

Rev. Colomb. Quím., 2007, 36(1):5-11

METABOLITOS AISLADOS DE *Zanthoxylum rhoifolium***ISOLATED METABOLITES FROM *Zanthoxylum rhoifolium*****METABOLITOS ISOLADOS DE *Zanthoxylum rhoifolium***Luis E. Cuca S.¹, Manuel E. Taborda M.²

Recibido: 22/03/07 – Aceptado: 30/04/07

RESUMEN

Una nueva cumarina llamada 3-metoxi-4-(3-metilbut-2-enil)-2H-cromen-2-ona fue aislada de la madera de *Z. rhoifolium*, junto con los compuestos conocidos, dictamnina y N-metilflindersina. Sus estructuras fueron elucidadas por RMN, incluyendo técnicas bidimensionales y por comparación con datos reportados en la literatura.

Palabras clave: *Zanthoxylum rhoifolium*, Rutaceae, cumarinas y alcaloides.

ABSTRACT

A novel coumarin named 3-metoxi-4-(3-metilbut-2-enil)-2H-cromen-2-one was isolated from the wood of *Z. rhoifolium*, together with the known compounds, dictamnine and N-methylflindersine. Their structures were elucidated by RMN spectra including 2D techniques and comparison with literature data.

Key words: *Zanthoxylum rhoifolium*, Rutaceae, coumarin and alkaloids.

RESUMO

Da madeira de *Zanthoxylum rhoifolium* foi isolada uma nova cumarina, com o nome, 3 metoxi-4- (3-metilbut-2-enil)-2H-cromen-2-ona junto com os compostos, conhecidos: dictamnina y N-methylflindersina. Suas estruturas foram elucidadas por RMN, incluindo técnicas bidimensionais e pela comparação com dados da literatura.

Palavras chave: *Zanthoxylum rhoifolium*, Rutaceae, cumarina e alcalóides.

INTRODUCCIÓN

El género *Zanthoxylum* pertenece a la familia Rutaceae, y según el Herbario Nacional Colombiano es uno de los géneros de mayor distribución en nuestro país. La familia Rutaceae se caracteriza porque en ella se ha encontrado una gran variedad de metabolitos secundarios, como: alcaloides

1 Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia. leucas@unal.edu.co

2 Laboratorio de Química, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia. quimicataborda@yahoo.es

(1, 2), cumarinas (3, 4), flavonoides (5), lignanos (6, 7), terpenos (8), limonoides (9, 10), crómanos (11, 12). La especie *Z. rhoifolium* tiene gran importancia por su uso tradicional como tónico, febrífugo, analgésico, antipirético y antimalárico. Al aceite esencial de hojas, frutos y flores, al extracto crudo y a algunos de los alcaloides aislados de la corteza se les ha evaluado actividad antibacteriana, dando prueba positiva para el aceite esencial de hojas y frutos, el extracto crudo de corteza y algunos de los compuestos aislados (13, 14). A la preparación tradicional utilizada como antimalárico se le demostró que presentaba actividad antimalárica *in vivo* (15). En orden de validar su uso tradicional y confirmar la previa actividad *in vivo* realizada, se aislaron e identificaron siete alcaloides benzofenantridínicos; la mayoría presenta actividad contra *Plasmodium falciparum* (16). Otros alcaloides también han sido incluidos para esta especie en diferentes trabajos (13, 17).

En este artículo se reporta el aislamiento y la caracterización de una nueva cumarina, 3-metoxi-4-(3metilbutil-2-enil)-2H-cromen-2-ona **1**, junto con los alcaloides dictamina **2** y la N-metilflindersina **3**. La presencia de estos metabolitos es de gran importancia quimiotaxonomía en el género.

PARTE EXPERIMENTAL

General

Los puntos de fusión se tomaron en un fusiómetro MEL-TEMP. Los espectros infrarrojo (IR) fueron tomados en KBr, en un equipo Pelkin Elmer FTIR panagon 500 serie 1000. Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , al igual que los experimentos

DEPT y bidimensional (HMOC, HMBC y COSY), se realizaron en un equipo Bruker Avance 400, de la Universidad Nacional de Colombia. Los solventes utilizados en la toma de los espectros de RMN fueron CDCl_3 y $((\text{CD}_3)_2\text{CO})$, empleando TMS como patrón interno. Los materiales utilizados en las diferentes técnicas cromatográficas fueron los siguientes, CC: sílica gel 60 (Merck); CCF y CCFP (1 mm de espesor): sílica gel 60 HF₂₅₄₋₃₆₆ (Merck). Las placas de CCF fueron reveladas con lámpara de luz UV, vapores de I_2 y reveladores de alcaloides, como por ejemplo Dragendorff.

Material vegetal

La muestra utilizada corresponde a la madera de *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae), recolectada en la finca La Victoria, de la Sierra Nevada de Santa Marta, departamento del Magdalena, a 940 m.s.n.m. La muestra fue recolectada y determinada por el doctor Eduino Carbo de la Hoz, ingeniero agrónomo y especialista en sistemática de la Universidad del Magdalena. Un ejemplar de la muestra reposa en el Herbario de la Universidad del Magdalena con el número de colección 4283 (UTMC-12002).

Extracción y aislamiento

La madera de *Z. rhoifolium* seca y molida (940 g) fue sometida a extracción por percolación con etanol al 96%. Del extracto etanólico resultante (19,0 g), se sometieron 17 g a CC (sílica gel; $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3\text{-AcOIp}$) en polaridad creciente. Se recolectaron 16 fracciones. De la fracción 6 (350 mg), mediante CC sucesivas (sílica gel; Edp-AcOIp 8:2) se obtuvo el compuesto

2 (98 mg). La fracción 16 (828,2 mg) se sometió a CC sucesivas (sílica gel; C₆H₆-AcOEt 8:2 a 6:4) obteniéndose los compuestos 3 (4,0 mg) y 1 (7,8 mg).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del extracto etanólico de la madera de *Z. rhoifolium* se aislaron e identificaron tres compuestos, de los cuales dos son alcaloides: dictamnina 2 y N-metilflindersina 3, que han sido aislados de otras especies de *Zanthoxylum* (18-21). Estos alcaloides fueron caracterizados por comparación con los datos de la literatura (20, 22, 23).

El nuevo compuesto 1 es un sólido de color amarillo, de punto de fusión 125-127

°C (CHCl₃). Su espectro IR muestra señales en 3.018 cm⁻¹, 2.927 cm⁻¹, 2.855 cm⁻¹ características de tensión =CH de compuestos aromáticos, estiramiento CH de metilos y metilenos; presenta una señal en 1.644 cm⁻¹ característica de la tensión C=O del grupo carbonilo de una lactona en cumarinas y señales en 1.615 cm⁻¹, 1.516 cm⁻¹ y 1.486 cm⁻¹, características de la tensión C=C en anillos aromáticos (24).

En el espectro RMN ¹H se observan señales que integran para un total de 16 protones (ver Tabla 1), presenta dos señales en δ 1.69 (s, 3H) y δ 1.81 (s, 3H), las cuales son típicas de los protones de grupos metilo; en δ 3.40 (d, J = 6.8 Hz,

Tabla 1. Datos de RMN¹H y ¹³C (1D y 2D) del compuesto 1.

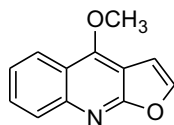
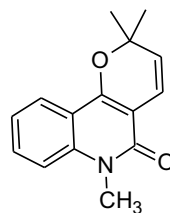
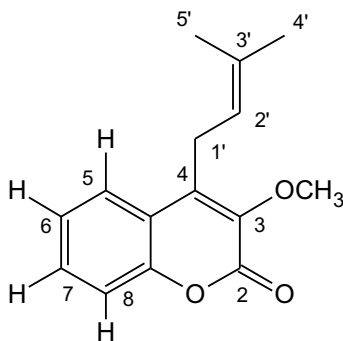
C	¹ H(ppm)	Mul	J(Hz)	C (ppm)	DEPT	HMQC	HMBC
2	-	-	-	179.3	C	-	
3	-	-	-	162.5	C		
4	-	-	-	117.3	C	-	
4a	-	-	-	137.5	C	-	
5	7.48	dd	1.2 y 8.4	130.1	CH	130.1	122.6, 137.1
6	7.35	d	8.4	116.0	CH	116.0	117.3, 122.6
7	7.23	t	8.0	122.6	CH	122.6	117.3
8	7.78	d	8.0	122.8	CH		130.1, 137.5, 162.5
8a	-	-	-	166.5	C	-	
1'	3.40	d	6.8	23.3	CH ₂	23.3	123.1, 132.5, 162.5, 166.5
2'	5.27	d	6.8	121.3	CH	121.3	117.3
3'	-	-	-	132.5	C	-	
4'	1.81	s	-	17.9	CH ₃	17.9	25.7; 121.3; 132.5
5'	1.69	s	-	25.7	CH ₃	25.7	17.9; 121.3; 132.5
OCH ₃	3.94	s	-	61.8	CH ₃	61.8	117.3, 162.5

2H) y en δ 5.27 (dd, $J = 1.2$, y 6.6 Hz, 1H), se observan señales características de protones metilénicos y metílicos, que corresponden a un grupo isoprenol (25). La señal en δ 3.94 (s, 3H), por su desplazamiento químico, es característica de grupo metoxilo unido a un anillo aromático. También se encuentran señales en la región aromática, en: δ 7.35 (t, $J = 8.4$ Hz, 1H), δ 7.23 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), δ 7.48 (dd, $J = 1.2$ y 8.4 Hz, 1H) y δ 7.78 (dd, $J = 0.8$ y 8.0 Hz, 1H), las cuales se encuentran acopladas entre sí y corresponden a protones sobre un anillo aromático con sistema ABCD (24).

El espectro de RMN ^{13}C junto con los experimentos DEPT 135 y 90 muestran señales para un total de 15 carbonos, de

los cuales seis son cuaternarios con desplazamiento químico en: δ 132.5, δ 137.1 δ 162.5 δ 166.1, y δ 179.3. De éstas, dos señales corresponden a carbonos aromáticos oxigenados en δ 162.5 y δ 166.1 (26, 27). La señal en δ 179.3 es característica de un carbono carbonílico de α pironas de cumarinas. Las señales en δ 116.0, δ 121.3, δ 122.6, δ 122.8 y δ 130.1 corresponden a cinco metinos. En δ 23.3 aparece una señal para metileno. La señal en δ 61.8 es característica para un carbono de un grupo metoxilo sobre anillo aromático (27, 28) y en δ 25.7 y δ 17.9 aparecen señales para carbonos de dos grupos metilos.

El análisis realizado indica que el compuesto **1** contiene 15 carbonos, 16 hidrógenos y 3 oxígenos, lo que permite propo-

**2****3****1**

ner la fórmula condensada $C_{15}H_{16}O_3$ que tiene un IDH de 8. La sustancia **1** es una cumarina que tiene como sustituyentes un grupo isoprenilo y un metoxilo. Con el experimento de HMBC, se ubicó la posición de los sustituyentes sobre el núcleo cumarínico, determinando los carbonos cuaternarios sobre los cuales están, por ejemplo: la señal del protón δ 5.27 correlaciona a 3J con el carbono cuaternario a δ 117.3. La señal de los hidrógenos del grupo metoxilo en δ 3.94 también correlacionan a 3J con el carbono a δ 162.5, indicando así que los sustituyentes anteriores son vecinales y están ubicados sobre el núcleo básico en las posiciones 3 y 4, respectivamente. El anterior análisis permite proponer la estructura del compuesto **1** denominado 3-metoxi-4-(3-metilbut-2-enil)-2H-cromen-2-ona, de la cual no se han encontrado reportes en la literatura.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Grupo de Investigación de Productos Naturales Vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, y el Laboratorio de Química de la Universidad del Magdalena. Agradecemos al doctor Eduino Carbone de la Hoz por la recolección y determinación de la muestra, y al laboratorio de RMN de la Universidad Nacional de Colombia por la toma de los espectros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rahman, M. M.; Gray, A. A. Benzoi-sofuranone Derivative and Carbazole Alkaloids from *Murraya koenigii* and their Antimicrobial Activity. *Phytochemistry*. 2005. **66**: 1601-1606.
2. Waterman, P. G.; Grundon, M. F. Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales. En: Structural Diversity and Distribution of Alkaloids in the Rutales. London: Academic Press. 1983. pp. 31-96.
3. Ito, C.; Itoigawa, M.; Onoda, S.; Hosokawa, A.; Ruangrunsi, N.; Okuda, T.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Farukawa, H. Chemical Constituents of *Murraya siamensis*: Three Coumarins and their anti-tumor effect. *Phytochemistry*. 2005. **66**: 567-572.
4. Heneka, B.; Rimpler, H.; Ankli, A.; Sticher, O.; Gibbons, S.; Heinrich, M. A Furanocoumarin and Polymethoxylated Flavonoids from the Yucatec Mayan Plant *Casimiroa tetrameria*. *Phytochemistry*. 2005. **66**: 649-652.
5. Providelo, C. F.; Da Silva, M. F.; Fernández, J. B.; Vieira, P. C.; Rodríguez, E. F.; García, D. A. Alkaloids from *Dictyloma vandellianum*: their Chemosystematic Significance. *Phytochemistry*. 2003. **63**: 185-192.
6. Jacquemond-Colled, I.; Benoit-vical, F.; Mustofa, V. A.; Stanislas, E.; Mallie, M.; Fouraste, I. Antiplasmodial and Cytotoxic Activity of Galipinine and others Tetrahydroquinolines from *Galipea officinalis*. *Planta Med.* 2002. **68**: 68-69.
7. Torres, O. L. Estudio fitoquímico y de actividad biológica de los extractos etanólicos de hojas, corteza y madera de *Esenbeckia lictoralis* (Rutaceae). Tesis de Magíster, Departamento de Química, Universidad Na-

- cional de Colombia, Bogotá, 2001, pp. 18-19.
8. Kobayashi, Y.; Nakano, Y., Hoshikuma, K.; Yokoo, Y.; Kamiya, T. The Bronchoconstrictive Action of Evodiamine and Indoloquinazoline Alkaloids Isolated from the Fruits of *Evodia rutaecarpa*, on Guinea-Pig Isolated Bronchus: Possible Involvement on Vanilloid Receptors. *Planta Med.* 2000. **66**: 526-530.
 9. Chen, K.-S.; Chang, Y.-L.; Teng, C.-F.; Wu, Y.-C. Furoquinolines with Antiplatelet Aggregation Activity from Leaves of *Melicope confusa*. *Planta Med.* 2000. **66**: 80-81.
 10. Weniger, B.; Um, B.-H. ; Valentin, A.; Estrada, A.; Lobstein, A.; Antón, R.; Maille, M.; Sauvain, M. Bioactive Acridone Alkaloids from *Swinglea glutinosa*. *J. Nat. Prod.* 2001. **64**: 1221-1223.
 11. Hu, C.-P.; Xiao, L.; Deng, H.-W.; Li, Y.-J. The Depressor and Vasodilator Effects of Rutaecarpine are Mediated by Calcitonin Gene-Related Peptide. *Planta Med.* 2003. **69**: 125-129.
 12. Baetas, A. C.; Arruda, M. S.; Müller, A. H.; Arruda, A. C. Coumarins and Alkaloids from the Stems of *Metrodorea flavida*. *J. Braz. Chem. Soc.* 1999. **10**: 181-183.
 13. Gonzaga, W. A.; Weber, A. D.; Giacomelli, S. R.; Dalcol, I. I.; Hoelzel, S. C. S.; Morel, A. F. Antibacterial alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium*. *Planta Med.* 2003. **69**: 371-374.
 14. Gonzaga, W. A.; Weber, A. D.; Giacomelli, S. R.; Simionatto, E.; Dalcol, I. I.; Machado, E. C.; Morel, A. F. Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oils from *Zanthoxylum rhoifolium*. *Planta Med.* 2003. **69**: 773-775.
 15. Bertani, S.; Bourdy, G.; Landau, I.; Robinson, J. C.; Esterre, Ph. Deharo, E. Evaluation of French Guiana Traditional Antimalarial Remedies. *J. Ethnopharmacol.* 2005. **98**: 45-54.
 16. Jullian, V.; Bourdy, G.; Georges, S.; Sauvain, M. Validation of Use of a Traditional Antimalarial Remedy from French Guiana, *Zanthoxylum rhoifolium Lam J. Ethnopharmacol.* 2006. **106**: 348-352.
 17. De Moura, F.; Ribeiro, B.; Machado, C. S.; Ethur, E.; Zanatta, N. Benzophenantridine Alkaloid from *Zanthoxylum rhoifolium*. *Phytochemistry*. 1997. **46**: 1443-1446.
 18. Ayhan, Ulubelen. Alkaloids from *Haplophyllum suaveolens* (Rutaceae) *Phytochemistry*. 1984. **23**: 2123-2124.
 19. Hu, J.; Zhang, W. D.; Shen, Y. H.; Zhang, C.; Xu, L.; Liu, R. H.; Wang, B.; Xu, X. K. Alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. *Biochem. Syst. Ecol.* 2007. **35**: 114-117.
 20. Taylor, D. R.; Warner, J. M. N-methylflindersina from *Spathelia sorbifolia* (Rutaceae). *Phytochemistry*. 1973. **12**: 1358-1360.

21. Kamperdick, C.; Hong, N.; Sung, V.; Gunter, A. Bisquinolinone Alkaloids from *Melicope ptelefolia*. *Phytochemistry*. 1999. **50**: 177-181.
22. Chlouchi, Corinne Girard, Franc. Waterman Peter ois Tillequin, Françoise Bévalot, Frédéric Muyard, Coumarins and furoquinoline alkaloids from *Philotheca deserti* var. *deserti* (Rutaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 2006. **34**: 71-74.
23. Ali, M. S.; Pervez, M. K.; Saleem, M.; Rasool Bakhsh Tareen. R. B. Haplophytin-A and B: the Alkaloidal Constituents of *Haplophyllum acutifolium* *Phytochemistry*. 2001. **57**: 1277-1280.
24. Crews, P.; Rodríguez, J.; Jaspars M. Organic Structure Analysis. Oxford University Press, 1998. pp. 323-327.
25. Stevenson, P. C.; Simmonds, S. J.; Yule, M. A.; Veitch, N. C.; Kite, G. C.; Irwin, D.; Legg, M. Insect Anti-feedant Furanocoumarins from *Tetradium daniellii*. *Phytochemistry*. 2003. **63**: 41-46.
26. Clynton, W.; Halstead, P.; Forste, I.; Waterman, P. G. The Occurrence of Osthol in *Leionema ellipticum* Supports its Assignment to the Genus *Leionema* (Rutaceae). *Biochem. Syst. Ecol.* 2005. **33**: 899-903.
27. Rahmani, M.; Asmah, S.; Hazar, B. M.; Ismailb, M.; Aspollah, S.; Taufiq-Yap Yun, H.; Gwendoline, C. L.; Abdul, M. A.; Kulip, J.; Waterman, P. G. Coumarins from Malaysian *Micromelum minutum*. *Phytochemistry*. 2003. **64**: 873-877.

