

BIOENSAYOS EN ESPECIES DE *BIDENS* CON ACTIVIDAD TERAPÉUTICA

Arilmi Gorriti Gutiérrez, Rosa Zárate Otarola, Bertha Jurado Texeira

RESUMEN

A las especies de *Bidens pilosa* L. y *Bidens pilosa* var. *minor* de la familia Asteraceae, conocidas tradicionalmente como "amor seco" se les comprobó su bioactividad con el ensayo de *Artemia salina* Leach.

En el screening farmacognóstico los metabolitos identificados fueron: azúcares reductores, mucílagos, pectinas, taninos condensados, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides, lactonas sesquiterapénicas y aceites esenciales. Su actividad antiulcerosa fue contrastada y se determinó la DL 50 que calificó a las especies en prácticamente no tóxicas (7,454 mg/kg).

SUMMARY

Bidens pilosa L. and *Bidens pilosa* variedad *minor* of Asteraceae family, are known by the common name of 'amor seco'. The biological assays were started with bioassay of *Artemia salina* Leach, the *Bidens* species showed both, in aqueous and ethanolic extracts bioactivity. In these species it was carried out the pharmacognosy screening that featured the chemical principles of samples. It was identified carbohydrates, condensed tannins, phenolic compounds, flavonoids, steroids and sesquiterpenic lactons. Through the antiulcerous activity assay it was verified the effective dose for all the samples. The LD50 was determined. The results showed 7 494 mg/kg, for both species. *Bidens pilosa* L and *Bidens pilosa* var. *minor*, showed practically no toxicity.

INTRODUCCIÓN

Las especies *Bidens pilosa* L. y *Bidens pilosa* var. *minor* vienen siendo utilizadas por sus variadas propiedades medicinales y están ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del Perú y América.

Estas especies conocidas como "amor seco" se emplean en medicina tradicional principalmente por su actividad antiulcerosa, sin la comprobación científica de sus posibles beneficios o efectos tóxicos.

El presente estudio tiene por objeto contrastar científicamente esta actividad para devolverla a la comunidad como alternativa de prevención y de recuperación de la salud.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Recolección y acondicionamiento

Las muestras fueron recolectadas en el Departamento de Lima, como plantas silvestres que crecen en terrenos silicosos. *Bidens pilosa* L. en la ribera del río Chillón a 300 m sobre el nivel del mar y *Bidens pilosa* var. *minor* en la ribera del río Rímac a 800 m sobre el nivel del mar.

Las muestras obtenidas se estabilizaron y desecaron a 60°C con aireación por 72 horas, posteriormente se pulverizaron.

2. Screening farmacognóstico

La investigación de los constituyentes químicos se efectuó en droga fresca y droga desecada y estabilizada, siguiendo el método fitoquímico simplificado. Con los resultados positivos se efectuaron extracciones específicas para confirmar la presencia o ausencia de: Aceites Esenciales, Carbohidratos, Taninos, Compuestos Fenólicos, Flavonoides, Esteroides y Lactonas Sesquiterpénicas.

Se utilizaron técnicas cromatográficas para confirmar los principios activos.

BIOENSAYOS

1. Ensayo de citotoxicidad en *Artemia salina* Leach

Se evalúa la actividad tóxica de los extractos frente a las larvas de *Artemia salina* (crustáceo conocido como camarón de mar) que es un identificador de la actividad biológica de los extractos crudos o compuestos puros aislados de plantas superiores.

El resultado de mortalidad de las larvas significa la existencia de grupos de compuestos potencialmente activos.

2. Actividad antiulcerosa

Para este ensayo se utilizó ratas Winstar de peso entre 200-410 g, las cuales fueron sometidas a ayuno por 24 horas.

Se distribuyeron en cinco grupos al azar.

A tres grupos se les administró por vía per oral los extractos de las drogas en estudio 200 mg/kg de peso. El cuarto grupo recibió bismuto coloidal 70 mg/kg de peso y el último recibió el solvente; una hora después se les administró a todos indometacina, por la misma vía 70 mg/kg, para inducir úlceras en la mucosa gástrica, luego se realizó el estudio fisiopatológico de la mucosa gástrica para evaluar el índice de ulceración considerando el N° total de úlceras, coloración de la mucosa, edema, hemorragia y úlcera con erosiones menores de 1 mm y úlceras perforadas.

ENSAYO DE TOXICIDAD AGUA Y DETERMINACIÓN DE LA DL 50

Se tomaron 66 ratones swiss, los cuales fueron adaptados previamente al medio ambiente proporcionándoles dieta balanceada y evitando el estrés y se distribuyeron al azar en once grupos de seis cada uno y un grupo fue el control, a los otros diez grupos se les inyectó intraperitonealmente dosis de extractos alcohólicos de *Bidens pilosa* L y *Bidens pilosa* variedad *minor* y las dosis administradas fueron de 600, 800, 1200, 2400, 4000, 6000, 6500, 7000, 7500 a 800 g.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1 Del Screening Farmacognóstico

La investigación de los principios de las drogas se realizó aplicando el método fitoquímico simplificado.

La verificación rápida de sus principios activos permitió determinar que la droga resultó ser en los dos casos las hojas coincidiendo en ser el órgano que la aplica-

ción popular utiliza, Soukup (1987) Cytod (1996). Los ensayos en muestra fresca dieron positivo sólo para aceites esenciales en las dos especies.

En la muestra seca y estabilizada, se estudió la presencia de constituyentes químicos, los cuales fueron caracterizados utilizando ensayos químicos y aplicando técnicas cromatográficas; con los que se han identificado en los dos extractos de *Bidens* los siguientes constituyentes químicos: aceites esenciales, compuestos fenólicos taninos condensados flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, esteroides, azúcares reductores mucilagos y pectinas que han confirmado la semejanza en la composición química de estas especies con la que señala la quimiotaxonomía de la familia y la tribu. Cuadro N° 1.

Estos resultados no están de acuerdo con De Vásquez (1986) que señala que *Bidens pilosa* L. no posee compuestos flavónicos, los cuales han sido confirmados con reacciones de coloración y la cromatografía respectiva.

2. De los Ensayos Biológicos

2.1 *Artemia salina* Leach

Se comprueba la existencia de actividad biológica con este bioensayo, "cuando el valor de LC 50 de los extractos expresado en ug/ml es inferior a 1,000.

El valor de LC 50 para los extractos acuosos y etanólicos de las especies de *Bidens*, indican que los extractos acuosos poseen menor actividad que los etanólicos y entre estos los de *Bidens pilosa* L. mayor actividad. Los resultados se observan en los Cuadros N° 2 y 3, que nos llevan a afirmar que este bioensayo debe ser utilizado como soporte de la información etnobotánica, ya que reduce al mínimo la probabilidad de que especies vegetales sin propiedades bioactivas en el organismo humano se colecten para estudios farmacológicos y químicos. Ayuso (1994).

CUADRO N° 4

RESUMEN DEL SCREENING FARMACOGNÓSTICO DE LAS ESPECIES DE BIDENS

CONSTITUYENTES QUÍMICOS	<i>Bidens pilosa</i> L.	<i>Bidens pilosa</i> variedad minor
Azúcares reductores	+++	+++
Mucilagos	+++	+++
Pectinas	+++	+++
Taninos condensados	+++	+++
Comp. - fenólicos	+++	+++
Flavonoides	+++	+++
Lactonas Sesquiterpénicas	+++	+++

Leyenda

- + Trazas
- ++ Pequeña cantidad
- +++ Reacción positiva
- ++++ Abundante reacción negativa

CUADRO Nº 2
RESULTADOS DEL ENSAYO DE *Artemia salina* L. EN
EXTRACTOS ACUOSOS DE BIDENS

ESPECIES EXT. ACUOSO	% MUERTES EN 24 HORAS			LC - 50 Ug/ml
	10 ug/ml	100 ug/ml	1000 ug/ml	
<i>Bidens pilosa</i> L	0	3	60	713
<i>Bidens pilosa</i> var. <i>Minor</i>	0	3	52	960

CUADRO Nº 3
RESULTADOS DEL ENSAYO DE *Artemia salina* L. EN
EXTRACTOS ACUOSOS DE BIDENS

ESPECIES EXT. ETANÓLICO	% MUERTES EN 24 HORAS			LC - 50 Ug/ml
	10 ug/ml	100 ug/ml	1000 ug/ml	
<i>Bidens pilosa</i> L	0	8	87	388
<i>Bidens pilosa</i> var. <i>Minor</i>	0	8	80	454

2.2 Actividad antiulcerosa

Se utilizó la indometacina como agente ulcerogénico, debido a que ésta bloquea la biosíntesis de prostaglandinas relacionadas con la protección de la barrera de la mucosa gástrica Goodman y Gilman (1996). Se comparó los resultados con los de bismuto coloidal utilizado como patrón farmacológico de la citoprotección gástrica, un grupo control y los extractos alcohólicos de *Bidens pilosa* L. y *Bidens pilosa* variedad menor, cuyos resultados cuadro Nº 4 están de acuerdo a las conclusiones de Penissi (1997), que indica que las lactonas sesquiterpénicas aisladas en el estudio del extracto alcohólico de *Artemisia douglasiana* Besser de la familia Asteraceae, son los metabolitos responsables de la actividad gastroprotectora, que es el caso de las *Bidens*, en cuyo estudio se ha comprobado su presencia.

2.3 Ensayo de toxicidad aguda y determinación de DL 50

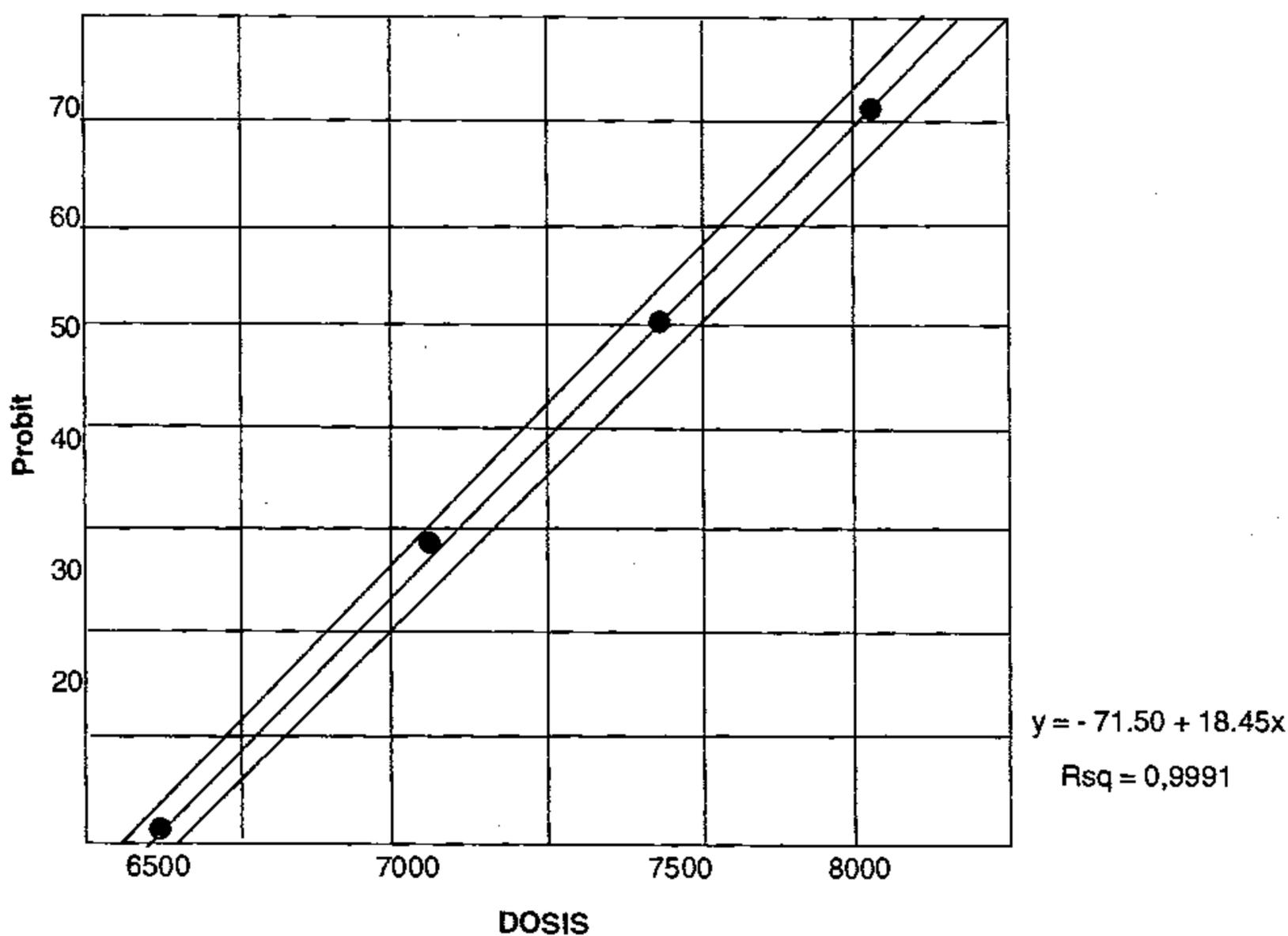
A la dosis de 8,000 mg/kg se produjo la muerte de todo el grupo. Los resultados fueron evaluados utilizando el análisis de regresión Probit con intervalos de confianza de 9,95% para calcular, la DL 50 que se ilustra en el gráfico Nº 1.

La DL 50 determinada fue de 7494 mg/kg (6999 mg/kg - 8914 mg/kg) para las dos especies. Estos resultados califican a *Bidens pilosa* L. y *Bidens pilosa* variedad menor en el rango de especies "prácticamente no tóxicas", Loomis (1974), Arroyo (1998). La muerte de los animales de experimentación se relacionaría con la presencia de lactonas sesquiterpénicas que induciría reacciones de hipersensibilidad y toxicidad, cuando son administradas en altas concentraciones. Brunenton (1995).

CUADRO N° 4
NÚMERO DE ULCERAS Y TAMAÑO DE EROSIONES

AGENTES GASTROPROTECTORES	< 1 mm	1 - 2 mm	> 2 mm	TOTAL
Control	106	75	55	236
Bismuto	25	20	14	59
<i>Bidens pilosa</i> L.	15	8	3	26
<i>Bidens pilosa</i> var. <i>Minor</i>	30	15	9	54

GRÁFICA N° 1
DOSIS EFECTIVA DE *Bidens*



CONCLUSIONES

1. *Bidens pilosa* L. y *Bidens pilosa* variedad *minor* de la familia Asteraceae presentan como constituyentes químicos: azúcares reductores (levulosa), mucílagos, pectinas,

taninos condensados, compuestos fenólicos, flavónicos, esteroides y lactonas sesquiterpénica.

2. Los extractos acuosos y alcohólicos de las especies de *Bidens* han presentado propiedades biológicamente activas con el bioensayo de *ARTEMIA salina* LEACH. Los extractos alcohólicos demostraron mayor actividad que los extractos acuosos.
3. Los extractos alcohólicos de *Bidens* presentaron importante actividad antiulcerosa a dosis de 200 mg/kg.
4. La DL 50 para las tres especies de *Bidens* resultó ser 7,494 g/kg que califica *Bidens pilosa* L. y *Bidens pilosa variedad minor* en el rango de especies vegetales prácticamente no tóxicas.

BIBLIOGRAFÍA

- ARROYO, J. Estudio de grado de toxicidad aguda de *Lepidium peruvianum* (maca. Capítulo de maca. Plantas nutritivas y medicinales del Perú. Instituto de Fototerapia Americano. Pág. 143-144 (1998).
- AYUSO, J.; GÓMEZ, E.; MARTÍN, C.; REYES M.; TORO, M. Ensayo de Citotoxicidad en *Artemia salina* Leach de especies farmacológicamente activas. Lab. Farmacognosia. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España. *Ars Pharm* 33/1-4 Part I. Pág. 511-516 (1994).
- BRUNENTON, J. Farmacognosy, Phitochemisky Medicinal Plantas. Ed. Lavoisier Paria. Págs. 159-176; 284-284. (1995).
- CYTED. 270 Plantas medicinales iberoamericanas. Convenio Andrés Bello. Editor Mohabir P. Gupta Ph. D. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo - Subprograma de Química fina Farmacéutica. Pág. 87 - 93 (1996).
- DE VÁSQUEZ, CAV. DE VÁSQUEZ N. V. GELLER M. Contribucao ao estudo do picao (*Bidens pilosa* L.) *Arq. Bras. Med* 60(4).
- GOODMAN & GILMAN. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica IX. Edición. Vol. 1, Mc Graw-Hill Interamericana. Pág. 679-680. (1996).
- HEROUT, V. Chemotaxonomy of the family Compositae (Asteraceae) *Pharmacognosy and Phytochemistry* Edited by Wagnier H. and Horhammer L. Springer - Verlag. Berlin Herdelberg. Pág. 93-107. (1990).
- IPARRAGUIRRE D. Estudio Botánico y actividad farmacológica de la especie silvestre. *Lupinus baillanus* sp. Smith. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Pág. 12, 13, 22, 23 (1996).
- JURADO B. Contribución al estudio Farmacognóstico de *D racontium l oretense krause* (Jergón Sacha). Pág. 16 - 42.
- KUNAR, S. CHANG. A. Estudio Químico y Biológico de Plantas Medicinales de Ica. *Rev. Academia Peruana de Farmacia*. Vol. IX. N° 2. Pág. 65-70 (1994).
- LOCK, O. de Ugaz Olga. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de Productos Naturales. PUC 2da. Edición, Lima - Perú. Pág. 52-98. (2994).
- LOOMIS, T.A. *Essentials of Toxicology*. Second edition. Lea & Febiger U.S.A. Pág. 13-24. 13-25. (1974).
- McLAUGHLIN, J. L. Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two simple biossays for Higher Plant Screening and Fractionation In: *Methods in Plant Biochemistry*. Vol 6 (Hostettmann, Ked). Academic Press, London. Pág. 8 - 10 (1991).
- PENISSI, A.; FOGAL, T.; GUZMAN, J.; PIEZZI, R. Role of mucus on gastroduodenal cyto protection induced by a natural product dihydroleucodine. Facultad Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Cuyo Conicet Mendoza II. Congreso Mundial de plantas aromáticas y medicinales para el bienestar de la humanidad. Pág. 296 (1997).
- SOUKUP, J. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los géneros. Editorial Salesiana, Lima, Perú. Pág. 84 (1987).