

Torrealba, J. F. 1956
investigaciones sobre Enfermedad de
Chagas de San Juan de los Morros.
Fasc. V.

NOTA PRELIMINAR SOBRE LA ACCION MALAQUICIDA DEL FRUTO DEL PARAPARO (*SAPINDUS SAPONARIA* L.)

P o r

Dr. J. F. Torrealba (1); Prof. José Vicente Scorza (2);
Dr. Mariano Serpa Sanabria (3); Dr. Angel Diaz Vázquez
(4); Bachilleres Italia Ramos (5), Rósa Riccardi (6)
y Luis Segundo Jordán (7).

Nosotros no tenemos ninguna noticia de que en Venezuela o en el extranjero se hayan hecho experimentos sobre la acción malaquicida del paraparo (*Sapindus saponaria* L.).

Aún cuando se conocen más de mil sustancias malaquicidas, entre minerales, orgánicos y sintéticos, y, aún cuando desde 1952, un gran sabio suramericano, el Dr. Emmanuel Dias, del Instituto Oswaldo Cruz, de Rio de Janeiro, trabaja intensamente, buscando un control biológico llegando al interesante descubrimiento del *Bacillus pinoffii*, parásito habitual en el *Austrotrichia glabratus*, que promete un rumbo nuevo en la lucha para exterminar a los caracoles vectores de helmintiasis, especialmente de la Schistosomosis, falta aún mucho por hacer, debido a los problemas específicos, que presenta la biología de cada uno de estos vectores.

(1) Director del Centro de Investigaciones de la Enfermedad de Chagas en San Juan de los Morros. Venezuela.

(2) De la Facultad de Ciencias. Universidad Central. Venezuela.

(3) Del Instituto de Investigaciones Anticancerosas de Caracas.

(4) De la División de Malaria. Maracay. Venezuela.

(5 y 6) Laboratoristas del Centro de Investigaciones de la Enfermedad de Chagas. San Juan de los Morros.

(7) Estudiante de Laboratorio.

Deseando contribuir con algo en la lucha que desde hace años viene desarrollándose en este sentido, hemos resuelto probar la acción de una serie de plantas indígenas, cuya toxicidad sobre animales acuáticos, hicieron sospechar alguna acción contra los caracoles.

Entre estas plantas, hemos comprobado que el fruto del paraparo ejerce una acción letal, violenta, sobre los Gasterópodos de agua dulce. A continuación vamos a exponer experimentos realizados, métodos seguidos y resultados obtenidos, que nos permiten recomendar los frutos de estas plantas como un medio práctico para exterminar pequeños focos de caracoles cuya permanencia en regiones afectadas por la Bilharziosis amenazan con ser centros de dispersión.

Uno de nosotros (Torrealba), resolvió desde mayo de 1953, someter al *A. glabratus*, a la acción de macerados de cáscaras (epimesocarpio) del fruto del paraparo, observándose que los moluscos perecían a las pocas horas de exposición, y esto, aún en soluciones muy diluidas del macerado, pudiendo comprobarse que la cáscara cruda en solución hasta el 1/10.000, ejercían una acción malaquicida, que se conservaba hasta por 10 días. Se observó efecto hemorrágico pues se veía al animal retraído expulsando la hemolinfa. Estas experiencias fueron realizadas en recipientes de 2 hasta 15 litros y se trabajó con caracoles mantenidos en el laboratorio en óptimas condiciones. Estas pruebas se han repetido en el laboratorio del Centro de Investigaciones sobre Enfermedad de Chagas, en los meses de mayo, junio y julio, siempre con los mismos resultados.

Pensamos que el mismo procedimiento que usan algunos pueblos de Anzoátegui para matar peces, podría usarse contra los caracoles vectores de la Schistosomosis. En esos lugares proceden así: machacan una cantidad proporcionada a la cantidad de agua de los pozos donde se va a actuar, en hoyos medianos, que sirven como morteros, este machacamiento se hace agregando cierta cantidad de agua. El machacado se deja macerar cierto número de horas, de manera que el epimesocarpio triturado y macerado libere todo el material activo, luego se dispersa el agua de los pozos, sacudiéndolo en la superficie del agua en sacos de amplias mallas. Cuando se usa para recoger

peces su efecto no se deja esperar. Como el árbol paraparo carga abundantemente y su fruto carece de precio, el costo se reduciría a la recolección. Cuando se usa contra peces en agua corriente, su efecto se observa aún a varios kilómetros y hasta leguas.

II.—Uno de nosotros (Scorza), intentando separar el material activo realizó extracciones con agua caliente y con alcohol de 90°, tibio.

Extracción y algunas propiedades físico-químicas. Investigación preliminar.

Fragmentos de epimesocarpio de *Sapindus saponaria* L., fueron extraídos con aguacaliente y con alcohol de 90° tibio, evaporados los solventes, se separó, en ambos casos, un material gelatinoso, pardo oscuro, que agregado al agua donde se encontraban los caracoles los mató por hemorragia inmediatamente, demostrándose que la substancia tóxica contenida en los frutos era tan soluble en el agua como en el alcohol.

El material de ambos extractos fué enfrentado a soluciones de Bartoed, Fehling y Benedict exhibiendo las propiedades reductoras de los azúcares.

Hidrolizando con ácido clorhídrico al 5% y a temperatura de 70° durante 10 minutos, produjo un precipitado gelatinoso blanco poco soluble que, separado por filtración y desecado al vacío sobre ácido sulfúrico, demostró ser tóxico a los moluscos. Probado nuevamente con los reactivos oxidantes, demostró un alto poder reductor.

Tanto el extracto acuoso como el alcohólico, filtrado y evaporado al vacío, al ser disueltos en alcohol de 90°, precipitaron de sus soluciones al agregarle un doble volumen de éter, produciéndose, en esta forma, una suspensión coloidal de lenta precipitación y que al cabo de 24 horas dejó un sedimento blanco abundante.

Este precipitado, separado por decantación, rediseuelto en agua y disecado por liofilización, dió lugar a un polvo amorfo, amarillento, soluble en agua y alcohol acuoso, insoluble en

etanol puro, en el cloroformo y en el éter, que probado con los caracoles, demostró mantener su actividad moluscocida.

El material extraído por precipitación con éter y disuelto en agua, da con el ácido sulfúrico una reacción semejante a la de los ácidos biliares (reacción de Pettenkofer), en efecto, su solución acuosa, en contacto con el ácido sulfúrico concentrado, da una coloración rojo-oscuro.

Además de estas propiedades, dicho material tiene la capacidad de disminuir considerablemente la tensión superficial del agua al producir abundante espuma por ligera agitación.

Método de extracción:

La extracción con agua caliente, con alcohol caliente o frío produce el mismo rendimiento.

Cantidades de epimesocarpio de frutos procedentes de plantas de diferentes sitios, fueron desecados al vacío sobre cloruro de calcio hasta peso constante. La cantidad media de agua contenida en las cáscaras de las parapas varia desde el 9 hasta el 22%.

Extraídas las cortezas secas con alcohol frío y caliente y evaporados los solventes, se obtuvo un rendimiento medio equivalente al 66.4% del peso seco de las cáscaras. La desecación, para estas determinaciones se hizo por liofilización, sustituyendo al alcohol-solvente por agua o por mezcla cuyo contenido en alcohol no sobrepasaron el 10% en volumen. La evaporación se hizo con un vacío de 50 micrones obteniéndose un polvo amarillento cuyo contenido residual de agua fué menor de un 4/1.000. Este material resistió ulteriores tentativas de desecación, demostrando tener una gran tenacidad acuosa y un alto poder hidrocópico.

La cantidad de sustancias reductoras contenidas en el material extraído con alcohol y desecado, fué calculado fotocolorimétricamente por el método de Somogyi-Nelson, dió un promedio de 0,091 gramos por cada gramo del material.

Este extracto activo fué diluido serialmente desde 1/000

hasta 1/100.000, y con estas soluciones se hicieron pruebas tomando 4 litros de cada dilución con 100 caracoles de diferentes edades, obteniéndose los resultados siguientes:

- 1 gr. en 1.000 cc. muerte inmediata en el 100% con hemorragia.
- 6 gr. en 10.000 cc. muerte en el 100% al cabo de un minuto.
- 3 gr. en 10.000 cc. muerte en el 100% al cabo de 4 minutos.
- 1 gr. en 10.000 cc. muerte en el 100% al cabo de 12 minutos.
- 1 gr. en 20.000 cc. (pH 6,9) muerte en el 100% en 15 minutos.
- 1 gr. en 40.000 cc. muerte en el 100% a las 6 horas.
- 1 gr. en 50.000 cc. muerte en el 94% a las 24 horas.
- 1 gr. en 100.000 cc. todos los caracoles sobrevivientes.

Consideramos como dosis mínima letal para *A. glabratus*, una dilución del extracto al 1:50.000 y como dosis media letal 1:40.000.

Con el fin de averiguar si la dosis mínima letal para los caracoles correspondiente a 1/50.000 pueden ejercer una acción letal sobre otros organismos que habitan en las aguas dulces, enfrentamos el material activo a muestras de plánton que se cultivan en los pozos donde hemos visto caracoles. Las observaciones se han hecho en portaobjetos excavados utilizándose dos preparaciones para cada organismo sometido a la acción de la substancia: una sin la substancia (testigo) y otra con ella.

Método: Se toman 10 cc. de líquido natural y se centrifugan durante 2 minutos a 2.000 revoluciones por minuto; el centrifugado se pipetea y se coloca en el fondo de la excavación de una lámina, completando su voluntad con la solución del material activo de modo que el volumen total de líquido contenido en la lámina tenga una dilución equivalente a la dosis media letal para los caracoles (1/40.000). Otra parte de la muestra centrifugada se completa con el mismo volumen de agua corriente y se utiliza como testigo.

Todos los organismos probados lo fueron durante 6 horas y los que sobrevivieron a esta acción fueron considerados como indiferentes a la acción del malaquicida.

A continuación se indican los organismos sometidos a experiencia; el porcentaje expresa el número de organismos sobrevivientes:

PROTOZOARIOS.

Rhizopoda.

<i>Acanthamoeba castellani</i> (Doug).	100%
<i>Amoeba dubia</i> Scaeffler.	100%
<i>Amoeba guttula</i> Duj.	100%
<i>Arcella discoides</i> Ehr.	60%
<i>Diffugia urceolata</i> Carter.	100%
<i>Heterophrys</i> sp. Archer.	

Mastigophora.

<i>Anisonema</i> sp.	100%
<i>Codosiga disjuncta</i> (From).	100%
<i>Chilomonas paramoecium</i> Ehr.	100%
<i>Euglena acus</i> Ehr.	100%
<i>Euglena deses</i> Ehr.	50%
<i>E. spirogyria</i> Ehr.	0%
<i>Gigantochloris</i> sp. Pasch.	0%
<i>Glenodinium</i> sp. Ehr.	0%
<i>Gonium pectorale</i> Müller.	disociados
<i>Haematococcus</i> sp. Agarh.	84%
<i>Peranema trichophorum</i> Ehr.	100%
<i>Phacus pleuronectes</i> Müller.	100%

Ciliata.

<i>Coleps bicuspis</i> Noland.	100%
<i>Colpoda cucullus</i> Müller.	100%
<i>Colpoda inflata</i> Stokes.	100%
<i>Dileptus anser</i> Müller.	0%
<i>Euplotes carinafus</i> Stokes.	100%
<i>Halteria grandinella</i> O. F. M.	100%
<i>Lionotus</i> sp.	0%
<i>Loxodes</i> sp.	0%

<i>Oxytricha bifaria</i> Stokes.	100%
<i>Paramecium bursaria</i> Ehr.	0%
<i>Paramecium caudatum</i> Ehr.	0%
<i>Platyophrya lata</i> Kahr.	0%
<i>Spathidium spathula</i> O. F. M.	0%
<i>Spirostomon ambuquum</i> Ehr.	100%
<i>Stentor roeseli</i> Ehr.	0%
<i>Vorticella convallaria</i> L.	0%

ROTATORIA.

<i>Diplax videns</i> Lev.	0%
<i>Distyla inermis</i> Bryce.	14%
<i>Microdides robustus</i> Glas.	0%
<i>Philodina roseola</i> Ehr.	0%
<i>Rattulus longiseta</i> Schr.	0%

GASTROTRICHA.

<i>Chaetonotus</i> sp. Ehr.	0%
-----------------------------	----

OLYGOCHAETA.

<i>Aelosoma</i> sp. Ehr.	100%
--------------------------	------

CRUSTACIA.*Ostracoda.*

<i>Cypris perelegans</i> Herr.	0%
--------------------------------	----

Copepoda.

<i>Cyclops</i> sp.	100%
<i>Diaptomus</i> sp.	75%

Cladocera.

<i>Daphnia Brasiliensis.</i>	60%
------------------------------	-----

Insecta. — En general, todas las formas de insectos que viven en el agua y que han sido examinados por nosotros, se han mostrado refráctiles a la acción de la parapsara. Se han probado: larvas de *Chironomus*, *Eristalis*, *Culex*, *Anopheles*, de *Ephemera*

roptera, de Odonata, de Dytiscidae; formas adultas de Belostomatidae, Nepidae, Notonectidae, Hydrometridae, Hydrophilidae y Dytiscidae.

Asimismo, hemos probado algunos peces de aguas dulces, pudiendo comprobarse que la acción letal se extiende a peces, lo cual viene a comprobar su uso como tóxico para "emborrachar", propiedad esta conocida en las regiones orientales del país.

Las dosis mínimas letales, en el caso de pececillos, corresponden, respectivamente, a 1:25.000 para *Lebistes reticulatus* a 1:20.000 para *Ricinus bondi*.

Una ligera revisión de los resultados expuestos permite deducir que, salvo pequeñas formas dulceacuícolas y sardinas, la acción letal del material extraído de la parapara se ejerce preferentemente sobre los caracoles; en efecto, hemos probado su acción sobre otros Gasterópodos:

<i>Helisoma</i> sp. D. Min. L.	1:30.000
<i>Ampullaria</i> sp. D. Min. L.	1:25.000
<i>Bithynia</i> sp. D. Min. L.	1:40.000
<i>Physa</i> sp. D. Min. L.	1:40.000
<i>Limnaea cubensis</i> D. Min. L.	1:40.000

Considerando que la acción moluscocida de los materiales contenidos en la parapara podría ser utilizada para la erradicación de los caracoles de estanques, pozos, acequias, tomas y otros depósitos que pudieran servir como abastecimiento de agua para poblaciones, hemos probado la toxicidad de los extractos acuosos y alcohólicos en animales de laboratorio. Hemos seleccionado ratones albinos de los cuales hemos alimentado, con solución de 1:20.000, durante 4 días, un lote de 40 animales de todas las edades, sin observar alguna manifestación respiratoria, digestiva o motriz que denunciara una acción tóxica. Prolongando estas observaciones, hemos suministrado el extracto por vía parenteral (subcutánea e intraperitoneal), a lotes de 25 ratones, observando que estos animales pueden tolerar una dosis máxima de 5,60 gramos por kilogramo peso-ratón, pasada la cual los animales perecen antes de transcurrir las 24 horas después de la inyección.

CONCLUSIONES

Se exponen experimentos que demuestran una acción malaquicida muy intensa en el epimesocarpio del fruto del paraparo (*Sapindus saponaria* L.). El mismo efecto se encuentra en el extracto, pero más aumentado. Este fruto ha sido usado en el Oriente del país para matar peces y los autores lo recomiendan para la lucha contra el *Australorbis glabratus*, vector de la Schistosomosis en el país.

SUMARY

In this preliminary work, the authors give an account of the lethal action of an aqueous extract of Parapara (*Sapindus saponaria* L.) on *Australorbis glabratus* Say, giving the minimal and medial lethal doses and its action on several freshwater organisms and white mouse, recommending this material as a method for controlling little and medium foci of this snails.

Redactado en San Juan de los Morros (Estado Guárico-Venezuela) en 28 de julio de 1953.

Cort, W. W. 1950. —Studies on Schistosomose dermatitis XI. Status of knowledge after more than twenty years. *Amer. Jour. of Hyg.* 52:251-307.

Dias, E. 1953. —Nova Possibilidade de combate aos Moluscos Transmissores das Esquistosomoses. Empresa Editora O Eco. Bambuí, Minas Geraes.

Dias, E. 1953. —Comunicaciones epistolares.

Dr. José Francisco Torrealba. — Prof. José Vicente Scorza. —

Dr. Mariano Serpa Sanabria. — Dr. Angel Diaz Vásquez. —

Br. Italia Ramos. — Br. Blas Riccardi. — Br. Luis Segundo Jordán.

NOTA FINAL

Debido a una gentileza del Secretario de la Academia de Medicina y Director de la Gaceta Médica de Caracas, doctor L.

Briccño Irigorry, pudimos leer, estando en prensa este trabajo, Publicaciones Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães. Volumen I. N.º 10. Octubre 1952, con un trabajo en p. p. 129-140, de Frederico Simoes Barbosa, Oswaldo Barbosa Calado, Jandyra Gonçalves de Moraes y Arildo Marinho de Almeida "Acción Moluscicida Sinérgica de la Saponina del *Sapindus Saponaria* y el pentaclorofenato de Sodio". Leyendo este trabajo vemos que la acción de las Sapindáceas sobre caracoles de la bilharzia es un camino ya bastante trajinado: desde hace tiempo en Egipto, se ha usado contra los caracoles el extracto de una Sapindácea, *Balanites aegyptiaca*: que César Pinto y Antonio Firmato de Almeida publicaron en Memorias do Instituto Oswaldo Cruz-1944. Tomo 40. Fascículo 3: un extenso trabajo sobre la acción del *Sapindus Saponaria* L. y otra Sapindácea, *Serjania*, S. p., sobre el *Australorbis glabratus*.

En este trabajo de Pinto y Almeida, que ya pudimos leer, se ve la advertencia de que fué el célebre malacólogo A. Vianna Martins, el primero en advertir la acción del *Sapindus saponaria* sobre el *A. glabratus*, en 1942.

También vemos en el trabajo de las Publicaciones Avulsas, mencionado, que en 1946, G. W. Luttermoser, quien trabajó muchos años en Venezuela, presentó a la XII Conferencia Sanitaria Panamericana, en Caracas, un trabajo "La Campaña Antibilharziana en Venezuela". En este trabajo, que ya pudimos leer menciona la acción malaquicida, especial para *A. Glabratus*, del *Sapindus saponaria* y de otras plantas de Venezuela. Así vemos que este camino de la acción de Sapindáceas sobre caracoles, ha sido bastante hurgado ya: en la tierra de los Faraones, en la del Emperador Don Pedro y hasta en la de Guaicaipuro.

San Juan de los Morros: Enero de 1954.