

# **DISCUSIÓN**

## VII .- DISCUSIÓN

Las plantas descritas como medicinales son de gran interés para los investigadores, ya que su estudio involucra químicos, botánicos, biólogos, farmacéuticos, etc. Actualmente vemos este campo de trabajo como un área interdisciplinaria y de estrecha comunicación para lograr un mejor aprovechamiento en la interpretación y aplicación de los conocimientos obtenidos.<sup>1</sup>

El estudio de las plantas medicinales esta avalado por el conocimiento que tienen los pueblos acerca de sus usos y aplicaciones terapéuticas. Al elegir una planta se debe tomar en cuenta diversos factores, principalmente la disponibilidad y abundancia del ejemplar, ya que dependiendo del buen uso y manejo de las especies aseguramos su mejor aprovechamiento económico y científico.

Inicialmente, se debe recurrir a una revisión bibliográfica para obtener toda la información posible acerca de la planta que deseamos estudiar. Ello nos permite conocer los trabajos realizados anteriormente y sobre ello formular el plan de trabajo que debemos seguir para estudiar nuestro ejemplar.

Después de realizar la investigación bibliográfica sobre el ejemplar que se desea estudiar se comienza por elegir el sitio de colecta, ésta varía en función del contenido de substancias activas durante el ciclo vegetativo. Ese momento queda determinado por las características de la especie y de las partes de la planta que se van a recolectar, en el caso de *Bocconia frutescens* la recolección puede ser en cualquier época del año ya que la floración es permanente, y es en esa época donde la mayoría de las plantas generan el máximo de metabolitos secundarios.<sup>12</sup>

Después de la colecta es importante clasificar al ejemplar colectado, para ello se lleva a cabo la identificación botánica, ésta se realizó estudiando la morfología de cada una de las partes que componen el vegetal complementado con el estudio de los tejidos; en farmacognosia la descripción de las características anatómicas de las hojas, tallos, flor y frutos es sumamente importante ya que permite la correcta identificación del ejemplar.

Las principales características anatómicas a observar en las preparaciones histológicas dependen de la parte de la planta a examinar; así en los tallos se toma principalmente en cuenta la epidermis, la presencia y naturaleza de los elementos del parénquima cortical y el leño. Los tejidos delgados como las hojas, se examinan después de someterlos a un reactivo aclarante, lo cual ayuda a disolver el contenido celular como almidón y proteínas. Así es posible observar con detalle las células epidérmicas, la posible presencia de glándulas y estomas. La presencia de glándulas se asocia la mayoría de las veces a la producción de metabolitos secundarios.<sup>24</sup>

Generalmente, para identificar los metabolitos secundarios presentes en un órgano de la planta se llevan a cabo ensayos preliminares en el laboratorio, esta parte del estudio proporciona una idea general de la química del vegetal. Estos ensayos son útiles ya que son sencillos y rápidos, se llevan a cabo sobre un extracto generalmente alcohólico, por ser el más apropiado para detectar la presencia de los principios activos más importantes.

La mayoría de las pruebas son reacciones de coloración y precipitación, es recomendable que la interpretación de ellas sea la adecuada ya que los resultados depende del criterio y la apreciación de la persona que las realiza.<sup>25</sup>

Además de la determinación de los metabolitos secundarios es usual investigar la posible actividad biológica de la planta. Actualmente existe una diversidad de criterios y métodos empleados para evaluar la acción farmacológica de plantas medicinales, estos

métodos son conocidos como bioensayos, en los cuales se maneja como blanco de actividad un sistema viviente exponiéndolo al extracto crudo o purificado, para poder determinar sus propiedades terapéuticas. Factores como el método de extracción, el volumen inoculado, la composición del medio de cultivo, los microorganismos probados, temperatura de incubación, etc. han sido continuamente modificados a fin de optimizar los métodos para la obtención de mejores resultados.<sup>2</sup>

El halo de inhibición presentado por los diferentes extractos sobre los cultivos bacterianos muestra claramente la acción del extracto etanólico de las hojas y del extracto hexánico de tallo sobre *S. aureus* (Gram +) y *E. coli* (Gram -), lo cual sugiere y apoya su uso como planta medicinal.

Tanto el extracto hexánico de hoja como el de diclorometano de tallo muestran actividad moderada, sin embargo la concentración pudo no haber sido la suficiente para causar una inhibición mas evidente.

Sobre los cultivos de *P. aureuginosa* y *B. subtilis* solamente el control positivo mostró actividad contra dichas bacterias, no así con los extractos probados de tallo y hojas.

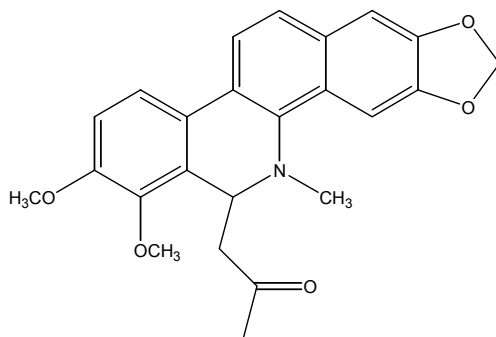
El estudio químico se realizó sobre los extractos hexánico y etanólico de las hojas, de los cuales se obtuvieron compuestos que fueron identificados por métodos espectroscópicos y la estructura fue corroborada con los datos descritos en la literatura.

Para el compuesto 1, el espectro de UV (Espectro 1) presentó dos bandas principales,  $\lambda^1_{\text{max}} = 231 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 12540$ ,  $\lambda^2_{\text{max}} = 284 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 17520$ , bandas con coeficiente de absortividad molar ( $\epsilon$ ) correspondiente a un sistema aromático.

El espectro de IR (Espectro 2) muestra en  $1740 \text{ cm}^{-1}$  una banda correspondiente a la vibración del grupo carbonilo de cetona; en  $3030 \text{ cm}^{-1}$  se observa la banda de la vibración

Ar-H, en 1325 y 1350  $\text{cm}^{-1}$  las señales corresponden a enlace N-C y las bandas en 940, 1020 y 1050  $\text{cm}^{-1}$  pueden asignarse a la vibración de C-O.

El espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Espectro 3) obtenido a 200 MHz mostró entre 6.9 y 7.6 ppm señales correspondientes a hidrógenos aromáticos, en 6.04 ppm se observa una señal simple que integra para 2 hidrógenos característica del grupo  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ , en 5.04 ppm se observa una señal doble de dobles ( $J_{6,13a} = 3.6 \text{ Hz}$  y  $J_{6,13a} = 11 \text{ Hz}$ ) que integra para un hidrógeno alfa a un heteroátomo y que se acopla a dos hidrógenos alfa a carbonilo; hacia campo alto en 3.92 y 3.96 ppm se encuentran las señales simples de dos grupos metoxilo. En 2.64 ppm se encontró una señal simple que integra para tres hidrógenos que corresponden al metilo unido a nitrógeno; después aparecen dos juegos de señales doble de dobles, la primera en 2.58 ppm ( $J_{6,13b} = 11 \text{ Hz}$  y  $J_{13a,13b} = 15.1 \text{ Hz}$ ) asignada a H-13b y la segunda en 2.25 ppm ( $J_{6,13a} = 3.6 \text{ Hz}$  y  $J_{13a,13b} = 15.1 \text{ Hz}$ ) asignada a H-13a y por último se tiene una señal simple en 2.06 ppm que integra para tres átomos de hidrógenos correspondientes al metilo alfa a carbonilo. Los datos anteriores así como los datos de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 4) indican que este compuesto posee la estructura XVIII y de acuerdo a una revisión bibliográfica corresponde a la ( $\pm$ )-6-acetonildihidroqueleritrina, la rotación óptica indicó que es la mezcla racémica.<sup>21</sup>



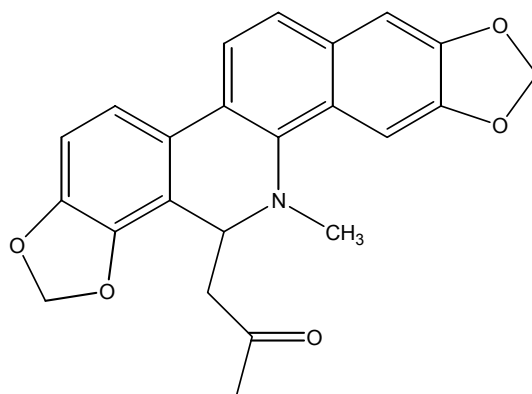
( $\pm$ )-6-acetonildihidroqueleritrina

El compuesto 2 presentó en UV (Espectro 5) tres bandas principales,  $\lambda^1_{\text{max}} = 236$  nm,  $\epsilon = 25447$ ,  $\lambda^2_{\text{max}} = 286$  nm,  $\epsilon = 27003$ ,  $\lambda^3_{\text{max}} = 323$  nm,  $\epsilon = 210428$ ; bandas con coeficiente de absortividad molar ( $\epsilon$ ) correspondientes a un sistema aromático.

Las bandas de IR (Espectro 6) corresponden a las siguientes vibraciones: del grupo carbonilo de cetona ( $1750 \text{ cm}^{-1}$ ), vibración Ar-H ( $3050 \text{ cm}^{-1}$ ) y enlace C-O ( $800$  y  $1000 \text{ cm}^{-1}$ ). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  (espectro 7) obtenidos a 200 MHz muestran las señales correspondientes a hidrógenos aromáticos entre 6.86 y 7.70 ppm, en 6.04 ppm encontramos un señal para los cuatro hidrógenos de los grupos  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ , en 4.87 ppm se observa una señal doble de dobles ( $J_{6,13a} = 3.7 \text{ Hz}$  y  $J_{6,13b} = 10.4 \text{ Hz}$ ) que integra para un hidrógeno alfa a un heteroátomo y que se acopla a dos hidrógenos alfa a carbonilo.

En campos altos se observa un singulete ubicado en 2.65 ppm que integra para 3 hidrógenos correspondientes a un grupo  $\text{N}-\text{CH}_3$ , enseguida aparecen dos juegos de señales doble de dobles, la primera ( $J_{6,13b} = 10.4 \text{ Hz}$  y  $J_{13a,13b} = 15.2 \text{ Hz}$ ) en 2.65 ppm asignada para H-13b y la segunda en 2.30 ppm ( $J_{6,13a} = 3.7 \text{ Hz}$  y  $J_{13a,13b} = 15.2$ ) que se asigna a H-13a.

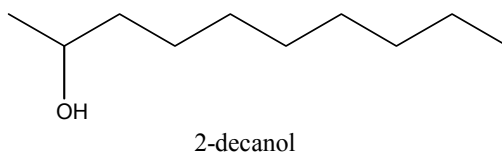
Finalmente en 2.06 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres hidrógenos correspondientes al metilo alfa a carbonilo. Los datos anteriormente descritos así como los de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 8), indican que la estructura de este compuesto corresponde a ( $\pm$ )-6-acetonildihidrosanguinarina, este compuesto se encuentra en mezcla racémica lo cual es indicado por su rotación óptica.<sup>21</sup>



(±)-6-acetonildihidosanguinarina

El espectro de  $^1\text{H}$  RMN del compuesto 3 es muy simple, mostrando una señal en 3.58 ppm que presenta una base ancha y que corresponde a un hidrógeno base OH, así mismo se observan señales entre 0.5 y 1.5 ppm correspondientes a hidrógenos de  $\text{CH}_2$ - y  $\text{CH}_3$ - (Espectro 9).

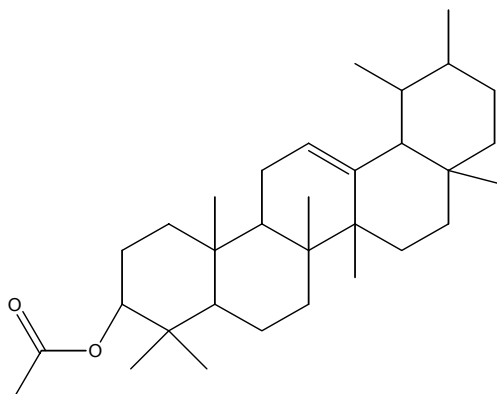
Los datos anteriores junto con los de el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Espectro 10) así como los encontrados en la revisión bibliográfica este compuesto se trata del 2-decanol.



Para el compuesto 4, los datos de  $^1\text{H}$  RMN (Espectro 11) muestran en 2.05 ppm un singulete que integra para los tres hidrógenos de metilo, en 4.5 ppm encontramos una señal que integra para un átomo de hidrógeno base de acetato y un triplete en 5.19 ppm que corresponde a un hidrógeno vinílico.<sup>28</sup>

Finalmente a campos altos entre 0.8 y 1.7 ppm observamos un conjunto de señales que corresponden a los hidrógenos de un sistema alifático. El espectro de IR mostró en  $1680\text{ cm}^{-1}$  una banda de vibración C=C,  $1250\text{ cm}^{-1}$  se tiene una banda correspondiente a vibración C-O y en  $1750\text{ cm}^{-1}$  la banda correspondiente a C=O (Espectro 12).

Los datos de  $^{13}\text{C}$  RMN (Espectro 13) apoyados en una revisión bibliográfica se obtuvo que el compuesto corresponde al acetato de beta-amyrina.<sup>27</sup>



acetato de beta amyrina

Finalmente se realizó la evaluación antibacteriana de los compuestos obtenidos, la prueba de difusión en disco dio negativa para los cuatro compuestos; se esperaban resultados negativos para los alcaloides lo cual corresponde a lo reportado en la literatura.

A pesar de que el extracto etanólico de las hojas presentó actividad antibacteriana, los compuestos purificados de él no presentaron dicha actividad. Este hecho pudo deberse a que los compuesto que le confieren dicha propiedad al extracto, se hubieran quedado en las fracciones sin purificar.

Es bien conocido, que los productos naturales de origen vegetal pueden poseer sustancias que actúen en forma sinérgica, lo cual complica en gran medida los estudios de actividad biológica.



Así mismo, debemos recordar que la riqueza de las plantas medicinales es tal que bien puede hablarse de que la sabia naturaleza ha elaborado una farmacia inagotable, la cual nos ofrece una gran reserva de información, la cual solo la podemos encontrar en el amplio camino de la investigación.