

Tamizaje fitoquímico de tres especies del desierto del Sahara Occidental

Phytochemical screening of three species of Western Sahara

DrC. Adonis Bello Alarcón,^I MSc. Brahim Said Labeid,^{II} MSc. Raisa Mangas Marín,^{III} Lic. Yalepsy Rubio Delgado^{III}

^I Facultad de Química. Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

^{II} Laboratorio de Producción. Instituto de Ecología y Sistemática de la República de Arabia Saudita.

^{III} Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: las plantas que crecen en el desierto requieren de características especiales para adaptarse a las condiciones adversas de esta región. Dentro de estos se destacan los géneros *Pergularia*, *Hammada* y *Rhus*, al poseer estructuras y mecanismos que les confieren una gran versatilidad en cuanto a sus usos medicinales. Las investigaciones encaminadas al estudio de su composición química y actividad biológica son limitadas.

Objetivo: determinar la composición química preliminar de extractos de diferente polaridad de las especies *Pergularia tomentosa* L. (*Apocynaceae*), *Hammada scoparia* L. (*Amaranthaceae*) y *Rhus tripartita* L. (*Anacardiaceae*).

Métodos: los materiales vegetales empleados fueron las hojas y las ramas de las especies. En el momento de la colecta no existía ni floración, ni fructificación en estas especies vegetales. Se realizó un proceso de extracción por maceración, se empleó etanol. A partir de éste extracto se efectuó un fraccionamiento preliminar y se usó disolventes de diferente polaridad; el hexano, acetato de etilo, metanol y butanol. A todas estas fracciones se le realizó un tamizaje fitoquímico.

Resultados: los metabolitos secundarios encontrados en la identificación preliminar de las tres especies fueron; los alcaloides, azúcares reductores, compuestos con agrupamientos lactónicos y compuestos fenólicos.

Conclusiones: en las tres especies, las fracciones metanólicas fueron las que mostraron una mayor variedad de metabolitos secundarios.

Palabras clave: *Pergularia*, *Hammada*, *Rhus*, tamizaje fitoquímico, alcaloides, azúcares reductores, agrupamientos lactónicos, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

Introduction: plants growing in deserts require special characteristics to survive under the extreme conditions of these regions. Inside these groups of plants are the genus *Pergularia*, *Hammada* and *Rhus* having a great versatility of medical uses. Investigations about chemical composition and biological activities of these genres are limited.

Objective: to determine the preliminary chemical composition of extracts from different polarity of *Pergularia tomentosa* L. (*Apocynaceae*), *Hammada scoparia* (*Amaranthaceae*) and *Rhus tripartita* L. (*Anarcadiaceae*).

Methods: plant materials used were the leaves and branches of the species. At the time of collection there was not flowering or fruiting in these plants. Extraction procedure was carried out by maceration with methanol. From this extract preliminary fractionation was done using solvents with different polarity: hexane, ethyl acetate, methanol and butanol. All these fractions were phytochemical screened.

Results: the secondary metabolites found in the preliminary identification of the three species were: alkaloids, reducing sugars, compounds with lactone groups and phenolic compounds.

Conclusions: in the three species, the methanolic fractions showed the most variety of secondary metabolites.

Key words: *Pergularia*, *Hammada*, *Rhus*, phytochemical screening, alkaloids, reducing sugars, lactone groups, phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

La distribución de la riqueza natural en el planeta ha provisto a cada región de una biodiversidad caracterizada por géneros de plantas que pueden considerarse únicos. Una región que posee características especiales, es el desierto, debido a la aridez y la sequía; sin embargo, géneros como *Pergularia*, *Hammada* y *Rhus* se han adaptado a mencionadas condiciones adversas. En estas regiones inhóspitas del planeta, muchas de estas plantas se utilizan para sanar heridas producidas por mordeduras de serpiente, para la caída del cabello, reumatismo y úlceras, entre otras afecciones.

En los últimos años, nuevas investigaciones en estos géneros de plantas han revelado la gran importancia medicinal de las mismas, no tan sólo tradicional, sino también farmacológica, lo que hace de ellos una fuente interesante de compuestos activos que pueden ser utilizados con diversos fines. Dentro de las principales acciones descritas se encuentran la actividad antitumoral,¹ hepatoprotectora, antioxidante,² antiinflamatoria³ y antibacteriana.^{4,5}

Los estudios de composición química, aunque en relación menor, han demostrado que muchas especies de estos géneros son una importante fuente de metabolitos secundarios. Dentro de estos compuestos la literatura refiere la presencia de glicósidos esteroidales,^{6,7} triterpenos,⁸ flavonoides^{9,10} y alcaloides.^{11,12} En esta investigación se pretende comenzar el estudio químico de estas tres especies, a partir de un tamizaje fitoquímico.

MÉTODOS

Material vegetal

Los materiales vegetales empleados para este trabajo fueron las ramas y las hojas de las especies *Pergularia tomentosa* L. y *Hammada scoparia* L., y las hojas de la especie *Rhus tripartita* L. La recolección se realizó en la región desértica de Mheiriz, Sahara Occidental, en el mes de diciembre del año 2012. Los materiales vegetales empleados fueron identificados por el DrC. *Ildefonso Barrera Martínez* y una muestra de los ejemplares se conserva en el herbario del Instituto de Ecología y Sistemática de la República de Arabia Saudita (# 401, 402, 403). En el momento de la colecta no existía ni floración, ni fructificación en estas especies vegetales. Las muestras tomadas de cada especie se trituraron manual y se sometieron a un proceso de secado a la sombra. Una vez llegadas al laboratorio (60 días después) se secaron en estufa (MLW MK 100, China) a 40 °C hasta obtener peso constante.

Preparación de extractos

El método de extracción seleccionado fue la maceración, utilizándose etanol como disolvente para las tres especies. Los extractos se concentraron a sequedad bajo presión reducida en un rotoevaporador (Büchi) a una temperatura de 40 °C (baño de María Büchi) para lo cual se emplearon una bomba de vacío (MLW (2DSE4), Alemana) y un criostato (MLW (MK 70)), con valores que oscilaron alrededor de los -10 °C.

Cada uno de los extractos secos obtenidos, fueron sometidos a un proceso de fraccionamiento preliminar. Se empleó disolventes en orden creciente de polaridad: hexano, acetato de etilo, metanol y butanol (fracciones A, B, C y D, al respecto).

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se le realizó a todas las fracciones de cada una de las especies según la metodología descrita por *Miranda y Cuéllar*.¹³ Se emplearon pruebas o técnicas simples, rápidas y selectivas para la determinación de los diferentes metabolitos secundarios presentes en las fracciones. Los ensayos seleccionados fueron: *Lieberman-Burchard*, *Fheling*, *FeCl₃*, *Ninhidrina*, *Dragendorff*, *Mayer*, *Baljet*, *Shinoda* y *Kedde*.

RESULTADOS

Al realizar los ensayos seleccionados para el tamizaje fitoquímico se obtuvieron los resultados presentados en la tabla. A partir de la identificación preliminar de los principales metabolitos en estas especies, se pudo comprobar la variedad de los mismos, fundamental en los extractos metanólicos.

Tabla. Resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico para cada uno de los extractos de las tres especies

Ensayos	<i>P. tomentosa</i>				<i>H. scoparia</i>				<i>R. tripartita</i>			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
Dragendorff			+++				+++				++	
Mayer			+++				+++				+++	
Baljet		+++	+++			++	++			+++	+++	
Borntrager	-	-			-	-			-	-		
Lieberman - Burchard	++	++			++	-			++	++		
Fheling			+++	+++			+++	+++			+++	+++
FeCl ₃	-	+++	+++		+++	-	+++		-	+++	+++	
Ninhidrina			+++				+++				-	
Shinoda		+++	+++			-	+++			-	+++	
Kedde	-	-			-	-			-	-		

Ausencia (-), Presencia marcada (++) , Abundancia (+++); los espacios en blanco significan ensayos no realizados.

Los extractos de hexano (A) aportaron resultados positivos para el ensayo de *Lieberman-Burchard* en las tres especies en estudio, obteniéndose una coloración verde oscuro lo cual es característico de compuestos triterpénicos y/o esteroidales. Además, en el caso de la *H. scoparia*, esta fracción también dio positiva en el ensayo con cloruro férrico, lo que es indicativo de la presencia de compuestos fenólicos.

En el caso de los extractos de acetato de etilo (B) se presentaron resultados positivos al realizar el ensayo de *Baljet* para las tres especies, característico de agrupamientos lactónicos. Por otra parte, los ensayos de *Lieberman-Burchard* y cloruro férrico aportaron resultados positivos para las especies *P. tomentosa* y *R. tripartita*, se sugirió la presencia de compuestos triterpénicos y/o esteroidales y de compuestos fenólicos, al respecto. Además, el extracto de la *P. tomentosa* mostró resultados positivos en el ensayo de *Shinoda*, indicativo de la presencia de flavonoides.

Para el caso de los extractos metanólicos (C) se obtuvo un mayor número de resultados positivos para todas las especies. En los ensayos de *Dragendorff* y *Mayer* se obtuvo un precipitado, lo que sugiere la presencia de alcaloides; *Baljet* indicó la presencia de agrupamientos lactónicos. En el ensayo del cloruro férrico se observó el desarrollo de una coloración verde intensa lo que sugiere la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos. El ensayo de *Fheling* permitió reconocer la presencia de azúcares reductores, debido a la formación de un precipitado; mientras que el ensayo de *Shinoda* mostró resultados positivos lo que sugiere la presencia de flavonoides en los extractos metanólicos de las tres especies. Por último, el ensayo

de la *Ninhydrina* expuso la formación de un color azul violáceo, lo que es indicativo de la presencia de aminoácidos libres o aminas en las especies *P. tomentosa* y *H. scoparia*.

Al final se evaluaron los extractos butanólicos (D), los cuales mostraron resultados positivos para el ensayo de *Fheling*, lo que sugiere la presencia de azúcares reductores en las fracciones para las tres especies en estudio.

DISCUSIÓN

A partir de este tamizaje fitoquímico es posible sugerir la presencia de compuestos triterpénicos y/o esteroidales, de azúcares reductores, alcaloides, flavonoides, compuestos con agrupamientos lactónicos y compuestos fenólicos en las especies *P. tomentosa*, *H. scoparia* y *R. tripartita*. Estos resultados están en concordancia con lo planteado en la literatura para estas especies, donde se ha determinado la presencia de esteroides libres o glicosilados, terpenoides, en su mayoría glicosilados, alcaloides y flavonoides en *P. tomentosa*,^{6,8,14} así como de flavonoides y alcaloides en lo fundamental, en la especie *H. scoparia*.^{9,12} Además, se han identificado flavonoides en la especie *R. tripartita*, terpenos y esteroides en otras especies del género *Rhus*.^{7,10,15-17}

Por otra parte, los ensayos *Kedde* y *Borntrager* mostraron resultados negativos, lo cual podría sugerir la ausencia de glicósidos cardiotónicos y quinonas en las especies en estudio. Sin embargo, existen reportes de la presencia de glicósidos cardiotónicos en la especie *P. tomentosa*.⁵

En el tamizaje fitoquímico, los resultados negativos deben ser con mucho cuidado evaluados, ya que pueden estar ocasionados por la ausencia real del tipo de compuesto en el material evaluado o por la metodología empleada.¹⁸ En el caso particular mencionado antes, el resultado negativo encontrado pudiera también deberse a la sensibilidad del método, el cual tal vez no sea lo suficiente sensible, para detectar la presencia de este grupo de metabolitos secundarios en las cantidades que se encuentra en las fracciones en estudio.

Dentro de todos los extractos estudiados para las tres especies, los que emplearon como disolvente el metanol, fueron los que presentaron una mayor variedad en su composición química. Los resultados pudieran estar relacionados con la posibilidad que tiene el metanol de extraer metabolitos de diferente polaridad, muchos de los cuales pudieran tener polaridad de intermedia a alta. Además, de tratarse de especies diferentes, presentan una localización geográfica cercana que pudiera influir en su composición química. Las características del suelo y el clima son factores que pueden influir en la vida de un vegetal, dado el papel decisivo que juegan en la composición química de una droga en el momento de su recolección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bourogaa E, Bertrand J, Despeaux M, Jarraya R, Fabre N, Payrastre L, et al. *Hammada scoparia* flavonoids and rutin kill adherent and chemoresistant leukemic cells. *Hematology Week*. 2011;35(8):1093-101.

2. Jung CH, Kim JH, Kim JH, Chung JH, Choi HS, Seo JB, et al. Anti-inflammatory effect of *Rhus verniviflua* Stokes by suppression of iNOS-mediated Akt and ERK pathways: in-vitro and in-vivo studies. *J Pharm Pharmacol.* 2011;63(5):679-87.
3. Jung CH, Kim JH, Hong MH, Seog HM, Oh SH, Lee PJ, et al. Phenolic-rich fraction from *Rhus verniviflua* Stokes (RVS) suppresses inflammatory response via NF-kappaB and JNK pathway in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *J Ethnopharmacol.* 2007;110(3):490-7.
4. Suk KT, Kim HS, Kim MY, Kim JW, Uh Y, Jam IH, et al. In vitro Antibacterial and Morphological Effects of the Urushiol Component of the Sap of the Korean lacquer tree (*Rhus vernicifera* Stokes) on *Helicobacter pylori*. *J Korean Med Sci.* 2011;25(3):399-404.
5. Mahalel UA. Antibacterial sensitivity for some chemically diverse steroidal glycosides in vitro. *J Agric Soc Sci.* 2012;8:24-8.
6. Hamed AI, Plaza A, Balestrieri ML, Mahalel UA, Springuel IV, Oleszek W, et al. Cardenolide glycosides from *Pergularia tomentosa* and their proapoptotic activity in Kaposi's sarcoma cells. *J Nat Prod.* 2006;69(9):1319-22
7. Yuruker A, Orjala J, Sticher O, Rali T. Triterpenes from *Rhus taitensis*. *Phytochemistry.* 1998;48(5):863-6.
8. Babaamer ZY, Sakhri L, Al-Jaber HI, Al-Qudah MA, Abu Zarga MH. Two new taraxasterol-type triterpenes from *Pergularia tomentosa* growing wild in Algeria. *J Asian Nat Prod Res.* 2012;14(12):1137-43.
9. Benkrief R, Brum-Bousquet M, Tillequin F, Koch M. Alkaloids and flavonoid from aerial parts of *Hammada articulata ssp. scoparia*. *Ann Pharm Fr.* 1990;48(4):219-24.
10. Van Loo P, De Bruyn A, Verzele M. On the liquid chromatography and identification of the flavonoids, present in the "Sumac Tannic Acid" extracted from *Rhus coriaria*. *Chromatograph.* 1988;25(1):15-20.
11. Mulchandani N, Venkatachalam SR. Alkaloids of *Pergularia pallida*. *Phytochemistry.* 1976;15(10):1561-3.
12. Jarraya RM, Bouaziz A, Hamdi B, Ben Salah AB, Damak M. N-Methyl-isosalsoline from *Hammada scoparia*. *Acta Crystallogr.* [Revista on line] 2008 [citado 5 May 2014];64(Pt 9):o1714. doi: >10.1107/S160053680802477X.
13. Miranda M, Cuéllar A. Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos. Ciudad Habana: Félix Varela; 2000.
14. Karthishwaran K, Mirunalini S, Dhamodharan G, Krishnaveni M, Arulmozhi V. Phytochemical Investigation of Methanolic Extract of leaves of *Pergularia daemia*. *J Biol Sci.* 2010;10(3):242-6.
15. Shabana MM, El Sayed AM, Yousif MF, El Sayed AM, Sleem AA. Bioactive constituents from *Harpephyllum caffrum* B. and *Rhus coriaria*. *L Phcog Mag.* 2011;7(28):298-306.

16. Lee JC, Kim J, Lim KT, Yang MS, Jang YS. Ethanol eluted extract of *Rhus verniciflua* Stokes showed both antioxidant and cytotoxic effects on mouse thymocytes depending on the dose and time of the treatment. J Biochem Mol Biol. 2001; 34:250-8.
17. Rayne S. Chemical Profiles of Essential Oils and Non-Polar Extractables from Sumac (*Rhus* spp.). Nature Precedings; 2011. doi:10.1038/npre.2011.5926.1.
18. Farnsworth NR. Biological and Phytochemical screening of plants. J Pharm Sci. 1966;55(3):225-76.

Recibido: 14 de julio de 2014.
Aprobado: 5 de enero de 2015.

MSc. *Raisa Mangas Marín*. Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL), Universidad de La Habana, Avenida 23, número 21425. Lisa, La Habana, Cuba.
Correo electrónico: raisam@ifal.uh.cu