



Lady T. Albarracín<sup>1</sup>, Oscar J. Patiño<sup>1</sup>, Juan D. Guzman<sup>2</sup>, Neelu Begum<sup>3</sup>, Timothy D. McHugh<sup>3</sup>, Luis E. Cuca<sup>1</sup>, Mónica C. Ávila<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigación en Productos Naturales Vegetales, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, AA 14490, Carrera 30 N° 45-03, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup>Departamento de Química y Biología, División de Ciencias Básicas, Universidad del Norte, km 5 vía Puerto Colombia, Barranquilla 081007, Colombia.

<sup>3</sup>Center for Clinical Microbiology, Department of Infection, Royal Free Campus, University College London, London, UK.

\*Autor para correspondencia: mcavilam@unal.edu.co

Recibido: 24 de Febrero de 2017. Aceptado: 10 de Mayo de 2017.

## Alcaloides aporfínicos con actividad antituberculosa aislados de *Ocotea discolor* Kunth (Lauraceae)

### Resumen

La tuberculosis causa miles de muertes a nivel mundial y, actualmente, los fármacos usados no son suficientes y en ocasiones son obsoletos para su tratamiento. Por tanto, se hace necesaria la búsqueda de nuevos compuestos que ayuden a combatirla. Se evaluó la actividad antituberculosis de los alcaloides ocoxilonina (1), ocoteína (2), dicentrina (3) y 1,2-metilendioxi-3, 10,11-trimetoxiaporfina (4), aislados de la madera de *Ocotea discolor*. Las estructuras fueron identificadas por medio del análisis de los datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear (NMR 1D – <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>2</sup>D – COSY, HSQC y HMBC), espectros de masas y comparación con datos de la literatura. Todos los compuestos aislados demostraron actividad antituberculosa, con un rango de variación en la concentración mínima inhibitoria entre 140 y 310 μM, siendo la ocoteína (2) la más activa contra la cepa virulenta de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

**Palabras clave:** *Mycobacterium tuberculosis*, datos espectroscópicos, Ocoteína.

## Aporphine alkaloids with antitubercular activity isolated from *Ocotea discolor* Kunth (Lauraceae)

### Abstract

Tuberculosis disease causes thousands of deaths worldwide and, currently, the used drugs are either not enough or obsolete for its treatment. Therefore, new compounds that combat this disease are being sought. Thus, the antituberculosis activity of the alkaloids ocoxilonine (1), ocoteine (2), dicentrine (3) and 1,2-methylenedioxy-3,10,11-trimethoxy aporphine (4), isolated from *Ocotea discolor* wood was evaluated. Their structures were identified by analysis of nuclear magnetic resonance spectroscopic data (NMR 1D – <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>2</sup>D – COSY, HSQC and HMBC), mass spectra, and comparison with literature data. All the isolated compounds showed antituberculosis activity, with a variation range in the minimum inhibitory concentration between 140 to 310 μM, being ocoteine (2) the most active compound against the virulent strain *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, spectroscopic data, Ocoteine.

## Alcalóides aporfínicos com atividade antituberculosa isolados de *Ocotea discolor* Kunth (Lauraceae)

### Resumo

Devido a que a tuberculose provoca milhares de mortes em todo o mundo e a que, atualmente os medicamentos usados são inadequados e obsoletos para o tratamento desta doença, é preciso buscar novos compostos que ajudem a combatê-la. Assim, foi avaliada a atividade antituberculosis dos alcaloides ocoxilonina (1), ocoteína (2), dicentrina (3) y 1,2-metilendioxi-3,10,11-trimetoxiaporfina (4), isolados a partir da madeira de *Ocotea discolor*. Estas estruturas foram identificadas pela elucidação dos dados espectroscópicos (NMR 1D – <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>2</sup>D – COSY, HSQC e HMBC), espectros de massas e por comparação com os dados da literatura. Todos os compostos isolados demonstraram atividade antituberculosis, com um intervalo de variação na concentração inibitória mínima entre 140 e 310 μM, sendo a ocoteína (2) o composto mais ativo contra a variedade virulenta *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

**Palavras-Chave:** *Mycobacterium tuberculosis*, dados espectroscópicos, Ocoteína.

## Introducción

La tuberculosis (TB) es una infección bacteriana causada por especies pertenecientes al complejo de *Mycobacterium tuberculosis*. Actualmente constituye un problema de salud pública a nivel mundial, con 10,4 millones de nuevos casos y 1,4 millones de muertes, reportados para el 2015 ante la Organización Mundial de la Salud (1). Los medicamentos anti-TB usados actualmente son poco eficientes e involucran cuatro fármacos diferentes en su tratamiento, por un periodo de 6 meses, razón por la cual se han hecho esfuerzos para desarrollar medicamentos anti-TB más efectivos.

Así mismo, la infección con *M. tuberculosis*, resistente a los medicamentos anti-TB, provoca un aumento del riesgo del fracaso terapéutico, un aumento del tiempo y costo del tratamiento, así como de sus efectos secundarios. Aunque la bedaquilina, aprobada por la FDA en 2013, se prescribe para el tratamiento de la tuberculosis multi-drogorresistente, este medicamento produce serios efectos secundarios como síndrome QT prolongado, disfunción del hígado y aumento en el riesgo de muerte (2), razones que demuestran la falta de desarrollo de nuevos agentes anti-TB que actúen a través de nuevos mecanismos de acción para garantizar un régimen efectivo en la próxima década (3).

Los productos naturales han sido una fuente importante de nuevos esqueletos bioactivos para tratar la TB, por ejemplo, las manzaminas, pleuromutilinas e hirsutelonas son utilizados en el desarrollo de medicamentos anti-TB (4). Del mismo modo, estudios previos sobre alcaloides aporfínicos aislados de especies de Lauraceae como *Ocotea macrophylla* (5) y *Rhodostemonodaphne crenaticupula* (6) han evidenciado una tendencia de actividad anti-TB en estas especies. El género *Ocotea* es uno de los más estudiados dentro de la familia Lauraceae, siendo fuente de terpenos (7-9) neolignanicos y lignanos (10-14), alcaloides aporfínicos (15-17) y bencilisoquinolínicos (18, 19), además de compuestos fenólicos y flavonoides (20-22). Los estudios de actividad biológica del género han demostrado que estas especies poseen efectos antimicrobianos (23-25), antiparasitarios (26), antitumorales y citotóxicos (19, 27, 28); estas últimas debido a las propiedades de los compuestos aislados en la inhibición de la topoisomerasa I (29).

Como ya se mencionó antes, entre las moléculas derivadas de productos naturales que han mostrado tener actividad antituberculosa prometedora, se destacan los alcaloides y, dentro de ellos, los aporfínicos (30). Como el género *Ocotea* ha reportado ser productor de este tipo de alcaloides, se escogió la especie *Ocotea discolor* para su aislamiento y su posterior medición de actividad antituberculosa. En Colombia, la especie se encuentra en la cordillera central, a alturas mayores a 1500 m s. n. m (31).

Debido a que no se ha publicado hasta el momento ningún reporte fitoquímico o de actividad biológica para esta especie, se describen aquí los compuestos de tipo alcaloide aporfínico aislados de la madera y se presenta su efecto en el crecimiento de la bacteria virulenta *M. tuberculosis* H37Rv.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

La madera de *Ocotea discolor* fue colectada en octubre de 2011, en la vía Duitama-Charalá (Colombia). La especie fue determinada por el biólogo Adolfo Jara, del Herbario Nacional Colombiano. Un espécimen se depositó en el Herbario Nacional Colombiano del Instituto de Ciencias Naturales en la Universidad Nacional de Colombia con el número COL 566243.

### Extracción y Aislamiento

La madera seca y molida de *Ocotea discolor* (1160 g) fue extraída con etanol al 96% (v/v) a temperatura ambiente. La evaporación del solvente se hizo por destilación a presión reducida quedando un extracto de 41,7 g. Una parte del extracto (30 g) fue fraccionada por cromatografía flash (FC) en silica gel 60 (Macherey-Nagel, Alemania) y eluido con AcOiPr-MeOH-H<sub>2</sub>O (91:8:1) hasta 100% (v/v) MeOH, dando 12 fracciones. La fracción 8 (514 mg) fue purificada por FC con CHCl<sub>3</sub>-MeOH (98:2), para obtener el compuesto 1 (12 mg). La fracción 9 (370 mg) fue purificada por sucesivas FC con CHCl<sub>3</sub>-MeOH (9:1-95:5), donde se obtuvo el compuesto 2 (7 mg). De la fracción 11 (1500 mg), por columnas sucesivas con la fase móvil AcOiPr-MeOH en diferentes proporciones, se obtuvieron los compuestos 3 (30 mg) y 4 (20 mg). Todos los solventes utilizados fueron grado analítico de la casa Merck, Alemania.

### Procedimiento experimental general

La rotación óptica fue medida en un polarímetro Bellingham & Stanley ADP440+. Los espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, así como los espectros 2D (COSY, HMQC y HMBC) fueron tomados en un equipo Bruker Avance™ 300 operado a 300 MHz para <sup>1</sup>H y 75 MHz para <sup>13</sup>C. Los desplazamientos químicos están en δ (ppm) y los experimentos fueron registrados a temperatura ambiente en CDCl<sub>3</sub> (Merck, Alemania). La cromatografía en capa delgada (TLC) fue hecha en placas de silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Alemania); los compuestos se visualizaron con el reactivo de Dragendorff, vapores de yodo y luz UV (32).

### Ensayo de actividad anti-TB

Se adaptó del ensayo de microplato de 96 pozos con resazurina (REMA), protocolo publicado por Martin *et al.* (33). La cepa de *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 9360) que se usó como referencia estándar para estudios de investigación se cultivó a partir de criopreservado en 10 mL de medio líquido Middlebrook 7H9 (BD). Este fue suplementado con 0,2% (v/v) glicerol (Sigma), 0,05% (v/v) Tween® 80 (Sigma) y 10% (p/v) albumina, dextrosa y catalasa (ADC, BD) por incubación a 37 °C en tubos falcons estériles de 50 mL con agitación esporádica, durante 3-4 semanas. Posteriormente, se cambió a medio líquido en las mismas condiciones.

Se preparó una solución stock de cada compuesto en DMSO (Sigma) a una concentración de 100 mg/mL. Los compuestos fueron probados en cada microplato por diluciones seriadas empezando desde 100 µg/mL con Middlebrook 7H9 (BD), suplementado con 0,2% de glicerol (Sigma), 0,05% de Tween® (Sigma) y 10% de OADC (BD). Se utilizó agua estéril en los pocillos circundantes para evitar la evaporación del medio líquido; el ensayo se realizó por duplicado. El cultivo de *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 9360) creció en medio Middlebrook 7H10 (BD) a 37 °C, y antes del ensayo se realizó un paso del cultivo en medio líquido Middlebrook 7H9. El antibiótico rifampicina (Sigma) fue usado como control positivo. La concentración mínima inhibitoria fue determinada visualmente como la mínima concentración donde la bacteria no creció.

## Resultados y discusión

Los compuestos **1-4** fueron obtenidos como sólidos cafés amorfos, los cuales generaron un color naranja en TLC al revelarlos con el reactivo de Dragendorff, lo que sugiere la presencia de alcaloides. Los espectros de RMN 1D poseen una amplia similitud lo que sugiere una serie de compuestos estructuralmente relacionados. El espectro RMN <sup>1</sup>H de **2** mostró hidrógenos de tipo aromático y alifático; las señales en δ 3,20- 3,34 (1H, m, H-6a), δ 3,07-3,20 (1H, m, H<sub>1</sub>-5), δ 2,46-2,55 (1H, m, H<sub>2</sub>-5), δ 3,11 (1H; dd; *J*= 4,3 y 14,0; H<sub>1</sub>-7) y δ 2,74 (1H, d, *J*=14,0 Hz, H<sub>2</sub>-7), corresponden a señales típicas del núcleo aporfínico (17, 33), como se muestra en la Figura 1.

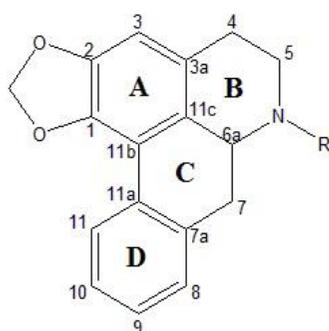


Figura 1. Núcleo aporfínico

Adicionalmente, se observaron las señales entre: δ 3,90-4,10 (s, 9H) correspondientes a 3 grupos metoxi, algunos multipletes de grupos metilenos en δ 2,77-3,20; dos hidrógenos aromáticos en δ 7,60 (s, H-8) y δ 6,77 (s, H-11), junto con dos singletes típicos del grupo metilendioxi en δ 5,93 (s, Ha) y δ 6,08 (s, Hb) (19). La correlación en el experimento COSY de H-4 con Hb-5 y las correlaciones en HMBC de H-4 con C-3 y C-3a, Hb-5 con C-3a, Hb-7 con C-11c, H-8 con C-10 y C-11, H-11 con C-7a y C-9 permiten construir cuatro anillos de seis miembros, dos aromáticos (A y D) y dos no aromáticos (B y C) (33-34), que en conjunto permiten llegar a la estructura del compuesto **2**. A través de la comparación con los datos reportados en literatura, **2** corresponde al alcaloide ocoteína, el cual posee un centro asimétrico en la posición 6a cuya configuración fue inferida por el signo de la rotación específica, igual al de otros alcaloides aporfínicos previamente aislados, proponiendo así que la configuración relativa del centro 6a es *S* (35-37).

Para cada uno de los demás alcaloides aislados se reunió la misma información previamente descrita, los datos espectroscópicos se presentan en la Tabla 1 y las estructuras en la Figura 2.

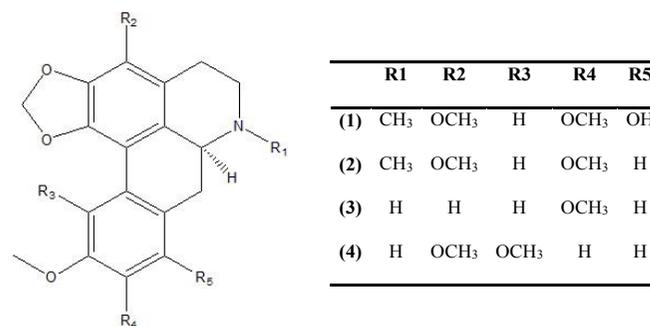


Figura 2. Alcaloides aporfínicos aislados de *Ocotea discolor*

Los compuestos **1** (12 mg) y **2** (7,0 mg) fueron identificados como ocoxilonina y ocoteína, respectivamente, los cuales fueron previamente aislados de las hojas y corteza *Ocotea acutifolia* (19). Los compuestos **3** (30 mg) y **4** (20 mg) fueron identificados como dicentrina, y 1,2-metilendioxi-3, 10, 11-trimetoxiaporfina, aislados de las especies *Cassytha filiformis* (37) y *Cissampelos capensis* (38).

Los resultados del ensayo de actividad anti-TB demuestran que todos los alcaloides aislados de la madera de *Ocotea discolor* inhiben en cierta medida el crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. El rango de los valores de la concentración mínima inhibitoria (MIC) se encuentra entre 140 y 310 µM, siendo la ocoteína (**2**) el alcaloide más activo con un valor de MIC de 50 µg/mL (140 µM), mientras que los otros compuestos muestran menor inhibición (Tabla 2).

Una comparación estructural con algunos alcaloides similares tales como 3-metoxinordomesticina y leucoxina (5, 6), indican que la presencia del benzodioxol es un requisito estructural necesario para la actividad anti-TB. Adicionalmente, la lipofilidad juega un papel significativo en la actividad, ya que la presencia de grupos hidroxilo cerca al anillo que contiene la sustitución metilendioxi, reduce el efecto anti-TB, como lo demuestra la comparación de la actividad entre la ocoxilonina (**1**) y la ocoteína (**2**).

No hay duda que los alcaloides aporfínicos con sustitución metilendioxi muestran una tendencia de actividad anti-TB, como lo demuestran no solamente los alcaloides de este estudio, sino también 3-metoxinordomesticina, leucoxina, piperolactama A y (-)-nordicentrina (38-40).

## Conclusiones

Los alcaloides ocoxilonina (**1**), ocoteína (**2**), dicentrina (**3**) y 1,2-metilendioxi-3,10,11-trimetoxiaporfina (**4**) se aislaron por técnicas cromatográficas de la madera de *Ocotea discolor*. Los datos espectroscópicos y la comparación con la literatura, permitieron determinar inequívocamente su estructura química. El ensayo de actividad anti-TB confirmó la actividad promisoriosa de los alcaloides aporfínicos que presentan sustitución metilendioxi en alguno de los anillos que conforman el núcleo básico de aporfina. La continuación de los estudios detallados de los alcaloides presentes en las especies neotropicales de la familia Laurácea puede arrojar nuevos esqueletos anti-TB que podrían constituir un punto de partida para el desarrollo de nuevos principios activos contra la tuberculosis.

**Tabla 1.** Datos de resonancia magnética nuclear  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  para los cuatro alcaloides aporfínicos aislados de *Ocotea discolor*

no.	1 (CD <sub>3</sub> OD)		2 (CDCl <sub>3</sub> )		3 (CDCl <sub>3</sub> )		4 (CD <sub>3</sub> OD)	
	$\delta_c$	$\delta_H$ (J=Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (J=Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (J=Hz)	$\delta_c$	$\delta_H$ (J=Hz)
1	145.7	----	143.6		148.4	----	143.8	----
2	136.4	----	135.1		129.5	----	134.7	----
3	140.9	----	139.3		109.8	6.56 s	140.6	----
3a	119.6	----	117.6		120.8	----	126.0	----
4	24.1	2.70-2.82 m	22.6	2.77-2.91 m	29.6	2.51-2.59 m	24.3	2.85-2.98 m
5	54.2	Ha 3.04-3.18 m	52.9	Ha 3.07-3.20 m	54.5	3.61-3.77 m	48.9	3.20-3.33 m
		Hb 2.42-2.54 m		Hb 2.46-.55 m				
6a	63.5	3.12 t (14.1)	62.1	3.20-3.34 m	63.9	3.02-3.15 m	54.3	2.83-2.95 m
7	26.5	Ha 2.02-2.14 m	33.5	2.74 d (14.0)	34.5	Ha 2.60-2.71 m	34.5	3.60-3.72 m
		Hb 3.59 dd (4.3, 14.1)		3.11 dd (4.3, 14.0)		Hb 3.02-3.18 m		
7a	115.3	----	123.5	----	117.7	----	128.8	----
8	148.2	----	110.0	7.60 s	112.9	6.94 s	113.1	6.88 d (7.9)
9	136.7	----	147.9	-----	148.8	----	112.0	7.4 d (7.9)
10	152.7		147.8	----	149.9	----	150.1	----
11	103.4	7.23 s	111.1	6.77 s	112.0	7.70 s	148.0	----
11a	128.0	----	126.8	----	127.8	-----	127.6	----
11b	112.5	----	111.3	----	105.3	----	111.2	----
11c	127.9	----	126.8	----	124.7	----	123.8	----
N-Me	43.7	2.59 s	43.5	2.61 s	43.9	2.42 s	43.9	2.11 s
1,2 O-CH <sub>2</sub> -O	102.2	Ha 5.93 S	100.6	Ha 5.93 s	102.2	Ha 5.95 s	102.2	Ha 5.95 s
		Hb 6.07 S		Hb 6.08 s		Hb 6.09 s		Hb 6.09 s
3 O-CH <sub>3</sub>	59.9	4.00 S	59.5	4.01 s	----	----	----	----
9 O-CH <sub>3</sub>	61.2	3.80 S	55.9	3.91 s	56.4	3.89 s	56.8	3.88 s
10 O-CH <sub>3</sub>	56.3	3.84 S	56.1	3.90 s	56.6	3.86 s	56.5	3.86 s
11 O-CH <sub>3</sub>	----	----	----	----	----	----	59.9	3.98 s

**Tabla 2.** Actividad antituberculosa *in vitro* de la ocoxilonina (1), ocoteina (2), dicentrina (3) y 1,2-metilendioxi-3,10,11-trimetoxiaporfina (4)

Compuestos	Concentración Mínima Inhibitoria frente a <i>M. tuberculosis</i> H <sub>37</sub> Rv (μM)
1	240
2	260
3	140
4	310
Rifampicina	80 nM

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Nacional de Colombia por la financiación. También al laboratorio de RMN de la Universidad Javeriana.

## Referencias

- World Health Organization, Genova (WHO), Global tuberculosis report 2016. [Online]. URL: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250441/1/9789241565394-eng.pdf> [Consultado el 5 de mayo de 2017].
- Cohen, J. Approval of Novel TB Drug Celebrated--With Restraint. *Science*, **2013**, *339*, 130. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.339.6116.130>.
- Casenghi, M.; Cole, S. T.; Nathan, C. F. New approaches to filling the gap in tuberculosis drug discovery. *PLoS Med.* **2007**, *4*, e293. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.339.6116.130>.
- Copp, B.R.; Pearce, A.N. Natural product growth inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 278-297. DOI: <https://doi.org/10.1039/b513520f>.
- Guzman, J. D.; Gupta, A.; Evangelopoulos, D.; Basavannacharya, C.; Pabón, L. C.; Plazas, E. A. *et al.* Anti-tubercular screening of natural products from Colombian plants: 3-methoxynordomesticine, an inhibitor of MurE ligase of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Antimicrob. Chemother.* **2010**, *65*, 2101-2107. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkq313>.
- Guzman, J. D.; Pesnot, T.; Barrera, D. A.; Davies, H. M.; McMahon, E.; Evangelopoulos, D. *et al.* Tetrahydroisoquinolines affect the whole-cell phenotype of *Mycobacterium tuberculosis* by inhibiting the ATP-dependent MurE ligase. *J. Antimicrob. Chemother.* **2015**, *70*, 1691-1703. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkv010>.
- Bruni, R.; Medici, A.; Andreotti, E.; Fantin, C.; Muzzoli, M.; Dehesa, M. *et al.* Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) flower calices. *Food Chem.* **2004**, *85*, 415-421. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.019>.
- Coutinho, D. F.; Dias, C. S.; Barbosa-Filho, J. M.; Agra, M. F.; Martins, R. M.; Silva, T. M. *et al.* Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. *J. Essent. Oil Res.* **2007**, *19*, 482-484. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2007.9699958>.
- Takaku, S.; Haber, W. A.; Setzer, W. N. Leaf essential oil composition of 10 species of *Ocotea* (Lauraceae) from Monteverde, Costa Rica. *Biochem. Syst. Ecol.* **2007**, *35*, 525-532. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.02.003>.
- David, J.M.; Yoshida, M.; Gottlieb, O.R. Neolignans from bark and leaves of *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*. **1994**, *36*, 491-499. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)97102-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)97102-4).
- Ishige, M.; Motidome, M.; Yoshida, M.; Gottlieb, O. R. Neolignans from *Ocotea catharinensis*. *Phytochemistry*. **1983**, *22* (2), 4121-4128. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(83\)83046-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)83046-5).
- Lordello, A.L.L.; Yoshida, M. Neolignans from leaves of *Ocotea catharinensis*. *Phytochemistry*. **1997**, *46*, 741-744. DOI: [10.1016/S0031-9422\(97\)00343-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00343-9).
- Sehlapelo, B. M.; Drewes, S. E.; Sandor, P. Ocobullenone: a bicyclo [3.2. 1] octanoid neolignan from *Ocotea bullata*. *Phytochemistry*. **1993**, *32*, 1352-1353. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)95121-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)95121-5).
- Morais, L.; Pachú, C.; Santos, V.; Barbosa-Filho, T. New lignan from *Ocotea duckei*. *Fitoterapia*. **1996**, *67*, 557.
- Gilbert, B.; Gilbert, M.; De Oliveira, M.; Ribeiro, O.; Wenkert, E.; Wickberg, B. *et al.* The aporphine and isoquinolinedienone alkaloids of *Ocotea glaziovii*. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 694-696. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja01058a031>.
- López, J. A.; Barillas, W.; Gomez-Laurito, J.; Lin, F.-T.; Al-Rehaily, A.J.; Sharaf, M.H. *et al.* Aporphine alkaloids of *Ocotea brenesii*. *Int. J. Pharmacogn.* **1996**, *34*, 145-147.
- Pabon, L. C.; Cuca, L. E. Aporphine alkaloids from *Ocotea macrophylla* (Lauraceae). *Quím. Nova*. **2010**, *33*, 875-879. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000400021>.
- Custodio, D. L.; da Veiga Junior, V. F. Lauraceae alkaloids. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 21864-21890. DOI: <https://doi.org/10.1039/C4RA01904K>.
- Garcez, F. R.; Francisca, d. S. A.; Garcez, W. S.; Linck, G.; de Fatima, M. M.; Santos, E.; Queiroz, L. Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. *Planta Med.* **2011**, *77*, 383-387. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250401>.
- Andrei, C. C.; Braz-filho, R.; Gottlieb, O. R. Allylphenols from *Ocotea cymbarum*. *Phytochemistry*. **1988**, *27*, 3992-3993. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)83069-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)83069-3).
- David, J. M.; Yoshida, M.; Gottlieb, O. R. Phenylpropanoid-catechins from bark of *Ocotea porosa*. *Phytochemistry*. **1994**, *35*, 545-546. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)94800-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)94800-3).
- de Diaz, A. M.; Gottlieb, H. E.; Gottlieb, O. R. Dehydrodieugenols from *Ocotea cymbarum*. *Phytochemistry*. **1980**, *19*, 681-682. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)87038-5](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)87038-5).
- Farago, P.V.; Nakashima, T.; Döll, P.M.; Jane, M.B.; Maia, B.H. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil from bark of *Ocotea puberula* (Rich.) Ness. *Lat. Am. J. Pharm.* **2010**, *29*, 1242-1245.
- Terreaux, C.; Maillard, M.; Hostettmann, K.; Lodi, G.; Hakizamungu, E. Analysis of the fungicidal constituents from the bark of *Ocotea usambarensis* Engl. (Lauraceae). *Phytochem. Anal.* **1994**, *5*, 233-238. DOI: <https://doi.org/10.1002/pca.2800050503>.
- Yamaguchi, M. U.; Garcia, F. P.; Cortez, D. A. G.; Ueda-Nakamura, T.; Dias Filho, B.P.; Nakamura, C.V. Antifungal effects of ellagitannin isolated from leaves of *Ocotea odorifera* (Lauraceae). *Antonie Van Leeuwenhoek*. **2011**, *99*, 507-514. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-010-9516-3>.
- Fournet, A.; Ferreira, M. E.; de Arias, A. R.; Guy, I.; Guinaudeau, H.; Heinzen, H. Phytochemical and antiprotozoal activity of *Ocotea lancifolia*. *Fitoterapia*. **2007**, *78*, 382-384. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.03.003>.
- Marques, R. C. P.; da Silva Dias, C.; Barbosa-Filho, J. M.; Agnez-Lima, L. F. Evaluation of the mutagenic potential of yangambin and of the hydroalcoholic extract of *Ocotea duckei* by the Ames test. *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* **2003**, *536*, 117-120. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(03\)00040-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(03)00040-8).

28. Monte Neto, R. L.; Sousa, M.; Dias, C. S.; Barbosa Filho, J. M.; Oliveira, M. R. Yangambin cytotoxicity: a pharmacologically active lignan obtained from *Ocotea duckei vattimo* (Lauraceae). *Z. Naturforschung C*. **2008**, *63*, 681-686. DOI: <https://doi.org/10.1515/znc-2008-9-1012>.
29. Zhou, B. N.; Johnson, R. K.; Mattern, M. R.; Wang, X.; Hecht, S. M.; Beck, H. T. *et al.* Isolation and Biochemical Characterization of a New Topoisomerase I Inhibitor from *Ocotea leucoxydon*. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 217-221. DOI: <https://doi.org/10.1021/np990442s>.
30. García, A.; Bocanegra-García, V.; Palma-Nicolás, J. P.; Rivera, G. Recent advances in antitubercular natural products. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *49*, 1-23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.12.029>.
31. Tropicos. URL: <http://www.tropicos.org>. (Consultado el 12 de Diciembre del 2015).
32. Merck. Reactivos de coloración para cromatografía en capa fina y en papel, 1972. E. Merk; p. 154.
33. Zanin, S. Alcalóides aporfínicos em mudas de *Ocotea puberula* (Reich.) Nees (LAURACEAE). Doutor em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, 2006.
34. Balci, M. Basic <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C- NMR Spectroscopy: 1. Elsevier: Ankara, 2005; p. 117.
35. Velcheva, M. P.; Petrova, R. R.; Samdanghiin, Z.; Danghaaghiin, S.; Yansanghiin, Z.; Budzikiewicz, H. *et al.* Isoquinoline alkaloid N-oxides from *Thalictrum simplex*. *Phytochemistry*. **1996**, *42*, 535-537. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00959-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00959-0).
36. Garcez, F. R.; Francisca, d. S. A.; Garcez, W. S.; Linck, G.; de Fatima, M. M.; Santos, E. *et al.* Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. *Planta Med.* 2011, *77*, 383-387. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250401>.
37. De Wet, H.; Van Heerden, F. R.; Van Wyk, B. E. Alkaloidal variation in *Cissampelos capensis* (Menispermaceae). *Molecules*. **2011**, *16*, 3001-3009. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16043001>.
38. Tsai, T. H.; Wang, G. J.; Lin, L. C. Vasorelaxing alkaloids and flavonoids from *Cassytha filiformis*. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 289-291. DOI: <https://doi.org/10.1021/np070564h>.
39. Mata, R.; Morales, I.; Perez, O.; Rivero-Cruz, I.; Acevedo, L.; Enriquez-Mendoza, I. *et al.* Antimycobacterial Compounds from *Piper santum*. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1961-1968. DOI: <https://doi.org/10.1021/np0401260>.
40. Lekphrom, R.; Kanokmedhakul, S.; Kanokmedhakul, K. Bioactive Styryllactones and alkaloid from flowers of *Goniothalamus laoticus*. *J. Ethnopharmacol.* **2009**, *125*, 47-50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.023>.

**Article citation:**

Albarracín, L. T.; Patiño, O. J.; Guzman, J. D.; Begum, N.; McHugh, T. D.; Cuca, L. E.; Ávila, M. C. Alcaloides aporfínicos con actividad antituberculosa aislados de *Ocotea discolor* Kunth (Lauraceae). *Rev. Colomb. Quim.* **2017**, *46* (3), 22-27. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v46n3.62963>.