

Melochia pyramidata L. I: Análisis alcaloidal y cromatográfico; informe preliminar

por

José A. Sáenz R.*

(Recibido para su publicación el 24 de julio de 1964)

El 3 de setiembre de 1959, la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica, recibió una comunicación del Ing. Agro. Santos Herrera C., Agente Agrícola de Nicoya, Guanacaste. Acompañaba a la misma una muestra de la planta *Melochia pyramidata* L.

Por considerarse de interés histórico, transcribimos la citada comunicación: "Adjunta se servirán encontrar una muestra de la hierba conocida con el nombre vulgar de "escobilla negra", con el ruego muy encarecido de que le hagan un examen, con el fin de ver si se encuentran metales o alcaloides, o también alguna otra sustancia que pudiera afectar o paralizar el tren posterior de los bovinos.

En esta zona están muriendo muchos animales, de la enfermedad conocida con el nombre de "derrengue", la cual tiene los síntomas de la "rabia paralítica bovina" (no confundir con "rabia canina").

En una experiencia reciente sometimos 3 animales a dieta única de esa hierba por 10 días y 2 de ellos adquirieron la enfermedad. Por tal motivo se darán cuenta de la gran importancia que tiene el examen de esta hierba".

La muestra en cuestión fue entregada al autor, quien se interesó sobre el particular, y realizó gestiones ante el Ministerio de Agricultura, a efecto de indagar más a fondo acerca de la etiología de la enfermedad. Los datos recogidos llevaban a una conclusión, por lo que escribimos al Sr. Herrera lo siguiente:... "es bien conocido el hecho de que la enfermedad denominada "derrengue" es producida en el ganado por un virus que transmiten los murciélagos y, que los animales que comían la hierba que Ud. envió atraían particularmente a los citados portadores del virus".

* Depto. de Biología, Universidad de Costa Rica.

Aproximadamente en esos mismos días el Sr. Alberto Vargas, de Cabo Blanco de Lepanto, Provincia de Puntarenas, se sirvió enviar una muestra de la misma planta que produce análogos efectos en el ganado. Con fecha 29 de setiembre se comunicó a ambos señores lo siguiente: "De acuerdo con los análisis de tipo cualitativo que he verificado personalmente, les puedo asegurar que la planta posee alcaloides".

Los síntomas que caracterizan la enfermedad, se distinguen, fundamentalmente, por una parálisis del tren posterior. El animal así afectado casi no puede caminar y renquea al hacerlo. Esta afección viene aparejada con una fotofobia muy notable y un chasquido de las articulaciones.

Lo anterior va acompañado de estreñimiento severo y eventualmente el animal muere a consecuencia de la enfermedad. El autor pudo comprobar que en las fincas en donde nunca se ha presentado la enfermedad, no existe escobilla, particularmente de Nicoya hacia el Norte y Noreste del país.

La planta es, por el contrario, abundantísima en la Península de Nicoya principalmente hacia la costa. Existe pues una relación evidente entre la enfermedad y la distribución geográfica de *M. pyramidata* L.

A través de la misma fuente de información pudimos comprobar que la enfermedad se manifiesta, especialmente, en las épocas secas, cuando el ganado ingiere toda aquella hierba que se mantiene verde, pues el pasto escasea. Esto ocurre durante los meses de Abril y Mayo. Fue interesante escuchar como la mayoría de los ganaderos oriundos de esa región han sostenido, desde hace más de 25 años, que la causa del "derrengue" es la escobilla morada.

M. pyramidata L. (Sterculiaceae) es un arbusto de raíz profunda que tiene la particularidad de conservarse siempre verde, aun en las épocas de más extrema sequedad; ello lo hace particularmente atractivo al ganado que, como es natural, lo ingiere con más avidez que en épocas de lluvia.

Sin embargo, hemos recibido información de que también se han presentado casos de "derrengue" en dichas épocas. La literatura consultada (2, 4, 8, 9, 12) nos demuestra que no existe ninguna referencia sobre el contenido alcaloidal ni sobre las propiedades tóxicas de especies del género *Melochia*. *M. pyramidata* L. se conoce popularmente en algunos países de Centroamérica con los nombres de escobilla morada, escobilla colorada, coralillo, paloma. (2, 12).

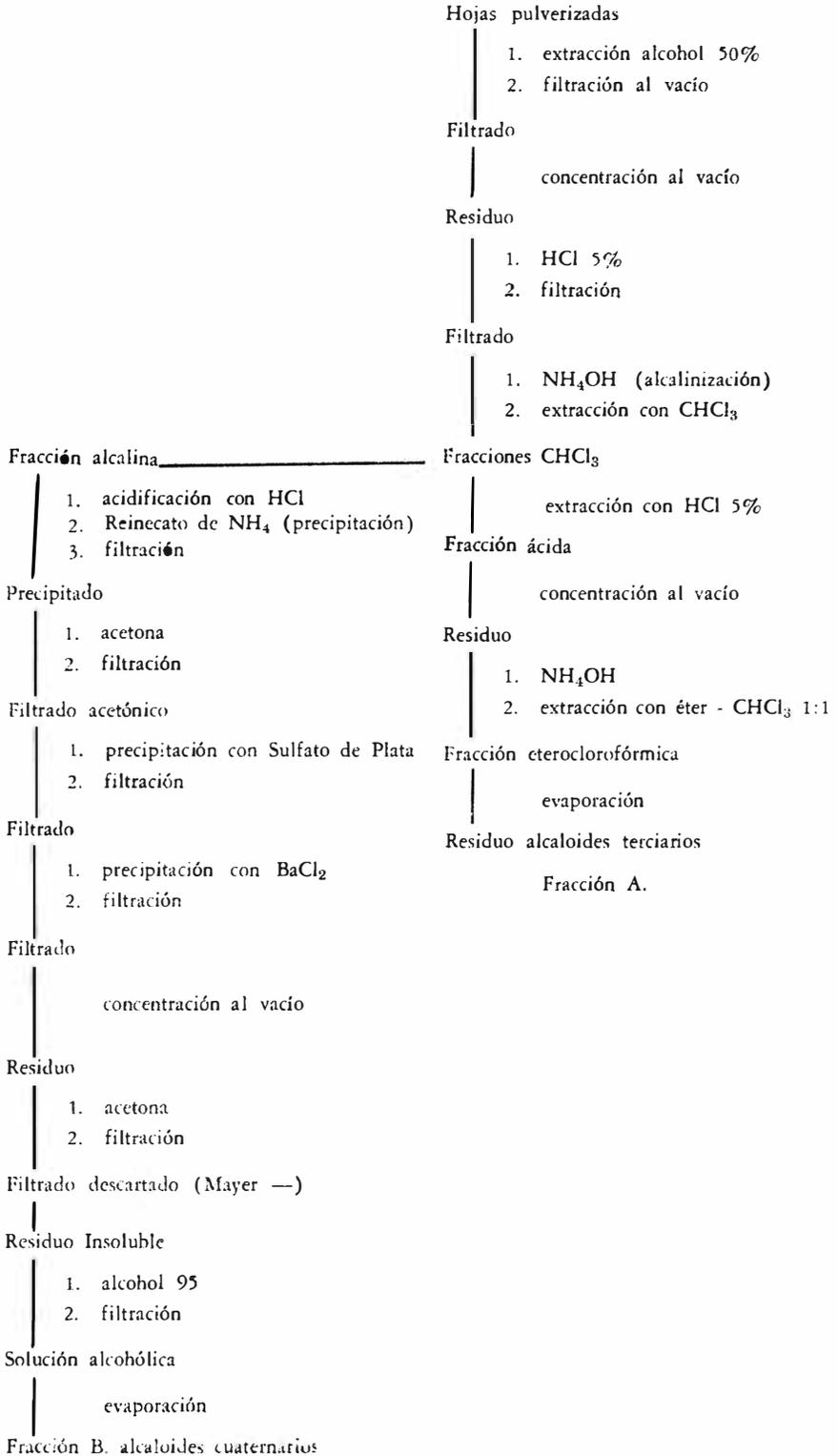
Recientemente se publicó (10) el análisis alcaloidal cualitativo de la planta que nos ocupa. Basado en el mismo, se decidió poner mayor atención en sus hojas ya que poseen alcaloides de tipo cuaternario y terciario.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron hojas, tallos y semillas de *M. pyramidata* L. obtenida en Nicoya, Guanacaste. Se procedió a confirmar el análisis alcaloidal cualitativo (10). 735 gm de hoja previamente desecada a 55°C fueron procesados de acuerdo con los pasos descritos en el cuadro 1.

CUADRO 1.

Extracción de hojas de M. pyramidata L.



Se dispuso hacer unos ensayos preliminares con la fracción B para lo cual 34 mg de la muestra fueron disueltos en agua y luego llevados a un pH aproximado de 6.5, mediante HCl y NaOH. 5 ratones de aproximadamente 30 gm cada uno, fueron inyectados con dosis de 0.20 ml, 0.5 ml y 0.6 ml, inyectándose a la vez ratones testigos con la solución HCl-NaOH.

En vista de los resultados obtenidos con los ensayos en animales se decidió hacer análisis cromatográfico de las fracciones A y B, con el objeto de determinar si había más de una sustancia de naturaleza alcaloidal.

Se hizo cromatografía ascendente utilizando papel Whatman N° 1, impregnado previamente con solución tamponadora de ácido acético — acetato a un pH de 3.08 (1,7). Se empleó como solvente n-butanol saturado con la solución tamponadora. Se aplicaron a 3 tiras soluciones acuosas de la fracción A, y, a otras 3, soluciones alcohólicas de la fracción B. Hicieronse aplicaciones de 10 y 15 lambdas, permitiéndose un desarrollo de 15 horas. Las 6 tiras se dejaron secar al ambiente y fueron observadas primero bajo luz ultravioleta y luego con reactivo de Dragendorff (6).

En vista de que las manchas de la fracción B no mostraban una buena separación se procedió a hacer una nueva cromatografía cambiando únicamente el solvente: ácido acético al 5% en n-butanol saturado con agua, con un tiempo de desarrollo de 17 a 20 horas. Se reveló igual que la primera cromatografía. Además, se hizo cromatografía con aplicación de 100 y 75 lambdas de ambas fracciones, a fin de lavar las tiras en los puntos en que se evidenciaba la presencia de una posible sustancia alcaloidal. Al hacer lo anterior con la fracción A, el papel se lavó con alcohol, y al concentrarse se precipitó una sustancia de apariencia grumosa, insoluble en agua. Se calentó a 80°C y se disolvió una parte de ella, la cual se inyectó a un ratón de 30 gm con 0.40 ml y media hora después 1 ml más.

Haciendo lo mismo con la fracción B se lavaron con alcohol los papeles en los sitios correspondientes a las manchas; se evaporaron los lavados y los residuos diluyéronse en agua. El lavado de la mancha con un valor Rf 0.15, se inyectó en ratones. Lo mismo se hizo con otra mancha de valor Rf 0.47. Cada una de las manchas alcaloidales de ambas fracciones disueltas en agua y acidificadas se trató separadamente con los reactivos de Mayer y Dragendorff (6).

Sospechando la presencia de algún derivado purínico, tipo cafeína, que no precipitan con los reactivos citados, se decidió hacer determinaciones por microsublimación para cafeína (3). Asimismo se practicó en microsublimados la reacción de identificación para derivados purínicos (5). También se practicaron cromatografías para derivados purínicos usando cafeína como estandar, y, finalmente, se hizo una extracción siguiendo métodos conocidos para obtener cafeína (13).

RESULTADOS

Los ratones inoculados con la fracción B total mostraron en todos los casos, a los 3-4 minutos, un efecto sobre el tren posterior, notándose arrastre de las patas traseras con espasmos o contracciones involuntarias de las mismas. El

síndrome se hace más evidente cuando los animales tratan de dar vuelta; también se presenta fotofobia en los animales inyectados.

En el análisis cromatográfico, las tiras en que se aplicó la fracción A evidenciaban, bajo la luz U.V., 3 manchas fluorescentes. En las que se aplicó fracción B mostraban solamente una mancha fluorescente amarillenta. (Véase fig. 1). Las mismas tiras aspersionadas con reactivo de Dragendorff (6) evidenciaban una mancha en la fracción A y dos en la B (Véase fig. 2). Al hacer varias cromatografías con el solvente modificado se obtuvo una mancha de tipo alcaloidal en la fracción A con Rf 0.89 y en la fracción B dos manchas con valores Rf de 0.15 y 0.47 respectivamente (Véase fig. 3).

Los ratones inoculados con los lavados de la mancha Rf 0.89 de la fracción A mostraron un aparente estímulo sin ningún efecto sobre el tren posterior. Los lavados de la mancha Rf 0.15 de la fracción B tampoco mostraron efecto sobre el tren posterior. Hecho lo mismo con la mancha Rf 0.47, los ratones inoculados mostraron afección del equilibrio y del tren posterior; así como fotofobia. Aproximadamente una hora después de inyectados, los animales se recuperaron aunque quedan en estado de reposo pronunciado. Al ser de nuevo inoculados los síntomas se reproducen. Es notorio el hecho de que los animales así tratados presentan períodos alternos de afección del tren posterior y de normalidad; también un renqueo por contracción, aparentemente espasmódica de las patas traseras. Al concentrar la solución acuosa de los lavados de esta mancha e inyectar dosis más fuertes, se produjo, además de los síntomas en el tren posterior, la muerte, al cabo de pocos minutos.

Empleando Dragendorff modificado (1) las manchas de la fracción B dan los mismos colores, aunque la de Rf 0.47 aparece más lentamente y si no se conserva fuera de la luz desaparece rápidamente.

Al tratar con reactivos de Dragendorff y Mayer cada uno de los lavados de las manchas de ambas fracciones, previamente acidulados, se obtuvo el siguiente resultado:

Mancha	Mayer	Dragendorff
Rf 0.89	—	—
Rf 0.47	+	+
Rf 0.15	—	—

Todos los ensayos practicados para determinar la posible presencia de derivados purínicos fueron negativos.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados descritos nos indican la presencia de 3 sustancias de posible naturaleza alcaloidal en las hojas de *M. pyramidata* L. Aparentemente, sólo una de ellas parece ser la causa de la acción tóxica de la planta, y a la cual hemos denominado provisionalmente meloquina. Las propiedades físicas y químicas de este alcaloide serán descritas con posterioridad. Es muy probable, según nuestras

experiencias, que la enfermedad conocida como "derrengue" sea causada, al menos en su acción sobre el tren posterior de los bovinos, por meloquina.

Hasta el presente se sabe que la familia Esterculiáceas, a la cual pertenece la planta que nos ocupa, es fuente de varias sustancias de naturaleza nitrogenada, aunque no consideradas modernamente como alcaloides, excepto una (11,14). Me refiero a cafeína, teofilina y teobromina. Las reacciones de identificación realizadas prueban que ni meloquina ni las otras dos probables sustancias alcaloidales encontradas sean similares a las tres sustancias antes citadas.

Las investigaciones llevadas a cabo en los lugares en donde se manifiesta la enfermedad nos demuestran que existe una evidente relación entre la distribución geográfica de *M. pyramidata* L. y de la enfermedad conocida como "derrengue".

Solamente haciendo pruebas, con los principios aislados, directamente en el ganado, se tendrá la definitiva respuesta o relación entre planta y enfermedad, aunque los resultados aquí descritos parecen confirmar esa relación.

Los Rf aquí reportados son promedios de varias cromatografías llevadas a cabo en condiciones ambientales. Solamente aislando los respectivos principios, e inoculando dosis adecuadamente controladas se podrá determinar con certeza su verdadera actividad fisiológica.

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi agradecimiento al Sr. Ing. Agro. Santos Herrera por el envío del material que hizo posible esta investigación, así como por la valiosa información que sobre la enfermedad que afecta el ganado, se sirvió ofrecerme. Asimismo, a mi colega y compañera de labores Lic. Maryssia Nassar C., por su valiosa cooperación en el desarrollo de la parte práctica del trabajo.

RESUMEN

Se reporta el estudio de las hojas de *M. pyramidata* L. desde el punto de vista alcaloidal. Demuéstrase cromatográficamente la presencia de tres sustancias de posible naturaleza alcaloidal; una de ellas correspondiente a la fracción terciaria y dos a la cuaternaria. Se prueba que uno de los principios de dicha especie, al que denominamos provisionalmente meloquina, afecta al tren posterior de ratones y es tóxico, en ciertas dosis, para éstos mismos animales. Se sugiere que esta sustancia pueda ser también la causante de la enfermedad conocida como "derrengue" en el ganado, la que se caracteriza por parálisis del tren posterior.

SUMMARY

The alkaloid content of the leaves of *Melochia pyramidata* L. was investigated. Chromatographic analysis showed the presence of three possibly alkaloid substances, one of them in the tertiary fraction, the other two in the quaternary fraction. One of these, tentatively designated as melochin, proved toxic to la-

boratory mice, affecting principally the hind legs. This substance is deduced to be the probable cause of the cattle disease known locally as "derrengue", which is characterized by paralysis of the hind legs.

REFERENCIAS

1. BLOCK, J. R., L. D. EMETT, & Z. GUNTER.
1958. *A manual of paper chromatography and paper electrophoresis*. 2 ed. XI + 710 pp., Academic Press Inc. Publishers, New York.
2. CALDERÓN, S., & P. C. STANDLEY.
1944. *Lista preliminar de plantas de El Salvador*. 2 ed. 450 pp., Ediciones culturales de la Universidad de El Salvador, San Salvador.
3. CLAUS, P. E.
1956. *Pharmacognosy*. 3 ed. 731 pp., Lea & Febiger, Philadelphia.
4. DE GLADO, M. M. D. (ed).
1857. *Los tres reinos de la naturaleza*. Tomo VIII Botánica 637 pp., Madrid, España.
5. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.
1944. XII Rev., Trad. A. A. Moll, CIII + 983 pp., Mack Printing Co., Pensilvania.
6. JENKINS, G. L., J. E. CHRISTIAN, & G. P. HAGER.
1957. *Quantitative pharmaceutical chemistry*. 5 ed. XIII + 522 pp., The Blakiston Company Inc., New York.
7. LEDERER, M., & E. LEDERER.
1957. *Chromatography*, 2 ed. XX + 711 pp., Elsevier Publishing Co., Amsterdam.
8. PÉREZ, C. R.
1938. *Sinopsis de medicina vegetal*, 435 pp., Imprenta Borrásé, Costa Rica
9. PITTIER, H.
1957. *Ensayo sobre plantas usuales de Costa Rica*. 2 ed. 264 pp., Editorial Universitaria, Universidad de Costa Rica, San Pedro.
10. SÁENZ, J. A.
1964. Contribución al estudio fitoquímico de plantas costarricenses. I. Análisis alcaloidal, *Rev. Biol. Trop.*, 12: 67-74.
11. SRIVASTAVA, G. P., & N. K. BASU.
1956. *Abroma augusta*. I. Chemical examination, *Indian J. Pharm.* 18: 472-475.
12. STANDLEY, P. C.
1937-1938. *Flora of Costa Rica*. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser., 18, 4 partes, 1616 pp., Chicago.
13. VARRO, E. T., & A. E. SCHWARTING.
1962. *Experimental Pharmacognosy*, 3 ed. V + 105 pp. Burgess Publishing Company, Minnesota.
14. YOUNGKEN, H. W.
1951. *Tratado de Farmacognosia*, XX + 1375 pp. Trad. F. Giral, Editorial Atlante S. A., México.

Figs. 1-3 Cromatogramas de las fracciones alcaloidales cuaternarias y terciarias de *Melochia pyramidata* L.

Fig. 1 Cromatogramas bajo luz ultravioleta.

- I. R^f 0.91 fluorescencia verdosa amarillenta
- II. R^f 0.82 violacea
- III. R^f 0.47 violacea
- IV. R^f 0.25 débil fluorescencia amarillenta

Fig. 2 Cromatogramas revelados con Dragendorff (solvente n-butanol saturado con solución tamponadora pH 3.08)

- I. R^f 0.91
- II. R^f 0.25
- III. R^f 0.12

Fig. 3 Cromatogramas revelados con Dragendorff (solvente ácido acético 5% en n-butanol saturado con agua)

- I. R^f 0.91
- II. R^f 0.47
- III. R^f 0.15

