

Glicósidos de *Thevetia plumeriaefolia* Benth. I

por

José Alberto Sáenz R.* y Maryssia Nassar C.**

(Recibido para su publicación el 21 de diciembre de 1961)

El género *Thevetia* es originario de América tropical y subtropical, sobre todo de México y Perú y difundida en casi todo el resto de Latinoamérica. *Thevetia plumeriaefolia* Benth. se presenta como un arbusto de amplia distribución, en Costa Rica, principalmente en la región del Pacífico, y se conoce entre nosotros vulgarmente con diversos nombres, tales como chirca venenosa, aunque ese mismo nombre se aplica a otras especies del género (10, 15, 19); en Colombia se le denomina azuceno (22).

Los frutos y el látex se han reportado como venenosos; se han usado popularmente en infusión, al 2 por mil en agua, contra afecciones febriles, catarrros intestinales, reumatismo, etc. También se les atribuye propiedades de alexifármacos (14).

El presente trabajo describe un estudio preliminar de los glicósidos aislados de las semillas de *Thevetia plumeriaefolia* Benth.

Hasta donde sabemos, del género *Thevetia*, sólo *Th. neriiifolia* Juss. (*peruviana* (Pers.) Merrill) ha recibido atención, principalmente por parte de investigadores europeos y norteamericanos, quienes han utilizado para sus estudios plantas cultivadas en Hawaii o Asia (5, 22). Se ha comunicado, de dicha especie, la presencia de un glicósido cardiotónico denominado tevetina, sobre cuya composición, particularmente de la porción glicona, existe discrepancia entre los varios fitoquímicos (4, 7, 8, 12, 18, 20). Los trabajos realizados con la especie precitada por autores latinoamericanos son tan poco concluyentes que no significan contribución de valor en este campo (13, 16). Creímos así interesante enfocar nuestra atención a una especie de *Thevetia* que nunca con anterioridad fuera analizada.

PARTE EXPERIMENTAL

Se utilizaron semillas, hojas y tallos desecados en estufa a 55° C. Con las tres partes se procedió a realizar pruebas cualitativas para alcaloides con resulta-

* Depto. de Biología, Facultad de Ciencias y Letras.

** Sección Farmacognosia, Facultad de Farmacia.

do negativo. Lo mismo se hizo para glicósidos cardiotónicos según el procedimiento descrito por SHELLARD (18) para los glicósidos de las hojas de digital. Las tres partes citadas de la planta dieron resultado positivo siendo más intensa con las semillas, por lo que se siguió trabajando sólo con ellas. Estas se obtuvieron de frutos en pleno desarrollo, principalmente de las regiones de Río Segundo y Atenas, provincia de Alajuela, a aproximadamente 700 m sobre el nivel del mar. Se pulverizaron en mortero hasta obtener un polvo moderadamente grueso.

Sospechando la presencia de tevetina en la especie en estudio, decidimos realizar dos extracciones simultáneas según los métodos descritos por CHEN y CHEN (4) y por LAHIRI y col. (8) ambos para dicho principio. No obteniendo buenos resultados ni habiendo podido verificar la cristalización como lo indican aquellos autores, se estableció el siguiente procedimiento: 225 mg. de semillas pulverizadas se extrajeron cuatro veces a reflujo con 600, 400, 400 y 400 ml respectivamente de alcohol etílico absoluto. Cada extracción tomó dos horas y, separado el material insoluble por filtración, se reunieron los cuatro filtrados, procediéndose a concentrar el extracto alcohólico total al vacío, hasta un volumen de 200 ml; se colocó en una cápsula y se refrigeró a 0° C. durante 24 horas. La grasa así solidificada se separó por filtración en frío. Lo anterior se repitió hasta obtener un líquido libre de sedimento grasoso, que se trasvasó a otra cápsula para posterior tratamiento.

La grasa separada mediante los procedimientos de CHEN y CHEN (4) y LAHIRI y col. (8) al dejarla en reposo al ambiente, durante 48 horas, permitió obtener del fondo y los bordes del recipiente unos cristales que se aislaron por filtración, en caliente, del aceite. Se lavaron por decantación con éter, primero, y luego con alcohol etílico. Finalmente se purificaron cristalizándolos en una mezcla de partes iguales de éter y piridina.

Reacciones: { Lieberman-Buchard: +
 } Salkowski: +

Aparentemente se trata de un sitosterol, que ya había sido encontrado (4) en *Tb. neriifolia* Juss. Sin embargo, como en este caso el principio adormece los labios y la mucosa bucal; causa irritación en la piel y es además estornutatorio, tenemos la presunción de que se trate de una saponina triterpenoide, que también daría positivas las reacciones apuntadas.

En próxima comunicación ampliaremos el estudio del principio citado.

En el aceite, purificado por filtración, se procedió a determinar algunos valores de índices:

Índice saponificación: 185,49; 185,60

Índice acidez: 4,2

Índice refracción: 1,4670

Finalmente, con relación al aceite, debemos indicar que se obtiene en un porcentaje de 66,6% p. p., proporción algo inferior a la obtenida en *Tb. neriifolia* (6).

Continuando con el líquido alcohólico original desengrasado, éste se evaporó hasta sequedad en baño maría, lavando el residuo con porciones de 6 ml de éter de petróleo repetidamente. Luego de evaporado el éter, se adicionan 25 ml de alcohol etílico absoluto, se agita y se deja en reposo varias horas; se decanta el líquido supernadante y se diluye con 20 ml de alcohol 95°. Esta solución alcohólica se trata con subacetato de plomo hasta precipitación total; se filtra y al filtrado se le pasa una corriente de H₂S para eliminar el exceso de plomo (17). Se filtra y se concentra a baño maría hasta sequedad. El residuo se disuelve en 20 ml de alcohol etílico absoluto y se deja en reposo durante la noche. Al día siguiente se observó cristalización en el fondo del envase y hacia los bordes. Se decanta el líquido madre; se concentra a baño maría y vuelve a dejarse en reposo para obtener una nueva cristalización, aunque no tan abundante como la primera. Las dos porciones cristalinas se separan mecánicamente de los recipientes, se desecan en estufa a 30° C, obteniéndose un polvo cristalino grisáceo que se purifica por recristalización en una mezcla hidroalcohólica (1:5) a la que se adiciona alcohol absoluto hasta su precipitación. De esta manera se obtuvo un polvo blanco cristalino de sabor dulcete, al que se le hicieron los siguientes ensayos:

Punto de fusión: 193°C

Benedict: negativo

Al obtener un ensayo de Benedict negativo se procedió a hidrolisar 10 mg de sustancia en 1 ml de agua, más 3 ml de HCl al 5%, calentando en baño maría durante un cuarto de hora; se enfrió y se repitió la reacción de Benedict, previa neutralización con carbonato de sodio. El resultado en este caso fue positivo con lo que se confirmó la naturaleza glicosidal del principio aislado.

Utilizando semillas de *Prunus amygdalus* var. *dulcis*, obtenidas en el comercio local, se aisló emulsina; tratando dicha mezcla enzimática con una solución del glicósido no se produjo la hidrólisis: reacción de Benedict negativa. Aparentemente el principio no posee enlace beta-glicosídico.

Al glicósido hidrolisado en medio ácido se le hicieron pruebas con S. R. FeCl₃, dando resultados negativos. Lo anterior evidenció la presencia de una porción glicona no fenólica, sino probablemente alcohólica. La naturaleza de dicha porción está bajo estudio y será reportada en próxima publicación.

Con este mismo principio se realizaron los siguientes ensayos:

Ensayo de Legal: —

Ensayo Keller-Killiani: —

Solubilidad: soluble en agua; ligeramente soluble en alcohol 95%.

Insoluble en solventes orgánicos: éter, cloroformo, etc.

Análisis elemental (11)

Nitrógeno: —

Azufre: —

Halógenos: —

C.H.O.: +

La solución madre alcohólica presentó un sabor amargo intenso; se evaporó a baño maría hasta consistencia siruposa y se disolvió en 100 ml de alcohol etílico; se sometió a la precipitación fraccionada con éter etílico, depositándose en el fondo del frasco, al cabo de 24 horas, un polvo amarillento que se aisló por decantación y que tiene sabor amargo intenso. Observado al microscopio presentó formas cristalinas aciculares agrupadas en roseta.

Solubilidad: alcohol etílico, metílico e isopropílico; ligeramente en agua.
Insolubilidad: éter, cloroformo.

Ensayos:

Ferrox: +
Benedict: —
Fehling: —

Análisis elemental:

Nitrógeno: —
Azufre: —
Halógenos: —
C.H.O.: +

Hidrólisis: Se trató de producir la hidrólisis de acuerdo con el procedimiento seguido por CHEN y CHEN (4) para tevetina. Se obtuvo un precipitado amorfo oscuro y el ensayo de Benedict dió negativo. Todo lo anterior nos hizo suponer en la carbonización del principio. Por ello, se procedió a hidrolizarlo con HCl al 5% a reflujo. Al cabo de una hora, aproximadamente, se observó la precipitación de una sustancia amorfa amarillenta, la cual se separó por centrifugación. En el líquido supernadante se efectuó el ensayo de Benedict y Fehling dando en ambos casos positivo. Con esto se confirmó la naturaleza glicosidal.

Pruebas para glicósidos cardiotónicos:

Reacción con ácido 3-5 dinitro benzoico (21): +
Reacción de Legal modificada (8): +
Reacción Keller-Killiani: —

Determinado el punto de fusión dió un valor de 179-180°C. o sea diferente a los varios reportados para tevetina (1).

Análisis cromatográfico. A fin de determinar la naturaleza de las porciones glicónica y aglicónica del principio cardiotónico, se procedió a determinar el Rf mediante cromatografía en papel. Como estándar, dada la imposibilidad de conseguir tevetina, se empleó digitoxina aislada de hojas secas y pulverizadas de *Digitalis purpurea* L. Del glicósido aislado se utilizó una solución al 0.5% en

agua. Se siguió el método de SVENDSEN y JENSEN (1, 2, 3, 9) que utiliza ácido tricloroacético en cloroformo y luz U.V. para reconocer las manchas; como solvente: cloroformo, metanol, agua 3: 4: 3.

La cámara se saturó con la fase móvil durante 24 horas. Luego se procedió al desarrollo durante 10 horas. Los siguientes fueron los valores obtenidos.

Glicósido aislado $R_f = 0.86$

Digitoxina estandar = 0.91

Realizado el ensayo con las agliconas se obtuvieron los siguientes resultados.

Aglicona estandar: 0.87 (Digitoxigenina)

Aglicona incógnita: 0.87

Se deduce de lo anterior, que la aglicona del principio aislado es semejante a la de digitoxina y tevetina (20, 21).

La composición de la parte glicona se obtuvo por cromatografía en papel utilizando dos métodos:

1. Método de Trevelyan 1950, modificado por Dedonder 1952 (1), con papel Whatman N° 1 y como fase móvil n-butanol; etanol; agua (4: 1.1: 1.9). La cámara se saturó durante 24 horas y el cromatograma descendente se desarrolló por un período similar.

R_f solución glucosa estandar al 1%: 0.21

R_f solución ramnosa estandar al 1%: 0.28

R_f glicósido hidrolisado al 0.45%: 0.21

2. Según Partridge 1941 (1); ascendente, empleando como fase móvil n-butanol saturado con agua. Desarrollo durante 12 horas.

R_f glicósido hidrolisado: 0.17

R_f solución de glucosa: 0.17

R_f solución de ramnosa: 0.23

En el glicósido así hidrolisado se demuestra la presencia únicamente de glucosa en la porción glicona que bien pudiera ser en forma de gentiobiosa.

DISCUSION

El presente trabajo nos ha demostrado la presencia, en las semillas de la especie *Thevetia plumeriaefolia* Benth., de un aceite fijo; un principio separado del aceite que responde a las reacciones de triterpenoides y que bien puede ser un sitosterol o una saponina; dos glicósidos, uno de ellos aparentemente alcohólico y otro de tipo digitálico, cuyo análisis cromatográfico indica la presencia del núcleo de la digitoxigenina en la porción aglicona y glucosa en la parte azucarada.

Se deduce con los resultados aquí indicados, que el glicósido cardiotónico no es igual, al menos en la porción azucarada, a la tevetina reportada en la espe-

cie *Tb. neriifolia* Juss. La reacción de Keller-Killiani negativa demuestra la ausencia de 2-desoxiazúcares en la molécula. En este último aspecto coincidimos con CHEN y CHEN (4) en su informe sobre tevetina, pero diferimos de LAHIRI y col. (8) quienes comunican Keller-Killiani positivo para el mismo principio.

El análisis elemental realizado con el glicósido no cardiotónico, así como sus propiedades físicas, coinciden con los datos reportados por CHEN y CHEN (5) para el glicósido que denominaron Kokilphin (5).

A fin de verificar los diversos datos dados a conocer para tevetina, hemos decidido emprender el análisis de la especie *Tb. neriifolia* Juss, cuyos resultados, así como los concernientes a los principios anotados en este trabajo, serán objeto de próxima publicación.

RESUMEN

Las semillas de *Thevetia plumeriaefolia* Benth. contienen dos glicósidos, uno de ellos alcohólico, el otro cardiotónico, similar a tevetina obtenido de las semillas de *Thevetia neriifolia* Juss. Se discute la composición de la glicona de los dos glicósidos aislados y de la aglicona del principio cardiotónico.

SUMMARY

Seeds of *Thevetia plumeriaefolia* Benth. contain two glycosides, one of them alcoholic, the other a cardiotonic compound similar to thevetin obtained from *Thevetia neriifolia* Juss. The composition of the glycone of both glycosides and the aglycone part of the cardiotonic principle is discussed.

BIBLIOGRAFIA

1. BELL, D. J.
1955. Mono- and oligosaccharides and acidic monosaccharide derivatives. En K. Paech & M. V. Tracey (ed.), *Modern Methods of Plant Analysis* Vol. 2: 7 - 17. Springer - Verlag, Berlín - Gottingen. Weidelberg.
2. BUSH, I. F., & A. H. TAYLOR
1952. The paper chromatography examination of cardiac aglycones of *Strophantus* seeds. *Biochem. J.*, 3: 643 - 648.
3. CASSIDY, M. G.
1957. *Fundamentals of Chromatography*. xvii + 447 pp. Interscience Publishers Inc., New York.
4. CHEN, K. K., & A. L., CHEN
1934. The constituents of be-still nuts, *Thevetia neriifolia*. *J. Biol. Chem.*, 105: 231 - 240.
5. CHEN, K. K., & A. L., CHEN
1934. The action of crystalline thevetin, a cardiac glycoside of *Thevetia neriifolia*. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 51: 23.

6. ECKEY, E. W.
1954. *Vegetable fats and oils*, ix + 863 pp. Amer. Chem. Monograph series. Reinhold Publishing Corp. New York.
7. GHATAK, N.
1932. Chemical examination of the seeds of *Thevetia neriiifolia*. *Bull. Acad. Sc. United Provinces*, Agra, Oudh, India, 2: 79.
8. LAHIRI, J. K., S. GHOSH, & R. N. CHOPRA
1938. Herstellung von reinem Thevetin aus dem Samen von *Thevetia neriiifolia*, *Juss. Arch. Pharm.*, 276: 345 - 347.
9. LEDERER, M., & E. LEDERER
1957. *Chromatography*. 2 ed., xx + 711 pp. Elsevier Publishing Co. Amsterdam.
10. MARTÍNEZ, M.
1939. *Plantas Medicinales de México*. 2^a ed. 628 pp. Ediciones Botas de México.
11. MCELVAIN, S. M.
1953. La caracterización de compuestos orgánicos. Análisis orgánico funcional xvi + 267 pp. Aguilar S. A., Madrid.
12. MC ILROY, R. J.
1951. *The Plant Glycosides*. 138 pp. Edward Arnold & Co., London.
13. OCAMPO, MA. FELICIA
1957. La chirca (*Thevetia peruviana* K. Schumann) 45 pp. Tesis de grado. Escuela de Farmacia, Universidad de Costa Rica.
14. PÉREZ, C. R.
1938. *Sinopsis de medicina vegetal*. 435 pp. Imprenta Borrásé, Costa Rica.
15. PITTIER, H.
1957. *Ensayo sobre plantas usuales de Costa Rica*. 2 ed., 264 pp. + 49 figs. Editorial Universitaria, Universidad de C. R. San Pedro, Costa Rica.
16. PORTILLA, CONSUELO DE LA
1954. Tesis de grado sobre *Thevetia neriiifolia*. *An. Escuela Farm. Bioquim.*, 5: 512. Lima, Perú.
17. ROJAHN, C. A.
1946. *Productos químicos y farmacéuticos*. Trad. F. Girald, Vol. 3: 2016-2024. Editorial Atlante S. A. México.
18. SHELLARD, E. J.
1957. *Practical plant chemistry for pharmacy students*. xix + 134 pp. Pitman Medical Publishing co. London, England.
19. STANDLEY, P. C.
1937-1938. *Flora of Costa Rica*. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser., 18, 4 partes, 1616 pp. Chicago, U.S.A.
20. STECHTER, D. G., (ed.)
1960. *The Merck Index*. xi + 1641 pp. 7 ed., Merck & Co. Inc. Rahway, N. J., U.S.A.
21. STEINER, M. & H. HOLTZEN.
1955. Herzglycoside. En K. Paech & M. V. Tracey (ed.), *Modern Methods of Plant Analysis*. Vol. 3: 205 - 271. Springer - Verlag. Berlin - Göttingen. Weidelsberg.
22. YOUNGKEN, H. W.
1951. *Tratado de Farmacognosia*. xx + 1375 pp. Trad. F. Girald. Editorial Atlante S. A., México.