

ESTUDIO QUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DEL FRUTO DE *Morinda citrifolia* Lineo (noni)

Zoila Garay Cauti¹, Otilia Acha De la Cruz¹, Amada de Souza², Ingrid E. Collantes Díaz^{3*}

RESUMEN

Las hojas y frutos de *Morinda citrifolia* Lineo fueron colectados en el Perú, en el departamento del Ucayali (Pucallpa). La identificación de los compuestos principales del aceite esencial de la pulpa con semillas y cáscaras del fruto fresco del noni se realizó a través del análisis del índice de Kovats; asimismo, del extracto hexánico del fruto fresco se aisló el ácido 3-*epi*-corosólico, el cual fue identificado por análisis espectroscópico de RMN¹H y RMN¹³C.

Palabras clave: *Morinda citrifolia* L., aceite esencial, índice de Kovats, ácido 3-*epi*-corosólico.

CHEMICAL STUDY OF THE ESSENTIAL OIL OF *Morinda citrifolia* Lineo (noni)

ABSTRACT

The leaves and fruit of *Morinda citrifolia* Lineo was collected in Peru in the department of Ucayali (Pucallpa). The identification of major compounds of essential oil from the pulp with seeds and peel fresh noni fruit was done through analysis of Kovats index; also the hexane extract of fresh fruit was isolated 3-*epi*-corosolic acid, which was identified by spectroscopic analysis of the RMN¹³C RMN¹H.

Key words: *Morinda citrifolia* L., essential oil, Kovats index, acid 3-*epi*-corosolic.

INTRODUCCIÓN

La familia Rubiaceae está conformada por 600 géneros y alrededor de 7000 especies distribuidas principalmente en los trópicos y subtropicos; el género *Morinda* comprende alrededor de 80 especies. *Morinda citrifolia* Linneo (noni) es conocida como el queso de frutas, morera india. Nativa del sud este del Asia, Australia, Oceanía y de Asia tropical, se extiende desde la Polinesia a la India; es usada popularmente en muchas partes del mundo para un sin número de enfermedades, llegando a ser llamada como “cura todo”; es por esta razón que despertó gran interés económico y ha sido utilizada en la medicina tradicional desde hace 2000 años. La planta viene siendo estudiada desde 1920¹; el artículo de revisión de esta planta² reporta que las diferentes partes de *M. citrifolia* es usado para afirmar el sistema inmunológico, contra las bacterias, virus, algunos parásitos, para infecciones por hongos; previene la diabetes incluso previene la formación y la proliferación de tumores malignos. Actualmente se cultiva en la selva peruana, y como consecuencia de la divulgación de sus efectos curativos popularmente se presentó el consumo indiscriminado de jugos del “noni”;

¹ Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería, Av Tupac Amaru 210, Lima 25, Perú.

² Departamento de Botânica do Instituto de Biociencias da Universidade de São Paulo

^{3*} Laboratório de Extração da Universidade Paulista. Av. Paulista 900, Bela Vista, C.E.P. 01310-100 São Paulo, Brasil. ingrit_uni@hotmail.com

para algunos autores la administración del jugo en animales de laboratorios no se observó toxicidad^{3,4}; sin embargo, en el estudio clínico en seres humanos fue confirmado insuficiencia renal crónica⁵. Existen muchos estudios en el jugo industrial como medida de evitar adulteraciones⁶. El fruto maduro tiene un olor fétido ya que es muy rico en ácidos grasos, y según el artículo de revisión por Pawlus & Kinghorn 2007², hasta ese año se tiene resultados de 200 moléculas aisladas de las diferentes partes de la planta, como ácidos grasos, antraquinonas, ésteres, glicolípidos, flavonoides, iridoides, lignanos, triterpeno, etc. En este artículo abordaremos el estudio de los componentes del aceite esencial de las cáscaras y de la pulpa con semillas de *M. citrifolia*, así como también el aislamiento de ácido 3-*epi*-corosólico del extracto hexánico del fruto fresco.

PARTE EXPERIMENTAL

Colecta de la muestra y la identificación botánica

La muestra de hojas y frutos frescos (20 kg) (figura 1), fueron colectadas en la ciudad de Pucallpa, departamento de Ucayali, el 15 de mayo de 2007.

La muestra vegetal fue clasificada como *Morinda citrifolia* Linneo y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1998). Fue determinado por la Ms. Joaquina Albán Castillo y una muestra de la planta fue depositada en el Museo de Historia Natural de Lima, Perú.

Tabla 1. Identificación taxonómica de *M. citrifolia*.

División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	Magnoliopsida (Dicotiledoneae)
Sub-clase	Asteridae
Orden	Rubiales
Familia	Rubiaceae
Genero	<i>Morinda</i>
Especie	<i>Morinda citrifolia</i> Linneo
Nombre vulgar	Noni



Figura 1. Hojas y fruto fresco de *M. citrifolia*.

Extracción del aceite esencial

El aceite esencial de la cáscara y de la pulpa con semillas del fruto fresco fue extraído por el método de arrastre de vapor de agua por 4 h en un aparato de Clevenger⁷; el aceite obtenido después del condensador del aparato de Clevenger fue separado del agua con pentano; posteriormente secado con sulfato de sodio anhidro.

Análisis por cromatografía de gases, acoplado con espectro de masas (GC/MS)

Para el análisis de la composición química del aceite esencial, el aceite fue diluido en acetona en la proporción 1:100 v/v y sometido a análisis de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM); se utilizó un cromatógrafo de la marca Agilent (6890 Series) acoplado a un espectrómetro de masas cuadrupolo (5973) operando a 70 eV, 0,25 μm . utilizándose columna capilar DB-5 (30m x 0,25 mm x 0,25 μm). La temperatura del inyector fue de 250°C y el detector de ionizador de llama FID. La programación de la temperatura del horno fue 40°C por 1 min, 40- 240°C, a 3°C/min teniendo helio como gas de arrastre (1 mL/min) y con tiempo total de análisis de 80 minutos.

Los compuestos fueron identificados por comparación de sus IK (índice de Kovats) relativos a C5-C29 n-alcános obtenidos en una columna apolar DB-5 con los proporcionados en la literatura, por comparación de sus espectros de masas de la NIST 08 (Natl. Inst. of Standards and Technology)⁸.

Aislamiento del ácido 3-*epi*-corosólico

El fruto fresco fue cortado en rodajas y secado en una estufa a 40°C por 4 días, luego fue molido en un molino Molinex hasta obtener granos finos (350 gr), el material molido fue sometido a extracción en soxhlet por 20 horas, utilizando como solvente n-hexano.

El extracto fue concentrado en rotaevaporador, obteniéndose un extracto pastoso (2,6g), el cual fue resuspendido en metanol para hacer una partición con hexano (983,6 mg), y la fase metanol-agua (1616,4 mg) fue extraído con cloroformo sucesivas veces, obteniéndose una fracción resinosa (10 mg), la cual fue cromatografiada en una placa de sílica gel PF 254 preparativa de la marca MERCK en una placa de vidrio de 20x20 cm y 1 mm de espesor, eluyendo en una mezcla de solventes cloroformo: acetato de etilo: metanol (2:2:1) sucesivas veces para aislar el ácido 3-*epi*-corosólico.

Análisis por resonancia magnética nuclear

Los espectros de resonancia magnética nuclear ¹H y de ¹³C fueron registrados en un espectrómetro de la marca Bruker AC-200 operando a 200 MHz (4,69T) para RMN ¹H y 50 MHz (7,05T) para RMN ¹³C, de acuerdo con la solubilidad de las muestras, los espectros fueron obtenidos en CDCl₃, marca Merck y piridina-*d*₅, deuterada, marca Aldrich.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite esencial de ambas partes estudiadas del fruto fresco se caracteriza por ser incoloro y tener un olor fétido, que está en concordancia con el trabajo de FARINE, J.P 1996⁹.

La figura 2 representa los cromatogramas obtenidos del análisis por CG-MS del aceite esencial de la pulpa con semillas y de la cáscara del fruto fresco, en los que se puede observar que el cromatograma de la pulpa con semillas es más rico en composición química, comparado con el obtenido de la cáscara de la fruta fresca.

En la tabla 2 se presenta en paralelo los componentes químicos en porcentaje, tiempo de retención y los índices de Kovats calculados relativos a C5-C29 n-alcános, de la pulpa con semillas y de la cáscara del fruto fresco de *M. citrifolia*, en la que se observa que 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona, heptanona, hexanoato de metil, hexanoato de etilo, linalol, octanoato de

metilo, octanoato de etilo, ácido nonanoico, hexanoato de prenila, decanoato de metilo, están presentes en ambas partes estudiadas, donde tenemos cetonas, ésteres de hidrocarburos alcanos, ácidos y un único alcohol; también está la presencia de alto porcentaje en la cáscara de hexanoato de metilo, octanoato de metilo y octanoato de etilo, comparado con el aceite esencial de la pulpa con semillas.

Nonanona-2, α -terpineol, acetato de bornilo, prezizaeno, α -humuleno, γ -muroleno, γ -cadineno, δ -cadineno y oxicariofileno que en su mayoría son terpenos están solamente presente en el aceite esencial de la pulpa con semillas en bajas proporciones, a excepción de prezizaeno (11,9%) y oxicariofileno (7,4%); ya en la cáscara fue identificado benzoato de bencilo en baja proporción (0,5%).

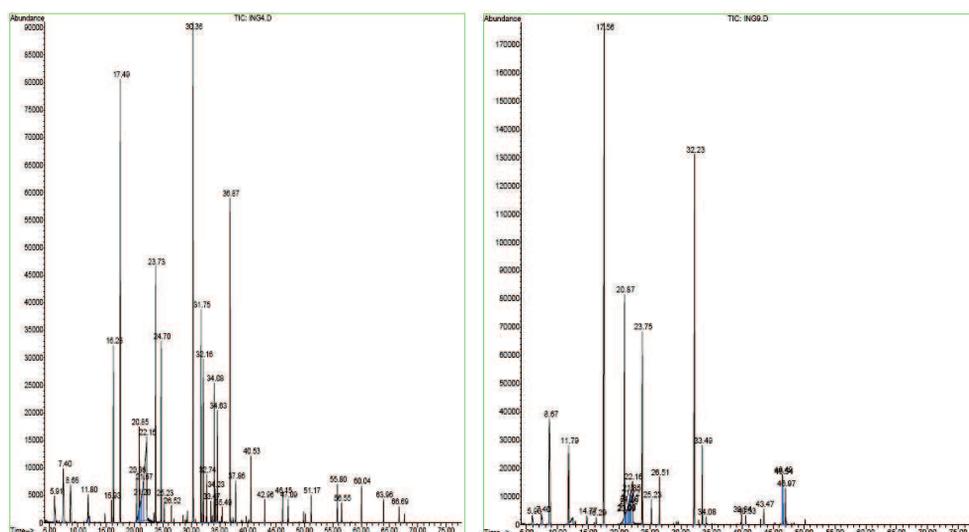


Tabla 2. Composición química (porcentaje) del aceite esencia de la pulpa con semillas y de la cáscara del fruto de *M. citrifolia* usando el método de arrastre de vapor.

Compuesto	TR (ps)	% (ps)	IK (ps)	TR (c)	% (c)	IK (c)
4-hidroxi-4-metil-2-pentanona	5,90	1,48	839	5,93	0,8	839
Heptanona	7,41	3,34	892	7,41	0,9	892
Hexanoato de metilo	8,68	2,12	929	8,67	9,6	928
Hexanoato de etilo	11,80	1,21	999	11,8	4,6	999
ni	-	-	-	14,77	0,4	1068
Nonanona-2	15,93	0,5	1091	-	-	-
Linalol	16,28	4,1	1098	16,29	0,2	1098
Octanoato de metilo	17,49	11,1	1126	17,56	26,5	1128
α -terpineol	20,35	1,02	1186	-	-	-
Octanoato de etilo	20,85	2,6	1196	20,88	8,9	1197
ni	-	-	-	20,99	0,4	1199
ni	-	-	-	21,08	0,4	1200
ni	21,19	1,98	1203	-	-	-
ni	-	-	-	21,4	2,3	1208
ni	-	-	-	21,49	0,9	1210
ni	21,58	4,24	1213	-	-	-
ni	-	-	-	21,72	2,6	1216
ni	-	-	-	21,84	1,99	1219
ni	22,15	13,2	1226	22,15	6,4	1226
Ácido nonanoico	23,73	5,9	1261	23,75	7,2	1262
Acetato de bornil o	24,71	3,9	1282	-	-	-
Hexanoato de prenila	25,23	0,5	1293	25,23	0,7	1293
Decanoato de metila	26,52	0,3	1323	26,51	1,4	1323
Prezizaeno	30,35	11,9	1411	-	-	-
α -humuleno	31,75	4,6	1447	-	-	-
ni	32,16	3,5	1457	-	-	-
ni	-	-	-	32,22	16,5	1458
γ -muroleno	32,75	0,96	1471	-	-	-
ni	33,47	0,5	1488	33,49	2,3	1488
γ -cadineno	34,23	0,7	1507	-	-	-
δ -cadineno	34,63	2,7	1517	-	-	-
oxicariofileno	36,87	7,4	1576	-	-	-
ni	37,86	0,8	1601	-	-	-
ni	-	-	-	39,83	0,3	1655
Benzoato de bencilo	-	-	-	43,46	0,5	1763
ni	-	-	-	46,49	0,5	1855
ni	-	-	-	46,54	1,4	1856
ni	-	-	-	46,97	1,1	1869

TR tiempo de retención, IK Índice de Kovats, (ps) pulpa con semillas, (c) cáscara y (ni) no identificado.

El espectro de RMN ^1H (figura 5) del aceite esencial bruto de la cáscara presenta señales características de ácidos grasos alifáticos, como un triplete a 0,84 ppm de metil terminal de una cadena alifática, un singlete ancho en 1,26 ppm característico de CH_2 de la cadena, un triplete en 2,3 ppm característico de los hidrógenos del carbono que está en posición α al carbonilo del grupo ácido y 10,7 ppm característico del hidrógeno COOH .

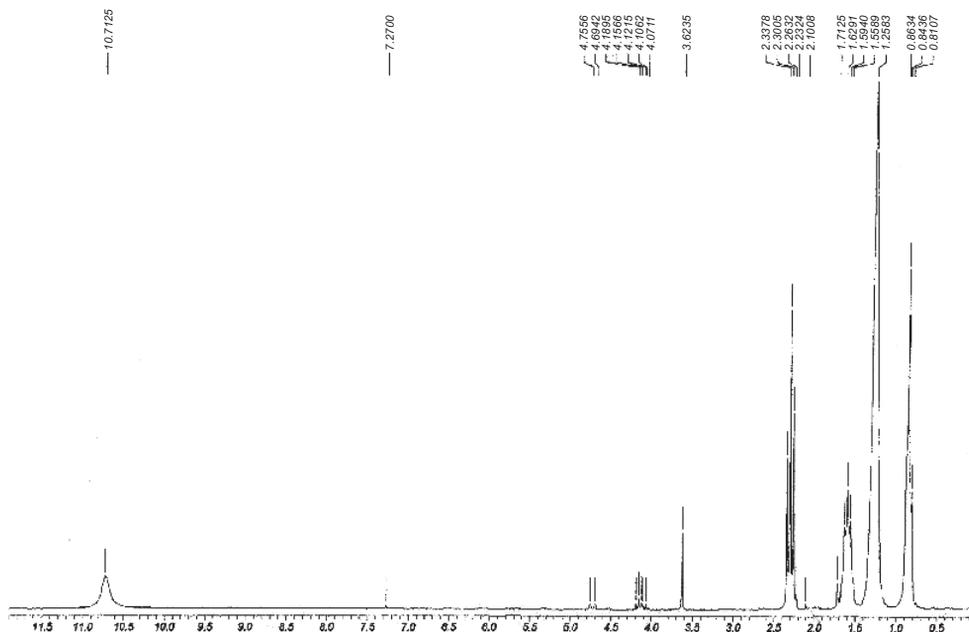


Figura 5. Espectro de RMN ^1H del aceite esencial bruto de la cáscara de *M. citrifolia* en CDCl_3 , δ 7,27 ppm.

El espectro de RMN ^{13}C (figura 6) del aceite esencial bruto de la cáscara presenta señales a 180,3 ppm característico del carbonilo del ácido, 13,9 ppm del metilo terminal de la cadena alifática, 28,8 y 28,9 ppm son dos singletes característico de los CH_2 de la cadena alifática, un pico en 34,0 señal característica del CH_2 que está en posición α al carbonilo del grupo ácido.

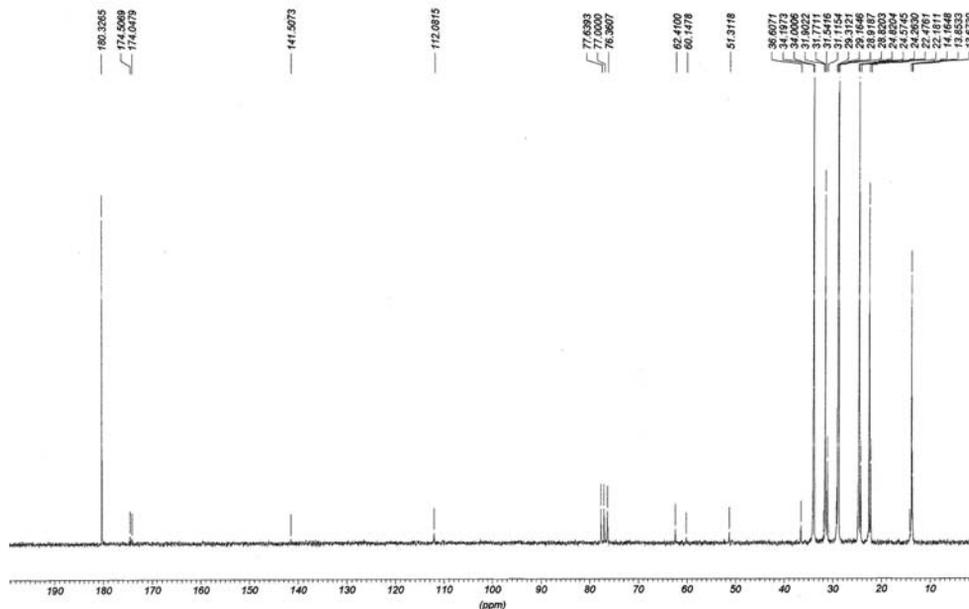


Figura 6. Espectro de RMN ^{13}C del aceite esencial bruto de la cáscara de *M.citrifolia* en CDCl_3 δ 77,0 ppm.

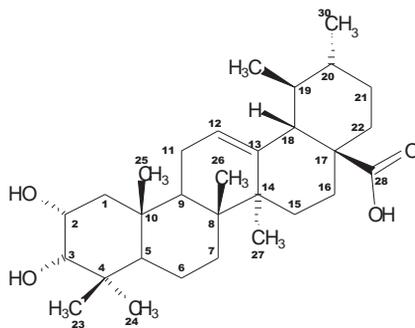


Figura 7. Ácido 3-*epi*-corosólico.

Ácido 3-*epi*-corosólico (figura 7) con fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$, fue aislado 3 mg de un sólido crema amorfo. La identificación fue posible a través del análisis del espectro de RMN ^{13}C (figura 8), donde se observa 30 picos, con desplazamiento químico de 180,10 ppm típico de un carbono de COOH del C-28, 139,22 y 125,35 ppm, señales típicas de carbonos de doble enlace correspondiente a los C-13 y C-12, 79.16 y 65.94 ppm señales típicas de carbonos enlazados a grupos hidróxido correspondientes a los carbonos C-3 y C-2,

desplazamientos químicos característicos de triterpenos con esqueleto básico del tipo ursano. La comparación de estas señales con el ácido *3-epi*-corosólico disponibles en la literatura¹⁰, permitió verificar que se trataba del mismo compuesto.

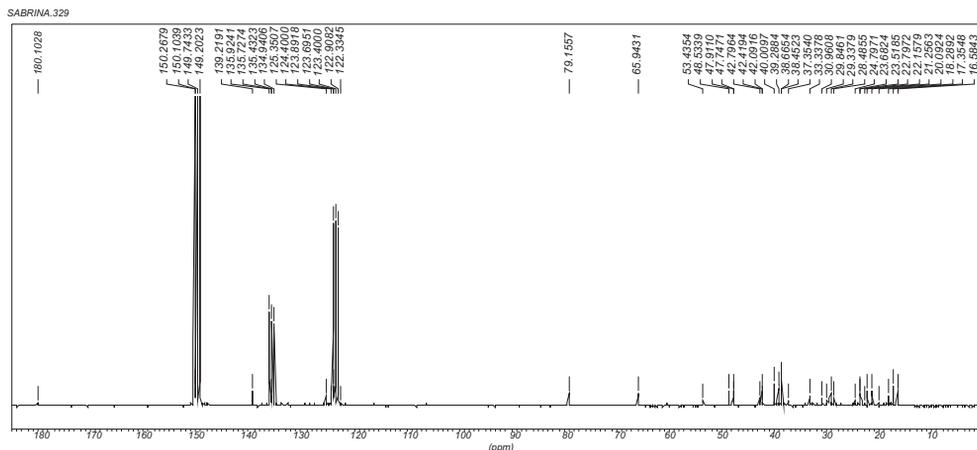


Figura 8. Espectro de RMN¹³C del ácido *3-epi*-corosólico en piridina-*d*₅, a 50 Mhz.

El espectro de RMN de hidrógeno (figura 9) presentó señales 0,79; 0,85; 0,93; 1,00; 1,2; 1,3; 1,16 ppm; son singletes de los metilos (s, CH₃) 0,84; 2,51 ppm un duplete (con *J*= 11,42 Hz) correspondiente al H-18; 3,66 ppm correspondiente al H-3 ; 4,20 ppm, al H-2 .

Tabla 3. Correlación de los desplazamientos químicos de RMN¹³C del ácido *3-epi*-corosólico.

Nº (C)	Tipo de carbono	δ (ppm) (C 13)	Nº (C)	Tipo de carbono	δ (ppm) (C 13)
1	CH ₂	47,91	16	CH ₂	29,33
2	CH	65,94	17	C	42,79
3	CH	79,15	18	CH	48,53
4	C	39,28	19	CH	38,45
5	CH	53,43	20	CH	42,09
6	CH ₂	21,25	21	CH ₂	30,96
7	CH ₂	33,33	22	CH ₂	29,84
8	C	40,00	23	CH ₃	28,45
9	CH	47,74	24	CH ₃	24,79
10	C	38,66	25	CH ₃	16,58
11	CH ₂	22,79	26	CH ₃	18,28
12	CH	125,35	27	CH ₂	23,51
13	C	139,21	28	C	180,10
14	C	42,41	29	CH ₃	17,35
15	CH ₂	23,68	30	CH ₃	22,15

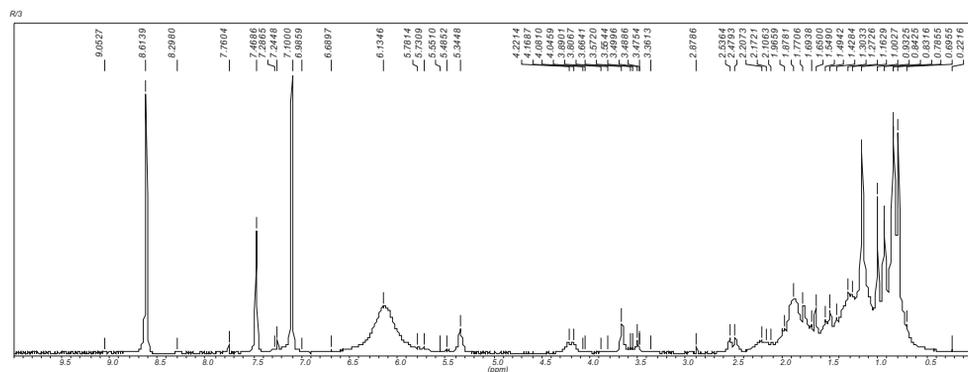


Figura 9. Espectro de RMN¹H del ácido 3-*epi*-corosólico en piridina-*d*₅, a 200 Mhz.

CONCLUSIONES

De los resultados de análisis cromatográfico del aceite esencial bruto de la pulpa con semillas, fueron observados 25 componentes, de los cuales 19 fueron identificados, teniendo como componentes mayoritarios octanoato de metilo (11,1%), un compuesto no identificado (13,2%) y prezaeno (11,9%); para el caso de la cáscara se observó 25 componentes, de los cuales 11 fueron identificados, presentando como componentes mayoritarios hexanoato de metilo (9,6%), octanoato de metilo (26,6%), octanoato de etilo (8,9%) y un compuesto no identificado (16,5%).

A partir de extracto hexánico de la fruta *M. citrifolia* fue aislado 3mg del ácido 3-*epi*-corosólico, el cual no fue reportado en trabajos precedentes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto General de Investigación de la UNI y al Instituto de Investigación de la Facultad de Ciencias-UNI, por el apoyo económico que nos brindaron, para la realización de todo este trabajo de investigación, desde la colecta de la muestra hasta la etapa final de la parte experimental.

BIBLIOGRAFÍA

1. J.L. Simonsen, Note on the Constituents of *Morinda citrifolia*. *J. Chem. Soc. Tran.*, 1920, 117, 561 – 564.
2. A.D. Pawlus, D. Kinghorn, Review of the ethnobotany, chemistry, biological activity and safety of the botanical dietary supplement *Morinda citrifolia* (noni). *J. Pharm. Pharmacol.* 2007, 59, 1587-1609.
3. B.J. West, Hepatotoxicity from interferon-beta, not noni juice. *Digestion* 2006, 74, 47-48.
4. J. Westendorf, K. Effenberger, H. Iznaguen, S. Basar, Toxicological and Analytical Investigations of noni (*Morinda citrifolia*) Fruit Juice. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 529-537.
5. B. Mueller, M.K. Scott, K.M. Sowinski, K.A. Prag, Noni Juice (*Morinda citrifolia*): Hidden Potential for Hyperkalemia? *Am. J. Kidney Dis.* 35, 310-312, 2000.
6. O. Potterat, R. Von Felten, P.W. Dalsgaard, M. Hamburger, Identification of TLC Markers and Quantification by HPLC-MS of Various Constituents in Noni Fruit Powder and Commercial Noni-Derived Products, *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 7489 – 7494.
7. Farmacopéia Brasileira 4ed. Parte II, Fascículo 2. *In: Diário Oficial, Suplemento n.1.* 2001.
8. R.P. Adams, “Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry”. 4ed. Carol Stream: Allured Publishing, Illinois, USA, 2007, 804.
9. Farine, J.P.; Legal, L. Moreteau, B.; Quere, J.L.L. Volatile Compounds of Ripe Fruits of *Morinda citrifolia* and their Effects on *Drosophila*. *Phytochemistry* 1996, 41, 433-438.
10. X. Wen, J. Xia, K. Cheng, L. Zhang, P. Zhang, J. Liu, *et. al.*, Pentacyclic Triterpenes part 5: Synthesis and SAR Study of Corosolic Acid Derivatives as Inhibitors of Glycogen Phosphorylases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2007, 17(21), 5777-5782.