

Antraquinonas de *Picramnia polyantha*

Anthraquinones from Picramnia polyantha

*Dra. C. María del Rosario Hernández-Medel, Dr. C. Julio Alberto Solís-Fuentes,
Dra. C. Lilia Mireya Méndez-Ventura
rmedel@uv.mx, jsolis@uv.mx, limendez@uv.mx*

Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, México

Recibido: 11 de diciembre de 2015

Aprobado: 30 de abril de 2016

Resumen

Especies de *Picramnia* han sido apreciadas en Medicina Tradicional por sus propiedades curativas para contrarrestar el efecto de algunas afecciones gástricas e intestinales, así como para el tratamiento del paludismo y la sífilis. *Picramnia polyantha* es una especie poco común que se encuentra en diversas regiones de Mesoamérica. Los extractos de tallo y hoja de esta especie fueron separados por cromatografía en columna para lograr el aislamiento y la identificación de crisofanol, emodina, aloe-emodina, β -sitosterol y su glucósido como derivado acetilado, 7-hidroxycumarina, glucósido de emodina y, por primera vez de esta especie, el par de C-glucosilantronas diastereoisoméricas conocidas como 10-hidroxialoína A y 10- hidroxialoína B, además de la mezcla de glucósidos de crisofanol. La elucidación estructural de los todos los metabolitos aislados se realizó por espectroscopia de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C y, en algunos casos, por comparación con muestras auténticas. Asimismo, se determinó la toxicidad de estos extractos.

Palabras clave: *Picramnia polyantha*, antraquinonas, hydroxialoínas, glucosidos.

Abstract

Picramnia species have been appreciated in traditional medicine for its healing properties to counteract the effect of some gastric and intestinal disorders as well as in the malaria and syphilis treatment. *Picramnia polyantha* is a rare species that is found in various regions of Mesoamerica. Extracts of stem and leaf of this species were separated by column chromatography to achieve the isolation and identification of chrysophanol, emodin, aloe-emodin, β -sitosterol and its glucoside as acetyl derivative, 7-hydroxycoumarin, emodin glucoside and, first time of this species, the pair of diastereoisomeric C-glucosylanthrones known as 10-hydroxyaloins A and B, in addition to mixture of chrysophanol glucosides. The structural elucidation of all isolated metabolites was performed by ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, and by comparison with authentic samples in some cases. In addition, the toxicity of these extracts was determined.

Keywords: *Picramnia polyantha*, anthraquinones, hydroxyaloins, glucosides.

Introducción

Picramnia polyantha (Picramniaceae) es una especie poco común que se encuentra distribuida desde Honduras hasta Guerrero (México); en la actualidad se localiza en los estados de Puebla y Oaxaca y se considera característica de Villa Alta y de las montañas de Chinantla en el estado de Oaxaca, México [1]. *P. polyantha* es un arbusto de aproximadamente 3 m de alto con ramas delgadas, inflorescencia terminal paniculada, pétalos rojizos y hojas ovaladas; su habitat está restringido, aparentemente, a la piedra caliza [1-4].

Estudios fitoquímicos realizados a especies de este género han reportado la presencia de metabolitos antraquinónicos como crisofanol (1,8-dihidroxi-3-metilantracen-9,10-diona), emodina (1,3,8-trihidroxi-6-metilantracen-9,10-diona), aloe-emodina (1,8-Dihidroxi-3-(hidroximetil)-antracen-9,10-diona), antronas y oxantronas de emodina, crisofanol y aloe-emodina, así como β -sitosterol y umbeliferona (7-hidroxicromen-2-ona) [5-14]. En un reporte previo se ha publicado el aislamiento de una mezcla de ácidos grasos, los ácidos petroselinico y tarírico, además de aloe-emodina y β -sitosterol, del extracto de éter etílico del fruto de *P. polyantha* [15].

En continuación con las investigaciones sobre el contenido químico de los extractos de esta especie, en el presente trabajo se describe el estudio químico de los extractos de éter etílico y metanol de tallo y hoja de *P. polyantha*. El aislamiento y la purificación de los metabolitos aislados se llevó a cabo por cromatografía en columna abierta y en capa delgada, mientras que la elucidación estructural de los mismos se estableció por espectroscopia de RMN. En virtud de que algunos de los compuestos aislados de otras especies de *Picramnia* han mostrado actividad citotóxica [13,14], se realizó la evaluación de la toxicidad de los extractos metanólicos de *P. polyantha*, utilizando el bioensayo de *Artemia salina* [16] y el software Table Curve [17] para la determinación de la toxicidad de dichos extractos.

Materiales y métodos

Obtención y preparación de la muestra

P. polyantha fue recolectada en la localidad de Vega del Sol (Asuzul), municipio de Santa María Jacatepec, Oaxaca, México, en 1999. Un ejemplar se depositó en el Herbario del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Veracruzana y fue identificado por el Dr. Mario Vázquez. El material vegetal fue separado en tallo, hojas y fruto, y se secó a temperatura ambiente por separado; de esta forma se obtuvieron 286 g

de hoja seca y 389 g de tallo seco. Ambos materiales se picaron finamente para ser extraídos con disolventes orgánicos.

Purificación de disolventes

Los disolventes utilizados [hexano, éter etílico (EE), cloruro de metileno (CH_2Cl_2), cloroformo (CHCl_3), acetato de etilo (AE), acetona y metanol (MeOH)] se purificaron mediante destilación utilizando columnas de rectificación.

Obtención de los extractos

El proceso de extracción consistió de una maceración exhaustiva del material vegetal seco y molido (tallo, 389 g, y hoja, 286 g). El tallo fue extraído primero con EE y después con MeOH, la hoja únicamente con MeOH. La recuperación de los disolventes, por medio de un rotaevaporador, produjo 2,9 g de extracto de éter etílico (EEEEpT) y 31,7 g de extracto metanólico (EMPPt), ambos de tallo; mientras que de hoja se obtuvo 11,78 g (EMPPH). Los extractos secos se conservaron en refrigeración.

Cromatografía en capa delgada

Para la cromatografía en capa delgada (ccd) se emplearon cromatofolios Merck de gel de sílice 60 F₂₅₄ y diferentes mezclas de disolventes como eluyentes. Los agentes cromogénicos que se manejaron fueron: luz ultravioleta de onda larga (365 nm) y de onda corta (254 nm), CoCl_2 al 2 % en H_2SO_4 al 10 % y KOH al 5 % alcohólico.

Cromatografía en columna

Para la separación y purificación de extractos y compuestos se empleó la cromatografía en columna abierta (cca) con gel de sílice 60 Merck de dos tipos de mallas: 70-230 mesh (0,063-0,200 mm) y 230-400 mesh (0,040-0,063 mm), así como columnas de vidrio de diferentes diámetros y tamaño según la cantidad de muestra por separar.

Espectroscopia de RMN

Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C de los metabolitos aislados se obtuvieron de un espectrómetro Varian Mercury 300 empleando, según la solubilidad, $\text{DMSO}-d_6$, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ y CDCl_3 ; como referencia interna se utilizó TMS.

Los puntos de fusión (pf) se determinaron en un Fisher-Johns y no están corregidos.

Prueba de toxicidad de los extractos

Se practicaron pruebas de toxicidad a los extractos metanólicos crudos (EMPPt y EMPPH) de *P. polyantha*.

El bioensayo de la toxicidad se realizó empleando larvas de *Artemia salina*, de acuerdo al procedimiento descrito por McLaughlin [16]. En este método, los huevecillos de *A. salina* se incubaron a 27 °C en agua de mar artificial (una solución al 3,8 % de sal libre de yodo en agua destilada); después de 48 h las larvas obtenidas se consideraron listas para las evaluaciones, recogiendo y contando con ayuda de pipetas Pasteur.

Por separado, se pesaron 4 mg de cada uno de los extractos (EMPpT y EMPpH) sometidos a evaluación, y se diluyeron en 4 mL con el disolvente adecuado. De estas soluciones originales, se tomaron alícuotas por triplicado de 1 mL, 100 µL y 10 µL, y se colocaron en sus respectivos viales para ser evaporadas a sequedad. Para facilitar la disolución de las muestras se agregó a cada vial 50 µL de DMSO. Se utilizó solución salina al 3,8 % para efectuar las diluciones correspondientes, incluyendo tres viales con esta misma solución como control.

A cada vial se le agregó 1 mL de solución salina y 10 larvas, ajustándose el volumen a 5 mL con solución salina y se dejó incubar por 24 h. Después de este tiempo se contó el número de larvas muertas y vivas de cada vial y se calculó el porcentaje de mortandad (%M) según la fórmula de Abbot: $\%M = [m_e - m_b / 10 - m_b] 100$.

donde m_e = larvas muertas en la muestra y m_b = larvas muertas en el blanco. La DL_{50} (Dosis letal 50) se determinó mediante el programa de computo Table Curve (Jandel Scientific) [17].

Purificación de los extractos

Extracto de éter etílico. El EEEPpT (2.8 g) se trabajó por cca utilizando gel de sílice 70-230 y mezclas de elución de hexano y AE en polaridades ascendentes, se obtuvieron 36 fracciones de 250 mL cada una aproximadamente, las cuales se agruparon en base a la similitud observada en ccd de los componentes presentes, obteniendo tres concentrados A, B y C. El componente mayoritario de la fracción A fue purificado por una nueva cca resultando agujas de color naranja (12 mg) de $pf = 195$ °C que correspondió al compuesto conocido como ácido crisofánico o crisofanol [7-9].

De la fracción B se purificaron, mediante diversas cca, 2 mg de emodina en forma de agujas de color naranja oscuro con $pf = 248-250$ °C [7-9] y 18 mg de la antraquinona aloe-emodina, también en forma de agujas de color naranja con $pf = 228-230$ °C [9]. El componente mayoritario de la fracción C fue recristalizado de hexano-acetona, obteniéndose 16 mg de agujas de color paja con $pf = 196-198$ °C, que correspondió a la umbeliferona [7-9].

Extracto de metanol de tallo. La separación de los componentes del EMPpT (23 g), se realizó por cca empleando gel de sílice 230-400 mesh y como fase móvil mezclas de CHCl₃-MeOH en polaridad creciente, colectándose 49 fracciones de 500 mL cada una, mismas que fueron reagrupadas de acuerdo con su ccd. De esta manera, se obtuvieron 4 mg de crisofanol, 2 mg de emodina, 8 mg de aloe-emodina, 2 mg del glucósido de β -sitosterol como su derivado tetraacetilado con pf= 168-170 °C [9,18]; 15 mg de agujas de color naranja con pf= 245-249 °C, solubles en MeOH caliente, en ccd revelaron de color naranja en luz visible y naranja intenso con LUV onda larga, los datos espectrales de RMN estuvieron acordes con una mezcla de glucósido 1 y 8 de crisofanol [19], a la que se nombró como **compuesto 1** para su estudio por RMN.

También se logró el aislamiento de 2 mg de agujas de color naranja oscuro con pf de 191-195 °C, cuya ccd reveló de color naranja intenso con LUV onda larga y que, por espectroscopia de RMN-¹H, correspondieron a emodina-1-*O*- β -D-glucósido (**compuesto 2**) [9], además de 2 mg de un sólido amorfo amarillo cuya ccd reveló naranja en LUV onda larga y amarillo intenso con KOH alcohólico, los datos espectrales de RMN correspondieron a la mezcla de hidroxialoinas A y B [20], a esta mezcla se le denominó como **compuesto 3** para su estudio espectroscópico.

Extracto de metanol de hoja. La separación de los componentes del EMPpH (2 g) se realizó por cca empleando gel de sílice 230-400 mesh y como fase móvil mezclas de CHCl₃-MeOH en polaridad creciente, colectándose 22 fracciones de 300 mL cada una, estas se reagruparon de acuerdo con su ccd. De esta manera, se obtuvo 1 mg de emodina, 90 mg de aloe-emodina, 4 mg del glucósido de β -sitosterol como su derivado tetraacetilado y 2 mg de un sólido amorfo amarillo con características semejantes al obtenido del EMPpT, pues reveló naranja en UV onda larga y amarillo intenso con KOH alcohólico, con datos espectrales de RMN que correspondieron a la mezcla de hidroxialoinas A y B (compuesto 3) [20].

Resultados y discusión

De los extractos de *P. polyantha* se lograron aislar compuestos ya reportados en otras especies de *Picramnia* como crisofanol, emodina, aloe-emodina, umbeliferona, β -sitosterol y su glucósido como su derivado tetraacetilado, metabolitos que fueron comparados con muestras auténticas por espectroscopia de RMN-¹H y cromatografía comparativa con muestras auténticas. También se aislaron de los extractos metanólicos, por primera vez de esta especie, la mezcla de glucósidos 1 y 8 de crisofanol (**compuesto 1**), glucósido de emodina (**compuesto 2**) y la mezcla de las 10-hidroxialoinas A y B

(compuesto 3). La dilucidación estructural de estos compuestos se realizó en base a los datos espectrales de RMN obtenidos de cada compuesto, además de la comparación de los datos reportados en la literatura para estos metabolitos secundarios aislados de otras fuentes vegetales.

El **compuesto 1** (mezcla de glucósidos de crisofanol), 15 mg de agujas color naranja con $pf = 245-247\text{ }^{\circ}\text{C}$ resultó ser una mezcla de 1 y 8-*O*- β -D-glucósido de crisofanol, de acuerdo a los datos espectrales de la literatura consultada [19, 21, 22]. Conforme a ello, el espectro de RMN- ^1H en DMSO- d_6 (tabla 1) mostró las dos señales simples correspondientes a los metilos aromáticos en δ 2,42 (3H) y δ 2,48 (3H); los protones de las moléculas de glucosa entre δ 3,25 y δ 5,18; los protones de los anillos aromáticos entre δ 7,19 y δ 7,86; además de señales múltiples en δ 4,65 y δ 5,15 correspondientes a los hidroxilos de la glucosa y de una simple ancha en δ 12,94 característica de hidroxilos quelatados.

El espectro de conectividad ^1H - ^1H , COSY, reveló la presencia de cuatro anillos aromáticos, pues se observaron los acoplamientos de los protones del metilo centrado en δ 2,42 (3H, s) con los aromáticos en δ 7,19 (1H, s) y δ 7,49 (1H, d, $J = 1,4\text{ Hz}$), así como la conexión entre ambos protones aromáticos; de igual manera, se notó la relación que guardaban los protones del metilo en δ 2,48 (3H, s) con los protones aromáticos en δ 7,54 (H, s) y δ 7,70 (2H, m), así como el acoplamiento entre estos.

El espectro de RMN- ^{13}C mostró 35 señales, de las cuales las señales en 21,37 y 21,70 ppm correspondieron a los dos grupos metilo; se observaron seis señales entre 60,50 y 100,36 ppm las cuales corroboraron la presencia de la molécula de glucosa [18], el resto de las señales presentaron desplazamientos muy parecidos a los del crisofanol pero en pares evidenciando la mezcla de compuestos. El experimento APT confirmó que las señales en δ 21,37 y δ 21,70 correspondieron a dos metilos aromáticos, así como el metileno de la glucosa en δ 60,50 y las señales correspondientes a los carbonos cuaternarios.

En la tabla 1 se presentan las asignaciones de estas dos moléculas de crisofanol-1-*O*- β -D-glucósido y de crisofanol-8-*O*- β -D-glucósido, asignaciones que se hicieron en base a la comparación de los datos espectrales obtenidos de esta mezcla con los de la literatura [19,21-24].

El **compuesto 2**, emodina-1-*O*- β -D-glucósido [9,25-28] mostró, en su espectro de RMN- ^1H en DMSO- d_6 , una señal simple en 2,38 ppm (3H) característica del metilo aromático, las señales para la glucosa entre 3,20 y 3,80 ppm coincidieron con la señal de

la humedad del disolvente. Sin embargo, se destacó una doble de dobles en 3,72 ppm ($J= 10,2$ y $4,9$ Hz) debida a un protón del metileno de la glucosa (H-6'); en 4,63 y 5,10 ppm se observaron dos señales anchas; no obstante, de la última se logró distinguir una doble en 5,05 ppm con $J=7,2$ Hz correspondiente al protón anomérico de la glucosa.

TABLA 1. DATOS ESPECTROSCÓPICOS PARA LA MEZCLA DE CRISOFANOL 1 y 8-O- β -D-glucósido. COMPUESTO 1

C	Crisofanol-1-O- β -D-glucósido				Crisofanol-8-O- β -D-glucósido			
	δ C	δ H	Conectividad $^1\text{H}-^1\text{H}$	Multiplicidad (J Hz)	δ C	δ H	Conectividad $^1\text{H}-^1\text{H}$	Multiplicidad (J Hz)
C-1	158,30	----	----		161,50	----	----	
C-2	122,61	7,54	7,70/2,48	s	123,94	7,19	7,49/2,42	s
C-3	147,26	----	----		147,52	----	----	
C-4	121,19	7,70	7,54/2,48	m	119,26	7,49	7,19/2,42	d (1,4)
C-5	118,20	7,66	7,75/7,35	dd (7,5; 1,2)	120,48	7,86	7,70	M
C-6	136,08	7,75	7,66	t (7,3)	135,83	7,86	7,70	M
C-7	124,18	7,35	7,75/7,66	dd (8,2; 1,1)	122,36	7,70	7,86	M
C-8	161,25	----	----		158,11	----	----	
C-9	187,57	----	----		187,42	----	----	
C-10	182,01	----	----		181,98	----	----	
C-11	21,70	2,48	7,70/7,54	s	21,37	2,42	7,49/7,19	S
C-1a	120,42	----	----		114,64	----	----	
C-4a	132,34	----	----		132,03	----	----	
C-5a	134,33	----	----		134,64	----	----	
C-8a	116,65	----	----		118,20	----	----	
C-1'	100,36	5,18	3,49/3,30	d (7,7)	100,36	5,18	3,49/3,30	d (7,7)
C-2'	73,23	3,49	5,18/5,15 (OH)	m	73,23	3,49	5,18/5,15 (OH)	m
C-3'	76,42	3,30	5,18/5,15 (OH)	m	76,42	3,30	5,18/5,15 (OH)	m
C-4'	69,44	3,25	3,73/5,15 (OH)	dd (4,5; 8,7)	69,44	3,25	3,73/5,15 (OH)	dd (4,5; 8,7)
C-5'	77,17	3,49	3,73	m	77,17	3,49	3,73	m
C-6'	60,50	3,73 3,49	3,49/3,25/4,65 (OH) 3,73/4,65 (OH)	dd (4,9; 10,7) m	60,50	3,73 3,49	3,49/3,25/4,65 (OH) (OH) 3,73/4,65 (OH)	dd (4,9; 10,7) m

δ en ppm, DMSO- d_6

En la zona de protones aromáticos se observaron cuatro señales dobles en δ 7,02 ($J= 2,4$ Hz, H-2), 7,14 ($J= 1,3$ Hz, H-7), 7,25 ($J= 2,4$ Hz, H-4) y 7,40 ppm ($J= 1,3$ Hz, H-5). En campo bajo solo se observó una señal simple debida a un hidroxilo quelatado, δ 13,20, lo que indicó que el otro hidroxilo se encontraba sustituido con la molécula de glucosa. El espectro de RMN- ^{13}C de **2**, también en DMSO- d_6 , mostró 20 señales, de las cuales seis correspondieron a una molécula de glucosa en δ 101,00; 77,53; 76,65; 73,51; 69,00 y 60,81; las señales en 124,45 y 119,53 ppm concordaron con las posiciones C-7 y C-5, mientras que en la señal en 108,6 ppm coincidieron C-4 y C-2; las señales en 186,37 y 182,37 ppm correspondieron a las posiciones C-9 y C-10, respectivamente de la molécula de emodina.

Con respecto a la mezcla de 10-hidroxioloinas A y B [20,29,30], **compuesto 3**, en el espectro de RMN- ^1H se pudo observar las señales características del monosacárido

glucosa entre δ 2,95 y δ 5,58, destacando dos dobles en δ 3,29 ($J=9,3$ Hz) y δ 3,27 ($J=9,6$ Hz) de los protones anoméricos y una múltiple en δ 4,72 (4H) característica del grupo metileno unido al hidroxilo de la molécula de aloe-emodina [5,20,23,29,30].

En la zona de protones aromáticos se presentaron cuatro señales doble de dobles en δ 6,92 ($J=8,2$ y $1,1$ Hz), δ 6,94 ($J=8,1$ y $1,1$ Hz), δ 7,42 ($J=7,7$ y $1,1$ Hz) y δ 7,52 ($J=7,7$ y $1,1$ Hz). También se observó una señal simple ancha en 6,95 ppm (2H), dos dobles en 7,44 y 7,54 ppm con $J=1,1$ Hz cada una; además de dos señales triples centradas en δ 7,62 ($J=7,7$ y $8,2$ Hz) y en δ 7,63 ($J=7,7$ y $8,1$ Hz). De la misma manera, y con la adición de D_2O , se distinguieron cuatro señales anchas centradas en δ 11,85, 11,87, 11,89 y 11,91 distintivas de los oxhidrilos quelatados en las posiciones C-1 y C-8.

En el espectro de RMN- ^{13}C se notaron 39 señales y, como en el caso de la mezcla de glucósidos de crisofanol (**compuesto 1**), la mayoría venía en pares; de esta forma entre δ 63,05 y 84,18 se presentaron catorce señales distintivas de monosacáridos como la glucosa, así como las típicas de la posición del carbón C-10 de oxantronas [6,9]; entre δ 114,50 y 153,08 se mostraron veinte señales de carbonos sp^2 , además de cuatro señales para carbonos sp^2 que soportan oxígenos en δ 162,05; 162,39; 162,81 y 162,50, y una señal característica del carbonilo en la posición C-9 de antronas y oxantronas en δ 194,25 [5,6,8-11,13,14].

Los experimentos DEPT y APT indicaron la presencia de tres metilenos, diecinueve metinos y diecisiete carbonos cuaternarios. Las señales para tres metilenos sustentó la propuesta de dos moléculas de oxantronas con una estructura base de aloe-emodina así como de dos moléculas de glucosa cuyas señales de los carbonos C-6' coincidieron en su desplazamiento químico, lo cual estuvo de acuerdo con las correlaciones encontradas, tanto de $^1H-^1H$ como de $^1H-^{13}C$, en los espectros correspondientes, COSY y HSQC, respectivamente. Entre las correlaciones que se destacan se puede mencionar los acoplamiento entre los protones del metileno C-11 (δ 64,25 y 64,22) en δ 4,72 (4H) con los aromáticos en δ 6,95 (2H), 7,44 (1H) y 7,54 (1H); así como los acoplamiento entre los protones aromáticos en δ 6,94 (1H) con δ 7,42 (1H) y δ 7,63 (1H), y la señal en δ 6,92 (1H) con δ 7,52 (1H) y δ 7,62 (1H); igualmente, se pudo ver la relación entre los protones anoméricos de la molécula de glucosa en 3,27 y 3,29 ppm con el carbono C-1' en δ 84,18.

Todas las observaciones de los espectros de RMN- 1H y RMN- ^{13}C , además de la comparación de los datos espectrales con compuestos similares [5,6,8-11,13,14] y los reportados en la literatura para las 10-hidroxi aloinas [20,29,30], permiten asegurar que

las estructuras de las oxantronas diastereoméricas de aloe-emodina conocidas como 10-hidroxialoina A y 10-hidroxialoina B corresponde a esta mezcla de compuestos. En la tabla 2 se presentan las asignaciones para este par de 10-hidroxialoinas diastereoméricas.

TABLA 2. DATOS ESPECTROSCÓPICOS DE LA MEZCLA DE 10-HIDROXIALOÍNAS A Y B, COMPUESTO 3

C	10-Hidroxialoina A					10-hidroxialoina B				
	δC	APT	δH	Conectividad 1H-1H	Multiplicidad (Hz)	δC	APT	δH	Conectividad 1H-1H	Multiplicidad (Hz)
1	162,50	C	---	---	---	162,81	C	---	---	---
2	114,50	CH	6,95	7,54/4,72	sbr	114,72	CH	6,95	7,44/4,72	sbr
3	152,18	C	---	---	---	153,08	C	---	---	---
4	115,43	CH	7,54	6,95/4,72	d (1,1)	116,53	CH	7,44	6,95/4,72	d (1,1)
5	118,70	CH	7,42	7,63/6,94	dd (1,1; 7,7)	117,60	CH	7,52	7,62/6,92	dd (1,1; 7,7)
6	136,98	CH	7,63	7,42/6,94	t (7,7; 8,1)	136,16	CH	7,62	7,52/6,92	t (7,7; 8,2)
7	117,72	CH	6,94	7,63/7,42	dd (1,1; 8,1)	117,48	CH	6,92	7,62/7,52	dd (1,1; 8,2)
8	162,39	C	---	---	---	162,05	C	---	---	---
9	194,26	C	---	---	---	194,26	C	---	---	---
10	76,69	C	---	---	---	76,66	C	---	---	---
11	64,25	CH2	4,72	7,54/6,95	Sbr	64,22	CH2	4,72	7,45/6,95	Sbr
1a	115,84	C	---	---	---	115,65	C	---	---	---
4a	146,59	C	---	---	---	146,57	C	---	---	---
5a	148,90	C	---	---	---	148,97	C	---	---	---
8a	117,24	C	---	---	---	117,05	C	---	---	---
1'	84,18	CH	3,27	3,09	d (9,6)	84,18	CH	3,29	3,09	d (9,3)
2'	72,81	CH	3,09	5,58/3,38/3,27	t (9,1; 9,3)	72,72	CH	3,09	5,41/3,38/3,29	t (9,1; 9,3)
3'	79,11	CH	3,38	3,09/2,95	t (7,1; 8,8)	79,19	CH	3,38	3,09/2,95	t (7,1; 8,8)
4'	71,51	CH	2,95	4,32/3,52/3,38	t (8,5; 9,6)	71,55	CH	2,95	4,32/3,52/3,38	t (8,5; 9,6)
5'	81,00	CH	2,95	4,32/3,52/3,38	ddd (2,8; 4,8; 9,6)	81,10	CH	2,95	4,32/3,52/3,38	ddd (2,8; 4,8; 9,6)
6'	63,05	CH2	3,38 3,52	3,52/2,95 3,75/3,38/2,95	dd (4,8; 11,8) dd (2,8; 11,8)	63,05	CH2	3,38 3,52	3,52/2,95 3,75/3,38/2,95	dd (4,8; 11,8) dd (2,8; 11,8)
OH-10 d			6,58					6,58		
OH-8 d			11,91a					11,89 a		
OH-1 d			11,85b					11,87 b		
OH-4' d			4,32					4,32		
OH-2' d			5,58c					5,41 c		
OH-6' d			3,75					3,75		
OH-11 d			5,15					5,15		

δ en ppm, (CH₃)₂CO-*d*₆, ^a Intercambiables, ^b Intercambiables, ^c Intercambiables, ^d Con D₂O

En la figura 1 se presentan las estructuras de los metabolitos secundarios aislados en el presente trabajo.

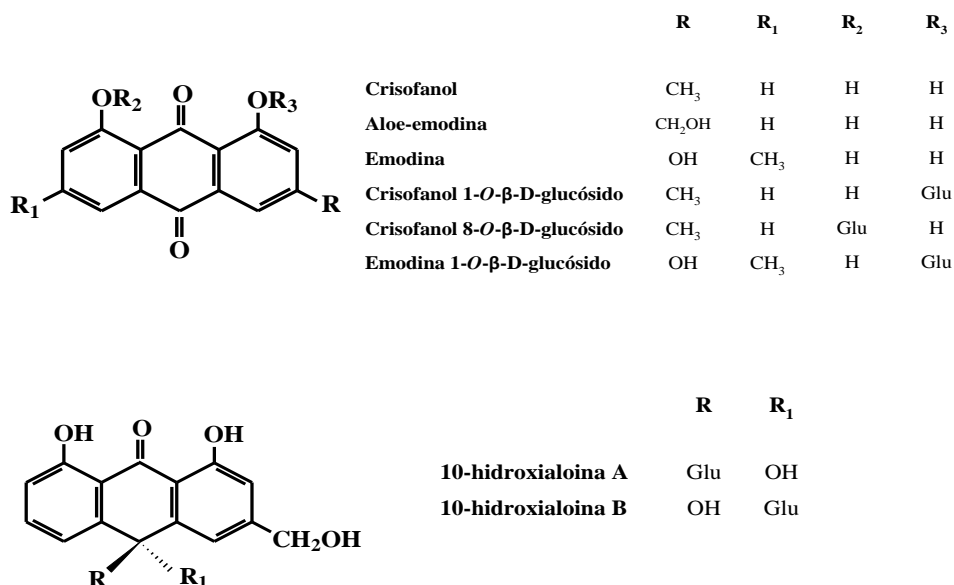


Fig. 1. Estructura de los metabolitos secundarios aislados de *P. polyantha*

En relación a la evaluación biológica de los extractos metanólicos de tallo y hoja de *P. polyantha*, el bioensayo de *Artemia salina* L., es una prueba de toxicidad rápida, confiable, barata y de uso común para la determinación de extractos y compuestos bioactivos, aprovechando la relación que existe entre Toxicología y Farmacología, pues la farmacología es simplemente la toxicología en dosis más bajas y la toxicología es farmacología en una dosis más alta [31,32].

En la tabla 3 se presentan los resultados del bioensayo con *A. salina* L.

TABLA 3. TOXICIDAD DE LOS EXTRACTOS DE *P. POLYANTHA*

μg/mL	Extracto metanólico de Tallo (EMPpT)		Extracto Metanólico de Hoja (EMPpH)	
	Larvas* muertas	%M	Larvas* muertas	%M
Control**	0,16		0,16	
2,0	8,3	79,76	9,6	95,23
20,0	8	76,19	8,3	79,76
200,0	5,3	44,04	6,3	55,95
DL ₅₀	2,39 μg/mL		0,43 μg/mL	

* Promedio de larvas muertas en la prueba por triplicado.

**Solución al 3.8% de sal libre de yodo.

En dicha tabla se puede observar una toxicidad significativa de dichos extractos, muy parecida a la registrada para los frutos de *P. polyantha* [15], con lo cual se puede suponer que los extractos poseen metabolitos secundarios con posibles propiedades farmacológicas semejantes a otras especies de *Picramnia* [5,13,14] y con potencial uso

terapéutico; por consiguiente, se requiere profundizar en las evaluaciones biológicas tanto de extractos como de los metabolitos aislados.

Conclusiones

De los extractos de tallo y hoja de Picramnia polyantha se aislaron los compuestos conocidos como crisofanol, emodina, aloe-emodina, umbeliferona, β -sitosterol y su glucósido además de glucósido de emodina, todos ellos ya reportados de otras especies de Picramnia. Por otra parte, también se logró la elucidación de las estructuras de las mezclas de glucósidos de crisofanol y de las oxantronas diastereoméricas conocidas como 10-hidroxioloínas A y B, metabolitos no aislados con anterioridad de Picramnia. Si bien se han purificado oxantronas C-glicosiladas de este género, ésta es la primera vez que se describe el aislamiento y la dilucidación estructural de todos estos metabolitos de extractos de Picramnia polyantha.

En relación con la bioevaluación de los extractos metanólicos de P. polyantha, tanto de tallo como de hoja, la toxicidad significativa mostrada por los mismos permite deducir la presencia de compuestos citotóxicos, lo que impulsa a continuar con las investigaciones sobre esta especie.

Referencias Bibliográficas

1. THOMAS, W.W., "A Conspectus of Mexican and Central American *Picramnia* (Simaroubaceae)", *Brittonia*, 1988, **40**, 89-105.
2. STANDLEY, P.C. "Trees and Shrubs of Mexico". En: *Contributions from the United States National Herbarium*, Vol. 23, parte 3, Washington: Smithsonian Institution United States National Museum. 1923, 541-542.
3. STANDLEY, P.C., STEYERMARK, J.A. Flora of Guatemala (Part V). Fieldiana: Botany, **24**. Chicago Natural History Museum. 1946, 425-434.
4. HEYWOOD, V. *Flowering Plants of the World*. New York: Oxford University Press, 1993, 199-200. ISBN: 0-19-521037-9.
5. SOLIS, P.N., *et al.*; "Bioactive anthraquinone glycosides from *Picramnia antidesma* ssp. *Fessonia*", *Phytochemistry*, 1995, **38**, 477-480.
6. HERNÁNDEZ-MEDEL M. R, *et al.*; "Mayoside, an oxanthrone from *Picramnia hirsute*", *Phytochemistry*, 1996, **43**, 279-281.

7. HERNÁNDEZ-MEDEL, M.R., LOPEZ-PEREZ, J., TRIGOS, A., “Anthraquinones from *Picramnia hirsuta* stem”, *Revista Latinoamericana de Química*, 1998, **26**, 86-90.
8. HERNÁNDEZ-MEDEL, M. R.; *et al.*; “An anthrone from *Picramnia antidesma* stem”, *Phytochemistry*, 1998, **49**, 2599–2601.
9. HERNÁNDEZ-MEDEL, M. R., *et al.*, “Diastereomeric C-glycosyloxanthrones from *Picramnia antidesma*”, *Phytochemistry*, 1999, **50**, 1379-1383.
10. RODRÍGUEZ-GAMBOA, T., *et al.*, “Two anthrones and one oxanthrone from *Picramnia teapensis*”, *Phytochemistry*, 1999, **51**, 583–586.
11. RODRÍGUEZ-GAMBOA, T., *et al.*, “Anthrone and oxanthrone C,O-diglycosydes from *Picramnia teapensis*”, *Phytochemistry*, 2000, **55**, 837-841.
12. BALDERRAMA, L., *et al.*, “Triterpenes and anthraquinones from *Picramnia sellowii* Planchon in Hook (Simaroubaceae)”, *Biochemical Systematics and Ecology*, 2001, **29**, 331-333.
13. HERNÁNDEZ-MEDEL, M.R., PEREDA-MIRANDA, R., “Cytotoxic anthraquinone derivatives from *Picramnia antidesma*”, *Planta Medica* 2002, **68**, 556-558.
14. DIAZ, F., *et al.*, “Anthrone and oxanthrone C-glycosides from *Picramnia latifolia* Collected in Peru”, *Journal of Natural Products*, 2004, **67**, 352-356.
15. HERNÁNDEZ-MEDEL, M. R., *et al.*, “Characterization and biological activity of fatty acids from *Picramnia polyantha*”, *Revista Latinoamericana de Química*, 2009, **37**, 163-170.
16. MCLAUGHLIN, J. L. “Crown gall tumors on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractions”, En: Dey, P.M.; Harborne, J.B. (ed.). *Methods in Plant Biochemistry*, 6, New York: Academic Press, 1991, 1-32.
17. Table Curve Windows, v1.0, Jandel Scientific, San Rafael CA.
18. SALAMA, A.M., *et al.*, “Antiinflammatory and cardioactive glucosides from *Seclum edule*”, *Revista Latinoamericana de Química*, 1987, **18**, 132-133.
19. OKABE, H., MATSUO, K., NISHIOKA, I., “Studies on Rhubarb (*Rhei Rhizoma*). II. Anthraquinone glycosides”, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1973, **21**, 1254-1260.
20. OKAMURA, N., *et al.*, “Diastereomeric C-glucosylanthrones of *Aloe vera* leaves”, *Phytochemistry*, 1997, **45**, 1519-1522.

21. LIN, CH.-N., WEI, B.-L., "Anthraquinone and naphthalene glycosides from *Rhamnus nakaharai*", *Phytochemistry*, 1993, **33**, 905-908.
22. MATSUDA, H., *et al.*, "Antioxidant constituents from Rhubarb: structural requirements of stilbenes for the activity and structures of two new anthraquinone glucosides", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2001, **9**, 41-50.
23. DANIELSEN, K., AKNES, D.W., FRANCIS, G.W., "NMR study of some anthraquinones from Rhubarb", *Magnetic Resonance in Chemistry*, 1992, **30**, 359-363.
24. NGOC, T.M., *et al.*, "Lipoxygenase inhibitory constituents from rhubarb", *Archives of Pharmacal Research*, 2008, **31**, 598-605.
25. COSKUN, M., *et al.*, "Anthraquinone glycosides from *Rhamnus libanoticus*", *Phytochemistry*, 1990, **29**, 2018-2020.
26. LIN, CH.-N., *et al.*, "Flavonol and anthraquinone glycoside from *Rhamnus formosana*", *Phytochemistry*, 1991, **30**, 3103-3106.
27. KALIDHAR, S.B., "Reassessment of the structure of an anthraquinone glycoside from *Rhamnus formosana*", *Phytochemistry*, 1992, **31**, 2905-2906.
28. KINJO, J., *et al.*, "An anthraquinone glycoside from *Cassia angustifolia* leaves", *Phytochemistry*, 1994, **37**, 1685-1687.
29. DAGNE, E., *et al.*, "Three oxanthrones from *Aloe littoralis*", *Phytochemistry*, 1996, **42**, 1683-1687.
30. DAGNE, E., *et al.*, "10-hydroxyaloins B 6'-O-acetate, an oxanthrone from *Aloe claviflora*", *Journal of Natural Products*, 1998, **61**, 256-257.
31. MCLAUGHLIN, J.L., ROGERS, L.L., ANDERSON, J.E., "The use of biological assays to evaluate botanicals", *Drug Information Journal*, 1998, **32**, 513-524.
32. MEYER, B.N., *et al.*, "Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents", *Planta Medica*, 1982, **45**, 31-34.