

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Laboratorio de Medicina Herbaria

DROGA CRUDA Y EXTRACTO FLUIDO DE *Tecoma stans* L.

MSc. Aida Corral Salvadó,¹ Lic. Gladys Jiménez Rivero² y MSc. José de la Paz Naranjo³

Resumen

En el presente trabajo se realizó el tamizaje fitoquímico de la especie *Tecoma stans* L., tanto para la planta seca como fresca. Posteriormente se estandarizó la droga cruda; y a partir de ella se elaboró un extracto fluido por percolación con etanol al 70 % el cual también fue estandarizado. Se realizó la identificación de los flavonoides presentes en la droga y el extracto por cromatografía en capa delgada, y se encontró en ambos casos, según el patrón empleado, la presencia de apigenina.

DeCS: PLANTAS MEDICINALES/química; ALCALOIDES; MEDICINA TRADICIONAL; CROMATOGRFIA EN CAPA DELGADA.

Summary

Presently work was carried out the phytochemical screening to the species *Tecoma stans* L. so much to the fresh plant as dry. Later on the raw drug was standardized; and starting from it got ready a fluid extract for percolation with ethanol 70 % which was also standardized. It carried out the identification of the present flavonoides in the drug and the extract from thin layer chromatography, being obtained in both cases the presence of Apigenine according to the pattern employee.

Subject headings: PLANTS, MEDICINAL/chemical; ALKALOIDS; MEDICINE, TRADITIONAL; CHROMATOGRAPHY, THIN LAYER.

Del *Tecoma stans* L. conocido vulgarmente como saúco amarillo, corneta amarilla, flor amarilla, flor de San Pedro, de la familia Bignonaceae y al que se lo atribuyen en Cuba propiedades diuréticas, vermífugas, estomacales, antisifilíticas e hipoglicemiantes, sólo se encontraron 2 artículos publicados que abordan el estudio fitoquímico y sugieren que los alcaloides pudieran ser los metabolitos secundarios responsables de la acción hipoglicemiante.^{1,2}

En Cuba, México, Estados Unidos, India y Guatemala la especie *Tecoma stans* L. es utilizada según la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes mellitus, y además se corresponde con los resultados obtenidos por varios especialistas al evaluar diferentes preparaciones galénicas en modelos experimentales que así lo acreditan, por estos motivos se determinó estudiar la droga cruda y el extracto fluido obtenido a partir de la especie que crece en Cuba.

Métodos

Se analizó la planta *Tecoma stans* L. colectaba en los alrededores del Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto" en el municipio de Habana del Este, Ciudad de La Habana, en los meses transcurridos desde julio de 1999 hasta febrero del 2000, así como en los meses de marzo a junio del 2001.

La parte de la planta que se utilizó fueron las hojas, que se colectaron de forma manual. Posteriormente se beneficiaron mediante lavado y se sometieron a secado en estufa con recirculación de aire a una temperatura entre 37 y 40 °C durante 48 h. El material secado fue molido de forma mecánica y se obtuvo un producto de partículas gruesas.

En la etapa de recolección de las hojas, la planta se encontraba en estadio de floración. La especie fue previamente

¹ Master en Tecnología y control de Medicamentos. Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigadora Agregada.

² Licenciada en Ciencias Farmacéuticas.

³ Master en Bioquímica Clínica. Licenciado en Bioquímica.

clasificada con el número 691 del Herbario de Plantas Económicas del Instituto de Investigaciones Fundamentales de la Agricultura Tropical «Alejandro de Humbolt».

ESTUDIO FITOQUÍMICO

El estudio fitoquímico se realizó a las hojas de las plantas fresca y seca. El método empleado fue el descrito por el Departamento de Farmacognosia de la Universidad Médica de Budapest, Hungría.

ANÁLISIS FARMACOGNÓSTICO

Para realizar el estudio de la droga cruda se hicieron las determinaciones que se exigen en la Norma Ramal de Salud Pública N° 309, así como el estudio de la epidermis foliar y del polvo, además de la propuesta de identificación que aparece a continuación:

De la muestra de laboratorio previamente pulverizada y tamizada, se pesaron 5 g y se transfirieron a un frasco cónico con tapa de 250 mL; se añadieron 100 mL de alcohol al 70 %. Se agitó durante 6 h y se dejó en reposo hasta el día siguiente; se agitó 30 min, se dejó reposar alrededor de 30 min y se filtró por papel de filtro semirápido. El filtrado se colectó en matraz aforado de 100 mL y se enrasó considerándose esta como la solución muestra. Se tomó una alícuota de 15 µL que se punteó en placa fina de silicagel GF 254, utilizando como sistema de solvente tolueno: acetato de etilo: ácido fórmico en proporciones 5:4:1 y como relevador tricloruro de aluminio en etanol al 5 % y luz ultravioleta.

En la placa se punteó además como patrón de referencia apigenina en concentraciones de 2, 4, 6, y 8 µg/mL. A la solución muestra se le realizaron los ensayos de Dragendorff para la determinación de alcaloides pues existe literatura que refiere que estos son los responsables de la acción hipoglicemiente,^{1,2} y el ensayo de Shinoda para flavonoides pues es de los metabolitos más abundante en la especie y existen referencias que plantean que estos pudieran ser los responsables de la acción farmacológica que se le atribuye.^{3,4}

TECNOLOGÍA

El extracto fluido fue preparado con el material vegetal seco y molido. Se empleó el método de percolación en un solo paso, como se describe en la Norma Ramal de Salud Pública N° 311.

El menstuo seleccionado fue alcohol etílico al 70 % y el proceso de percolación se uniformó a 24 h en todos los casos.

CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO FLUIDO

Para realizar el estudio de estas formas farmacéuticas se hicieron las determinaciones que establece la Norma Ramal de Salud Pública N° 312.

Además, se propone la identificación de metabolitos secundarios (alcaloides y flavonoides) que se suponen sean los responsables de la acción farmacológica que se investigó y que la literatura científica así lo refiere; también un método de identificación, basado en cromatografía en placa delgada como se muestra a continuación.

De la muestra de ensayo se tomó una alícuota de 10 µL y se punteó directamente en la placa de silicagel GF 254, utilizando como sistema de solvente tolueno: acetato de etilo: ácido fórmico en proporciones 5:4:1. En la corrida de los extractos se punteó además como patrón de referencia apigenina en concentraciones de 2, 4, 6 y 8 µg/mL.

Además se utilizó otro sistema de solvente comúnmente conocido para flavonoides como es el BAW que es el n butanol: ácido acético: agua en proporciones 4:1:5, y como revelador para ambos casos el tricloruro de aluminio en etanol al 5 % y luz ultravioleta.

En el caso del sistema de solventes BAW, no sólo se reveló con tricloruro de aluminio sino que también se hizo con vapores de amoníaco, para tratar de identificar posibles tipos de flavonoides presentes en el extracto, atendiendo al cambio de coloración que presentan las manchas ante los diferentes reveladores, según bibliografía consultada.⁵

Resultados

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Los resultados del tamizaje fitoquímico mostraron la presencia de triterpenos y esteroides, azúcares reductores, fenoles y taninos, alcaloides y flavonoides, tanto para la planta fresca como seca.

ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

Los resultados en los diferentes lotes de la droga del estudio farmacognóstico se muestran en la tabla 1.

De acuerdo con el estudio macromorfológico las hojas se caracterizaron de la forma siguiente: son hojas compuestas, imparipinnadas, pecioladas de 5-13 foliolos, principalmente de 7-9, foliolos lanceolados, agudos o acuminados en el ápice y estrechados o cuneados en la base, con bordes serrados y nervios algo pilosos.

En lo referente a las características micromorfológica, se observó en el corte transversal de la hoja, cutícula gruesa: una capa de células en la epidermis del haz, una capa de parénquima en empalizada, parénquima lagunar laxo y una capa de células epidérmicas en el envés, estomas hundidos y tricomas dendríticos unicelulares.

TABLA 1. Control de calidad de los diferentes lotes de droga cruda

Cosechas	Requisitos Macromorfológicos	Requisitos micromorfológicos	Cenizas totales (%)	Cenizas solubles en agua (%)	Cenizas insolubles en ácido (%)	Contenido de humedad (%)	Sustancias solubles (%)	Identificación de alcaloides	Identificación de flavonoides	Identificación cromatográfica
Jul 1999	Responde	Responde	4,38	1,53	0,52	14,09	28,73	Responde	Responde	Responde
Ago 1999	Responde	Responde	5,60	2,70	0,83	13,76	22,75	Responde	Responde	Responde
Sep 1999	Responde	Responde	7,66	1,42	0,58	15,46	24,87	Responde	Responde	Responde
Oct 1999	Responde	Responde	4,50	2,66	0,07	14,51	21,83	Responde	Responde	Responde
Nov 1999	Responde	Responde	5,27	2,79	0,85	13,83	14,50	Responde	Responde	Responde
Dic 1999	Responde	Responde	3,54	2,58	0,83	12,67	18,92	Responde	Responde	Responde
Ene 2000	Responde	Responde	2,88	1,77	0,38	13,38	16,75	Responde	Responde	Responde
Feb 2000	Responde	Responde	4,50	2,66	0,05	14,26	20,72	Responde	Responde	Responde
Mar 2001	Responde	Responde	4,60	2,05	0,38	7,20	32,00	Responde	Responde	Responde
Abr 2001	Responde	Responde	5,25	2,62	0,84	12,00	19,19	Responde	Responde	Responde
May 2001	Responde	Responde	4,49	1,07	0,36	9,70	30,03	Responde	Responde	Responde
Jun 2001	Responde	Responde	5,06	1,26	0,55	9,93	24,03	Responde	Responde	Responde

TABLA 2. Control de calidad de los diferentes lotes de extracto fluido

Lotes	Requisitos organolépticos	Índice de pH	Índice de refracción	Densidad relativa	Análisis capilar	Sólidos totales (%)	Contenido alcohólico (%)	Identificación de alcaloides	Identificación de flavonoides	Identificación cromatográfica
Jul 1999	Responde	5,2	1,387	1,008	Responde	15,69	55,12	Responde	Responde	Responde
Ago 1999	Responde	5,5	1,386	0,984	Responde	7,28	57,23	Responde	Responde	Responde
Sep 1999	Responde	5,5	1,376	0,974	Responde	8,80	56,90	Responde	Responde	Responde
Oct 1999	Responde	5,3	1,382	0,994	Responde	11,90	57,09	Responde	Responde	Responde
Nov 1999	Responde	5,7	1,371	0,956	Responde	5,98	56,56	Responde	Responde	Responde
Dic 1999	Responde	5,2	1,382	0,987	Responde	12,48	56,56	Responde	Responde	Responde
Ene 2000	Responde	5,0	1,380	0,979	Responde	12,16	55,84	Responde	Responde	Responde
Feb 2000	Responde	5,2	1,380	0,986	Responde	11,83	52,29	Responde	Responde	Responde
Mar 2001	Responde	4,9	1,379	0,991	Responde	14,70	55,12	Responde	Responde	Responde
Abr 2001	Responde	5,1	1,382	0,997	Responde	16,50	57,09	Responde	Responde	Responde
May 2001	Responde	5,0	1,372	0,978	Responde	11,10	55,84	Responde	Responde	Responde
Jun 2001	Responde	4,9	1,373	0,980	Responde	13,23	56,56	Responde	Responde	Responde

En el caso de la epidermis adaxial no se observaron estomas ni pelos, mientras en la cara abaxial se presentaron estomas rodeados de 6 células y abundantes bases de pelos de forma característica.

En cuanto al polvo se observaron las bases de los pelos características en forma de roseta, epidermis con una capa de células y parenquima en empalizada, así como pelos pluricelulares.

Los ensayos cualitativos de cambio de coloración son positivos por la presencia de un precipitado naranja para alcaloides y la coloración rojo intenso en la fase amílica para flavonoides.

ESTUDIO DEL EXTRACTO FLUIDO

Los resultados obtenidos en todos los lotes estudiados se muestran en la tabla 2.

Las características organolépticas del extracto fluido fueron las siguientes: líquido de color ámbar oscuro, transparente en capa fina y de olor característico.

El capilarograma obtenido en el análisis capilar del extracto presentó una imagen alta, de color pardo-amarillento. La franja, profundamente dentada, y en la banda se distinguió un color verdoso. Al ser expuesta a los vapores de amoníaco se intensificó el color amarillo en toda la imagen y posteriormente, a la luz ultravioleta se observó una ligera fluorescencia amarilla en la franja.

La identificación de alcaloides se consideró positiva por la respuesta evidente de un precipitado naranja, mientras el ensayo de flavonoides se definió al aparecer un color rojo oscuro intenso en la fase amílica, además de la indentificación obtenida por cromatografía de capa delgada.

Discusión

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Los resultados anteriores permitieron afirmar que los metabolitos encontrados para esta especie coincidieron con los referidos anteriormente por la literatura,¹⁻⁹ además no se encontraron diferencias evidentes entre los metabolitos presentes en la planta fresca y la seca, lo que dio idea de que los beneficios a la planta aplicados no afectaron su composición química.

ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

Atendiendo a los resultados obtenidos en el estudio farmacognóstico, aplicado bajo condiciones experimentales similares y a el número de lotes trabajados, se propusieron los siguientes índices para esta especie:

Contenido de humedad: máx 15 %
Cenizas totales: máx 6 %
Cenizas solubles en agua: máx 3 %
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico: máx 0,9 %
Contenido de sustancias solubles en alcohol al 70 %: mín 15 %

Además de cumplir con los requisitos micromorfológicos y macromorfológicos señalados anteriormente y la identificación por reacción colorimétrica, se logró la identificación de la droga cruda de esta especie, al obtener un cromatograma de 5 manchas bien definidas donde coincidió plenamente la tercera con la apigenina aunque en cuanto a intensidad puede ser definida como menor o igual que la mancha del patrón de apigenina correspondiente a 2 µg/mL.

ESTUDIO DEL EXTRACTO FLUIDO

Según los resultados obtenidos en el estudio, bajo similares condiciones experimentales en un número de 12 lotes, se propusieron los siguientes índices de calidad para este extracto:

PH: de 4,8 a 5,8
Índice de refracción: de 1,375 a 1,385
Densidad relativa: de 0,950 a 1,009
Sólidos totales: mín 6 %
Contenido alcohólico: mín 55 %

El extracto fluido respondió positivamente para todos los lotes a las reacciones colorimétricas de alcaloides y flavonoides, además y más específica aún la identificación por cromatografía en capa delgada en 2 sistemas de solventes.

Para el primer sistema de solvente se obtuvo una imagen con 3 manchas mayoritarias correspondiendo la tercera con la apigenina, es de destacar que al comparar la intensidad del patrón con las manchas de muestra se observó que estas son mayores que la mancha correspondiente a 8 µg/mL del patrón.

En el caso del sistema BAW se obtuvieron 8 manchas resultando las mayoritarias las manchas 4,6 y 7 con Rf 0,35;0,68 y 0,82 respectivamente.

En el caso del sistema de solventes BAW y NH₃ como revelador, los cambios de coloración obtenidos en las manchas 1 y 4 de invisible a azul infieren la presencia de isoflavonas carentes de la posición 5 OH libre, en el caso de la mancha 3 con cambios de pardo a naranja pudiera ser chalconas con posición 2 OH libre y/o la posición 4 OH libre y la mancha 5 que mantiene la coloración naranja pudieran ser los flavonoles con la posición 3 OH libre y con o sin la posición 5 OH libre.

Se puede concluir que se obtuvieron los valores para conformar las normas ramales de salud pública para la droga cruda y el extracto fluido de *Tecoma stans* L. Los métodos de identificación propuestos son válidos tanto para la droga cruda como para el extracto fluido. Por cromatografía en capa delgada se conoció de la presencia de apigenina tanto para la droga como para el extracto.

Referencias bibliográficas

1. Cuéllar A, Hernández R, Wasse M. Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar del *Tecoma stans* L. Rev Cubana Farm 1991;25(2):131-6.
2. Hammouda Y, Khalafallah N. Stability of tecomine, the major antidiabetic factor of *Tecoma stans* (Juss). J Pharm Sci 1971;6(Aug):1142-5.
3. Srivastava BK. A new flavone from the flowers of *Tecoma stans* L. Oriental J Chem 1994 (1):81-2.
4. Mngola EN. The uses of traditional medicines for diabetes. En: Karall LP. De. World book of diabetes in practices. England: Elsevier Science Publishers.1988.
5. Markham KR. Techniques of flavonoid identification. London: Academic Press; 1982.
6. Kainapuli SP, Vardyanathan CS. New indole from the leaves of *Tecoma stans* L. Part I. Affinity purification and properties. J Indian Inst Sc 1991;71(6):503-13.
7. Maheshwari JP, BarnejeeSK. Isolation of beta sitosterol from *Tecoma stans* H.B.K. Indian J Pharm 1970;32:159.
8. Nagata K, Hirai KI, Koyama J, Wada Y, Tamura I. Antimicrobial activity of novel furanonaphthoquinone analogs. Antimicrobial Agents Chemother 1998;42(3):700-2.
9. Binutu OA, Lajubutu BA. Antimicrobial potentials of some plants species of the Bignonaceae family. Afr Med Sci 1994;23(3):269-73.

Recibido: 19 de marzo de 2002. Aprobado: 7 de junio de 2002. MSc. *Aida Corral Salvadó*. Instituto Superior de Medicina Militar «Dr. Luis Díaz Soto». Laboratorio de Medicina Herbaria. Avenida Monumental y Carretera del Asilo. Ciudad de La Habana. CP 11700, Cuba. E-mail: ismmds@infomed.sld.cu