

Purificación del Extracto Hidroalcohólico de *Salpichroa origanifolia*

Boeris M. A.

Centro de Investigación y Desarrollo de Fármacos (CIDEF) Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam.

Resumen

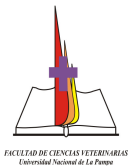
La extracción de principios activos presentes en las plantas se realiza con distintos solventes y se recupera un residuo sólido o semisólido que se empleará luego en las investigaciones farmacológicas. En el caso específico de *Salpichroa origanifolia* se obtuvo un extracto hidroalcohólico de alto rendimiento, de difícil resuspensión para el empleo en bioensayos ocasionando inconvenientes en la dosificación y provocando problemas en la absorción de los principios activos. En este trabajo se comunica el procedimiento utilizado para purificar el extracto hidroalcohólico empleando distintos métodos de extracción y separación para obtener fracciones sólidas solubles, a efectos de investigar, la presencia de compuestos activos que permitan inferir actividad farmacológica y la solubilidad en excipientes para administrarlas a animales.

Palabras claves: *Salpichroa origanifolia*, extracto metanólico, polvo amorfo

Abstract

The extractions of active principles present in plants are made with different solvent, and the solid remainders are used soon in the pharmacology investigations. In the specific case of *Salpichroa origanifolia* obtained a hidroalcoholic extract of high performance, which made difficult to the resuspention of it for the use in bioassays causing difficulties in the metering and problems in the absorption of the active principles. In this communication, we present the procedure to purify the hidroalcoholic extract of *Salpichroa origanifolia* using different methods like extraction and separation to obtain soluble solid fractions, in the same ones will investigate the active compound presence that allows determinate activity and the solubility in excipient to administer them to animals.

Palabras claves: *Salpichroa origanifolia*, extracto metanólico, polvo amorfo



Introducción

La obtención de extractos estandarizados de las plantas es una prioridad en la investigación farmacognóstica. De esta manera se garantiza repetibilidad en los datos recogidos en distintos ensayos.

Los extractos obtenidos por maceración presentan ventajas como buena conservación y aumento de la biodisponibilidad de las sustancias activas disueltas. Estos extractos, antes de ser utilizados en modelos experimentales, pueden concentrarse para eliminar el solvente de extracción totalmente en el caso que interfiera con la acción farmacológica o parcialmente para reducir el volumen y de esa manera facilitar la administración. Los inconvenientes que presenta el extracto concentrado son la baja estabilidad de las soluciones y la escasa disolución de los principios activos, que en ocasiones puede disminuir su eficacia. Además, pueden sufrir variaciones del contexto natural, descompensando el equilibrio de los componentes que necesitan actuar asociados (Kuklinsky, 2000). En estos casos, es necesario purificar el extracto utilizando otros solventes con el fin de obtener fracciones más estables en solución y que conserven la propiedad terapéutica (Recio Iglesia, 1999).

Al reducir en rotavapor el extracto hidroalcohólico de *Salpichroa origanifolia* se observaron problemas de solubilidad, lo que dificultó su administración en ratones cuando se evaluó el efecto antiinflamatorio. El extracto con alta densidad de solutos, de color verde oscuro a marrón y un rendimiento del 44%, presentó escasa solubilidad en excipientes polares y no polares.

Para resolver esta dificultad, se purificó el extracto hidroalcohólico con distintos procesos extractivos hasta encontrar una formulación más equilibrada y que conservara el principio activo.

Este proceso fue evaluado con reacciones de caracterización que permitieron confirmar la presencia de metabolitos secundarios, presentes en el extracto hidroalcohólico, para prever una acción farmacológica que luego sería corroborada por bioensayos.

Materiales y Método

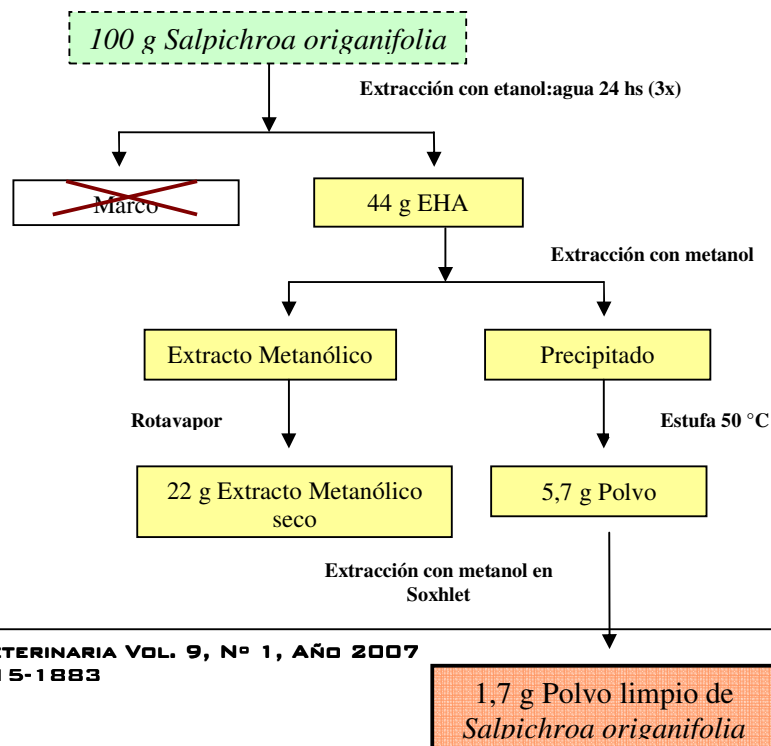
El extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Salpichroa organifolia* obtenido por maceración a temperatura ambiente (etanol:agua, 1:1, v/v), (3x) fue reducido en rotavapor hasta consistencia semisólida. En los bioensayos para evaluar el efecto antiinflamatorio en ratones, utilizando el test de la carragenina (Winter et al., 1962), se administró el extracto hidroalcohólico proveniente de 1 g de *Salpichroa organifolia* por animal, solubilizado en excipiente de carboxi metil celulosa llevado a un volumen de 0,5 ml (Boeris et al., 2004).

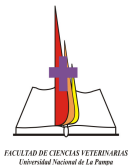
Dicho residuo, por las características descriptas, fue extraído con metanol (3x) y se obtuvieron dos fracciones, la soluble en el solvente metanólico y un residuo que precipitó, las que se separaron por filtración. El precipitado se secó en estufa a 55° C obteniéndose un polvo y la fracción metanólica se llevó a sequedad en rotavapor hasta obtener un extracto metanólico seco (Esquema 1). Se utilizaron ambas fracciones para realizar ensayos biológicos y fisicoquímicos.

Limpieza del Polvo en Soxhlet

El polvo fue diluido completamente con metanol en Soxhlet hasta que no se observó coloración en el solvente, obteniéndose un rendimiento del 30% con respecto al peso inicial. A este residuo se lo denominó polvo limpio de *Salpichroa organifolia* (Esquema 1). Dicho polvo de color pardo, se secó en estufa a 55°C y se almacenó a 8°C.

Esquema 1. Obtención de Polvo limpio y Extracto Metanólico a partir del Extracto Hidroalcohólico de *Salpichroa organifolia*





A ambos extractos se le realizaron pruebas de identificación para detectar grupos químicos, cuya presencia en el extracto hidroalcohólico permitiría inferir la actividad farmacológica del mismo.

Reacciones de caracterización para flavonoides

Reacción de Cloruro Férrico: a una alícuota de extracto metanólico de *Salpichroa organifolia* se la diluyó en 5 ml de metanol. A esta solución se le agregó unas gotas de cloruro férrico acuoso. Al polvo se lo solubilizó en una solución hidroalcohólica y se le agregó también unas gotas de cloruro férrico acuoso..

Reacción de Shinoda: se le agregó a la solución metanólica de *Salpichroa organifolia* una granalla de magnesio y 0,2 ml de ácido clorhídrico concentrado. Se esperó la disolución de la granalla y se le agregó 0,2 ml de alcohol amílico y luego 2 ml de agua destilada (Shinoda, 1928). Con el polvo en solución hidroalcohólica también se realizaron los pasos detallados en el párrafo precedente.

Reacciones para determinar presencia de Alcaloides

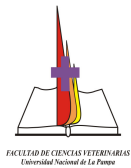
Reacción de Mayer y de Dragendorff: a una alícuota de extracto metanólico y de polvo disueltos en solución ácida se le agregó el Reactivo de Mayer (yoduro de potasio) y el Reactivo de Dragendorff (yoduro de bismuto), observándose la formación o no de un precipitado blanco y cambios en la tensión superficial de la gota.

Resultados

Como resultado de la extracción para purificar el extracto hidroalcohólico se obtuvieron 2 fracciones: extracto metanólico y polvo de *Salpichroa organifolia*.

Las características de ambos extractos permitieron mejorar la administración, y en el caso del polvo se pudo determinar estrictamente la dosis por pesaje.

Los análisis químicos determinaron en el extracto metanólico la presencia de flavonoides ya que dieron positivas las pruebas de Cloruro Férrico y Shinoda. En esta misma fracción las Reacciones de Mayer y de Dragendorff, para detectar presencia de alcaloides, dieron negativas.



El Polvo, disuelto en medio hidroalcohólico, dio negativo a las reacciones de cloruro férrico y Shinoda, descartando la presencia de flavonoides en esa fracción, al menos en cantidades detectables.

El polvo, en medio ácido, dio positivo a los reactivos de Mayer y Dragendorff indicando la presencia de alcaloides. Estas determinaciones cualitativas de flavonoides y alcaloides son el paso inicial en la investigación fitoquímica del principio activo.

Conclusiones

Las fracciones extracto metanólico y polvo de *Salpichroa organifolia* mostraron ventajas comparativas respecto al extracto hidroalcohólico en sus características fisicoquímicas, mostrando buena solubilidad en excipientes polares, facilitando la dosificación.

Las reacciones de caracterización realizadas al extracto metanólico de *Salpichroa organifolia* determinaron la presencia de flavonoides y polifenoles.

Las reacciones de caracterización realizadas al polvo de *Salpichroa organifolia* determinaron la presencia de alcaloides.

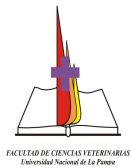
En la investigación farmacognóstica de plantas se puede aplicar este proceso de purificación a los extractos hidroalcohólicos y utilizar en los bioensayos un residuo con mejor solubilidad y menor concentración de solutos para evaluar la actividad farmacológica.

Bibliografía

Boeris M. A, Toso R. E, Skliar M. I. 2004. Actividad Antiinflamatoria de *Salpichroa organifolia*. Acta Farmacología Bonaerense, 23 (2): 138-141.

Kuklinski C. 2000. Métodos Generales en la obtención de los principios activos. En: Farmacognosia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega, Barcelona, pp. 32-42.

Recio Iglesia M. del C. 1999. Métodos generales de extracción y purificación de principios activos de drogas. En: Farmacognosia General, Angel Villar del Fresno, Editor. Ed. Síntesis S.A., Madrid, España, pp. 83-98.



Winter C. A, Risley E. A, Nuss G. 1962. Carrageenan-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of Society of Experimental Biology and Medicine, 111: 544-547.

Shinoda J. 1928. Color reactions of flavones and flavonol derivatives and the like. Journal Pharmacology Society Japan, 48: 214-220.