

Constituyentes y Actividad Purgativa del Fruto de la Yerba del Pollo (*Alternanthera pungens* H.B.K., Amaranthaceae)

Claudia P. CALDERON¹, Susana B. GARCIA ASEFF¹, Lucía B. FUENTES¹,
Rosa E. LOPEZ de RUIZ², María FUSCO², Angela SOSA² y Sohar O. RUIZ² *

¹ Area de Farmacología y Toxicología

y ² Area de Farmacognosia, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia,
Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco y Pedernera, 5700, San Luis, Argentina.

RESUMEN. La “yerba del pollo” (*Alternanthera pungens* H.B.K., Amaranthaceae) es ampliamente usada en medicina popular en los trastornos gastrointestinales. Se investigaron los componentes fitoquímicos relacionados a la actividad purgativa de su fruto. Se detectaron en el fruto antraquinonas como O-glicósidos y C-glicósidos. Asimismo se aislaron dos heterósidos saponínicos, cuyas geninas fueron el ácido oleanólico y el β -sitosterol, en tanto que el glicón es glucosa. Por otro lado se encontraron dos bases de amonio cuaternario, colina y acetilcolina. Con el extracto del fruto se realizaron estudios farmacológicos relacionados a su actividad purgativa. Los resultados obtenidos confirman el uso popular de esta planta.

SUMMARY. “Constituents and purgative activity of fruits of *Alternanthera pungens* H.B.K., Amaranthaceae”. *Alternanthera pungens* H.B.K. (Amaranthaceae), commonly known as “yerba del pollo”, is widely used as a folk medicine. Its fruits were submitted to phytochemical investigations and tested for purgative activity. Anthraquinone O-glycosides and C-glycosides were detected in the fruit. Two saponin heterosides were also isolated, whose genines were oleanolic acid and β -sitosterol, with glucose in both of them as its glycosidic moiety. Two ammonium quaternary bases, choline and acetylcholine, have been detected. The extracts of fruits were prepared and tested for pharmacological effects (purgative activity). The results seem to correlate with the local use of the plant.

INTRODUCCION

Alternanthera pungens H.B.K. (Amaranthaceae), [sinónimos: *Achyranthes repens* L.; *Alternanthera repens* (L) Link; *Alternanthera achyrantha* (L) Sweet], es comúnmente conocida como “yerba del pollo” y menos frecuentemente como “caape”, “quisca-yu” o “torito”¹.

Sorarú y Bandoni² dan cuenta que la planta entera es empleada en el tratamiento de trastornos gástricos, intestinales y hepáticos, usándose la parte aérea como diurético y emoliente. Esta especie está codificada en la *Farmacopea Nacional Argentina* en su sexta edición³.

* Autor a quien remitir la correspondencia.

PALABRAS CLAVE: *Alternanthera pungens*, Constituyentes, Fruto, Actividad purgativa.
KEY WORDS: *Alternanthera pungens*, Constituents, Fruits, Purgative Activity.

Está distribuída geográficamente en amplias regiones de América y, aunque ese es su origen, también se ha difundido como maleza en Europa y Asia. En la República Argentina es abundante en caminos, campos y suelos modificados. Florece en verano y otoño ¹.

Estudios fitoquímicos previos sobre la planta total han permitido detectar la presencia de un heterósido saponínico cuya genina es el ácido oleanólico, en tanto que el glicón está compuesto por glucosa y ramnosa ⁴, y colina (como cloruro) en la fracción de bases de amonio cuaternarias ⁵.

Teniendo en cuenta el uso popular de esta especie, el objetivo del presente trabajo es investigar la presencia de principios bioactivos en el fruto que justifiquen su actividad farmacológica sobre el tracto gastrointestinal.

MATERIALES Y METODOS

Las cromatografías en capa fina de las saponinas se realizaron sobre placas de gel de sílice (Merck 60-G) de 0,25 mm de espesor, usando como fase móvil una mezcla de benceno-dioxano-ácido acético (120:20:4) y como revelador una mezcla de ácido sulfúrico-ácido acético-agua (80:10:10). Para las cromatografías de las bases de amonio cuaternarias también se recurrió a placas de gel de sílice del mismo espesor que el descripto y como reveladores al ácido cloroplátinico ⁶ y al reactivo de Dragendorff modificado ⁷. A su vez los azúcares fueron identificados en cromatografía en papel Watman N° 1 usando como fase móvil una mezcla formada por n-butanol-ácido acético-agua (4:1:5) y como revelador el reactivo de Partridge ⁸.

El material vegetal se recolectó en los alrededores de la ciudad de San Luis en marzo de 1994, separando del mismo los frutos en forma manual, los cuales se secaron al aire hasta peso constante y redujeron a polvo fino con la ayuda de un molino a cuchillas. Se lo desengrasó con éter de petróleo (fracción 60-80 °C) en un "bustron" ⁹. Al material vegetal así tratado se lo dejó secar por una noche al aire y posteriormente se lo extrajo con etanol 95% en las mismas condiciones que antes, hasta agotamiento, y se evaporó el solvente a presión reducida a 40 °C hasta residuo seco. El mismo representa el 0,6 % del material de partida.

Aislamiento de las bases de amonio cuaternarias

Al residuo obtenido según lo descripto en el párrafo anterior se lo disolvió en ácido clorhídrico diluído, se lo alcalinizó con hidróxido de amonio concentrado y, con el objeto de purificarlo, se lo extrajo exhaustivamente con cloroformo.

La fase acuosa se llevó a pH 1 con ácido clorhídrico concentrado y se precipitaron las bases de amonio cuaternarias con el agregado de reactivo de Mayer concentrado (50 gramos de cloruro mercúrico, 200 gramos de ioduro de potasio, 400 mililitros de agua). El precipitado formado se dejó reposar en heladera por veinticuatro horas, se filtró por papel y se disolvió en una mezcla de acetona-metanol. La solución resultante se pasó a través de una columna de intercambio iónico IRA 400 (Cl⁻), usando como líquido de elución también acetona-metanol (3:1).

A todas las fracciones con reacción positiva de alcaloides frente al reactivo de Bertrand se las reunió y cromatografió en una columna de alúmina (grado II-III, según Brockmann) Merck, armada sobre cloroformo, aumentando la polaridad del cloroformo con cantidades crecientes de metanol. Cuando la proporción de cloro-

formo-metanol es 80:20 eluyen fracciones con fuerte reacción positiva de alcaloides frente al reactivo de Bertrand. A todas ellas se las reunió y se realizó el estudio cromatográfico de las mismas resultando dos manchas, cromatográficamente homogéneas, que coincidieron con una muestra auténtica de colina y de acetilcolina, respectivamente.

Detección de glicósidos antraquinónicos

Con este propósito se siguió la técnica que para tal fin da la *Farmacopea Británica*¹⁰, que consiste esencialmente en agregar al material vegetal pulverizado agua caliente y calentar en baño de agua, filtrar e hidrolizar con ácido clorhídrico 7 M por quince minutos y extraer con éter etílico. La fase etérea inorgánica se alcalinizó con hidróxido de amonio concentrado. La aparición en la capa de color rojo amarillento indicó la presencia de O-glicósidos antraquinónicos.

La fase acuosa proveniente de la extracción anterior se trató con cloruro férrico, se extrajo con cloroformo, se lavó éste con agua y finalmente se agitó ésta con hidróxido de amonio 2 M. El agua tomó una coloración naranja que indicó la presencia de C-heterósidos antraquinónicos.

Aislamiento e identificación de saponinas

Con el fin de conseguir el aislamiento de saponinas en el material vegetal en estudio se recurrió a la técnica que Peñafiel y Díaz Villar¹¹ aplicaron a la separación de saponinas contenidas en la quinua. Con este propósito el material vegetal seco se extrajo con una mezcla de metanol-agua (4:1) por tres veces y se concentró el líquido extractivo a pequeño volumen a presión reducida a 40 °C. La solución resultante se trató con ácido clorhídrico 0,2 N y luego con una mezcla de n-butanol-cloroformo-ácido clorhídrico 0,1 N (6:1:3). Así resultaron dos fases, una orgánica y otra inorgánica. Las saponinas contenidas en la capa orgánica se hidrolizaron con ácido sulfúrico 12 N a 120 °C, sobre baño de arena, durante noventa minutos. Las sapogeninas resultantes se extrajeron con cloroformo, secando éste con sulfato de sodio anhidro y evaporándolo al vacío hasta sequedad. El estudio cromatográfico del residuo dio como resultado la presencia de dos manchas cromatográficamente homogéneas que resultan ser β -sitosterol y ácido oleanólico por comparación con testigos auténticos. La capa inorgánica se neutralizó y cromatografió en papel, obteniendo una mancha cuyo Rf coincide con el de un testigo de glucosa.

Efecto purgativo en ratón

Se usaron ratones albinos de ambos sexos (25-30 g). Los animales se colocaron en cajas metálicas (30 x 20 x 15 cm). Fueron privados de alimento y agua 6 h antes del experimento. Los animales que produjeron heces húmedas/acuosas durante este período fueron desechados. 42 animales fueron seleccionados y divididos en tres grupos. El grupo A (n: 18) se subdividió en tres grupos de 6 animales cada uno, y los animales de cada grupo recibieron las siguientes dosis: 80, 160 y 240 mg/kg del extracto de *Alternanthera pungens*; el grupo B (n: 18) se subdividió igualmente y se administraron dosis equivalentes del extracto de *Cassia angustifolia* (control positivo). El grupo C (control negativo) recibió solución salina (30 ml/kg). Todas las administraciones se realizaron por vía oral. Los animales lue-

go se ubicaron en jaulas individuales con un papel blanco en el fondo. Se restringió el suministro de agua, se mantuvieron en observación y se registró el número de heces húmedas producidas durante 24 horas ^{12,13}.

Motilidad gastrointestinal en ratón

Se utilizaron ratones adultos de ambos sexos (25-30 g), con vagum de 24 h. Los animales se dividieron en tres grupos (n:10) y se les administró por vía oral a los del primer grupo extracto etanólico del fruto de *A. pungens* (80 mg/kg), a los del segundo grupo extracto de *Cassia angustifolia* (80 mg/kg) y a los del tercer grupo solución salina (30 ml/kg). Cinco minutos después se les hizo ingerir 0,5 ml de una suspensión al 5% de carbón en solución acuosa al 10% de goma tragacanto. Se midió la distancia recorrida (%) que alcanzó el tapón de carbón a través del intestino delgado ^{13,14}.

Estudio en íleon aislado de cobayo

Segmentos de íleon de cobayo (2 cm) se suspendieron en un baño de órgano aislado conteniendo solución Tyrode a 37 °C. La preparación se sometió a una tensión de 0,5 g después de una estabilización de 60 min se registró la respuesta en un quimiógrafo ¹⁵ a diferentes dosis de extracto (2-20 mg/ml), acetilcolina (10 g/ml, Merck) y luego en presencia y ausencia de atropina (10 µg/ml, Merck). Se realizaron cinco preparaciones independientes.

RESULTADOS

Los estudios fitoquímicos realizados en el fruto de *Alternanthera pungens* indicaron la presencia de varios constituyentes: glicósidos antraquinónicos (C-glicósidos y O-glicósidos), dos glicósidos saponínicos cuyas geninas son ácido oleanólico y β-sitosterol y la parte glicosídica compuesta por glucosa, y dos bases de amonio cuaternario (colina y acetilcolina).

El extracto del fruto de *A. pungens* indujo en ratón un efecto purgativo dosis dependiente, el cual fue evidenciado por el incremento en el número de heces húmedas durante 24 h (Tabla 1) y el porcentaje promedio de heces húmedas producidas según la dosis (Figura 1). Los resultados del test de motilidad gastrointestinal (Figura 2) indican que el extracto de *A. pungens* incrementó significativamente el movimiento propulsivo del contenido intestinal en el lote experimental respecto del lote control ($p < 0,001$). En íleon de cobayo aislado, el extracto produjo una contracción inmediata y sostenida, similar a la respuesta producida por acetilcolina. Las contracciones fueron dosis dependientes y bloqueadas reversiblemente por atropina.

Dosis (mg/kg)	Número de heces húmedas		
	<i>A. pungens</i> (A)	<i>C. angustifolia</i> (B)	<i>Sol. salina</i> (C, ml/kg)
80	3 ± 1	4 ± 1	1 (30)
160	4 ± 2	5 ± 1	1 (30)
240	8 ± 2	6 ± 2	1 (30)

Tabla 1. Test de purgación en ratón.

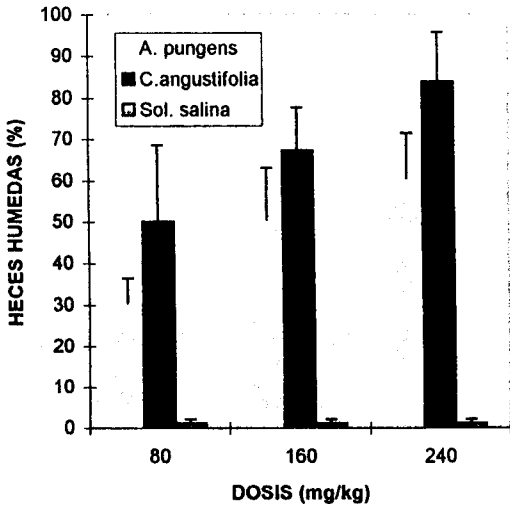


Figura 1. Actividad purgativa de los extractos de *A. pungens* y *C. angustifolia*. Producción de heces húmedas (%) vs. dosis. Cada barra representa el porcentaje promedio y su desviación standard. Lote experimental vs. lote control (solución salina) $p < 0.005$ (test de Student).

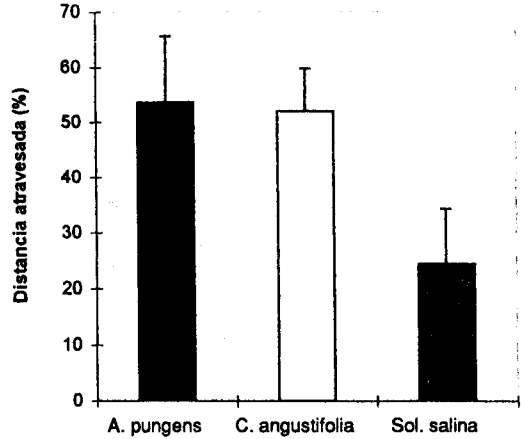


Figura 2. Porcentaje promedio de la distancia recorrida por el tapón de carbón a través del intestino delgado. Los valores representan la media \pm S.E.M (n:10). Lote experimental vs. control $p < 0,001$ (test de Student).

DISCUSION

Los criterios propuestos para la aceptación de una droga como purgativa ¹² incluyen: a) producción de heces húmedas y/o deformes, b) producción de evacuación fluída o acuosa y c) acción propulsiva gastrointestinal. Los resultados de esta investigación confirmaron que el extracto del fruto de *A. pungens* contiene sustancias farmacológicamente activas con propiedades purgativas. Por otro lado, la intensidad de la evacuación es dosis-dependiente. El test del tránsito intestinal, que permite una evaluación comparativa del grado de estimulación de la motilidad gastrointestinal, mostró que el extracto utilizado incrementó el movimiento peristáltico con resultados comparables a los obtenidos con sen. Este efecto estimulante fue confirmado por los estudios realizados en íleon de cobayo aislado. El extracto indujo contracción que fue bloqueada por un antagonista específico, lo que indica que su acción es mediada a través de receptores específicos, aparentemente por una acción estimulante directa sobre el receptor colinérgico. Los estudios fitoquímicos evidenciaron que el extracto del fruto contiene varios principios purgativos que actúan por estimulación autonómica (acetilcolina), por irritación directa (glicósidos antraquinónicos) y por emulsificación (saponinas), justificando ampliamente estos resultados el uso popular de esta especie vegetal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arenas P. (1981) "*Etnobotánica Lengua-Maskoy, Fundación para la Educación, Ciencia y Cultura*", Buenos Aires, págs. 168-9
2. Sorarú, S.B. & A.L. Bandoni. (1978) "*Plantas de la Medicina Popular Argentina*", Editorial Albatros S.R.L., págs. 17-8
3. *Farmacopea Nacional Argentina* (1978) VI Ed., pág. 1010

4. Ruiz R.E.L., M. Fusco M., A.M.P. Rapisarda, A. Sosa. y S.O. Ruiz (1991) *Acta Farm. Bonaerense* **10**: 25-27
5. Ruiz R.E.L., M. Fusco & S.O. Ruiz (1993) *Fitoterapia* **64**: 95
6. Goldbaun, L.R. & L. Kazyak (1956) *Ann. Chem.* **18**: 1289
7. Munier, R. (1953) *Bull. Soc. Chimie. Biol.* **35**: 1225
8. Partridge, S.M. (1949) *Nature* **164**: 479
9. Bustamante, O.M., M. del C. Vaccaro & R.V.D. Rondina (1986) *Acta Farm. Bonaerense* **5**: 11-4
10. *British Pharmacopeia* (1993) Vol. **1**, pág. 116
11. Peñafiel, C.C.E. & Díaz Villar (1988) "*Archivo Latinoamericano de Nutrición*" págs. 113-31
12. Geiger, V. (1940) *J. Am. Pharm. Ass. Sc.* **29**: 148
13. Akah, P.A. (1989) *Fitoterapia* **60**: 45-8
14. Turner, R.A. (1965) "*Screening Methods in Pharmacology*", Academic Press, New York and London, págs. 12-25
15. Burn, J.H. (1952) "*Practical Pharmacology*". Blackwell Scientific Publication, Oxford. pág. 25