

COMPOSICIÓN MINERALÓGICA Y QUÍMICA DE LAS ARCILLAS EMPLEADAS PARA CERÁMICA ROJA EN LAS ZONAS DE MEDELLÍN, ITAGÜÍ Y AMAGÁ

por

L. Duitama, C. Espitia, J. Mojica, J. Quintero & F. Romero*

Resumen

L. Duitama, C. Espitia, J. Mojica, J. Quintero & F. Romero: Composición mineralógica y química de las arcillas empleadas para cerámica roja en las zonas de Medellín, Itagüí y Amagá. Rev. Acad. Colomb. Cienc. **28** (109): 555-563, 2004. ISSN: 0370-3908.

Mediante un estudio sistemático se caracterizaron los materiales arcillosos provenientes de la formación Amagá (Ts) y del Stock de Alta vista (Itagüí y Medellín) en el Departamento de Antioquia (Colombia). Ello permitió identificar las zonas con mejores calidades para el suministro de materias primas para la industria de cerámica roja en su área de influencia. Para cada zona se describen las características geológicas, y se determina la composición química y mineralógica; además, se desarrollaron pruebas específicas para establecer la aptitud cerámica de estos recursos naturales. Las muestras presentan contenidos de álcalis superiores al 0,2% lo cual podría bajar la calidad de los productos terminados.

Palabras clave: arcilla, materias primas cerámicas, Antioquia, Colombia.

Abstract

A systematic study to characterize the clay materials coming from the Amaga (Ts) formation and the Stock of AltaVista (Itagui and Medellin) of the Department of Antioquia (Colombia) was developed, with the purpose of identifying the areas with better qualities for the supply of raw materials for the red ceramic industry in the influence area.

In each sample zone the geological characteristics were determined, together with the chemical and mineralogical composition, also specify tests were developed to know the ceramic attitude of these natural resources.

The samples present contents of alkalis greater than 0,2% which could decrease the quality of finished products.

Key words: clay, ceramic raw materials, brick clay, Antioquia, Colombia.

* Área Recursos del Subsuelo. INGEOMINAS. Diag. 53 No. 34-53. Bogotá-Colombia. E-mail: lduitama@ingeomin.gov.co

1. Introducción

En el año 2002 el proyecto Investigación en utilización y procesamiento de rocas, minerales y carbones de INGEOMINAS, dio inicio a un trabajo sobre caracterización mineralógica, química y determinación de algunas propiedades físicas de los materiales arcillosos que explotan las industrias ladrilleras ubicadas en la ciudad de Medellín y sus alrededores para fabricar ladrillos, tejas y tubos y de este modo suplir la demanda de estos productos en su zona de influencia.

El objetivo de esta investigación se centró principalmente en estudiar y caracterizar las unidades geológicas y zonas favorables de arcillas para uso en cerámica roja, sin desconocer otros posibles usos, con el fin de predecir, desde el yacimiento, los problemas que puede originar en los procesos de elaboración de las piezas, la presencia o no de componentes indeseables, o explicar a través de la materia prima los acabados o defectos que puedan presentar.

La metodología general para la realización de esta investigación se resume a continuación:

- Validación de las técnicas analíticas empleadas para determinar la composición química de las muestras. Con el fin de garantizar el control estricto de los métodos aplicados en la evaluación de los yacimientos muestreados se evaluó la sensibilidad, límite de detección, precisión y exactitud de cada uno de los métodos químicos aplicados en la caracterización de las arcillas.
 - Ensayos de caracterización de las muestras: clasificación granulométrica, análisis químicos por absorción atómica, análisis mineralógico por difracción de rayos X, medidas de plasticidad por el método de los límites de Atterberg, contracción en crudo y en quema, determinación del color en crudo y en quema por medio de la construcción y cocción de probetas a 1.000°C en horno eléctrico.
 - Análisis e interpretación de resultados. Se hizo una correlación de los datos obtenidos con el fin de establecer si la composición química, mineralógica y las propiedades físicas medidas correspondían a los requerimientos del tipo de arcillas que exige la industria de cerámica roja a nivel nacional e internacional; en aquellos casos en los cuales no cumplía, se estableció sobre cuales elementos presenta déficit con el fin de recomendar la mezcla con otros componentes minerales y de este modo lograr la pasta óptima para este tipo de piezas.
 - Con base en los datos de análisis químico y mineralógico por DRX se calculó el análisis próximo mineralógico.
 - Elaboración del informe.
- Recopilación de información bibliográfica (revisión de mapa geológico de Antioquia y las planchas 146 Medellín occidental y 147 Amagá, informes internos de INGEOMINAS, revisión de técnicas analíticas para determinar composición química y mineralógica de las muestras), consulta de otras fuentes de información como Ladrilleras Unidas de Antioquia (LUNSA) con el fin de establecer los puntos donde sus asociados obtienen las materias primas y entrevista directa con algunos explotadores para conocer la evolución de dicha industria y los problemas que han identificado en sus productos.
 - Establecimiento de criterios y selección de las unidades geológicas favorables para hacer la toma de muestras.
 - Reconocimiento en campo de las unidades geológicas con el fin de determinar los diferentes estratos o niveles arcillosos, su continuidad lateral, espesor y la presencia de intercalaciones de material arcilloso, limoso o arenoso junto con su potencialidad, grado de cementación y consistencia.
 - Toma de muestras. El muestreo se hizo abriendo canales de 10cmx20cmx10cm perpendiculares a los estratos, con una recolección total del material extraído del canal y mediante roleos y cuarteos sucesivos se obtuvieron muestras de 3 y 4 Kg.

2. Ubicación geográfica del área de estudio

En el departamento de Antioquia se encuentran ubicadas 45 ladrilleras de las cuales el 95,5% se hallan en operación (ANFALIT, 2002); su producción anual asciende a 494.112 toneladas. Los tipos de industria pueden catalogarse desde artesanales hasta altamente mecanizadas (Tabla 1).

Tabla 1. Tipo de industrias ladrilleras

Tipo industria	Número	Porcentaje
Grande	10	22,2
Mediana	15	33,3
Pequeña	6	13,3
Chircal	14	31,2

Fuente: ANFALIT (2002).

La arcilla que se usa como materia prima para la fabricación de los ladrillos y las tejas provienen del sector occidental de la ciudad de Medellín (Belén Altavista y Aguas Frías), sector suroccidental del Valle de Aburrá (municipio de Itagüí) y del municipio de Amagá.

El área de estudio comprende parte de la denominada “Área metropolitana de Medellín” y la zona suburbana del municipio de Amagá (Figura 1). Se encuentra enmarcada dentro de las coordenadas geográficas X=1.160.000 a 1.195.000 y Y=810.000 a 840.000, su extensión aproximada es de 350 km².

Se analizaron 40 muestras tomadas en 19 estaciones de trabajo, las cuales corresponden a dos unidades geológicas y se distribuyen así: 14 de la Formación Amagá, 13 suelos residuales del Stock de Altavista en el área nororiental de Itagüí y 13 suelos residuales del Stock de Altavista en el área noroccidental de Medellín. La mayoría de estas muestras fueron tomadas en las zonas de explotación activas para producción de materiales de construcción (Figura 2).

3. Unidades geológicas favorables para arcillas de uso en cerámica roja

Las descripción de las unidades geológicas se basa en la cartografía de las planchas 146 Medellín occidental y 147 Amagá (INGEOMINAS, 1983). Cronológicamente estos materiales se ubican desde el paleozoico hasta el cuaternario, secuencia que se relaciona con los distintos paisajes fisiográficos que se encuentran en el área.

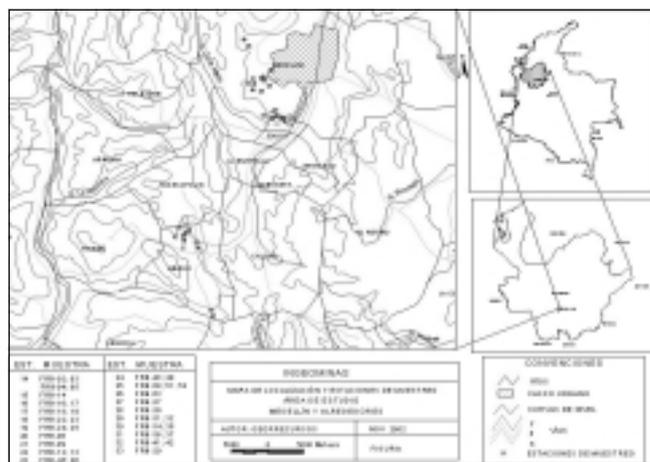


Figura 1. Área de estudio y localización de las estaciones de muestreo.

3.1 Formación Amagá (Ts)

Este es un depósito de arcillas secundarias o transportadas, que se han acumulado con otros sedimentos en el llamado Terciario Carbonífero de Antioquia. El área fue estudiada en detalle por **Grosse E.**, quien en 1926 denominó Terciario Carbonífero de Antioquia al conjunto de estratos concordantes compuestos por sedimentos que afloran en la región de Amagá.

El nombre proviene de la población de Amagá, se extiende a lo largo de una franja de dirección NNW en el departamento de Antioquia. **Grosse E.** (1926) la dividió en tres pisos, que posteriormente **González** (1976), denominó Formación Amagá.

La unidad consta de rocas sedimentarias en una secuencia que va desde conglomerados hasta arcillolitas con intercalación de mantos de carbón; dividida según sus variaciones composicionales en tres miembros:

Miembro Inferior (200 m de espesor). Expuesto en Titiribí y el margen derecho de la Falla de Amagá, compuesto por conglomerados polimícticos, areniscas cuarzosas con matriz caolinítica, lodositas carbonosas y mantos delgados de carbón con espesores inferiores a 70 cm.

Los conglomerados de este miembro presentan gran variación en el tamaño de los clastos que lo constituyen, con diámetros de partículas entre 0,2 y 10 cm, embebidos en una matriz limoarcillosa, sus niveles pocas veces superan los 6 metros; las areniscas son por lo general de grano grueso, de cuarzo, con cemento a menudo

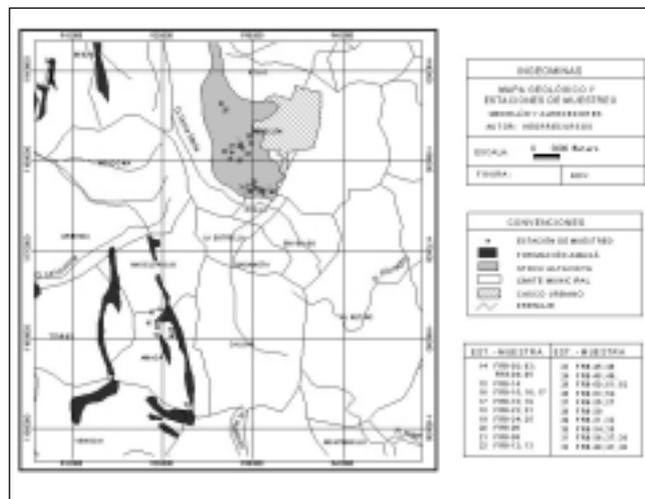


Figura 2. Unidades geológicas favorables arcillas de uso en cerámica roja.

caolinítico que le da un color blanco y gris, con espesores de 1 a 100 metros.

Miembro Medio (200 a 250 m de espesor). Contiene los mantos de carbón económicamente explotables, este miembro carece de los niveles conglomeráticos antes mencionados ofreciendo un mayor espesor de las capas de lodolitas, arcillolitas carbonosas y arcillas pizarrosas de color gris y presenta niveles de areniscas, concreciones arenosas con matriz siderítica. Aflora al norte de Amagá y al este de Titiribí.

Miembro Superior (1.000 m de espesor). Aflora en Amagá en la quebrada Gualí y está constituido por areniscas bien cementadas de color crema, arcillas fisiles, gris verdosas y ocres y localmente bancos delgados de conglomerados y carbón.

3.2 Stock de Altavista (Kida)

Este plutón fue descrito parcialmente en 1933 en la quebrada Altavista, al occidente de Medellín. **Botero** (1963) denominó así a un cuerpo intrusivo de composición diorítica que aflora al oeste de Medellín. La composición varía entre diorítica a monzonítica con facies aplíticas en los bordes. Dicha roca es leucocrática con fenocristales de plagioclasa zonada, cuarzo y ortosa en una matriz de igual composición. **Restrepo & Toussaint** (1984) concluyen que se trata de un plutón hipoabisal emplazado muy cerca de la superficie y con amplia diferenciación en una cámara magmática; mientras que para **Rodríguez & Montoya**, (1993) la diferenciación es debida a la formación de un cuerpo en al menos dos pulsos magmáticos reconocibles en tiempo, el espacio y composición, estando el primer pulso emplazado cerca de la superficie y el segundo a mayor profundidad.

El cuerpo plutónico que aflora en la margen occidental del Valle de Aburrá, ocupa un área de 85 km²; presenta gran variedad petrográfica ya que existen rocas desde gabros, dioritas, tonalitas hasta rocas con matriz afanítica de composición andesítica, que son las que parecen predominar.

4. Composición química, y mineralógica y algunas propiedades físicas determinadas en las unidades estudiadas

Se tomaron 40 muestras de material arcilloso, las cuales fueron sometidas a ensayos de caracterización en los laboratorios de de la Subdirección de ensayos y Servicios Tecnológicos de INGEOMINAS. Estos ensayos permiten aproximarse al comportamiento o aptitud de uso para su empleo en cerámica roja y fueron los siguientes:

Determinación de la composición química. Los análisis químicos se realizaron en muestras representativas de cada punto de muestreo molidas a malla -100; fueron disueltas mediante ataque con HF del 40% por 8 horas y una hora al baño María, seguido por dilución con solución saturada de H₃BO₃ la cual contenía 2.000 ppm de CsCl. La solución resultante fue analizada por AA en el equipo PERKIN EILMER 3.110; a cada una se le determinaron los contenidos de SiO₂, Al₂O₃, Fe₂O₃, CaO, MgO, Na₂O, K₂O, TiO₂, MnO₂, humedad residual y pérdida por calcinación a 1.000°C. Como pruebas adicionales se determinaron el pH en pasta saturada y la conductividad, esta última con el objeto de conocer los contenidos de sales solubles los cuales están ligados directamente con esta propiedad.

1. Determinación de la composición mineralógica.

La composición mineralógica de las muestras se hizo mediante difracción de rayos-x de polvo en muestras desorientadas y la determinación de los grupos de minerales arcillosos, mediante esta misma técnica sobre muestras orientadas, secadas al aire en rutina normal, solvatación con etilenglicol y posterior calentamiento a 500°C. Se empleo un difractómetro de rayos-x de polvo (marca RIGAKU modelo RINT 2200), rango de medición de muestras desorientadas entre 2 y 70 grados a 2θ; con velocidad de escaneo de 5 grados por minuto; y el rango de medición usado para las muestras orientadas fue de 2 a 20 grados a 2θ, velocidad de escaneo 1 grado por minuto; 40kV, 30mA.

Plasticidad. Para determinar esta propiedad se utilizó el método indirecto o método de Atterberg, siguiendo la norma ASTM D 4318, en la cual se considera una pasta de arcilla y agua que se seca progresivamente pasando del estado líquido al plástico y finalmente al sólido. Los valores que se determinaron con este método fueron: el límite líquido, límite plástico, índice de plasticidad, límite de contracción o retracción. Los datos obtenidos se representan en el Diagrama de Casagrande.

Contracción en crudo y en quema. Determinando la variación de una de las dimensiones de un ladrillo elaborado con la mezcla de arcilla y agua y siguiendo el método descrito en la norma ASTM C-326 se hizo la determinación de esta propiedad. A partir del material pulverizado se construyeron ladrillos (largo 10,5 cm, ancho 4,5 alto 2,3 cm), los cuales fueron secados a 110°C en una estufa de laboratorio hasta llevarlas a una temperatura de 1.000°C, con un tiempo de permanencia de 60 minutos, una vez cocidos los ladrillos, se midió la longitud final de estos y se determinó la contracción lineal que presentaban, el color y la textura de la pieza cocida.

5. Resultados y discusión

La composición química encontrada para cada unidad arcillosa fue comparada con la establecida como ideal para uso directo en diferentes aplicaciones cerámicas como alfarería común, tubería de gres, (Tabla 2); los resultados de los análisis granulométricos localizados en el diagrama de aptitudes de **Winkler** (1954) para establecer la aptitud o no del mineral para uso en cerámica se combinaron con los datos extractados del Diagrama de Casagrande y la evaluación física de los ladrillos cocidos con las arcillas analizadas para finalmente establecer la aptitud cerámica de dichos materiales.

Además, la arcilla debe tener un bajo contenido de material orgánico para que en el proceso de la cocción no queden espacios vacíos por el consumo de este material (**Alvarado**, 2002).

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada unidad geológica:

Formación Amagá (Ts)

En las Figuras 3 y 4 se presentan las composiciones químicas y mineralógicas características de la Formación Amagá.

Se observa que los contenidos de sílice varían entre 50 y 66% y de óxido de aluminio entre 12 y 30%; si se toman como referencia los valores registrados para estos óxidos en la Tabla 2, nueve de las muestras de esta formación presentan contenidos de sílice adecuados para ser empleadas como materia prima para alfarería común; sin embargo, solo tres cumplen con el tenor de Al_2O_3 requerido. Las muestras FRB 03 y FRB 05 cumplen con los requisitos composicionales para ser empleadas directamente en alfarería.

Tabla 2. Composición química para diferentes aplicaciones cerámicas

Tipo industria	Alfarería común	Tubería de gres
SiO ₂	57,7 a 63,1	
Al ₂ O ₃	27,1-21,6	20,5-9,1
Fe ₂ O ₃	6,1-3,0	0,2-1,1
TiO ₂		0,1-1,8
CaO	5,6-0,4	
MgO	0,1-0,5	0-0,3
K ₂ O	2-2,0	
Na ₂ O	0,2-2,0	0,3-2,0
Álcalis y ácidos	= 0,2	

Fuentes: **Rodríguez A** (1998), **Alvarado** (2002).

La muestra FRB 14 requerirá ser mezclada con arcillas más plásticas para poder ser utilizada como pasta cerámica (el contenido de Al_2O_3 está por debajo del rango óptimo).

El contenido de álcalis total es de 2,9%.

La muestra FRB 18 muestra un pH básico (8,1) y una conductividad alta (428 μ s) sugiriendo que existe un proceso de hidrólisis básica y alta actividad iónica en este punto de la Formación.

Los valores de conductividad encontrados en esta formación (61 a 872 μ s) están relacionados con el contenido

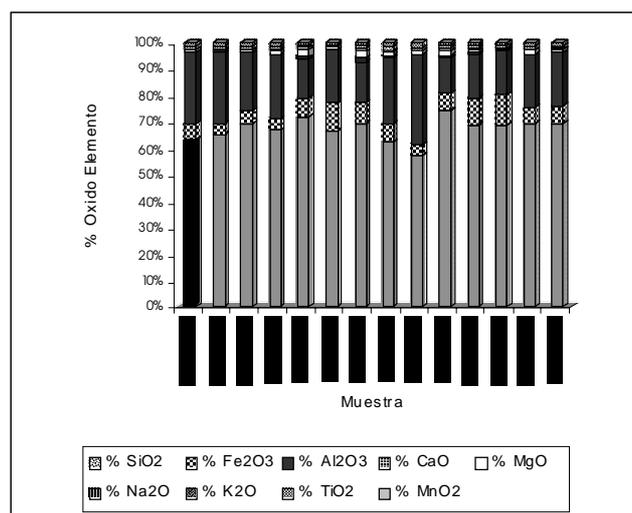


Figura 3. Composición química F. Amagá.

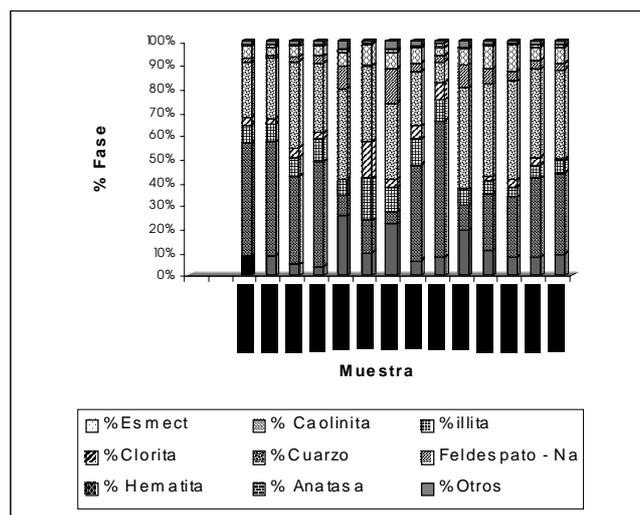


Figura 4. Composición mineralógica F. Amagá.

de sales, lo que corrobora la predisposición de esta materia prima a producir eflorescencias en las piezas terminadas.

Según los resultados del análisis próximo mineralógico (correlación entre el análisis químico y mineralógico), predominan cuarzo y caolinita; la proporción de minerales arcillosos para esta Formación es caolinita > esmectita > illita > clorita. Los contenidos de feldespatos son variables, desde 0,4 a 13,5%, los de hierro como hematita están en los rangos de 3,3 a 10,3. Las arcillas con capas intrestratificadas mas comunes son Illita-clorita.

Las muestras que presentaron valores altos de Al_2O_3 y de caolinita, en la fracción arcillosa, muestran mayor plasticidad (muestras FRB 17 y 18).

La gráfica de los datos obtenidos para los límites líquido y plástico de cada muestra en el diagrama de Casagrande, permite visualizar como 6 de las 14 muestras analizadas en esta Formación se sitúan en la zona correspondiente a mediana plasticidad, una de ellas (FRB15) no presenta comportamiento plástico y el resto se ubican en la zona de baja plasticidad (Figura 5).

En cuatro de las muestras donde el contenido de caolinitas es menor al 10%, se podría esperar disminución en la plasticidad pero la presencia de esmectitas en porcentajes altos contrarresta dicho efecto (muestras FRB 14,16, 19 y 22).

Cuatro de las 14 muestras analizadas, presentaron color rosado claro después de ser cocidas a $1.000^{\circ}C$, lo cual puede deberse a su bajo contenido de hierro, las otras obtuvieron colores que van desde tonalidades amarillas rojizas a café claros; el porcentaje de contracción presentado en los ladrillos fue bajo, lo que puede atribuirse a la presencia de caolinita y de sílice en proporciones apreciables.

Stock Altavista Itagüí.

En las figuras 6 y 7 se muestran las composiciones químicas y mineralógicas

Características del Stock Altavista.

De las 13 muestras analizadas para esta unidad, en general se puede ver que el nivel de Al_2O_3 esta en el rango recomendado para alfarería común, pero el nivel de sílice es bajo; la muestra FRB 41 es la que presenta contenidos ideales para ser usada en alfarería. La mayoría de las muestras presentan pH ligeramente ácido (de 4,9 a 6,4) y valores de conductividad baja ($< 100 \mu s$), lo cual podría significar que estos materiales son proclives a una baja hidrólisis, lo que admite suponer poca actividad química en las rocas.

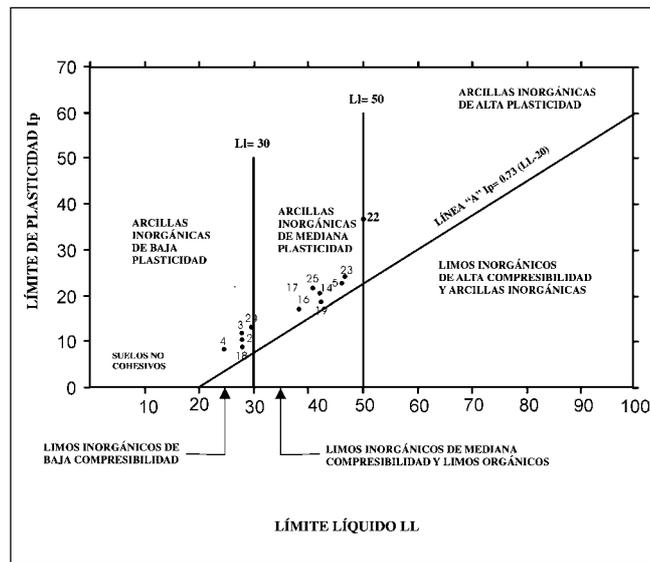


Figura 5. Diagrama de Casagrande F. Amagá.

Las trece muestras analizadas presentan como mineral predominante caolinita, seguido de illita; 4 de las muestras son ricas en esmectitas y presentan como mineral accesorio clorita. El contenido de minerales arcillosos fluctúa entre un 60 y 75% para todas las muestras analizadas. La variación en las proporciones de minerales puede ser debida a diferentes grados de meteorización de la roca en el sitio de muestreo, claro esta, sin tener en cuenta las variaciones composicionales que la roca pueda presentar. Concentraciones tan altas de caolinita pueden favorecer la explotación selectiva de este mineral.

Tres de las muestras analizadas presentan contenidos de calcio y magnesio altos; debido a la presencia de anfíboles y minerales ferro-magnesianos concentrados selectivamente en la roca.

Los contenidos de cuarzo libre según se puede deducir del análisis próximo mineralógico son bajos, oscilan entre 6,12 y 18,67%; esto podría ocasionar una menor resistencia mecánica en las piezas. El contenido de feldespato oscila entre 0,08 y 22,7%; los de hematita en 2,93 a 14,82%.

La mayoría de las muestras se sitúan en el Diagrama de Casagrande en la zona correspondiente a limos inorgánicos de mediana compresibilidad y limos orgánicos (Figura 8). La presencia de estos limos orgánicos contribuye a dar mayor plasticidad a la pasta durante el proceso de moldeo pero en el de cocción dejan espacios vacíos al quemarse la materia orgánica, afectando la resistencia mecánica de las piezas que se fabriquen con estas arcillas.

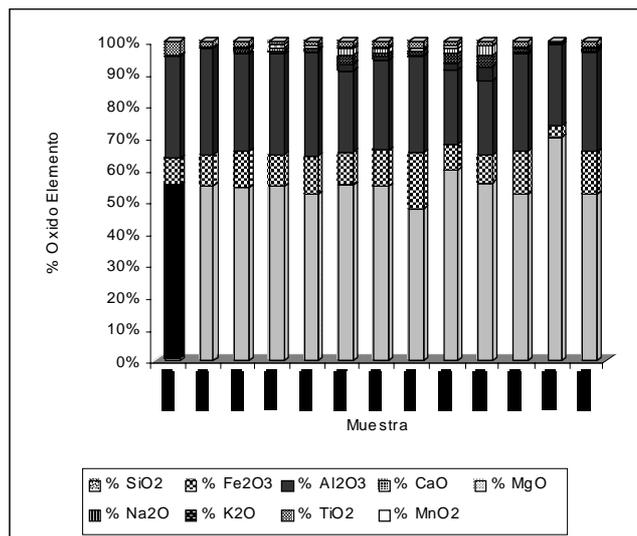


Figura 6. Composición química Stock Altavista-Itagüí.

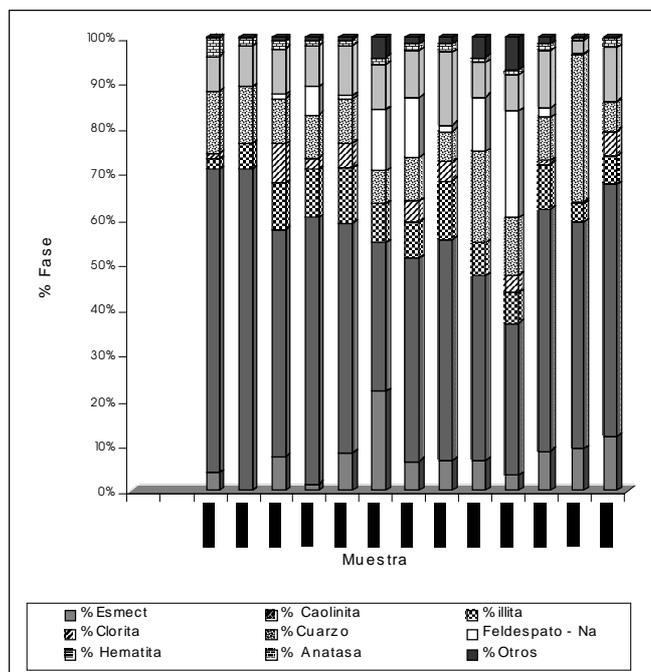


Figura 7. Composición mineralógica Stock Altavista-Itagüí.

El color en quema de los ladrillos producidos con estas arcillas va desde amarillo rojizo a rojo claro.

El bajo tenor de SiO_2 registrado en los análisis químicos hace predecir que se presentará un valor alto en la contracción de las piezas fabricadas con esta arcilla, tal como se encontró en los ensayos realizados, los valores oscilaron entre 1,93 y 3,28 cm.

Stock Altavista Medellín

Los resultados de los análisis químicos de estas muestras se presentan en la Figura 9 y la composición mineralógica en la Figura 10.

Los resultados de la composición química encontrados, reflejan una marcada semejanza con los obtenidos para el Stock Altavista Itagüí; se puede observar que los tenores Al_2O_3 están dentro de los rangos recomendados para el uso de las arcillas en la fabricación de ladrillos, pero los de SiO_2 están por debajo.

Los valores de conductividad y pH son similares a los encontrados en el Stock de Altavista Itagüí.

Como puede verse en la Figura 10; todas las muestras presentan como mineral arcilloso más abundante la caolinita con contenidos que van desde 20,7% hasta 52%; los otros minerales presentes en orden de abundancia serían: illita clorita y en muy baja proporción esmeectita. Algunas muestras presentan contenidos variables de gibbsita, lo cual podría favorecer una explotación selectiva de este material para aplicación en productos refractarios.

En la Figura 11 se presenta el Diagrama de Casagrande para esta unidad, donde se puede ver que sólo dos muestras pueden ser clasificadas como de mediana plasticidad; tres están en la zona correspondiente a limos inorgánicos de alta compresibilidad, una no presenta comportamiento plástico y las demás son limos de mediana compresibilidad.

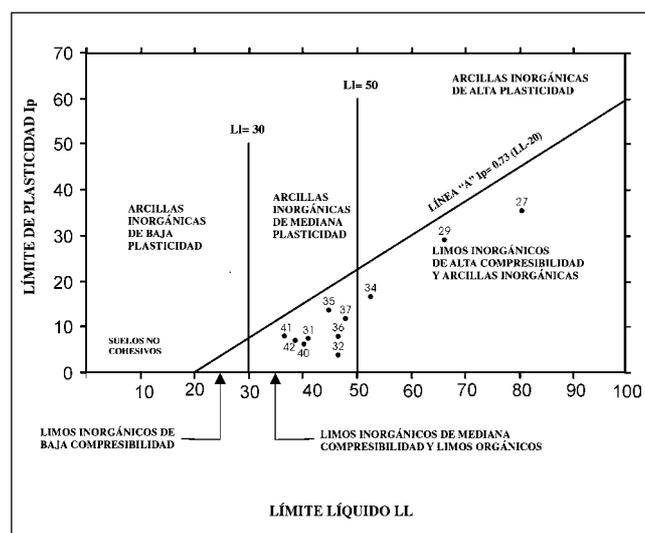


Figura 8. Diagrama de Casagrande Stock de Altavista-Itagüí.

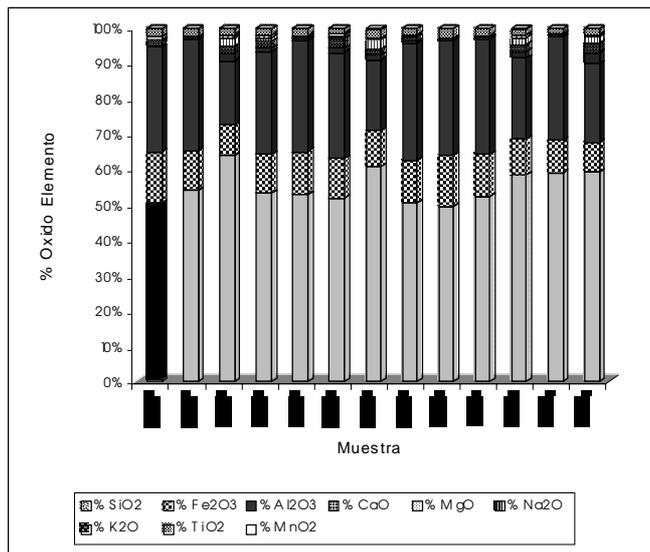


Figura 9. Composición química Stock Altavista-Medellín.

Las muestras que presentaron mayor contracción corresponden a aquellas que en el análisis mineralógico dieron valores altos de halloysita (FRB 6,9, 51,52 y 53). Los contenidos de illita contribuyen a dar una apariencia brillante al ladrillo cocido y de grano fino.

6. Conclusiones

Las muestras de la Formación Amagá presentaron mayores contenidos sales y valores de conductividad altos lo cual puede causar eflorescencias en las piezas cocidas.

Las muestras del Stock de Altavista en las zonas de Itagüí y Medellín son muy similares en su composición química, mineralógica y valores de plasticidad, situándose en el Diagrama de Casagrande en la zona de limos orgánicos e inorgánicos de mediana plasticidad. La presencia de materia orgánica no favorece el proceso de cocción ya que pueden quedar espacios vacíos por el consumo de este material ocasionando imperfecciones en las piezas cocidas.

La presencia de óxidos de hierro en menor proporción en las arcillas de la Formación Amagá le da a las piezas cocidas una coloración más clara que las que se obtiene con las arcillas del Stock de Altavista.

El conocer la composición química, mineralógica y los límites de Attemberg permiten predecir cual va ser el comportamiento de las arcillas durante la cocción, contribuyendo a mejorar los resultados obtenibles con cada tipo de arcillas.

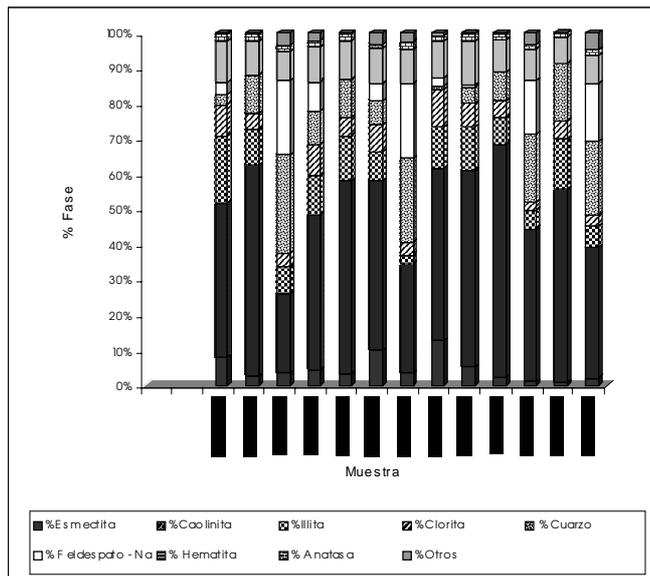


Figura 10. Composición mineralógica Stock Alta vista - Medellín.

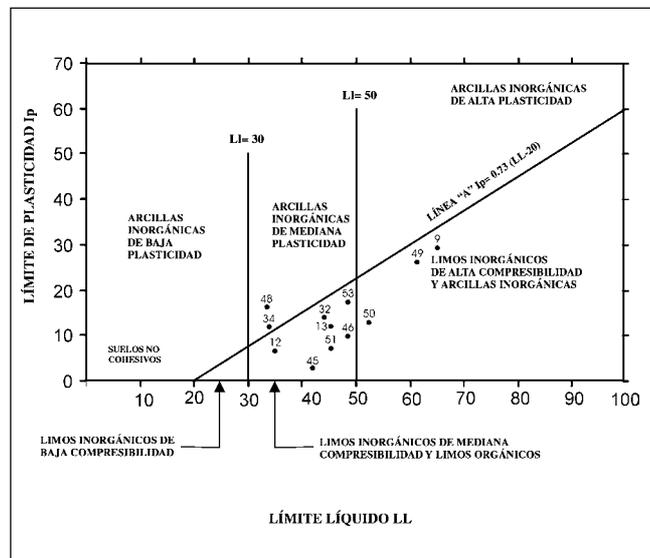


Figura 11. Diagrama de Casagrande Stock de Altavista-Medellín.

7. Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración y apoyo financiero de INGEOMINAS y la orientación científica de la química Inés Bernal y el geólogo Antonio Rodríguez. Se resalta la participación del personal científico y técnico del Laboratorio de Minerales de INGEOMINAS: químicos Marcela Hernández, Marcela Pachón, María Helena Múnera

y Hernán Cabezas; técnicos Alejandro Carrión, Alvaro Hernández, Pablo Enrique Pinto y Juan Pablo Bolaños.

8. Bibliografía

- Alvarado, J. N.** 2002. Guía práctica No. 1: laboratorio de cerámicos. www.construaprende.com/lab.
- ANFALIT**, 2002. Diagnóstico de la industria ladrillera en Revista Terracota. Edición Nro 5. Bogotá.
- Botero, G.** 1963. Contribución al conocimiento de la geología de la zona central de Antioquia: Anales de la Facultad de Minas, No. 57. Medellín.
- González H.** 1976. Geología del cuadrángulo J-8 Sonsón. Informe 1704. INGEOMINAS. Bogotá.
- Grosse, E.** 1926. El terciario carbonífero de Antioquia. Dietrich Reimer Editor. Berlín.
- Ingeominas**, 1983. Geología de la plancha 146. Medellín occidental. Escala 1:100.000
- Ingeominas**, 1983. Geología de la plancha 147. Amagá. Escala 1:100.000
- Rodríguez A.** 1998. Las arcillas. Aportes a su conocimiento, evaluación y caracterización físico cerámica. INGEOMINAS. Informe 2304b. Bogotá.
- Rodríguez G. & Montoya T.** 1993. Evolución magmática del Stock de Altavista. Memorias VI Congreso Colombiano de Geología. Medellín.
- Restrepo, J. J. & Toussaint J. F.** 1984. Unidades litológicas de los alrededores de Medellín. Primera conferencia sobre riesgos geológicos del Valle de Aburrá. Sociedad Colombiana de Geología Mecánica. Medellín.
- Winkler, H.G.F.** 1954. Bedeutung der Korngrößenverteilung und des mineral-bestandes von Tonen für die Herstellung grobkeramischer Erzeugnisse. Ber. DKG, 31, 337-343.

Recibido el 30 de agosto de 2003

Aceptado para su publicación el 10 de marzo de 2004

ESTUDIO QUÍMICO DE LA NUEZ DEL MARAÑÓN GIGANTE (*ANACARDIUM GIGANTEUM*)

por

Freddy A. Ramos¹, Coralia Osorio^{*1}, Carmenza Duque¹, Claudia Cordero²,
Fabio Aristizábal², Cristina Garzón³ & Yoshinori Fujimoto⁴

Resumen

Ramos, F., C. Osorio, C. Duque, C. Cordero, F. Aristizábal, C. Garzón & Y. Fujimoto: Estudio químico de la nuez del marañón gigante (*Anacardium giganteum*) Rev. Acad. Colomb. Cienc. **28** (109): 565-575, 2004. ISSN: 0370-3908.

A partir del extracto metanólico de la nuez de *Anacardium giganteum* se aislaron e identificaron mediante técnicas espectroscópicas (EM, RMN ¹H y de ¹³C) los siguientes compuestos: 5-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienil]resorcinol **1**, 5-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienil]resorcinol **2**, 5-[8'(Z)-pentadecenil]resorcinol **3**, ácido 6-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienil]salicílico **4**, ácido 6-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienil]salicílico **5**, ácido 6-[8'(Z)-pentadecenil]salicílico **6**, ácido 6-pentadecilsalicílico **7**, naringenina-7-(6''-O-*p*-cumaroil)- β -D-glucopiranosido **8** y naringenina-7-O- β -D-glucopiranosido **9**. Es importante resaltar que en éste trabajo es la primera vez que se realiza la asignación inequívoca de las señales de RMN ¹H y de ¹³C del compuesto **8**, mediante el uso de las técnicas bidimensionales HMQC y HMBC. También es la primera vez que se determina la actividad citotóxica de los compuestos **1** - **9** contra las líneas celulares de tumores humanos HEP-2, MCF-7, HT-29 y MKN-45. En dichos ensayos de citotoxicidad, los compuestos **1** - **3** y **8** fueron activos contra las cuatro líneas celulares utilizadas.

Palabras clave: Anacardiaceae, *Anacardium giganteum*, lípidos fenólicos, citotoxicidad, marañón gigante.

Abstract

From the methanolic extract of the *Anacardium giganteum* nut, the following compounds: 5-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienyl]resorcinol **1**, 5-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienyl]resorcinol **2**, 5-

¹ Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, A.A. 14490, Bogotá, Colombia.

² Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

³ Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

⁴ Department of Materials Science, Tokyo Institute of Technology, O-okayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8551, Japan.

* A quien debe enviarse la correspondencia. Tel: +57-1-3165000, ext. 14472/14452. Fax: +57-1-3165220. E-mail: cosorior@unal.edu.co

[8'-(Z)-pentadecenyl]resorcinol **3**, 6-[8'-(Z),11'-(Z),14-pentadecatrienyl]salicylic acid **4**, 6-[8'-(Z),11'-(Z)-pentadecadienyl] salicylic acid **5**, 6-[8'-(Z)-pentadecenyl]salicylic acid **6**, 6-pentadecylsalicylic acid **7**, naringenin-7-(6''-O-*p*-cumaroyl)- β -D-glucopyranoside **8** and naringenin-7-O- β -D-glucopyranoside **9**, were isolated and identified by spectroscopic techniques (MS, ^1H and ^{13}C NMR). It is important to note that this is the first time that the unequivocal assignment of ^1H and ^{13}C NMR signals of compound **8** is made on the basis on its HMQC and HMBC spectra. This is also the first time that cytotoxic activity of compounds **1** – **9** against human tumor cell lines HEP-2, MCF-7, HT-29 and MKN-45 is evaluated. In these assays, compounds **1** – **3** and **8** were active against the above-mentioned cell lines.

Key words: Anacardiaceae, *Anacardium giganteum*, phenolic lipids, citotoxicity, giant marañón.

Introducción

La selva tropical húmeda de la región amazónica, es una de las áreas de biodiversidad más ricas del mundo, por albergar varios miles de especies de plantas y animales que son utilizados para diferentes fines, entre ellos: alimento, aceite, fibras, combustible, perfumes, medicinas, anti-conceptivos, entre otros. Este gran potencial, lamentablemente se encuentra amenazado por diferentes procesos como la deforestación, la ampliación de la frontera agrícola, la explotación de los recursos mineros y la apertura de vías de comunicación, los cuales están disminuyendo ostensiblemente la biomasa, y lo que es más grave, están acabando con la población aborígen que históricamente ha vivido en esta zona explotando racionalmente de sus recursos (TCA 1994). Uno de los aspectos más significativos del saber ancestral de éstas comunidades, es la utilización de las plantas medicinales; de modo que para los países de la cuenca amazónica, la protección de dicho saber ancestral y la defensa de los recursos genéticos por medio de la creación de una sólida base científico-tecnológica, deben ser aspectos fundamentales a contemplarse en sus políticas nacionales y regionales.

El presente trabajo hace parte de los estudios de las especies frutales de origen amazónico que se están realizando en nuestro grupo de investigación (Bonilla A *et al.* 2004; Nakagawa H *et al.* 2004). Dichos estudios están enfocados a la búsqueda de compuestos con actividad biológica (particularmente actividad citotóxica), con miras a lograr un aprovechamiento integral de estas especies.

Anacardium giganteum, es un árbol frutal no domesticado, nativo de zonas tropicales amazónicas que crece entre 0-500 msnm y alcanza en promedio 25 m de altura y 60 cm de diámetro. Comúnmente se conoce con los nombres de marañón gigante, marañón amazónico, sasha casho, cajui y añaná. La nuez es una drupa poco carnosa,

reniforme, de color café que está unida a un pseudofruto carnoso, el cual es de color naranja o naranja-rojizo externamente y amarillo claro en el interior cuando está maduro, y cuyas dimensiones varían entre 7 y 9 cm de largo por 5 a 7 cm de diámetro. El pseudofruto contiene una pulpa succulenta, fibrosa, con abundante jugo agrídulce, de color rosado y de sabor muy agradable. Se consume directamente o se utiliza en la preparación de refrescos y bebidas fermentadas. La nuez contiene una almendra comestible luego de un proceso de tostado; tiene además un alto contenido de un líquido color café, el cual es usado por las comunidades indígenas en el tratamiento de la tos, la eliminación de mezquinos y verrugas, como cicatrizante y como antidiarreico (Arévalo LA *et al.*, 2001; TCA 1997). Es importante mencionar que al momento de iniciar el presente trabajo sólo existía un estudio químico de la especie en el cual se señaló el aislamiento del ácido 6-undecil salicílico a partir del fruto (Sharma NK *et al.*, 1966).

Teniendo en cuenta que el extracto metanólico de la nuez de *Anacardium giganteum* presentó actividad citotóxica contra algunas líneas celulares humanas, se desarrolló el presente trabajo con el fin de aislar e identificar algunos de los compuestos presentes en dicho extracto y determinar cuáles eran los responsables de la actividad citotóxica.

Materiales y métodos

General

Los espectros de RMN- ^1H y de ^{13}C se registraron en los equipos JEOL Lambda-300, JEOL Lambda-400 y JEOL Lambda-500. Para los espectros tomados en CDCl_3 se usó como referencia la señal del TMS en δ 0.00 ppm; para los espectros tomados en CD_3OD , se usó como referencia las señales del solvente en $\delta_{\text{H}} = 3.3$ ppm y $\delta_{\text{C}} = 49.0$ ppm. Los espectros de masas en modo IE se lograron en un equipo

de CGAR-EM Shimadzu QP-5050 con detector selectivo de masas en modo *scan* a 70 eV, registrando masas entre m/z 40 y 800 uma. Los espectros de masas en modo IQP se tomaron en el mismo equipo mencionado anteriormente, usando isobutano como gas reactivo, a una presión en la cámara de ionización de 1×10^{-2} Pa, voltaje de ionización de 70 eV y registrando masas entre 70 y 800 uma. Para la separación cromatográfica en CGAR se utilizó una columna HP-1 (25 m x 0.25 mm d.i y espesor de fase de 0.33 μm) con el siguiente programa de temperatura: 170°C por 10 min, luego se incrementó la temperatura hasta 270°C a 0.5°C/min y finalmente se dejó a 270°C durante 70 min; se utilizó helio como gas transportador a 1 ml/min y una relación de *split* de 1:10. La CLAE analítica se realizó en un equipo MERCK-HITACHI 6000A con detector DAD L-4500. La CLAE preparativa se realizó en un cromatógrafo MERCK-HITACHI 6000 con detector UV-VIS L-4250. La CLAE-EM se realizó con un cromatógrafo Shimadzu 10A acoplado a un detector de masas Shimadzu QP-8000 α , usando la fuente de ionización ESI y detectando los iones positivos con masas entre 50 y 1000 uma. Se usó un flujo de N_2 de 2.5 l/min para la nebulización, con temperatura del CDL de 250°C, temperatura en la interfase 250°C y voltaje de ionización de 1.5 kV. Para los análisis por CLAE-EM en modo APCI, se usó el mismo equipo con un flujo de N_2 de 2.5 l/min, temperatura en el CDL de 250°C y en la interfase de 400°C. El voltaje para la ionización fue 1.5 kV y se detectaron iones positivos con masas entre 50 y 1000 uma. La CCD se desarrolló en placas de sílica gel 60 F_{254} (MERCK) con espesor de 0.25 mm, empleando como revelador *p*-anisaldehído - H_2SO_4 y calentando a 100°C. Para la cromatografía en columna se utilizó como soporte sólido sílica gel 60 (MERCK, 0.040-0.063 mm). Los solventes usados tanto en CCD como en CC fueron de grado analítico (MERCK), y para los análisis por CLAE y CLAE-EM se usaron solventes grado LiChrosolv (MERCK).

Material vegetal

Los frutos de *Anacardium giganteum* fueron recolectados en la reserva nacional del parque Araracuara en la Amazonia Colombiana; un espécimen de referencia se depositó en el herbario del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia y fue codificado como COL 479854.

Aislamiento y purificación de compuestos presentes en la nuez de *Anacardium giganteum*

Las nueces secas de *Anacardium giganteum* (55 g) se cortaron en trozos pequeños y se extrajeron con MeOH (500 ml) a 60°C durante cuatro horas, dos veces. Luego de

eliminar el solvente a presión reducida se obtuvieron 26 g de extracto metanólico crudo, el cual se sometió a partición entre cloroformo y agua, obteniendo dos fases: la clorofórmica (18 g) y la acuosa (8 g). Una parte de la fase clorofórmica (5 g) fue fraccionada por CC en 100g de sílica gel, utilizando como eluente un gradiente discontinuo de hexano-AcOEt (15:1 a 1:10), seguido por un gradiente discontinuo de AcOEt-MeOH (3:1 a 1:3). Se recolectaron 50 fracciones de 5 ml cada una, las cuales se monitorearon por CCD y se reagruparon para su estudio en tres partes: F1 (1-28), F2 (29-39) y F3 (40-50). La fracción F2 (158 mg) fue sometida a CC en 23 g de sílica gel, utilizando como eluente un gradiente discontinuo de benceno-AcOEt (1:0 a 1:1), para recolectar 46 fracciones de 5 ml cada una, las cuales se controlaron por CCD y se reagruparon en cuatro subfracciones: F21 - F24. La subfracción F23 (21-25, 120 mg) se sometió a CLAE-EM en modo ESI, empleando una columna Hypersyl ODS (100 mm x 2.1 mm d.i. x 3 μm) y como eluente una mezcla de MeOH- H_2O (8:2) a un flujo de 0.2 ml/min. Como resultado de este análisis se detectaron tres compuestos, los cuales fueron aislados por CLAE preparativa utilizando una columna Lichrosorb RP-18 (125 mm x 4.6 mm d.i. x 5 μm) y como eluente una mezcla de MeOH- H_2O (8:2) a un flujo de 1.0 ml/min y detector UV a 235 nm. Finalmente se obtuvieron los compuestos puros: **1** (10 mg), **2** (4 mg) y **3** (3 mg), los cuales se analizaron por RMN- ^1H y de ^{13}C y CGAR-EM (IE, IQP). La fracción F3 (103 mg) se sometió a CLAE-EM en modo ESI, empleando la misma columna mencionada anteriormente y como eluente una mezcla de MeOH-ácido acético 2% (9:1) a un flujo de 0.2 ml/min. Como resultado de este análisis se detectó la presencia de cuatro compuestos, los cuales fueron aislados por medio de CLAE preparativa utilizando una columna Lichrosorb RP-18 (125 mm x 4.6 mm d.i. x 5 mm), eluyendo con MeOH-ácido acético 2% (9:1) a un flujo de 0.8 ml/min y empleando un detector UV a 280 nm. Los compuestos puros obtenidos: **4** (14 mg), **5** (5 mg), **6** (4 mg) y **7** (1 mg), se analizaron por RMN- ^1H y CGAR-EM (IE, IQP).

Una parte de la fase acuosa (4 g), fue fraccionada por cromatografía instantánea en 75 g de sílica gel, eluyendo con 300 ml de AcOEt, seguido por 300 ml de MeOH para obtener dos fracciones: A1 (0.7 g) y A2 (3 g), respectivamente. El control por CCD de A1 (CHCl_3 -MeOH, 6:1) mostró la presencia de un compuesto con R_f 0.24 que reveló con FeCl_3 y sulfato sérico amónico. Una parte de esta fracción (550 mg) se sometió a CC en 40 g de sílica gel usando como eluyente un gradiente discontinuo de CHCl_3 -MeOH (1:0 a 1:6) para obtener 43 fracciones de 10 ml cada una. Estas fracciones se reagruparon de acuerdo con su comportamiento en CCD en cuatro subfracciones:

A11 - A14. La fracción A14 (38-43, 340 mg) se sometió a CC en 25 g de sílica gel, eluyendo con un gradiente discontinuo de CHCl_3 -MeOH (15:1 a 1:2), obteniendo 66 fracciones de aproximadamente 5 ml cada una. Estas fracciones fueron reagrupadas en 8 subfracciones: A141 - A148 de acuerdo con su comportamiento en CCD (CHCl_3 -MeOH, 6:1). A partir de la fracción A145 (40) se obtuvo el compuesto **8** (14 mg). Esta fracción se analizó en primera instancia por CLAE y CLAE-EM en modo APCI, empleando la columna Hypersyl ODS mencionada anteriormente y eluyendo con una mezcla de MeCN- H_2O (3:7) a un flujo de 0.2 ml/min. Posteriormente, el compuesto **8** se sometió a análisis por EM(IE), RMN- ^1H y de ^{13}C , mono y bidimensional. La fracción A2 (3 g) se sometió a CC en 180 g de sílica gel, usando como eluyente un gradiente discontinuo de CHCl_3 -MeOH (10:1- 0:1), obteniendo 160 fracciones de aproximadamente 20 ml cada una, las cuales se reagruparon en 4 subfracciones: A21 - A24. La fracción A23 (49-136, 2g) se sometió a sucesivas CC en sílica gel usando primero como eluyente un gradiente discontinuo de CHCl_3 -MeOH (20:1 a 1:3) y luego una mezcla isocrática de CHCl_3 -MeOH (8:1) para obtener la fracción denominada A2333 (64 mg). Esta fracción fue sometida a CLAE preparativa usando una columna Shizeido RP-18 (250 mm x 4.6 mm d.i. x 5 μm) y empleando el gradiente continuo de MeCN-AcOH 1% que se describe a continuación: de 0 a 8 min. 90% AcOH, de 8 a 18 min. gradiente lineal hasta 60% AcOH, de 18 a 25 min. 60% AcOH y de 25 a 30 min. un gradiente lineal hasta 90% AcOH a 1.0 ml/min. Finalmente se obtuvieron 2 mg del compuesto puro **9**, el cual se sometió a los análisis por CLAE-EM y RMN- ^1H con el fin de elucidar su estructura.

Ensayos de citotoxicidad

Los ensayos de actividad citotóxica del extracto crudo, de algunas fracciones y de los compuestos puros, se realizaron sobre las líneas de células tumorales HEP-2 (células de laringe contaminadas con HeLa), MCF-7 (cáncer de mama), HT-29 (carcinoma de colon) y MKN-45 (carcinoma gástrico). Los ensayos se desarrollaron por duplicado utilizando el método del MTT el cual se describe brevemente a continuación (Cordero CP, 2002): a partir de los cultivos en etapa de crecimiento exponencial, mantenidos a 37°C, 100% de humedad relativa, en medio mínimo esencial con 5% de suero fetal bovino y 50 mg/ml de gentamicina, se obtiene por tripsinización, una suspensión de células tumorales que se inocula en una placa de 96 pozos y éstas se preincuban a 37°C por 24 horas; luego del período de preincubación se adiciona el extracto o el compuesto a evaluar en diferentes concentraciones y se incuba de nuevo por 48 horas. Al finalizar la

incubación se adicionan 200 μL de MTT (0.25 mg/ml en medio de cultivo) y las células se incuban por 4 horas más a 37°C. Luego de eliminar el sobrenadante, el colorante Formazán que se haya obtenido se disuelve en 100 μL de DMSO con agitación. El coeficiente de extinción dependiente de la concentración del colorante en cada pozo se mide en un espectrofotómetro para placas a 570 nm. Como control positivo se emplea Doxorubicina HCl, un antineoplásico de uso común en clínica, que presenta actividad citotóxica frente a las cuatro líneas de células tumorales ensayadas. Los cálculos de la CL_{50} se realizan empleando una regresión con el modelo de Probits.

Datos espectroscópicos

5-[8'(Z), 11'(Z), 14-Pentadecatrienil] resorcinol (1):

EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 314 (M^+ , 4), 299 (2), 271 (1), 243 (2), 217 (3), 191 (4), 177 (5), 163 (24), 149 (20), 137 (19), 124 (100), 123 (62), 107 (15), 93 (23), 91 (20), 81 (21), 79 (48), 69 (10), 67 (45), 57 (2), 55 (28), 43 (5), 41 (42); EM (IQ) m/z (int. rel) 315 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 315 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 1.29 (8H, m, H_2 -3'- H_2 -6'), 1.55 (2H, m, H_2 -2'), 2.04 (2H, q, $J=6.8$ Hz, H_2 -7'), 2.46 (2H, t, $J=7.8$ Hz, H_2 -1'), 2.79 (2H, t, $J=5.7$ Hz, H_2 -10'), 2.81 (2H, t, $J=6.1$ Hz, H_2 -13'), 4.99 (1H, dq, $J=10.3$, 2.0 Hz, H-15'b), 5.05 (1H, dq, $J=17.3$, 2.0 Hz, H-15'a), 5.35-5.43 (4H, m, H-8', H-9', H-11', H-12'), 5.82 (1H, tdd, $J=17.3$, 10.3, 6.1 Hz, H-14'), 6.17 (1H, t, $J=2.2$ Hz, H-2), 6.25 (2H, d, $J=2.2$ Hz, H-4, H-6); RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 25.6 (C-10'), 27.2 (C-7'), 29.2, 29.4, 29.6, 29.6 (C-3', C-4', C-5', C-6'), 31.0 (C-2'), 31.5 (C-13'), 35.8 (C-1'), 100.2 (C-2), 108.1 (C-4, C-6), 114.7 (C-15'), 126.8 (C-9'), 127.6 (C-11'), 129.3 (C-12'), 130.4 (C-8'), 136.8 (C-14'), 146.1 (C-5), 156.4 (C-1, C-3). La asignación de las señales de RMN- ^{13}C está en concordancia con los datos publicados por Sargent M *et al.*, 1990.

5-[8'(Z),11'(Z)-Pentadecadienil]resorcinol (2):

EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 316 (M^+ , 4), 299 (1), 274 (1), 245 (1), 217 (5), 203 (2), 191 (3), 177 (3), 163 (15), 149 (10), 137 (19), 124 (100), 123 (40), 109 (5), 95 (13), 81 (24), 69 (5), 67 (39), 57 (2), 55 (26), 43 (2), 41 (35); EM (IQ) m/z (int. rel) 317 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 317 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100); RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 0.91 (3H, t, $J=7.5$ Hz, H_3 -15'), 1.38 (2H, sextete, $J=7.5$ Hz, H_2 -14'), 1.31-1.41 (8H, m, H_2 -3'- H_2 -6'), 1.57 (2H, m, H_2 -2'), 2.04 (4H, q, $J=6.3$ Hz, H_2 -7', H_2 -13'), 2.48 (2H, t, $J=7.6$ Hz, H_2 -1'), 2.78 (2H, t, $J=6.3$ Hz, H_2 -10'), 5.34-5.38 (4H, m, H-8', H-9', H-11', H-12'), 6.17 (1H, br s, H-2), 6.24 (2H, d, $J=1.9$ Hz, H-4, H-6); RMN- ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ 13.8 (C-15'), 22.8 (C-14'), 25.7 (C-10'), 27.2 (C-7'), 29.2, 29.3, 29.4, 29.6 (C-3', C-4',

C-5', C-6'), 31.0 (C-2'), 31.6 (C-13'), 35.8 (C-1'), 100.1 (C-2), 108.0 (C-4, C-6), 128.0 (C-9', C-11'), 130.1 (C-8', C-12'), 146.1 (C-5), 156.6 (C-1, C-3). La asignación de las señales de RMN-¹H y de ¹³C está en concordancia con los datos publicados por **Sargent M et al.**, 1989.

5-[8'(Z)-Pentadecenil]resorcinol (3): EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 318 (M⁺, 3), 297 (1), 275 (2), 250 (1), 236 (1), 222 (5), 205 (3), 191 (4), 165 (6), 163 (8), 149 (6), 137 (15), 124 (100), 123 (45), 111 (3), 107 (2), 95 (3), 81 (3), 69 (10), 67 (8), 57 (2), 55 (40), 43 (36), 41 (38); EM (IQ) m/z (int. rel) 319 ([M+H]⁺, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 319 ([M+H]⁺, 100); RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (3H, t, J=6.9 Hz, H₃-15'), 1.30 (16H, m, H₂-3'-H₂-6', H₂-11'-H₂-14'), 1.58 (2H, m, H₂-2'), 2.01 (4H, q, J=6.1 Hz, H₂-7', H₂-10'), 2.48 (2H, t, J=7.8 Hz, H₂-1'), 5.35 (2H, t, J=5.6 Hz, H-8', H-9'), 6.17 (1H, br s, H-2), 6.24 (2H, br s, H-4, H-6); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ 14.1 (C-15'), 22.7 (C-14'), 27.2 (C-7', C-10'), 29.0, 29.2, 29.4, 29.8, 29.8, 29.8, 31.8 (C-3', C-4', C-5', C-6', C-11', C-12', C-13'), 31.0 (C-2'), 35.8 (C-1'), 100.1 (C-2), 108.0 (C-4, C-6), 129.8, 130.0 (C-8', C-9'), 146.1 (C-5), 156.6 (C-1, C-3). La asignación de las señales de RMN-¹H y de ¹³C está en concordancia con los datos publicados por **Lytollis WJ et al.**, 1995 e **Itokawa H et al.**, 1987.

Acido 6-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienil]salicílico (4): EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 298 ([M-CO₂]⁺, 4), 281 (1), 269 (2), 251 (1), 230 (1), 207 (8), 187 (2), 175 (2), 160 (2), 147 (25), 133 (20), 121 (20), 120 (24), 108 (75), 107 (100), 95 (23), 94 (22), 93 (30), 91 (24), 80 (27), 79 (55), 77 (28), 69 (5), 67 (48), 57 (8), 55 (25), 43 (48), 41 (40); EM (IQ) m/z (int. rel) 341 ([M-H]⁺, 20), 299 ([M-CO₂+H]⁺, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 343 ([M+H]⁺, 100), 325 ([M-H₂O+H]⁺, 95), 299 ([M-CO₂+H]⁺, 25); RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 1.32 (8H, m, H₂-3'-H₂-6'), 1.58 (2H, q, J=7.6 Hz, H₂-2'), 2.04 (2H, q, J=6.7 Hz, H₂-7'), 2.79 (2H, t, J=5.6 Hz, H₂-10'), 2.82 (2H, t, J=6.4 Hz, H₂-13'), 2.97 (2H, t, J=7.9 Hz, H₂-1'), 4.98 (1H, dq, J=10.2, 1.9 Hz, H-15'b), 5.05 (1H, dq, J=17.3, 1.9 Hz, H-15'a), 5.34-5.43 (4H, m, H-8', H-9', H-11', H-12'), 5.82 (1H, tdd, J=17.3, 10.2, 6.3 Hz, H-14'), 6.77 (1H, dd, J=7.6, 1.0 Hz, H-5), 6.87 (1H, dd, J=8.3, 1.0 Hz, H-3), 7.36 (1H, dd, J=8.3, 7.6 Hz, H-4), 11.07 (1H, br s, COOH). La asignación de las señales está concordancia con los datos publicados por **Satoh M et al.**, 2001.

Acido 6-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienil]salicílico (5): EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 343 (M⁺, 1), 326 (1), 300 ([M-CO₂]⁺, 8), 281 (6), 271 (1), 257 (1), 230 (1), 219 (1), 201 (3), 187 (2), 175 (5), 161 (8), 147 (30), 133 (20), 121 (18), 120 (48), 108 (100), 107 (92), 95 (25), 91 (15), 81 (45), 79 (26), 77 (27), 69 (7), 67 (75), 57 (1), 55 (40), 43 (5), 41

(46); EM (IQ) m/z (int. rel) 343 ([M-H]⁺, 20), 301 ([M-CO₂+H]⁺, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 345 ([M+H]⁺, 30), 327 ([M-H₂O+H]⁺, 100), 309 ([M-2H₂O+H]⁺, 25), 301 ([M-CO₂+H]⁺, 10); RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90 (3H, t, J=7.4 Hz, H₃-15'), 1.34-1.41 (10H, m, H₂-3'-H₂-6', H₂-14'), 1.60 (2H, m, H₂-2'), 2.04 (4H, q, J=6.6 Hz, H₂-7', H₂-13'), 2.77 (2H, t, J=5.6 Hz, H₂-10'), 2.98 (2H, t, J=7.8 Hz, H₂-1'), 5.29-5.44 (4H, m, H-8', H-9', H-11', H-12'), 6.78 (1H, d, J=7.3 Hz, H-5), 6.87 (1H, d, J=8.3 Hz, H-3), 7.37 (1H, dd, J=8.3, 7.3 Hz, H-4), 10.80 (1H, br s, COOH). La asignación de las señales está concordancia con los datos publicados por **Satoh M et al.**, 2001.

Acido 6-[8'(Z)-pentadecenil]salicílico (6): EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 302 ([M-CO₂]⁺, 8), 284 (1), 267 (1), 249 (1), 234 (1), 219 (1), 206 (6), 189 (2), 175 (2), 161 (3), 147 (8), 133 (10), 121 (11), 120 (25), 108 (100), 107 (45), 95 (2), 91 (5), 81 (4), 79 (4), 77 (5), 69 (5), 67 (4), 57 (1), 55 (25), 41 (20); EM (IQ) m/z (int. rel) 345 ([M-H]⁺, 30), 303 ([M-CO₂+H]⁺, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 347 ([M+H]⁺, 40), 329 ([M-H₂O+H]⁺, 100), 311 ([M-2H₂O+H]⁺, 20); RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0.87 (3H, t, J=6.6 Hz, H₃-15'), 1.27-1.32 (16H, m, H₂-3'-H₂-6', H₂-11'-H₂-14'), 1.61 (2H, m, H₂-2'), 2.01 (4H, m, H₂-7', H₂-10'), 2.98 (2H, t, J=7.7 Hz, H₂-1'), 5.35 (2H, t, J=4.6 Hz, H-8', H-9'), 6.78 (1H, d, J=7.3 Hz, H-5), 6.87 (1H, d, J=8.1 Hz, H-3), 7.37 (1H, dd, J=8.1, 7.3 Hz, H-4), 10.80 (1H, br s, COOH). La asignación de las señales está concordancia con los datos publicados por **Itokawa H et al.**, 1987.

Acido 6-pentadecilsalicílico (7): EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 304 ([M-CO₂]⁺, 8), 279 (1), 261 (1), 240 (1), 208 (8), 207 (10), 193 (2), 167 (10), 162 (2), 149 (35), 133 (8), 121 (8), 120 (6), 108 (100), 107 (45), 95 (8), 91 (5), 77 (15), 71 (14), 69 (14), 57 (25), 55 (20), 44 (35), 43 (50), 41 (30); EM (IQ) m/z (int. rel) 347 ([M-H]⁺, 15), 305 ([M-CO₂+H]⁺, 100); EM (ESI) m/z (int. rel) 349 ([M+H]⁺, 100); RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (3H, t, J=7.1 Hz, H₃-15'), 1.25 (24H, m, H₂-3'-H₂-14'), 1.57 (2H, m, H₂-2'), 2.95 (2H, br t, J=7.5 Hz, H₂-1'), 6.75 (1H, d, J=6.8 Hz, H-5), 6.85 (1H, d, J=8.0 Hz, H-3), 7.33 (1H, dd, J=8.0, 6.8 Hz, H-4). La asignación de las señales está concordancia con los datos publicados por **Yamagiwa Y et al.**, 1987.

Naringenina-7-(6''-O-p-cumaroil)-b-D-glucopiranosido (8): UV (MeOH) λ_{max} 227.6, 286.4, 314.1; EM (IE, 70 eV) m/z (int. rel) 272 (60), 271 (58), 255 (10), 244 (2), 229 (1), 215 (1), 201 (2), 179 (25), 166 (40), 153 (100), 147 (25), 124 (20), 120 (75), 119 (23), 107 (30), 91 (43), 69 (33), 65 (28), 51 (15); EM (APCI) m/z (int. rel) 581 ([M+H]⁺, 20), 563 ([M-H₂O+H]⁺, 10), 309 ([M-272+H]⁺, 38), 273 (100), 272 (41); RMN-¹H y RMN-¹³C ver Tabla 1.

Tabla 1. Datos de RMN ¹H y de ¹³C del compuesto **8** (CD₃OD, 500 y 125 MHz).

Posición	δ _c ^a	δ _H ^b
2	80.4	5.25, dd (12.7, 3.0)
3a	44.1	3.07, dd (17.2, 12.7)
3b	-	2.68, dd (17.2, 3.1)
4	198.4	-
5	164.4	-
6	97.1	6.16, d (2.2)
7	166.8	-
8	97.9	6.21, d (2.2)
9	165.0	-
10	105.0	-
1'	130.9	-
2'	129.0	7.24, d (8.5)
3'	116.4	6.78, d (8.7)
4'	159.0	-
5'	116.4	6.78, d (8.7)
6'	129.0	7.24, d (8.5)
1''	101.1	4.98, d (7.5)
2''	74.6	3.45-3.51 m
3''	77.8	3.49, t (9.0)
4''	71.8	3.39, dd (9.6, 9.0)
5''	75.6	3.75, ddd (9.6, 7.3, 2.2)
6''a	64.7	4.54, dd (11.9, 2.2)
6''b	-	4.28, dd (11.9, 7.3)
1'''	127.2	-
2'''	131.2	7.37, d (8.7)
3'''	116.8	6.77, d (8.7)
4'''	161.2	-
5'''	116.8	6.77, d (8.7)
6'''	131.2	7.37, d (8.7)
7'''	146.9	7.57, d (16.0)
8'''	114.9	6.31, d (15.9)
9'''	169.1	-

^aAsignaciones realizadas con base en los espectros HMQC y HMBC; ^b δ en ppm, J en Hz.

Naringenina-7-O-β-D-glucopiranosido (9): UV (MeOH) λ_{max} 227.6, 285.6, 328.7; EM (APCI) m/z (int. rel) 435 ([M+H]⁺, 10), 274 (70), 273 ([M-hexosa+H]⁺, 100); RMN-¹H (500 MHz, CD₃OD) δ 2.75 (1H, dd, J=17.0, 3.0 Hz, H-3b), 3.16 (1H, dd, J=17.0, 12.0 Hz, H-3a), 3.39-3.47 (4H, m, H-2''-H-5''), 3.68 (1H, dd, J=12.0, 5.5 Hz, H-6''b), 3.87 (1H, dd, J=12.0, 2.0 Hz, H-6''a), 4.96 (1H, d, J=7.0 Hz, H-1''), 5.38 (1H, dd, J=12.5, 3.0 Hz, H-2), 6.18 (1H, d, J=2.5 Hz, H-6), 6.21 (1H, d, J=2.5 Hz, H-8), 6.81 (2H, d, J=8.5 Hz, H-3', H-5'), 7.31 (2H, d, J=9.0 Hz, H-2', H-6'). La posición del azúcar se asignó por comparación con los datos de la literatura (Sang S *et al.*, 2002).

Resultados y discusión

Aislamiento y purificación de los compuestos 1-9

El extracto metanólico de la nuez de *A. giganteum* fue sometido a partición entre cloroformo y agua, y la fase

clorofórmica se sometió a CC en silica gel (eluente hexano – AcOEt, 15:1 a 1:10) para obtener tres subfracciones (F1 – F3). Teniendo en cuenta que el extracto metanólico y la fase clorofórmica, así como las fracciones F2 y F3 presentaron actividad citotóxica contra líneas celulares de tumores humanos, éstas se seleccionaron para realizar un fraccionamiento posterior que condujo a la purificación de los compuestos **1** – **7**, siguiendo la metodología descrita en la sección Materiales y Métodos. Las estructuras de todos los compuestos aislados de la nuez de *A. giganteum* se presentan en la Figura 1.

Así, la fracción F2 se sometió a CC en sílica gel (eluente benceno – AcOEt, 1:0 a 1:1) para obtener la fracción F23, la cual al ser analizada por CCD mostró una banda con Rf = 0.75 (benceno – AcOEt, 2:1). Su análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (CLAE-EM) y por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CGAR-EM) en modo ionización química, indicó que se trataba de una mezcla de los compuestos **1-3**, con pesos moleculares de 314, 316 y 318 uma, respectivamente. Posteriormente, el análisis de la fracción F23 por CGAR-EM en modo impacto electrónico sugirió que los compuestos **1** a **3** eran alquilresorcinoles con una cadena alifática insaturada, por la presencia del pico base en m/z 124, correspondiente a la fragmentación bencílica de este tipo de compuestos (Bouillant ML *et al.*, 1994); por la presencia de los iones en m/z 67 y 95, característicos de fenoles; y por las series de iones C_nH_{2n+1}⁺, C_nH_{2n-1}⁺ y C_nH_{2n-3}⁺, correspondiente a la cadena alifática insaturada. La CLAE preparativa permitió aislar estos tres compuestos en forma pura y su análisis por RMN-¹H y de ¹³C permitió identificar al compuesto **1** como el 5-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienil]resorcinol, aislado previamente a partir de *Anacardium occidentale* (Tyman JHP, 1979); al compuesto **2** como el 5-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienil]resorcinol, identificado previamente en *Anacardium occidentale* (Tyman JHP, 1979) y al **3** como el 5-[8'(Z)-pentadecenil]resorcinol, el cual ha sido registrado previamente como constituyente de *Anacardium occidentale* (Tyman JHP, 1979), *Knema elegans* (Spencer G *et al.*, 1980), *Oryza sativa* (Bouillant ML *et al.*, 1994), *Lysimachia japonica* (Arisawa M *et al.*, 1989) *Ginkgo biloba* (Itokawa H *et al.*, 1987) y *Hakea trifurcata* (Lytollis WJ *et al.*, 1995). La ubicación del doble enlace entre los carbonos 8' y 9' se confirmó por el ión en m/z 191 (presente en los espectros de masas obtenidos por IE y por IQP) correspondiente al rompimiento alílico de la cadena alifática en el enlace 6'-7', con eliminación 1-4 de Hidrógeno (Suzuki Y *et al.*, 1997). La geometría de los dobles enlaces en las posiciones 8' y 11' se estableció como Z, por comparación del desplazamiento

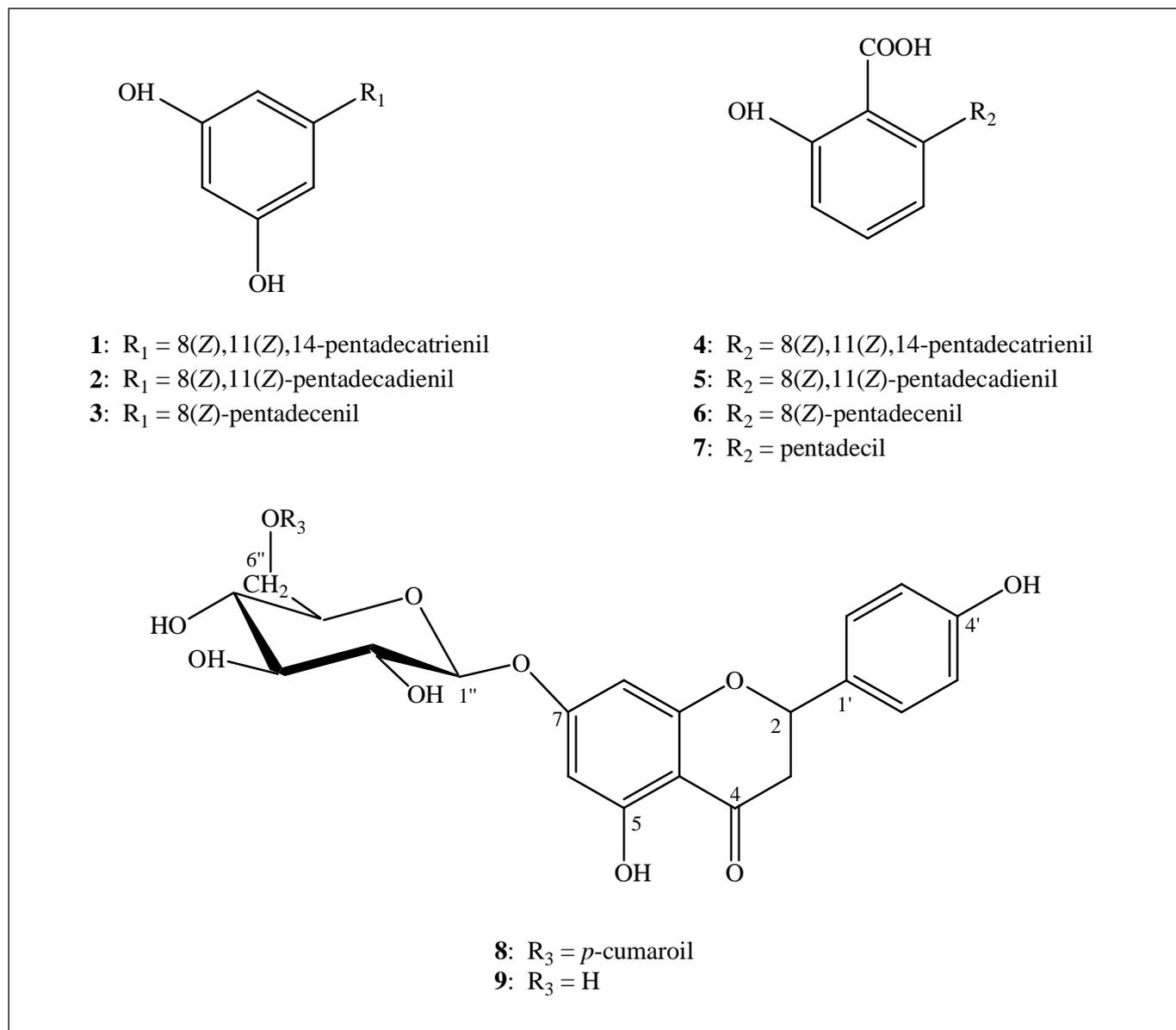


Figura 1. Compuestos identificados (1-9) en el extracto metanólico de la nuez de *Anacardium giganteum*.

químico en RMN- ^{13}C de los metilenos adyacentes a dichos dobles enlaces con los publicados en la literatura: d_c adyacente a doble enlace $Z=27.1$, $E=32.5$ (Lie Ken Jie M *et al.*, 1997).

En forma análoga a la descrita anteriormente, al analizar la fracción F3 (Rf 0.33, CCD, benceno-AcOEt, 2:1) por CLAE-EM en modo ESI positivo se detectó la presencia de cuatro compuestos **4-7** con iones pseudomoleculares $[M+H]^+$ en m/z 343, 345, 347 y 349, respectivamente. Otros iones intensos que se observaron en dichos espec-

tros y en los de IQP y ESI correspondientes a $[M-H]^+$, $[M-H_2O+H]^+$ y $[M-CO_2+H]^+$, evidenciaron la presencia de un grupo COOH en éstos compuestos. Adicionalmente, el perfil de fragmentación de los espectros de masas en modo IE, con un pico intenso en m/z 108 correspondiente a la fragmentación bencílica de un alquilfenol y las series de iones $C_nH_{2n+1}^+$, $C_nH_{2n-1}^+$ y $C_nH_{2n-3}^+$, característicos de una cadena alifática insaturada permitieron concluir que los compuestos **4-6** eran ácidos 6-pentadecilsalicílicos con tres, dos y una insaturación, respectivamente. En el caso del compuesto **7**, el análisis del espectro de masas en modo

IE solo indicó que se trataba de un ácido 6-alkilsalicílico con cadena alifática saturada. Posteriormente, éstos compuestos se aislaron mediante CLAE preparativa y su estructura fue confirmada por RMN-¹H como: ácido 6-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienil]salicílico **4**, ácido 6-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienil]salicílico **5**, ácido 6-[8'(Z)-pentadecenil]salicílico **6** y ácido 6-pentadecilsalicílico **7**, respectivamente. Estos compuestos han sido señalados previamente como constituyentes de *Anacardium occidentale* (Tyman JHP, 1979), *Anacardium spondias* (Wang D *et al.* 1998), *Knema elegans* (Spencer G *et al.* 1980), *Knema laurina* (González MJTG *et al.*, 1996) y *Ginkgo biloba* (Itokawa H *et al.*, 1987). La posición de los dobles enlaces entre los carbonos 8' y 9' se confirmó adicionalmente por los iones en m/z 219 y 175 [219-CO₂]⁺ en los espectros de masas en modo IE y en modo IQP, correspondientes al rompimiento alílico al doble enlace con eliminación 1-4 de Hidrógeno, y con descarboxilación adicional.

Es importante mencionar que en el presente trabajo no se detectó el ácido 6-undecilsalicílico, compuesto que fue registrado previamente por Sharma NK *et al.*, (1966) como constituyente del fruto de *Anacardium giganteum*, identificándolo sólo por reacciones de degradación, sin utilizar ninguna técnica espectroscópica.

La fase acuosa obtenida después de la partición entre CHCl₃ y agua del extracto metanólico de la nuez de *A. giganteum* no presentó actividad citotóxica relevante; sin embargo, a partir de esta fase se aislaron los compuestos **8** y **9**, de los cuales el primero presentó actividad citotóxica leve contra las líneas celulares utilizadas.

El espectro de masas en modo APCI del compuesto **8** mostró un ión pseudomolecular [M+H]⁺ en m/z 581, indicando un peso molecular de 580 uma para este compuesto. Los iones en m/z 273 y 309 [M-272+H]⁺ presentes en el espectro de masas en modo IE sugirieron la presencia de una flavanona; la cual fue confirmada por los iones intensos en m/z 153 y 120, característicos de la ruptura Retro-Diels Alder del anillo C de una flavanona trisustituida (Markham KR 1982; Justesen U *et al.*, 1998). Los datos del espectro UV del compuesto **8**, fueron concordantes con la presencia de la flavanona debido a las bandas de absorción I y II en 286.4 y 314.1 nm (Markham KR, 1982).

El análisis detallado del espectro de RMN-¹H junto con el espectro COSY H-H del compuesto **8** permitieron identificar las siguientes subestructuras: dos anillos aromáticos sustituidos asimétricamente en posición *para*, por la presencia de la señal en δ 7.37 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), que correlaciona con

la señal en δ 6.77 (2H, d, $J = 8.7$ Hz), y la señal en δ 7.24 (2H, d, $J = 8.5$ Hz) que correlaciona con la señal en δ 6.78 (2H, d, $J = 8.7$ Hz); un tercer anillo aromático tetrasustituido, por la correlación de los dobletes en δ 6.21 y 6.16, con una constante de acoplamiento característica de protones en posición *meta* ($J = 2.2$ Hz); un sistema olefínico con geometría *trans* ($J = 16$ Hz), por la correlación de los dobletes en δ 7.57 y 6.31, cuyo desplazamiento químico a campo bajo, sugiere que está conjugado con un carbonilo; y un grupo O-CH-CH₂ por el patrón de acoplamiento entre la señal del oximetino en δ 5.25 (1H, dd, $J = 12.7$ y 3.0 Hz) y los protones diastereotópicos de un metileno en d 3.07 (1H, dd, $J = 17.2$ y 12.7 Hz) y δ 2.68 (1H, dd, $J = 17.2$ y 3.1 Hz). Las señales restantes del espectro de RMN-¹H que aparecen entre 3.39 y 4.98 ppm, corresponden a 5 oximetinos característicos de una unidad de glucosa sustituida en el C-6 por un grupo desprotector (Yokosuka A *et al.*, 2002), cuya identidad fue confirmada adicionalmente por la comparación de los datos del espectro de RMN ¹³C con los de la literatura (Breitmaier E *et al.*, 1989). La constante de acoplamiento del protón anomérico en d 4.98 ($J = 7.5$ Hz) indicó la presencia de un enlace β -D-glucosídico en este compuesto.

En el espectro de RMN-¹³C se observaron las siguientes señales: dos señales en δ 198.4 y δ 169.0 que corresponden a dos carbonos carbonílicos; cinco señales entre δ 166.8 y δ 159.0 asignables a carbonos de anillos aromáticos oxigenados sin hidrógeno; ocho señales entre δ 131.2 y δ 127.2 correspondientes a carbonos aromáticos con un hidrógeno; una señal en δ 101.1 junto con cinco señales entre δ 77.8 y δ 64.6 que corresponden a la subunidad de β -D-glucosa; dos señales en δ 146.8 y δ 114.9 correspondientes a los dos carbonos sp² del sistema olefínico; y dos señales restantes en δ 80.2 y 44.1 que se asignaron al grupo O-CH-CH₂.

El análisis de las correlaciones presentes en los espectros de HMQC y HMBC (Figura 2) permitió confirmar la presencia de la flavanona naringenina, sustituida en el carbono 7 por una unidad de β -D-glucosa (correlación entre el carbono cuaternario en δ_c 166.8 y el protón anomérico de la glucosa en d_H 4.98). Adicionalmente, se determinó la presencia de una subunidad *p*-cumaroil unida al carbono 6'' de la glucosa (correlación del carbono carbonílico en δ_c 169.1 con los protones olefínicos en δ_H 7.57 y 6.31 y los protones del C-6'' de la glucosa en δ_H 4.54 y 4.28).

Con base en el análisis anterior, se dedujo que la estructura del compuesto **8** era la 5,7,4'-trihidroflavanona-7-(6''-O-4-hidroxicinamoil)-O- β -D-glucopiranosido, comúnmente conocida como naringenina-7-(6''-O-*p*-

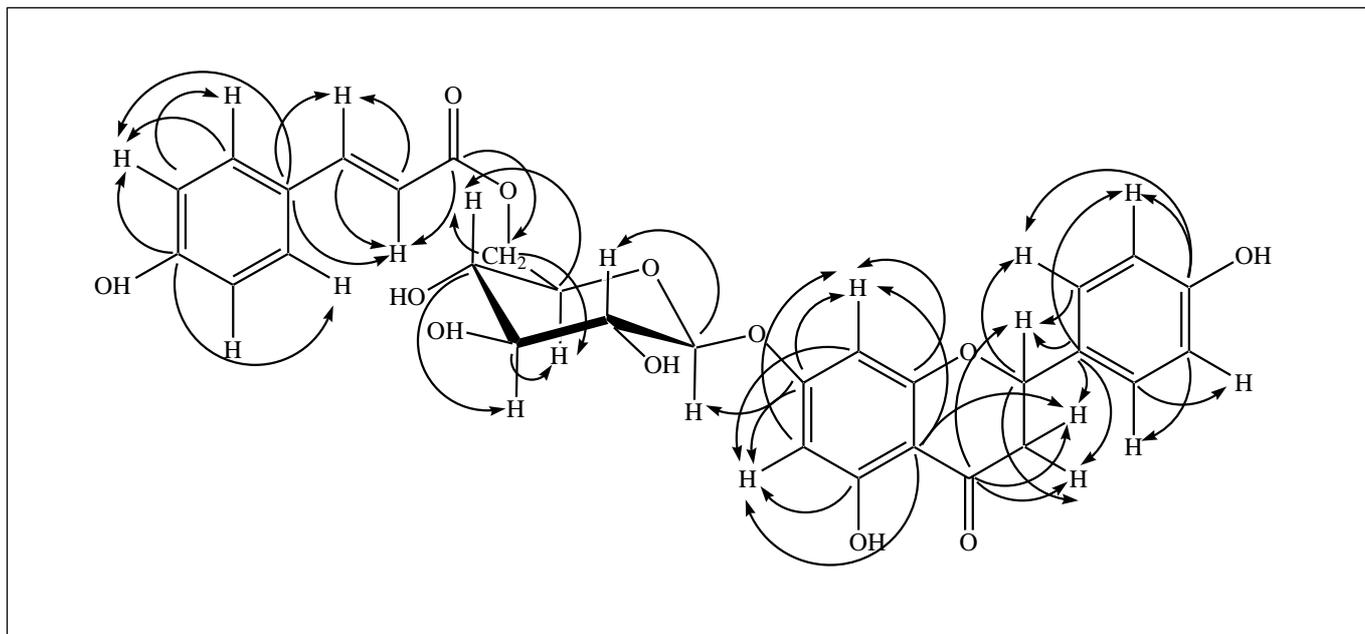


Figura 2. Correlaciones presentes en el espectro HMBC del compuesto 8.

cumaroil)- β -D- glucopiranosido. Este compuesto ha sido previamente aislado a partir de *Anacardium occidentale* (Rahman W *et al.*, 1978), *Anisomeles ovata* (Rao L *et al.*, 1985), *Phlomis aurea* (El-Negoumy SI *et al.*, 1986) y *Mabea fistulifera* subsp. robusta (Garcés W *et al.*, 1997); sin embargo, en este trabajo es la primera vez que se realiza la asignación completa de todas las señales de los espectros de RMN- ^1H y de ^{13}C de este compuesto (Tabla 1) mediante el uso de las técnicas bidimensionales HMQC y HMBC.

El análisis espectroscópico del compuesto 9 indicó que su estructura era similar a la del compuesto 8, con excepción de la desaparición de las señales correspondientes a la subunidad *p*-cumaroil. De esta forma se propuso que el compuesto 9 era la 5,7,4'-trihidroxi-flavanona-7-*O*- β -D-glucopiranosido, conocido como naringenina-7-*O*- β -D-glucopiranosido o prunina, el cual ha sido aislado de diversas fuentes naturales.

Ensayos de citotoxicidad

El extracto crudo de la nuez de *A. giganteum*, así como las diferentes fracciones se sometieron a ensayos de citotoxicidad contra las células tumorales humanas HEp-2, MCF-7, HT-29 y MKN-45, encontrando una actividad leve para el extracto crudo y la fase clorofórmica. La fase acuosa solo presentó actividad leve frente a la línea celular MCF-7. Posteriormente, los compuestos puros 1 – 9 se so-

metieron a los mismos bioensayos encontrando que los 5-alkilresorcinoles 1-3 exhibían una actividad moderada y que el compuesto 8 tenía una actividad leve, contra las líneas tumorales ensayadas; siendo los compuestos 1 y 2 los que presentaron mayor actividad. Los compuestos 4 – 7 y el 9, no fueron activos frente a estas líneas celulares. Los resultados de éstos ensayos se resumen en la Tabla 2.

Vale la pena resaltar que todos los compuestos fueron en general menos activos frente a la línea celular HT-29, mostrando un indicio de selectividad frente a las otras tres líneas celulares (HEp-2, MCF-7 y MKN-45). Esta es la primera vez que se determina la actividad citotóxica de los compuestos 1 – 9 contra las líneas celulares HEp-2, MCF-7, HT-29 y MKN-45.

Aunque la citotoxicidad de los compuestos obtenidos a partir de la nuez de *Anacardium giganteum* no es muy alta sobre las líneas empleadas, la LC_{50} para los compuestos 1-3 está en el mismo orden de magnitud del valor 4 mg/ml, considerado como límite superior de selección de compuestos promisorios para convertirse en medicamentos (Jantová S *et al.*, 2003; Betancur-Galvis L *et al.*, 2001). Adicionalmente, éstos compuestos pueden ser combinados con otros con el fin de aumentar su efecto citotóxico (Kozubek A *et al.*, 1999; Kubo I *et al.*, 1993). La citotoxicidad de los compuestos 1 a 7 han sido probada frente a las líneas celulares BT-20 (cáncer de mama) y HeLa (carcinoma de cervix) (Kubo I *et al.*, 1993) encon-

Tabla 2. Resultados de los ensayos de citotoxicidad de los compuestos aislados de la nuez de *Anacardium giganteum*.

Líneas celulares →	CL ₅₀			
	HEp-2 (µg/ml)	MCF-7 (µg/ml)	HT-29 (µg/ml)	MKN-45 (µM)
Compuestos ↓				
1	6.5 (6.1 - 6.8)	8.4 (8.1 - 8.7)	9.7 (9.5 - 9.8)	8.0 (7.7 - 8.4)
2	3.7 (3.2 - 4.2)	7.7	10.2 (9.4 - 11.5)	7.5 (5.8 - 9.7)
3	12.2 (11.0 - 13.4)	15.6 (14.1 - 17.2)	20.4 (19.9 - 20.9)	21.2 (20.3 - 22.1)
8	24.4 (20.5 - 28.4)	20.9 (18.6 - 23.3)	37.1 (34.7 - 39.4)	25.8 (22.6 - 28.8)
Doxorubicina HCl	0.6 (0.5 - 0.8)	0.2 (0.1 - 0.3)	0.1 (0.1 - 0.2)	0.3 (0.2 - 0.4)

Intervalo de confianza para $\alpha = 0.05$.

trando al igual que en los resultados mostrados en este trabajo, que los 5-alquenilresorcinoles son más activos que los ácidos 6-alquenilsalicílicos.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación otorgada por Colciencias-BID; por el programa IPICS (International Program in Chemical Science) de la Universidad de Uppsala, Suecia; y por la agencia JSPS (Japan Society for the Promotion of Science) del gobierno del Japón, para la realización del presente trabajo.

Bibliografía

- Arévalo LE, Reyes J.** 2001. Aproximación al conocimiento de la familia *Anacardiaceae* en aspectos taxonómicos, fitogeográficos y etnobotánicos en la región del Aracuaera (Amazonia colombiana). Tesis de Biología. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Arisawa M, Ohomura K, Kobayashi A, Morita N.** 1989. A cytotoxic constituent of *Lysimachia japonica* thumb (Primulaceae) and the structure activity relationships of related compounds. *Chem. Pharm. Bull.* **37**(9): 2431-2434.
- Betancur-Galvis L, Zuluaga C, Arno M, González MA, Zaragoza RJ.** 2001. Structure-activity relationship of in vitro antiviral and cytotoxic activity of semisynthetic analogues of scopadulane diterpenes. *J. Nat. Prod.* **64**(10): 1318-1321.
- Bonilla A, Duque C, Garzón C, Takaishi Y, Yamaguchi K, Hara N, Fujimoto Y.** New antimicrobial yellow pigments from the seeds of Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Phytochemistry. Sometido.*
- Bouillant ML, Jacoud C, Zanella J, Favre-Bonvin J, Bally R.** 1994. Identification of 5-(12-heptadecenyl)-resorcinol in rice root exudates. *Phytochemistry* **35**(3): 769-771.
- Breitmaier E, Voelter W.** 1989. Carbon-13 NMR Spectroscopy. 3rd Edition. VCH. Weinheim. Pags. 450-465.
- Cordero, CP.** 2002. Implementación de un método *in vitro* de evaluación preliminar de actividad anticancer de extractos vegetales empleando líneas celulares derivadas de tumores humanos. Tesis Química Farmacéutica. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- El-Negoumy SI, Abdalla MF, Saleh NAM.** 1986. Flavonoids of *Phlomis aurea* and *Phlomis floccosa*. *Phytochemistry* **25**(3): 772-774.
- Garcés W, Garcés F, Pellicciari I, Hara SM, Ferreira F, Nakasse L, Siqueira J.** 1997. A bioactive naringenin coumaroil glucoside from *Mabea fistulifera* subsp. *robusta*. *Planta Med.* **63** (4): 386.
- González MJTG, De Oliveira CJC, Fernández JO, Kijoa A, Herz W.** 1996. Further alkyl and alkylphenols of *Knema astrosiamensis*. Location of the double bound in the alkenyl side chains. *Phytochemistry* **43**(6): 1333-1337.
- Itokawa H, Totsuka N, Nakahara K, Takeya K, Lepoittevin JP, Asakawa Y.** 1987. Antitumor principles from *Ginkgo biloba* L. *Chem. Pharm. Bull.* **35**(7): 3016-3020.
- Jantová S, Cipák L, Cernaková M, Kostalová D.** 2003. Effect of berberine on proliferation, cell cycle and apoptosis in HeLa and L1210 cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **55**: 1143-1149.
- Justensen U, Knithsen P, Leth T.** 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high performance liquid chromatography with photodiode array and mass spectrometric detection. *J. Chromat. A.* **799**(1-2): 101-110.
- Kozubek A, Tyman JHP.** 1999. Resorcinolic lipeds, the natural non-isoprenoid phenolic amphiphiles and their biological activity. *Chem. Rev.* **99**(1): 1-25.
- Kubo I, Ochi MO, Vieira PC, Komatsu S.** 1993. Antitumor agents from cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. *J. Agric. Food Chem.* **41**(6): 1012-1015.

- Lytollis WJ, Scannell RT, An H, Murty VS, Reddy KS, Barr JR, Hecht SM.** 1995. 5-Alkylresorcinols from *Hakea trifurcata* that cleave DNA. *J. Am. Chem. Soc.* **117**(51): 12683-12690.
- Lie Ken Jie M, Mustafa J.** 1997. High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy. Applications to fatty acids and tryacylglycerols. *Lipids* **32**(10): 1019-1034.
- Markham KR.** 1982. *Techniques of Flavonoid Identification.* Academic Press, London.
- Nakagawa H, Takaishi Y, Fujimoto Y, Osorio C, Duque C, Garzón C.** Chemical constituents from the Colombian medical planta *Maytenus laevis*. *J. Nat. Prod.* Sometido.
- Rahman W, Ishratullah K, Wagner H, Seligmann O, Chari V, Österdhal BG.** 1978. Prunin-6''-O-p-coumarate, a new acylated flavanone glycoside from *Anacardium occidentale*. *Phytochemistry* **17**(6): 1064-1065.
- Rao L, Kumari G, Rao N.** 1985. Flavonoid glycosides from *Anisomeles ovata*. *J. Nat. Prod.* **48**(1): 150-151.
- Sang S, Lapsley K, Jeong W, Lachance P, Ho Ch, Rosen R.** 2002. **Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus Batsch*)** *J. Agric. Food Chem.* **50**(8): 2459-2463.
- Sargent M, Wangchareontrakul S.** 1989. Synthesis and identification of alkenyl and alkadienyl catechols from Brimese Lac. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **2**: 431-439.
- Sargent M, Wangchareontrakul S.** 1990. The synthesis of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica* (Witchweed). *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **5**: 1429-1434.
- Satoh M, Takeushi N, Nishimura T, Ohta T, Tobinaga S.** 2001. Synthesis of anacardic acids, 6-[8'(Z),11'(Z)-pentadecadienyl]-salicylic acid and 6-[8'(Z),11'(Z),14-pentadecatrienyl]salicylic acid. *Chem. Pharm. Bull.* **49**(1): 18-22.
- Sharma NK, Sharma VN.** 1966. Structure of anagigantic acid isolated from *Anacardium giganteum*. *Indian J. Chem.*, **4**(11): 504.
- Spencer G, Tjarks LW, Kleiman R.** 1980. Alkyl and phenylalkyl anacardic acids from *Knema elegans* seed oil. *J. Nat. Prod.* **43**(6): 724-730.
- Suzuki Y, Esumi Y, Uramoto M, Kono Y, Sakurai A.** 1997. Structural analyses of carbon chains in 5-alk(en)ylresorcinols of rye and wheat whole flour by tandem mass spectrometry. *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**(3): 480-486.
- TCA, Tratado de Cooperación Amazónica.** 1994. *Plantas medicinales amazónicas. Realidad y perspectivas.* Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaría pro Tempore. Lima (Perú).
- TCA, Tratado de Cooperación Amazónica.** 1997. *Cultivo de frutales nativos amazónicos, manual para el extensionista.* Tratado de Cooperación Amazónica, Secretaría pro Tempore. Lima (Perú).
- Tyman JHP.** 1979. Non isoprenoid long chain phenols. *Chem Soc. Rev.* **8**: 499-537.
- Wang D, Girard TJ, Kasten TP, LaChance RM, Miller-Widerman MA, Durley RC.** 1998. Inhibitory activity of unsaturated fatty acids and anacardic acids toward soluble tissue factor VII-a complex. *J. Nat. Prod.* **61**(11): 1352-1355.
- Yamagiwa Y, Ohayashi K, Sakamoto Y, Arikawa S, Kamikawa T.** 1987. Synthesis of anacardic acids and ginkgoic acid. *Tetrahedron*, **43**(15): 3387-3394.
- Yokosuka A, Mimaki Y, Sashida Y.** 2002. Steroidal and pregnane glycosides from rhizomes of *Tacca chantrieri*. *J. Nat. Prod.* **65**(9): 1293-1298.

Recibido el 12 de marzo de 2004

Aceptado para su publicación el 10 de octubre de 2004