

'n Farmakochemiese ondersoek van *Gomphrena celosioides* (Amaranthaceae)*

S. Botha en L.M. Gerritsma-Van der Vijver

Departement Farmaseutiese Chemie, Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys, Potchefstroom

UITTREKSEL

'n Chemiese en biologiese ondersoek is op *Gomphrena celosioides* (Amaranthaceae), bekend as kruipknopamarant, uitgevoer. Chemiese voortoetse toon die aanwesigheid van saponiene, steroïede, fenoliese verbindings, flavonoïede, aminosure, suikers en betasiane in die plant aan. 'n Swak antibakteriële aktiwiteit word deur die wortel teen drie Gram-positiewe bakterieë vertoon. Met die metode van Malone en Robichaud¹² is 'n inwerking op die outonome senuweestelsel van rotte deur al die plantdele wat getoets is, aangetoon. Simpatiese en parasympatiese simptome is waargeneem.

ABSTRACT

A pharmacocochemical investigation of Gomphrena celosioides (Amaranthaceae)

A chemical and biological screen was performed on Gomphrena celosioides (Amaranthaceae) known as prostrate globe amaranth. Chemical tests showed the presence of saponins, steroids, phenolic substances, flavonoids, amino acids, sugars and betacyanins in the plant. The roots exhibited a weak antibacterial activity against three Gram positive bacteria. An action on the autonomic nervous system of rats was shown by all the plant parts, when tested by the method of Malone and Robichaud.¹² Sympathetic and parasympathetic symptoms were observed.

1. INLEIDING

Hierdie ondersoek lewer 'n bydrae tot die projek om gegewens oor die chemiese samestelling en biologiese aktiwiteit van flora in die Potchefstroomdistrik saam te stel, en vorm deel van 'n ondersoek na die familie AMARANTHACEAE.

Die familie AMARANTHACEAE kom in tropiese en warm streke voor, veral in tropiese Amerika en Afrika. Die familie sluit 64 genera en omtrent 800 spesies in. Die genus *Gomphrena* sluit 90 spesies in, waarvan een spesie verspreid in Rhodesië (Zimbabwe) en Suid-Afrika voorkom.¹

Sommige *Amaranthus*-spesies is toksies vir herkouers. Die toksiteit is waarskynlik te wyte aan die omsetting van nitrate, wat in hoë konsentrasies in die plante voorkom, in nitrite, wat uiterst giftig is, deur mikro-organismes in die rumen van herkouers.²

Hegnauer³ beskou die teenwoordigheid van betalaïene, saponiene en terpene as kenmerkende chemiese eienskappe van die familie AMARANTHACEAE. Latere ondersoeke het geleei tot die isolering van steroïede, struktureel verwant aan die insekontwikkelingshormone (die sg. ekdisterole = ekdisone), uit 'n aantal spesies van die AMARANTHACEAE.

Hierdie steroïede het ook 'n effek op die metamorfose van insekte en staan bekend as fito-ekdisterole (= fito-ekdisone).⁴

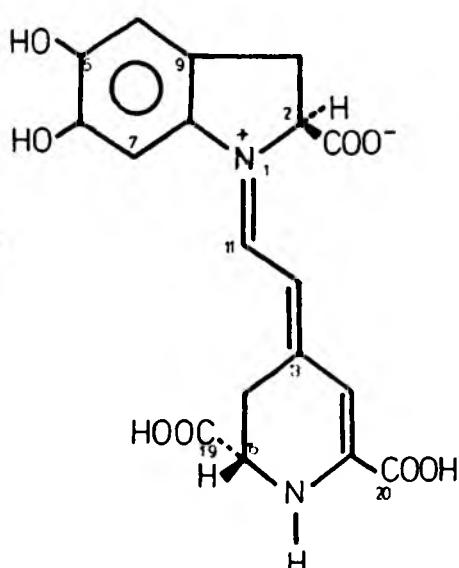
1.1 Betalaïene

Die betalaïene is rooi-violet en geel wateroplosbare chromo-alkaloïede wat as zwitterione in die selvakuole van blomme, vrugte, blare, stingels en ook ondergrondse dele van plante uit 10 families van die

orde CENTROSPERMAE voorkom. Die rooi-violet pigmente staan bekend as betasiane en die geel pigmente as betaxantiene. In families waar betalaïene aangetoen is, ontbreek antosianiene, maar ander flavonoïede kom wel voor.⁵

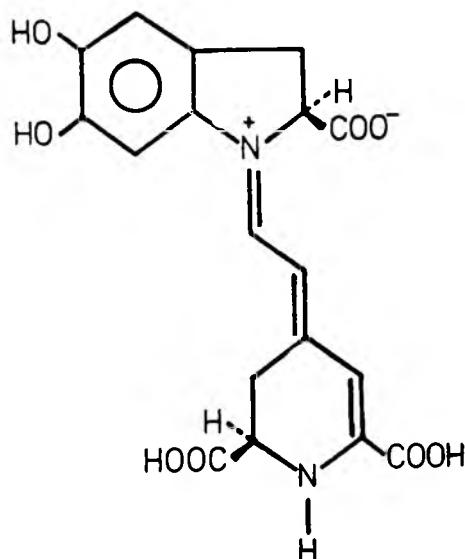
1.1.1 Betasiane

Die betasiane is glikoside wat met suurhidrolise die aglikoon betanidien (Fig. 1) of sy epimeer isobetanidien (Fig. 2), of 'n mengsel van die twee lewer. Betasiane verskil waarskynlik onderling net in die stereochemie van C-15, die tipe suikerres en/of die veresterung van die suiker en fenoliese hidroksiel-groepe en die karboksielgroepe.⁵



FIGUUR 1: Betanidien.

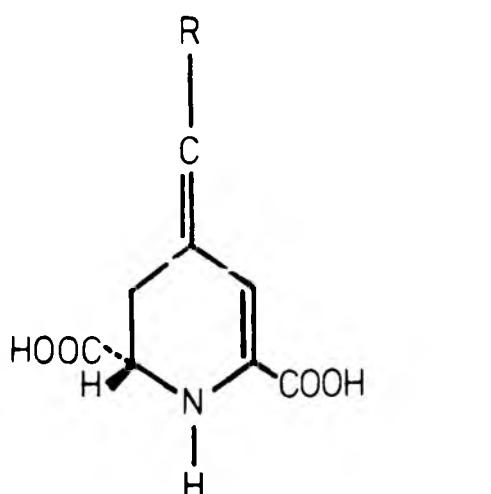
*Referaat gelewer tydens die sesde jaarkongres van die Akademie vir Farmaseutiese Wetenskappe in Pretoria, 3 en 4 Mei 1985.



FIGUUR 2: Isobetanidien.

1.1.2 Betaxantiene

Die betaxantiene (Fig. 3) is struktureel verwant aan die betasiane. Die betaxantiene is kombinasies van 4-metilpiridien-2,6-dikarboksiezuur met verskillende aminosure of amiene.⁵



a) $R = -\text{CH}=\text{N}^+ \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{COO}^-$; indikaxantien

b) $R = -\text{CH}=\text{N}^+ \text{---} \text{CH}_2 \text{---} \text{COO}^-$; miraxantien II

FIGUUR 3: Betaxantiene.

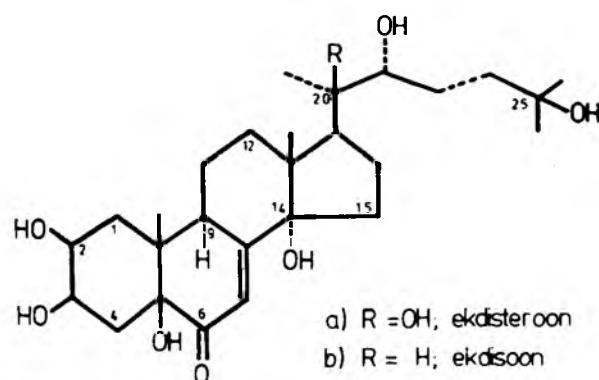
1.2 Fito-ekdisone (Fito-ekdisteroole)

Die fito-ekdisone is 'n reeks polihidroksieketo-sterioede met 'n C₂₇- of 'n C₂₉-skelet. Die verbindings verskil hoofsaaklik van mekaar in die aard van sykettings aan C-17. Ekdisteroon (Fig. 4a) kom ook in insekte voor.

In biologiese ondersoeke op fito-ekdisone is gevind dat hierdie steroede die metamorfoseproses van insekte induseer. Toediening van hoë dosisse het abnormale metamorfose tot gevolg.

In eksperimente uitgevoer op soogdiere is gevind dat, toegedien aan muise, ekdisteroon 'n LD₅₀ van 6,4 g/kg intra-peritoneaal en > 9,0 g/kg oraal het, en inokosteroon 'n LD₅₀ van 7,8 g/kg intra-peritoneaal en > 9,0 g/kg oraal.⁴ Toediening van fito-ekdisone aan muise stimuleer proteiensintese in die lewers van manlike en vroulike diere.⁶ Ekdisoon (Fig. 4b) wat nie oor 'n hidroksielgroep aan C-20 beskik nie, toon nie dié anaboliese werking nie.⁷ Masuoka et al.⁸ vind by latere ondersoek met drie fito-ekdisone egter geen effek op die endokriene, ensiematiiese of hematologiese stelsels van rotte nie. Ook geen anaboliese effek is waargeneem nie.

Ekdisteroon (Fig. 4a) is geïsoleer uit *G. celosioides* Mart. (heelplant) in 'n konsentrasie van 0,25 g/kg.⁹



FIGUUR 4: Fito-ekdisone.

2. EKSPERIMENTEEL

Die toetse wat uitgevoer is tydens die primêre toetsing, is dié wat bespreek is deur Gerritsma-Van der Vijver et al.¹⁰

G. celosioides-plante is versamel en verdeel in blare, bloeiwyse, stingels en wortels. Elke plantdeel is afsonderlik aan toetsing onderwerp. Chemiese voortoetse om die aanwesigheid van alkaloiede, saponiene, aminosure, koolhidrate, sianogene verbindings en betasiane aan te toon is uitgevoer. Betasiane verkleur van rooi-violet na geel met die toevoeging van 'n alkalie en verloor hulle rooi kleur wanneer hulle in die teenwoordigheid van 'n suur verwarm word.¹¹

Vir die biologiese ondersoek is toetse uitgevoer om antimikrobiële en fototoksiese aktiwiteit¹⁰ aan te toon, asook die Hippokratiese toets op rotte soos beskryf deur Malone & Robichaud.¹² Drie rotte per dosis is gebruik en drie dosisse per plantdeel is toegedien.

2.1 Resultate en bespreking

Resultate wat verkry is met die onderskeie ondersoeke, word in Tabelle 1 tot 6 gegee.

TABEL 1
Chemiese voortoetse

Verbinding	Blare	Bloei-wyses	Stin-gels	Wor-tels
Alkaloïede	—	—	—	—
Antrakinone	—	—	—	—
Saponiene	+	+	+	+
Steroïede	+	+	+	+
Hartglikosiede	—	—	—	—
Fenoliese verbindings	+	+	+	—
Flavonoïede	+	+	+	—
Aminosure	+	+	+	+
Koolhidrate				
1. Reduserende suikers	—	+	—	—
2. Nie-reduserende suikers	+	+	+	+
3. Ketoses	—	—	+	+
4. Stysel	—	—	—	—
Sianogene verbindings	—	—	—	—
Betasiane	—	—	+	—

Saponiene, steroïede, aminosure en nie-reduserende suikers is in al vier plantdele aangetoon, met fenoliese verbindings en flavonoïede in die blare, bloeiwyse en stingels. Betasiane is slegs in stingels, reduserende suikers in bloeiwyse en ketoses in wortels en stingels aangetoon. (Tabel 1.)

Geen fototoksiese aktiwiteit is gevind nie.

Anti-bakteriële aktiwiteit teen *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* en *Micrococcus luteus* is met behulp van die direkte agarplaatmetode in die wortel aangetoon. Geen fungisidiese aktiwiteit is gevind nie. (Tabel 2).

Met behulp van die Hippokratiese evaluering is daar gevind dat die blare en wortels in 'n dosis van 1778,4 mg/kg dodelik is vir rotte indien intraperitoneaal toegedien. Inwerking op die outonome senuweestelsel is by al vier plantdele waargeneem. Die aktiwiteit is baie swak en kan nie as uitgesproke simpaties of parasimpaties getypeer word nie. (Tabelle 3 – 6; hierdie tabelle verteenwoordig uittreksels en opsommings van relevante simptome soos verkry uit

voltooide werkskaarte.) Sekondêre toetse sal uitgevoer moet word om dié aktiwiteit beter te definieer.

3. GEVOLGTREKKING

Net die wortel bevat 'n metaboliet (of metaboliete) met antibakteriële aktiwiteit. Met die chemiese voor-toetse is steroïedstrukture in die wortel aangetoon (Tabel 1); ekdisteroon (Fig. 4a), wat al uit *G. celosioides* geïsoleer is,⁹ toon strukturele ooreenkoms met kukurbutasiene (polihidroksiterpene met 'n ketosteroïdale ringsisteem), wat bekend is vir hulle antibakteriële aktiwiteit.¹³

Die toksisiteit wat met die Hippokratiese toets waargeneem is, is waarskynlik te wyte aan die sterioïede in die plant; ekdisteroon is toksies vir muise.⁴ Die afleiding kan gemaak word dat die simptome wat op die outonome senuweestelsel waargeneem is, verband hou met die aanwesigheid van saponiene of sterioïede of aminosure in die plant, aangesien die verbindings in al vier plantdele voorkom.

Die moontlikheid dat alle waargenome aktiwiteit veroorsaak word deur verbindings waarvoor chemiese toetse nie uitgevoer is nie, is ook nie uitgesluit nie.

TABEL 2
Antimikrobiële aktiwiteit

Toetsorganismes	Blare	Bloei-wyses	Stin-gels	Wor-tels
BAKTERIEË GRAM + <i>Staphylococcus aureus</i>	—	—	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	—	—	—	+
<i>Micrococcus luteus</i>	—	—	—	+
<i>Bacillus licheniformis</i>	—	—	—	+
<i>Streptococcus faecalis</i> v. <i>haemolyticus</i>	—	—	—	—
GRAM – <i>Enterobacter cloacae</i>	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i>	—	—	—	—
SKIMMELS <i>Aspergillus-sp.</i>	—	—	—	—
<i>Penicillium-sp.</i>	—	—	—	—
GIS <i>Candida albicans</i>	—	—	—	—

TABEL 3
Hippokratiese toetse uitgevoer op G. celosioides-blare

Simptome	562,4 mg/kg		1 000 mg/kg		1 778,4 mg/kg	
	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt
Verhoogde respirasietempo	3	++				
Verhoogde respirasiediepte	3	+	3	+	3	+
*Verhoogde motoriek	3	+	3	+	3	+
**Diarree	2	++				
**Enoftalmos			2	+		
*Eksoftalmos			1	+		
*Midriase			2	2 mm	3	1,5 mm
**Hiperemie					2	+
*Aggressiewe gedra					2	+
Sterftes uit 3	-		1		3	

* = Simpatiese aktiwiteit.

** = Parasimpatiese aktiwiteit.

Aantal = Aantal rotte uit 'n totaal van 3 wat die simptoom toon.

Punt = Kwantitatiewe waarde van die simptoom vanaf swak (+) tot sterk (+++).

TABEL 4
Hippokratiese toetse uitgevoer op G. celosioides-bloeiwyses

Simptome	562,4 mg/kg		1 000 mg/kg		1 778,4 mg/kg	
	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt
Verhoogde respirasietempo			3	++	2	++
Verlaagde respirasietempo	3	++	2	++	3	++
Verhoogde respirasiediepte	3	+				
*Verhoogde motoriek	3	+			3	+
Verlaagde motoriek			3	+		
**Enoftalmos	1	+	2	+	3	+
*Midriase					2	2 mm
**Dun salivasie					2	+
**Hiperemie	3	+				
Sterftes uit 3	-		-		-	

Vir verklaring van kodes, vergelyk Tabel 3.

Verhoogde en verlaagde respirasietempo's word by die proefdiere op verskillende tye waargeneem. Die wisseling in die respirasietempo van die proefdiere verloop nie volgens 'n patroon nie.

TABEL 5
Hippokratiese toetse uitgevoer op G. celosioides-stingels

Syntome	562,4 mg/kg		1 000 mg/kg		1 778,4 mg/kg	
	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt
Verhoogde respirasietempo	3	+	3	+	3	+
Verlaagde respirasietempo	3	++	3	++	3	++
*Verhoogde motoriek	2	++	2	++		
Verlaagde motoriek	3	+	3	+	3	+
**Enoftalmos	3	+	2	+	2	+
*Eksoftalmos					3	+
*Midriase			2	1,5 mm	3	1,5 mm
**Hiperemie					3	+
*Aggressiewe gedra					2	+
Sterftes uit 3	1		-		1	

Vir verklaring van kodes, vergelyk Tabel 3.

Die verlaging in motoriese aktiwiteit volg na 'n periode van verhoging in motoriese aktiwiteit.

Verhoogde en verlaagde respirasietempo's word by die proefdiere op verskillende tye waargeneem. Die wisseling in die respirasietempo van die proefdiere verloop nie volgens 'n patroon nie.

TABEL 6
Hippokratiese toets uitgevoer op G. celosioides-wortels

Sимптом	562,4 mg/kg		1 000 mg/kg		1 778,4 mg/kg	
	Aantal rotte	Punt	Aantal rotte	Punt	Aantal rotте	Punt
Verhoogde respirasietempo			2	++		
Verlaagde respirasietempo	3	++	2	+	3	++
Verhoogde respirasiediepte	3	+	3	+*	3	+
*Verhoogde motoriek	2	++	3	+++	3	+
Verlaagde motoriek					3	+
**Enoftalmos	2	+	3	+	3	+
*Eksoftalmos			1	+/-	1	+/-
*Midriase	3	1,5 mm	3	2 mm	3	2 mm
**Hiperemie					1	+/-
**Dun salivasie					2	+
*Aggressiewe gedrag			3	+	3	+
Sterftes uit 3	-		1		3	

Vir verklaring van kodes, vergelyk Tabel 3.

Die verlaging in motoriese aktiwiteit volg na 'n periode van verhoging in motoriese aktiwiteit.

Verhoogde en verlaagde respirasietempo's word by die proefdiere op verskillende tye waargeneem. Die wisseling in die respirasietempo van die proefdiere verloop nie volgens 'n patroon nie.

DANKBETUIGING

Hartlike dank aan mnr. B. Ubbink, Kurator van die Botaniese Tuin, PU vir CHO, Potchefstroom, vir sy hulp met die versameling en identifikasie van die plantmateriaal.

Ontvang 9 Jan. 1986; aanvaar 27 Jan. 1986.

BIBLIOGRAFIE

- Riley, H.P. (1963). *Families of flowering plants of Southern Africa* (University of Kentucky Press, Lexington) pp. 149-150.
- Vahrmeijer, J. (1981). *Gifplante van Suider-Afrika wat vee-verlese veroorsaak* (Tafelberg, Kaapstad) pp. 64-65.
- Hegnauer, R. (1964). *Chemotaxonomie der Pflanzen. Band III* (Birkhäuser Verlag, Basel) pp. 81-90.
- Hikino, H. & Takemoto, T. (1972). Arthropod moulting hormones from plants, *Achyranthes* and *Cyathula*, *Naturwissenschaften*, 59, 91-98.
- Mabry, T.J. (1970). In *Chemistry of the alkaloids*, Pelletier, S.W. ed. (Van Nostrand Reinhold, New York) pp. 367-384.
- Otaka, T., Uchiyama, M., Okui, S., Takemoto, T., Hikino, H., Ogawa, S. & Nishimoto, N. (1968). Stimulatory effect of insect-metamorphosing steroids from *Achyranthes* and *Cyathula* on protein synthesis in mouse liver, *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 16, 2426-2429.
- Otaka, T., Uchiyama, M., Takemoto, T. & Hikino, H. (1969). Stimulatory effect of insect-metamorphosing steroids from ferns on protein synthesis in mouse liver, *Chem. Pharm. Bull. Tokyo*, 17, 1352-1355.
- Masuoka, M., Orita, S., Shino, A., Matsuzawa, T. & Nakayama, R. (1970). Pharmacological studies of insect metamorphosing hormone: ponasterone A, ecdysterone, and inokosterone, in the rat, *Jap. J. Pharmac.*, 20, 142-156.
- Banerji, A., Chintalwar, G.J., Joshi, N.K. & Chadha, M.S. (1971). Isolation of ecdysterone from Indian plants, *Phytochem.*, 10, 2225-2226.
- Gerritsma-van der Vijver, L.M., Botha, S. & Kruger, A.M.C. (1985) S.A. Tydskr. vir Nat. en Tegn. In Druk.
- Harborne, J.B. (1973). *Phytochemical Methods* (Chapman and Hall, London). pp. 64-66.
- Malone, M.H. & Robichaud, R.C. (1962). A Hippocratic screen for pure or crude drug materials, *Lloydia*, 25, 320-332.