

Marcha fitoquímica comparativa entre las hojas y los rizomas de *Smilax campestris* Griseb. –Smilacaceae-

Ana Rugna*, Alejandro Vugin, Alberto Gurni y Marcelo L. Wagner

Cátedra de Farmacobotánica. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956 4º piso (1113) Buenos Aires. República Argentina.

*Autor a quien dirigir la correspondencia. Correo electrónico: azrugna@huemul.ffyb.uba.ar

Resumen

Smilax campestris es una planta de uso popular que está muy distribuida en la Argentina y se la conoce con el nombre de zarzaparrilla.

Los estudios fitoquímicos preliminares en *Smilax campestris* fueron realizados sobre las partes aéreas de la planta. Sin embargo, no se han realizado, hasta el momento, estudios sobre los rizomas de *S. campestris*, a pesar de su importancia farmacológica comprobada.

El objetivo de este trabajo fue comparar el perfil fitoquímico de los rizomas y de las hojas de *S. campestris* que crecen en la Argentina.

Los materiales vegetales que se emplearon fueron las hojas y los rizomas de *S. campestris* provenientes de Puerto Gaboto, en la provincia de Santa Fe. Los extractos acuosos de los órganos de las plantas fueron analizados mediante el rociado con reactivos específicos sobre placas de celulosa.

Pudo determinarse tanto en las hojas como en los rizomas de los ejemplares estudiados, la presencia de fenoles, cumarinas, compuestos con grupo indólico, flavonoides y esteroides. Estos esteroides podrían corresponder a las saponinas esteróideas, que son consideradas las principales responsables de la actividad farmacológica del género *Smilax*. Las concentraciones de estos esteroides fueron significativamente mayores para los rizomas que para las hojas. Este dato es relevante para el género *Smilax* y, en particular, para *S. campestris*, ya que los rizomas corresponden a la parte empleada de la planta en medicina vernácula.

Comparative phytochemical screening on leaves and rhizoms from *Smilax campestris* Griseb. –Smilacaceae-

Summary

In the beginning of the XV Century the “zarzaparrillas” were known by their antirheumatic, tonic and depurative properties.

Previous phytochemical surveys were performed on the aerial parts from *Smilax campestris* Griseb. However, at present no research was developed on the rhizomes, despite the fact that they are the main used part of the plant because of the pharmacological properties.

The aim of this paper is to compare the phytochemical profiles of leaves and rhizomes from this species growing in Argentina.

Plant material (leaves and rhizomes) came from Puerto Gaboto in the province of Santa Fe. The aqueous extracts were analyzed by means of spraying specific reagents on chromatograms obtained by thin layer chromatography on cellulose plates.

In both organs the presence of phenols, coumarins, indolic compounds, flavonoids and steroids could be detected. These steroids would be steroid saponins, which are probability, responsible for the pharmacological activity of species belonging to the genus *Smilax*.

PALABRAS CLAVE: *Smilax campestris* - Smilacaceae - saponinas esteróideas - marcha fitoquímica.

KEY WORDS: *Smilax campestris* - Smilacaceae - steroid saponins - phytochemical screening.

The concentrations of these steroids were higher in rhizomes than in leaves. This fact is relevant for the genus *Smilax* and in particular for *S. campestris*, because the rhizomes are the main part of the plant used in folk medicine.

Introducción

El uso de las “zarzaparrillas” data de principios del siglo XV; ya entonces eran conocidas sus propiedades antirreumáticas, tónicas y depurativas de la sangre, término que en la actualidad fue reemplazado por diurético y diaforético (Mandrile y Bongiorno, 1991), y también como adyuvante en la disfunción sexual (Villalobos y col., 1998).

Diferentes especies de *Smilax* fueron incorporadas en distintas farmacopeas del mundo, tal como la USP y la British Pharmacopoeia durante el siglo XIX. Asimismo, la Farmacopea Nacional Argentina incorporó, en su segunda edición, las raíces y los rizomas de “zarzaparrilla” o “sarsaparrilla” y las especies incluidas fueron: *S. medica* Cham. et Schlecht, *S. ornata* Hook., *S. papyraceae* Duhamel y *S. officinalis* Kunth (Liliaceae) (F.N.A., 1921).

En la Argentina se conocen 8 especies del género *Smilax* y *S. campestris* Griseb. constituye la de mayor abundancia debido a su amplia distribución geográfica (Guaglianone y Gattuso, 1991).

Los estudios fitoquímicos preliminares fueron realizados sobre las hojas por Bandoni y col. (1976) y en las partes aéreas por Rondina y Coussio (1981) de *S. campestris* y de otras especies que no crecen en la Argentina. Sin embargo, no se han realizado, hasta el momento, estudios sobre los rizomas de *S. campestris*, a pesar de la importancia farmacológica comprobada (Mandrile y Bongiorno, 1991).

El objetivo de este trabajo fue comparar el perfil fitoquímico de los rizomas y de las hojas de *S. campestris* que crecen en la Argentina.

Materiales y métodos

Material vegetal

Los materiales vegetales que se emplearon fueron las hojas y los rizomas de *S. campestris* provenientes de Puerto Gaboto, en la provincia de Santa Fe. El ejemplar de herbario está depositado en el Museo de Farmacobotánica “Juan A. Domínguez” (BAF N° 4565).

Métodos

El material vegetal empleado en este trabajo fue secado al aire a temperatura ambiente. Un gramo de hojas y de rizomas secos fueron utilizados separadamente para la preparación de cocimientos durante 5 minutos con agua destilada. Los extractos obtenidos fueron filtrados y llevados a un volumen final de 10 ml de extracto con agua destilada (10% P/V). Luego se realizaron ocho cromatografías bidimensionales, en capa fina de celulosa, para cada extracto. Fueron efectuadas siembras puntuales con 20 µl de cada extracto y las cromatografías fueron desarrolladas en forma bidimensional. Para la primera dimensión se utilizó BAA (n-butanol-ácido acético-agua; 6 : 1 : 2; v : v : v) y, para la segunda dimensión, agua destilada.

Una vez que los cromatogramas estuvieron secos se observaron con luz ultravioleta antes y después de exponerlos a los vapores de amoníaco (Markham, 1982; Wagner, 1996; Stahl, 1969). Luego, cada uno de los ocho cromatogramas de cada extracto en estudio fue rociado con uno de los siguientes reactivos:

- ♦ solución al 0,3% de peróxido de hidrógeno para la determinación de ácidos aromáticos;
- ♦ solución de anisaldehído en ácido sulfúrico concentrado y posterior exposición al calor para saponinas, terpenos y lignanos;
- ♦ reactivo de Bornträger para quinonas y cumarinas;
- ♦ reactivo de Dragendorff diluido al 10% para alcaloides y otros compuestos nitrogenados;
- ♦ solución al 0,74% de formol para compuestos aromáticos polinucleares;
- ♦ reactivo de Prochaska para compuestos indólicos;
- ♦ ácido sulfúrico concentrado como reactivo general para compuestos orgánicos;
- ♦ reactivo AEDBE (Naturstoffreagenz A) para flavonoides y cumarinas.

Se determinó la presencia de polifenoles mediante la técnica de Price-Butler (Waterman y Mole, 1994). A tal efecto, un gramo de material seco de cada órgano estudiado fue macerado en 10 ml de metanol 50%, a temperatura ambiente durante 24 horas y en la oscuridad. Se partió de 250 µl de extracto diluidos

en 25 ml de agua; se adicionaron 3 ml de cloruro férrico 0,1 M; luego de 3 minutos fueron agregados 3 ml de ferricianuro de potasio 8 mM. Las lecturas de las absorbancias a 720 nm fueron realizadas 15 minutos más tarde.

Resultados

En las tablas 1 y 2 se detallan los resultados obtenidos.

Referencias de las tablas

Rfa: valor de referencia de corrida en porcentaje en la dimensión agua; Rfb: valor de referencia de corrida en porcentaje en la dimensión BAA; UV: detección a la luz ultravioleta (254 y 366 nm); NH₃: detección a la luz ultravioleta con vapores de amoníaco; a: anisaldehído; B: reactivo de Bornträger; D: reactivo de Dragendorf; f: formol; P: reactivo de Prochaska; H: peróxido de hidrógeno; S: ácido sulfúrico; A: AEDBE; na: no absorbe; ver: verde; osc: pardo

oscuro; cel: celeste; am: amarillo; anar: anaranjado; amn: amarillo – anaranjado.

En las hojas fueron determinadas 12 manchas a la luz ultravioleta. Las manchas numeradas del 13 al 17 fueron observadas solamente después de la exposición de los cromatogramas a los reactivos de Prochaska (15 y 16), de Dragendorf (17) y ácido sulfúrico concentrado (13 y 14).

En los rizomas fueron halladas 4 manchas bajo la luz ultravioleta. Las manchas 5,6 y 7 fueron observadas solamente después de la exposición de los cromatogramas a los reactivos de Bornträger (7) y de ácido sulfúrico concentrado (5 y 6).

Tanto las manchas 13 y 14 de las hojas como las 5 y 6 de los rizomas fueron observadas de color rosa en el primer momento y luego viraron a un color marrón. Este viraje de colores ha sido descrito en la bibliografía (Stahl, 1969) como característico de derivados esteroides. Sin embargo, el ácido sulfúrico no es específico para esteroides y debe relacionarse con los resultados obtenidos con la reacción de anisaldehído-sulfúrico.

Tabla 1.- Determinaciones realizadas en las hojas

Tabla 1 A

Nº de mancha	Rfa%	Rfb%	UV	NH ₃	H	a	B	D	f	S	P	A
1	1,8	12,9	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	-
2	5,3	33,5	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	-
3	9,4	51,8	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	-
4	11,2	70,6	osc	osc	-	+	-	-	-	-	-	anar
5	17,6	81,2	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	am
6	31,2	60,1	osc	am	-	+	+	-	+	+	-	anar
7	32,9	75,3	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	am
8	35,7	1,1	osc	amn	-	-	-	-	+	-	-	-
9	49,4	64,7	osc	osc	-	+	-	-	+	-	-	anar
10	51,2	74,7	osc	osc	-	-	+	-	-	+	-	am
11	56,6	1,0	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	-
12	60,6	54,1	na	cel	-	-	-	-	-	-	-	anar

Tabla 1 B

Nº de mancha	Rfa%	Rfb%	UV	NH ₃	H	a	B	D	f	S	P	A
13	1,0	71,2	na	na	-	-	-	-	-	+	-	-
14	1,0	86,5	na	na	-	-	-	-	-	+	-	-
15	25,9	52,9	na	na	-	-	-	-	-	-	+	-
16	49,9	23,5	na	na	-	-	-	-	-	-	+	-
17	91,2	2,0	na	na	-	-	-	+	-	-	-	-

A: Manchas que absorben al UV (254 y 366 nm).

B: Manchas que no absorben al UV (254 y 366 nm).

Tabla 2.- Determinaciones realizadas en los rizomas**Tabla 2 A**

Nº de mancha	Rfa%	Rfb%	UV	NH ₃	H	a	B	D	f	S	P	A
1	3,6	11,2	osc	amn	-	-	-	-	+	-	+	anar
2	13,3	33,5	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	anar
3	18,1	42,9	osc	osc	-	-	-	-	-	-	-	anar
4	91,6	55,3	ver	ver	-	-	+	-	+	-	-	-

Tabla 2 B

Nº de mancha	Rfa%	Rfb%	UV	NH ₃	H	a	B	D	f	S	P	A
5	1,0	76,5	na	na	-	-	-	-	-	++	-	-
6	1,0	88,8	na	na	-	-	-	-	-	++	-	-
7	20,5	66,5	na	na	-	-	+	-	-	-	-	-

A: Manchas que absorben al UV (254 y 366 nm).

B: Manchas que no absorben al UV (254 y 366 nm).

El estudio de fenoles resultó positivo tanto para los rizomas como para las hojas.

Discusión

Pudo determinarse la presencia de fenoles tanto en las hojas como en los rizomas de los ejemplares estudiados. Estos datos se correlacionan con los descritos en la bibliografía (Bandoni y col, 1976).

No se han detectado ácidos aromáticos ni en las hojas ni en los rizomas mediante la reacción con agua oxigenada.

De acuerdo con la tabla 1 A se determinó la presencia de compuestos que resultaron positivos para las reacciones de Bornträger y AEDBE (manchas 6 y 10), resultados probablemente compatibles con las cumarinas, halladas solamente en las hojas, a pesar de que las cumarinas no habían sido detectadas con anterioridad.

En ambos extractos fueron detectados compuestos con grupo indólico que no se corresponden con alcaloides porque no dieron positiva la reacción de Dragendorff. Sin embargo, la mancha 17 en las hojas es la única positiva para la reacción de Dragendorff. Este resultado se correlaciona con el hallado por

Rondina y col. (1981) para las hojas de *S. campestris*, y con los resultados obtenidos por Cáceres y col. (1998) para *S. regelii*.

A partir de los datos de la tabla 1 A se determinó la presencia de flavonoides en las hojas de *S. campestris*, dado que aparecen manchas pardo oscuras a la luz UV que, aunque no viran con la exposición a vapores de amoníaco, reaccionan con el reactivo AEDBE. Estos datos se correlacionan con los resultados obtenidos en trabajos previos, en que fue descrita la presencia de quercetina, camferol e isoramnetina (Rugna y col., 1999). Por otra parte, de los datos de la tabla 2 A también se confirmó la presencia de flavonoides en los rizomas, empleando el mismo procedimiento.

Además, en las hojas fueron detectadas manchas compatibles con compuestos esteróideos. En los rizomas la producción de estos compuestos se repite, aunque no se obtuvieron datos certeros que indiquen que correspondan a las saponinas.

Conclusiones

Del análisis de los resultados expresados en las tablas 1 y 2 se puede concluir que existen diferentes grupos

de compuestos en las hojas y en los rizomas de *Smilax campestris*. Por lo tanto, este estudio podría utilizarse como método de control de calidad de los extractos de la planta o para complementar los controles microscópicos de esta droga vegetal en polvo.

Sería de especial importancia realizar una identificación de los diferentes compuestos de *S. campestris*, tal como se publicó anteriormente con los flavonoides de las hojas (Rugna y col., 2002), en especial los compuestos esteróideos.

Agradecimientos

A la Prof. Dra. Susana Gattuso, quien aportó y determinó el material estudiado y a la Universidad de Buenos Aires por la provisión de los subsidios TB038 y B046, que financian este estudio.

Referencias bibliográficas

- Bandoni, A.L.; Mendiando, M.E.; Rondina, R.V.D. y Coussio, J.D. (1976) "Survey of Argentine Medicinal Plants: Folklore and Phytochemical Screening. II." *Economic Botany* 30: 161 - 185.
- Cáceres, A. (1998). "Zarzaparrilla". Turrialba, Costa Rica: 34 - 42. Farmacopea Nacional Argentina. II ed. (1921).
- Guaglianone, R. y Gattuso, S. (1991). "Estudios taxonómicos sobre el género *Smilax* (Smilacaceae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 27 (1-2): 105 - 129.
- Mandrile, E.L. y Bongiorno de Pfirter, G. (1991). "Zarzaparrilla. *Smilax campestris* Grisebach (Smilacaceae)". *Bifase* 6 (4): sn.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoids Identification*. Academic Press, New York: 1 - 113.
- Rondina, R.V.D. y Coussio, J.D. (1981). "Ensayos fitoquímicos orientativos de plantas con actividad farmacológica potencial" Laboratorio de Etnofarmacognosia. FfyB, UBA. Buenos Aires: 1 - 53.
- Rugna, A.Z.; Gurni, A.A. y Wagner, M.L. (1999). "Progress in studies on flavonols from *Smilax campestris* Griseb. -Smilacaceae-" *Acta Horticulturae* (501): 191 - 193.
- Rugna, A.Z.; Gurni, A.A. y Wagner, M.L. (2002). "Estudio variacional de flavonoides en ejemplares masculinos y femeninos de *Smilax campestris* Griseb. -Smilacaceae-" *Acta Farmacéutica Bonaerense* 21 (2): 119 - 121.
- Stahl, E. (1969). *Thin layer chromatography*. Springer - Verlag, Berlin: 421 - 905.
- Villalobos, R.; Ocampo, R.; Dalle, S. y Robles, G. (1998). *Plantas medicinales del género Smilax en Centroamérica*. Turrialba, Costa Rica: 61 - 80.
- Wagner, H. (1996). *Plant drug analysis*. Springer - Verlag, Berlin: 196 - 245.
- Waterman, P.G. y Mole, S. (1994). *Analysis of Phenolic Plant Metabolites*. Blackwell Scientific Publication, Oxford: 1 - 238.