

# SEMISINTESIS DE ALCALOIDES PROTOBERBERINICOS E INTRODUCCION AL ESTUDIO DE SU ACTIVIDAD FARMACOLOGICA (PARTE I)

IVONNE JEANNETTE NIETO\*  
PILAR CONTRERAS\*\*  
JORGE OLARTE\*\*  
MARTHA LUZ ALVARADO\*\*

\* Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

\*\* Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

**Key words:** Berberine, protoberberine alkaloids, Berberine derivatives, Biological activity.

## RESUMEN

Modificando el método descrito por Pavelka y Kovar, se sintetizaron por oxidación alcalina de la Berberina, la 8-oxoberberina y la 13-hidróxi-8-oxoberberina, compuesto éste obtenido por primera vez directamente de la Berberina. Con base en el estudio farmacológico de dichos compuestos, se determinó que la introducción de un oxígeno en la posición 8 del esqueleto protoberberínico produce una notable disminución en la toxicidad; siendo el efecto más drástico cuando se introduce simultáneamente un oxígeno y un hidroxilo en las posiciones 8 y 13 respectivamente. Además se estableció que dichas sustituciones confieren a los compuestos acción tranquilizante.

## ABSTRACT

The oxidation method of Pavelka and Kovar was modified and direct alkaline oxidation of berberine yielded not only 8-Oxoberberine but 13-hydroxy-8-oxoberberine. To our knowledge the second one had not been obtained before. Pharmacological studies of these compounds showed that introduction of an oxygen function at C-8 on the protoberberine skeleton diminishes toxic action. If there is other oxygen function at C-13 in addition to C-8, toxicity becomes lower.

This type of substitution could be responsible of the sedative action which both compounds showed.

## INTRODUCCION

El género *Berberis* está ampliamente distribuido en Colombia y las especies pertenecientes al mismo contienen alcaloides, que son los responsables de la acción antiulcerosa y antidiarréica que presentan las infusiones o emplastos de estas plantas. Interesados en buscar la posibilidad de que alcaloides protoberberínicos puedan ser aplicados en terapéutica y en vista de que las *Berberis* colombianas presentan un alto contenido de Berberina, se planteó la síntesis de este tipo de alcaloides; utilizando la Berberina como compuesto de partida, teniendo en cuenta el potencial

farmacológico de estos alcaloides, ya que presentan diferentes tipos de actividad Biológica; encontrándose entre otras actividad hipotensiva (1), vasodilatadora (2), citotóxica (3), antidiarréica (4), tranquilizante (5) (6) y anticarcinogénica (7). Es así como se sintetizaron la 8-oxo-berberina y la 13-hidroxi-8-oxoberberina. Con estos alcaloides así como con el clorhidrato y el sulfato de Berberina y con la Berberina base, se realizaron ensayos biológicos conducentes a la determinación de rangos de toxicidad que llevan a una aproximación de la dosis letal y a la evaluación de la influencia de los diferentes patrones de sustitución en dicha toxicidad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los compuestos utilizados para la síntesis de la 8-oxoberberina y la 13-hidroxi-8-oxoberberina fueron el clorhidrato y el sulfato de Berberina, compuestos que fueron seleccionados según las ventajas que ofrecen, principalmente en cuanto al rendimiento de las reacciones; ya que se presentan marcadas diferencias en el rendimiento obtenido cuando se trabaja con una u otra sal (8) (9) (10).

Se ensayaron las reacciones con las dos sales a fin de establecer cuál ofrecía más ventajas, obteniendo que al emplear el sulfato como compuesto primario de la síntesis los rendimientos globales son mayores (50%).

En términos generales la 8-oxoberberina se obtiene por funcionalización del esqueleto berberínico en la posición 8 del anillo C mediante una reacción de oxidación. Este compuesto es utilizado como intermediario en la síntesis de derivados protoberberínicos (11) (12), pero no se reportan estudios farmacológicos sobre él.

El espectro U.V. presenta dos bandas de absorción, una con un máximo a 342 n.m. y una banda de mayor intensidad a 224.5 n.m., las cuales coinciden con los datos reportados para esta sustancia. El espectro I.R. es el típico para compuestos con esqueleto protoberberínico. Se deduce claramente de la banda a  $1.750\text{ cm}^{-1}$  la presencia del grupo  $\text{C} = \text{O}$ .

En el espectro de RMN<sup>1</sup>H aparecen las señales correspondientes al grupo metilendioxi (6.0 p.p.m.) y dos grupos metoxi (3.95 ppm). Las señales restantes son las esperadas para este compuesto. Su espectro de masas presenta un ión molecular a m/e de 351 correspondiente a la fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ , que corresponde a la 8-oxoberberina.

De la reacción sintética se obtuvo otro compuesto que según los resultados reportados hasta la fecha (10) (13) se esperaba que fuese la dihidroberberina pero en el espectro I.R. de este compuesto se ve una banda a  $3.450\text{ cm}^{-1}$  típica de OH asociado, lo que lleva a la suposición de que sea una oxiberberina hidroxilada, hipótesis que se comprueba por el análisis del espectro U.V. que presenta un efecto batocrómico de la banda A. El espectro de masas presenta las fragmentaciones esperadas para la estructura propuesta. Esta sustancia, hasta el presente, no se había obtenido directamente por oxidación de la Berberina.

Para la realización de los ensayos biológicos se diseñó el vehículo apropiado para la administración de los compuestos, obteniéndose como óptimo una combinación de Propilenglicol: agua: Twen en proporción 8:2:0.1

Los ensayos realizados sobre los efectos tóxicos arrojaron como resultado que la mayor toxicidad la presenta el sulfato de Berberina, seguido de la Berberina base y del clorhidrato; ya que en dosis de 50-100 mg/Kg producen la muerte de los ratones en una, tres y doce horas respectivamente. Cuando se introduce el sustituyente en 8, caso de la 8-oxoberberina, la toxicidad del compuesto disminuye 22 veces (2.200 mg/Kg) y este efecto es mucho más marcado (30 veces) cuando se sustituyen las posiciones 8 y 13 como sucede con la 13-hidroxi-8-oxoberberina.

En general los compuestos sintetizados provocan en dosis de 1- 20 mg/Kg disminución en la actividad motora, marcada depresión y sedación lo que los hace potencialmente utilizables como tranquilizantes y con la ventaja de su baja toxicidad.

## MATERIALES Y METODOS

Los espectros de U.V. se tomaron en un espectrofotómetro Shimadzu modelo U.V. 160, los espectros I.R. en espectrofotómetros Perkin-Elmer modelos 467 y 521; los de RMN<sup>1</sup> H en uno VarianXL-300 y uno Bruker WP-200, el de RMN<sup>13</sup>C en un Bruker WP-200 SY y los de masa en espectrómetros VG-Micromass ZAB.2F (EM, alta) y Hewlett Packard 5930 A (EM baja).

Para los ensayos biológicos se emplearon ratones blancos cepa suiza de seis semanas de edad. La administración se hizo por vía intraperitoneal y se registró la actividad motriz en un actógrafo.

## SINTESIS DE LA 8-OXOBERBERINA y LA 13-HIDROXI-8-OXOBERBERINA

El método empleado es una modificación del de Pavelka y Kovar (10). Una suspensión de sulfato de Berberina (2.97 mmoles) en hidróxido de sodio acuoso al 40% (50 ml), se calentó con agitación durante dos horas a 70°C en baño de maría, formándose un sólido de color café que se separó y purificó por C.C. al vacío, obteniéndose los dos compuestos que presentan las siguientes características:

8-oxoberberina:

Punto de Fusión 210°C

U.V. (metanol) 342,224.5 n.m. I.R. (KBr) 2940,2840,1710,860,815 cm<sup>-1</sup> RMN<sup>1</sup> (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>);  $\delta$  (asignación): 2.9 (2H, t, J = 6.10 Hz, H-C<sub>8</sub>); 3.95 (6H,s,2-OCH<sub>3</sub>); 4.3 (2H,t,J. = 6.10 Hz, H-C<sub>6</sub>); 6.0 (2H,s,OCH<sub>2</sub>O); 6.7 (1H,s,H-C<sub>13</sub>); 6.8 (1H,s,H-C<sub>4</sub>); 7.0 (1H,d,J<sub>AB</sub> = 8.5 1 Hz,H- C<sub>12</sub>); 7.2 (1H,s,H-C<sub>1</sub>); 7.27 (1H,d,J<sub>AB</sub> = 8.51 Hz, H-C<sub>11</sub>).

RMN<sup>13</sup>C; (200MHz, CDCl<sub>3</sub>);  $\delta$  (Asignación): 28.5 (5); 39.5 (6); 57.0 (C<sub>9</sub>-OCH<sub>3</sub>); 62.1 (C<sub>10</sub>-OCH<sub>3</sub>); 101.3 (13); 101.5 (O-CH<sub>2</sub>-O); 104.8 (1); 108.0 (4); 119.1 (11); 119.6 (8a); 122.5 (12); 124.1 (14) 130.1 (4a); 132.6 (14a); 136.0 (12a); 147.5 (2); 148.8 (3); 149.7 (10); 151.7 (9); 160.2 (8). EM.; iones m/e (%) 351 (M<sup>+</sup>, 34); 337 (61); 336 (30); 322 (100); 321 (5); 294 (43); 293 (9); 292 (22); 279 (22); 264 (6); 236 (5); 208 (2).

13-hidroxi-8-oxoberberina:

Punto de fusión: 215°C.

U.V. (metanol) 340,224.5 n.m.

I.R. (KBr): 3450,2940,1650,935,870,850,780  $\text{cm}^{-1}$ .

RMN<sup>1</sup>H (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ );  $\delta$  (asignación): 2.88 (2H,t,J = 5.98 Hz, H-C<sub>6</sub>); 3.94 (3H,s,OCH<sub>3</sub>); 4.00 (3H,s,OCH<sub>3</sub>); 4.28 (2H,t,J = 5.98 Hz,H-C<sub>6</sub>); 6.00 (2H,s,-OCH<sub>2</sub>O); 6.70 (1H,s,H-C<sub>4</sub>); 7.23 (1H,d,J<sub>AB</sub> = 8.69 Hz,H- C<sub>12</sub>); 7.28 (1H,D,J<sub>AB</sub> = 8.69 Hz,H- C<sub>11</sub>); 7.29 (1H,s,H-C<sub>1</sub>).

E.M.; iones m/e (%): 367 (M<sup>+</sup>, 1); 351 (100); 337 (18); 336 (80); 322 (53); 321 (6); 294 (3); 293 (13), 292 (32); 279 (3); 264 (6); 236 (3); 208 (1).

## ENSAYOS BIOLÓGICOS

Para los ensayos de toxicidad se tomaron los animales de experimentación y se les aplicó por vía intraperitoneal una suspensión de los compuestos en dosis de 1, 20, 50 y 100 mg/Kg para la berberina base, clorhidrato y sulfato y para los compuestos sintetizados las dosis anteriores y 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 y 3.000 mg/Kg; tomando grupos de ratones control a los que se aplicó únicamente el vehículo.

Se observó periódicamente la sintomatología presentada por cada grupo de ratones, observándose similitudes o diferencias según el compuesto administrado.

Berberina base: En dosis de 1 y 20 mg/Kg produce depresión motora débil y recuperación en 1 hora. Cuando las dosis son de 50 y 100 mg/Kg se evidencia estado de alerta y agresividad, hipermea, temblor, sedación y muerte a las 3 horas.

Sulfato de Berberina: En dosis de 1 y 20 mg/Kg, depresión motora, hipermea y recuperación a las 24 horas. Cuando la dosis se eleva a 50 y 100, se produce hipermea, convulsiones a los 5 minutos, dificultad respiratoria a los 10 minutos, marcada depresión y muerte a la hora.

Clorhidrato de Berberina: Con dosis de 1, 20, 50 y 100 mg/Kg, los animales presentan la misma sintomatología que con la administración del sulfato, pero la muerte ocurre a las 12 horas.

8-Oxoberberina: Sólo en dosis de 2200 mg/Kg no hay recuperación del animal. Se produce depresión, hipnósis y muerte a las 24 horas. Cuando la dosis se aumenta a 3.000 mg/Kg, la muerte se presenta a los 50 minutos.

3-Hidroxi-8-oxoberberina: En dosis de 3.000 mg/Kg la muerte sobreviene a las 24 horas después de la administración del compuesto.

## REFERENCIAS

1. T. Kametani, Chem. Abst., **84**, 180457y, (1976).
2. T. Kametani, Chem. Abst., **84**, 150825w (1976).

3. B. Hladon, Z. Kowalewski, T. Bodkiewics, and K. Gronostaj, *Chem. Abst.*, **92** 15307d (1980).
4. R. Greco, A.M. Lefer, and P.R. Maroko, *Chem. Abst.*, **99**, 151843x (1983).
5. J. Yamajara, and T. Konoshina, *Chem. Pharm. Bull.*, **24** (8), 1909 (1976).
6. S.K. Battacharya, Y.B. Pandey, A.B. Ray, and B. Dasgupta, *Chem. Abst.*, **86**, 83687d (1977).
7. Y. Sawa, and T. Ikegawa, *Chem. Abst.*, **83**, 28426f (1975).
8. Y. Sawa, and T. Ikegawa, *Chem. Abst.*, **83**, 28428h (1975).
9. Y. Sawa, and T. Ikegawa, *Chem. Abst.*, **83**, 28427 (1975).
10. S. Pavelka, and J. Kovar, *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* **41**, 3654 (1976).
11. J. Moniot, T.M. Kravetz, A. EL Rhaman, and M. Shamma, *J. Pharm. Sci.*, **68** (6), 705 (1979).
12. M. Cusham, and W.F. Dekow, *J. Org. Chem.*, **44** (3), 407 (1979).
13. M. Shamma and J.L. Moniot, "Isoquinoline alkaloids. Research 1972-1977 "Plenum Press. New York, 1978, pp. 209-255.