

Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas y tallo de la *Isocarpha cubana* B.

Phytochemical screening of alcoholic, ethereal and aqueous extract from leaves and stalks of *Isocarpha cubana* Bake.

Raquel Tamayo Castro¹; Emilio Alba Verdecia²; Inés Mojena Tamayo³.

¹Licenciada en Química. Facultad de Ciencias Médicas Celia Sánchez Manduley. Manzanillo. Granma.

²Especialista de Primer Grado en Medicina Interna. Facultad de Ciencias Médicas Celia Sánchez Manduley. Manzanillo. Granma.

³Especialista de Primer Grado en Medicina General Integral. Facultad de Ciencias Médicas Celia Sánchez Manduley. Manzanillo. Granma.

RESUMEN

Se le realizó el estudio fitoquímico a los extractos etéreo y alcohólico de la *Isocarpha cubana* demostrándose la presencia de flavonoides, triterpenos, esteroides y otros metabolitos secundarios, para la obtención de los extractos etéreo, acuoso y alcohólico, se realizaron extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr un mayor agotamiento del material vegetal seco. En la identificación de los metabolitos secundarios, mediante la metodología de maceración sucesiva con solventes de polaridad creciente, se utilizaron técnicas simples, rápidas y selectivas para determinados compuestos químicos, de modo que a cada extracto se le practicaron aquellos ensayos específicos para los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad pueden extraerse con cada solvente. Se comprobó la gran diversidad de metabolitos secundarios con respuestas positivas presentes en la *Isocarpha cubana* Blake.

Descriptores DeCS: PLANTAS MEDICINALES /química; EXTRACTOS VEGETALES /química

ABSTRACT

It was performed the phytochemical study to the ethereal and alcoholic extracts of the Cuban *Isocarpha* showing the presence of flavonoids, triterpens, steroids and other secondary metabolites to obtain ethereal, aqueous and alcoholic extracts. There were performed posterior extractions with growing polarity solvents with the objective to obtain a greater tiredness of the dry vegetal material. In the identification of the secondary metabolites, through the methodology of posterior maceration with growing polar solvents, there were used simple, fast and selective techniques for specific chemical formulas, in a way that for each extract there were practiced the specific essays for the metabolites that can be taken with each solvent according to its solubility. It was checked the great diversity of secondary metabolites with positive answers presented in Blake cuban Isocharpa.

KEY WORDS: PLANTS, MEDICINAL /chemistry; PLANT EXTRACTS /chemistry

INTRODUCCIÓN

La medicina tradicional, complementaria o alternativa suscita actualmente un amplio abanico de reacciones, desde el entusiasmo no crítico de la medicina tradicional (MT) hasta el escepticismo no informado. El uso de la Medicina Tradicional (MT) sigue estando muy extendido en los países en vías de desarrollo, mientras que el uso de la medicina complementaria y alternativa (MCA) está aumentando rápidamente en los países desarrollados. En muchos lugares del mundo, los responsables de las políticas, los profesionales sanitarios y el público se debate con preguntas sobre la seguridad, la eficacia, la calidad, la disponibilidad, la preservación y con el desarrollo de este tipo de atención sanitaria.¹

La Organización Mundial de la Salud considera esencial separar el mito de la realidad, que están estrechamente relacionados en Medicina Tradicional, se debe ser capaz de distinguir prácticas y remedios válidos de los ineficaces y peligrosos al igual que en la medicina moderna. En consecuencia se promueve esta actividad mediante métodos que garanticen los principios de: seguridad, eficacia y calidad.²

A partir de los años 80, comienza un desarrollo ascendente de la investigación científica sobre las plantas medicinales en Cuba. Esta tiene una notable expresión en la actualidad tanto en el orden cuantitativo como cualitativo, destacándose la existencia de un Programa Nacional de Medicina Tradicional bajo la orientación del Ministerio de Salud Pública.³

Una de las plantas medicinales más utilizadas en el mundo es la *Matricaria recutita* L. también conocida vulgarmente como Manzanilla, con importante aplicación medicinal en diversas zonas geográficas del mundo. Las distintas partes de esta planta se utilizan por su propiedad como antisépticos, antiespasmódicos, antiinflamatorios, antidiarreicos y se le atribuyen propiedades como sedantes.^{4, 5} Numerosos estudios han dilucidado la composición química de esta especie, ampliamente reconocida en farmacopeas y recomendadas en la clínica. El aceite esencial presente mayoritariamente en los capítulos florales (0.2-1.8%), es responsable de una parte importante de las actividades biológicas.⁶

En Cuba se introdujo la *Matricaria* y se adaptó a las condiciones climáticas de la región occidental, sin embargo no se adaptó a las condiciones climatológicas y edáficas de la zona oriental del país; no obstante en ésta última zona se conoce vulgarmente como Manzanilla la especie *Isocarpha cubana* Blake de la familia Asteraceae, la que se utiliza históricamente de forma tradicional y se le atribuyen propiedades terapéuticas similar a las de la *Matricaria recutita*.^{7,8}

En tal sentido se establece como **problema científico** para esta investigación el hecho que se utiliza en Cuba, específicamente en la provincia de Granma, la *Isocarpha cubana* como planta medicinal a la cual se le atribuyen diversos efectos terapéuticos, sin embargo no hay estudios que avalen la presencia de metabolitos secundarios que justifiquen estos efectos.

OBJETIVO GENERAL

Identificar los principales metabolitos secundarios de la *Isocarpha cubana*.B en los extractos alcohólico, acuoso y etéreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetal se adquirió en la época de primavera mediante la recolección de hojas y tallos de la *Isocarpha cubana* Blake cultivada en el poblado de San Francisco, municipio Manzanillo, provincia de Granma. Su identificación fue confirmada en el Laboratorio de Botánica de la Universidad de Granma. El material fue secado a la sombra a temperatura ambiente y extendida en bandejas perforadas volteándose diariamente durante 7 días, luego se sometió a temperatura de 60°C durante una hora en estufa con recirculación de aire, marca WSU 400 de fabricación alemana. Terminado este proceso de secado se procedió a la pulverización de la droga hasta obtener un polvo grueso (2 mm) que se empleó en la elaboración de los extractos.

Para la obtención de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso, se realizaron extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr un mayor agotamiento del material vegetal seco.

El tamizaje fitoquímico se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Granma, empleándose técnicas simples, rápidas y selectivas para la determinación de los compuestos; se le realizaron a cada extracto los ensayos específicos para los metabolitos secundarios que de acuerdo a su solubilidad podían haber sido extraídos en cada solvente.

Tamizaje fitoquímico

Ensayo de Sudán III:

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para lo cual a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción se le añadió 1ml de una solución diluida en agua del colorante Sudán III. Se calentó en baño de agua hasta evaporación del solvente, se consideró positivo al aparecer gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido.

La presencia de compuestos grasos se consideró positiva al aparecer gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos, respectivamente.

Ensayo de Dragendorff:

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, la alícuota se calentó en baño de agua hasta evaporación del solvente. El residuo se redisolvió en 1ml de HCl (1%). Al extracto de la alícuota se le añadió una gota de ácido clorhídrico concentrado, se calentó suavemente y se dejó enfriar hasta acidez. Con la solución acuosa ácida se realizó el ensayo añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff y se observó opalescencia.

Ensayo de Mayer:

Permite también identificar alcaloides se procede de la forma descrita en la bibliografía hasta obtener la solución ácida. Se añadió una pizca de NaCl en polvo, se agitó y filtró. Se añadieron 3 gotas de la solución reactiva de Mayer y se observó opalescencia.

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o aminoóxidos libres, estos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) o (+++) en todos los casos, ya que un resultado (+) puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

Ensayo de Baljet:

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular coumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1ml). En estas condiciones se adicionó 1ml de reactivo y se observó cambio de coloración.

Ensayo de Liebermann- Burchard:

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, ya que ambos tipos de productos poseen un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1ml de cloroformo. Se adicionó 1ml de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo se dejó correr 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.

Rosado- azul muy rápido.

Verde intenso, visible aunque rápido.

Verde oscuro- negro, final de la reacción.

Observación: Se tuvo en cuenta para este ensayo la no presencia de agua en el medio de la reacción para evitar ya que el ácido sulfúrico puede reaccionar de forma violenta. Se consideró positivo el resultado al observar la coloración verde oscuro.

Ensayo de Fehling:

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 ml de agua. Se adicionó 2 ml del reactivo (recién preparado) y se calentó en baño de agua de 5-10 min. El ensayo se consideró positivo ya que la solución se coloreó de rojo.

Ensayo de Espuma:

Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénicas. De modo que si la alícuota se encuentra en etanol, se diluye en 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 min. En el ensayo se observó una espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura que persistió por más de 2 min. El ensayo se consideró positivo al aparecer una espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor que persistió por más de 2 min.

Ensayo de Ninhidrina:

Permite reconocer la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2ml de la solución de ninhidrina al 2%. La mezcla se calentó durante 10 min en baño de agua. Este ensayo se consideró positivo al observar un color violáceo.

Ensayo de Shinoda:

Como cumarinas, se conocen los derivados lactónicos del ácido ortohidroxicinámico, están presentes en cualquier parte de los vegetales y compuestos fluorescentes. En presencia de la luz ultravioleta presentan fluorescencia de diversas tonalidades, generalmente azul y es uno de los métodos más simples para su localización en extractos de plantas. Son fotosensibles alternándose con mucha facilidad por la luz. El ensayo se consideró positivo cuando el alcohol amílico se coloreó de naranja.

A pesar de su abundancia en la naturaleza su papel fisiológico no está muy claro, algunas muestran acción anticoagulante como el caso de la coumarina simple y el dicumarol, otros son espasmolíticos, hipercolesterolémicos o inhibidores del crecimiento vegetal.

A la alícuota del extracto etanólico, se le añadió un 1ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálica. Después de la reacción se esperaron 5 min., se añadió 1ml de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que las mismas se separaron. El ensayo se consideró positivo por la coloración amarilla o naranja.

Para la obtención de los extractos etéreo y alcohólico, se realizaron extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr un mayor agotamiento del material vegetal seco.

Para incrementar los rendimientos de las extracciones se aplicó un método bajo irradiación de microondas, de forma similar a como es reportado por Martín de la Guardia y otros. Se empleó un horno doméstico Gold Star multimodo, con frecuencia de 2450 MHz y potencia de salida de 850 W. A un beaker de 100 ml se le adicionó 60 g del material vegetal desecado, pulverizado y humectado durante una hora, se completó el volumen hasta 60 ml y se colocó en el horno durante una hora, cada experimento se realizó por duplicado.

RESULTADOS

La detección de los metabolitos secundarios se realizó básicamente según los ensayos cualitativos individuales para cada grupo químico. En los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la *Isocarpha cubana* Blake se muestran la alta variabilidad de compuestos presentes en ella, entre los que se encuentran: alcaloides, coumarinas, saponinas, flavonoides, azúcares reductores, triterpenos, y esteroides .

Tabla1. Resultados del análisis fitoquímico de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de la *Isocarpha cubana* Blake.

Metabolitos	Extracto etéreo	Extracto alcohólico	Extracto acuoso
Sudan III (ácidos grasos)	+	+	
Dragendorff-Mayer (alcaloides)	+	+	-
Baljet (coumarinas)	+	+	
Espuma (saponinas)		+	+

Shinoda (flavonoides)	-	+	+
Fehling (azúcares reductores)		+	+
Liebermann-Burchard (triterpenos y/o esteroides)	-	-	
Ninhidrina (aminoácidos libres)		+	

Leyenda: (+) Respuesta positiva del metabolito en el extracto,

(-): respuesta negativa del metabolito en el extracto

Los espacios en blanco significan que no se le realizaron estos ensayos al extracto.

DISCUSIÓN

La presencia en esta planta, según se recoge en la literatura consultada, de flavonoides y algunos componentes de su aceite esencial, contribuyen a corroborar los resultados del presente estudio. La *Isocarpha cubana* Blake es una de las plantas que más se ha utilizado por su efecto antidiarreico inespecífico en las provincias orientales del país, y en estos momentos se comercializa en la red farmacéutica de estas provincias con el nombre de manzanilla.

Al analizar los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico realizado a cada extracto, se comprueba la gran diversidad de metabolitos secundarios con respuestas positivas presentes en la *Isocarpha cubana* Blake, es lo que justifica la utilidad atribuida a esta planta en el tratamiento de diferentes enfermedades.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Oramas Díaz J, Rodríguez Luis I. La información científica y la medicina tradicional y natural; 1999.
2. López Hernández OD, Muñoz Cernada A, Carmona Fernández R, Torres Amaro L, González Sanabria ML. Influencia del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersión de extracto acuoso de caléndula *officinalis* L. *Rev Cubana Plant Med*; 2006: Sep11 (1); 39-42.
3. Cuba: Plantas Medicinales. *Vademecun de Fitoterapia*. [Internet]; 2008 [Consultado 11 jun 2008]. Disponible en: www.users.servicios.retecal.es/pdelrio/vadem.html.
4. Peña D, Montes de Oca N, Rojas S, Parra A, García G. Anti-inflammatory and anti-diarrheic activity of *isocarpha cubana* blake. *Pharmacologyonline* 2006; 3: 744-749.

5. García Peña CM. Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata* L., *Matricaria recutita* L. y *Morinda citrifolia* L. *Rev Cubana Plant Med* 2009; 14(2).
6. González Ramírez M, Ramírez D, Jacobo OL. Antecedentes y situación reguladora de la medicina herbaria en cuba. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* [Internet]. 2007 [Consultado 12 Ene 2010]; 6 (4): (aprox 6 p.). Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/html/856/85660405/85660405.html>
7. Peña A, Torres E. Monografía de productos naturales. Universidad de Granma; 2006.
8. MINSAP. Guías Metodológica para la investigación en plantas Medicinales. Dirección de Ciencias y Técnica, Área de Docencia e Investigaciones, Ciudad de la Habana; 1997.