

reestudio de *Zanthoxylum Coco Gill**

Miguel A. Muñoz, B.K. Cassels y René Torres G.**

RESUMEN: En un reestudio de Zanthoxylum coco Gill. (sinónimo Fagara coco Gill. (Engl.)), especie de Bolivia y Argentina de la familia de las Rutáceas, se han aislado la piranoquinolina angular flindersina y la cumarina prenilada aurapteno. Estos resultados apoyan el criterio que las cumarinas se acumulan también en las especies sudamericanas de Zanthoxylum. La validez de estos datos como marcadores quimiosistemáticos es discutida.

SUMMARY: In a reexamination study of Zanthoxylum coco Gill. (syn. Fagara coco Gill (Engl.)) a Rutaceae specie from Argentina and Bolivia, the angular pyranoquinoline flindersine and the prenylated coumarin aurapten were isolated. These results lend further support to the notion that coumarins are rather widespread in South-American species of Zanthoxylum. The validity of data as chemosystematic markers is discussed.

* Manuscrito revisado y aprobado en forma definitiva en noviembre de 1982.

** Departamento de Química, Facultad de Ciencia, Universidad de Santiago de Chile.

INTRODUCCION

El *Zanthoxylum coco* Gill. (Sinónimo *Fagara coco* (Gill.) Engl.) es un pequeño árbol de la familia de las Rutáceas que crece en la región occidental seca del Gran Chaco en Bolivia y Argentina, extendiéndose hacia el sur hasta las Sierras de Córdoba¹. Su morfología y ecología la separan de la mayoría de sus congéneres sudamericanas, lo cual ha sido ratificado por los estudios químicos. En efecto, en la literatura química ella ha sido considerada tradicionalmente como una especie no característica de la subsección Paniculatae (Neogaeae), creada por Engler⁷, ya que aparece acumulando alcaloides furoquinolínicos y protopinas, los cuales estarían ausentes del resto de los miembros del grupo².

En el transcurso de los últimos cincuenta años, se han caracterizado los alcaloides de la corteza como del follaje de *Zanthoxylum coco* habiéndose descrito: la feniletilamina cuaternaria candicina (1), las aporfina cuaternarias magnoflorina (2) y N-metilisocoridina (3), las benzofenanti:dinas queleritrina (4) y nitidina (5), las protoberberinas berberina (6) y palmatina (7), las protopinas alocriptopina (8) y fagarina II (9) y las furoquinolinas skimmianina (10) y γ -fagarina (11)^{3,4,5,6}. Por otra parte, no se tiene evidencias de que se hayan buscado otras sustancias no alcaloidales en los extractos polares alcohólicos ni en los menos polares de éter de petróleo.

Contribuciones recientes a la química de *Zanthoxylum* s.l. (incluye los géneros *Fagara* y *Zanthoxylum* s.s.) han cuestionado la validez de la clasificación de Engler⁷. Por ejemplo, los alcaloides bishordeninilterpenoidales, los cuales han sido aislados como metabolitos secundarios de cuatro especies de *Zanthoxylum*, geográficamente afines, han sido encontrados en la sección considerada "primitiva" Pterota y en la considerada "avanzada" Tobinia⁸. Por su parte, el alcaloide de un camino biogenético considerado "moderno", como es el caso de la skimmianina, se sabe ahora que se acumula en especies de subsecciones "primitivas" como Pterota, con ejemplos como *Z. fagara*⁹ y *Z. culantrillo*¹⁰ y en la rama americana de Paniculatae (Neogaeae), con especies como *Z. limoncello*⁹, *Z. belizense*¹¹, *Z. monophyllum*¹², *Z. caribeum*⁹ y *Z. microcarpum*⁸, siendo que hasta hace pocos años, *Z. coco* era la única especie de este último grupo del cual algún alcaloide de tal tipo había sido aislado.

Cuando se publicó el trabajo de Fish y Waterman, fundamental en la quimiosistemática del complejo *Fagara/Zanthoxylum*², ninguna cumarina había sido descrita en Pterota y *Z. elephantiasis* y *Z. flavum* eran las únicas fuentes conocidas en Paniculatae (Neogaeae). Desde entonces, se han encontrado cumarinas en *Z. fagara*⁹ y en *Z. belizense*¹¹. Si estas especies son de verdad primitivas, como se puede concluir de sus afinidades en el sistema de Engler⁷, parecería que la presencia de alcaloides derivados biogenéticamente del ácido antranílico y de cumarinas simples y preniladas, no son buenos indicadores de progreso evolutivo en el género *Zanthoxylum* s.l. A la inversa, si dichos caracteres químicos son tomados como signos de especialización en el género, entonces, las subsecciones Pterota y Paniculatae (Neogaeae) son más avanzadas que lo que se suponía, o bien son heterogéneas.

Como parte de una búsqueda específica de componentes menos polares y neutros en especies de *Zanthoxylum* de Sudamérica, hemos analizado un extracto de hexano de hojas de *Z. coco*. Además de skimmianina (10) presente en los extractos alcohólicos de la especie³, se encontraron la cumarina aurapteno (12) y la piranoquinolona angular flindersina (13). Dado que dichos compuestos fueron aislados mediante técnicas en las cuales no se utilizaron soluciones acuosas ácidas, se puede concluir que en *Z. coco* la flindersina se encuentra como tal y por consiguiente no es un "artefacto" producto de la hidrólisis ácida de un precursor, como ha sido descrito en *Z. monophyllum*¹².

Nuestros resultados apoyan una hipótesis de trabajo anterior, de que las cumarinas estarían presente en los tejidos vegetales de otras especies de *Zanthoxylum* sudamericanas¹³. Que no se hubiesen descrito en los materiales estudiados, era debido solamente a la falta de una búsqueda sistemática de ellas. Sin embargo, el aurapteno continúa siendo un metabolito secundario poco común en *Zanthoxylum*, habiendo sido aislado previamente sólo en *Z. ovalifolium*¹⁴ de la rama asiática de Paniculatae (Gerontogaeae). Es, además, el único ejemplo

de una cumarina O-prenilada, pero parece necesario disponer de mayor información antes de extraer alguna conclusión de interés quimiosistemático.

Las piranoquinolonas angulares, como es el caso de flindersina, son también excepcionales en *Zanthoxylum*, donde han sido encontradas solamente en *Z. monophyllum*¹² y *Z. chalybeum*¹⁵ de las Paniculatae de América y África respectivamente. Asimismo, un análogo lineal relacionado ha sido aislado de *Z. mayu*¹⁶ y *Z. williamsii*¹⁷. De este resultado, aunque interesante, tampoco se puede extraer una conclusión valedera de tipo sistemático, ya que el número de especies estudiado no es muy grande y algunas de las estudiadas, no lo han sido en forma exhaustiva. Queda, sin embargo, presente el potencial valor quimiosistemático que tales estructuras poseen.

Los estudios futuros en estas plantas deberán prestar especial atención a la búsqueda de cumarinas, alcaloides derivados del camino biogénico del ácido antranílico y bases protopínicas. Con respecto a estas últimas, *Z. coco* continúa siendo la única especie de las americanas estudiadas que las acumula, a menos que se considere un informe de la presencia de alocriptopina en un extracto que se creía que fuese la muy variable *Z. rhoifolium*¹⁷, lo cual no se confirmó en un trabajo posterior⁶.

PARTE EXPERIMENTAL

Material vegetal

Las hojas de *Zanthoxylum coco* fueron recolectadas cerca de Biale Massé, Córdoba, Argentina, en febrero de 1978 e identificadas por el Prof. A.T. Hunziker. Muestras de ella fueron depositadas en los Herbarios del Museo Botánico de Córdoba y en el del Museo de Historia Natural de Santiago de Chile.

Extracción y fraccionamiento

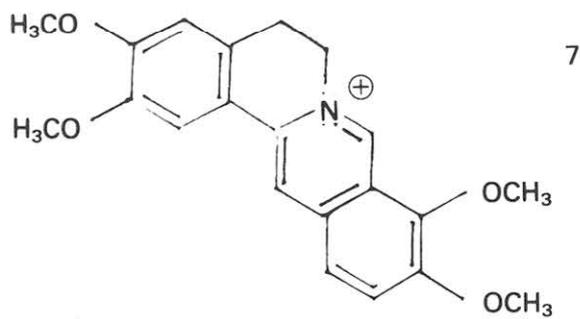
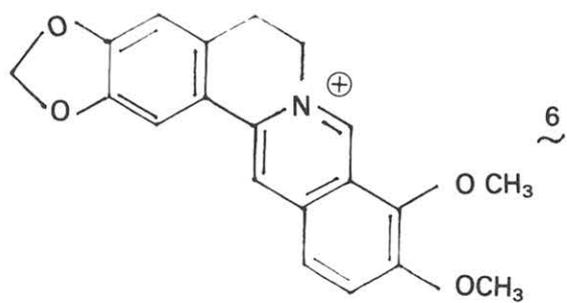
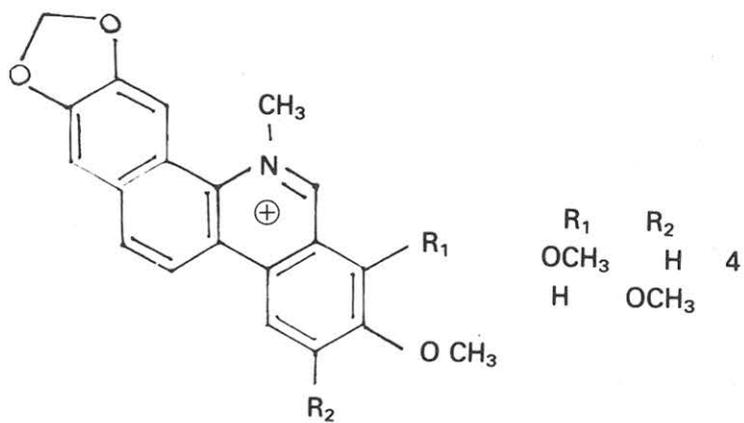
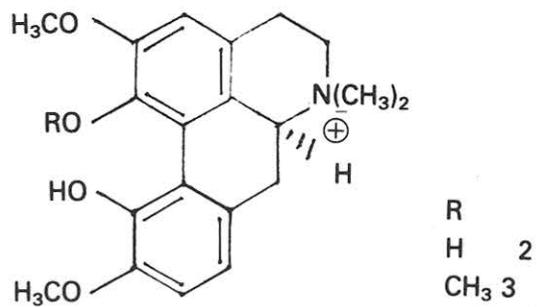
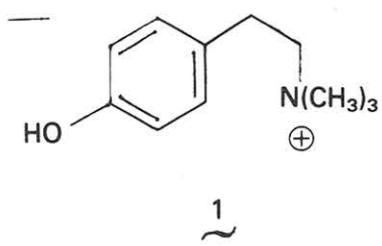
Una muestra de 650 g de hojas secas y molidas, fueron extraídas en forma continua con hexano (3 litros). El extracto se concentró a un volumen de 300 ml y se dejó en refrigerador por 24 horas, obteniéndose un abundante precipitado, que fue filtrado y secado (1.5 g). 700 mg de tal precipitado fueron cromatografiados en una columna de sílica gel (columna A) preparada en cloroformo y eluida con el mismo solvente. El filtrado fue extraído con una mezcla de metanol-agua (85:15) y la fase acuosa fue concentrada a presión reducida dando un residuo oleoso oscuro, que tratado con cloroformo, dio un sólido blanco-amarillento (430 mg) que mostraba dos manchas importantes al realizar un análisis cromatográfico en capa fina (Sílica-gel Merck GF₂₅₄, cloroformohexano (9:1)). Este producto (360 mg) fue cromatografiado en una columna de sílicagel en cloroformo-hexano (9:1) (columna B). La columna se eluyó con el solvente en el cual se preparó y luego con cloroformo, se recogieron fracciones de 15 ml que se juntaron de acuerdo a su comportamiento cromatográfico, en capa fina.

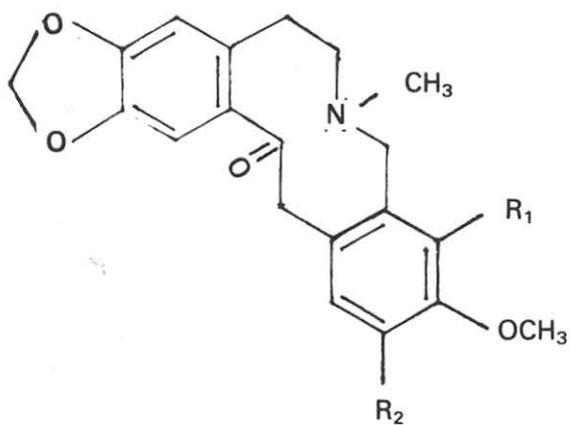
Skimmianina (10)

La columna A entregó primero una mezcla compuesta principalmente de ésteres de ácidos grasos (espectros de ir y de rmn protónica) y luego un residuo alcaloidal del cual por tratamiento con metanol, se logró la cristalización de skimmianina (39 mg), identificada por comparación con una muestra auténtica (cromatografía en capa fina, punto de fusión mixto, espectros de ir, uv y rmn protónica).

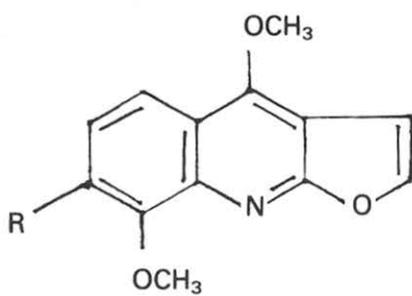
Aurapteno (12)

Las fracciones 3-10 de la columna B fueron concentradas y el residuo se recrystalizó de metanol, dando 120 mg de cristales blancos, p.f. 68°. Espectro uv λ máx (metanol) 220 (h), 252 t 320 nm. Espectro ir γ máx (KBr) 1720, 1610 y 1510 cm^{-1} . Espectro de rmn protónica

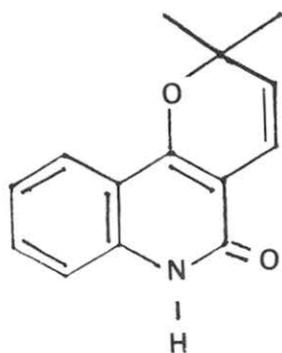




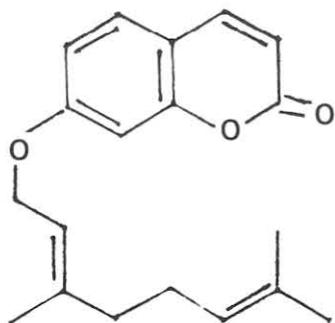
	R ₁	R ₂	
OCH ₃		H	8
H		OCH ₃	9



R	
H	10
OCH ₃	11



13
~



12
~

(90 MHz) δ (CDCl₃) 1.65 (s,3H), 1.75 (s,3H), 1.80 (s,3H), 2.0-2.2 (m,4H), 4.63 (d,J=7,2H), 5.10 (m,1H), 5.50 (t,J=7,1H), 6.25 (d,J=10,1H), 6.82 (d,J=3,1H), 6.87 (dd,J=7 y J=3,1H), 7.43 (d,J=7,1H), 7.65 (d,J=10,1H). Espectro de masa m/z (intensidad relativa) 299.1629 (1.4%) (M⁺, C₁₉H₂₂NO₃ da un valor de 299.1647). Los Rfs en cromatografía en capa fina y los datos de los espectros de uv, ir y rmn protónica, fueron idénticos para el compuesto aislado y para muestra auténtica de aurapteno.

Flindersina (13)

Las fracciones 37-48 de la columna B fueron concentradas, lográndose un residuo que se recristalizó de metanol dando cristales blancos (98 mg). p.f. 198°. Espectro uv λ máx (metanol) 258 (h), 310 (h), 333, 348 y 364 nm. Espectro de ir γ máx (KBr) 3400, 1660 and 1625 cm⁻¹. Espectro de rmn protónica (90 MHz) δ (CDCl₃) 1.55 (s,6H), 5.53 (d,J=10,1H), 6.80 (d,J=10,1H), 7.05-7.49 (m,3H), 7.84 (dd,J=7.5 J=2,1H), 11.55 (s,1H), Espectro de masa m/z (intensidades relativas) 227.0946 (21.6%) (M⁺, C₁₄H₁₃NO₂, valor calculado 227.0946), 212.0707 (100%) (M⁺-CH₃, C₁₃H₁₀NO₂, valor calculado 212.0711). Los datos de espectros fueron idénticos con los de muestra auténtica de flindersina.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Organización de Estados Americanos y a DIPLAN II DICYT (USACH) por el apoyo financiero otorgado al Proyecto en cuyo marco se efectuó el trabajo. Asimismo, se agradece a los Drs. F.R. Stermitz y A. San Martín por el envío de muestras auténticas de flindersina y de aurapteno respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. M.G. ESCALANTE, *Bol. Soc. Argentina Bot.*, 9,291 (1961).
2. F. FISH y P.G. WATERMAN, *Taxon*, 22, 177 (1973).
3. V. DEULOFEU, R. LABRIOLA y J. DE LANGHE, *J. Am. Chem. Soc.*, 64,2326 (1942).
4. J. COMIN y V. DEULOFEU, *J. Org. Chem.*, 19, 1774 (1954).
5. D. GIACOPELLO, V. DEULOFEU y J. COMIN, *Tetrahedron*, 20, 2971 (1964).
6. A.M. KUCK, S.M. ALBÓNICO, V. DEULOFEU y M.G. ESCALANTE, *Phytochemistry*, 6, 1541 (1967).
7. A. ENGLER, *Rutaceae* en A. ENGLER y H. HARMS eds. *Die Natürliche Pflanzenfamilien*, Engelmann, Leipzig, 1931, Vol. 19a, p. 214.
8. R.T. BOULWARE y F.R. STERMITZ, *J. Nat. Prod.* 44, 200 (1981).
9. D.L. DREYER y R.C. BRENNER, *Phytochemistry*, 19,935 (1980).
10. J.A. SWINEHART y F.R. STERMITZ, *Phytochemistry*, 19,1219 (1980).
11. S. NAJJAR, F.A. CORDELL y N.R. FARSWORTH, *Phytochemistry*, 14, 2309 (1975).
12. F.R. STERMITZ y I.A. SHARIFI, *Phytochemistry*, 16, 2003 (1977).
13. R. TORRES, Tesis para optar al grado de Magister de la Universidad de Santiago de Chile (ex Universidad Técnica del Estado), 1977.
14. S.K. TALAPATRA, S. DUTTA y B. TALAPATRA, *Phytochemistry*, 12, 729 (1973).
15. K. HOSTETTMANN, M.J. PETTEI, I. KUBO y K. NAKANISHI, *Helv. Chim. Acta.* 60, 670 (1977).
16. R. TORRES y B.K. CASSELS, *Phytochemistry*, 17, 838 (1978).
17. J.M. CALDERWOOD y F. FISH, *Chem. Ind* (London), 237 (1966).

NOTA. Partes de este trabajo fueron publicadas en *Journal of Natural Products*, 45, 376 (1982).