

# Estudio Químico y Actividad Citotóxica de Compuestos de *Pulicaria burchardii* y *Pulicaria canariensis* ssp. *lanata*

J.Triana<sup>1</sup>, M.López<sup>1</sup>, F.J.Pérez<sup>1</sup>, J.González-Platas<sup>2</sup>, J.F.León<sup>3</sup>, J.C. Hernández<sup>3</sup>, I. Brouard<sup>3</sup>, J. Bermejo<sup>3</sup> y F. Estévez<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Química. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Campus de Tafira. 35017. Las Palmas de Gran Canaria - Gran Canaria - España. <sup>2</sup>Departamento de Física Fundamental. Universidad de La Laguna. <sup>3</sup>Instituto de Productos Naturales y Agrobiología, CSIC-Instituto Universitario de Bio-Organica "Antonio González". <sup>4</sup>Departamento de Bioquímica. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

## 1 Introducción

El género *Pulicaria* (Asteraceae: Inuleae; Inulinae) está representado en las Islas Canarias por tres especies localizadas en las islas más orientales de las que dos son endémicas *P. burchardii* Hutch y *P. canariensis* Bolle, que a su vez presenta dos subespecies *P. canariensis* ssp. *canariensis*, previamente estudiada por nuestro grupo [1], y *P. canariensis* ssp. *lanata* [2].

En el presente trabajo damos a conocer los resultados obtenidos del estudio químico de los extractos etanólicos de las partes aéreas de *P. burchardii* A. Hans. & Sund. ssp. *burchardii* y de *P. canariensis* ssp. *lanata*.

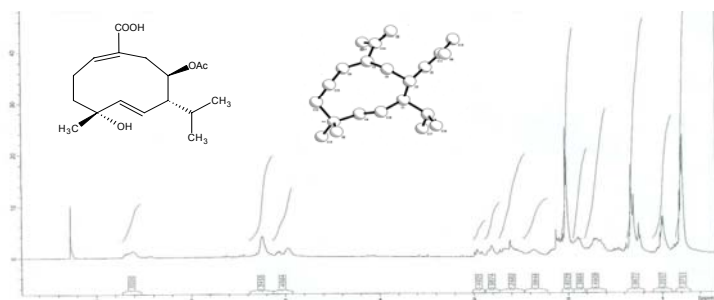


Figura 1) <sup>1</sup>H RMN y Rayos X de (1)

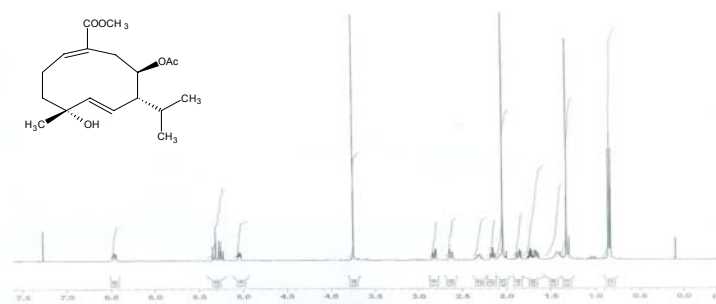


Figura 2) <sup>1</sup>H RMN de (1a) a 70°C

## 2 Resultados y discusión

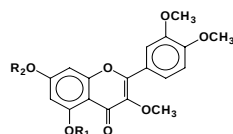
De *P. burchardii* se aislaron siete compuestos incluyendo tres productos aromáticos: vainillina, ácido-4-hidroxibenzóico y escopoletina; los esteroides: estigmasterol y  $\beta$ -sitosterol y dos triterpenos pentacíclicos: 11-oxo- $\alpha$ -amirina y 3 $\beta$ -hidroxitaraxaster-20-en-30-al (A), para el que no habían sido reportado sus datos espectroscópicos por haberse aislado en cantidad de traza [3].

De *P. canariensis* ssp. *lanata*, se obtuvieron once compuestos incluyendo los productos aromáticos: ácido ferúlico y 5,7-dihidroxi-3,3',4'-trimetoxiflavona (B);  $\beta$ -amirina, estigmasterol, 3-palmitato y 3-miristato de 3 $\beta$ ,16 $\beta$ -dihidroxiupeol, 3 $\beta$ ,16 $\beta$ -dihidroxiupeol (calenduladiol), los sesquiterpenos pulicanadienal A y B [1] y pulicanadieno B [1], así como un nuevo ácido sesquiterpénico (1E, 5E)-8 $\beta$ -acetoxi-4 $\alpha$ -hidroxi-7 $\beta$ H-germacra-1(10),5-dien-14-óico (1). Los compuestos conocidos fueron identificados por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los reportados en la bibliografía.

El compuesto (1) se obtuvo como un sólido cristalino, de fórmula molecular  $C_{17}H_{26}O_5Na$  por HRFABMS ( $m/z$  333.1683, calculado 333.1678). Su espectro IR presenta bandas de carbonilo conjugado con doble enlace (1693, 1635  $cm^{-1}$ ) y una banda ancha (3177  $cm^{-1}$ ) característica de grupo carboxílico. Su espectro de <sup>13</sup>C RMN y experimentos DEPT nos muestra señales para un total de diecisiete carbonos, destacando la presencia de ácido carboxílico  $\alpha,\beta$ -insaturado ( $\delta_C$  174.2, 147.6 y 145.7), además de la señal de un metino oxigenado ( $\delta_C$  70.1) y un grupo acetilo ( $\delta_C$  21.0 y 170.6). Su espectro de <sup>1</sup>H RMN (figura I) exhibe las señales de un protón de metino oxigenado con acetato  $\delta_H$  4.99 (s br); un grupo isopropilo a  $\delta_H$  0.83 (d, J=6.6) y 0.81 (d, J=6.8); un metilo sobre un carbono portador de un grupo hidroxílico terciario  $\delta_H$  1.35 (s); tres protones olefinicos, uno de ellos a  $\delta_H$  6.63 (m) cuyo desplazamiento a campo bajo nos confirma la presencia de conjugación en la molécula, permitiéndonos ubicar el grupo  $\alpha,\beta$  insaturado sobre C-14 y el doble enlace entre C-1 y C-10, estando los dos restantes como un multiplete a  $\delta_H$  5.23; observándose también la señal de un metilo de un grupo acetilo a  $\delta_H$  2.05. La metilación de (1) produjo (1a) en cuyo espectro de <sup>1</sup>H RMN (figura II) destacamos la presencia de un singlete a  $\delta_H$  3.73 (s,3H) que confirma la estructura de ácido carboxílico. El espectro de IR de (1a) sigue mostrando una banda de absorción característica de grupo hidroxilo, por lo que teniendo en cuenta la metilación del grupo carboxílico, la existencia de un grupo acetilo y que no da reacción al acetilar, concluimos que la estructura debe poseer un hidroxilo terciario. La estereoquímica relativa de C-15 se estableció mediante experimentos NOESY donde, como en el caso de Pulicanadienal B [1], se detectan correlaciones entre CH<sub>3</sub>-15, H-7 y H-5. La estereoquímica absoluta del compuesto (1) fue confirmada por análisis de difracción de rayos X (figura I), resultando ser el ácido (1E, 5E)-8 $\beta$ -acetoxi-4 $\alpha$ -hidroxi-7 $\beta$ H-germacra-1(10),5-dien-14-óico, el cual no hemos encontrado descrito en la bibliografía consultada.

## 3 Ensayos biológicos

Se estudió el efecto de los compuestos (A), (1) y los flavonoides (B), (C), (D), (E) y (F) sobre la viabilidad y el crecimiento de células leucémicas humanas HL-60 en cultivo utilizando el ensayo del MTT [4]. Nuestros resultados ponen de manifiesto que todos estos compuestos son débilmente citotóxicos frente a esta línea celular. Los flavonoides presentaron menores valores de  $CI_{50}$  que el resto de los compuestos (Tabla 1).



(B)  $R_1=R_2=H$   
(C)  $R_1=H$ ;  $R_2=Ac$   
(D)  $R_1=Ac$ ;  $R_2=Ac$   
(E)  $R_1=H$ ;  $R_2=Me$   
(F)  $R_1=Ac$ ;  $R_2=Me$

Tabla 1 Efectos de los compuestos obtenidos y sus derivados sobre la viabilidad de las células tumorales humanas.

| Línea celular | $CI_{50}$ ( $\mu M$ ) |      |     |     |     |         |
|---------------|-----------------------|------|-----|-----|-----|---------|
|               | (1)                   | (A)  | (B) | (C) | (D) | (E) (F) |
| HL - 60       | >100                  | >100 | 38  | 30  | 20  | 26 39   |

## 4 Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por el Ministerio de Educación y Ciencia, la Fundación de Desarrollo Regional Europea (SAF2007-62536) y el Instituto Canario de Investigación del Cáncer (RED PROD NAT CANCER).

## 5 Referencias

- Triana, J.; López, M.; Pérez, F. J.; González-Platas, J.; Quintana, J.; Estévez, F.; León, F.; Bermejo, J. "Sesquiterpenoids from *Pulicaria canariensis* and their cytotoxic activities". J. Nat. Prod. 2005. 68, 523.
- Bramwell, D.; Bramwell, Z. I. "Flores silvestres de las Islas Canarias". 2001. Rueda S.L. Ed. Madrid
- Shiojima, K.; Suzuki, H.; Kodera, N.; Ageta, H.; Chang, H.-C.; Chen, Y.-P. "Composite constituents: thirty-nine triterpenoids including two novel compounds from *Ilex chinensis*". Chem. & Pharm. Bull. 1996. 44, 509.
- Rubio, S. Quintana, J. López, M. Eiroa, J.L. Triana, J. Estévez, F. "Phenylbenzopyrones structure-activity studies identify betuletol derivatives as potential antitumoral agents". Eur. J. Pharmacol. 2006. 548, 9.