

# FITO Y BIOANÁLISIS DE ALGUNAS PLANTAS UTILIZADAS EN MEDICINA POPULAR CON POSIBLE ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

\* Ahmed Salama,  
Angela Patricia Hinestrosa,  
Maricela del Pilar Chaves R.

## RESUMEN

El Bioanálisis de 29 especies medicinales y seis sustancias patrones para determinar la CL 50 por el método de *Artemia salina*, demostró que 22 de las 29 plantas estudiadas presentan CL 50 menor a 500 µg/ml. Las especies que presentan CL 50 menor a 100 µg/ml son *Lantana camara*, *Bauhinia picta*, *Pitiveria alliacea*, *Caléndula officinalis*, *Rumex obtusifolius*, *Salvia palaefolia*, *Taraxacum officinale*, *Senecio formosus*, *Malvia rotundifolia*, *Solanum nigrum* y *Plantago major*.

Según el análisis fitoquímico en el presente trabajo la mayoría de las plantas estudiadas presentan alcaloides, esteroides, triterpenos, flavonoides, taninos y saponinas. Los derivados de antraquinonas se encontraron únicamente en *Rumex obtusifolius*.

## SUMMARY

The bioassay of 29 medicinal species for the determination of LC<sub>50</sub> by *Artemia salina* method showed that 22 species presented LC<sub>50</sub> less than 500 mcg/mL. *Lantana camara*, *Bauhinia picta*, *Pitiveria alliacea*, *Caléndula officinalis*, *Rumex obtusifolius*, *Salvia palaefolia*, *Taraxacum officinale*, *Senecio formosus*, *Malvia rotundifolia*, *Solanum nigrum* and *Plantago major* showed LC<sub>50</sub> less than 100 mcg/mL.

The phytochemical screening showed that most of the species contain alkaloids, sterols, triterpenes, flavonoids, tannins and saponins. Anthraquinone derivatives were found only in *Rumex obtusifolius*.

## INTRODUCCION

Son muchas las ocasiones en que para curar determinadas condiciones que afectan nuestra salud, hemos tenido que recurrir a ciertos procedimientos terapéuticos que se aparten de la medicina convencional.

En nuestros días esta alternativa médica experimenta un auge cada vez más creciente, sin embargo estas no son absolutamente nuevas sino que casi en su totalidad son los resultados de técnicas y

\* Departamento de Farmacia,  
Universidad Nacional,  
Santafé de Bogotá,  
Colombia. A.A. 14490.

procedimientos usados tradicionalmente desde hace mucho tiempo.

Otro motivo para el auge de la medicina natural es el rumbo claramente mercantilista que ha tomado la medicina moderna, esta se ha hecho demasiado costosa para el común de las gentes, que buscan una forma económica de curar sus males. Lo grave de esta situación es el empleo peligroso que de ella hacen personas no especializadas que la recomiendan como la panacea para todas las enfermedades.

Valiéndonos del principio de que farmacología es simplemente toxicología a bajas concentraciones, pudimos correlacionar la bioactividad con base en el valor de la CL 50 y al mismo tiempo su grado de toxicidad. Para el estudio toxicológico empleamos el método de *A. salina*, para determinar los valores de la CL 50 de los extractos acuosos de las plantas estudiadas. El método de *A. salina* fue empleado para determinar la toxicidad aguda de contaminantes en macroinvertebrados de agua fresca (1), para detección de residuos de insecticidas (2,3) y sustancias tóxicas (4,5,6) micotoxinas y compuestos metálicos (7,8), también para determinar la CL 50 de compuestos puros y extractos de plantas (9,10,11).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y reactivos

#### *Material vegetal*

El material vegetal seleccionado para realizar el estudio (parte de cada planta utilizada por la gente en la medicina popular) se recolectó en las distintas plazas de mercado de Bogotá como la de Corabastos, 7 de Agosto, Ferias y Paloquemao.

La clasificación taxonómica fue realizada en el Instituto de Ciencias Naturales, un ejemplar de cada una está depositado en el Herbario Nacional Colombiano bajo

un número determinado. El material vegetal se secó a una temperatura de 50°C en una estufa con circulación de aire caliente, una vez seco el material vegetal se sometió a molienda y se guardó en recipientes de vidrio limpios y secos para su posterior uso.

#### *Análisis fitoquímico*

Para llevar a cabo el análisis fitoquímico se prepararon extractos de las partes de las plantas, utilizando 50 g de cada material seco y molido en 250 ml de etanol del 96 % en un equipo Soxhlet. Los extractos se filtraron y se evaporaron en un rotavapor, el residuo obtenido se utilizó en el análisis fitoquímico según el método adoptado por el laboratorio de fitoquímica, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional; con algunas modificaciones (12). Los resultados se muestran en la tabla N° 1.

#### *Bioanálisis*

##### Preparación de los extractos

30 g de material vegetal seco, se extrajeron con 100 mL de agua destilada por maceración durante 24 horas. El extracto se filtró y se evaporó hasta sequedad por liofilización. A partir del residuo seco del extracto acuoso de cada planta se preparó una solución stock de 1.0 mg/ml en solución salina al 0.9 % de la cual se prepararon 8 diluciones cuyas concentraciones fueron 6, 10, 24, 50, 100, 240, 500, 1000 µg/ml. Se empleó un recipiente plástico rectangular, el cual se dividió mediante una lámina plástica perforada en su parte inferior, en dos espacios, uno de los cuales es de mayor tamaño que el otro. Se depositaron 100 mg de huevos de *A. salina* en 1 L de una solución salina al 0.9% que contiene 100 mg de levadura de cerveza como complemento alimenticio, en el espacio de menor tamaño del recipiente plástico y se oscureció por medio de una lámina; el otro espacio del recipiente se iluminó mediante una fuente de luz artificial.

Al cabo de 48 hrs. a una temperatura ambiente (18°C), las larvas de *A.salina* nacieron y pasaron al espacio grande iluminado del recipiente. Se realizaron 5 réplicas para cada una de las diluciones de los extractos o sustancias puras y blancos en la siguiente manera: Se adicionó 1 ml de cada dilución de los extractos o sustancias en un tubo de ensayo, se transfirieron 10 larvas de *A. salina* tomados con una pipeta en aproximadamente 1 ml de solución salina al 0.9% y se completó hasta 5ml con la misma solución salina. Paralelamente se realizó un blanco formado por 1 ml de solución salina al cual se adicionaron 10 larvas y se completó hasta 5 ml con la misma solución salina. A las 24 hrs. de contacto a temperatura ambiente y bajo iluminación se contaron las larvas muertas de cada tubo con ayuda de una lupa, para todas las diluciones de los extractos, patrones y blanco. Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de mortalidad para cada concentración y para el blanco. En caso de presentarse mortalidad en el blanco se corrigen los datos obtenidos por medio de la formula de Abbott.

$$\% \text{ muertos} = (\text{problema} - \text{control}) \times 100 / \text{control}$$

La CL 50 y los intervalos con el 95% de confianza se determinaron usando el método de análisis de probits (13).

## RESULTADOS Y DISCUSION

### *Análisis fitoquímico*

El análisis fitoquímico del extracto alcohólico específicamente de los órganos utilizados en medicina popular de cada planta para curar una o varias enfermedades, comprendió la identificación de los compuestos que con mas frecuencia se encuentran en las plantas mediante pruebas específicas y claras. Según el análisis la mayoría de las plantas estudiadas presentan alcaloides, esteroides, triterpenos, flavonoides, taninos y saponinas. No se presentaron derivados de antraquinonas excepto en *Rumex obtusifolius*. (Ver tabla N°1).

### *Bioanálisis*

Varios ensayos fueron realizados para estandarizar las condiciones del método y se estableció la cantidad de huevos de *A. salina* (100 mg /L), la concentración de cloruro de sodio (0.9%), tiempo suficiente para la obtención de las larvas 48 hrs, temperatura ambiente (18°C) y con suficiente superficie abierta del recipiente para mejor oxigenación y con iluminación para la estimulación para que las larvas emergieran de los huevos.

Para realizar el bioensayo fueron utilizados los extractos acuosos de las partes de las plantas, pues la acción de los disolventes orgánicos incluyendo el alcohol era de tal magnitud sobre las larvas que a las pocas horas se encontraban muertas. El agua como disolvente no presenta efecto letal sobre las larvas, lo que nos evita introducir otra variable en el método, no tanto por la acción del solvente como tal reflejada en el blanco, sino por la posible acción combinada del solvente y los constituyentes de la planta; además en medicina popular la gente utiliza la mayoría de las plantas en forma de extracto acuoso lo cual nos da una idea mas real del posible efecto que tengan estas plantas sobre la comunidad que las usa en esta forma.

Las concentraciones utilizadas para determinar la CL 50 de los extractos acuosos de las plantas fueron 6, 10, 24, 50, 100, 240, 500 y 1000 µg/ml de residuo seco en solución salina al 0.9% por ser el intervalo de concentraciones que mostró mejores resultados para todas las plantas y no causo 100% de mortalidad en todas las concentraciones, además se realizaron cinco réplicas de cada concentración con el fin de observar la reproducibilidad de la respuesta, lo que nos garantiza que los datos obtenidos son confiables.

Paralelamente a las diluciones de los extractos, se ensayaron sustancias patrones a concentraciones de 10, 50, 100, 500 y 1000 µg/ml en solución salina al 0.9% realizándose tres réplicas de cada concentración. Esto se hizo con el fin de obtener la respuesta del camarón

**TABLA N° 1. Resultados del Análisis Fitoquímico Cualitativo del Extracto Alcohólico de las plantas Estudiadas**

PLANTAS	DETERMINACION						
	A	B	C	D	E	F	G
<i>Achyrocline satureioides</i>	-	+	+	-	+	+	+
<i>Ambrosia cumanensis</i>	+	-	+	-	+	E	-
<i>Apium leptophyllum</i>	E	E	+	-	+	+	-
<i>Bauhinia picta</i>	-	+	+	-	-	+	+
<i>Bidens pilosa</i>	+	E	+	-	+	+	+
<i>Calendula officinalis</i>	E	+	+	-	+	-	+
<i>Conium maculatum</i>	+	+	+	-	-	-	+
<i>Equisetum sp</i>	E	+	+	-	+	E	+
<i>Borago officinalis</i>	E	-	+	-	+	-	-
<i>Myrcianthes leucoxylla</i>	-	+	-	-	+	+	-
<i>Rumex obtusifolius</i>	E	+	+	E	+	+	+
<i>Solanum nigrum</i>	+	-	+	-	+	+	+
<i>Malva rotundifolia</i>	E	-	+	-	-	-	-
<i>Taraxacum officinale</i>	+	+	+	-	+	-	E
<i>Plantago major</i>	+	+	+	-	+	-	-
<i>Senecio formosus</i>	+	+	+	-	-	-	E
<i>Lepidium trianae</i>	+	-	+	-	+	-	+
<i>Iresine diffusa</i>	E	-	+	-	-	-	-
<i>Sambucus mexicana</i>	+	+	+	-	-	E	E
<i>Petiveria alliacea</i>	-	E	+	-	-	-	E
<i>Phytolacca bogotensis</i>	+	+	+	-	+	E	E
<i>Lantana camara</i>	E	+	+	-	-	E	-
<i>Salvia palaeifolia</i>	E	-	+	-	+	-	-
<i>Verbena littoralis</i>	+	-	+	-	+	-	-
<i>Niphogeton ternata</i>	E	+	+	-	+	+	+
<i>Rhynchospora nervosa</i>	-	+	+	-	+	+	-
<i>Anacardium occidentale</i>	-	+	+	-	+	+	E

A : Alcaloides

B : Flavonoides

C : Esteroles y/o triterpenos

D : Antraquinonas

E : Fenoles

F : Taninos

G : Saponinas

Intensidad de la respuesta :

(+) Positivo

(E) Escaso

(—) Negativo

frente a sustancias puras de actividad conocida, pudiendo establecer comparaciones entre la respuesta obtenida con el camarón para los extractos y los patrones (cafeína, efedrina .HCl , cocaína .HCl,estricnina .SO4, ácido salicílico y cinchonina.Hcl.

El análisis estadístico por Probits se aplicó para estimar el valor de la CL 50 de los extractos y los patrones; según los datos obtenidos ( Ver tabla N°2), las plantas cuyos extractos acuosos presentaron una CL 50 mayor de 1000 µg/ml son:*Phytolacca bogotensis*, *Erythroxyllum coca*, *Myrcianthes leucoxylla*.

Las plantas cuyo CL 50 se ubica entre 1000 y 500 µg/ml son :*Achyrocline satuireioides*, *Rhynchospora nervosa*, *Borago officinalis* y *Digitalis purpurea*. Las plantas cuyo CL 50 se ubican entre 500 y 100 µg/ ml son :*Ambrosia cumanensis*, *Niphogeton ternata*, *Apium leptophyllum*, *Sambucus mexicana*, *Iresine diffusa*, *Equisetum sp.*,*Anacardium occidentale*, *Verbena littoralis*,*Lepidium trianae*, *Bidens pilosa* y *Canium maculatum*. Las plantas de CL 50 para sus extractos acuosos menores de 100 µg/ml son: *Plantago major*,*Solanum nigrum*, *Malva rotundifolia*, *Senecio formosus*, *Taraxacum officinale*, *Salvia palaefolia*, *Rumex obtusifolius*, *Calendula officinalis*, *Petiveria alliacea*, *Bauhinia picta* y *Lantana camara*.

Como se puede apreciar, la mayoría de las plantas estudiadas se ubicaron en los intervalos de la CL 50 comprendidos entre 500 - 100 µg/ml y menores de 100 mg/ml lo cual indica la apreciable actividad de dichas plantas sobre el camarón. Posiblemente uno de los factores que pudo contribuir a la alta bioactividad presentada por las últimas plantas CL 50 < 100 µg/ml , obedece a la cantidad y tipo de constituyentes solubles en agua , ya que para plantas de conocida actividad como *Erythroxyllum coca* y *Digitalis purpurea* que presentaron CL50 mayor de 1000 µg/ml y 523 µg/ml respectivamente, sus constituyentes activos presentan una solubilidad baja en agua , por lo tanto, no se debe perder de vista que el grado de bioactividad de las plantas guarda

relación con la solubilidad de sus constituyentes activos en agua; sin embargo, cabe resaltar que la CL50 para la mayoría de las plantas esta dentro del intervalo de concentraciones escogidas, lo que significa que el haber hecho una extracción acuosa no fue una limitante para obtener una bioactividad significativa , además confirma que la manera de empleo para la gran mayoría en forma de extracto acuoso en medicina popular tiene validez y que efectivamente al igual que en el camarón pueden ejercer una actividad en las personas que las ingieren con el fin de lograr un efecto curativo deseado ya que hay relaciones entre citotoxicidad y bioactividad.

El grado de bioactividad de estas plantas expresado como CL 50 se puede relacionar con el tipo de sustancias encontradas en el análisis fitoquímico y la información bibliográfica de los constituyentes y su actividad farmacológica comprobada científicamente. Todas estas plantas presentan una gran diversidad de compuestos que pueden ser los causantes de dicha bioactividad , además en la gran mayoría se encontró información acerca de actividades farmacológicas . Con la determinación de la CL50 para sustancias patrones puros de actividad conocida y la CL 50 para los extractos de plantas se establecieron niveles de toxicidad comparables ( Ver Tabla N°2).

Este ensayo con patrones nos permitió aclarar el punto discutido con anterioridad referente a la distinta solubilidad en agua de los constituyentes y su relación con la bioactividad , tal es el caso de *Erythroxyllum coca* cuya CL50 para el extracto acuoso está por encima de los 1000 µg/ml , mientras que para uno de sus constituyentes activos, usando la cocaína, HCl . la CL50 presenta un valor de 35 µg/ml. Además de lo anterior esto nos permitió analizar también que la respuesta del camarón es selectiva al tipo de sustancias disueltas en el agua. Esto es de suma importancia pues se puede tener confianza de que el camarón se comporta según el tipo de sustancia disuelta en el medio y que su respuesta también es acorde al grado de bioactividad que esta sustancia pueda presentar sobre él.

**TABLA N° 2. Valores Comparativos de la CL 50 de los Extractos Acuosos de las Plantas y Sustancias Patron**

NIVEL CL 50	SUSTANCIAS PATRON Y PLANTAS ESTUDIADAS	CL 50(µg/ml)
> 1000	<i>Phytolacca bogotensis</i>	> 1000
	<i>Erythroxylum coca</i>	> 1000
	<i>Myrcianthes leucoxylla</i>	> 1000
1000 a 500	<i>Achyrocline satureioides</i>	500
	<i>Rhynchospora nervosa</i>	514
	<i>Borago officinalis</i>	515
	<i>Digitalis purpurea</i>	523
500  a  100	<i>Conium maculatum</i>	132
	<i>Bidens pilosa</i>	137
	<i>Lepidium trianae</i>	149
	<i>Anacardium occidentale</i>	206
	<i>Equisetum sp</i>	216
	<i>Iresine diffusa</i>	226
	<i>Sambucus mexicana</i>	359
	<i>Apium leptophyllum</i>	413
	<i>Niphogeton ternata</i>	434
	<i>Ambrosia cumanensis</i>	467
	<i>Acido salicílico</i>	490
	<i>Cafeína</i>	350
	<i>Cinchonina . HCl</i>	350
	<i>Efedrina . HCl</i>	220
< 100	<i>Lantana camara</i>	< 6
	<i>Bauhinia picta</i>	< 6
	<i>Petiveria alliacea</i>	< 6
	<i>Calendula officinalis</i>	< 6
	<i>Rumex obtusifolius</i>	< 6
	<i>Salvia palaefolia</i>	< 6
	<i>Taraxacum officinale</i>	18
	<i>Senecio formosus</i>	20
	<i>Malva rotundifolia</i>	21
	<i>Solanum nigrum</i>	22
	<i>Plantago major</i>	24
	<i>Estricnina - Sulfato</i>	42
	<i>Cocaína -HCl</i>	35

Los resultados obtenidos encierran varios tópicos importantes de aclarar, como son : primero que todo que dichas plantas estudiadas pueden presentar una o mas sustancias (ver tabla No. 1) que las hace muy activas y tal vez muy propicias para el tratamiento de las enfermedades para las cuales están indicadas en medicina popular, pudiéndose conseguir un efecto benéfico y efectivo al usarlas en bajas concentraciones y durante un tiempo corto, justificando por estos motivos un estudio mas profundo. Pero a la vez encierra una peligrosidad porque tal vez este efecto encontrado puede deberse a sustancias tóxicas presentes cuyo efecto comparativo es mayor frente al presentado por la estriquina y la cocaína. De ahí que nosotros especialmente con estas plantas recomendamos el cuidado en su uso, debido a que el comportamiento farmacológico en personas, es diferente a la citotoxicidad sobre *A. Salina* ya que al preparar un extracto acuoso con fines medicinales, la concentración lograda puede estar más cercana a la tóxica que a la concentración efectiva. Para citar solo unos casos se reporta que *Lantana camara* contiene lantadeno A el cual tiene un efecto tóxico. El *Senecio formosus* tiene alcaloides derivados de la pirrolizidina que son hepatotóxicas y el *Solanum nigrum* tiene alcaloides tóxicos.

Los resultados presentados apoyan la hipótesis de que los remedios mas comúnmente usados dentro de un sistema de medicina popular son los que mas probablemente contienen ingredientes activos farmacológicamente.

Vale la pena aclarar que el método de *A. salina* no sirve para identificar el tipo de actividad farmacológica que presente cualquier sustancia o extracto sujeta a estudio, pero si nos informa si existe o no actividad, por lo cual es muy conveniente utilizarlo como ensayo preliminar en una batería de pruebas farmacológicas.

## CONCLUSIONES

Se estableció el método de bioanálisis de extractos de 29 plantas medicinales y 6 sustancias puras para determinar sus CL50 y posible bioactividad utilizando el camarón *A. salina*, se adaptaron las condiciones para la crianza del camarón como la temperatura, salinidad, oxígeno , cantidad de huevos , iluminación , tiempo de incubación , tiempo de contacto con las diluciones de los extractos. Además se realizó un análisis fitoquímico para detectar algunos principios activos de cada planta que pueden ser responsables de la actividad.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al profesor Hector Galván del Departamento de Farmacia por su asesoría en el análisis estadístico , el profesor Fabio González del Instituto de Ciencias Naturales por la clasificación taxonómica.

## BIBLIOGRAFIA

1. D. Green, W. J. Kendall, A. Williams and D. Pascoe , "Arch. Hidrobiol", **103**, N° 1, 75 (1985).
2. A. S. Michael, C. G. Thompson and M. Abramovitz, "Science", **123** (3194),464 (1956).
3. W. A. Tarpley, "Jour. Econ. Ent", **51**, (6), 780 (1988).
4. S. Tokunao and I. Tani, "Kagaku Keitsatsu Kenkyusho Hokoku" **20** (3), 168 (1967).
5. H.J. Jaker and H. Dressel, "Arzneimittelstandardisierung" **14** (5), 171 (1968).

6. R. H. Granade, C. Cheng Ping, N. J. Dorenbos, "Journal of Pharmaceutical Sciences" **65** (9), 1414 (1976).
7. R. F. Brown, "J. Amer. Oil. Chem. Soc" **46** (2) 119 (1969).
8. K. Tanaka, M. Masaru and M. Shinji, "Rep. Natl. Food Res. Inst. Tokyo" **0**(39),58 (1982).
9. B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, S. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, J. L. McLaughlin "Journal of Medicinal Plant Research" **45** ,31 (1982).
10. R. T. Trotter, M. N. Logan, J. M. Rocha, J. L. Boneta, "J. Ethnopharmacol", **8** (1),113 (1983).
11. T. Mueller and P. Lefom "Monatsh Veterinaermed" **40** (14),486 (1985).
12. A. Sanabria Galindo, "Análisis fitoquímico preliminar ",Universidad Nacional, Departamento de Farmacia, Bogotá (1983) .
13. O.M.S. "Métodos estadísticos para ensayos biológicos"