



# Metabolitos aislados de *raputia heptaphylla* y *esenbeckia alata* (rutaceae) y síntesis de precursores de análogos de alcaloides quinolínicos

## Isolated Metabolites of *Raputia Heptaphylla* and *Esenbeckia Alata* (Rutaceae) and Synthesis of Quinolinic Alkaloid Analog Precursors

Carlos A. Coy Barrera<sup>1\*</sup>, Luis E. Cuca Suárez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas, Departamento de Química. Bogotá Colombia.

<sup>2</sup> Laboratorio de Investigación en Productos Naturales Vegetales, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Bogotá, Colombia.

FECHA DE ENTREGA: 9 DE JUNIO DE 2014

FECHA DE EVALUACIÓN: 17 DE SEPTIEMBRE DE 2014

FECHA DE APROBACIÓN: 23 DE SEPTIEMBRE DE 2014

**Resumen** Estudios anteriores sobre la *esenbeckia alata* y la *raputia heptaphylla*, ambas especies pertenecientes a la familia de las rutáceas, han mostrado resultados importantes sobre su composición química. Estas especies tienen metabolitos secundarios (principalmente cumarinas y alcaloides) que actúan como marcadores quimiotaxonómicos. Este artículo presenta, por primera vez, el trabajo fitoquímico y los metabolitos aislados de estas especies: cuatro cumarinas: bergapteno, xantiletina, xantotoxina, 3-isoprenilo-4-metoxilo-cumarina; cuatro alcaloides: skimmianina, kokusaginina, dictamnina y 1-metil-2-metoxi-4-quinolona; dos lignanos: sesamin y ácido mesodihidroguaiarético; dos esteroides:  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol y un triterpeno pentacíclico: lupeol, los cuales se aislaron de las hojas de *E. alata*. Cinco alcaloides 7-metoxi-2,2-dimetil-2,6-dihidro-piran[3,2,c]quinolona-5-uno, flindersiamina, skimmianina, kokusaginina y dictamnina, que se aislaron de las hojas de *R. heptaphylla*. Además, el artículo presenta también un nuevo método mediante la obtención de precursores análogos de alcaloides quinolínicos por medio de condensaciones de Manich aducto vinílico y aldehídos seguidos por una ciclación radical para obtener productos con alta regio- y estereoselectividad.

**Abstract** Previous studies on the *Esenbeckia alata* and *Raputia heptaphylla*, both species belonging to the Rutaceae family, have shown important results with respect to their chemistry. These species have secondary metabolites (coumarins and alkaloids mainly), which act as

\* carlos.coy@unimilitar.edu.co

chemotaxonomic markers. This paper presents, for the first time, the phytochemical work and isolated metabolites in these species: four coumarins: bergapten, xanthyletin, xanthotoxin, 3-isoprenyl-4-methoxy-coumarin; four alkaloids: skinmianine, kokusaginine, dictamnine, and 1-methyl-2-methoxy-4-quinolone; two lignans: sesamin and mesodihydroguaiaretic acid; two sterols:  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol; and a pentacyclic triterpene: lupeol that have been isolated from leaves of *E. alata*. Five alkaloids 7-methoxy-2,2-dimethyl-2,6-dihidro-piran[3,2,c] quinolin-5-one, flindersiamine, skinmianine, kokusaginine and dictamnine that have been isolated from leaves of *R. heptaphylla*. Moreover, it presents a new method by obtaining quinolone alkaloid analogue precursors through the condensations of Mannich adduct vinylogous and aldehydes followed by radical cyclization to obtain products with high regio- and stereoselectivity.

**Palabras Clave:** *Raputia*, rutácea, *esenbeckia*, alcaloides quinolónicos

**Keywords:** *Raputia*, Rutaceae, *Esenbeckia*, quinolinic alkaloids

## 1. Introducción

La familia Rutaceae está constituida por cerca de 150 géneros y 1600 especies, muchas de las cuales han sido reportadas por su amplio uso en medicina folklórica como analgésico, antipirético, ansiolítico y antiinflamatorio, entre otras aplicaciones y para el tratamiento de algunas enfermedades y afecciones tales como malaria, reumatismo, úlceras digestivas, gastritis, resfriado, fiebre y diarrea [1].

En Colombia la especie *Esenbeckia alata* se encuentra en los departamentos del Valle y Sucre, *Esenbeckia amazonia* koastra en Boyacá, *Esenbeckia panamensis* en el Chocó, *Esenbeckia litoralis* en Bolívar y *Esenbeckia pentaphylla* en el Magdalena. En el país el uso que se le da principalmente es como fuente maderable. En América especies como *Esenbeckia yachhoob* y *Esenbeckia leiocarpa* tienen una etnobotánica interesante y son usadas para curar dolencias estomacales, diarreas y disentería [2]. Del género *Esenbeckia* se han aislado algunos alcaloides, cumarinas y quinolonas característicos de este género [2].

El género *Raputia* no ha sido muy estudiado, pues existen reportes de investigaciones hechas en Indonesia y Brasil donde se han aislado flavonoides glicosidados [3] y alcaloides indólicos [4] respectivamente. Muchas especies de esta familia, se han estudiado con el fin de confirmar la actividad biológica que sustenta su uso en la medicina tradicional, y así determinar el tipo de metabolito que presenta la acción farmacológica observada, y establecer cómo actúa el producto activo dentro del organismo.

Las investigaciones sobre la actividad biológica *in vitro*, se han centrado principalmente en los alcaloides y las cumarinas, debido a su gran importancia en el campo farmacológico [5].

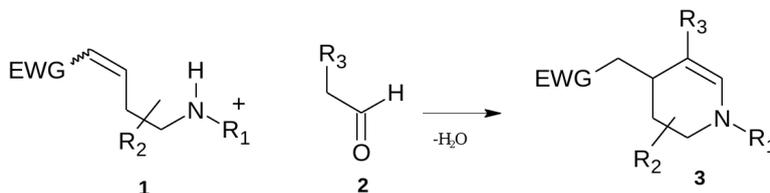
Estos metabolitos secundarios presentan un amplio rango de actividades biológicas como son, antitumoral [6], astringente [6], analgésica [7], de antiagregación plaquetaria [8], antimicrobiana [9], leishmanicida [10], citotóxica [11], anticoagulante [12] y antimalárica [13].

Los alcaloides furoquinolónicos comunes en el género *Esenbeckia*, han sido estudiados en otras especies durante los últimos años, arrojando resultados interesantes; un ejemplo es el estudio realizado al extracto de la corteza de *Melicope semicarpifolia* (Rutaceae), el cual posee actividad de antiagregación plaquetaria debido a la cantidad de alcaloides

furoquinolínicos que posee (kokusaginina, skinmianina, evolitrina, haplopina). En el año 2006 se pudo observar la marcada actividad antifúngica de alcaloides como kokusaginina, maculina, dictamina contra *Leucoagaricus gonylophorus* [14].

La haplopina, skinmianina,  $\gamma$ -fagarina y otros alcaloides furoquinolínicos que están en el género *Haplophyllum* y *Esenbeckia*, se caracterizan por poseer actividad estrogénica, comparada con derivados de dihidrofuroquinolinas y alcaloides quinolónicos [14].

La síntesis orgánica en la actualidad juega también un papel importante en la producción de nuevos compuestos que puedan presentar aplicaciones terapéuticas basadas en su gran mayoría en los metabolitos provenientes de fuentes vegetales, principalmente con núcleos nitrogenados. Por consiguiente, además del trabajo fitoquímico, se presenta la síntesis de los precursores y análogos de alcaloides quinolónicos, por medio de la condensación de aductos de Mannich vinílicos **1** y aldehídos **2** para formar enaminas cíclicas **3**. (Figura 1). Esta reacción ha sido útil en la preparación de piperidinas polisustituidas vía reacciones de hidrogenación, adición nucleofílica y acoplamiento de tipo reductivo [15].



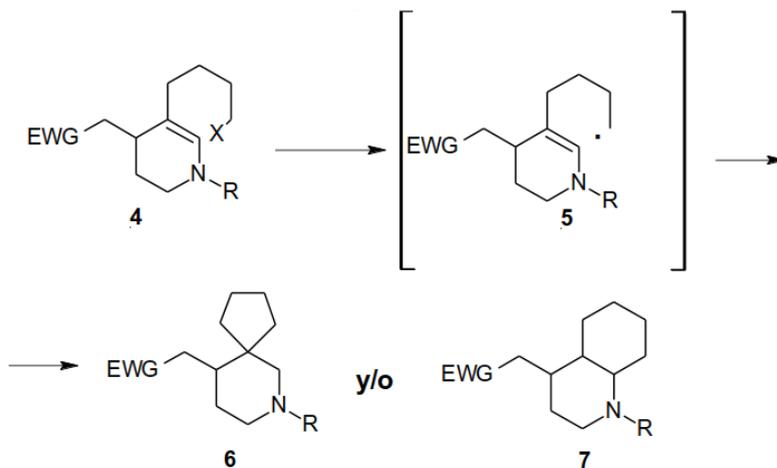
**Figura 1.** Formación de tetrahidropiridinas a partir de aminas y aldehídos.

Estas enaminas sustituidas **4**, comúnmente llamadas tetrahidropiridinas, pueden ser, en principio, precursores en la formación de sistemas policíclicos **6** y **7**, vía ciclación radicalaria [16] a través del intermediario **5**. Los compuestos cíclicos **6** y **7** (Figura 2), resultan interesantes porque este tipo de esqueletos presentan un gran número de compuestos biológicamente activos [17]. La ciclación radicalaria intramolecular en enaminas con sustituyentes de tipo alquilo y enamidas es bien conocida [18], sin embargo para el caso de enaminas cíclicas como **4** solo existen reportes empleando sulfonilaminas [19] y derivados benzocarbazólicos e indólicos [20] [21] que se han caracterizado por ser poco regioselectivos y además, en cada caso se obtienen mezclas de los productos de ciclación 5-exo-trig y 6-exo-trig, formando anillos de cinco y seis miembros, respectivamente. Por lo tanto, vale la pena mencionar que este trabajo es el primer ejemplo de ciclaciones radicalarias para la formación de compuestos de tipo **6** que no envuelven derivados indólicos.

## 2. Parte experimental

### 2.1. Material vegetal

La muestra de *E. alata* (hojas, corteza y madera), fue recolectada en Colosó, Sucre por el biólogo Olimpo García y el doctor Luis Enrique Cuca Suárez profesor titular



**Figura 2.** Síntesis de **6** y **7**.

de la Universidad Nacional. Un ejemplar reposa en el Herbario Nacional de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia bajo el COL. 481090. La muestra de *R. heptaphylla* hojas, corteza y madera fue recolectada en Albán, municipio de Cundinamarca, por el biólogo Zaleth Cordero, el doctor Luis Enrique Cuca Suárez profesor titular de la Universidad Nacional, Carlos Andrés Coy Barrera y Oscar Javier Patiño, estudiantes de Doctorado en Ciencias - Química. Un ejemplar reposa en el Herbario Nacional de Colombia, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia bajo el COL. 511102.

## 2.2. Aislamiento, purificación de metabolitos aislados de las especies *E. alata* y *R. heptaphylla*

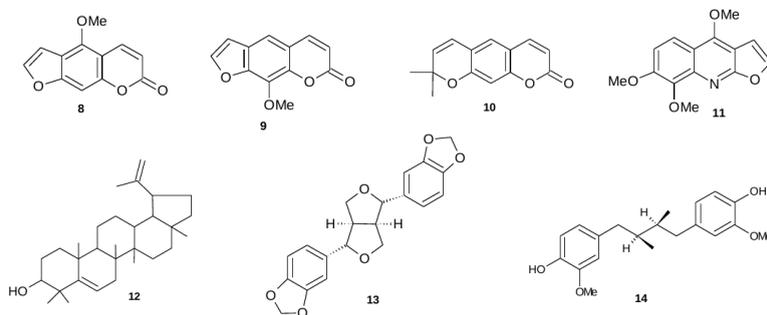
El material vegetal de hojas de *E. alata* (750 g), fue sometido a extracción por percolación con EtOH al 96 %. A este extracto se le realizó partición por Soxhlet con EdP (22 g), CHCl<sub>3</sub> (42 g) y AcOEt (35 g). El extracto de EdP fue fraccionado por CC usando como mezclas de elución Tol: AcOEt en polaridad creciente (9:1-1:1). Las fracciones obtenidas fueron purificadas usando CC repetitiva, y CCDP utilizando como eluyentes mezclas de CHCl<sub>3</sub>: MeOH y n-hexano: AcOEt con gradiente de elución. De este extracto se obtuvieron bergapteno **8** (17 mg), xantotoxina **9** (20 mg), xantiletina **10** (15 mg), skimmianina **11** (16 mg), lupeol **12** (1 4mg), sesamina **13** (14 mg). El extracto de AcOEt fue fraccionado por CC utilizando Tolueno: AcOEt como mezcla de elución. La purificación de las sustancias fue realizada por CC repetitiva y CCDP, eluyendo con CHCl<sub>3</sub>: MeOH y n-hexano: AcOEt en polaridad creciente (9:1-1:1), obteniéndose, kokusaginina **15** (10 mg), dictamnina **16** (19 mg), 1-metil-2-metoxi-4-quinolona **17** (8mg), 3-isoprenil-4-metoxi-cumarina **18** (11 mg). El material vegetal de hojas de *R. heptaphylla*, seco y molido (1700 g), fue sometido a percolación con etanol al 96 %, y se obtuvieron 80 g de extracto; 1 g se tomó para el análisis fitoquímico preliminar y el resto para el fraccionamiento y purificación. Según pruebas de coloración (Draggendorf),

se determinó la presencia de alcaloides en la muestra; por ello se realizó una extracción típica ácido-base para este tipo de sustancias a 40 g del extracto etanólico original, de lo cual se obtuvo 1.7 g de extracto clorofórmico de alcaloide que fue fraccionado por CC utilizando mezclas de elución  $\text{CHCl}_3$ : ACN y  $\text{CHCl}_3$ : AcOEt en polaridad creciente. Los metabolitos aislados se purificaron por CC repetitiva y CCDP, para obtener los compuestos skinmianina **11** (25 mg), kokusaginina **15** (44 mg), **16** dictamnina (29 mg), el alcaloide piranoquinolínico 7-metoxi-2,2-dimetil-2,6-dihidro-pirano[3,2,c] quinolin-5-ona **19** (6,5 mg) y flindersiamina (14,5 mg) **20**.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Aislamiento, purificación y elucidación estructural de metabolitos aislados de las especies *E. alata* y *R. heptaphylla*

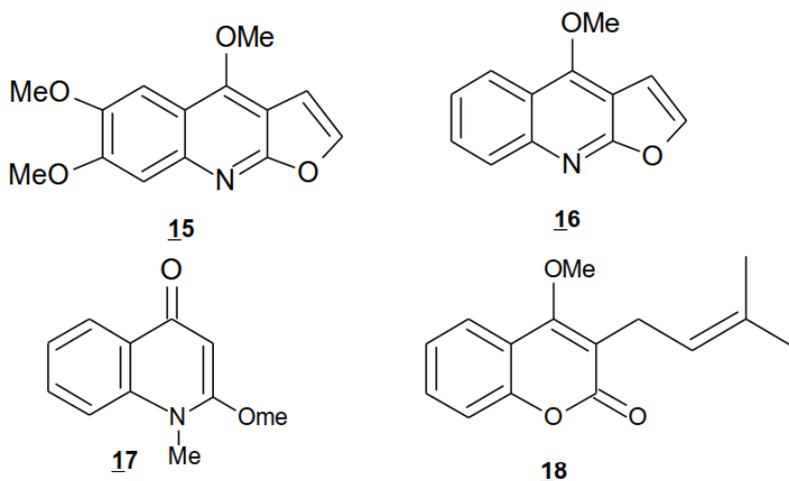
Del extracto de EdP de hojas de *E. alata* se obtuvieron dos furocumarinas bergapteno [22] **8**, xantotoxina [22] **9**, una piranocumarina, xantiletina [22] **10** un alcaloide furoquinolínico skinmianina [22] **11**, un triterpeno, lupeol [22] **12**, y dos lignanos (–)-sesamina [22] **13** y ácido meso-dihidroguaiarético [23] **14**.



**Figura 3.** Metabolitos aislados del extracto EdP hojas de *E. alata*.

Del extracto de AcOEt de hojas de *E. alata* se aislaron dos alcaloides furoquinolínicos, kokusaginina [24] **15** y dictamnina [24] **16**, un alcaloide quinolínico, 1-metil-2-metoxi-4-quinolona **17**, una cumarina prenilada, 3-isoprenil-4-metoxi-cumarina [22] **18**. Además  $\beta$ -sitosterol [25] y estigmasterol [25].

Al extracto etanólico de hojas de la especie *R. heptaphylla*, obtenido por percolación, se le realizó extracción de alcaloides utilizando el método ácido-base [26], ya que según el análisis fitoquímico preliminar [27] se encontró gran porcentaje de este tipo de metabolitos. De dicha extracción se obtuvieron 1,7 g de extracto clorofórmico de alcaloides, el cual fue fraccionado por CC utilizando como mezclas de elución  $\text{CHCl}_3$ : ACN y  $\text{CHCl}_3$ : AcOEt en polaridad creciente, los metabolitos aislados se purificaron por CC repetitiva, y CCDP, para obtener los compuestos **11**, **15**, **16** que ya habían sido aislados de la especie *E. alata*. El alcaloide piranoquinolínico 7-metoxi-2,2-dimetil-2,6-dihidro-pirano[3,2,c] quinolin-5-ona **19**, aislado anteriormente de especies de la familia



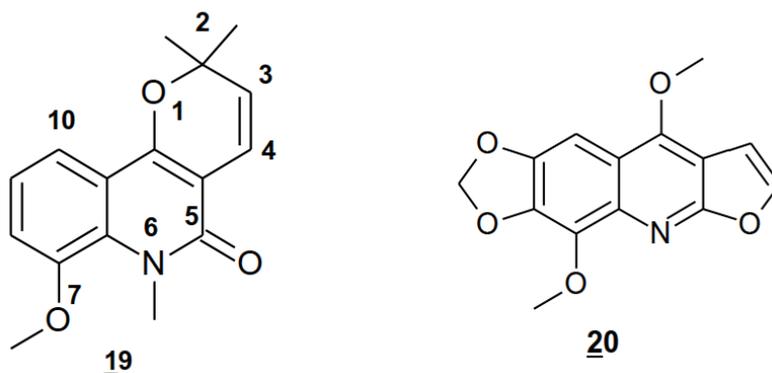
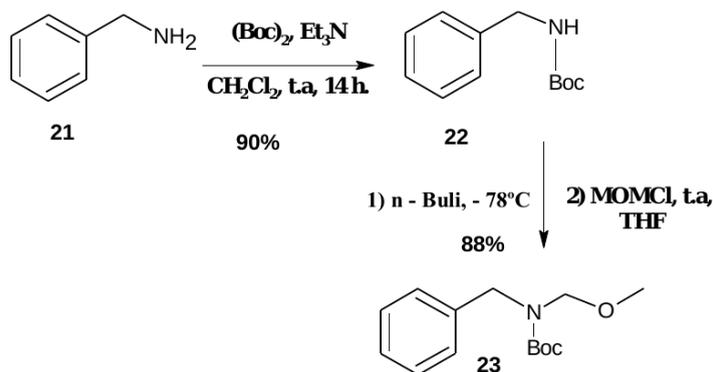
**Figura 4.** Metabolitos aislados del extracto AcOEt hojas de *E. alata*.

*Rutaceae*, específicamente del género *Haplophyllum* [28], y la flindersiamina **20**, aislada anteriormente de *Raullinoea echinata* [29] (*Rutaceae*), sin embargo resultan interesantes porque no existen reportes de este tipo de alcaloides en el género *Raputia*.

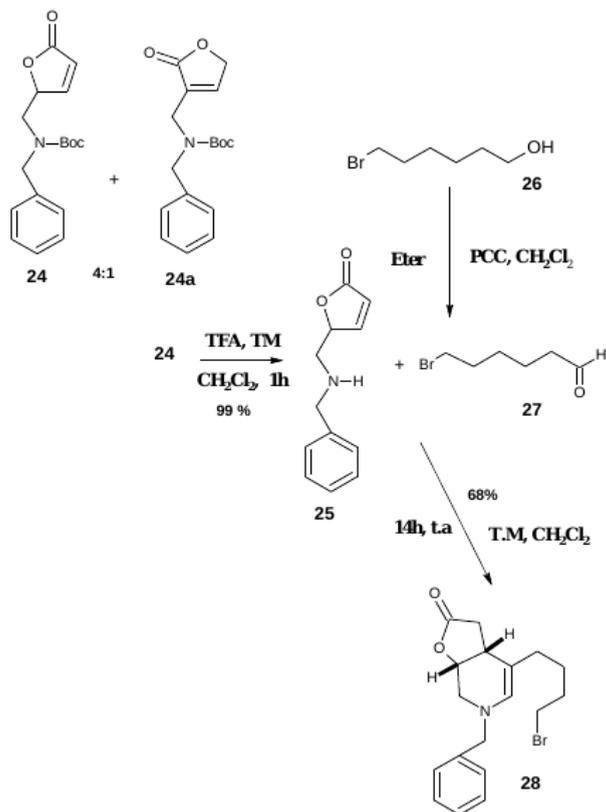
El compuesto **19** es un aceite amarillo, el espectro IR (NaCl), muestra en  $2980\text{ cm}^{-1}$  estiramiento C–H alifático, en  $1720\text{ cm}^{-1}$  estiramiento C=O de carbonilo característico de lactona, confirmado por el estiramiento C–O de lactona en  $1160\text{ cm}^{-1}$ , el espectro de RMN  $^{-1}\text{H}$  muestra señales aromáticas en  $\delta$  7.60 (dd,  $J = 7.9, 1.47\text{ Hz}$ , 1H), 7.13 (dd,  $J = 7.9\text{ Hz}$ , 1H), 7.05 (dd,  $J = 7.9, 1.4\text{ Hz}$ , 1H), que corresponde a un sistema de tres protones aromáticos ABC, en un anillo trisustituido, 6.75 (dd,  $J = 9.8\text{ Hz}$ , 1H), 5.52 (dd,  $J = 9.8\text{ Hz}$ , 1H), protones vinílicos, 3.92 (s, 3H, O–Me), 3.88 (s, 3H, N–Me), 1.50 (s, 6H), metilos geminales. La comparación entre el espectro RMN  $^{-13}\text{C}$  y DEPT 135, permite establecer la presencia de 7 carbonos cuaternarios en  $\delta$  78.7 (C unido a oxígeno), 106.0 (C), 118.3 (C), 131.1 (C), 148.6 (C), 154.9 (C), 162.1 (C=O), 5 metinos en  $\delta$  114.3 (CH), 115.6 (CH), 118.0 (CH), 122.2 (CH), 126.6 (CH) 2 metilos equivalentes en  $\delta$  28.2 ( $2\text{CH}_3$ ), y en  $\delta$  35.1 ( $\text{CH}_3\text{-N}$ ), 56.7 ( $\text{CH}_3\text{-O}$ ). La estructura de la molécula fue determinada de acuerdo a los datos espectroscópicos y confirmados por espectros bidimensionales HMQC y HMBC. También se determinó por el método de la comparación con los datos reportados en la literatura [28], y finalmente se aplicó el mismo método con los demás compuestos puros aislados de *E. alata* y *R. heptaphylla*.

### 3.2. Síntesis de precursores y análogos quinolínicos

Se llevó a cabo inicialmente la protección del grupo amino de la bencilamina **21** con incorporación de un grupo *tert*-butoxicarbonilo, obteniéndose el correspondiente derivado Boc protegido **22** con un 90% de rendimiento. A continuación, se efectuó la alquilación del *N* amídico por desprotonación con *n*-BuLi, a baja temperatura y posterior adición de clorometil metil eter; así se obtuvo el correspondiente *N*-metoximetilderivado **23** con un rendimiento del 88%. (Figura 6).

Figura 5. Metabolitos aislados de *R. heptaphylla*Figura 6. Síntesis de *N*-Metoximetil-derivado **23**.

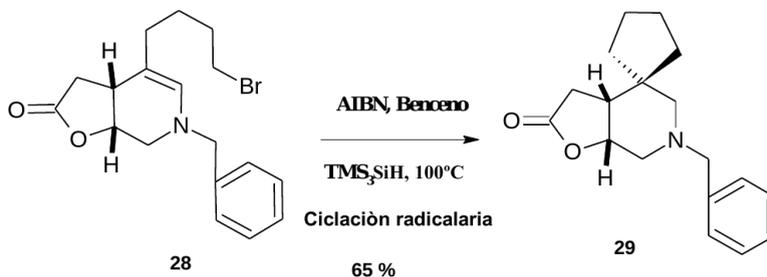
El *N*-metoximetilcarbamato **23** se usó como sustrato para una reacción de Mannich vinílica a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ , con 2-silioxifurano, usando TMSOTf como agente activante en las condiciones descritas por Aurrecoechea et al. [15]. De este modo, se obtuvo una mezcla de la amina **24** junto con su regioisómero **24a** con un 95% de rendimiento global y una relación 4:1. Para completar la síntesis de la amina **25**, el carbamato **24** [15] que se purificó mediante sucesivas precipitaciones con hexano: Eter etílico 4:1 a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se sometió a hidrólisis ácida con ácido trifluoroacético (TFA), dando lugar a la amina deseada. Esta amina se hizo reaccionar con el aldehído **27** formado a partir de la oxidación de 6-bromohexanol **26**, con PCC en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , y a  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , siguiendo el procedimiento descrito por Hon et al. [30]. La reacción equimolar entre la amina **25** y el aldehído **27** en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y en presencia de tamiz molecular de  $4\text{ \AA}$ , induce a la formación de la tetrahidropiridina **28**. (Figura 7).



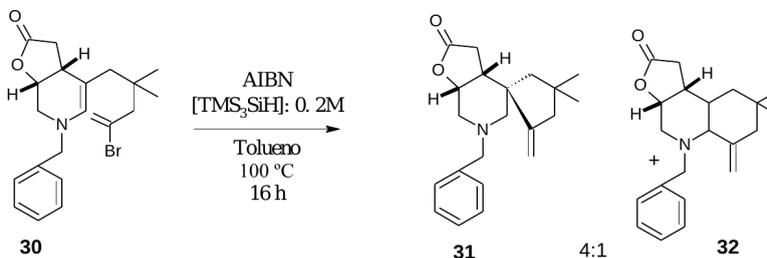
**Figura 7.** Síntesis de (1R\*, 5R\*)-8-Bencil-6-(4-bromobutil)-2-oxa-8-azabicyclo [3.4.0]-non-6-en-3-ona, Tetrahidropiridina **28**.

A partir de la tetrahidropiridina **28** se hizo la ciclación radicalaria. Esta reacción se realizó utilizando AIBN como iniciador en la formación de radicales libres, a una temperatura de 100 °C benceno y  $\text{TMS}_3\text{SiH}$ , teniendo en cuenta las condiciones descritas en la bibliografía para otro tipo de sustratos [31], en donde se observó que la formación del producto espiránico **29**, es de 45 % (Figura 8).

A partir de la amina **25** y del 6-bromo-4,4'-dimetilhept-6-enal [32], se obtuvo la tetrahidropiridina **30** con un porcentaje de rendimiento del 69 %, la posterior ciclación radicalaria bajo las mismas condiciones anteriores produjo la formación de dos isómeros **31** y **32** en relación 4:1, mediante CC flash, se logró purificar el compuesto **31**, que sirvió para la determinación de la proporción de la mezcla y posterior elucidación del compuesto **32** [33] (Figura 9). La estereoquímica del compuesto **31** se estableció a partir del análisis de los experimentos NOE.



**Figura 8.** (1R\*, 5R\*)-8-bencil-2-oxa-8-azabicyclo-[3.4.0]-non-6-en-3-ona-6-espirociclo-pentano **29**.



**Figura 9.** (1R\*, 5R\*, 6S\*)-8-bencil-2-oxa-8-azabicyclo[3.4.0]nonan-3-ona-6-espiro,4'-(1',1'-dimetil-3'-metilenciclopentano)] **31** y (3aR\*, 9aR\*)-5-bencil-8,8-dimetil-6-metiléndecahidrofuro [2,3-c]quinolin-2-ona **32**.

### 3.3. Síntesis de (1R\*,5R\*)-8-Bencil-6-(4'-bromobutil)-2-oxa-8-azabicyclo [3.4.0]-non-6-en-3-ona **28**

Sobre una disolución de la amina **25** (340 mg, 1,67 mmol) y el aldehído **27** (299 mg, 1,66 mmol) en diclorometano (21 mL), se adicionó tamiz molecular de 4 Å (3,44 g) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas. Se filtró el residuo sólido sobre Celita y se lavó con diclorometano (3 × 15 mL). El aceite de color marrón oscuro resultante de la evaporación de los disolventes se purificó por cromatografía flash (gel de sílice, saturada con Et<sub>3</sub>N, hexano:AcOEt:Et<sub>3</sub>N = 85:13:2, obteniéndose **28** (413 mg, 68%) como un aceite amarillo claro, que se descompone con rapidez a temperatura ambiente: RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.42-2.01 (m, 6H), 2.36 (dd, *J* = 17.4, 5.9 Hz, 1H), 2.75 (dd, *J* = 17.4, 8.6 Hz, 1H), 2.91-3.01 (m, 3H), 3.42 (td, *J* = 6.7, 0.9 Hz, 2H), 3.98 y 4.03 (c AB, *J* = 14,7 Hz, 2H, Ph-CH<sub>2</sub>), 4.75 (ddd, *J* = 6.9, 5.4, 4.5 Hz 1H, H-1), 5.95 (s, 1H, H-7), 7.24-7.37 (m, 5H, Ar); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 26.6 (CH<sub>2</sub>), 31.6 (CH<sub>2</sub>), 32.1 (CH<sub>2</sub>), 33.7 (CH<sub>2</sub>), 34.3 (CH, C5), 34.8 (CH<sub>2</sub>), 47.9 (CH<sub>2</sub>), 59.2 (CH<sub>2</sub>) 77.5 (CH, C1), 107.0 (C, C6), 127.5 (CH), 128.1 (CH), 128.1 (CH), 128.6 (CH), 133.4 (CH), 137.4 (C), 176.5 (C=O); IR (Neto) 2932 (m, =CH) 1772 (f, C=O), 1660 (m, C=C), 1161 (m, C-O) cm<sup>-1</sup>; EM (IE) m/z (%) (365) (4), (364) (1), (242) (95), (238) (13), (91) (base), EMAR calculado para C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>2</sub>Br<sup>79</sup>N

363.0830, encontrado 363.0834. Calculado para  $C_{18}H_{22}O_2Br^{81}N$ : 365.0804, encontrado: 365.0813.

### 3.4. Síntesis de (1R\*,5R\*)-8-bencil-2-oxa-8-azabicyclo[3.4.0]non-6-en-3-ona-6-espirociclopentano 29

Se calentó una disolución de **28** (349 mg, 0.964 mmol), AIBN (158 mg, 0.2892 mmol) y  $TMS_3SiH$  (548 mg, 1.928 mmol) en tolueno (9.64 mL) a  $100^\circ C$  (temperatura del baño de aceite) durante 16 horas bajo Argón, tras enfriar, la mezcla se diluyó con AcOEt (15 mL) seguido por la adición de HCl 1M (20 mL). Se separó la fase orgánica de la fase acuosa y ésta se extrajo con HCl (3 x 20 mL), los extractos ácidos se basificaron con  $NaHCO_3$  (2 M) hasta pH 8 (aproximadamente 120 mL), se extrajeron con  $CH_2Cl_2$  (3 x 25 mL) y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y se secaron con  $Na_2SO_4$  anhidro. Tras la evaporación, el residuo (aceite marrón oscuro, 277,7 mg) se purificó por CC flash (gel de sílice saturada con  $Et_3N$ , Hex:AcOEt:Et<sub>3</sub>N, 90:7:3), obteniéndose **29** como un sólido blanco (179 mg, 65%): p.f:  $76-78^\circ C$ ; RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1.28-1.57 (m, 7H), 1.78-1.86 (m, 1H), 2.05 (dt,  $J = 11.5, 8.9$  Hz, 1H), 2.21-2.50 (m, 4H), 3.01 (ddd,  $J = 11.3, 5.7, 1.5$  Hz, 1H), 3.43 y 3.51 (c AB,  $J = 13.3$  Hz, 2H, Ph- $CH_2$ ), 4.60 (dt,  $J = 9.3, 6.3$  Hz, 1H), 7.19-7.30 (m, 5H, Ar); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  23.9 ( $CH_2$ ), 24.2 ( $CH_2$ ), 29.8 ( $CH_2$ ), 35.4 ( $CH_2$ ), 37.9 ( $CH_2$ ), 43.7 (CH), 44.2 (C), 54.8 ( $CH_2$ ), 57.8 ( $CH_2$ ), 62.5 ( $CH_2$ ), 76.4 (CH), 127.2 (CH), 128.3 (CH), 128.7 (CH), 138.0 (C), 176.7 (C=O); IR (Neto) 1772 (f, C=O), 1155 (m, C-O)  $cm^{-1}$ ; EM (IE) m/z (%) (285) (17), (194) (39) (69) (base). EMAR: calculado para  $C_{18}H_{23}NO_2$  285.1729, encontrado: 285.1721.

### 3.5. Síntesis de (1R\*,5R\*)-8-Bencil-6-(2,2-dimetil-4-bromopent-4-enil)-2-oxa-8-azabicyclo [3.4.0] non-6-en-3-ona 30

Sobre una disolución de la amina **24** (190 mg, 0.94 mmol) y el aldehído 6-bromo-4,4'-dimetilhept-6-enal [32] (205 mg, 0.94 mmol) en diclorometano (13 mL), se adicionó tamiz molecular pulverizado de 4 Å (2,00 g) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. Se filtró el residuo sólido sobre Celita y se lavó con diclorometano (3 x 15 mL). El aceite resultante de la evaporación de los disolventes se purificó por cromatografía flash (gel de sílice saturada con  $Et_3N$ , hexano:AcOEt:Et<sub>3</sub>N = 90:7:3, obteniéndose **30** como un sólido blanco (185 mg, 49%): p.f =  $46 - 48^\circ C$ ; RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  0.98 y 0.99 (2s, 6H), 1.91 y 1.86 (c AB,  $J = 14,7$  Hz, 2H), 2.36-2.48 (m, 3H), 2.76 (dd,  $J = 17.1, 8.4$  Hz, 1H), 2.88 (dd,  $J = 12.3, 2.5$  Hz, 1H), 3.07 (dd,  $J = 12.2, 5.1$  Hz, solapado con señales de otro H, total 2H), 4.01 y 4.08 (c AB,  $J = 14,7$  Hz, 2H, Ph- $CH_2$ ), 4.73-4.77 (m, 1H, H-1), 5.51 (s, 1H), 5.56 (d,  $J = 1.1$  Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 7.25-7.37 (m, 5H, Ar); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  26.9 ( $CH_3$ ), 27.5 ( $CH_3$ ), 35.1 ( $CH_2$ ), 35.9 (C) 36.2 (CH), 44.9 ( $CH_2$ ), 47.6 ( $CH_2$ ), 53.3 ( $CH_2$ ), 59.2 ( $CH_2$ ) 77.9 (CH), 103.7 (C), 120.5 ( $CH_2$ ), 127.5 (CH), 128.0 (CH), 128.6 (CH), 130.3 (C), 136.8 (CH), 137.4 (C), 176.7 (C=O). IR (Neat) 1772 (s, C=O), 1649 (m, C=C)  $cm^{-1}$ ; EM (IE) m/z, 405 (M, 0.44), 403 (M, 0.38), 324 (9), 242 (99), 91 (base). EMAR: calculado para  $C_{21}H_{26}^{79}BrNO_2$  403.1147, encontrado: 403.1141, calculado para  $C_{21}H_{26}^{81}BrNO_2$  405.1126, encontrado: 405.1136.

**3.6. Síntesis (1R\*, 5R\*, 6S\*)-8-bencil-2-oxa-8-azabicyclo[3.4.0]nonan-3-ona-6-espiro ,4'-(1',1'-dimetil-3'-metilenciclopentano)] 31 y (3aR\*, 9aR\*)-5-bencil-8,8-dimetil-6-metilendecahidrofuro [2,3-c]quinolin-2-ona 32**

El compuesto **30** (159 mg, 0,394 mmol) fue mezclado con AIBN (194 mg, 0,118 mmol) y TMS<sub>3</sub>SiH (196 mg, 0,690 mmol), bajo atmósfera de Argón y repetidas purgas vacío-argón, se adicionó tolueno (3,94 mL) y la solución resultante fue introducida en un baño de aceite con agitación constante a 100°C por 16 horas, se elaboró la reacción al solubilizar el crudo en AcOEt (10 mL) seguido por la adición de HCl 1M (10 mL), se separó la fase orgánica ácida de la fase acuosa y a esta última se le realizaron extracciones con HCl 1M (3 x 10 mL). Luego se reunieron las fases ácidas y se neutralizaron con NaHCO<sub>3</sub> (80 mL) hasta pH 8, se hizo extracción con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 15 mL), lavado con salmuera y adición de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, el residuo obtenido fue filtrado y concentrado en el rotavapor para dar un aceite marrón oscuro (120 mg). La purificación se hizo por CC flash (gel de sílice, saturada con Et<sub>3</sub>N, Hex: AcOEt: Et<sub>3</sub>N, 80:17:3) y se obtuvo la mezcla de diastereoisómeros 4:1, **31** y **32**, siendo el compuesto **31** el isómero mayoritario, el cual fue purificado por CC flash (gel de sílice, saturada con Et<sub>3</sub>N, Hexano: AcOEt: Et<sub>3</sub>N, 90:7:3) y del cual se obtuvo (51.3 mg, 40.1 %) como un aceite incoloro.

**Datos del isómero mayoritario 31:** RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.86 (s, 3H), 1.00 (s, 3H), 1.46 y 1.52 (c AB, *J* = 13.8 Hz, 2H), 2.10-2.45 (m, 7H), 2.65 (td, *J* = 8.6, 5, 7.0 Hz, 1H), 2.91 (dd, *J* = 12.0, 5.7 Hz, 1H), 3.42 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 3.59 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 4.70 (td, *J* = 7,6, 6.2 Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 7.23-7.34 (m, 5H, Ar); RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 29.3 (CH<sub>3</sub>), 29.9 (CH<sub>3</sub>), 31.4 (CH<sub>2</sub>), 36.2 (C), 42.9 (CH), 46.7 (C), 49.8 (CH<sub>2</sub>), 50.1 (CH<sub>2</sub>), 53.9 (CH<sub>2</sub>), 60.3 (CH<sub>2</sub>), 62.4 (CH<sub>2</sub>), 76.7 (CH), 107.8 (=CH<sub>2</sub>), 127.3 (CH), 128.3 (CH), 128.9 (CH), 137.7 (C), 157.9, 176.3 (C=O). IR (Neto) 1778 (s, C=O), 1649 (m, C=C), 1167 (m, C-O) cm<sup>-1</sup>; EM (IE) m/z (%) 325 (M, 8), 241 (25), 134 (31), 91 (base); EMAR calculado para: C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>2</sub>; 325.2042, observado: 325.2044.

De la mezcla de **31/32**, se logró determinar los **datos del isómero minoritario (32):** RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>), δ 0.88 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.73-1.84 (m, 2H), 2.04-2.48 (m, 6H), 2.58-2.69 (m, 1H), 2.75 (d, *J* = 13.7 Hz, 1H), 3.08 (dd, *J* = 11.7, 6.4 Hz, 1H), 3.95 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 4.57-4.65 (m, 1H), 4.88 (br s, 1H), 5.06 (br s, 1H), 7.23-7.34 (m, 5H), RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 24.7 (CH<sub>3</sub>), 30.5 (CH<sub>2</sub>), 32.2 (CH<sub>3</sub>), 32.6 (C), 35.9 (CH), 39.7 (CH), 41.6 (CH<sub>2</sub>), 44.0(CH<sub>2</sub>), 53.3 (CH<sub>2</sub>), 57.7 (CH<sub>2</sub>), 64.7 (CH), 74.6 (CH), 114.4 (CH<sub>2</sub>), 127.1 (CH), 128.4 (CH), 128.5 (CH), 139.1(C), 146.3 (C), 176.3 (C); CG/EM *t*R (**13b**) = 20.6 min, *t*R (**14b**) = 21.1 min; EM (EI) m/z (%) 325 (M, 17), 242 (36), 91 (base). EMAR calculado para C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>2</sub> 325.2042, observado: 325.2044.

## 4. Conclusiones

Se pudo determinar la caracterización de 15 compuestos aislados en las especies *E. alata* y *R. heptaphylla*; de estos, cabe resaltar la identificación de alcaloides furoquinolínicos, piranoquinolínicos y cumarinas, característicos de estas especies y lo que está de acuerdo a la quimiotaxonomía de los géneros objeto de este estudio y de la familia *Rutaceae*.

De la especie *R. heptaphylla* se han encontrado pocos reportes, y los alcaloides que se han aislado en este trabajo se reportan por primera vez para esta especie, ya que anteriormente se han aislado alcaloides indólicos [4]. Para *E. alata*, a excepción de

$\beta$ -sitosterol y estigmasterol, los demás compuestos aislados se reportan por primera vez. Este es el primer reporte de lignanos en el género *Esenbeckia*, a pesar de la gran distribución de estos metabolitos en la familia Rutaceae.

Se desarrolló una posible ruta de síntesis para precursores de análogos de alcaloides quinolínicos, como es el caso de las tetrahidropiridinas formadas, las cuales presentan la tendencia en reacciones radicalarias a la formación de derivados Espiro prevaleciendo el camino 5-exo-trig, con un alto porcentaje de rendimiento, regio y estereoselectividad en los productos formados, siendo este el primer reporte de ciclaciones radicalarias partiendo de enaminas del tipo tetrahidropiridina, y no de derivados indólicos. Esta ruta de síntesis planteada permite la posibilidad de obtener una gran variedad de productos, usando diferentes sustratos de acuerdo al aldehído utilizado inicialmente.

## Agradecimientos

Agradecemos a Colciencias, al grupo de Productos Naturales Vegetales de la Universidad Nacional de Colombia por la financiación del trabajo. Al profesor Jose Miguel Aurrecochea de la Universidad del País Vasco por la asesoría y financiación en la parte de síntesis, y al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de la Universidad Nacional de Colombia por la toma de espectros, así como también a la Universidad Militar Nueva Granada por permitir validar las extracciones de los metabolitos de *R. heptaphylla*, a través de la financiación del proyecto CIAS1173.

## Referencias

1. (a) Pollio, A.; De Natale, A.; Appetiti, E.; Aliotta, G.; Touwaide, A. *Journal of Ethnopharmacology*. 2008. 116. 469-482. (b) Cuca L.E. Tesis doctoral, Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá 1999. 1-5.
2. (a) Rios, M.; Aguilar-Guadarrama, B. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2002. 30. 977-979. (b) Rios, M.; Rosa-Alonso, E.; Aguilar-Guadarrama, B. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2002. 32. 817-821. (c) Rios, M; Delgado, G. *Journal of Natural Products*. 1992. 55. 1307-1309. (d) Torres, A. Tesis de magister, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. 2001. 10-15.
3. Bakhtiar, A.; Gleye, J.; Moulis, C.; Foraste, I. *Phytochemistry*. 1991. 30. 3840-3841.
4. Rosas, L.; André, T.; Das G.F.; Fernandes, J.; Vieira, P.; Oliva, G.; Thiemann, O. XXVI Reunião Anual Sobre Evolução. Sistemática e Ecologia Micromoleculares Instituto de Química. Universidade Federal Fluminense, 1 a 3 de dezembro de 2004.
5. Alvarez, B.; Ramon-Laca, L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005. 97. 89-95.
6. Ito, C.; Itoigawa, M.; Onoda, S.; Hosokawa, A.; Ruangrunsi, N.; Okuda, T.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Furukawa, H. *Phytochemistry*. 2005. 66. 567-572.
7. Chen, K.-S.; Chang, Y.-L.; Teng, C.-M.; Chen, C.; F.; and Wu, Y.-C. *Planta Médica*. 2000. 66. 80-81.
8. Hanawa, F.; Fokialakis, N.; Skaltsounis, A. *Planta Medica*. 2004. 70. 531-535.
9. Rahman, M., Gray, A... *Phytochemistry*. 2005. 13. 1601-1606.
10. Maximin K.; Ioset, J.; Ransijn, A.; Mauel, J.; Mavi, S.; Hostettmann, K. *Phytochemistry*. 2004. 65. 963-968.
11. Collet, I.; Benoit-Vical, F.; Mustofa, A.; Stanislas, E.; Mallie, M.; Fouraste, I. *Planta Médica*. 2001. 68. 68-69.

12. Anaya, A.; Macias-Rubacava, M.; Cruz-Ortega, R.; García-Santana, C.; Sánchez-Monterrubio, P.; Hernández-Bautista, B.; Mata, R. *Phytochemistry*. 2005. 66. 487-494.
13. (a) Bertani, S. ; Bourdy, G. ; Landau, I. ; Robinson, J. ; Esterre, P. ; Deharo, E. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005. 98. 45-54. (b) Dolabela, M.; Oliveira, S.; Nascimento, J.; Peres, J.M.; Wagner, H.; Pova, M.; de Oliveira, A. *Phytomedicine*. 2008. 15. 367-372.
14. Michael, J.; *Natural Products Reports*. 2008. 25. 166-167.
15. (a) Aurrecochea, J. M.; Gorgojo, J. M.; Saornil, C. *Journal Organic Chemistry*. 2005. 70. 9640-9643. (b) Aurrecochea, J, M., Suero, R., De Torre, E.. *Journal Organic Chemistry*. 2006. 71. 8767-8777.
16. Reviews: (a) Parsons, A. F.C.R. *Academic Sciences*. II. 2001, 391-400. (b) Clark, A.J. *Journal Chemical Society. Reviews*. 2002. 31. 1-12.
17. (a) Khan, F. A.; Dash, J. *Journal Organic Chemistry*. 2003. 68. 4556-4559. (b) Abe, H.; Aoyagi, S.; Kibayashi, S. *Journal of the American Chemical Society*. 2000. 122. 4583-4592.
18. (a) Parsons; Penckett, C.S.; Cramp, M.C.; West, R.I.; Warrington, J.; Saraiva, M.C. *Tetrahedron*. 1996. 52.647-660.
19. Ahman, J.; Somfai, P.; *Journal Chemical Society Perkin Trans I*. 1994. 1072-1082.
20. (a) Yang, C. C.; Chang, H. T.; Fang, J.M. *Journal Organic Chemistry*. 1998. 58. 3100-3105. (b) Flanagan, S.; Harrowven, D.C.; Bradley, M. *Tetrahedron Letters*. 2003. 44.1795-1798.
21. Joucla, L.; Putey, A.; Joseph, B. *Tetrahedron Letters*. 2005. 46, 8177-8179.
22. (a) Coy, C.A and Cuca, L.E. *Scientia et Technica*. 2007. 33. 337-338. (b) Cuca, L.E and Coy, C.A. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2007. 35. 386-388.
23. Hwu, J.; Tseng, W.; Gnable, J.; Giza, P.; Huang, R. *Journal of Medical Chemistry*. 1998. 41. 2994-3000.
24. Pusset, J.; Lopez, J.; Neirabeyeh, M.; Veillon, J. *Planta Medica*. 1991. 57. 153-155.
25. Forgo, P.; Kuver, K. *Steroids*. 2004. 69.43-50.
26. Djlani, A., Legseir, B., Soulmani, R., Dicko, A., Younos, C. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2006. 17. 518-520.
27. Merck. *Reactivos de Coloración para Cromatografía en Capa Fina y en Papel*. E. Merck, Darmstadt (R.F. de Alemania). 1965. 27-332.
28. Campbell, W.; Davidowitz, B.; Jackson, G. *Phytochemistry*. 1990. 4. 1304-1306.
29. Biavatti, M.; Vieira, P.; Da Silva, M.; Fernandes, J.; Victor, S.; Pagnocca, F.; Albuquerque, S.; Caracelli, I.; Spector, J. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2002.13. 66-70
30. Hon, Y., Chang, F., Lu, L., Lin, W. *Tetrahedron*. 1998. 5233-5246.
31. Ripa, L.; Hallberg, A. *Journal of Organic Chemistry*. 1998. 63.84- 91.
32. Brevion, F., Vitale, M., Fensterbank, L., Malacria, M. *Tetrahedron Asymmetry*. 2003. 14. 2889-2896.
33. Aurrecochea, J. M.; Coy, C.A., Patiño, O. *Journal of Organic Chemistry*. 2008. 73, 5194-5197.