

ALCALOIDES ISOQUINOLINICOS DE LA CORTEZA Y FLORES DE *Erythrina fusca* Loureiro.

Jairo Calle A.*, Roberto Pinzón S.*, Luis F. Ospina*, Nubia C. Medina*, Ana Carrión*, Edgar Bautista**.

* Universidad Nacional de Colombia Departamento de Farmacia, ** Universidad Nacional de Colombia Departamento de Física
E-mail R. Pinzon: ropinzon@ciencias.ciencias.unal.edu.co. A.A. 14490, Santafé de Bogotá.

RESUMEN

De la corteza y flores de *Erythrina fusca* Loureiro se aislaron los alcaloides isoquinolínicos (+)-epieritratidina y 8-(+)-oxoerisodina, los cuales fueron identificados con base en sus constantes espectroscópicas. Se determinó la actividad antimicrobiana de extractos crudos y fracciones frente a bacterias y hongos. Se evaluó la actividad farmacológica de extractos crudos y fracciones frente a ratas tipo Wistar.

Palabras o Frases Claves: *Erythrina fusca* Loureiro-alcaloides isoquinolínicos-Leguminosae

SUMMARY

ISOQUINOLINIC ALKALOIDS FROM THE BARK AND FLOWERS OF THE *Erythrina fusca* Loureiro

The isoquinolinic alkaloids (+)-epieritratidine and 8-(+)-oxoerisodine were isolated from the bark and flowers of *Erythrina fusca* Loureiro and on the basis of the spectroscopic constants identified. Raw extracts and fractions of them were assayed for antibacterial and antifungal activity. The pharmacological activity of raw extracts and fractions of them was evaluated using Wistar rats

Key word of phrases: *Erythrina fusca* Loureiro-isoquinolinic alkaloids-Leguminosae

INTRODUCCION

Erythrina fusca Loureiro es un árbol de la familia Leguminosae. Algunas plantas de esta familia se emplean popularmente en medicina como sedantes e hipnóticos (1); en la revisión bibliográfica de este género se encontraron referencias de su comprobada actividad como curarizantes (1, 2). Debido a esta actividad se han empleado para disminuir las convulsiones producidas

por fármacos en pacientes con epilepsia y esquizofrenias (1, 2); en algunas regiones de Africa las *Erythrina*s son usadas para el tratamiento de la infertilidad femenina, el dolor de estómago y la gonorrea(1, 2, 3). En Colombia (Sonsón, Santander y otras regiones) se emplean las semillas de *E. edulis* como legumbre y en otros lugares del país (Ocaña, Norte de Santander) las flores de *E. poeppigiana* se comen en sopas; sobre *E. fusca*. no se reportan usos populares.

La investigación fitoquímica de los constituyentes de esta especie ha dado como resultado el aislamiento de 5 alcaloides derivados de la isoquinolina. En el presente trabajo se describe el aislamiento y elucidación estructural de dos alcaloides, (+)-epieritratidina y (+)-8-oxoerisodina.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

La planta fué clasificada como *Erythrina fusca* Loureiro; un ejemplar se encuentra depositado en el Herbario Nacional Colombiano bajo el número 364798. El material vegetal (corteza y flores) se recolectó en el kilómetro 3 adelante de la población de El Triunfo, departamento de Cundinamarca a 1300 m.s.n.m.

Material vegetal: 2530 g de corteza seca y molida se percolaron con etanol del 96 % y 1373 g de flores se licuaron con el mismo disolvente. El extracto etanólico seco de la corteza pesó 229,9 g (9,1 %) y el extracto etanólico seco de flores pesó 37,9 g (2,8 %). El extracto etanólico de la corteza se fraccionó con disolventes de polaridad creciente, éter de petróleo, cloruro de metileno y acetona, y por partición con acetato de etilo e isobutanol.

Los extractos en acetato de etilo, isobutanol y acuoso de la corteza y el extracto etanólico de las flores dieron positiva la prueba para alcaloides; la extracción de los alcaloides a partir de los extractos anteriormente mencionados se realizó utilizando métodos descritos en la

Recibido para su Publicación: 31 de julio de 1997

Aprobada su publicación: 9 de septiembre de 1997

literatura(4). Las bases alcaloidales obtenidas de cada extracto fueron evaluadas por cromatografía de capa delgada (CCD) usando como eluente CH_2Cl_2 -MeOH (9:1) y como revelador reactivo de Dragendorff modificado para CCD.

Las bases alcaloidales se aislaron por cromatografía en columna (C.C.) con gel de sílice para columna, utilizando como eluente CH_2Cl_2 -ACOet-MeOH en gradiente y cromatografía de capa delgada preparativa usando como eluente CH_2Cl_2 -MeOH (9:1). Los alcaloides 1 y 2 se identificaron por métodos espectroscópicos (IR, RMN^{13}C y EM), mientras que los alcaloides 3, 4 y 5 no se identificaron puesto que se descomponen produciendo más de una mancha en CCD.

El extracto en cloruro de metileno dio positivo el ensayo de Shinoda, razón por la cual se intentó aislar los flavonoides presentes mediante cromatografía de columna con seguimiento por cromatografía de placa delgada utilizando para ello mezclas de solventes (CH_2Cl_2 -ACOet-MeOH) en diferentes proporciones. Al final se obtuvieron las fracciones EF2 y G7-9 en las cuales se identificaron cualitativamente flavonoides; no se caracterizaron pero sí se realizaron con ellos pruebas de actividad biológica.

Ensayos de actividad biológica: Se determinó la actividad antibacteriana y antifúngica (5), se realizó tamizado hipocrático (5). La actividad antibacteriana se determinó por el método de Mitscher (6) utilizando bacterias gram (+) y gram (-) y la actividad antifúngica por el método de los discos de papel (7). En ambos casos se analizaron los extractos etanólico, en cloruro de metileno, acetato de etilo y de isobutanol y las fracciones EF2 y G7-9 del extracto en cloruro de metileno de la corteza.

El tamizado hipocrático se realizó con los extractos etanólico de las flores, cloruro de metileno, acetato de etilo, acetónico, éter de petróleo y con la fracción de los alcaloides totales. Para este ensayo se utilizaron ratas albinas adultas, WISTAR, provenientes del bioterio del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional. Los extractos fueron solubilizados en un vehículo apropiado (mezclas hidroalcohólicas) y se administraron tanto por vía oral como por vía intraperitoneal.

RESULTADOS Y DISCUSION

El alcaloide 1 aislado de la fracción de isobutanol y de la fracción acuosa de la corteza se identificó por espectroscopía. Al IR mostró bandas para grupos hidroxilo ($3450\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$) y bandas de metoxilo ($2930\text{-}2845\text{ cm}^{-1}$); lo anterior se confirmó plenamente con el

espectro de RMN^{13}C donde aparecen tres señales, 55.8, 55.9 y 57.1, las cuales corresponden a carbonos de tipo metoxilo como se informa en la literatura (8). En la molécula del alcaloide éstos están en los $\text{C}_{15'}$, $\text{C}_{16'}$ y $\text{C}_{3'}$ (ver figura N° 1). El espectro IR mostró aromaticidad (1625 cm^{-1} y 1590 cm^{-1}), la cual se comprobó con el espectro de RMN^{13}C donde aparecen 8 señales entre 100 y 150 ppm correspondientes a carbonos sp_2 que pueden ser aromáticos o vinílicos. Las señales que aparecen en el espectro de RMN^{13}C a 147.9, 146.5, 144.2, 128 y 125 ppm corresponden a los carbonos aromáticos C_{15} , C_{16} , C_6 , C_{13} y C_{12} respectivamente. Las señales en 121.3, 111.8, 111,1 ppm corresponden a carbonos terciarios y se asignaron a los carbonos C_1 , C_{17} y C_{14} que aparecen en la zona de carbonos sp_2 .

El desplazamiento de las señales en 81,5 y 72,3 ppm es característico de carbonos unidos a oxígeno y de acuerdo con el experimento DEPT corresponden a carbonos terciarios y fueron asignados a C_2 y C_3 . La señal 64,5 ppm es de carbono cuaternario y en la estructura de los alcaloides de Erythrinas el C_5 es cuaternario, por lo tanto se le asignó esta señal.

Las señales de 46,3, 40,1, 39,3, 26,3 y 21,4 ppm correspondientes a metilenos, fueron asignadas a C_{10} , C_4 , C_8 , C_7 y C_{11} respectivamente. Mediante el análisis de los datos obtenidos a partir de los espectros (IR, RMN^{13}C , DEPT y EM) y en comparación con lo reportado en la bibliografía (8, 9, 10, 11, 12), se concluye que el alcaloide 1 es (+)-epieritratidina. (ver figura N° 1)

El alcaloide 2 fue aislado e identificado a partir de los extractos de isobutanol y acuoso de corteza y etanólico de flores; se identificó por espectroscopía.

Su espectro IR mostró bandas para grupos hidroxilo ($3450\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$) además aparecen bandas de grupos metoxilo ($2900\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$), entre 1700 y 1680 cm^{-1} aparece una banda asignada a carbonilo.

En el espectro RMN^{13}C aparecieron 18 señales, entre las cuales encontramos 9 señales a campo bajo entre 109.5 y 170,8 ppm, el desplazamiento de estas señales es característico de carbonos sp_2 . Las señales en 147.5, 147.1, 131.5, 126.0, 111.5 y 109.5 ppm son las correspondientes a los carbonos del anillo aromático C_{16} , C_{15} , C_{13} , C_{12} , C_{17} y C_{14} respectivamente. y las señales en 170,8 y 157 ppm corresponden a los carbonos C-8 y C-6. (ver figura N° 2)

El experimento DEPT demostró que hay tres señales en 136.5, 123.2 y 120.5 que corresponden a grupos CH, fueron asignadas a los carbonos C_1 , C_2 y C_7 . La señal que aparece en 76.5 ppm corresponde a un CH según el

experimento DEPT y su desplazamiento químico es característico de un carbono unido a un oxígeno, por lo tanto se asignó esta señal al C₃.

Los alcaloides de Erythrinas presentan generalmente una señal entre 65 y 70 ppm que corresponde al C₅ puesto que es un carbono cuaternario, en este caso la señal aparece en 67 ppm. Las señales en 56.0 y 55.7 tienen un desplazamiento característico de grupos metoxilo y se asignaron a C_{3'} y C_{15'}. Las señales en 43.2, 41.2, y 23.7 corresponde a CH₂ según el experimento DEPT y fueron asignadas a C₁₀, C₄ y C₁₁.

El espectro de masas mostró un peso molecular de 313 u.m.a. y una fórmula condensada C₁₈H₁₉O₄N. Presenta el ión molecular en m/z 313 (66 %), el pico base en m/z 282 (100 %) y otro pico en m/z 298(42 %). Los fragmentos de masas m/z 298 (M-15) y 282 (M-31), demuestran la presencia de un sustituyente metoxilo, confirmada por el espectro de RMN¹³C el cual muestra dos señales correspondientes a C_{15'} y C_{3'}.

Mediante el análisis de los datos obtenidos a partir de los espectros (IR, RMN¹³C, DEPT y EM) y en comparación con lo reportado en la bibliografía(9, 10, 11, 12), se concluye que el alcaloide 2 es (+)-8-oxoerisodina. (ver figura N° 2)

Los resultados de la actividad antibacteriana indican que los extractos evaluados son activos frente a: *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *S. typhimurium* y *S. aureus*.

El ensayo con hongos mostró que *Mucor ssp*, *Fusarium oxisporum dianti* y *Aspergillus niger* son sensibles a la fracción EF2 y G7-9 las cuales contienen flavonoides.

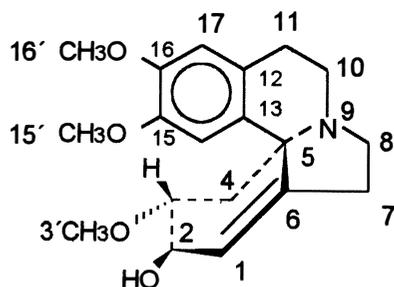


Figura 1. Estructura de (+)- Epieritratidina

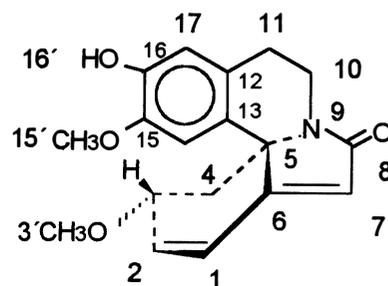


Figura 2. Estructura de (+)- 8- Oxoerisodina

En el tamizado hipocrático se observó depresión del sistema nervioso central(disminución de la actividad motriz, retardo en los reflejos) con los extractos etanólico de corteza y de flores. El extracto de alcaloides totales inicialmente presentó una estimulación del sistema nervioso central seguida por una posterior depresión de este sistema y depresión respiratoria.

En general, se observó una importante actividad de los extractos sobre los animales de experimentación la cual se manifestó por una actividad depresora del sistema nervioso central y una alteración del sistema nervioso autónomo(se observa en el aumento de las secreciones como lacrimación y salivación, lo mismo que piloerección).

Agradecimientos

Al proyecto "Búsqueda de Principios Bioactivos en Plantas Medicinales Colombianas", a Colciencias y a la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo económico.

BIBLIOGRAFIA

1. H.Y. Bernal, J.E. Correa. "Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello". SECAB, vol 8, 1992, pp 213-325.
2. D.J. Gonzalez. "Plantas Medicinales, un Resumen de Farmacognosia". Tercer Mundo Eds, 2 ed., Colombia, 1988, pp 74-75.
3. L.A. Mitscher., S. Drake, S. Taraghav, R. Gollapud, S.K. Okwutte. *J. Nat. Prod.* 50, 1025-1040.(1987).
4. T. Robinson, "The Organic Constituents of Higher Plant. Their Chemistry and Interrelationships",

- published by Cordus Press, Mass. USA, 1975, pp 281-282.
5. CYTED. "Manual de Técnicas de Investigación, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo", Editor R. Pinzón, 1995, pp 11-26, 45-46.
 6. C. Quiceno, S. Ruiz. "Determinación de la Posible Actividad Antibacteriana de Extractos de Plantas Medicinales Colombianas", Tesis, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, 1995, 92 pp.
 7. M. C. Correa, G. S. Herrera, "Determinación in vitro de la Actividad Antimicótica de Varios Extractos de Origen Vegetal", Tesis, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Santafé de Bogotá, 1995, 87 pp.
 8. M. Amer, M. Shamma and A. Freyer, *J. Nat. Prod.* **54**, 2, 329-363.(1991).
 9. A. S. Chawla, T. R. Krishan, A. H. Jackson and D. A. Scalabrin, *Planta Med.* **54**, 526.(1988).
 10. A. S. Chawla, S. Chunchatprasert and K. L. Rineharr, *Org. Magn. Reson.* **21**, 39 (1983).
 11. A. H. Jackson, Ed by J. D. Phillipson and M. H. Zenk. Springer - Verlag, Berlin, 1985, pp 62.
 12. S. Chunchatprasert, Ph.D. Thesis, Cardiff University, Cardiff, Wales UK.1983.