I. Talleres de la Imprenta Nacional de Colombia, Bogotá, **1974**, 222.
4. Shamma, M.; Moniot, J. L. *Isoquinoline Alkaloids Research*. 1972-1977, Plenum Press, New York, **1978**, 189.
5. Leboeuf, M.; Cavé, A.; Bhaumik, P. K.; Mukherjee, B.; Mukherjee, R. *Phytochemistry*, **1982**, 21, 2783.
6. Desai, S. J.; Bharathi, R. P.; Mulchandani, N. B. *Phytochemistry*, **1988**, 27, 1511.
7. Desai, S. J.; Chaturvedi, R.; Mulchandani, N. B. *J. Nat. Prod.*, **1990**, 53, 496.
8. Ruangrungsi, N.; Prathanturarug, S.; Lange, G. L.; Organ, G. *Phytochemistry*, **1992**, 31, 2397.
9. Siraj, O.; Chang Leng, Ch.; Fasihuddin, A.; Jiu, X. N.; Hasan, J.; Jinasheng, H.; Tetsuo, N. *Phytochemistry*, **1992**, 31, 4395.
10. *UV Atlas of Organic Compound*. Vol III. Published in collaboration with the photoelectric spectrometry group, London and the Institut für spektrochemie und Angewandte spektroskopie, Dartmund, Plenum Press, New York, **1967**.

11. Priestap, H. A. *Phytochemistry*, **1985**, 24, 849.
12. Priestap, H. A. *Phytochemistry*, **1985**, 24, 3035.
13. Budzikiewicz, H.; Ockels, W. *Tetrahedron*, **1976**, 32, 143.
14. Hellner, R.S.; Milne, G. W. A. *EPA-NIH Mass Spectral Data Base*. Vol. IV. National Bureau Standars, Washington, **1978**.