

**ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO DE WERNERIA
APICULATA Y WERNERIA MARCIDA S.F. BLAKE.**

ROSA ZÁRATE; ARILMI GORRITI; MARGARITA LOBATÓN; BERTHA JURADO

RESUMEN

De las especies *Werneria apiculata* y *Werneria marcida* S.F. Blake de la familia Asteraceae, se ha logrado extraer e identificar: azúcares reductores (glucosa, levulosa), goma, mucílagos, taninos catéquicos, esteroides, glicósidos fenólicos, flavonoides, alcaloides. En *W. Marcida* se encontró menor concentración de los mismos principios.

Frente al Bio-ensayo de *Artemia Salina* Leach, ambas especies presentan actividad biodinámica.

Werneria apiculata presenta mayor actividad broncodilatadora y antiinflamatoria que *W. marcida*.

La actividad terapéutica de estas especies se debe a la presencia de flavonoides que se ha obtenido como constituyente mayoritario y que creemos participa en forma pronunciada en la actividad total de la droga.

SUMMARY

Of the species *Werneria apiculata* and *Werneria marcida* S.F. Blake of the Asteraceae family it can be extracted and identified: reducing sugars (glucose, levulose) gums, tannins, steroids, phenolic compounds, flavonoids, alkaloids. It has been found in *W. Marcida* low concentration of the same principles.

The biological assays of the *Artemia Salina* Leach, both species present biodinamic activity.

W. apiculata presents greater bronco-dilatador activity and antiinflammatory than *W. Marcida*.

The therapeutic activity of these species is due the presence of flavonoids, that were obtained as the mayor constituents that we think participate in a pronounced way in the total activity of the drug.

INTRODUCCION

El conocimiento de las drogas vegetales ha sido profundo y ampliamente difundido en los pueblos desde los tiempos más antiguos hasta la fecha en que vienen siendo utilizados indiscriminadamente para satisfacer las necesidades básicas de salud pero sin ninguna base científica. En el presente estudio deseamos aportar con la investigación farmacognóstica de los constituyentes químicos de *Werneria apiculata* y *Werneria marcida*. S.F. Blake y validar sus actividades broncodilatadoras y antiinflamatorias asignadas por el uso popular.

MATERIAL Y METODOS**1. Recolección y Acondicionamiento.**

Las muestras fueron recolectadas a 2,800 m.s.n.m. en la Provincia de Huarochirí, Distrito de Carampoma, Dpto. de Lima, donde crecen como plantas silvestres. En la recolección se observaron factores climáticos y edáficos.

Las especies obtenidas fueron identificadas taxonómicamente y estudiadas botánicamente. Se estabilizaron y desecaron a 60 °C con aireación por 72h. posteriormente se pulverizaron y guardaron en frascos de vidrio color ambar.

2. SCREENING FARMACOGNOSTICO

- Se aplicó el análisis rápido Screening Farmacognóstico en forma paralela a cada uno de los órganos de las 2 especies de *Werneria* con la finalidad de ubicar la "droga" que resultó ser para ambos casos las hojas y tallos.
- La investigación de los constituyentes químicos se efectuó en droga fresca y droga desecada y esterilizada, siguiendo los métodos de Dragendorff simplificado y el de Disolventes Sucesivos modificado por la cátedra. Con los resultados positivos se efectuaron extracciones específicas para confirmar la presencia o ausencia de los principios aislados con métodos específicos y técnicas cromatográficas, se identificaron: azúcares reductores (glucosa, levulosa), gomas, mucílagos, taninos catequicos, esteroides glicósidos fenólicos, flavonoides, alcaloides.

3. ENSAYOS BIOLÓGICOS

A. Ensayo de citotoxicidad con *Artemia Salina Leach*

Con este método, se evaluó la actividad biodinámica de los extractos acuosos y etanólicos a diferentes concentraciones de *W. Apiculata* y *W. Marcida* frente a las larvas de *Artemia Salina* (crustáceo conocido como camarón de mar). Este crustáceo es un indicador de la actividad biológica de los extractos crudos de plantas superiores.

El resultado de mortalidad de las larvas significa la existencia de extractos crudos o compuestos químicos puros aislados, potencialmente activos. (Cl_{50} concentración para cada dilución de los extractos).

B. Actividad frente al "Broncoespasmo Histaminérgico"

Se comprobó la actividad protectora del broncoespasmo histaminérgico por acción de un antihistaminérgico que en este caso son los extractos acuosos de las dos especies de *Werneria*, la droga control de comparación fue clorfenamina. Se utilizaron 6 cobayos a los que se les insufló por micropulverización histamina dentro de una campana productora del broncoespasmo. Se mide y evalúa el tiempo de reacción en que aparece la sintomatología del broncoespasmo que es la dificultad respiratoria.

A 2 cobayos se aplica 0.65 ml de Ext. de *Werneria*

2 cobayos se aplica 0.65 ml Clorfenamina (Antihistamínico)

2 cobayos no se aplica nada.

C. Actividad Antiinflamatoria:

Método "Edema Pata Inducido" por Carragenina

Con este método se evaluó la actividad antiinflamatoria de los extractos acuosos de las especies *Wernaria apiculata* y *W. Marcida S.F. Blake*.

Se utilizaron ratas albinas de 280 a 330 g de peso en ayuno de 12 horas, se les administró en inyección subplantar una solución salina de 1% de carragenina para provocar una reacción de carácter inflamatoria (aumento de volumen en el espesor de la pata, enrojecimiento, aumento de temperatura). Se administró por vía oral los volúme-

nes de los extractos acuosos de *Werneria* equivalentes a 2 ml/kg (200 mg/kg). Se observa la reacción antiinflamatoria de los extractos a las 4 horas, la que se fue midiendo cada hora durante 10 horas con ayuda de un VERNIER (mm) ó Petismómetro (ml).

DISCUSION Y RESULTADOS

Del Screening Farmacognóstico

La investigación de los metabolitos secundarios se realizó aplicando el método de Dragendorff simplificado. La verificación rápida de sus principios en los diferentes órganos de las especies permitió determinar en ambos casos la ubicación de la "droga", en las hojas y tallos; coincidiendo con el uso popular.

En la muestra fresca y estabilizada se investigó la presencia de constituyentes químicos, los cuales fueron aislados y caracterizados, luego utilizando ensayos químicos y aplicando técnicas cromatográficas, se logró identificar. En los extractos de *Werneria apiculata* se identificó los siguientes principios: azúcares reductores (glucosa y levulosa) gomas, mucílagos, taninos catéquicos, esteroides glicósidos fenólicos, flavonoides, alcaloides.

Se encontró que *Werneria marcida* presenta los mismos principios pero en menor concentración. La semejanza en la composición química de estas especies confirma la quimiotaxonomía de la familia. Cuadro N° 1.

CUADRO N° 1
RESULTADOS DEL SCREENING FARMACOGNÓSTICO
DE LAS ESPECIES WERNERIA

	<i>Werneria apiculata</i>	<i>Werneria marcida</i> S.F. Blake
1. Extracto acuoso 10%		
Azúcares (en general)	++++	+++
Azúcares reductores	++++	++
Glicósidos	++++	++
Glicósidos fenólicos	++	+
Glicósidos cianogénéticos	-	-
Glicósidos saponinicos	++	+
Gomas	+++	+++
Mucílagos	+++	++
Taninos catequicos	++++	+++
2. Extracto alcohólico 10%		
Esteroides y triterpenoides	++	+
Alcaloides	+	+
Flavonoides	++++	+++
Saponinas	+	-
3. Extracto etéreo 10%		
Clorofila	+++	+++
Resinas	+++	++

Leyenda: + : Poco
++ : Regular
+++ : Bastante
++++ : Abundante

DE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS:

Artemia Salina Leach

Se comprueba la existencia de actividad biológica con este bioensayo cuando el valor de LC50 de los extractos expresados en $\mu\text{g/ml}$ es inferior a 1,000.

El valor de LC50 para los extractos acuosos y etanólicos de las especies de *Werneria* indican que los extractos acuosos poseen menor actividad que los etanólicos y entre estos los de *W. Marcida S.F.*

Los resultados se observan en los cuadros N° 2

CUADRO N° 2
RESULTADOS DEL ENSAYO DE ARTEMIA SALINA LEACH EN
EXTRACTOS DE WERNERIA

Especies Ext. acuosa	% Muertes en 24 horas			LC50 ug/ml
	10 ug/ml	100 ug/ml	1000 ug/ml	
W. apiculata	10	26	53	771
W. marcida	0	8	60	713
S.F. Blake				

Especies Ext. acuosa	% Muertes en 24 horas			LC50 ug/ml
	10 ug/ml	100 ug/ml	1000 ug/ml	
W. apiculata	10	40	60	366
W. marcida	13	40	80	347
S.F. Blake				

Este bioensayo debe ser utilizado como base de información ya que nos ayuda orientándonos a ver si las especies en estudio tienen propiedades bioactivas en el organismo humano.

Actividad Antiinflamatoria

Método "Edema Pedal Inducido"

Se evaluó la actividad antiinflamatoria de los extractos acuosos de *Werneria epiculata* y *W. Marcida Blake* usando el método del Edema Pedal, inducido por carragenina.

Se utilizaron para el ensayo ratas albinas de 280 a 330 g. de peso en ayunas de 12 horas.

Se les provocó una inflamación con inyección de carragenina 1% en la pata posterior donde se comprobó el aumento de volumen, enrojecimiento y aumento de temperatura, el volumen fue medido. Posteriormente se administró por vía oral los volúmenes de los extractos acuosos de *Werneria* equivalente a 2 ml/kg (200 mg/kg) a consecuencia

de esto se observa una reacción antiinflamatoria que comienza a las 4 horas, debida a los extractos de *Werneria*. Esta reacción se fue midiendo cada hora durante 10 horas la misma que termina a las 17 horas. Cuadro N° 3.

CUADRO N° 3
RESULTADOS "EDEMA PEDAL INDUCIDO"

EXTRACTOS ACUOSOS	MEDIDA DEL ESPESOR DE PATA (cm)					
	Normal	Inflamación: Tiempo y % de inflamación				
	(cm)	(cm)	4 h	7 h	9 h	12 h
		100 %	75 %	50 %	25 %	0 %
	1,92 Control	2,99				
WERNERIA APICULATA	1,73	2,8	2,5	2,2	2,2	1,8
	1,94	3,1	2,6	2,5	2,2	1,9
	2,05	3,3	2,9	2,7	2,4	2,0
	2,3	3,4	3,1	2,8	2,5	2,4
	2,0	2,1	3,2	2,5	2,3	2,1
WERNERIA MARCIDA S.F. BLAKE	2,4	3,5	3,2	2,9	2,6	2,5
	2,6	3,6	3,3	3,6	2,8	2,7
	2,7	3,7	3,4	3,1	2,9	2,9
	2,7	3,8	3,5	3,2	2,9	2,7
	2,5	3,6	3,3	3,1	2,8	2,6

Actividad frente al "Broncoespasmo"

Se comprueba la actividad protectora que ejercen los extractos acuosos de ambos *Wernerias* frente al broncoespasmo producido en cobayos, cuando se insufla por micropulverización histamina, dentro de una campana. Se evalúa el tiempo y eficacia en aparecer el bronco-espasmo (dificultad respiratoria).

Por los resultados podemos observar que las muestras de *Werneria* tienen cierta actividad antihistamínica que ha podido ser comparada con Clorfenamina, droga usada como control antihistamínico. Cuadro N° 4

CUADRO N° 4
RESULTADOS DE ACTIVIDAD FRENTE AL BRONCOESPASMO

	Werneria apiculata Ext. acuoso 10%	Werneria marcida S.F. Ext. acuoso 10%	Clorfenamina Control Antihistaminico	Blanco
Concentración	300 mg/ml	300 mg/ml	2 mg/ml	---
Cantidad	0,65 ml	0,65 ml	0,65 ml	---
Tiempo reacción	86 seg.	97 seg.	151 seg.	10 seg.
Promedio				

CONCLUSIONES

- De *Werneria apiculata* de la Fam. ASTERACEAE se ha logrado extraer e identificar: azúcares reductores (glucosa-levulosa) gomas, mucílagos, taninos catéquicos, esteroides, glicósidos fenólicos, flavonoides, alcaloides. En *Werneria marcida* S.F. Blake se encontró los mismos principios activos pero en menor concentración.
- En el bioensayo que *Werneria Salina Leach* se observó que ambas especies presentan actividad biodinámica.
- Se demostró que *Werneria apiculata* presenta mayor actividad broncodilatadora y antiinflamatoria que *Werneria Marcida* S.F. Blake.
- La actividad terapéutica de estas especies se debe a la presencia de flavonoides que se ha obtenido como constituyente mayoritario y participa en forma pronunciada en la actividad total de la droga.

BIBLIOGRAFIA

- BULLOCK J. (1969). Biosíntesis de Productos Naturales Ediciones Urmo, España-Bilbao.
- CHAVARRI, R. (1993). Identificación de Flavonoides en *Abrus Precatorius* L. Huairuru. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Pág. 23-30.
- DOMINGUEZ, X (1979). Métodos de Investigación Fitoquímica. Editorial Limusa. México. Pág. 81, 86, 93-108
- GOODMAN & GILMAN, (1996). Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. IX Edición, Vol. I McGraw-Hill Interamericana. Pág. 679, 680.
- HARBORNE, J.S. (1973). Phytochemical Methods. Chapman and Hall-London.
- HARRISON, J. (1987). Curso de Farmacognosia. Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM. LIMAPERU. Pág. 33-40; 208-214.
- HEROUT, V. (1990). Chemotaxonomy of the family Compositae (Asteraceae) Pharmacognosy and Phytochemistry. Edited by Wagner H. and Horhammer L. Springer – Verlag. Berlin Heidelberg. Pág. 93-107.
- ROBINSON, T. (1975). The Organic Constituents of hight plants. Third edition Massachusets.
- PELT, Jean – Marie - (1996). La medecine par les plantes. De. Artheme Fayard. Nouvell Edition. Paris – France.