

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

**“Evaluación de la Actividad Biocida e Identificación Química de Valepotriatos
en tres plantas reconocidas popularmente en Guatemala como Valeriana”**

Ada Raquel Cruz de Paz

**Licda. Sully Margot Cruz Velásquez, Laboratorio
de Productos Naturales-Lipronat-. Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala-USAC-**

**Lic. Armando Cáceres, Departamento de Citohistología Humana,
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de
Guatemala-USAC-**

Guatemala, Febrero 2005.

1. Resumen

Se reporta el estudio de cuatro plantas, tres de ellas son llamadas popularmente en Guatemala como Valeriana, por la propiedad sedante que supuestamente poseen, éstas plantas son *Vetiveria zizanioides* L., *Chaptalia nutans* L. y *Perezia nudicaulis* Gray. La cuarta planta es *Valeriana prionophylla* Standl., perteneciente al género Valeriana y usada con el mismo fin.

El objetivo principal de la investigación fue la identificación química de ácido valérico y ácido hidroxivalérico, en las plantas llamadas popularmente Valeriana, pues estos metabolitos son específicos para el género Valeriana y son las que le confieren el efecto sedante. Adicionalmente se identificaron otros valepotriatos como valtrato, didrovaltrato y acevaltrato. Se utilizó la raíz de *Valeriana officinalis* como estándar, a la vez se incluyó en el estudio a *V. prionophylla*, planta de Guatemala, sin estudios realizados hasta el momento. La identificación química se realizó por medio de Cromatografía en Capa fina, dando como resultado la presencia de dichas moléculas en la raíz de las plantas llamadas popularmente Valeriana, siendo más abundante en la raíz de *Ch. nutans*, seguido por *V. zizanioides* y por último *P. nudicaulis*. La raíz de *V. prionophylla* mostró la presencia de bandas características de los valepotriatos como se esperaba, pero fue aún mayor que *V. officinalis*.

Otro de los objetivos del estudio fue la evaluación de la actividad antibacteriana, antifúngica e insecticida de las plantas en estudio. Para efectuar éstos análisis se realizó en dos fases. La primera fue el tamizaje con microorganismos cultivados, expuestos ante el extracto de las raíz de las plantas a concentración de 1 mg/mL. La segunda fase (Se realiza si el extracto inhibe el crecimiento de los microorganismos a 1 mg/mL) consistió en determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC), a concentraciones de 1, 0.5 y 0.25 mg/mL. Siendo las cuatro plantas inactivas, excepto *P. nudicaulis* y *V. prionophylla* fueron activas contra *Cryptococcus neoformans* en concentraciones de 0.5 y 0.25 mg/mL respectivamente.

2. Introducción

En Guatemala (Zacapa, Izabal, Belice y Suchitepéquez) las plantas *V. zizanioides*, *Ch. nutans* y *P. nudicaulis*, son empleadas como sedantes en casos de nerviosismo generalizado, intranquilidad y dolor de muela, por lo que son llamadas Valeriana. Éstas plantas llamadas popularmente Valeriana son de diferentes

familias y géneros. El género *Perezia* y *Chaptalia* pertenecen a la familia *Asteraceae*, el género *Vetiveria* pertenece a la familia *Poaceae*, en tanto el género *Valeriana* pertenece a la familia *Valerianaceae* (1). Por las diferencias de familias y géneros se consideró realizar identificación de ácido valérico y ácido hidroxivalérico de éstas plantas, a la vez se estudio a la planta *V. prionophylla*, quien pertenece a la familia *Valerianaceae*. Para la identificación de éstos valepotriatos se utilizó *Valeriana officinalis* como estándar, para la comparación con las demás plantas en estudio.

La raíz de *V. officinalis* desecada a 40°C contiene 0.5-2.0% de valepotriatos. Los valepotriatos son pertenecientes al grupo de sesquiterpenos. La composición de la mezcla de valepotriatos es variable, predominan el ácido valérico y el ácido hidroxivalérico. Se encuentran pequeñas cantidades de didrovaltrato y el IVDH-valtrato (isovaleroxi-hidroxi-didrovaltrato), además el valerosidato. La actividad farmacológica del ácido valérico es espasmolítica y miorelajante, asimismo junto a otros sesquiterpenos tienen un efecto sedante ligado a la inhibición del catabolismo del ácido γ -aminobutírico (GABA), que también es un importante inhibidor del sistema nervioso central (2-4).

Además del uso de éstas plantas como sedante se les atribuye popularmente para el tratamiento de mal de orín, bronquitis, dermatitis y algunos otros usos; por lo que se evaluó la actividad antifúngica, antibacteriana e insecticida.

3. Materiales y Métodos

3.1 Materiales

a. Obtención del material vegetal: *Ch. nutans* se recolectó en Samayac del departamento de Suchitepéquez, *P. nudicaulis* se recolectó de la Sierra de las Minas del departamento de Zacapa, *V. prionophylla* se recolectó en Nebaj del departamento del Quiché, *V. officinalis* fue proveída por Astrid Van Ginzal, Barcelona, España y *V. zizanioides* proveída por Ing. César Vitorazzi (Extract).

b. Extracto de la planta

Secado y molienda de la raíz de las plantas en estudio, fueron extraídos con etanol al 95% por percolación por 24 horas, produciendo solución etanólica del material, luego fue evaporado el etanol a 45°C bajo presión reducida en Rotavapor Buchi. Se pesó 100 mg del extracto y se disolvieron en 10 mL de etanol al 50%, dando concentración final de 10 mg/mL, para el tamizaje antifúngico y antibacteriano.

c. Microorganismos utilizados

Staphylococcus aureus ATCC 25923, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 10231, *Cryptococcus neoformans* ATCC C13, , *Trichophyton rubrum* T.4, *Trichophyton metagrophytes* T.3, *Aspergillus flavus* A.3, *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus*

d. Adsorbente: Silica gel 60F₂₅₄**3.2 Métodos para identificación de Valepatriatos**

a. Identificación de ácido valerénico e hidroxivalerénico

Se extrajo 0.2 g del vegetal pulverizado con 5 mL de metanol durante 5 minutos, se filtró y concentró a residuo seco, luego se disolvió con 0.2 mL de metanol. En la cromatoplaque se colocó 5 µL del extracto y 2 µL de solución de referencia (rojo de Sudán G), en bandas de 10 x 2 mm. Luego se colocó la placa en cámara saturada de n-hexano-etilmetilcetona proporción 70:30; tiempo de recorrido de 10 minutos con 8 cm de recorrido. Secado de la placa, se asperjó con aldehído anísico y se calentó durante 2 minutos a 105-110°C. Observándose en el cromatograma la mancha de referencia color rojo (R=0.39), color violeta intenso, correspondiente al ácido valerénico (R≈ 0.26) y una zona azul violeta debida al ácido hidroxivalerénico (Rf ≈ 0.10), ambas con fluorescencia de color rojo ladrillo intenso a la luz UV de 365 nm (4).

b. Identificación de valtrato, acevaltrato y didrovaltrato

Se extrajo 0.2 g de material pulverizado con 5 mL de diclorometano por 5 minutos a 60°C, luego se filtró y desecó, redisolviéndolo con 0.2 mL de etil acetato. En la cromatoplaque se aplicó 10 µL. Luego se colocó en una cámara saturada con tolueno-etil acetato proporción 75:25, en 15 cm de recorrido; secado la placa y asperjado con ácido clorhídrico-ácido acético. Detectando a valtrato y acevaltrato con zonas color azul y didrovaltrato zonas color café (5).

3.3 Técnica de Bioensayo

a. Actividad Antimicrobiana (6-10)

- Preparación del agar-extracto

Se preparó tubos con 9.0 mL de agar Mueller Hinton, se esterilizó en autoclave de vapor, se dejó enfriar a 50°C y se agregó 1.0 mL de la solución del extracto disuelto. La concentración

final del extracto-agar es de 1 mg/mL. Ambos se agitan se vierten en cajas de Petri estériles, dejando solidificar e incubándolo a 36°C por 24 horas para comprobar esterilidad.

- Preparación del inóculo

El microorganismo del estudio se inoculó en un tubo con 8 mL de agar Mueller Hinton, dejándolo solidificar en declive e incubándolo a 36°C durante 24 horas. Luego se inoculó una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5.0 mL del caldo Trypticase soya, incubándolo a 36°C durante 48 horas. Se diluyó 0.05 mL de suspensión anterior en 4.95 mL en solución salina estéril, luego se inoculó en las cajas con agar-extracto de la raíz una asada de cada uno de los microorganismos siguiendo el patrón de la plantilla (está segmentada por 7 partes de forma circular) luego se incubó a 36°C durante 24 horas. Se utilizó control negativo 9 mL de agar Mueller Hinton mezclándolo con 1 mL de etanol a 50%. Se hizo cuatro repeticiones por microorganismo.

Se interpretó los resultados de la siguiente manera: Presencia de crecimiento ACTIVIDAD NEGATIVA. No hay crecimiento ACTIVIDAD POSITIVA

No se determinó la MIC, porque el extracto etanólico de la raíz de las cuatro plantas mostraron actividad negativa.

b. Actividad Antifúngica (11-16)

Preparación de agar-extracto

Se preparó tubos con 13.5 mL de agar Sabouraud más 1.5 mL del extracto, con los mismos pasos de preparación de agar-extracto de la actividad antimicrobiana, quedando la concentración final de 1 mg/mL.

- Preparación de inóculo de hongos filamentosos

Se preparó medio de Takashio (Sabouraud modificado para producción de esporas) con los siguientes ingredientes: Dextrosa 0.6 g, NaSO₄ 0.3 g, KH₂PO₄ 0.3 g, peptona 0.3 g y agar-agar 6.0 g. Se agregó 300 mL de agua, mezclándolo, luego se vertió en tubos con tapón 10 mL de la solución, se esterilizó en autoclave y se dejó solidificar en declive. Luego se sembró en este medio los hongos a ensayar e incubándolo a 27°C durante 21 días. A cada tubo se agregó 2 mL de agua destilada estéril y se desprendió el hongo. Trasvasando el material obtenido a viales con tapa de rosca. A la solución se hizo conteo de esporas en cámara de Neubauer. Obteniendo 100 esporas/µL=1X 10⁵ esporas/mL (aproximadamente 10 esporas /cuadrante) solución final.

A las cajas con agar-extracto de raíz se abrieron cuatro agujeros con campanillas de

Durham, en forma equidistante. Luego se colocaron 30 µL de la suspensión de esporas en los agujeros. Se incubó a 27°C por 14 días, repitiéndolo cuatro veces. Se usó una caja con agar Sabouraud más 1 mL de etanol al 50% como control negativo.

-Preparación de inóculo de hongos levaduriformes

Preparación de agar-extracto

Se preparó tubos con 9.0 mL de agar Mueller Hinton más 1 mL de extracto, con los mismos pasos de preparación de agar-extracto de la actividad antimicrobiana, quedando la concentración final de 1 mg/mL.

Se sembró la cepa en una caja de agar Sabouraud e incubó a 36°C por 48 horas. Se usó el inóculo del cultivo fresco, sembrándolo en 5 mL de caldo Trypticasa soya e incubándolo 24-48 horas. Se tomó 0.5 mL y se mezcló en 4.5 mL de solución salina estéril. Luego se inoculó con asa de nicromo la suspensión de levaduras, en las cajas con agar-extracto de raíz, en cada sección según plantilla. Luego se incubó a 36°C durante 48 horas. Para el control se sembró estrías de la levadura en caja con agar Sabouraud.

-Lectura e interpretación de resultados

Hongos filamentosos: Se interpretó los resultados de la siguiente manera: Presencia de crecimiento ACTIVIDAD NEGATIVA. No hay crecimiento ACTIVIDAD POSITIVA

No se determinó la MIC, porque el extracto etanólico de la raíz de las cuatro plantas mostraron actividad negativa.

Hongos levaduriformes

Lo mismo que la anterior.

Se determinó la MIC, debido que dos plantas presentaron actividad en el tamizaje, repitiéndose con concentraciones de extracto de 1, 0.5 y 0.25 mg/mL.

c. Actividad Insecticida (17-22)

Se pesó 1 mg del extracto de raíz de las plantas y se disolvió con 1 mL de agua de chorro reposada. En la microplaca se agregó: 100µL del extracto disuelto + 100µL de agua del chorro reposada con 10-15 larvas de los insectos, en los 4 estadios de crecimiento. Se incubó a temperatura de 25°C en un lugar oscuro durante 24 horas. Control negativo se colocaron 100µL de agua del chorro reposada con 10-15 larvas. Se repitió tres veces.

-Interpretación de resultados: Se realizó conteo en el estereoscopio el número de larvas muertas o vivas. La prueba fue negativa porque todas las larvas estaban vivas.

4. Resultados

Tabla 1. Tamizaje antibacteriano

BACTERIAS	EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella tify</i>	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Eschericha coli</i>	-	-	-	-

- = Sin inhibición

+ = Inhibición

Tabla 2. Tamizaje antifúngico

HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURIFORMES	EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia Nutans</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-
<i>Trichophyton rubrum</i>	-	-	-	-
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	-	+	-

- = Sin inhibición

+ = Inhibición

Tabla 2.1 Determinación de concentración mínima inhibitoria (MIC) de actividad antifúngica

EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ	HONGO <i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Valeriana prionophylla</i>	0.25 mg/mL
<i>Perezia nudicaulis</i>	0.5 mg/mL

Tabla 3. Tamizaje insecticida

ESTADÍOS DE LOS INSECTOS		EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
		<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>
<i>Aedes Aegypti</i>	1°	-	-	-	-
	2°	-	-	-	-
	3°	-	-	-	-
	4°	-	-	-	-
<i>Anopheles albimanus</i>	1°	-	-	-	-
	2°	-	-	-	-
	3°	-	-	-	-
	4°	-	-	-	-

- = Inactiva (12 larvas vivas)

+ = Activa (12 larvas muertas)

Tabla 4. Identificación de Valepotriatos

VALEPOTRIATOS	RAÍZ DE LA PLANTA PULVERIZADA				
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>	<i>Valeriana Officinalis</i>
Acido valerénico (violeta)	+++	+	+	++	++
Acido hidroxivalerénico (azul-violeta)	+++	+++	+	+++	++
Acevaltrato y Valtrato (azul)	++	+++	+	+	+
Didrovaltrato (café)	+	+	+++	+++	-

Abundante, +++; moderado, ++; escaso, +; no detectable, -

Tabla 5. Determinación de Rf de los Valepotriatos

VALEPOTRIATOS Rf	RAÍZ DE LA PLANTA PULVERIZADA				
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>	<i>Valeriana officinalis</i>
Acido valerénico	0.6	0.5, 0.6	0.7	0.6	0.5
Acido hidroxivalerénico	0.2	0.1, 0.4	0.6	0.2	0.4
Acevaltrato y Valtrato	0.4	0.3	0.7	0.3	0.5
Didovaltrato	0.8	0.7	0.9	0.8	-----

5. Discusión de Resultados

La determinación química de valepotriatos de las cuatro plantas mostraron resultados interesantes. Los metabolitos ácido valerénico e hidroxivalerénico presentes en el género *Valeriana*, fueron encontrados en las tres plantas llamadas popularmente Valeriana. El ácido hidroxivalerénico fue abundante para *V. zizanioides* y *Ch. nutans*. En cuanto al ácido valerénico se encontró moderadamente presente en *Ch. nutans* y es escaso en *P. nudicaulis* y *V. zizanioides*. A diferencia de las dos plantas que pertenecen al género *Valeriana* se encontraron abundantemente dichos metabolitos como se esperaba, pero más notable en *V. prionophylla* que *V. officinalis*. Estos resultados explican el efecto sedante de las plantas llamadas popularmente Valeriana. Siendo más abundante en *Ch. nutans*, le sigue *V. zizanioides* y por último *P. nudicaulis*. Adicionalmente se identificó la presencia de otros valepotriatos, como lo son valtrato, acevaltrato y didovaltrato; siendo abundante didovaltrato en *P. nudicaulis* y *Ch. nutans*, valtrato y acevaltrato fueron abundantes en *V. zizanioides*.

Es importante notar que en la *V. prionophylla* es más abundante los valepotriatos que en la *V. officinalis*, pues los metabolitos en las plantas son afectados por factores como gentotipo, clima, cosecha, lugar de procedencia y procesos de preparación (23). La raíz de la planta *V. officinalis* utilizada en este estudio provenía de España, a diferencia de *V. prionophylla* que provenía de Nebaj, Quiché de Guatemala. Concluyendo que el país de Guatemala cuenta con condiciones ambientales adecuadas para la cosecha de *V. prionophylla*.

En cuanto a la determinación de Rf de los valepotriatos, los valores obtenidos fueron de mayor valor que los valores teóricos. Aunque estos valores según la revisión bibliográfica son aproximados, por lo que son variables; siendo identificados por los colores característicos de éstos. Una de las razones de las variaciones de

los Rfs es mantener igualdad de las condiciones metodológicas.

El análisis de la actividad antibacteriana, antifúngica e insecticida de las cuatro plantas en estudio, mostraron inactividad, contra los microorganismos expuestos. Exceptuando las plantas *V. prionophylla* y *P. nudicaulis*, en concentraciones 0.25 y 0.50 mg/mL respectivamente, fueron activas contra *Cryptococcus neoformans*. Con estos resultados, ambas plantas pueden ser validadas para el uso del tratamiento de Criptococosis, esta enfermedad es adquirida por inhalación de tierra contaminada con la levadura capsulada *C. neoformans*, que puede causar enfermedad pulmonar autolimitada o diseminarse, sobre todo a las meninges, pero en ocasiones a la piel, los huesos, las vísceras u otros órganos (24).

Estudios recientes del extracto metanólico de toda la planta de *Ch. nutans*, mostró efecto inhibitorio contra *B. subtilis*, pero a concentración de 50 mg/mL (25).

Se sabe que los sesquiterpenos, flavonoides, cumarinas, colchicina, poseen acción antimalárica, amebicida, insecticida, antifúngica e inhiben el crecimiento de las bacterias. Estos metabolitos se encuentran en todas las partes de la planta, siendo abundante en las hojas, flores y frutos (26-28). Por lo que se concluye, que la raíz de las cuatro plantas en estudio poseen leve concentración de dichos metabolitos a concentración de 1mg/mL, exceptuando a las dos plantas que fueron activas contra *C. neoformans*.

6. Conclusiones

- El extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans* no presenta actividad contra las siguientes bacterias: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. tiphy*, *M. smegmatis*; a concentración de 1 mg/mL.
- El extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans* no son activos contra los hongos filamentosos *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *A. flavus* a concentración de 1 mg/mL.
- El extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans* no poseen actividad insecticida contra *A. aegypti* y *A. albimanus* a concentración de 1 mg/mL.
- El extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla* y *P. nudicaulis* presenta actividad a MIC de 0.25 y 0.5 mg/mL respectivamente contra *C. neoformans*.
- Los metabolitos ácido valerénico y ácido hidroxivalerénico, están presentes en el extracto etanólico de la raíz de *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans*; plantas llamadas popularmente en Guatemala como Valeriana.
- Los metabolitos ácido valerénico y ácido hidroxivalerénico son más abundantes en *V. prionophylla* que *V. officinalis*.

7. Recomendaciones

- Realizar estudios farmacológicos de las plantas llamadas popularmente Valeriana, para validar su uso como sedante, a su vez determinar la concentración terapéutica efectiva de cada una de ellas.
- Realizar estudios farmacológicos (sedante y antiespasmódico) de *V. prionophylla*, para validar su uso en el país de Guatemala.
- Realizar extracción líquido-líquido del extracto de la raíz de *V. prionophylla* y *P. nudicaulis*, para determinar en qué disolvente se encuentra el principio activo inhibitorio del *C. neoformans*, e identificarlo por medio de tamizaje fitoquímico y técnicas analíticas.

8. Agradecimientos

- Al proyecto Flora regional e IIQB por su apoyo financiero. Br. Isabel Gaitán por asesoría técnica. Laboratorio "LIPRONAT" y Departamento de Citohistología Humana de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por la realización de la parte experimental. Laboratorio "FARMAYA" por acceso a información bibliográfica.

9. Referencias

1. Standley, P. C. & Williams, L. D. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana, Botany. 436-437(12).
2. Hobbs, CH. 1995. Valerian, The Relaxing and Sleep Herb. Capitola, C.A. Botanica. 6 p
3. Houghton, P. J. 1988. The Biological Activity of Valerian and Related Plants. Journal of Ethnopharmacology. Ireland. (22):121-142
4. Cañigueral, S., et. al. 1998. Plantas Medicinales y Drogas Vegetales para Infusión y Tisana. Un Manual de Base Científica para Farmacéuticos y Médicos. Primera Edición. Milán, Italia. OEMF International. 542-545 p
5. Wagner, H., et. al. 1984. Plant Drug Analysis. New York-Tokio. Springer-Verlay Berlin Heidelberg. 263-267
6. Cytel. 1993. Manual de Técnica de Investigación. Bogotá, Proyecto X-1.
7. Cáceres, A., et. al. 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. J. Ethnopharmacol. Vol.62:195-202
8. España, S. M., et. al. 1994. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 5. Vibriocidal activity of five American plants used to treat diarrhea. Fitorerapia Vol. 65:273-274
9. Mitscher, L. A., et. al. 1987. A modern look at folkloric use of Anti-infective agents. J. Nat. Prod. 5:1025—1041
10. Mitscher, L. A., et. al. 1972. Antimicrobial agents from higher plants. Introduction, rationale and methodology. Lloydia 35:157-166
11. Brancato, F. P. & Golding, N.S. 1983. The diameter of the mould as a reliable measure of growth. J. Mycol. 45:848-863

12. Burlingame, E. M. & Reddish, G.P. 1973. Laboratory methods for testing fungicides used in the treatment of epidermophytoses. *J. Lab. Clin. Med.* 14:649-653
13. Cáceres, A., *et. al.* 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 2. Evaluation of antigungal activity of seven American plants. *J. Ethnopharmacol.* 40:207-213
14. Mac Rae Wd., *et. al.* 1988. Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *J. Ethnopharmacol.* 22:143-172
15. Maccarthy, P., *et. al.* 1992. Antifungal activity of meridine. A natural product from the marine sponge. *J. Nat. Prod.* 55:1644-1668
16. Vanbrenseghem, R., *et. al.* 1970. Production of macroconidia by *Microsporum ferrugineum* OTA 1992. *Sabouraudia* 7:252-56
17. Chariandy, C.M., *et. al.* 1999. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *J. Ethnopharmacol.* 64:265-270
18. Kagan, J., *et. al.* 1983. The Phototoxicity of some 1,3-butadienes and related thiophenes against larva of the mosquito *Aedes aegypti* and the fruti fly *Drosophyla melanogaster*. *Insecta. Sci. Appl.* 4:377-387
19. Maradufu, A., *et. al.* 1978. Isolation of (5-E)-ocinonea mosquito larvicide from *Tagetes minuta*. *Llydia* 41:181-183
20. Mischra, S. K., *et. al.* 1987. Insecticidal and nematical properties of microbial metabolites. *J: Indust. Microbiol.* 2:267-276
21. Thangam, T., *et. al.* 1997. Mosquito larvicidal activity of mangrove plant extracts and synergistic activity of *Rhizophora apiculata* with pyrethrum against *Culex quinquefasciatus*. *Int. J. Pharmacog.* 35:69-71
22. Zarroug, I. M. A. 1988. Evaluation of Sudanese plant extracts as mosquito larvicides. *Ins. J. Cruce Drug. Res.* 26:77-80
23. Gao, X.Q. & Björk, L. 2000. Valerenic acid derivatives and valepotriates among individuals, varieties and species of *Valeriana*. *Fitoterapia.* 71:19-24
24. Index Merk. 1998. Décima Edición.
25. Coelho De Souza, G., *et. al.* 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology.* 90:135-143 p
26. Warber, S., *et. al.* 1999. *Natural Products from Plants.* CRC Press LLC. Washington, DC. 10, 81-84, 89 p
27. Cutler, S.J. & Cutler, H.G. 2000. *Biologically active natural Products.* Pharmaceuticall. CRC Press LLC. Washington, DC. 37 p
28. Medinilla Aldana, B. E. 1999. *Manual de Laboratorio de Fitoquímica.* Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos. Guatemala. 13-18 p

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

**“Evaluación de la Actividad Biocida e Identificación Química de
Valepotriatos en tres Plantas reconocidas popularmente en Guatemala
como Valeriana”**

Ada Raquel Cruz de Paz

Química Farmacéutica

Guatemala, Febrero 2005.

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

**“Evaluación de la Actividad Biocida e Identificación Química de
Valepotriatos en tres Plantas reconocidas popularmente en Guatemala
como Valeriana”**

Informe de Tesis

Presentado por

Ada Raquel Cruz de Paz

**Para optar el título de
Química Farmacéutica**

Guatemala, Febrero de 2005.

AGRADECIMIENTOS

A Lic. Armando Cáceres por su asesoría, motivación y apoyo financiero para la realización de este trabajo.

Al Laboratorio "LIPRONAT" de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por brindar la oportunidad de realizar este estudio.

Al Departamento de Citohistología Humana de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por brindar la oportunidad de realizar este estudio, especialmente a Licda. Isabel Gaitán por asesoría técnica.

Al Laboratorio de "FARMAYA" por brindar acceso a la información bibliográfica.

A Licda. Sully Margot Cruz por sus consejos y asesoría en la realización de este proyecto de investigación.

Junta Directiva

Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

Decano	M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Secretaria	Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona
Vocal I	Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo
Vocal II	Lida. Liliana Vides de Urizar
Vocal III	Licda. Beatriz Eugenia Batrez de Jiménez
Vocal IV	Br. Roberto José Garnica Marroquín
Vocal V	Br. Rodrigo José Vargas Rosales

Índice

1. Resumen	1
2. Introducción.....	2
3. Antecedentes	
3.1 Género Valeriana	3-4
3.2 <i>Valeriana prionophylla</i>	4-5
3.3 <i>Chaptalia nutans</i>	5-6
3.4 <i>Vetiveria zizanioides</i>	7
3.5 <i>Perezia nudicaulis</i>	8
4. Justificación.....	9
5. Objetivos.....	10
6. Hipótesis.....	11
7. Material y Métodos	
7.1 Universo de trabajo.....	12
7.2 Muestra.....	12
7.3 Medios.....	12-13
7.4 Procedimiento	
7.4.1 Selección de la planta.....	13
7.4.2 Revisión bibliográfica.....	13
7.4.3 Obtención del material.....	13
7.4.4 Molienda de plantas.....	14
7.4.5 Actividad antimicrobiana.....	14-16
7.4.6 Actividad antimicótica.....	16-18
7.4.7 Actividad larvicida	18
7.4.8 Determinación química de Valepotriatos.....	18-19
7.5 Diseño de Investigación.....	19
8. Resultados.....	20-22
9. Discusión de Resultados.....	23-25
10. Conclusiones.....	26
11. Recomendaciones.....	27

12. Referencias Bibliográficas.....	28-32
13. Anexos	
a. Descripción Botánica de las cuatro plantas en estudio...	34-44
b. Demostración de actividad antifúngica (hongos filamentosos)	45
c. Demostración de actividad antimicrobiana y actividad antifúngica (hongos levaduriformes).....	46

1. Resumen

Este estudio reporta la evaluación antimicrobiana, antifúngica e insecticida del extracto etanólico de la raíz de las plantas: *Valeriana prionophylla*, *Vetiveria zizanioides*, *Perezia nudicaulis* y *Chaptalia nutans*. Además los resultados de la identificación de los metabolitos ácido valerénico, ácido hidroxivalerénico y otros valepotriatos presentes en dichas plantas.

El estudio de la evaluación antibacteriana y antifúngica, se dividió en dos fases. Primero se realizó tamizaje a concentración del extracto de la raíz de 1 mg/mL. El extracto que presentó actividad a esta concentración contra el microorganismo expuesto, se procedió a la segunda fase. En esta fase se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto, utilizando para ello las concentraciones de 1, 0.5 y 0.25 mg/mL.

La evaluación de la actividad insecticida se realiza en dos fases. En este estudio se realizó solamente la primera fase, debido a que las plantas resultaron inactivas contra las larvas de los insectos. El tamizaje realizado para la evaluación fue a concentración del extracto de 1 mg/mL.

La identificación química de ácido valerénico, ácido hidroxivalerénico y otros valepotriatos, se realizó por cromatografía de capa fina. Utilizando para ello 0.2 g de raíz pulverizada de las cuatro plantas en estudio y *Valeriana officinalis* como estándar.

Las cuatro plantas no poseen actividad antifúngica, antibacteriana e insecticida a una concentración de 1 mg/mL. Exceptuando, *V. prionophylla* y *P. nudicaulis*, las cuales fueron activas contra *Cryptococcus neoformas* en concentraciones de 0.25 y 0.5 mg/mL respectivamente. Las plantas conocidas popularmente como Valeriana (*V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans*) en Guatemala, poseen ácido valerénico e hidroxivalerénico, explicando de esta manera el efecto sedante que estas poseen. En la raíz de *V. prionophylla* se presentaron mayor número de bandas correspondiente a los valepotriatos que en la *V. officinalis*.

2. Introducción

Las plantas medicinales ampliamente utilizadas desde la antigüedad, se conocían por su poder curativo, pero se ignoraba los principios activos que causaban el efecto terapéutico. Con el tiempo los investigadores o científicos han estudiado los componentes de las plantas medicinales centrándose en las sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre el ser humano o los seres vivos en general. Ahora muchas de las sustancias descubiertas son base para sintetizar los medicamentos clínicos. A pesar de los grandes descubrimientos en muchos países se siguen usando las plantas como tratamiento de enfermedades, mas aún en los países en vías de desarrollo. Estos países si es necesario los importan de los países industrializados. Tal es el caso de la *Valeriana officinalis* L. planta importada desde Europa (España) por su propiedad sedativa. Se ha realizado ampliamente estudios comprobando su efectividad, tanto así que se encuentra en las farmacopeas desde los 80.

Guatemala es un país que tiene una diversidad de plantas medicinales, pero se han realizado pocas investigaciones científicas que corroboren el efecto medicinal e inocuidad. En Guatemala existen diversos géneros de Valeriana, pero poco estudiadas, como lo es *Valeriana prionophylla* Standl. Existen otras plantas que no pertenecen al género de Valeriana, pero son llamadas popularmente Valeriana en Guatemala. Estas plantas pertenecen a otro género. Dichas plantas son: *Perezia nudicaulis* Gray., *Chaptalia nutans* L. y *Vetiveria zizanioides* L.

El propósito del estudio de estas plantas fue la identificación de metabolitos específicos (ácido valerénico e hidroxivalerénico) del género de Valeriana, en las plantas llamadas popularmente Valeriana. A la vez la evaluación de la actividad biológica (antifúngica, antibacteriana e insecticida), de las cuatro plantas. La evaluación antifúngica y antibacteriana se realizó mediante cultivos de microorganismos. La actividad insecticida se realizó mediante la incubación de huevecillos de insectos.

3. Antecedentes

3.1 Género Valeriana

Las plantas del género *Valeriana* son las más utilizadas como hierbas medicinales. Son hierbas con efecto sedante, mas famosas en medicina natural como el Valium® (Diazepam) en el sistema de medicina.

Botánicos modernos usan valeriana y preparaciones de valeriana como antiespasmódico, sedante, para ayudar a dormir y en varias condiciones como las siguientes:

- Tensión emocional
- Dolor de músculo
- Menstruación y calambres intestinales
- Espasmos bronquiales
- Tos prolongada
- Dolor de cabeza por la tensión
- Insomnio
- Nerviosismo e inquietud
- Ansiedad
- Cuando se retira el tratamiento de benzodiazepinas como Diazepam (12.1).

La planta mas utilizada a lo largo de la historia del género *Valeriana* es la *V. officinalis* incluso se encuentra en la Farmacopea Europea (12.2). Es nativa de Europa y el norte de Asia, es cultivada como ornamental y la raíz utilizada por sus efectos sedantes.

La especie *Valeriana* se caracteriza por un grupo de metabolitos, consideradas como sustancias marcadoras, pues son únicas de este género, los Valepotriatos. Las raíces desecadas a una temperatura inferior a los 40° C (prescripción de farmacopea) contienen un 0.5-2% de valepotriatos. Los velepotriatos son un grupo de metabolitos pertenecientes al grupo de sesquiterpenos. La composición de la mezcla de valepotriatos es variable, suelen predominar el ácido valerénico y el ácido hidroxivalerénico. Se encuentran en pequeñas cantidades didrovaltrato y el IVDH-valtrato (isovaleroxi-hidroxi-

didrovaltrato), además el valerósido (12.3). La actividad farmacológica del ácido valerénico es acción espasmolítica y miorrelajante, asimismo junto a otros sesquiterpenos tienen un efecto sedante ligado a la inhibición del catabolismo del ácido γ -aminobutírico (GABA), que es un importante inhibidor del sistema nervioso central.

El aceite esencial de la raíz de *V. officinalis* contienen sesquiterpenos derivados del Kesano (alcoholes kesílicos y sus acetatos), que podrían ser los principales responsables de la acción sedante de dicha planta. Algunos autores consideran que en ausencia de valepotriatos en los preparados de la raíz como tintura o infusiones siguen teniendo efecto sedante, debido al sinergismo de los componentes en los aceites esenciales, pues los valepotriatos son metabolitos muy inestables, por lo que la farmacopeas exigen contenido mínimo de aceite esencial. El ácido valerénico también es un componente de los aceites esenciales en la raíz de la planta.

Las adulteraciones de la raíz de valeriana no es nada raro. Esto se reconoce fácilmente cuando la planta está completa, pero cuando se encuentra triturada; es necesario recurrir a la ayuda del microscopio. Una prueba más segura se obtiene mediante Cromatografía en Capa Fina (12.3).

La *V. officinalis* se han realizado diversos estudios como: actividad biológica, etnomédica y presencia de compuestos químicos, de acuerdo a la base de datos Napralert. También se han encontrado diversas publicaciones y revistas sobre el estudio de ésta planta (12.1-12.3) (12.14) (12.42-12.44).

3.2 *Valeriana prionophylla* Standl.

Pertenece al género de Valeriana, siendo originaria de Guatemala. Se encuentra distribuida en los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá y Totonicapán. Estudios realizados acerca de la

planta, es decir composición química, actividad biológica y etnomedica no hay publicaciones, según la base de datos Napralert. La descripción botánica se encuentra descrita en la Flora de Guatemala (12.4).

Últimos estudios realizados:

Determinación de actividad antioxidante y vasorelajante encontrados en la raíz de esta planta. Las sustancias responsables de actividad antioxidante son: Prinsepiol y 8-hydroxypinoresinol. Actividad vasorelajante las sustancias son: prinsepiol-4'-O- β -D-glucopyranoside 8-hydroxypinoresinol-4'-O- β -D-glucopyranoside, y prinsepiol con adición con 8-hydroxypinoresinol muestran una elevada actividad. Estudio realizado en Italia y Guatemala, publicada en julio 2004 (12.48).

Estudio no publicado realizado por el Laboratorio* de Bioensayos bajo la coordinación del Lic. Armando Cáceres, acerca del extracto etanólico de la raíz, quien presentó actividad contra *Trypanosoma cruzi* (epimastigotes) en concentración de 0.9 mg/mL.

3.3 *Chaptalia nutans* L.

Es considerada popularmente como Valeriana en Izabal. Pertenece a la familia de las Compuestas (*Asteraceae*) según la Flora de Guatemala. Se encuentra distribuida en los departamentos de Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Quetzaltenango, Retalhuleu y Santa Rosa. En otros países como México, Honduras, El Salvador, Panamá, Indias y América del Sur (12.4) (12.41).

Los estudios realizados acerca de dicha planta son las siguientes: **Actividad biológica: Antimalaria** (*Plasmodium berghei*, inactivo), extracto en etanol al 95% de la planta completa. **Antiameba** (*Entamoeba histolytica*, inactiva), extracto en etanol al 95% de las hojas. **Antifúngica** (*Cladosporium cucumerinum* y *Penicillium*

*Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala

oxalicum, inactiva), extracto en etanol al 95% de las hojas. Estudios reportados en México, Costa Rica y Brasil (12.5).

Información Etnomedica reportado son las siguientes: usado para tratar la amenorrea (hojas en agua caliente), tratar heridas (planta completa), calambres (hojas), infección superficial (hojas), usado para dolor de muelas (hojas), enfermedad de la piel (raíz), sífilis (raíz) y herpes (raíz). Estudios realizados en Jamaica, Brasil y México (5). Actividad antiinflamatoria (planta completa), estudio realizado en Costa Rica (12.6).

Compuesto químicos reportados son los siguientes: cumarina (raíz), lactona (partes aéreas), prunasina (hoja) y 3- α -hidroxi-5metil valerolactona y lactonas (partes aéreas). Reportado por Brasil y México (12.5).

Otros compuestos químicos aislados del mismo género pero diferente especie, es la *Ch. integerrima*, cumarinas características del género de *Chaptalia*. Glucopiranosil-2H-piran-2-ona (partes aéreas), 5-metilcumarinas (raíz). Estos compuestos anteriormente mencionados no aislados en *Ch. nutans* (12.8).

Análisis realizados para la determinación de valepotriatos y actividad Biocida de la raíz no hay datos reportados, de acuerdo a la revisión bibliográfica y la base de datos Napralert.

Últimos estudios realizados:

Análisis de actividad antimicrobiana. Realizado con extracto metanólico de toda la planta, con concentración de 50 mg/mL, siendo activa contra *Bacillus subtilis*. Estudio realizado en Brasil, publicada en Septiembre 2004 (12.49).

Estudios no publicados, realizados por el Laboratorio* de Bioensayos bajo la coordinación del Lic. Armando Cáceres, acerca del extracto etanólico de la hierba quien presentó actividad a 1 mg/mL contra *B. subtilis* y 0.5 mg/mL contra *S. aureus*.

3.4 *Vetiveria zizanioides* L.

*Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala

Es conocida popularmente como Valeriana en Baja Verapaz. Pertenece a la familia *Poaceae* de las gramíneas. Es nativa de Asia, planta introducida en Guatemala, distribuida en los departamentos de Belice y Baja Verapaz (12.7).

Se reporta **actividad biológica** como: **antimalarica** (*Plasmodium falciparum*, debil actividad) planta completa. **Antifúngica** (*Aspergillus fumigatus*[activa], *Trichophyton mentagrophytes*[activa], *Microspoum canis*[activa], *Tr. interdigitale*[activa], *Tr. rubrum*[activa], *Macrophomina phaseolina*[inactiva], *Aspergillus niger*[activa] y *A. flavus*[activa]) aceite esencial de la planta y aceite esencial del rizoma. **Antitricomonas** (*Trichomonas vaginalis*, activa) aceite esencial. **Antibacteriana** (*Staphylococcus pyogenes*[activa], *Escherichia coli*[activa], *Proteus vulgaris*[activa], *Staphylococcus aureus*[inactiva], *Bacillus mycoides*[inactiva], *B. subtilis*[inactiva], *Shigella dysenteriae*[inactiva] y *Vibrio cholera*[inactiva]) aceite esencial de la planta, extracto etanólico de la raíz, extracto acuoso de la raíz, extracto hexanólico de la raíz y aceite esencial del rizoma. Actividad **insecticida** (*Triatoma infestans*, activa) aceite esencial del rizoma. Estudios reportados por los países de: India, Tailandia, Francia, Bolivia e Islandia.

Información etnomédica de *V. zizanioides* reportada es las siguientes: Infecciones pulmonares (raíz), contra parásitos intestinales (raíz), gonorrea (raíz) y repelente de insectos (raíz). Reportados por los países de: Indonesia, Islandia, Haití e India.

Composición química reportados son los siguientes: sesquiterpenos, y fenilpropanoico (aceite esencial de la raíz). Datos reportados por los países: Indonesia, Japón, Haití, Alemania, China, Italia y Argentina. Aunque los sesquiterpenos reportados no son los que forman parte de los Valepotriatos, indicados para el estudio de interés, al igual el estudio de la actividad biocida (12.5).

3.5 *Perezia nudicaulis* Gray.

Es conocida popularmente como Valeriana en Zacapa y Guatemala. Pertenece a la familia *Astereaceae*. Es nativa de Guatemala, se encuentra distribuida en los departamentos de: Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Huehuetenango, Guatemala, Jalapa, Jutiapa, Quetzaltenango, El Quiché, Santa Rosa, Sololá y Zacapa. El Salvador y Honduras (12.4).

Estudios realizados acerca de la planta, como la composición química, actividad biológica y etnomedica no hay reportes, según la base de datos Napralert. La descripción botánica se encuentra descrita en la Flora de Guatemala.

4. Justificación

La importancia de realizar el estudio de *P. nudicaulis*, *Ch. nutans*, *V. zizanioides* y *V. prionophylla* es la de demostrar de una manera científica el efecto terapéutico atribuido que es característico del género Valeriana, debido a que en Guatemala las primeras tres plantas son llamadas Valeriana porque también poseen efectos sedantes, aunque no pertenecen a dicho género. A su vez se ha incluido en el estudio a la planta de *V. prionophylla*, siendo nativa de Guatemala que no ha sido estudiada, perteneciendo al género y familia de la *V. officinalis* según la Flora de Guatemala.

Aunque se ha encontrado algunos estudios realizados, las plantas *Ch. nutans* y *V. zizanioides* en cuanto actividad biocida es necesario ampliar las investigaciones acerca de esta actividad en nuestro país, pues los datos reportados son de otros países, como se sabe las plantas difieren dependiendo del lugar de recolección, aunque sean de la mismo género y especie. Las plantas *P. nudicaulis* y *V. prionophylla* se diferencian de las plantas antes mencionadas, pues en ninguna se han realizado estudio de este tipo, por lo que puede iniciarse investigando la actividad biocida.

Se pretende que los resultados de la investigación constituyan evidencias científicas para la validación de estas plantas, considerando que de algunas de estas no existen hasta el momento ningún estudio fitoquímico, ni farmacológico resulta interesante su investigación.

La validación de la actividad y la composición química de estas especies apoyará el desarrollo de nuevos productos agrícolas que podrán beneficiar tanto a los productores que verán mejorados sus ingresos, como los campesinos que podrán usar las plantas con seguridad y confianza.

5. Objetivos

a. General

- Evaluar la actividad biocida e identificar los valepotriatos en las plantas llamadas popularmente valeriana (*P. nudicaulis*, *Ch. nutans* y *V. zizanioides*) y *V. prionophylla*.

b. Específicos

- Identificar la composición químicas de las plantas llamadas popularmente Valeriana en Guatemala para justificar su uso como sedante.
- Identificar la presencia de valepotriatos de las cuatro especies para equiparar los extractos con *V. officinalis*.
- Determinar actividad antifúngica, insecticida y antibacteriana en las especies *P. nudicaulis*, *V. prionophylla*, *Ch. nutans* y *V. zizanioides*.

6. Hipótesis

El extracto etanólico de la raíz de las plantas llamadas popularmente Valeriana en Guatemala no presentan dentro de su composición química los metabolitos característicos del género Valeriana. A diferencia, el extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla* si posee dichos metabolitos.

Al menos uno de los extractos a evaluar presenta actividad biocida.

7. Materiales y Métodos

7.1 Universo de trabajo

Plantas conocidas popularmente como Valeriana

7.2 Muestra

Extracto etanólico de la raíz de *P. nudicaulis*, *Ch. nutans*; *V. zizanioides*, *V. prionophylla* y *V. officinalis*.

7.3 Medios

7.3.1 Recursos humanos

Autora del trabajo: Ada Raquel Cruz de Paz

Asesora: Licda: Sully Margot Cruz Velásquez

Coasesor: Lic. Armando Cáceres

7.3.2 Recursos Materiales

a. Institucionales:

Universidad del Valle de Guatemala

Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos

Laboratorios de Productos Fitofarmacéuticos, FARMAYA

Departamento de Entomología, Ministerio de Salud y Asistencia Social

De la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos los siguientes:

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, LIPRONAT.

Proyecto de Aprovechamiento de la Flora Regional como

Fuente de Fármacos Anticáncer, Antiparasitario y Antifúngicas

Laboratorio de Citohistología Humana

b. Equipo: Rotavapor, Bomba de Vacío, Desecadora, Incubadora, Balanzas, Campana de Flujo Laminar, Campana Extractor de Gases, Cámara de Neubauer Autoclave, Vortex y Estereoscopio

c. Cristalería: Erlenmeyer, Tips, Cajas de Petri, Microplacas, Tubos, Pipetas, Cámara Cromatográfica y Percoladores

d. Adsorbente: sílica gel 60 F₂₅₄

e. Materiales: Raíz seca de: *Ch. nutans*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis*, *V. prionophylla* y *V. officinalis*.

f. Disolventes: Etanol al 95%, Etanol al 50%, Metanol al 95%, n-hexano y etilmetilcetona.

g. Solución de referencia: Rojo de sudán G

h. Otros reactivos: Dextrosa, NaSO₄, KH₂PO₄ y peptona

i. Medios de cultivo: Agar Sabouraud, Agar Mueller Hinton y Caldo de Tripticasa soya.

j. Microorganismos

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	25923
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC	14028
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	ATCC	607
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC	6051
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	27853
<i>Candida albicans</i>	ATCC	10231
<i>Cryptococcus neoformans</i>	ATCC	C13
<i>Escherichia coli</i>	ATCC	25922
<i>Aedes aegypti</i>		
<i>Anopheles albimanus</i>		
<i>Trichophyton rubrum</i>	T.4	
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	T.3	
<i>Aspergillus flavus</i>	A.3	

7.4 Procedimiento

7.4.1 Selección de las plantas

7.4.2 Revisión bibliográfica

7.4.3 Obtención del material seco:

Ch. nutans se recolectó en Samayac, Suchitepéquez.

P. nudicaulis se recolectó de la Sierra de las Minas, Zacapa.

V. prionophylla se recolectó en Nebaj, Quiché.

V. officinalis proveída por Astrid Van Ginzel, Barcelona, España.

V. zizanioides proveída por Ing. César Vitorazzi (Extract).

7.4.4 Molienda de las plantas

Obtención del extracto de las especies a investigar por Percolación y por concentración por rotavapor.

7.4.4.1 Procedimiento de extracción por Percolación (12.15)

Colocar en la punta del percolador un pedazo de algodón no muy grande, de manera que sirva de filtro. Cortar un pedazo de papel filtro de forma circular y colocarlo cubriendo el fondo del percolador. Tapar la punta del percolador con tapón plástico.

El material debe estar seco, (< 10% de humedad), molida o picada, perfectamente identificada. Pesar 400 g de la raíz molida de cada una de las muestras a estudio. Colocar la muestra pesada en el percolador. Agregar una tercera parte, luego cubrir con etanol al 95%. Verificando que no quede burbujas. Finalmente agregar el resto del material seco y cubrir con etanol al 95%. Dejar en reposo por 12-24 horas. Cada percolador previamente identificado y fecha.

7.4.4.2 Concentración en Rotavapor (12.15)

Encender el baño María y llevar la temperatura a 40 +/- 1°C. Engrasar todas las bocas esmeriladas y armar el rotavapor de acuerdo al instructivo de marca comercial. Succionar la solución obtenida del percolador (Alcohol + Planta). Conectar la bomba de vacío y el rotavapor. Iniciar la destilación del extracto. Con el alcohol recuperado, repetir la extracción con el percolador cinco veces. Al finalizar la concentración, verter el extracto en una caja de petri de vidrio previamente tarada y rotulada. Colocar en la desecadora de 7-15 días.

7.4.5 Actividad antimicrobiana (12.15-12.19)

7.4.5.1 Preparación de medio de cultivo

Preparar los tubos con 9.0 mL de agar Mueller Hinton. Esterilizar, dejar enfriar a 50°C y agregar 1.0 mL de la solución del extracto disuelto. Este debe tener una concentración de 10 mg/mL. La

concentración final que se obtiene es de 1 mg/mL. Agitar y verter en cajas de Petri estériles, dejar solidificar e incubar a 36°C por 24 horas, para comprobar esterilidad. Luego guardar en refrigeración hasta el momento de su uso.

7.4.5.2 Preparación del inóculo

Purificar el microorganismo a ensayar inoculando en un tubo con 8 mL de agar Mueller Hinton inclinado, incubar a 36°C durante 24 horas. Inocular una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5.0 mL del caldo Trypticase soya. Incubar a 36°C durante 48 horas. Diluir 0.05 mL de suspensión anterior en 4.95 mL en solución salina estéril (dilución 1:100). Sembrar en caja según plantilla a utilizar.

7.4.5.3 Inoculación de las bacterias

Inocular en las cajas con agar-extracto de la raíz una asada de cada uno de los microorganismos siguiendo el patrón de la plantilla (está es segmentado por siete partes en forma circular). Hacer cuatro repeticiones por microorganismo. Dejar reposar durante 5-10 minutos e incubar a 36°C durante 24 horas. Utilizar control negativo 9 mL de agar Mueller Hinton mezclándolo con 1 mL de etanol a 50%.

7.4.5.4 Interpretación de resultados

Si hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo se interpreta **ACTIVIDAD NEGATIVA**.

Si no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo se interpreta **ACTIVIDAD POSITIVA**

Presencia de microorganismo fuera de la inoculación se interpreta **CONTAMINACIÓN**.

7.4.5.5 Determinación Inhibitoria Mínima (MIC)

Preparar cajas cuadrplete con las siguientes diluciones del extracto:

3.6 mL de agar + 0.4 mL de la solución de extracto = 1.0 mg/mL

3.8 mL de agar + 0.2 mL de la solución de extracto = 0.5 mg/mL

3.9 mL de agar + 0.1 mL de la solución de extracto = 0.25 mg/mL
Un cuadrante con 4.0 mL de agar como control negativo. Inocular tres estrías en cada uno de los cuadrantes e incubar a 36°C por 24 horas. Realizar la lectura e interpretar según el paso 7.4.5.4.

7.4.6 Actividad antimicótica (12.20-12.25)

7.4.6.1 Preparación del medio de cultivo para hongos filamentosos

Preparar tubos con 13.5 mL de agar Sabouraud. Esterilizar, dejar enfriar y agregar 1.5 mL del extracto de la raíz (1:10). Agitar. La concentración final que se tiene es de 1 mg/mL. Verter en cajas de petri estériles, dejar solidificar e incubar a 36°C durante 24 horas para verificar esterilidad. Luego guardar en refrigeración hasta el momento de su uso.

7.4.6.2 Preparación de inóculo de hongos filamentosos

Preparar medio de Takashio (Sabouraud modificado para producción de esporas) con los siguientes ingredientes: Dextrosa 0.6 g, NaSO₄ 0.3 g, KH₂PO₄ 0.3 g, peptona 0.3 g y agar-agar 6.0 g. Agregarlo a 300 mL de agua, mezclar, disolver y verter 10 mL en tubos con tapón de rosca, esterilizar en autoclave y dejar solidificar con el mayor declive posible. Incubar 48 horas a 25°C para descartar contaminación. Sembrar en este medio los hongos a ensayar e incubar a 27°C durante 21 días hasta obtener un crecimiento homogéneo (aproximadamente 15 días). Agregar a cada tubo 2 mL de agua destilada estéril y desprender el hongo con ayuda de una varilla. Trasvasar el material obtenido a viales con tapa de rosca. Agitar por 1 minuto en vortex y hacer un conteo de esporas en cámara de Neubauer. Llevar la suspensión a 100 esporas/ μ L = 1×10^5 esporas / mL (aproximadamente 10 esporas /cuadrante) y almacenar en viales estériles en refrigeración.

7.4.6.3 Inoculación de hongos filamentosos en placa.

Las cajas con agar-extracto de raíz, se abren cuatro agujeros con campanillas de Durham de 5 mm de diámetro. En forma equidistante. Tomar 30 μ L de la suspensión de esporas y depositar en los agujeros. Incubar a 27°C por 14 días. Hacerlo por 4 veces. Usar una caja con agar Sabouraud como control negativo.

7.4.6.4 Preparación de medio de cultivo para hongos levaduriformes

Preparar tubos con 9.0 mL de agar Mueller Hinton. Esterilizar, dejar enfriar a 50°C y agregar 1.0 mL de extracto de la raíz a estudiar (dilución 1:10). Agitar. La concentración final que se tiene es de 1 mg/mL. Verter en cajas de Petri estériles, dejar solidificar e incubar a 36°C por 24 horas para revisar esterilidad. Guardar en refrigeración hasta el momento de su uso.

7.4.6.5 Preparación del inóculo para hongos levaduriformes

Sembrar la cepa en una caja de agar Sabouraud e incubar a 36°C por 48 horas. Tomar un inóculo del cultivo fresco, sembrar en 5 mL de caldo Tripticasa soya e incubar 24-48 horas. Tomar con una pipeta estéril 0.5 mL y suspender en 4.5 mL de solución salina estéril (dilución 1.10).

7.4.6.6 Inoculación de hongos levaduriformes en placa

Inocular con asa de nicromo la suspensión de levaduras, en las cajas con agar-extracto de raíz, en cada sección según plantilla. Incubar a 36°C durante 48 horas. Para el control sembrar estrías la levadura en caja con agar Saboraud.

7.4.6.7 Lectura e interpretación de resultados

Hongos filamentosos:

Medir el diámetro de la colonia del hongo en mm. Calcular en porcentaje de inhibición, comparando el diámetro contra el de las colonias en las cajas control. Tomar como positivos los extractos que reducen el diámetro de la colonia en un 75%.

Hongos levaduriformes:

Observar el crecimiento de la levadura en el medio:

Crecimiento positivo = NO ACTIVIDAD

Crecimiento negativo = Inhibición o ACTIVIDAD ANTILEVADURA.

Para evaluar la concentración inhibitoria mínima MIC, repetir la prueba con cantidades decrecientes del extracto de la raíz (1:10, 1:50 y 1:100).

7.4.7 Actividad Larvicida (12.26-12.31)

7.4.7.1 Colocar en un vaso de precipitar 200 mL del agua de chorro y dejar reposar por 48 horas. Agregar unos 40 mg de huevecillos de *A. aegypti* y *Anopheles albimanus*. Incubar por 48 horas a temperatura ambiente.

Pesar 1 mg del extracto de raíz de las plantas en estudio y disolver con 1 mL de agua de chorro reposada. En la microplaca agregar por triplicado: 100 μ L del extracto disuelto + 100 μ L de agua del chorro reposada con 10-15 larvas. Incubar a temperatura ambiente (25°C) en un lugar oscuro durante 24 horas. Control negativo colocar 100 μ L de agua del chorro reposada con 10-15 larvas.

7.4.7.2 Interpretación de resultados

Contar en el estereoscopio o microscopio el número de larvas muertas y determinar la CL₁₀₀ (concentración letal al 100%). La prueba es positiva si todas las larvas están muertas. Si el % de larvas muertas es 100%, calcular la CL₁₀₀, para ello repetir la prueba utilizando dosis de 0.5, 0.15 y 0.124 mg/mL.

7.4.8 Determinación química de los Valepotriatos (12.3) (12.46)

7.4.8.1 Extraer 0.2 g de raíz pulverizada de cada planta en estudio con 5 mL de metanol durante 5 minutos, con agitación: filtrar y concentrar el filtrado cuidadosamente hasta residuo seco, redisolviéndolo a continuación con 0.2 mL de metanol. En la placa

cromatográfica colocar 5 μL del extracto a investigar y 2 μL de solución de referencia (rojo de Sudán G), en bandas de 10 X 2 mm. Luego colocar la placa en una cámara saturada previamente preparada de n-hexano-etilmetilcetona proporción 70:30. Tiempo de recorrido durante 10 minutos de 8 cm de recorrido aproximadamente. Tras secar completamente la placa, pulverizarla con disolución de aldehído anísico R (RFE 1) y calentar aproximadamente durante 2 minutos a 105-110°C. Una vez fría, la placa se observa a la luz visible y a la luz UV de 365 nm.

7.4.8.2 Interpretación de resultados

La mancha de la sustancia de referencia aparece a $R_f = 0.39$. En el cromatograma de la raíz de valeriana se observa, por debajo de la sustancia de referencia, una mancha color violeta intenso, correspondiente al ácido valerénico ($R_f \approx 0.26$) y una zona azul violeta debida al ácido hidroxivalerénico a $R_f \approx 0.10$ ambas con fluorescencia de color rojo ladrillo intenso a la luz UV de 365 nm.

7.5 Diseño de la Investigación

El diseño del estudio es no probabilístico a conveniencia, utilizando estadística no paramétrica con criterio de positividad visual para luego determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) de la actividad bactericida y antifúngica, CL_{100} para actividad insecticida. Las plantas elegidas en el presente estudio son nativas de Guatemala, llamadas popularmente Valeriana, algunas de estas con pocos estudios realizados.

En cuanto a la determinación de los valepotriatos se realizará por medición de R_f , ensayos macro y semimicro de reacciones de coloración y precipitación.

8. Resultados

Tabla 8.1

Tamizaje de la actividad antimicrobiana

BACTERIAS	EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–
<i>Salmonella tiphy</i>	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	–	–	–	–
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–
<i>Eschericha coli</i>	–	–	–	–

– = Sin inhibición

+ = Inhibición

Prueba realizada cuatro veces

Tabla 8.2

Tamizaje de la actividad antifúngica

HONGOS FILAMENTOSOS	EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–
<i>Trichophyton rubrum</i>	–	–	–	–
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	–	–	–	–

– = Sin inhibición

+ = Inhibición

Prueba realizada cuatro veces

Tabla 8.3
Tamizaje de la actividad antifúngica

HONGOS LEVADURIFORMES	EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–
<i>Cryptococcus neoformans</i>	+	–	+	–

– = Sin inhibición

+ = Inhibición

Repetición cuatro veces

Tabla 8.3.1
Determinación de la concentración mínima inhibitoria (MIC), de las plantas que dieron positivo en el tamizaje con hongos levaduriformes.

EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ	HONGO
	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Valeriana prionophylla</i>	0.25 mg/mL
<i>Perezia nudicaulis</i>	0.5 mg/mL

Tabla 8.4
Tamizaje de la actividad insecticida

ESTADIOS DE LOS INSECTOS		EXTRACTO ETANÓLICO DE LA RAÍZ			
		<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>
<i>Aedes aegypti</i>	1°	-	-	-	-
	2°	-	-	-	-
	3°	-	-	-	-
	4°	-	-	-	-
<i>Anopheles albimanus</i>	1°	-	-	-	-
	2°	-	-	-	-
	3°	-	-	-	-
	4°	-	-	-	-

– = Inactiva (12 larvas vivas)

+ = Activa (12 larvas muertas)

Tabla 8.5
Determinación química de valepotriatos

VALEPOTRIATOS	RAÍZ DE LA PLANTA PULVERIZADA				
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>	<i>Valeriana officinalis</i>
Acido valerénico (violeta)	+++	+	+	++	++
Acido hidroxivalerénico (azul-violeta)	+++	+++	+	+++	++
Acevaltrato y Valtrato (azul)	++	+++	+	+	+
Didrovaltrato (café)	+	+	+++	+++	-

Abundante, +++; moderado, ++; escaso, +; no detectable, _
Realizado varias veces, hasta observar bandas y colores definidos

Tabla 8.5.1
Rf de los valepotriatos de las plantas en estudio.

VALEPOTRIATOS Rf	RAÍZ DE LA PLANTA PULVERIZADA				
	<i>Valeriana prionophylla</i>	<i>Vetiveria zizanioides</i>	<i>Perezia nudicaulis</i>	<i>Chaptalia nutans</i>	<i>Valeriana officinalis</i>
Acido valerénico	0.6	0.5, 0.6	0.7	0.6	0.5
Acido hidroxivalerénico	0.2	0.1, 0.4	0.6	0.2	0.4
Acevaltrato y valtrato	0.4	0.3	0.7	0.3	0.5
Didrovaltrato	0.8	0.7	0.9	0.8	-----

9. Discusión de Resultados

El análisis de la actividad antibacteriana, de las cuatro plantas en estudio, mostró inactividad frente a las 6 bacterias. Por lo que no se demuestra su uso para combatir infecciones producidas por las bacterias que fueron expuestas, a la concentración del extracto de la raíz de 1 mg/mL. Estudios recientes del extracto metanólico de toda la planta de *Ch. nutans*, muestran efecto inhibitorio contra *B. subtilis*, pero a concentración de 50 mg/mL (12.49).

En la prueba de la actividad antifúngica con hongos filamentosos (dermatofitos), las cuatro plantas no mostraron actividad, pues las colonias de cada hongo crecieron aún más que la utilizada como agar-control (no hay extracto) y se esperaba mayor crecimiento en este. Sin embargo fue lo contrario, pues el crecimiento de las colonias fue mayor en el agar-planta (presente el extracto). Esto se debió a que el extracto posee otros nutrientes que proveen el crecimiento, mejor aún que el nutriente provisto por el agar. Demostrando leve concentración de metabolitos responsables de la inhibición de hongos.

En la determinación de la actividad antifúngica con hongos levaduriformes, los resultados son diferentes. Las plantas *V. prionophylla* y *P. nudicaulis*, en concentraciones de 0.25 y 0.50 mg/mL respectivamente, fueron activas ante *Cryptococcus neoformans*. Con estos resultados, ambas plantas pueden ser validadas para el uso del tratamiento de Criptococosis, esta enfermedad es adquirida por inhalación de tierra contaminada con la levadura capsulada *C. neoformans*, que puede causar enfermedad pulmonar autolimitada o diseminarse, sobre todo a las meninges, pero en ocasiones a la piel, los huesos, las vísceras u otros órganos (12.64).

En la prueba de actividad insecticida, las cuatro plantas resultaron inactivas ante *A. egypti* y *A. albimanus*. En las tres repeticiones realizadas, las larvas de dichos insectos no fueron afectadas. En cada prueba se colocaron de 10-15 larvas, utilizando para ello 1 mg del extracto de cada una de las plantas. Esta prueba se realizó en los cuatro estadíos de crecimiento de dichos insectos.

Se sabe que los derivados de los sesquiterpenos (sesquiterpen-lactonas), poseen acción citotóxica, antitumoral, analgésica, antimalárica, amebicida,

insecticida e inhiben el crecimiento de las bacterias. Muchas cumarinas poseen acción antibacteriana e insecticida. Los flavonoides poseen acción antimicrobiana y antifúngica. Derivados de colchicina poseen acción antifúngica (12.59) (12.60) (12.65). Todos estos metabolitos secundarios de las plantas se encuentran en todas las partes de éstas, siendo más abundante en las hojas, flores y frutos. Por lo que se concluye, que la raíz de las cuatro plantas en estudio poseen leve concentración de dichos metabolitos a 1 mg/mL de concentración del extracto, siendo insuficiente para actuar ante los microorganismos expuestos. Pudiendo ser mayor a dicha concentración (> 1), la actividad inhibitoria. Exceptuando las plantas *V. prionophylla* y *P. nudicaulis* que fueron activas ante *C. neoformans*, a muy baja concentración del extracto de raíz de éstas.

La determinación química de valepotriatos de las cuatro plantas mostraron resultados interesantes. Los metabolitos presentes en el género Valeriana, las cuales son: ácido valerénico e hidroxivalerénico, fueron encontradas también en las tres plantas, llamadas popularmente Valeriana. El ácido hidroxivalerénico fue abundante para: *V. zizanioides* y *Ch. nutans*. En cuanto al ácido valerénico se encuentra moderadamente presente para *Ch. nutans* y es escaso para *P. nudicaulis* y *V. zizanioides*. A diferencia de las dos plantas que pertenecen al género Valeriana se encuentran abundantemente dichos metabolitos como se esperaba, pero más notable en *V. prionophylla* que *V. officinales*. Estos resultados explican el efecto sedante de las plantas llamadas popularmente Valeriana. Siendo más abundante en *Ch. nutans*, le sigue *V. zizanioides* y por último *P. nudicaulis*.

Adicionalmente se identificó la presencia de otros valepotriatos, como lo son: valtrato, acevaltrato y didrovaltrato. Siendo abundante didrovaltrato en *P. nudicaulis* y *Ch. nutans*, valtrato y acevaltrato fueron abundantes en *V. zizanioides*.

Es importante notar que en la *V. prionophylla* es más abundante ácido valerénico e hidroxivalerénico que en la *V. officinalis*, de acuerdo a un estudio realizado, el cual consistió comparar los niveles de concentración de ácido valerénico y valepotriatos, de diversas especies del género Valeriana,

proveniente de diferentes países de Europa. Los resultados mostraron niveles más altos de ácido valerénico en los países cuyas plantas pertenecían a: Alemania, Italia y Suecia; demostrando que los niveles de éstos, son afectados por factores como: gentotipo, clima, cosecha y procesos de preparación (12.52). La raíz de la planta *V. officinalis* utilizada en este estudio provenía de España, a diferencia de *V. prionophylla* que provenía de Nebaj, Quiché de Guatemala. Concluyendo que el país de Guatemala cuenta con condiciones ambientales adecuadas para la cosecha de *V. prionophylla*.

En cuanto a la determinación de Rf de los valepotriatos, los valores obtenidos fueron de mayor valor que los valores teóricos. Aunque estos valores según la revisión bibliográfica son aproximados, por lo que son variables; son identificados por los colores característicos de éstos. Una de las razones de las variaciones de los Rfs, es mantener igualdad de las condiciones metodológicas. Para la determinación de ácido valerénico (color violeta) y ácido hidoxivalerénico (azul-violeta) se utilizó la metodología de Cañigeral (12.3). La determinación de otros valepotriatos como didrovaltrato (café), valtrato y acevaltrato (azul) se utilizó la metodología de Wagner (12.46). Esta metodología identifica los valepotriatos por los colores, sin hacer uso de Rfs.

10. Conclusiones

- 10.1 El extracto etanólico de la raíz de: *V. prionophylla*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans* no presenta actividad contra las siguientes bacterias: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. tiphy*, *M. smegmatis*; a concentración de 1 mg/mL.
- 10.2 El extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans* no son activos contra los hongos filamentosos *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* y *A. flavus* a concentración de 1 mg/mL.
- 10.3 El extracto etanólico de la raíz de: *V. prionophylla*, *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans* no poseen actividad insecticida contra *A. aegypti* y *A. albimanus* a concentración de 1 mg/mL.
- 10.4 El extracto etanólico de la raíz de *V. prionophylla*, y *P. nudicaulis* presentan actividad a un MIC de 0.25 y 0.5 mg/mL respectivamente contra *C. neoformans*.
- 10.5 Los metabolitos ácido valerénico y ácido hidroxivalerénico, están presentes en el extracto etanólico de la raíz de *V. zizanioides*, *P. nudicaulis* y *Ch. nutans*; plantas llamadas popularmente en Guatemala como Valeriana.
- 10.6 Los metabolitos ácido valerénico y ácido hidroxivalerénico son más abundantes en *V. prionophylla* que *V. officinalis*.

11. Recomendaciones

- 11.1 Realizar estudios farmacológicos de las plantas llamadas popularmente Valeriana, para validar su uso como sedante, a su vez determinar la concentración terapéutica efectiva de cada una de ellas.
- 11.2 Realizar estudios farmacológicos (sedante y antiespasmódico) de *V. prionophylla*, para validar su uso en el país de Guatemala.
- 11.3 Realizar extracción líquido-líquido del extracto de la raíz de *V. prionophylla* y *P. nudicaulis*, para determinar en qué disolvente se encuentra el principio activo inhibitorio del *C. neoformans*, e identificarlo por medio de tamizaje fitoquímico y técnicas analíticas.
- 11.4 Evaluar actividad antibacteriana, antifúngica, insecticida, citotóxica, y otros de las plantas *P. nudicaulis* y *Ch. nutans*, de otras partes de la planta, como lo son las hojas y flor.

12. Referencias

- 12.1 Hobbs, CH. 1995. Valerian, The Relaxing and Sleep Herb. Capitola, C.A. Botanica. 6 p
- 12.2 Houghton, P. J. 1988. The Biological Activity of Valerian and Related Plants. Journal of Ethnopharmacology. Ireland. (22):121-142
- 12.3 Cañigüeral, S., *et. al.* 1998. Plantas Medicinales y Drogas Vegetales para Infusión y Tisana. Un Manual de Base Científica para Farmacéuticos y Médicos. Primera Edición. Milán, Italia. OEMF International. 542-545 p
- 12.4 Standley, P. C. & Williams, L. D. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana, Botany. 436-437(12).
- 12.5 Napralert Profile, 3part query for nap, 10/09/02).
- 12.6 Badilla, B., *et. al.* 1999. Anti-inflammatory activity of aqueous extracts of five Costa Rican medicinal plants in Sprague-Dawley rats. Biol. Trop. Costa Rica 47(4):723-727
- 12.7 Gerrit, D., *et. al.* 1980. Flora Mesoamericana. México. Botanical Garden. 256, 284(6)
- 12.8 A:\Constituintes Químicos De Chaptalia Integerrima.htm
- 12.9 Girón M. L. & Duro, J. M. 1996. Una aproximación del Estado de Conservación de la Flora Medicinal Utilizada por los Garifunas de Livingston. Quiriguá, Los Amates, Izabal. CONAPLED. 25-35 p. (IX Seminario Nacional de Plantas Medicinales y VI Exposición de Plantas Medicinales y Productos Derivados).
- 12.10 Fernández, E. 1985. Las Plantas con Flores. Barcelona, España.
- 12.11 Harborne, J. B. & Smith. T. A. 1991. Phytochemistry, The International Journal of Plant Biochemistry. USA. Pergamen. Vol.30(3).
- 12.12 A:\Perezia coerulescens.htm
- 12.13 w.w.w. semarnat.gob.mx/pfnm/bibliografía.html.
- 12.14 Reynolds, J. E. 1993. Martindale, The Extra Pharmacopoeia. The Pharmaceutical Press. England. 13a Edition. 1426 p
- 12.15 Cyted. 1993. Manual de Técnica de Investigación. Bogotá, Colombia.

- 12.16 Cáceres, A., *et. al.* 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. *J. Ethnopharmacol.* Vol.62:195-202
- 12.17 España, S. M., *et. al.* 1994. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 5. Vibriocidal activity of five American plants used to treat diarrhea. *Fitorerapia* Vol. 65:273-274
- 12.18 Mitscher, L. A., *et. al.* 1987. A modern look at folkloric use of anti-infective agents. *J. Nat. Prod.* 5:1025-1041
- 12.19 Mitscher, L. A., *et. al.* 1972. Antimicrobial agents from higher plants. 1. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia* 35:157
- 12.20 Brancato, F. P. & Golding, N.S. 1983. The diameter of the mould as a reliable measure of growth. *J. Mycol.* 45:848-863
- 12.21 Burlingame, E. M. & Reddish, G.P. 1973. Laboratory methods for testing fungicides used in the treatment of epidermophytoses. *J. Lab. Clin. Med.* 14:649-653
- 12.22 Cáceres, A., *et. al.* 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. *J. Ethnopharmacol.* 40:207-213
- 12.23 Mac Rae Wd., *et. al.* 1988. Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. *J. Etnopharmacol.* 22:143-172
- 12.24 Maccarthy, P., *et. al.* 1992. Antifungal activity of meridine. A natural product from the marine sponge. *J. Nat. Prod.* 55:1644-1668
- 12.25 Vanbrenseghem, R., *et. al.* 1970. Production of macroconidia by *Microsporum ferrugineum* OTA 1992. *Sabouraudia* 7:252-56
- 12.26 Chariandy, C.M., *et. al.* 1999. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. *J. Ethnopharmacol.* 64:265-270
- 12.27 Kagan, J., *et. al.* 1983. The Phototoxicity of some 1,3-butadienes and related thiophenes against larva of the mosquito *Aedes aegypti* and the fruit fly *Drosophyla melanogaster*. *Insecta. Sci. Appl.* 4:377-387

- 12.28 Maradufu, A., *et. al.* 1978. Isolation of (5-E)-ocinonea mosquito larvicide from *Tagetes minuta*. *Llydia* 41:181-183
- 12.29 Mischra, S. K., *et. al.* 1987. Insecticidal and nematocidal properties of microbial metabolites. *J: Indust. Microbiol.* 2:267-276
- 12.30 Thangam, T., *et. al.* 1997. Mosquito larvicidal activity of mangrove plant extracts and synergistic activity of *Rhizophora apiculata* with pyrethrum against *Culex quinquefasciatus*. *J. Pharmacog.* 35:69-71
- 12.31 Zarroug, I. M. A. 1988. Evaluation of Sudanese plant extracts as mosquito larvicides. *Ins. J. Cruce Drug. Res.* 26:77-80
- 12.32 Cleaves Herrera, C. I. 2001. *Etnobotánica Médica Participativa en siete Comunidades de la Zona de Influencia del Parque Nacional Laguna Lachúa, Cobán, Alta Verapaz. Guatemala.* 96 p. Tesis Licenciada en Biología. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Biología.
- 12.33 [www.Botanical-online.com/fotosvaleriana officinalis.Htm#catala1](http://www.Botanical-online.com/fotosvaleriana_officinalis.Htm#catala1)
- 12.34 <http://jerrycott.com/user/valerian.pdf>
- 12.35 <http://www.fleurs-des-champs.com/fic/fiches/f305.htm>
- 12.36 <http://www.herbtrader.com/mood-music-cdshtml>
- 12.37 <http://biblio68.ibiologia.unam.mx/FullTex/If112.html>
- 12.38 Mukerji, B. & Bhandari, P. 1959. *Cissampelos pareira* Source of New Curariform Drug. *Planta médica* 7:250-259
- 12.39 Nash, D. & Williams, L. 1976. *Flora of Guatemala.* Fieldiana: Botany. 24 (12):603
- 12.40 Morton, J. F. 1981. *Atlas Of Medicinal Plants of Middle America. From Bahamas to Yucatan.* Charles C. USA. Thomas Publisher.
- 12.41 Gola, G., *et. al.* 1965. *Tratado de Botánica. Segunda Edición.* México. Labor, S. A. 1002, 1033 p
- 12.42 Colegio Oficial De Farmacéuticos De Bizkam, Asociación Española De Médicos Naturistas. *Vademecun de Prescripción, Plantas Medicinales.* 1998. Tercera Edición. España. Masson, S. A. 449 p
- 12.43 Trease, G. E. & Evans, W. CH. 1984. Tercera Edición. *Farmacognosia.* México. Continental. 687-690, 727 p

- 12.44 Forey, P. & Lindsay R. 1991. Medicinal Plants. USA. Atlantis Publications. 54 p
- 12.45 Solder, E. 1954. Medicamenta. Quinta Edición. Tomo II. México. Labor. 186, 1237-1239 p
- 12.46 Wagner, H., *et. al.* 1984. Plant Drug Analysis. New York-Tokio. Springer-Verlay Berlin Heidelberg. 263-267 p
- 12.47 PDR For Herbal Medicines. The information Standard for complementary Medicine. 2000. Second Edition. New Jersey. Medicinal Economics Company Montvales. 783-789 p
- 12.48 Piccinelle, A.L., *et. al.* 2004. New Lignans from the Roots of *Valeriana prionophylla* with Antioxidative and Vasorelaxant Activities. Journal of Natural; 67(7):1135-1140
- 12.49 Coelho De Souza, G., *et. al.* 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. Journal of Ethnopharmacology. 90:135-143
- 12.50 Maffei, M., *et. al.* 1995. Photosynthetic Enzyme Activities in *Vetiveria zizanioides* Cultivated in Temperature Climates. Biochemical Systematics and Ecology. 23(1):27-32
- 12.51 Tang, Y., *et. al.* 2002. Iridoids from the Rhizomes and Roots of *Valeriana jatamansi*. Journal of Natural Products. 65(12):1949-1952 p
- 12.52 Gao, X.Q. & Björk, L. 2000. Valerenic acid derivatives and valepotriates among individuals, varieties and species of Valeriana. Fitoterapia. 71:19-24
- 12.53 Torrado, M.D.C. & Sarragiotto, M.H. 1998. Three 5-methylcoumarins from *Chaptalia nutanas*. Phytochemistry. 47(1):97
- 12.54 Maselli. R. & Ochoa, O. 1993. Enfermedades tropicales en Guatemala 93. Informe Anual No.2. Agencia de cooperación Internacional de Japón (JICA). Guatemala.72-78 y 134-139
- 12.55 Grupo De Trabajo De Principios Activos De Efp De La Agencia Española Del Medicamento. 2003. Ficha Técnica de *Valeriana officinalis* como integrante de Especialidad Farmacéutica Pulcitaria. Revista de Fitoterapia. 3(1):65-66 p

- 12.56 <http://www.crescentbloom.com/Plants/Specimen/VE/Vetiveria%20zizanioides.htm>
- 12.57 http://plants.usda.gov/cgi_bin/plant_profile.cgi?symbol=VEZI80
- 12.58 Carlini, E.A. 2003. Plants and the central nervous system. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 20:1-12 p
- 12.59 Warber, S., *et. al.* 1999. *Natural Products from Plants*. CRC Press LLC. Washington, DC. 10, 81-84, 89 p
- 12.60 Cutler, S.J. & Cutler, H.G. 2000. *Biologically active natural Products*. Pharmaceuticall. CRC Press LLC. Washington, DC. 37 p
- 12.61 Rico Martinez, G.A. 1997. *Actividad antimicrobiana de 5 plantas de la familia Compositae Nativas de Guatemala*. Guatemala. 22-68 p. Tesis Licenciatura Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
- 12.62 Aguilar Granados, O. R. 2000. *Inhibición de Bacterias Nosocomiales Multiresistente por Extractos Vegetales Mesoamericanos con Actividad Antimicrobiana*. Guatemala. 33, 45-46 p. Tesis Licenciatura Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
- 12.63 Castillo, P., *et. al.* 2002. Comparative Study of Differentiation Levels and Valepotriate Content of in Vitro Cultures and Regenerated and Wild plants of *Valeriana edulis* ssp. procera. *Journal of Natural Products*. 65(4):573-575
- 12.64 Index Merk. 1998. Décima Edición.
- 12.65 Medinilla Aldana, B. E. 1999. *Manual de Laboratorio de Fitoquímica*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos. Guatemala. 13-18 p
- 12.66 http://plants.usda.gov/cgi_bin/topics.cgi?earl=plant_profile,cgi&siybol=VEZ180

13. Anexos

13.1 Descripción botánica de las plantas

13.2 Demostración de Actividad Antifúngica (hongos filamentosos)

13.3 Demostración de Actividad Antibacteriana y Antifúngica (hongos levaduriformes)



Chaptalia nutans L.

Valeriana y roj ra tzi

Nombre científico: *Chaptalia nutans* L.

Nombres comunes: Valeriana y roja tzi

Reino: *Plantae*

Subreino: *Embryobionta*

División: *MAGNOLIOPHYTA*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Asteridae*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae*

Género: *Chaptalia*

Especie: *nutans*

Descripción botánica

Planta acaulescente, perenne; hojas usualmente con peciolo largo, raramente sésiles, las láminas oblanceolado-oblongas a oblongo-ovadas; mayormente de 8 a 30 cm. De largo, muy delgadas, agudas u obtusas, comúnmente profundamente lirado-lobadas por debajo (raramente sólo crenado-lobadas), el lóbulo terminal casi entero o denticulado, los lóbulos inferiores pocos y pequeños, glabros o casi glabros en el haz, densamente flocoso-tomentosos en el envés, el tomento escaso, blanco o grisáceo; opacos delgados, mayormente de 15 a 50 cm. De altura, flocoso-tomentosos, sin brácteas o raramente con una o dos brácteas inconspicuas en la parte superior; cabezas comúnmente inclinadas cuando son jóvenes y luego durante la fructificación, erectas únicamente durante la floración, de 2 a 2.5 cm. De alto; filarios lineares o lanceolados-lineares, acuminadas, flocoso-tomentosas; corolas liguladas rojo-moradas o blancas pringadas con rojo o morado; aquenios de cerca de 5 mm. De largo, pubescentes o casi glabros, con 5 a 6 costillas, el rostelo filiforme 2 a 3 veces más largo que el cuerpo; vilano blanco o amarillento, de 1 a 1.5 de largo.

Distribución

México, Belice, El Salvador y Panamá, Indias occidentales, Sur América. En Guatemala se ha descrito en los departamentos de Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Quetzaltenango, Retalhuleu y Santa Rosa.

Hábitat

Pantanos o matorrales y bosques abiertos húmedos, frecuente en bosque de pino, algunas veces a campo abierto; de cerca del nivel del mar a 1950 m (12.4).

Usos populares

El cocimiento de la planta y raíz es un remedio común para catarro pulmonar, asma, bronquitis, resfriados, dermatitis gonorréica y sifilítica; también se usa como emenagogo y aplicado a heridas y úlceras. La infusión de las flores secas o el jugo de la planta fresca se usa para el tratamiento de caspa e hinchazones. Las hojas se usan contra dolores estomacales e intestinales. Se como tranquilizante.

En Santa Lucía se usa para el dolor de cabeza. Se usan las hojas en aplicación directa. En Salamá se usa contra la tos ferina. Se hace el cocimiento de las hojas. Se toman 9 vasos.

Las hojas hervidas se aplican localmente sobre granos y muelas con dolor (12.9) (12.40).



Vetiveria zizanioides L.

Vetiver, khus-khus, violeta y valeriana

Nombre científico: *Vetiveria zizanioides* L.

Nombres comunes: Vetiver, khus-khus, violeta y valeriana

Reino: *Plantae*
Subreino: *Tracheobionta*
División: *MAGNOLIOPHYTA*
Clase: *Liliopsida*
Subclase: *Commelinidae*
Orden: *Cyperales*
Familia: *Poaceae*
Género: *Vetiveria*
Especie: *zizanioides*

Descripción botánica

Tallos hasta 2 m, comprimidos. Vainas glabras, cercanamente traslapadas, lígula 0.15-15 mm; láminas basales hasta 100 cm X 6-8 m, glabras excepto pelosas en el haz arriba de la lígula. Panícula hasta 50 cm, cilíndrica; ramas numerosas, hasta 10 cm, ascendentes. Espiguillas purpúreas; glumas 4-5.5 mm, iguales, 3-5 nervias, lema inferior ligeramente más corta que las glumas; lema superior débilmente nervada, diminutamente aristada; pálea superior, $\frac{1}{2}$ la longitud de la lema superior, linear; anteras 1.8-2.1 mm $2n=20$.

Distribución

Nativa de Asia; ampliamente cultivada y ocasionalmente escapada en climas cálidos.

Hábitat

Ocasionalmente cultivada como una planta de cercado o para estabilizar terraplenes o terrazas, raramente escapada.

Usos populares

Las raíces son vendidas para esencias, como violeta. Los extractos son empleados como perfume. Se usa para dolores de muelas y tranquilizante (12.7) (12.9).



Valeriana prionophylla Standl.

Pericón del monte y ceiba

Nombre científico: *Valeriana prionophylla* Standl.

Nombres comunes: Pericón del monte y ceiba

Reino: *Plantae*
Subreino *Tracheobionta*
División: *MAGNOLIOPHYTA*
Clase *Magnoliopsida*
Subclase *Asteridae*
Orden: *Dipsacales*
Familia: *Valerianaceae*
Género: *Valeriana*
Especie: *prionophylla*

Descripción botánica

Hierba perenne erecta, a menudo bifurcada, raíces olorosas, los tallos de 10-80 cm de alto, esparcidamente pilosos o casi glabros, los nudos pilosulosos; hojas predominantemente basal, usualmente numerosas y aprisionadas algunas cespitosas, las hojas individidas, oblongo-linear a espatuladas, la mayoría de 3-30 cm de largo, 0.5-3 cm de ancho, obtusas, atenuadas hacia la base subpeciolar, los márgenes serrados, serrado-dentado, crenada o raramente entera, usualmente ciliada, glabra o pilosulada, hojas caulinares 2-3 pares, principalmente 2-20 cm de largo, usualmente sésiles y envuelta en la base, algunas veces corto-perciolada; inflorescencia largamente pedunculada, las flores numerosas dispuestas en un dicasio agregado, densa o difusa; bracteas lineares; limbo del cáliz con 9-11 segmentos exserta, las anteras aprisionadas 4-lobadas, la teca sulcada; estilo exserto; aquenios 2-3 mm de longitud, lisos o transversalmente ruguloso, glabro o pisuloso, el adaxial con costillas usualmente conspicuas.

Distribución

Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá, Totonicapán, México (Chiapas) y Costa Rica.

Hábitat

En campo abierto, frío, bosque de pino, en prados montañosos fríos o húmedos, o preferiblemente en lugares desérticos en riscos rocosos, algunas veces sobre calizas, 2100-4200 (12.4).

Usos populares

Se usa como sedante y antiespasmódico (12.48).



Perezia nudicaulis Gray.

Hierba de arriero, falsa contrahierba y valeriana

Nombre científico: *Perezia nudicaulis* Gray.

Nombres comunes: Hierba de arriero, falsa contrahierba y valeriana.

Reino: *Plantae*
Subreino *Embryobionta*
División: *MAGNOLIOPHYTA*
Clase: *Magnoliopsida*
Subclase: *Asteridae*
Orden: *Asterales*
Familia: *Asteraceae*
Subfamilia: *Asteroideae*
Género: *Perezia*
Especie: *nudicaulis*

Descripción botánica

Perenne gruesa, abundante, con abundante rizomas, estos densamente tapizados en el ápice y numerosas salidas, espigado, raíces carnosas, el bohordo en su mayoría 10-60 cm, espigado alto, debajo de los glabros simples, pocas diminutas brácteas o algunas veces 1-2 preferiblemente, salidas largas cercanas a la base o en la base de las ramas, brotan agujones basales, las hojas delgadas, lazos elípticos dentro de la fila por fuera, en su mayor parte 5-20 (25) cm de longitud 2.5-10 cm, 10 cm de ancho, alargado piloso, cerca por debajo de la costa, en otro sitio glabro o tan cercano, algunas veces escabroso por encima o más o menos glandular purulenta, venoso en forma de red, el borde cartilaginoso dentado triangular afilado punteado, unciforme por abajo, pero algunas veces no todos lobulados, la base entonces cordiforme truncado; pocas cabezas o numerosos, alargado pedunculado bofe, aproximadamente 10 mm de alto, 11-13 flores; inflorescencia poco definida y casi desnudos; filas aproximadamente 5 series, oblongo en el interior; oblongo lineal, glabrate muy obtuso o redondeado en el ápice, margen dentado; corolas blancos o rosáceo,

glabros; aquenio aproximadamente 5 mm de largo presionado; pava marrón no seriado.

Distribución

Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Jutiapa, Quetzaltenango, el Quiché, Santa Rosa, Sololá, Zacapa, el Salvador y Honduras.

Hábitat

Húmedo o seco, campo abierto o en laderas o en bosques, a menudo bosques de pino, 900-2500.

Ampliamente distribuido las plantas en Guatemala, pero rara vez es abundante en una localidad, las plantas se dispersan y son poco notorias.

Usos populares

Se usa como sedante, para los nervios (12.4).

Demostración de Actividad Antifúngica (hongos filamentosos)

Aspergillus flavus

- = sin inhibición



Trichophyton mentagrophytes

(= sin inhibición



Trichophyton rubrum

(= sin inhibición



Ejemplo de:

+ = inhibición

Demostración de Actividad Antibacteriana y
Antifúngica (hongos levaduriformes)

□

(=



Sin inhibición

*Staphylococcus aureus**Salmonella typhi**Mycobacterium smegmatis**Bacillus subtilis**Pseudomonas aeruginosa**Escherichia coli**Candida albicans* y*Cryptococcus neoformans*

– = Sin inhibición

*Staphylococcus aureus**Salmonella typhi**Mycobacterium smegmatis**Bacillus subtilis**Escherichia coli**Pseudomonas aeruginosa* y*Candida albicans*

+ = Inhibición



Cryptococcus neoformans