

FLAVONOIDES AISLADOS DE LAS INFLORESCENCIAS DE *Piper hispidum* Kunth (PIPERACEAE) Y DERIVADOS ACETILADOS

ISOLATED FLAVONOIDS FROM INFLORESCENCES OF *Piper hispidum* Kunth (PIPERACEAE) AND ACETYLATED DERIVATIVES

FLAVONOIDES ISOLADOS DAS INFLORESCÊNCIAS DE *Piper hispidum* Kunth (PIPERACEAE) E DERIVADOS ACETILADOS

Erika A. Plazas G.¹, Luis E. Cuca S.^{1,2}, Wilman A. Delgado A.¹

Recibido: 14/04/08 – Aceptado: 22/08/08

RESUMEN

A partir del extracto etanólico de las inflorescencias de la especie *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) fueron aislados tres flavonoides: 5-hidroxi-7-metoxiflavanona, 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavanona y 2',4',6'-trimetoxidihidrochalcona. De las flavanonas aisladas fueron obtenidos los derivados acetilados: 5-acetoxi-7-metoxiflavanona y 5-acetoxi-4',7-dimetoxiflavanona. Las estructuras fueron elucidadas empleando técnicas espectroscópicas y por comparación con datos de literatura. Los compuestos naturales y sus derivados fueron sometidos al bioensayo de letalidad frente a *Artemia salina*. El flavonoide 5-hidroxi-7-metoxiflavanona presenta la mayor actividad tóxica frente a los microcrustáceos CL_{50} 1.8 $\mu\text{g/ml}$.

Palabras clave: *Piper hispidum* kunth, Piperaceae, flavanonas, dihidro-

chalconas, derivados acetilados y ensayo de letalidad frente a *Artemia salina*.

ABSTRACT

From the ethanolic extract of the inflorescences of *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) were isolated three flavonoids 5-hydroxy-7-methoxyflavanone, 5-hydroxy-4',7-dimethoxyflavanone and 2',4',6'-trimethoxydihydrochalcone. The acetylated derivatives 5-acetoxy-7-methoxyflavanone and 5-acetoxy-4',7-dimethoxyflavanone were synthesized from the isolated pure flavanones. Characterization was mainly achieved by spectroscopic techniques and compared with literature data. Natural compounds and derivatives were subjected to brine shrimp lethality bioassay. The most toxic compound was the flavonoid 5-hydroxy-7-methoxyflavanone with a LC_{50} 1,8 $\mu\text{g/ml}$.

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia. eaplazasg@unal.edu.co

² lecucas@unal.edu.co

Key words: *Piper hispidum* Kunth, Piperaceae, flavanones, dihydrochalcones, acetylated derivatives and brine shrimp lethality assay.

RESUMO

A partir do extracto etanólico das inflorescências da espécie *Piper hispidum* Kunth (Piperaceae) foram isolados três flavonóides: 5-hidroxi-7-metoxiflavanona, 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavanona y 2',4',6'-trimetoxidihidrochalcona. Das flavanonas isoladas foram sintetizados os derivados acetilados 5-acetoxi-7-metoxiflavanona y 5-acetoxi-4',7-dimetoxiflavanona. As estruturas foram elucidadas empregando técnicas espectroscópicas e por comparasaõ com dados da literatura. Os compostos naturais e seus derivados foram submetidos a bioensaíos de letalidade frente a *Artemia salina*. O flavonoi-de 5-hidroxi-7-metoxiflavanona presenta uma major atividade tóxica frente aos microcrustáceos CL_{50} 1,8 μ g/ml.

Palavras-chave: *Piper hispidum* Kunth, Piperaceae, flavanonas, dihydrochalconas, derivados acetilados e ensaios de letalidade frente a *Artemia salina*.

INTRODUCCIÓN

La familia Piperaceae es originaria del sudoeste de la India y constituye una de las más antiguas. La pimienta (*Piper nigrum*) es la especie más representativa de esta familia. La historia de su uso se remonta al siglo IV a.C., época en la cual se conocía por su nombre en sánscrito *Pip-pali* (1).

El género *Piper* es el más extenso e importante de la familia Piperaceae y cuenta

con aproximadamente 700 especies. Las especies de este género son generalmente herbáceas, a veces arbustos y rara vez árboles pequeños (2). Tienen una gran importancia comercial y medicinal. Los indígenas de Oceanía beben durante sus reuniones mágico-religiosas un preparado de la raíz de *Piper methysticum* conocido popularmente como kava-kava. Esta bebida posee efectos similares a los del alcohol, y en altas dosis se considera que posee un efecto narcótico (3). En Ecuador las comunidades huaorani usan las inflorescencias de *Piper arboreum* "nabucan" y *Piper aduncum* "namocan" como cepillo y pasta de dientes, y las hojas para curar la gripa (4).

En Colombia las especies del género *Piper* se conocen popularmente como cordoncillos o anises y son empleadas en el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas diarrea, disentería, dolores de estómago, caries dentales, y como cicatrizante (1). Los indígenas de las tribus motilonas y bari en Norte de Santander mastican los tallos de *Piper erithroxylodes* (Achikaira) para prevenir la caries y como estimulante, produciendo un efecto narcótico que duerme la lengua y se dice que tiene una acción similar a la de la coca (5). Uno de los departamentos con mayor profusión de usos etnobotánicos es el Chocó: allí las comunidades indígenas embera emplean las diversas especies como antiinflamatorios, analgésicos, antirreumáticos y contra picadura de serpientes (6).

Los estudios fitoquímicos realizados en diferentes especies del género *Piper* han permitido aislar una gran variedad de metabolitos: amidas, lignanos, neolignanos, terpenos y flavonoides (7). Los fla-

vonoides de mayor abundancia en el género *Piper* son chalconas, dihidrochalconas, flavanonas y algunas flavonas. Las chalconas y dihidrochalconas se caracterizan por no poseer sustituyentes en el anillo B, con excepción de algunas aisladas de las hojas de *Piper aduncum* y *Piper methysticum* (figura 1) (8).

Las dihidrochalconas aisladas del género *Piper* han mostrado actividad antiparasitaria frente a especies de *Leishmania sp.* (9) y *Plasmodium falciparum* (10). Por otra parte las flavanonas han presentado actividad antifúngica (11) y citotóxica (12).

La especie *Piper hispidum* se encuentra ampliamente distribuida en las Antillas, Centroamérica y la mayor parte de Suramérica. Es un arbusto nodoso, de tamaño y forma variable. Las características morfológicas de esta especie son muy diversas lo cual ha permitido diferenciarla en más de seis variedades, entre ellas *P. hispidum* SW, *P. hispidum* C.CD, *P. hispidum* H.B.K. y *P. hispidum* Kunth (13). La especie *P. hispidum* SW se encuentra distribuida principalmente en las Antillas y Centroamérica, mientras las

variedades *P. hispidum* C.CD y *P. hispidum* Kunth (especie de estudio) se encuentran principalmente en Suramérica (14).

Los estudios fitoquímicos reportados para la especie *Piper hispidum* se han realizado principalmente sobre las hojas de las variedades *P. hispidum* SW y *P. hispidum* H.B.K. Se han aislado amidas pirrolidínicas N-[7-(3',4'-metilendioxfenil)-2(Z)-4(Z)-heptadienoil]-pirrolidina y N-[5-(3',4'-metilendioxfenil)-2(E)-pentadienoil]-pirrolidina con actividad antifúngica contra el hongo *Cladosporium sphaerospermu* (15). También se han aislado flavonoides tipo charcona, como 2',3'-dihidroxi-4',6'-dimetoxichalcona, dihidrochalconas 2',6'-dihidroxi-4'-metoxidihidrochalcona y 2',4',6'-trihidroxidihidrochalcona que han presentado actividad frente a *Plasmodium falciparum*, el parásito causante de la malaria (16), y flavanonas como 6-hidroxi-5,7-dimetoxiflavanona, 8-hidroxi-5,7-dimetoxiflavanona, pinostrobina y 5,7,8-trimetoxiflavanona (7).

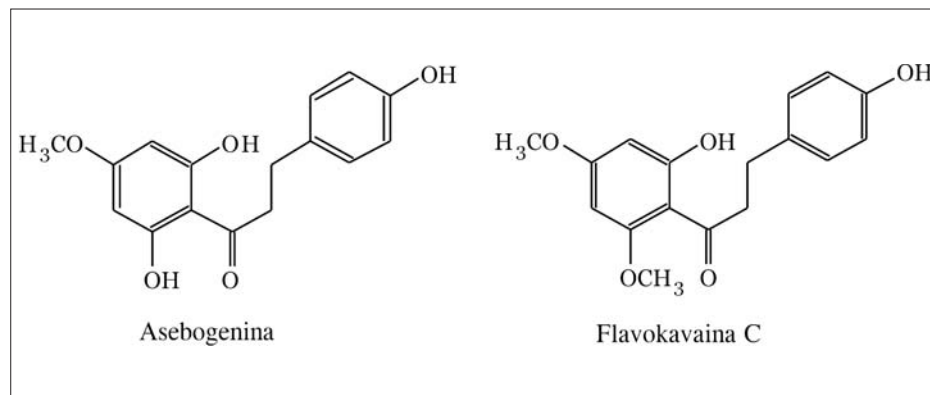


Figura 1. Chalconas con sustitución en el anillo B.

MATERIALES Y MÉTODOS

General

Los puntos de fusión fueron determinados en un fusiómetro Fischer-Johns. Los espectros infrarrojo IR fueron tomados en el equipo Perkin Elmer FTIR Panagon 500 serie 1000 en película. Los espectros de resonancia magnética nuclear RMN ^1H , ^{13}C , experimentos DEPT y bidimensionales COSY, HMQC y HMBC, fueron tomados en el equipo Bruker Avance 400, a 400 MHz para ^1H y a 100 MHz para ^{13}C , utilizando el solvente deuterado (CDCl_3) como estándar interno. Para la cromatografía en columna CC se empleó sílica gel 60 (Merck). En la cromatografía en capa fina CCF se utilizó sílica gel 60 GF₂₅₄, 0,3 mm espesor (Merck) y reveladores universales: luz UV de λ 254 y 365 nm y vapores de yodo. Los espectros de masas de EM (IE) 70 eV fueron tomados en un equipo Shimadzu QP5050.

Material vegetal

La especie *Piper hispidum* Kunth fue recolectada en el municipio Nocaima, Cundinamarca, en marzo de 2005, por el profesor Wilman Delgado, y clasificada por la bióloga Laura Clavijo en septiembre del mismo año. Un espécimen reposa en el Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia con el número de colección COL-510518.

Extracción y aislamiento

Las inflorescencias de *Piper hispidum* Kunth secas y troceadas (160 g) se sometieron a extracción por maceración con etanol del 96%. El extracto etanólico resultante se concentró a presión reducida,

obteniendo 16,1 g de extracto crudo. Se sometieron 14,9 g de extracto a fraccionamiento por CC (sílica gel, solventes de polaridad creciente EdP, CH_2Cl_2 , CHCl_3 , iPrOH y MeOH), obteniendo 135 fracciones que fueron agrupadas en 38 fracciones finales de acuerdo con su perfil en cromatografía en capa delgada.

Las fracciones 9-11 (583 mg) se sometieron a purificación por CC (sílica gel; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ -AcOiPr 9:1), obteniendo cuatro fracciones. La fracción 3 se sometió a lavados sucesivos con MeOH y cristalización en $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ para obtener el compuesto **1** (350,6 mg) en forma de láminas blancas con punto de fusión 92-93 °C. Las fracciones 13 y 14 de la columna fraccionamiento se sometieron a CC (sílica gel; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ -AcOiPr 8:2), obteniendo cuatro fracciones finales. Las fracciones 2-3 se reunieron y recrystalizaron con MeOH, obteniendo cristales blancos en forma de agujas y p.f. 112-113 °C, compuesto **2** (509,2 mg). A las fracciones 18-25 (1129,2 mg) se les realizó CC (sílica gel; n-hexano-acetona 7:3), obteniendo doce fracciones. La fracción 7 de esta columna se sometió nuevamente a CC con sílica gel y hexano/acetona 6:4; la fracción 7-3 fue recrystalizada con metanol obteniendo el compuesto **3** (722,6 mg) como un sólido amarillo en forma de agujas con p.f. 156-158 °C.

Obtención de los derivados acetilados

En un experimento típico de acetilación (17) se adicionó 1 mL de anhídrido acético y 0,4 mL de piridina a 40,9 mg del compuesto **1** y 52,4 mg del compuesto **2**. La mezcla de reacción se sometió a reflujo con agitación constante a 80 °C. La reacción fue monitoreada por CCF. A las

24 horas se suspendió el calentamiento, y a la mezcla de reacción se le adicionó hielo y HCl al 5% (3*2 mL) hasta pH 5. Se realizaron extracciones con CHCl₃ (3*10 mL). Las fases orgánicas se reunieron y secaron con CaCl₂, se filtró y el solvente se eliminó por destilación a presión reducida. Los compuestos se purificaron por CC (sílica gel; C₆H₅CH₃-AcOiPr 8:2), obteniendo el compuesto **4** (35,4 mg) como un aceite amarillo que cristalizó rápidamente, y el compuesto **5** (38,9 mg) que se obtuvo como cristales blancos en forma de agujas.

Ensayo de letalidad con *Artemia salina*

El ensayo de letalidad en *A. salina* se realizó de acuerdo con el protocolo sugerido por McLaughlin y colaboradores (18). Los huevos de *A. salina* se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 28 °C en un medio de cultivo consistente en una solución acuosa de sal marina a una concentración de 38 g/L. Los compuestos se solubilizaron inicialmente en DMSO (250-500 µl) y se prepararon soluciones a concentraciones de 100, 50, 10 y 1 µg/mL usando medio de cultivo. Se realizó un control negativo empleando DMSO a la concentración máxima 2% en medio de cultivo. Los ensayos se realizaron por triplicado empleando 10 nauplios por pozo. Al cabo de 24 horas se hicieron las lecturas, y se registró el número de sobrevivientes en cada pozo.

Los datos obtenidos fueron procesados con el programa estadístico "Epa probit analysis program" con el fin de determinar la concentración letal 50 (CL₅₀) y un rango de confianza de 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cantidades aisladas de **1** (350,6 mg), **2** (509,2 mg) y **3** (722,6 mg) evidencian la importante presencia de estos compuestos en el extracto etanólico, lo cual permite considerarlos como componentes mayoritarios de las inflorescencias de la especie *Piper hispidum* Kunth. Los rendimientos del aislamiento y purificación de estos compuestos a partir del material vegetal seco son de 0,22%, 0,32% y 0,45%, respectivamente.

Los compuestos **1-3** en CCF presentaron coloraciones amarillas en la luz visible y verdes fluorescentes en el UV 365 nm por exposición a vapores de amoníaco. Este comportamiento es característico para compuestos de tipo flavonoide (19). Los compuestos **1** y **2** dan prueba positiva al revelar con FeCl₃ en CCF; esto indica la presencia de OH fenólicos en sus estructuras (19).

La caracterización de los compuestos **1-3** se realizó empleando técnicas espectroscópicas como IR, RMN ¹H, ¹³C, experimentos DEPT y bidimensionales.

El compuesto **1** fue identificado como 5-hidroxi-7-metoxiflavanona, conocido como pinostrobina, por comparación con datos de literatura (20). Esta flavanona ha sido aislada de diferentes especies como *Boesenbergia rotunda* (Zingiberaceae), en la familia Piperaceae y específicamente en el género *Piper* de las especies *Piper aduncum* y *Piper hispidum* Sw (hojas) (7).

El compuesto **2** fue caracterizado como 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavanona. Esta flavanona ha sido encontrada en especies de las familias Annonaceae (21),

Tabla 1. δ en RMN ^1H (400 MHz en CDCl_3) del compuesto **3**.

H	δ (f, m, J Hz)
H-2, H-6	7,19-7,31 (6H, m ^a)
H-3, H-5	7,19-7,31 (6H, m ^a)
H-4	7,19-7,31 (6H, m ^a)
H- α	3,39 (2H, t, 5,6)
H- β	3,02 (2H, t, 5,6)
H-3'	5,93 (2H, s ^a)
H-5'	5,93 (2H, s ^a)
OCH ₃ -2'	3,79 (6H, s ^a)
OCH ₃ -4'	3,50 (3H, s)
OCH ₃ -6'	3,79 (6H, s ^a)

^a señales solapadas.

Lauraceae (22) y Zingiberaceae (23). Sin embargo, este flavonoide no ha sido reportado en la familia Piperaceae.

El compuesto **3** fue identificado como 2',4',6'-trimetoxidihidrochalcona. No existen muchos reportes del aislamiento de esta dihidrochalcona. En la literatura aparece como aislada del helecho *Woodsia scopulina* (24). Sin embargo no se reportan los datos de caracterización del compuesto. Los autores hacen referencia a otro artículo, pero en este se sintetizan chalconas y no dihidrochalconas (25). Teniendo en cuenta que no se posee un reporte de los datos de RMN para la identificación de este compuesto, a continuación se presentan los resultados obtenidos.

Compuesto 3: IR $\eta_{\text{máx}}$ cm^{-1} : 3022, 3004, 2971, 2849, 1691, 1645, 1594, 1446, 1213, 1116; RMN ^1H : ver tabla 1; RMN ^{13}C : ver tabla 2; EM (IE) m/z: 300 (M^+), 272, 255, 193, 167.

A los compuestos **1** R_f 0,7 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ -AcO*i*Pr 9:1) y **2** R_f 0,6 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ -AcO*i*Pr 9:1) se les realizó una acetilación para obtener los respectivos derivados **4** R_f 0,5 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ -AcO*i*Pr 9:1) y **5** R_f 0,4 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$ -AcO*i*Pr 9:1), con el fin de observar su toxicidad frente a *Artemia salina*. La comparación de los R_f de los compuestos **1** y **2** con **4** y **5** permiten inferir la obtención de los derivados acetilados. Se

Tabla 2. δ en RMN ^{13}C (100 MHz en CDCl_3) del compuesto **3**. Experimentos DEPT, HMQC y HMBC.

C	d	DEPT	HMQC	HMBC
C-1	141,6	C	-	7,19-7,31
C-2	128,4	CH	7,19-7,31	
C-3	128,5	CH	7,19-7,31	
C-4	125,9	CH	7,19-7,31	
C-5	128,5	CH	7,19-7,31	
C-6	128,4	CH	7,19-7,31	
C- α	45,6	CH ₂	3,39	
C- β	30,5	CH ₂	3,02	
C=O	204,5	C	-	3,39, 3,02
C-1'	104,8	C	-	-
C-2'	165,5	C	-	3,79
C-3'	94,4	CH	5,93	
C-4'	165,5	C	-	3,50
C-5'	94,4	CH	5,93	
C-6'	165,5	C	-	3,79
OCH ₃ -2'	55,5	CH ₃	3,79	94,4
OCH ₃ -4'	55,4	CH ₃	3,50	94,4
OCH ₃ -6'	55,5	CH ₃	3,79	94,4

evidencia un aumento en la polaridad de los compuestos sintetizados respecto a los compuestos naturales, que se debe a la introducción en la molécula de un grupo acetoxi y a la pérdida de un grupo hidroxilo que se encuentra quelatado con el carbonilo de la benzopirona. La confirmación de la obtención de los compuestos **4** y **5** se realizó empleando las técnicas espectroscópicas de IR, RMN ^1H y ^{13}C , y por comparación con los datos obtenidos para los compuestos **1** y **2**. En el espectro IR de los compuestos **4** y **5** se observa la desaparición de la banda de estiramiento de O-H (3400 cm^{-1}) y la aparición de una banda hacia 1769 cm^{-1} característica para el estiramiento C=O en carbonilos de éster que se puede confirmar con la banda en 1158 cm^{-1} correspondiente a la banda del estiramiento C-O de éster. En el espectro de ^1H -RMN del compuesto **4** se observa la desaparición de la señal en δ 12,00 (1H, s) correspondiente al protón del OH en la posición 5 que se encuentra quelatado con el grupo carbonilo de la benzopirona. De

igual forma se observa la presencia de una señal cerca en δ 2,39 (3H, s) correspondiente a los protones del grupo CH_3 unidos al carbonilo del grupo acetilo. Este comportamiento se presenta también para el compuesto **5** (tabla 3).

En el espectro de ^{13}C -RMN de los compuestos **4** y **5** se observa la presencia de las señales características para el grupo acetoxi (13): el carbonilo de éster en δ 170 y el CH_3 unido al carbonilo en δ 21,4. También se presentan diferentes desplazamiento de las señales respecto a los compuestos **1** y **2** (tabla 4).

Los compuestos **1-5** fueron sometidos al bioensayo de letalidad frente a *Artemia salina*. En los resultados (tabla 5) se muestra la concentración letal para la mitad de la población de microcrustáceos o concentración letal 50 (CL_{50}). El compuesto **1**, pinostrobin, presenta la mayor actividad tóxica frente a los nauplios (CL_{50} $1,8\text{ }\mu\text{g/mL}$). Esta flavanona ha demostrado tener muy buena actividad cito-

Tabla 3. δ en RMN ^1H (400 MHz en CDCl_3) de los compuestos **1**, **4**, **2** y **5**.

H	1 δ (f, m, J Hz)	4 δ (f, m, J Hz)	2 δ (f, m, J Hz)	5 δ (f, m, J Hz)
H-2	5.39 (1H, dd, 3.0, 13.0)	5.45 (1H, dd, 3.0, 13.0)	5.39 (1H, dd, 3.0, 13.0)	5.40 (1H, dd, 3.0, 13.0)
H-3	3,06 (1H, dd, 13,0, 17,2)	3,01(1H, dd, 13,4, 16,7)	3,12 (1H, dd, 13,0, 17,2)	3,03 (1H, dd, 13,0, 17,2)
H-3	2,80 (1H, dd, 3,1, 17,2)	2,74 (1H, dd, 3,0, 16,7)	2,80 (1H, dd, 3,1, 17,2)	2,70 (1H, dd, 3,1, 17,2)
H-6	6,05(1H, d, 2,3)	6,29 (1H, d, 2,4)	6,06 (1H, d, 2,1)	6,27(1H, d, 2,1)
H-8	6,06(1H, d, 2,3)	6,44 (1H, d, 2,4)	6,09 (1H, d, 2,1)	6,40 (1H, d, 2,1)
H-2', H-6', H-3', H-5'	7,41(5H, m)	7,41(5H, m)	7,40 (2H, d, 8,6) 6,97 (2H, d, 8,6)	7,37 (2H, d, 8,6) 6,95 (2H, d, 8,6)
OH-5	12,00 (1H, s)		12,05 (1H, s)	
OCH_3 -7	3,79 (3H, s)	3,82 (3H, s)	3,80 (3H, s)	3,81 (3H, s)
OCH_3 -4'			3,82 (3H, s)	3,83 (3H, s)
OCOCH_3 -5		2,39 (3H, s)		2,39 (3H, s)

Tabla 4. δ en RMN ^{13}C (100 MHz en CDCl_3) de los compuestos **1**, **4**, **2** y **5**.

C	1 δ	4 δ	2 δ	5 δ
2	79,2	79,8	79,0	79,3
3	43,3	45,3	43,2	44,8
4	195,7	189,1	196,0	189,0
5	162,8	152,1	162,9	151,8
6	95,1	105,1	95,1	104,7
7	168,0	165,7	167,4	165,4
8	94,2	99,8	94,2	99,5
9	164,1	164,5	164,1	164,2
10	103,2	108,3	103,4	107,9
1'	138,5	138,7	130,4	130,4
2'	126,2	126,4	127,7	127,7
3'	126,2	126,4	114,2	114,2
4'	128,8	129,1	160,0	160,0
5'	126,2	126,4	114,2	114,2
6'	126,2	126,4	127,7	127,7
OCH ₃ -7	55,7	56,1	55,7	55,7
OCH ₃ -4'			55,4	55,4
OCOCH ₃ -5		170,0		169,5
OCOCH ₃ -5		21,4		21,1

tóxica frente a células cancerígenas de mama (26) y leucemia (12). Los resultados del bioensayo de toxicidad frente a *Artemia salina* han evidenciado tener correlación directa con los resultados en en-

Tabla 5. Resultados de letalidad frente a *Artemia salina*.

Compuesto	CL ₅₀ $\mu\text{g/ml}$	Límite inferior ^a	Límite superior ^a
1	1,8	1,1	2,9
2	45,8	23,3	125,4
3	91,9	68,7	119,7
4	83,1	43,6	267,5
5	110,5	49,6	636,6

^a 95% de confianza.

sayos de actividad citotóxica en células cancerígenas. Por ejemplo de la especie *Piper gibbilimbium* se aislaron 4 alquenilfenoles (gibbilimbol A-D) que presentaron CL₅₀ cercanas a 5,0 $\mu\text{g/mL}$ frente a *Artemia salina*. En el bioensayo de citotoxicidad frente a células KB (carcinoma de nasofaringe) se obtuvieron DE₅₀ entre 7,8 y 2,1 $\mu\text{g/mL}$ (27). Esta correlación se observa igualmente en los resultados de *Artemia salina* y la marcada actividad citotóxica de pinostrobin.

El compuesto **2**, 5-hidroxi-4',7-dimetoxiflavanona, que se diferencia de pinostrobin por la presencia de un metoxilo en la posición 4', posee una actividad moderada frente a *Artemia salina* (CL₅₀ 45,8 $\mu\text{g/mL}$) y por lo menos 40 veces menor que la de pinostrobin. Este compuesto no posee reportes de citotoxicidad en células cancerígenas. La dihidrochalcona 2', 4', 6'-trimetoxidihidrochalcona y los derivados acetilados: 5-acetoxi-7-metoxiflavanona y 5-acetoxi-4',7-dimetoxiflavanona poseen baja actividad tóxica. La acetilación de los compuestos **1** y **2** hace que se disminuya la actividad frente a *Artemia salina*.

Este efecto es más notorio para pinostrobin, puesto que su derivado acetilado es 80 veces menos activo. Este resultado implica una importancia en la presencia de hidroxilos para la bioactividad.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de Productos Naturales Vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia (sede Bogotá) y al químico Sebastián Gómez Robles del Laboratorio de RMN por la toma de espectros.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- De la Rúa, A. El poder curativo de las hierbas. Bogotá: Círculo de lectores. 1999. p. 145.
- Mahecha, G. Fundamentos y metodología para la identificación de plantas. Colombia: Proyecto Biopacifico. 1997. p. 165.
- Clouatre, D. L. Kava kava: examining new reports of toxicity. *Toxicology Letters*. 2004. **150** (1): 85-96.
- Bolívar, H.; Betancourt, F. Etnobotánica de las comunidades huaorani en el noroccidente ecuatoriano. *Lyonia. A Journal of ecology and application*. 2006. **10** (2): 7-17.
- Piñeres, J. Plantas medicinales (compendio de farmacología vegetal). Bogotá: Escuela de Medicina. Fundación Universitaria Juan N. Corpas. 1991. pp. 202-207.
- Simposio sobre plantas tóxicas. Especies medicinales utilizadas por las comunidades indígenas embera del Chocó. Herbario Universidad de Antioquia (HUA). 1994. pp. 125-127.
- Parmar, S.; Jain, C.; Bisht, S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O. D.; Prasad, K.; Wengel, J.; Olsen, E.; Boll, M. Phytochemistry of the genus Piper. *Phytochemistry*. 1997. **46** (4): 597-673.
- Portet, B. Recherche Bioguidee de molecules antipaludiques d'une plante guyanaise *Piper hostmannianum* var. *Berbicense*. Ph.D. These. Universite Paul Sabatier Toulouse III. 2007. p. 16.
- Hermoso, A.; Jiménez, A.; Mamani, Z.; Bazzocchi, I.; Piñero, J.; Ravelob, A.; Valladares, B. Antileishmanial Activities of Dihydrochalcones from *Piper elongatum* and Synthetic Related Compounds. Structural Requirements for Activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2003. **11**: 3975-3980.
- Portet, B.; Fabre, N.; Roumy, V.; Gornitzka, H.; Bourdy, G.; Chevalley, S.; Sauvain, M.; Valentin, A.; Moulis, C. Activity-guided isolation of antiplasmodial dihydrochalcones and flavanones from *Piper hostmannianum* var. *Berbicense*. *Phytochemistry*. 2007. **68** (2): 1312-1320.
- Danelutte, A.; Lago, J.; Young, M.; Katoa, M. Antifungal flavanones and prenylated hydroquinones from *Piper crassinervium* Kunth. *Phytochemistry*. 2003. **64**: 555-559.
- Smolarza, H.; Mendyk, E.; Bogucka-Kockaa, A.; Kockic, J. Pinostrobin An Anti-Leukemic Flavonoid from *Polygonum lapathifolium* L. ssp. Z. *Naturforsch*. 2006. **61**: 64-68.
- Steyermark, J. Flora de Venezuela. Piperaceae. Caracas. Venezuela. Instituto Nacional de Parques. Educación Ambiental. 1990. **2**: 440.

14. Trelease, W.; Yuncker, T. The Piperaceae of northern South America. Illinois: University of Illinois Press. 1950. pp. 271-277.
15. Alecio, C.; da Silva, V.; Marx, M. C.; Kato, M.; Furlan, M. Antifungal Amide from leaves of *Piper hispidum*. *Journal Natural Products*. 1998. **61**: 637-639.
16. Jenett-Siems, K.; Mockenhaupt, F.; Bienzle, U.; Gupta, M.; Eich, E. In vitro antiplasmodial activity of Central American medicinal plants. *Tropical Medicine and International Health*. 1999. **4**: 611-615.
17. Cano, A.; Espinoza, M.; Ramos, C.; Delgado, G. New prenylated flavanones from *Esenbeckia berlandieri* ssp *Acapulsensis*. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 2006. **50** (2): 71-75.
18. McLaughlin, J.; Rogers, L.; Anderson, J. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Information Journal*. 1998. **32**: 513-524.
19. Domínguez, X. Métodos de investigación fitoquímica. México: Limusa. 1979. p. 85.
20. Li Ching, A.; Wah, T.; Aspollah Sukari, M.; Cheng, G.; Rahmanil, M.; Khalid, K. Characterization of flavonoid derivatives from *Boesenbergia rotunda* (L.). *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 2007. **11** (1): 154-159.
21. Kamperdick, C.; Hong Van, N.; Van Sung, T. Constituents from *Millettia balansae* (Annonaceae). *Phytochemistry*. 2002. **61** (8): 991-994.
22. Rossi, M.; Yoshida, M.; Maia, J. Neolignans, styrylpyrones and flavonoids from *Aniba* species. *Phytochemistry*. 1997. **45** (6): 1263-1269.
23. Gu, J.; Park, E.; Vigo, J.; Graham, J.; Fong, H.; Pezzuto, J.; Kinghorn, A. Activity-Guided Isolation of Constituents of *Renalmia nicolaioides* with the Potential to Induce the Phase II Enzyme Quinone Reductase. *Journal of Natural Products*. 2002. **65** (11): 1616-1620.
24. Economides, C.; Adam, K-P. Lipophilic flavonoids from the fern *Woodsia scopulina*. *Phytochemistry*. 1998. **49** (3): 859-862.
25. Batt, G.; Goodman, R.; Jones, G.; Kerr, S.; Mantegna, R.; McAllister, C.; Newton, C.; Nurnberg, S.; Welch, K.; Covington, M. B. 2' substituted chalcone derivatives as inhibitors of interleukin-1 biosynthesis. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1993. **36**: 1434-1442.
26. Sukardiman, S.; Darwanto, A.; Tanjung, M.; Oka Darmadi, M. Cytotoxic mechanism of flavonoid from Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*) in cell culture of human mammary carcinoma. *Clinical Hematology and Microcirculation*. 2000. **23**: 185-190.
27. Orjala, J.; Mian, P.; Rali, T.; Sticher, O. Gibbilibols A-D, Cytotoxic and Antibacterial Alkenylphenols from *Piper gibbilibum*. *Journal Natural Products*. 1998. **61**: 939-941.