

ANALISIS FITOQUIMICO Y FARMACOLOGICO DE MALOUEZIA NITIDA SPRUCE (Guachamacá)

Resumen del trabajo de Tesis presentado por NANCY CASTAÑEDA DE MARTÍN, para optar al Título de Químico - Farmacéutico.

Presidente de Tesis: DR. EDUARDO CALDERÓN G.

INTRODUCCION

En 1968 encontré en la Revista Anales Farmacéuticos Franceses el estudio hecho por Mme. F. Khuong-Huu-Laine y MM, N. G. Bisset y R. Goutarel, sobre la Malouetia bequaertiana Woods, (1) planta venezolana conocida con el nombre de Guachamacá, colectada en los Llanos del Estado de Barinas.

Este trabajo me hizo pensar que la planta podría encontrarse en los Llanos de Colombia, por lo que me dí a su búsqueda en el Departamento del Meta.

En las cercanías de Puerto López encontré un ejemplar de lo que allí se llama Guachamacá, pero que correspondió a la Malouetia nitida Spruce y no a la Malouetia bequaertiana Woods.

En el Herbario Nacional Colombiano está la Guachamacá clasificada con el nombre de Malouetia nitida Spruce, por el doctor Hernando García Barriga, quien la colectó en las Sabanas de El Vergel (Meta), asignándole el número 08941 de enero de 1937. La planta está descrita como un arbusto venenoso de 2 a 4 metros, de flores y látex blancos.

También esta planta fue colectada posteriormente, por el Dr. Alvaro Fernández Pérez, quien al clasificarla le asignó el número 046211 de febrero 14 de 1953.

Igualmente para su clasificación llevé un ejemplar (hojas, flores, frutos) que el Dr. J. M. Idrobo M. confirmó como *Malouetia nitida* Spruce, y que quedó bajo custodia en el Herbario Nacional Colombiano, con el número 119758, como lo muestra la fotografía número 1.

Así pues, queda establecido que en Colombia se conoce como Guachamacá, a la *Malouetia nitida* Spruce, y que en Venezuela con ese nombre, se conoce también a la *Malouetia bequaertiana* Woods.



FIGURA No. 1
MALOQUETIA NITIDA SPRUCE
Ejemplar del Herbario Nacional Colombiano

PARTE EXPERIMENTAL

A) RECOLECCION DE MATERIAL

El material para este trabajo fue colectado en el Caño Banderas que bordea el Municipio de Puerto López (Antiguo Puerto Banderas). Esta población a orillas del río Meta pertenece al Departamento del mismo nombre.

B) DESECACION DEL MATERIAL

Durante 48 horas, las hojas recolectadas un día antes, se colocaron en una estufa a una temperatura de 40°C. El material así tratado sufrió un proceso de molienda utilizando un molino de quijada.

C) CARACTERISTICAS DEL POLVO

El polvo es de color verde y tiene olor característico con emanaciones que irritan la mucosa nasal produciendo comezón seguida de estornudos.

D) EXAMEN AL MICROSCOPIO DEL POLVO DE LAS HOJAS

Para observar los elementos existentes en el polvo, se hicieron preparaciones en hidrato de coral al 10%. Los elementos que caracterizan el polvo de la *Malouetia nítida* Spruce son: abundantes restos de mesófilo, nervaduras, tejido epidérmico con estomas abundantes en epidermis superior.

E) REACCIONES MICROQUIMICAS (2)

Sobre el polvo de las hojas se han realizado, para análisis posteriores, las siguientes reacciones microquímicas:

1) *Heterósidos*.

Después de colocar el polvo en un portaobjetos se le adicionó una gota de ácido sulfúrico concentrado, cubriéndose con una lamina de vidrio rápidamente. Observando al microscopio, no se pre-

sentó coloración roja, violeta o amarilla que dan las células que tienen glucósidos.

2) *Alcaloides.*

Agitado el polvo durante media hora con solución diluída de ácido tartárico, se filtró y en el filtrado se investigó la presencia de alcaloides con los siguientes reactivos:

Dragendorff — Bouchardat — Marme — Valser — Bertrand — Froede — Mandelin
 + + + + + + + + + + + + + + + + + + + + +

3) *Celulosa.*

La muestra del polvo colocada en un portaobjetos y sometida a la acción del reactivo cloruro de calcio yodado, produjo una coloración roja por la presencia de celulosa.

4) *Taninos.*

Tratado el polvo con solución de cloruro férrico al 5%, no se formó ningún precipitado de color negro azulado o negro verdoso que denote la presencia de taninos.

5) *Principios volátiles.*

Sometido el polvo a calentamiento en un vidrio de reloj cubierto con un portaobjetos, no se encontró al microscopio ningún sublimado.

6) *Sustancias grasas.*

Una pequeña cantidad de polvo no presentó fijación con el reactivo Sudan III.

7) *Sustancias reductoras.*

Después de calentar en un portaobjetos un poco de polvo con adición de reactivo de Benedict (ya en frío), al examinarlo al microscopio no se observa un precipitado rojo de óxido cuproso.

CUADRO NUMERO 1

COMPUESTOS QUIMICOS

Investigados	Resultados
Heterósidos	Negativo
Alcaloides	Positivo
Celulosa	Positivo
Taninos	Negativo
Principios volátiles	Negativo
Sustancias grasas	Negativo
Sustancias reductoras	Negativo

ANALISIS PRELIMINAR (3)

A) ESTUDIO DEL POLVO DE LAS HOJAS

20 gramos del polvo de las hojas fueron dejados en maceración una noche, con 100 ml. de agua destilada. Luego este material fue sometido a ebullición durante 10 minutos, se dejó enfriar y se filtró. El líquido filtrado es de color carmelito-rojizo, de sabor ligeramente amargo y de carácter ácido al tornaso¹.

B) ENSAYOS PRELIMINARES

1) *Reacción de los indicadores.*

Con el papel indicador universal da un pH ácido entre 4.5 - 5.0, que indica la presencia de ácidos orgánicos libres o de sustancias fenólicas.

2) *Reacción con cloruro férrico.*

A unos 5 ml. del extracto acuoso, se adicionaron unas gotas de solución acuosa al 1% de cloruro férrico, dando por resultado un precipitado sin ninguna coloración. Esto sugiere la ausencia de taninos o fenoles.

3) *Acción del acetato de plomo.*

Se tomaron 20 ml. del extracto acuoso para agregarle gota a gota, solución de acetato de plomo, apareciendo un precipitado color gris claro. Esta solución se filtró y al filtrado se le adicionó

gota a gota, solución de subacetato de plomo, produciéndose una nueva precipitación. Esta reacción indica que pueden estar presentes ácidos orgánicos, proteínas, mucinas, que precipitan con el acetato, y gomas, mucílagos y alcaloides que precipitan con el subacetato.

4) *Reacción con la solución de Fehling.*

A unos mililitros del filtrado precedente de la precipitación con acetato de plomo, se le adiciona solución de oxalato de sodio al 10%, gota a gota, hasta cuando no haya más formación de precipitado; se filtra y se comprueba que la reacción es neutra. Se adiciona parte del filtrado a una solución recientemente preparada del reactivo de Fehling, no se observa reducción del reactivo; esto nos indica que no hay azúcares reductores presentes.

5) *Acción del reactivo de Tollens.*

El filtrado obtenido de la precipitación con el acetato de plomo, no presentó reducción del reactivo de Tollens.

6) *Alcaloides.*

Se encontró la presencia de alcaloides empleando los siguientes reactivos: Dragendorff (DRA), Bouchardat (BOU), Marime (MAR), Hager (HAG), Valser (VAL), Bertrand (BER) y Mayer (MAY).

CUADRO NUMERO 2

EXTRACCION ACUOSA DE LOS ALCALOIDES
DE LAS HOJAS

DRA	Precipitado floculento anaranjado
BOU	Precipitado color carmelita-rojizo
MAR	Precipitado blanco
HAG	Precipitado blanco
VAL	Precipitado floculento blanco
BER	Precipitado blanco-grisáceo
MAY	Precipitado blanco.

CUADRO NUMERO 3

DETERMINACION CUALITATIVA DE ALCALOIDES
DE LA MALOUEZIA NITIDA SPRUCE "GUACHAMACA"
EXTRACCION ACIDA

— 19 —

	DRA	BOU	MAR	HAG	VAL	FRO	MAY	MAN
Semillas	++++	++++	++	+++	++++	+++	+++	++++
Cubierta semillas	++++	++++	++	+	+++	—	++	—
Cáscara	++++	++++	++	++	+++	+++	++	+++
Hojas	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Leño	++++	++++	++	+++	+++	+++	+++	+++
Corteza	++++	++++	++	++	+++	+++	+++	+++
Raíz	++++	++++	++++	++	+++	+++	+++	+++

++++ Muy abundante
+++ Abundante
++ Poco
+ Muy poco
— Nada

MARCHA FITOQUIMICA SISTEMATICA

De acuerdo a los cuadros anteriores, todas las partes de la planta contienen alcaloides; sin embargo se escogieron las hojas, para este trabajo, dejando para un estudio posterior el análisis del resto de la planta.

Se inició la marcha sistemática siguiendo la técnica de M. E. Wall y colaboradores del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, (4) la cual comienza con la preparación de un extracto alcohólico del material así: Se pesan unos 50 gr. del polvo de las hojas; se extraen los principios activos, sometiendo a calentamiento bajo reflujo, durante 6 horas en baño maría (el alcohol contiene 1% de carbonato de calcio) y se obtiene una solución de color pardo rojizo. En el filtrado se hacen los siguientes ensayos:

1) *Saponinas.*

En un tubo de ensayo se coloca 1 ml. del extracto alcohólico, para adicionarle 15 ml. de agua destilada; se tapa, se agita vigorosamente y se deja en reposo, para observar luego que la espuma es persistente. Esto puede indicar la presencia de saponinas o un compuesto que produce espuma.

Para comprobar la presencia de saponinas, se llevó a cabo la prueba de la hemólisis usando sangre humana estandarizada y 1 ml. del extracto alcohólico. La hemólisis no se presentó, lo que indica la ausencia de un principio hemolítico y la presencia de un compuesto que produce espuma.

2) *Alcaloides.*

Del extracto alcohólico de las hojas, se tomó una muestra de 20 ml. que se evaporó a sequedad al baño maría y quedó un residuo marrón-oscuro que se disolvió en agua ligeramente acidulada. Las respuestas son muy positivas a la prueba con reactivos para alcaloides.

3) *Taninos.*

En una porción del residuo evaporado se hace una mezcla con 25 ml. de agua que se filtra y sobre ese filtrado se hace el ensayo de taninos, por acción del cloruro férrico al 5% que produce una coloración verde-grisácea. Se prueba la acción de la gelatina sal

y hay un pequeño precipitado blanco. Estas dos reacciones se consideran positivas; luego hay presencia de taninos.

4) *Esteroles insaturados.*

Se toman 20 ml. del extracto alcohólico que se evaporan a sequedad; se disuelve luego el residuo en cloroformo y se hace la prueba de Liebermann Buchard para esteroles insaturados. La prueba es negativa.

MARCHA FITOQUIMICA SEGUN FLORIANI

La marcha fitoquímica según Floriani (5) se efectuó únicamente a las hojas de la *Malouetia nítida* Spruce. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

CUADRO NUMERO 4

Resultados obtenidos al seguir la marcha fitoquímica según Floriani:

	Hojas
Alcaloides	+++
Alcaloides volátiles	—
Acidos volátiles	—
Aceites esenciales	—
Celulosa	—
Ceras	+
Fenoles	—
Fitosterol	—
Grasas	—
Gomas	+
Heterósidos	+
Heterósidos antraquinónicos	—
Holósidos	—
Musílagos	+
Osas	—
Pigmentos flavónicos	—
Principios amargos	—
Sales minerales	+++
Resinas	+
Taninos	—

EXTRACCION Y PURIFICACION DE LOS ALCALOIDES

Para la extracción de los alcaloides se ensayaron varias técnicas:

a) *Extracción con agua acidulada.*

Unos 30 gr. del material, se extraen con ácido sulfúrico O. 1. N. El método empleado es la percolación. Se deja previamente el material en maceración durante 36 horas, para continuar la extracción con porciones sucesivas de ácido, aumentando poco a poco su normalidad hasta extraer al final con ácido 1. N. Se alcaliniza con amoniaco, dejando libre el alcaloide base y se ensaya la extracción de los alcaloides con los siguientes solventes orgánicos: benceno, cloroformo, éter-metanol y mezcla de éstos; se pasaron nuevamente a la sal del alcaloide y al hacer pruebas con los reactivos de los alcaloides, éstas fueron positivas. Es de anotar que el empleo de estos solventes y sus mezclas no extrajeron por completo los alcaloides del material, y durante el proceso fue frecuente la formación de emulsiones entre la fase acuosa y la orgánica.

b) *Extracción con solventes orgánicos.*

Se efectuó la extracción, dejando previamente en maceración durante la noche anterior, 30 gr. del polvo de las hojas, con una mezcla de éter-cloroformo y amoniaco. Se filtró y colocó en una ampolla de decantación y se extrajo con ácido clorhídrico 1. N.; las pruebas fueron positivas con los reactivos de los alcaloides, pero se presentó como en el caso anterior, formación de emulsiones, al estar en contacto la fase acuosa con la fase orgánica.

c) *Extracción con éter-cloroformo (1:1)*

Se colocan 30 gr. del polvo de las hojas en un extractor Soxhlet y se procede a un agotamiento durante 6 horas; los resultados también fueron positivos con los reactivos de los alcaloides, pero la formación de emulsiones fue menor. Se ensayaron las anteriores técnicas de extracción ya que no había bibliografía al respecto, del género *Malouetia*.

d) *Técnica de Rostock y Seebeck* (6).

Los métodos anteriores no fueron completamente satisfactorios, ya que en el empleo de cantidades tan pequeñas del polvo de las hojas de la *Malouetia nítida* Spruce, era frecuente la formación de emulsiones, lo que dificultaba la extracción. Por recomendación del doctor R. Goutarel quien junto con F. Khuong-Huu-Laine y MM. N. G. Bisset habían investigado una Apocinácea, la *Malouetia bequertiana* Woods (7), seguí la técnica de Rostock y Seebeck para la realización del presente trabajo.

Se toman 320 gr. del polvo de las hojas. Cada fracción de 80 gr. se extrae con una mezcla de 100 ml. de metanol, 100 ml. de éter, 70 ml. de diclorometano y 17.5 de amoníaco y se deja en maceración la noche anterior. El material así tratado es sometido a agitación mecánica durante 3 horas a temperatura ambiente. El polvo es separado por filtración y agitado de nuevo con la misma mezcla de solventes, pero sin amoníaco. Esta operación se repite tres veces para cada fracción; se reúnen luego estos extractos orgánicos y se evaporan a presión reducida en el evaporador rotatorio Buchler, empleando un balón de fondo redondo de dos litros. De este extracto seco se sacan los alcaloides con porciones sucesivas de 40 ml. de éter. Este extracto etéreo, de más o menos 600 ml. se reparte en 4 ampollas de decantación, de capacidad de 800 ml.; luego se extrae con una mezcla de HCl 2 N y una solución saturada de ácido sulfámico (1:1), (1 litro) obteniéndose los alcaloides totales como clorhidratos; se divide el extracto ácido en dos partes de 500 ml.

Cada fracción de 500 ml. se trabajó de la siguiente manera: se repartió este extracto ácido nuevamente en las 4 ampollas y se alcalinizó con amoníaco hasta pH de 9.0, empleando indicador universal; se gastaron 30 ml. de amoníaco para alcalinizar la fracción correspondiente a cada ampolla de decantación y se colocaron 40 ml. de diclorometano en cada ampolla, antes de precipitar los alcaloides bases, y de esta manera se procedió a extraer los alcaloides con cloruro de metileno, con porciones de 40 ml. por tres veces sucesivas, para la fracción de cada una de las ampollas de decantación y obtener en esta forma los alcaloides totales en diclorometano. Luego se evapora el diclorometano y se solubilizan los alcaloides en benceno, y como no todo se solubiliza en benceno, se efectúa una filtración. Estos alcaloides en benceno son utilizados más tarde para correr cromatografías en capa delgada.

DETERMINACION CUANTITATIVA DE LOS ALCALOIDES
TOTALES DE LA MALOUETIA NITIDA SPRUCE

Una vez ensayada la técnica de Rostock y Seebeck para la extracción de los alcaloides de la Malouetia nítida Spruce, se utilizó esta misma técnica para la determinación cuantitativa, ya que no se presentó la formación de emulsiones, que era el mayor inconveniente en las técnicas anteriores.

70 gr. del polvo de las hojas se dejaron en maceración la noche anterior, en un balón de fondo redondo de un litro, con 100 ml. de etanol, 100 ml. de éter, 70 ml. de cloruro de metileno y 17.5 de amoníaco; esta fracción se sometió a agitación mecánica a la temperatura ambiente durante tres horas. El polvo fue separado por filtración y agitado con la mezcla de solventes pero sin amoníaco. Esta operación se repitió tres veces. Las soluciones orgánicas se concentran a presión reducida y este residuo fue removido con éter; luego se extraen los alcaloides con una mezcla de ácido clorhídrico 2 N y una solución saturada de ácido sulfámico. Las soluciones ácidas son alcalinizadas con amoníaco a pH 9.0 y los alcaloides extraídos con cloruro de metileno; luego este se evapora y se extrae con benceno. Estos alcaloides en benceno fueron colocados en un crisol tarado a 80° C en una estufa, y por diferencia se encontró 0.4% de alcaloides brutos.

CROMATOGRAFIA SOBRE CAPA DELGADA (8, 9)

Para esta cromatografía se utilizó el extracto bencénico alcaloidal obtenido por el método de Rostock y Seebeck.

Se usaron placas de 10 x 20 cm., perfectamente lavadas y neutralizadas. Como adsorbente se empleó sílica Gel G Merck, recomendada según los datos bibliográficos.

Como cámaras cromatográficas se utilizaron recipientes de vidrio, de forma rectangular, con cierre hermético.

En lo que respecta a reveladores, se ensayaron ácido perclórico al 2%, vainillina 1% en ácido fosfórico al 50%, anisaldehído/

ácido sulfúrico y reactivo de Dragendorff prueba de toque, siendo este último el que mejor resultado presentó.

Para el presente trabajo se ensayaron los siguientes solventes :

1. — Amoníaco	5
Metanol	17.5
Diclorometano	50
2. — Benceno	28
Cloroformo	52
3. — Cloruro de metileno	100
4. — Cloruro de metileno	98
Metanol	2
5. — Cloroformo	70
Benceno	28
Metanol	2
6. — Cloroformo	80
Butanol	20
7. — Diclorometano	99
Metanol	1
8. — Diclorometano	98
Metanol	1
9. — Cloroformo	80
Acetona	20
10. — Cloroformo	85
Acetona	15

Se obtuvieron los mejores resultados con el solvente número 10. Por este método se aislaron tres alcaloides que presentaron los siguientes puntos de fusión: 225°, 240° y 260° C.

ANALISIS ESPECTROFOTOMETRICO

Con el fin de complementar el conocimiento de los alcaloides separados por métodos cromatográficos, se hizo el estudio por espectrofotometría al infrarrojo, en el espectrofotómetro Perkin Elmer Modelo 137 B. (10, 11, 12, 13).

a) *Espectro en fase líquida.*

Separados cada uno de los alcaloides se disolvieron en diclorometano con el fin de determinar su espectro infrarrojo.

Se emplearon celdas de espesor variable con ventanas de cloruro de sodio que se colocaron en el haz luminoso de referencia. Se obtuvieron para la mezcla problema:

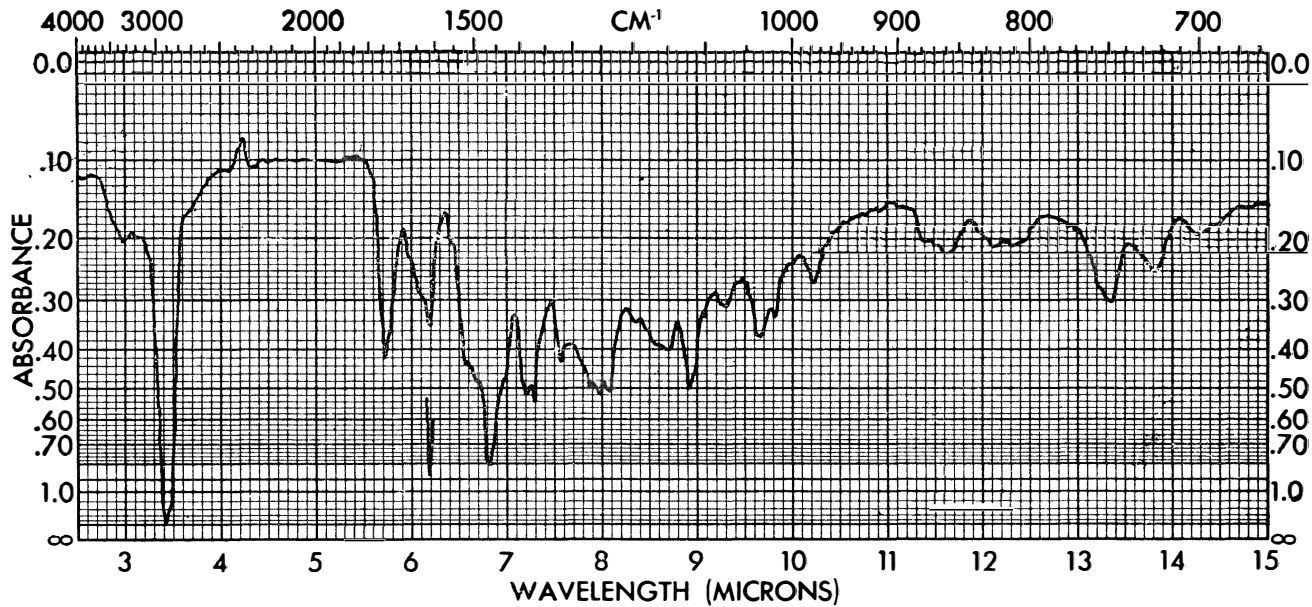
El espectro número 1, para el alcaloide número 1.

El espectro número 2, para el alcaloide número 2.

El espectro número 3, para el alcaloide número 3.

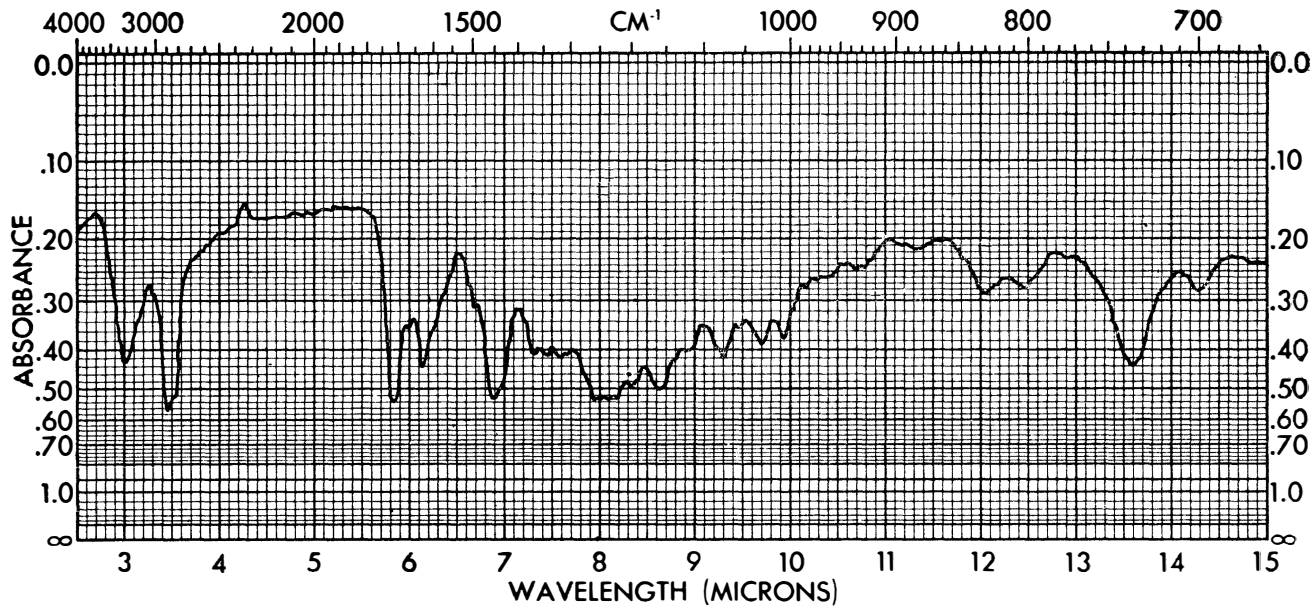
Los datos que presenta el espectro del alcaloide número 3, corresponden notoriamente a los de la Malouphylina que aisló Françoise Khuong-Huu neé Laine de fórmula bruta $C_{25}H_{42}O_2N_2$. (14).

Puede observarse en los espectros 1 y 2, la presencia de bandas que indican grupos similares como el amino y el carbonilo; anotando eso sí, que es de gran significación la ausencia del grupo aldehído, si se tiene en cuenta que los alcaloides son de estructuras relacionadas. Los alcaloides 1 y 2, al parecer son diferentes de los aislados por Khuong-Huu; esto supone la presencia de dos sustancias nuevas en las hojas de *Malouetia nitida* Spruce, lo que abre un nuevo campo para futuras investigaciones.



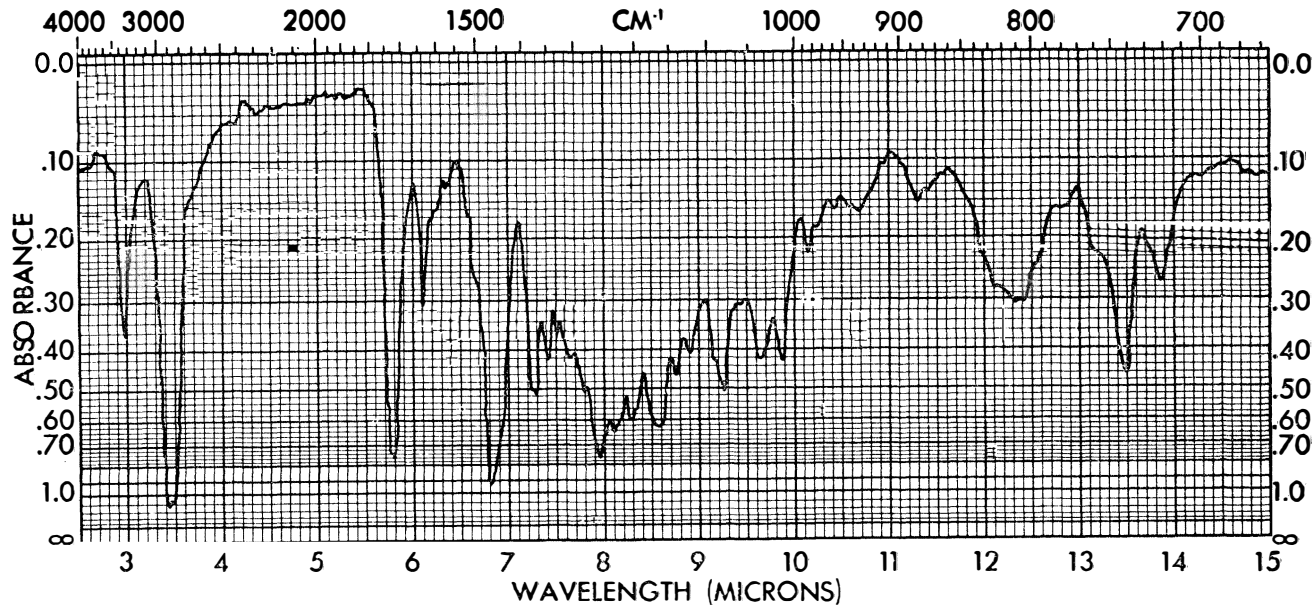
SPECTRUM NO. <u>1</u>	ORIGIN <u>MALOUETIA NITIDA</u>	LEGEND _____	REMARKS <u>VELOCIDAD</u>
SAMPLE <u>ALCALOIDE No 1</u>	<u>SPRUCE</u>	1. _____	<u>RAPIDA, SIN ATENUADOR</u>
_____	PURITY _____	2. _____	_____
_____	PHASE <u>SOLIDA</u>	DATE <u>VII-18-72</u>	_____
_____	THICKNESS <u>PELICULA</u>	OPERATOR _____	_____

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE



SPECTRUM NO. <u>2</u>	ORIGIN <u>MALOUETIA NITIDA</u>	LEGEND _____	REMARKS <u>VELOCIDAD</u>
SAMPLE <u>ALCALOIDE</u>	<u>SPRUCE</u>	1. _____	<u>RAPIDA, SIN ATENUADOR</u>
<u>Nº 2 EN CLORURO DE ETILENO</u>	PURITY _____	2. _____	_____
<u>DESPUES DE EXTRACCION</u>	PHASE <u>SOLIDA</u>	DATE <u>V.16.72</u>	_____
_____	THICKNESS <u>PELICULA</u>	OPERATOR _____	_____

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE _____



SPECTRUM NO. <u>3</u>	ORIGIN <u>MALOQUETIA NITIDA</u>	LEGEND _____	REMARKS <u>VELOCIDAD</u>
SAMPLE <u>ALCALOIDE No 3</u>	<u>SPRUCE</u>	1. _____	<u>RAPIDA, SIN ATENUADOR</u>
	PURITY _____	2. _____	
	PHASE <u>SOLIDA</u>	DATE <u>VII-18-72</u>	
	THICKNESS <u>PELICULA</u>	OPERATOR _____	

SPECTRUM NO. _____
SAMPLE

ESTUDIO FARMACOLOGICO

HEMODINAMIA

Para estudiar la acción de los alcaloides totales de la *Malouetia nítida* Spruce, en la presión arterial, se emplearon perros y ratas.

HEMODINAMIA EN RATA (15, 16)

a) *Equipo.*

Fisiógrafo Modelo DMP - 4A y sus aditamentos para registro de presión arterial y respiración.

b) *Animal.*

Se emplearon ratas de 300 gr. de peso promedio, anestesiadas por vía intraperitoneal, con uretano 1000 mg./kg.

EFFECTOS OBSERVADOS

El extracto de las hojas se preparó en concentración final correspondiente a 500 mg. por ml. y con un pH de 5.4; igualmente se preparó una solución patrón con el mismo pH.

La administración de 0.1 ml./kg. produce disminución de la tensión arterial seguida de estimulación respiratoria. La recuperación al nivel inicial de T. A., se efectúa en forma más o menos rápida; en cambio la respiración se recupera más lentamente.

El extracto acuoso de las hojas, en dosis de 0.2 ml./kg. produce los mismos efectos, pero más acentuados, presentándose disminución de la tensión arterial, seguida de paro respiratorio del cual se recupera lentamente.

Al aplicar dosis de 0.2 ml./kg. la respuesta fue similar a la obtenida cuando se administró 1 γ /kg. de acetil colina con la diferencia de que la estimulación respiratoria es mayor que con la acetil colina. Igualmente se observa que la solución acuosa patrón preparada al mismo pH, no produce ningún cambio en la presión arterial.

HEMODINAMIA EN PERRO

Para la parte de este trabajo de investigación, fue empleado un ejemplar macho de 9 kilos de peso que se anestesió por la vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (40 mg./kg.).

La tensión arterial fue registrada mediante manómetro de mercurio canulando la arteria carótida primitiva, y la respiración por medio de un tambor de marey, con canulación traqueal.

Las soluciones se administraron intravenosamente por la vena safena externa. El extracto fue preparado en solución acuosa a pH de 5.4, en concentración de 500 mg. de extracto total por ml. de solución.

EFFECTOS OBSERVADOS

Con la aplicación de 0.3 ml del extracto de alcaloides totales de las hojas de la *Malouetia nítida* Spruce, se inició la respuesta a la droga con una sensible baja de la presión sanguínea.

Al aplicar 1 ml. fue mayor la respuesta, y con la aplicación de 2, 4 y 8 ml., la respuesta fue apreciablemente proporcional a las dosis administradas.

Se puede establecer que 8 ml. de extracto de los alcaloides totales de la *Malouetia nítida* Spruce, producen una baja de la presión sanguínea, similar o mayor, que la provocada por la administración de 4 mcg./kg. de acetil colina.

Atropinizado el animal (con 0.82 mcg./kg. de sulfato de atropina) se aplicaron dosis de 6 y 20 mcg./kg. de acetil colina, obteniéndose bloqueo vagal (inhibición del efecto muscarínico de la acetil colina). En cambio, por la aplicación de 8 ml. del extracto de alcaloides brutos de la *Malouetia nítida* Spruce, hubo una marcada baja de presión arterial.

Se demuestra así, de manera muy significativa, que no pueden clasificarse estos alcaloides dentro del terreno de las sustancias para-simpático-miméticas, ya que cuando se bloquea la acción colinérgica, persiste la respuesta hipotensora y respiratoria, con características absolutamente iguales a antes del bloqueo con atropina.

Es posible que los efectos ocasionados por la actividad de los alcaloides totales de las hojas de la *Malouetia nítida* Spruce, se deban a un bloqueo ganglionar (acción ganglioplejante).

Al respecto me permito destacar la conclusión a que llegaron

Raffauf y colaboradores, al hacer un estudio farmacológico con otra *Malouetia* (la *Malouetia* arbórea), al definir sus efectos, como de acción depresiva, sobre el sistema nervioso central, hipotensiva, espasmolítica y gangliopléjica.

Desde el punto de vista de investigación, me permito recomendar no solo la continuación de experimentos con alcaloides del extracto de las hojas, sino con las distintas partes de la planta.

CONCLUSIONES

1. Este es el primer trabajo realizado en Colombia sobre una *Malouetia*.

2. El objeto de este trabajo, es el estudio de los alcaloides de las hojas de la *Malouetia* nítida Spruce. (Apocinácea).

3. Fueron aislados tres alcaloides de estructuras similares.

4. El espectro del alcaloide número 3, presenta gran similitud con la malouphylina ($C_{25} H_{42} O_2 N_2$), sustancia aislada por Francoise Khuong-Huu-neé Laine.

5. Los alcaloides 1 y 2, en los que se destaca la ausencia del grupo aldehído, parecen ser sustancias nuevas.

6. La espuma que aparece durante el proceso de extracción, es debida a los alcaloides y no a saponinas, puesto que aislados y solubilizados los alcaloides, aún persiste la espuma.

7. Se determinó una eventual acción hipotensora por hemodinamia en perro y rata.

8. Se recomienda hacer un estudio completo de las diferentes partes de la planta, pues parece que en la corteza de las *malouetias*, se encuentran además, principios curarizantes.

RESUMEN

El siguiente fue el procedimiento que se siguió para el estudio de la *Malouetia* nítida Spruce, (Guachamacá) :

1. Se hizo el análisis fitoquímico de la planta.

2. Para aislar los alcaloides de las hojas, se empleó el método de Rostock Seebeck, puesto que por los otros métodos se presentaba la formación de emulsiones.

3. Se escogió como solvente para cromatografía, cloroformo acetona (85 + 15), en lugar de cloruro de metileno, metanol (92 + 8) empleado para la separación de los alcaloides de la *Malouetia bequaertiana* Woodson.

4. Aislados los alcaloides, se analizaron por los métodos químicos clásicos, así como por las técnicas de microanálisis instrumental, e igualmente por cromatografía y análisis espectrofotométrico.

5. La acción hipotensora de los alcaloides se determinó por hemodinamia en ratas y perros.

SUMMARY

The phytochemical study of *Malouetia nitida* Spruce (Guachamacá) was made. The alkaloids were isolated by the Rostock Seebeck method. The solvent used for the chromatographic work was chloroform: acetone (85:15) instead of methylene chloride: methyl alcohol (92:8) used for the extraction of the alkaloids of *Malouetia bequaertiana* Woodson.

The isolated and purified alkaloids were analyzed by the classical methods and by micro-instrumental methods, chromatography and spectrophotometry.

The hypotensive action of the alkaloids was determined by hemodynamic studies in dogs and rats.

RÉSUMÉ

Malouetia nitida, Spruce (Guachamacá) a été étudiée du point de vue phytochimique. Les alcaloïdes des feuilles ont été isolés par la méthode de Rostock-Seebeck, l'unique qui ne conduit pas à la formation d'émulsions.

Comme solvant chromatographique on a utilisé le mélange chloroforme: acétone (85:15) au lieu du mélange chlorure de méthylène: méthanol (92:8) employé précédemment lors de la séparation des alcaloïdes de *Malouetia bequaertiana*, Woodson.

Les alcaloïdes ont été isolés et étudiés para la méthode classique, la microanalyse instrumentale, la chromatographie et la spectrophotométrie. Finalement, l'activité hypotensive a été déterminée par hémodinamie dans des rats et des chiens.

BIBLIOGRAFIA

1. KHUONG, F. - HUU-LAINE et BISSET, N. G. et GOUTAREL, R. 1965. Annales Pharmaceutiques Françaises. 23, N° 6, 395 - 409.
2. TYLER, V., SCHWARTING, E. 1966. Experimental Pharmacognosy. Mineapolis Buraess publishing. P. 19 - 47.
3. CALDERÓN, G., E. 1963. Guía para análisis de plantas y notas prácticas sobre Fitoquímica. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
4. WALL, M. E. J., 1954. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 43.
5. FLORIANI, L. 1938. Análisis Químico de los Vegetales. Editorial Vásquez. Buenos Aires. P. 59 - 61.
6. ROSTOCK, H. et SEEBECK, E. 1958. Hlev. Chim. Acta 41, 11.
7. JANOT, M., LAINE, F., KHUONG, F. - HUU, Q. et GOUTAREL, R. 1962. Bulletin de la Societé Chimique de France. 111.
8. RANDEATH, K. 1963. Thin Layer Chromatography. Academic Press. New York. 111 pp.
9. MARTIN, et al. 1965. Farmacia práctica de Remington. 2ª Ed. 313 pp.
10. MORCILLO, J. y MADRONERO, R. 1962. Aplicaciones prácticas de la Espectroscopia Infrarrojo. Facultad de Ciencias. Universidad de Madrid.
11. JANOT, M., KHUONG, F. HUU-LAINE et GOUTAREL, R. 1963. Bulletin de la Societé Chimique de France. 641.
12. CALDERÓN, G. E. 1967. Aplicaciones de la Espectroscopia al estudio de los compuestos orgánicos. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
13. JANOT, M., LAINE, F. et GOUTAREL, R. 1960. Manuscrit reçu le 29 juin.
14. KHUONG, F. néé LAINE. 1962. Thésés présentées a la Faculté des Sciences de L'Université de Paris. Chartres imprimerie Durand.
15. HOFF GEDDES, H. 1965. Fisiología Experimental Houston. Experimento VIII - IX.
16. DENNIS, E. JACKSON. 1939. Experimental Pharmacology and Materia Medica. Segunda Edición. St. Louis, The C. V. Mosby Company. 90 pp.