

ALCALOIDES BENZOFENANTRIDINICOS DE *Zanthoxylum quinduensis*

BENZOPHENANTHRIDINE ALKALOIDS FROM *Zanthoxylum quinduensis*

Oscar Javier Patiño L. y Luis Enrique Cuca S.*

Recibido: 19/03/04 – Aceptado: 28/05/04

RESUMEN

Un nuevo alcaloide benzofenantridínico, llamado 8-hidroxi-2,3-metilendioxi-9-metoxibenzofenantridina, ha sido aislado de la corteza de *Zanthoxylum quinduensis*, junto con los compuestos conocidos norqueleritrina, N-nornitidina, arnottianamida y lupeol. Sus estructuras fueron elucidadas por análisis detallado de espectros RMN, incluyendo técnicas bidimensionales, por comparación con muestras auténticas y datos de la literatura.

Palabras clave: *Zanthoxylum quinduensis*, Rutaceae, alcaloides, benzofenantridínicos, 8-hidroxi-2,3-metilendioxi-9-metoxibenzofenantridina.

ABSTRACT

A novel benzophenanthridine alkaloid, named 8-hydroxy-2,3-methylenedioxy-9-methoxybenzophenanthridine, was isolated from the bark of *Zanthoxylum quinduensis*, together with the known compounds, norchelerytrine, N-nornitidine, arnottianamide, and lupeol. Their struc-

tures were elucidated by detailed analysis of NMR spectra, including 2D techniques and comparison with authentic samples and literature data.

Key words: *Zanthoxylum quinduensis*, Rutaceae, alkaloids, benzophenanthridine, 8-hydroxy-2,3-methylenedioxy-9-methoxybenzophenanthridine.

INTRODUCCIÓN

El género *Zanthoxylum* comprende aproximadamente 200 especies distribuidas en el mundo, especialmente en zonas pantropicales (1). En Colombia se encuentran reportadas hasta el momento 21 especies, repartidas en 23 de los 32 departamentos que conforman el territorio colombiano, siendo uno de los géneros de mayor distribución en el país (2).

Plantas de este género son muy empleadas en la medicina tradicional, especialmente en Asia, África y América. La corteza de *Z. integrifolium* es utilizada por aborígenes de la tribu Ya-Mei en la isla Lanyu de Taiwán, como un remedio

* Universidad Nacional de Colombia, Bogotá - Colombia, Departamento de Química, A.A. 14490, Bogotá, Colombia. Correo electrónico: leucas@unal.edu.co

para la mordedura de serpiente y la dispepsia, y como un tónico aromático para la fiebre (3). En Sri Lanka el género *Zanthoxylum* es representado por tres especies: *Z. caudatum*, *Z. rhetza* y *Z. tetraspermum*. De éstas, *Z. tetraspermum* es empleado en la medicina tradicional para el tratamiento del reumatismo y algunas formas de diarrea (4). En África, la corteza y las hojas de *Z. xanthoxyloides* son muy usadas contra la tos, fiebre, dolor de muela y mordedura de serpientes (5). La corteza de *Z. liebmannianum* es utilizada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de dolores estomacales, amebiasis, parásitos intestinales y como un analgésico local (3).

Sus especies y compuestos aislados de ellas son importantes para el tratamiento de una gran variedad de desórdenes causados por enfermedades humanas, pues presentan actividad biológica como antimicrobial (5), antibacterial (6, 7), antifúngica (6), antiinflamatoria (7), antiplasmódica (3), antitumoral (8), antiagregación plaquetaria (9), y por sus efectos citotóxicos (10), entre otros.

Los alcaloides benzofenantridínicos son el tipo de alcaloides más reportados en el género, y son de gran interés debido a que presentan actividades farmacológicas y fisiológicas como anticáncer, antiviral, antileucémica, antifúngica, efectos citotóxicos y cardiovasculares, entre otros (8, 11, 12). También los alcaloides quinolínicos (13, 14), lignanos furofuránicos (15, 16) y dibencilbutirolactónicos (17, 18), amidas alifáticas (18, 19) y aromáticas (3, 13), son muy comunes y de gran importancia quimiotaxonómica para el género *Zanthoxylum* (20). Otros metabolitos encontrados son coumarinas (3,

21), flavonoides (2, 15), terpenos (5, 6) y esteroides (2), entre otros.

En este artículo se reporta el aislamiento y la caracterización de un nuevo alcaloide benzofenantridínico, 8-hidroxi-2,3-metilendioxi-9-metoxibenzofenantridina **1** y también el primer reporte en *Z. quinduensis* de alcaloides de este tipo como norqueleritrina **2**, N-nornitidina **3**, arnottianamida **4** y un triterpeno, lupeol **5**. El aislamiento de este tipo de metabolitos es de gran importancia quimiotaxonómica para el género.

PARTE EXPERIMENTAL

General

Los puntos de fusión se tomaron en un fusímetro MEL-TEMP. Los espectros IR se tomaron en película de KBr en un equipo Perkin Elmer FTIR panagon 500 serie 1000; los espectros RMN de ^1H y ^{13}C , junto con espectros en 2D (COSY, DEPT, HMQC, HMBC) son registrados en un equipo Bruker space 400, operando a 400 MHz para ^1H y 100 MHz para ^{13}C , usando TMS como estándar interno; CC: sílica gel 60: sílica gel (kieselgel 60, Merck); CCF y CCFP (1mm de espesor): sílica gel 60 HF₂₅₄ (Merck). Las placas de CCF fueron visualizadas con luz UV, reactivo de Liebermann-Burchard, reactivo de Dragendorff y expuestas a vapores de I_2 .

Material vegetal

En el municipio de Albán (Cundinamarca), Colombia, se colectó una muestra de corteza de *Zanthoxylum quinduensis* en enero de 2003 por el biólogo Olimpo García. Un espécimen reposa en el Herbario

Nacional de Colombia, del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, para su determinación.

Extracción y aislamiento

La corteza seca y molida (670 g) fue sometida a extracción por percolación con isopropanol. Del residuo viscoso obtenido (15,5 g), se tomó una fracción de 12 g que se sometió a CC (sílica gel; $C_6H_5CH_3$ -EtOAc, en polaridad creciente), y se obtuvieron 25 fracciones. De la fracción 7 (1080 mg), mediante lavados con acetona se obtuvo el compuesto 5 (670 mg). La fracción 8 y 9 (554 mg) se le sometió a CC sucesivas (sílica gel; $C_6H_5CH_3$ -EtOAc en polaridad creciente 95:5 a 7:3; $C_6H_5CH_3$ - $(C_2H_5)_2O$ 9:1), luego una CCFP (sílica gel: $C_6H_5CH_3$ -EtOAc 95:5) para obtener el compuesto 2 (6 mg). La fracción 13 y 14 (402 mg) fue sometida a CC repetitiva (sílica gel; $CHCl_3$ -MeOH 98:2) y dio como resultado la purificación de 3 (5 mg). A las fracciones 15-19 (868 mg) se les realizaron CC sucesivas (sílica gel; $C_6H_5CH_3$ -EtOAc 7:3; $C_6H_5CH_3$ -MeOH 95:5; CH_2Cl_2 -MeOH 98:2), CCFP (sílica gel; CH_2Cl_2 -MeOH 98:2) para obtener así los compuestos 1 (3,5 mg) y 4 (7,4 mg).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto isopropanólico de corteza de *Z. quinduensis* fueron aislados e identificados cinco compuestos, cuatro alcaloides benzofenantridínicos y un triterpeno. De los cuatro alcaloides, tres de ellos han sido aislados en otras especies del género *Zanthoxylum* (11), los cuales fueron caracterizados por métodos espectroscópicos como

IR, RMN incluyendo técnicas bidimensionales, y comparación con los datos de la literatura (8, 11); así fueron identificados norqueleritrina 2, N-nornitidina 3 (Figura 1) y arnottianamida 4 (Figura 2).

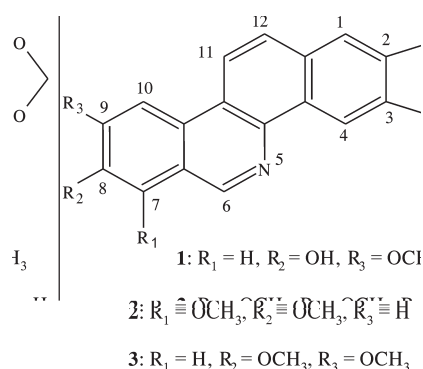


Figura 1

La sustancia 5 (Figura 3) un sólido blanco con punto de fusión 113-115 °C (acetona), fue identificada como el triterpeno lupeol de acuerdo con el análisis de los datos espectroscópicos de RMN^1H , de la comparación con los datos de la literatura (22), y por cocromatografía con una muestra auténtica. Este compuesto es muy común en el género *Zanthoxylum* en especies como *Z. setulosum* (2), *Z. culantrillo* (16) y *Z. monophyllum* (17), entre otras.

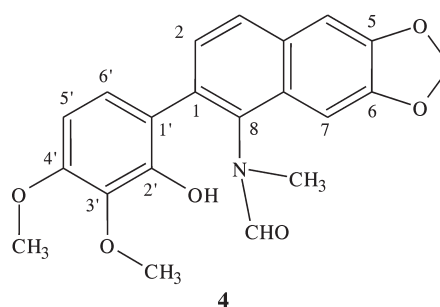


Figura 2

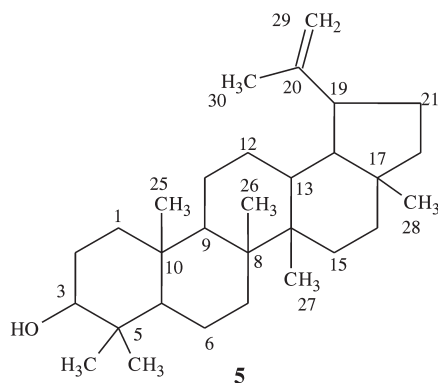


Figura 3

El nuevo compuesto **1** (Figura 1) es un sólido de color amarillo, con punto de fusión 221-223 °C, que da prueba positiva al ensayo de Dragendorff en placa. Su espectro IR tomado en película muestra una banda ancha centrada en 3411 cm^{-1} , típica de tensión O-H fenólico, que se corrobora con una señal hacia 1260 cm^{-1} , debida a la tensión C-O; en 2925 cm^{-1} y 2855 cm^{-1} , aparecen bandas de estiramiento C-H alifático; en 1602 cm^{-1} , 1498 cm^{-1} y 1463 cm^{-1} , se observan señales agudas e intensas, características de la tensión C=C para compuestos aromáticos (23).

El análisis de RMN^1H permite establecer la presencia de 13 protones, se destacan las señales en δ 4,12 (s, 3H), característica de protones de un grupo metoxilo sobre anillo aromático; una señal en δ 6,14 (s, 2H), típica de los protones de un grupo metilendioxi; se observa a campo bajo en δ 8,28 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H) y δ 7,83 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H) señales de dos protones en posición orto sobre un anillo aromático tetrasustituido, lo que es corroborado por el espectro ^1H - ^1H COSY, en donde se observa la correlación a través de los enlaces para las señales de estos dos

protones. Otras señales presentes en la región aromática del espectro RMN^1H son δ 9,22 (s, 1H); δ 8,68 (s, 1H); δ 8,05 (s, 1H); δ 7,48 (s, 1H) y δ 7,27 (s, 1H), que por multiplicidad y desplazamiento sugieren que se deben a protones aislados y/o en posición 1,4 sobre anillos aromáticos. Aparece además una señal hacia δ 5,37 (s, 1H) que se debe al protón del grupo -OH fenólico, que confirma lo observado en IR (23).

Los espectros RMN^{13}C , junto con los del experimento DEPT, muestran señales para un total de 19 carbonos, de los cuales diez son carbonos cuaternarios aromáticos con desplazamiento δ 150,0, δ 147,9, δ 147,8, δ 147,8, δ 140,0, δ 129,2, δ 128,9, δ 128,6, δ 127,6 y δ 119,4; los cuatro primeros son de carbonos aromáticos oxigenados. La señal del carbono hacia δ 140,0 debido a su desplazamiento a campo bajo, está unida a un heteroátomo como nitrógeno, el cual ha sido determinado por el ensayo de Dragendorff, prueba para alcaloides. Siete carbonos son aromáticos de tipo metínico: δ 149,3, δ 125,9, δ 118,1, δ 106,8, δ 105,1, δ 103,9 y δ 101,6; de los cuales la primera señal por su desplazamiento indica que este carbono debe estar unido a nitrógeno. También se observa una señal en δ 100,9, característica del carbono de un grupo metilendioxi y en δ 55,6, señal correspondiente al carbono de un grupo metoxilo (23). Todos los datos de RMN se muestran en la Tabla 1.

Lo analizado hasta el momento sugiere que el compuesto **1** contiene 19 carbonos, 13 hidrógenos, 4 oxígenos y 1 nitrógeno; lo que permite proponer la fórmula condensada $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}$, que tiene un IDH de 13. La sustancia **1** está formada por 4 ani-

Tabla 1. Datos de RMN ^1H y ^{13}C del compuesto **1**. CDCl_3 y $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$

C	^1H (ppm)	MULT	J(Hz)	^{13}C (ppm)	DEPT	HMQC	HMBC
1	7,27	s	-	103,9	CH	103,9	106,8; 125,9; 128,6; 147,8
2	-	-	-	147,8	C	-	-
3	-	-	-	147,8	C	-	-
4	8,68	s	-	101,6	CH	101,6	129,2; 147,8
4a	-	-	-	129,2	C	-	-
4b	-	-	-	140,0	C	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-
6	9,22	s	-	149,3	CH	149,3	106,8; 121,6; 128,9; 140,0
6a	-	-	-	128,9	C	-	-
7	8,05	s	-	105,1	CH	105,1	119,4; 121,6; 147,9; 150,0
8	-	-	-	150,0	C	-	-
9	-	-	-	147,9	C	-	-
10	7,48	s	-	106,8	CH	106,8	128,9; 147,9; 150,0
10a	-	-	-	121,6	C	-	-
10b	-	-	-	119,4	C	-	-
11	8,28	d	9,2	118,1	CH	118,1	129,2; 140,0
12	7,83	d	8,8	125,9	CH	125,9	103,9; 119,4; 128,6
12a	-	-	-	128,6	C	-	-
OCH ₂ O	6,14	s	-	100,9	CH ₂	100,9	147,8
OCH ₃	4,12	s	-	55,6	CH ₃	55,6	147,9
OH	5,37	s	-	-	-	-	-

llos aromáticos fusionados en donde el nitrógeno hace parte del sistema aromático, y donde los grupos $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{O}-$ y $-\text{OH}$ están como sustituyentes. Del análisis de las posibles estructuras, de acuerdo con los datos espectroscópicos vistos hasta el momento, y en comparación con los datos espectroscópicos de sustancias aisladas en el género *Zanthoxylum* (11), se llega a la conclusión de que el compuesto **1** presenta el núcleo de un alcaloide benzofenantridínico.

Del experimento HMQC se tiene la conectividad exacta de cada hidrógeno sobre el carbono al cual está unido, siendo una correlación importante la del protón en δ 9,22 (s, 1H), con el carbono δ 149,3, que por el gran desplazamiento mostrado en RMN de ^1H y ^{13}C , sugiere que el carbono debe estar unido al nitrógeno y, por tanto, corresponde al de la posición 6, lo que concuerda con lo reportado en la literatura para el desplazamiento del protón en esta posición para alcaloides de este tipo (11,12). Otra correlación que se destaca es la del protón δ 8,68 (s, 1H) con el carbono en δ 101,6, cuyo protón también se encuentra afectado por la electronegatividad del nitrógeno y, según comparaciones con la literatura, corresponde al protón en la posición 4 (11). Las demás conectividades para cada hidrógeno con su respectivo carbono se resumen en la Tabla 1.

En HMBC se destacan las correlaciones a larga distancia de los protones de los grupos $-\text{OCH}_3$ y $-\text{OCH}_2\text{O}-$ con los carbonos a los cuales están unidos dichos grupos. Otra correlación importante es la del hidrógeno en posición 4, δ 8,68 (s, 1H) con el carbono en δ 147,8, el cual es uno de los carbonos donde está unido el grupo

metilendioxi, por lo que en la posición 2 y 3 del núcleo benzofenantridínico debe estar el grupo $-\text{OCH}_2\text{O}-$.

Entonces, de acuerdo con las multiplicidades observadas en RMN ^1H , los grupos $-\text{OCH}_3$ y $-\text{OH}$, deben ubicarse en las posiciones 8 y 9; para la correcta asignación de estos grupos son importantes las correlaciones a larga distancia de los protones en posición 7 y 10. En lo que respecta al protón en 7, su desplazamiento químico exacto es dado por $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY, que muestra una correlación a través de los enlaces del protón en posición 6, δ 9,22 (s, 1H) y el protón en 7, δ 8,05 (s, 1H). En HMBC se observan las correlaciones entre el protón en 7, δ 8,05 (s, 1H), a dos y tres enlaces respectivamente con los carbonos δ 150,0 y δ 147,9; las del protón en δ 7,48 (s, 1H) a dos y tres enlaces con los carbonos en δ 147,9 y δ 150,0; con esto se ubica el grupo $-\text{OH}$ en la posición 8 y el grupo $-\text{OCH}_3$ en 9. Las demás correlaciones a larga distancia se muestran en la Tabla 1.

De esta forma el compuesto **1** corresponde al 8-hidroxi-2,3-metilendioxi-9-metoxibenzofenantridina, del cual no se han encontrado reportes en la literatura.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Departamento de Química y el grupo de investigación de productos naturales vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. Agradecemos al laboratorio de RMN de la Universidad Nacional de Colombia por la toma de los espectros, y al biólogo Olimpo García por la recolección de la muestra.

BIBLIOGRAFÍA

1. Waterman, P. G. (1973). New combination in *Zanthoxylum* L. *Taxon* **24**, 361.
2. Angulo, A. A.; Cuca, L. E. (2002). Nuevo esteroide y otros constituyentes de *Zanthoxylum setulosum*. *Rev. Col. Quím.* **31**, 87.
3. Ross, S. A.; Sultana, G. N.; Burandt, C. L.; ElSohly, M. A.; Marais, J. P.; Ferreira, D. (2004). Syncarpamide, a New Antiplasmodial (+)-Norepinephrine Derivative from *Zanthoxylum syncarpum*. *J. Nat. Prod.* **67**, 88.
4. Nissanka, A. P.; Karunaratne, V.; Ratnayake, B. M.; Kumar, V.; Nakanishi, T.; Nishi, M.; Inada, A.; Tillekeratne, L. M.; Wijesundara, D. S. A.; Gunatilaka, A. A. (2001). Antimicrobial Alkaloids from *Zanthoxylum tetraspermum* and *caudatum*. *Phytochemistry* **56**, 857.
5. Ngassoum, M. B.; Essia-Ngang, J. J.; Tatsadjieu, L. N.; Jirovetz, L.; Buchbauer, G.; Adjoudji, O. (2003). Antimicrobial Study of Essential Oils of *Ocimum gratissimum* Leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Fruits from Cameroon. *Fitoterapia* **74**, 284.
6. Tatsadjieu, L. N.; Ngang, J. J.; Ngassoum, M. B.; Etoa, F.-X. (2003). Antibacterial and Antifungal Activity of *Xylopiya aethiopica*, *Monodora myristica*, *Zanthoxylum xanthoxyloides* and *Zanthoxylum leprieurii* from Cameroon. *Fitoterapia*, **74**, 469.
7. Matu, E. N.; Staden, J. (2003). Antibacterial and Anti-inflammatory Activities of Some Plants Used for Medicinal Purposes in Kenya. *J. Ethnopharmacol.* **87**, 35.
8. Sukari, M. A.; Salim, W. S. W.; Ibrahim, N. H.; Rahmani, M. (1999). Phenanthridine Alkaloids from *Zanthoxylum myriacanthum*. *Fitoterapia* **70**, 197.
9. Yang, Y.-P.; Cheng, M.-J.; Teng, C.-M.; Chang, Y.-L.; Tsai, I.-L.; Chen, I.-S. (2002). Chemical and Anti-platelet Constituents from Formosan *Zanthoxylum simulans*. *Phytochemistry* **61**, 567.
10. Islam, A.; Sayeed, A.; Bhuiyan, M. S. A.; Mosaddik, M. A.; Islam, M. A. U.; Khan, G. R. M. (2001). Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of *Zanthoxylum budrunga*. *Fitoterapia* **72**, 428.
11. Krane, B. D.; Fagbule, M. O.; Shamma, M. (1984). The Benzophenanthridine Alkaloids. *J. Nat. Prod.* **47**, 1.
12. Addae-Mesah, I.; Munenge, R.; Guantai, A. N. (1989). Comparative Examination of Two *Zanthoxylum* Benzophenanthridine Alkaloids for Cardiovascular Effects in Rabbits. *Phytotherapy Research* **3**, 165.
13. De Moura, N. F.; Morel, A. F.; Dessoy, E. C.; Zanatta, N.; Bürger, M. M.; Ahlert, N.; Porto, G. P.; Baldisserotto, B. (2002). Alkaloids, Amides and Antispasmodic Activity of *Zanthoxylum hyemale*. *Planta Médica* **68**, 534.

14. Diehl, E. E.; Lino, G.; Henriques, A. T. (2000). Constituents of *Zanthoxylum rugosum* St. -Hil & Tul. *Biochemical Systematic and Ecology* **28**, 275.
15. Chen, I.-S.; Chen, T.-L.; Chang, Y.-L.; Teng, C.-M.; Lin, W.-Y. (1999). Chemical Constituents and Biological Activities of the Fruit of *Zanthoxylum integrifoliolum*. *J. Nat. Prod.* **62**, 833.
16. Cuca, L. E.; Martinez, J. C.; Monache, F. D. (1998). 7, 9'- Epoxylicnan and other Constituents of *Zanthoxylum culantrillo*. *Phytochemistry* **47**, 1437.
17. Cuca, L. E.; Martinez J. C.; Monache, F. D. (1999). Constituyentes Químicos de *Zanthoxylum monophyllum*. *Rev. Col. Quím.* **27**, 1.
18. Adesina, S. K.; Olugbade, T. A.; Akinwusi, D. D.; Von Willert, D. J. (1997). New Amides from *Zanthoxylum lemairie* Pericarps. *Planta Médica* **63**, 286.
19. Chen, I.-S.; Chen, T.-L.; Lin, W.-Y.; Tsai, I.-L.; Chen, Y.-C. (1999). Isobutylamides from the Fruit of *Zanthoxylum integrifoliolum*. *Phytochemistry* **52**, 357.
20. Waterman, P. G.; Grundon, M. F. (1983). *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*. London: Academic Press.
21. Tsai, I.-L.; Lin, W.-Y.; Teng, C.-M.; ishikawa, T.; Doong, S.-L.; Huang, M.-W.; Chen, Y.-C.; Chen, I.-S. (2000). Coumarins and Antiplatelet Constituents from the Root Bark of *Zanthoxylum schinifolium*. *Planta Médica* **66**, 618.
22. Angulo, A. A. Estudio fitoquímico de *Zanthoxylum setulosum* (Rutaceae). Tesis de magíster, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. 2001. p.p. 48-51.
23. Silverstein, R. M.; Bassler, G. C.; Morrill, T. C. (1991). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Fifth Edition. London: John Wiley & Sons.