

ESTUDIO PRELIMINAR DE *PTERIDIUM AQUILINUM*

Constituyentes químicos y acción toxicológica

Roberto Pinzón S.*

Alcira Rubiano R.**

Resumen:

Se efectuó un estudio químico y toxicológico preliminar de las partes aéreas del helecho *Pteridium aquilinum* y se pudo observar que los extractos acuoso y alcohólicos de la planta, la solución de la mezcla de taninos-saponinas y la solución de las saponinas presentes en el helecho causan efectos tóxicos en ratones y cobayos, que se manifiestan especialmente por afecciones hepáticas, pulmonares y del tracto urinario; el índice de mortalidad observado cuando se administró la mezcla de taninos-saponinas fué alto.

Summary:

A chemical and toxicologic preliminary study of the fern *Pteridium aquilinum* was made. Tannins and saponins were found in the aerial parts of the plant. The ethanolic and aqueous extracts of the fern, the saponins and mixtures of tannins and saponins dissolved in water were tested on mice and hamsters. Toxic effects on the liver, the lungs and the urinary tract were observed. In the case of the mixture of tannins and saponins the mortality index was high.

terrenos montañosos, húmedos, de vegetación pobre, sometidos a erosión permanente y con alto índice de lluviosidad.

La primera mención de los disturbios causados por el *Pteridium aquilinum* fué hecha por Tophan en 1.787; posteriormente, en 1.860, Buckmuller describió las características de la pielonefritis ocasionada por la ingestión de la planta y Siedamgrotzky informó en 1.875 sobre algunos casos de hematuria enzoótica provocados por el consumo del helecho. Más tarde, en 1.922, Stockman pudo comprobar experimentalmente algunos de los síntomas observados anteriormente y Beran en 1.968 reportó numerosos casos de hematuria cística en bovinos. (1,2,3).

En Colombia se han adelantado varios estudios sobre el particular, entre los cuáles deben destacarse los de Domenico Giovane en 1.936, José Velásquez en 1.938, Jorge Estrada en 1.955, Gonzalo Luque en 1.960 y 1.977, J.F. Albornoz en 1.966 y F. Villafañe y E. Lichtenberger en 1.978. (4,5,6,7).

INTRODUCCION

En Colombia, al igual que en muchos otros países, se han venido presentando graves problemas debido al consumo de *Pteridium aquilinum* por los bovinos. La mortalidad es alta lo cual trae como consecuencia considerables pérdidas económicas para la industria ganadera, especialmente en aquellas regiones en donde escasean los pastos en determinadas épocas del año.

La enfermedad causada por la planta es de carácter crónico y se presenta principalmente en

Los trabajos efectuados hasta el momento han estado dirigidos, en su mayor parte, al estudio de los efectos tóxicos causados por la planta sin que se haya establecido con precisión cuál es la sustancia responsable de estos efectos. En algunas de las investigaciones realizadas con los helechos se ha logrado determinar la presencia de varios compuestos: aminoácidos, enzimas, carotenos, carbohidratos, leucoantocianidinas, flavonoides, esteroides, saponinas y taninos. (8,9,10,11,12,13, 14).

En el presente trabajo se hizo un análisis químico preliminar del *Pteridium aquilinum*, se aislaron algunos de los constituyentes posiblemente responsables de las acciones tóxicas, se reprodujo la sintomatología de la intoxicación por la administración de los extractos totales de la planta y de algunas de las sustancias aisladas y se

* Profesor Asociado, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

** Estudiante

determinaron los efectos causados en los animales de experimentación por medio de un examen histopatológico de sus diferentes órganos.

PARTE EXPERIMENTAL

1. *Material Botánico*

Se utilizaron el tallo y las frondas de plantas recolectadas en diferentes épocas del año en la Hacienda Chantilly, Municipio de Mosquera, Departamento de Cundinamarca. La planta se encuentra clasificada en el Herbario nacional Colombiano bajo el nombre de *Pteridium aquilinum*, var. *caudatum* (L.) Sadebeck; se le conoce comúnmente como helecho común, helecho hembra o felguero.

2. *Animales Utilizados en la Experimentación toxicológica*

Para los ensayos preliminares de toxicidad de los extractos totales de la planta se utilizaron ratones machos y hembras Suiza-albino, Brecia-Italia x Rockefeller x Capera, de una misma colonia, de cinco semanas de edad, con un peso promedio de 25 gramos.

Para los estudios de toxicidad de las sustancias aisladas del helecho se emplearon cobayos machos y hembras, de tres meses de edad y con un peso promedio de 270 gramos.

3. *Análisis Químico*

El estudio químico de la planta se efectuó de acuerdo con la marcha de M.E. Wall, con las modificaciones introducidas en el Laboratorio de Fitoquímica del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional. (15,16).

Teniendo en cuenta las características de los disturbios presentados en los animales que consumen el helecho, se hicieron ensayos específicos para cumarinas, nitratos, nitritos, saponinas y taninos, según las técnicas establecidas para cada caso. (16,17,18,19).

Por este mismo hecho se le concedió especial importancia al estudio de las saponinas presentes en la planta. El proceso de extracción de estas sustancias fué dispendioso debido a que se encuentran formando una mezcla con los taninos; por este motivo se hizo necesario tratar la mezcla con óxido de magnesio para separarlas; una vez aisladas se presentaron como un polvo amorfo de color blanco, muy higroscópico. La determinación cuantitativa presentó inconvenientes por la rápida hidratación que sufren la exponerlas al medio ambiente; sin embargo, se logró cuantificarlas.

4. *Estudio Toxicológico: Ensayos Preliminares*

Los ratones utilizados para las pruebas preliminares se distribuyeron por sexo en grupos de 10 y se mantuvieron en condiciones ambientales adecuadas para su normal desarrollo. Se les administró dieta sólida convencional y se reemplazó el agua de bebida por los extractos de la planta.

Los animales seleccionados se sometieron a tratamiento continuo durante un período de 10 meses; se conformaron cuatro grupos, cada uno con 10 ratones machos y 10 ratones hembras a los cuáles se les administró diariamente:

- Grupo No. 1: extracto acuoso al 80%, obtenido en frío.
- Grupo No. 2: extracto acuoso al 80%, obtenido por decocción.
- Grupo No. 3: extracto alcohólico al 80%, restituído en agua destilada.
- Grupo No. 4: agua destilada.

La administración de los extractos se hizo por vía oral, ad libitum; el consumo diario fué de aproximadamente 7 ml. por ratón.

El peso de los animales se controló antes de iniciar los ensayos y posteriormente cada semana. Durante el tiempo de experimentación (10 meses) se observó diariamente el comportamiento individual y colectivo, así como el apetito de los animales, para lo cual se tuvo en cuenta el peso de alimento consumido.

5. *Toxicidad Subcrónica*

Se determinó durante cinco meses mediante la administración diaria, por vía oral, en una dosis de 2 ml., de una solución acuosa de la mezcla de taninos-saponinas al 15% p/v. o de una solución de las saponinas al 3.2% p/v, a grupos de cobayos previamente seleccionados, mantenidos en condiciones ambientales adecuadas; cada grupo estaba conformado por cuatro cobayos hembras y cuatro cobayos machos, con un peso promedio de 270 gramos; al grupo control se le administró agua destilada.

A los animales que murieron durante los ensayos se les efectuó la necropsia; aquellos que sobrevivieron al término de los ensayos preliminares o al finalizar el período para la determinación de la toxicidad subcrónica, incluyendo los de control, se sacrificaron para efectuarles igualmente la necropsia. Se tomaron muestras de los siguientes órganos: hígado, pulmones, bazo, riñones, cerebro, estómago, intestinos, vejiga urinaria y corazón; a estos órganos se les realizó un examen histopatológico según la técnica utilizada en el Laboratorio de Investigaciones

6. Toxicidad Aguda

La determinación de la toxicidad aguda se llevó a cabo mediante la aplicación por vía intraperitoneal de una solución acuosa al 1.2% de las saponinas o de una solución al 7.8% de la mezcla de taninos saponinas, en dosis de 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.1, 1.3 y 1.5 ml. a grupos de 10 ratones para cada dosis.

Al cabo de 24 horas se elaboró una curva de mortalidad contra dosis de las sustancias administradas y para cada una de estas sustancias se determinó la dosis letal media (DL50).

RESULTADOS Y DISCUSION

1. Análisis Químico

Los resultados obtenidos en el desarrollo de la marcha fitoquímica permitieron comprobar la presencia de taninos, saponinas, flavonoides, además de otras sustancias de común ocurrencia en las plantas. No se encontraron alcaloides, heterósidos cardiotónicos, esteroides insaturados ni sesquiterpenlactonas. En lo relacionado con las cumarinas, los ensayos efectuados dieron resultados negativos; sin embargo, es necesario llevar a cabo análisis adicionales para evaluar la posible presencia de estas sustancias en diferentes estados de desarrollo de la planta.

La determinación de los nitratos, de los nitritos, de la mezcla de taninos-saponinas y de las saponinas se realizó cuantitativamente: los resultados obtenidos para 100 gramos de material vegetal seco fueron los siguientes:

Nitratos: 0.037 mg.

Nitritos : 0.150 mg.

Mezcla de taninos-saponinas: 7.8 gr.

Saponinas: 1.2 gr.

En los ensayos realizados con los taninos pudo comprobarse que se encuentran presentes taninos condensados y taninos hidrolizables.

2. Análisis Toxicológico

Los animales pertenecientes a los grupos números 1,2 y 3 que recibieron extractos totales del helecho presentaron como síntomas comunes pérdida del apetito y decaimiento; los animales pertenecientes al grupo No. 1 fueron los primeros en presentar los síntomas de intoxicación; en la mayoría de ellos se observó hepatitis multifocal. Al cabo del tratamiento prolongado se pudo constatar en la casi totalidad de los animales, hematopoyesis extramedular y afección hepática

que se manifestó por hiperplasia nodular, necrosis y congestión del hígado.

También se presentaron afecciones pulmonares; los animales de los grupos 2 y 3 que recibieron tratamiento prolongado con los extractos presentaron dificultad respiratoria; histológicamente se observó adenoma pulmonar en la mayoría de ellos lo cual denota una posible acción carcinogénica del helecho que provoca una disminución de la aireación pulmonar.

En buen número de animales se pudo observar microhematuria; este hecho hace pensar en una posible lesión renal, sin embargo no pudo apreciarse microscópicamente en la vejiga urinaria.

En los animales del grupo No. 4 o grupo de control no se observaron cambios, macroscópica ni microscópicamente; en uno de ellos se presentó una pielitis ligera que pudo haberse ocasionado por vía ascendente.

Los animales que recibieron las sustancias aisladas del helecho (solución de saponinas o de la mezcla de taninos-saponinas) presentaron más rápidamente los síntomas tóxicos, a los cobayos que se les administró por un tiempo prolongado la solución de la mezcla de taninos-saponinas presentaron daños hepáticos que consistieron en metamorfosis grasa y degeneración hidrópica avanzada; además, en la mayoría de ellos se observó microhematuria. El número de animales afectados así como la mortalidad fué mayor en el grupo que recibió la solución de la mezcla de taninos-saponinas que en el grupo que ingirió la solución de saponinas.

La determinación de la toxicidad aguda se hizo por separado para la solución de la mezcla de taninos-saponinas y para la solución de saponinas. La figura número 1 muestra la curva dosis-respuesta y por interpolación de los resultados obtenidos, la determinación de la dosis letal media (DL50) para la mezcla de taninos-saponinas. Se elaboró además, una gráfica en espejo (Figura número 2) y el valor obtenido para la DL50 fué sensiblemente igual al observado anteriormente, es decir, 11.1 g/kg de peso.

Para la solución de saponinas no fue posible determinar la DL50 pues esta solución mostró poca toxicidad en los animales de experimentación ya que la mayoría sobrevivió a las dosis administradas. Lo anterior puede deberse a una defectuosa asimilación de estas sustancias por la vía de administración utilizada o a una posible descomposición de las saponinas durante el proceso de extracción, aislamiento y purificación. Ensayos posteriores deberán aclarar lo anterior.

CURVA DOSIS-RESPUESTA EN ROEDORES (Vía IP)
PARA LA MEZCLA TANINOS-SAPONINAS.

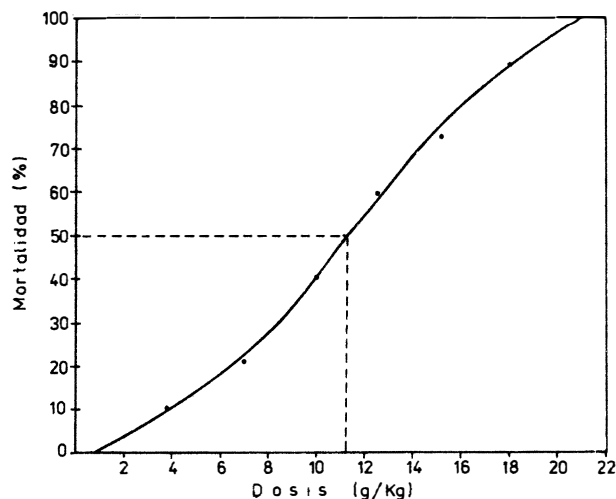


Figura No.1

CONCLUSIONES

El análisis químico preliminar de *Pteridium aquilinum* permitió determinar la presencia de saponinas, taninos y flavonoides, especialmente. Los taninos y las saponinas se encuentran formando una mezcla en una concentración relativamente alta. Los taninos son de dos clases: condensados e hidrolizables.

Los extractos acuosos de la planta y el extracto alcohólico restituído en agua causaron efectos tóxicos en los animales de experimentación, que se manifestaron por afecciones del hígado, del tracto urinario y, en algunos casos, de los pulmones, con presencia de adenomas; en varios animales se

GRAFICA EN ESPEJO PARA LA MEZCLA TANINOS-SAPONINAS

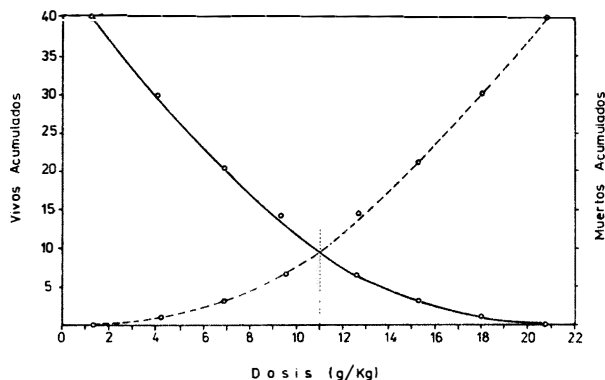


Figura No. 2

presentó además microhematuria y cistitis moderada.

Los ensayos efectuados con la mezcla de taninos-saponinas permitieron observar efectos tóxicos tanto en ratones como en cobayos, con un alto índice de mortalidad, lo cual hace pensar que la mezcla de estas sustancias es la responsable total o parcialmente de los efectos tóxicos que se presentan por el consumo de la planta.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al Dr. Néstor Peña por su colaboración en la realización del estudio toxicológico y al Dr. Fernando Villafañe, patólogo del LIMV, por la realización de los análisis histopatológicos, así como a Belén Cadena por su contribución al desarrollo de la parte experimental.

BIBLIOGRAFIA

- MUELLER, S.B.K., Hematuria enzoótica dos bovinos, O. Biológico, 138, 1970.
- KINGSBURY, J.M., Poisonous Plants of United States and Canada. 105-113, Lea. Febiger, Filadelfia, 1964.
- BERAN, G.W., Bovine Cystic Hematuria in the Philippines: A report on an Enzootic Area, J. Ameri. Vet. Med. Ass., 149, 1686-90, 1968.
- LUQUE, G., La cistitis crónica hemorrágica o hematuria esencial de los bovinos en Colombia. Rev. Med. Vet. y Zoot., No. 120, 629-46, 1960.
- ALBORNOZ, J.F., Contribución al estudio de la hematuria esencial de los bovinos, Rev. Fac. Med. Vet. y Zoot., No. 1, 33-37, 1966.
- VILLAFANE, F., LICHTENBERGER, E. y COL., Hematuria vesical bovina en Colombia, Una contribución del Programa Nacional de Patología-Toxicología del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional y el Instituto de Cancerología, 1978.
- LUQUE, G., La cistitis crónica hemorrágica o hematuria esencial de los bovinos en Colombia, Rev. Acovez, 1, 17, 1977.
- SCHACHAW, P. et al., Antihematopoietic and carcinogenic effects of bracken fern (*Pteridium aquilinum*) in rat, Am. J. Vet. Res., 31, 191-97, 1970.
- Toxicología Veterinaria, Hematuria Enzoótica Bovina, Ministerio de Agricultura, ICA, Regional 6, Ibagué, 61-65, 1976.

10. PAMUKCU, A.M., PRICE, J.M., BRYAN, G.T., Naturally occurring and bracken-fern induced bovine urinary bladder tumors, *Vet. Pathol.*, **13**, 110, 1970.
11. REYNHOLD, L. and LIWSCHITZ, Y., *Progress in Phytochemistry*, Interscience Publishers, New York, **1**, 593-675, 1968.
12. COQUILLAT, J.M., Fern bread in Macon, *Bull. Mous. Soc. Linneenne*, Lyon, **19**, 173, 1950. *Chem. Abstr.*, **44**, 10946c, 1950.
13. NAKABAYASHI, T., Thiamine-decomposing activity of flavonoid pigments of *Pteridium aquilinum*, *Vitamins (Kyoto)*, **8**, 410, 1955, *Chem. Abstr.*, **49**, 14826ⁱ, 1955.
14. CASTEL-BRANCO da CUNHA, V., An active principle in *Pteris aquilina*, *Chem. Abstr.*, **48**, 8964, 1954.
15. CALDERON, E., Guía para el análisis de plantas y notas prácticas sobre Fitoquímica, Conferencias, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, 1963.
16. DOMINGUEZ, J.A., *Métodos de Investigación Fitoquímica*, Editorial Limusa, México, **113**, 1973.
17. FUJITA, M. and FURUTA, T., Metabolism of naturally occurring coumarins. I. Separation and identification of coumarin derivatives by paper chromatography, *Chem. Abstr.* **53**, 10515^e, 1959.
18. SIMONS, G., *Laboratory Methods of The United States Army*, Lea and Febiger, Filadelfia, **347**, 1946.
19. ALVIN, G. y col., Biological and Phytochemical evaluation of plants, False negative saponin test results induced by the presence of tanins, *Lloydia*, **32**, No. 1, 52-57, 1969.