

DEPARTAMENTO DE FARMACOGNOSIA Y FARMACODINAMIA
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE VALENCIA

ESTUDIO DE LA FRACCION GLUCIDICA DE LA SEMILLA DE ANNONA CHERIMOLIA MILL

A. VILLAR DEL FRESNO y J. L. RÍOS CAÑAVATE

RESUMEN

De la fracción etanólica de la semilla de chirimoyo (*Annona cherimolia* Mill.) se han aislado dos glúcidos. El primero ha sido identificado como SACAROSA y el segundo como el 3-CLUCOSIDO del β -SITOSTEROL.

ABSTRACT

We have isolated two glucidic compounds from *Annona cherimolia* defatted seed. The first one was identified as Sucrose and the second as β -sitosterol-3-glucoside.

INTRODUCCION

La fracción glucídica de diversas especies de la familia Annonáceas ha sido estudiada por diversos autores, habiéndose investigado preferentemente los azúcares de frutos (1, 2, 3, 4, 5) por ser varias de ellas especies comestibles, otros han analizado las hojas (6) y, finalmente, algunos han estudiado las semillas (5, 7).

Bhojraj y Achaya (6) en un análisis comparativo ente *Annona squamosa* y *A. reticulata* determinan la riqueza glucídica de semillas de ambas especies en un 17,1 y 17,5 por 100, respectivamente. Mannino y Amelotti (5) estudian la semilla de *Annona cherimolia* expresando los glúcidos hidrolizables en un 13,1 por 100 respecto

a semilla seca, no habiendo identificado estos autores ninguno de los componentes.

En el presente trabajo se pretende llegar a la identificación de los glúcidos mayoritarios de la fracción etalónica.

EXPERIMENTAL

En un estudio preliminar se ha detectado la presencia de glúcidos en el extracto etanólico de la semilla (8). Las semillas procedentes de frutos maduros comprados en Almuñécar (Granada) fueron desecados en armario de aire caliente (40-45° C) y posteriormente trituradas en un molino de martillos (tamiz 6 mm. a 280 r.p.m.). Los 14 Kg. de polvo se 50-70° en un extractor tipo soxhlet. Posteriormente el marco (10 Kg.) fue agotado con etanol de 96°. Los líquidos extractivos fueron concentrados a presión reducida hasta masa siruposa (300 g.). Por refrigeración del extracto aparecen unos cristales que fueron recogidos y lavados con etanol (insolubles) y posteriormente disueltos en agua (soluble). Este compuesto fue cristalizado en agua con un 10 por 100 de etanol, obteniendo el compuesto denominado «sustancia-I» (15 g.).

El resto del extracto fue posteriormente cromatografiado en columna de silicagel, eluyendo con mezclas de cloroformo/metanol de polaridad creciente. Las primeras fracciones obtenidas contienen compuestos alcaloídicos que han sido objeto de un primer trabajo (8). La fracción VIII eluída con cloroformo/metanol 50:50 tras ser concentrada se redisolvió en metanol caliente, precipitando al enfriar un compuesto blanco no cristalino de naturaleza glucídica al cual llamamos «sustancia-II» (50 mg.).

De la fracción I se obtuvo un compuesto cristalino identificado en un trabajo anterior como β sitosterol (9).

MATERIAL Y METODOS

El estudio e identificación de los compuestos se hizo por espectroscopía y CCF en las siguientes condiciones y aparatos.

El punto de fusión (sin corregir) se ha realizado en un aparato tipo Kofler «Reichert Thermovar», el espectro IR en un «Perkin-Elmer» 577 en película de Br_3CH y solución clorofórmica. El espectro UV se efectuó en un «Pye-Unicam» SP-8-100 de doble haz,

y los ^1H -RMN en un «Varian» EM-390 de 90 MHz en Cl_3CD y con TMS como patrón interno (derivado acetilado). El EM se realizó en un «Hitachi Perkin-Elmer» de media resolución, 75 eV, temperatura de cámara a 180°C .

Los estudios cromatográficos en capa fina se hicieron sobre silicagel G 60 y Celulosa «Avicel» (E. Merck), como fases móviles metanol/ácido acético/éter etílico/agua 9:6:3:1, ácido fórmico/butanona/ter-butanol/agua 15:30:40:15. Como detectores se han empleado el reactivo universal «Oleum» ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{Ac. acético/agua}$), reactivo de Molisch (α -naftol/ H_2SO_4) y $\text{AgNO}_3/\text{NaOH}$ para celulosa.

La cromatografía en columna se ha desarrollado sobre silicagel 60 «E. Merck» (0,063-0,200 mm.) y eluída con mezclas de polaridad creciente de Cl_3CH y CH_3OH 95:5, 90:10, 75:25 y 50:50 y, finalmente, con metanol.

RESULTADOS Y DISCUSION

ESTUDIO DE LA «SUSTANCIA-I»

Compuesto cristalino de sabor muy dulce, insoluble en disolventes orgánicos y etanol, soluble en agua. Este compuesto se encuentra en una riqueza del 0,11 por 100 en semilla desecada y en un 3 por 100 en el extracto etanólico. Su punto de fusión sin corregir es de 170°C . Tras el estudio cromatográfico en capa fina de la «sustancia-I», fue identificada como el disacárido SACAROSA. Por hidrólisis en medio ácido y posterior estudio cromatográfico con distintos patrones de monosacáridos, se han identificado los azúcares Fructosa y Glucosa. El punto de fusión mixto del compuesto más el patrón sacarosa no presenta depresión. El estudio cromatográfico de la «sustancia-I» y su hidrolizado con patrones internos de sacarosa, glucosa y fructosa presentan una única mancha, respectivamente, para cada uno en diferentes fases móviles y soportes.

ESTUDIO DE LA «SUSTANCIA-II»

Obtenido en una cantidad de 50 mg. a partir de la fracción VIII, fue purificado por precipitación con metanol frío, siendo soluble en caliente. Insoluble en disolventes apolares y agua, es soluble en piridina y metanol caliente.

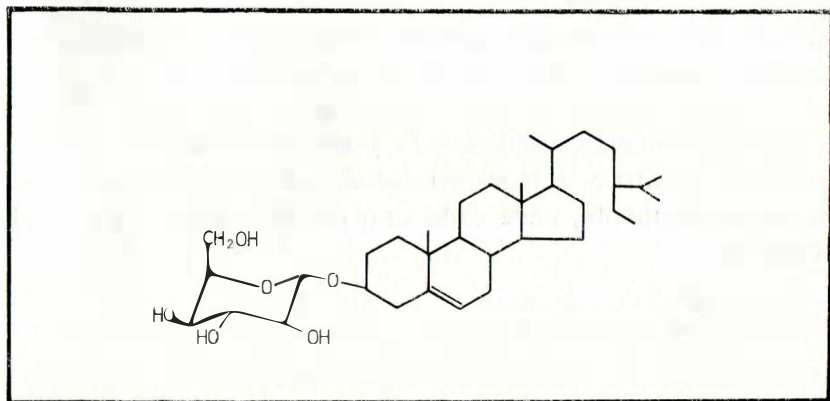
El hidrolizado presenta dos sustancias de distinta polaridad. La «II-1» muy soluble en agua da positiva las reacciones de azúcares, mientras que la «II-2» es un componente apolar que da positiva las reacciones de esteroides.

El espectro IR de la «sustancia-I» presenta una intensa banda de OH libres. En el $^1\text{H-RMN}$ del derivado acetilado se aprecian cuatro singletes de acetilo (16 H, 4 $\text{CH}_3\text{-CO}$) a 2.00, 2.03, 2.06 y 2.10 p.p.m. correspondientes a los acetilos de los 4 OH libres de la cadena azucarada, por lo que se supone que se trata de un monosacárido.

El EM de la genina («II-2») presenta un pico molecular $M^+ = 414$ con fraccionamiento de una cadena lateral $m/e = 141$, quedando el esqueleto esteroide $m/e = 273$. Estos datos se confirman por $^1\text{H-RMN}$, apareciendo singletes a 0.70 (3H, $\text{CH}_3\text{-18}$) y 1.00 (3H, $\text{CH}_3\text{-19}$) correspondientes a los metilos del esteroide. Doblete a 0.80-0.86 p.p.m. asignables a 9 H ($\text{CH}_3\text{-21}$, $\text{CH}_3\text{-26}$ y $\text{CH}_3\text{-27}$) de los metilos de la cadena lateral, finalmente un triplete de 3 H a 0.79-0.87-0.96 del $\text{CH}_3\text{-29}$ de la misma.

De los datos EM sabemos que se trata de un esteroide insaturado ($m/e = 273$ en vez de 275), insaturación localizada en el carbono 5, apareciendo el H del carbono 6 a 5.35 p.p.m.

A la vista de estos datos se puede postular que la genina se trata del esteroide β -sitosterol, ya aislado en forma libre en un trabajo anterior (9).



3-O-glucósido del β -sitosterol

La confirmación de la genina se hizo por comparación de los datos espectrales de la genina (II-2) con los del patrón β -sitosterol.

El azúcar fue identificado mediante estudio cromatográfico sobre silicagel y celulosa con distintos patrones de monosacáridos, identificándose como glucosa, no presentando más que una única mancha cromatográfica cuando se mezclan el azúcar (II-1) más glucosa.

DATOS ESPECTRALES DE LA GENINA II-2

p.f. = 142° C. *Espectro IR* (cm^{-1}) en C_1_3CH : 3620 (OH secundario), 2940, 2860, 1470, 1380, 1265, 1100, 1045, 1020, 1010, 960, 860, 735 y 690. *Espectro $^1\text{H-RMN}$* (C_1_3CD y TMS como patrón interno): 0.70 s (3H, CH_3 -18), 1.00 s (3H, CH_3 -19), 0.80-0.86 d (9H, CH_3 -31, CH_3 -26 y CH_3 -27), 0.79-0.87-0.96 t (3H, CH_3 -29) y 5.35 (1H, H olefínico, C-6). *Espectro de Masas*: M^+ = 414, m/e = 396 ($-\text{H}_2\text{O}$), 382, 367, 351, 329, 314, 303, 296, 273 (-141, cadena lateral), 255, 231, 213, 199, 187, 159 pico base, 145, 133, 121, 107, 95, 81, 69, 55, 43 y 32.

DATOS ESPECTRALES DEL HETERÓSIDO ACETILADO

Se obtienen valores similares, tan sólo se aprecia la desaparición de la banda de OH (3620 cm^{-1}) en el espectro IR, apareciendo una de acetilo (1740 cm^{-1}). En el espectro $^1\text{H-RMN}$ se aprecian las señales de 4 CH_3 de acetilo a 2.00, 2.03, 2.06 y 2.10 p.p.m. (4s, 12 H, 4 $\text{CH}_3\text{-COO}$). También aparecen las señales correspondientes a H geminales a 0 del azúcar a 5.16, 2.06, 4.97, 4.65, 4.18 y 3.67 p.p.m. m (6 H, H gem 0 de C-3 del esteroide, C-1, C-2, C-3, C-4, C-5 y 2 H del C-6, todos ellos de la molécula glucídica). Finalmente aparece a 5.35 p.p.m. una señal de protón olefínico.

El espectro de masas es similar al de la genina, no apareciendo el pico molecular, sino el correspondiente a la pérdida de la molécula de azúcar, m/e = 396 como pico base, siendo el resto del espectro muy similar, variando tan sólo en la intensidad de los mismos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—VINICK, L.: «The composition of some tropical and subtropical fruit in Palestine.» *Yadeoth, Proc. Agr. Expt. Sta.*, 4, 65 (1938). A través de *Chem. Abstr.*, 40, 7438² (1946).

- 2.—PAMPLONA, M.: «Contribuição para o estudo químico-bromatológico do fruto de *Annona squamosa* L.», *Anais Fac. Farm., Univ. Recife*, 5, 61 (1961)
- 3.—GORGLIANO, A. y col.: «Sulla composizione della polpa e dei semi dell'*Annona cherimolia* Mill.». *Atti. Sci. Peloritana Sci. Fis. Mat. Natur.*, 14, 121 (1968).
- 4.—HARVEY-CHAN, T.; CURTIS-LEE, W. Q.: «Identification and determination of sugars in soursop, rose apple, mountain apple and Surinam cherry». *J. Food S*
- 5.—MANNINO, S.; AMELOTI, G.: «Caratteristiche e composizione chimica del frutto di una specie de *Annona* (*Annona cherimolia*)». *La Rivista italiana della sostanze grasse*, 51, 111 (1974).
- 6.—MACKIE, A.; CHATGE, N.: «Leaves of *Annona senegalensis*. II. Carbohydrates, glucosides, proteins, amino acids and sterols.» *J. Sci. Food Agr.*, 9, 88 (1958).
- 7.—BH OJRAJ NAIDU, M.; ACHAYA, K. T.: «*Annona squamosa* (sitaphal) seed, I. Comparison with *Annona reticulata* (ramphal); analysis of cake and oil composition». *J. Indian Chem. Soc.*, 14, 53 (1951).
- 8.—VILLAR, A.; RÍOS, J. L.: «The alkaloids of *Annona cherimolia* seed». Pendiente de publicación.
- 9.—VILLAR, A.; RÍOS, J. L.: «Estudio fitoquímico de la semilla de chirimoyo (*Annona cherimolia* Mill.)». *Pharm. Med.*, 13, 583 (1982).