

## NUEVA BENZOIL LACTONA Y OTROS CONSTITUYENTES DE *Pilocarpus alvaradoii* (Rutaceae)

### NEW BENZOIL LACTONE AND OTHERS CONSTITUENTS FROM *Pilocarpus alvaradoii* (Rutaceae)

### NOVA BENZOIL LACTONA E OUTROS CONSTITUINTES DE *Pilocarpus alvaradoii* (Rutaceae)

Luis E. Cuca<sup>1</sup>, Mónica C. Ávila<sup>1</sup>

Recibido: 27/09/07 – Aceptado: 27/11/07

#### RESUMEN

Del extracto etanólico de hojas de *Pilocarpus alvaradoii* fue aislada e identificada la nueva lactona  $\alpha$ -Benzoil- $\gamma$ -valerolactona **1**, junto con los triterpenos pentacíclicos conocidos lupeol **2**, y epibetulina **3**; y las furanocumarinas bergapteno **4**, psoraleno **5**, y xantotoxina **6**. El aislamiento y la purificación fueron realizados por técnicas cromatográficas convencionales. La elucidación estructural de estos compuestos se determinó mediante técnicas espectroscópicas (IR, RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, EM).

**Palabras clave:** Rutaceae, *Pilocarpus alvaradoii*, benzoil lactona.

#### ABSTRACT

From the ethanolic extract of *Pilocarpus alvaradoii* leaves was isolated and identified a new lactone  $\alpha$ -Benzoil- $\gamma$ -valerolactone **1**, along with the known pentacyclic

triterpenoids lupeol **2**, epibetulin **3**; and the furanocoumarins bergapten **4**, psoralen **5**, and xanthotoxin **6**. Isolation and purification were performed by chromatographic techniques. The structure compounds elucidation was accomplished by spectroscopic techniques (IR, RMN <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and MS).

**Key words:** Rutaceae, *Pilocarpus alvaradoii*, benzoil lactone.

#### RESUMO

Do extrato etanólico das folhas de *Pilocarpus alvaradoii* foi isolado e identificada a nova lactona  $\alpha$ -Benzoil- $\gamma$ -valerolactona **1** junto com os triterpenos penta- cíclicos conhecidos lupeol **2**, epibetulina **3**; e os furano cumarinas bergapteno **4**, psoraleno **5**, xantotoxina **6**. A isobção e a purificação foram feitos por técnicas cromatográficas convencionais. A elucidação estrutural destes compostos determinouse por meio

<sup>1</sup> Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá, Colombia. leucas@unal.edu.co

das técnicas espectroscópicas (IR, RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , EM).

**Palabras-chave:** Rutaceae, *Pilocarpus alvaradoii*, Benzoil lactona.

## INTRODUCCIÓN

El género *Pilocarpus* pertenece a la familia Rutaceae y es endémico de América. Está presente desde el sur de México hasta Paraguay. Se conocen 45 especies de este género de las cuales cuatro se encuentran en Colombia, una en Paraguay, y treinta y nueve en Brasil (1), donde son usadas en medicina tradicional, principalmente para curar heridas infectadas, y en el tratamiento de afecciones en los ojos (2). Las especies de *Pilocarpus* son comúnmente conocidas ya que sus hojas son la mayor fuente de pilocarpina (3), un alcaloide imidazólico usado en procesos posoperatorios para promover salivación (4), y como clorhidrato de pilocarpina al 1% en las formulaciones para el tratamiento de glaucoma, una enfermedad que causa la pérdida total de la visión en humanos y animales (5). Además de alcaloides imidazólicos han sido aislados otro tipo de metabolitos secundarios como cumarinas con diversos patrones de sustitución (6), entre las que se destacan las cumarinas furánicas usadas en el tratamiento de enfermedades de la piel, triterpenos pentacíclicos derivados del dammarano (7), y flavonoides polimetoxilados (8). En el presente trabajo se reporta el aislamiento y posterior elucidación estructural usando métodos cromatográficos y espectroscópicos de una nueva benzoil lactona:  $\alpha$ -Benzoil- $\gamma$ -valerolactona **1**, dos triterpenos pentacíclicos conocidos: lupeol **2**, epibetulina **3** y tres furanocuma-

rinas conocidas: bergapteno **3**, psoraleno **4**, xantotoxina **5**.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### General

En la cromatografía de columna (CC) se usó sílica gel 60 Merck; para la cromatografía en capa delgada se emplearon cromatoplasmas Merck de sílica gel HF<sub>254</sub> de 0,3 mm de espesor usando como reveladores luz UV de 254 nm, 365 nm y vapores de I<sub>2</sub>. Los espectros RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , COSY, DEPT, HMQC, HMBC, fueron registrados en un equipo Bruker Avance 400 utilizando TMS como estándar interno. Los espectros IR fueron tomados en película de KBr, en un equipo Perkin Elmer FTIR Panagon 500 serie 1000. Los puntos de fusión fueron tomados en un equipo Mel-temp II Laboratory Devices. Los espectros de masas EIMS 70 eV fueron tomados en un equipo Shimadzu QP5050.

### Material vegetal

La muestra utilizada para este trabajo corresponde a las hojas de *Pilocarpus alvaradoii* (Rutaceae), recolectadas en el corregimiento de Santa Isabel, municipio de Montería, departamento de Córdoba, por los profesores Alberto Angulo de la Universidad de Córdoba, y Luis Enrique Cuca Suárez de la Universidad Nacional de Colombia. La especie fue determinada por el biólogo de la Universidad de Antioquia Álvaro Cogollo Pacheco; una muestra de herbario reposa en el Jardín Botánico "Joaquín Antonio Uribe Uribe" de la ciudad de Medellín con el número JAUM-040562.

### Extracción y aislamiento

Las hojas de *Pilocarpus alvaradoii*, secas y molidas (1250 g), fueron extraídas por percolación al 96%, obteniéndose 150 g de extracto etanólico, el cual fue fraccionado por soxhlet con tres solventes de polaridad creciente: éter de petróleo, clorofórmico y acetato de etilo. La fracción de éter de petróleo (8,5 g) fue sometida a CC con tolueno, incrementando la polaridad con AcOEt hasta la mezcla en proporción 1:1. Se recolectaron veintiséis fracciones marcadas como M1 a M26. Después del estudio en CCD se continuaron purificando las fracciones M15 -17 por CC con el sistema EdP-AcOEt 6:4 de la cual se obtuvo el compuesto **1** (8 mg).

De la fracción clorofórmica (55,4 g) por cromatografía en columna sucesivas se obtuvieron los compuestos **2** (25 mg), **3** (20 mg), **4** (12 mg), y **5** (12 mg). De la fracción de acetato de etilo (52,5 g) se aisló por CC sucesivas el compuesto **6** (2 mg).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El compuesto **1** es un sólido color crema cuyo punto de fusión es 112 °C (MeOH). El IR muestra bandas de absorción en 2909  $\text{cm}^{-1}$  (tensión C-H), 1761  $\text{cm}^{-1}$  y 1682  $\text{cm}^{-1}$  (tensión C=O); la presencia de estas dos absorciones indica la existencia de dos grupos carbonilo en la molécula, 1174  $\text{cm}^{-1}$  (flexión C-O), que confirma la función ester, 1500 a 1650  $\text{cm}^{-1}$  (tensión C=C).

El espectro RMN  $^1\text{H}$  muestra las señales en  $\delta$  7,94 (dd,  $J=7,4$  y  $2,3$  Hz, 2H);  $\delta$  7,60 (t,  $J=7,4$  Hz, 1H);  $\delta$  7,45 (t,  $J=7,4$  Hz, 2H) características de los hidrógenos de un anillo aromático monosustituido.

Las señales de los hidrógenos en  $\delta$  4,65 (dd, 9 y 6 Hz, 1H); y  $\delta$  4,03 (dd, 9 y 6 Hz, 1H);  $\delta$  2,83 (dd,  $J=9$  y 6 Hz, 1H);  $\delta$  2,29 (dd,  $J=9$  y 6 Hz, 1H) y  $\delta=3,1$  a  $3,3$  (m, 3H), por las multiplicidades e integraciones, hacen parte de un sistema cíclico. El espectro RMN  $^{13}\text{C}$  muestra 10 señales de carbono las cuales, en comparación con los experimentos DEPT 90 y DEPT 135 corresponden a 4 carbonos metínicos en 31,1 ppm, 127,9 ppm, 128,8 ppm, 133,7 ppm, dos de los cuales presentan el doble de la intensidad lo que indica que cada señal corresponde a dos carbonos, obteniendo la presencia de 6 carbonos metínicos; 3 metilenos en 34,2 ppm, 41,9 ppm, y 73,2 ppm, este último característico de un metileno oxigenado. Por comparación de los experimentos DEPT con el espectro de  $^{13}\text{C}$  se determina la presencia de 3 carbonos cuaternarios en 136,1 ppm característico de un carbono cuaternario aromático, 176,5 ppm característico de un carbonilo tipo ester, y 197,3 ppm característico de un carbonilo cetónico (9). Con el análisis anterior se deduce para el compuesto **1** la fórmula molecular  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_3$  consistente con el ión molecular  $m/z = 204(60)$  que confirma la fórmula condensada junto con los picos en MS-EI  $m/z = 105(85)$  característico de cetonas aromáticas (9), y  $m/z = 56(45)$  característico de  $\gamma$ -lactonas. El experimento COSY H-H muestra la correlación de la señal de hidrógeno en  $\delta$  3,1-3,3 con las señales en  $\delta$  4,65;  $\delta$  4,03;  $\delta$  2,83,  $\delta$  2,29, además se observa a larga distancia la correlación de los hidrógenos en  $\delta$  4,65 y  $\delta$  4,03 con los hidrógenos en  $\delta$  2,83 y  $\delta$  2,29; no se observa ninguna correlación entre los hidrógenos del anillo aromático con los demás, lo que indica que los hidrógenos entre  $\delta$  2,0 y  $\delta$  5,0 deben estar

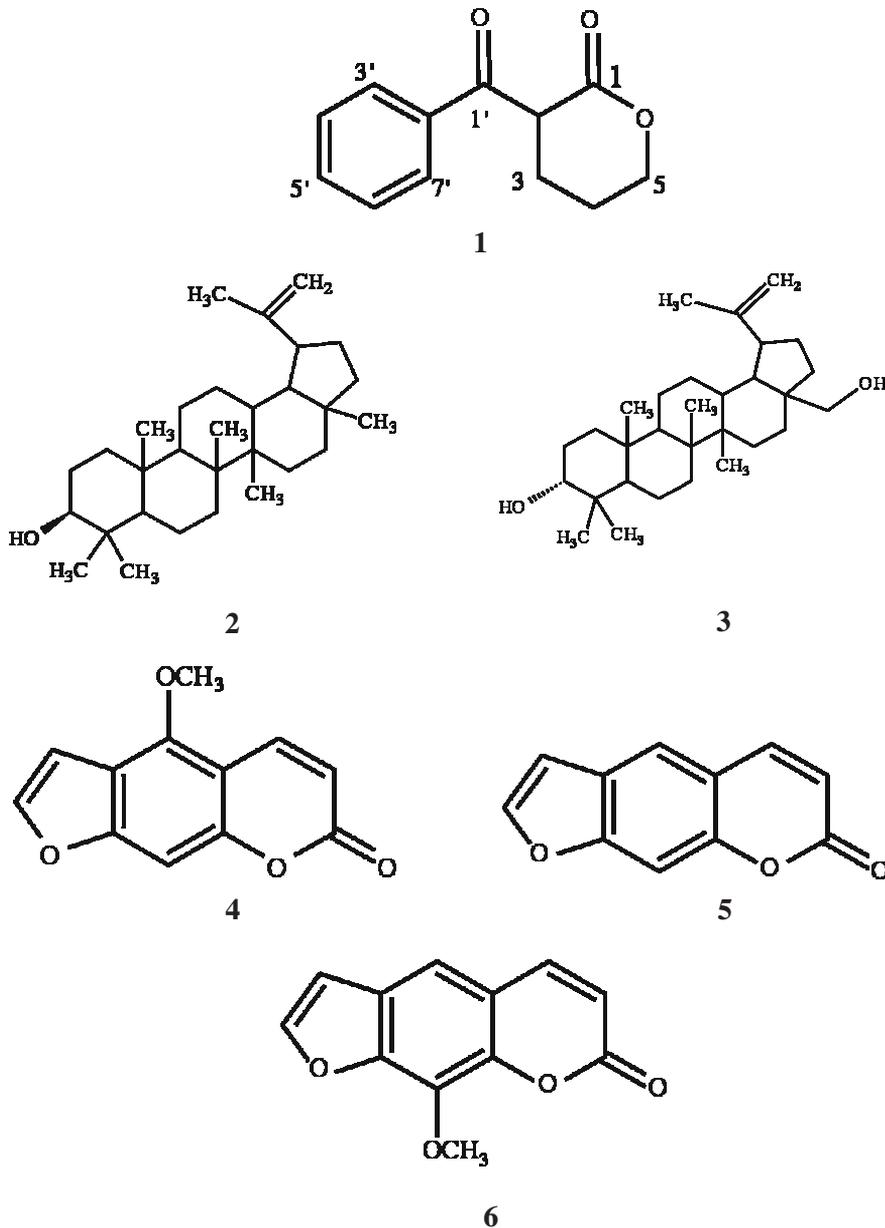
formando una estructura cíclica. El experimento HMBC muestra el acoplamiento existente a  $^2J$  entre la señal en  $\delta$  3,1-3,3 con las señales de carbono en 176,5 ppm, y 197,3 ppm que corresponden a los dos carbonilos y, a su vez, la correlación a  $^3J$  de la señal en 176,5 ppm del carbonilo del éster con los hidrógenos en  $\delta$  4,65,  $\delta$  2,83,  $\delta$  2,29, por lo que se concluye que el carbonilo del éster debe estar formando un ciclo, es decir, debe haber una lactona en la estructura lo que coincide con la información dada por EIMS. Los acoplamientos a  $^3J$  en el HMBC entre la señal del carbonilo cetónico en 197,3 ppm con los hidrógenos en  $\delta$  7,94 y a  $^2J$  en  $\delta$  3,1 a 3,3 permiten proponer que a un lado del carbonilo cetónico está el anillo aromático y

al otro la lactona. El análisis anterior permite concluir que el compuesto descrito posee la estructura **1** que corresponde a  $\alpha$ -Benzoil- $\gamma$ -valerolactona (las asignaciones espectroscópicas se presentan en la Tabla 1); de este compuesto no se encontraron reportes en la literatura de acuerdo con la búsqueda en las bases de datos del SciFinder.

Además, del compuesto **1** se aislaron dos triterpenos pentacíclicos ampliamente conocidos: lupeol **2** y epibetulina **3**; su elucidación se realizó teniendo en cuenta los datos de RMN  $^1H$  y RMN  $^{13}C$  en comparación con los datos reportados en la literatura (10); y las furanocumarinas aisladas anteriormente: bergapteno **4**,

**Tabla 1.** Datos espectroscópicos de RMN  $^1H$  y  $^{13}C$  del compuesto **1**

Carbono	$^1H$ ( $\delta$ )	$^{13}C$ (ppm)	DEPT	HMBC
1	---	197,3	C	$\delta$ 3,1-3,3 $\delta$ 7,94
2	3,1-3,3(m)	31,1	CH	$\delta$ 3,1-3,3 $\delta$ 2,83
3	2,83(dd) 2,29(dd)	34,2	CH <sub>2</sub>	
4	3,1-3,3(m)	41,9	CH <sub>2</sub>	
5	4,03(dd) 4,65(dd)	73,2	CH <sub>2</sub>	
1'	---	176,5	C	$\delta$ 3,1-3,3 $\delta$ 4,65 $\delta$ 2,83 $\delta$ 2,29
2'	---	136,1	C	$\delta$ 7,94
3'	7,94(dd)	127,9	CH	
4'	7,45(t)	128,8	CH	
5'	7,60(t)	133,7	CH	
6'	7,45(t)	128,8	CH	
7'	7,94(dd)	127,9	CH	



psoraleno **5** y xantotoxina **6**; la elucidación estructural de estos compuestos se realizó teniendo en cuenta los datos de RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$  en comparación con

lo reportado en la literatura (11). Los compuestos **2**, **3** y **5** son reportados por primera vez en una especie del género *Pilocarpus*.

**AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue financiado por el grupo de investigación en Productos Naturales Vegetales del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia. Agradecemos al botánico Álvaro Cogollo Pacheco por la determinación de la muestra vegetal, al químico Julio Pinzón y al doctor Ricardo Fierro Medina por la toma de espectros de RMN. A la doctora Coralia Osorio por la toma de los espectros de Masas.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. www.mobot.org. Consultado 15 de septiembre de 2007.
2. Holmstedt, B.; Wassén, H.; Evans Schultes, R. Jaborandi: An interdisciplinary appraisal. *Journal of Ethnopharmacology*. 1979. **1**: 3-21.
3. Dewick, P. Medicinal Natural Products. Jhon Willey & Sons. New York. 1997. pp. 379-380.
4. Andrade-Neto, M.; Henriquez, P.; Rocha, E. An imidazole alkaloid and other constituents from *Pilocarpus trachilopus*. *Phytochemistry*. 1996. **42**: 885-887.
5. Avancini, G.; Abreu, I.; Saldaña, M.; Mohamed, R.; Mazzafera, P. Induction of pilocarpine formation in jaborandi leaves by salicylic acid and methyljasmonate. *Phytochemistry*. 2003. **63**: 171-175.
6. Muller, A.; Degaspari, L.; Vieria, P. 3-methoxyfuranocoumarins from *Pilocarpus riedelianus*. *Phytochemistry*. 1993. **34**: 585-586.
7. Andrade-Neto, M.; Silveira, E.; Braz Filho, R. 24-metil-25-etildammarane derivates from *Pilocarpus spicatus*. *Phytochemistry*. 1994. **35**: 739-743.
8. Bertrand, C.; Fabre, N.; Moulis, C. Constituents of *Pilocarpus trachyllophus*. *Fitoterapia*. 2001. **72**: 844-847.
9. Silverstein, R. M.; Bassier, G.; Morrill, J. Spectrometric identification of organic compounds. 5 Edition. New York. Jhon Willey & Sons. 1991. pp. 263, 23, 25.
10. Mahato, S.; Asish, K. <sup>13</sup>C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids. A compilation and some salient features. *Phytochemistry*. 1994. **37**: 1517-1575.
11. Elgamal, M.; Elewa, N.; Duddeck, H. <sup>13</sup>C NMR chemical shift and carbon-proton couplin constants of some furocoumarins and furochromones. *Phytochemistry*. 1979. **18**: 139-143.