



Estudio preliminar de Alcaloides en *Ceratozamia mexicana* Brongn.

Esperanza Peña, Emma Grillo, Armando Cuéllar y Margarita Ruiz, Laboratorio de Fisiología Vegetal, Jardín Botánico Nacional

RESUMEN

Se estudió parcialmente el contenido en alcaloides en hojas de *Ceratozamia mexicana* Brongn. a partir de extractos etanólicos de hojas menores y mayores de dos años. La separación cromatográfica de las muestras reveló la existencia de al menos dos alcaloides bien definidos; los cuales fueron caracterizados parcialmente por espectrofotometría infrarroja. Se discuten los resultados.

ABSTRACT

Alkaloid content from alcoholic extracts of leaves, older and younger than two years was partially studied in *Ceratozamia mexicana* Brongn. The chromatographic separation of the samples revealed the existence of at least two well defined alkaloids, which were partially characterized by infrared spectrometry. Results are discussed.

INTRODUCCIÓN

Ceratozamia mexicana Brongn., planta primitiva considerada entre las *Cycada-ceae* del mundo occidental, ha sido estudiada desde distintos puntos de vista. Los caracteres generales y morfológicos del género y especies comprendi

das, han sido descritos y aparecen referidos en distintas obras (Coulter y Chamberlain, 1901; Chamberlain, 1919). También, especies de *Ceratozamia* han sido objeto de estudios anatómicos (Smith, 1907; Dorety, 1908; Greguss, 1968; Stevenson, 1980) así como aspectos relacionados con su largo y complejo proceso reproductor desde el punto de vista fisioanatómico (Juranyi, 1972; Matte, 1907; Dorety, 1908b).

Hasta el presente y a pesar de que por su papel, importancia y aplicación en la planta, los metabolitos secundarios han sido objeto de investigaciones en numerosas especies vegetales, con vistas a estudiar sus mecanismos de síntesis, degradación y caracterización, los trabajos en la familia *Cycadaceae* son escasos y dispersos. En especies de *Dioon* y *Macrozamia* se detectó la presencia de leucoantocianidinas y en algunos representantes de la familia se han reconocido flavonoides y esteroides (Hegnauer, 1962). Existen por otra parte, comparaciones en cuanto al contenido de biflavonas en algunas especies de *Dioon*, *Zamia* y *Cycas* (Swain y Harborne, 1973).

Recientemente se reportó la presencia o ausencia de nueve tipos de metabolitos secundarios en 19 especies de la familia *Cycadaceae* que incluían cinco géneros (*Microcycas*, *Dioon*, *Cycas*, *Zamia* y *Ceratozamia*). Como resultado del tamizaje fitoquímico realizado a hojas mayores y menores de dos años, los autores demostraron la presencia de alcaloides en ambos tipos de hoja de *Ceratozamia mexicana* Brongn. (Peña y cols., 1985).

La probada importancia farmacológica de los alcaloides, hacen de la profundización en el estudio de cualquiera de estos compuestos, un tema de trabajo interesante. Esto se hace evidente por la utilización de los mismos en el tratamiento de distintas enfermedades neoplásicas atendiendo a su acción antimitótica, por su aplicación como estimulantes centrales en pequeñas dosis, por su empleo como antihipertensivos y tranquilizantes, y por su uso médico en el tratamiento de tumores sólidos y la enfermedad de Hodgkins (vinblastina) así como en el de la leucemia (vicristina), por citar algunos ejemplos.

En el presente trabajo, tomando como punto de partida la presencia de alcaloides en hojas de *Ceratozamia mexicana* Brongn. detectada con anterioridad (Peña y cols., 1985), se realiza un estudio preliminar de este tipo de metabolito y a través de separación cromatográfica y análisis espectroscópico.

MATERIALES Y MÉTODOS

. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se utilizaron hojas (raquis y pinnas) de plantas de *Ceratozamia mexicana* cultivadas en condiciones de vivero en el Jardín Botánico Nacional (Peña y Cols., 1985). Se colectaron hojas menores y mayores de dos años para la preparación de la muestra.

La muestra de material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente y se

trituro. Los 46,45 gg. obtenidos se cubrieron con etanol y se mantuvieron durante 24 horas en recipiente cerrado para la extracción.

OBTENCIÓN DE ALCALOIDES

Se obtuvo un primer extracto etanólico por filtrado de la muestra. Al residuo vegetal se le repitió el proceso dos veces más, procediéndose a continuación, a la evaporación del solvente de los tres extractos etanólicos reunidos en rotovapor. Al extracto concentrado en el balón se le añadieron 50 ml de H_2SO_4 al 2% en caliente ($50^\circ C$) y se filtró. Este proceso de lavado se repitió dos veces. Seguidamente 1 ml del filtrado ácido se trató con 1 ml de Reactivo de Dragendorff. La adición de H_2SO_4 al residuo se repitió mientras que el reconocimiento de alcaloides en los filtrados sucesivos no resultara negativo por la no formación de precipitado de color naranja, con lo que se garantizaba la total extracción de los alcaloides en la muestra.

Los extractos ácidos reunidos se alcalinizaron con amoniaco concentrado. La seguida adición de 50 ml de cloroformo permitió la separación de los alcaloides de la fase amoniaca. Igual volumen de cloroformo se añadió tres veces más y a las fases clorofórmicas reunidas se adicionó carbonato de potasio anhidro para su secado. Seguidamente se realizó un filtrado a través de papel y se concentró esta fase en evaporador rotatorio.

SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA

La separación cromatográfica se llevó a cabo en placas de silicagel G-60 como adsorbente, activadas a $100^\circ C$ durante 1 hora y metanol como solvente de elución. Se realizó una cromatografía en capa delgada cualitativa; y el resto, preparativas para su aislamiento y caracterización. La placa para el reconocimiento de alcaloides se reveló con Reactivo de Dragendorff y se calcularon los R_f de los alcaloides presentes.

ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

Después de revelada la placa delgada cualitativa y tomando como base la posición de las dos manchas indicadoras de los alcaloides presentes, se cortaron las placas preparativas y se separaron en recipientes con suficiente cloroformo. El contenido de cada frasco se calentó a $50^\circ C$ y se filtró por papel para la eliminación del silicagel. El procedimiento se repitió cinco veces al residuo para la separación total de los alcaloides del adsorbente. A continuación se concentraron las muestras a volumen mínimo y se procedió a realizar sus espectros infrarrojos disueltos en cloroformo en un fotómetro Pye-Unicam SP-1800.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio preliminar de los alcaloides presentes en hojas de *Ceratosamia mexicana* Brongn., llevado a cabo por el análisis de los espectros infrarrojos, se realizó a partir de la separación cromatográfica de las muestras.

En la *figura 1* se presenta un esquema de los resultados de la separación cromatográfica. Se observan dos manchas separadas, bien diferentes de $R_f = 0,23$ y $R_f = 0,69$. En el caso de la mancha que representa al alcaloide de mayor R_f se observa una posible superposición de dos alcaloides. La determinación precisa de la existencia de uno o dos alcaloides de movilidad muy semejante hubiera requerido de tiempos mayores de corrida y/o la utilización de otros solventes. Estos ensayos no pudieron repetirse por la no disponibilidad de material vegetal.

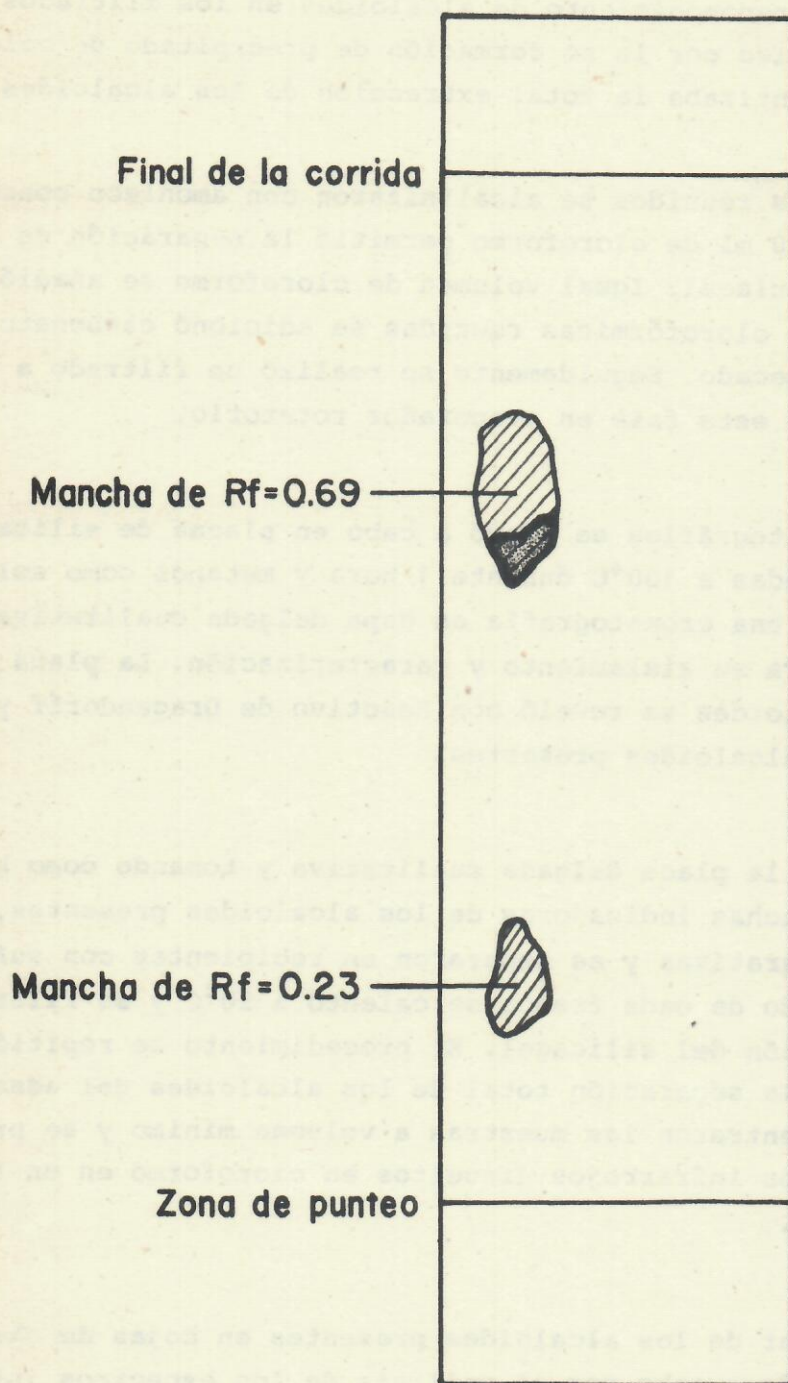


Figura 1.

Representación esquemática de la placa cromatográfica en que se observan las manchas representativas de los alcaloides presentes en las hojas de *Ceratozamia mexicana* Brongn.

Por otra parte, aunque se demuestra la presencia de dos alcaloides fundamentales, y la posible existencia de un tercero, en las hojas de la especie en estudio, no queda determinado si todos los alcaloides existen en estas hojas independientemente de su edad o si por el contrario, alguno(s) se forma como resultado del metabolismo secundario en las hojas mayores de dos años a partir de otros metabolitos. Esta hipótesis pudiera sustentarse con el hecho de que en hojas mayores de dos años se ha reportado la pérdida de fenoles, taninos y saponinas (Peña y cols., 1985). Esta pérdida de metabolitos en las hojas viejas puede relacionarse a procesos de excreción y/o a su transformación en algún compuesto más complejo en la vía biosintética como son los alcaloides. No puede descartarse tampoco el caso contrario, de que en hojas jóvenes existan ambos alcaloides, y en las viejas sólo exista o se sintetice uno. Mas aún, el comportamiento de los fenoles, taninos y saponinas en las especies de *Cycadaceae* estudiadas (Peña y cols., 1985) mantiene estabilidad con la edad, pero en ninguno de los casos se han encontrado alcaloides en sus hojas.

En la *figura 2* se presenta el espectro infrarrojo del alcaloide de $R_f = 0,23$ realizado en cloroformo ya que la cantidad disponible no pudo cristalizarse.

Se distinguen las siguientes bandas:

- 3400 cm^{-1} : Banda de estrechamiento que caracteriza a un grupo N-H u O-H.
- 2900 cm^{-1} : Banda de estrechamiento de un grupo alifático saturado C-H.
- 1720 cm^{-1} : Banda de estrechamiento muy intensa, típica de un grupo cetónico o éster.
- 1620 cm^{-1} : Banda de mediana intensidad que caracteriza insaturaciones.
- 1470 cm^{-1} : Banda de doblaje correspondiente a una amina o amida C-N.
- 1380 cm^{-1} : Banda de doblaje correspondiente a las vibraciones de los grupos $-\text{CH}_2-$, CH_3- .
- 1200 cm^{-1} : Banda de doblaje del grupo C-O-C.

En la *figura 3* se presenta el espectro infrarrojo del alcaloide de $R_f = 0,69$, también realizado en cloroformo. Se distinguen las siguientes bandas:

- 3400 cm^{-1} : Banda de estrechamiento muy intensa que caracteriza a un grupo N-H u O-H.
- 2900 cm^{-1} : Banda de estrechamiento característica de un grupo alifático saturado C-H.

1640 cm^{-1} : Banda ancha de mediana intensidad que caracteriza insaturaciones.

1470 cm^{-1} : Banda de doblaje correspondiente a una amina o amida C-N.

1380 cm^{-1} : Banda de doblaje que se corresponde a las vibraciones de los grupos $-\text{CH}_2-$, CH_3- .

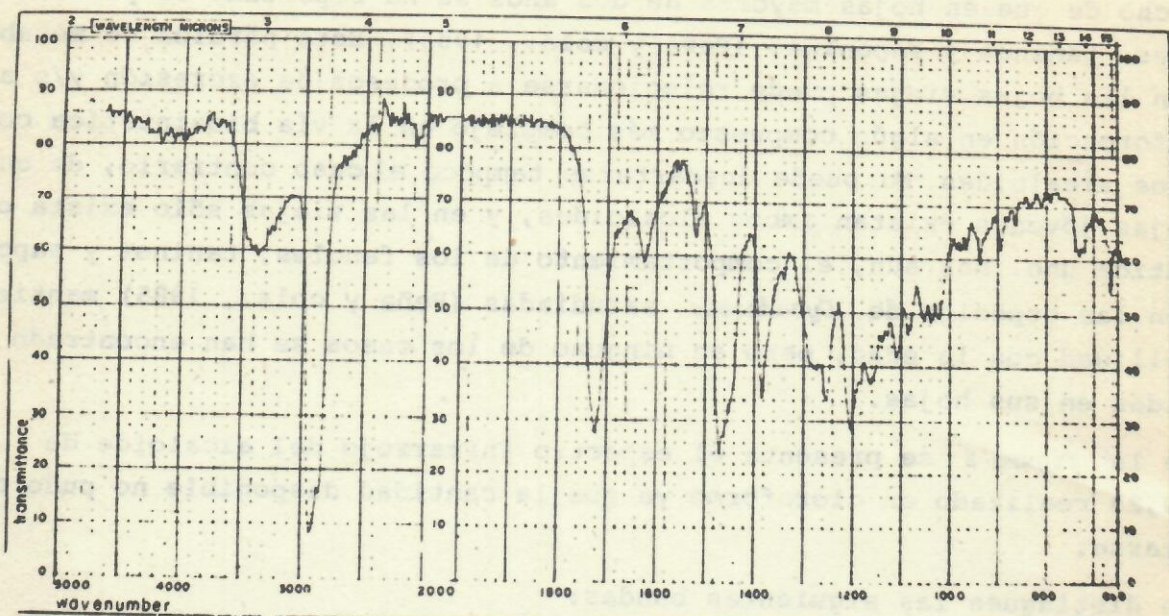


Figura 2. Espectro infrarrojo correspondiente al alcaloide de $R_f=0.23$ disuelto en cloroformo.

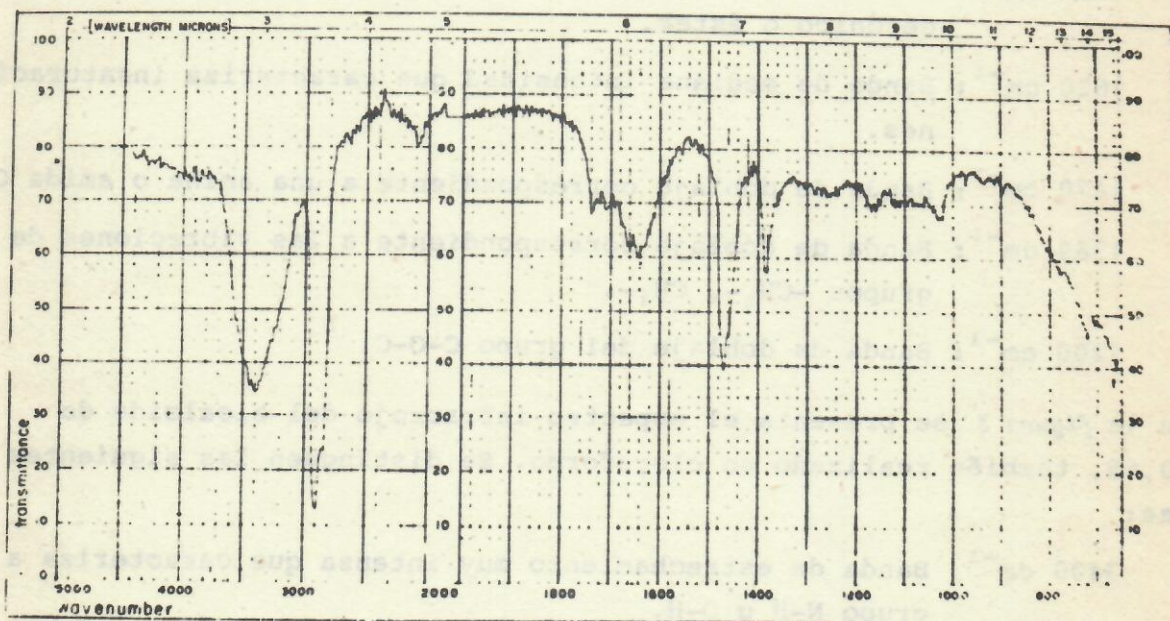


Figura 3. Espectro infrarrojo correspondiente al alcaloide de $R_f=0.69$ disuelto en cloroformo.

Resulta necesario destacar, que aunque en la muestra utilizada para la realización del espectro correspondiente a la mancha de mayor movilidad ($R_f = 0,69$), la concentración del alcaloide que pudiera considerarse como un "contaminante" es tan baja que no altera los resultados de la caracterización realizada para la técnica empleada. Por otra parte, la determinación estructural de ambos alcaloides sólo puede hacerse en forma cristalizada, lo cual pudiera ser objeto de trabajos futuros.

Los resultados obtenidos en este trabajo también sugieren la posibilidad de que otras especies de *Ceratozamia* tengan el mismo comportamiento metabólico, caracterizado por la formación de alcaloides como producto del metabolismo secundario en sus hojas, o que otros órganos de la misma especie lo presenten inclusive en mayor cantidad.

Finalmente, a pesar de que la presencia de alcaloides en Cycadaceae sólo se reporta en *Ceratozamia mexicana* en éste y en un trabajo anterior (Peña y cols., 1985) debe considerarse la posibilidad de la presencia de este tipo de metabolito en género no estudiados, así como en órganos de las especies estudiadas que no fueron contemplados en estos trabajos.

BIBLIOGRAFÍA

- Coulter, J.M. and C.J. Chamberlain
Morphology of spermatophytes. D.Appleton and Company, New York, p. 1-34, 1901.
- Chamberlain, C.J.
"The living Cycads". 2a ed., Chicago p. 7-63, 1919.
- Dorety, H.A.
The seedling of *Ceratozamia*. Bot. Gazette, Vol. 46 p. 205. 1908a.
- Dorety, H.A.
The embryo of *Ceratozamia*: A physiological study. Bot. Gazette, Vol. 45, p. 412-418, 1908b.
- Greguss, P.
Xilotomy of the living Cycads. Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 15-19 y 36-160, 1968.
- Hegnauer, R.
Chemotaxonomie Der pflanzen, Birkhauser Verlag. Basei und Stuttgart, Vol. I, p. 194-321, 1962.
- Juranyi L.
Veber den Bau und die Entwickalun des pollens bei *Ceratozamia longifolia* Miq. Jahrb. Wiss. Bot., Vol. 8, p.382-400, p!s. 31-34, 1872.
- Matte, H.
Note Preliminaire sur des germinations des Cycadacées,
Rennes, 1907.
- Peña, E.; E. Grillo y M. Ruíz:
Metabolitos Secundarios en Cycadaceae: I. Estudio de los tipos de metabolitos secundarios en especies de los géneros *Microcycas*, *Dioon*, *Cycas*, *Zamia* y *Ceratozamia*. Rev. Jard. Bot. Nac. Vol. VI, No. 1, p.125-133, 1985.

Smith, F.G.

Morphology of the trunk and development of the microsporangium of Cycads.
Contributions from the Hull Botanical Laboratory, Vol. 43, p. 187, 1907.

Stevenson, D.

Form follows function in Cycads. Fairchild Tropical Garden, Vol. 35,
No. 1, p.20-24, 1980.

Swain, T. and J.B. Harborne

Phytochemistry. Pergamon Press, Vol. 12, No. 2, p. 371-373, 1973.

Recibido: 9 de enero de 1986.