

Estudio farmacognóstico preliminar de tallo y raíz de la especie *Moringa oleífera* Lam cosechada en Machala

Pharmacognostic preliminary study of stem and root of the *Moringa oleífera* Lam species harvested in Machala

Dra.C. Ingrid Márquez Hernández^{1*}, Bioq. Tania L. Bastidas Guerrero², Bioq. Gisela K. Fernández Valarezo³, Dra.C Mercedes Campo Fernández¹, M.C. Carmita Gladys Jaramillo Jaramillo¹, Dra. C. Luisa Rojas de Astudillo⁴

1: Universidad Técnica de Machala, Km. 5 ½, Vía a Pasaje. Ecuador Universidad Técnica de Machala, Km. 5 ½, Vía a Pasaje. Ecuador

2: Hospital Guayaquil – Machala, Bolívar y Buenavista. Machala. Ecuador

3: Clínica Materno Infantil "Niño Josué", Panamericana y Callejón s/n y de Tillales - El Guabo. Ecuador

4: Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cu maná, Venezuela

*Teléfono: 0969909937.

*email: ingridmarquezhernandez@yahoo.com

RESUMEN

Introducción: La composición química de las especies vegetales está sujeta a cambios dependiendo, entre otros factores, de la localización geográfica. La *Moringa oleífera* que crece en Machala, Ecuador, puede diferir de especies de otras regiones geográficas que se encuentran reportadas. **Objetivo:** Realizar un estudio farmacognóstico preliminar del tallo y raíz (corteza y pulpa) de la planta *Moringa oleífera* Lam. cultivada en las áreas de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Técnica de Machala. **Métodos:** Se desarrolla el control de la calidad de la droga cruda según la metodología establecida por la Organización Mundial de la Salud, mediante determinación de la humedad residual, el porcentaje de cenizas y el porcentaje de sustancias solubles en el tallo y la raíz. Se cuantificaron algunos metales mediante espectrometría de absorción atómica. El estudio químico preliminar comienza a través de ensayos de tamizaje fitoquímico y mediante cromatografía en capa delgada. La metodología utilizada se basó en los reportes bibliográficos. **Resultados:** La humedad residual para ambos órganos y los valores de cenizas obtenidos para la raíz se encuentran dentro de los límites establecidos.

Las cenizas totales para el tallo resultaron elevadas. La determinación de metales descartó la presencia de metales tóxicos en los órganos estudiados. Las sustancias solubles sugieren mayor poder extractivo con el agua. La evaluación mediante tamizaje fitoquímico sugirió triterpenos y esteroides, azúcares reductores, alcaloides, flavonoides, aminoácidos y saponinas, en los extractos de la raíz. En el tallo se detectó, además, catequinas, mucílagos y compuestos fenólicos, no así flavonoides. La CCD sugirió la existencia de alcaloides derivados de la fenilmetilamina. **Conclusiones:** El estudio permitió establecer parámetros de calidad de la droga cruda para la especie estudiada; sugiere, en principio, semejanzas en composición química de la planta analizada con otras especies de orígenes geográficos diferentes, y comprueba la ausencia de metales tóxicos en los órganos estudiados.

PALABRAS CLAVES: *Moringa oleifera*, flavonoides, farmacognosia, fenilmetilamina

ABSTRAC

Introduction: The chemical composition of plant species is subject to, among other factors depending on the geographic location changes. *Moringa oleifera* grows in Machla, Ecuador, may differ from species from other geographical regions are reported. **Objective:** Pharmacognostic a preliminary study of stem and root (rind and pulp) plant *moringa oleifera* Lam. cultivated in areas of the Academic Unit of Agricultural Sciences, the Technical University of Machala. **Methods:** Control of the quality of the raw drug is developed according to the methodology established by the World Health Organization, by determining the residual moisture, percent ash and the percentage of soluble substances in the stem and root. Some metals were quantified by atomic absorption spectrometry. The preliminary chemical study begins through phytochemical screening tests and by thin layer chromatography. The methodology used was based on bibliographic reports.

Results: The residual moisture for both organs and ash values obtained for the root are within established limits. The total ash for stem were high. The determination of metals ruled out the presence of toxic metals in the studied organs. Soluble substances suggest greater extractive power with water. Phytochemical screening assessment suggested by triterpenes and steroids, reducing sugars, alkaloids, flavonoids, amino acids and saponins in the extracts of the root.

In the stem it was also detected catechins, mucilages and phenolic compounds, flavonoids not. The CCD suggested the existence of alkaloids derived from phenylmethamphetamine.

Conclusions: The study established quality parameters of crude drug for the species; it suggests, in principle, similarities in chemical composition of the analyzed with other species from different geographical origins plant, check the absence of toxic metals in the studied organs.

KEYWORDS: *Moringa oleifera*, flavonoids, pharmacognosy, phenylmethamphetamine

INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años las plantas medicinales han sido utilizadas como medio alternativo de medicina, fundamentándose en prácticas realizadas en base a creencias y conocimientos de los pueblos ancestrales. Este uso es debido a la fácil accesibilidad, bajo costo y a los inconvenientes con los medicamentos sintéticos tales como: su elevado precio y los efectos secundarios asociados. La Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2000 propone realizar profusas investigaciones sobre los componentes de las plantas, para garantizar productos medicinales con calidad e inocuidad para el ser humano. Si bien las plantas medicinales han sido ampliamente utilizadas, no resultan suficientes los estudios científicos que avalen sus usos de manera segura. *Moringa oleifera* es una variedad vegetal originaria de la India, se introdujo en 1920, siendo empleada como ornamental. Es una especie sumamente resistente que no requiere demasiada atención fitosanitaria. Ha sido denominada vulgarmente como paraíso francés, poseyendo también otros nombres, tales como: acacia, ben y palo jeringa, así como tilo francés y tilo americano. Se han realizado estudios en las hojas, las flores, los frutos y las raíces, en los que se resalta su valor nutritivo. En cuanto a su valor medicinal, los estudios en varias partes de la planta, indican la presencia de compuestos a los que se le atribuyen actividades como: anticancerígena, antiinflamatoria, antidiabética, antioxidante y antimicrobiana, todas ellas implicadas en la capacidad de defensa que posee la planta (Surbhi K, Pushpa P, Amit R, Ram KS, 2014). La composición química de las especies vegetales está sujeta a cambios dependientes de la localización geográfica, altitud, temperatura, entre otras (Kuklinski C, 2000).

Es necesario, por tanto, aportar con afirmaciones veraces a las prácticas tradicionales que se le atribuyen a las plantas, tomando en consideración que la *Moringa oleífera* en estudio puede diferir de especies de otras regiones geográficas que se encuentran reportadas. En base a estos aspectos se propone realizar el estudio farmacognóstico preliminar de la raíz y del tallo de la especie *Moringa oleífera* Lam cosechada en los terrenos de la Universidad Técnica de Machala, a través de la determinación de algunos parámetros en la droga y en los extractos, con vistas a determinar semejanzas y diferencias con especies de otros orígenes geográficos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal: para el estudio se realizó la recolección manual de tallos y raíces de *Moringa oleífera* Lam procedentes de las áreas de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, en octubre del 2014. La misma fue identificada y herborizada en el Herbario Guay de la Universidad de Guayaquil Ecuador.

Tratamiento pos cosecha de la droga vegetal (tallos y raíces): Luego de la recolección del material vegetal, se seleccionaron los tallos y raíces que se encontraban en buen estado, se procedió a lavar con abundante agua potable y se continuó su lavado con agua destilada. Se secó la droga a temperatura ambiente en un secador artesanal, durante 48 horas. Posteriormente, en la raíz se separó la corteza de la pulpa y se continuó su secado por separado en una estufa (Memmert SNB 400) con circulación de aire a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta obtener un peso constante. Una vez obtenidas las drogas crudas, se procedió a la molienda tanto del tallo como de la corteza y la pulpa de la raíz, utilizando un molino de tornillo sin fin y disco giratorio eléctrico (Corona) hasta obtener un tamaño de partícula ≤ 2 mm.

Control de calidad de las drogas crudas: El control de calidad de los tallos y raíces (pulpa y corteza) se realizó según la metodología establecida por la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 2011). **Determinación de metales:** un gramo de cada una de las partes objeto de estudio (pulpa y corteza de raíz y tallo) fue secada en la estufa antes mencionada, a 38°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, la muestra fue tratada según la metodología propuesta por Rojas N, Lemus M, Rojas L, Martínez G, Ramos Y, Chung KS en el 2009.

La determinación de la concentración de los metales fue ejecutada en un espectrofotómetro de absorción atómica por vapor frío (Perkin Elmer 3110). Los resultados se expresaron como $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de peso de muestra seca. **Estudios químicos:** Como parte del estudio químico de la droga se realizó un tamizaje fitoquímico, siguiendo la metodología de Miranda y Cuellar (2000). En el estudio por cromatografía en capa delgada (CCD) las condiciones cromatográficas empleadas se establecieron según reportes bibliográficos (Lock O, 1988). Se emplearon placas de Sílica gel GF₂₅₄ (0,20 mm; Macherey-Nagel) sobre soporte de aluminio. Como fase móvil se empleó: Cloroformo: Acetato de etilo: Metanol: Agua (2,3: 8: 4,4: 2). El revelado físico se desarrolló a través de la luz ultravioleta, a una longitud de onda de 254 nm. Para el revelado mixto se utilizó una disolución de ninhidrina al 2% en agua. Se roció la placa y se calentó a una temperatura de 105 °C por 10 minutos. También se utilizó un revelado químico mediante el uso de la disolución de Dragendorff al 1 %.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Control de calidad de las drogas crudas: en la tabla 1 se presentan los valores correspondientes a la pérdida por desecación, las cenizas y las sustancias solubles.

Tabla 1: Parámetros fisicoquímicos del tallo, pulpa y corteza de raíz de *Moringa oleífera* Lam.

Muestras	Humedad % X / DS	Cenizas % X / DS	Sustancias solubles del EE % X / DS	Sustancias solubles del EA % X / DS
Corteza de raíz	5,61/0,07	0,10/0,00	2,50/0,61	3,87/0,07
Pulpa de raíz	6,37/0,04	1,84/0,34	1,39/0,24	3,76/0,10
Tallo	9,75/0,12	8,44/0,16	1,97/0,01	2,36/0,02

Leyenda: X= media DS= Desviación estándar EE: extracto etanólico EA: extracto acuoso

La determinación del contenido de humedad residual, permite evaluar la efectividad del método de secado empleado. Es un parámetro que debe controlarse pues si los valores son excesivamente altos, las muestras analizadas quedan susceptibles al crecimiento de diferentes colonias de microorganismos, tales como bacterias, hongos y levaduras¹⁰.

Se aprecia que las muestras de corteza de la raíz mostraron los menores valores de humedad residual, seguida de la pulpa de ese mismo órgano y que las muestras de tallo fueron las que exhibieron los mayores valores. Las Normas y Farmacopeas establecen, en dependencia del material vegetal, un contenido de humedad residual entre 8 y 14 %. En el estudio efectuado el promedio de las determinaciones en todos los casos, está por debajo del límite máximo admitido para algunas plantas (Prieto F, Callejas J, Lechuga A, Gaytán C, Barrado E, 2005). Al revisar la literatura especializada para esta especie se pudo comprobar valores de humedad para el tallo de alrededor de 7,25%. Estos se encuentran ligeramente inferiores a los obtenidos en nuestro estudio. Las diferencias pueden estar dadas porque los métodos de secado empleados fueron diferentes en cada caso así como las características ambientales de los lugares donde se realizaron los ensayos. No se constataron reportes de humedad para las raíces que permitan realizar un análisis comparativo (Surbhi K, Pushpa P, Amit R, Ram KS., 2014). Otro parámetro analizado fue las cenizas totales. Las mismas son indicativas de la calidad del material vegetal con que se trabaja, y constituyen una base para juzgar la pureza e identidad de la droga, brindando información relativa a la presencia o posible adulteración con materias inorgánicas, cuerpos extraños que posea la planta, o la cantidad de estos elementos en su contenido. La literatura sugiere valores de cenizas totales que no excedan el 5 % (Miranda M, Cuéllar A, 2001). En el estudio actual, las cenizas totales calculadas para la corteza y la pulpa de la raíz se encuentran dentro de estos límites. El valor obtenido para el tallo se encuentra por encima de lo recomendado lo que sugiere mayor acumulación de elementos inorgánicos en este órgano. Como se observa en la tabla 1, existe un porcentaje superior de sustancias solubles para el extracto acuoso en todos los órganos ensayados. Esto, a priori, puede sugerir trabajar con este extracto y no con el alcohólico. Este resultado solo brinda la capacidad extractiva total de un disolvente y no el tipo de metabolito a extraer. Por tanto, se debe tener en cuenta los propósitos que se quieren lograr con el extracto a preparar, el tipo de metabolito en particular que se quiere obtener y sobre todo la estabilidad del extracto para el trabajo posterior.

En tal caso, no resultan suficientes estos resultados para sugerir el tipo de disolvente particular a utilizar en la extracción. Se sugieren ensayos posteriores donde se prueben combinaciones hidro-alcohólicas con vistas a conseguir resultados donde el compromiso capacidad extractiva-tipo de metabolitos de interés-estabilidad, se cumplan en la mejor proporción posible.

Determinación de metales: las determinaciones obtenidas se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Contenido de metales pesados y algunos minerales del tallo, pulpa y corteza de raíz de *Moringa oleífera* Lam.

Analito	Tallo	Corteza raíz	Pulpa raíz
	C µg /kg)	C µg /kg)	C µg /kg)
Cadmio (Cd) 228,802	ND	ND	ND
Cobre (Cu) 327,393	4,7	ND	ND
Zinc (Zn) 206,200	13,7	9,0	9,8
Níquel (Ni) 231,604	ND	ND	ND
Cobalto (Co) 228,616	ND	ND	ND
Manganeso (Mn) 257,610	2,9	2	1,1
Hierro (Fe) 238,204	922	72	54
Plomo (Pb) 220,353	ND	ND	ND
Arsénico (As) 188,979	ND	ND	ND
Cromo (Cr) 267,716	3,9	ND	ND
Magnesio (Mg) 279,077	1104	811	758

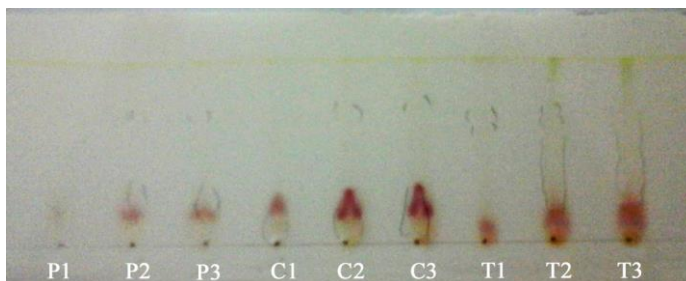
ND: No detectado

Como puede observarse, en el tallo no se detecta cadmio, níquel, cobalto, plomo ni arsénico y se encuentran presentes cobre, zinc, manganeso, hierro, cromo y magnesio.

En la raíz y su corteza coincide la presencia de zinc, hierro, manganeso y magnesio, no constatándose cadmio, cobre, níquel, cobalto, plomo, arsénico y cromo. Realizando un análisis comparativo de las tres partes estudiadas se observa la ausencia de cadmio, níquel, cobalto, plomo y arsénico en todas ellas. Se puede constatar que los elementos más tóxicos (Cadmio, Mercurio, Plomo, Antimonio, Bismuto, Estaño y Talio) se encuentran ausentes en ambos órganos. Los metales que se encuentran presentes en estos se encuentran, en todos los casos, dentro de los límites de fitotoxicidad permisibles y algunos de ellos resultan extremadamente beneficiosos para las plantas (Prieto F, Callejas J, Lechuga A, Gaytán C, Barrado E., 2005). En todos los casos se encuentran en mayor cantidad acumulados en el raíz y descarta que se deba a la presencia de metales tóxicos. Mención especial hay que hacer al hierro, el cual se encuentra en concentraciones muy elevadas, sobre todo en el tallo, y que apoya el uso como complemento nutricional que se le sugiere a la especie.

Estudios químicos: los estudios químicos comprendieron ensayos de tamizaje fitoquímico y estudios a través de CCD. El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés (Lock O., 1988). Al analizar los resultados se sugiere que en las raíces no se encuentran aceites y grasas, compuestos fenólicos, catequinas, glicósidos cardiotónicos, quinonas y resinas, al menos en concentraciones detectables por el método. Se propone contengan triterpenos y esteroides, azúcares reductores, alcaloides, flavonoides, aminoácidos y saponinas. La literatura refiere que las raíces de la especie son ricas en alcaloides además de otros compuestos tales como: fitosteroles, ceras, resinas, zeatina, quercetina, ácido cafeoilquínico, pterigospermina y kaempferol (Surbhi et al 2014). Los resultados se encuentran en total concordancia con estos reportes, tomando en consideración los que se pueden detectar mediante este tipo de ensayo. En este estudio solo se visualizó una discreta diferencia entre la corteza y la pulpa para el ensayo de mucílagos que dio positivo en la corteza y no en la pulpa. La presencia de estos en la corteza de la raíz puede deberse a que en este órgano, en ocasiones, se producen mucílagos para fijar la planta a la tierra.

Se puede observar que en los ensayos practicados para el extracto etéreo de los tallos, solo dio positivo el de detección de triterpenos y esteroides; en el extracto acuoso mucílagos, saponinas y sustancias reductoras y en el etanólico, donde se observó mayor variedad de metabolitos, aminoácidos, catequinas, saponinas, sustancias reductoras, compuestos fenólicos, triterpenos y esteroides y alcaloides. Esto permite sugerir la presencia de alcaloides, triterpenos y esteroides, sustancias reductoras, saponinas, catequinas, mucílagos, compuestos fenólicos y aminoácidos. La literatura establece la presencia de alcaloides, así como también vainillina, sitosterol, β - sitosterona, 4-hidroximellina y ácido octacosanoico. Del tallo se obtiene una goma que contiene L-arabinosa, galactosa, ácido glucurónico, y L-rhamnosa, manosa, xilosa y polisacáridos. Los resultados se encuentran en concordancia con lo reportado para este órgano (Surbhi et al, 2014). La figura 1 muestra los resultados obtenidos en el estudio por CCD para los extractos ensayados.



Leyenda: P: pulpa de la raíz; C: corteza de la raíz; T: tallo. 1: una aplicación con el capilar; 2: dos aplicaciones con el capilar, 3: tres aplicaciones con el capilar

Figura 1: Cromatograma en capa delgada de la pulpa de la raíz, la corteza de la raíz y el tallo, revelado con Ninhidrina.

Al analizar los resultados del estudio por CCD (figura 1), se observa que, en los tres tipos de extractos, a medida que aumentó la cantidad del extracto aplicado, se visualizan con mayor claridad las manchas cromatográficas. En los tres extractos (P, C y T) se pudieron apreciar manchas que revelaron bajo la luz ultravioleta (señaladas con paréntesis a mayores valores e Rf) y dos manchas coloreadas, luego del revelado mixto, una amarilla, de menor Rf y otra violácea de mayor Rf. La estructura de los componentes que revelan frente al UV debe corresponder a compuestos con insaturaciones conjugadas.

Las manchas coloreadas sugieren la presencia de compuestos con grupos aminos libres (fenilmetilaminas), los que son capaces de reaccionar con la ninhidrina produciendo esas coloraciones características. La apariencia de las machas obtenidas para los tres tipos de extractos sugiere que la naturaleza de sus componentes es similar; sin embargo, las diferencias en cuanto a apariencia y valores de Rf de las manchas sugieren estructuras diferentes. La idea de la presencia en dichas muestras de alcaloides derivados de la fenilmetilamina se pudo reforzar al realizar un corrida cromatográfica bajo las mismas condiciones, pero revelando con el reactivo de Dragendorff. Para este ensayo el resultado resultó negativo, lo que reafirma la idea de que los alcaloides presentes en estos órganos de la planta resultan ser protoalcaloides, es decir aminas simples, en los que el nitrógeno no forma parte de un anillo heterocíclico. Los reportes para estos órganos de la especie confirman este resultado ((Lock O., 1988; Dierksmeier, G, 2005).

CONCLUSIONES

El estudio permitió establecer parámetros de calidad de la droga cruda para la especie estudiada; comprobar la ausencia de metales tóxicos en los órganos estudiados y sugerir, en principio, semejanzas en composición química de la planta analizada con otras especies de orígenes geográficos diferentes.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (2000). Situación reglamentaria de los medicamentos. Una reseña mundial. Ginebra. OMS. 1-12
2. Surbhi K, Pushpa P, Amit R, Ram KS. (2014). An Overview on Phytochemistry and Pharmacological Explorations of *Moringa oleifera*. Revista Ciencias Médicas; 2(1): 43
3. Kuklinski C. (2000) Farmacognosia. Estudio de las sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Editorial Omega. 1-24.
4. World Health Organization. (2011). Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva. WHO 1. 1-4, 26-31.
5. Rojas N, Lemus M, Rojas L, Martínez G, Ramos Y, Chung KS. (2009). Contenido de mercurio en *Perna viridis* en la costa norte del Estado Sucre, Venezuela. Ciencias marinas; 35 (1): 91-99.

6. Miranda M, Cuellar A.(2000). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Editorial Félix Varela. 70-110
7. Lock O. (1988). Investigación fitoquímica. Métodos para el estudio de los productos naturales. Lima: 1^{era} edición. Editorial Fondo. 1-111.
8. Dierksmeier, G. (2005). Métodos cromatográficos. Capítulo 1. Origen y desarrollo de los métodos cromatográficos. La Habana: Editorial Científico Técnica.
9. Miranda M, Cuéllar A. (2001) Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Editorial Félix Varela. 135-145
10. Prieto F, Callejas J, Lechuga A, Gaytán C, Barrado E. (2005) .Acumulación en tejidos vegetales de arsénico proveniente de aguas y suelos de Zimapán, Estado de Hidalgo, México. Revista Bioagro; 17 (3). 129-135.