

## RMN DE ALCALOIDES DEL TROPANO

Lucía Arteaga de García\*

María Teresa Reguero \*

Yaneth Barragán\*

Patricia Almanza\*

Pedro Joseph-Nathan\*\*

### RESUMEN:

De las partes aéreas de *Brugmansia sanguinea* se aislaron 4 alcaloides, (previamente aislados)(1): apoescopolamina [1], escopolamina [2], atropina [3] y 6β-hidroxi-3α-tigloiloxitropano [4]. La identificación se llevó a cabo mediante estudios espectroscópicos (ir, em, rmn <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C). El análisis de los experimentos de resonancia magnética nuclear <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C (1D, 2D, APT, DEPT), permitió la asignación inequívoca de las señales de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C para los cuatro compuestos, siendo la primera vez que se publican estos datos.

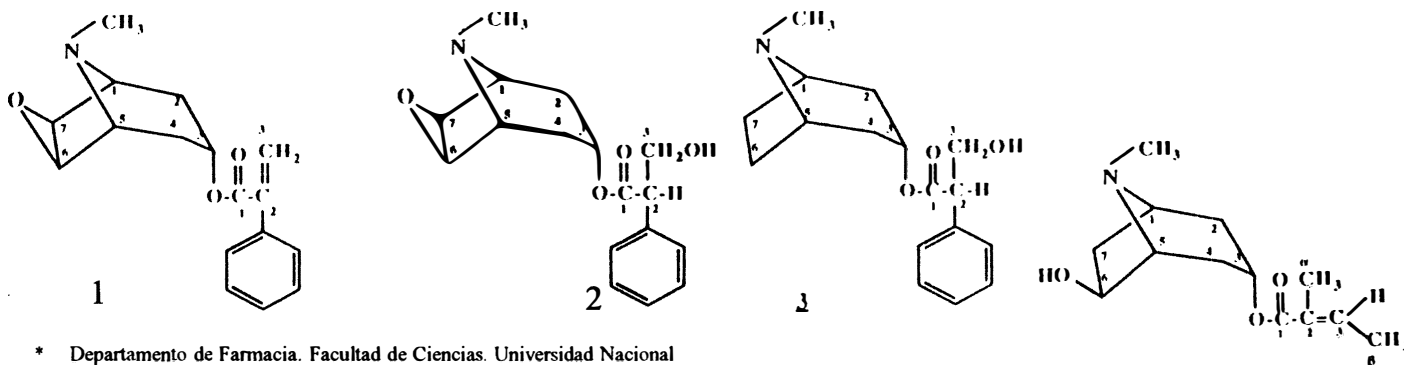
### SUMMARY

From the aerial parts of *Brugmansia sanguinea*, four alkaloids (previously isolated) (1):

aposcopolamine [1] scopolamine [2] atropine [3] and 6β-hydroxy-3α-tigloiloxitropane [4], were isolated. The structure of the alkaloids was established by analysis of its spectral data (IR, EIMS, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C-NMR). Extensive <sup>1</sup>H <sup>13</sup>C and 1D, 2D-NMR experiments allowed <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C assignments of the signals for 1-4. This is the first report of <sup>13</sup>C-NMR assignments for the free bases.

### INTRODUCCION

Los alcaloides del tropano se encuentran distribuidos en la naturaleza en la familia Solanaceae en varios géneros tales como *Atropa*, *Hyosciamus*, *Duboisia*, *Escopolia*, *Datura* y *Brugmansia*. Los alcaloides tropánicos más importantes por sus propiedades farmacológicas (anticolinérgicos) son la atropina [3] y la



\* Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Apartado Aéreo 14490 - Bogotá- Colombia.

\*\* Departamento de Química del Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados. Instituto Politécnico Nacional. Apartado Postal 14740. México D.F. México.

escopolamina [2]. Las *Brugmansias* son especies suramericanas, ampliamente distribuidas en casi todos los climas y regiones de Colombia, especialmente en las regiones Andinas y son una fuente potencial de estos alcaloides. Estudios previos han mostrado que el contenido total de alcaloides en *Brugmansias* colombianas es alto con respecto a otras especies utilizadas industrialmente y que el alcaloide mayoritario es escopolamina (2,3)

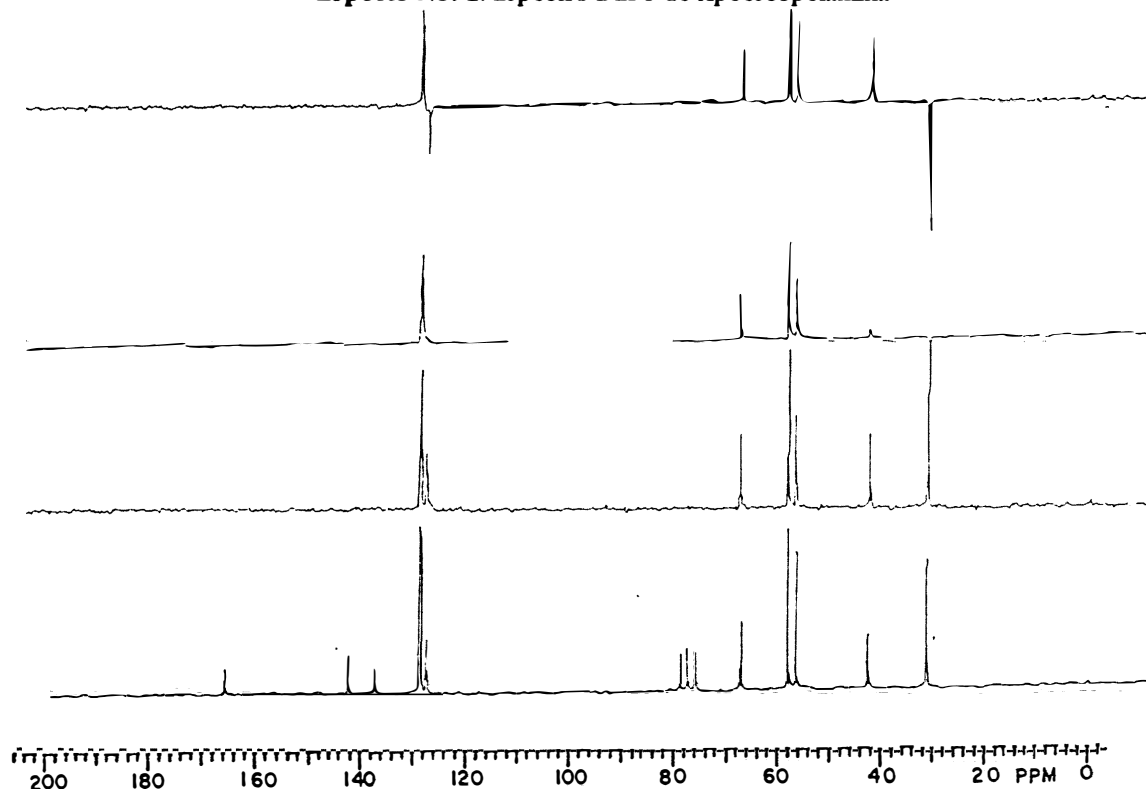
Las estructuras de la mayoría de este tipo de alcaloides habían sido propuestas con base en sus espectros de  $^1\text{H}$  rmn (1,4) y  $^{13}\text{C}$  rmn (5). En el presente trabajo se identificaron estos compuestos por métodos físicos y espectroscópicos. Mediante diferentes experimentos de resonancia magnética nuclear (APT, DEPT, RMN bidimensional homo y heteronuclear) se establecieron referencias que hacen posible la identificación de otros alcaloides del tropano y permiten establecer la esteoquímica de algu-

nos carbonos.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El compuesto [1] mostró al ir la presencia de grupos carbonilo de éster ( $1730, 1240\text{ cm}^{-1}$ ), grupo epóxido ( $840\text{ cm}^{-1}$ ), dobles enlaces y anillo aromático ( $3030, 1650, 1550\text{ cm}^{-1}$ ). El espectro de masas muestra un ión molecular ( $m/z\ M^+ 285$ ), 18 unidades de masa menos que el P.M. de la escopolamina, lo cual sugiere que en vez del grupo  $\text{CH}_2\text{OH}$  existe un grupo  $=\text{CH}_2$  terminal. La presencia de este grupo se comprueba en el espectro de rmn  $^1\text{H}$  por dos dobletes situados en 5,8 y 6,3 ppm que integran cada uno para un protón,  $J = 1,7\text{ Hz}$  característica de protones en posición gem. En el espectro de rmn  $^1\text{H}$  también se pueden observar las señales para 5 protones aromáticos en 7.35 ppm, la señal característica para el protón  $\text{H}_3$ , un triplete  $J = 5,3\text{ Hz}$ , la señal para los tres protones del  $\text{N-CH}_3$ , una señal sencilla (2H) en 3.36 ppm para los protones

Espectro No. 1. Espectro DEPT de Apoescopolamina

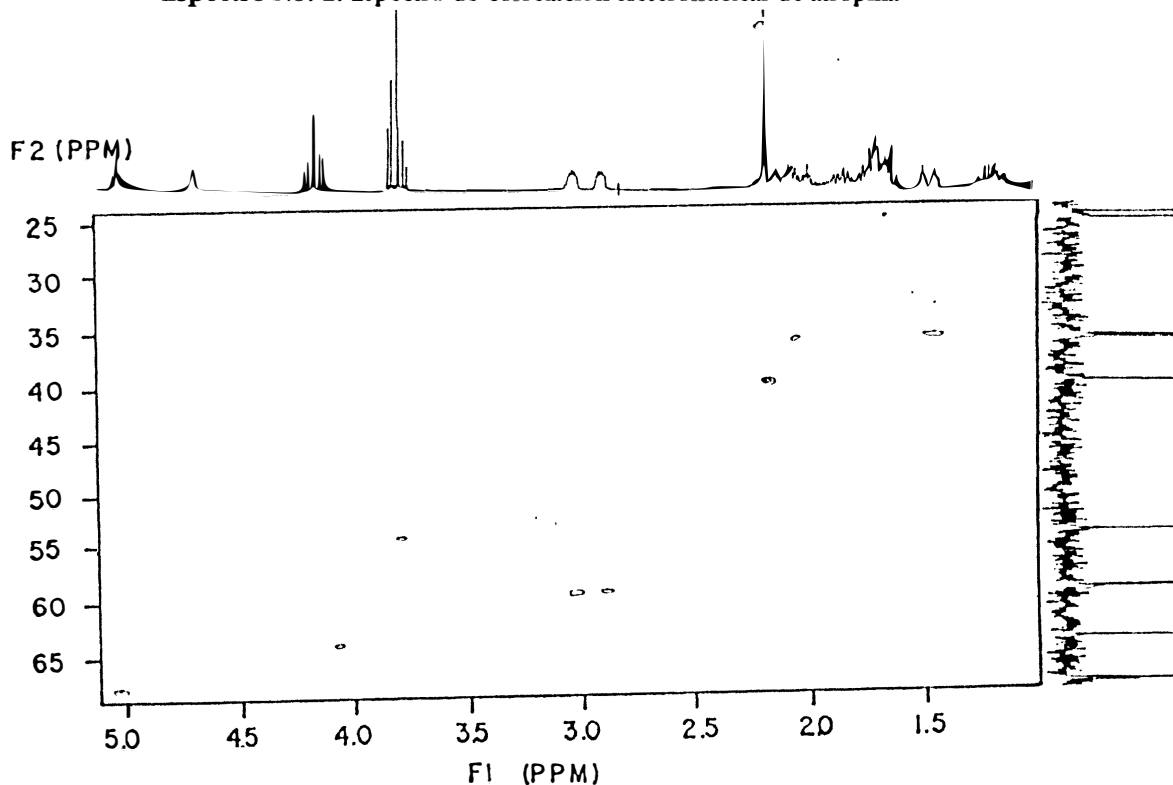


6 y 7 y un multiplete centrado en 3,15 ppm (2H, H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub>). La señal de H<sub>6</sub> y H<sub>7</sub> se encuentra desplazada hacia campos bajos con respecto a la señal para H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub>, lo cual se puede atribuir a la mayor electronegatividad del oxígeno unido a C<sub>6</sub> y C<sub>7</sub> en el anillo epoxídico. Mediante la técnica DEPT (Espectro 1) se pudo determinar el tipo de carbonos (1°, 2°, 3° y 4°) presentes en la molécula, lo cual es congruente con la estructura de la apoescopolamina [1]. La asignación inequívoca de las señales de rmn protónica y de <sup>13</sup>C fué posible mediante el espectro de rmn heteronuclear bidimensional. En la tabla I se encuentran las asignaciones hechas a la molécula de apoescopolamina. Es de observar que esta molécula posee un plano de simetría, lo cual simplifica sus señales en rmn y sirve como modelo para la asignación de las señales de rmn de otros alcaloides tropánicos.

El alcaloide [2] P M 303 (deducido del espectro de masas) mostró en el espectro ir señales para

grupo OH (3350 cm<sup>-1</sup>), carbonilo de éster (1740 y 1200 cm<sup>-1</sup>), grupo epóxido (870 cm<sup>-1</sup>) dobles enlaces y anillo aromático (3080, 1620, 1520 cm<sup>-1</sup>). En el espectro de rmn <sup>1</sup>H se observan las señales típicas del núcleo tropánico (H<sub>3</sub>, N-CH<sub>3</sub>, protones aromáticos). A diferencia del espectro de apoescopolamina se observa en el espectro de [2] un multiplete entre 4,6 y 5,4 ppm (3H) atribuido a los protones H<sub>2</sub> y H<sub>3</sub>. Además las señales de los protones del anillo del epóxido H<sub>6</sub> y H<sub>7</sub> aparecen como dos dobletes en 2,7 y 3,4 ppm (2H) J= 3,5 Hz y los protones H<sub>1</sub> y H<sub>5</sub> se observan como multipletes en 2,9 y 3,1 ppm. La multiplicidad de estas señales se debe a que estos protones no son magnéticamente equivalentes por la asimetría de la molécula. Entre 1,5 y 2,3 ppm (4H) aparecen las señales para H<sub>2</sub> y H<sub>4</sub> como un multiplete complejo. Las señales para los carbonos se asignaron por comparación con las de la apoescopolamina y aparecen en la tabla I. Estos datos espectroscópicos concuerdan con

Espectro No. 2. Espectro de correlación Heteronuclear de atropina



la estructura de la escopolamina.

Para el alcaloide [3], el P.M de 289, se estableció por el  $M^+$  del espectro de masas. En el espectro ir se observan bandas debidas al grupo OH ( $3400\text{ cm}^{-1}$ ), dobles enlaces y anillo aromático ( $3050, 1650\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo de éster ( $1740$  y  $1240\text{ cm}^{-1}$ ). El espectro de  $\text{rmn}$  de  $^{13}\text{C}$  y el espectro APT indican la presencia de dos carbonos cuaternarios uno de tipo carbonílico en  $172,3\text{ ppm}$  y el otro aromático en  $137,70\text{ ppm}$ . Se observan nueve carbonos terciarios, cuyos hidrógenos correspondientes fueron hallados por medio del espectro bidimensional heteronuclear (Espectro 2) y cuyas asignaciones aparecen en la Tabla I. Por medio de este espectro es posible asignar las señales de los protones axiales y ecuatoriales de  $\text{H}_2\text{-H}_4$  y de  $\text{H}_6\text{-H}_7$ . Los protones axiales se encuentran desplazados a campos bajos por la desprotección generada por el grupo carbonilo. También se encuentran más fuertemente acoplados con  $\text{H}_3$  y con  $\text{H}_1$  y  $\text{H}_5$ , lo cual es lo esperado de acuerdo con la ley de Karplus. Los acoplamientos entre los diferentes protones se observan en el espectro bidimensional homonuclear y permiten establecer con certeza las señales de cada uno de los carbonos y protones de la molécula que corresponde a la atropina.

El compuesto [4], con un peso molecular de 239 presenta bandas en el ir para grupo OH ( $3340\text{ cm}^{-1}$ ), doble enlace ( $3020\text{ cm}^{-1}$ ) y carbonilo de éster ( $1750, 1250\text{ cm}^{-1}$ ). En el espectro de  $\text{rmn}$   $^1\text{H}$  se observan señales típicas para un grupo tigloil: un cuarteto en  $6,8\text{ ppm}$  ( $1\text{H}$ )  $J=7\text{ Hz}$ , un singlete en  $1,85\text{ ppm}$  ( $3\text{H}$ ) y un doblete en  $1,8\text{ ppm}$  ( $3\text{H}$ )  $J=7\text{ Hz}$ . Estas señales corresponden al protón y a los  $\text{CH}_3$   $\alpha$  y  $\beta$ , respectivamente. La presencia de este grupo se confirmó por irradiación de la señal en  $6,8\text{ ppm}$ , con lo cual el doblete en  $1,8$  se simplificó confirmando el

acoplamiento entre estos protones. Se observa también en el espectro una señal doble de dobles en  $4,6\text{ ppm}$   $J=10\text{ Hz}, 3\text{ Hz}$ . Por medio del espectro bidimensional heteronuclear se puede hallar el desplazamiento del carbono correspondiente en  $75,3\text{ ppm}$ . Estos datos permiten asignar estas señales a un carbono terciario unido a un grupo OH. La presencia del grupo OH se confirma por una señal ancha en el espectro de  $\text{rmn}$   $^1\text{H}$  en  $3,75\text{ ppm}$  ( $1\text{H}$ ), por el PM del compuesto y por la señal en  $3340\text{ cm}^{-1}$  en el espectro ir. Los espectros de  $\text{rmn}$   $^{13}\text{C}$ , APT y DEPT permiten determinar el número y tipo de carbonos. Los datos obtenidos confirman una sustitución en el anillo tropánico puesto que aparece un carbono terciario adicional y desaparece un carbono secundario. La información anterior indica que el compuesto es un éster tiglico de un hidroxi tropano. El grupo tigloiloxi se localiza en la posición 3. Esto se puede establecer por la presencia del triplete en  $5,1\text{ ppm}$  ( $1\text{H}$ )  $J=5,3\text{ Hz}$  característico del protón  $\text{H}_3$  ( $6,7$ ).

Espectro No. 3. Espectro de correlación Homonuclear de 6  $\beta$ -hidroxi - 3  $\alpha$  - tigloiloxitropano.

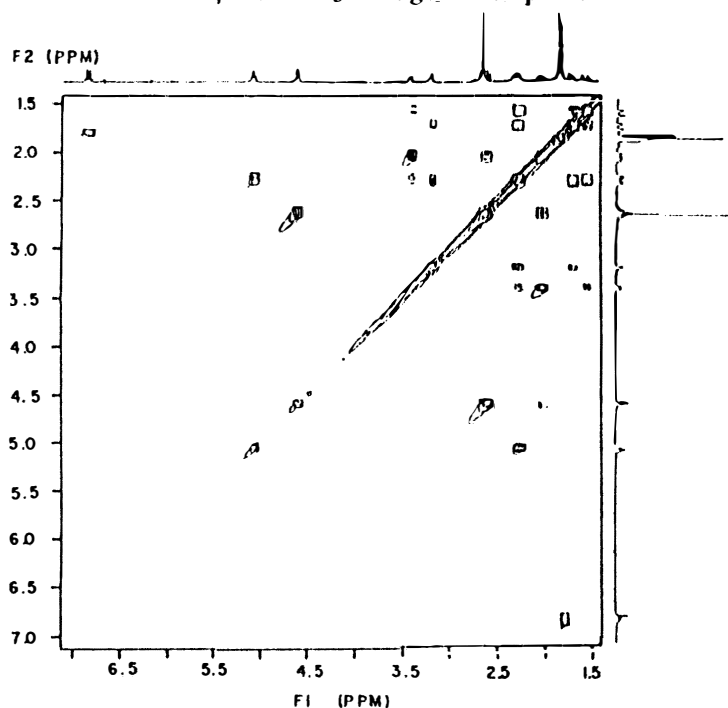


TABLA N°1  
ASIGNACION DE LAS SEÑALES DE 1H, 13C DE LOS COMPUESTOS 1-4

ATOMO #	1		2		3		4	
	13 C	1 H	13 C	1 H	13 C	1 H	13 C	1 H
1	58,5	3.1 dd J=3.9; 1.9 Hz	57,7	2.9 dd	59,6	2,9 m J= 5,4 Hz	58,8	3,4 m
2 ax	31,4	1.63 dd J=15; 1 Hz	30,8	1,5- 2,3 m	36,2	1,4 m J=15 Hz	30,5	1,5 d, J= 15 Hz
2 ec	31,4	2.16 ddd J=15; 5,4; 3,9 Hz				2,2 (m)		2,2- 2,3 m
3	67	5,14 t J= 5,4 Hz	66,9	1,5 t J= 5,5 Hz	68,2	5,03 t J= 5,3 Hz	66,4	5,1 t J= 5,3 Hz
4 ax	31,4	1.63 dd J=15; 1 Hz	30,8	1,5-2,3 m	36,5	1,64 m J=15 Hz	29,7	1,75 d J= 15 Hz
4 ec	31,4	2.16 ddd J=15; 5,4; 3,9 Hz				2,6 m		2,2- 2,3 m
5	58,5	3.1 dd J=3.9; 1,9 Hz	57,8	3,1 dd	59,7	3,05 m J= 5,4 Hz	66,49	3,2 m
6	56,5	3,36 s	54,3	2,7 d J=3,5 Hz	25	1,2 m	75,3	4,6 dd J=10Hz, 3 Hz
						1,7 m		
7	56,5	3,36 s	55,9	3,4 d J= 3,5 Hz	25,5	1,2 m	40,1	2,05 dd J=15 Hz, J=10 Hz
						1,7 m		2,3 m J= 15 Hz
N- CH3	42,4	2,51 s	42,1		40,3	2,2 s		2,5 s
1'	165		172		172		167	
2'	142		57,8	3,8 m	54,5	3,8 m	128,8	
3'	127	5,8 d J= 1.3 Hz	63,9	4,2 m	64,3	a- 3,8 m	137,5	6,8 c J= 7 Hz
		6.3 d J= 1.3 Hz				b- 4.1 m		
CH arom	128	7,3 m	28- 12	7,3 m	127,7-	7,25-7,36 m		
					129			
C arom	137		136		135			
CH3 (a), tigloil							12.09	1,85 s
CH3 (8) tigloil							14.47	1,80 d J= 7 Hz

Puesto que las posiciones normalmente sustituidas en los anillos tropánicos son 3, 6 y 7, el grupo OH debe estar en el carbono 6. Por medio de las constantes de acoplamiento  $H_{6ax-7ax}$  de 10 Hz (axial-axial) y  $H_{6ax-7ec}$  de 3 Hz, (axial ecuatorial), se puede establecer que el grupo OH está en posición ecuatorial (beta). Los protones  $H_7$  aparecen como dos multipletes en 2,0 (ecuatorial) y 2,3 ppm (axial)  $J= 15$  Hz (acoplamiento gem). Los protones  $H_1$  y  $H_5$  se manifiestan en el espectro como dos multipletes en 3,4 y 3,2 ppm respectivamente.  $H_5$  se encuentra menos acoplado que  $H_1$ , debido a la sustitución del carbono 6. La posición de las otras señales es la esperada para los alcaloides tropánicos (Ver Tabla I). Los acoplamientos entre los diferentes protones se puede observar en el espectro bidimensional homonuclear (Espectro 3).

## PARTE EXPERIMENTAL

**Material vegetal:** Las partes aéreas de *Brugmansia sanguinea* se recogieron en la carretera entre Bogotá-Tunja (Colombia) en Octubre de 1.989 y se secaron en estufa de aire

circulante. Un ejemplar de la planta se encuentra en el Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia, Voucher 277412.

### Extracción de los alcaloides:

Los alcaloides se extrajeron con cloroformo a partir del material vegetal desengrasado y alcalinizado con amoníaco. El extracto clorofórmico se purificó por sucesivas extracciones ácido-base. Se obtuvieron 13 g. de alcaloides crudos.

**Separación cromatográfica:** 10 g del extracto alcaloidal se sometieron a una separación cromatográfica en alúmina básica grado II y eluyendo con éter de petróleo, éter de petróleo-cloroformo y luego cloroformo - metanol. Se recogieron 421 fracciones de 50 ml, las cuales se reunieron en 4 grupos (I, II, III, IV). Los grupos de fracciones I, II y IV se sometieron a una nueva purificación cromatográfica. La mezcla I en alúmina básica desactivada y eluyendo con éter de petróleo y gradiente de éter etílico; la fracción II en alúmina básica grado II,

eluyente cloroformo:gradiente de éter etílico y la mezcla IV en sílica gel eluyendo con cloroformo : gradiente de metanol. De esta manera se aislaron cuatro alcaloides, los cuales se identificaron posteriormente por sus características físicas y espectroscópicas.

**Instrumentos utilizados:** Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro Buchi SMP 20. Los espectros infrarrojos en un espectrometro ir Perkin-Elmer FT-1750. los espectros de resonancia en un Varian X-L-300 GS.y los espectros de masas en un Hitachi Perkin -Elmer R.M.U 6D.

**Apoescopolamina.** P.f: 96-97°C. ir  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3.100, 1600, 1680, 1250, 1000, 1700, 1692, 3100, 2989, 860. em m/z (%), 285 ( $M^+$  80), 154 (52),138 (65), 108 (38), 94 (100)

**Escopolamina.** Líquido aceitoso ir  $\nu_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3100, 1620, 900, 650, 3400, 1050, 1060, 1700, 2980, 860, em m/z (%), 303 ( $M^+$ ), 154, 137, 138, 94 (100)

**Atropina.** P.f: 117°C. ir  $n_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3.084,

1602, 900, 650, 3372, 1.034, 1.728, 2945. em m/z (%), 289 ( $M^+$ , 18),140, 124 (100), 95, 94 (100)

**6 $\beta$ -hidroxi-3 $\alpha$ -tigloiloxitropano.** ir  $n_{\max}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$  3.405, , 1.024, 1.703, 1.650, 3.019, 2.930. em m/z (%), 239 ( $M^+$  60), 156, 140 (100), 95, 94

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Programa «Farmacología de los Productos Naturales» y a COLCIENCIAS el apoyo económico para la realización de este trabajo.

## Bibliografía

- 1- W.C. Evans and V. Major. *J. Chem. Soc.* **18**, 1621 (1.966)
- 2- L. García, M. Martínez, P. Rodríguez. *Rev.' Mex. Cienc. Farm.* **15**, 134 (1.985)
- 3- L. García, M. T. Reguero. *Rev.' Mex. Cienc. Farm.* **15**, 17 (1.985)
- 4- B.A. Mc Gaw and T.G. Wolleg. *Phytochemistry*, **17**, 257 (1.978)
- 5- H. A González y S. Valbuena. Estudio de los alcaloides mayores presentes en el extracto clorofórmico de las hojas secas de *Datura vulcanicola* (Solanaceae). Tesis Químico. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 1987, pp. 81-88
- 6- R.J. Bishop, G. Fodor, A.R. Katritzky, F. Soti, L.E. Sutton and F.J. Swinbourne. *J. Chem Soc.* **64** (c) 74 (1.965)
- 7- W. C. Evans., P. T. Treagust. *Phytochemistry*. **12**, 2077 (1.973)