

Alcaloides de las hojas de *Sophora macrocarpa**

Rosa Negrete**, Nadine Backhouse** y Bruce K. Cassels***

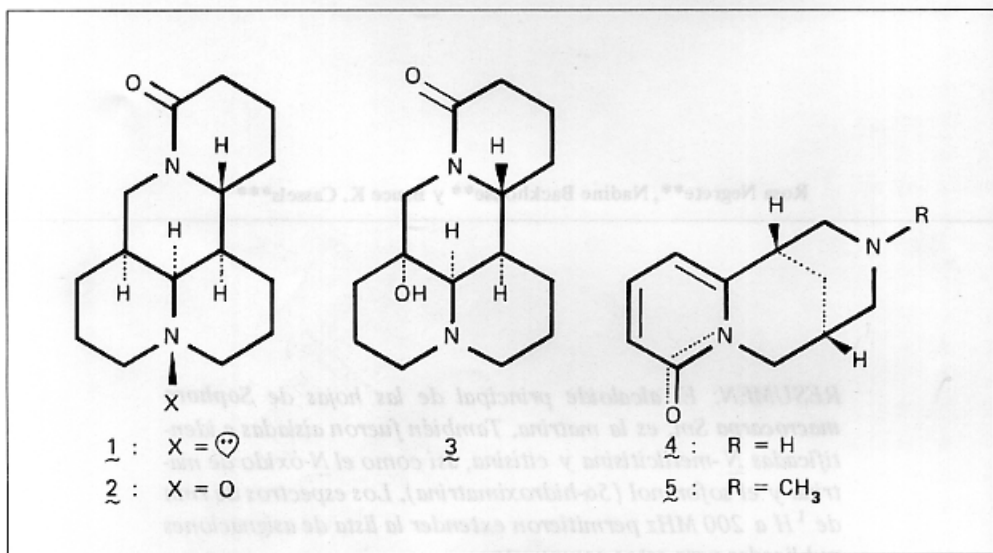
RESUMEN: El alcaloide principal de las hojas de *Sophora macrocarpa* Sm. es la matrina. También fueron aisladas e identificadas *N*-metilcitisina y citisina, así como el *N*-óxido de matrina y el soforanol (5 α -hidroximatrina). Los espectros de rmn de ^1H a 200 MHz permitieron extender la lista de asignaciones publicadas para estos compuestos.

SUMMARY: The main alkaloid of the leaves of *Sophora macrocarpa* Sm. is matrine. *N*-methylcytisine, cytisine, matrine *N*-oxide, and sophoranol (5 α -hydroxymatrine) were also isolated and identified. The 200 MHz ^1H nmr spectra made an extension of the assignments published for these compounds possible.

Sophora macrocarpa Sm. (nombre vernáculo "mayo" o "mayu") es un arbusto bastante común en Chile central que crece en lugares abiertos con humedad adecuada del suelo y, sobre todo más al sur, al borde de los bosques. Su área de dispersión va desde el sur de la Cuarta Región hasta el Bío-Bío o posiblemente más allá, donde coexiste con la especie muy próxima **S. microphylla** Ait. con la cual, al parecer, da híbridos naturales.

Sus semillas dan 20% o más de un aceite comestible de buena calidad¹ y contienen matrina, *N*-metilcitisina y baptifolina². Un estudio preliminar de la variabilidad del contenido alcaloidal de las hojas indicó que una base, probablemente matrina, era el componente mayoritario en muestras recolectadas en diferentes localidades y épocas³, pero no se han publicado estudios químicos más completos de estos u otros órganos que podrían ser fuentes de compuestos útiles o de alguna manera interesantes.

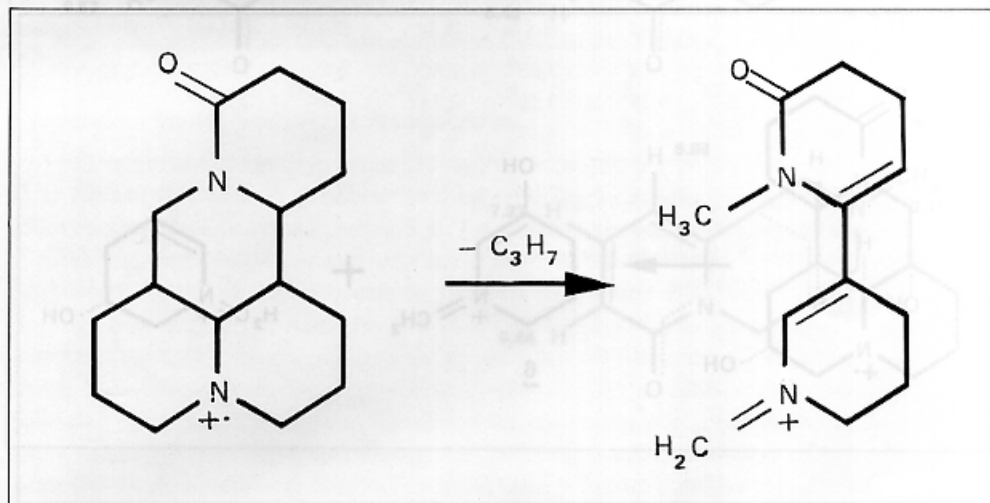
Las hojas estudiadas por nosotros contenían aproximadamente 1,5% de material básico extraíble con cloroformo. La cromatografía en capa fina en varios sistemas mostró la presencia de a lo menos diez alcaloides en proporciones muy diversas, de los cuales el más abundante fue identificado como matrina (1); también fueron aislados e identificados el *N*-óxido de matrina (2), el soforanol (3), la *N*-metilcitisina (4) y la citisina (5).



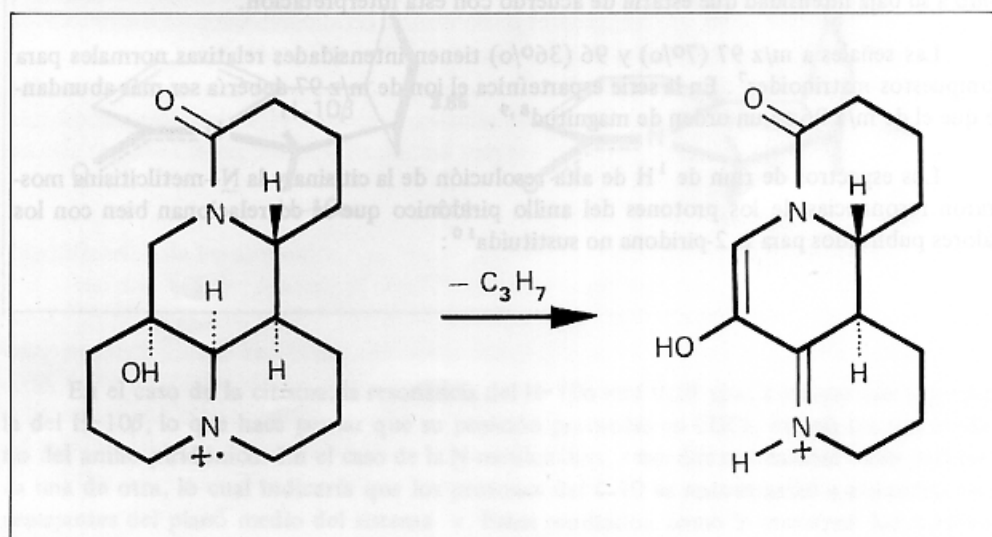
La matrina, la *N*-metilcitisina y la citisina fueron reconocidas por comparación de sus constantes físicas y propiedades espectroscópicas con valores publicados y por comparación directa con los compuestos aislados en nuestros laboratorios de semillas de **Sophora microphylla** Ait. (= **S. tetraptera**, *sensu* Reiche)⁴ así como por preparación del bromhidrato y el perclorato de matrina, el picrato de *N*-metilcitisina y el picrato y el perclorato de citisina. El *N*-óxido de matrina fue identificado por comparación de sus constantes físicas y propiedades espectroscópicas con datos bibliográficos y por comparación directa con una muestra sintética que preparamos oxidando matrina con H₂O₂. El soforanol, del cual no nos fue posible obtener muestras de referencia, fue reconocido por comparación de sus constantes físicas y propiedades espectroscópicas con valores publicados^{5,6} y por el análisis de su espectro de masas, no descrito anteriormente.

Este espectro de masas se caracteriza por la presencia de un ion molecular muy estable

(870/o) y un pico $M^{+} - 1$ bastante intenso (290/o) a m/z 264 y 263, respectivamente. El pico base, a m/z 247, corresponde a la pérdida de un radical OH desde el ion molecular, como lo prueba la señal de ion metaestable a m/z 231,1. Existe también un fragmento a m/z 246 (240/o) debido a la pérdida de agua desde el ion molecular, como queda demostrado por la señal de ion metaestable a m/z 229,2. A m/z 221 aparece otra señal de mediana intensidad (260/o) que se puede representar como $M^{+} - C_3H_7$. Esta fragmentación ha sido descrita como característica del esqueleto matrinoide⁷, formulada como una escisión de los átomos de carbono 3, 4 y 5:

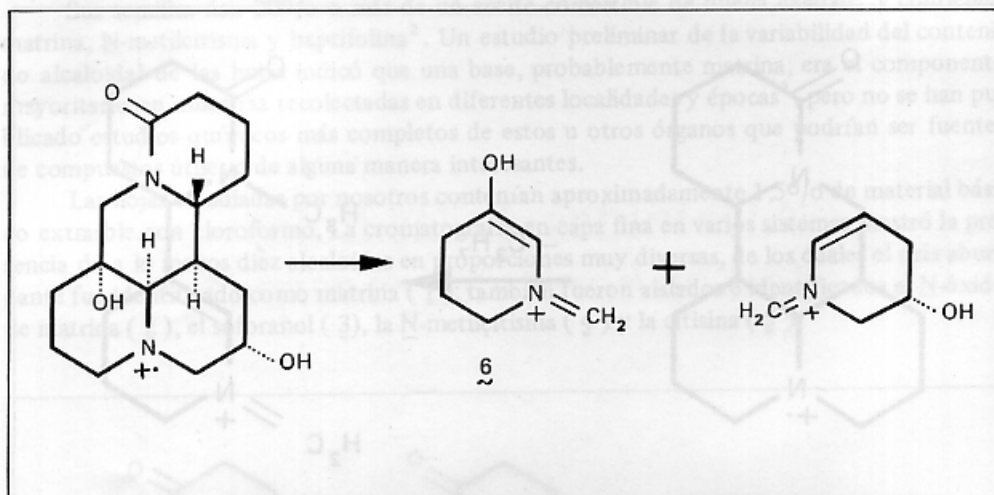


Si esta estructura fuera correcta se esperaría que el grupo OH del sofranol se perdiese junto con el C-5 para dar un ion relativamente abundante de m/z 205, igual al que se observa en el espectro de la matrina⁷. En el espectro de masas del sofranol no hay ningún fragmento importante con esta relación de masa a carga y, por lo tanto, es necesario considerar otras alternativas de pérdida de una unidad C_3H_7 . Una posibilidad, que explicaría la existencia de la señal a m/z 221 en el espectro del sofranol y que al mismo tiempo involucraría la ruptura de menos enlaces que la proposición citada⁷, sería la siguiente:



El grupo OH del sofranol se encontraría presente en los fragmentos de m/z 208 (40/o), 193 (100/o) y 166 (150/o), correspondientes a los de m/z 192, 177 y 150 característicos de los matrinoides no hidroxilados⁷.

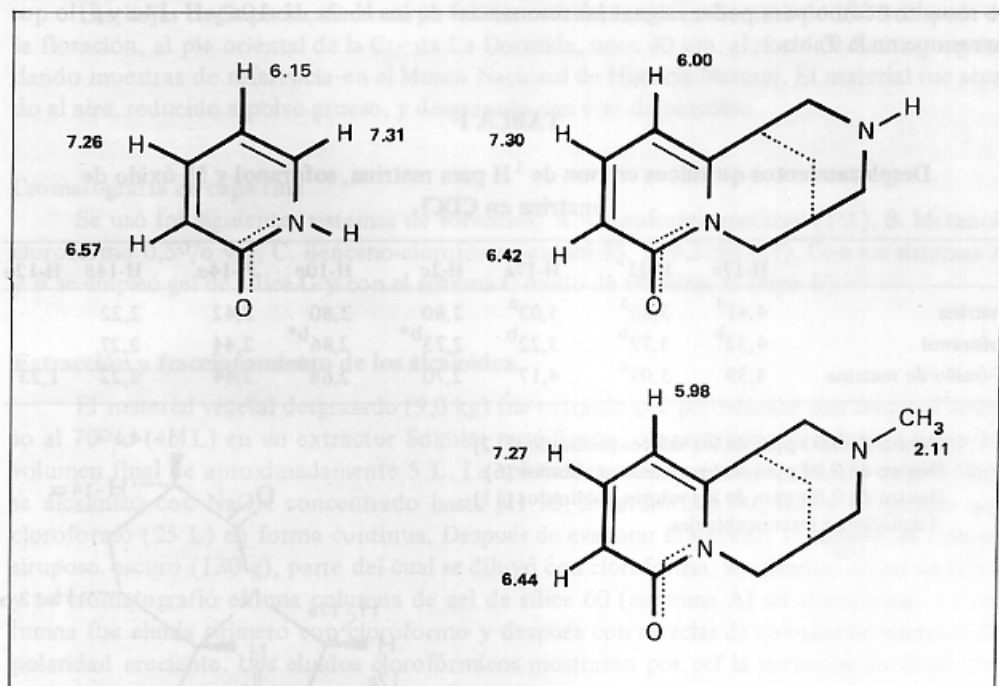
Un fragmento de m/z 112 (380/o) se forma directamente desde el ion molecular, como lo atestigua la señal de ion metaestable a m/z 47,5. Este ion, que no aparece en los espectros de masas de los matrinoides no hidroxilados, tiene probablemente la estructura 6. Un fragmento con la misma relación masa/carga se destaca por su abundancia en el espectro de la 5 α , 9 α -dihidroximatrina⁶, hecho que se puede racionalizar mediante el esquema siguiente:



A m/z 98 aparece una señal de intensidad baja (100/o), característica de los espectros de masas de alcaloides quinolidínicos⁸. En los espectros de matrinoides no hidroxilados, esta señal muestra intensidades cercanas al 300/o⁷, y en los de los derivados de la esparteína es habitualmente más intenso aún, pudiendo llegar a ser el pico base^{8,9}. En el caso del sofranol, la escasa intensidad de esta señal puede atribuirse a la competencia entre los procesos que la generan y aquellos otros que conducen al fragmento de m/z 112. En el espectro de masas de la 5 α , 9 α -dihidroximatrina⁶ el pico a m/z 98 no fue denunciado, probablemente debido a su baja intensidad que estaría de acuerdo con esta interpretación.

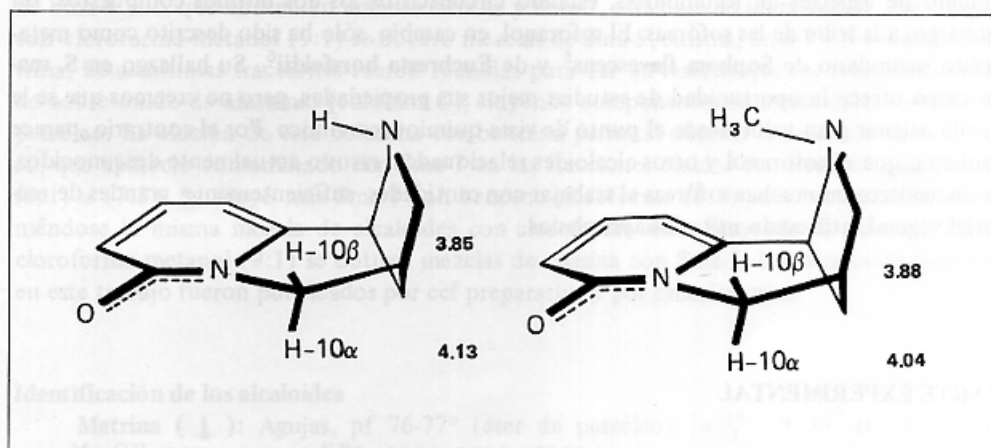
Las señales a m/z 97 (70/o) y 96 (360/o) tienen intensidades relativas normales para compuestos matrinoides⁷. En la serie esparteínica el ion de m/z 97 debería ser más abundante que el de m/z 96 en un orden de magnitud^{8,9}.

Los espectros de ^1H de alta resolución de la citisina y la N -metilcitisina mostraron resonancias de los protones del anillo piridónico que se correlacionan bien con los valores publicados para la 2-piridona no sustituida¹⁰:



El desplazamiento químico del grupo N-metilo es un tanto pequeño y hace pensar en una conformación **endo** en CDCl_3 , en la cual el grupo metilo yace sobre el anillo hetero-aromático, dentro de su región de apantallamiento.

En ambos espectros las resonancias de los protones unidos al C-10 están lo suficientemente resueltas como para poder asignarlas individualmente:



En el caso de la citosina, la resonancia del H-10 α está 0,28 ppm a campo más bajo que la del H-10 β , lo que hace pensar que su posición promedio en CDCl_3 es más cercana al plano del anillo piridónico. En el caso de la N-metilcitosina, estas dos resonancias están más cerca una de otra, lo cual indicaría que los protones del C-10 se encontrarían a distancias más semejantes del plano medio del sistema π . Estos resultados, como lo muestran los modelos Dreiding, corresponden a conformaciones levemente distintas del anillo B que hacen que el nitrógeno amínico se aproxime más al heterociclo aromático en la molécula de N-metilcitosina.

Los espectros de ^1H a 200 MHz de los tres matrinoides están lo suficientemente resueltos como para poder asignar las resonancias de los H-2e, H-10e y H-14 α y β , lo que se resume en la Tabla 1.

TABLA 1

Desplazamientos químicos en τ de ^1H para matrina, soforanol y N-óxido de matrina en CDCl_3

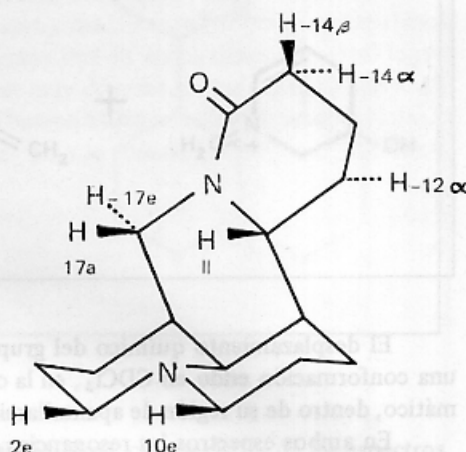
	H-17e	H-11	H-17a	H-2c	H-10e	H-14 α	H-14 β	H-12 α
matrina	4,41 ^a	3,80 ^a	3,03 ^a	2,80	2,80	2,42	2,22	
soforanol	4,32 ^b	3,79 ^b	3,22 ^b	2,73 ^{b*}	2,86 ^{b*}	2,44	2,27	
N-óxido de matrina	4,39	5,09 ^c	4,17 ^c	2,70 [‡]	2,68 [‡]	2,44	2,22	1,23

^a Dentro de 0,03 ppm de los valores publicados [12]

^b Dentro de 0,02 ppm de los valores publicados [6]

^c Dentro de 0,03 ppm de los valores publicados [11]

*, † Asignaciones intercambiables.



La N-metilcitisina, la citisina, la matrina y su N-óxido han sido encontrados en un gran número de especies de leguminosas, estando circunscritos los dos últimos compuestos, sin embargo, a la tribu de las sofóreas. El soforanol, en cambio, sólo ha sido descrito como metabolito secundario de *Sophora flavescens*⁵ y de *Euchresta horsfieldii*⁶. Su hallazgo en *S. macrocarpa* ofrece la oportunidad de estudiar mejor sus propiedades, pero no creemos que se le pueda asignar gran valor desde el punto de vista quimiotaxonómico. Por el contrario, parece probable que el soforanol y otros alcaloides relacionados, raros o actualmente desconocidos, se encuentren en muchas sofóreas al trabajar con cantidades suficientemente grandes de material vegetal, utilizando métodos apropiados.

PARTE EXPERIMENTAL

Los puntos de fusión fueron determinados sobre una platina de Kofler Reichert y no están corregidos. Los espectros de uv fueron registrados con un espectrofotómetro Zeiss DMR-21 y los de ir con un equipo Leitz III G. Los espectros de ^1H fueron determinados con instrumentos Varian HA-100 y Bruker HW-200, y los de ^{13}C con un aparato Varian CFT-20. Los espectros de masas fueron obtenidos con un instrumento Varian Mat CH-7, con ionización por impacto electrónico a 70eV. Los poderes rotatorios se midieron con polarímetros Perkin-Elmer 141 y 241.

Material vegetal

Las hojas de *Sophora macrocarpa* fueron cosechadas en noviembre de 1978 después de la floración, al pie oriental de la Cuesta La Dormida, unos 40 km. al norte de Santiago, guardando muestras de referencia en el Museo Nacional de Historia Natural. El material fue secado al aire, reducido a polvo grueso, y desgrasado con éter de petróleo.

Cromatografía en capa fina

Se usó los siguientes sistemas de solventes: A. Cloroformo-metanol (1:1), B. Metanol-cloroformo 0,50/o v/v, C. Benceno-cloroformo-etanol 95° (49,3:50:0,7). Con los sistemas A y B se empleó gel de sílice G y con el sistema C óxido de aluminio G (tipo E).

Extracción y fraccionamiento de los alcaloides

El material vegetal desgrasado (9,0 kg) fue extraído por percolación con metanol acuoso al 70°/o (45 L) en un extractor Soxhlet modificado, concentrando la solución hasta un volumen final de aproximadamente 5 L. La solución acuosa se extrajo con éter de petróleo, se alcalinizó con NaOH concentrado hasta pH 10, se saturó con Na₂SO₄ y se extrajo con cloroformo (25 L) en forma continua. Después de evaporar el solvente se obtuvo un residuo siruposo oscuro (130 g), parte del cual se diluyó con cloroformo, se adsorbió en gel de sílice y se cromatografió en una columna de gel de sílice 60 (columna A) en cloroformo. La columna fue eluida primero con cloroformo y después con mezclas de cloroformo-metanol de polaridad creciente. Los eluidos clorofórmicos mostraron por ccf la presencia de alcaloides minoritarios que no fueron estudiados. Las primeras fracciones eluidas con cloroformo-metanol (99:1) mostraron cromatogramas semejantes y fueron reunidas para dar un residuo que fue recromatografiado sobre óxido de aluminio (columna B), eluyendo sucesivamente con benceno y mezclas benceno-cloroformo de polaridad creciente. Con benceno se eluyó de la columna B primero matrina y después N-metilcitisina. De la misma columna se obtuvo soforanol en las fracciones más polares. Prosiguiendo con la elución de la columna A con cloroformo-metanol (99:1) se obtuvo mezclas de N-metilcitisina con alcaloides no identificados designados como Sma-4 y -5. Con cloroformo-metanol (95:5) fueron eluidas nuevas mezclas de Sma-4 y -5 que contenían además citisina y Sma-7, otra base no identificada. Por elución con cloroformo-metanol (9:1) se obtuvo mezclas de Sma-5, citisina, Sma-7 y N-óxido de matrina. Estas últimas fracciones fueron reunidas para dar un residuo que fue recromatografiado sobre óxido de aluminio (columna C), eluyendo componentes no alcaloidales con éter de petróleo. La elución de esta columna con benceno permitió obtener N-óxido de matrina puro, que apareció contaminado con Sma-7 en las fracciones eluidas con benceno-cloroformo (9:1) a (7:3). Se eluyó más Sma-7 con benceno-cloroformo (1:1) junto con citisina, obteniéndose la misma mezcla de alcaloides con cloroformo solo. Eluyendo la columna C con cloroformo-metanol (9:1) se obtuvo mezclas de citisina con Sma-5. Los alcaloides descritos en este trabajo fueron purificados por ccf preparativa y por cristalización.

Identificación de los alcaloides

Matrina ($\frac{1}{1}$): Agujas, pf 76-77° (éter de petróleo); $[\alpha]_D^{20} + 39^\circ$ (c 1, EtOH); uv $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Me}_2\text{OH}}$ 207 nm; ir $\bar{\nu}_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 2935, 2798 y 2758 (trans-quinolicidina), 1620 cm⁻¹ (lactáma); em m/z 248 (M⁺, 100°/o), 247 (M⁺ - 1, 82°/o), 220 (M⁺ - CO, 9°/o), 219 (15°/o), 205 (49°/o), 192 (16°/o), 177 (14°/o), 162 (16°/o), 150 (36°/o), 148 (19°/o), 137 (29°/o), 98 (30°/o), 96 (31°/o), 83 (6°/o); rnm de ¹H δ 4,41 (dd, 1H, J 13,0 Hz, 4,2 Hz, H-17e), 3,80 (m, 1H, H-11), 3,03 (t, 1H, J 12,9 Hz, H-17a), 2,80 (m, 2H, H-2e y H-10e), 2,42 (da, 1H, J 17,3 Hz, H-14 α), 2,22 (m, 1H, H-14 β); rnm de ¹³C como en la referencia (12), C-15 (C=O) a δ 169,4 ppm. Idéntica a una muestra aislada de *S. microphylla* (4) (pf, pfm, ir, Rf).

Bromhidrato: pf 275-276° (acetona-EtOH).

Perclorato: pf 216° (MeOH-C₆H₆).

N-Oxido de matrina (2): Agujas, pf (anhidro) 208-210°; $[\alpha]_D^{20} +26^\circ$ (c 1, EtOH); uv $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 207 nm; ir $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3413 (N-O-HOH), 2915, 1610 cm^{-1} (lactama); em m/z 264 ($M^+ - 20/o$), 263 ($M^+ - 1, 10/o$), 248 ($M^+ - 0, 70/o$), 247 ($M^+ - 17, 100/o$), 219 (50/o), 205 (39/o), 192 (9/o), 177 (10/o), 176 (6/o), 175 (5/o), 162 (11/o), 150 (36/o), 148 (32/o), 137 (18/o), 98 (20/o), 96 (38/o); rmn de ¹H δ 5,09 (m, 1H, H-11), 4,39 (dd, 1H, J 12,1 Hz, 5,3 Hz, H-17e), 4,17 (t, 1H, J 12,3 Hz, H-17a), 2,70 y 2,68 (m, 2H, H-2e y H-10e), 2,44 (da, 1H, J 17,1 Hz, H-14α), 2,22 (m, 1H, H-14β), 1,23 (m, 1H, H-12α). Idéntico a una muestra sintética preparada con matrina y H₂O₂ (pf, $[\alpha]_D^{20}$, ir, Rf).

Soforanol (3): Paralelepípedos rectangulares, pf 172-173° (C₆H₆-éter de petróleo); $[\alpha]_D +70^\circ$ (c 1, MeOH); uv $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 205 nm, ir $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3236 (OH), 2933, 2857, 2796 y 2747 (trans-quinolicidina), 1629 cm^{-1} (lactama); em m/z 264 (M^+ , 87/o), 263 ($M^+ - 1, 29/o$), 247 ($M^+ - \text{OH}, 100/o$), 246 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}, 24/o$), 221 (26/o), 208 (4/o), 193 (10/o), 166 (15/o), 112 (38/o), 98 (10/o), 97 (7/o), 96 (36/o); rmn de ¹H δ 4,32 (dd, 1H, J 13,4 Hz, 1,5 Hz, H-17e), 3,79 (m, 1H, H-11), 3,22 (d, 1H, J 13,4 Hz, H-17a), 2,86 (da, 1H, J 11,4 Hz, H-2e ó H-10e), 2,75 (da, 1H, J 11,4 Hz, H-10e ó H-2e), 2,44 (da, 1H, J 17,3 Hz, H-14α), 2,27 (m, 1H, H-14β); rmn de ¹³C como en la referencia (12), C-15 (C=O) a δ 171,2 ppm.

N-Metilcitisina (4): Agujas, pf 137-138° (éter de petróleo); $[\alpha]_D^{20} -200,3^\circ$ (c 1, EtOH); uv $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ (log ε) 309 (3,90), 233 (3,82), 203 nm; ir $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 2933, 2849, 2778, 1653, 1575, 1553 cm^{-1} ; em como en la referencia (13); rmn de ¹H δ 7,27 (dd, 1H, J 9,0 Hz, 7,0 Hz, H-4), 6,44 (dd, 1H, J 9,0 Hz, 1,3 Hz, H-3), 5,98 (dd, 1H, J 6,8 Hz, 1,1 Hz, H-5), ver referencia (10), 4,04 (d, 1H, J 15,2 Hz, H-10α), 3,88 (dd, 1H, J 15,6 Hz, 6,4 Hz, H-10β), 2,11 (s, 3H, N-CH₃). Idéntica a una muestra aislada de *S. microphylla*⁴ (pf, pfm, ir, Rf).

Picrato: pf 230° (MeOH).

Citisina (5): Agujas, pf 155-156° (hexano); $[\alpha]_D -122,4^\circ$ (c 1, H₂O); uv $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$ 309, 233 nm; ir $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ 3305, 3280, 2920, 2800, 2740, 1640, 1560, 1540 cm^{-1} ; em como en referencia (13), rmn de ¹H δ 7,30 (dd, 1H, J 9,0 Hz, 7,0 Hz, H-4), 6,42 (dd, 1H, J 9,0 Hz, 1,3 Hz, H-3), 6,00 (dd, 1H, J 7,0 Hz, 1,0 Hz, H-5), 4,13 (d, 1H, J 16,0 Hz, H-10α), 3,85 (dd, 1H, J 16,0 Hz, 5,0 Hz, H-10β). Idéntica a una muestra aislada de *S. microphylla*⁴ (pf, pfm, ir, Rf).

Picrato: pf 290° d (MeOH-C₆H₆-Et₂O).

Perclorato: pf 299° (MeOH-C₆H₆-Et₂O).

AGRADECIMIENTOS

Le agradecemos a la profesora L.E. Navas la identificación del material vegetal y a los Dres. J. Bartulin (rmn de ^{13}C y em), E. Breitmaier (rmn de ^{13}C), F. Horn y M. Shamma (rmn de ^1H) y J. Medina (ir) la obtención de espectros. Agradecemos también el apoyo técnico de N.E. Cruz, H. Fuentes, H. Maldonado, P.J. Manríquez, V. Soto y S. Tortello. Este trabajo fue financiado por el SDCACI (U. de Chile), DIPLAN II - DICYT (USACH) y la Organización de los Estados Americanos.

BIBLIOGRAFIA

1. DE MAYO, A. y CASSELS, B.K., *Contribuciones (UTE)*, (5), 33 (1971).
2. SILVA, M., MEDINA, M. y SAMMES, P.G., *Phytochemistry*, 7, 661 (1968).
3. RIQUELME, A., Tesis, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias, (1979).
4. URZUA, A. y CASSELS, B.K., *Phytochemistry*, 9, 2365, (1970); URZUA, A. y CASSELS, B.K., *Contribuciones (UTE)*, (4), 1, (1971).
5. BOHLMANN, F., RAHTZ, D. y ARNDT, C., *Chem. Ber.*, 91, 2189. (1958).
6. OHMIYA, S., HIGASHIYAMA, K., OTOMASU, H., MURAKOSHI, I. y HAGINIWA, J., *Phytochemistry*, 18, 645. (1979).
7. ISKANDAROV, S. y YUNUSOV, S. Yu., *Khim. Prirod. Soedin.*, 106, (1968).
8. NEUNER-JEHLE, N., SCHUMANN, D. y SPITELLER, G., *Monatsh. Chem.*, 98, 836, (1967).
9. SCHUMANN, D., NEUNER-JEHLE, N. y SPITELLER, G., *Monatsh. Chem.*, 99, 390, (1968).
10. JACKMAN, L.M. y STERNHELL, S., *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, Pergamon Press, Oxford, 2a Edición, 1969, p. 211.
11. OHMIYA, S., OTOMASU, H., HAGINIWA, J., y MURAKOSHI, I., *Phytochemistry*, 17, 2021, (1978).
12. BOHLMANN F. y ZEISBERG, R., *Chem. Ber.*, 108, 1043, (1975).
13. NEUNER-JEHLE, N., NESVADBA, H. y SPITELLER, G., *Monatsh. Chem.*, 95, 687, (1964).

RESUMEN: De madera de *Laurelia sempervirens* (R. et Pav.) Tul. fueron aislados e identificados los siguientes alcaloides: liriodenina (I), oxonantenina (II), michelobina (III), neocarpina (IV), norantennina (V), anonaina (VI) y normacifrina (VII). Evidencia de RMP indica que en la mezcla de alcaloides también se encuentra presente la 4-hidroxiannonantenina (VIII).

SUMMARY: The following alkaloids were isolated from the wood of *Laurelia sempervirens* (R. et Pav.) Tul.: liriodenine (I), oxonantenine (II), michelobine (III), neocarpine (IV), norantennine (V), anonaine (VI) and normacifrine (VII). RMP evidence shows that 4-hydroxiannonantenine (VIII) is also present in the alkaloid mixture.

* Manuscrito revisado y aprobado en forma preliminar en octubre de 1981.

** Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Santiago de Chile (Caja 306, Técnica del Estado).