

## CONSTITUYENTES DE LA CORTEZA DE *FAGARA RHOIFOLIA* (LAM.) ENGL. (RUTACEAE)

Luis Fernando Echeverri L. (1)  
Arnoldo Ramírez B. (2)

### RESUMEN

*De la corteza de Fagara rhoifolia (Lam.) Engl., se aislaron e identificaron dos triterpenos, el azúcar sacarosa, el alcaloide skimmianina y el flavonoide hesperidina. Se discute así mismo el problema de los géneros Fagara y Zanthoxylum desde un punto de vista quimiotaxonómico.*

### INTRODUCCION

La familia Rutaceae es particularmente rica en metabolitos secundarios, entre los cuales se encuentran diferentes tipos de alcaloides, tales como furanoquinolinas, benzilisoquinolinas, protoberberinas, benzofenantridinas y fenetilaminas, además de coumarinas, lignanos, flavonoides y triterpenos.

Algunos de estos metabolitos poseen importantes actividades biológicas. Pueden ser, por ejemplo, uterotónicos (King et al., 1980), antimicrobianos (Chakraborty, 1980), espasmolíticos (Minker, 1979), anticancerosos (Svoboda, 1971; Sethi, 1979) y pueden actuar en los sistemas nervioso central (Svoboda y Kattan, 1967) y circulatorio, específicamente en anemia falciforme (Sophowora, 1975).

Otros metabolitos intervienen activamente en la germinación de otras plantas, ejerciendo un marcado efecto alelopático (Mandova et al., 1981).

En este trabajo se describe el aislamiento y la estructura de algunos metabolitos secundarios aislados de la corteza de *Fagara rhoifolia*.

### MATERIALES Y METODOS

La corteza de *Fagara rhoifolia* fue recolectada en el mes de septiembre de 1981, en el municipio de Cali (Colombia), por Isidoro Cabrera. Un espécimen testigo se encuentra en el herbario de la Universidad del Valle, N<sup>o</sup>. 6248.

La corteza pulverizada (900 g) se extrajo con éter de petróleo (3.5 l) durante 20 horas y posteriormente con metanol (3.5 l) durante 30 horas. Los extractos se concentraron luego a presión reducida.

El extracto etéreo se guardó en refrigeración, precipitando a las 36 horas un sólido verdoso. Parte de este precipitado (5 g) se pasó por una columna cromatográfica empacada con sílica gel (150 g), eluyendo con benceno (200 ml) y una mezcla de benceno-cloroformo (1:1 v/v, 600 ml), recolectando fracciones de 50 ml. Las fracciones 8-10 dejaron, por concentración, un sólido de color crema que se purificó en cromatografía en columna, usando como eluyente benceno-cloroformo (5:1, 700 ml). De las primeras fracciones (300 ml) se aisló un sólido cristalino de color blanco (2.8 g) llamado *Compuesto I*.

La primera columna se continuó eluyendo con cloroformo puro (300 ml), obteniéndose de las fracciones 17-18 cristales aciculares de color rojo (40 mg), llamados *Compuesto II*.

Del extracto etéreo bruto se acetilaron 2 g, que por recristalización en cloroformo permitieron obtener 15 mg de cristales transparentes llamados *Compuesto III*.

El extracto metanólico dejó en las paredes del recipiente 2.8 g de un sólido amorfo de color crema, que se lavó exhaustivamente con metanol y el cual demostró homogeneidad en cromatografía en papel; este compuesto se llamó *Compuesto IV*.

Por cromatografía del remanente metanólico (5 g), sobre sílica gel (150 g) y elución con cloroformo-metanol (1:5) y metanol puro se obtuvo un sólido cristalino (200 mg), llamado *Compuesto V*.

Para los análisis espectroscópicos se usaron los siguientes equipos: UV en un Perkin Elmer 202, IR en un Perkin Elmer 599B, <sup>1</sup>H RMN en un Varian T60, espectro de masas en un Finnigan 4000, excepto para el silanizado del compuesto IV, que se tomó en un Du Pont 21-490B, impacto electrónico.

(1) Profesor, Depto. de Química, Univ. de Antioquia, Medellín, Colombia.  
(2) Profesor, Depto. de Química, Univ. del Valle, Cali, Colombia.

**Compuesto I.** Punto de fusión 215<sup>o</sup>; positiva la prueba de Liberman-Bouchardt, indicativo de un núcleo de triterpeno, UV: transparente por encima de 210 nm; IRCHCl<sub>3</sub>: 3340 (-OH), 2930 (-CH), 1630 (-C=C-), 1450, 1380 (gem dimetilo), 1180, 1040, 880 y 790. <sup>1</sup>H RMNCCl<sub>4</sub>: 0.70-1.30, varios singletes que integran para 18 protones, 1.65 (s, 3H), para un sistema -C=C-CH<sub>3</sub>, 4.60 (doblete deformado, 2H), para un =CH<sub>2</sub> exocíclico.

El compuesto se acetiló en frío con anhídrido acético y piridina y su espectro de <sup>1</sup>H RMN presenta una señal adicional a 2.10, que integra para tres protones, indicando así la presencia de un solo -OH. El espectro de masas de este acetato muestra señales a 468 (M<sup>+</sup>, 40o/o), 453 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 408 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H), 265 (5), 218 (100), 204 (70), 203 (28), 169 (60). Estos últimos cuatro fragmentos corresponden a la fisión a través de C<sub>11</sub>-C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub>-C<sub>14</sub> y C<sub>9</sub>-C<sub>11</sub>, de un núcleo de triterpeno pentacíclico (Budzikiewicz et al., 1963). Estas características espectroscópicas coinciden con las reportadas para el triterpeno lupeol, el cual se ha aislado de *Fagara tessmannii* (Addae-Mensah y Sofowora, 1979) y *Zanthoxylum parvifolium* (Fish et al., 1975 a).

**Compuesto II.** Punto de fusión 177<sup>o</sup>, dando positiva la prueba de Dragendorff, lo cual es indicativo de un alcaloide.

UVEtOH: 249 (4.4), 3.20 (3.4); IRKBr: 3100, 3000, 1610 (C=N aromático), 1580, 1500, 1390, 1360 y 1320 (anillo de furano), 1100, 790, 760. <sup>1</sup>H RMNCDCl<sub>3</sub>: tres singletes a 4.05, 4.15 y 4.40, que integran para 9 protones, correspondientes a 3 grupos -OCH<sub>3</sub>; 7.00 y 7.58 (dobletes, J= 3.0, dos protones de un anillo de furano); 7.22 y 8.00 (dobletes, J= 8.0, dos protones de anillo benzénico en posición orto); lo anterior indica la presencia de anillo furanoquinolínico. El espectro de masas muestra señales a 260 (M<sup>+</sup>+H, 100o/o), 259 (M<sup>+</sup>, 98), 244 (70), 229 (30), 216 (30), 201 (20), 185 (2), 173 (4); estas fragmentaciones se originan por pérdidas sucesivas de grupos -OCH<sub>3</sub> y -C=O y corresponden, conjuntamente con los demás espectros, para el alcaloide skimmianina, aislado previamente de *Zanthoxylum limoncillo* y *Z. caribeum* (Dreyer y Brenner, 1980) y *Z. decarii* (Vaquette et al., 1974).

**Compuesto III.** Punto de fusión 180<sup>o</sup>; prueba positiva de Lieberman-Bouchardt. UVEtOH: 250, IRKBr: 3400, 2950, 1710 (acetato), 1645 (C=O conjugado), 1400, 1250, 1040 y 1000. <sup>1</sup>H RMNCDCl<sub>3</sub>: 0.75-1.30 (varios singletes que integran para 21 protones), 2.00 (s, 3H), 2.25 (s, 1H), 4.40-4.70 (varias), 5.50 (s, 1H), esta última un protón del sistema conjugado (Shamma y col., 1962). El espectro de masas muestra señales a 480 (M<sup>+</sup>, 4o/o), 465

(M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 406 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), indicativo de una cadena lateral, que en el compuesto original portaba un alcohol primario, 271 (98), 276 (2), 231 (100), 256 (2), 203 (1), 202 (3), 187 (7), 133 (90). Examinando las posibilidades de situar el carbonilo conjugado en los anillos de un triterpeno pentacíclico, solamente existen dos de ellas; una lo sitúa en el anillo B y otra a nivel del anillo C (fig. 1). En ambos casos los patrones de fragmentación y el espectro de RMN de 60 MHz son iguales; únicamente <sup>1</sup>H RMN de alta resolución y <sup>13</sup>C RMN permitirán dilucidar claramente cuál de las dos estructuras presentadas corresponde exactamente al **Compuesto III**.

**Compuesto IV.** Punto de fusión 261<sup>o</sup>; UVMcOH: 285, 335, + NaOAc: no cambia, + AlCl<sub>3</sub>: 308. El compuesto da un intenso color azul cuando se trata con FeCl<sub>3</sub> al 1o/o, indicativo de un -OH fenólico y color violeta con el reactivo de Shinoda, prueba típica de un flavonoide, el cual se halla sustituido en C<sub>7</sub>, debido a que no presentó desplazamiento con la adición de NaOAc en el ultravioleta.

El espectro de <sup>1</sup>H RMNDMSO-d<sub>6</sub> muestra señales complejas a 1.20, 2.80, 3.40 (ancha), 3.70 (s), varias entre 4.40-5.30, 6.20 y 7.00. La señal ancha a 3.40 se debe a protones de un azúcar unido al núcleo de flavonoide. El compuesto se silanizó con HMDS y TMCS, aclarándose más el espectro de RMN: 1.20 (d, 3H, -CH<sub>3</sub> de rhamnosa), 2.75 (m, 2H, protones H<sub>3</sub>-cis y H<sub>3</sub>-trans de una flavanona), 3.50 (ancha, 10H, protones del azúcar), 3.90 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 4.30 (1H, H<sub>1</sub> de rhamnosa), 5.20 (dd, H<sub>2</sub>), 6.00 y 6.10 (dobletes, J=2, H<sub>6</sub> y H<sub>8</sub>), 6.80 (3H, protones del anillo B).

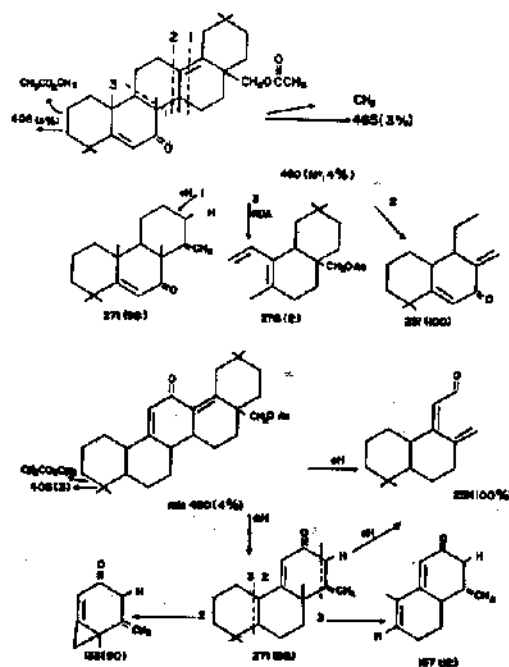


Fig. 1. Posibles estructuras y fragmentaciones del compuesto III.

El RMN tomado en benceno deuterado presenta la señal del metoxilo a 2.60, desplazamiento que es de esperarse para un metoxilo situado en C<sub>4</sub>, con un -OH adyacente (Mabry et al., 1970).

El tipo de azúcar de la molécula se determinó hidrolizando el compuesto con HCl concentrado y realizando cromatografía en capa fina sobre celulosa, en el sistema piridina EtOAc-AcOH-agua (5:5:1:3), usando como revelador biftalato de anilina y con patrones auténticos de azúcares; se demuestra la presencia de rhamnosa y glucosa ( $R_g = 0.99$  y  $1.15$  respectivamente).

El espectro de masas del compuesto silanizado indica así mismo que el azúcar directamente unido al núcleo de flavonoide es la glucosa (Schels y et al., 1978) y sus fragmentos son: 1186 ( $M^+$ , 20/o), 1171 (12), 807 (6), 740 (25, OS-H), 503 (20), 446 (4, A + H), 431 (28), 362 (59, T + H), 273 (14, T-ROH), 217 (35), 204 (43), 147 (29), 73 (100) y el flavonoide se conoce como hesperidina, reportado en *Zanthoxylum avicennae* y *Z. dinklagei* (Fish et al., 1975b y 1975c).

El compuesto V se identificó como sacarosa, por sus espectros UV, <sup>1</sup>H RMN y cromatografía en capa fina con un patrón auténtico, en el sistema descrito anteriormente para los azúcares de hesperidina y se ha reportado en *Zanthoxylum fagara* (Domínguez et al., 1971) y *Z. simulans* (Gray y O'Sullivan, 1980).

Las estructuras de los compuestos I, II y IV se presentan en la figura 2.

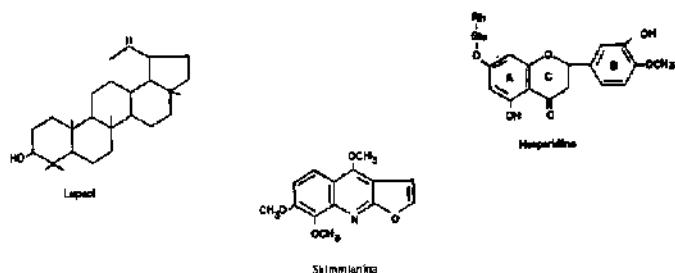


Fig. 2. Estructura de algunos compuestos aislados de la corteza de *Fagara rhoifolia* Lam. (Engl.)

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los géneros *Fagara* y *Zanthoxylum* plantean desde el punto de vista quimiotaxonómico, importantes interrogantes a las pautas taxonómicas y evolutivas postuladas por Engler. Este problema puede tener su origen en el número y localización geográfica de las especies con las cuales En-

glar clasificó al género *Zanthoxylum*, puesto que lo hizo con 12 especies de la China y del Japón y con una sola americana (Engler, 1931).

Hasta 1976 se habían estudiado 61 especies de lo que hoy se conoce como "complejo *Fagara-Zanthoxylum*" (Swinehart y Stermitz, 1980).

Algunos de los hechos contradictorios son los siguientes:

- La subsección *Pterota* es, según Engler, la más primitiva; sin embargo, algunas de sus especies sintetizan derivados del ácido antranílico y coumarinas simples C-preniladas, lo cual es indicativo de avance evolutivo (Fish y Waterman, 1973).
- *Zanthoxylum monophyllum*, de la subsección *Neogae*, sintetiza furanoquinolinas y furanocoumarinas, así como trazas de berberina y por tanto no es tan primitiva como lo supuso Engler, sino que se encuentra en un estado intermedio entre las especies más primitivas y las más evolucionadas (Stermitz y Sharifi, 1977).
- Las sustancias aisladas de algunas especies de la sección *Tobinia*, sobre todo bencilisoquinolinas, son típicas de plantas primitivas, pero Engler consideró esta sección como evolucionada (Waterman, 1975).
- Los alcaloides bishordeninilterpénicos se han encontrado exclusivamente en especies americanas de *Zanthoxylum* y son indicativos de avance evolutivo, pero Engler las denota como pertenecientes a la primitiva *Pterota* y a la evolucionada *Tobinia* (Bolware y Stermitz, 1981).

Además, los *Zanthoxylum* americanos, *Z. ferrugineum*, *Z. mazatlanum* y *Z. williamsii*, tienen una morfología del periantio intermedia entre los géneros en discusión (Brizick, 1962). Por ello, un investigador urge la revisión de la clasificación de las especies americanas de *Zanthoxylum* (Porter y Elías, 1979).

El análisis fitoquímico de *Zanthoxylum americanum* y *Z. clava-herculis* ha demostrado claramente que estas dos especies no son idénticas, como lo asumió Engler (Stermitz, 1980) y resultados similares se obtuvieron con la identidad de *Fagara tessmanni*, *F. zanthoxylum* y *Z. gilletti* (Addae-Mensah y Sofwora, 1979).

A un nivel más general, son típicos de la familia Rutaceae los flavonoides exoticin, narfingenin y hesperidín y los flavonoides encontrados son característicos de familias leñosas muy primitivas en las

Angiospermas (Harborne, 1982); pero el complejo *Fagara-Zanthoxylum* posee también otros metabolitos más típicos de otras familias de plantas. Así, por ejemplo, se han encontrado benzofenantridinas, típicas de Papaveraceae y Fumariaceae (Fish et al., 1975a; Vaquette et al., 1974). Lo mismo sucede con los alcaloides tipo canthinones, de Simaroubaceae (Torres y Cassels, 1975) y con las aporfinas de Annonaceae (Waterman, 1982).

— En un contexto geográfico, el problema presenta más ramificaciones, como el ya mencionado caso de las especies americanas de *Zanthoxylum* y los alcaloides bishordeniniliterpénicos, o el de *Fagara mayu*, que se encuentra en una isla cercana a Chile y la cual sintetiza canthinones, metabolitos más típicos de especies africanas de *Fagara* (Torres y Cassels, 1978); las protopinas únicamente se han encontrado en varias espe-

cies australianas de *Zanthoxylum* y en una sola especie americana del mismo género (Waterman, 1982).

Como consecuencia de los hechos anteriormente expuestos, se ha sugerido que el género *Fagara* se asimile al género *Zanthoxylum* como un subgénero (Fish y Waterman, 1973). Por ello, se hace necesario realizar correlaciones simultáneas entre varios metabolitos secundarios para sustentar esta propuesta, que cada vez se implementa más (Waterman, 1982; O'Sullivan, 1982).

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle y al Fondo para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República, la financiación de este trabajo.

### CONSTITUENTS OF *FAGARA RHOIFOLIA* (LAM.) ENGL. (RUTACEAE)

#### ABSTRACT

Two triterpenes, sucrose, skimmianine and hesperidin were isolated from the bark of *Fagara rhoifolia* (Lam.) Engl. A brief analysis of chemotaxonomical aspects of the genus *Fagara* and *Zanthoxylum* is also presented.

#### LITERATURA CITADA

- Addae-Mensah, I. y E. Sofowora. 1979. Constituents of *Fagara tessmannii*. *Planta Medica* 35:94.
- Brizick, G. 1962. Taxonomic and nomenclatural notes of *Zanthoxylum* and *Glycosmis* (Rutaceae). *J. Arnold Arbor. Harvar Univ.* 43:80.
- Bolware, R. T. y F. R. Stermitz. 1981. Some alkaloids and other constituents of *Zanthoxylum microcarpum* and *Z. procerum*. *J. Nat. Prod.* 44:200.
- Budziklewicz, H., M. Wilson y C. Djerassi. 1963. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems. XXXII. Pentacyclic triterpenes. *J. Amer. Chem. Soc.* 85:3688.
- Chakraborty, D. 1980. Some aspects of the carbazole alkaloids. *Planta Medica* 39:97.
- Domínguez, X. A., L. Benavides y D. L. Butruille. 1971. Les bases quaternaires de la racine de *Z. fagara*. *Phytochemistry* 13:680.
- Dreyer, D. y R. C. Brenner. 1980. Alkaloids of some mexican *Zanthoxylum* species. *Phytochemistry* 19: 935.
- Engler, A. 1931. Die Natürliche Pflanzenfamilien. (A. Engler y K. Prantl, eds.) 2<sup>nd</sup> ed., Engelmann, Leipzig, Vol. 19a.
- Fish, F. y P. G. Waterman. 1973. Chemosystematics in the Rutaceae. II. Chemosystematics of the *Zanthoxylum-Fagara* complex. *Taxon* 22: 177.
- Fish, F., J. A. Gray y P. G. Waterman. 1975a. Alkaloids and triterpenes from *Zanthoxylum parvifolium*. *Phytochemistry* 14: 310.
- Fish, F., J. A. Gray y P. G. Waterman. 1975b. Coumarin, alkaloid and flavonoid constituents from the root and stem barks of *Zanthoxylum avicennae*. *Phytochemistry* 14: 841.

- Fish, F., J. Meshal y P. G. Watermn, 1975c. Alkaloids, triterpenes and lignans from the bark of *Zanthoxylum dinklagei*. *Phytochemistry* 14:2094.
- Gray, J. A. y F. O'Sullivan. 1980. Alkaloids, lignan and sterol constituents of *Zanthoxylum simulans*. International Congress on Natural Products as Medicinal Agents (Abs). Strassbourg, II/9.
- Harborne, J. B. 1982. The flavonoids of the Rutales. *Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, p. 47.
- King, C. y col. 1980. Uterotonic effect of *Evodia rutaecarpa* alkaloids. *J. Nat. Prod.* 43:577.
- Mabry, T. J., J. Markham y M. Thomas. 1970. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, New York.
- Mandova, M. G., K. Worley y J. Kpadian. 1981. Inhibition of plant growth by phenethylamines and tetrahydroisoquinolines. *J. Nat. Prod.* 44: 94.
- Minker, E. y col. 1979. Antispasmodic effect of rutamarin and arborinine on isolated smooth muscle organs. *Planta Medica* 37:156.
- O'Sullivan, J. 1982. Structural diversity and distribution of lignans in the Rutales. *Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, p. 267.
- Porter, D. y M. Elías. 1979. Flora of Panamá. Family 89. Rutaceae. *Ann. Missouri Bot. Garden* 66: 148.
- Scheis, H., H. D. Zimmelster y K. Pfeleger. 1978. Mass spectrometry of silylated flavone and flavanone glycosides. *Phytochemistry* 17:523.
- Sethi, M. 1979. Inhibition of reverse transcriptase activity by benzophenanthridine alkaloids. *Lloydia* 42:697.
- Shamma, M., R. Glick y R. Mumma. 1962. The nuclear magnetic resonance spectra of pentacyclic triterpene. *J. Org. Chem.* 27:4512.
- Sofowora, L. y col. 1975. Isolation and characterization of an antispasmodic agents from *Fagara zanthoxiloides* root. *Lloydia* 38:169.
- Stermitz, F. y J. Sharifi. 1977. Alkaloids of *Zanthoxylum monophyllum* and *Z. punctatum*. *Phytochemistry* 16:2003.
- Stermitz, F., M. Caolo y J. Swinehart. 1980. Alkaloids and other constituents of *Zanthoxylum williamsii*, *Z. monophyllum* and *Z. fagara*. *Phytochemistry* 19:1469.
- Svoboda, G. K. y R. Kattau. 1967. Alkaloids of *Acronychia baueri* (*Bauerella australiana*). III. CNS depressant principles. *Lloydia* 30:364.
- Svoboda, G. 1971. *En "Pharmacognosy and Phytochemistry"*. (H. Wagner y L. Horhammer, eds.). Springer-Verlag, New York, p. 166.

