

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**TAMIZAJE FITOQUIMICO DE LAS HOJAS Y FLORES
DE *LYCASTE SKINNERI* VARIEDAD *ROSEA*, *RUBOROSA* Y
ARMENIACA POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.**

Presentado por

JULIO ROBERTO GARRIDO LOPEZ

PARA OPTAR AL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO

Guatemala, febrero del 2001.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06
t(2109)

DEDICATORIA

Dedico este acto a:

- DIOS:

Faro de luz y guiador de mi entendimiento, creador de este sueño que culmina con este triunfo tan anhelado.

- MIS PADRES:

Brígido Garrido Castro

Elvira López Catalán

A quienes dedico este acto tan especial y que mi triunfo sea una mínima recompensa a sus múltiples esfuerzos y sacrificios.

- MIS HERMANOS:

José Vidal y Gustavo Adolfo

Qué mi triunfo sea un ejemplo de superación.

- MI ABUELITA:

Dorotea Catalán Díaz

Gracias por sus sabios consejos.

- MIS TIAS:

Irma, Blanca Estela y Maria Elena.

- MIS AMIGOS: Freddy Palencia, René, Canche, Gualy, Jose Paredes, Bladi, Marcela, Mynor, Wulfredo, Oscar, Elmer Donis; gracias por las porras que me echaron para salir adelante.

- MIS COMPAÑEROS DE ESTUDIO: Karen, Carolina, Mariela, Beatriz, Jorge, Fabián, Mishel, Ana Lucia, Blanky, Mónica, Roxanda, Rosa Alba, Wendy.

- AL PERSONAL DEL HOSPITAL NACIONAL DE SAN MARCOS

AGRADECIMIENTOS

- A Sanarate
Pequeño rincón que me vio nacer.
- A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por darme la oportunidad de formarme como profesional.
- A todos mis catedráticos, por el esfuerzo que invirtieron en mi formación académica, especialmente a los Licenciados (as): Rolando López, Beatriz Medinilla, Estuardo Serrano, Smirna Velásquez, Ana Lucía Valle, Eleonora Gaitan, Amarilis Saravia, Raquel Pérez.
- Al Departamento de Farmacognosia y Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, especialmente a la Licda. Beatriz Eugenia Medinilla Aldana y Fredy Archila, por su asesoría y apoyo para la realización del presente trabajo de investigación.

INDICE

01.- RESUMEN	01
02.- INTRODUCCION	03
03.- ANTECEDENTES	04
04.- JUSTIFICACION	07
05.- OBJETIVOS	08
06.- HIPOTESIS	09
07.- MATERIALES Y METODOS	10
08.- RESULTADOS	17
09.- DISCUSION	24
10.- CONCLUSIONES	26
11.- RECOMENDACIONES	27
12.- REFERENCIAS	28
13.- ANEXOS	33

1.- RESUMEN

La investigación que se presenta a continuación se realiza como un estudio preliminar con el objetivo de caracterizar los metabolitos secundarios presentes en *Lycaste skinneri* variedad rosea, ruborosa y armeniaca como un medio de clasificación de dicha especie, para que sean reconocidas como nativas de Guatemala en el ámbito internacional; ya que actualmente no se cuenta con esta información y además porque hasta la fecha no se ha realizado un estudio con este propósito en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Se utilizó cromatografía en capa fina, ya que es un método rápido, confiable, de fácil evaluación visual y fácil para el análisis de plantas.

Es importante mencionar que *Lycaste skinneri* variedad rosea, ruborosa y armeniaca son plantas ornamentales que se utilizan de adorno en eventos especiales por ser atractivas hacia las personas por la diversidad de coloridos.

Se logró determinar mediante cromatografía en capa fina, que las hojas y flores de *Lycaste skinneri* variedad *rosea*, *ruborosa* y *armeniaca* contienen entre sus metabolitos secundarios: antraglicósidos, flavonoides y cumarinas; además existe una diferencia significativa de estos en las variedades rosea y ruborosa de la armeniaca.

Basándose en lo anterior se recomienda efectuar la clasificación botánica de las variedades estudiadas de acuerdo a los resultados obtenidos.

2.- INTRODUCCION

Guatemala, conocida en el mundo como "el país de la eterna primavera", tiene bellos paisajes, salpicados de flores durante todo el año y, entre ellas, una gran variedad de orquídeas. Algunas, endémicas en nuestra geografía, han contribuido a que el país sea conocido por los aficionados de todo el mundo. Guatemala es, en efecto, la cuna de un gran número de especies del género *Lycaste*, entre las que se encuentra *Lycaste skinneri*, con una gran diversidad de formas y coloridos (1).

Lycaste skinneri es una orquídea que posee complicaciones supraespecíficas e infraespecíficas, ya que es una especie que ha sido estudiada superficialmente, debido a que las personas no han tenido acceso a las poblaciones naturales, por ser extranjeros desconocedores del área, y porque sólo se ha analizado desde su punto de vista taxonómico (2).

El presente proyecto tiene por objeto efectuar el tamizaje fitoquímico de las hojas y flores de *Lycaste skinneri*, variedad **rosea**, **ruborosa** y **armeniaca** por cromatografía en capa fina, para caracterizar los metabolitos secundarios de la planta.

3.- ANTECEDENTES

3.1.- Estudios similares a esta investigación:

El presente trabajo es original en comparación a los tamizajes fitoquímicos realizados anteriormente, ya que los metabolitos secundarios caracterizados serán una herramienta útil en la clasificación de *Lycaste skinneri* y además porque hasta la fecha no se ha realizado un estudio con este propósito en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (03).

3.2.- *Lycaste skinneri*

3.2.1.- Historia: existe una confusión considerable sobre la correcta clasificación de esta planta, la cual fue descrita por primera vez en Francia e Inglaterra por dos autores diferentes y con distinto nombre. Bateman, que fue uno de los clasificadores la publicó en 1,840 como *Maxilaria skinneri*, la que fue reportada en el Botanical Register. En 1,942 Lindley, el otro clasificador, indicó que Bateman había cometido un error cuando la clasificó como *Maxilaria armatica*, pero Lindley nunca había visto el material de Bateman en vivo (04).

En 1,843 Lindley introdujo este género como *Lycaste*, luego éste fue a recolectar la planta a Chiapas y Guatemala, donde la designó como *Lycaste skinneri* en 1,844 (04).

Lycaste skinneri, es una planta epífita. Crece en bosques muy húmedos de clima frío, sobre ramas de árboles gruesos, cubiertos de musgo y con poca luz. Florece de noviembre a febrero. Además crece en la región 5, o llamada húmeda. Esta región está formada por la parte norte de la región central del país, incluyendo los vertientes del norte y las cumbres de la Sierra de Las Minas. Estas montañas detienen la humedad proveniente del caribe, que penetra tierra dentro desde el norte, lo cual determina un clima frío (1).

Lycaste skinneri es una especie muy variable, con mucho vigor y variedades infinitas. La variedad *rosea* fue descrita por Williams como una orquídea con sépalos y pétalos de color rosado oscuro y labio blanco con manchas carmesí. La variedad *armeniaca* fue descrita por Wolf, quien entre sus características mencionó que los pétalos, sépalos y especialmente el labio tienen un tinte claro de color melocotón (04).

A diferencia de las anteriores, la variedad *ruborosa* no ha sido claramente descrita en la literatura. Únicamente se ha mencionado que sus pétalos, sépalos y el labio son de color corinto (2).

Todas estas variedades poseen la característica común de que crecen en selvas frías-húmedas con alto contenido de niebla o lluvia y con sombras densas. Para cultivarlas toleran ambientes secos y soleados pero deben mantenerse frío (05).

La información científica sobre *Lycaste skinneri* es sumamente escasa, pues actualmente solo se cuenta con estudios taxonómicos,

estadísticos y etnobotánicos, siendo una recomendación de las personas que se dedican a su investigación realizar un estudio fitoquímico de la planta, pues hasta ahora no se ha realizado un estudio de esta naturaleza lo que contribuirá a conocer el tipo de componente presente en ella (2).

3.3.- Estudios sobre tamizajes fitoquímicos:

Hasta la fecha se han realizado varios estudios sobre tamizaje fitoquímico en la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Las especies evaluadas fueron plantas medicinales y alimenticias. Inicialmente se utilizó análisis químico cualitativo, por coloración en tubo de ensayo (de 1,975 a 1,982) y posteriormente se empleó cromatografía en capa fina (desde 1,997 a la fecha). Este último método conlleva la ventaja de que evita resultados falsos positivos, reduciendo la subjetividad, así como posibles confusiones en las coloraciones que se forman. Los resultados son mas confiables debido a que mediante el uso de reactivos reveladores y radiación ultravioleta puede evidenciarse componentes mediante su coloración y su Rf; para luego compararse con estándares específicos (06,07,08,09,10,11,12,13).

4.- JUSTIFICACION

Lycaste skinneri es una orquídea nativa guatemalteca aún no debidamente descrita desde el punto de vista botánico, ya que existe controversia en cuanto a sus caracteres morfológicos específicos. Es por ello importante investigar los metabolitos secundarios que contiene, tomando en cuenta que "comparados con los caracteres morfológicos, los componentes fitoquímicos son definibles con mayor precisión, y pueden tener además importancia para los fines de clasificación" (14). El tamizaje fitoquímico de las flores y hojas de *Lycaste skinneri* permitirá no solamente caracterizar la especie, sino además diferenciar tres de sus variedades: **rosea, ruborosa y armeniaca**, para que sean reconocidas como nativas de Guatemala a nivel internacional.

5.- OBJETIVOS

5.1.- GENERAL:

- Contribuir a la clasificación de los recursos fitogenéticos de la biósfera guatemalteca y así conocer las potencialidades con que contamos en nuestro país.

5.2.- ESPECIFICOS:

- Caracterizar los metabolitos secundarios contenidos en las hojas y flores de *Lycaste skinneri*, variedad *rosea*, *ruborosa* y *armeniaca* por medio de cromatografía en capa fina.
- Evaluar la diferencia entre los metabolitos secundarios contenidos en las variedades *rosea*, *ruborosa* y *armeniaca* de *Lycaste skinneri*, y lograr así su clasificación

6.- HIPOTESIS

Los metabolitos secundarios presentes en los extractos de las hojas y flores de *Lykaste skinneri* variedad *rosea*, *ruborosa* y *armeniaca* pueden ser caracterizados y diferenciados por cromatografía en capa fina para cada variedad, como medio de clasificación.

7.- MATERIALES Y METODOS

7.1.- UNIVERSO DE TRABAJO

Hojas y flores de *Lycaste skinneri*, variedad *rosea*, *ruborosa* y *armeniaca*.

7.2.- MEDIOS

7.2.1.- RECURSOS HUMANOS

- Autor del trabajo: Julio Roberto Garrido López
- Asesores: Licda. Beatriz Medinilla

Agrónomo Fredy Archila Morales

7.2.2.- RECURSOS MATERIALES

- Biblioteca de las siguientes instituciones: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Instituto Técnico de Capacitación y Productividad.

Instalaciones, reactivos, material y equipo del Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.3.- PROCEDIMIENTO

6.3.1.- Revisión bibliográfica sobre la planta *Lycaste skinneri*, variedad *rosea*, *ruborosa* y *armeniaca*.

6.3.2.- Recolección de la planta.

6.3.3.- Caracterización botánica de la planta por el agrónomo Fredy Archila Morales.

6.3.4.- Secado y molienda de las hojas y flores de la planta.

7.4.- METODO

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

7.4.1.- PREPARACION DE EXTRACCIONES:

7.4.1.1.- Para el análisis de **antraglicósidos, antranólidos, arbutina, principios amargos y flavonoides.**

Extraer 1 gramo de material vegetal pulverizado con 5 ml de metanol, calentando en baño de maría por 15 minutos. Filtrar.

Aplicar entre 20 y 100 microlitros de filtrado sobre la cromatoplaca.

7.4.1.2.- Para el análisis de **alcaloides.** Empapar 1 gramo de material vegetal pulverizado con 1 ml. de solución de hidróxido de amonio al 10% en un tubo de ensayo y agitar por 15 min. A 60 grados centígrados con 5 ml. de metanol; Aplicar entre 20 y 100 microlitros del filtrado sobre la cromatoplaca.

7.4.1.3.- Para el análisis de **saponinas.** Test de espuma: pesar 100 mg. de material vegetal seco y pulverizado y colocarlo en un tubo de ensayo. Para comparar utilizar 2 tubos control: a) 2 ml. de control de saponinas (preparación: disolver 250 mg. de estándar de saponinas en 50 ml. de agua). b) 2 ml. de agua destilada. Añadir 10 ml. de agua destilada a cada tubo. Calentar en baño de maría durante 30 minutos. Enfriar, tapar y agitar

vigorosamente durante 30 a 40 segundos. Dejar reposar los tubos en posición vertical durante media hora. Si luego de transcurrido este tiempo se observa una capa de espuma mayor de 3 cm. en la superficie del líquido, se presume que la muestra contienen saponinas. Si la espuma es poca y fugaz puede atribuirse a una mínima concentración de saponinas o también a la presencia de proteínas o ácidos orgánicos.

Test de hemólisis: Preparar una caja de petri con agar sangre y usando un tubo de ensayo de aproximadamente centímetro de diámetro remover una capa de agar sangre de tres partes diferentes de la caja, equidistantes entre sí.

Calentar con un mechero un agitador de uno a dos milímetros de diámetro, e inmediatamente sellar los bordes del agar de cada copa agar sangre. Es posible que se requiera repetir varias veces el calentamiento hasta sellar adecuadamente.

Utilizar un gotero o una pipeta Pasteur, añadir suficiente extracto vegetal acuoso a una de las copas hasta casi llenarla, de manera que la muestra no se extienda sobre la superficie de agar-sangre. Llenar la segunda copa con control de saponinas y la tercera con agua destilada.

Dejar en reposo durante 24 horas, en refrigeración, y observar la presencia de zonas claras de hemólisis que

JUNTA DIRECTIVA

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

DECANA:	Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
SECRETARIO:	Lic. Oscar Federico Nave Herrera
VOCAL I:	Dr. Oscar Manuel Cóbar Pinto
VOCAL II:	Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda
VOCAL III:	Dr. Federico Adolfo Richter Martínez
VOCAL IV:	Br. César Alfredo Flores López
VOCAL V:	Br. Manuel Aníbal Leal Gómez

circundan cualesquiera de las copas. Si se encuentran presentes, medir la zona desde el punto más lejano de hemólisis a la orilla de la copa (anotar los resultados en milímetros). Si el resultado fuese negativo, no se procede a la caracterización cromatográfica.

Caracterización cromatográfica de saponinas: pulverizar 1 gramo de la planta y extraer con 5 ml. de metanol, calentar en baño de maría por 15 minutos. Evaporar hasta aproximadamente 1 ml., y aplicar entre 20 y 100 microlitros del extracto sobre la cromatoplaca.

- 7.4.1.3.- Detección de **glicósidos cardiotónicos**: extraer 1 gramo del material vegetal pulverizado con 5 ml. de metanol al 50% y 10 ml. de acetato de plomo II al 10%, calentando durante 10 minutos en baño de maría. Enfriar el filtrado y extraerlo con dos porciones separadas de 10 ml. de diclorometano y evaporar completamente los extractos diclorometánicos combinados.
- Disolver el residuo en una proporción de diclorometano-metanol {1:1} (con 1 o 5 ml. de cada uno respectivamente).
- Aplicar 100 microlitros de esta solución sobre la cromatoplaca.

7.4.1.4.- Detección de **aceites esenciales, cumarinas, ácidos carboxílicos fenólicos y valepotriato:**

pulverizar 1 gramo de la planta desecada y extraerla con 10 ml. de diclorometano mediante calentamiento a 60 grados centígrados por 15 minutos. Filtrar y evaporar a sequedad. Disolver el residuo en 1 ml. de tolueno y aplicar entre 20 y 100 microlitros sobre la cromatoplaca.

7.4.2.- PREPARACION DE LOS SISTEMAS DE SOLVENTES:

- Acetato de etilo-metanol-agua (100:13:5:10)

Para el análisis de antraglicósidos, arbutina, glicósidos cardiotónicos, principios amargos, flavonoides, alcaloides y saponinas.

- **Tolueno-acetato de etilo (93:7):**

Para el análisis de aceites esenciales, cumarinas, valepotriatos y ácidos de las plantas.

7.4.3.- PREPARACION DE LOS REACTIVOS REVELADORES:

- **Reactivo de Borntrager. (KOH al 10% en etanol):**

Se utiliza para detectar antraquinonas (amarillo).

Asperjar la cromatoplaca con 10 ml. de la solución, observar bajo luz UV de 365 nm, con o sin calentamiento a 110 grados centígrados por 5-10 minutos.

- **Reactivo de kedde:**

Permite detectar glicósidos cardiotónicos (rosado-violeta-azul).

Mezclar 5 ml. de ácido 3-5-dinitrobenzoico al 3% en etanol, recientemente preparado, con 5 ml. de Hidróxido de sodio 2M.

- **Reactivo de Dragendorff:**

Detecta alcaloides (naranja). Disolver 0.85 gramos de nitrato básico de bismuto en 40 ml. de agua y 10 ml. de ácido acético glacial, seguido por adición de 8 gramos de yoduro de potasio disuelto en 20 ml. de agua.

- **Reactivo de Berlin blue:**

Detecta arbutina (azul).

Mezclar 10 gramos de cloruro férrico y 0.5 gramos de hexacianoferrato de potasio en 100 ml. de agua, hasta disolución completa. Debe utilizarse recientemente preparado.

- **Reactivo de productos naturales:**

Permite detectar flavonoides (amarillo-verde-anaranjado en luz UV 365 nm).

Asperjar con difenil-boril-oxietilamina (NP) al 1% seguido por polietilenglicol-4000 (PEG) al 5% en etanol (10 ml y 8 ml respectivamente).

- **Reactivo de vainillina-ácido sulfúrico:**

Detecta principios amargos (rojo-café o amarillo-café), saponinas (azul) y aceites esenciales (azul, café o rojo).

(Solución I): Acido sulfúrico al 5% en etanol.

(Solución II): Reactivo de ácido clorhídrico-ácido acético: Detecta cumarinas. Hidróxido de potasio al 5% o 10% (Reactivo de Bortrager) (14,15,16).

8.- RESULTADOS

La figura 1 muestra los resultados de la caracterización cromatográfica correspondiente a cumarinas de las hojas de las variedades Rosea, Ruborosa y Armeniaca de la especie *Lycaste skinneri*, puede observarse que todas poseen cumarinas: La variedad Armeniaca presenta solo una banda amarillenta característica de este tipo de compuesto con Rf: 0.79; mientras que la Ruborosa y Rosea presentan 2 bandas que coinciden tanto en valor de Rf como en coloración (una café y la otra amarilla con Rf: 0.15 Y 0.34 respectivamente).

En la figura 2 se muestra los cromatogramas de cumarinas en las flores de las mismas variedades bajo estudio. Puede observarse que el cromatograma es idéntico al anterior, ya que coinciden los valores de Rf y coloración de las bandas.

Figura 1: CROMATOGRAMA DE CUMARINAS EN LAS HOJAS DE LAS VARIEDADES ROSEA, RUBOROSA Y ARMENIACA DE LA ESPECIE *Lycaste skinneri*

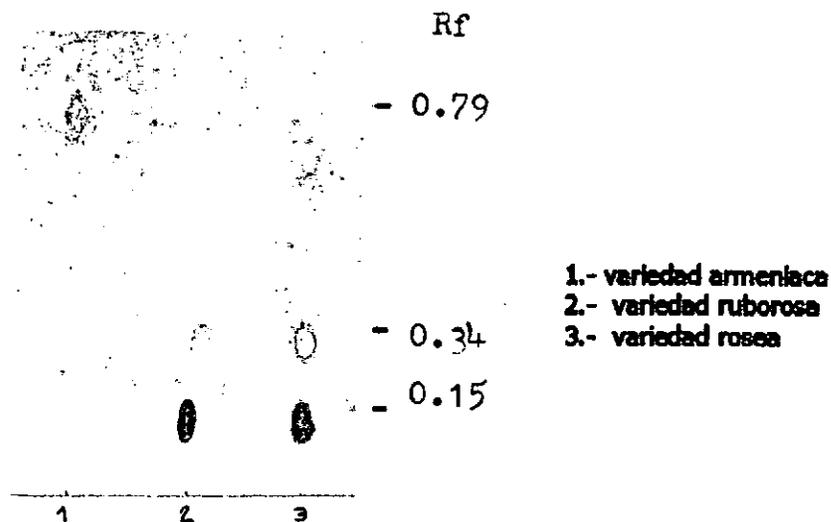
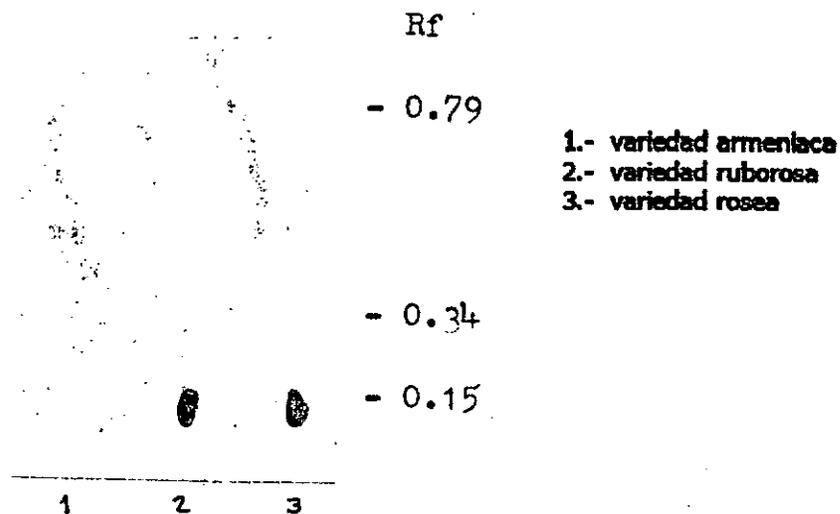


Figura 2: CROMATOGRAMAS DE CUMARINAS EN LAS FLORES DE LAS VARIEDADES ROSEA, RUBOROSA Y ARMENIACA DE LA ESPECIE *Lycaste skinneri*



Sistema de solventes:

Tolueno-acetato de etilo (93:7)

Revelador:

KOH etanólico al 10%

Azul/verde/amarillo/café/violeta, luz UV 365 nm

La figura 3 muestra el cromatograma de los flavonoides detectados en hojas en las variedades Rosea, Ruborosa y Armeniaca, pudiéndose observar 2 bandas cromatográficas; una de color verde y otra de coloración amarilla en las tres variedades (con Rf: 0.31 Y 0.84 respectivamente). La variedad Armeniaca posee además una banda adicional de color anaranjado con Rf: 0.125.

La figura 4 muestra el cromatograma de las flores de las variedades a estudiar. Tal como ocurriera con las hojas, las flores también contienen los mismos flavonoides; ya que coinciden totalmente los dos cromatogramas.

Figura 3: CROMATOGRAMA DE FLAVONOIDES EN LAS HOJAS DE LAS VARIETADES ROSEA, RUBOROSA Y ARMENIACA DE LA ESPECIE *Lycaste skinneri*

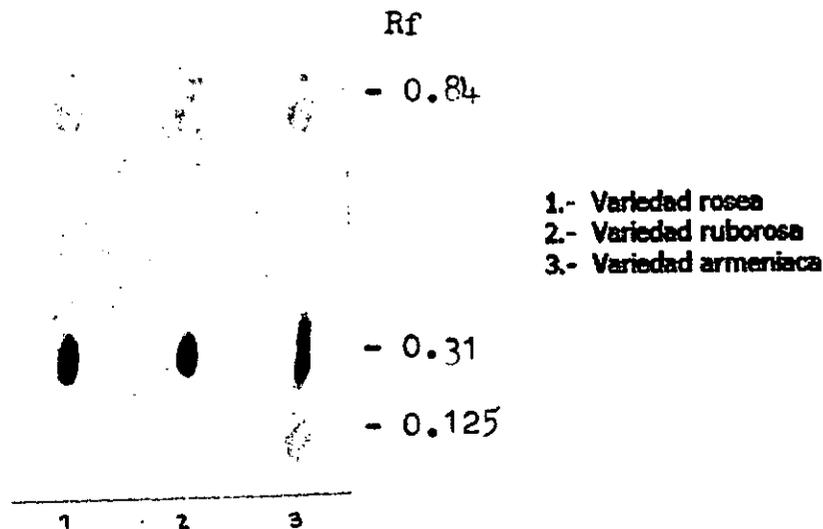
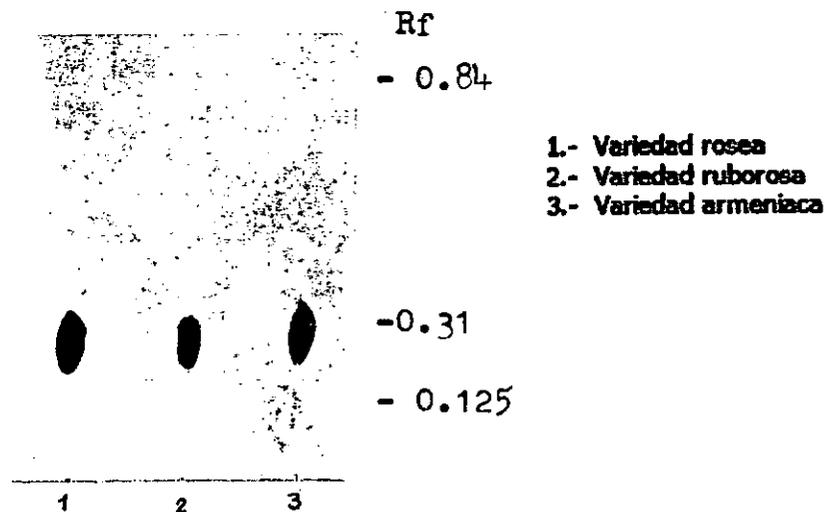


Figura 4: CROMATOGRAMA DE FLAVONOIDES EN LAS FLORES DE LAS VARIETADES ROSEA, RUBOROSA Y ARMENIACA DE LA ESPECIE *Lycaste skinneri*



Sistema de Solventes:

Acetato de etilo-metanol-agua (100-13.5-10)

Revelador:

Reactivo de productos naturales-polietilenglicol

Amarillo/naranja/verde, luz UV 365 nm

El cromatograma de antraquinonas presentes en las hojas de las variedades investigadas permite observar 3 bandas de color amarillo a las variedades Rosea y Ruborosa (Rf: 0.125, 0.61 y 0.83), mientras que la Armeniaca coincide solo en 2 compuestos antraquinónicos (Rf: 0.125 y 0.83). (Figura 5). Tal como ocurriera con los flavonoides y cumarinas, el cromatograma de las flores coincide totalmente con el correspondiente a las hojas. (Figura 6).

FIGURA 5: CROMATOGRAMA DE ANTRAQUINONAS EN LAS HOJAS DE LAS VARIEDADES ROSEA, RUBOROSA Y ARMENIACA DE LA ESPECIE *Lycaste skinneri*

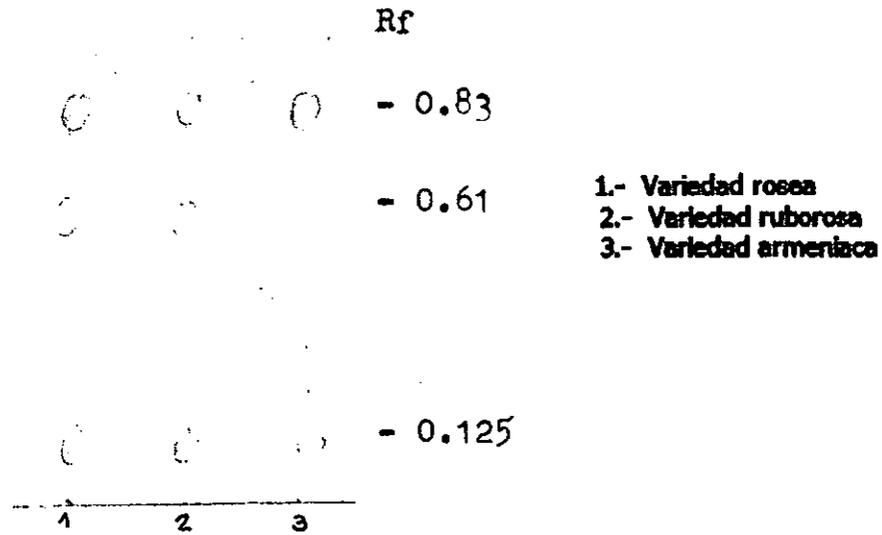
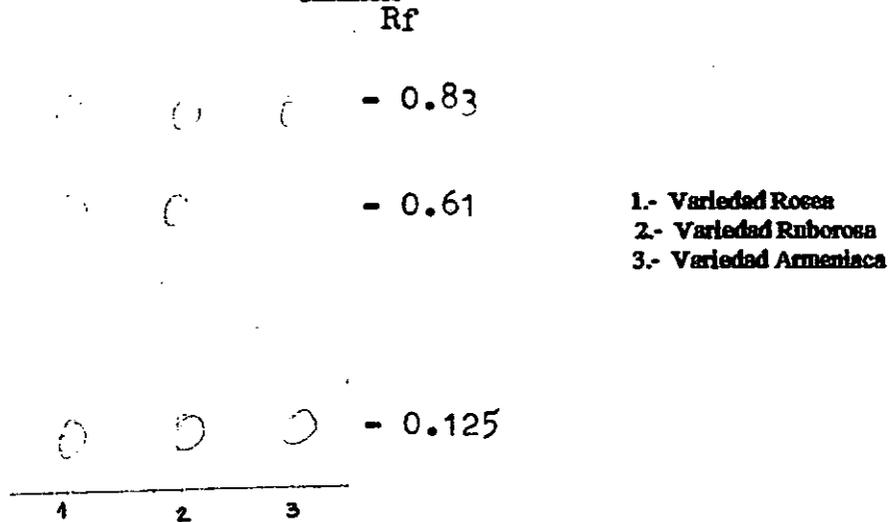


FIGURA 6: CROMATOGRAMA DE ANTRAQUINONAS EN LAS FLORES DE LAS VARIEDADES ROSEA, RUBOROSA Y ARMENIACA DE LA ESPECIE *Lycaste skinneri*



Sistema de Solventes

Acetato de etilo-metanol-agua (100-13.5-10)

Revelador:

KOH etanólico al 10%

Rojo/amarillo, luz UV 365 nm

9.- DISCUSION DE RESULTADOS

Basándose en el tamizaje fitoquímico efectuado en las hojas de *Lycaste skinneri*, puede afirmarse que las variedades Ruborosa y Rosea poseen los mismos compuestos cumarinicos, ya que las coloraciones de sus bandas, así como sus Rf son idénticos, mientras que la variedad Armeniaca posee otro tipo de cumarina, debido a que el valor de su Rf es diferente aunque la coloración sea la misma.

Al igual que en el cromatograma de las hojas, el obtenido de las flores resultó idéntico en las diversas variedades (figura 1 y 2). Por lo que se puede observar, no existe una diferencia entre los metabolitos presentes en las variedades Ruborosa y Rosea. Por el contrario, si hay diferencia entre éstas y la variedad Armeniaca.

Basándose en las coloraciones de las bandas obtenidas de las cumarinas en las variedades rosea, ruborosa y armeniaca, se podría esperar que se encuentren furanocumarinas.

Las cumarinas se caracterizan por tener una sistema benzo-alfa-pirona y su carácter lactónico. Además, dependiendo de su estructura, pueden ser clasificadas en cumarinas simples, furanocumarinas y piranocumarinas, pudiendo encontrarse en las plantas tanto en forma libre como en forma de glucósidos. Se caracterizan por su acción anticoagulante y antibacterial. Por ejemplo, el dicumarol es un agente anticoagulante. Otras tienen actividad antiespasmódica y antibiótica, como la novobiocina, y en algunos casos son tóxicas. A nivel industrial algunas se utilizan en perfumería (15,23).

Los cromatogramas que corresponden a los flavonoides de las hojas y flores (figura 3 y 4) muestran idénticos resultados. Dos bandas de coloración verde y amarilla (Rf: 0.31 y 0.84 respectivamente) que coinciden en todas las variedades, no coincidiendo una tercera banda en la variedad Armeniaca de coloración anaranjada (Rf: 0.125).

De acuerdo a las coloraciones amarillo, verde y anaranjado para flavonoides obtenidos en las variedades estudiadas, se presume que las distintas variedades evaluadas contienen compuestos del tipo flavona y flavonoles (15,23).

Los flavonoides tienen como estructura básica 2 anillos benzénicos unidos por un enlace de 3 carbonos que forma un anillo gamapirónico con un oxígeno. Los flavonoides se encuentran clasificados en clases individuales que incluyen a las antocianidinas, flavonas, catequinas, flavonoles, flavanonas, dihidroflavonoles y las flavan-3,4-dioles. Los pigmentos flavonoides existen en las plantas como glicósidos en los que uno o más de sus grupos hidroxilo están unidos a azúcares (15,23).

Las figuras 5 y 6 muestran los cromatogramas de antraquinonas en las hojas y las flores, los cuales nuevamente resultaron ser idénticos. Se detectaron dos bandas de color amarillo en las variedades Rosea, Ruborosa y Armeniaca con valores de Rf idéntico, mientras que en la variedad Rosea y Ruborosa se observa una tercera banda del mismo color y Rf.

Las variedades difieren solamente por una antraquinona, aunque son del mismo tipo.

Las antraquinonas son metabolitos secundarios vegetales que pueden clasificarse según su estado de oxidación en siete grupos estructurales: antraquinonas, antronas, diantronas, antranoles, oxantronas, naftodiantronas, antrahidroquinonas. Además poseen actividad purgante (15,23).

Basándose en los resultados obtenidos se puede notar que existe una estrecha relación fitogenética entre una variedad y otra, de acuerdo al metabolito caracterizado. Las cumarinas resultan ser las mismas en las variedades Ruborosa y Rosea, mientras que en la Armeniaca es diferente. Lo mismo ocurre con los flavonoides y las antraquinonas.

Es interesante observar que no se encontró diferencia entre el contenido fitoquímico de las hojas y las flores de cada una de las variedades estudiadas.

10.- CONCLUSIONES

10.1.- No existe diferencia entre las variedades Rosea y Ruborosa en cuanto a los metabolitos caracterizados (cumarinas, flavonoides y antraquinonas) en las hojas y flores; ya que coinciden la coloración de sus bandas, así como sus valores de Rf.

10.2.- La variedad Armeniaca difiere en sus componentes fitoquímicos de la Rosea y Ruborosa en hojas y flores de *Lycaste skinneri*; ya que posee diferentes bandas.

10.3.- Tomando en cuenta que el contenido fitoquímico de las variedades Rosea y Ruborosa es idéntico, y que hasta ahora no se ha podido diferenciarlas claramente desde del punto de vista botánico, no se justifica que se les continúe clasificando así.

11.- RECOMENDACIONES

11.1.- Utilizar el tamizaje fitoquímico para el estudio quimiotaxonómico de cualquier grupo vegetal, tomando en cuenta que posean características morfológicas similares, cuyos resultados sean útiles para una clasificación definitiva

11.2.- Realizar tamizaje farmacológico- de las hojas o flores de Las variedades evaluadas, con el objetivo de establecer si éstas poseen alguna actividad farmacológica.

11.3.- Realizar el fraccionamiento fitoquímico de las variedades, con el fin de establecer las estructuras químicas presentes y observar una diferenciación más específica.

12.- REFERENCIAS

- 1.- Behar, M. y Tinschert O. Guatemala y sus orquídeas. Guatemaya. Guatemala. 1,998. (pp. 15,131,132,152-153)
- 2.- Archila, F. Comunicación personal. Agrónomo egresado de la Escuela Nacional Central de Agricultura. 1,999.
- 03.- Medinilla, B. Comunicación personal. Química Farmacéutica, jefa del Departamento de Farmacognosia y Fitoquímica. Universidad de San Carlos de Guatemala, 1,999.
- 04.- Fowle, J. "The Genus Lycaste, Its Speciation, Distribucion, Literature and Cultivation, a monographic Revision. Day printing. USA 1,970. (pp. 60-65)
- 05.- Ames, O. And D.S. Correl. Orchids of Guatemala. Fieldiana bot. 26, Numero 1, 1997. (194-205)
- 06.- Agustin, L. Tamizaje Fitoquímico de las Inflorescencias de *Spanthiphyllum phryniifolium* (Gushnay): Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,998. (50 P)

07.- Velásquez, B. Tamizaje Fitoquímico de las partes aéreas (hojas, tallos y flores) de la planta *Galinsoga urticaefolia* (olla nueva). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,998. (53 P).

08.- Muñoz, L. Tamizaje Fitoquímico de las hojas de Eupatorium semialatum (Bacché) por Cromatografía en capa fina. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,997. (48 P).

09.- Escobar, D. Recopilación botánica y análisis químico cuantitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,979. (35P).

10.- Aceña, O. Recopilación botánica y análisis químico cuantitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,979. (45P).

11.- Pinto, E. Recopilación de datos botánicos y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas consideradas medicinales en Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,980. (57P).

12.- Moscoso, A. Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas conocidas medicinales en Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,981. (55P).

13.- Vides, J. Recopilación botánica y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas conocidas medicinales en Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,982. (18)

14.- Trease, y E. Farmacognosia. Interamericana McGraw-Hill. México 12 ed. 1,989. (pp. 11,12)

15.- Domínguez, X. Métodos de Investigación Fitoquímica. Limusa. México. Universidad Autónoma de México. 1,993. (pp.93.111.195,211,229)

16.- Stahl, E. "Thin-Layer Chromatography". 2ed. Springer-Verlag. New York- Heidelberg- Berlin 1,969. (pp. 216, 225-229)

17.- Wagner, H; Bladt, S. And Zgainski, E. "Plant Drug Analysis, a thin Layer chromatography Atlas. Springer-verlag. New York. 1,984. (pp. 22-48,66-90,102-114,2204-220)

18.- Castañeda, C. Importancia de la biodiversidad en el desarrollo de la sociedad guatemalteca. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Ingeniero Agrónomo) 1,995. (pp. 3,4,9,19,20)

19.- Martín, E. Farmacia Práctica de Remington. Hispanoamericana. México. 1,986. (pp. 67,68,69)

20.- Estrada, E. Plantas Medicinales de México. Universidad Autónoma de Chapingo. México. 1,989. (pp. 750,751,752)

21.- Lock, O. Investigación Fitoquímica. Universidad Católica del Perú. Perú. 1,998. (pp. 25,26,30)

22.- Barillas, T. Tamizaje Fitoquímico de la Raíz de *Discorea convolvulacea* (madre maíz). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de graduación (Químico Farmacéutico) 1,998. (pp. 8,9)

23.- Medinilla, B. Manual de Laboratorio de Fitoquímica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias. Universidad de San Carlos de Guatemala. 1,999. (27 P)

24.- Archila, F. Informe técnico de Recolección, Cultivo y Reproducción de Orquídeas. Práctica profesional agrícola y forestal supervisada. Escuela Nacional Central de Agricultura. 1,992 (pp. 1,2,3)

25.- Fowle, H. "The Essential Guide Lycaste". Day printing. USA. 1,970. (pp. 12-14)

13.- ANEXOS

13.1.- Generalidades

El comienzo de la agricultura es un paso fundamental en el desarrollo de la civilización. El hombre primitivo obtenía de las plantas alimento, medicinas, vestido y refugio. Las plantas desempeñaban un papel importante en muchas religiones primitivas. Los pueblos primitivos probablemente usaron productos de plantas silvestres y llegó un día en que sembraron las semillas de algunas de ellas, con el fin de obtener cultivos más cosechables y cerca de sus moradas (17).

Las agrupaciones que habitaron Mesoamérica se beneficiaron con la diversidad biológica encontrada en los bosques y en los sistemas lacustres. Aprovecharon la biodiversidad para múltiples fines:

- a) Para alimentación usaban maíz, frijoles, bledo, tomate, cereza, diversidad de chiles, ayotes, pepitoria, chilacayote, camote, etc.
- b) Para ceremonias religiosas usaban copal, tabaco y algunas plantas alucinógenas.
- c) Para las artesanías y códices, tulares, amates y palmas.
- d) Frutales como zapotes, chicos, anonas.

Los Ketchíes (Quichés de Alta Verapaz) cultivaban principalmente maíz y frijol (18).

Actualmente la mayoría de las plantas nativas de Guatemala son utilizadas como fuente de alimento y medicina principalmente (19).

Guatemala es un país ubicado en la región subtropical del hemisferio norte con un relieve marcadamente montañoso en casi el 60% de su superficie. Las diferentes zonas ecológicas varían desde el nivel del mar hasta un poco más de 4,000 metros de altitud, con precipitación pluvial que varía de una zona a otra, desde los 400 hasta aproximadamente 4,000 mm anuales (18). La variabilidad del país en diferentes pisos altitudinales conduce a diferencia de climas, fisiografía y suelos, los cuales constituyen factores importantes en la diversidad de ambiente y ecosistemas, todo lo cual permite que Guatemala posea una de las floras más ricas del mundo en términos de diversidad y variación, si se le compara con la superficie del país (18). Están registradas 8,681 plantas superiores (Pinophytas y Magnoliophytas), incluyendo algunas familias con alta diversidad, tales como la Asteraceae, Orchidaceae, Bisnoniaceae, Cyperaceae y Melastomaceae (18).

13.2 Quimiotaxonomía vegetal: todas las plantas poseen centenares de caracteres de naturaleza morfológica, histológica, embriológica, serológica, química y genética, que son potencialmente utilizables para elaborar una clasificación del reino vegetal (14).

Aunque en la mayoría de los casos la quimiotaxonomía ha

añadido evidencia confirmatoria a las clasificaciones de los taxónomos o ha servido para reforzar algunas decisiones taxonómicas es indudable que la adición de información química de los caracteres macro y micromorfológicos de los vegetales hará más seguras las decisiones taxonómicas (15).

Las dificultades con que se enfrenta el taxonomista son evidentes. La aparición de determinada característica en ciertas plantas no implica necesariamente una relación entre ellas, debido a que durante algún tiempo, en el pasado, bajo condiciones favorables, grupos completos de plantas no relacionadas pudieron haber sufrido determinado cambio. Por otra parte, plantas relacionadas pueden, con el tiempo, haber comenzado a diferir en sus características, de forma que los modernos fenotipos aparecen muy distinto (14).

El concepto de que las plantas pueden clasificarse de acuerdo con sus componentes químicos, no es nuevo; los primitivos investigadores, por ejemplo, clasificaban las algas verdes, pardas y rojas; sin embargo, en los treinta últimos años, las modernas técnicas de aislamiento y caracterización han permitido el tamizaje químico de muchos de miles de nuestras plantas (14).

Las características más estudiadas en quimiotaxonomía son los metabolitos secundarios, muchos de los cuales poseen claro interés farmacéutico y, más recientemente, las características del ADN, proteínas y la secuencia de aminoácidos en las proteínas (14).

13.3.- Fenología: Consiste en el estudio de los cambios periódicos de la vida vegetal, es decir, la suma de las influencias o fuerzas externas que actúan sobre las plantas modificando su crecimiento, estructura y reproducción en un lugar dado. La determinación de las fases fenológicas de las plantas medicinales bajo condiciones de cultivo adquieren una gran importancia, ya que de los factores que modifican el contenido de principios biológicamente activos de las plantas medicinales bajo condiciones de cultivo, adquieren una gran importancia, ya que el contenido de estos en las plantas están altamente influenciados por los fenómenos atmosféricos, tales como la temperatura, la precipitación y la luz (20).

A continuación se resumen algunos factores que afectan la producción de alcaloides, glucósidos y aceites esenciales (20). :

Factores que afectan la producción de metabolitos secundarios (20).

FACTORES	ALCALOIDES	GLUCOSIDOS	ACEITES ESENCIALES
Fertilizantes Nitrogenados.	Aumentan	-	-
Sales de potasio.	Disminuyen	-	-
Mayor exposición a la luz.	Aumentan	Aumentan	Aumentan
Temperaturas altas.	Disminuyen	Aumentan o disminuyen	Disminuyen
Mayor altitud y baja temperatura.	Disminuyen	Aumentan	Disminuyen
En hojas al iniciar la floración.	Aumentan	Disminuyen	-
Concentración en las primeras horas del día.	Aumentan	-	Aumentan
Concentración durante el día.	Aumentan	-	-

13.4.- Análisis Fitoquímico

10.4.1. Introducción: Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, no con el fin de disminuir su confianza en la naturaleza, sino agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de cortar, aliviar o curar las enfermedades, separarlos de las plantas que lo contienen, determinar sus estructuras químicas, procurar su síntesis, proponer modificaciones estructurales en busca de una mayor actividad, y finalmente dar a conocer a la humanidad resultados de estos estudios. Un análisis de esta naturaleza debe ser realizado como una acción multidisciplinaria con la intervención de botánicos, químicos, farmacólogos y farmacognosistas (21).

La metodología en el análisis fitoquímico debe comprender cuatro etapas bien definidas:

1. Recolección, clasificación o identificación botánica de la especie en estudio;
2. extracción, separación y purificación de constituyentes químicos;
3. determinación estructural y
4. ensayos farmacológicos.

(9).

13.5.- Composición Química de los vegetales

Existen dos tipos básicos de nutrientes: **macronutrientes y micronutrientes**. Los alimentos contienen también agua, fibra y metabolitos secundarios, sustancias importantes gracias a sus funciones específicas dentro del organismo (22).

Los metabolitos secundarios forman parte de los dos tipos de sustancias activas presentes en las plantas ya sea comestibles o medicinales, son llamados así debido a que son el resultado del metabolismo secundario, es decir, resultantes de procesos originados principalmente por la asimilación de nitrógeno. Estos metabolitos parecen a veces inútiles para la planta, pero sus funciones en el ser humano por el contrario son destacables. Normalmente estas sustancias no se encuentran en las plantas en estado puro, sino en forma de complejos cuyos distintos componentes se complementan y se refuerzan en su acción sobre el organismo (10).

13.5.1.- Tipos principales de metabolitos secundarios:

Alcaloides: éstos representan los metabolitos secundarios más abundantes de las plantas. Son sustancias básicas que contienen uno o mas átomos de nitrógeno, que usualmente forma parte de un sistema heterocíclico. Son frecuentemente tóxicos para el ser humano, pero también son utilizados con fines terapéuticos, pues presentan múltiples actividades biológicas. Se encuentran en forma de sales en las plantas;

como ejemplo se pueden mencionar la atropina de la belladona, conina de la cicuta, etcétera (15, 23).

Saponinas: son glicósidos derivados de triterpenos o de esteroides, se caracterizan por formar espuma al agitar el material vegetal con agua, ya que son poderosos agentes tensioactivos, que además ocasionan hemólisis a bajas concentraciones. Son de gran importancia en la industria farmacéutica, ya que las saponinas esteroidales pueden utilizarse como precursores en la síntesis de hormonas sexuales, cortisona, esteroides, diuréticos, vitamina D y heterósidos cardíacos (15, 23).

Taninos-Compuestos Fenólicos: están ampliamente distribuidos en las plantas vasculares. Estos compuestos se caracterizan por reaccionar con proteínas, formando polímeros estables e insolubles en agua. Se ha encontrado evidencia de su valor potencial como agente citotóxico y/o antineoplásico. Su actividad biológica radica en su carácter astringente, su propiedad de coagular las albúminas de la mucosa y de los tejidos, creando así una capa de coagulación aislante y protectora, que reduce la irritación y el dolor (15,23).

Flavonoides y Antocianinas: suelen encontrarse bajo la forma de glicósidos con una a tres unidades de azúcares, en todas las partes de la planta. Actualmente se utilizan para la conservación de grasas o

jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. La acción farmacológica es también extensa y variada. Así, por ejemplo la rutina y sus derivados actúan contra la fragilidad capilar, las proantocianidinas de Crataegus y Arnica son dilatadores de las coronarias, las glicósidos de apigenina espasmolíticos, mientras que otros poseen acción antihepatotóxica, antimicrobiana y fungitóxica. Las antocianinas son glicósidos estrechamente relacionados con los flavonoides. Se caracterizan por ser pigmentos acuosolubles responsables de casi todos los colores rosados, escarlata, rojo, violetas y azules en pétalos, hojas y frutos (15,23).

Antraquinonas: constituyen el grupo más grande de sustancias del tipo quinona presentes en la naturaleza. Suelen ser de color rojo-anaranjado. Se les encuentra principalmente en las hojas de sen y la cochinilla. Son utilizadas como colorantes y se emplean en medicina por su acción catártica, como por ejemplo la emodina, crisofanol, etcetera (15,23).

Cumarinas: se encuentran ampliamente distribuidas en las plantas, principalmente en sus flores y frutos, siendo más abundantes en estos últimos. Se presentan a menudo como mezclas, en forma libre, o como glicósidos. Se caracterizan por su acción anticoagulante y antibacterial,

por ejemplo, el dicumarol. Otras tienen acción antibiótica como la novobiocina y otros (15,23).

Aceites volátiles: se les llama así a los constituyentes odoríferos o esencias de una planta, que son fácilmente volátiles. Tienen múltiples aplicaciones: en perfumería, como saborizante de alimentos y en medicina. Por ejemplo, el terpeno eugenol, contenido en el aceite volátil de clavo, se utiliza como analgésico dental; la menta, canela y otras plantas que contienen aceites volátiles poseen acción carminativa (15,23).

Principios Amargos: son sustancias químicas de gran interés que se caracterizan por su sabor extremadamente amargo y su estructura terpenoide. Estas sustancias amargas se encuentran en todas las plantas, pero sobre todo en las hojas. Se caracterizan por su efecto citotóxico, antitumoral, analgésico y antimalárico (15,23).

13.6.- Orquídeas

El nombre orquídea viene del griego "orchis" que significa testículo, debido a que la primera planta de esa especie descrita en la "La historia de las plantas" por el sabio griego Teofrasto decía: "planta particular; en la base, donde nacen las hojas, se encuentran dos pequeñas pelotas arrugadas semejantes a los testículos de los perros" (24).

Las orquídeas son las plantas más evolucionadas del reino vegetal y para poder sobrevivir en los distintos ambientes en que se encuentran diseminadas, tuvieron que adaptar su forma vegetativa a las circunstancias y presentan por lo consiguiente las formas más diversas (25).

ANEXO 2



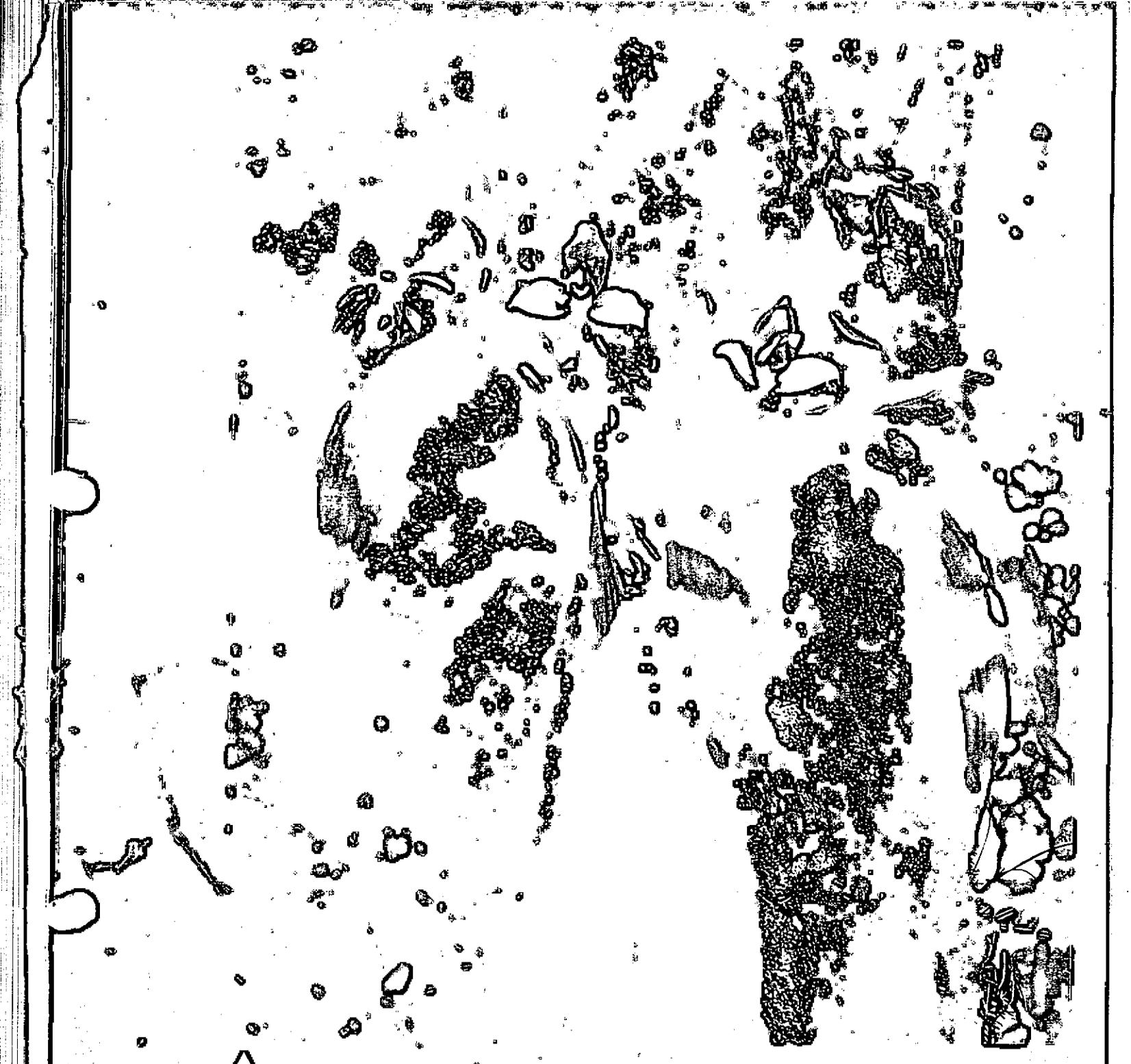
= Distribución de Lycaste skinneri
variedad rosea, rúborosa y armeniaciaca.

El Gobierno de Guatemala reconoce a Belice como un Estado independiente. Existe sin embargo, un Referendum Territorial entre ambos países. Por tal razón, los límites declarados por Belice como fronteras de dicho Estado con Guatemala, no se reconocen como fronteras internacionales. El Diferendo Territorial está en proceso de resolución entre las Cancillerías de los dos países centroamericanos.

- 1.- Alta Verapaz
- 2.- Chiquimula

GUATEMALA





▲
LYCAETE SKINNER

Plant epiphytic on the upper limbs
of tall trees, also on mossy
limbs, on the edges of mangrove
swamps. Flowers of a warm
climate plant growing in very humid
and cold climate forests. It grows on trees
with thick branches covered with moss
and in low light. Blooms from
November through February.



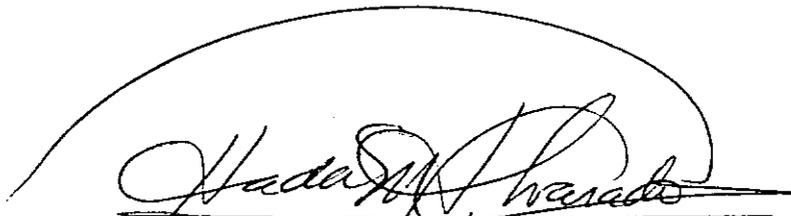
Julio Roberto Garrido López
Autor



Licda. Beatriz Medinilla Aldana
Asesora de Tesis



Lic. Estuardo Serrano Vives
Director



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana