

Trabajos presentados en el XI congreso de Farmacología y Terapéutica

Metabolitos de tipo iridoide y alcaloide aislados de *Valeriana pavonii* con potencial actividad anticonvulsivante

Sara Emilia Giraldo, Javier Rincón, Mario Francisco Guerrero

INTRODUCCIÓN

Especies pertenecientes al género *Valeriana* se emplean actualmente en estudios fitofarmacológicos con el fin de aislar, identificar y evaluar biológicamente *in vitro* e *in vivo*, tanto extractos como fracciones y compuestos en busca de alternativas que contribuyan en el tratamiento de alteraciones mentales, cada vez más afectadas por las tensiones de la problemática actual que deterioran la calidad de vida en tantos países. Aunque más de 200 especies de *Valeriana* han sido identificadas en todo el mundo, *V. officinalis* (especie de origen europeo) es la más conocida y estudiada. Compuestos de tipo monoterpeneo (de tipo iridoide denominados valepotriatos) y sesquiterpeneo, son los principales constituyentes activos de *V. officinalis*. Sin embargo, hasta el momento no ha sido posible identificar con exactitud qué constituyentes químicos son los responsables de sus efectos ansiolíticos y sedantes, y aún en la actualidad se realizan estudios con el fin de determinar el mecanismo de acción de este tipo de compuestos^{1,2}.

En el Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia, se han estudiado plantas con actividad sobre el sistema nervioso central, especialmente con posible actividad anticonvulsivante, entre ellas *V. pavonii*. Es una especie nativa que crece de forma silvestre en diferentes zonas de Colombia, se emplea tradicionalmente como inductor del sueño y tranquilizante y es una de las de mayor consumo en el mercado popular. Sin embargo, en muchas

ocasiones la comercialización tanto popular como en laboratorios y tiendas naturistas entre *V. pavonii* y *V. officinalis* se realiza de manera indistinta. Esto debe ser objeto de preocupación considerando que son plantas diferentes.

Estudios previos de comparación cromatográfica entre las dos especies han revelado una mayor proporción de compuestos tipo iridoide y alcaloide en *V. pavonii* los cuales podrían estar relacionados con su actividad sobre el sistema nervioso central. El presente estudio muestra la potencialidad anticonvulsivante de fracciones obtenidas a partir de los extractos etanólico y metanólico de *V. pavonii*. Los resultados obtenidos se atribuyen a la presencia en abundancia de metabolitos tipo alcaloide e iridoide. *Salud UIS* 2008; 40: 169-171

JUSTIFICACIÓN

En Colombia el Estudio Nacional de Salud Mental apoyado por la OMS en el 2003, reportó que dos de cada cinco personas presentan al menos un trastorno mental en algún momento de su vida. Los trastornos de ansiedad (19%) (agorafobia, fobia social, estrés postraumático, trastorno de pánico entre otros) y los trastornos afectivos (15%) (episodio depresivo mayor, manía e hipomanía) son los más prevalentes. La epilepsia es también un problema importante de salud pública en el país, su prevalencia en nuestro medio es superior al 2% de la población, seis a siete veces más alta que la registrada en países industrializados^{3,4}. Por lo anterior se ha planteado que políticas públicas

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

Correspondencia: Sara Emilia Giraldo. Universidad Nacional de Colombia, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias AA. 14490, Bogotá, Colombia, Fax: 3165060. Teléfono: 3165000- Ext.: 14662, 14628 14631.

E-mail: segiraldoq@unal.edu.co.

deben enfocar sus esfuerzos en la búsqueda de mejoras en los servicios de salud mental y en el aumento de los recursos, entre ellos la disponibilidad de fármacos.

El estrecho margen terapéutico de algunos medicamentos psiquiátricos, el aumento de interacciones medicamentosas y de reacciones adversas, el alto costo y difícil acceso a los medicamentos y el incumplimiento terapéutico, pueden ser factores que influyen negativamente en la efectividad del tratamiento. Es por esto que la búsqueda bioguiada de constituyentes activos a partir de plantas, representa una estrategia importante para el futuro desarrollo de productos fitoterapéuticos o medicamentos, posiblemente con menos efectos secundarios y reacciones adversas, de más fácil acceso, menor costo y mayor confiabilidad para lograr una mejor y racional terapia psicofarmacológica. Estudios farmacológicos previos han demostrado la potencialidad farmacológica que a nivel del sistema nervioso central tiene *V. pavonii*, como una especie promisoría para la búsqueda e identificación de principios activos que den lugar al desarrollo de nuevos medicamentos y/o fitoterapéuticos, aprovechando además el enorme potencial que Colombia cuenta en materia de producción y comercialización de plantas medicinales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se emplearon los tallos bejuocos de *V. pavonii*, adecuadamente cortados, secados a T° de 40°C y molidos, adquiridos en el mercado popular de plantas medicinales en la ciudad de Bogotá D.C. La planta se clasificó taxonómicamente en el Herbario Nacional Colombiano de la Universidad Nacional de Colombia en donde se encuentran dos ejemplares con los números de colección Col 495179 y Col 495756. Para las pruebas de comparación cromatográfica se empleó polvo de raíz de *V. officinalis* (con su correspondiente certificado de análisis) adquirido de una firma importadora y comercializadora de productos naturales. Este material fue sometido al mismo procedimiento para la obtención de los extractos etanólico y metanólico empleado para *V. pavonii*.

Extracción y Fraccionamiento

El extracto etanólico (EE) de *V. pavonii* y sus respectivas fracciones fueron sometidos a percolación, de acuerdo a procedimientos propuestos en trabajos previos a partir de 400 g de material vegetal seco⁵. A partir de 26 g de EE de *V. pavonii* se obtuvieron fracciones con diferente

grado de polaridad entre ellas las fracciones F (en diclorometano), y FD (obtenida luego de desengrasar F con hexano). El EE de *V. officinalis* se obtuvo a partir de 300 g de material vegetal y se emplearon 22 g de este extracto para la obtención de su respectiva fracción F.

Los extractos metanólicos (EM) de *V. pavonii* y *V. officinalis* se obtuvieron mediante percolación con metanol (R.A) a partir de 753 g y 501 g de material vegetal seco respectivamente. Las soluciones obtenidas se concentraron en rotavapor y se desecaron al vacío para eliminar totalmente el disolvente. Con el fin de determinar y comparar la presencia de metabolitos, 80 g de EM de *V. pavonii* y 40 g de EM de *V. officinalis* se sometieron a extracciones sucesivas con éter de petróleo, acetato de etilo y butanol obteniéndose las fracciones de éter de petróleo (FEP), de acetato de etilo (FAE) y butanólica (FB).

Técnicas cromatográficas de comparación

Se realizaron técnicas de cromatografía en capa delgada (CCD) empleando reveladores específicos para esteroides y/o terpenos y alcaloides de acuerdo a procedimientos establecidos previamente⁵. Para la detección de iridoides, 10 mg de muestra se disolvieron en 1 mL de solvente (cloroformo para muestras de baja polaridad y metanol para muestras de polaridad elevada), empleando como fase móvil una mezcla de cloroformo-metanol (9.5:0.5) y como revelador una mezcla de HCl-AcOH (8:2). Estos compuestos se revelaron por la presencia de manchas azules al visible.

Modelo de convulsión inducida por electroshock

Se aplicó este modelo experimental con el fin de evaluar la potencialidad farmacológica de las fracciones FEP, FD y FAE obtenidas de *V. pavonii*. Se emplearon ratones ICR machos de edades entre 9 y 11 semanas y pesos entre 25 y 35 g suministrados por el Bioterio del Departamento de Farmacia, seleccionando al azar 10 individuos por tratamiento. Luego de administrar por vía oral cada uno de los tratamientos y tras un periodo de una hora se aplicó un estímulo trascorneal máximo de 50 mA, con una duración de 32 milisegundos, y corriente alterna de 60 Hz. En la convulsión que se induce se observa una flexión rápida y una extensión prolongada de las extremidades, principalmente las posteriores. El parámetro evaluado en este caso fue la protección o no de la convulsión expresado como porcentaje. El patrón utilizado fue fenitoína sódica (20 mg/Kg) y las fracciones se administraron en las siguientes dosis de acuerdo a su rendimiento: FD: 35 mg/Kg, FEP: 65 mg/

Kg, y FAE: 62 mg/Kg preparándolas en el siguiente vehículo: 10% de propilenglicol, 10% de glicerina, 20 µL de polisorbato 80 y cantidad suficiente de agua destilada para completar a volumen. Los resultados se analizaron con la prueba estadística Chi². El programa estadístico utilizado fue Open Stat 4 Versión 7. El nivel de significancia estadística adoptado fue de 0.05. El modelo experimental fue realizado considerando los aspectos relacionados con el reactivo biológico en el Título V de la Resolución N° 8430 de 1993 y las recomendaciones éticas, experimentales y técnicas establecidas por el Bioterio del Departamento de Farmacia⁶.

RESULTADOS

Los resultados de comparación cromatográfica demuestran que los extractos etanólico y metanólico y la fracción F de *V. pavonii* presentan metabolitos tipo iridoide en mediana cantidad, los cuales se encuentran en pequeña cantidad en estos mismos extractos y en la fracción F de *V. officinalis*. La fracción FEP de *V. pavonii* se destaca por presentar metabolitos tipo iridoide y alcaloide en abundancia, mientras que la fracción FAE presenta en abundancia metabolitos tipo terpenoide, los cuales se destacan en los extractos y fracciones de *V. officinalis*. También se observó que en los extractos etanólico y metanólico de *V. pavonii* se encuentran metabolitos tipo alcaloide, sin embargo en los extractos de *V. officinalis* no se encuentran presentes o no se detectaron.

El ensayo biológico demostró que las fracciones FD y FEP de *V. pavonii* presentaron actividad anticonvulsivante con un porcentaje de protección del 90% para cada una de ellas, mientras que la fracción FAE tuvo un valor de protección de solo el 30%. El grupo tratado con fenitoína sódica alcanzó el 100% de protección en tanto que el grupo control (vehículo) apenas el 10%.

DISCUSIÓN

La comparación cromatográfica realizada en el presente estudio, sugiere una mayor proporción de compuestos tipo iridoide en *V. pavonii* tanto en los extractos EE y EM como en las fracciones F, FEP y FAE, así como también una mayor proporción de alcaloides en EE, EM, F y FEP. Aunque alrededor de 30 valepotriatos han sido identificados en *V. officinalis*, a los cuales se les ha atribuido en parte los efectos sedantes de la especie,

estudios *in vitro* señalan posibles efectos citotóxicos, por lo cual es necesario indagar en el potencial farmacológico que compuestos de este tipo desempeñarían en *V. pavonii*. Cabe resaltar la presencia y la proporción de metabolitos de naturaleza alcaloidal en *V. pavonii* ya que hasta el momento no se encuentran reportes de compuestos aislados de este tipo en otras especies de *V.* diferentes a *V. officinalis*, donde se encuentran en baja proporción (0,05% - 0,1%). La fracción FAE se caracteriza por presentar metabolitos de tipo terpenoide en abundancia los cuales probablemente no tienen una actividad importante sobre el SNC.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el modelo experimental aplicado señalan a compuestos de tipo alcaloidal e iridoide dentro de los posibles responsables de la actividad anticonvulsivante observada en *V. pavonii*. Estos resultados dan soporte al uso etnobotánico de esta especie y a la posibilidad de obtener a partir de ella derivados terapéuticos con potencial farmacológico.

REFERENCIAS

1. Houghton PJ. The basis for the reputed activity of Valerian. *J. Pharm. Pharmacol* 1991; 51: 505-12.
2. Dietz B., Mahady G., Farnsworth N. Valerian extract and valerianic acid are partial agonists of the 5-HT_{5a} receptor in vitro, *Molecular Brain Research* 2005; 138: 191-7.
3. Medina C. "Epidemiología" En: Epinotas Bogotá: Liga Colombiana Contra la Epilepsia 1994; 1: 2-6
4. Ministerio de la Protección Social, República de Colombia. Un panorama nacional de la salud y enfermedad mental en Colombia, Informe Preliminar, Estudio Nacional de Salud Mental. 2003.
5. Arévalo D. y Martínez C. Estudio bioguiado de la actividad anticonvulsivante del extracto etanólico de *V. pavonii*, Tesis de Grado, Universidad Nacional de Colombia, 2004; 111 p.
6. Ministerio de Salud, República de Colombia, Resolución N° 008430 de 1993 (4 de octubre de 1993), Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, Título V La Investigación Biomédica con Animales 1993; 19-21, Bogotá, Colombia.