

FITOICA
FITOICA

Revista Científica

Laboratorio De Productos Naturales



FITOICA

Revista Científica

Laboratorio de Productos Naturales

ISSN 2077-1533

Director

Dr. Artemio Chang Canales

Presidenta del Comité Editorial

Dra. Silvia Klinar Barbuza

© Derechos Reservados a nombre de Artemio Chang Canales.

Representante Legal: Dr. Artemio Chang Canales.

Prohibida la reproducción parcial o total, sin previo consentimiento.

INDICE

**CONTRIBUCION AL ESTUDIO QUIMICO DE *Caesalpinia gilliesii* Hook (Uña de gato):
FLAVONOIDES EN FLORES.** Silvia Klinar y Artemio Chang. Laboratorio de Productos
Naturales. Facultad de Farmacia y Bioquímica. U. N. San Luis Gonzaga _____ 2

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. _____ 9

AVANCES EN EL ESTUDIO FITOQUÍMICO DE FOENICULUM VULGARE (HINOJO) Silvia Klinar
B. y Artemio Chang C. _____ 14

**ACTIVIDAD ANALGESICA Y ANTIHISTAMINICA DE *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. "UÑA DE
GATO"** Silvia Klinar B., Artemio Chang C. (Instituto de Productos Naturales IPRONA. Ica - PERU)
Antonio Lapa, Artur Da Silva, Salete De Abreu y Sonia Mesía (Escola Paulista de Medicina. U. F.
de Sao Paulo - BRASIL) _____ 17

CONTRIBUCION AL ESTUDIO QUIMICO DE *Caesalpinia gilliesii* Hook (Uña de gato): FLAVONOIDES EN FLORES

Silvia Klinar y Artemio Chang. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Farmacia y Bioquímica.
U. N. San Luis Gonzaga

INTRODUCCIÓN

La búsqueda del conocimiento popular con la finalidad de integrarlo al conocimiento científico, nos ha permitido delinear el proyecto que denominamos FITOFARMACOPEA DE ICA, de tal manera que los profesionales de las ciencias de la salud puedan utilizar con mayor eficacia y seguridad; gracias al aporte de la investigación científica y tecnológica.

En la flora medicinal de Ica, se encuentra la *Caesalpinia gilliesii* Hook; que es una más de las muchas especies conocidas con el nombre común de “uña de gato”, por la forma de las espinas que presentan en sus ramas. Es un arbusto, de hojas compuestas, trimeras, con folíolos de disposición alterna sobre la nervadura central que es bastante engrosada; sus flores son axilares en racimo, de color amarillo. El fruto es una legumbre de color marrón.

En la medicina tradicional iqueña, se utiliza infusión de las flores de *C. Gilliesii* para combatir tos y resfríos.

Con el presente trabajo se inicia un estudio químico sistemático, con la finalidad de aislar e identificar los flavonoides mediante la marcha de Clark modificada, las fracciones fueron evaluadas por espectroscopia UV-vis; el extracto fue separado por cromatografía de capa fina preparativa y cromatografía de columna. Se han aislado dos flavonoides, analizados por espectroscopia UV-vis utilizando reactivos de desplazamiento.

AGRADECIMIENTOS: Agradecemos el aporte económico del INSTITUTO DE PRODUCTOS NATURALES (IPRONA), que hizo posible la realización del presente trabajo.

EXPERIMENTAL

En el presente trabajo se realizó una extracción para obtener flavonoides, los cuales fueron analizados por espectroscopia UV-vis, utilizando reactivos de desplazamiento.

OBTENCION DE FLAVONOIDES

Se trituran 75 g. de flores frescas de *Caesalpinia gilliesii*, y se somete a reflujo con EtOH por 2 horas. Se filtra en caliente, se concentra a presión y temperatura reducida y se disuelve con HCl 1%; la solución ácida se concentra a sequedad. El extracto seco se disuelve en EtOH, se añade solución de acetato de plomo y se filtra. El precipitado se disuelve con HCl 1%. El extracto ácido se concentra a sequedad y se disuelve con EtOH – CH₂CL₂ (3:2), se filtra y se ensaya flavonoides (Shinoda +); se concentra. El extracto seco se extrae, por gradiente, con CH₂CL₂ (sol. amarilla), EtOH (sol. Pardo rojizo) y H₂O (sol. Roja). Se repite el ensayo de Shinoda en cada una de las tres fracciones, se descarta la que da negativo (diclorometano); las fracciones positivas se separan por cromatografía de capa fina preparativa (CCFP) y cromatografía de columna (CC). Todas las fracciones y los compuestos aislados se analizan por reacciones de coloración y espectroscopía UV-vis.

ANÁLISIS QUÍMICO Y ESPECTROSCÓPICO (UV-vis)

Se ensayaron las reacciones de Shinoda para detectar flavonoides y Molisch para glicósidos. En el análisis espectroscópico se utilizó un Espectrofotómetro UV-vis Beckman DU – 65. Todas las fracciones obtenidas en el proceso de extracción, se evalúan por espectroscopia UV-vis, en soluciones etanólicas, acuosas o de diclorometano (según el caso), en el rango de 800 a 200 nm.

Los compuestos aislados son analizados en, en el rango de 500 a 200 nm., en soluciones etanólicas y con los siguientes reactivos de desplazamiento :

- Etóxido de Sodio (EtONa).
- Acetato de Sodio (AcONa).
- Tricloruro de aluminio (AlCl₃) y
- Acido bórico (H₃BO₃).

RESULTADOS

En la obtención de flavonoides se logró aislar dos compuestos, denominados: S1 y X1. En el análisis por espectroscopia UV-vis, de S1 se obtuvieron espectros en solución etanólica y con reactivos de desplazamiento; en el caso de X 1, por la pequeña cantidad de muestra obtenida, el análisis fue parcial.

Los espectros de los compuestos de S1 y X1, fueron obtenidos en el rango de 500 a 200 nm; y se muestran en:

Espectro 1 .- Extracto acuoso (EtOH)

Espectro 2 .- Extracto acuoso (EtOH + AcONa)

Espectro 3 .- Extracto acuoso (EtOH + AcONa + HCl)

Espectro 4 .- Compuesto X 1 (EtOH)

Espectro 5 .- Compuesto X 1 (EtOH + EtONa)

Espectro 6 .- Compuesto X 1 (EtOH + EtONa + HCl)

Espectro 7 .- Compuesto S 1 (EtOH)

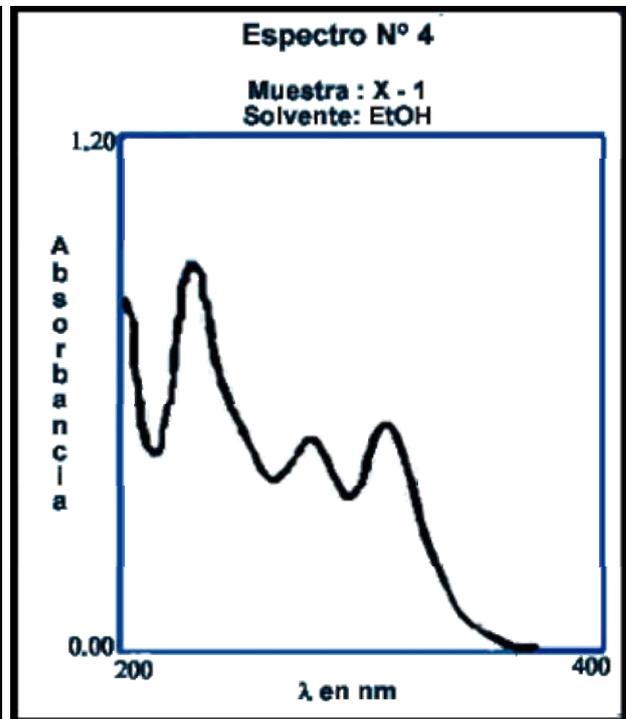
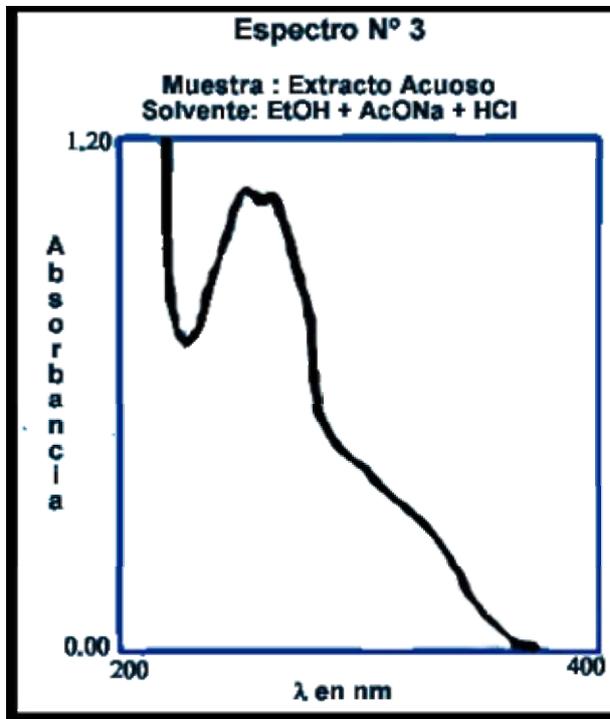
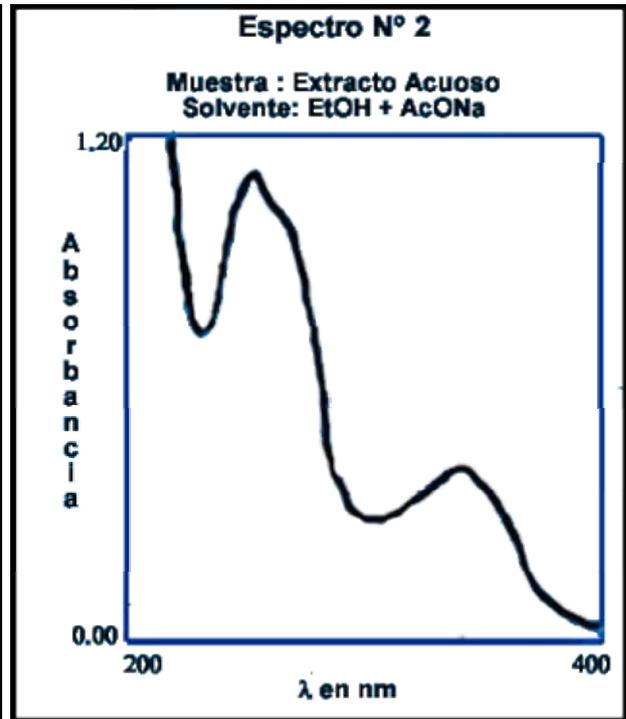
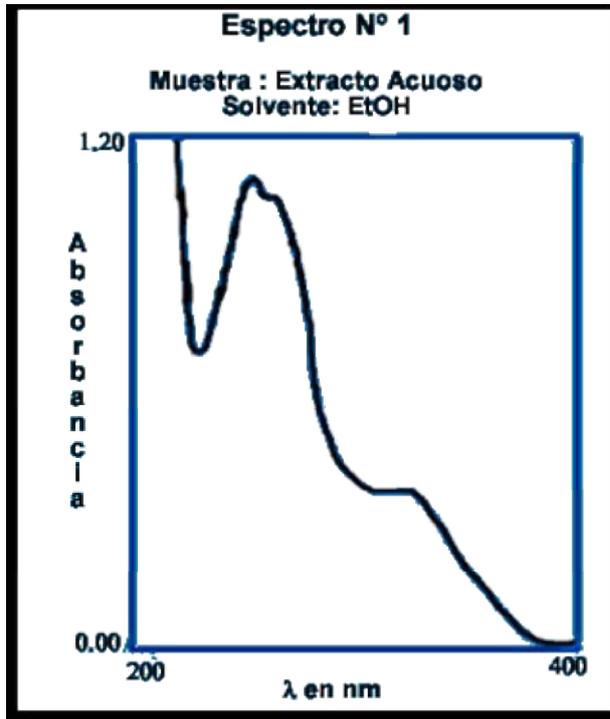
Espectro 8 .- Compuesto S 1 (EtOH + EtONa)

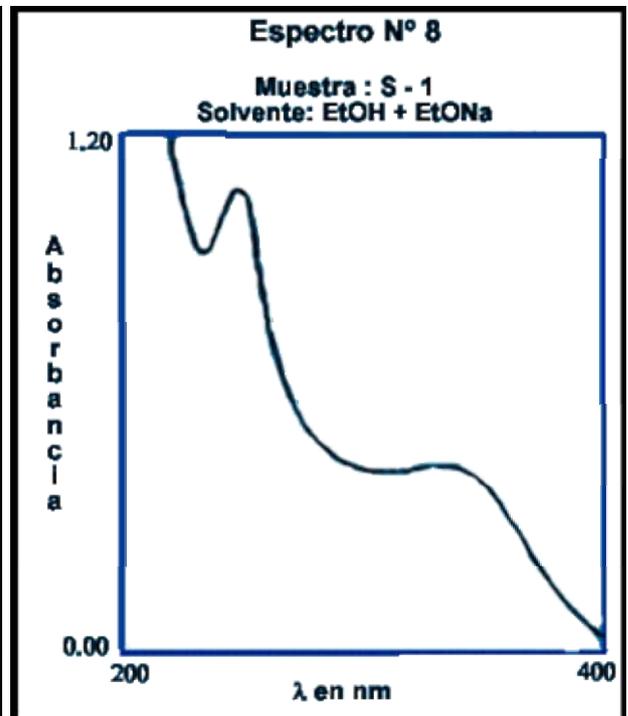
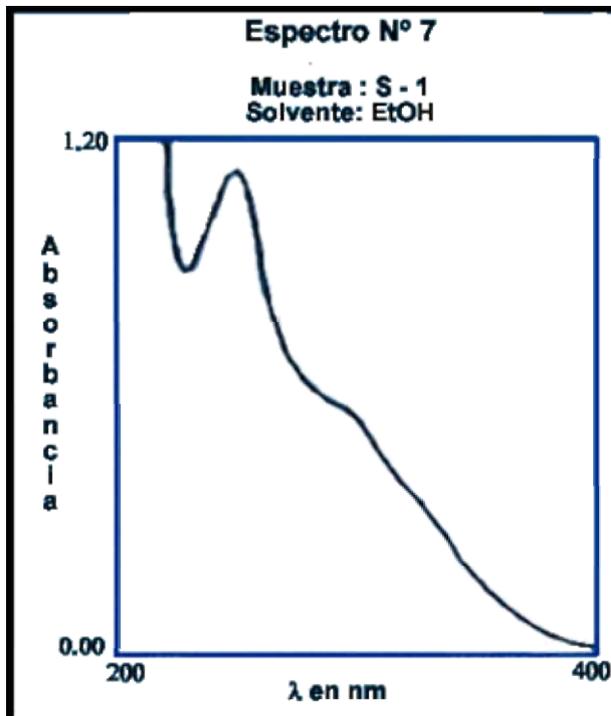
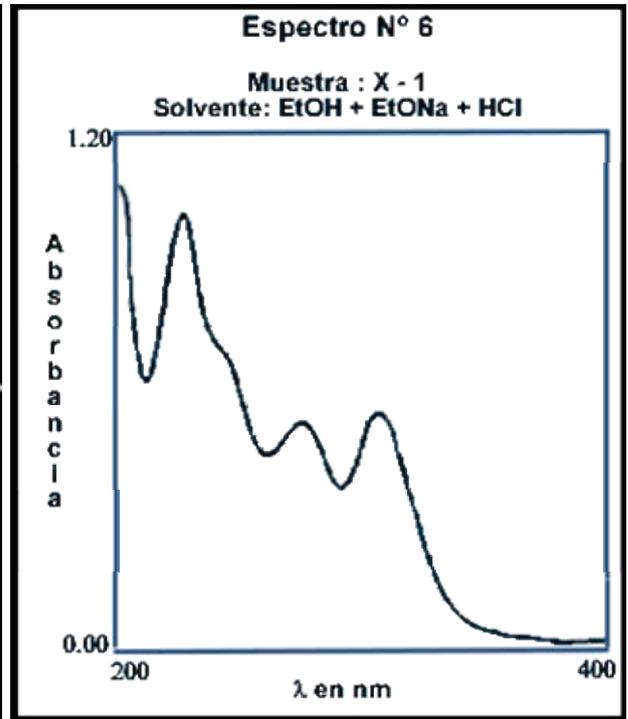
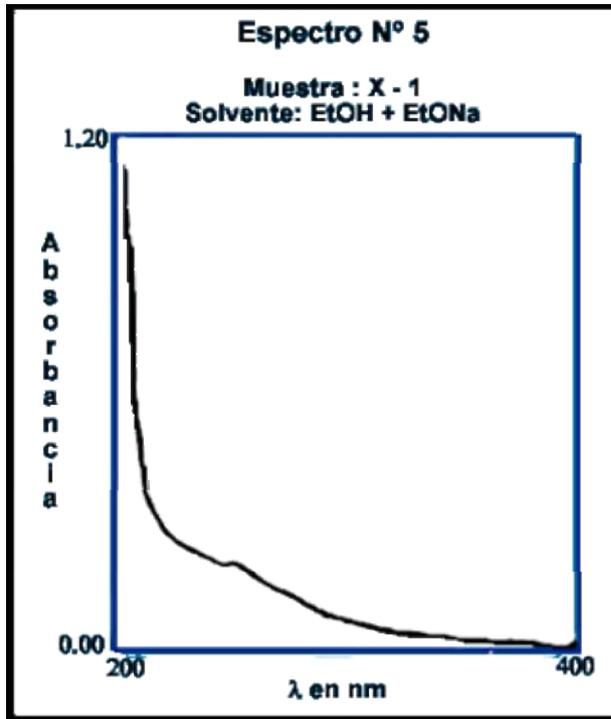
Espectro 9 .- Compuesto S 1 (EtOH + AcONa)

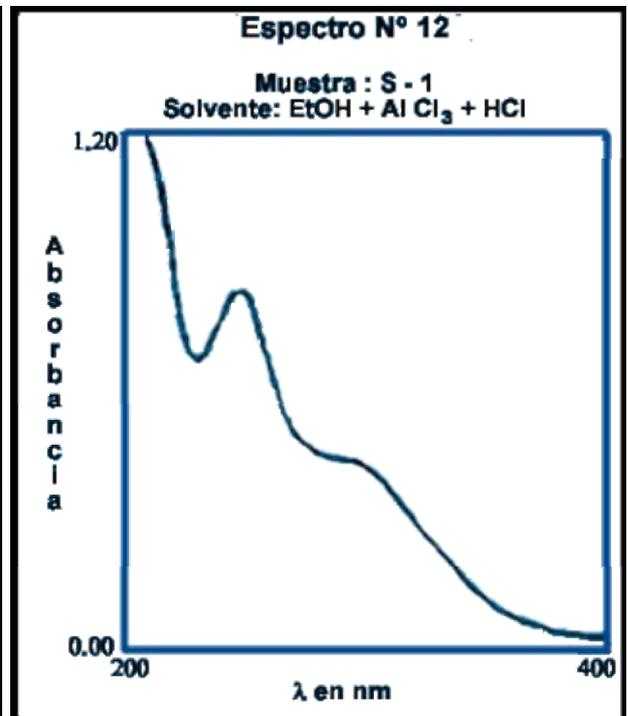
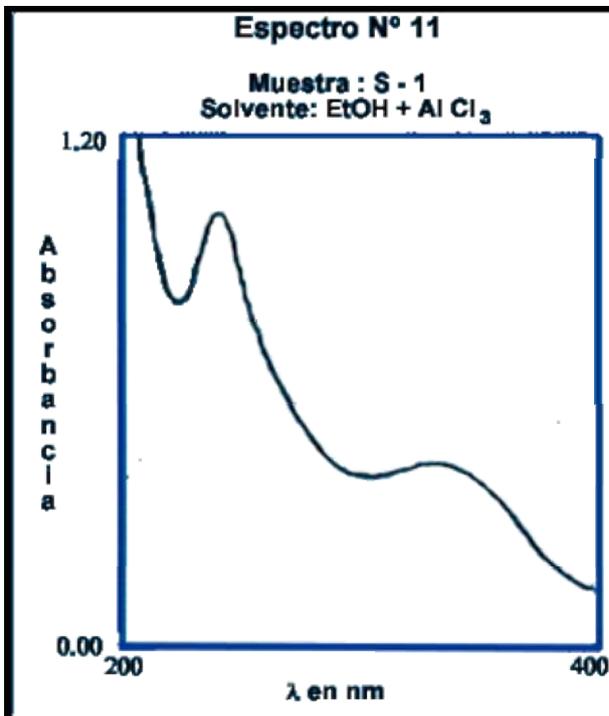
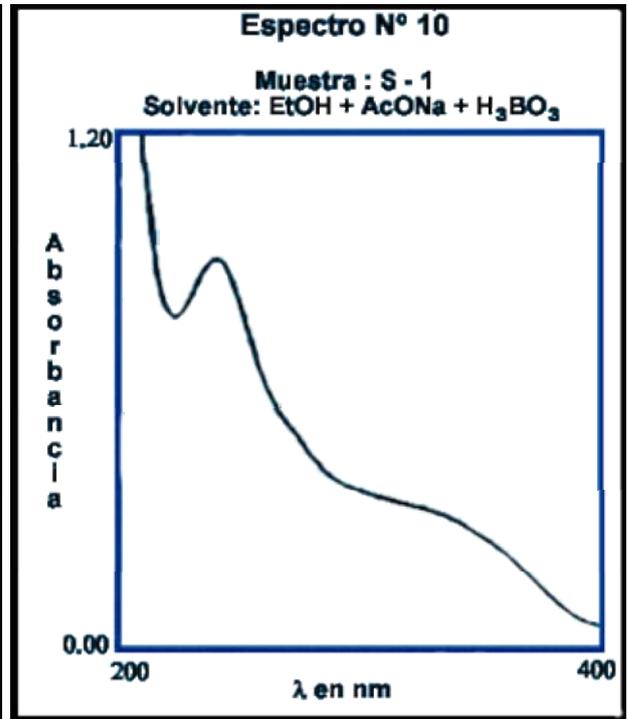
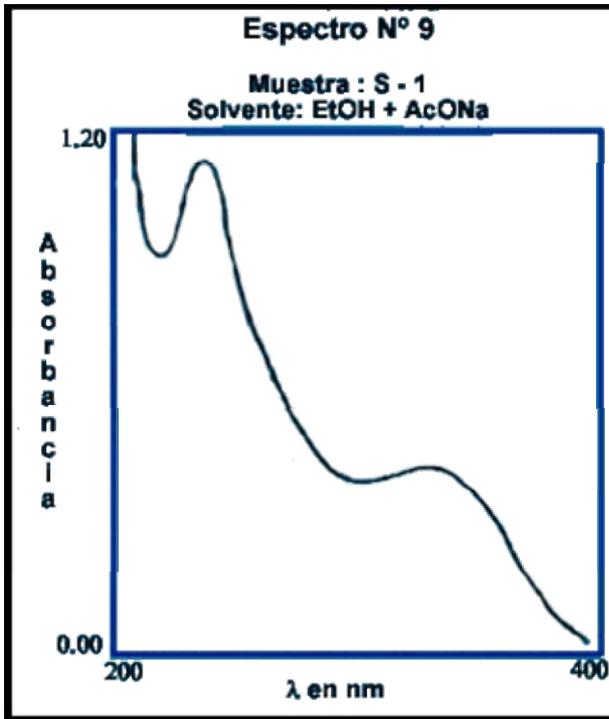
Espectro 10.- Compuesto S 1 (EtOH + AcONa + H₃BO₃)

Espectro 11.- Compuesto S 1 (EtOH + AlCl₃)

Espectro 12.- Compuesto S 1 (EtOH + AlCl₃ + HCl)







INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En los espectros 1, 2 y 3 de las soluciones acuosa y etanólica, se observa un desplazamiento batocrómico de 24 nm. En la banda a 386 nm de la solución en EtOH, cuando se adiciona AcONa (la banda se desplaza a 410 nm). Al añadir HCl sobre la solución anterior, el efecto batocrómico desaparece. Si bien es cierto que las soluciones analizadas son mezclas, podemos deducir que existe un componente mayoritario, con absorción característica de isoflavona, favanona o dihidroflavonol (Banda II más intensa que la banda I), y que existe un grupo hidroxilo libre en posición 4'.

El compuesto X1 fue separado en una mínima cantidad que no permitió el análisis total. En los espectros 4, 5 y 6 se observan las absorciones de la solución etanólica, con EtONa y con EtONa + HCl, respectivamente. Es necesario obtener mayor cantidad de X1 para realizar los análisis complementarios.

El compuesto S1 se ha caracterizado como una isoflavona glicosada. La reacción positiva en el ensayo de Molish nos indica que se trata de un glicósido; el espectro UV de la solución etanólica (espectro 7) presenta la banda I a 335 nm mucho menos intensa que la banda II a 275 nm. En los espectros 8 a 12 observamos: la adición de EtONa origina un desplazamiento de 75 nm en la banda I y de 6 nm en la II; el efecto del AcONa es similar, por lo que se propone grupos hidróxilos libres en las posiciones 7 y 4'.

La adición de H₃BO₃ en la solución que contiene AcONa, origina un notorio efecto batocrómico en la banda I, con respecto al espectro con AlCl₃ y HCl. Esto nos permite establecer que existe un grupo ortohidróxilo en el anillo B, probablemente en 3' – 4'; también queda descartada la posibilidad de un OH libre en posición 5.

Al parecer, la glicosidación ocurre en la posición 5.

CONCLUSIONES

- De las flores de *Caesalpinia gilliesii* Hook (Uña de gato), se han aislado dos flavonoides.
- El flavonoide denominado X1, fue obtenido en mínima cantidad, por lo que el análisis fue parcial. El espectro en solución etanólica presenta las siguientes absorciones a longitud de onda máxima: 239, 260 (h), 311 y 359 nm. el espectro con EtONa se degenera rápidamente; al adicionar HCl se regenera.
- El flavonoide denominado S1, presenta las siguientes absorciones en el UV :
 - EtOH .- 275 y 335 (h) nm.
 - EtOH + EtONa .- 281 y 410 nm.
 - EtOH + AcONa .- 278 y 407 nm.
 - EtOH + AcONa + H₃BO₃ .- 276 y 406 nm.
 - EtOH + AlCl₃ .- 276 y 408 nm.
 - EtOH + AlCl₃ + HCl .- 276 y 338 nm.
- El flavonoide S1 es una isoflavona con OH libres en 7, 4' y 3'; y glicosado en posición 5.

REFERENCIAS

1. Geissman T. A. (1962) "The chemistry of flavonoids compounds". Pergamon press. New York.
2. Scott A. I. (1969) " Interpretation of the ultraviolet spectra of natural products". Pergamon Press. New York.
3. Geissman (1969) " Organic chemistry of secondary plant metabolism". Freeman, Cooper & Company. USA.
4. Mabry T.J.; Markham K.R. and Thomas M.B. (1970) "The systematic identification of flavonoids". Springer – Verlag. New York.
5. Harborne J. B.; Mabry T. J. and Mabry H. (1975) "The flavonoids". Chapman and Hall. Londres.
6. Harborne J. B. (1976) "Phytochemical methods". Chapman and Hall. Londres.
7. Trease y Evans (1986) Tratado de Farmacognosia. Editorial Interamericana. Madrid.
8. Calderón P. Y Flores R. (1987). "Catálogo de Plantas Medicinales de Ica. Tesis para optar el título de Q. F.
9. Chang A: y Klinar S. (1993) "Fitofarmacopea tradicional de Ica". VI Congreso Peruano de Farmacia. Lima Perú.
10. Chang A. y Klinar S. (1993) "Fitofarmacopea Tradicional de Ica: plantas de uso en afecciones de vías respiratorias". VI Congreso Peruano de Farmacia. Lima Perú.
11. Klinar S., Castillo P. Chang A., Schmeda G., Razmelic I. Y Reyes S. (1993) "Actividad Biológica de Plantas Medicinales de Ica". XVIII Congreso Peruano de Química. Lima Perú.
12. Lock de Ugaz, Olga (1994) "Investigación Fitoquímica". Fondo Editorial – PCUP. Lima Perú.

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 los 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 nuestras 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.

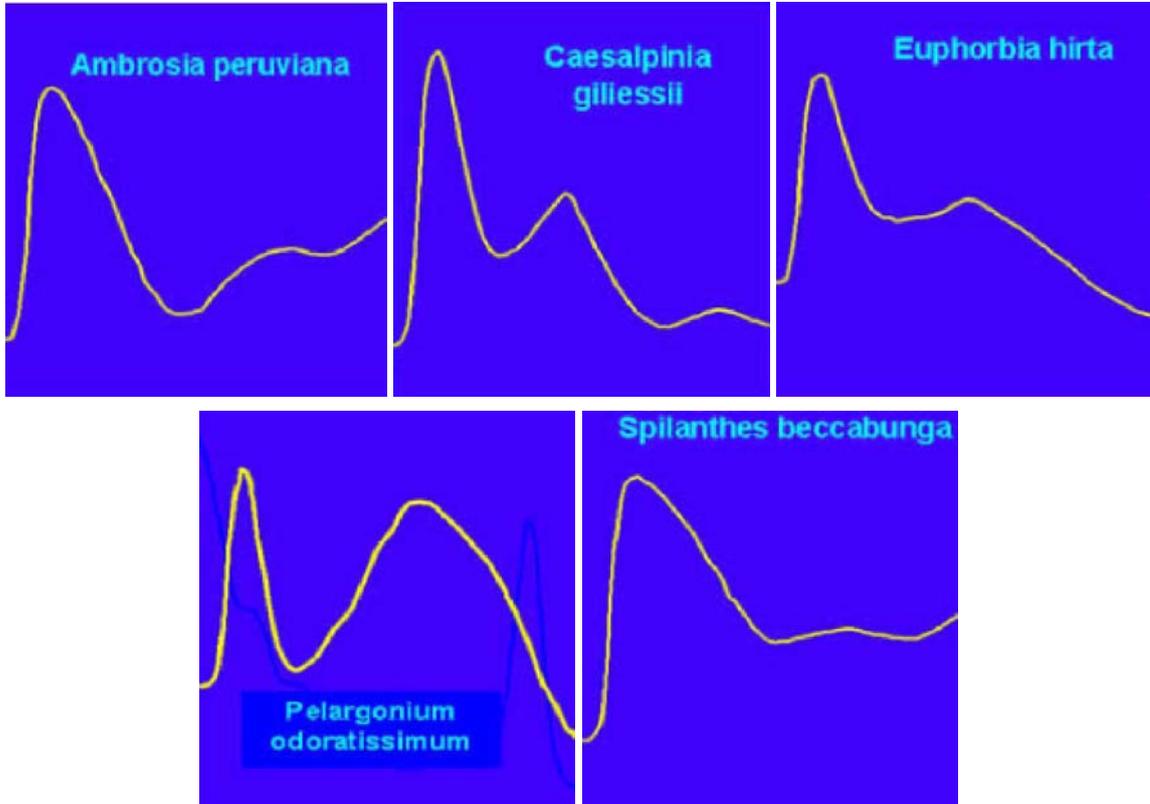
Se prepararon extractos hidroalcohólicos con 4 técnicas diferentes: Soxhlet, Reflujo, Percolación y maceración. En todos los casos se estableció una relación material vegetal/solvente de 1: 10, para el aforo del volumen final. Los extractos hidroalcohólicos fueron diluidos de la misma manera en todos 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 de la banda principal detectada en el espectro UV, obtenido previamente.

Material Vegetal.

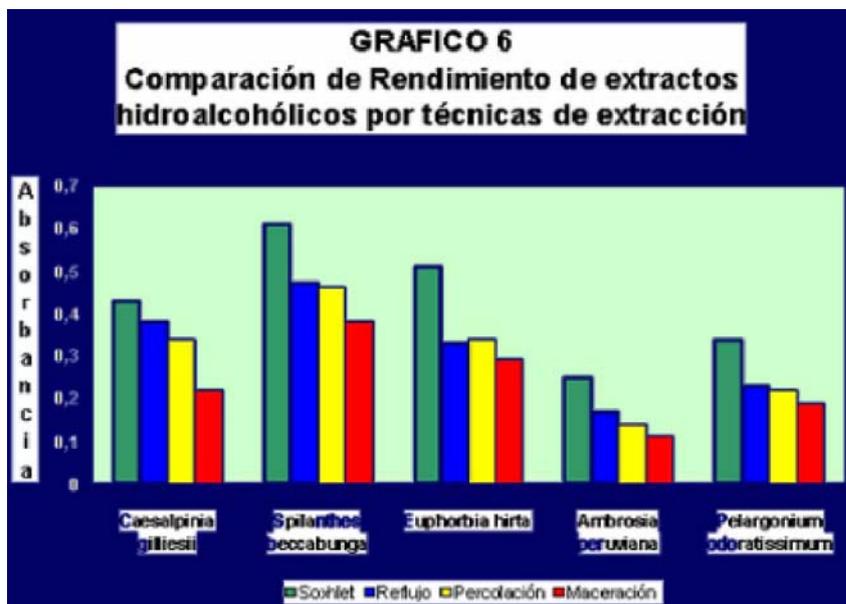
Se utilizaron: Flores de *Caesalpineia gilliesii* (Uña de Gato), Hojas de *Spilanthes beccabunga* (deflemadera), Hojas de *Euphorbia hirta* (hierba de la golondrina), Hojas de *Ambrosia peruviana* (altamisa) y Hojas de *Pelargonium odoratissimum* (geranio)

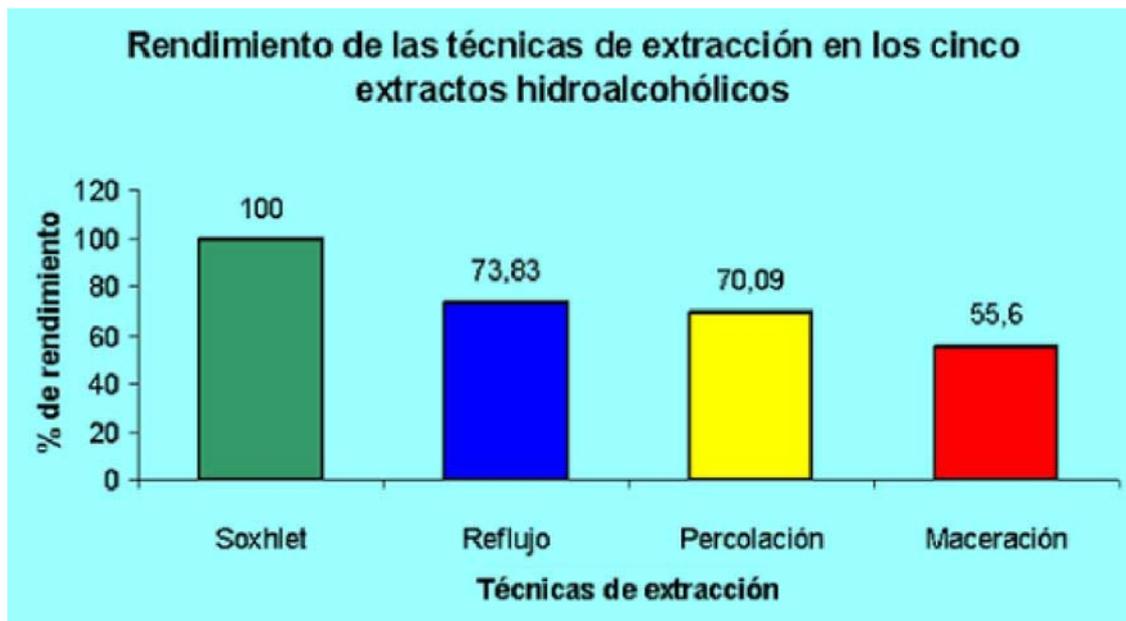
RESULTADOS

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-H¹

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 recristalizado 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.

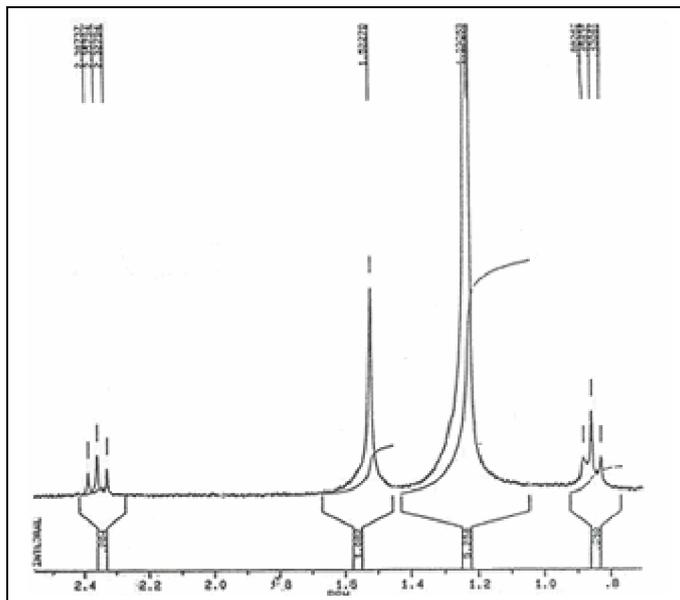
Compuesto 2

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

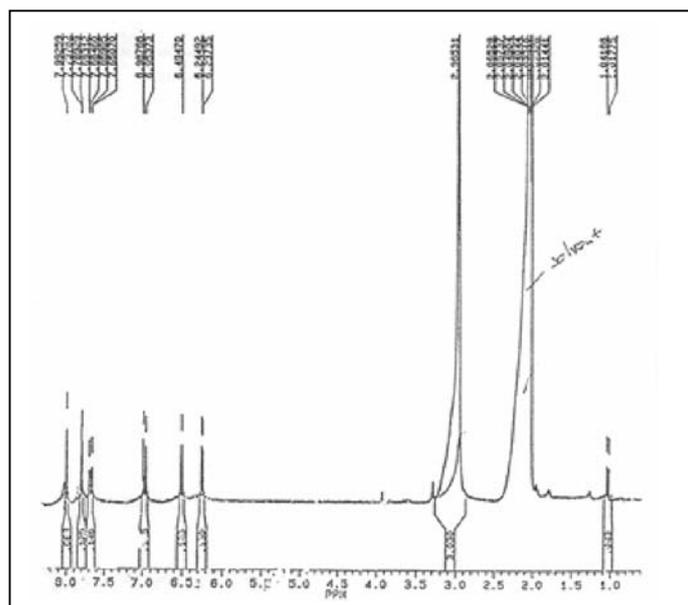
Interpretación

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.

ACTIVIDAD ANALGESICA Y ANTIHISTAMINICA DE *Uncaria tomentosa* (Willd) D.C. "UÑA DE GATO"

Silvia Klinar B., Artemio Chang C. (Instituto de Productos Naturales IPRONA. Ica - PERU)
Antonio Lapa, Artur Da Silva, Salete De Abreu y Sonia Mesía (Escola Paulista de Medicina. U. F. de Sao Paulo - BRASIL)

ABSTRACT.- Se ha probado el efecto analgésico periférico de un extracto hidroalcohólico de corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd) D. C. "uña de gato", mediante el ensayo de contorsiones abdominales en ratones inducidas por ácido acético. El ensayo de formalina no dió resultados positivos en el test t-student. A una concentración de 100 mg/kg, el extracto reduce el edema de pata inducido por dextrano en 34% en los primeros 30 min., frente a la difenhidramina que disminuye el edema en 63.5%; lo que indica una probable acción antihistamínica. Con las dosis ensayadas, no se observó resultados significativos en las pruebas de actividad antiinflamatoria: edema de pata inducido por carragenina, edema de oreja inducido por aceite de croton, granuloma inducido por aceite de croton en bolsa de aire subcutánea, y peritonitis en ratones inducido por carragenina

La *Uncaria tomentosa* (Willd) DC (RUBIACEAE), conocida comunmente como "uña de gato"; es una liana de unos 20 m de altura que crece en bosques altos con abundante luz solar, a 500-600 msnm. Presenta frutos pubescentes de color pardo y sus hojas primarias son color pardo rojizo. La *U. tomentosa* también llamada "garabato amarillo" se utiliza en la medicina tradicional peruana en el tratamiento de artritis, reumatismo, gastritis, cáncer y como antiinflamatorio **(1, 2, 3)**.

De su composición química, Wagner y col. **(4)** reportan 6 alcaloides tipo oxindólicos pentacíclicos: pteropodina, isopteropodina, mitrafilina, isomitrafilina, rinchofilina e isorinchofilina. Aquino y col. **(5, 6, 7)** reportan 7 glicósidos del ácido quinóvico con diferentes patrones de glicosidación; 4 triterpenos polihidroxiados: 3 con grupo ácido y 1 como éster metílico; ácido oleanólico y ácido ursólico y el alcaloide 5-carboxiestrictosidina.

Los ensayos farmacológicos han demostrado que los alcaloides producen un considerable aumento de la fagocitosis **(4)**, que los extractos polares de la corteza presentan actividad citostática, anticonceptiva y antiinflamatoria **(8)**. Investigaciones con glicósidos del ácido quinóvico 7 frente a probable actividad antiviral contra dos virus RNA (vesicular stomatitis virus VSV y rinovirus tipo 1B, HRB 1B) dieron como resultado un efecto inhibitorio contra la infección de VSV pero en concentraciones altas en relación a la dosis tóxica; en cambio resultó inactivo contra la infección rinovirus tipo 1B. Ensayos en la fracción esteroideal **(9)** determinaron presencia de B-sitosterol, estigmaterol y camfesterol; posteriormente se sometió la fracción a ensayos farmacológicos preliminares encontrándose una moderada actividad antiinflamatoria atribuida por los autores a la gran cantidad de B-sitosterol presente (60 %)

EXPERIMENTAL

El material vegetal empleado, corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd) DC, fue identificado en la Facultad de Ciencias de la UNICA. Una muestra se encuentra almacenada en el herbario de dicha Facultad. Se preparó un extracto hidroalcohólico (1:1) por reflujo a partir de la corteza pulverizada (1 kg) obteniéndose 6.4 g. de extracto seco. La preparación e identificación del material se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.N. San Luis Gonzaga de Ica (10). Los animales utilizados en las diferentes pruebas farmacológicas fueron: Ratones Swiss, albinos, adultos, de ambos sexos, con peso de 20-35 g. Ratas Wistar, albinas, hembras, adultas con peso de 180-250 g. Los animales fueron mantenidos en el Bioterio del Departamento de Farmacología de la Escuela Paulista de Medicina, en condiciones controladas de temperatura e iluminación con libre acceso a agua y ración; permaneciendo en ayunas antes de la administración de las drogas.

Contorsiones abdominales en ratones inducidas por ácido acético.- Para este test fue empleada la metodología descrita por Koster y col. (11). Grupos experimentales de 7 ratones fueron tratados con el vehículo o con extracto de *Uncaria tomentosa* (3, 10, 30, 100 y 300 mg/kg v. o.). Después de 1 hora, todos los animales fueron inyectados con ácido acético 1,2% en salina (0,1 ml/10 g, i.p.). Las contorsiones del abdomen seguidas de torsiones del tronco y extensión de los miembros posteriores (Vacher y col. 12) producidas por el ácido acético fueron contadas durante 20 minutos. Los resultados se expresan como la media del número de contorsiones abdominales acumuladas durante los 20 minutos.

Test de formalina (13, 14).- Para este test se utilizaron grupos experimentales de 10 ratones tratados con vehículo o con extracto de *Uncaria tomentosa* (100 mg/kg v.o.). Después de 1 hora, todos los animales fueron inyectados en la región subplantar con solución de formalina 3% en PBS glicosado (50 l, independiente del peso). Se cronometra el tiempo, en segundos, que el ratón pasa lamiendo o mordiendo la pata. La primera fase empieza inmediatamente después de la inyección de formalina y dura hasta 5 minutos. La segunda fase empieza a los 15 minutos después de la inyección de formalina y dura aprox. 15 minutos. Los resultados se expresan como las medias de los tiempos en las 2 diferentes fases.

Edema de pata inducido por dextrano (15).- Se emplearon cinco ratas por grupo experimental. Después de 1 hora de los tratamientos, con vehículo o con EHA de *Uncaria tomentosa* (100 mg/kg) por vía oral (v.o.); las patas traseras fueron inyectadas en la región subplantar con 0,1 ml de dextrano (1%) o con igual volumen de salina en la pata contralateral. Un grupo tratado con difenidramina (60 mg/kg v.o.) fue utilizado como control positivo. Los volúmenes de las patas fueron medidos en los tiempos cero, 30, 60 y 120 minutos después de la inyección del agente flogístico.

La actividad antiinflamatoria se estudió mediante los siguientes ensayos:

Edema de pata inducido por carragenina (16).- Para este ensayo fueron utilizadas cinco ratas por grupo

experimental. Los animales fueron administrados por vía oral (v.o.) con vehículo, con el extracto hidroalcohólico de *U. tomentosa* (30, 100 y 300 mg/kg) o con Indometacina (10 mg/kg) utilizada como control positivo.

Edema de oreja de ratón inducido por aplicación tópica de aceite de croton (17).- Para este test fueron utilizados 8 ratones por grupo experimental.

Granuloma inducido por aceite de croton en bolsa de aire subcutánea de ratas (17, 18) .- Se utilizaron 3 grupos de 6 ratas en ayuno, de peso entre 150 y 250 g. Los animales fueron tratados por vía oral durante 8 días consecutivos con el vehículo; con EHA de *Uncaria tomentosa* (100 mg/kg/día) o con Indometacina (1,5 mg/kg /día) control positivo del test. La inflamación crónica fue inducida por la inyección de 0,5 ml de óleo de croton (2% v/v) en aceite de maíz.

Peritonitis en ratones inducido por Carragenina (19).- Para este ensayo fueron utilizados 10 ratones por grupo experimental. Los animales fueron tratados por vía oral con vehículo o con EHA de *Uncaria tomentosa* (300 mg/kg). Después de 60 minutos del tratamiento; la inflamación fue inducida por la inyección intra peritoneal de 0,25 ml de carragenina (1% en salina).

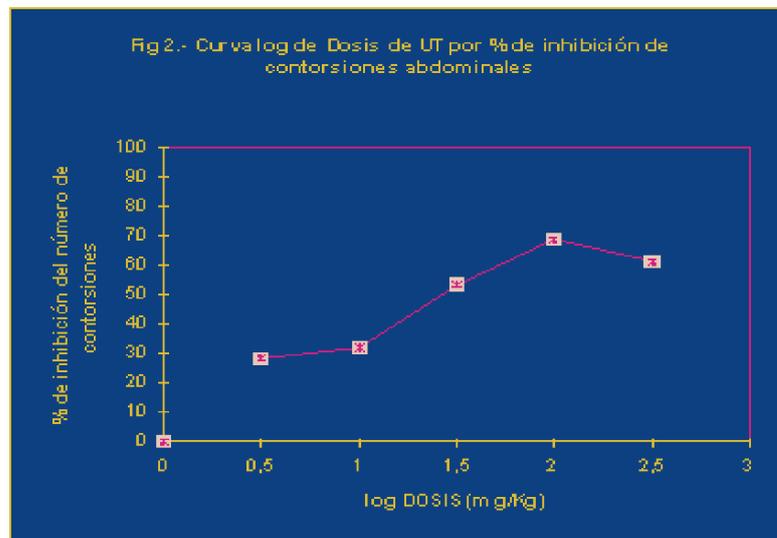
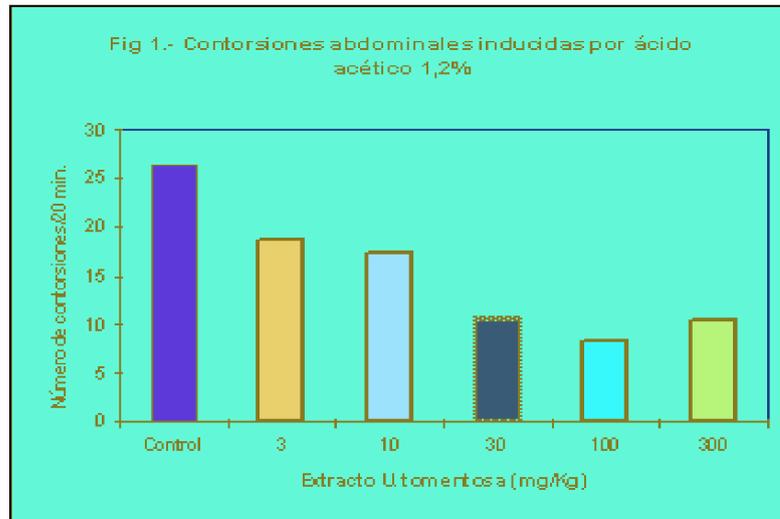
Los resultados se expresan como las medias error padrón de la media. Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales y controles se determinan por el test t-student, considerándose como significativos valores de $p < 0,05$

RESULTADOS

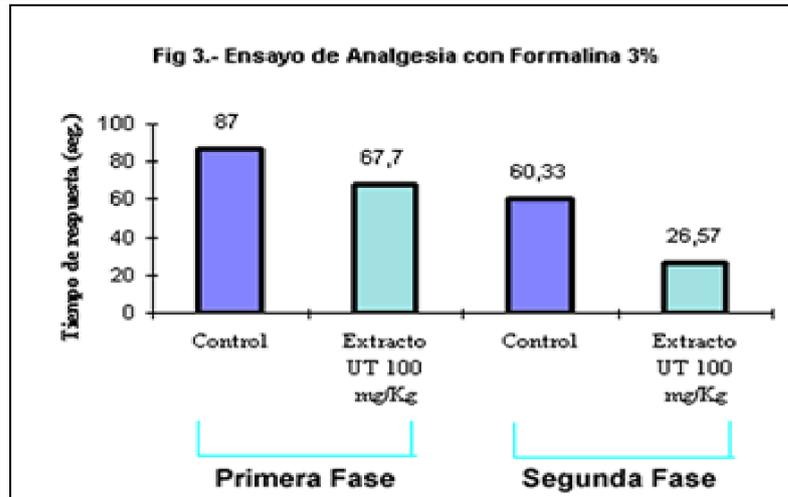
La actividad analgésica se probó mediante los ensayos de contorsiones abdominales provocadas por ácido acético (1,2%, 0,1 ml /10g, i..p) y el test de formalina (3%).

En el primer ensayo el grupo de animales control presenta 26,38 \pm 1,5 contorsiones/20 min. después de la inyección de ácido acético. En los animales tratados con extracto de *U. tomentosa* a las concentraciones de 3, 10, 30 , 100 y 300 mg/kg, el número de contorsiones abdominales disminuyó en 29,2%, 31,8%, 52,24%, 68,42% y 60,5% respectivamente.

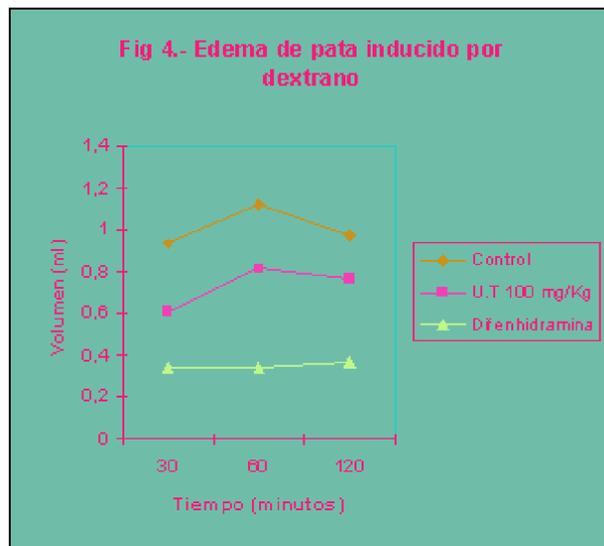
Las concentraciones de 100 y 300 mg/kg no fueron estadísticamente diferentes entre si ($p > 0,05$). Fig. 1 y 2



En el ensayo de formalina, por el test t-student, los resultados no presentan mayor diferencia entre el grupo control y el grupo tratado con extracto de U. tomentosa (100 mg/Kg). En la primera fase el grupo control presenta 87,0 10,16 y el grupo tratado con extracto 67,7 7,10 ; en la segunda fase 60,33 15,56 y 26,57 9,88 respectivamente. Fig 3



Se realizó el ensayo del edema en pata de ratas inducido por dextrano, que produce una reacción edematogénica de latencia pequeña, pero de gran intensidad. En el grupo control, el edema en las patas inyectadas con dextrano, en relación con las no inyectadas, fue de 1,27 0,0796 ml después de 1 hora. A una concentración de 100 mg/Kg v.o., el extracto de U. tomentosa reduce el edema en 34% en relación al grupo control a los 30 min. La difenhidramina (60 mg/Kg v.o.) reduce en 63,5%. Fig 4



INTERPRETACION DE RESULTADOS

En el ensayo de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético (1,2%, inyección i.p. 0,1ml/10g) , los resultados en las concentraciones de 3 y 10 mg/kg son significativos en el test t-student presentando una actividad de 29,2% y 31,8% respectivamente. En las concentraciones de 30, 100 y 300 mg/kg los resultados fueron altamente significativos teniendo una actividad de 52,24%, 68,42% y 60,5% respectivamente. La diferencia entre los resultados de las concentraciones de 100 y 300 mg/kg no tiene valor significativo , lo que indica que la dosis de 100 mg/kg ya es la dosis máxima. Estos resultados indican actividad analgésica.

El test de formalina no dió resultados significativos en el test t-student

En los ensayos de edema de pata inducido por dextrano, potente agente liberador de histamina y serotonina de los mastocitos de ratas, el extracto de *U. tomentosa* (100 mg/kg) disminuyó el edema en los primeros 30 min. en un 34% frente a la acción del antihistamínico difenhidramina que en el mismo tiempo disminuyó el edema en 63,5%. Los resultados indican una probable acción antihistamínica, para definir si el extracto de *U. tomentosa* actúa en la liberación de histamina o en la inhibición de la activación de sus receptores específicos se debe testar edema de pata inducido por histamina.

Los estudios de la actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico se iniciaron con modelos de inflamación aguda; así los inducidos por carragenina: exudación de líquidos plasmáticos (edema) y la migración leucocitaria predominante de neutrófilos hacia un lugar inflamado.

Además de los ensayos descritos, se realizó:

Edema de pata inducido por carragenina, después del tratamiento crónico (5 días) a la concentración del extracto de 0,40mg/ kg y en concentración 50 veces mayor. Los resultados no dieron valor significativo en el test t-student cuando se comparó con el grupo control. Se testó en modelo de Reversión de edema inducido por carragenina después de 4horas y después de 24 horas; en este último tiempo había revertido completamente, por lo que se sugiere repetir el ensayo pero en períodos más cortos.

La actividad antiinflamatoria también fue ensayada en edema de oreja inducido por aceite de croton, agente flogístico altamente irritante, que dependiendo de la dosis puede producir una reacción inflamatoria débil. Este modelo de inflamación es utilizado para demostrar la acción tópica de drogas antiinflamatorias.

Los resultados en todos los ensayos de actividad antiinflamatoria no fueron significativos en el test t-student, por lo que se sugiere repetir los ensayos con dosis mayores de extracto.

REFERENCIAS

- 1.- **Chang A.** (1995) *Uncaria tomentosa* (Willd) DC RUBIACEAE . Uña de gato. Instituto de Productos Naturales .IPRONA. ICA-PERU.
- 2.- **S. Klinar B., P.Castillo, A. Chang, G. Schmeda, S. Reyes, C. Theodoluz, I. Razmilic** (1995) Biological activity of medicinal plants of Ica (Perú). *Fitoterapia* Vol. LXVI. Nº 4: 341-345
- 3.- **Lock de Ugaz, O.** (1994) Revisión del género *Uncaria*. *Uncaria tomentosa* y *Uncaria guianensis*. Las uña de gato". *Boletín Sociedad Química del Perú*.
- 4.- **Wagner H., Kreutzkamp B., Jurcic K.** (1985) Die alkaloid von *Uncaria tomentosa* und ihre phagozytose-stegernde wirkung . *Planta Médica* 51: 419-422.
- 5.- **Aquino R., De Feo V., De Simone F., Pizza C. and Cirino G.** (1991) Plant metabolites. New compounds and antiinflammatory activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. Vol 54 N 2: 453-459.
- 6.- **Aquino R., De Simone F., Vincieri F., Pizza C.** (1990). New polyhydroxylated triterpenes from *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. vol 53 N 3: 559-564.
- 7.- **Aquino R., De Simone, Pizza C, Conti C., Stein M.** (1989) Plant metabolites. Structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guertarda Platypoda*. *Journal of Natural Products* 52: 679-685.
- 8.- **Keplinger et al** (1989).
- 9.- **Senatore A., Cataldo A., Iacarina FF., Elberti MG.** (1989). Ricerchi fitochimiche e biologiche sull *Uncaria tomentosa*". *Boll. Soc. It. Biol. Spec.* LXV 575-580.
- 10.- **IPRONA. Informe Anál. Lab.** (1994). Ica - Perú.
- 11.- **Koster R., Anderson M., De Beer E.J.** (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* 18: 412
- 12.- **Vacher P.J., Duchene-Marullaz P.J., Barbot P.** (1964). A propos de quelques produits usuels-comparaison de deux methods etudes analgésiques . *Med. Exp.* 11: 51-58.
- 13.- **Seyle H.** (1953). Use of "granuloma pouch"technic in the study of antiphlogistic corticoids. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 82: 328-333.
- 14.- **Steinar Hunskaar and Kjell Hole** (1987) The formalin test in mice: dissociation between inflamatory and non inflamatory pain. *Pain* 30: 103-114. Elsevier.
- 15.- **Parrat, J.R. and West G.B.** (1958). Inhibition by various substances of edema formation in the hind-paw of the rat induced by 5-hydroxytryptamine, histamine, dextran, egg white and compound 48/80. *Br. J. Pharmacol.* 13: 65-70.
- 16.- **Winter C.A., Risley E.A., Nuss G.W.** (1962). Carrageenan induced oedema in hind paw of de rats as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 111: 544-547.
- 17.-. **Tubaro A., Dri P., Melato M., Mulas G., Bianchi P., Del Negro P. and Della Loggia R.** (1986) In the croton oil test the effects of non steroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) are dependent on the dose of the irritant. *Agents and Actions*. Vol. 19: 5-6.
- 18.- **Sedgwick A.D., Sin Y.N., Edwards J.C.W., Willoughy DA.** (1983). Increased inflamatory reactivity in newly formed lining tissue. *J. Path.* 141: 483-495.
- 19.- **Ferrándiz M.L. and Alcaraz M.J.** (1991). Antiinflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents and Actions*. Vol 32: 3-4.