

ALCALOIDES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN *Eucharis amazonica*, *E. grandiflora*, *Caliphruria subedentata* y *Crinum kunthianum*, ESPECIES COLOMBIANAS DE AMARYLLIDACEAE

RESUMEN

Alcaloides con estructuras carbonadas tipo: licorina, narciclasina, crinina, hemantamina, tazetina y galantamina fueron aislados de *Eucharis amazonica*, *E. grandiflora*, *Caliphruria subedentata* y *Crinum kunthianum*, especies colombianas de la familia **Amaryllidaceae**. Algunas de estas especies están en peligro de extinción. Estos compuestos presentan actividad biológica.

PALABRAS CLAVES: Actividad biológica, alcaloides, **Amaryllidaceae**.

ABSTRACT

Alkaloids belonging the carbonated skeletal types: Lycorine, Narciclasine, Crinine, Haemanthamine, Tazetine and Galanthamine were isolated from: Eucharis amazonica, E. grandiflora, Caliphruria subedentata and Crinum kunthianum, Colombian species of Amaryllidaceae. Several species are probably extinct. This compounds have shown different activities.

KEYWORDS: *Alkaloids, Amaryllidaceae, Biological activity*

FABIO CABEZAS

Químico, *Ph. D.*
Profesor Titular
Universidad del Cauca
facabz@unicauca.edu.co

JUAN ARGOTI

Químico, *M. Sc.*
Profesor Asociado
Universidad del Cauca.
juanarg@unicauca.edu.co

SANTIAGO MARTINEZ

Ingeniero Electrónico *M. Sc.*
Profesor Auxiliar
Universidad del Cauca.
samartinez@unicauca.edu.co

CARLES CODINA

Licenciado en Farmacia, *Ph. D.*
Profesor titular
Universidad de Barcelona
carlescodina@ub.es

JAUME BASTIDA

Licenciado en Farmacia, *Ph. D.*
Profesor titular
Universidad de Barcelona
jaumbastida@ub.es

FRANCESC VILADOMAT

Licenciado en Farmacia, *Ph. D.*
Profesor titular
Universidad de Barcelona
francescviladomat@ub.es

1. INTRODUCCIÓN

Colombia presenta una alta diversidad botánica debido a su situación en el trópico húmedo ecuatorial. Los ecosistemas andinos localizados entre selvas y serranías se caracterizan por una gran pluriculturalidad representada por unas 800 comunidades indígenas y negras pertenecientes a unos 81 grupos étnicos (cerca de 450.000 individuos), asentados en gran parte del territorio nacional, siendo el uso de plantas medicinales parte integral de su riqueza cultural, con prácticas médicas desarrolladas a lo largo de milenios, aunque influenciadas por un proceso de aculturación y violencia.

Las **Amaryllidaceae** constituyen una familia botánica ampliamente distribuida en la zona, con poblaciones representativas en los géneros *Phaedranassa*, *Sprekelia*, *Hymenocallis*, *Zephyrantes*, *Hippeastrum* y *Crinum*. Se presenta distribución restringida de *Eucharis* y endemismo de *Caliphruria*, considerándose estos dos últimos géneros en vía de extinción¹, por lo cual es importante utilizar técnicas de propagación de plantas bulbosas buscando la conservación de los géneros mencionados.

Los estudios fitoquímicos revelan, además de otros metabolitos, la presencia de alcaloides de tipo isoquinolina característicos para la familia, constituyéndose en marcadores quimiotaxonómicos. Algunos de estos compuestos muestran actividad

biológica importante, por lo cual han empezado a ganar importancia económica y en farmacología^{2,3}

2. CONTENIDO

2.1 Material Vegetal

Las plantas fueron colectadas en el sur occidente del Colombia. *Echaris grandiflora* (código F.C.-21) fue colectada a 1000 m.s.n.m. Kilómetro 2 de la vía Cali-Palmira. *Eucharis amazonica* (código A.C.-18) fue colectada 1450 m.s.n.m. en el centro de estudios de Tambito (Tambo-Cauca). *Caliphruria subedentata* (Código F.C.-20) Kilómetro 3 de la carretera Tambo-Popayán a 1750 m.s.n.m. *Crinum kunthianum* (A.C.-19) a 1900 m.s.n.m. en la base del cerro de Munchique, municipio del Tambo. Todas las muestras fueron colectadas en época de floración y están referenciadas en el herbario de la Universidad del Cauca (Colombia), de acuerdo a las claves descritas.

2.2 Etnobotánica

Bulbos de algunas especies de *Crinum* se emplean como tónicos amargos, laxantes, tratamientos de algunas enfermedades pectorales, como rubefaciente, contra reumatismo y hemorroides.

Eucharis grandiflora se considera como planta medicinal en la Amazonía de Colombia en tratamientos con enfermedades del corazón, por otra parte, en las tierras bajas del Ecuador es usada en afecciones en la piel como ronchas, picaduras de mosquitos, mordeduras de culebras⁴

Eucharis amazonica según la tribu de “los Cofanes” utilizan toda la planta incluyendo el bulbo para preparar una infusión emética en la caza de monos⁵

Por su parte *Caliphruria subedentata*, se usa en la región andina central de Colombia, en forma de emplastos para tratar afecciones de laringe y faringe.

2.3 Actividad Biológica

La actividad biológica es muy variada y depende del tipo de acople fenol-oxidativo, en el proceso biogénico, el cual da origen a las diferentes tipos de estructuras carbonadas.

En nuestros laboratorios de investigación hemos encontrado los siguientes resultados: los extractos etanólicos totales de *Eucharis amazonica* y *Caliphruria subedentata* muestran una marcada actividad citotóxica y una baja genotoxicidad en linfocitos humanos, estos resultados permiten vislumbrar un potencial uso de estas plantas como anticancerígenas. El

extracto etanólico de *Crinum kunthianum* muestra una marcada actividad citotóxica y se esta evaluando en el momento su actividad genotóxica⁶.

2.4 Materiales Y Métodos

El aislamiento de los alcaloides se hizo de acuerdo a los métodos tradicionales de extracción ácido-base⁷. Los extractos alcaloídicos se sometieron al análisis por cromatografía de capa delgada (C.C.D.).

Una vez desarrolladas se observaron sus fluorescencias a la luz U.V. (254 nm, lámpara U.V. GL 58 Mineralight & Black-Ray) y se reveló con reactivo de Dragendorff modificado. Posteriormente se procedió a su separación sometiéndolos a técnicas cromatográficas a saber: Cromatografía líquida al vacío (CLV) usando como solventes fracciones de 200 mL de hexano, hexano-AcOEt, AcOEt y AcOEt-MeOH. Las combinaciones binarias se prepararon en diferentes proporciones. Las mezclas con MeOH hasta 20 %.

Purificación.

En la mayoría de los casos se utilizó la Cromatografía de Capa Delgada Preparativa (CCDP). Se usaron cromatoplasas Merck de sílica gel 60 F₂₅₄ de 20 x 20 cm y 1 mm de espesor, con soporte de vidrio. El peso máximo aplicado por cromatoplasa fue de 40 mg. El desarrollo se hizo con diferentes mezclas de solventes en cubetas cromatográficas de vidrio, secando y observando la fluorescencia a la luz U.V. (254 nm), se marcó con lápiz y se reveló en el extremo (1cm) con el reactivo de Dragendorff. Se recogió y se trató la franja (s) de interés.

Identificación de alcaloides.

Para la determinación estructural de los alcaloides aislados se utilizaron las siguientes técnicas instrumentales:

Espectro Infrarrojo (IR). Espectrofotómetro Perkin-Elmer Modelo 1430 ó 1600 FT IR, en pastilla de KBr o en película (CHCl₃).

Espectro de Resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C. Se realizaron en espectrofotómetros VARIAN modelos Gemini-200, Gemini 300 y VXR-500. Los productos se disolvieron en CDCl₃, CDCl₃-CD₃OD, CD₃OD usando como referencia interna TMS y CHCl₃. Los espectros de correlación homo y heteronuclear ¹H-COSY, HMBC, HMQC y ROESY se corrieron en un aparato VARIAN VXR-500, utilizando las secuencias de pulsos estándar. Las correlaciones bidimensionales ¹H, ¹³C se efectuaron a 200 MHz y 50 MHz respectivamente.

Espectro de Masas (EM). Espectrómetro HEWLETT-PACKARD Modelo 5989 A, con introducción directa de las muestras y con una energía de ionización de 70 eV.

Análisis elemental (AE). Analizador EAGER 200 Stripchart, tiourea como referencia interna.

Puntos de fusión. Tubos capilares abiertos, con un aparato Büchi CTP-MP 300, o Gallenkamp M.P. Se reportan sin corrección.

Dicroísmo circular (DC). Espectropolarímetro JASCO J-720, expresando los resultados como elipticidad molar $[\Theta]$. Técnica espectroscópica utilizada en análisis estereoquímico, aplicada en alcaloides de **Amaryllidaceae** en su elucidación estructural. Para todos los casos la concentración es 1 mg/mL.

Rotación específica $[\alpha]_D$. Polarímetro Perkin-Elmer 241, 40 microamperios, 20°C, utilizando una lámpara de sodio de $\lambda = 589$ nm, EtOH, MeOH y CHCl_3 como solventes. Este dato se evalúa en las condiciones estandarizadas para cada alcaloide por el grupo investigador en **Amaryllidaceae** de la universidad de Barcelona. Se compara con la información registrada en la base de datos.

3. RESULTADOS

Los alcaloides obtenidos fueron los siguientes^{8,9}:

Alcaloides tipo Licorina

Licorina (*E. amazonica*, *E. grandiflora*, *C. subedentata*, *C. kunthianum*) Emético, analgésico, antiinflamatorio, estimulante respiratorio y expectorante.

Hipadina (*C. kunthianum*) N.R.

Pratorimina (*C. kunthianum*) N.R.

Pratorinina (*C. kunthianum*) Disminuye la glicólisis en la respiración.

*7-Metioxiexoassoanina (*E. amazonica*) N.R.

2-O-Acetillicorina (*E. grandiflora*) N.R.

Homolicorina (*C. subedentata*) Citotóxico (LMTK)

Alcaloides tipo Narciclasina

Trisferidina (*E. grandiflora*, *E. amazonica*, *C. kunthianum*) N.R.

Ismina (*E. grandiflora*, *E. amazonica*) Citotóxico (linfoides molt 4), (LMTK)

Alcaloides tipo Crinina

Crinamidina (*C. kunthianum*) Antimalárico.

Bufanidrina (*C. kunthianum*) N.R.

1-Epideacetilbowdensina (*C. kunthianum*) Citotóxico y antiesplamodico

Powellina (*C. kunthianum*) Citotóxico antitumoral.

Alcaloides tipo Tazetina

Tazetina (*E. amazonica*, *E. grandiflora*) Débil hipotensivo, antitumoral, activo contra líneas Co 12.

3-Epimacronina (*E. amazonica*, *E. grandiflora*) Citotóxico (Molt4), (CMTK)

*6-O-Metilpretazetina (*E. amazonica*) N.R.

3-O-Demetiltazetina (*E. grandiflora*) N.R.

Alcaloides tipo Galantamina

Galantamina (*E. amazonica*, *E. grandiflora*, *C. subedentata*) inhibidor enzimático, analgésico, anticonvulsivo, hipotensivo, citotóxico contra células tumorales.

3-O-Metilgalantamina (*E. amazonica*) N.R.

Sanguinina (*E. grandiflora*) N.R.

Alcaloides tipo Hemantamina

Hamaina (*C. kunthianum*, *E. grandiflora*, *C. subedentata*)

Hemantamina (*C. subedentata*, *E. amazonica*)

Hipertensivo, citotóxico.

Vitamina (*E. amazonica*) Analgésico

8-O-Metilmaritidina (*E. amazonica*, *E. grandiflora*)

Maritidina (*C. subedentata*) Antineoplásico.

11-Hidroxitatina (*E. grandiflora*) N.R.

1,2-Dihidroxitatina (*E. grandiflora*) N.R.

*Apoematamina (*E. amazonica*) Citotóxico y antiplasmodico.

*Reportados por primera vez de fuente Natural⁸

**Actividad Biológica²

N.R: No se reporta.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las especies *E. Amazonica*, *E. Grandiflora*, *C. kunthianum* y *C. subedentata*, presentan un amplio contenido de tipos de alcaloides, algunos de ellos con actividad biológica muy importante, caso de galantamina, lo cual permite vislumbrar para Colombia un importante potencial agroindustrial.

Se requiere de políticas muy serias de conservación y propagación de estas especies, dada la importancia farmacológica, económica y social de este tipo de recursos naturales⁸.

Es necesario profundizar en estudios etnobotánicos, lo cual permitiría una mayor información acerca de los usos de estas especies, por comunidades indígenas rurales, etc.

5. BIBLIOGRAFÍA

[1] S.E. Calderón. Proyecto flora amenazada. Lista roja de plantas fanerógamas de Colombia. Familia Amaryllidaceae. Instituto Alexander Von Humboldt. Diciembre de 2003.

[2] J. Bastida, and F. Viladomat. Alkaloids of Narcissus. In: *Narcissus and Daffodil, the genus Narcissus*. Edited by Gordon R. Hanks. Horticulture Research International, Kirton, UK. London and New York (2002).

[3] F. Cabezas; J. Argoti; C. Codina; S. Martínez. Posibilidades de Comercialización a Nivel Industrial de Galantamina a partir de Especies Colombianas de los Géneros *Eucharis* y *Caliphurria* (Amaryllidaceae). *Actualidades Biológicas*. Medellín: v.27, n.1, 2005.

[4] A. Alvarado . Medicinal plants of Ishpingo Botanical Garden. Amazon Plants conservation Center. Jatun Sacha Biological Station. Fundación Jatun Sacha . Quito-Ecuador. 1996

[5] Schultes, R. Evans & R. F. Raffaut. "The healing forest – Medicinal and toxic plants of the Northwest amazonia" Dioscorides Press: Pórtland, OR-U.S.A., 1990.

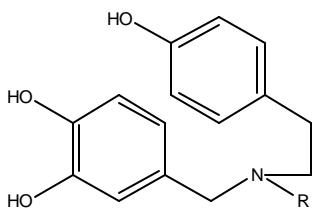
[6] S. Carvajal., F. Cabezas. et al. Análisis de la Actividad citotóxica y genotóxica de los extractos polares de *Eucharis amazonica* y *Caliphurria subdentata*. Por publicar.

[7] X.A. Domínguez. Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial LIMUSA. 1973

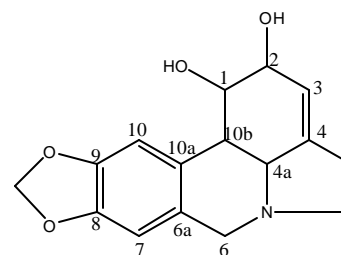
[8] F. Cabezas; A. Ramírez; C. Codina; J. Bastida; F. Viladomat. New Alkaloids from *Eucharis amazonica* (Amaryllidaceae). *Chem. Pharm. Bull. Tokio*: , v.51, n.3, p.315 - 317, 2003.

[9] A. Ramirez; F. Cabezas; J. Bastida; F. Viladomat; Codina, C. Alkaloids from the leaves of *Crinum kunthianum* ROEM.. *Revista Latinoamericana de Química*. Laboratorio Mixim, S.A. de CV: ,v.9, p.26-31, 2001.

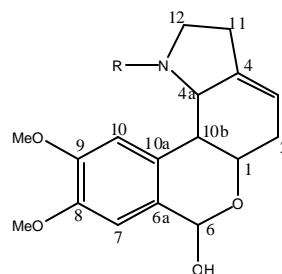
Anexo:



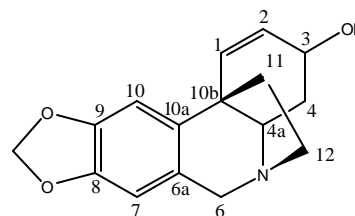
Norbelladina



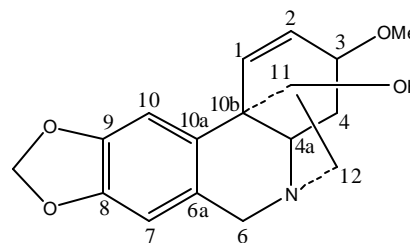
licorina



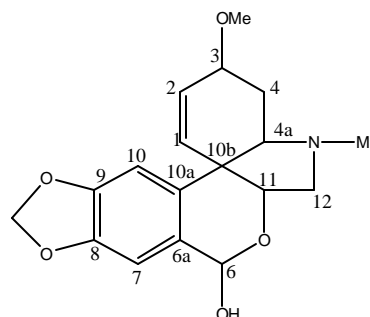
licorenina



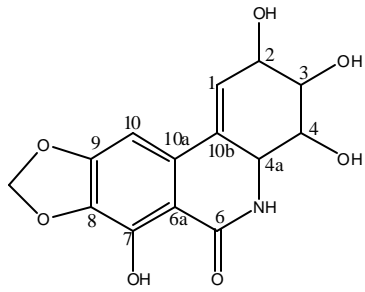
crinina



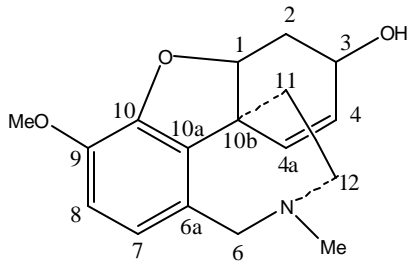
hemantamina



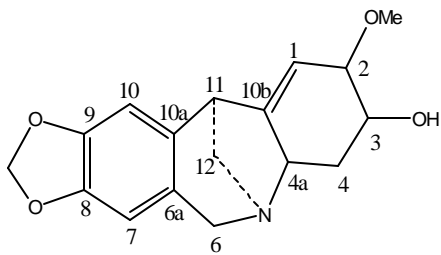
pretazetina



narciclasina



galantamina



montanina

Figura 1. Tipos de esqueletos carbonados en Amaryllidaceae