

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Facultad de Ciencias

Escuela de Química y Farmacia

Estudio químico de un extracto alcaloideo de *Latua Pubiflora* (Griseb)(Latúa) y evaluación farmacológica de los compuestos alcaloideos

2. INTRODUCCION

Tesis de Grado presentada como parte de los requisitos para optar al Título de Químico Farmacéutico
Profesor Patrocinante. Sra. Juana Núñez Donoso – Instituto de Química.

Georgina Elizabeth Ulloa Arauz

Valdivia Chile 2004

Contenido

Profesor Co-Patrocinante .

Agradecimientos .

1. RESUMEN .

2. INTRODUCCION . 1

2.1. Antecedentes generales de *Latua pubiflora* (Griseb) Baill . 4

2.1.1. Clasificación taxonómica . 4

2.1.2. Descripción botánica . 5

2.2. Formulación de la hipótesis . 6

2.3. Objetivo General . 6

2.4. Objetivos Específicos . 6

3. MATERIALES Y METODOS .

4. RESULTADOS . .

5. DISCUSION .

6. CONCLUSION .

7. ABREVIATURAS . .

8. GLOSARIO .

BIBLIOGRAFIA .

2. INTRODUCCION

Desde tiempos remotos las plantas han sido la principal fuente de sustento del hombre. De ellas ha obtenido los medios para su alimentación y bebidas, abrigo, salud y bienestar general. Según relata la historia, los vegetales fueron los primeros medicamentos utilizados por el hombre para aliviar el sufrimiento físico y curar las enfermedades. Así el conocimiento de las plantas se desarrolló junto con la evolución del progreso social y científico.

En la naturaleza, existen prácticamente medio millar de especies de plantas superiores. Sin embargo, sólo el 5-10% ha sido investigado respecto a su composición química o actividad biológica. Los productos naturales presentes en plantas, nos proporcionan una gran variedad de compuestos químicos, los cuales en muchos casos presentan una estructura única con potencial farmacológico (Montes y col, 1992).

Dentro de las sustancias naturales con interés terapéutico, sin lugar a dudas, los alcaloides constituyen un grupo de primer orden. Son compuestos que poseen estructuras moleculares complejas y actividad farmacológica importante.

Hasta la fecha se conocen más de 4000 alcaloides y se estima que están presentes solamente en un 10 a 15 % de todas las plantas conocidas. Son abundantes en un reducido número de familias de plantas, Papaveráceas, Papilionáceas, Rubiáceas, Solanáceas, etc.; y se han aislado alcaloides de la raíz, semillas, hojas y corteza de unas 40 plantas pertenecientes a estas familias (Gros y col, 1985).

Desde el punto de vista químico, los alcaloides son sustancias orgánicas básicas por

la presencia de nitrógeno amínico. Este nitrógeno puede encontrarse bajo la forma de amina 1^a, 2^a, 3^a o como compuesto de amonio cuaternario. Los alcaloides son a menudo sólidos, cristalizables, a veces coloreados, la mayoría de las veces dotados de actividad óptica (Montes y col, 1992). Estos compuestos se caracterizan por tener la propiedad de formar sales solubles en el agua con ácidos orgánicos e inorgánicos, mientras que sus bases libres son solubles en los solventes orgánicos. Esta propiedad es la base de los procesos generales de extracción de los alcaloides (Sharapin y col, 2000).

Desde tiempos remotos el hombre ha utilizado alcaloides como pociones mágicas, medicamentos y venenos. Sólo recientemente se han obtenido conocimientos precisos acerca de las estructuras químicas de muchos de estos interesantes compuestos (Gros y col, 1985).

Uno de los ejemplos de plantas mágicas que tenemos en Chile es *Latua pubiflora*, usada en las ceremonias mapuches. Ella está rodeada de un hálito de misterio y superstición, desde antes de la llegada de los conquistadores.

Esta planta perteneciente a la familia de las Solanáceas (Hoffmann, 1997), fue descrita por primera vez por el botánico alemán August Grisebach, en el año 1854. Su nombre científico *Latua pubiflora*, proviene del nombre mapuche de la planta: “latué, latúe o latuy”, que es una contracción de los vocablos “Latue-hue”, que literalmente significa: “lo que causa la muerte”. Con esta definición se reconocen sus propiedades de planta venenosa, y se alude a sus propiedades tóxicas y al uso que de esta planta hacían las machis en sus ritos. Las machis y curanderos solían usarla para entrar en trance o para causar “males”, que terminaban con la locura de la víctima (Ramírez, 1979).

Latua pubiflora, llamada también, Latué o Palo de los brujos, es un arbusto espinoso que crece en la zona costera, desde Valdivia a Chiloé. Es el único representante del género en Chile (Muñoz, 1992).

Las Solanáceas constituyen una importante familia de plantas herbáceas, a veces arbustos, propios de los países cálidos y templados. Desde el punto de vista químico, se caracterizan por proporcionar a la terapéutica principios activos de naturaleza alcaloidea, como moléculas derivadas del núcleo del tropano (l-hiosciamina, atropina y escopolamina), nicotina y glucoalcaloides esteroideos o solaninas (Montes y col, 1992).

Los compuestos químicos responsables de las propiedades narcóticas y tóxicas de *Latua pubiflora*, son dos alcaloides muy abundantes en toda la planta, especialmente en las hojas: la atropina y la escopolamina, que tienen influencia sobre el funcionamiento del SNC (Ramírez, 1979). Esto es congruente con los resultados obtenidos por Reyes, que demostraron que en un extracto de *Latua pubiflora* destinado a la obtención general de alcaloides, se obtuvo un extracto que al análisis cromatográfico (c.c.f.), mostraba la presencia de al menos cinco alcaloides, dos de los cuales fueron identificados como atropina y escopolamina, los otros alcaloides no se han aislado aún dado que se encuentran en baja concentración. (Reyes, 2000).

Atropina y escopolamina son los fármacos antimuscarínicos mejor conocidos, ambos son ésteres del ácido trópico y de una base nitrogenada terciaria: la tropina en el caso de la atropina, y la escopina en el caso de la escopolamina (Fig. 1). El éster intacto de la tropina y el ácido trópico es esencial para la acción antimuscarínica de la atropina, porque

ni el ácido libre ni la base manifiestan actividad antimuscarínica importante. La presencia de un grupo hidroxilo libre en la porción ácida del éster es otro aspecto importante para su actividad (Goodman y col, 1996).

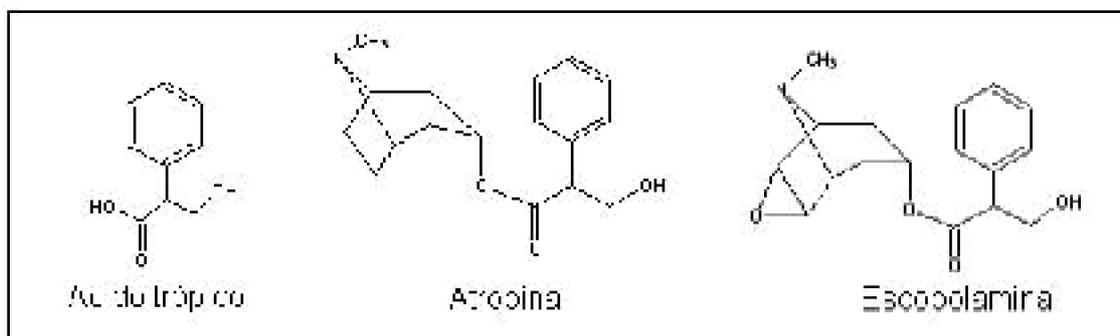


FIGURA 1. Fórmulas estructurales de ácido trópico, atropina y escopolamina.

Los antagonistas de los receptores muscarínicos impiden los efectos de la acetilcolina al bloquear su fijación a los receptores colinérgicos muscarínicos a nivel de los sitios neuroefectores en músculo liso, músculo cardíaco y células glandulares, lo mismo que en ganglios periféricos y sistema nervioso central (Goodman y col, 1996).

Las dosis pequeñas de antimuscarínicos deprimen las secreciones salival y bronquial, y la sudoración. A dosis mayores se dilata la pupila, se inhibe la acomodación del cristalino para la visión de cerca y se bloquean los efectos vagales sobre el corazón, de modo que se incrementa la frecuencia cardíaca. Dosis mayores inhiben el control parasimpático de la vejiga urinaria y el tubo digestivo y, por tanto, inhiben la micción y disminuyen el tono, así como la motilidad del intestino. Se requieren dosis aún mayores para suprimir la secreción y motilidad gástricas.

La atropina y escopolamina difieren desde el punto de vista cuantitativo en sus acciones antimuscarínicas, sobre todo en su habilidad para afectar al SNC. La atropina carece casi de efecto perceptible sobre el SNC a las dosis que se aplican en clínica, sólo produce excitación vagal leve, como resultado de estimulación del bulbo raquídeo y de los centros cerebrales superiores. Con dosis tóxicas de atropina, se vuelve más notable la excitación central, y esto da como resultado inquietud, irritabilidad, desorientación, alucinaciones o delirio. Con dosis aún mayores, la estimulación va seguida de depresión, que culmina en colapso circulatorio e insuficiencia respiratoria después de un periodo de parálisis y coma. En contraste, la escopolamina tiene efectos centrales muy notables a dosis terapéuticas bajas, generando depresión del SNC que se manifiesta por somnolencia, amnesia, fatiga e incapacidad de ensoñación, con reducción de la etapa de sueño de movimientos oculares rápidos. También produce euforia, excitación, inquietud, alucinaciones o delirio y, por tanto, es motivo de cierto abuso. Estos efectos excitadores, que semejan a los de las dosis tóxicas de atropina, se producen con regularidad después de administrar grandes dosis de escopolamina. (Goodman y col, 1996).

En un estudio previo de *Latua pubiflora* se analizó un extracto alcaloideo de la planta. Este extracto, se probó, *in vivo*, en ratones, utilizando diferentes ensayos, que permitieron asignarle importantes efectos en dosis de 150 mg/Kg., efecto ansiolítico, sedante e incoordinación motora (Reyes, 2000).

Posteriormente, en un estudio *in vitro* realizado en membranas celulares de corteza cerebral de ratas, utilizando ^3H -Flunitrazepam, se demostró la existencia de al menos un componente en el extracto alcaloideo de *Latua pubiflora* capaz de enlazarse al sitio de benzodiazepinas del receptor GABA- A , con características de agonista parcial (Sánchez y col, 2001).

Los efectos ansiolítico y sedante son congruentes con una acción gabaérgica similar a la producida por benzodiazepinas, que demostraría la existencia de uno o más componentes presentes en el extracto alcaloideo de *Latua*, capaz de enlazarse al sitio de benzodiazepinas del receptor GABA- A . Para establecer la interacción de algún compuesto con el receptor GABA- A benzodiazepínico, se utilizó el antagonista del receptor GABA- A , Flumazenil, el cual revirtió el efecto ansiolítico del extracto alcaloideo y del Diazepam (Rojas, 2002).

También se han realizado ensayos con el extracto no alcaloideo (extracto en solvente neutro, pH = 7) y se pudo demostrar que en este extracto no hay actividad farmacológica como las ya mencionadas (Rojas, 2002). Lo que indica que el extracto de mayor interés desde el punto de vista del contenido de principio activo, es el extracto alcaloideo, desde el cual es importante poder aislar la mayor cantidad de alcaloides (minoritarios), ya que la actividad farmacológica de atropina y escopolamina (alcaloides mayoritarios) son conocidas.

El propósito de esta investigación es separar el extracto alcaloideo de *Latua pubiflora* en fracciones que contengan los distintos alcaloides, especialmente los minoritarios, e idealmente tenerlos purificados, para que a través de análisis espectroscópicos poder determinar la estructura química de ellos, puesto que estos son de gran interés farmacológico. Por otra parte, se considera hacer una evaluación farmacológica de las fracciones alcaloideas separadas, que no contengan atropina ni escopolamina.

2.1. Antecedentes generales de *Latua pubiflora* (Griseb) Baill

2.1.1. Clasificación taxonómica

División: Spermatophyta

Subdivisión: Angiospermae

Clase: Magnoliatae (Dicotyledoneae)

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Latua*

Especie: *pubiflora*

Nombre científico: *Latua pubiflora*

Nombre vulgar: Latúe, latué, palo de los brujos



FIGURA 2. *Latua pubiflora* Griseb

2.1.2. Descripción botánica

Arbusto espinoso que mide 3 a 5 metros de altura, de bello aspecto, con ramas largas. Hojas alternas, enteras; espinas ubicadas en la inserción de las hojas, de color verde claro, con forma elíptica, aguda, atenuada en el pecíolo, de 5 a 6 cm. de longitud.

Flores solitarias, axilares, pedunculadas. Cáliz corto, ancho, con 5 divisiones. La corola es un tubo largo también de 5 divisiones y está densamente cubierta de vellos por fuera; estambres, 5; estigma corto, anchamente bilobulado. Aparecen de octubre en adelante.

El fruto es una baya globosa, verde-amarillenta, de 2 cm. de diámetro, que encierra numerosas semillas. Es muy venenoso.

Distribución geográfica: crece en la zona costera, desde Valdivia a Chiloé (40° a 43° de latitud sur). En la provincia de Valdivia prospera entre 500 y 900 metros de altitud. Más al sur desciende al nivel del mar. Especie chilena. No muy frecuente.

2.2. Formulación de la hipótesis

En *Latua pubiflora*, el extracto de mayor interés desde el punto de vista de contenido de principio activo, es el extracto alcaloideo. A este se le atribuyen acciones psicoactivas sobre el sistema nervioso central que modifican conductas en ratones. Se le ha asignado además, efectos ansiolítico, sedante e incoordinación motora.

El efecto sedante se presenta tanto en el extracto alcaloideo como en el no alcaloideo, no así el efecto ansiolítico. Por lo que se piensa que podría existir al menos un alcaloide minoritario responsable del efecto ansiolítico mostrado por el extracto alcaloideo, ya que escopolamina y atropina no poseen esta actividad.

2.3. Objetivo General

Separar el extracto alcaloideo en fracciones que contengan diferentes alcaloides y elucidar la estructura química de los alcaloides que puedan ser purificadas del extracto alcaloideo de *Latua pubiflora* a través de análisis espectroscópico. Además realizar una evaluación de la potencial actividad farmacológica de las fracciones que contengan alcaloides minoritarios, libres de escopolamina y atropina.

2.4. Objetivos Específicos

- Realizar la extracción de alcaloides mediante un solvente orgánico acidificado con HCl 1%.

-Procesar este extracto hasta obtener los alcaloides libres en solución acuosa ácida, luego basificar esta solución hasta pH =11 y, extraer los alcaloides de la solución acuosa básica con solventes orgánicos adecuados.

-Fraccionar este extracto, y una vez concentrado obtener los diferentes alcaloides en fracciones separadas, o idealmente obtenerlos al estado puro, cristalino.

-Las fracciones idealmente puras, se someterán a análisis de espectroscopia de masa, HPLC, RMN- ^1H y espectroscopia UV.

- Evaluación farmacológica de las fracciones que contengan alcaloides libres de escopolamina y atropina. Utilizando pruebas como laberinto elevado en cruz (efecto ansiolítico) y tiempo de sueño inducido por pentobarbital (efecto sedante e hipnótico), para poder asignar las propiedades farmacológicas a cada uno de los alcaloides.