

DetECCIÓN DE PROTOPINA Y α -TOCOFEROL EN LA SAVIA DE *Bocconia frutescens* L. MEDIANTE GC-MS

Guilibaldo Zurita-Vásquez*, Horacio Duque-Bautista*, Ramiro Cruz-Durán**, Efraín Rubio-Rosas***, Sergio Alberto Ramírez-García*, Yesenia Pacheco-Hernández +, Lorena Guadalupe Ramón-Canul*, Nemesio Villa-Ruano*

Resumen

Este trabajo tuvo como objetivo general, detectar algunos de los principales componentes bioactivos de la savia de *Bocconia frutescens* por medio de la técnica de GC-MS. Para tal fin la savia bruta de *Bocconia frutescens* fue colectada en 300 mL de metanol absoluto a temperatura ambiente y concentrada a 10 μ L. La determinación cualitativa de los metabolitos fue llevada a cabo inyectando 2 μ L del extracto metanólico en un cromatógrafo de gases marca Varian CP3800 equipado con una columna Factor Four acoplada a un detector selectivo de masas modelo 320MS. Dentro de los resultados fue posible detectar de manera simultánea a la protopina y al α -Tocoferol por GC-MS. Este último compuesto es reportado por primera vez en la savia de esta planta. A partir de este trabajo se demuestra la eficiencia de GC-MS para la detección simultánea de protopina y del α -Tocoferol de la savia de *Bocconia frutescens*.

Palabras clave: *Bocconia frutescens*, protopina, α -Tocoferol, GC-MS.

Abstract

The main objective of this work was to detect some of the primary bioactive compounds in the sap of *Bocconia frutescens* by GC-MS. For this purpose the raw sap of *Bocconia frutescens* was collected in 300 μ L of absolute methanol at room temperature and concentrated to 10 μ L. The qualitative determination of metabolites was carried out by injecting 2 μ L of the methanolic extract in a Varian CP3800 gas chromatograph equipped with a factor four column attached to a Varian quadrupole mass spectrometer model 320MS. According to the obtained results it was possible to simultaneously detect both protopine and α -tocopherol in the sap of *Bocconia frutescens* by GC-MS. The latter compound is reported for the first time in the sap of this plant. This paper demonstrates the efficiency of GC-MS for the simultaneous detection of both protopine and α -tocopherol in the sap of *Bocconia frutescens*.

Keywords: *Bocconia frutescens*, protopine, α -tocopherol, GC-MS.

Introducción

Bocconia frutescens, antiguamente nombrada chapolxochitl¹ y comúnmente conocida como "gordolobo" y/o "llora sangre" en Veracruz², es llamada localmente también como "Hoja de Perdiz" por los zapotecos de la Sierra Sur del estado de Oaxaca. Se trata de un arbusto perteneciente a la familia *Papaveraceae*, originaria de América tropical y se encuentra distribuida en México en climas cálidos, semicálidos y templados, entre los 200 hasta los 2600 msnm; es común asociarla a vegetación perturbada y bosque caducifolio. La planta puede alcanzar hasta 7 m de alto, con presencia característica de la savia amarilla o anaranjada al producirse daño mecánico. Las hojas son alternas y variables en tamaño que va desde 15-60 cm de largo y hasta 30 cm de ancho, dividida en

lóbulos irregulares de ápice variable y márgenes enteros o aserrados, en ocasiones con pelos en la cara inferior y peciolo de hasta 6 cm de largo. Las inflorescencias son abundantes y arregladas en panículas, alcanzando los 12 cm de largo. Las flores poseen un cáliz de dos sépalos puntiagudos y de 12 a 16 estambres cortos³. El código florentino indica que "la raíz" de esta planta es de utilidad para las afecciones de la vejiga, para la desinfección y cicatrización de heridas, así como analgésico para mitigar el dolor propio de males en los ojos, paperas e inflamaciones de la garganta⁴. Para las afecciones de la piel se vierte comúnmente la savia sobre ésta para combatir la escarlatina, verrugas, callos y manchas. Se usa también en problemas del aparato digestivo como

* Universidad de la Sierra Sur, Instituto de Investigaciones sobre la Salud Pública.

** Universidad Nacional Autónoma de México.

*** Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

+ Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca.

Correspondencia: Nemesio Villa-Ruano

Universidad de la Sierra Sur

Correo electrónico: necho82@yahoo.com.mx

disentería, dolor de estómago y úlceras². La savia bruta de esta planta ha sido una de las menos estudiadas, no así para el caso de sus tejidos intactos. Este trabajo reporta el estudio cromatográfico de GC - MS de la savia bruta de *Bocconia frutescens*, con el fin de determinar algunos de los metabolitos con actividad farmacológica y/o nutricional presentes en dicho fluido natural.

Materiales y métodos

Una rama leñosa de *Bocconia frutescens* fue colectada bajo las siguientes coordenadas 16° 09' N 96° 14' W, 2896 msnm, para posteriormente ser cortada en fragmentos cortos y extraída inmediatamente con 300 mL de metanol absoluto grado reactivo a temperatura ambiente por 10 días. La certificación del espécimen fue llevada a cabo por Ramiro Cruz Durán, del Herbario de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Después de este tiempo, el extracto crudo fue filtrado utilizando papel filtro Ahlstrom grado 642 y concentrado usando un rotaevaporador Buchi R-200 a 10 mL. 2 µL del preparado fueron inyectados en un cromatógrafo de gases Varian CP3800 equipado con una columna capilar VF-5ms, acoplado a un espectrómetro de masas modelo 320 MS. El protocolo cromatográfico empleado fue el de Villa-Ruano *et. al.*⁵, con las modificaciones siguientes: la fase móvil consistió de helio a 1 mL min⁻¹. La temperatura del inyector fue mantenida a 200 °C, mientras que la temperatura del horno fue de 150 °C por 3 minutos y finalmente elevada a 250 °C por 20 minutos. El software de corrida se ajustó en el rango de masas de 30-600 *m/z*. Los picos obtenidos fueron analizados de acuerdo a su espectro de masas utilizando el software MS Data Review y la base NIST Search 2.0. El cálculo del índice de retención de Kovats del α -Tocoferol fue obtenido en referencia a estándares de alcanos C21-C40 obtenidos de Sigma-Aldrich Co. y para la protopina fue adquirida del autoestimado de la base NIST.

Resultados

El análisis cromatográfico reveló la presencia clara de dos componentes con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Estos compuestos orgánicos son la protopina, un alcaloide bencilisoquinólico; y el α -Tocoferol, una forma activa de la vitamina E con alto poder antioxidante. Este último,

por primera vez reportado en la savia de la planta en estudio. La identidad de tales componentes es propuesta por la similitud en la abundancia y patrón de iones obtenidos por impacto electrónico, por el índice de retención de Kovats, así como por la comparación del reporte iones sobresalientes en la base de datos NIST Search 2.0. Para el caso de la protopina, el patrón de masas característico resultó en un 95% de identidad en la similitud de iones (Figura 1), siendo el de 148 el más abundante y el de 163 el precedente (Cuadro 1). Por su parte, el α -Tocoferol expone sus iones particulares de 165 y el determinante ión padre de 430 (Cuadro 1) que correspondieron en alto porcentaje con el espectro de referencia (Figura 2).

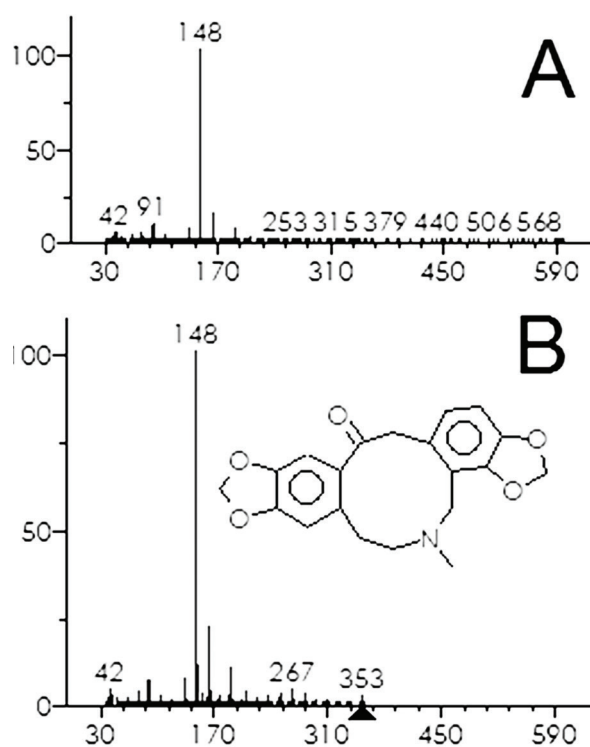


Figura 1. Comparación gráfica entre el espectro de masas de la protopina de la savia bruta de *Bocconia frutescens* (A) y patrón característico de la protopina de referencia-Base NIST Search 2.0 (B).

Discusión

Los patrones característicos obtenidos demuestran la detección eficiente por GC-MS para ambos componentes. De igual manera, manifiesta la potencialidad de esta técnica y del método empleado, sobre todo en la identificación de compuestos de peso molecular superior a los 300,

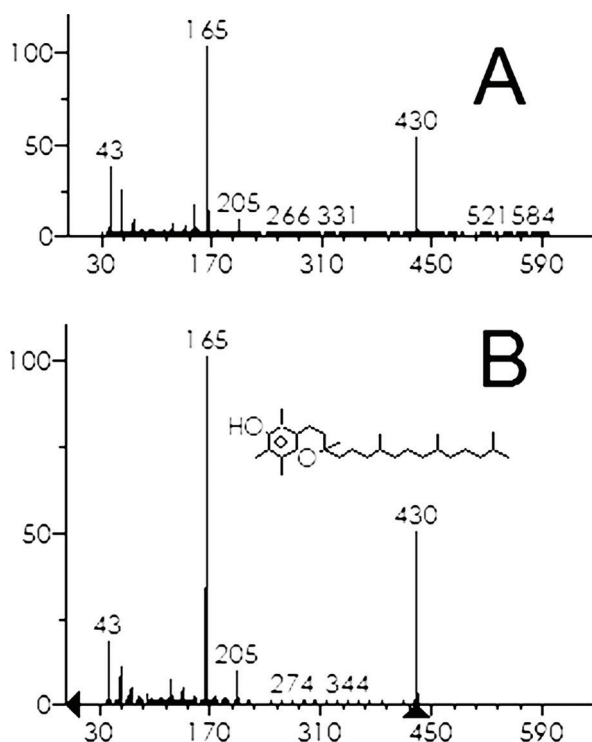


Figura 2. Comparación gráfica entre el espectro de masas del α -Tocoferol detectado en la savia bruta de *Bocconia frutescens* (A) y el patrón característico del α -Tocoferol de referencia-Base NIST Search 2.0 (B).

Cuadro 1: Parámetros cromatográficos para el α -Tocoferol y la protopina en la savia bruta de *Bocconia frutescens*.

IR	Compuesto	% de iones característicos
2539	α -Tocoferol	165(100)430 M+(51)43(36)164(34)57(24)
2943*	Protopina	148(100)163 (17)91(11)150(10)89(10)

*Estimado del software NIST Search 2.0.

como es el caso ambos metabolitos secundarios. Pesos moleculares de éste tipo son recurrentemente estudiados por cromatografía de líquidos, sin embargo, su separación e identificación resulta ser más costosa e ineficiente en contraste a la técnica empleada en éste trabajo. A pesar de que el acople a masas se traduce en la fragmentación de la molécula, esta cuestión es compensada por el poder resolutivo y el alto grado de confiabilidad en la identificación de un patrón específico. *Bocconia frutescens*, es una planta con distintos usos que dependen del lugar y del grupo poblacional del que se trate. Sin embargo, una constante en México es su empleo en infusiones

para tratar enfermedades de la piel⁴. Estudios *in vitro* demuestran el poder antimicrobiano de distintos extractos de *Bocconia frutescens*, sobre bacterias^{4,6}, micobacterias⁶ y hongos unicelulares afines a la piel^{7,8}, esta actividad podría relacionarse con la eficiencia antiséptica que posee la planta en el tratamiento de heridas de la piel. Un aspecto recientemente reportado de los extractos y la savia de la planta refieren a sus propiedades insecticidas, indicando su potencial empleo en el biocontrol de ciertas plagas, esta característica es observada también en los extractos de otros miembros de la familia *Papaveraceae*⁹. De acuerdo con los resultados obtenidos, la protopina fue el único alcaloide bencilisoquinólico detectado en la savia bruta, mostrando que éste fluido representa una fuente para su obtención individual. Recientes investigaciones sobre la protopina evidencian su efecto antitumoral¹⁰, su potencial nootrópico¹¹, así como sus propiedades antitrombóticas y antiinflamatorias¹². De aquí la importancia de ubicar fuentes para su rápida y eficiente purificación. El hallazgo de una forma química de la vitamina E en la savia de *Bocconia frutescens* resulta ser el hallazgo más original de este trabajo. La presencia de este potente antioxidante podría explicar la eficacia de la savia bruta en el tratamiento de heridas de la piel, por el hecho de promover una rápida regeneración celular¹³.

Como conclusión final, en este trabajo se demuestra la detección simultánea de protopina y α -Tocoferol en la savia bruta de *Bocconia frutescens*, corroborando el poder resolutivo de GC-MS para la determinación de compuestos lipofílicos. El hallazgo de estos compuestos en la savia puede ser correlacionada con la efectividad de este recurso etnobotánico para tratar afecciones de la piel.

Agradecimientos

Agradecemos al Centro de Vinculación y Transferencia de Tecnología de la BUAP por el apoyo técnico, así como a la Universidad de la Sierra Sur por las facilidades para la colecta del espécimen.

Referencias

- [1] Waizel JB, Panorama General de las Relaciones hombre-Planta. En Las plantas Medicinales y la Ciencia. Una visión multidisciplinaria. Editorial Instituto Politécnico Nacional. 2006. ISBN: 978-970-36-0025-5.

- [2] Martínez OE, Papaveraceae. En Flora de Veracruz. Sosa V. (ed). Instituto de Ecología. Xalapa, Veracruz, México. 1982 (22). ISBN: 84-89600-04-X
- [3] Stevens WD, Ulloa CU, Pool A, Montiel OM. Flora de Nicaragua. Missouri Botanical Garden Press. St. Louis, Missouri. 2001. ISBN: 0915279959.
- [4] Sánchez-Arreola E, Hernández-Molina LR, Sánchez-Salas JL, Martínez-Espino G. Alkaloids from *Bocconia frutescens* and biological activity of their extracts. Pharm Biol 2006; 44(7): 540-543.
- [5] Villa-Ruano N, Betancourt-Jiménez MG, Lozoya-Gloria E. Biosynthesis of uterotonic diterpenes from *Montanoa tomentosa* (zoapatle). J Plant Physiol 2009; 166: 1961-1967.
- [6] Cruz-Vega DE, Verde-Star MJ., Salinas-González N, Rosales-Hernández B, Estrada-García I, Mendez-Aragón P, et. al. Antimycobacterial activity of *Juglans regia*, *Juglans mollis*, *Carya illinoensis* and *Bocconia frutescens*. Phytother Res 2008;22(4):557-559
- [7] Bernal ME, Castaño E, Arango MA, Vélez JL. Evaluación *in vitro* de extractos de *Cestrum nocturnum* y *Bocconia frutescens* sobre *Microsporium canis*. Rev Electrón Vet 2010; 11(8): 1-14.
- [8] Lasso ES. Valoración *in vitro* de *Bocconia frutescens* L. contra *Trichophyton rubrum*. Comprobando la medicina tradicional. CultDrog 2010; 15(17): 47-58
- [9] Gutiérrez OAV, Arenas JDS, Barrera MG, Martínez HI. Actividad insecticida de extractos de *Bocconia frutescens* L. sobre *Hypothenemus hampei* F. Scientia et Technica 2007; 13(33):251-252.
- [10] Chen CH, Liao CH, Chang YL, Guh JH, Pan SL, Teng CM. Protopine, a novel microtubule-stabilizing agent, causes mitotic arrest and apoptotic cell death in human hormone-refractory prostate cancer cell lines. Cancer Lett 2012; 315(1):1-11.
- [11] Xu L-F, Chu W-J, Qing X-Y, Li S, Wang X-S, Qing G-W, et. al. Protopine inhibits serotonin transporter and noradrenalin transporter and has the antidepressant-like effect in mice models. Neuropharmacology 2006; 50: 934-940.
- [12] Saeed SA, Gilani AH, Majoo RU, Shah BH. Antithrombotic and anti-inflammatory activities of protopine. Pharmacol Res 1997; 36(1): 1-7.
- [13] Z. Svingen BA, Powis G, Appel PL, Scott M. Protection against Adriamycin-induced Skin Necrosis in the Rat by Dimethyl Sulfoxide and α -Tocopherol. Cancer Res 1981; 41:3395-3399
- Recibido:** 29 de junio de 2013
Corregido: 12 de septiembre de 2013
Aceptado: 18 de noviembre de 2013
- Conflicto de interés.** No existe conflicto de interés.