

MARCHA FITOQUIMICAA DE *Aristiguetia gayana*, "ASMACHILCA"

Espinoza Tomayquispe, Pedro Augusto, Leonardo Ore, Jazmine Raissa, Arévalo Ortiz, Fermín Humberto.

Departamento de Química, Universidad Agraria la Molina, Lima, Perú - 2014

INTRODUCCIÓN

A través del desarrollo de la cultura humana existen pruebas irrefutables del uso de plantas en nuestro país desde tiempos prehispánicos. Los antiguos pobladores dominaban su empleo medicinal, el cual se fue perfeccionando a través de los años y, gracias a una adecuada organización en la agricultura, les permitió emplear una gran variedad de plantas, no solo para la alimentación sino también para curar sus enfermedades. Estos conocimientos han llegado hasta nosotros gracias a las costumbres y las tradiciones de nuestros ancestros, cuyo uso debemos revalorar y orientar teniendo en cuenta la investigación científica que permite establecer no solo la efectividad y la bondad terapéutica, sino también la seguridad con que los pacientes pueden emplearlos sabiendo que su uso está especialmente orientado a la atención primaria en la cual el tratamiento es sintomático (1). Mucha gente cree que las medicinas tradicionales son seguras. Esta creencia tan generalizada se basa en que todo lo que es natural es bueno y sano por oposición a lo sintético, también se basa en la creencia de que las plantas se han empleado en medicina natural durante mucho tiempo y, por lo tanto, su seguridad estaría confirmada por siglos de experimentación. Para la validación científica de la práctica tradicional es de gran importancia el estudio de los vegetales que utiliza la medicina folclórica, porque mediante esos estudios se puede demostrar la composición química y los principios activos que poseen. La información obtenida de la investigación de los compuestos de origen vegetal de las principales especies de uso tradicional en el tratamiento de enfermedades y otros usos ayuda a comprender la fisiología y la bioquímica de los organismos que los producen y lograr su mejor aprovechamiento con fines científicos y económicos (1). Por ello la importancia de la investigación de plantas medicinales que han tenido gran importancia en prácticas ancestrales, en los tratamientos de afecciones como fiebre, resfriados, alergias, infecciones urinarias, hemorragias, etc. Empleando procedimientos terapéuticos como baños de

hierbas, sahumeros, infusiones y emplastos en fracturas óseas. En este trabajo nos centramos en la Asmachilca, planta medicinal que es muy usada en los tratamientos de enfermedades respiratorias, por sus excelentes propiedades curativas.

ACCIÓN DE LAS PLANTAS MEDICINALES EN INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS

Los productos naturales tienen un sinnúmero de propiedades terapéuticas: antialérgicas, antiinflamatorias, antibacterianas, antisépticas, antipiréticas y antiasmáticas. También son útiles contra la ronquera, la bronquitis y la neumonía.

• LAS INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS

El aparato respiratorio, una estructura continua que va desde la nariz hasta los alveolos, es ventilado por el aire que respiramos el cual contiene millones de partículas suspendidas, incluyendo microorganismos que pueden ser inocuos pero en ambientes infectados pueden también causar una infección. En el tracto respiratorio alto (faringe, vías nasales y nasofaringe) los organismos viven con prioridad en áreas bañadas con las secreciones de las membranas mucosas. Las bacterias provenientes del aire entran al aparato respiratorio alto en gran cantidad durante la respiración, la mayoría de ellas son atrapadas en las vías nasales y nuevamente expelidas con las secreciones nasales. Los organismos resistentes más frecuentes son estafilococos, estreptococos, bacilos y cocos gram negativos. No obstante, bacterias potencialmente perjudiciales, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* alfa hemolítico, *Streptococcus pneumoniae* beta hemolítico y *Streptococcus pyogenes*, son muchas veces parte de la flora normal de la nasofaringe de personas sanas; pero son los que, directa e indirectamente, actúan como alérgenos, es decir, sustancias al inicio sensibilizantes y después desencadenantes del ataque de asma; la cual también puede estimular, mediante el proceso inflamatorio, la sensibilización hacia otros alérgenos, lo que favorece la permeabilidad de las mucosas bronquiales a estos.

- **EL ASMA**

El asma es una enfermedad de las vías respiratorias caracterizada por la hiperactividad del árbol traqueobronquial causada por diferentes estímulos que provocan una obstrucción reversible y extensa de las vías aéreas (broncoespasmo). El broncoespasmo puede presentarse cuando un paciente con hiperactividad bronquial se expone a un irritante bronquial y desarrolla una infección respiratoria, o se expone a un alérgeno al cual ha desarrollado alergia bronquial, o ingiere medicamentos que alteran el componente broncodilatador del tono bronquial normal. La reacción del broncoespasmo incluye secreción de mucosidad, edema de la pared bronquial y contracción del músculo liso. El asma se manifiesta clínicamente por episodios extremos de disnea (dificultad para respirar), tos y sibilancias (silbidos). Esta enfermedad afecta aproximadamente a 10 millones de personas en Estados Unidos. En el Perú tiene gran incidencia pues entre 10 y 15% de la población la sufre. Lo grave es que, pese a las diversas opciones de tratamiento, su difusión y efectos van en aumento y, lo que es peor, la morbilidad y la mortalidad se han incrementado en los últimos años. En nuestro medio, para el tratamiento del asma bronquial de tipo alérgico se hace uso de broncodilatadores y otros fármacos como los corticosteroides cuyos efectos adversos (como los cardiovasculares o interferencias en el crecimiento de los niños en el largo plazo) limitan su empleo (2). Se han propuesto diversas causas para el aumento de la reactividad de las vías respiratorias en el asma; sin embargo, el mecanismo básico sigue siendo desconocido. En la actualidad, la hipótesis más aceptada es la de la inflamación de las vías respiratorias. Tras la exposición a un estímulo iniciador se produce la activación de las células cebadas, basófilos y macrófagos que segregan diversos mediadores que tienen efectos directos sobre el músculo liso del aparato respiratorio y la permeabilidad capilar, lo que provoca una intensa reacción local a la que puede seguir otra de carácter crónico (1). Se desconoce el mecanismo mediante el cual la inhalación del antígeno provoca un episodio agudo de asma, pero parece depender en parte de interacciones entre antígenos y anticuerpos en la superficie de las células cebadas pulmonares con la consiguiente generación y secreción de mediadores de la hipersensibilidad inmediata. El tracto respiratorio bajo (tráquea, bronquios y pulmones) es en esencia estéril, a

pesar de la gran cantidad de organismos potencialmente capaces de alcanzar esta región durante la respiración. Las partículas de polvo, inclusive las grandes, son filtradas en el aparato respiratorio alto. A pesar de ello, y la disminución de la velocidad en las vías respiratorias bajas, hay microorganismos que pueden establecerse en este nivel y, empujados por los cilios y el epitelio ciliar (pelillos que recubren la pared de estas vías) para ser eliminados por el tracto respiratorio superior. Únicamente gotas de núcleos más pequeños a los 10 μm pueden llegar a los pulmones. En nuestro medio, el asma bronquial se conoce también como bronquitis, bronquitis asmática, bronquitis asmatiforme, bronquitis espástica, broncoespasmo, alergia bronquial, hoguillo, etc. Esto se debe principalmente a que los médicos no llegan al diagnóstico de asma hasta que el padecimiento está muy avanzado. Optan por usar términos menos impactantes, pues la mayor parte de la gente cree que el asma es una enfermedad severa, progresiva e incurable, lo cual en la actualidad está muy lejos de ser cierto (1). El asma bronquial es la más frecuente entre las enfermedades crónicas de la infancia y se encuentra entre las primeras causas de hospitalización en servicios de urgencia en nuestro medio. Si no se le diagnostica y trata adecuadamente puede llevar al paciente a tratamientos inadecuados, largos, costosos e inútiles, de muy diversos tipos, generalmente con pobres resultados si no se dirigen a la causa real del problema, con el consecuente retraso e incremento en el riesgo de daño bronquial permanente e irreversible, característico del asma crónica

NOMBRES CIENTIFICOS: *Aristeguietia gayana* (Wedd.) King y Robinson, *Eupatorium gayana*, *Eupatorium triplinerve*

NOMBRE COMUN: Asmachilca

TAXONOMIA

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Subfamilia: Asteroideae
Tribu: Eupatorieae
Subtribu: Eupatoriinae
Género: *Aristeguietia*
Especie: *E. gyanum*

DESCRIPCION BOTANICA: Es una planta herbácea 1 m de altura, con hojas peludas y olor desagradable. Presenta corolas regulares, con cinco dientes o lóbulos o bien son tubulosas y regulares las del centro o del llamado botón central, y en forma de lengüecitas de tres dientes en la periferia.

El género *Eupatorium*, con 1200 especies, fue redefinido por R. M. King y H. Robinson. Comprende unas 37 especies de América, Asia oriental, y a lo largo de las montañas de Asia occidental y de Europa. Las especies de América pertenecen a numerosos géneros, unos nuevos, otros restablecidos. Por ejemplo: *Ageratina*, *Aristeguita*, *Ayapoma*, etc. Es una compuesta de la subfamilia tubuliflora. Las compuestas de esta subfamilia tienen corolas regulares. Carece de latex, pero a menudo tienen esencias.

HABITAT: Florece en verano, su habitat es junto a las aguas. Sólo sobrevive por encima de 3 000 metros.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: En el Perú se ubica en la vertiente occidental de los andes y valles interandinos entre los 3600-4000msnm en los departamentos de Cusco, Puno, Apurímac, Ayacucho.

USOS y PROPIEDADES:

MEDICINAL:

- Expectorante, contra la tos y anti-asmática
- Se conoce como estimulante de la función hepática y diurético. También se recomienda en problemas dérmicos.
Hojas: suele utilizarse en cuadros de asma bronquial, crisis asmática
Tallo: en cuadros de asma bronquial, broncodilatador, expectorante

DOSIFICACION:

- Cocimiento de 15 - 20 gr. de tallos y hojas en un litro de agua, hervir por cinco minutos, tomar una taza tres veces al día

INDICACIONES TERAPEUTICAS:

Se conoce como estimulante de la función hepática y diurético. Su uso tradicional en los casos de asma bronquial ha hecho sospechar su acción broncodilatadora. Suele usarse cuando el asma bronquial está en periodo de intercrisis o se está iniciando la crisis asmática. Ensayos biológicos y estudios experimentales refieren su acción hipotensora e hipotérmica. En estos

trabajos, la vía usada fue la endovenosa, pero el uso tradicional del *asmachilca* es la vía oral. Es muy probable que exista un paso previo en la farmacocinética de la planta en el tracto gastrointestinal, por lo cual sufriría biotransformación que tal vez den origen al principio activo responsable del efecto broncodilatador que se le atribuye en Medicina Tradicional.

ANÁLISIS FITOQUÍMICO:

- Esteroides
- Fenoles
- Taninos
- Alcaloides
- Flavonoides
- Antraquinonas
- Glicósidos

ESTUDIO TOXICOLÓGICO

En estudios realizados para medir el impacto que podría tener el *Asmachilca* en altas concentraciones, no se observó ningún efecto tóxico considerable, esto realizado en ratas (3), sin embargo sí un aumento en la frecuencia de los latidos del corazón, con tolerancia a dosis de 2.000 mg/kg. Se debe tener cuidado con el uso de alcohol al administrarla porque puede producir taquicardia. No se debe utilizar en niños lactantes ni embarazadas. La tolerancia permite que se utilice por vía oral a partir de los 5 años.

ESTUDIO FARMACOLÓGICO

El *Asmachilca* aparte de ser considerado un broncodilatador y antiasmático, también tiene propiedades antibacterianas contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* alfa hemolítico. Por ello su aplicación tópica en heridas producirá buen efecto antibacteriano, es decir puede emplearse para lavar las heridas como antiséptico aunque no se debe utilizar en caso de propensión alérgica (1). Debido a estas razones sus propiedades favorecen su empleo como antibacteriano de las vías respiratorias altas, sobre todo por la presencia de taninos, flavonoides y quinonas. Por ello cuando se tiene tos y además flema es recomendable utilizar esta planta para el asma y sus complicaciones, ya que permitirá disminuir el proceso inflamatorio debido a su acción antibacteriana. Los esteroides presentes pueden disminuir los síntomas del asma.

IMPORTANCIA ECONOMICA

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), se calcula que las 2/3 partes de la población de nuestro planeta –4 mil millones de personas– recurre a las hierbas aromáticas y medicinales para su alimentación y para curar sus dolencias sicofísicas.

Según artículos publicados en las revistas Newsweek y Medical Botany, el mercado de las hierbas medicinales deshidratadas se expande en forma vertiginosa en EE.UU., llegando a crecimientos anuales de consumo de entre un 5 y un 6%: la fitoterapia (medicina a base de hierbas) crece a pasos agigantados. En palabras del Dr. Burgas Montoya, médico naturista, uno de los mercados cuyos volúmenes más aumentan en el mundo, después de la computación, es el de la fitoterapia (4).

Dado este auge en el incremento de la producción de este tipo de productos agrícolas, en el Perú, con fecha 07 de Julio del 2000, se promulgó la Ley de Aprovechamiento Sostenible de las Plantas Medicinales (5), que regula y promueve el aprovechamiento sostenible de las plantas medicinales, en armonía con el interés ambiental, social, sanitario y económico de la Nación. El inventario de plantas medicinales será aprobado anualmente a propuesta del Ministerio de Salud, mediante decreto supremo refrendado por el Ministro de Salud, de acuerdo con la información proporcionada por el Instituto Nacional de Medicina Tradicional (INMETRA), el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), el Colegio Químico Farmacéutico del Perú y el Colegio de Biólogos del Perú. Mediante esta Ley se estipula que las plantas medicinales son patrimonio de la Nación, las provenientes de cultivos pueden ser de dominio privado de acuerdo a la legislación aplicable, se regula su aprovechamiento sostenible y se establecen normas para su exportación.

De la flora medicinal, pocas especies son cultivadas y, de ellas, alguna información dispone el Ministerio de Agricultura (MINAG) que tiene a las Plantas Medicinales como una de sus principales Líneas de Cultivos emergentes (6). De la información vertida en los Anuarios Forestales 2004 y 2005, se puede extraer el siguiente listado:

TABLA 1. PRODUCCIÓN FORESTAL MEDICINAL, NUTRACÉUTICA Y AFINES POR ESPECIE (2004-2005)

Producto	Unidad	Producción	
		2004	2005
Abuta	Kg	102,00	-
Achiote	Kg	550,00	-
Agracejo	Kg	100,00	1.200,00
Algarroba (vainas)	Kg	5 947.545,10	3 893 484,82
Anguarate	Kg	5.200,00	7.400,00
Asmachilca	Kg	410,00	100,00
Ayahuasca	Kg	100,00	-

ANÁLISIS DE LA DEMANDA

A nivel nacional e internacional la demanda es grande, pero exige el cumplimiento de ciertos estándares de calidad y sanidad requeridos por el mercado como contenido de humedad, coloración, olor. Una de las empresas que comercializa el Asmachilca es:

Aurandina SAC: Aurandina se encuentra vendiendo la marca Wawasana, quienes desarrollan su crecimiento estratégico en un mercado propio y natural cuyo canal principal serán las megacadenas de almacenes y supermercados, propias de las capitales de país y principales urbes metropolitanas. Wawasana consolida su proyecto empresarial, posicionamiento de marca y saturación de nichos de consumo de sus productos, en el mercado local peruano de supermercados y afines, con productos psicológicamente llamativos: Menta Andina, Relax, Mujer, Digestivo, Dietté, Gripal, los cuales tienen un elevado consumo (7).



MATERIALES Y METODO

Se realizó la marcha fitoquímica, empleando el método de cribado fitoquímico. De esta forma, el primer paso fue la obtención del pool de metabolitos secundarios de las muestras mediante la exposición de estas a solventes hidroalcohólicos por una semana. Seguidamente, se expuso el extracto a diferentes reactivos químicos, la reacción química subsiguiente se expresa en cambios colorimétricos de la solución que se catalogaron cualitativamente como presencia “+++” (abundante), “++” (moderado) y “+” (leve) del metabolito estudiado. A continuación se detallan las pruebas químicas: 1) Reactivo de Dragendorff, Mayer y Wagner para alcaloides; 2) Ensayo de Lieberman-Burchard para Triterpenos/Esteroides; 3) Reactivo de Gelatina al 10% para taninos. 4) Prueba de Ninhidrina al 2% para aminoácidos libres; 5) Reactivo de Borntrager para quinonas; 6) Prueba de Shinoda para flavonoides .

Obtención de la muestra: Se obtuvieron 200g de la muestras las cuales se sacaron a partir de las hojas y tallos de la planta, las cuales se creen que tienen la propiedades para aliviar el asma. La muestra fue triturada al mínimo para tener una mayor área de exposición al ambiente y se aumentará también la disipación del agua al exterior al momento del secado.

Secado : En bandejas de papel craft asegurándonos que el lado lustroso este en contacto con la muestra, la colocamos en trozos pequeños. La Tabla 2 muestra los pesos antes del secado.

	Bandeja 1	Bandeja 2	Bandeja 3	Bandeja 4
Gramos	45,5	49,9	45,5	49,9

Tabla 2 Peso de la muestra antes del secado

A continuación colocamos las muestras en la estufa a 40°C. Se dejó secar por 29 horas y se tomó el peso en diferentes tiempos (Tabla 3)

Una vez que vimos que el peso de las muestras no varía por más de 2 controles, retiramos de la estufa y lo pulverizamos con ayuda de una licuadora.

	BOLSA 1	BOLSA 2	BOLSA 3	BOLSA 4	
TIEMPO (h)	PESO (g)	PESO (g)	PESO (g)	PESO (g)	PESO NETO(g)
0	43	47.4	43	47.4	180.8
4	22.4	29	25.7	27.1	104.2
7.22	15.5	18.1	16.6	17.2	67.4
9.23	12.7	15.7	14.3	15.2	57.9
24.14	12.5	13.9	12.8	13.8	53
25.14	12.4	13.8	12.75	13.7	52.65
26.14	12.43	13.8	12.7	13.75	52.68
28.14	12.43	13.8	12.75	13.7	52.68
29.36	12.45	13.85	12.75	13.7	52.75

Tabla 3 Peso de la muestra durante el proceso del secado

Macerado: Pesamos 10g de la muestra en polvo y lo colocamos dentro de un balón de 250ml con 100ml de metanol tapado con un tapón de jebes y un tubo refrigerante en el extremo superior y lo dejamos macerar por 4 días. En el cuarto día refluamos la muestra macerada calentando el equipo sin llegar al punto de ebullición del metanol y refrigerando el tubo con un paño húmedo para condensar el solvente, este procedimiento duro 2 horas. Lo dejamos nuevamente macerar durante 3 días mas y en el tercer día, nuevamente refluamos durante 20 minutos y filtramos el extracto resultante usando un matraz Kitasato, un embudo buchner con papel filtro a medida y una bomba de vacío. Para asegurar que se recogió toda la muestra lavamos las paredes del balón con metanol (10-20ml) para recoger la muestra restante y filtrar. Llevamos el filtrado a un volumen de 100ml adicionando metanol y de este volumen, reservamos 10ml en un matraz de 25ml, y lo tapamos con parafilm y guardamos en refrigeración y el resto lo colocamos en un matraz de 250ml para ser secados en estufa a 40°C.

FRACCION A

Separamos 4ml de los 10ml almacenados en refrigeración. Como la muestra tenía una coloración muy oscura se diluyo con agua destilada y luego se filtro con ayuda de un embudo y papel filtro. Finalmente se distribuyo 1ml en 4 tubos de ensayo para las pruebas correspondientes. Siempre comparando el tubo del experimental con un tubo control para evidenciar el cambio de coloración.

Reaccionó de Gelatina (Taninos)

Tomamos 1 ml de la **Fracción A** y le añadimos 5 gotas de reactivo de gelatina a la muestra sin calentar, para que no ocurra la desnaturalización de la gelatina. Seguidamente añadimos 5 gotas de NaCl al 5% para hacer más visible la reacción y se dejar reposar unos minutos. La reacción positiva, nos da un precipitado blanquecino o turbidez.

Reacción de FeCl3 (Taninos)

Tomamos 1 ml de la **Fracción A** y le adicionamos 2 gotas de solución de tricloruro férrico (FeCl₃ al 1%). La aparición de un color verde, azul o negro es prueba positiva

Reacción de Ninhidrina (Aminoácidos)

Tomamos 1 ml de la **Fracción A** y le adicionamos 2 gotas de solución de de ninhidrina. La reacción da positiva se evidenciamos un viraje a azul-violeta con respecto al control

Reacción de Shinoda (Flavonoides)

Tomar 1 ml de la **Fracción A** y adicionar una pequeña cinta de magnesio ,10 gotas de HCl concentrado y agitar bien. El desarrollo de una coloración rosada hasta rojo cereza, indica reacción positiva.

Obtención de la Solución Ácida y la Fracción Insoluble

Secamos en resto de la fracción metanólica (90ml) en una estufa a 40°C hasta evaporar todo el metanol. Y resuspendimos la muestra con 30ml de HCl calentamos en baño termostático durante 1:30hrs a una temperatura de adasda y filtramos la muestra con ayuda de papel de filtro, embudo y matraz. De este proceso resulta La **Fracción Insoluble** y la **Solución Ácida**.

FRACCION INSOLUBLE (FRACCION B)

Lavamos el papel de filtro con agua destilada y lo secanos con una secadora de pelos. Colocamos el papel

de filtro con la fracción insoluble en un beaker y le agregamos 10ml de triclorometano para disolver el máximo posible de solutos adheridos. Movimos constantemente con una bagueta. Lo filtramos con ayuda de un embudo y papel de filtro y se seco con sulfato sódico. Se llevo a 5ml de volumen final con triclorometano. Este contenido es la Fracción B. Al igual que en la **FRACCION A** se preparo una batería de 4 tubos

Reaccion de Liebermann – Buchard (Esteroides)

Tomamos un tubo con la **Fracción B** y le agregamos 1 gota de cloroformo, 5 gotas de ácido acético y 5 gotas de reactivo de Liebermann Burchard. La reacción positiva presenta anillo color verde.

Reacción de Börntrager (Quinonas)

Tomamos un tubo con la **Fracción B** y le gregamos 5 gotas del reactivo de Borntlager La reacción debe visualizarse en la interfase. Esta reacción da positiva: por medio de la formación de anillo de color rojo.

Tratamiento de la Solución Ácida

Agregamos amoniaco en cantidad suficiente para alcalinizar la solución, pasamos la solución alcalina a una pera de decantación de 250ml sujeta a un soporte universal y se añadió 25ml de triclorometano. Agitamos y dejamos reposar hasta que se formen las fases. La fase superior de es el extracto alcalinizado y la inferior es el triclorometano. Decantamos la fase clorofórmica y los reservamos en un matraz. Realizamos una segunda extracción en la pera con otros 25ml de triclorometano, decantamos y reservamos en el mismo matraz. Etiquetamos la **Fase Cloroformica** y reservamos la **Fase Acuosa** en un matraz diferente.

TRATAMIENTO DE LA FASE CLOROFÓRMICA (FRACCION C)

Regresamos la fase clorofórmica del matraz a la pera y agregamos 15ml de agua destilada. Agitamos y dejamos reposar. Decantamos la pera y reservamos la fase acuosa para añadirla al matraz de **Fase Acuosa** del paso anterior. Lavamos con otros 15ml de agua y seguimos el procedimiento anterior. Secamos la fase clorofórmica con sulfato de sodio anhidro y filtramos.

Concentramos la **FRACCION C** por evaporación en la estufa y añadir 1ml de cloroformo para diluir y poder visualizar mejor la reacción de Kedde y Liebermann-Burchard

REACCION DE KEDE (Cardenolidos): Agregamos 5 gotas de reactivo de Kedde por las paredes y adicionar unas gotas de KOH 5.7%. Reacción positiva, formación de un anillo rosado en la interfase y de la fase superior de un tono rosado claro.

REACCION DE LIEBERMANN- BURCHARD (Esteroides)

Trabajamos igual que con la **FRACCION B**

REACCION DE MAYER (Alcaloides)

Separamos en un tubo un poco de la **FRACCION C** y le agregamos unas gotas del reactivo de Mayer. La Reacción positiva da la formación de una turbidez lechosa.

REACCION DE WAGNER Y DRAGENDORFF (Alcaloides)

Con un capilar, adsorbimos la solución acida en el interior y la concentramos gota a gota en un papel filtro. Colocamos el papel con la solución concentrada en un soporte y rocear con el reactivo de Wagner y Dragendorff (un soporte para cada reacción). La Reacción positiva para el reactivo de Wager es la formación halo de color turquesa-celeste. y para el de Dragendorff es la formación de un halo color marrón.

Tratamiento de la Fase Acuosa

Saturamos con sulfato de sodio anhidro (0.1 g de sal por cada ml de solución) y filtramos, pasamos el contenido a una pera de decantación de 250ml. Realizamos dos extracciones con una solución de triclorometano/etanol (25ml). La fase acuosa estará encima de la fase triclorometano. Decantamos la fase clorofórmica en un matraz y reservamos. Después de las dos extracciones separamos las fases. La fase acuosa es la **FRACCIÓN E**. La fase clorofórmica se almaceno en un matraz de 250ml debidamente etiquetado.

OBTENCIÓN DE LA FASE ACUOSA REMANENTE (FRACCION E)

La **FRACCION E** fue el resultado de la separación de la fase acuosa del paso anterior. Separamos en 3 tubos de ensayo 1ml de solución acuosa.

REACCION DE SHIDONA (FLAVONOIDES)

Trabajamos igual que con la **FRACCION A**

REACCION DE ROSEMHEIM (CATEQUINAS)

Agregamos 5 gotas de HCl 2N y colocar en baño maria durante media hora. *Reaccion positiva, coloración verde intenso.*

OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN CLOROFÓRMICA (FRACCION D)

Devolvimos la solución clorofórmica del matraz a la pera de decantación y lavamos con 10 ml de solución de sulfato sódico, agitamos y separamos las fases. Eliminamos la fase acuosa y la orgánica se llevo a un matraz para secarla con sulfato sódico. Lo filtrar y se reservo en un matraz.

Evaporamos la solución clorofórmica a sequedad con ayuda del baño termoregulador y resuspendimos en 2.5mL de etanol. Separamos equitativamente en 6 tubos de ensayo y realizamos los siguientes ensayos.

REACCION DE SHIDONA (FLAVONOIDES)

Se trabajo igual que con la **FRACCION A**

REACCION DE ROSEMHEIM (CATEQUINAS)

Se trabajo igual que con la **FRACCION E**

REACCION DE KEDE (CARDENOLIDOS)

Se trabajo igual que con la **FRACCION C**

REACCION DE LIEBERMANN - BURCHARD (ESTEROIDES)

Se trabajo igual que con la **FRACCION B**

REACCION DE MAYER (ALCALOIDES)

Se trabajo igual que con la **FRACCION C**

REACCION DE WAGNER Y DRAGENDORFF (Alcaloides)

Se trabajo igual que con la **FRACCION C**

RESULTADOS

Se demostró la presencia de los metabolitos secundarios estudiados en intensidades heterogéneas, con excepción para los aminoácidos, anillos y cardenolidos los cuales no fueron detectadas en ninguna de las fracciones evaluadas.

Respecto a la presencia de alcaloides taninos en la maca, la fracción A, presento la mayor intensidad del metabolito (+++); con la reacción de FeCl₃.

Se encontró una presencia leve (+) de flavonoides en la las fracciones A y E de asmachilca.

Para los esteroides de asmachilca, se observó la presencia en las fracciones B, C y D (+++) de este compuesto.

La presencia de catequinas en asmachilca, se observó homogéneamente en las fracciones D y E (+)

Los alcaloides se presentaron de forma heterogénea para las reacciones de Mayer (+++) y de Wagner (++) tanto en las fracciones C y D.

La presencia de quinonas, se observó en la fracción B de asmachilca (++)

DISCUSIONES

COMPARACION CON ESTUDIOS PREVIOS

Los resultados del análisis fitoquímico de la asmachilca, mostraron la presencia de metabolitos secundarios (flavonoides, antraquinonas, naftoquinonas, y alcaloides, taninos y esteroides). Esto confirma lo reportado en estudios previos realizados en asmachilca (3). Lo que es común para todas las especies.

Un metabolito que fue detectados en algunas fracciones (D y E) de esta especie de asmachilca estudiada, fueron las catequinas, metabolito que no es reconocido en investigaciones anteriores con otro tipo de especies de asmachilca estudiadas.

RELACION CON MEDICAMENTOS

Los efectos medicinales de la asmachilca, recaen en la actividad biológica que presentan sus metabolitos secundarios. Así tenemos que:

ANTIINFLAMATORIO

La actividad sobre las acciones antiinflamatorias es producida por acción de sus flavonoides y catequinas. Esta acción antiinflamatoria se basa en que la acción que poseen los flavonoides la cual se relaciona con la inhibición de diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico como la

Metabolito	Rx	Fracción A	Fracción B	Fracción C	Fracción D	Fracción E
Tanino	Gelatina	-	-	-	-	-
	FeCl ₃	+	-	-	-	-
Aminoácidos	Ninhidrina	-	-	-	-	-
Flavonoides	Shinoda	+	-	-	+	+
Esteroides	Liebermann - Burchard	-	+++	+++	+++	-
Quinona	Borntrager	-	++	-	-	-
Alcaloides	Mayer	-	-	+++	-	-
	Wagner	-	-	+++	++	-
	Dragendorff	-	-	-	-	-
Cardenolidos	kedde	-	-	-	-	-
Catequinas	Rosenheim	-	-	-	+	+

ciclooxigenasa, lipooxigenasa, fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH) oxidasa y xantina oxidasa, y de radicales libres, y reducen el estrés oxidativo; los flavonoides, polifenoles y alfa tocoferol poseen capacidad antioxidante (8).

Otros mecanismos implicados en la acción antiinflamatoria y en los cuales pueden intervenir los flavonoides son: inhibición de la liberación de histamina, inhibición de la migración celular (en el proceso inflamatorio los leucocitos se dirigen por quimiotactismo hacia el foco inflamatorio, donde son activados liberando eicosanoides y otros agentes proinflamatorios), acción antirradicalaria (actuando frente a los radicales libres que se originan en la inflamación), efecto protector vascular (contribuye a disminuir la exudación) (8).

Muchos de los flavonoides y fenoles cooperan en el efecto antiinflamatorio, pues una explicación posible sería la actividad inhibidora de la prostaglandina sintetasa, impidiendo por lo tanto la síntesis de prostaglandinas, componente responsable de la actividad inflamatoria

Esta acciones de los flavonoides esta directamente relacionada con la acción antiinflamatoria producida por la prednisona, ya que una de las formas como actúa es disminuyendo la inflamación (hinchazón), al evitar que los glóbulos blancos que combaten las infecciones (leucocitos polimorfonuclea -res) se desplacen al área inflamada del cuerpo.

RELAJACION DEL MUSCULO LISO

Para el sistema respiratorio encontramos que los alcaloides producidos en la planta de asmachilca, previene la broncoconstricción por inhalación de adenosina, que resulta de la degranulación del mastocito (estímulo del receptor A2B). También aumenta la ventilación durante la hipoxia y disminuye la fatiga de los músculos diafragmáticos al antagonizar los receptores A1 y A2. También inhibe la degranulación del eosinófilo al bloquear el receptor A3. Estos receptores de adenosina son moduladores de los receptores adrenérgicos que controlan la actividad de adenilciclase y, por lo tanto, la concentración citoplasmática de AMPc, que causa relajación del músculo liso (9). Existen evidencias que estos tipos de alcaloides actuaría también como antagonista de prostaglandinas broncoconstrictoras, interfiriendo con la movilización de calcio en el músculo liso de la vía aérea y aumentando la liberación de adrenalina desde la médula suprarrenal, pero no hay suficientes argumentos para pensar que estos efectos sean relevantes en concentraciones terapéuticas (10). Esta acción relajante es similar a la que produce la β_2 -adrenérgico en los bronquios por medio del salbutamol, lo que ocasiona un incremento del adenosín monofosfato cíclico intracelular, que al inhibir la fosforilación de la miosina y reducir el calcio iónico intracelular produce relajación del músculo liso, además de bloquear la broncoconstricción inducida por diferentes estímulos (11).

Algunos efectos adversos de los alcaloides, como incremento de la actividad psicomotora, estimulación del sistema nervioso central, taquicardia sinusal, hipersecreción ácida gástrica, reflujo gastroesofágico y poliuria, resultan de este antagonismo.

ACTIVIDAD INMUNOMODULADORA

Existe cada vez mayor evidencia de que el reclutamiento exagerado de neutrófilos y eosinófilos, y su activación en la vía aérea están estrechamente relacionados con la

evolución de varias enfermedades inflamatorias como asma, hiperreactividad bronquial inespecífica, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis quística y síndrome de distrés respiratorio agudo (12).

- **Inflamación eosinofílica:** La participación de los eosinófilos en los procesos que acompañan a la patogenia del asma se describió hace más de 80 años. Desde entonces, son muchos los esfuerzos que se han hecho para entender el papel preciso de estas células en la patogenia del asma, tanto en la inflamación como en el daño tisular y los procesos de reparación que tienen lugar. De hecho, se presumió y, por lo tanto, se ha postulado que una de las características del asma era la infiltración y la inflamación eosinofílica, célula que es una de las principales implicadas en dicha patogenia (13). Los eosinófilos contienen, además, fosfatasa, aril-sulfatasas y unos gránulos primarios de tamaño variable que forman la proteína de Charcot-Leyden, que aparece en el esputo de los pacientes asmáticos y es una proteína de la familia de las galectinas.
- **Inflamación neutrofílica (fenotipo neutrofílico):** Los neutrófilos son leucocitos polimorfonucleares que tienen un papel esencial en el sistema inmunitario y son la primera línea de defensa contra las infecciones por bacterias y hongos. Hasta hace relativamente poco tiempo se creía que su papel en la inflamación estaba restringido a su capacidad de fagocitosis y liberación de enzimas y agentes citotóxicos. Sin embargo, en la actualidad se sabe que estas células tienen capacidad de liberar diferentes mediadores que pueden tener un profundo efecto en las vías aéreas de los asmáticos. Entre esos mediadores se incluyen las metaloproteinasas, que destruyen la matriz extracelular, o los radicales de oxígeno tóxicos, que catalizan la producción de ácido hipocloroso (HOCl). Los neutrófilos también son fuente de citocinas como el TNF- α , la IL-1 β , IL-6, IL-8 y el LTB4 (13).

Los flavonoides y taninos catéquicos presentes en la planta ejerce una actividad inmunomoduladora sobre el paciente, esta actividad inmunomoduladora pueden ser utilizada para cualquier tipo de alergia, En el tratamiento,

junto con los medicamentos antialérgicos, broncodilatadores y el control ambiental se recomienda incluir el uso de inmunomoduladores, que son moléculas que sirven para moldear el sistema inmunológico, ya que las alergias son un exceso de defensas, sobre todo en casos de pacientes con asma grave. En diferentes estudios realizados, se ha evidenciado que la acción de estos compuestos (flavonoides y taninos catéquicos) aumenta la actividad fagocítica de los granulocitos neutrófilos y macrófagos y estimula la producción de linfocinas. Aumenta también el número de monocitos en fases activas de la circulación periférica

ANTIESPASMÓDICA

Las naftoquinonas dotan a esta planta de una notable acción antiespasmódica y antibacteriana, que hace de ella un remedio natural excelente para destensar los músculos de las vías respiratorias, mostrándose muy eficaz para calmar tanto la tos persistente y convulsiva, como la tos seca e irritativa, en bronquitis crónicas, tos ferina, episodios de asma, faringitis, laringitis y procesos gripales. Descongestiona los conductos respiratorios, alivia la disnea y facilita una respiración más tranquila y normalizada.

ACCION DE LOS ESTEROIDES

Los altos contenidos esteroides encontrados en la asmachilca actúan sobre receptores específicos localizados preeminentemente en el epitelio y endotelio de la vía aérea, sitios importantes en los que acaece su efecto antiinflamatorio. El potente efecto antiinflamatorio de los esteroides está relacionado con la compactación o descompactación de cromatina y la consecuente expresión de genes que producen sustancias antiinflamatorias y la supresión de genes proinflamatorios. Los esteroides entran en el citoplasma de la célula por difusión pasiva, allí se encuentran los receptores de glucocorticoides (RG), los cuales se mantienen inactivos debido a su unión con chaperoninas, como las proteínas de choque térmico (HSP 90, 70,56), las cuales evitan la migración del RG al núcleo (14).

El efecto antiinflamatorio de los glucocorticoides en el nivel broncopulmonar se consigue por varios mecanismos: a) inhiben la migración de las células inflamatorias, al reducir la producción de las citocinas y bloquear la formación de los leucotrienos y del factor de activación plaquetaria (PAF), que coordinan y hacen perdurar el mecanismo inflamatorio crónico: b) reducen la

permeabilidad vascular y la exudación hacia las vías aéreas, por disminuir la producción de la enzima SONI, prostaglandinas vasoactivas (PGE_2), tromboxano, leucotrienos (LTD_4) y PAF; c) promueven la destrucción celular de eosinófilos y linfocitos inmaduros por un mecanismo de apoptosis, mediado por la producción de endonucleasas; d) actúan sobre las células del endotelio vascular de las vías aéreas y las glándulas secretoras de moco, y reducen la filtración plasmática endotelial, el volumen del esputo y su contenido en albúmina; y e) ejercen su acción sobre las células del músculo liso, modulan su contractilidad, al incrementar la densidad de b-adrenorreceptores e inhibir, por otra parte, sustancias con poder broncoconstrictor, como el leucotrieno D4 y el factor activador de plaquetas (15).

CONCLUSIONES

- 1) Del estudio fitoquímico realizado se evidencian la presencia de taninos, flavonoides, esteroides, quinonas, alcaloides y leucantocianidinas, que son comunes en todas las especies de esta planta.
- 2) Los resultados obtenidos en esta investigación fueron igual a los obtenidos en investigaciones previas, lo que nos permite validar los resultados.
- 3) La presencia o ausencia de algunos metabolitos secundarios se debe al tipo de especie con la que se este trabajando.
- 4) La presencia de flavonoides y catequinas ayudan al alivio de la inflamación que se produce en las vías respiratorias, acción que también tienen los medicamentos de uso comercial como los corticosteroides.
- 5) La alta concentración de esteroides, hace que esta planta se desempeñe satisfactoriamente en la formación de glucocorticoides. Haciendo el principal metabolito secundario para el alivio del asma.
- 6) La presencia de alcaloides ayuda a la relajación del músculo liso por lo que se le atribuye un poder broncodilatador, es el mismo efecto que presenta el salbutamol, que es un inhalador de uso comercial para aliviar la broncoconstricción.
- 7) Los flavonoides y taninos han demostrado tener actividad inmunomoduladora, lo que permite aliviar las inflamaciones, esta acción también la tienen los medicamentos de uso comercial como los corticosteroides.

- 8) Las naftoquinonas han demostrado tener una acción antiespasmódica en las reacciones asmáticas, misma acción que tiene el salbutamol.
- 9) Estudios previos han demostrado que los medicamentos farmacéuticos utilizados en el tratamiento y control del asma, pueden llegar a causar dependencia en el paciente, cosa que no se evidencia con las medicinas naturales, en este caso con la asmachilca.

experimental en ratas. Redalyc. 2011 Diciembre; 72(4).

Bibliografía

1. Sánchez Vega I, Sánchez Rojas A. La Diversidad Biológica en Cajamarca Cajamarca: Visual 47 SRL; 2012.
2. Sánchez Etxaniz J, Mintegi Raso S. Crisis asmática. In Protocolos de Urgencias Pediátricas.: Ergón, S.A.; 2010. p. 279.
3. Jurupe Chico H, Herencia Reyes V. Estudio Fto-Farmacologico de la Aristiguieta perrisicifolia (Asmachilca). Revista de la Facultad de Medicina Humana. 2000; 2(1).
4. Arteaga Leal J, Alburuqueque Arana FE. Estudio de factibilidad para la creación de empresa: acopio, selección exportación y comercialización nacional de valeriana sp. Tesis. Cajamarca - Peru: UNIVERSIDAD PRIVADA DEL NORTE, FACULTAD DE ESTUDIOS DE LA EMPRESA; 2007.
5. Orbegozo MJ. Ley de Aprovechamiento Sostenible de las Plantas Medicinales. El Peruano. 2000 Julio.
6. Li Pereyra E. Estado del Arte del Sector de Plantas Medicinales en Perú. Informe Final. Lima: Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI); 2006.
7. Saravia M, Chacón E, Ulloa J. Proyecto Páramo Andino. [Online]. [cited 2014 abril. Available from: <http://www.condesan.org/ppa/>.
8. Jorge Arroyo EE. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de Jungia rugosa Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. Redalyc. 2011 Diciembre; 72(4).
9. Morfín Maciel BM, Castillo M BM. Teofilina, una nueva mirada a un medicamento antiguo. Revista Alergia. 2010; 57(4).
10. Díaz Patiño O. TRATAMIENTO FARMACOLOGICO DE LA OBSTRUCCION BRONQUIAL. Boletin. Santiago: Universidad Católica de Chile, Departamento de Enfermedades Respiratorias; 1995.
11. Lucas Ramos P, Ferreiro A, Rodríguez González-Moro JM. Agonistas adrenérgicos β 2 y corticoides. Arch Bronconeumol. 2007 Diciembre; 43(4).
12. Lack G, Chapman M M, Kalsheker N. PAPEL DE LOS NEUTROFILOS EN EL ASMA. Hallazgos Científicos. 2003; 8(4).
13. Carrillo Díaz T, Martínez Tadeo JA. Diferentes tipos de respuesta inflamatoria en el asma. Arch Bronconeumol. 2006; 43(1).
14. Rodríguez Orozco AR, Figueroa P. J, Villa A. J. Esteroides inhalados en asma. Aspectos farmacológicos que fundamentan su elección. Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2010 Setiembre; 41(3).
15. Álvarez Sintés R, Álvarez Sintés R, Álvarez Castro MR. Corticoides inhalados en el asma. Revista Cubana de Medicina General Integra. 1999; 12(4).
16. Terao SMY. Metodo para preparar quinona-amidas. ; 1993.
17. López L LI, Ramón Fernando EL. Las naftoquinonas: más que pigmentos naturales. Redalyc. 2011 enero - marzo; 42(1).
18. Palma Gutiérrez E, Prado Bravo C. Características fitoquímicas de muestras comerciales de maca en tres regiones de Perú. CIMEL. 2012; 17(2).

