

# Fitoquímica y Quimiotaxonomía en *Rauvolfia*. Alcaloides de *Rauvolfia x ivanovii* Granda et Fuentes en relación con los de sus progenitores.

Jorge A. Martínez Pérez,

Osmany Montero Tápanes, Manuel Sierra Martínez

Mercedes Machua Veitía y Víctor R. Fuentes Fiallo \*.

Facultad de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.

\* Estación de Plantas Medicinales Juan T. Roig". Ministerio de Salud Pública.

## RESUMEN:

Se someten a estudio fitoquímico en busca de alcaloides diversas muestras de los diferentes órganos del híbrido *Rauvolfia x ivanovii* Granda et Fuentes y sus parentales (*R. viridis* Willd. ex R. et Sch. y *R. ligustrina* R. et Sch.).

Se analiza la distribución de los alcaloides identificados por especies y se evalúan parámetros de interés quimiotaxonómico tales como tipos y subtipos estructurales, grados de especialización y de oxidación, estereoquímica, y patrón de sustitución en el anillo aromático de los alcaloides, lo que revela las semejanzas y divergencias entre los taxa considerados.

## ABSTRACT:

A phytochemical research, looking for alkaloids on *Rauvolfia x ivanovii* Granda et Fuentes and its parent species (*Rauvolfia viridis* Willd. ex R. et Sch. and *Rauvolfia ligustrina* R. et Sch.) is performed.

The distribution of the identified alkaloids in each species is analyzed, and some chemotaxonomically interesting parameters such as structural groups and subgroups, skeletal specialization, oxidation level, stereochemical characteristics and substitution pattern in their aromatic ring are evaluated, thus revealing the similarities and differences among the studied taxa.

*Rauvolfia x ivanovii* Granda et Fuentes fue descrita como un híbrido espontáneo de este importante género de la familia de las apocináceas, surgido en la Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan T. Roig" de San Antonio de los Baños y caracterizado morfológicamente en relación con sus parentales por Granda et Fuentes (1985).

Según estos autores, el cruzamiento natural de las especies *R. ligustrina* R. et S. y *R. viridis* Willd. ex R. et S. estuvo condicionado por la cercanía taxonómica de estas especies y la posibilidad, no factible en las condiciones naturales por su distante localización geográfica en nuestro país, de acercamiento en las condiciones de cultivo en la referida Estación.

*Rauvolfia viridis* ha sido evaluada recientemente (Martínez y col. 1988) como productora de cantidades significativas de ajmalina, un alcaloide dihidroindólico de interés terapéutico y comercializable en la actualidad, mientras que *R. ligustrina* ha sido informada (Mueller, 1957) como fuente potencial de reserpina y sus congéneres, alcaloides que por más de 35 años han ocupado un lugar importante como hipotensores y sedantes en el arsenal quimioterapéutico de la humanidad.

Diversos autores (Kisakurek y Hesse, 1984; Bolzani y col., 1984) han evidenciado que, por sus características estructurales y relaciones biogénicas, la distribución de alcaloides indólicos monoterpénicos en especies vegetales presenta características de especificidad taxonómica y resulta apropiada para consideraciones quimiotaxonómicas comparativas.

El presente trabajo aborda un estudio fitoquímico comparativo de estas dos especies, con el fin de

establecer la comparación del espectro alcaloidal que biosintetizan, así como definir la presencia de alcaloides de interés económico actual. A la par, se realiza una evaluación quimiotaxonómica del híbrido en relación con sus parentales en base a estos metabolitos.

## Parte Experimental. Material vegetal.

Los ejemplares sometidos a estudio en este trabajo fueron colectados en la Estación Experimental "Dr. Juan T. Roig" y en diversas localidades del país. Cada una de las muestras cuenta con ejemplares depositados en el herbario de la referida Estación.

## Extracción, purificación y fraccionamiento de los alcaloides.

Para estos fines se emplearon técnicas de extracción y purificación preliminar de alcaloides descritas en trabajos anteriores (Martínez y col., 1988). Para el fraccionamiento de los crudos alcaloidales a nivel preparativo se utilizaron técnicas de separación por distribución en contracorriente, cromatografía en columna, gradiente de acidez y de cristalización fraccionada cuyas características más generales se han informado con anterioridad (Martínez, 1989). Han sido empleados a lo largo de todo este trabajo los métodos cromatográficos en capa, también referidos con anterioridad (Martínez y col., 1988), a los que se ha incorporado la utilización de la solución reactivo de 2,4 dinitrofenil-hidracina en medio ácido para la discriminación específica de la base 2-acilindólicas.

## Caracterización de los estados alcaloides purificados.

Las técnicas espectroscópicas empleadas para este fin se han informado con anterioridad (Martínez y col., 1988).

## RESULTADOS Y DISCUSION

La tabla I registra las características del material sometido a estudio, así como los rendimientos de los crudos alcaloidales obtenidos.

La tabla II resume los resultados obtenidos en las experiencias de fraccionamiento e identificación de los alcaloides, por especie y órgano vegetal. En primer término, se destaca la escasa variabilidad registrada, en cuanto a tipos estructurales de alcaloides se refiere, en la composición de los diferentes órganos de las especies estudiadas, aún cuando se comparan los espectros alcaloidales de ejemplares cosechados en diferentes condiciones de desarrollo, estacionales, ecológicas, etc., lo que ofrece una base más amplia para la interrelación de la distribución de alcaloides registrada.

Referente a las hojas, *R. ligustrina* y *R. x ivanovii* presentaron un amplio predominio, tanto en diversidad como en abundancia, de bases débiles, entre las que se identifican varios alcaloides con núcleo oxayohimbano (Tabla II; figura 1) *R. viridis*, en contraste, acumula bases del tipo 2 acil-indólicas (núcleo vobasano y derivados, figura 1) como componentes mayoritarios en todas las muestras procesadas.

La composición alcaloidal de los tallos se desplaza, en parte, de los tipos estructurales anteriores hacia las bases dihidroindólicas con núcleo ajmalano. Entre éstas, la ajmalina es el componente común a todas las especies. La composición de bases débiles de este órgano vegetal muestra la misma polarización en *R. viridis* (núcleo vobasano) y en *R. ligustrina* y el híbrido (tipo oxayohimbano y yohimbano, figura 1).

En las raíces, la abundancia y diversidad de dihidroindoles es muy marcada en *R. viridis* y *R. x ivanovii* (más del 50 % del crudo alcaloidal); en contraste, *R. ligustrina* acumula una pobre cantidad de estos alcaloides en este órgano vegetal. Por otro lado, se aprecia convergencia entre esta última especie y el híbrido, por la presencia de proporción apreciable de oxayohimbinas dimetoxiladas de las series ALLO/EPI-ALLO. No se detectaron estos alcaloides en *R. viridis*.

Los resultados anteriores concuerdan con los obtenidos en estudios previos sobre *R. viridis* (Martínez, 1989) y *R. ligustrina* (Mueller, 1957) y se corresponden en general con las observaciones realizadas por Court y Col (1983) luego de extensos estudios sobre la composición alcaloidal de 10 especies africanas del género: a medida que se desciende desde los órganos aéreos hacia la raíz se observa una progresión oxayohimbano-yohimbano-ajmalano.

Si se tienen en cuenta las consideraciones biogenéticas sobre estos alcaloides (Kisakurek y Hesse, 1980), el número de aislamientos por tipos de cada núcleo estructural resulta útil a la hora de establecer consideraciones taxonómicas en base a su distribución.

Si nos referimos al total de aislamientos de alcaloides formados a partir de un precursor del tipo C (Tabla III) por formación de enlaces con la participación del C-16 o del C-17, se obtiene un elemento, al parecer confiable, para la distinción de las especies en consideración: *R. viridis*, en contraste con las otras dos especies, presenta una marcada preferencia por la participación del C-16 en la biogénesis de alcaloides. Las diferencias entre *R. ligustrina* y *R. x ivanovii* no resultan notables.

Si se consideran las características estereoquímicas correspondientes a los diferentes subtipos, se encuentra la situación que se resume en la Tabla IV. *R. ligustrina* y *R. x ivanovii* registran una polarización total hacia las series ALLO/EPI-ALLO de los alcaloides con núcleos oxayohimbano y yohimbano y hacia la configuración C-2 (R) en los alcaloides con núcleo ajmalano. En contraste, *R. viridis* presenta alcaloides de ambas series configuracionales a nivel del C-2 en este último caso y bases de los grupos ALLO y NORMAL en los primeros.

Otro parámetro que ha sido utilizado en este tipo de evaluaciones resulta el patrón de sustitución en el anillo aromático de estos alcaloides. La Tabla V ofrece la información correspondiente a las bases con núcleo oxayohimbano; de nuevo, *R. viridis* muestra un notable contraste respecto a las otras dos especies.

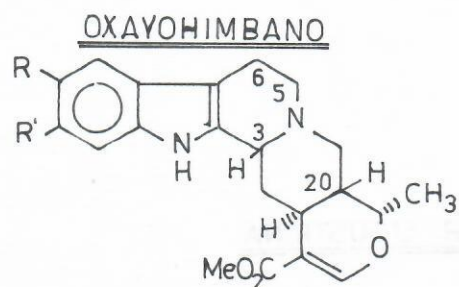
Bolzani y col. (1984), han considerado los parámetros denominados grado de especialización (Gs) y de oxidación (Go) de los alcaloides indólicos como marcadores sistemáticos en especies vegetales. El primero resulta una medida del grado de complejidad en su elaboración, al tomar en cuenta el número de etapas biogenéticas que originan los diferentes núcleos estructurales y, a la par de la versatilidad en la capacidad biogenética de los taxa en cuestión. El término Go es una medida del índice de deficiencia de hidrógeno y del número de heteroátomos en la estructura molecular de los alcaloides considerados. La Tabla VI ofrece los resultados obtenidos en la evaluación de estos dos parámetros en las especies objeto de estudio. Entre éstos, Gs parece ser de utilidad quimiotaxonómica al comprobarse que *R. viridis* presenta un valor que supera ampliamente al obtenido para *R. ligustrina* y *R. x ivanovii*.

La confección de poligonogramas como los que se muestran en la figura 2, en los que se señalan sobre 13 ejes igual número de variables estudiadas, permite destacar de manera más integral y convincente las relaciones de los taxa bajo estudio. Cabe destacar la semejanza de los polígonos correspondientes a *R. ligustrina* y *R. x ivanovii* y, a su vez, la clara distinción en relación con el obtenido para *R. viridis*. Esta situación se corresponde con la obtenida por Granda y Fuentes (1985), los que observaron una relación análoga en los poligonogramas obtenidos a partir de 13 caracteres morfológicos y en los que *R. x ivanovii* alcanzó valores intermedios, pero más cercanos a *R. ligustrina*, respecto a sus progenitores.

## CONCLUSIONES

1.- El conjunto de alcaloides identificados en los diferentes órganos del híbrido *R. x ivanovii* se halla centrado en el grupo de las oxayohimbinas de configuraciones ALLO/EPI-ALLO (4 alcaloides), acompañados de alfa-yohimbina y de ajmalina. Se trata de la primera identificación de estos alcaloides en este taxon, no sometido a estudios fitoquímicos con anterioridad.

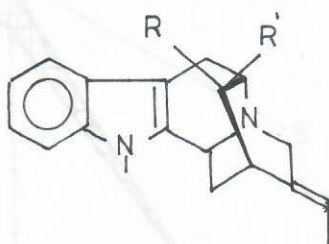
2.- La comparación de las características del espectro alcaloidal de *R. x ivanovii* respecto a sus parentales ha revelado una marcada convergencia con relación al registrado para *R. ligustrina*, al menos, en lo que se refiere a los componentes más abundantes. La influencia más notable del otro progenitor sobre el híbrido se limita, al parecer, a una acumulación apreciable de ajmalina en la raíz de este último.



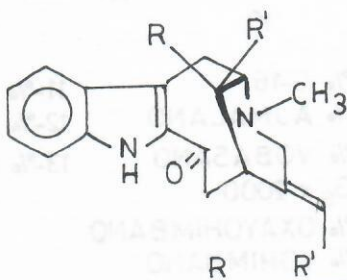
R R' 3 20

tetrahydroalstonina	H	H	$\alpha$	$\alpha$
aricina	MeO	H	$\alpha$	$\alpha$
reserpilina	H	MeO	$\alpha$	$\alpha$
iso-reserpilina	MeO	MeO	$\alpha$	$\alpha$
reserpilina	MeO	MeO	$\beta$	$\alpha$
iso-reserpilina	H	MeO	$\beta$	$\alpha$
serpentina	H	H	-	$\beta$ $\Delta$ 3-4 5-6

SARPAGANO

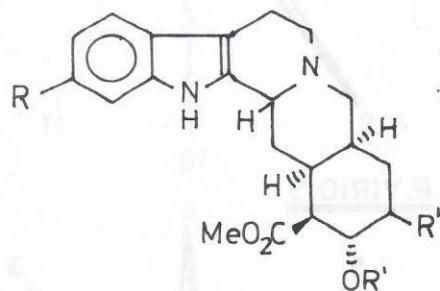


VOBASANO



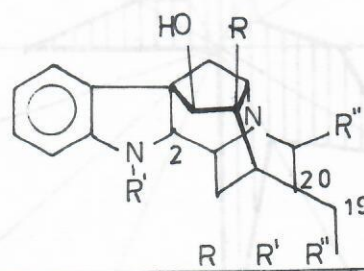
vobasina	CO <sub>2</sub> Me	H		
rauviridina	CO <sub>2</sub> Me	H	N(Me) <sub>2</sub>	4 5 seco

YOHIMBANO



	R	R'	R''	3
$\alpha$ -yohimbina	H	H	H	$\alpha$
reserpina	MeO	MeO	TMB-O	$\beta$

AJMALANO



ajmalina	H	Me	OH	
quebrachidina	CO <sub>2</sub> Me	H	H	$\Delta$ 19-20

Fig. 1 Estructuras y núcleos constitucionales de los alcaloides purificados e identificados.

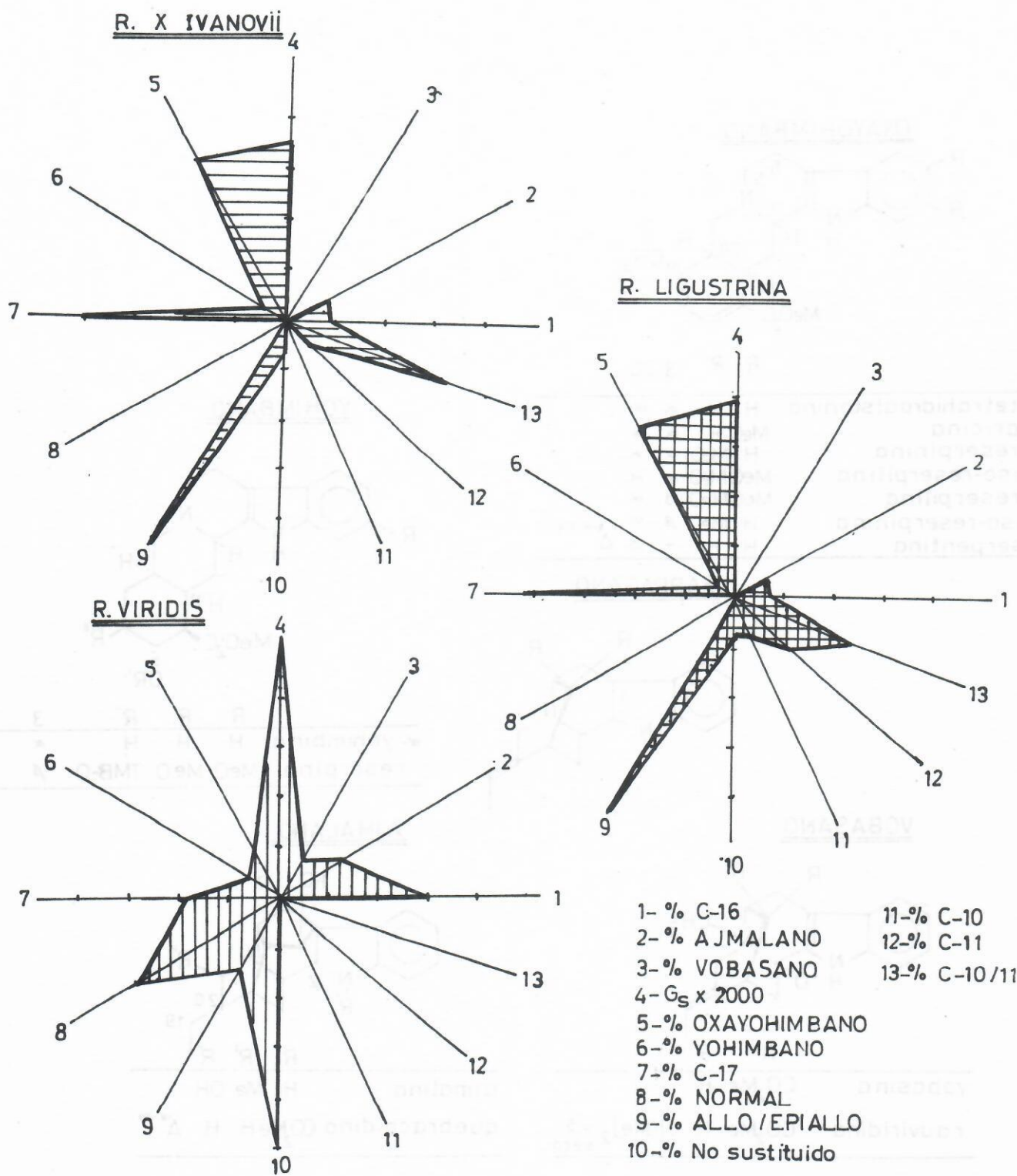


Fig. 2 Polinogramas de 13 variables para los taxa evaluados.

**Tabla I.** Características del material vegetal sometido a estudio y su rendimiento en alcaloides. (H: hojas, Tj: tallos jóvenes, Tc: tallos corteza, Rc: raíces corteza; E.E: Estadio de desarrollo: F/F: floración /fructificación, D: desfoliación; EEPM: Estación Experimental de Plantas Medicinales "J.T. Roig", San Antonio de los Baños, Habana, Cauto: Localidad conocida como "El Henequén", desembocadura del Cauto, Manzanillo, Granma, JBLT: Jardín Botánico de las Tunas, Las Tunas).

Especies y órganos	Peso seco y molido	#de herbario E.D.	Fecha y lugar de recolecc.	%de bases Fracc. A
<i>R. x ivanovii</i>				
Tj	192 g	4655 F/F	EEPM 26/5/86	0,50
H	156 g	4667 F/F	EEPM 3/8/88	1,30
Tj	148 g	4666 F/F	EEPM 3/8/88	0,45
Tc	82 g	4748 D	EEPM 9/2/89	2,30
Rc	85 g	4749 D	EEPM 9/2/89	1,30
<i>R. ligustrina</i>				
Tc	57 g	4662 F/F	EEPM 3/8/88	4,56
Rc	87 g	4664 F/F	EEPM 3/8/88	4,34
H	500 g	4665 F/F	EEPM 3/8/88	1,22
Tc	267 g	-----	EEPM 10/2/83	5,00
Tc	63 g	4750 D	EEPM 9/2/89	2,05
<i>R. viridis</i>				
Tc	40 g	4647 F/F	Cauto 29/6/88	2,0
H	100 g	4646 F/F	Cauto 29/6/88	0,6
Rc	35 g	4648 F/F	Cauto 29/6/88	4,3
Rc	15 g	..... F/F	JBLT 29/4/88	5,3
Tc	40 g	.....F/F	EEPM 26/5/88	1,9
H	100 g	.....F/F	EEPM 26/5/88	0,65

**Tabla II.** Alcaloides identificados en las especies objeto de estudio.

Especies	Organos	Alcaloides purificados e identificados.
<i>R. x ivanovii</i>	Hojas	tetrahydroalstonina, reserpilina e iso-reserpilina.
	Tallos	reserpilina, reserpilina, iso-reserpilina, alfa-yohimbina y ajmalina.
	Raíces	reserpilina, iso-reserpilina y ajmalina.
<i>R. ligustrina</i>	Hojas	tetrahydroalstonina, aricina, reserpilina, reserpilina e iso-reserpilina.
	Tallos	tetrahydroalstonina, aricina, reserpilina, reserpilina, iso-reserpilina, iso-reserpilina, alfa-yohimbina y ajmalina.
	Raíces	reserpilina, iso-reserpilina y ajmalina.
<i>R. viridis</i>	Hojas	vobasina, rauviridina, yohimbina, serpentina.
	Tallos	vobasina, rauviridina, quebrachidina, ajmalina y serpentina.
	Raíces	vobasina, yohimbina, alfa-yohimbina, quebrachidina, ajmalina y serpentina

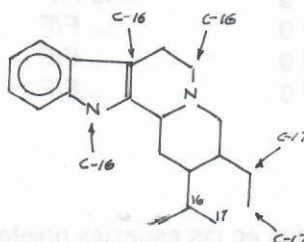
**Tabla III.** Algunas características estereoquímicas de los alcaloides purificados e identificados.

Especies y órganos	núcleos o/y	núcleo ajmalano
	ALLO-EPI-ALLO / NORMAL*	C-2 R/C-2S*
R. x ivanovii		
H	100/0	-----
T	100/0	100/0
R	100/0	100/0
R. ligustrina		
H	100/0	-----
T	100/0	100/0
R	100/0	100/0
R. viridis		
H	0/100	-----
T	0/100	50/50
R	33/67	50/50

Nota: \* Porcentaje del total de aislamientos correspondiente a cada serie configuracional.

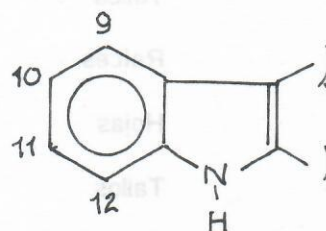
**Tabla IV.** Porcentajes del total de aislamientos de alcaloides formados a través de un enlace que involucra el C-16 o C-17 a partir de un precursor del tipo C.

Especies	% C-16	%
R. x ivanovii	18	82
R. lioustrina	12	88
R. viridis	60	40



**Tabla V.** Porcentajes del total de aislamientos de alcaloides con núcleo oxayohimbanó correspondientes a cada tipo de sustitución en el anillo aromático.

Especies	% de sustitución			
	No sust.	C-10	C-11	C-10/C-11
R. x ivanovii	12.5	-----	12.5	75
R. lioustrina	15	15	25	45
R. viridis	100	-----	-----	-----



**Tabla VI.** Grados de especialización (Gs) y de oxidación (Go) registrados para los alcaloides purificados por especies.

Especies	Gs	Go
R. x ivanovii	0.0401	16.8
R. lioustrina	0.0370	16.8
R. viridis	0.0569	16.0

## NUEVAS ADQUISICIONES

La Biblioteca del Jardín Botánico Nacional ha recibido durante 1994 un importante donativo de literatura científica a través de Association of Systematics Collections (ASC) de Washington, DC, que enriquece sustancialmente los fondos e incrementará la calidad del servicio a los usuarios. Esta adquisición es una contribución que de hecho facilita el trabajo científico y docente en estudios sobre recursos vegetales, tanto para la Flora de Cuba como para las Antillas en general.

Los títulos recibidos son los siguientes:

- 1- Phylogeny and Classification of the Orchid Family/ Dressler, R.L. (1993)
- 2- Indices to the species of mosses and lichens described by William Mitten/ Thiers, B.M. (1992)
- 3- Agaric Flora of the Lesser Antilles/ Pegler, D.N. (1983)
- 4- Novitates Antillanae IV/ Liogier, A.H. (1971)
- 5- Anatomy of the Dicotyledons/ Metcalfe, C.R. et al, Vol I y II
- 6- Anatomy of the Monocotyledons/ Metcalfe, C.R. (1969-82)
- 7- Rare Plant Conservation. Geographic Data Organization/ ed. L.E. Morse and M.S. Henifin (1981)
- 8- Ethnobotany in the Neotropics. Proceedings of the "Ethnobotany in the Neotropics Symposium" (1984)
- 9- Reproductive Biology and Evolution of Tropical Woody Angiosperm/ ed. G. Gottsberger and G.T. Prance (1990)
- 10- Flora of the Lesser Antilles/ 6 vols. (1974-89)

Otro donativo importante lo constituyó el envío de 60 volúmenes completos y 52 números sueltos de la revista *Mycología*, por parte del **New York Botanical Garden** lo cual apoya sustancialmente el trabajo científico en la esfera micológica.

*Sirva esta pequeña nota para expresar públicamente el agradecimiento del Jardín Botánico Nacional a **Association of Systematics Collections** y **New York Botanical Garden** por tan noble gesto y valiosa colaboración.*

La Dirección.