

EVALUACIÓN DE CINCO PLANTAS MEDICINALES DE ICA, POR ESPECTROSCOPIA UV-VIS

S. Klinar B., A. Chang C., P. Castillo R., C. Quispe S. y L. Lengua A.

INTRODUCCION

Cuando las comunidades nativas utilizan sus plantas medicinales, son los curanderos, brujos o shamanes quienes tienen la responsabilidad absoluta en su manejo, desde la colecta, la preparación y la administración, hasta la evaluación de los resultados; cuando este conocimiento popular se toma para una evaluación científica, botánicos, químicos, farmacéuticos y médicos entre otros profesionales, asumen dicha responsabilidad y tras largos años de investigación se puede concluir en su aceptación o no en el arsenal farmacológico.

En la actualidad ese no es el caso; el auge en la utilización de plantas medicinales ha planteado nuevos retos en la investigación de ellas. El uso de las plantas medicinales se ha extendido mucho más allá de las fronteras de las comunidades nativas, originando una fuerte demanda por productos que, en muchos casos, suelen ser escasos; por otro lado, para mejorar los sistemas de distribución así como para facilitar su consumo, se ha desarrollado una floreciente industria "fitofarmacéutica" y en las ciudades proliferan cápsulas, tabletas, extractos, etc, que han sido preparados a partir de dichas especies vegetales.

Sin embargo, por lo general, dicha "industrialización" se lleva a cabo con poco o ningún criterio técnico-científico, pues los requerimientos y la presión de la demanda es ahora y no se pueden esperar los largos años de una rigurosa investigación científica por lo tanto, la colecta, identificación taxonómica de la especie, técnicas de extracción, estandarización y homogeneización de los productos y pruebas farmacológicas y clínicas para validar las propiedades que el uso popular les atribuye, son manejadas a libre albedrío. En el Perú coexisten empresas formales junto con otras informales, las primeras cumplen con las mínimos requisitos que exige DIGEMID, mientras que las otras no tienen ningún tipo de control.

El presente trabajo es un aporte que esperamos pueda contribuir, en alguna medida, al uso adecuado de nuestra plantas medicinales. Uno de los problemas prioritarios para obtener credibilidad en la medicina tradicional, está referido a la identidad de la especie vegetal (la historia de la quina es un claro ejemplo) pues la fuerte demanda y la "industrialización" son factores que coadyuvan a la adulteración de las plantas medicinales; cuando no son errores por la existencia de diferentes especies con propiedades y química diferente, pero con el mismo nombre común.

Por ello hemos desarrollado un procedimiento de identificación, rápido y seguro, de especies vegetales aún cuando se encuentren en forma de preparados; el cual consiste en la obtención de espectros ultravioleta-visible de extractos hidroalcohólicos obtenidos de especies vegetales que previamente han sido clasificados e

identificadas fehacientemente. Dichos espectros sirven como patrones de referencia, de tal manera que al analizar una muestra (una planta o un preparado de la misma) su espectro UV se compara en dichos patrones, logrando una identificación rápida y segura.

La utilidad de estos espectros no se limita únicamente a la identificación de la especie, sino que también nos ha permitido realizar estimaciones cuantitativas que hemos utilizado para evaluar cuatro técnicas de extracción y cuyos resultados serán de suma utilidad para la industrialización de dichas especies, así como para la estandarización de los productos.

Presentamos los espectros UV-vis de cinco especies: *Caesalpineia gilliesii* (Uña de Gato), *Spilanthes beccabunga* (deflemadera), *Euphorbia hirta* (hierba de la golondrina), *Ambrosia peruviana* (altamisa) y *Pelargonium odoratissimum* (geranio). En la evaluación cuantitativa, la técnica más adecuada resultó la extracción por SOXHLET, en todos los casos.

MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS

Obtención de espectros UV.

El material vegetal, previamente clasificado e identificado, se secó a temperatura ambiente y luego en estufa a 40°C. Se trituró en un molino manual y fue extraído por reflujo con una solución hidroalcohólica. El extracto se secó a presión y temperatura reducida. Una parte del extracto seco se disolvió en metanol y se llevó a lectura entre 220 a 320nm. En un espectrofotómetro Beckman DV- 65.

Evaluación de técnicas de extracción.

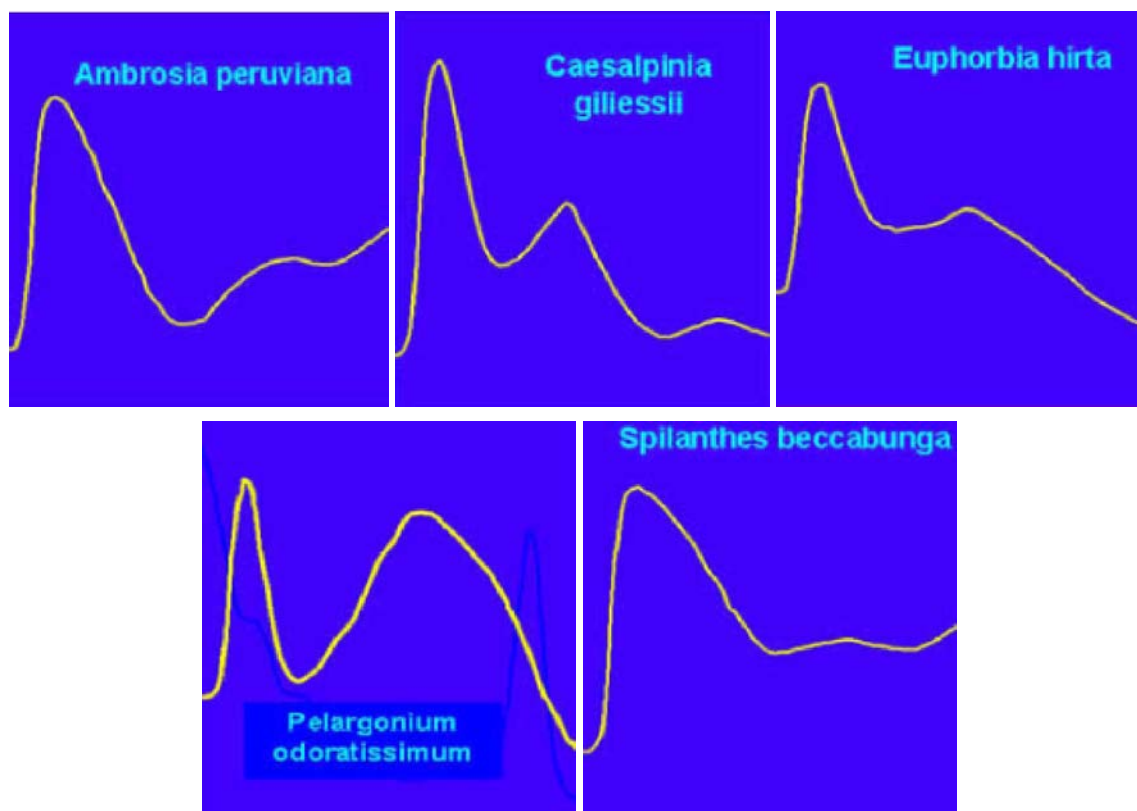
Se prepararon extractos hidroalcohólicos con 4 técnicas diferentes: Soxhlet, Reflujo, Percolación y maceración. En todos los casos se estableció una relación material vegetal/solvente de 1: 10, para el aforo del volumen final. Los extractos hidroalcohólicos fueron diluidos de la misma manera en todos los casos, hasta obtener la dilución óptima para la lectura en el espectrofotómetro UV- Beckman DV- 65. Para cada especie, la lectura se realizó a la longitud de onda de la banda principal detectada en el espectro UV, obtenido previamente.

Material Vegetal.

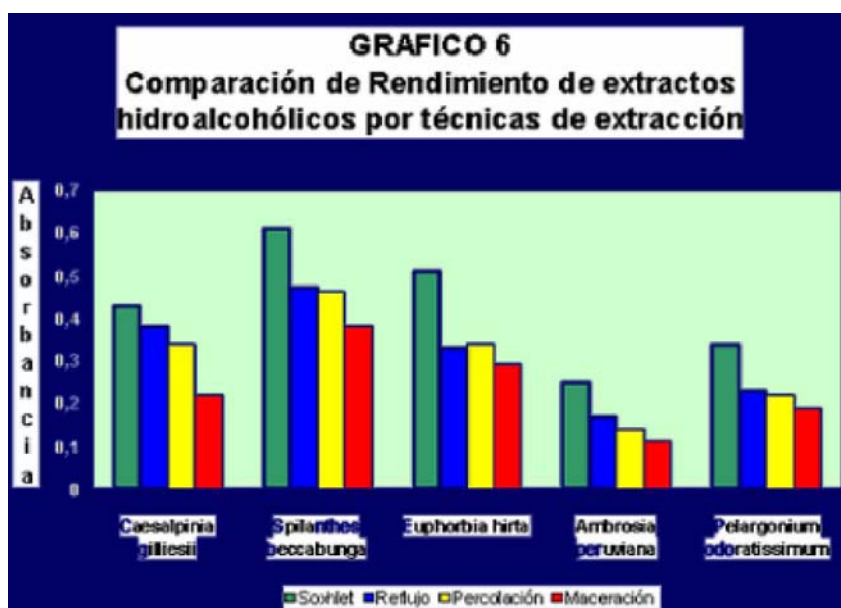
Se utilizaron: Flores de *Caesalpineia gilliesii* (Uña de Gato), Hojas de *Spilanthes beccabunga* (deflemadera), Hojas de *Euphorbia hirta* (hierba de la golondrina), Hojas de *Ambrosia peruviana* (altamisa) y Hojas de *Pelargonium odoratissimum* (geranio)

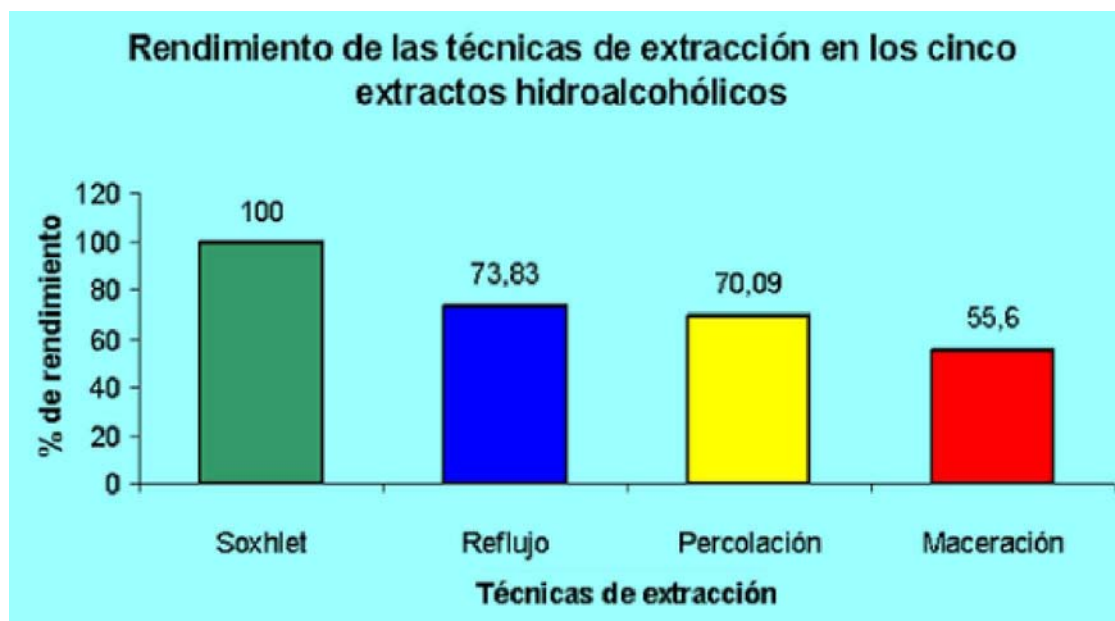
RESULTADOS

Identificación de especies vegetales por espectroscopía ultravioleta visible



Evaluación comparativa de las diferentes técnicas de extracción





CONCLUSIONES

- 1.- Los extractos hidroalcohólicos de las plantas medicinales evaluadas, dan espectros ULTRAVIOLETA característicos, que permiten identificar la especie vegetal.
- 2.- Los espectros en la región visible, de extractos de hojas, son muy similares debido a que tienen los mismos pigmentos vegetales.
- 3.- La extracción por SOXHLET es la de mayor rendimiento. Por REFLUJO se obtiene un rendimiento de 73.87 % con respecto a la anterior.
- 4.- La extracción por SOXHLET demanda mayor tiempo que el REFLUJO y la PERCOLACION, y su aplicación a escala industrial requiere de una implementación sofisticada.
- 5.- Las diferencias de rendimiento entre REFLUJO y PERCOLACION no son significativas.
- 6.- La MACERACION requiere de un equipo mínimo, pero demanda más tiempo que las otras técnicas. Su rendimiento es menor.
- 7.- Entre REFLUJO y PERCOLACION, la primera técnica requiere de menor tiempo y equipamiento.

REFERENCIAS

- 1.- A. Chang, S. Klinar Et Al (1987) Avances del Catálogo de Plantas Medicinales de Ica: Análisis Fitoquímico de 10 especies. XV Congreso Peruano de Química.
- 2.- S. Klinar, F. Aparcana, C. Neyra, R. Guerra Y S. Gutierrez. (1991) Avances en el estudio fitoquímico de Ambrosia peruviana. XVII Congreso Peruano de Química.

- 3.- A.Chang Y S.Klinar. (1992) Alternativa en la Investigación de plantas medicinales. I Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas.
- 4.- S.Klinar, A.Chang Y P.Castillo. (1992) Estudio Químico Botánico de 10 Plantas Medicinales de Ica. I Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas.
- 5.- A.Chang, S.Klinar, P.Castillo, O.Lock, F. Delle Monache Y U.Hollstein. (1992) Análisis Espectroscópico de Productos Naturales obtenidos de Plantas Medicinales de Ica. I Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas. VI Congreso Peruano de Farmacia.
- 6.- S.Klinar, P.Castillo, A.Chang, G.Schmeda Y S.Reyes. (1993) Actividad Biológica de Plantas Medicinales de Ica. XVIII Congreso Peruano de Química. VI Congreso Peruano de Farmacia.
- 7.- A.Chang, S.Klinar Y P.Castillo (1993) Fitofarmacopea Tradicional de Ica VI Congreso Peruano de Farmacia.
- 8.- S.Klinar Y A. Chang. (1994) Estudio químico y biológico de las plantas medicinales de Ica: *Bidens pilosa*, *Euphorbia hirta* y *Waltheria ovata*. II Congreso de Ciencias Farmacéuticas.
- 9.- A. Chang, S. Klinar, P. Castillo Y O. Lock (1995). Hongos del Perú como fuente de ergosterol. XIX Congreso Peruano de Química. VII Congreso Peruano de Farmacia.
- 10.- S. Klinar Y A. Chang (1995) Contribución al estudio Químico de *Caesalpinia gilliesii* HOOK (Uña de gato) : Flavonoides en Flores. XIX Congreso Peruano de Química. VII Congreso Peruano de Farmacia.
- 11.- A. Chang Y S. Klinar (1995) Evaluación cualitativa y cuantitativa de extractos de *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C., por espectroscopía UV-vis. VII Congreso Peruano de Farmacia.

AVANCES EN EL ESTUDIO FITOQUÍMICO DE FOENICULUM VULGARE (HINOJO)

Silvia Klinar B. y Artemio Chang C.

INTRODUCCIÓN

El *Foeniculum vulgare* (hinojo), es una planta herbácea anual, de la familia Umbeliferae/Apiaceae. De raíz carnosa y tallo ramoso, redondo con franjas azules. Hojas partida en cintas largas y filiformes. Tiene pequeñas flores de color amarillo. El fruto es alargado y contiene varias semillas. Esta planta, muy aromática, contiene un aceite esencial cuyo componente principal es anetol, también se encuentra fenchona entre otros.

En la medicina tradicional iqueña se utiliza en afecciones respiratorias: bronquitis, asma y tos ferina; en anorexia y como carminativo.

El presente trabajo representa un avance en el estudio fotoquímico del hinojo, con la finalidad de contribuir al Catálogo de Plantas Medicinales de Ica; y lograr interpretar sus acciones biológicas en la búsqueda de su incorporación al arsenal farmacológico.

Se ha realizado una extracción con n-hexano, a fin de extraer los compuestos menos polares; la separación se ha efectuado en columna cromatográfica de Silicagel "G", los compuestos obtenidos y purificados se vienen identificando mediante técnicas espectroscópicas. Actualmente disponemos de espectros de RMN- H^1

PARTE EXPERIMENTAL

El hinojo (*Foeniculum vulgare*) fue recolectado en la campiña de la ciudad de Ica. Se utilizó la planta entera seca y molida, se maceró con n-hexano durante ocho días.

El extracto hexánico fue concentrado a presión y temperatura reducida, hasta sequedad. El extracto seco fue ensayado por cromatografía de capa fina (CCF) para diseñar el sistema de extracción.

La extracción se realizó en una columna cromatográfica de Silicagel "G", utilizando como eluyentes: n-hexano, n-hexano-AcOEt (3:1) y n-hexano-AcOEt (1:):1. Se colectaron 25 fracciones. En cada fracción, se realizaron ensayos de CCF y reacciones de coloración (Lieberman-Bourchard). En las fracciones 1 a 20 se lograron obtener pequeñas cantidades de cristales, insuficiente para su identificación, por lo que se hace necesario una nueva extracción utilizando mayor cantidad de material.

Las fracciones 21 a 25 (n-hexano-AcOEt (1:1) se juntaron y se concentró a presión y temperatura reducida, el extracto seco se eluyó en una columna de Silicagel "G" con n-hexano-AcOEt (2:1), n-hexano-AcOet (1:1) y AcOEt; recolectándose 6 fracciones.

Por cristalización se obtuvieron 2 compuesto cristalinos

Los compuestos 1 y 2 se están identificando por técnicas espectroscópicas, hasta el momento disponemos de los espectros de RMN- H^1 y esperamos los espectros IR, RMN- C^{13} y E.M. el análisis espectroscópico se está realizando gracias a la colaboración del Dr. Ulrich Holstein del Departamento de Química de la Universidad de New Mexico-USA.

RESULTADOS

Por separación cromatográfica del extracto preparado por concentración de las fracciones 21-25, se logró obtener dos compuestos:

Compuesto 1

Aislado en las primeras fracciones, fue recrystalizado con n-hexano-AcOEt (5:1). Se presenta como polvo microcristalino de color blanco.

Interpretación

En el RMN- H^1 , la señal a 2.35 ppm nos indica la posible presencia de un grupo carbonilo. La ausencia de señales en campo bajo nos permite deducir que se trata de un compuesto carbonílico saturado.

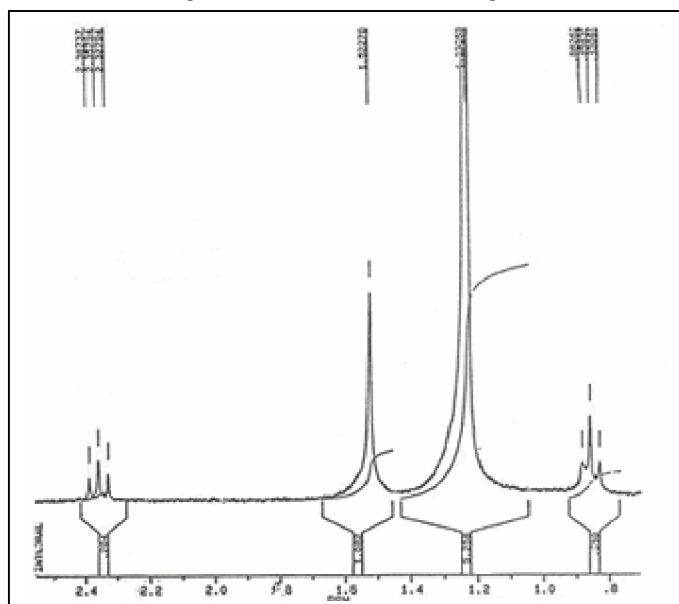
Compuesto 2

Obtenido de las fracciones 3 a 5, fue purificado por recrystalización en n-hexano-AcOEt (3:1). Se presenta como masa amorfa de color blanco.

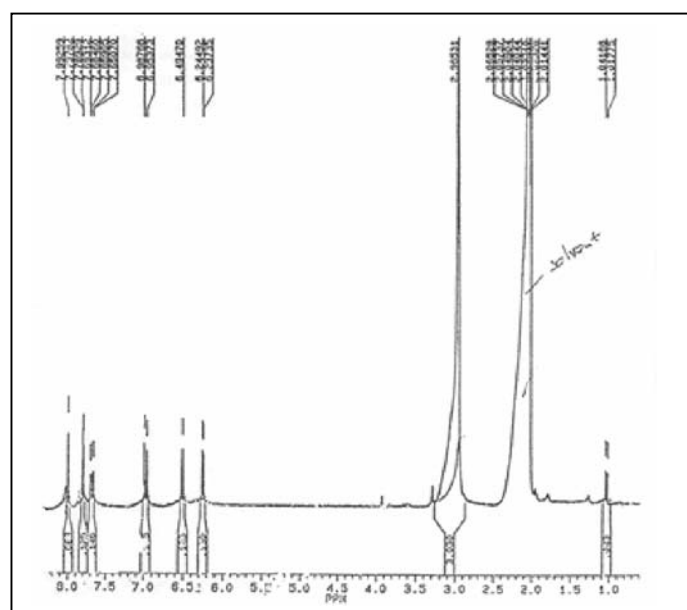
Interpretación

En el RMN- H^1 , las señales entre 7 y 8 ppm son características de protones aromáticos. Entre 6 y 6.5 ppm se presentan dos señales, que podemos interpretarlas como correspondientes a protones olefínicos. La señal a 3 ppm correspondería a protones de grupos saturados, unidos a los grupos sustractores de electrones.

Espectro RMN-N¹ Compuesto 1



Espectro RMN-N¹ Compuesto 2



REFERENCIAS

01. Universidad de Lima (1988) Industrialización de Plantas Medicinales. Lima-Perú
02. Calderón, P. (1986) Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. UNSLG-Ica.
03. Soukup (1979) Vocabulario de nombres vulgares de la flora peruana . Lima-Perú
04. Lock, O. (1988) Investigación Fitoquímica. Fondo Editorial. PUCP. Lima-Perú.
05. Baca, P. (1959) Tesis Bachiller en Ingeniería Agrónoma. Escuela Nacional de Agricultura. Lima Perú.
06. Silverstein (1980). Identificación Espectrométrica de Compuestos Orgánicos. Ed. Diana. México.
07. Geissmann, T.A. (1969) Organic Chemistry Of Secondary plant metabolism. California-USA.
08. Harborne, J.B. (1973) Phytochemical Methods. Chapman and Hall, London.