

Estudio fitoquímico y control de calidad de extractos de hojas de *Rheedia aristata* Griseb.

Phytochemical study and quality control of extracts from leaves of *Rheedia aristata* Griseb.

MSc. Robinson Hermosilla Espinosa, Dr. C. Manuel Almeida Saavedra, MSc. Yosvel Viera Tamayo, MSc. José Angel Morales León, MSc. Yarima Sanchez García, MSc. Yaicel Gé Proenza, Lic. Orlando Sariego Tamayo, MSc. Rodisnel Perdomo Rivera

Universidad de Granma. Bayamo, Cuba.

RESUMEN

Introducción: tradicionalmente, los campesinos han empleado la resina del fuste de *Rheedia aristata* Griseb. para extraer espinas encarnadas y en la cura de enfermedades respiratorias como el asma y la pulmonitis.

Objetivo: identificar los metabolitos secundarios presentes en la decocción, tintura 20 % y el extracto fluido de hojas de *Rheedia aristata* Griseb., y establecer la estabilidad de la tintura 20 % y del extracto fluido.

Métodos: se recolectaron partes aéreas, se lavaron, desinfectaron, secaron, y pulverizaron. De estas se obtuvieron la decocción, tintura 20 % y el extracto fluido, los cuales se filtraron. Finalmente, se realizaron ensayos fitoquímicos y control de calidad.

Resultados: el tamizaje fitoquímico confirma la existencia de varias familias de metabolitos secundarios de interés biológico y farmacológico; entre otras, saponinas, quinonas, coumarinas y alcaloides. Los ensayos del control de calidad mostraron que son estables la tintura 20 % y el extracto fluido bajo las condiciones aplicadas.

Conclusiones: la tintura 20 % y el extracto fluido de las hojas de *Rheedia aristata* son formulados ricos en metabolitos secundarios, que pudieran ser los principios activos responsables del uso como medicamento, reportado en estudios etnobotánicos. Esto, unido a la gran estabilidad que muestran y a la no existencia de reportes de toxicidad, convierten a esta planta en fuente potencial de fitomedicamentos.

Palabras clave: *Rheedia aristata*, tamizaje fitoquímico, extractos, metabolitos secundarios.

ABSTRACT

Introduction: traditionally, farmers have used the resin of the shaft of *Rheedia aristata* Griseb. to remove penetrated thorns in the body and cure respiratory diseases such as asthma and lung inflammatory process.

Objective: to identify the secondary metabolites in the decoction, tincture at 20 % and fluid extract of the leaves of *Rheedia aristata* Griseb. and to establish the tincture and the fluid extract stability at a 20 %.

Methods: air parts of the plant were collected; they were washed, disinfected, dried and pulverized. The decoction, tincture at 20 %, and extract were obtained and they were filtered. Finally, phytochemical screenings and quality control tests were performed.

Results: phytochemical screening confirms the existence of several families of secondary metabolites of biological and pharmacological interest; among others, saponins, quinones, coumarins and alkaloids. The quality control tests carried out to the tincture at 20 % and flowing extract indicated that, under the conditions applied, the elaborated products are stable.

Conclusions: the 20 % tincture and the fluid extract of the leaves of *Rheedia aristata* are rich formulations in secondary metabolites that could be the active principles responsible for the use of the plant as medicine, as reported in ethnobotanical studies. This fact, together with the great stability and absence of toxicity reports, converts this plant in a potential source of phytomedicines.

Key words: *Rheedia aristata*, phytochemical screening, extract, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

Las plantas de la familia *Clusiaceae* son conocidas por la presencia de metabolitos secundarios del tipo alcaloides, saponinas, taninos y cumarinas, reportados con diferentes acciones farmacológicas.¹⁻⁴ En estudios etnobotánicos realizados en Cuba, se reconocen a varias especies de esta familia como plantas que poseen interés por sus propiedades medicinales y se reportan empleos tradicionales como, antiinfecciosos, antitumorales, antimicrobianos, anticatarrales, analgésicos, contra afecciones cutáneas, dolores reumáticos y hemorragias, antitetánico y laxante.^{5,6}

Rheedia aristata Griseb. es conocida con varios nombres comunes, el más frecuente es manajú. Es un árbol endémico de Cuba y de las Antillas,⁷ se encuentra amenazado por la pérdida de su hábitat. Se caracteriza por producir una resina medicinal amarilla empleada como anticatarral, analgésico, contra afecciones cutáneas, antitumoral, antitetánico, laxante, antidontálgico y para extraer espinas encarnadas.^{7,8}

Esta especie posee baja biodisponibilidad por diferentes razones, la más importante es el daño causado a las plantas durante el proceso de extracción de la resina, por tanto, se estableció como objetivo realizar un tamizaje fitoquímico dirigido al conocimiento de los principales metabolitos secundarios presentes en sus hojas que puedan ser de utilidad terapéutica, así como determinar la estabilidad de estos en preparaciones farmacéuticas como criterio de calidad, y de este modo, incrementar el interés por proteger la planta. El trabajo se desarrolló como parte de una investigación químico-biológica de plantas endémicas del Parque Nacional Desembarco del Granma.

MÉTODOS

La biomasa fue recolectada en el Parque Nacional "Desembarco del Granma", municipio de Niquero, provincia de Granma, el 5 de mayo de 2009 a las 9:00 a.m., a una temperatura de 23,1 °C y se clasificó con el objetivo de eliminar la parte del material que no reunía las condiciones óptimas para el estudio, según norma ramal de salud pública (NRSP) 309.⁹ Luego, fue sometida a un proceso de desinfección que consistió en lavar con agua potable y posterior inmersión en una disolución de hipoclorito de sodio 2 %.^{10,11} La planta fue identificada por un especialista en Botánica del Departamento de Ingeniería Forestal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Granma, utilizando una clave¹² acorde con lo establecido en NRSP 313¹³ y otras normas del Ministerio de Salud Pública (MINSAP).¹⁴

Se tomaron muestras de la parte aérea en su estado de adultez (hojas) que fueron secadas durante 15 días a la sombra sobre planchas de cartón perforadas, removiendo el material 2 veces por día; el secado se completó en una estufa WSU 400 (Alemania) con circulación de aire, a 60 °C durante 1 h. Posteriormente, se pulverizaron las hojas empleando un molino rústico y el producto obtenido se procesó en un tamiz circular (TGL 0-4188 WEB Metallwebwrei Neustadt-Orla, Alemania) hasta obtener un tamaño de partícula de 1 mm a 2,5 mm de diámetro.

El método de extracción aplicado fue la maceración según la guía metodológica para la investigación en plantas medicinales,¹⁴ así como la NRSP 312¹⁵ y NRSP 313.¹³

La decocción se obtuvo por adición de 10 g del material vegetal a 500 mL de agua destilada, se tapó y se calentó en una plancha (IKA, China) hasta ebullición durante 10 min. Se dejó enfriar y se guardó por 1 día en refrigeración a 8 °C. Para la obtención de la tintura 20 % y el extracto fluido se utilizó etanol 70 % y se procedió según NRSP 312.¹⁵ En el último caso se siguió la variante para la obtención de extractos fluidos por percolación. Ambas muestras se dejaron en reposo 3 días a 8 °C.

En el estudio fitoquímico se determinaron en cada extracto los compuestos orgánicos que de acuerdo con su solubilidad podían ser extraídos en los solventes utilizados. Se emplearon técnicas simples, rápidas y selectivas, para la determinación de los diferentes metabolitos secundarios, siguiendo las metodologías reportadas por *Payo*,¹⁶ *Sandoval*,¹ *Peña y Torres*.¹⁷

El control de calidad para la tintura 20 % y el extracto fluido se realizó según NRSP 312¹⁵ y NC 92-02¹⁸ para 4 parámetros (pH, índice de refracción, sólidos totales y densidad relativa).

El pH se determinó a 25 °C y la humedad de 38 % con un pH-metro (Hanna 211, Portugal). El índice de refracción se determinó según WHO Pharm 92.559¹⁹ y la NC 90-13-11,²⁰ con un refractómetro (Abbe YA-2S, China) y trabajando sin corrección a 25 °C. El ensayo de determinación de sólidos totales fue desarrollado según la NRSP 312.¹⁵ La densidad relativa se determinó según *Peña y Torres*.¹⁷

Los ensayos se repitieron 6 meses después a las muestras que se dejaron como testigos. Se hicieron las respectivas comparaciones.

RESULTADOS

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a la decocción, tintura 20 % y extracto fluido obtenidos a partir de las hojas de *R. aristata* (tabla 1), mostraron la existencia de varias familias de metabolitos secundarios de interés biológico y farmacológico.

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico realizado a la decocción, tintura 20 % y el extracto fluido de *Rheedia aristata*

Ensayos de identificación	Decocción	Tintura 20 %	Extracto fluido
Saponinas	++	+++	+++
Flavonoides	-	+	+
Aminoácidos libres		-	-
Quinonas	-	+++	+++
Triterpenos o esteroides		-	-
Coumarinas		++	++
Fenoles o taninos	+	+	+
Resinas		-	-
Antocianidinas		+	+
Carbohidratos reductores		+	+
Alcaloides (W)		++	++
Alcaloides (M)		++	++
Principios amargos	+	+	+

-: ausencia, +: presencia, ++: abundante, +++: muy abundante, en blanco: no se realizó el análisis.

Estas formulaciones, 6 meses después de obtenidas mostraron estabilidad fitoquímica según los ensayos de identificación practicados (tabla 2).

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico realizado a la tintura 20 % y al extracto fluido de las hojas de *Rheedia aristata*, 6 meses después de obtenidos

Ensayos de identificación	Extracto fluido	Tintura 20 %
Saponinas	+++	+++
Flavonoides	+	+
Aminoácidos libres	-	-
Quinonas	+++	+++
Triterpenos o esteroides	-	-
Coumarinas	++	++
Fenoles o taninos	+	+
Resinas	-	-
Antocianidinas	+	+
Carbohidratos reductores	+	+
Alcaloides (M)	++	++
Alcaloides (W)	++	++
Principios amargos	+	+

-: ausencia, +: presencia, ++: abundante, +++: muy abundante.

En la tabla 3 se muestran los resultados de las determinaciones de algunos parámetros que se utilizaron como indicadores para evaluar la calidad de la tintura 20 % y el extracto fluido.

Tabla 3. Control de calidad realizado a la tintura 20 % y al extracto fluido de hojas de *Rheedia aristata*

Parámetros de calidad	Tintura 20 %		Extracto fluido	
	Después de estabilizado	6 meses después	Después de estabilizado	6 meses después
Densidad (g/mL)	0,9314	0,9314	0,9576	0,9520
Sólidos totales (%)	2,8	2,8	2,9	2,9
Índice de refracción	1,3678	1,3678	1,3754	1,3735
pH	5,06	5,06	5,03	5,03

DISCUSIÓN

Se demostró en la decocción de saponinas la presencia de metabolitos que presentan agrupaciones atómicas de elevada polaridad y reconocida acción tensoactiva, antiséptica, expectorante y analgésica,^{1,21,22} así como fenoles, que son sustancias a las cuales se les ha reconocido acción antibacteriana,²³ que puede estar relacionada con el uso que la población le atribuye, como expectorante, contra el asma, la bronquitis y la pulmonitis, cuando son utilizados por vía oral y en la cura de heridas, picadas de insectos u otras afecciones de la piel.^{7,8,11}

La gran diversidad de metabolitos secundarios en la tintura 20 % y el extracto fluido (cumarinas, saponinas, flavonoides, azúcares reductores y quinonas) es una muestra del potencial que poseen las extracciones etanólicas en la obtención de diversos compuestos naturales, alertada por Cseke y otros,²⁴ y que pudieran estar contenidos en preparados con posibles actividades biológicas (antibacteriana, antifúngica, cicatrizante, expectorante y protectora de las vías respiratorias), de interés para la producción de fitomedicamentos. Comparando los resultados de la composición fitoquímica preliminar de la decocción con el extracto fluido y la tintura 20 %, se comprobó que las extracciones hidroetanólicas son más efectivas en la separación de sustancias con mayor diversidad estructural.

Los valores reflejados en la tabla 3 indican que, en las condiciones descritas, los parámetros de calidad han permanecido sin alteraciones significativas durante 6 meses, por tanto, es lógico considerar que la composición y calidad de la tintura 20 % y el extracto fluido de las hojas de la planta estudiada no han experimentado cambios relevantes en este período que puedan comprometer su calidad farmacéutica, coincidiendo con estudios similares realizados a esta clase de preparaciones farmacéuticas obtenidas de *Cassia uniflora*.²⁵ Para la tintura se obtiene una densidad relativa a 25 °C que se ajusta a las normas empleadas para este tipo de extracto. La existencia de 2,8 g de sólidos totales por cada 100 mL de tintura sugiere que los compuestos disueltos se encuentran concentrados. El índice de refracción medido a 25 °C alcanzó un valor de 1,3678, superando al determinado para el agua destilada

(1,3330) y que coincide con el reportado.²⁵ El valor de pH igual a 5,06 indica la existencia de una tendencia a que prevalezcan compuestos ácidos, lo que pudiera ocasionar catálisis ácida,^{25,26} por lo tanto, sería prudente la realización de estudios de estabilidad en formulaciones farmacéuticas que se originen a partir de la tintura 20 % y el extracto fluido de las hojas de esta planta.

Para el extracto fluido los valores observados de los sólidos totales y del pH son iguales (2,9 % y 5,3) respectivamente, mientras que la densidad relativa 6 meses después es menor en 0,0050 g/mL y el índice de refracción 0,0019. Considerando que las diferencias observadas son extremadamente pequeñas, puede concluirse que el extracto fluido es estable en las condiciones estudiadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sandoval DI, Oquendo MS. Estudio fitoquímico preliminar de detección de alcaloides y saponinas en plantas que crecen en Cuba. Rev Cubana Farm. 1990;24(2):288-96.
2. Dominicis ME, Oquendo MS, Batista M, Herrera P. Tamizaje de alcaloides y saponinas de plantas que crecen en Cuba II. Península de Guanahacabibes. Rev Cubana Farm. 1995;29(1):52-7.
3. Fernández HC, Batista MB, Sarduy RD. Tamizaje de alcaloides y saponinas de plantas que crecen en Cuba III. Sierra del Rosario. Rev Cubana Farm. 1995;29(1):58-64.
4. Payo A, Oquendo M, Oviedo R. Tamizaje fitoquímico preliminar de plantas que crecen en Holguín. Rev Cubana Farm. 1996;30(2):120-31.
5. Scull RL, Miranda MM, Infante RE. Plantas medicinales de uso tradicional en Pinar del Río. Estudio etnobotánico I. Rev Cubana Farm. 1998;32(1):57-62.
6. Fuentes V, Granda MM. Estudios sobre la Medicina Tradicional en Cuba III. Rev Cubana Farm. 1988;22(3):77-90.
7. Roig JT. Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba. t.1. 2da ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1992. p. 605-6.
8. Manajú [citado 9 May 2010]. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Rheediaaristata>
9. Cuba. Ministerio de Salud Pública. NRSP No. 309. Medicamentos de origen vegetal: droga cruda. Métodos de ensayos. La Habana: MINSAP; 1992.
10. Carballo C, Alfaro T, Rodríguez CA, Ramos SR, Palazón Z. Desinfección química de *Pedilanthus tithymaloides* L. Poit. Rev Cubana Plant Med. 2005;10(2). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol10_2_05/pla12205.htm
11. Morales León JA, Fonseca García A, Almeida Saavedra M, Morales G, Torres Rodríguez. Tamizaje fitoquímico de *Cassia uniflora* Mill. Rev Cubana Plant Med. 2011;16(4):331-6.
12. León AHno. Flora de Cuba. Suplemento. La Habana: Instituto del Libro; 1974.
13. Cuba. Ministerio de Salud Pública. NRSP No. 313. Métodos de ensayos a partir de drogas crudas. La Habana: MINSAP; 1998.
14. Ministerio de Salud Pública. Guía metodológica para la investigación en plantas medicinales. La Habana: Editorial Pueblo y Educación; 1997.

15. Cuba. Ministerio de Salud Pública. NRSP No. 312. Métodos de ensayos para la determinación de los requisitos de los extractos fluidos y tinturas. La Habana: MINSAP; 1998.
16. Payo A. Tamizaje fitoquímico preliminar de especies del género *Croton* L. Rev Cubana Farm. 2001; 35(3):203-6.
17. Peña A, Torres E. Monografía de Productos Naturales. Granma, Cuba. Universidad de Granma; 2006.
18. NC 92-02. Control de la calidad. Muestreo de líquidos. La Habana: Normas Cubanas; 2009.
19. WHO/PHARM/92.559/rev.1. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: Organisation Mondiale De La Sante; 1992. p. 22-34. Available at: <http://books.google.com/cu/books?id=4LazhtBDub0C&pg=PA112&lpg=PA112&dq=Quality+control+methods+for+medicinal+plant>
20. NC 90-13-11. Aseguramiento metrológico. Refractómetros. Reglas generales para efectuar determinaciones refractométricas. La Habana: Normas Cubanas; 2009.
21. De Combarieu E, Fuzzati N, Lovati M, Mercalli E. Furostanol saponins from *Tribulus terrestris*. Fitoterapia. 2003; 74(6):583-91.
22. Martínez AM. Saponinas esteroides. Monografía. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia; 2001.
23. Konate K, Hilou A, Mavoungou JF, Lepengué AN, Souza A, Barro N, et al. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L. (Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. Ann Clin Microbiol Antimicrobials. 2012; 11:5. Available at: <http://www.ann-clinmicrob.com/content/11/1/5>
24. Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber S, Duke JA, Brielmann HL. Natural products from plants. 2nd ed. New York: CRC Press Taylor & Francis Group; 2006. p. 377-9.
25. Morales León JA, Jiménez Viltre M, Fonseca García A, Almeida Saavedra M, Morales Torres G. Control de la calidad de formulaciones farmacéuticas obtenidas de *Cassia uniflora* Mill. Rev Habanera Ciencias Med. 2011; 10(4):532-9.
26. Vila Jato JL. Tecnología Farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas. Madrid: Ed. Síntesis; 1997.

Recibido: 28 de marzo de 2012.

Aprobado: 8 de marzo de 2013.

Robinson Hermosilla Espinosa. Centro de Estudios de Química Aplicada. Facultad de Ciencias Técnicas. Universidad de Granma. Bayamo, Cuba. Correo electrónico: rhermosillae@udg.co.cu