

Perfil UV-vis de extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de lechuga (*Lactuca sativa L.*), llantén (*Plantago major*) y mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*) tres especies de la flora iqueña utilizada en la medicina tradicional

Carmen Silvia Klinar Barbuza¹, Jorge Chanllio Lavarello² y Artemio Chang Canales³.

1 Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNICA

2 Facultad de Medicina Humana - UNICA

3 Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Yamano Corporation.

RESUMEN

Identificar una especie vegetal en un fármaco, fitofármaco o producto herbolario resulta complicado, especialmente si es un extracto.

En este trabajo proponemos un método que permitiría una rápida, eficaz y económica identificación: obtener espectros UV-vis de productos elaborados de plantas medicinales que no se encuentran registradas en una Farmacopea para construir una base de datos de espectros UV patrones, que comparados con los espectros de los productos muestras se pueda identificar o verificar la especie vegetal de origen. En este trabajo se han obtenido espectros UV de los extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de lechuga (*Lactuca sativa L.*), llantén (*Plantago major*) y mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*)

1. silviaklinarb@hotmail.com

ABSTRACT

Identifying a plant species in a drug, phytodrug or herbal product is difficult especially if it is an extract. It uses the chromatographic evaluation. We propose a method that would allow a rapid, efficient and economical identification: UV-vis spectra obtained of processed medicinal plants that are not registered in a Pharmacopeia to build a database of UV spectra patterns, which compared with spectra of samples of products, you can identify or verify the plant species of origin. In this paper were obtained UV spectra of aqueous, ethanolic and hydroalcoholic extracts of lettuce (*Lactuca sativa L.*), plantain (*Plantago major*) and nasturtium (*Tropaeolum majus L.*)

1. Introducción

La identificación de una especie vegetal se resuelve cuando acudimos a los botánicos especialistas, portando el material vegetal que se requiere para tal fin. Sin embargo, cuando alguna especie vegetal no registrada en alguna Farmacopea, de uso en la medicina tradicional o en las medicinas alternativas ha sido utilizada para preparar un fármaco, un fitofármaco, un producto herbolario o cualquier otra denominación que se utilice; la identificación de la especie vegetal en tales productos resulta complicada, si la transformación ha sido mecánica (molienda, cortado, etc.) el problema se resuelve con la microscopía; si la transformación ha sido química (extractos) se recurre a la evaluación cromatográfica para la identificación. Para estos últimos casos, proponemos un método que permitiría una rápida, eficaz y económica identificación: obtener los espectros UV-vis de productos elaborados de plantas medicinales que no se encuentran registradas en una Farmacopea (por lo tanto no se disponen de métodos analíticos para su identificación) para constituir una base de datos de espectros UV patrones, que comparados con los espectros de los productos muestras, se pueda identificar o verificar la especie vegetal de origen.

Tradicionalmente se considera que las técnicas espectroscópicas se utilizan para evaluar sustancias puras; sin embargo, los extractos vegetales que se utilizan en los productos elaborados a partir de plantas de uso medicinal tradicional y/o alternativo (extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos) originan espectros en la región ultravioleta-visible únicos, dada la complejidad cualitativa y cuantitativa de metabolitos secundarios que presentan cada uno de ellos.

Perfil UV-vis de extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de lechuga (*Lactuca sativa L.*), llantén (*Plantago major*) y mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*) tres especies de la flora iqueña utilizada en la medicina tradicional.

Previamente se han realizado estudios para aplicar la espectroscopia en otros casos diferentes a los clásicos; en el caso de la espectroscopia UV-vis tenemos: Elsark y colaboradores¹, en 1993 usaron medidas de espectros U.V. como una herramienta para investigar las influencias de intensificaciones o intercultivos sobre las propiedades físicas de los constituyentes de granos o semillas producidos. En el 2006 Klinar S. y Chang A.² utilizan los espectros UV-vis para identificar cinco plantas medicinales de Ica.

En el presente trabajo se han obtenido los espectros UV de los extractos acuosos, etanólicos e hidroalcohólicos de lechuga (*Lactuca sativa L.*), llantén (*Plantago major*) y mastuerzo (*Tropaeolum majus L.*).

2. Generalidades

2.1. Técnicas espectroscópicas

La utilización de las técnicas espectroscópicas se amplían cada vez más, desde el clásico uso para identificar sustancias orgánicas que requerían muestras absolutamente puras hasta las determinaciones cuantitativas y cualitativas de mezclas complejas, el camino se va acelerando, así tenemos avances tecnológicos que conducen a aquello, tales como equipos RMN con alta resolución que permite cuantificar complejas mezclas, el NIR (infrarrojo cercano); la incorporación en las farmacopeas de los espectros UV e IR como patrones de referencia para identificar las sustancias que se utilizan como medicamentos; nos indican dichos avances.

Espectroscopía UV-vis.-

Es una espectroscopia de emisión de fotones y una espectrofotometría. Utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético, es decir, una longitud de onda entre 380nm y 780nm. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas.

La espectroscopia UV-visible se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia.

Se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados.

Se utiliza extensivamente en laboratorios de química y bioquímica para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, la concentración de cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo.

Previamente se han realizado estudios para aplicar la espectroscopía en otros casos diferentes a los clásicos; en el caso de la espectroscopía UV-vis tenemos: Elsark y colaboradores¹, en 1993 usaron medidas de espectros U.V. como una

herramienta para investigar las influencias de intensificaciones o intercultivos sobre las propiedades físicas de los constituyentes de granos o semillas producidos. En el 2006 Klinar S. y Chang A.² utilizan los espectros UV-vis para identificar cinco plantas medicinales de Ica.

2.2. Breve referencia a las plantas medicinales evaluadas

Lactuca sativa L. (lechuga)^{3,4,5,6,7}

Planta traída por los españoles en los primeros días de la conquista; tienen hojas anchas onduladas que se cubren unas a otras y sus flores son de color amarillo con el involucre alargado.

Referencias de uso en la medicina tradicional

Insomnio.- Infusión de hojas. También en cataplasma, de las hojas.

Erisipela.- Cataplasma de hojas.



Plantago major L. (llantén, llantén mayor)^{8,9,10,11,12}

Herbácea cosmopolita. Tallo pequeño, grandes hojas que forman una roseta, anchas, aovadas, curvinervadas, de bordes enteros. Flores en espiga cilíndrica. La espiga fructífera es larga y contiene numerosas semillas. Florece en verano.

Referencias de uso en la medicina tradicional

Heridas: Ulcerosas, cortaduras, contusiones, quemaduras (actúa como desinfectante y desinflamante). Infusión o cocimiento: 6 hojas de llantén por taza de agua. Lavarse la herida dos veces al día. Después, colocar hojas frescas.

Inflamación de vías urinarias, riñones, etc.- Cocimiento: 15 g de hojas y raíces por litro de agua. Decantar, beber un vasito 3 veces al día, después de los alimentos.

Hemorragia.- Hacer toques con el zumo de llantén fresco.



Trastornos digestivos (actúa como emoliente).- Infusión: 30 g por litro. Beber antes de acostarse.

Tropaeolum majus L. (mastuerzo) ^{13,14,15,16,17}

Planta que se cultiva como adorno en los parques y jardines. Sus hojas se suelen comer en ensaladas. Rastrera, herbácea, alcanza hasta los 5 o 6 metros de largo. Hojas redondas y flores solitarias con cinco sépalos de color amarillo, rojo, naranja o mezclado y con una especie de espuela exterior. Es muy fragante. La semilla, de sabor picante, se parece por su forma al garbanzo.



Referencias de uso en la medicina tradicional

Afecciones respiratorias: Hacer una infusión de las hojas y flores.

Aftas: Aplicar el jugo de sus hojas con una gasita

Cálculos biliares: Hacer una infusión de las hojas y flores.

Caspa: Infusión de sus hojas y flores, aplicar al cabello.

Cefalalgia: Aplicar en la frente y la sien paños húmedos con el cocimiento de las hojas.

Crecimiento capilar: Planta fresca machacada, aplicar al cabello.

Dolor de cabeza: Preparar una cocción de hojas.

Dolores musculares: Aplicar compresas de la cocción de sus hojas.

Empeines: Aplicar fricciones con la flor de mastuerzo

Enfermedades de la piel: Aplicar cataplasma de las hojas.

Genito-urinarios: Hacer una infusión de las hojas.

Antiescorbútico: Aplicar el jugo de sus hojas con una gasita.

Inflamaciones bucales: Aplicar el jugo de sus hojas con una gasita, ó enjuagues.

Menstruaciones abundantes: Hacer una infusión de las hojas y flores.

Orzuelo: Cataplasma de flores ayuda a desinflamar.

Purgante: Tomar medio gramo de semillas en polvo en un vaso de agua.

2.3. Definiciones de términos básicos del estudio

Espectros UV-vis.-

El espectro se define como una representación gráfica de la distribución de intensidades de la radiación electromagnética emitida o absorbida por la materia, en función de la longitud de onda de dicha radiación. Los espectros son debidos a transiciones entre estados de energía característicos de la materia.

Extracto.-

Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua; de ahí que se le denomine **extracto acuso** si el solvente es agua, **extracto etanólico** si el solvente es etanol y **extracto hidroalcohólico** si el solvente es una mezcla etanol/agua. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo.

Fitofármacos

La palabra fitofármaco se desprende del griego “fito” planta y “fármaco” medicamento. Por lo tanto, en términos generales los fitofármacos son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas.

Productos o medicamentos Herbarios

El concepto de medicamentos herbarios abarca hierbas, material herbario, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas, u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos.

3. Metodología y Parte experimental

3.1 Muestras

- Hojas de *Lactuca sativa* "lechuga"
- Hojas de *Plantago major* "llantén"
- Hojas de *Tropaeolum majus L.* "mastuerzo"

3.2 Métodos y técnicas de investigación

- Experimental

Recolección de las muestras.- Dado que las muestras son plantas medicinales de uso tradicional en Ica, las muestras fueron colectadas en la campiña iqueña.

Preparación de extractos.- se prepararon los extractos acuosos, etanólico e hidroalcohólico de las tres muestras. Las técnicas utilizadas fueron: decocción por reflujo para los extractos acuosos, maceración por 30 días para los extractos etanólicos y percolación para los extractos hidroalcohólicos.

Obtención de espectros UV-vis.- los extractos anteriores se llevan a sequedad en el rotavapor, se trituran y se almacenan. Para obtener los espectros, los extractos secos se diluyen en metanol y se hace un barrido en la región UV, para obtener los espectros Ultravioleta y en la región visible para obtener los espectros visibles.

- Inductivo

Interpretación y discusión de resultados
Conclusiones.

- Recolección de Datos

- Revisión Bibliográfica
- Obtención de espectros UV-vis

4. Resultados

Espectros UV de los extractos de *Lactuca sativa* “lechuga”

Gráfico 1.- Espectro UV del extracto acuoso de *Lactuca sativa* “lechuga”

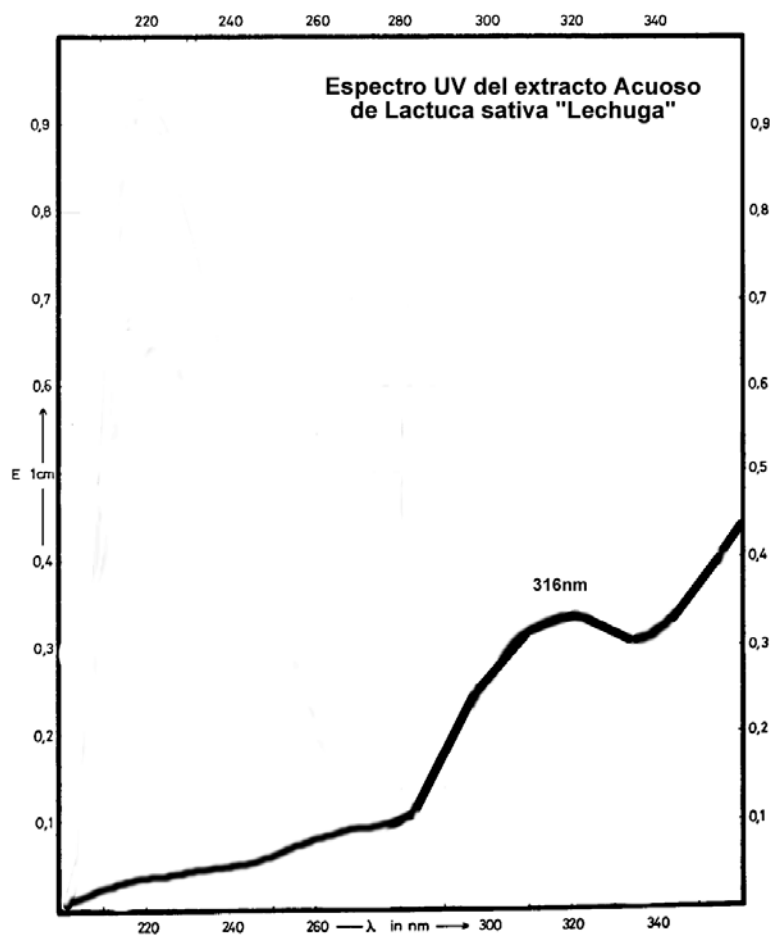


Gráfico 2.- Espectro UV del extracto etanólico de *Lactuca sativa* "lechuga"

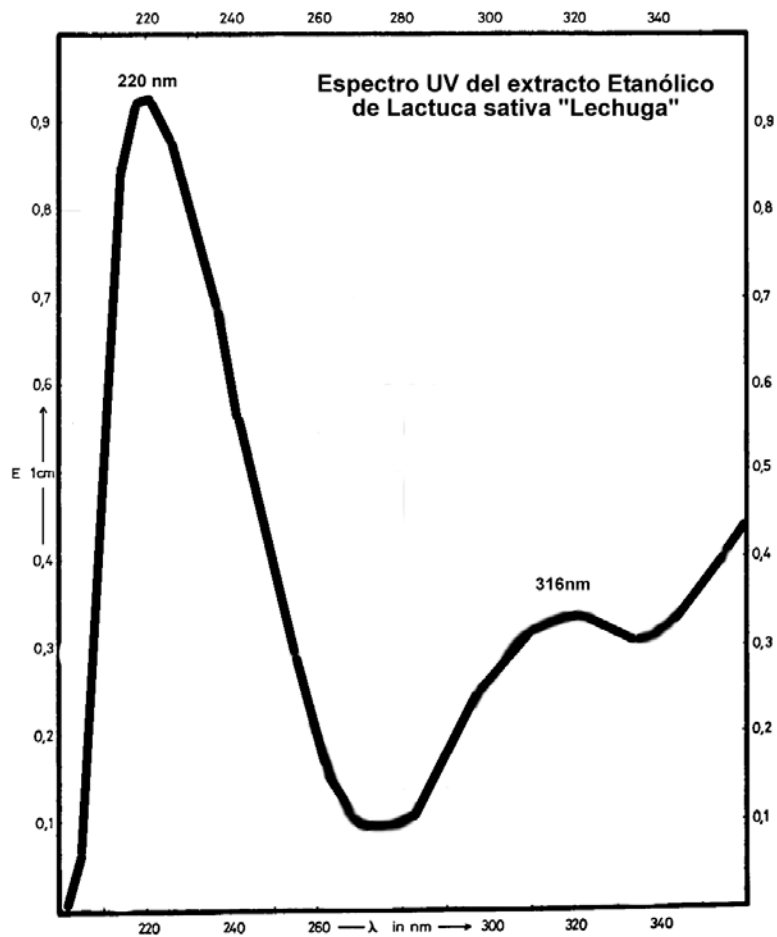
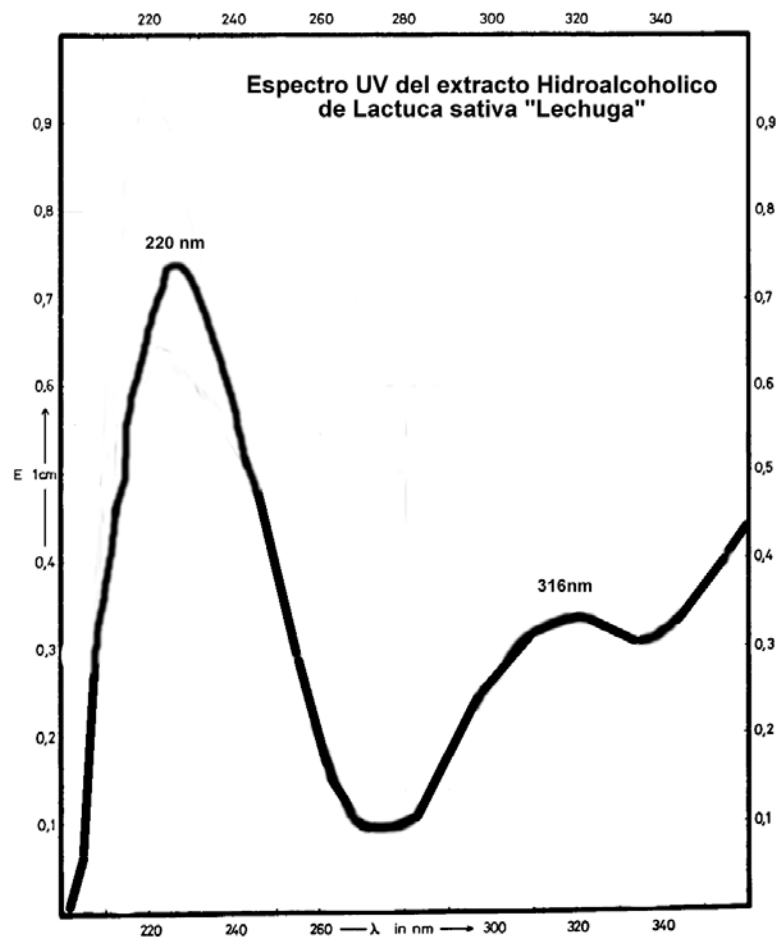


Gráfico 3.- Espectro UV del extracto hidroalcohólico de *Lactuca sativa* "lechuga"



Espectros UV de los extractos de *Plantago major* "llantén"

Gráfico 4.- Espectro UV del extracto acuoso de *Plantago major* "llantén"

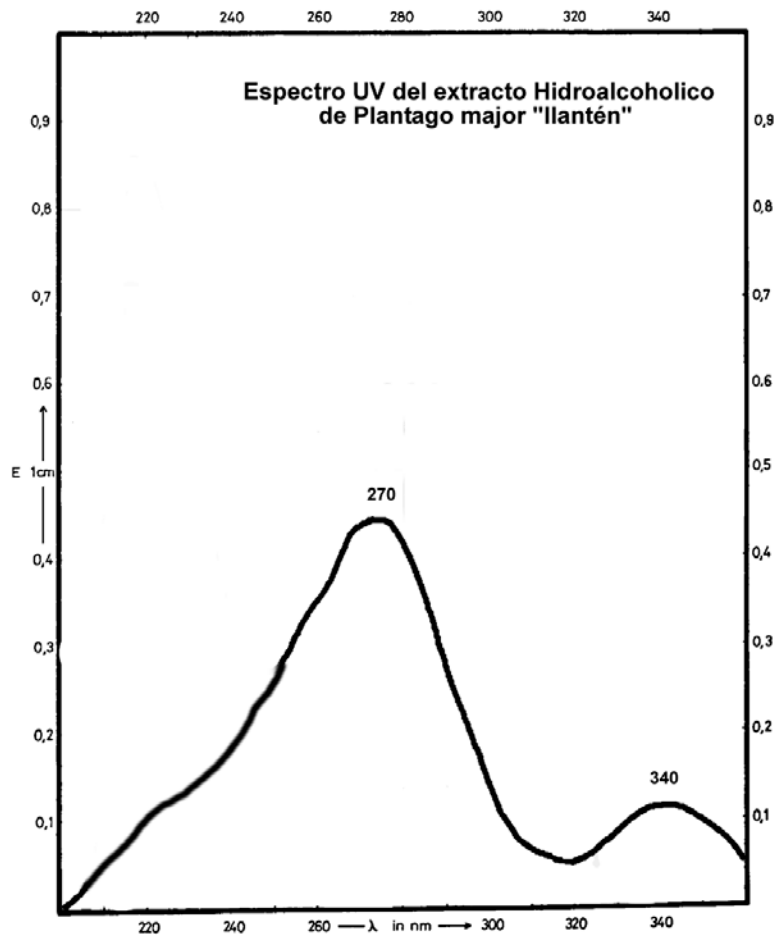


Gráfico 5.- Espectro UV del extracto etanólico de *Plantago major* "llantén"

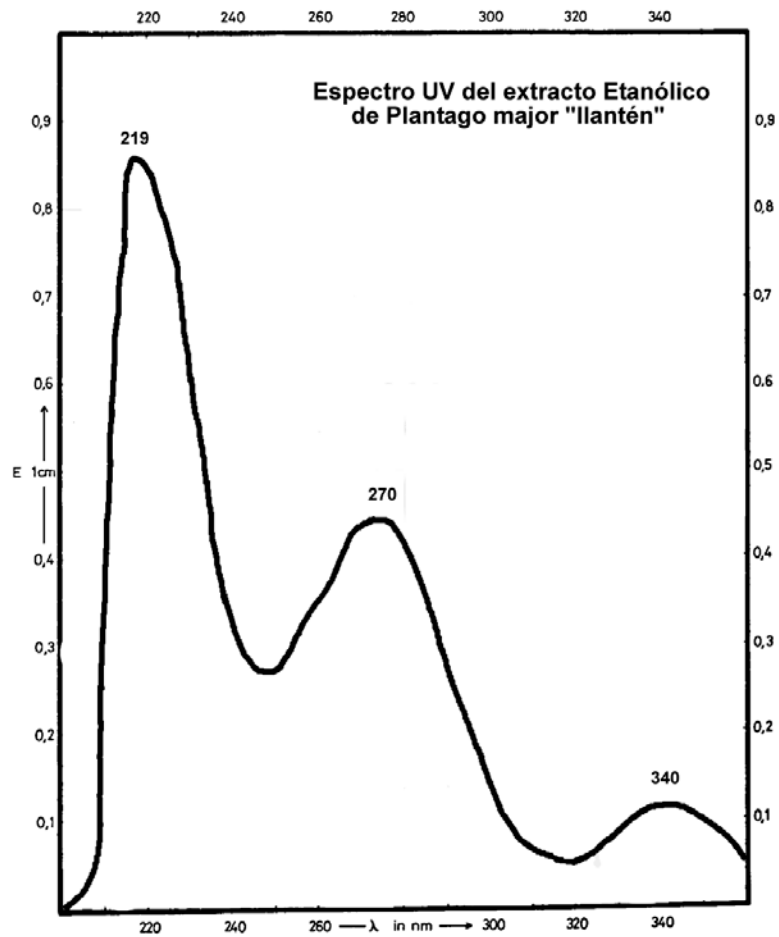
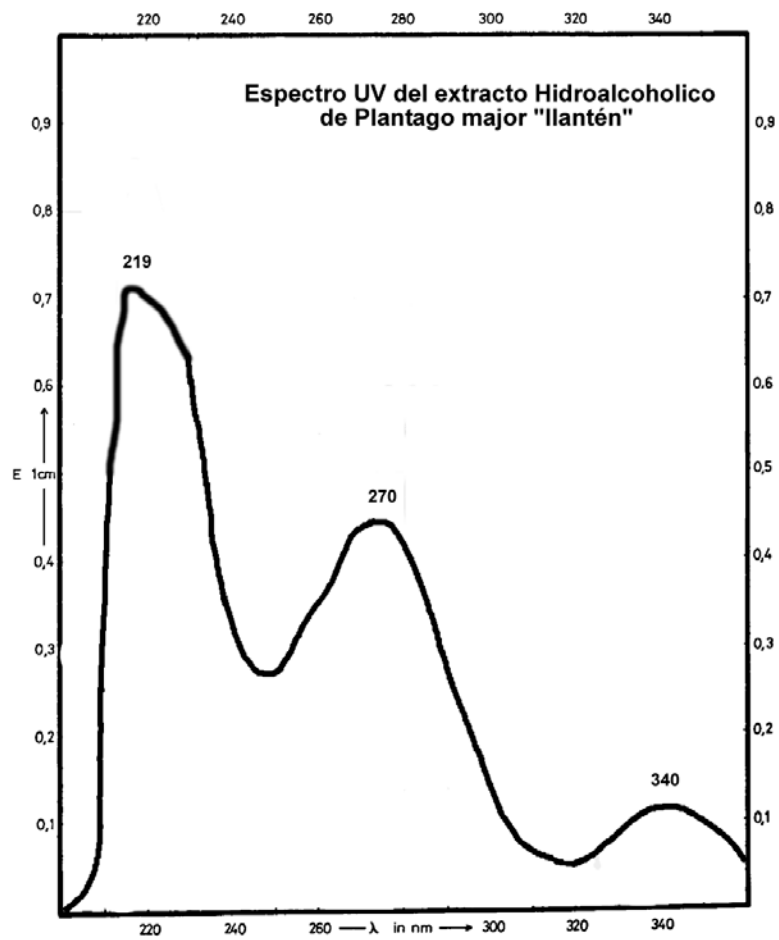


Gráfico 6.- Espectro UV del extracto hidroalcohólico de *Plantago major* "llantén"



Espectros UV de los extractos de *Tropaeolum majus L.* “mastuerzo”

Gráfico 7.- Espectro UV del extracto acuoso de *Tropaeolum majus L.* “mastuerzo”

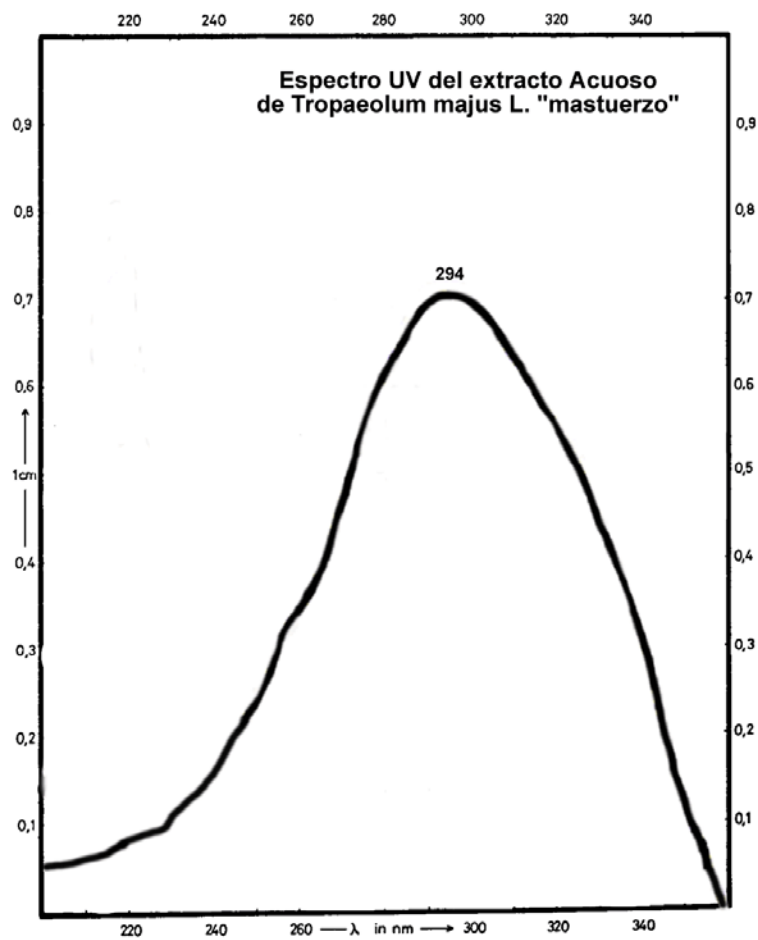


Gráfico 8.- Espectro UV del extracto etanólico de *Tropaeolum majus L.* "mastuerzo"

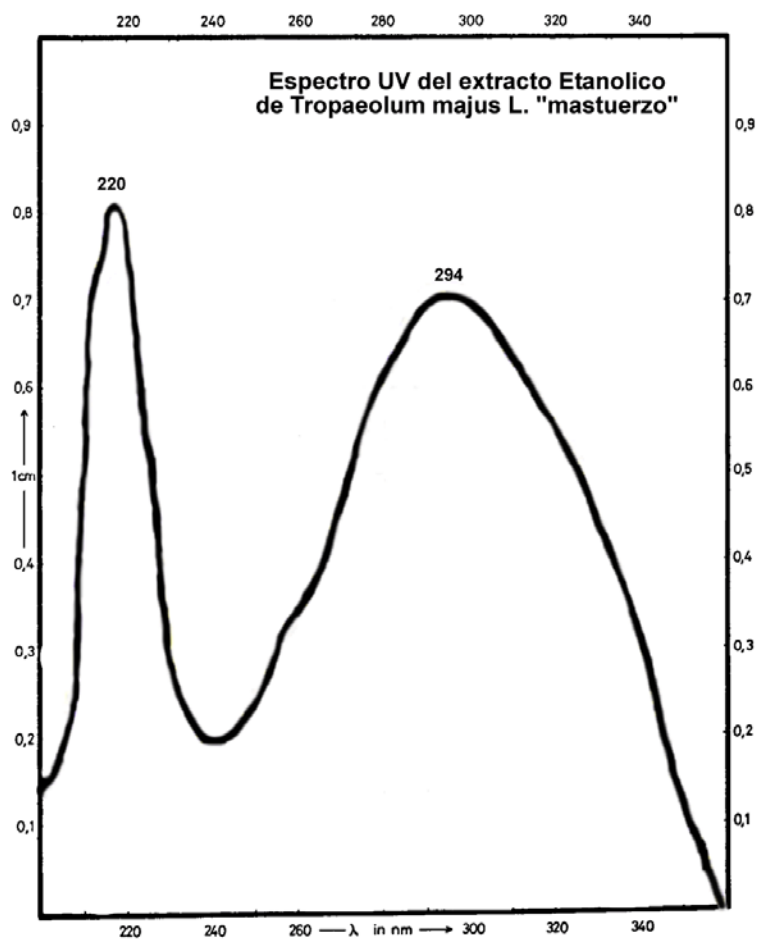
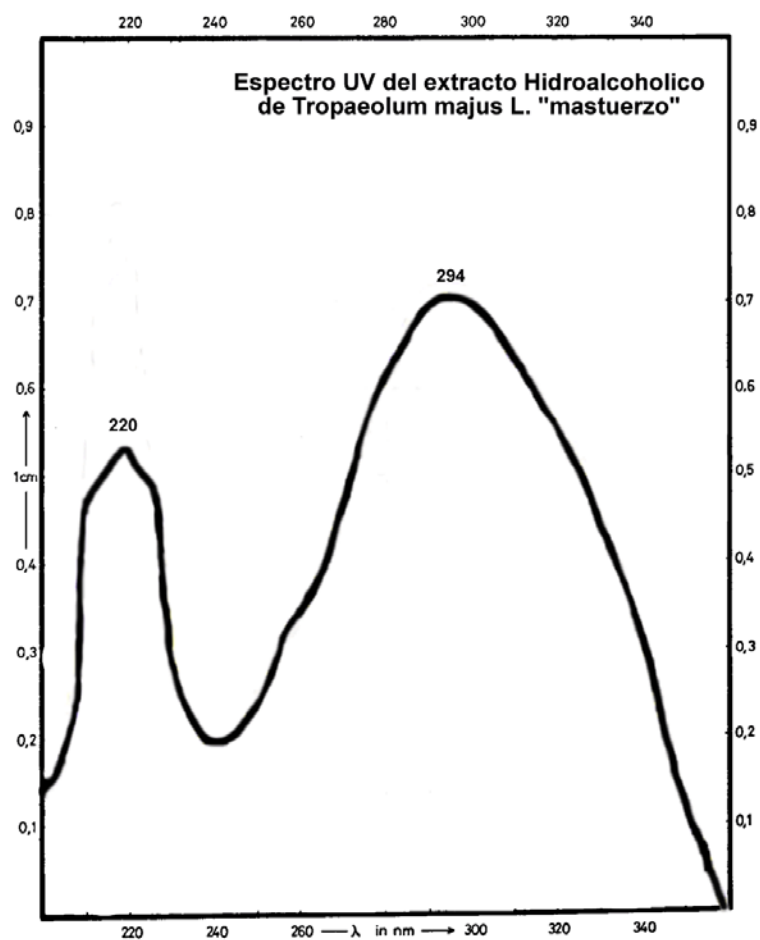


Gráfico 9.- Espectro UV del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus L.* "mastuerzo"



5. Interpretación y discusión de resultados

- En los ensayos preliminares, observamos que los espectros de la región visible de los diferentes extracto y de las diferentes especies eran muy similares en las absorciones observadas, con ligeras diferencias en la intensidad de las bandas, por lo que su utilidad en la identificación de las especies vegetales, por comparación de espectros visibles no era un procedimiento adecuado, En virtud de lo observado y analizado, decidimos dejar de lado los espectros visibles y enfocarnos únicamente en los espectros de la región ultravioleta.
- A diferencia de lo observado en la región visible, en la región ultravioleta observamos espectros particulares para cada especie; por lo tanto, y tal como observamos en trabajos anteriores, se confirma que es factible identificar la especie original de un extracto, fitofármaco, producto herbolario o de cualquier otra forma farmacéutica.
- En los extractos acuosos, a diferencia de los extractos etanólicos e hidroalcohólicos, no se observa una banda intensa a 219-220 nm. Esta banda se debe a la absorción del solvente.
- También se observa en todos los casos, que la absorción que corresponde a los metabolitos de los extractos es similar en los tres extractos evaluados. Esto se explica por la naturaleza polar de dichos solventes. Se debe considerar próximos trabajos para obtener espectros UV de extractos con solventes apolares y medianamente polares.

6. Conclusiones

- Los espectros visible de los extractos de hojas de *Lactuca sativa* “lechuga”, *Plantago major* “llantén” y *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” son muy similares y presentan diferencias notorias entre ellas; no son útiles para diferenciar o verificar la especie vegetal.
- Los espectros UV de los extractos de hojas de *Lactuca sativa* “lechuga”, *Plantago major* “llantén” y *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” son particulares para cada especie y permite diferenciar una de otra.
- Los espectros UV de los extractos etanólico e hidroalcohólico, en las tres especies vegetales, presentan una banda característica a 219-220 nm, que corresponde al solvente alcohólico (metanol).
- Los espectros UV de los extractos acuosos, en las tres especies vegetales, no presentan banda a 219-220 nm. El agua no presenta absorción a dicha longitud de onda.
- Los espectros UV de los extractos acuosos, etanólico e hidroalcohólico de *Lactuca sativa* “lechuga”, solo difieren en la intensidad de la banda correspondiente al solvente: en el extracto acuoso no aparece, en el extracto etanólico es muy intensa y en el extracto hidroalcohólico la intensidad es media.
- Los espectros UV de los extractos acuosos, etanólico e hidroalcohólico de *Plantago major* “llantén” y *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tienen el mismo comportamiento que en el caso de *Lactuca sativa* “lechuga”.
- Para identificar o verificar la especie vegetal que origina un producto tal como un extracto líquido o sólido, un fitofármaco, preparado galénico, producto herbolario o afines, la espectroscopía UV proporciona un método rápido eficaz y económico, utilizando extractos acuoso, etanólico o hidroalcohólico; los tres en conjunto o uno de ellos.

7. Recomendaciones

- Ampliar la base de datos de espectros UV de las plantas medicinales peruanas en general y de Ica en particular.
- Incluir en los estudios posteriores, espectros UV de extractos obtenidos con solventes apolares y/o medianamente polares a fin de tener herramientas para una elucidación fehaciente, en casos de dudas o en caso de observaciones.

8. Referencias Bibliográficas

1. Elsark, N.S., Rizk L.F. and Doss H.R. (1993) U.V. spectra parameters to investigate the influences of intensifications of soybean with sorghum and maize on the physical properties of soybean seed oils. Consejo Superior de Investigaciones Científicas Vol. 44 Faso. 4-5 (1993)
2. Klinar B, S., Chang C, A. (2006) Evaluación De Cinco Plantas Medicinales De Ica, Por Espectroscopía Uv-vis. FITOICA. Año 1 - N° 2. Mayo 2006
3. Serafini Mauro et al (2002) Effect of acute ingestion of fresh and stored lettuce (*Lactuca sativa*) on plasma total antioxidant capacity and antioxidant levels in human subjects. British Journal of Nutrition / Volume 88 / Issue 06 / December 2002, pp 615-623
4. Sayyah Mohammad et al (2004) Analgesic and anti-inflammatory activity of *Lactuca sativa* seed extract in rats. Journal of Ethnopharmacology Volume 92, Issues 2–3, June 2004, Pages 325–329
5. Sang-Uk Chon et al. (2005) Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. Scientia Horticulturae. Volume 106, Issue 3, 3 October 2005, Pages 309–317
6. Arzu Altunkaya et al (2008) Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). Food Chemistry Volume 107, Issue 3, 1 April 2008, Pages 1173–1179
7. Gawlik-Dziki, Urszula; Złotek Urszula; Świeca, Michał (2008) Characterization of polyphenol oxidase from butter lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.). Food Chemistry. Volume 107, Issue 1, 1 March 2008, Pages 129–135
8. Rodríguez, A. (et al) Actividad Antifúngica in vitro de una crema de *Plantago major* L. Rev Cubana Plant Med 1(3):9-12, Septiembre-Diciembre, 1996.
9. Berit Samuelsen, Anne et al (1996) Characterization of a biologically active pectin from *Plantago major* L. Carbohydrate Polymers. Volume 30, Issue 1, May 1996, Pages 37–44
10. Berit Samuelsen, Anne (2000) The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. Journal of Ethnopharmacology. Volume 71, Issues 1–2, July 2000, Pages 1–21

11. Chiang, LC et al (2002) Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. *Antiviral Research*. Volume 55, Issue 1, July 2002, Pages 53–62
12. Chiang, LC et al (2003) *In Vitro* Cytotoxic, Antiviral and Immunomodulatory Effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica* .*Am. J. Chin. Med.* 31, 225
13. Beevers, Leonard (1966) Effect of Gibberellic Acid on the Senescence of Leaf Discs of *Nasturtium* (*Tropaeolum majus*) . *Plant Physiol.* 1966 Jun; 41(6): 1074–1076.
14. Lykkesfeldt, J. and Moller, B. L. (1993) Synthesis of Benzylglucosinolate in *Tropaeolum majus* L. (Isothiocyanates as Potent Enzyme Inhibitors). *Plant Physiology* June 1993 vol. 102 no. 2 609-613
15. Pintão AM, Pais MS, Coley H, Kelland LR, Judson IR (1995) In vitro and in vivo antitumor activity of benzyl isothiocyanate: a natural product from *Tropaeolum majus*.. *Planta Medica* [1995, 61(3):233-236]
16. Alcalde, María Teresa; Del Pozo, Alfonso. Nuevos despigmentantes cutáneos (XV): Isofiavonas de soja y extracto de mastuerzo. *Farmacia Práctica*. Formación permanente en Dermofarmacia. Vol 30 NÚM 1 ENERo-FEBRERo 2011 Bowers N., J. R. Pratt, D. Beeson y M. Lewis. 1997. Comparative Evaluation of Soil
17. Ludwig-Müller, Jutta^{1*} and Cohen, Jerry D. (2002) Identification and quantification of three active auxins in different tissues of *Tropaeolum majus*. *Physiologia Plantarum*. Volume 115, Issue 2, pages 320–329, June 2002

9. ANEXO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN