

ALCALOIDES DE SOPHORA TETRAPTERA, SENSU REICHE. I. AISLAMIENTO DE CITISINA, METILCITISINA Y MATRINA DE LAS SEMILLAS.

*A. Urzúa y B.K. Cassels.

RESUMEN - *Sophora tetraptera*, sensu Reiche, es el nombre científico asignado a un árbol del sur de Chile conocido por los nombres de pelú y pilo-pilo, que se asemeja mucho desde el punto de vista morfológico a las especies neozelandesas *S. tetraptera* J. Mill. y *S. microphylla* Ait. Un estudio preliminar de los alcaloides de las semillas de esta planta chilena permitió aislar citisina, metilcitisina y matrína en proporciones que apoyan la separación taxonómica del pelú de las especies nativas de Nueva Zelandia.

SUMMARY - *Sophora tetraptera*, sensu Reiche, is the scientific name assigned to a southern Chilean tree known by the names pelú and pilo-pilo, which closely resembles the New Zealand species *S. tetraptera* J. Mill. and *S. microphylla* Ait. from a morphological viewpoint. A preliminary study of the seed alkaloids of this Chilean plant yielded cytisine, methylcytisine, and matrine in a ratio which supports the taxonomic segregation of the pelú from the species native to New Zealand.

* Laboratorio Central de Química, Universidad Técnica del Estado, Santiago.

Partes de este trabajo fueron presentadas en las dos primeras reuniones de la Sección Productos Naturales de la Sociedad Chilena de Química (Santiago, octubre de 1967, y Valparaíso, octubre de 1968). Un resumen ha sido publicado en "Phytochemistry", 9 (), (1970).

INTRODUCCION

El género *Sophora* consta de unas ochenta especies, en su mayoría árboles y arbustos y con menor frecuencia hierbas perennes, que se distribuyen en las zonas cálidas de ambos hemisferios. (1,2,3) Se divide en cuatro secciones, denominadas *Eusophora*, *Goebelia*, *Platysprion* y *Edwardsia* (2). De éstas la primera y la última están representadas en el continente americano, perteneciendo a la sección *Edwardsia* las especies chilenas. (2,3)

En Chile continental se distinguen por lo menos dos especies de *Sophora*, que ya aparecen en Gay, (4) como *Edwardsia microphylla* Hook. y *E. chilensis* (*macrocarpa*) Miers. (Smith). La primera es un árbol de regular tamaño que crece del Maule al Palena y se conoce por los nombres de pelú y pilo - pilo; la segunda es un arbusto que llega desde la costa hasta los contrafuertes cordilleranos entre las latitudes de Concepción y Zapallar, y su nombre vernáculo es mayo. Para esta última quedó fijada al parecer definitivamente la combinación *S. macrocarpa* Sm. (2,3). El pelú, en cambio, ocupa una posición taxonómica que no está del todo clara. (5) En efecto, Philippi, (6) describe el pelú como *E. macnabiana* Grah., pero informa sobre la presencia en la región de Osorno de otra especie (que no se ha vuelto a encontrar) que denomina *E. cassioides*. En la monografía de Engler y Prantl, (2) el pelú figura como *S. microphylla* Ait., mientras que Reiche, (7) le asigna la combinación *S. tetraptera* Ait., y esta posición es la que sostienen Skottsberg, (8) Fuentes, (9) y Burkart. (3) Tanto *S. microphylla* Ait. como *S. tetraptera* J. Mill. son especies neozelandesas, (10) y se ha discutido si su distribución geográfica abarca a Chile o no. (6,11) Philippi, (6) rechaza un poco apresuradamente esta posibilidad e insiste en que las combinaciones *E. macnabiana* y *E. cassioides* corresponden a especies diferentes de las neozelandesas. Sparre, (12) también considera al pelú como una especie típicamente chilena al designarlo *S. cassioides* (*S. tetraptera*, *sensu* Reiche, *non* J. Mill, *nec* Ait.), aunque los ejemplares estudiados por él no parecen corresponder a la forma llamada *E. cassioides* por Philippi. Sobre estas bases Muñoz, (5) estima que el pelú carece por ahora de nombre científico adecuado, y mantiene como combinación provisoria *S. tetraptera*, *sensu* Reiche.

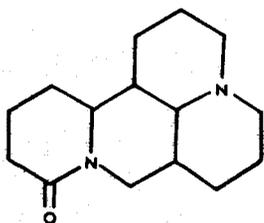
Las formas insulares presentan problemas semejantes. El toromiro de la Isla de Pascua fue parcialmente descrito por Philippi, (6) como *E. toromiro*. Más tarde Skottsberg visitó la Isla y recogió muestras de toromiro, asegurando primero que este arbolito casi extinguido era una forma de *S. tetraptera* Ait., (8) y aceptando más tarde la especie fundada por Philippi con la nueva combinación *S. toromiro* (Phil.). (13)

El mayu-monte de Juan Fernández fue descrito originalmente también por Philippi, (14) como *E. fernandeziana*, agregándole mucho después el mismo autor, (6) las especies *E. reedeana* y *E. masafuerana*. Johow, (15) consideró que todas éstas eran formas de *S. tetraptera* Ait., y su opinión fue mantenida por Fuentes, (9) y Hutchinson. (1) Para Skottsberg, (16) se justificaba la creación de una subespecie, *S. tetraptera* Ait. *subsp. fernandeziana* (Phil.); más tarde este autor se acercó a la posición sustentada por Philippi, publicando las combinaciones *S. fernandeziana* (Phil.), *S. fernandeziana* var. *reedeana*, y *S. masafuerana* (Phil.). (13)

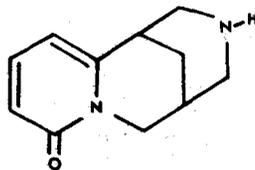
Queda planteado pues el problema de poder indicar con certeza si las especies chilenas de *Sophora* están adecuadamente fundadas, y si difieren o no de las especies que crecen en Nueva Zelandia.

En 1939 Manske, (17) demostró que se pueden distinguir por su contenido de alcaloides algunas especies de *Senecio* que desde el punto de vista morfológico son idénticas. Trabajos de Briggs sobre los alcaloides de *S. microphylla* Ait., (18) y de *S. tetraptera* J. Mill., (19) le otorgaron el aval químico a la separación de ambas especies. Siguiendo la misma línea este autor pudo demostrar que la forma denominada *S. chathamica* es idéntica a la *S. microphylla* en contenido alcaloidal, (20) mientras que según este criterio vale la combinación *S. anawhatensis*, (21) para lo que Allan denomina *S. microphylla* var. *fulvida*. (10)

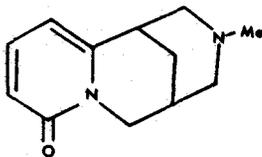
Pareció razonable pensar que un estudio de las composiciones alcaloidales de las especies y variedades chilenas de *Sophora* podría aclarar las dudas planteadas más arriba. El primer paso en este sentido fue dado por Silva, (22,23) quien estudió los alcaloides de las semillas de *S. macrocarpa* Sm. recolectadas en la zona de Yumbel, provincia de Concepción. En esta especie se encontraron matrina (I) como alcaloide principal, y cantidades menores de metilcitisina (III) y baptifolina (IV).



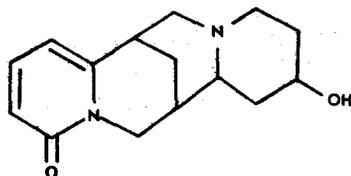
I



II



III



IV

En el presente trabajo se describe un examen preliminar de un lote de semillas de *S. tetraptera*, *sensu* Reiche, recolectadas en la provincia de Valdivia y donadas por el Jardín Botánico Nacional de Viña del Mar. Este material fue procesado de la manera que se describe en la parte experimental. Se pudo aislar citisina (II), metilcitisina (III) y matrina (I), que fueron identificadas por sus puntos de fusión, espectros de I.R., comportamiento cromatográfico y preparación de derivados. En los cromatogramas en capa fina aparecía invariablemente una cuarta mancha correspondiente a un alcaloide relativamente polar, escaso, que no fue aislado ni investigado por otros métodos.

Los procedimientos que se utilizaron sólo permiten tener una idea vaga acerca de las cantidades relativas de los tres alcaloides principales del pelú. Los métodos groseros de que se dispuso al realizar el trabajo obligaron al empleo de una cantidad grande de semillas correspondientes a una única población de árboles, en la cual resultó imposible estudiar variaciones individuales y no se hizo ningún estudio comparativo fidedigno de la composición alcaloidal de las semillas de esta población con la de otras, originarias de zonas distintas. También sería del mayor interés poder estudiar cuantitativamente los alcaloides del follaje de ejemplares de distintos orígenes y recogido en distintas épocas del año. Sin embargo, todo esto exigiría el empleo de un método analítico rápido, sensible y exacto, como podría ser la cromatografía de gases, ya utilizada en otras oportunidades para estudiar alcaloides del mismo tipo estructural; (24, 25) por ahora no se cuenta con el equipo necesario para llevar a cabo este trabajo más refinado.

A pesar de los métodos rudimentarios utilizados, basados en las distintas solubilidades de los alcaloides en éter de petróleo y en tetracloruro de carbono, en su volatilidad y en su comportamiento en columnas de alúmina, se puede informar que la citisina constituye por lo menos 10% de los alcaloides totales, y que la metilcitisina está presente por lo menos en igual proporción; un 30% de los alcaloides tota-

les, como mínimo, está constituido por matrina. Los trabajos de Briggs sobre los alcaloides de las semillas de especies neozelandesas de *Sophora*, (18 - 21) se llevaron a cabo con los métodos más rudimentarios que hemos utilizado nosotros, pero de todos modos sus resultados han servido para alcanzar conclusiones de carácter quimiotaxonómico. Ya que los resultados de Briggs y los nuestros tendrían un valor semicuantitativo análogo, resulta conveniente tabularlos para su comparación (Tabla I).

Tabla I. Porcentajes de alcaloides

	citisina	metilcitisina	matrina	sofocrisina
<i>S. microphylla</i> Ait.	0,05	20	27	rastros
<i>S. microphylla</i> var. <i>fulvida</i>	4	40	1,5	-
<i>S. tetraptera</i> J. Mill.	-	3	45	1
<i>S. tetraptera</i> , <i>sensu</i> Reiche	10	10	30	-

Llama la atención en primer lugar el hecho de que no se haya podido aislar citisina de *S. tetraptera* J. Mill., (19) y que su concentración en *S. microphylla* Ait, sea según Briggs (18) de apenas 0,05% de los alcaloides totales, lo que parecería indicar una diferencia significativa entre las capacidades sintéticas del pelú y de las especies neozelandesas, Aunque *S. microphylla* (*anawhatensis*) var. *fulvida*, (21) contiene cantidades mayores de citisina, su contenido de matrina resultó extremadamente bajo y su contenido de metilcitisina es mayor que el de las demás especies y variedades estudiadas por Briggs; por lo tanto difiere del material nuestro tanto como *S. microphylla* Ait. y *S. tetraptera* J. Mill. La consecuencia inmediata de estos resultados es, entonces, que queda corroborada la posición sustentada por Philippi, (6) Sparre, (12) y Muñoz, (5) que hace aparecer al pelú como una especie diferente de las que crecen espontáneamente en Nueva Zelandia. Queda a la vista también la necesidad de un estudio cuantitativo más fidedigno y que tome en cuenta las probables variaciones estacionales y regionales de las concentraciones de los distintos alcaloides que se encuentran en esta planta. Se espera que con el equipo necesario pueda darse una respuesta definitiva a los interrogantes que se plantean.

PARTE EXPERIMENTAL

Las semillas secas molidas se extrajeron en Soxhlet con éter de petróleo liviano (60 - 70°); en este extracto sólo se detectó rastros de alcaloides. El material vegetal desengrasado se extrajo con metanol (Soxhlet), y la solución se concentró a presión reducida, se filtró para eliminar un precipitado amarillento, y se evaporó a sequedad. El residuo se tomó con HCl 2 N y se extrajo con cloroformo; la solución acuosa se alcalinizó con amoníaco concentrado y se extrajo en forma continua con cloroformo, y la solución clorofórmica, secada sobre Na₂SO₄, se evaporó a presión reducida dando de 1,35 a 1,95% de alcaloides crudos bajo la forma de un aceite viscoso de color amarillo pálido que cristalizó espontáneamente.

La mezcla de bases se examinó por cromatografía en capa fina de Al₂O₃ secada durante una noche a temperatura ambiente, usando cloroformo (con 2% de etanol v/v) - ciclohexano, 1 : 1. El reactivo de revelado fue un reactivo de Dragendorff modificado. (26) Se observaron tres manchas intensamente Dragendorff-positivas con Rf 0,12, 0,43 y 0,70, correspondientes a citisina, metilcitisina y matrina respectivamente; también se observó una mancha débil de Rf 0,06.

Citisina. 6,4 g de alcaloides crudos se lavaron varias veces con porciones de 5 ml de éter de petróleo liviano (<40°). El residuo se tomó con un pequeño volumen de tetracloruro de carbono y se filtró, dando 575 mg de citisina cromatográficamente pura que después de ser recrystalizada de éter de petróleo (80 - 100°) fundía a 151,5 -

153°, $[\alpha]_D - 104^\circ$ (c = 1,0, agua); espectro I.R. igual a espectros de referencia.

Picrato de citisina. p.f. 280°, con descomposición.

Matrina. Las aguas madres de tetracloruro de carbono se evaporaron a sequedad sobre tierra de infusorios y el residuo se extrajo (Soxhlet) con éter de petróleo liviano (<40°). La solución se evaporó dando 1,73 g de matrina que cristalizó por sembrado; este material contenía rastros de metilcitisina detectables por cromatografía en capa fina. Después de recrystalizar de éter de petróleo (80 - 100°) fundía a 75 - 77°; espectro I.R. igual a espectros de referencia.

La mezcla de tierra de infusorios y alcaloides, agotada con éter de petróleo (<40°), se reextrajo (Soxhlet) con éter de petróleo (80 - 100°), dando una solución de la que cristalizó citisina (0,29 g); las aguas madres de la citisina se evaporaron a sequedad y se sometió el residuo a cromatografía en columna de alúmina usando mezclas de benceno - éter etílico, 95 : 5 y 9 : 1, dando 0,16 g de matrina, una mezcla de matrina y metilcitisina, y por último una pequeña cantidad de metilcitisina.

Metilcitisina. 19 g de alcaloides crudos se extrajeron con éter de petróleo (80-100°) y el extracto se destiló recogiendo la fracción que pasaba entre 180° y 200° a 5 Torr. El aceite amarillo pálido cristalizó en parte tras guardarlo durante 48 horas a 5°, y los prismas largos se filtraron: 1,2 g de metilcitisina que después de ser recristalizada de éter de petróleo (80 - 100°) fundía a 136,5°, $[\alpha]_D - 233^\circ$ (c = 1,0, agua); espectro I.R. igual a espectros de referencia.

Las aguas madres de la primera cristalización, sometidas a cromatografía en columna de alúmina usando benceno como eluyente, dieron una pequeña cantidad de matrina pura.

Picrato de metilcitisina. p.f. 229°

Iodometilato de metilcitisina. p.f. 248°

Agradecimientos. Los autores le agradecen al Prof. C. Muñoz Pizarro haber sugerido el tema, a los Dres. J. A. Garbarino y F. Hernández A. el uso de equipos de laboratorio, y a los Dres. R. C. Cambie, M. Silva y V. Deulofeu el envío de muestras y espectros de referencia.

BIBLIOGRAFIA

1. J. Hutchinson, *The Genera of Flowering Plants*, I, 328 - 329, University Press, Oxford, 1964.
2. P. Taubér, en A. Engler y K. Prantl, *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*, 195, W. Engelmann, Leipzig, 1894.
3. A. Burkart, *Las leguminosas argentinas*, 208, Acme, Buenos Aires, 1952.
4. C. Gay, *Historia de Chile. Botánica*, II, 215 - 217, Museo de Historia Natural, Santiago, 1846.
5. C. Muñoz, *Notas botánicas*, *Not. mensual Mus. Hist. Nat. Santiago* 93, 1 - 8 (1964).
6. R.A. Philippi, *Bot. Zeitung*, 47, 737 - 744 (1873).
7. K. Reiche. *Flora de Chile*, II, 52, Cervantes, Santiago, 1898.
8. C. Skottsberg, *Kungl. Sv. Vet. Akad. Handl.* 56 (5), 247 (1916).
9. F. Fuentes, *Rev. chil. hist. nat.* 22 (1) 20 - 29 (1918).
10. H.H. Allan, *Flora of New Zealand*, I, 370, R.E. Owen, Wellington, 1961.
11. W.R. Sykes y E.J. Godley, *Nature* 218 (5140), 495 - 496 (1968).
12. B. Sparre, en K. Thomasson, *Acta Phytogeogr. Suec.* 47, 20 (1963).
13. C. Skottsberg, *The Natural History of Juan Fernández and Easter Island*, II, 73 - 74, Almquist & Wiksall, Uppsala, 1921.
14. R.A. Philippi, *Bot. Zeitung* 1856, 642.
15. F. Johow, *Flora de Juan Fernández*, 88, Cervantes, Santiago, 1896.
16. C. Skottsberg, *Kungl. Sv. Vet. Akad. Handl.* 51 (9), 8 (1914).
17. R.A.H. Manske, *Can. J. Res.* 17 B, 1 (1939).
18. L.H. Briggs y J. Ricketts, *J. Chem. Soc.* 1937, 1795.
19. L.H. Briggs y W.S. Taylor, *J. Chem. Soc.* 1938, 1206.
20. L.H. Briggs y Wm.E. Russell, *J. Chem. Soc.* 1942, 555.
21. L.H. Briggs y J.L. Mangan, *J. Chem. Soc.* 1948, 1889.
22. M. Silva, R. Stück y P. Chávez, *Arch. Pharm.* 295 (7), 515 (1962).
23. M. Silva, M.V. Medina y P.G. Sammes, *Phytochemistry* 7, 661 (1968).
24. G. Faugeras y M. Paris, *Ann. Pharm. Franc.* 26 (4), 265 - 275 (1968).
25. G. Faugeras y M. Paris, *Ann. Pharm. Franç.* 27 (4), 269 (1969).
26. R. Munier y M. Macheboeuf, *Bull. soc. chim. biol.* 38, 864 (1951).