

TABIENINA A: UN NUEVO ALCALOIDE APORFINABENCILISOQUINOLINA OXIDADO

RESUMEN

El fraccionamiento guiado por bioensayos, frente a larvas del crustáceo *Artemia salina* y del insecto *Culex quinquefasciatus*, del extracto alcaloidal de tallos de *Berberis tabiensis* (Berberidaceae) condujo al aislamiento de un nuevo alcaloide del tipo aporfina-bencilisoquinolina oxidado (tabienina A). El análisis estructural se realizó por medio de métodos químicos y espectroscópicos.

PALABRAS CLAVES: Berberidaceae, *Berberis tabiensis*, bencilisoquinolina, aporfina, *Artemia salina*, *Culex quinquefasciatus*.

ABSTRACT

Guided by Brine shrimp toxicity assay and Culex quinquefasciatus larvicide bioassay, fractionation of the alkaloidal extract from the stems of Berberis tabiensis (Berberidaceae) provided a novel oxidized aporphine-benzylisoquinoline alkaloid (tabienine A). The structure was determined by chemical methods and spectral analysis.

KEYWORDS: Berberidaceae, *Berberis tabiensis*, benzylisoquinoline, aporphine, Brine Shrimp, *Culex quinquefasciatus*.

1. INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de alternativas a los pesticidas sintéticos, los metabolitos secundarios de las plantas se proyectan como el futuro en el control de insectos plaga porque han mostrado función como tóxicos de contacto, repelentes, inhibidores de crecimiento, inhibidores de reproducción y de oviposición [1,2].

En general, las especies del género *Berberis* son conocidas por producir un ordenamiento muy especial de alcaloides bencilisoquinolínicos, dentro de ellos se destacan los alcaloides bisbencilisoquinolínicos diméricos derivados biogenéticamente de dos unidades de alcaloide bencilisoquinolínico que se combinan primero cola-cola y posteriormente cabeza-cabeza [3].

Se conocen pocos estudios sobre la composición química de plantas del género *Berberis* colombianas, los dos primeros se realizaron en la especie *Berberis rigidifolia* de donde se aisló berberina, el alcaloide mayoritario en plantas de este género [4,5]. Un estudio más reciente de la especie *B. glauca* mostró la presencia de varios alcaloides bisbencilisoquinolínicos, compuestos que hicieron parte de un extracto con actividad antialimentaria frente a larvas de *Spodoptera sunia* (Lepidoptera: Noctuidae) así como notables efectos tóxicos [6].

Con el fin de contribuir al conocimiento químico y de las propiedades aleloquímicas de algunas especies nativas del género *Berberis* se realizó un estudio químico y de actividad biológica preliminar frente a larvas del crustáceo *A. salina* y del mosquito *C. quinquefasciatus* de una muestra de tallos de *B. tabiensis* (LAC) (Berberidaceae) recolectada en la Sabana de Bogotá.

RODOLFO QUEVEDO PhD

Profesor Asistente
Universidad Nacional de Colombia
arquevedop@unal.edu.co

SERGIO ANTOLINEZ Qco

Universidad Nacional de Colombia

BÁRBARA MORENO M. PhD

Profesor Asistente
Universidad Nacional de Colombia
bmorenom@unal.edu.co

VICTOR M. FAJARDO M. PhD

Profesor Titular
Universidad de Magallanes
victor.fajardo@umag.cl

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal

La muestra de tallos de *B. tabiensis* se recolectó en el municipio de Chía (Cundinamarca) en junio del 2006, fue identificada por el Dr. LA Camargo y un ejemplar reposa en el herbario del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia. (COL 198116) [7]

2.2. Extracción y purificación

Una muestra de tallos secos y molidos (255 g) se extrajo por percolación en frío con etanol 96%, hasta prueba de Dragendorff negativa. Se concentró hasta sequedad (T. Máx. 40 °C) y el sólido obtenido (24.169 g) se trató con HCl al 10%, la fracción soluble se neutralizó con NaOH al 10% y se extrajo con CH₂Cl₂; la fase orgánica se concentró obteniéndose 4.263 g de extracto alcaloidal (EA).

0.25 g de extracto alcaloidal se sometieron a cromatografía en columna repetitiva eluyendo con mezclas de polaridad creciente de tolueno-cloroformo y cloroformo-metanol hasta obtener 2 mg de un compuesto alcaloidal. El análisis estructural por métodos químicos y espectroscópicos condujo a un nuevo alcaloide dimérico oxidado del tipo aporfina bencilisoquinolina.

2.3. Bioensayos

La acción toxica del extracto alcaloidal (EA) se evaluó frente a nauplios del crustáceo *A. salina* (Leach) como ensayo de letalidad general [8] y larvas de 3° estadio del mosquito *C. quinquefasciatus* (Say), como ensayo específico [9]. Los datos fueron procesados con el

programa Probit y se expresan como concentración efectiva al 50% (CE₅₀).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Bioensayos

El ensayo de toxicidad frente a larvas del mosquito *C. quinquefasciatus* del extracto alcaloidal (EA) presento los valores CE₅₀ de 18.64 y 9.19 ppm respectivamente. Los valores para CE₅₀ menores a 100 ppm son considerados como indicador de una actividad promisoriosa y muestran la necesidad de continuar con el estudio químico del extracto [9]. Debido a las limitaciones en cantidad de muestra, el fraccionamiento bioguiado se realizó con larvas de *A. Salina* cuyos resultados correlacionan bien con otros como el de actividad larvicida. Este fraccionamiento condujo a la separación de 5 fracciones con actividad significativa de las cuales se seleccionó la de menor polaridad (F1) para continuar con el proceso de purificación, la cual mostró una valor de CE₅₀ de 350 ppm, menor que la observada para el extracto alcaloidal (CE₅₀ = 476 ppm)

Estos resultados muestran que la concentración efectiva tanto para el extracto alcaloidal como para F1 se encuentra en un rango medio, comparable con el reportado para la cafeína (306 ppm) pero mayor al del sulfato de estricnina (77,2 ppm), sustancia ampliamente utilizada en el control de roedores [10].

3.2. Análisis estructural

Como resultado de estos estudios se aisló y caracterizó un nuevo alcaloide altamente oxigenado del tipo secoaporfina-bencilisoquinolina con unión cabeza-cabeza entre C5 y C7', denominado tabienina A (Figura 1); producto consistente con la vía biogenética bisbencilisoquinolina, proaporfina - bencilisoquinolina hasta aporfina - bencilisoquinolina; ruta en la cual se puede presentar como reacción lateral la ruptura oxidativa del enlace C1-C α de la mitad tetrahydro-bencilisoquinolínica.

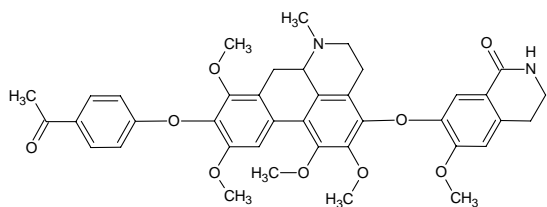


Figura 1

Este nuevo alcaloide se obtuvo como un sólido amorfo (2 mg); el espectro IR presenta como señales características, absorciones a 3390, 1733 cm⁻¹ que indican la presencia de grupos N-H y C=O respectivamente; la reacción positiva frente a 2,4-dinitrofenilhidrazina muestra la existencia de un grupo carbonilo de aldehído o cetona en su estructura. El espectro de masas por ie a 70 eV presenta al ión molecular (pico base) a m/z = 680 para una fórmula

molecular C₃₉H₄₀N₂O₉. También se observan señales de mediana intensidad a m/z = 665 (22%) y 637 (25%) que corresponden a la pérdida de un grupo metilo y un carbonilo respectivamente, rupturas típicas de una metilcetona (M⁺- 43). Las rupturas posteriores m/z = 544 (36%), 409 (54%), 365 (38%), 273 (73%) y 229 (85%) corresponden al modelo de fragmentación típica tanto del núcleo isoquinolínico como del núcleo aporfínico[11,12].

El espectro de RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) muestra las señales correspondientes a cinco grupos metoxilo sobre los anillos aromáticos a δ = 3.91, 3.82, 3.66, 3.51 y 3.22 ppm, un singulete a 2,73 ppm, característico de N- metilo, cuyo desplazamiento químico indica que el metilo se encuentra sobre un nitrógeno de amina; el metilo unido a carbonilo aparece para este compuesto a 2,08 ppm. Adicional a las señales antes mencionadas, aparecen las correspondientes a los núcleos aporfínico e isoquinolínico esperados para la estructura propuesta.

La tabienina A; es el primer alcaloide oxidado aislado de especies de *Berberis* nativas y se constituye en el primer ejemplo en la naturaleza de alcaloides aporfínicos-bencilisoquinolínicos oxidados a la forma cetónica.

4. CONCLUSIONES

Se aisló y caracterizó la tabienina A, un nuevo alcaloide altamente oxigenado del tipo secoaporfina-bencilisoquinolina, producto de la ruptura oxidativa *in vivo* del enlace C1-C α del grupo tetrahydrobencilisoquinolina de un alcaloide aporfina-bencilisoquinolina con unión cabeza-cabeza entre C5 y C7'.

El extracto alcaloidal y la fracción de menor polaridad (F1), de donde se aisló tabienina A, presentaron actividad notable frente a larvas de *A. salina* con CE₅₀ = 476 ppm para el extracto alcaloidal y CE₅₀ = 350 ppm para F1 y frente a larvas de mosquito *C. quinquefasciatus* 18.7 ppm a 48 horas y 9.2 ppm a 72 horas para el extracto alcaloidal.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Isman MB, Gunning PJ, Spollen KM. Tropical timber species as sources of botanical insecticides In: Phytochemicals for pest control Isman MB Ed, chap 3, 1997, 27-37.
- [2] Sukumar, K.; Perich, M.; Boobar, L Botanical Derivatives in Mosquito Control: A review. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 1991, 72, 210-235.
- [3] Fajardo, V. Química del género *Berberis*. *Química de la flora de Chile*. Ed Muñoz O, Fajardo V. 1992, 575-596.
- [4] Aristizábal C, Castro D, Young S. Estudio químico de *Berberis rigidifolia* - *Rev. Col. Quím.* 1989, 18, 61-65

- [5] Young S, Morgensztern C. *Rev. Col. Quím.* 1990, 19,127-130.
- [6] Moreno-Murillo B, Morgensztern, C, Luque, E, Fajardo V. Alcaloides bisbencilisoquinolínicos de *Berberis glauca* y evaluación de su actividad Antialimentaria *Rev. Col. Quím.* 1995, 24,25-37.
- [7] Moreno-Murillo B, Luque JE, Bernal R, Jiménez JC, Fajardo V. Insecticidal Activity of some native plants from Highlands of Colombia. In *Techniques in Plant-Insect Interactions and Biopesticides* 1996, 196-204
- [8] Camargo LA. Especies nuevas del Género *Berberis*. III, *Caldasia*, 1981, XIII (62), 203-207.
- [9] Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nichols D, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 1982, 45, 31-34.
- [10] McLaughlin JL, Rogers LL, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug Inf J.* 1998 32, 513-524.
- [11] Budzikiewicz H, Djerassi C, Williams D. - *Structure elucidation of natural products by mass spectrometry. Volume I: Alkaloids.* Holden-Day, Inc. San Francisco. 1964, 173-183
- [12] Fajardo V.- Estudio Químico de las *Berberis* de Chile - Disertación Doctoral Universidad de Chile, 1984. P 125-132.