

EVALUACIÓN FITOQUÍMICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (Manayupa)

Nancy Lozano R., Pablo Bonilla R., Jorge Arroyo A., Gladys Arias A., Augusta Córdova R.,
Fabiola Baldoce

Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales, Facultad de Farmacia Y Bioquímica,
UNMSM.

RESUMEN

Se evaluaron tres muestras de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (Manayupa) procedentes de Jaén, Cajamarca (Muestra E1), Huánuco (Muestra E2) y Huancayo, Junín (Muestra E3), conocida también como "*Runa manayupa*", la cuál es utilizada como diurética, depurativa de la sangre, antihemorrágica, antidisentérica, antiinflamatoria de las vías urinarias, hígado y riñones.

Los resultados del bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* Leach muestran una buena actividad biológica, con valores LC_{50} : 100,427 $\mu\text{g/mL}$ (muestra E1), LC_{50} : 101,5567 $\mu\text{g/mL}$, LC_{50} : 122,17 $\mu\text{g/mL}$ (muestra E2) y LC_{50} : 93,5111 $\mu\text{g/mL}$ (muestra E3).

Del estudio fitoquímico, se observa que las tres muestras en estudio, presentan una considerable cantidad de metabolitos secundarios, destacándose una cantidad apreciable de flavonoides.

De las evaluaciones del efecto antiinflamatorio, por administración peroral, la muestra E3, mostró mayor actividad que E2 y E1, (% de eficiencia antiinflamatoria = 36,2) muy cercano a la actividad de LA dexametasona. En tanto que en una administración tópica el extracto E1, mostró mayor actividad antiinflamatoria. (% de eficiencia antiinflamatoria = 35,7)

Respecto al efecto cicatrizante por vía peroral, el extracto E3 mostró mayor actividad (% de eficiencia cicatrizante = 28,1), mientras que por vía tópica, sobre lesiones inducidas en el lomo de ratón E1 mostró mayor actividad (% de eficiencia cicatrizante = 31,6)

El estudio hematológico mostró que los elementos mononucleares (linfocitos, monocitos) estuvieron en mayor cantidad al terminar la evaluación antiinflamatoria subcrónica de 21 días de tratamiento con E1.

Concluyendo que la muestra procedente de Jaén (Cajamarca) posee la mejor actividad biológica evaluada.

Palabras claves: **Manayupa, flavonoides, eficiencia antiinflamatoria, efecto cicatrizante.**

ABSTRACT

There were three samples of *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (Manayupa), which were assessed from Jaen, Cajamarca (sample E1), Huanuco (sample E2) and Huancayo, Junin (sample E3), called it too "*Runa manayupana*", which is used like diuretic, depurative, antihemorrhagic, antidisenteric, anti-inflammatory of urines tracts, liver and kidneys.

The results of toxic's biotest in *Artemia salina* Leach showed a good biology activity with values LC_{50} : 100,427 $\mu\text{g/mL}$ (sample E1), LC_{50} : 101,5567 $\mu\text{g/mL}$, LC_{50} : 122,17 $\mu\text{g/mL}$ (sample E2) and LC_{50} : 93,5111 $\mu\text{g/mL}$ (sample E3).

About of the phitochemistry study are observed what three samples in study, exhibit great quantity of secondary metabolits, are appreciated flavonoids in great quantity.

About of the assesses in effect anti-inflammatory for peroral administration, the sample E3 showed greather activity than E2 and E1 (% effiencie anti-inflammatory = 36,2) nether to activity of LA Dexametasona. While in one topic administration the extract E1, showed greather anti-inflammatory activity (% effiencie anti-inflammatory = 35,7).

In account cicatrizant effect for peroral way, the extract E3 showed greather activity (% effiencie cicatrizant = 28,1), while for topic way on damages induced on the loin of mouse, E1 showed greather activity (% effiencie cicatrizant = 31,6).

The hematology study showed that the mononucleares elements were in a big amount, just to finished the evaluation subcronic anti-inflammatory treatment with E1.

To concluded that the sample from Jaen (Cajamarca) have the best biology activity assesses.

Key Words: Manayupa, flavonoids, effiencie anti-inflammatory, cicatrizant effect.

INTRODUCCIÓN

Desmodium molliculum (H.B.K.) D.C.

Conocida con los nombres vulgares de "manayupa" (del vocablo quechua: mana: no, yupa: contra), "Runa mana yupa" (1,2), es una especie que crece en los departamentos de Huánuco, Junín, Cuzco, Ayacucho, Lima y Cajamarca (2,3).

Sus usos etnobiomédicos son como diurético, depurativo de la sangre, antihemorrágico, antidisentérico, antiinflamatorio de las vías urinarias, hígado y riñones. (4,5).

El presente estudio tiene por objetivo el aislamiento e identificación de los metabolitos secundarios responsables de la actividad biológica a fin de corroborar la información etnofarmacológica relacionada al uso medicinal de esta especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y Acondicionamiento del Material Vegetal:

A fin de seleccionar material vegetal para el estudio farmacológico posterior, se recolectaron las partes aéreas de poblaciones silvestres, una del departamento de Huánuco, otra del

departamento de Junín (Huancayo) y de Cajamarca (Jaén).

Las muestras botánicas de las poblaciones fueron clasificadas en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Las partes aéreas se desecaron en una estufa a 40° C y posteriormente, se pulverizaron en un molino de cuchillos tipo Willey.

Preparación de los Extractos:

Las muestras (150g en cada caso) fueron sometidas a una maceración en metanol por 15 días, posteriormente los extractos filtrados se concentraron a presión reducida en un rotavapor a temperatura inferior a 40° C. Alícuotas de los extractos fueron sometidos al Bioensayo de toxicidad en *Artemia salina* Leach. Paralelamente, se prepararon extractos acuosos por cocimiento.

Screening Fitoquímico:

La detección de los constituyentes químicos en los extractos se realizó siguiendo la marcha fitoquímica general (6).

Evaluación de la Actividad Biológica:◆ *Test de Letalidad en Artemia salina* Leach:

Se realizó siguiendo la técnica descrita en la bibliografía (7,8), para 3 concentraciones diferentes de los extractos: 10, 100 y 1000 µg/mL. Los resultados se evaluaron a las 24 horas usando un programa Probit Finney que estima los valores LC₅₀.

◆ *Estudio Farmacológico:*

- i. **Actividad antiinflamatoria:** ratones en grupo de ocho cada uno.
 - Inflamación auricular (De Young y col. 1989) se sometieron a inducción de las orejas con xylol, se les aplicó los extractos (solución 30%) a los grupos correspondientes, para luego de cuatro horas, sacrificar a los animales, se les extrae una porción redondeada con un sacabocados, el que fue uniforme para cada animal, los que fueron pesados, expresados en miligramos.
 - Inflamación subcrónica con carragenina (Mizuchipa y col. 1972), cincuenta y cuatro ratones se distribuyen al azar en siete grupos de ocho animales cada uno, en control normal, control con inflamación, tres reciben los extractos problemas en dosis de 20mg/Kg y el último ibuprofeno 20mg/Kg; se les administra por vía peroral durante 21 días. La inflamación subcrónica fue inducida por carragenina lambda (0,05 mL solución 1%) en la articular de miembros posteriores. Al final se les sacrifica, para estudio hematológico e histopatológico.
- ii. **Actividad Cicatrizante:** ratones en grupo de ocho cada uno, fueron depilados previamente, luego de 24

horas de reposo, se les indujo una lesión en piel, de 1 cm, se dio tratamiento dos veces al día con solución de los extractos al 30%. Luego de tres días los animales se sacrificaron y se les dio la fuerza de tensión que abría la herida cicatrizada expresándose en gramos.

RESULTADOSDel Screening Fitoquímico:

En determinaciones cualitativas efectuadas en los extractos se pudo apreciar la presencia de *aminoácidos, compuestos fenólicos, taninos catéquicos, esteroides y/o triterpenos, quinonas y leucoantocianidinas*; destacando como constituyentes mayoritarios los *flavonoides y esteroides y/o triterpenos*.

Del Bioensayo de Toxicidad en Artemia salina Leach:

Los resultados obtenidos en la evaluación de la actividad biológica revelan que tanto los extractos metanólicos (LC₅₀ = 101,5567) (muestra proveniente de Huánuco), LC₅₀ = 122,1217 (Huánuco); LC₅₀ = 111,9641 (Junín), presentan actividad frente a las larvas de este microcrustáceo

Del Ensayo Farmacológico :

- i. El efecto antiinflamatorio por vía peroral fue mayor al administrar E3 cercano al dado por dexametasona (Cuadro N° 01 y Gráfico N° 01). En tanto que la administración tópica mostró que de los tres extractos evaluados E1 fue más antiinflamatorio (Cuadro N° 02 y Gráfico N° 02).

Cuadro N° 01

Actividad antiinflamatoria vía peroral sobre el edema auricular inducido por xileno

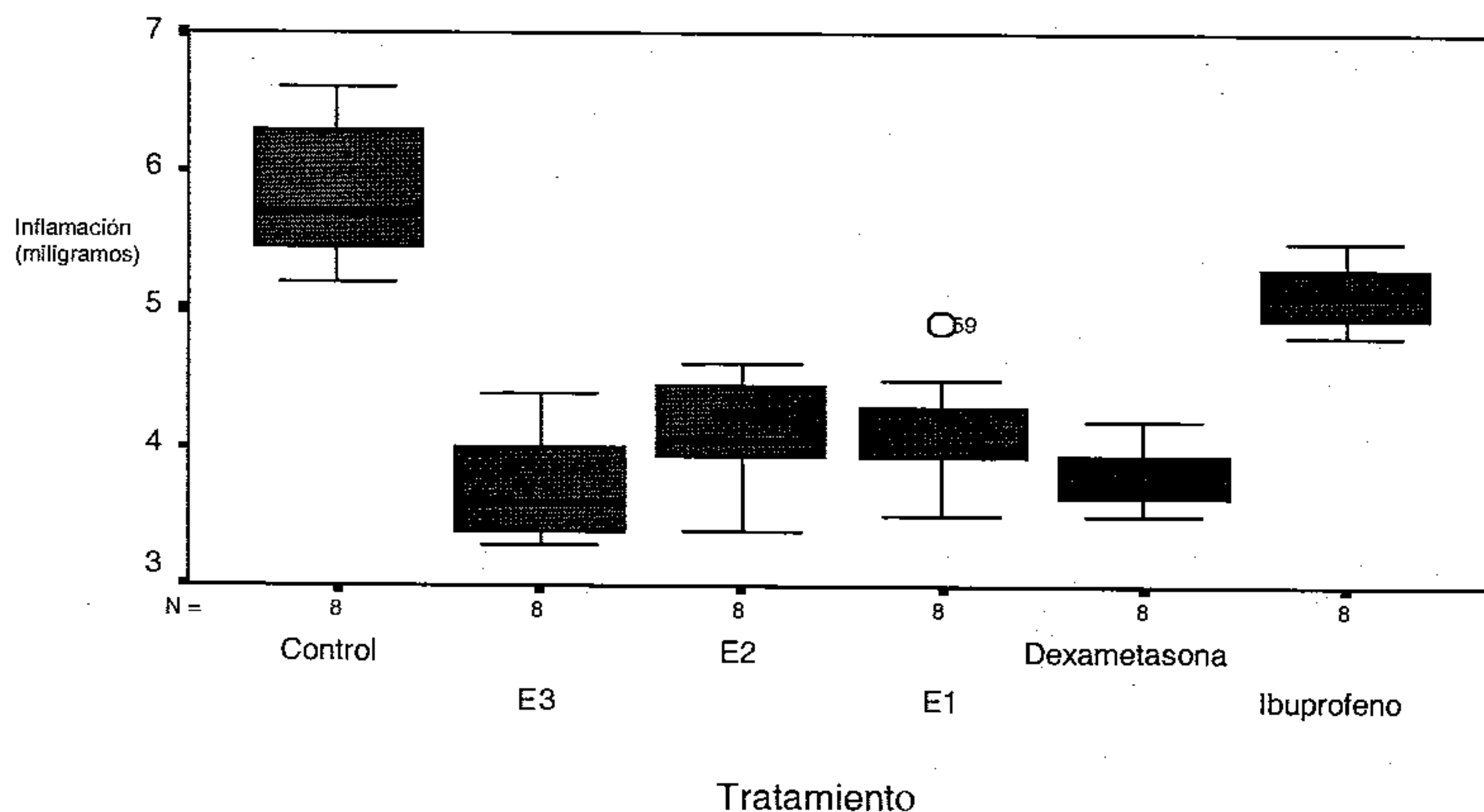
No	Tratamiento	VM ± EE	% Eficiencia antiinflamatoria
1	Control por xileno	5,8 ± 0,2	0
2	Extracto 3 (200 mg/kg)	3,7 ± 0,1	36,2
3	Extracto 2 (200 mg/kg)	4,1 ± 0,1	29,3
4	Extracto 1 (200 mg/kg)	4,1 ± 0,1	29,3
5	Dexametasona (10 mg/kg)	3,9 ± 0,1	32,7
6	Diclofenaco (20 mg/kg)	5,3 ± 0,1	8,6

Valores medios ± error estándar (VM ± EE); n = 8 p<0,0001
 % Eficiencia Antiinflamatoria = ((Control - tratamiento/Control) x 100)

Gráfico N° 01

Actividad antiinflamatoria vía peroral

Sobre el edema auricular en ratones



Cuadro N° 02

Actividad antiinflamatoria vía tópica sobre el edema auricular inducido por xileno

No	Tratamiento	VM ± EE	% Eficiencia antiinflamatoria
1	Control por xileno	5,6 ± 0,2	0
2	Extracto 3 (200 mg/kg)	4,2 ± 0,2	25,0
3	Extracto 2 (200 mg/kg)	3,8 ± 0,1	32,1
4	Extracto 1 (200 mg/kg)	3,6 ± 0,2	35,7
5	Dexametasona (10 mg/kg)	4,0 ± 0,2	28,5
6	Diclofenaco (20 mg/kg)	5,0 ± 0,2	10,7

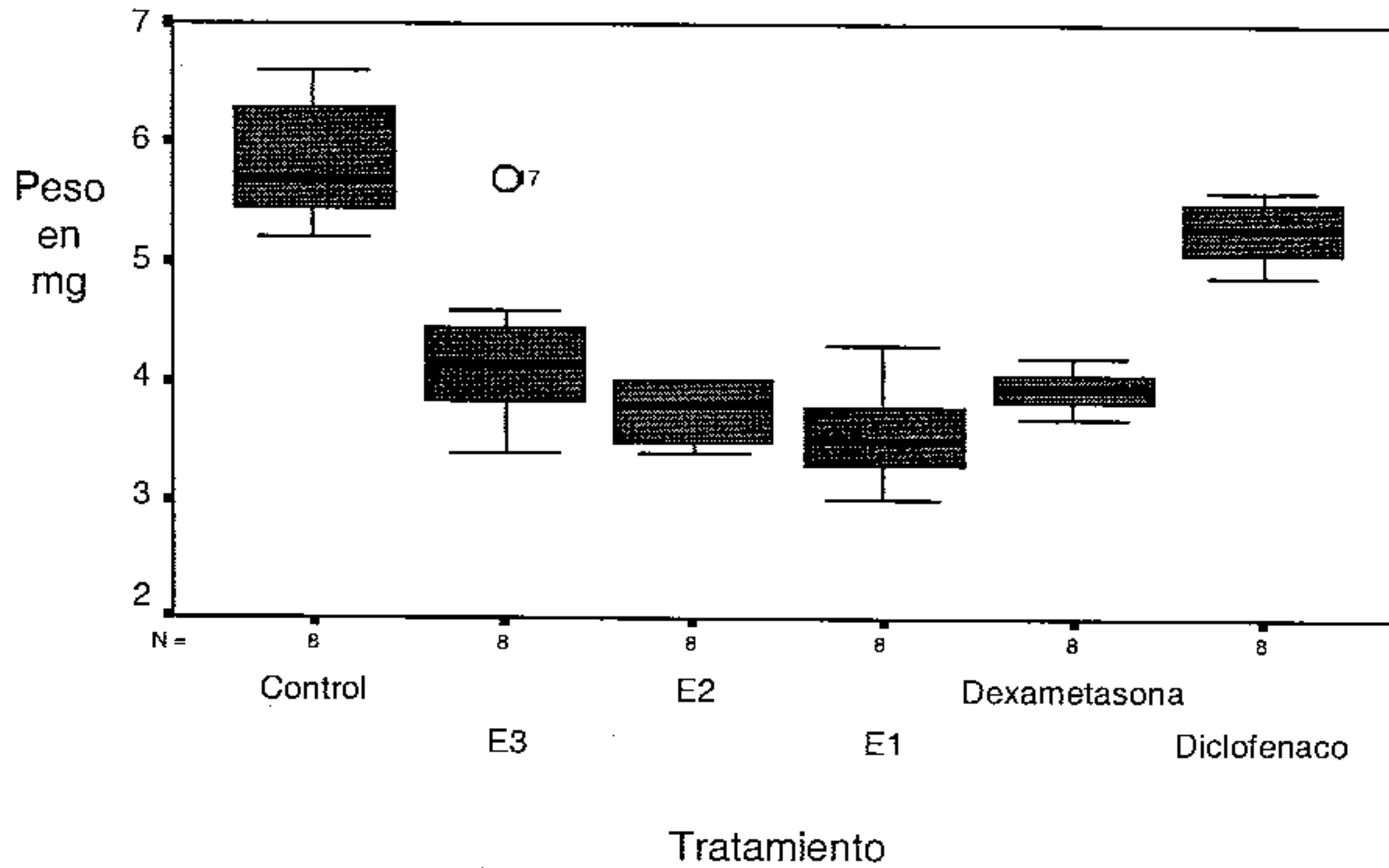
Valores medios ± Error estándar (VM ± EE); n = 8 p<0,0001
 % Eficiencia Antiinflamatoria = ((Control - tratamiento/Control) x 100)

Gráfico N°02

ii. El efecto cicatrizante por vía peroral y tópica con E1 evidenció ser mejor (Cuadros N° 03 y 04, y Gráficos N° 03 y 04).

Actividad antiinflamatoria tópica

Sobre edema auricular en ratones



Cuadro N° 03

Actividad cicatrizante vía peroral sobre lesiones inducidas en el lomo del ratón

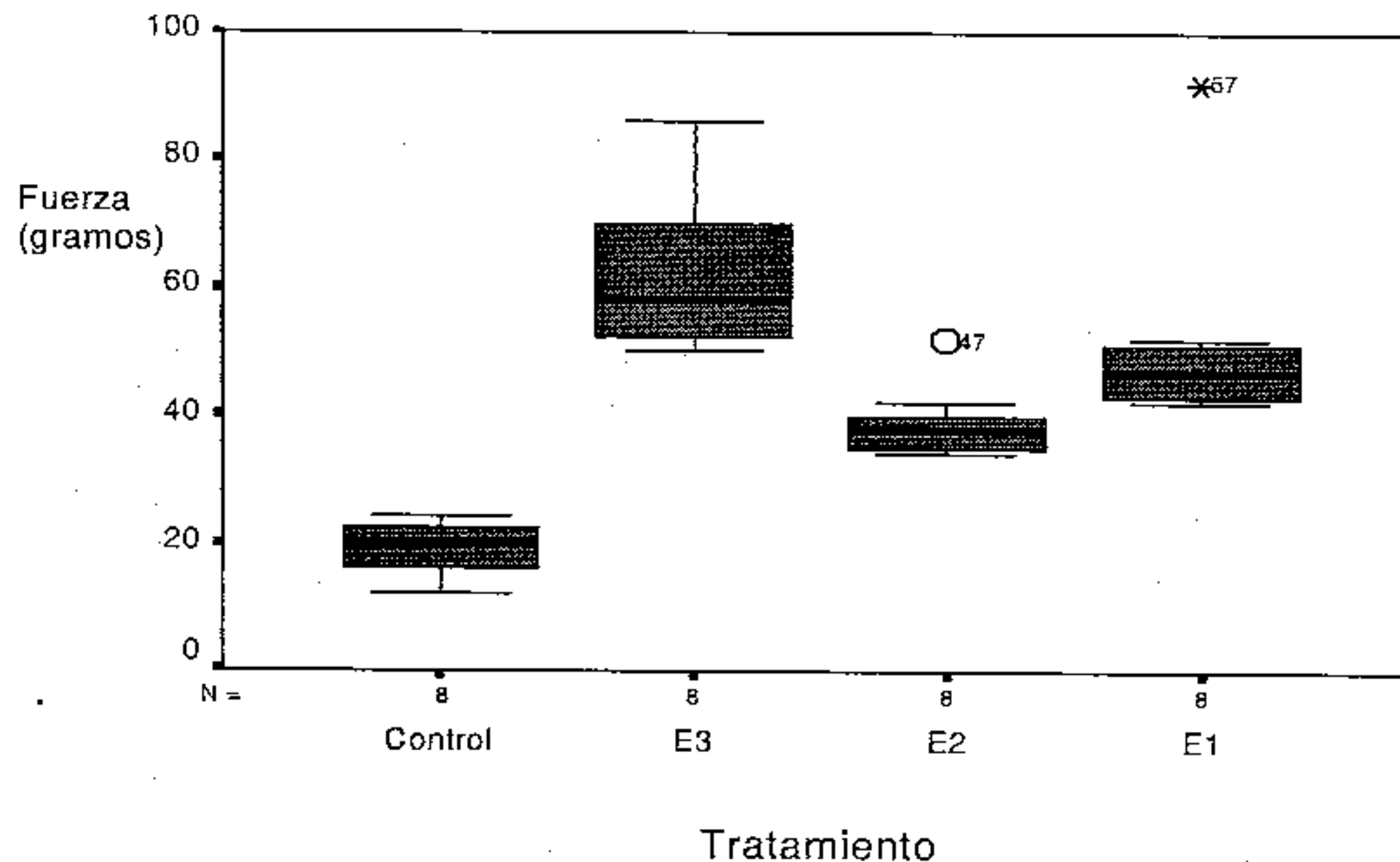
No	Tratamiento	VM ± EE	% Eficiencia cicatrizante
1	Piel sana	195,7 ± 10,5	100
2	Control (con lesión)	19,5 ± 1,6	9,9
3	Extracto 3 (200 mg/kg)	55,0 ± 6,9	28,1
4	Extracto 2 (200 mg/kg)	39,0 ± 2,1	19,9
5	Extracto 1 (200 mg/kg)	52,0 ± 5,8	26,6

Valores medios ± error estándar (VM ± EE); n = 8 p < 0,0001

Gráfico N°03

Actividad cicatrizante vía peroral

Sobre lesiones inducidas en el lomo del ratón

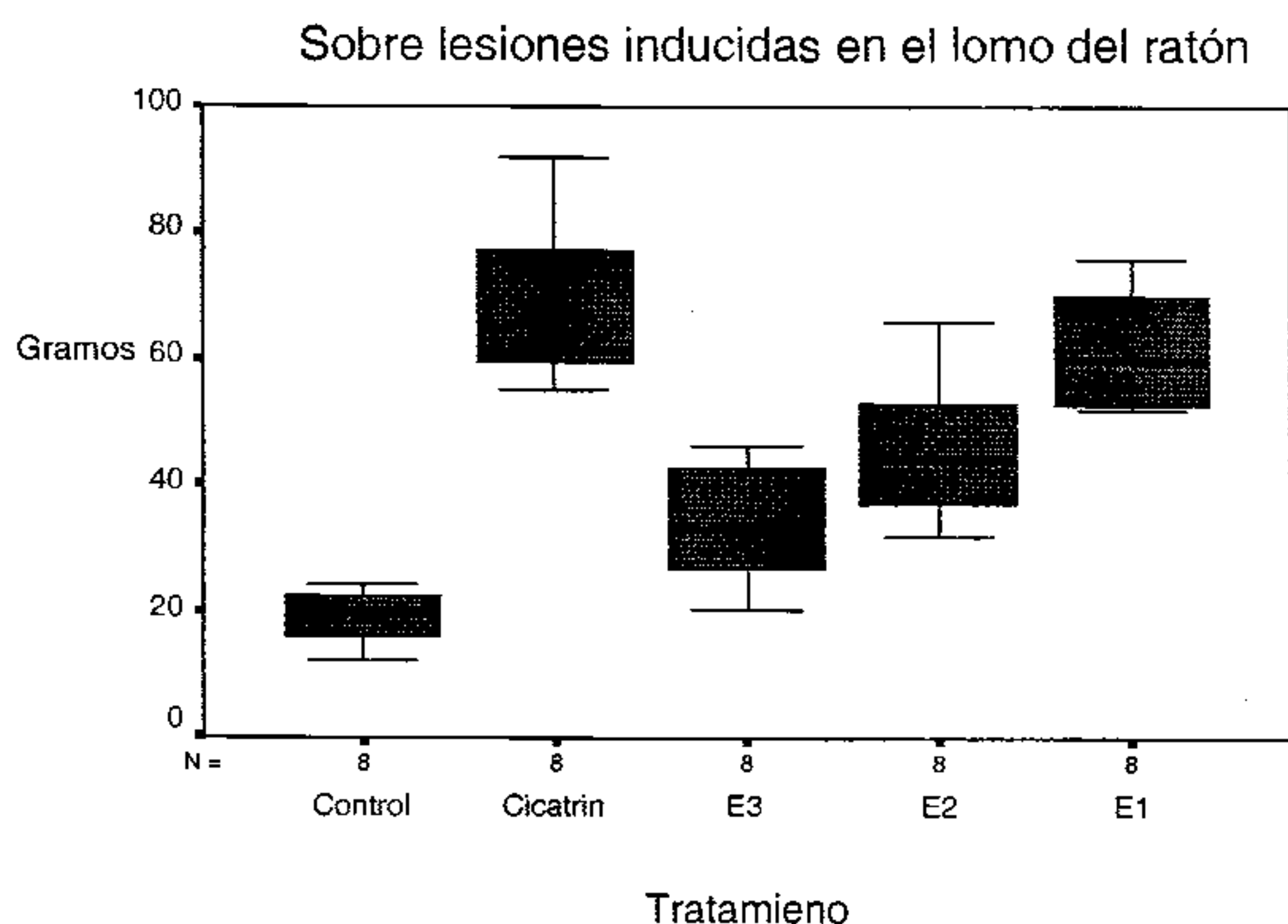


Cuadro N° 04 Actividad cicatrizante vía tópica sobre lesiones inducidas en el lomo del ratón

No	Tratamiento	VM ± EE	% Eficiencia cicatrizante
1	Piel sana	195,7 ± 10,5	100
2	Control (con lesión)	21,3 ± 0,4	10,8
3	Extracto 3 (20%)	38,5 ± 5,9	19,7
4	Extracto 2 (20%)	49,5 ± 6,9	25,3
5	Extracto 1 (20%)	61,8 ± 3,3	31,6
6	Cicatrin crema	67,6 ± 5,3	34,5

Valores medios ± error estándar (VM ± EE); n = 8 p<0,0001

Gráfico N° 04
Actividad cicatrizante tópica



iii. Estudio hematológico mostró que los elementos mononucleares (linfocitos, monocitos) estuvieron en mayor cantidad (Gráfico N° 05, 06 y 07).

Gráfico N° 05
Acción sobre monocitos de ratón
(Inflamación subcrónica por carragenina)

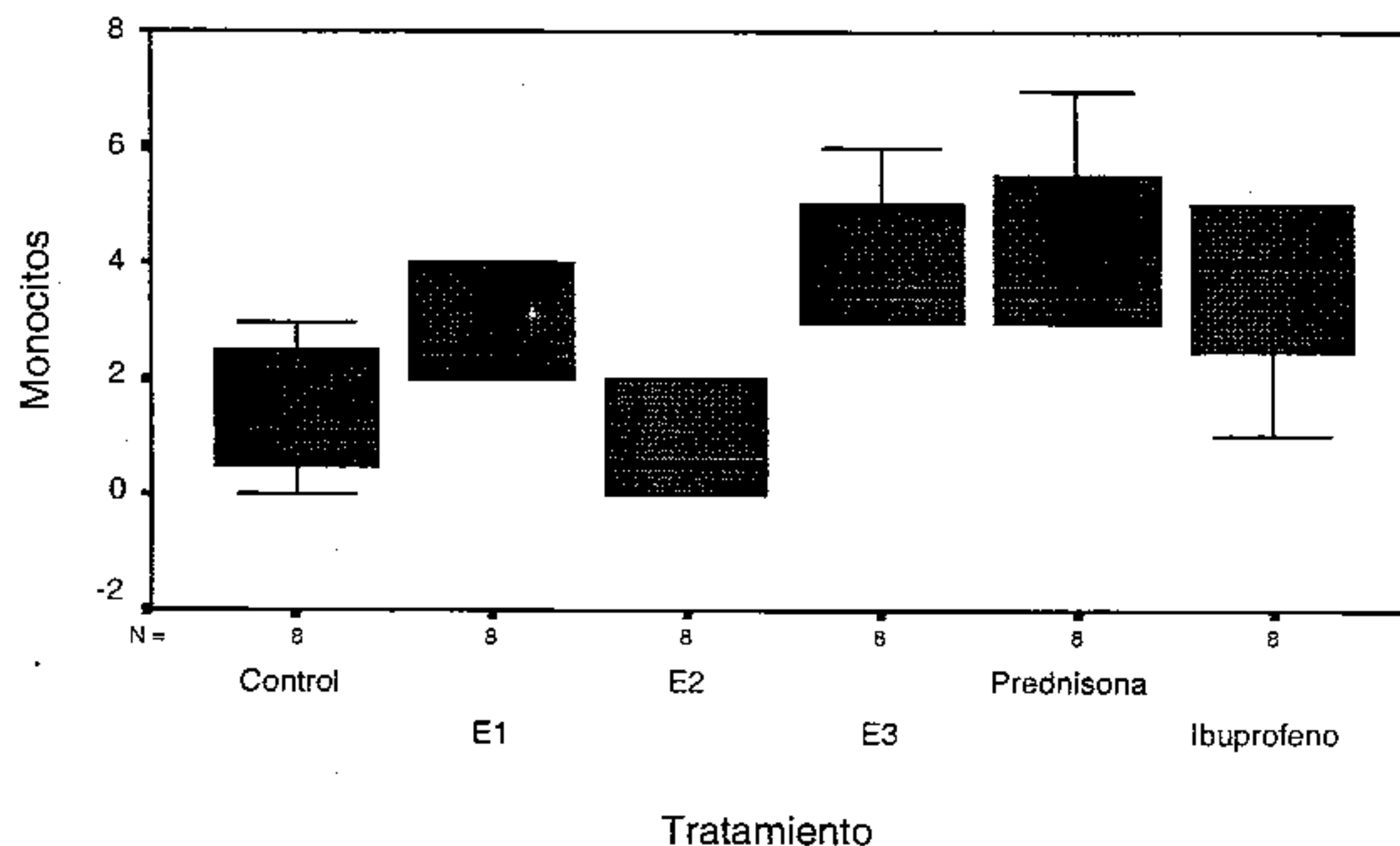


Gráfico N° 06

Acción sobre segmentados de ratón
(Inflamación subcrónica por carragenina)

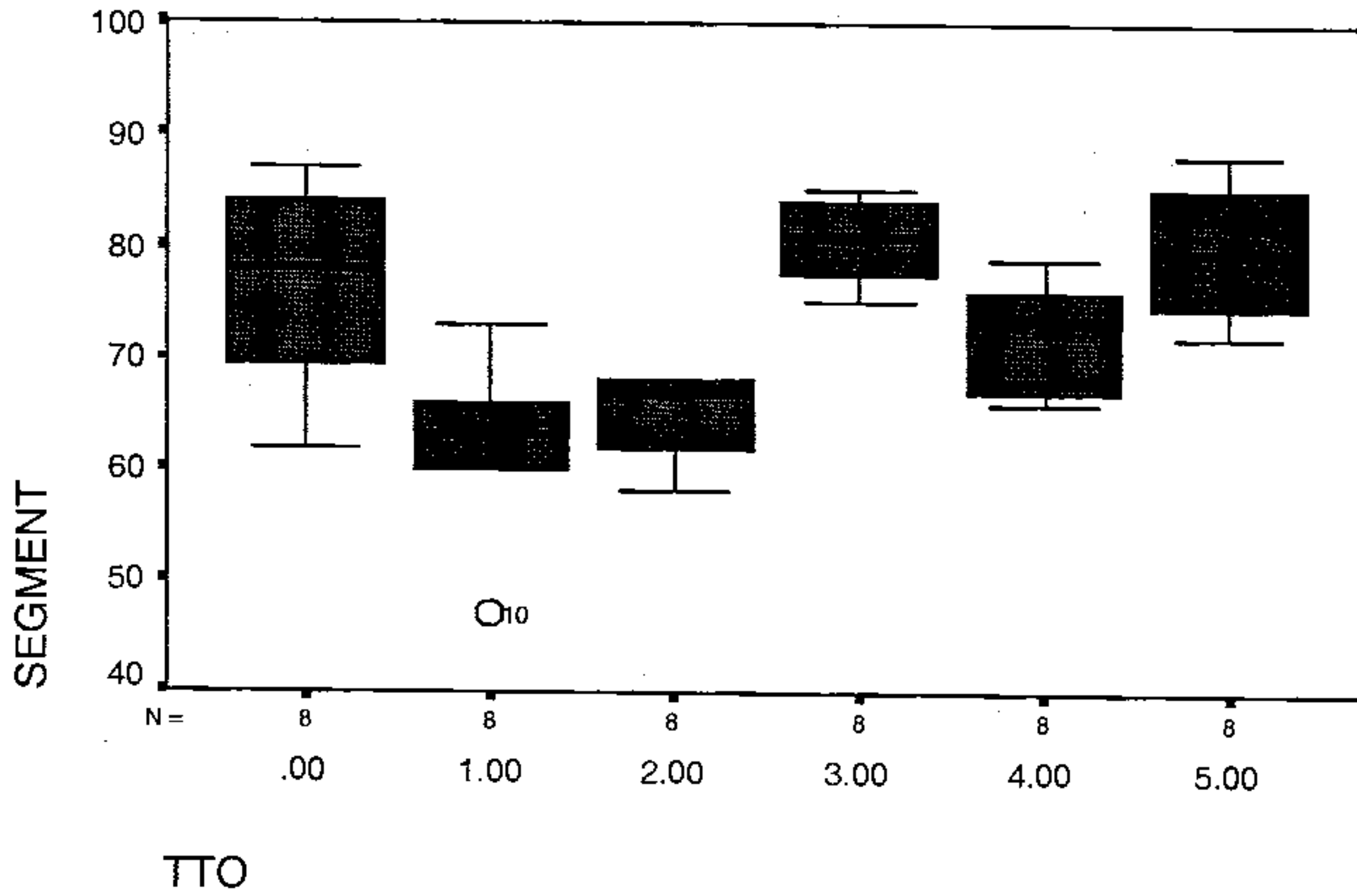
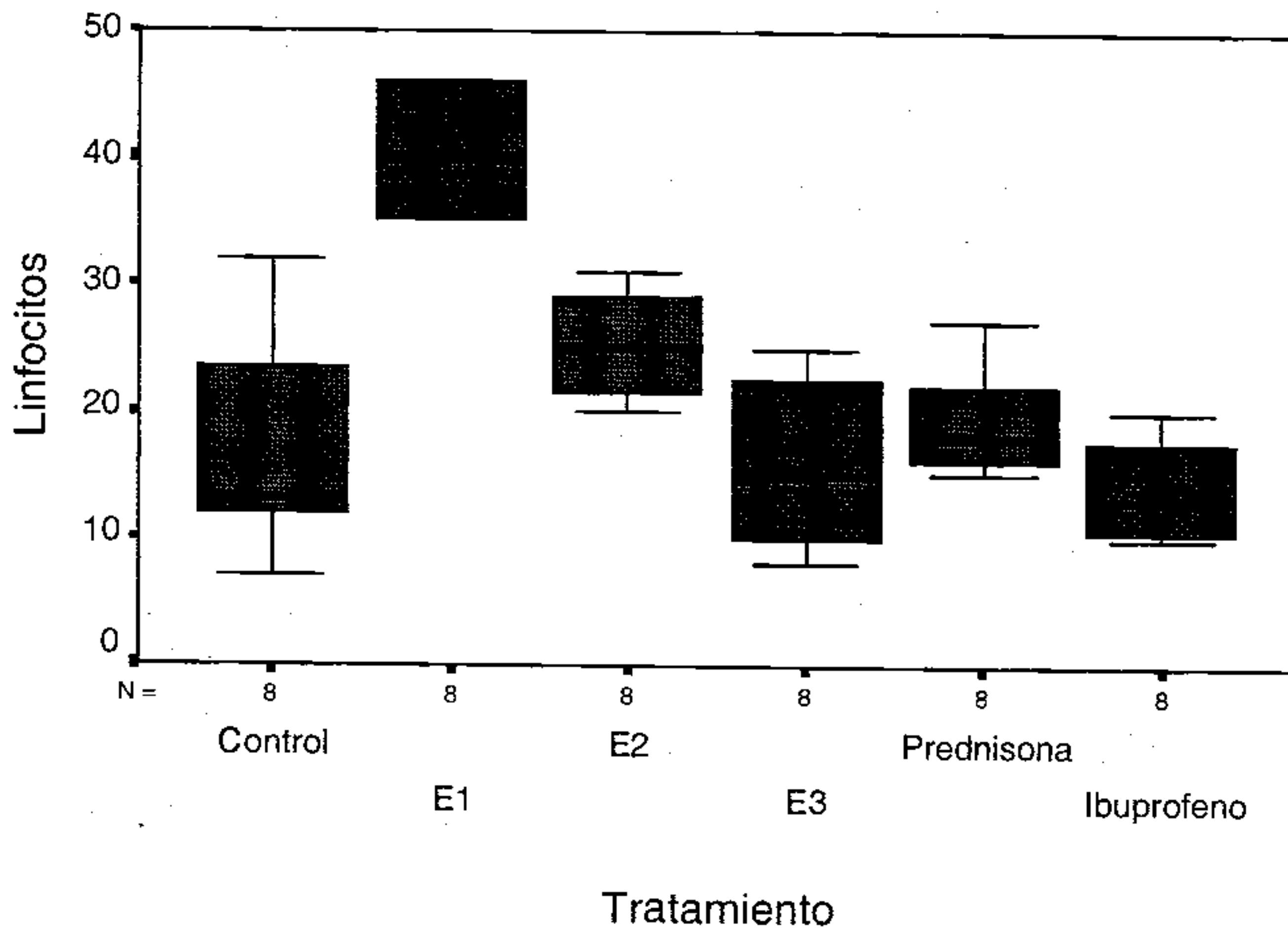


Gráfico N° 07

Acción sobre linfocitos de ratón
(Inflamación subcrónica por carragenina)



DISCUSIÓN

- A. En relación a sus constituyentes químicos principales, no existen diferencias cualitativas en la composición de las muestras en estudio, pero sí respecto al orden de abundancia relativa de los metabolitos secundarios presentes, lo que demuestra la existencia de una variabilidad importante dependiente de las condiciones climáticas y edáficas de las zonas geográficas consideradas.
- B. Con respecto al test de mortalidad en *Artemia salina leach*, los resultados indican que los extractos más activos fueron los metanólicos, seguidos por los extractos acuosos obtenidos por cocimiento.
- C. Los valores del parámetro LC₅₀ menores de 100 µg/ml, sugieren la existencia de compuestos bioactivos de los extractos de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) DC.
- D. La actividad antiinflamatoria y cicatrizante evidenciada, posiblemente se debe a la presencia de grupos fenólicos y flavonoides presentes en los extractos vegetales.
- E. Los elementos mononucleares estuvieron en mayor cantidad al terminar la evaluación antiinflamatoria subcrónica de 21 días de tratamiento (Gráficos N° 05, 06 y 07), esto nos indicaría una respuesta frente a una inflamación crónica (Abbas y col. 1995), observándose que es buena para E1.

CONCLUSIONES

1. Las partes aéreas de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) DC procedentes de los departamentos de Huánuco, Junín y Cajamarca fueron caracterizadas a partir de los extractos metanólicos revelando la presencia de: *aminoácidos, compuestos fenólicos, taninos, catéquicos, esteroides y/o triterpenoides; flavonoides y leucoantocianidinas.*
 2. Los extractos acuosos y metanólicos han presentado actividad biológica en el Test de letalidad frente a *Artemia salina Leach.*
- Los extractos metanólicos de ambas muestras mostraron mayor bioactividad que los extractos acuosos.
3. De las evaluaciones del efecto antiinflamatorio peroral, la muestra E3 mostró mayor actividad que E2 y E1, (% de eficiencia

antiinflamatoria= 36,2, muy cercano a la actividad de la dexametasona).

4. Respecto al efecto cicatrizante por vía peroral, el extracto E3 mostró mayor actividad (% de eficiencia cicatrizante = 28,1), mientras que por vía tópica, sobre lesiones inducidas en el lomo de ratón E1 mostró mayor actividad (% de eficiencia cicatrizante = 31.6%).
5. El estudio hematológico mostró que los elementos mononucleares (linfocitos, monocitos) estuvieron en mayor cantidad al terminar la evaluación antiinflamatoria subcrónica de 21 días de tratamiento con E1.

Se concluye que la muestra proveniente de Jaén (Cajamarca) posee la mejor actividad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Aquino Rita, De Feo Vincenzo, De Simone Francesco, De Tomassi Nunziatina, Pizza Cosimo.** Flora Officinali dell'América Latina. Ed Gutenberg-Lancusi S.A 1996 p. 157 - 159.
2. **Bravo Czaruchi J.L.** Catalogue of the Floewing Plants and Gymnosperm of Peru. Monograph in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden USA 1993.
3. **Cyted.** Manual de técnicas de investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. 1995.
4. **De Feo Vincenzo.** Fitoterapia 1992. Vol. LXIII, N°5 : 417 - 440.
5. **Donayre Rosa.** Estudio Farmacográfico del *Desmodium molliculum* (H.B.K.) manayupa. Tesis Químico Farmacéutico Facultad de Medicina Humana Escuela de Farmacia UNMSM. 1940.
6. **Lock De Ugaz O.** Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales PUC. 2^{da} Edición. Lima p. 5 - 1994.
7. **Meyer B.N. , Ferrigni N.R. , Puttman J.E. , Jacobsen L.B. , Nichols D.E. , Mclaughlin J.L.** Planta Médica 1982.45: 31-34.
8. **Soukup J.** Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de géneros. Editorial Salesiana. Lima 1987.