

**METABOLITOS SECUNDARIOS AISLADOS DE LA CORTEZA
DE *Dugandiodendron argyrotichum* Lozano
(MAGNOLIACEAE)**

**SECONDARY METABOLITES ISOLATED FROM THE BARK
OF *Dugandiodendron argyrotichum* Lozano
(MAGNOLIACEAE)**

**METABOLITOS SECUNDARIOS ISOLADOS DA CASCA
DA *Dugandiodendron argyrotichum* Lozano
(MAGNOLIACEAE)**

Juan D. Guzmán V., Luis E. Cuca S.¹

Recibido: 9/05/08 – Aceptado: 7/10/08

RESUMEN

A partir del extracto etanólico de la corteza del árbol colombiano en peligro de extinción *Dugandiodendron argyrotichum* (Magnoliaceae) se aisló por cromatografía en columna un aceite compuesto mayoritariamente por sesquiterpenos, así como dos sesquiterpenoides, torreyol y partenólido, y el alcaloide aporfínico N-acetilanonaina. Los compuestos se identificaron por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG-MS y resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C. Las sustancias aisladas se sometieron al ensayo de letalidad en *Artemia* salina. Aquellos que resultaron más tóxicos fueron el aceite de sesquiterpenos (CL₅₀ = 4,49 µg/ml) y los lignanos dibencilbutánicos (1) (CL₅₀ ~ 50 µg/ml).

Palabras clave: sesquiterpenos, lignanos, alcaloides, citotoxicidad.

ABSTRACT

From the ethanolic extract of the bark of the colombian endangered tree *Dugandiodendron argyrotichum* (Magnoliaceae) was isolated an oil in which major compounds were sesquiterpenes. Two sesquiterpenoids torreyol and parthenolide and the aporphine alkaloid N-acetylanonaine were isolated by column chromatography (CG-EM) and characterized by ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. The isolated substances were subjected to brine shrimp lethality bioassay. The most toxic compounds were sesquiterpene oil (LC₅₀ = 4,49 µg/ml) and dibenzylbutane lignans (1) (LC₅₀ ~ 50 µg/ml).

¹ Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Bogotá, Colombia. leucas@unal.edu.co

Key words: sesquiterpenes, lignans, alkaloids, cytotoxicity.

RESUMO

A partir do extracto etanólico da casca da árvore colômbiano em perigo de extinção *Dugandiodendron argyrotichum* (Magnoliaceae) isolou-se um óleo composto maioritariamente por sesquiterpenos. Duos sesquiterpenoides, torreyol e parte-nólido e o alcalóide N-acetilanonina se isolaram por cromatografía de coluna e foram caracterizados por meio de espectroscopía de resonância magnética nuclear (RMN) ^1H e ^{13}C . Os compostos foram avaliados en el bioensaio letalidade de *Artemia salina*. Os compostos que resultaron mais tóxicos foram o oléo de sesquiterpenos ($\text{CL}_{50} = 4,49 \mu\text{g/ml}$) e os lignanos dibencilbutánicos ($\text{CL}_{50} \sim 50 \mu\text{g/ml}$).

Palavras-chave: sesquiterpenos, lignanos, alcalóides, citotoxicidad.

INTRODUCCIÓN

Desde 1983, se llamó la atención hacia la urgente necesidad “para la toma de medidas efectivas que detengan la acelerada destrucción de los recursos naturales antes de su pérdida irreversible” (2). En efecto, el panorama, para algunas especies maderables de reconocida distribución en el pasado, como el Arenillo caobo (*Ocotea caparrapi*), el Palo de rosa (*Aniba roseadora*), el Molinillo (*Talauma gilbertoi*), el Canelo de los Andaquíes (*Ocotea quixos*), el Cedro (*Cedrela odorata*) o el Amarillo (*Nectandra sp.*), es desolador (3). El aprovechamiento insostenible de los recursos maderables ha degradado y

fragmentado los bosques nativos a tal punto que la extinción de ciertas especies es una amenaza real. Hoy en día, aunque ubicados en el lugar donde son endémicas, encontrar individuos de algunas especies puede ser difícil.

El uso principal de las especies de la familia Magnoliaceae es maderable. La madera de las magnoliáceas es generalmente blanda, de textura fina, generalmente granulada, fácil de trabajar, y por tanto apropiada para enchapes y trabajo general de carpintería (2). En Tumaco y Barbacoas (Nariño) son muy apreciadas para la fabricación de muebles especies conocidas como Cucharillo (*Dugandiodendron calophyllum*, *Dugandiodendron striatifolium*, *Taluma narinensis*), y en las zonas aledañas al río Cauca, el Molinillo (*Talauma hernandezii*, *Talauma gilbertoi*) (2). En cuanto al fitónimo “Alma negra” (*Dugandiodendron sp.*), este se refiere al veteado de color negro que presenta el centro del tronco de estas especies, apreciadas por su belleza (2).

Gustavo Lozano Contreras estudió las plantas colombianas de la familia Magnoliaceae durante más de dos décadas e identificó los géneros *Talauma* y *Dugandiodendron* (2, 4). El género *Dugandiodendron* posee una distribución restringida, y la mayoría de especies son endémicas de Colombia (4). Su clasificación taxonómica ha sido controversial (5, 6). Recientemente, Nootboom y Figlar (7) incluyen a las especies de género *Talauma* y *Dugandiodendron* como subsecciones de la sección *Talauma*, incluida dentro del género *Magnolia*. En este trabajo se utiliza la clasificación original propuesta por el taxónomo colombiano G. Lozano Contreras (2, 4).

A diferencia de *Magnolia*, las especies americanas *Talauma* y *Dugandiodendron* poseen carpelos dehiscentes circuncísiles. *Talauma* posee una cicatriz en el pecíolo, y *Dugandiodendron* (como *Magnolia*) no la posee (2). Los últimos reportes describen 33 especies nativas (*Talauma* y *Dugandiodendron*) de la familia Magnoliaceae en el territorio colombiano, de las cuales 29 son endémicas (8, 9). Todas las especies poseen algún grado de amenaza (8, 9). Once especies se encuentran en peligro crítico (CR): *Dugandiodendron calimaensis* y *D. cararensis* y *Talauma chimatensis*, *T. cespedesii*, *T. espinalii*, *T. katorum*, *T. polyhypophylla*, *T. narinensis*, *T. virolinensis*, y *T. wolfii* y una especie aparentemente no nombrada (8, 9). En peligro (EN) se encuentran 19 especies: *Dugandiodendron argyrotrichum*, *D. calophylla*, *D. colombianum*, *D. guatapensis*, *D. lenticellata*, *D. magnifolia*, *D. mahechae*, *D. urraoense* y *D. striatifolia* y *Talauma arcabucoana*, *T. caricifragrans*, *T. choconensis*, *T. georgii*, *T. gilbertoi*, *T. henaonii*, *T. hernandezii*, *T. santanderiana*, *T. silvioi* y *T. yarumalensis* (8, 9). Vulnerable (VU) es la especie *Talauma neilli* y la especie de la zona fronteriza con Panamá, *Talauma sambuensis*, se registra dentro de la categoría de amenaza cercana (NT) (8, 9).

La familia Magnoliaceae se caracteriza por poseer alcaloides, lignanos y neolignanos y sesquiterpenoides. Se han reportado alcaloides aporfínicos y oxoaporfínicos en *Magnolia obovata* (10) y en *Talauma gitingensis* (11). También se han descrito bencilisoquinolinas y bis-bencilisoquinolinas (12). Los neolignanos de tipo bifenilo, honokiol y magnolol, aislados de la corteza de *Magnolia of-*

ficinalis, son importantes por su marcada actividad biológica (13). Se han reportado, en especies de género *Magnolia*, lignanos ciclobutánicos, furánicos, furofuránicos, arilnaftalénicos y neolignanos benzofuránicos, 1,2-diarilpropánicos y de tipo de la espirociclohexadienona, así como neolignanos híbridos con unidades terpénicas y oligómeros de neolignano (14). De la corteza de la especie americana *Talauma ovata* se han aislado lignanos dibencilbutánicos y algunos derivados oxigenados (14). Los terpenos aislados de la familia Magnoliaceae son en su mayoría sesquiterpenoides. Se han reportado sesquiterpenoides acíclicos, como las kobusiminas A y B de *Magnolia kobus* (15), sesquiterpenoides cíclicos como ciclocolorenona de *Magnolia grandiflora* (16) y sesquiterpenlactonas, siendo el costunólido y el partenólido ampliamente distribuidos en la familia (17, 18).

De las especies colombianas *Talauma hernandezii* y *Dugandiodendron yarumalense* se ha reportado la actividad antioxidante de los extractos diclorometánicos (19). Las fracciones más polares de la última de ellas poseen la mayor actividad.

Este es el segundo reporte del aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios de una magnoliácea colombiana (1). Se incluye la evaluación de citotoxicidad contra *Artemia salina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

General

Los puntos de fusión se determinaron en un fusiómetro Fischer-Johns. Los espectros infrarrojo IR fueron registrados en el equipo Perkin Elmer FTIR Panagon 500 serie 1000 en pastilla de KBr. Los espec-

tros de resonancia magnética nuclear RMN ^1H , ^{13}C , experimentos DEPT y bi-dimensionales COSY, HMQC y HMBC, fueron registrados en el equipo Bruker Avance 400, a 400 MHz para ^1H y a 100 MHz para ^{13}C , utilizando cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y estándar interno. Para la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas se usó el equipo Shimadzu GCMS-QP2010. Se empleó la columna WCOT Restek RTX-5Sil Ms (5% difenil 95% dimetilpolisiloxano) 30 m x 0,25 mm x 0,50 μm . La fase móvil fue helio, y el disolvente usado cloroformo. El flujo de la fase móvil se mantuvo a 1 ml/min. El split ratio fue de 100:1. Para la cromatografía en columna (CC) se empleó sílica gel 60 (Merck) y alúmina neutra (Riedel-de-Haën). En la cromatografía en capa fina (CCF) se utilizó sílica gel 60 GF₂₅₄, 0,3 mm de espesor (Merck), alúmina neutra (Merck) y se usó luz UV de λ 254, 365 nm y vapores de yodo como reveladores.

Material vegetal

El material vegetal de la especie *Dugandiodendron argyrotrichum* Lozano fue colectado en el municipio de Arcabuco (Boyacá), cerca de la reserva Rogitama, por Juan David Guzmán en febrero de 2007. La muestra fue identificada y clasificada con el número de colección COL-510518 por el botánico Adolfo Jara Muñoz del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia (sede Bogotá).

Extracción y aislamiento

Por percolación con EtOH al 96%, a partir de 1974,8 g de corteza seca y molida,

se obtuvieron 304,8 g de extracto etanólico. Usando 200 g de extracto, se realizó un fraccionamiento por reparto con agua y extracción exhaustiva con disolventes de polaridad creciente. Se obtuvieron extractos bencénico (25,0 g), acetato de isopropilo (5,70 g), clorofórmico (1,00 g) y butanólico (95 g). También se obtuvo un extracto alcaloidal (1,07 g) por extracción ácido base a partir de 54,5 g de extracto etanólico. El extracto bencénico se sometió a cromatografía en columna (CC) en sílica gel (420 g) en una columna de 6,1 cm de diámetro y 86 cm de largo. La elución se realizó con tolueno inicialmente, y luego se aumentó paulatinamente la polaridad usando mezclas de tolueno-AcOiPr (9:1 v/v), (8:2), (7:3), (6:4) y (1:1). Se colectaron 76 fracciones de 50 ml que fueron reunidas en 19 fracciones finales de acuerdo con su perfil en CCF. La fracción 1, menos polar, se sometió a CC en Al_2O_3 neutra y elución con una mezcla de n-hexano/tolueno (3:1 v/v) para obtener un aceite transparente (1,163 g) con olor frutal característico que se denominó aceite 1. A partir de la fracción 6 del extracto bencénico, se purificaron los compuestos (2) y (3). Una fracción obtenida de la CC de la fracción 6 se sometió a CC en sílica gel y elución con n-hexano-acetona (8:2 v/v) para purificar un sólido blanco (18,1 mg) que cristaliza en agujas con p.f. 128-130 °C, denominado compuesto (4). De la fracción 9 se aislaron los compuestos (5) y (6) (1). A partir de la fracción 13 de la primera columna de fraccionamiento, se realizó una CC en sílica gel y elución con CH_2Cl_2 -acetona (25:1 v/v). Una subfracción se purificó por CC en sílica gel y elución con CH_2Cl_2 -acetona (50:1 v/v), obteniendo algunos cristales que fueron

finalmente purificados por CC en Sephadex LH-20 y elución con metanol para obtener cristales transparentes en forma de agujas (14,3 mg) de p.f. 226-228 °C, que corresponde al compuesto (7). A partir de 15 g de extracto etanólico y por CC en sílica gel y elución con CH₂Cl₂ en primera instancia y luego con CH₂Cl₂-acetona (99:1 v/v) se purificó un sólido blanco (22,8 mg) con p.f. 108-110 °C, denominado compuesto (8).

Ensayo de letalidad con *Artemia salina*

El ensayo de letalidad en *A. salina* se realizó de acuerdo con el protocolo de McLaughlin (20). Los huevos de *A. salina* se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 28 °C en un medio de cultivo oxigenado artificialmente y salino (38 g/l de sal marina en agua). Los extractos se solubilizaron inicialmente en DMSO (500 µl) y se prepararon soluciones a concentraciones de 1000, 500, 250, 100 y 10 µg/ml usando medio de cultivo. Las concentraciones empleadas para evaluar los compuestos fueron 100, 50, 10 y 1 µg/ml. Se realizó un control negativo empleando DMSO a la concentración máxima 2% en medio de cultivo. El ensayo se realizó por triplicado empleando 10 nauplios por pozo. Al cabo de 24 horas se hicieron las lecturas anotando el número de sobrevivientes en cada pozo. Los datos obtenidos fueron procesados con el programa estadístico EPA Probit Analysis Program con el fin de determinar la concentración letal 50 (CL₅₀) con un intervalo de confianza de 95%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por métodos cromatográficos se obtuvo el aceite 1, que corresponde a la fracción

menos polar del extracto bencénico, dada su elución con el frente de disolvente n-hexano-tolueno (3:1) en Al₂O₃. La caracterización se realizó por CG-MS (21). El cromatograma TIC (*Total Ion Current*) presentó la separación de 19 componentes. Se obtuvieron los espectros de masas por impacto electrónico (70 eV) para cada componente. Por medio de una comparación con los espectros de la biblioteca Wiley7N2 y teniendo en cuenta el orden de elución, según los índices de Kovats reportados para la columna DB-5 (22, 23), fue posible identificar 10 compuestos (82,63% del aceite) (Tabla 1). El 87,3% del aceite 1 corresponde a hidrocarburos sesquiterpénicos, y el resto, 12,6%, a sesquiterpenoides mono y poli-oxigenados. Los compuestos más abundantes son el α-santaleno (18,1%) (Figura 1), α-muuroleno (15,6%) y γ-muuroleno (11,5%). Los sesquiterpenos obtenidos presentan una estructura particular con sustitución C-prenilo unida a un biciclo (bergamotenos) o a triciclo (α-santaleno, Figura 1).

Se purificó una mezcla de isómeros *treo* (2) y *eritro* (3) de austrobailignano-6 (1). El alcohol sesquiterpénico, torreyol (4), se purificó por cromatografía en columna y se estableció su estructura por medio de la espectroscopía de RMN ¹H, ¹³C, experimentos DEPT y bidimensionales COSY, HMBC, HMQC. Las señales experimentales coinciden con las señales reportadas en la literatura (24). Se purificó una mezcla de isómeros *treo* (5) y *meso* (6) del ácido dihidroguaiarético (1). El alcaloide aporfínico (*Z*)-N-acetil-anonaína (7) también se obtuvo por métodos cromatográficos a partir del extracto bencénico. La elucidación estructural se realizó por medio de la RMN ¹H y ¹³C. Los

Tabla 1. Identificación CG-MS de algunos componentes del aceite 1.

| Número de pico | Tiempo de retención (minutos) | Integración relativa porcentual (%) | Iones característicos m/z (int. rel.) | Identificación Número CAS |
|----------------|-------------------------------|-------------------------------------|--|--|
| 1 | 4,828 | 9,6 | 161 (100%), 105 (95%), 119 (80%), 93 (50%), 91 (45%), 204 (42%) | a-copaeno CAS [3856-25-5] |
| 3 | 5,057 | 6,52 | 93 (100%), 119 (85%), 69 (41%), 41 (36%), 107 (34%), 91 (30%) | a-cis-bergamoteno CAS [495-60-3] |
| 4 | 5,133 | 18,1 | 94 (100%), 93 (80%), 96 (48%), 107 (38%), 41 (36%), 69 (30%) | a-santaleno CAS [512-61-8] |
| 5 | 5,225 | 9,6 | 93 (100%), 119 (86%), 69 (42%), 41 (35%), 107 (32%), 91 (30%) | a-trans-bergamoteno CAS [17699-05-7] |
| 7 | 5,481 | 1 | 94 (100%), 122 (30%), 93 (22%), 79 (20%), 41 (19%), 55 (18%) | b-santaleno CAS [511-59-1] |
| 8 | 5,605 | 5,56 | 132 (100%), 119 (95%), 105 (62%), 202 (32%), 145 (30%), 91 (28%) | a-curcumeno CAS [644-30-4] |
| 9 | 5,65 | 11,5 | 161 (100%), 105 (51%), 93 (42%), 119 (40%), 91 (36%), 79 (30%) | g-muuroleno CAS [30021-74-0] |
| 11 | 5,833 | 15,6 | 105 (100%), 161 (60%), 93 (55%), 94 (40%), 204 (38%), 69 (36%) | a-muuroleno CAS [31983-22-9] |
| 12 | 5,984 | 3,15 | 93 (100%), 121 (98%), 161 (40%), 105 (38%), 91 (36%), 79 (34%) | Biciclogermacreno CAS [100762-46-7] |
| 15 | 6,174 | 2 | 93 (100%), 119 (76%), 91 (52%), 134 (42%), 105 (40%), 71 (38%) | (z)-a-trans-bergamotol CAS [88034-74-6] |
| TOTAL | | 82,63% | | |

datos experimentales coinciden con las señales reportadas para los isómeros (*E*) y (*Z*), que se encuentran en equilibrio conformacional en solución (10). A partir del extracto etanólico y por medio de técnicas cromatográficas se obtuvo la lactona sesquiterpénica, partenólido (8). Se estableció su estructura por comparación de las señales de RMN ^1H y ^{13}C experimentales con las reportadas en la literatura (25, 26). Los datos de RMN experimentales de los compuestos (4), (7) y (8) se resumen en la Tabla 2. En la Figura 2 se presentan las estructuras químicas de las sustancias (2), (3), (4), (5), (6), (7), y (8).

El extracto etanólico posee una concentración letal 50 (CL_{50}) de $167,7 \mu\text{g/ml}$ (Tabla 3). En general, valores inferiores a $100 \mu\text{g/ml}$ son considerados promisorios en la búsqueda de sustancias citotóxicas

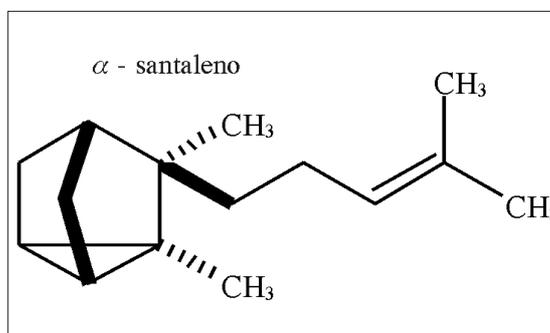
**Figura 1.** Alfa santaleno.

Tabla 2. Datos de RMN del torreyol, partenólido y (Z)-N-acetil-anonaína

| No. | Torreyol | | Partenólido | | No. | (Z)-N-acetil-anonaína | |
|-----|--|-------------------------------|--|-------------------------------|---------------------------|---|-------------------------------|
| | ¹ H 400MHz δ; Int; mul; J | ¹³ C 100 MHz | ¹ H 400 MHz δ; Int; mul; J | ¹³ C 100 MHz | | ¹ H 400 MHz δ; Int; mul; J | ¹³ C 100 MHz |
| 1 | 1,60; 1H | 45,56 | 5,18; 1H; dd; J=12,3; 2,18Hz | 125,2 | 1 | - | 143,1 |
| 2 | 1,52; 2H | 35,34 | 2,37-2,30; 1H; nd 2,11-2,09; 1H; nd | 24,09 | 2 | - | 146,8 |
| 3 | 2,0; 2H | 31,14 | 1,25; 1H; m 2,11-2,09; 1H; nd | 36,3 | 3 | 6,58; 1H; s | 107,3 |
| 4 | - | 134,3 | - | 61,49 | 3a | - | 128,9 |
| 5 | 5,51; 1H; dd; J=5,39; 1,22 Hz | 124,6 | 2,76; 1H; d; J=8,85 Hz | 66,34 | 4 | 4ax: 2,75-2,55 4eq: 2,75-2,55 | 30,77 |
| 6 | 2,02 | 36,79 | 3,83; 1H; dd; J=8,60; 8,56Hz | 82,41 | 5 | 5ax: 3,98; 1H; d 5eq: 3,26; 1H; J =12,6Hz | 42,13 |
| 7 | 1,32; 1H | 44,1 | 2,76; 1H; nd | 47,61 | 6a | 5,22; 1H; dd; J=13,8; 3,68 Hz | 50,42 |
| 8 | 1,49; 1H; 1,10; 1H; dq; J=12,7; 12,7; 12,5; 3,93 Hz | 21,54 | 1,72; 1H; nd 2,11-2,09; 1H; nd | 30,6 | 7 | 7ax: 2,80-2,75 7eq: 3,14 | 33,52 |
| 9 | 1,58; 1H; 1,89; 1H | 18,61 | 2,11-2,09; 1H; nd 2,37-2,30; 1H; nd | 41,16 | 7a | - | 135,8 |
| 10 | - | 72,51 | - | 134,6 | 8 | 7,36-7,21; 3H; m | 128,3 |
| 11 | 1,65; 3H | 23,59 | - | 139,2 | 9 | 8,10; 1H; d; J=8,18 Hz | 127,9 |
| 12 | 1,99; 1H | 26,42 | - | 169,2 | 10 | | 127,1 |
| 13 | 0,81; 3H; d; J=7,40 Hz | 15,31 | 6,29; 1H; d; J=3,66Hz 5,60; 1H; d; J=3,22Hz | 121,1 | 11 | | 127,0 |
| 14 | 0,89; 3H; d; J=7,14 Hz | 21,65 | 1,68; 3H; s | 16,9 | 11a | - | 130,5 |
| 15 | 1,29; 3H; | 27,95 | 1,27; 3H s | 17,22 | 11b | - | 117,6 |
| | | | | | 11c | - | 126,0 |
| | | | | | O-CH₂-O | 6,10 / 5,96; 2H | 100,9 |
| | | | | | C=O | - | 169,1 |
| | | | | | CH₃-C=O | 2,22; 3H; s | 22,62 |

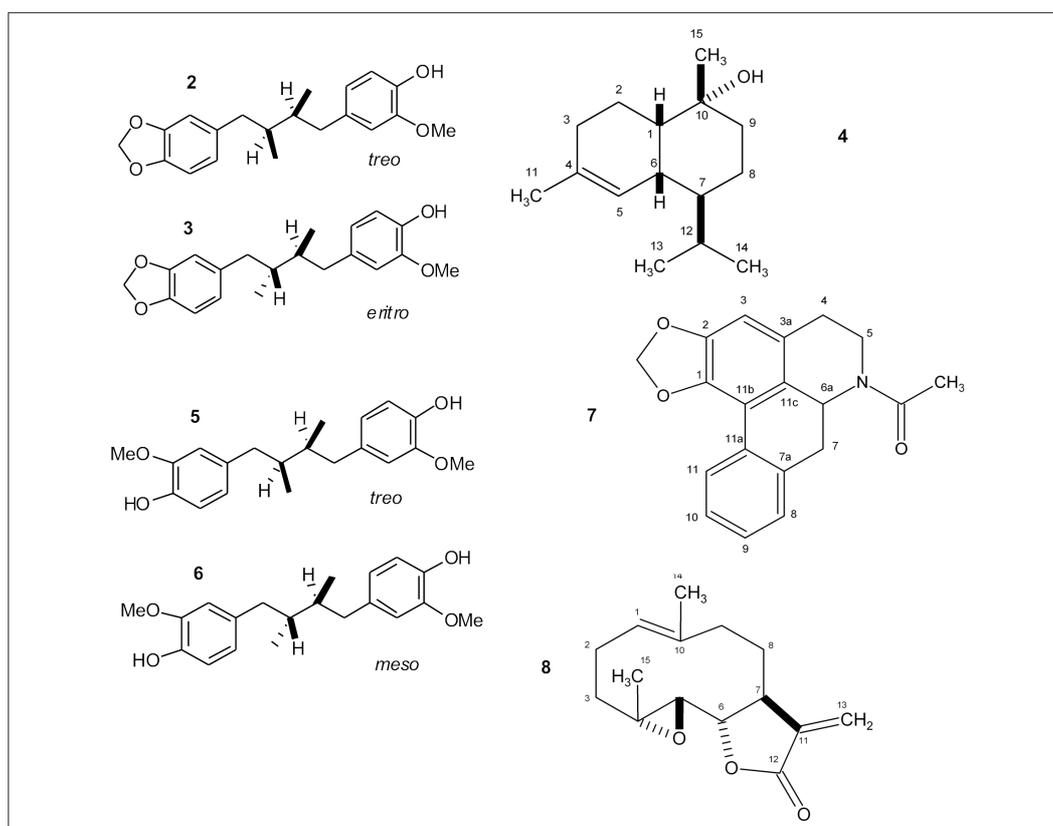


Figura 2. Metabolitos secundarios aislados de la corteza de *D. argyrotichum*

(27). Este resultado indica la existencia de compuestos tóxicos, y hace suponer la presencia de metabolitos inactivos y abundantes. Al realizar el fraccionamiento del extracto etanólico fue posible observar, efectivamente, la presencia de compuestos tóxicos que se disolvieron en la fase bencénica ($CL_{50} = 72,62 \mu\text{g/ml}$). La fracción enriquecida en alcaloides ($CL_{50} = 327 \mu\text{g/ml}$) y la fracción en acetato de isopropilo ($CL_{50} = 316 \mu\text{g/ml}$) resultaron moderadamente activas. El extracto clorofórmico fue poco activo ($CL_{50} = 513 \mu\text{g/ml}$). El extracto butanólico fue inactivo a la mayor concentración ($CL_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$). No se evaluó la letalidad del residuo acuoso.

Se estimó la letalidad del aceite y de los compuestos en *Artemia salina*. Los

resultados se presentan en la Tabla 3. El aceite **1**, compuesto principalmente por sesquiterpenos, mostró ser la fracción más potente frente a *Artemia salina* ($CL_{50} = 4,50 \mu\text{g/ml}$). La mezcla de los isómeros *treo* (**2**) y *eritro* (**3**) de austrobailignano-6 mostró una letalidad alta ($CL_{50} = 44,0 \mu\text{g/ml}$). El compuesto (**4**) presentó una letalidad moderada ($CL_{50} = 109 \mu\text{g/ml}$). La mezcla de los isómeros *treo* (**5**) y *meso* (**6**) de austrobailignano-6 mostró una alta letalidad ($CL_{50} = 54,4 \mu\text{g/ml}$). El alcaloide aporfínico N-acetilado, N-acetilanonaina (**7**), presentó una baja letalidad ($CL_{50} = 288 \mu\text{g/ml}$). El compuesto (**8**), la lactona sesquiterpénica partenólido, mostró una letalidad moderada ($CL_{50} = 105 \mu\text{g/ml}$).

Tabla 3. Estimación de CL₅₀ de los extractos y compuestos por el método Probit.

| Extractos | CL ₅₀ (mg/ml) Intervalo de 95% de confianza | Metabolitos | CL ₅₀ (mg/ml) Intervalo de 95% de confianza |
|-----------------------|--|--------------------------|--|
| Etanólico | 168 ± 32 | Aceite 1 | 449 ± 2,01 |
| Alcaloidal | 327 ± 85 | Austrobailignano-6 | 44,0 ± 22,0 |
| Bencénico | 72,6 ± 26,2 | Torreyol | 109 ± 18 |
| Acetato de isopropilo | 315 ± 50,3 | Ácido dihidroguaiarético | 54,3 ± 8,1 |
| Clorofórmico | 513 ± 112 | N-acetil-anonaína | 288 ± 123 |
| Butanólico | > 1000 | Partenólido | 105 ± 84 |

La colchicina fue el primer antimitótico descubierto que actúa inhibiendo la polimerización de la tubulina (28). Es una molécula que ha sido considerada promisoriosa como medicamento anticancerígeno, a pesar de su alta toxicidad (28). La CL₅₀ de la colchicina en *Artemia salina* es de 25 µg/ml (29). El aceite compuesto principalmente por santalenos, bergamotenos y muurolenos es alrededor de cinco veces más activo que la colchicina frente a *Artemia salina*. Se ha reportado la actividad antitumoral de sesquiterpenoides de tipo santalano (30); sin embargo, no se poseen reportes de la actividad citotóxica de los sesquiterpenos mayoritarios α-santaleno, α-muuroleno y γ-muuroleno. Los lignanos de tipo dibencilbutano presentan una letalidad considerable frente a *Artemia salina* (CL₅₀ ~ 50 µg/ml). Poseen la mitad de la potencia de la colchicina. Estos metabolitos presentan una tendencia de toxicidad que indica la existencia de un mecanismo de acción particular. Puede ser interesante explorar la manera como actúan estos lignanos dibencilbutánicos. Los sesquiterpenoides, el alcohol torreyol y la lactona partenólido presentan una letalidad moderada frente a *Artemia salina* (CL₅₀ ~ 110 µg/ml). Cabe señalar que, aunque el partenólido es muy

activo frente a *Leishmania amazonensis* (26) y *Mycobacterium tuberculosis* (31), presenta una actividad moderada frente al microcrustáceo. Hay que precisar que el partenólido no ha presentado toxicidad en macrófagos de murino (26), lo que indica que posiblemente exista una correlación positiva entre citotoxicidad en macrófagos y letalidad en *Artemia salina*. El alcaloide aporfínico N-acetilanonaina presentó una baja letalidad (CL₅₀ ~ 290 µg/ml) a pesar de su actividad ictiotóxica reportada frente al pez *Pimephales promelas* (32).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los profesores José Hipólito Isaza Martínez y Wilman Antonio Delgado Ávila por su colaboración en el análisis CG-EM y en los bioensayos. Igualmente a Fernando Echeverri, investigador principal del proyecto Búsqueda de moléculas antituberculosas de la flora colombiana (Colciencias 1115-12-17822) que financió esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Guzmán, J. D.; Cuca, L. E.; Isaza, J. H. Fragmentación diastereoespe-

- cífica en NCI de dos lignanos dibencilbutánicos de la corteza de *Dugandiodendron argyrotichum* (Magnoliaceae). *Revista Productos Naturales*. 2008. **2** (1): 6-12.
- Lozano C., G. Flora de Colombia 1. Magnoliaceae. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. 1983. pp. 3-104.
 - Cárdenas, D.; Salinas, N. R. editores. Libro rojo de las plantas de Colombia. Especies maderables amenazadas Volumen 4. Bogotá: Instituto Humboldt. 2007. pp.11-232.
 - Lozano C., G. *Dugandiodendron* y *Talauma* (Magnoliaceae) en el Neotrópico. Bogotá: Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Colección Jorge Álvarez Lleras. 1994. No. 3.
 - Nooteboom, H. P. *Dugandiodendron* (Magnoliaceae) erroneously described. *Taxon*. 1984. **33** (4): 696-698.
 - Lozano C., G. Consideraciones sobre el género *Dugandiodendron* (Magnoliaceae). *Taxon*. 1984. **33** (4): 691-696.
 - Nooteboom, H. P.; Figlar, R. B. Notes of Magnoliaceae IV. *Blumea*. 2004. **49**: 87-100.
 - Cicuzza, D.; Newton, A.; Oldfield, S. Red list of Magnoliaceae. Fauna and Flora International. UK. 2007. pp. 17-52.
 - Calderón, E.; Cogollo, A.; Velásquez Rúa, C.; Serna González, M.; García, N. Las magnoliáceas. Nestor García Editor. Libros rojos de plantas de Colombia. Volumen 5. Bogotá. 2007. pp.45-154.
 - Pyo, M. K.; Yun-Choi, H. S.; Hong, Y. J. Antiplatelet activities of aporphine alkaloids isolated from leaves of *Magnolia obovata*. *Planta med*. 2003. **69**: 267-269.
 - Nonato, M. G.; Garson, M. J.; Truscott, R. J. W.; Carver, J. A. ¹H-NMR assignments of anonaine and xylopine derivatives from *Talauma gitingensis*. *J. Nat. Prod*. 1990. **53** (6): 1623-1627.
 - Shamma, M.; Slusarchyk, W. A. The aporphine alkaloids. *Chemical Reviews*. 1964. **64**: 59-79.
 - Song, Q.; Fischer, N. H.; Biologically active lignans and neolignans from *Magnolia* species. *Rev. Soc. Quim. Mex*. 1999. **43** (6): 211-218.
 - Stefanello, M. A. A.; Alvarenga, M. A.; Toma, I. N. New neolignans from *Talauma ovata*. *Fitoterapia*. 2002. **73**: 135-139.
 - Iida, T.; Nakano, M.; Ito, K. Hydroxyperoxysesquiterpene and lignans constituents of *Magnolia kobus*. *Phytochemistry*. 1982. **21** (3): 673-675.
 - Jacyno, J. M.; Montemurro, N.; Bates, A. D.; Cutler, H. G. Phytotoxic and antimicrobial properties of cyclocolorone from *Magnolia grandiflora* L. *J. Agric. Food. Chem*. 1991. **39**: 1166-1168.

17. Jacobsson, U.; Kumar, V.; Saminathan, S. Sesquiterpene lactones from *Michelia champaca*. *Phytochemistry*. 1995. **39** (4): 839-843.
18. Song, Q.; Gómez Barrios, M.; Fronczec, F. R.; Vargas, D.; Thien, L. B.; Fischer, N. H. Sesquiterpenes from southern *Magnolia virginiana*. *Phytochemistry*. 1998. **42** (2): 221-226.
19. Puertas, M. A.; Mesa, A. M.; Sáez J. A. In vitro radical scavenging activity of two columbian Magnoliaceae. *Naturwissenschaften*. 2005. **92**: 381-384.
20. McLaughlin, J.; Rogers, L.; Anderson, J. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Inf. J.* 1998. **32**: 513-524.
21. Guzmán, J. D. Estudio fitoquímico y búsqueda de compuestos de interés terapéutico de *Dugandiodendron argyrotichum* (Magnoliaceae). MSc Thesis, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 2008.
22. Adams, R. P. Identification of essential oil components by gas-chromatography/mass spectrometry. Chicago: Allured Publishing Corporation. 1995.
23. Joulain, D.; König, W. A. The Atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons. Hamburg, Germany: E.B.-Verlag. 1998.
24. Egli, V. S.; Gfeller, H.; Bigler, P.; Schlunegger, U. P. Isolierung und identifikation des sesquiterpenalkohols torreyol aus reinkulturen des ektomykorrhizapilzes *Cortinarius odorifer* Britz. *Eur. J. For. Path.* 1988. **18** (6): 351-356.
25. Tiunan, T. S.; Ueda N., T.; García, D. A.; Dias, B. P.; Morgado D., J. A.; Souza, W.; Nakamura, C. S. Antileishmanial activity of parthenolide, a sesquiterpene lactone isolated from *Tanacetum parthenium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2005. **49** (1):176-182.
26. Ruangrunsi, N.; Rivepiboom, A.; Lange, G. L.; Lee, M.; Decicco, C. P.; Picha, P.; Preechanukool, K. Constituents from *Paramichelia bailoni*: a new antitumor germacranolide alkaloid. *J. Nat. Prod.* 1987. **50** (5): 891-896.
27. Pisutthanan, S.; Plianbangchang, P.; Pisutthanan, N.; Ruanray, S.; Muanrit, O. Brine shrimp lethality activity of Thai medicinal plants in the family Meliaceae. *Naresuan University Journal*. 2004. **12** (2): 13-18.
28. Baudoin, O.; Guéritte, F. Natural bridged biaryls with axial chirality and antimitotic properties. *Studies in Natural Products Chemistry*. 2003. **29**: 355-417.
29. Déciga, M.; Rivero, I.; Arriaga, M.; Castañeda, G.; Ángeles G.; Navarrete, A.; Mata, R. Acute toxicity and mutagenic activity of mexican plants used in traditional medicine. *J. of ethnopharmacology*. 2007. **110**: 334-342.
30. Kim, T. H.; Ito, N.; Hatano, T.; Takayasu, J.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Machiguchi, T.; Yoshida, T. New antitumor sesquiterpenoids

- from *Santalum album* of indian origin. *Tetrahedron*. 2006. **62**: 6981-6989.
31. Franzblau, S. G.; Lu, T.; Cantrell, C. L.; Castañeda, J.; Quijano, L.; Fischer, N. H. Antimycobacterial evaluation of germacranolides in honour of professor G. H. Neil Towers 75th birthday. *Phytochemistry*. 1998. **49** (2): 559-564.
32. Rao, K. V.; Davies, R. The ichthyotoxic principles of *Zanthoxylum clava-herculis*. *J. Nat. Prod.* 1986. **49** (2):340-342.