

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on horseback, holding a lance and a shield. Above the knight is a crown. The seal is surrounded by a Latin inscription: "CONSPICUA CAROLINA" at the top, "SCIENTIAS" on the left, "ARTES" on the right, and "CIVITATIS GUATEMALENSIS" at the bottom. There are also smaller inscriptions like "PLUS" and "TRA" on banners.

**EVALUACIÓN COMPARATIVA DEL CONTENIDO DE PRINCIPIOS
AMARGOS EN HOJAS DE *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas)
PROVENIENTES DE CUATRO POBLACIONES Y DOS CULTIVARES
PARA SU DOMESTICACION**

INFORME DE TESIS

Presentado por:

CLARA ESTER GÓMEZ BARQUEZ

Para optar al título de

QUÍMICA FARMACÉUTICA

GUATEMALA, FEBRERO DE 1997



06
T(1726)
03

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

DECANO	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Secretario	Lic. Federico Nave
Vocal I	Lic. Miguel Angel Herrera Gálvez
Vocal II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Vocal III	Lic. Rodrigo Herrera San José
Vocal IV	Br. Ana María Rodas Cardona
Vocal V	Br. Hayro Oswaldo García García

DEDICATORIA

A DIOS

A quien le agradezco todo lo que hasta hoy me ha brindado.

A MIS PADRES

Clara Magdalena Bárquez de Gómez
Juan Francisco Gómez Valles
Por todo el amor y enseñanzas que me han dado.

A MIS HERMANOS

Licda. Beatriz Gómez Bárquez
Licda. Mayra Jeannette Gómez Bárquez
Ing. Francisco Joaquín Gómez Bárquez
Br.Aura Nelly Gómez Bárquez
Por todo el amor y apoyo que siempre me han brindado

A MIS ABUELITOS

Petronila López de Bárquez
Antonio Bárquez Pacheco
Con mucho cariño

A MI NOVIO

Lic. Sergio Alejandro Rodas García
Con mucho amor

A MIS AMIGOS

AGRADECIMIENTOS

A la Licda. Beatriz Medinilla Aldana, por su amistad y asesoría en la realización de esta tesis.

A Ing. Agr. Pablo Moreno y Dr. Claus Martin Passreiter por su colaboración en este trabajo de tesis.

A Lic. José Eduardo Ochoa, Lic. Nelsson Pérez y Lic. Sergio Alejandro Rodas por su amistad y colaboración en la realización de esta tesis.

Al Departamento de Análisis Aplicado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A los Licenciados Rolando López y Beatriz Batres de Jiménez por su colaboración en la revisión de esta tesis.

A Olivia Jurado Paniagua, Miriam Martínez de López y Alma García de Alvarez por su colaboración en la realización de esta tesis.

ÍNDICE

1.	RESUMEN.....	1
2.	INTRODUCCIÓN.....	2
3.	ANTECEDENTES.....	4
4.	JUSTIFICACIÓN.....	10
5.	OBJETIVOS.....	11
6.	HIPÓTESIS.....	12
7.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
8.	RESULTADOS.....	18
9.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	20
10.	CONCLUSIONES.....	22
11.	RECOMENDACIÓN.....	23
12.	REFERENCIAS.....	24
13.	ANEXOS.....	28

1. RESUMEN:

El estudio que se presenta a continuación, se realizó con el fin de contribuir a la evaluación fitoquímica de plantas medicinales que se usan popularmente en el país, para el tratamiento de la malaria. Para este caso se estudio la planta *Neurolaena lobata* (L.)R.Br., la cual es considerada por el programa de Naciones Unidas para el Desarrollo como una de las cinco especies medicinales con mayor potencial industrial en Guatemala.

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar la variabilidad fitoquímica del contenido de principios amargos, incluyendo neurolenina B., en cuatro poblaciones naturales de *N. lobata* y dos cultivares situados en localidades contrastantes de Guatemala, con fines de domesticación.

Para evaluar la variabilidad fitoquímica se utilizaron muestras de cuatro poblaciones naturales del país, provenientes de: La Unión (Zacapa), Morales (Izabal), Coatepeque (Quetzaltenango), Chajmaic, (Alta Verapaz), y muestras provenientes de campos experimentales situados en el Centro Experimental Docente de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Ciudad Universitaria, zona 12 de la ciudad capital y finca Las Casas, en Coatepeque (Quetzaltenango).

El análisis de variabilidad fitoquímica se llevó a cabo por medio de método semi-cuantitativo, por cromatografía en capa fina, la que reveló que no existe diferencia substancial en cuanto al contenido de principios amargos (neurolenina B) en las muestras de *N. lobata* procedentes de las poblaciones y cultivares evaluados.

2. INTRODUCCIÓN:

La malaria o paludismo es una de las enfermedades tropicales más importantes a nivel mundial, en especial en países donde sus condiciones ambientales favorecen la reproducción, crecimiento y contagio por parásitos del género *Plasmodium*. En Guatemala en el año de 1993 se reportaron 41,872 casos de malaria, de los cuales un 98% fue causado por *Plasmodium vivax*, mientras que un 2% fue causado por *Plasmodium falciparum*. Después de 1975 se incrementó la morbilidad, debido a la resistencia adquirida por el mosquito a los insecticidas comunes, así como la adquirida por *P. falciparum* y *P. vivax* a los clásicos medicamentos antimaláricos cloroquina-primaquina(1).

Por su costo elevado, los productos farmacéuticos no se encuentran disponibles para la mayoría de la población guatemalteca, que se ha visto en la necesidad de utilizar remedios caseros a base de plantas. Datos recién publicados confirman la acción antimalárica de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) (Anexo I), considerada una de las cinco especies medicinales con mayor potencial industrial en Guatemala(2,3). Por ello en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala se planteó el proyecto de investigación titulado "Caracterización de Cuatro Poblaciones de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas), In Situ, y Su Evaluación, Ex Situ, En Dos Localidades, Con Fines de su Domesticación " y en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia el estudio titulado "Caracterización Farmacológica de Cuatro Poblaciones Naturales de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres

puntas), Evaluadas "In situ", y En Dos Localidades "Ex Situ", Con El Propósito de su Domesticación"(4,5). El objeto del presente estudio es complementar las investigaciones realizadas sobre *Neurolaena lobata* (Anexo II), mediante una evaluación comparativa del contenido de principios amargos, incluyendo como compuesto de referencia neurolenina B, la sesquiterpen-lactona más abundante en la planta. El análisis se realizó mediante cromatografía de capa fina. Este método resulta altamente ventajoso, tomando en cuenta su sencillez, que permite obtener una buena resolución, su bajo costo y que requiere cantidades mínimas de muestra y espacio para trabajar. Además es poco probable obtener resultados falsos debido a componentes secundarios(6).

3. ANTECEDENTES

La malaria es una de las enfermedades tropicales más importante a nivel mundial. Es causada por parásitos del género *Plasmodium*, y posee mayor incidencia en zonas húmedas y calurosas, pero también en regiones boscosas fuera de los trópicos. En la actualidad afecta a varios millones de personas en países de África, Centro y Sudamérica, Asia y el Pacífico.

En Guatemala durante el año 1993 se reportaron 41,872 casos, de los cuales el departamento del Petén y Alta Verapaz tienen la mayor proporción. Si se suman los casos de ambos departamentos se obtiene un 56% del total, lo que equivale a 23,433 casos(1).

Neurolaena lobata considerada una de las cinco especies de plantas medicinales con mayor potencial industrial en Guatemala, es una planta herbácea, originaria del área de Yucatán hasta la parte norte de Colombia y Venezuela (7,8); la decocción de las hojas frescas se utiliza en Panamá y Costa Rica como remedio para la malaria, otros tipos de fiebre y diabetes(9). En Guatemala también se utilizan las hojas contra el paludismo; en la zona Pocomam acostumbran tomar 2 a 3 botellas de la decocción durante 9 días; en la zona Kekchí toman una taza pequeña de la decocción durante 7 días, suspenden el tratamiento por una semana y luego lo repiten por un período de tiempo igual (10). Además de utilizarse contra la diabetes y malaria, se emplea en caso de dolor menstrual y como caminativo(11,12).

Estudios efectuados por Medinilla en el año de 1992 y 1994, en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala con el objeto de evaluar la actividad antimalárica de la planta, indican que tanto el extracto acuoso como metanólico de las hojas, a dosis de 750 mg de extracto liofilizado por kg de peso, por vía oral, diariamente, durante ocho días provocaron una significativa inhibición de la parasitemia en ratones albinos infectados con *Plasmodium berghei* (60% y 73%, respectivamente). En dichos estudios también se evaluó el grado de toxicidad del extracto acuoso liofilizado, a dosis de 3,000mg/kg de peso. No se detectaron efectos tóxicos visibles ni muertes prematuras luego de la administración de los extractos(2,3). Posteriormente se realizó en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia la evaluación de la toxicidad subaguda de *N.lobata* en ratas albinas, a las cuales se administró durante 20 días infusiones acuosas al 10% de las hojas. Al inicio del experimento, 20, 40, y 60 días después, se controló el peso de los animales, y se realizaron pruebas de laboratorio en sangre y orina. Al término de este tiempo se realizó la necropsia correspondiente a cada rata, así como el análisis patológico de los órganos.

No hubo muertes prematuras, así como ninguna anomalía anatómica, funcional, o conductual(13).

En 1994 investigadores del Instituto Boliviano de Biología de Altura evaluaron la acción antimalárica de las partes aéreas de la planta, para lo cual administraron a un grupo de diez ratones 100 microlitros de solvente (agua o dimetilsulfóxido) conteniendo cierta cantidad del extracto clorofórmico. La dosis administrada fue de 1g

del extracto por kg de peso. A esta dosis se registraron nueve ratones muertos, y el único sobreviviente mostró una inhibición de 84%. También se utilizaron dosis de 100mg/kg y 200mg/kg, obteniéndose una inhibición de 38% y 43% respectivamente. Además prepararon un extracto acuoso, que fue ensayado en ratones infectados con *Plasmodium vinckei petteri*, y tratados a dosis de 1g/kg de extracto por cuatro días, obteniéndose una inhibición de 86%. Esta misma dosis fue utilizada en ratones infectados con *P. berghei*, obteniéndose una inhibición de 46%. En este caso fallecieron seis ratones del total de diez utilizados (14).

Es interesante comparar los resultados obtenidos en la Universidad de San Carlos de Guatemala con los del Instituto Boliviano de Altura, principalmente en cuanto a los altos índices de mortalidad encontrados en Bolivia, tanto con el extracto clorofórmico como el acuoso, lo cual no ocurrió en Guatemala. Esto podría deberse a que en Bolivia administraron los extractos por vía intraperitoneal, mientras que en Guatemala solo se utilizó la vía oral, con lo cual el riesgo de que se presenten efectos tóxicos es menor. A pesar de que en Guatemala se utilizó una dosis de extracto acuoso equivalente a 3g/kg por siete días no se presentaron muertes prematuras. El alto grado de toxicidad del extracto clorofórmico podría explicarse en función de que las sesquiterpen-lactonas son compuestos muy solubles en este solvente, lo cual implicaría que las dosis administradas hayan sido muy elevadas, permitiendo así alcanzar niveles tóxicos. Por otro lado, valdría la pena evaluar si el contenido de sesquiterpen-lactonas de la planta que crece en Bolivia es diferente en concentración y contenido de componentes (2,3,14,15).

Estudios realizados por Olivares y Tally en 1993 y 1994 en la Universidad de San Carlos de Guatemala, muestran que la infusión de las hojas de la planta poseen acción antiespasmódica " In vitro ". Para ello se utilizó el método de Magnus y Cohen. Se evaluaron distintos extractos, preparados en hexano, etanol y agua, y pudo establecerse que el extracto etanólico es el que presenta mayor acción. Así mismo se realizó el ensayo de toxicidad del extracto de la planta que mostró acción espasmolítica con el método de Spearman y Karber, en el se trabaja con ratones blancos de un peso aproximado de 20 g, a dosis altas por vía oral. No se presentaron muertes ni los ratones tuvieron un comportamiento anormal aún después de 8, 24, 48 horas y 8 días después de realizada la prueba (16,17).

Posteriormente, en el año de en 1994 se realizó el tamizaje fitoquímico de la planta, mediante cromatografía en capa fina, habiéndose caracterizado como componentes predominantes, principios amargos y flavonoides. Los resultados obtenidos son de gran utilidad para evaluar mediante un método de análisis sencillo y rápido la identidad de la planta, ya que los cromatogramas muestran lo que podría denominarse la " huella digital " de la misma(3).

Desde el punto de vista químico, los principios amargos son compuestos que poseen estructura terpenoide, que por lo general se encuentran en las plantas en concentraciones que varían entre 0.01 y 8% del peso seco, sobre todo a nivel de la hojas. Son bastante solubles en cloroformo y éter etílico y de gran importancia por la variada acción biológica que poseen.

Kerr et al. aislaron varias sesquiterpen-lactonas: los isómeros lobatina- A y lobatina- B , y las neuroleninas A, B, C, y D . Las neuroleninas C y D, recientemente identificadas, fueron aisladas de la planta procedente de Guatemala(18,19).

Con el objeto de evaluar la actividad antiplasmódica de la planta se preparó un extracto acuoso de la misma, y se fraccionó por medio de cromatografía en columna, con sephadex LH20. Se utilizó el método de Desjardins para evaluar su acción antiplasmódica contra *Plasmodium falciparum*. De las tres fracciones obtenidas solo la tercera mostró acción antiplasmódica y mediante cromatografía líquida de alta presión se determinó que contenía solamente sesquiterpenlactonas, que fueron posteriormente aisladas. Los resultados obtenidos de los compuestos puros confirmaron que las neuroleninas poseen considerable actividad antiplasmódica, en el orden siguiente: C>B>D, lo cual indica que son estos compuestos los probablemente involucrados en el potencial antimalárico de *N. lobata* (20,21,22).

Considerando los resultados obtenidos de las anteriores investigaciones, surgió el interés en la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala por realizar la domesticación* de *N. lobata*. En esta investigación se realizó la caracterización, In Situ, de cuatro poblaciones naturales de Guatemala, incluyendo La Unión (Zacapa), Morales (Izabal), Coatepeque (Quetzaltenango) y Chajmaic (Alta Verapaz), a través de un análisis de grupos, y se realizó una evaluación " Ex Situ " en dos localidades situadas en campos experimentales de la Facultad de Agronomía en la Universidad de San Carlos de Guatemala, en la ciudad capital, y en la finca Las Casas, en Coatepeque (Quetzaltenango), para determinar su

variación inter e intra poblacional, y así determinar bajo qué condiciones se encuentra naturalmente esta planta y bajo qué condiciones puede cultivarse. Los resultados obtenidos de la investigación realizada en 1995 indican que las poblaciones naturales de *Neurolaena lobata* no presentan variación significativa desde el punto de vista agronómico ni dentro, ni entre las mismas.

Como resultado del estudio se recomendó la realización de la evaluación fitoquímica de las mismas poblaciones y cultivares de la planta, para confirmar si la variación encontrada en cuanto a los parámetros agronómicos evaluados se mantiene en cuanto a los componentes principales fitoquímicos(4).

Es por ello que en el presente proyecto se evaluó mediante cromatografía en capa fina el contenido de principios amargos, empleando neurolenina-B como compuesto de referencia, tanto en las muestras provenientes de las poblaciones naturales como de los cultivares.

*Domesticación: Llevar una planta desde su estado silvestre, a un estado controlado, logrando la utilidad y aprovechamiento de aquellas características que le interesan al hombre y/o sus animales, procurando su adaptación(4).

4. JUSTIFICACIÓN

La población guatemalteca, durante muchos años utiliza *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) contra la malaria. Fue en 1992 y 1995 que se publicaron los primeros resultados del ensayo farmacológico "In vivo", que muestran su valor potencial como agente antimalárico (6). Por otro lado, esta planta es considerada como una de las cinco especies medicinales con mayor potencial industrial en Guatemala (7).

El propósito de esta investigación fue evaluar la variabilidad fitoquímica de cuatro poblaciones naturales de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) en relación con sus plantaciones en dos localidades contrastantes de Guatemala, durante un ciclo biológico, con fines de domesticación. La domesticación de esta planta es importante, ya que podría cultivarse a gran escala, de manera que la población guatemalteca pueda obtener el material vegetal fácilmente, sin tener que hacer uso de las poblaciones naturales, lo que pone en riesgo el ecosistema.

5. OBJETIVOS

5.1 GENERAL

- 5.1.1 Contribuir con la evaluación fitoquímica de plantas a las que se les atribuyen propiedades medicinales de uso popular en Guatemala.
- 5.1.2. Evaluar el contenido de principios amargos, en hojas de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) mediante cromatografía en capa fina.

5.2 ESPECÍFICOS

- 5.2.1. Evaluar mediante cromatografía en capa fina el grado de variabilidad del contenido de principios amargos (neurolenina B) en hojas de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) procedente de las poblaciones naturales de Morales (Izabal), Chajmalc (Alta Verapaz), La Unión (Escuintla) y Coatepeque (Quetzaltenango), y dos cultivares de dicha planta en el campus central de la Universidad de San Carlos de Guatemala y en Coatepeque.
- 5.2.2. Determinar qué población o cultivar de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. contiene s mayor porcentaje de principios amargos (neurolenina-B) , para poder hacer uso de ella como agente antimalárico.
- 5.2.3 Colaborar con la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala en los estudios de domesticación de la planta *Neurolaena lobata* (L.) R. Br.

6. HIPÓTESIS

No existe diferencia substancial entre el contenido de principios amargos en muestras de *Neurolaena lobata* (L.)R.Br., colectadas en cuatro poblaciones y dos cultivares procedentes de distintas localidades de Guatemala.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

Muestras de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. procedentes de cuatro poblaciones naturales de Guatemala: La Unión (Zacapa), Morales(Izabal), Coatepeque (Quetzaltenango), Chajmaic (Alta Verapaz). A partir del material colectado In Situ se realizó la propagación sexual, para obtener plántulas que se mantuvieron en bolsas de almácigo en un vivero, y posteriormente fueron trasplantadas a el Centro Experimental Docente de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en la ciudad capital y en la finca Las Casas, en Coatepeque (Quetzaltenango)(4).

Para el análisis fitoquímico se colectaron un grupo de muestras de cada región, y cada ensayo se efectuó en triplicado.

7.2 MEDIOS

7.2.1. Recursos Humanos:

7.2.1.1 Autora: Clara Ester Gómez Bárquez

7.2.1.2 Asesora: Licda. Beatriz Eugenia Medinilla Aldana

- 7.2.1.3 Investigador colaborador por parte de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala:
Ing. Pablo Moreno
- 7.2.1.4 Investigador colaborador por parte del Instituto de Biología Farmacéutica, de la Universidad de Düsseldorf, Alemania:
Dr. Claus Martin Passreiter

7.2.2. Recursos Materiales:

- 7.2.2.1. Instalaciones:
Para la realización de este trabajo, se utilizaron las instalaciones del Departamento de Análisis Aplicado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 7.2.2.2. Materiales y Equipo:
Cristalería común de laboratorio.
Balanza analítica Marca OHAUS
Estufa Eléctrica Marca Toastmaster
Baño de maría con control de temperatura marca Edelstahl
Centrifugadora Marca Jalco
Cámara cromatográfica
Placas cromatográficas de sílica
gel 60F-254 (Merck)
Molino para pulverizar plantas Marca Wiley
Campana de extracción de gases.
Horno Eléctrico Marca Lindberg Blue M electric

7.2.2.3. Solventes , reactivos, y estándares:

Metanol

Tolueno

Etanol

Acetato de Etilo

Revelador de Anisaldehído-ácido sulfúrico

Estándar de neurolenina-B. (donado por Dr. Clauss Passreiter, del Instituto de Biología Farmacéutica, Universidad de Düsseldorf, Alemania).

7.3 PROCEDIMIENTO:

7.3.1. Revisión bibliográfica sobre la planta a evaluar.

7.3.2. Recolección de la planta a evaluar, de las distintas localidades y cultivares.

7.3.3. Secado y molienda de la planta.

7.3.4. Detección de principios amargos y neurolenina B:

7.3.4.1. Preparación del extracto:

Extraer un gramo del material vegetal pulverizado con 10 ml de metanol durante 10 minutos a 60 grados centígrados, en baño de maría.

Filtrar y evaporar el filtrado hasta exactamente un mililitro, centrifugar y decantar. Aplicar 25 microlitros sobre la cromatoplaque de sílica gel.

7.3.4.2. Solución estándar:

Preparar una solución con neurolenina-B al 1% en metanol, y aplicar sobre la cromatoplaque.

7.3.4.3. Fase estacionaria:

Cromatoplaques de sílica gel 60F-254

7.3.4.4. Fase móvil:

Tolueno : acetato de etilo (60:40)

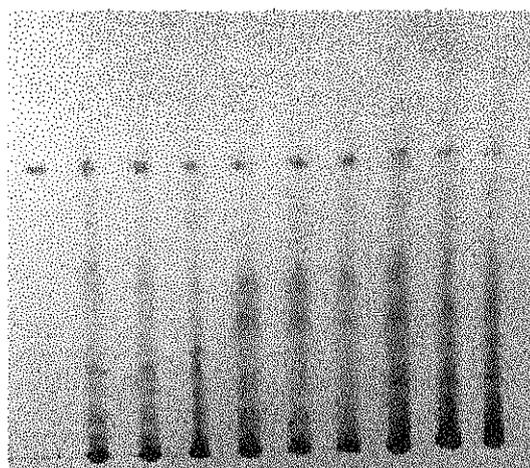
7.3.4.5. Detección:

Revelador: Anisaldehído - ácido sulfúrico: Asperjar vigorosamente la placa con el revelador, luego calentar a 110 grados centígrados durante 5 a 10 minutos, y observar la placa en visible.

7.3.5. Análisis de Resultados:

Los resultados de los ensayos cromatográficos se presentaran mediante fotografías a color y fueron sometidos a análisis iconográfico, comparando la presencia, ausencia o grado de concentración de los componentes detectados en la hojas de *N. lobata*, para poder evaluar la variabilidad en las diferentes poblaciones y cultivares de la planta.

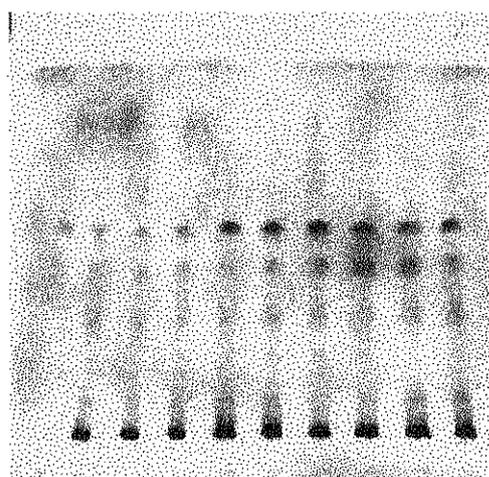
8. RESULTADOS



St Coa Mor-Coa Coa-Fau

Cromatograma No. 1

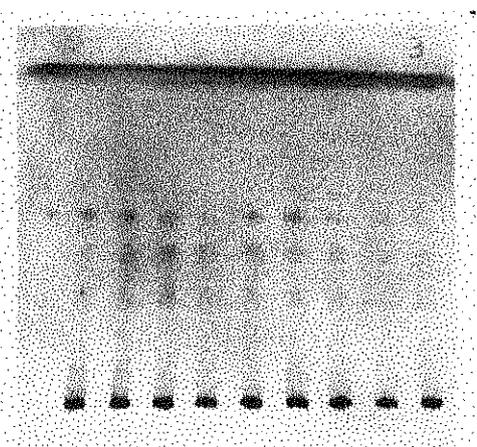
St: Estándar de neuroleptina b.
 Coa: Población de Coatepeque
 Mor-Coa: Cultivar de Morales-Coatepeque
 Coa-Fau: Cultivar de Coatepeque-FAUSAC



St Coa-Coa Uni-Coa Chaj-Coa

Cromatograma No. 2

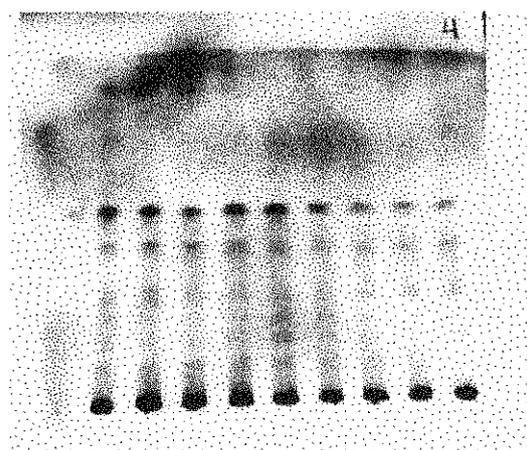
St: Estándar de neuroleptina b.
 Coa-Coa: Población de Coatepeque-Coatepeque
 Uni-Coa: Cultivar de la Unión-Coatepeque
 Chaj-Coa: Cultivar de Chajmaic-Coatepeque



St Chaj Chaj-Fau Mor-Fau

Cromatograma No. 3

St: Estándar de neuroleptina b.
 Chaj: Población de Chajmaic (Alta Verapaz)
 Chaj-Fau: Cultivar de Chajmaic-FAUSAC
 Mor-Fau: Cultivar de Morales-FAUSAC



St Uni-Fau Uni Mor

Cromatograma No. 4

St: Estándar de neuroleptina b.
 Uni-Fau: Cultivar de Unión-FAUSAC
 Uni: Población de la Unión (Zacapa)
 Mor: Población de Morales (Izabal)

Los cromatogramas fotografiados muestran que existe gran reproducibilidad en la separación de las distintas neuroleninas presentes en la planta procedente de las poblaciones como de los cultivares, pero las mismas no se pueden identificar con exactitud, ya que solamente se tuvo disponible el estándar de neurolenina-B. Sin embargo, pudo establecerse al comparar los valores de R_f que todas las muestras contienen esta última neurolenina.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los cromatogramas obtenidos muestran que todas las muestras analizadas contienen la sesquiterpen-lactona neurolenina- B.

Algunas muestras aparentemente presentan menor proporción de neurolenina- B, tales como las de los cultivares de Coatepeque-FAUSAC, Coatepeque-Coatepeque y Morales-FAUSAC, así como la población de Morales. Sin embargo, las diferencias no son sustanciales.. Podrían haber sido producidas a causa de la adición de menos reactivo revelador en algunas zonas de la cromatoplaca.

Si se considera que las diferencias encontradas son mínimas, cuando se utiliza cromatografía en capa fina como método de análisis, se hace necesario esperar hasta que en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Düsseldorf realice un análisis cuantitativo de las sesquiterpen-lactonas presentes en las muestras evaluadas en el presente trabajo. Puesto que dicho análisis se realizará mediante cromatografía líquida de alta presión, que es mucho más sensible, y se utilizarán como compuestos referencia las once sesquiterpen-lactonas descubiertas hasta hoy, se espera contar con mayor información en cuanto al grado de variabilidad fitoquímica entre poblaciones y cultivares. Sin embargo, es importante tomar en cuenta que, tal como se esperaba, el método de cromatografía en capa fina permite deducir que no hay diferencia sustancial en cuanto al contenido de principios amargos presentes en las hojas de *Neurolaena lobata* colectada en las poblaciones naturales de La Unión (Zacapa), Morales(Izabal), Coatepeque (Quetzaltenango), Chajmaic (Alta Verapaz) y

en muestras provenientes de campos situados en el Centro Experimental Docente de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala Ciudad Universitaria, zona 12 de la ciudad capital y la finca Las Casas, en Coatepeque (Quetzaltenango).

Es interesante comparar los resultados obtenidos del presente trabajo con los publicados anteriormente en la Facultad de Agronomía, en cuanto a la caracterización agronómica de la planta(4), así como los publicados en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia respecto a la evaluación de la acción antimalárica in vivo de la misma planta(5), con fines de domesticación. El estudio agronómico permitió establecer, con base al análisis de la estructura morfológica floral, así como del componente ambiental que estas características no difieren, significativamente ni dentro ni entre las poblaciones y cultivares de *Neurolaena lobata*(4). De igual forma, al efectuar el ensayo farmacológico no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antimalárico inducido en ratones tratados con los extractos metanólicos de hojas de *Neurolaena lobata* procedente de las poblaciones naturales y de sus cultivares(5). Tal como ocurriera en estos dos proyectos de investigación, el presente trabajo confirma que las poblaciones y cultivares no difieren substancialmente entre sí.

Sin embargo, tal como se indicó antes, es importante tomar en cuenta los resultados del análisis cuantitativo que actualmente se realiza en Alemania, de manera que pueda concluirse con mayor seguridad.

10. CONCLUSIONES

- 10.1** El análisis cromatográfico en capa fina no permitió detectar diferencias sustanciales en cuanto al contenido de principios amargos en las hojas de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) procedente de las poblaciones naturales de Morales (Izabal), Chajmalc (Alta Verapaz), La Unión (Zacapa) y Coatepeque (Quetzaltenango), y de los cultivares provenientes de campos experimentales situados en el Centro Experimental Docente de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Ciudad Universitaria, zona 12 de la ciudad capital, y la finca Las Casas, en Coatepeque (Quetzaltenango).
- 10.2** El método permitió establecer que todas las muestras analizadas contienen la sesquiterpen-lactona neurolenina-B, que es la más abundante en la planta, y ha mostrado significativa actividad antiplasmódica. Esto permite deducir que todas las muestras analizadas tienen utilidad en el tratamiento de la malaria.

11. RECOMENDACIÓN

Es importante divulgar los hallazgos recientes sobre *Neurolaena lobata*, (L.) R. Br. (tres puntas) para que se haga un uso correcto de la misma.

A pesar de que aún no se cuenta con un análisis cuantitativo propiamente de las muestras de poblaciones y cultivares de la planta, al no haberse encontrado diferencias substanciales en el estudio agronómico, fitoquímico y farmacológico, será importante cultivar la planta en mayor escala, e iniciar los estudios clínicos, para evaluar su acción antimalárica en humanos. Para ello podría involucrarse a la División de Malaria del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social.

Por otro lado, es importante que para los estudios sobre plantas medicinales nativas con utilidad potencial en Guatemala, además de los aspectos farmacológicos, toxicológicos y fitoquímicos tradicionales, se evalúen también los agronómicos, de manera que la población tenga acceso a la planta, sin necesidad de hacer uso de las poblaciones naturales, lo cual podría llevar a la extinción de un recurso muy valioso.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

12. REFERENCIAS:

- 12.1 Dirección General de Servicios de Salud. 1993. Memoria Anual del SNEM. Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. pp (4,5).
- 12.2 Medinilla, B. 1992. Evaluación farmacológica y toxicológica " In vivo" de algunas plantas comúnmente empleadas en Guatemala contra la malaria. Informe Final DIGI. Universidad de San Carlos de Guatemala. 42p.
- 12.3 Medinilla, B. 1994. Plantas guatemaltecas muestran valor potencial como agentes antipalúdicos. UNIVERSIDAD. Organo divulgativo de la Universidad de San Carlos de Guatemala. pp:3
- 12.4 Moreno, P. 1995. Caracterización de cuatro poblaciones de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas)., " In Situ", y su evaluación, " Ex Situ ", en dos localidades, con fines de domesticación. Informe de tesis, Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.(p123)
- 12.5 Rodas, S. 1994. Caracterización Farmacológica de cuatro poblaciones naturales de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas), Evaluadas " In Situ" y en dos localidades " Ex Situ," con el propósito de su domesticación. Informe de tesis. Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.(P34)

- 12.6 Stahl, E. 1973 Drug Analysis by Chromatography and microscopy. Ann Arbor Science. Michigan. pp:1.
- 12.7 Programa de Naciones Unidas Para el Para el Desarrollo.1991.Utilización de Plantas medicinales y aromáticas para el desarrollo de una industria farmacéutica basada en plantas. Guatemala.45p.
- 12.8 Proyecto de Plantas Medicinales, GEXPRONT/ FAUSAC/ICTA/AID.1992. Desarrollo Agrotecnológico de Cinco Especies Silvestres Medicinales con Potencial Industrial en Guatemala. Guatemala. 55p
- 12.9 Morton, J. 1977. "Some folk-medicine plants of Central American marquets". Quart. J. Crude Drug Res., 15: 165-192.
- 12.10 Gupta,M.; N. Solís, M. Avella et al.1984."Hypoglycemic activity of *Neurolaena lobata* (L.) R. Br.;Ethnopharmacol. 10: 323-327.
- 12.11 Castañeda, J. y G. de García. 1978. Guatemala Indígena; aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala. vol. XIII (3-4).Pp: 434-445.
- 12.12 Morton, J. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Midle America, Bahamas to Yucatán. C.C. Thomas, Springfield, Illinois. XXVIII +, 145 p.(p949).

- 12.13 Anderson, C. 1996. Evaluación de la toxicidad Sub-Aguda de *Neurolaena lobata* (L.) R.Br (tres puntas) y *Simarouba glauca* (Aceltuno). Informe de tesis, Químico Farmacéutico. Facultad de ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 12.14 Sauvain, M.; Ch. Moretti, e. Ruiz et al. 1994. Determinación de Actividad Antimalárica en *Neurolaena lobata*. Informe TRAMIL. Instituto Boliviano de Biología de Altura.
- 12.15 Medinilla, B. y Y. Echeverría. 1995 Tamizaje fitoquímico y evaluación farmacológica "in vivo" de extractos alcohólicos de plantas comúnmente usadas en Guatemala contra la malaria. Informe final DIGI. Universidad de San Carlos de Guatemala. 43 p.
- 12.16 Ollvares, H. 1993. Evaluación de la Actividad Antiespasmódica "In vitro" de *Lippia dulcis* (Oruzús) y *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas). Informe de tesis. Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 12.17 Tally, W. 1995. Contribución Al Estudio Farmacológico de las hojas de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br. (tres puntas) como antiespasmódico (Fase II). Informe de tesis. Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

- 12.18 Leewenberg, A. (compiler).1987. Medicinal and Poisonous Plants of the tropics. Proceedings of Symposium 5-35 of the 14th International Botanical Congress, Berlin, 24 July-August. Pudoc Wageningen. The Netherlands. Pp:111-114
- 12.19 Kerr, K. T., Mabry & S. Yoser. 1981."6-hydroxi-and 6-methoxy flavonoids from *Neurolaena lobata* and *N. Macrocephala*. Phytochemistry. 20(4): 791-794
- 12.20 Borges, J.; M., Manresa, F., Rodriguez & P. Vásquez.1982.Panamá flora. II. New sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R. ; Br* J. Nat Prod.. 45: 762-765.
- 12.21 Francols, G.; C. Passreiter and C. Doechez. 1994. Antiplasmodial activities of aqueous extracts and constituents of *Neurolaena lobata*. Posters, europ.J Pham. Sci., 2:2121
- 12.22 Manchand, P & J. Blaunt. 1978. "Stereostructures of neurolins A and B, novel gemacranolide sesquiterpenes from *Neurolaena lobata* (L.) R.;Br.*J. Org. Chem., 43:22.
- 12.23 Lock, O. Investigación Fitoquímica.1988. Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Pp:40-51
- 12.24 Cronquist, A. 1982. Botánica Básica. CECSA. México. 587p.
- 12.25 Wagner H. Bladt S. Zgalnski EM. 1984 Plant drug analysis; A thin layer chromatography atlas. A Scott (trad.) Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. (299-320).

13 ANEXOS

ANEXO No. 1**CLASIFICACION BOTANICA (22)**

Reino: Vegetal
Sub-reino: Embrioblonta
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Sub-clase: Asteridaceae
Género: *Neurolaena*
Especie: *Neurolaena lobata*

ANEXO No. 2

Neurolaena lobata (L.) R. Br. (tres puntas)

Otros Nombres: Hierba amarga, Mano de lagarto, Quina, Rabo de faisán, Retama, Arbusto, Romerillo, Salvia, Cimarrona, Sepi, Tabaquillo, Victoriana, Hierba del Cáncer.

Descripción de la Planta:

Es una hierba con un tallo corpulento, angulado, áspero y velludo de 3 metros de alto a veces son pocas las ramas. Las hojas son alternas, usualmente sin pecíolo, lanceoladas u oblongas, irregularmente dentadas y algunas tienen 2 lóbulos a manera de pulgares orientados hacia la base; los cuales son variables en tamaño de más o menos 30 centímetros de largo, ásperos y velludos.

Las flores son pequeñas, amarillas, sin rayos, en inflorescencia del tipo cabezuela de 6-8 mm de alto; en panículos terminales de 8 cm. o más de ancho.

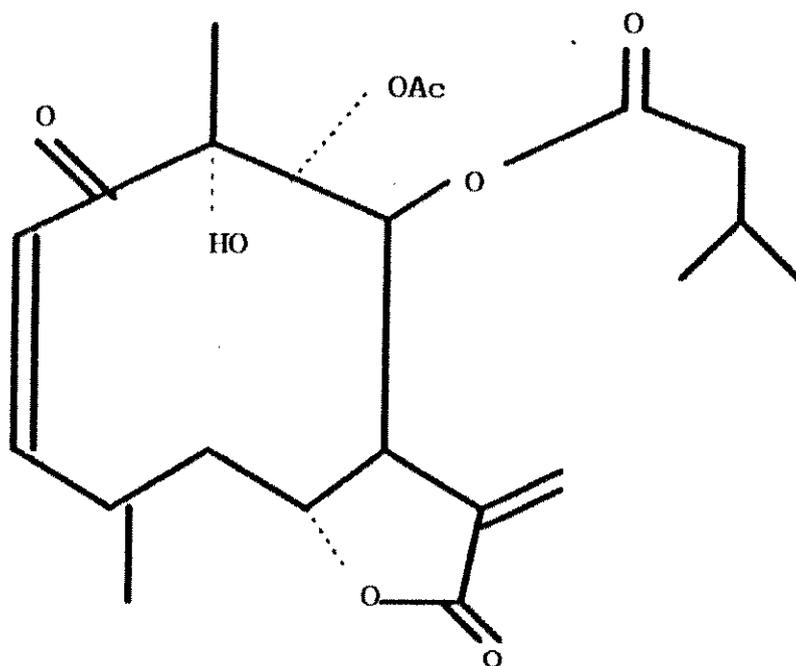
Las semillas son blancas, de 1.5 mm de largo, con papus blancuzco.

Origen y Distribución:

Es originaria del área comprendida desde Yucatán a la parte norte de Colombia y Venezuela; también en la India; en rangos desde el nivel del mar a elevaciones de 1,450 msnm. (12)

ANEXO No. 3

ESTRUCTURA QUIMICA DE LA NEUROLENINA

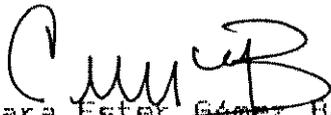


ANEXO No. 4**PREPARACION DEL REVELADOR ANISALDEHIDO-ACIDO SULFURICO:**

Mezclar 0.5 mL de anisaldehído con 10 mL de ácido acético glacial, seguidos de 85 mL de metanol y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, en ese orden.

El reactivo tiene estabilidad limitada, y ya no se puede usar cuando el color se ha tomado rojo-violáceo.

La placa es esprayada con aprox. 10 mL de esta solución y se calienta a 100° C por 5 a 10 minutos. Los resultados se evalúan en visible (25)



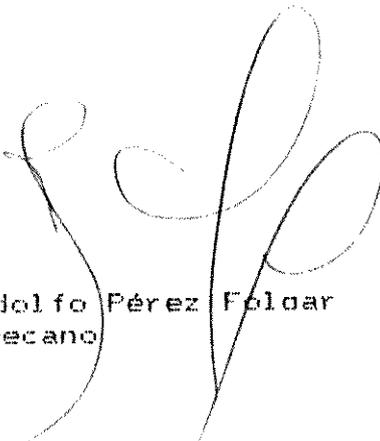
Clara Ester Gómez Barquez
Autora



Licda. Beatriz Medinilla Aldana
Asesora



Licda. Beatriz Batres de Jiménez
Directora



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano