

APORFINOIDES EN HOJAS DE *OXANDRA LONGIPETALA* R. E. FR. (ANNONACEAE)

RESUMEN

El estudio químico del extracto de alcaloides totales, realizado por el método clásico, de las hojas de *Oxandra longipetala* R. E. Fr., colectada en el departamento de Córdoba, Colombia, permitió el aislamiento e identificación de los alcaloides oxoaporfínicos lysicamina, O-metilmoschatolina, atherospermidina y liriodenina, junto con las aporfinas normuciferina y anonaina. Las estructuras fueron elucidadas por métodos espectroscópicos (IR, RMN-¹H, RMN-¹³C, experimentos 2D, espectrometría de masas) y por comparación con datos de la literatura.

PALABRAS CLAVES: Oxoaporfinas, aporfinas, *Oxandra longipetala*, Annonaceae.

ABSTRACT

The chemical study of the total alkaloids extract, realized for the classical method, of the *Oxandra longipetala* R. E. Fr., leaves, collected in the departamento de Córdoba, Colombia, permitted the isolation and identification of oxoaporphine alkaloids lysicamine, O-methylmoschatoline, atherospermidine and liriodenine, together with the aporphines normuciferine and anonaine. The structures were elucidated by spectroscopic methods (IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D experiments, mass spectrometry) and for comparisons with data from the literature.

KEYWORDS: Oxoaporphines, aporphines, *Oxandra longipetala*, Annonaceae.

1. INTRODUCCION

Oxandra es un género neotropical con cerca de 35 especies, se distribuye desde América Central y las Antillas hasta la Amazonía. En Colombia crecen 10 especies, seis de ellas se encuentran en la región de Araracuara; principalmente como arbolitos del sotobosque de lugares poco disturbados del plano de inundación del río Caquetá, el plano sedimentario y las formas de roca dura; las restantes especies se encuentran en la región Andina y Caribe [1]. *O. longipetala* es conocida en el departamento de Córdoba con el nombre de “Yaya morena”, es un arbusto pequeño que alcanza los 1 a 5 m de altura, en la Amazonía es usada su corteza para amarrar cargas, de donde deriva el nombre de “carguero” y su madera es usada en la construcción de viviendas [1]. No existe reporte de trabajo químico en *O. longipetala*, más aun, la química de este género de las Annonaceae no es muy extensa. De las 35 especies que lo conforman, se han reportado trabajos en sólo tres especies: *O. xylopioides* (*O.*, cf. *major*) [2,3,4], *O. espiniana* [5] y *O. asbeckii* [6]. Estos trabajos se refieren principalmente a alcaloides de tipo bisdehidroaporfínicos, oxoaporfínicos, noraporfínicos, bencilisoquinolínicos y azafluorenos; sin embargo también se han aislado triterpenos, esteroides, sesquiterpenos y monoterpenos aromáticos, uno de estos últimos con actividad antiparasitaria frente a leishmania y tripanosoma [5].

ALBERTO ANGULO ORTIZ

Lic. Química, Ms.C.
Profesor Asociado
Universidad de Córdoba
aangulo@sinu.unicordoba.edu.co

LUIS E. CUCA SUAREZ

Químico, Dr.Sc.
Profesor Asociado
Universidad Nacional de Colombia
lecucas@unal.edu.co

GILMAR SANTAFE PATIÑO

Lic. Química, Dr.Sc.
Profesor Titular
Universidad de Córdoba
gsantafe@sinu.unicordoba.edu.co

El estudio de los alcaloides totales obtenidos a partir del extracto etanólico de las hojas de *O. longipetala* permitió el aislamiento e identificación de los alcaloides lysicamina (1), O-metilmoschatolina (2), atherospermidina (3), liriodenina (4), anonaina (5) y normuciferina (6).

2. CONTENIDO

2.1. METODOLOGIA

Material vegetal: Las hojas de *Oxandra longipetala* R. E. Fr., fueron recolectadas en el corregimiento Santa Isabel, Municipio de Montería, Departamento de Córdoba ubicada en las coordenadas: 08° 40' 17" latitud norte y 75° 52' 51" longitud oeste, altitud 50 m.s.n.m.. Una muestra botánica fue clasificada por el Biólogo Alvaro Cogollo, del Jardín Botánico Joaquín Antonio Uribe de Medellín y se encuentra en esa colección con el número JAUM 037853. Constituye el primer reporte de esta especie en Colombia.

Extracción y aislamiento: Las hojas (3 kilos), libres de impurezas, se secaron a temperatura ambiente, fueron molidas y sometidas a extracción por percolación, con etanol del 96%. Del extracto etanólico obtenido (550 gramos), se tomaron 150 gramos para someterlos a extracción clásica de alcaloides obteniéndose 235mg de alcaloides totales. La purificación de los alcaloides mayoritarios se hizo empleando cromatografía en

columna, sucesivas, empacadas en todos los casos con sílica gel para columna (0.063-0.200 mm) Merck®, para la cromatografía de capa delgada preparativa se usaron cromatoplasmas de sílica gel HF₂₅₄ de 1mm de espesor, Merck®. El seguimiento al proceso de purificación se llevó a cabo usando como reveladores cromatográficos luz UV, vapores de yodo y reactivo de Dragendorf. Los solventes utilizados en la purificación fueron: diclorometano, metanol, acetona y dietilamina en diferentes proporciones. Los equipos utilizados para el análisis espectroscópico fueron: FTIR PERKIN ELMER 1000F, RMN BRUCKER DRX 400 MHz y MS Agilent 5973N.

2.2. RESULTADOS

El EM-IE del compuesto (**1**), muestra un ión molecular impar a m/z 291(100%). Su espectro de RMN-¹H muestra señales de protones aromáticos a δ 8.94 (d, J=5.1 Hz, 1H) que acopla con la señal δ 7.83 (d, J=5.2 Hz, 1H), características de protones α , β en un anillo piridínico, señales en δ 9.19 (d, J=8.3 Hz, 1H), δ 8.60 (dd, J=7.9 y 1.1 Hz, 1H), δ 7.78 (dt, J=7.0 y 1.4 Hz, 1H), δ 7.59 (pst, J=7.7 Hz, 1H) propias de protones en *orto*, *meta* y *para* de un anillo disustituido y una señal en δ 7.24 (s, 1H) correspondiente a un protón aislado; además, dos grupos metoxilos en δ 4.11(s, 3H) y δ 4.03 (s, 3H). El espectro COSY muestra las correlaciones entre δ 9.19 y δ 7.78, δ 8.60 y δ 7.59, δ 7.78 y δ 7.59 y entre δ 8.94 y δ 7.83. Estas señales, junto con los desplazamientos de RMN-¹³C hacen suponer que se trata de un alcaloide oxoaporfínico de fórmula molecular C₁₈H₁₃O₃N. El análisis de los espectros HMQC y HMBC, destacando en éste último las correlaciones entre δ 8.60 y δ 182.6 (carbonilo) y, δ 7.24 y δ 123.6 indican que el compuesto (**1**) corresponde a la lysicamina.

El compuesto (**2**) presenta un perfil de señales en RMN-¹H con características muy similares a (**1**), en δ 9.11 (d, J=8.3 Hz, 1H), δ 8.97 (d, J=5.3 Hz, 1H), δ 8.58 (dd, J=7.8 y 1.4 Hz, 1H), δ 8.22 (d, J=5.3 Hz, 1H), δ 7.75 (dt, J=8.5 y 1.6 Hz, 1H), δ 7.54 (dt, J=7.9 y 1.0 Hz, 1H), tres grupos metoxilos en δ 4.19 (s, 3H) y δ 4.10 (s, 3H) y δ 4.08 (s, 3H). Estos desplazamientos, integración y constantes de acoplamiento, permiten suponer que el compuesto (**2**) tiene un grupo metoxilo más que (**1**) y su fórmula molecular será C₁₉H₁₅O₄N, acorde además con su ión molecular a m/z 321(100%). El experimento COSY muestra las correlaciones entre δ 9.11 y δ 7.75, δ 8.58 y δ 7.54, δ 7.75 y δ 7.54 y entre δ 8.97 y δ 8.22, mientras que los espectros HMQC y HMBC, confirman lo anterior demostrando que el compuesto (**2**) corresponde al alcaloide oxoaporfínico O-metilmoschatolina.

El análisis del espectro de RMN-¹H del compuesto (**3**) proporcionó los siguientes datos: δ 8.89 (d, J=5.2 Hz,

1H), δ 8.54 (dd, J=7.5 y 1.2 Hz, 1H), δ 8.53 (d, J=7.8 Hz, 1H), δ 8.13 (d, J=5.3 Hz, 1H), δ 7.68 (dt, J=8.4 y 1.6 Hz, 1H), δ 7.49 (dt, J=8.2 y 1.0 Hz, 1H), un grupo metilenodioxo en δ 6.31 (s, 2H) y un grupo metoxilo en δ 4.28 (s, 3H). Estas señales concuerdan suficientemente con las de (**1**) y (**2**) y el espectro COSY evidencia el mismo tipo de correlaciones descritas anteriormente. Esto lleva a concluir que el compuesto (**3**) corresponde a la atherospermidina.

El EM-IE del compuesto (**4**), muestra un ión molecular impar a m/z 275(100%), y picos apreciables a 178(17), 147(16), 100(57) y 69(34). El espectro de RMN-¹H del compuesto (**4**) tiene señales en δ 8.88 (d, J=5.1 Hz, 1H) que acopla con δ 7.74 (d, J=5.1 Hz, 1H), señales a δ 8.59 (d, J=8.1 Hz, 1H), δ 8.56 (dd, J=7.9 y 0.7 Hz, 1H), δ 7.71 (dt, J=8.2 y 1.2 Hz, 1H) y δ 7.55 (pst, J=7.7 y 7.4 Hz, 1H), δ 6.36 (s, 2H) característico de un grupo metilenodioxo y δ 7.15 (s, 1H), típico de un H aislado. Estas señales permiten concluir que se trata de la liriodenina.

El compuesto (**5**) exhibe en RMN-¹H las siguientes señales: δ 8.07 (d, J=7.7 Hz, 1H), δ 7.31 (m, J=7.9 y 2.5 Hz, 1H), δ 7.23 (m, 2H), δ 6.56 (s, 1H), δ 6.08 (d, J=1.2 Hz, 1H), δ 5.93 (d, J=1.2 Hz, 1H), δ 4.0 (dd, J=4.7 y 14.1 Hz, 1H), δ 3.51 (s ancho), δ 3.42 (m, 1H), δ 3.03 (m, 2H), δ 2.97 (dd, J=4.8 y 14.2 Hz, 1H), δ 2.84 (pst, J=14.0 Hz, 1H) y δ 2.67 (m, J=11.9 Hz, 1H). El análisis de los espectros de RMN-¹³C, DEPT-90 Y DEPT-135 indican la presencia de 17 carbonos correspondientes a: siete carbonos cuaternarios en δ 146.9, δ 142.5 (unidos a heteroátomo); δ 134.8, δ 131.0, δ 127.3, δ 126.3 y δ 116.1. Seis metinos en δ 128.1, δ 127.5, δ 127.05, δ 127.01, δ 107.8 y δ 53.2 (alifático unido a heteroátomo). Cuatro metilenos en δ 100.7 (metilenodioxo), δ 43.0, δ 36.6 y δ 28.8. Este análisis, junto con el ión molecular impar a m/z 265(43%) proporcionado por el EM-IE, permite proponer la fórmula molecular C₁₇H₁₅O₂N. Las correlaciones observadas en el COSY, entre los hidrógenos δ 8.07 con δ 7.31 y este con δ 7.23 (2H), con constantes *orto* y *meta*, correspondientes a cuatro metinos aromáticos, permite ubicarlos sobre el mismo anillo. Otra correlación observada en el espectro COSY, se da entre el hidrógeno δ 6.08 y δ 5.93, los cuales acoplan con constante de 1.2 Hz y corresponden al metilenodioxo mencionado anteriormente. La observación detallada del espectro COSY en su parte alifática, indica correlaciones entre el hidrógeno δ 4.00 (vecino al nitrógeno) con un par de hidrógenos diastereotópicos en δ 2.84 y δ 2.97, ubicados sobre el carbono δ 36.62 según el espectro HMQC. Otras correlaciones de este COSY se dan entre los hidrógenos δ 3.42 con δ 3.03 y δ 2.67 con δ 3.03. Del análisis anterior sólo queda por ubicar el metilenodioxo y el singlete δ 6.56. Si tenemos en cuenta la fórmula molecular dada y una correlación muy importante en el espectro HMBC entre el hidrógeno δ

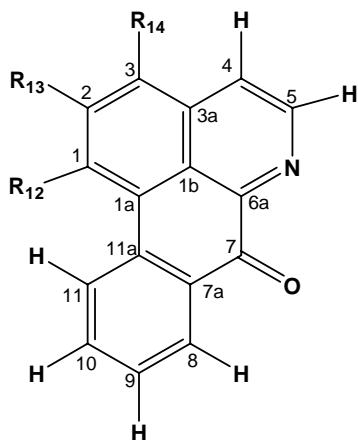
2.67 y el carbono δ 107.8, el cual soporta al hidrógeno δ 6.56, tendremos entonces la ubicación exacta de éste último. El análisis espectroscópico realizado nos lleva a concluir que el compuesto **(5)** corresponde a la anonaina.

El EM-IE del compuesto **(6)**, muestra un ión molecular impar a m/z 281 (54%) indicando la presencia de nitrógeno, y un pico base $[M-1]$ en m/z 280. El espectro de RMN- 1H exhibe las siguientes señales: δ 8.39 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), δ 7.32 (m, $J=8.0$ y 2.6 Hz, 1H), δ 7.25 (m, 2H), δ 6.65 (s, 1H), δ 4.81 (s ancho), δ 4.05 (m, 1H), δ 3.89 (s, 3H) (OCH₃), δ 3.66 (s, 3H) (OCH₃), δ 3.61 (dd, $J=5.9$ y 12.1 Hz), δ 3.29 (m, $J=5.6$ Hz, 1H), δ 3.12 (m, $J=4.2$ y 13.8 Hz, 2H), δ 3.03 (pst, $J=13.7$ Hz, 1H) y δ 2.82 (dd, $J=3.2$ y 16.4 Hz, 1H). El análisis de los espectros de RMN- ^{13}C , DEPT-90 Y DEPT-135, indican la presencia de 18 carbonos correspondientes a: siete carbonos cuaternarios en δ 152.9, δ 145.7 (unidos a heteroátomo); δ 134.6, δ 131.7, δ 127.3, δ 126.8 y δ 125.1. Seis metinos en δ 128.5, δ 128.0, δ 127.7, δ 127.4, δ 111.6 y δ 53.2 (alifático unido a heteroátomo). Tres metilenos en δ 42.1, δ 35.6 y δ 27.2. Por último dos

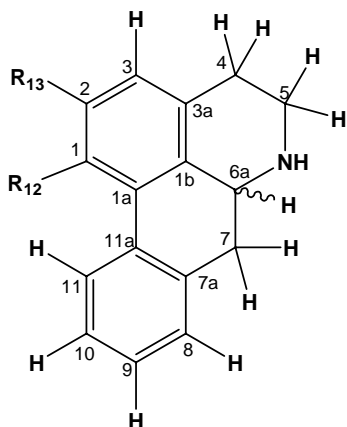
metoxilos en δ 60.2 y δ 55.9. Este análisis, junto con el peso molecular proporcionado por el espectro de masas, permite proponer la fórmula molecular C₁₈H₁₉O₂N. El espectro COSY, muestra correlaciones entre los hidrógenos δ 8.39 con δ 7.32 y este con δ 7.25 (2H), con constantes *orto* y *meta*, correspondientes a cuatro metinos aromáticos. El espectro COSY en su parte alifática, indica correlaciones entre el hidrógeno δ 4.05 (vecino al nitrógeno) con un par de hidrógenos diastereotópicos en δ 3.03 y δ 3.12, ubicados sobre el carbono δ 35.6 según el espectro HMQC. Otras correlaciones en el COSY se dan entre los hidrógenos δ 3.61 con δ 3.29 y δ 3.29 con δ 2.82. Este análisis muestra una gran semejanza entre los desplazamientos, correlaciones y constantes de acoplamiento de los compuestos **(5)** y **(6)**, diferenciándose únicamente porque **(6)** tiene dos metoxilos en lugar del metilendioxi de **(5)**. La ubicación de los metoxilos en **(6)** es asignada gracias a la correlación existente entre el C-4 δ 27.2 y el hidrógeno δ 6.65 que debe estar ubicado sobre el C-3 δ 111.6. El compuesto **(6)** corresponde a la normuciferina.

C	(1)		(2)		(3)	(4)		(5)		(6)	
	δ^1H (mult., J=Hz)	$\delta^{13}C$	δ^1H (mult., J=Hz)	$\delta^{13}C$	δ^1H (mult., J=Hz)	δ^1H (mult., J=Hz)	$\delta^{13}C$	δ^1H (mult., J=Hz)	^{13}C	δ^1H (mult., J=Hz)	^{13}C
1		151.4		156.4			147.9		142.5		145.7
1a				115.8			130.2		116.1		126.8
1b				122.8			123.2		127.3		125.1
2		156.6		147.2			151.7		146.9		152.9
3	7.24(s)	106.2		148.4		7.15(s)	103.2	6.56(s)	107.8	6.65(s)	111.6
3a				130.8			135.7		126.3		127.3
4	7.83(d, 5.2)	123.6	8.22(d, 5.3)	119.1	8.13(d, 5.3)	7.74(d, 5.0)	124.2	2.67(m) 3.03(m)	28.8	2.82(dd, 3.2, 16.4) 3.29(m, 5.6)	27.2
5	8.94(d, 5.1)	144.9	8.97(d, 5.3)	144.6	8.89(d, 5.2)	8.88(d, 5.1)	144.8	3.42m 3.03m	43.0	3.12(m, 4.2, 13.8) 3.61(dd, 5.9, 12.1)	42.1
6								3.51s ancho		4.81(s ancho)	
6a				145.6			145.2	4.00(dd, 4.7, 14.1)	53.2	4.05(m)	53.2
7		182.6		182.6			182.3	2.84(pst, 14.0) 2.97(dd, 4.8, 14.2)	36.6	3.03(pst, 13.7) 3.12(m, 4.2, 13.8)	35.6
7a		131.5		131.1			131.2		134.8		131.7
8	8.60(dd, 7.9, 1.1)	129.0	8.58(dd, 7.8, 1.4)	129.0	8.54(dd, 7.5, 1.2)	8.56(dd, 7.9, 0.7)	128.8	7.23(dd, 7.9, 0.7)	128.1	7.25(m)	127.7
9	7.59(dt, 7.7)	128.5	7.54(dt, 7.9, 1.0)	128.2	7.49(dt, 8.2, 1.0)	7.55(pst, 7.7, 7.4)	128.5	7.23(pst, 7.7, 7.4)	127.5	7.25(m)	128.0
10	7.78(dt, 7.0, 1.4)	134.1	7.75(dt, 8.5, 1.6)	134.3	7.68(dt, 8.4, 1.6)	7.71(dt, 8.2, 1.2)	133.9	7.31(dt, 8.2, 1.2)	127.0 1	7.32(m)	127.4
11	9.19(d, 8.3)	128.0	9.11(d, 8.3)	127.5	8.53(d, 7.8)	8.59(d, 8.1)	127.3	8.07(d, 8.1)	127.0 5	8.39(d)	128.5
11a				131.5			132.8		131.0		134.6
12	4.03(s)	60.3	4.08(s)	61.0			102.4	6.08(d, 1.2) 5.93(d, 1.2)	100.7	3.66(s)	60.2
13	4.11(s)	56.0	4.10(s)	61.4	6.31(s)	6.36(s)				3.89(s)	55.9
14			4.19(s)	61.7	4.28(s)						

Tabla 1. Datos de RMN de 1H (400MHz) y ^{13}C (100MHz) de los compuestos **(1-2, 4-6)** y RMN de 1H (400MHz) del compuesto **(3)**. δ en ppm; (CDCl₃).



- 1 $R_{12} = R_{13} = \text{OMe}, R_{14} = \text{H}$
- 2 $R_{12} = R_{13} = R_{14} = \text{OMe}$
- 3 $R_{12}, R_{13} = \text{OCH}_2\text{O}, R_{14} = \text{OMe}$
- 4 $R_{12}, R_{13} = \text{OCH}_2\text{O}, R_{14} = \text{H}$



- 5 $R_{12}, R_{13} = \text{OCH}_2\text{O}$
- 6 $R_{12} = R_{13} = \text{OMe}$

3. CONCLUSIONES

El estudio de los alcaloides totales obtenidos a partir del extracto etanólico de las hojas de *Oxandra longipetala* R. E. Fr., permitió el aislamiento e identificación de cuatro alcaloides con núcleo oxoaporfínico, conocidos con los nombres de lycicamina (1), O-metilmoschatolina (2), atherospermidina (3) y liriodenina (4); además de las aporfinas simples anonaina (5) y normuciferina (6). Estos alcaloides son comunes en diversos géneros de las Annonaceae, sin embargo es la primera vez que se reporta el compuesto (1) en el género *Oxandra* [4]. Por su parte, (2) también ha sido encontrado en las familias Lauraceae [8] y Menispermaceae [7]; (4), se encuentra en especies de Eupomatiaceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Monimiaceae y Ranunculaceae [7]; el

compuesto (5) está presente en Menispermaceae [8], Nympheaceae y Rhamnaceae [9], mientras que (6) ha sido aislado de Lauraceae [7], Magnoliaceae, Nympheaceae y Rhamnaceae [9].

Representa este trabajo el primer reporte de constituyentes químicos de *O. longipetala* y confirma una vez más la tendencia metabólica de las Annonaceae hacia la producción de aporfínicos.

4. AGRADECIMIENTOS

A COLCIENCIAS, DIB Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá y al Centro de Investigaciones de la Universidad de Córdoba.

5. BIBLIOGRAFIA

- [1] MURILLO, J. Las Annonaceae de Colombia. *Biota Colombiana* **2**, 49, (2001).
- [2] ZHANG, J., El-Shabrawy, A. R., El-Shanawany, M. A., Schiff, P. L., and Slatkin, D. J. New azafluorene alkaloids from *Oxandra xylopioides*. *J. Nat. Prod.* **50**, 800, (1987).
- [3] ARANGO, G., Cortes, D., and Cavé, A. Three bis-dehydroaporphines from *Oxandra* cf. *Major*. *Phytochemistry* **26**, 1227, (1987).
- [4] ARANGO, G., Cortes, D., Cassels, B., Cavé, A., and Merienne, C. Azafluorenonos from *Oxandra* cf. *major* and biogenetic considerations. *Phytochemistry* **26**, 2093, (1987).
- [5] HOCQUEMILLER, R., Cortes, D., Arango, G., Myint, S., Cavé, A., Angelo, A., Muñoz, V., et Fournet, A. Isolement et Synthèse de L'Espintanol, Nouveau Monoterpene Antiparasitaire. *J. Nat. Prod.* **54**, 445, (1991).
- [6] TINTO, W., Blair, L., Reynolds, W., McLean, S. Terpenoid constituents of *Oxandra asbeckii*. *J. Nat. Prod.* **55**, 701, (1992).
- [7] GUINAUDEAU, H., Leboeuf, M., and Cavé, A. Aporphinoid Alkaloids, V. *J. Nat. Prod.* **57**, 1033, (1994).
- [8] GUINAUDEAU, H., Leboeuf, M., and Cavé, A. Aporphinoid Alkaloids, IV. *J. Nat. Prod.* **51**, 389, (1988).
- [9] GUINAUDEAU, H., Leboeuf, M., and Cavé, A. Aporphine Alkaloids, II. *J. Nat. Prod.* **42**, 325, (1979).