

TRABAJOS ORIGINALES

Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundarios en el extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed

External use healing activity of secondary metabolites in the ethanolic extract of Senecio culcitoides Weed leaves

Marcela Soriano¹, Pablo Bonilla¹, Jorge Arroyo², Sonia Pereyra³.

RESUMEN

La especie fue recolectada en la localidad de Ticlio (situada a la altura del kilómetro 130 de la carretera central, en la zona de sierra del departamento de Lima). Esta especie es clasificada en el Museo de Historia Natural como *Senecio culcitoides* Leed, con nombre vulgar de huira-huira, huajchor o semaro-huamasti. El objetivo fue elucidar la estructura química de algunos metabolitos secundarios presentes en las hojas y evaluar su actividad cicatrizante. Se realizó el estudio fitoquímico, encontrándose gran cantidad de compuestos fenólicos, como flavonoides y taninos, además de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides. La elucidación estructural mediante espectroscopia ultravioleta-visible y reacciones químicas, determinó que pertenecían a compuestos fenólicos tipo flavonoides-derivados del núcleo flavanonona (5,7-dihidroxi-4',6',8-trimetoxiflavanonona,3',5'-dihidroxi-4-metoxi-7-O-rhannoglucosyl flavanonona) y una chalcona (5,4-dihidroxichalcona). La actividad cicatrizante del extracto etanólico al 20% en forma de crema, fue evaluada de acuerdo al método tensiométrico. Se observó que los niveles de resistencia a la tensión del extracto etanólico del *Senecio culcitoides* Weed presentó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) al ser comparado con el control, que fue la crema base cetiol lanette 6% y como estándar el fármaco sangre de grado al 1% (Vibe ®). Estos resultados fueron corroborados con los respectivos estudios histológicos.

Palabras clave: *Senecio culcitoides* weed; Flavonoides; Actividad cicatrizante.

SUMMARY

The vegetable species in study was located and gathered in the village of Ticlio (located among 4500 to 5000 meters above sea level, around 130km east from Lima city, in the highlands of the department of Lima). It was classified at the Museum of Natural History as *Senecio culcitoides* Weed, which vulgar names are huira-huira, huajchor and semaro-huamasti. The objective is to elucidate the chemical structure of some secondary metabolites in leaves and to evaluate the healing activity. A phytochemical study was carried out, a great quantity of phenolics compound, as flavonoides and tannins, besides alkaloids, steroids and/or triterpenoids were found. The structures were elucidated by means of ultraviolet-visible spectroscopy and chemical reactions. It was determined that they belonged to phenolic compounds derived from the nucleus (5,7-dihidroxi-4',6',8-trimetoxiflavanonona,3',5'-dihidroxi-4-metoxi-7-or-rhannoglucosyl flavanonona) and chalcona (5,4-dihidroxichalcona).

The evaluation of the healing activity of the 20% extract in form of cream was made by the tensiometric method. The ethanolic extract *Senecio culcitoides* Weed is statistically different ($p < 0.05$) compared to cetiol lanette 6% (control) and sangre de grado 1% (Vibe ®); these results were corroborated with the respective histology.

Key words: *Senecio culcitoides* Weed; Flavonoides; Healing activity.

1 Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2 Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3 Laboratorio de Anatomía Patológica del Instituto especializado de Salud del Niño.

Correo electrónico: investigacion.fyb@unmf.edu.pe

INTRODUCCIÓN

En el Perú existe la mayor diversidad de especies del género *Senecio* perteneciente a la familia *Asteraceae*, con 180 especies que habitan en regiones de altitudes superiores a los 4 500 msnm^{1,2}. Es conocido que las especies del género *Senecio* tienen buena actividad en el tratamiento del asma bronquial³ y también se han reportado resultados óptimos de efecto anti-inflamatorio, analgésico y antioxidante⁴.

El presente trabajo fue realizado con el objetivo de elucidar la estructura química de algunos metabolitos secundarios presentes en hojas de *Senecio culcitoides* Weed (de nombre vulgar huira-huira, huajchor o semaro-huamasti según Soukup⁵) y evaluar su actividad cicatrizante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Las hojas de *Senecio culcitoides* Weed fueron recolectadas en el mes de febrero en la localidad de Ticlio, provincia de Huarochirí, departamento de Lima (zona de sierra de Lima, entre los kilómetros 125 y 130 de la carretera central) entre 4 500 y 5 000 msnm.

Material de laboratorio

Preparación del extracto. Se maceraron 300g de polvo de hojas de *Senecio culcitoides* Weed en 800ml de etanol al 95% durante siete días, posteriormente el líquido filtrado fue concentrado a sequedad a 40°C.

Ensayo de solubilidad. Se realizó en solventes de polaridad creciente: n-hexano, cloroformo, acetato de etilo, butanol, etanol, metanol y agua.

Ensayo fitoquímico. La detección de los constituyentes químicos del extracto etanólico se realizó siguiendo la marcha fitoquímica general⁶.

Ensayos cromatográficos.

Cromatografía analítica preliminar. El extracto etanólico se desarrolló en cromatoplasmas con el sistema de solventes: cloroformo: metanol 9:1 y butanol: ácido acético: agua 4:1:5⁷; las que fueron reveladas con tricloruro férrico, H₂SO₄ 50%, vapores de amoníaco, luz UV de 254 y 366nm; detectándose la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, glicósidos y otros metabolitos secundarios.

Cromatografía en capa fina a escala preparativa. Se realizó la siembra en banda en cromatoplasmas de silicagel G-60 de 20x20cm para obtener las fracciones respectivas.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE

Se realizó siguiendo el método tensiométrico según el modelo de Vaisberg et al.⁸ utilizándose ratas albinas Sprague dawley con un peso aproximado de 200 a 220g. Fueron preparadas cremas del extracto de *Senecio culcitoides* Weed al 20%, comparándose con el control (crema base cetiol lanette 6%) y sangre de grado al 1% (Vibe ®), administrados por vía tópica durante siete días. Luego los animales fueron sacrificados y se midió la resistencia a la apertura de las heridas mediante un dinamómetro adaptado.

RESULTADOS

Estudio químico

Pueden observarse los resultados del estudio químico en las **tablas I, II y III**.

Tabla I. Marcha de solubilidad del extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed.

Solvente	Extracto etanólico
n-hexano	-
Cloroformo	+
Acetato de etilo	+
Butanol	+
Etanol	+++
Metanol	++
Agua	-

(-) insoluble, (+) poco soluble, (++) soluble y (+++) muy soluble.

Tabla II. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed.

Metabolito	Extracto etanólico
Carbonilo	++
Glicósidos	++
Compuestos fenólicos	+++
Taninos	++
Flavonoides	+++
Alcaloides	++
Esteroides y/o terpenoides	++
Lactonas	++

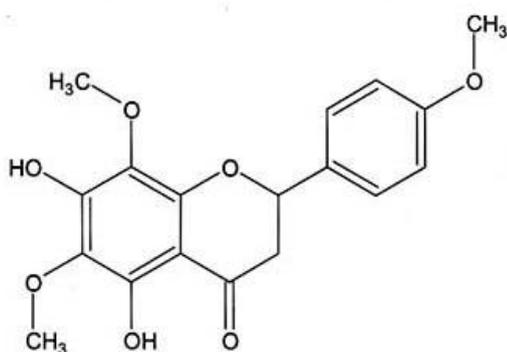
(++) mediana cantidad (+++) mayor cantidad.

Tabla III. Cromatografía en capa fina analítica del extracto etanólico.

Rf	UV 366 nm	Vapores NH ₄ +UV	FeCl ₃	H ₂ SO ₄ 50%
F1 0.35	Púrpura intenso	Celeste	Mancha negruzca	Verde limón
F2 0.54	Púrpura	Celeste	Mancha negruzca	Verde limón
F3 0.84	Amarillo	Naranja	Mancha negruzca	Verde limón

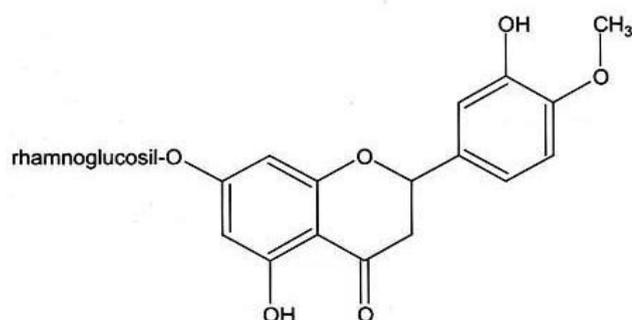
Las estructuras químicas propuestas para los compuestos hallados son:

Compuesto 1 (F1): 1 284, 329nm.



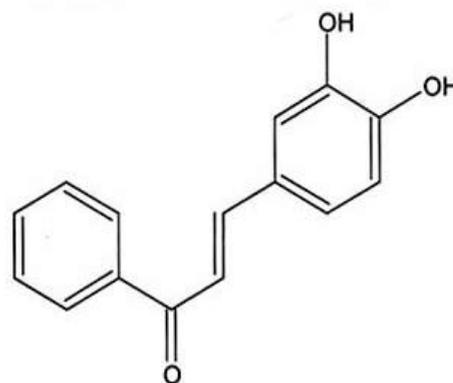
5,7-DIHDROXI-4',6',8'-TRIMETOXIFLAVANONONA

Compuesto 2 (F2): 1 283, 326nm.



3',5'-DIHDROXI-4-METOXI-7-RHAMNOGLUCOSILFLAVANONONA

Compuesto 3 (F3): 1 265, 316, 365nm.



3,4-DIHDROXICHALCONA

Estudio farmacológico

Al hacer la comparación de la actividad cicatrizante, se empleó como indicador la resistencia a la tensión (g). Estadísticamente hubo diferencia entre los grupos (valor p para ANOVA <0.05), siendo esta diferencia significativa entre el grupos control y el *Senecio* y entre el control y el estándar (prueba de Tukey) (**gráfico 1**).

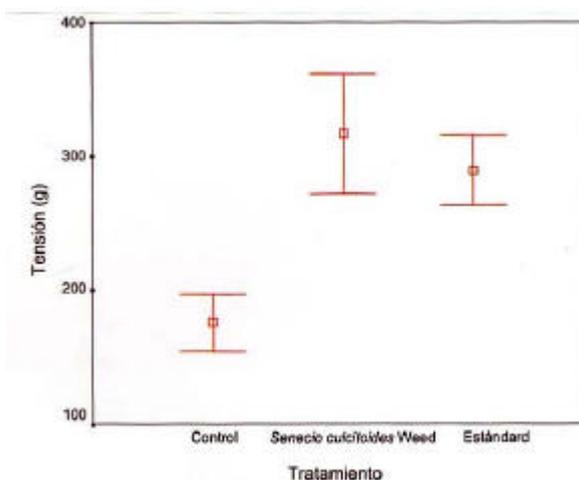
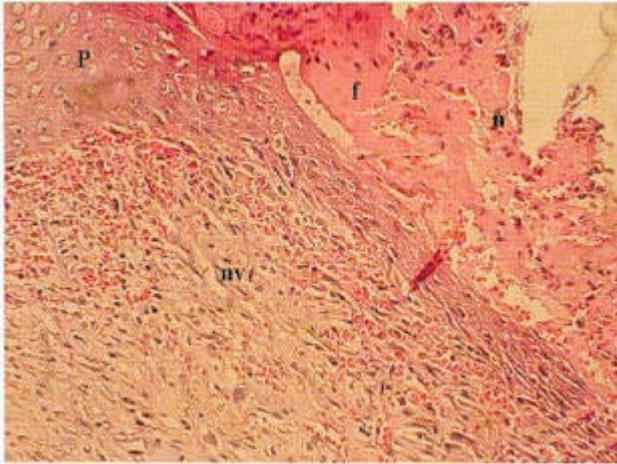


Gráfico 1. Actividad cicatrizante del extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Wedd expresado como resistencia a la tensión (g).

Estudio histológico

Corte histológico del control (cetirol lanette 6%). Se observó escasa presencia de neovasos, fibrina y neutrófilos, formando así una costra (**fotografía 1**).

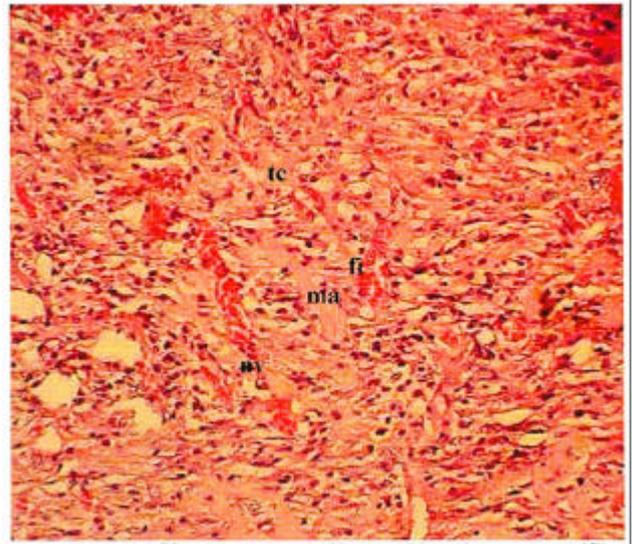


Fotografía 1: P: piel, nv: neovasos, f: fibrina, n: neutrófilos. HE 40x.

Corte histológico del extracto al 20%. Se observó extenso tejido de granulación conformado por neovasos y fibrina, abundantes fibras de colágeno central regenerando el tejido (**fotografías 2 y 3**).



Fotografía 2: P: piel; TG: tejido de granulación; tc: tejido colágeno; n: neutrófilos; m: macrófagos; nv: neovasos; fi: fibrina. HE 20x.



Fotografía 3: P: piel; TG: tejido de granulación; tc: tejido colágeno; n: neutrófilos; m: macrófagos; nv: neovasos; fi: fibrina. HE 40x.

Corte histológico de sangre de grado al 1%. Se observó presencia regular de tejido de granulación formado por neovasos y fibrina.



Fotografía 4. TG: tejido de granulación; n: neutrófilos; fi: fibrina. H-E 40x.

DISCUSIÓN

La **tabla I** muestra una mayor solubilidad del extracto etanólico en solventes polares, lo que indica una presencia mayoritaria de compuestos de alta polaridad. La **tabla II** muestra, según la marcha fitoquímica, que el extracto en investigación contiene compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, glicósidos, sesquiterpenlactonas, esteroides y/o triterpenos, destacando como constituyentes mayoritarios los flavonoides. Como se muestra en la **tabla III**, se obtuvieron tres fracciones a partir del extracto etanólico mediante ensayos cromatográficos, las cuales de acuerdo a reacciones químicas y por métodos espectroscópicos UV-visible, fueron elucidadas estructuralmente como flavonoides de núcleo flavanonona (5,7-dihidroxi-4',6',8-trimetoxiflavanonona, 3',5'-dihidroxi-4-metoxi-7-O-rhannoglucosyl-flavanonona) y una chalcona (5,4-dihidroxicalcona).

Los resultados farmacológicos se muestran en el **gráfico 1**. La actividad cicatrizante del extracto etanólico de hojas de *Senecio culcitoides* Weed fue expresada como resistencia a la tensión (g); se comprobó el grado de eficacia que presenta la crema del extracto al 20% comparándose con el estándar sangre de grado al 1% y la crema base como control (cetirol lanette 6%). La prueba de Tukey indica que la diferencia es estadísticamente significativa. En el **gráfico 1** también se observa que el extracto etanólico al 20% tiene un comportamiento semejante al estándar utilizado. Los datos estadísticos se corroboran con el estudio histológico, donde se observa que la crema del extracto al

20% produce mayor cantidad de tejido de granulación, neovasos, fibroblastos y presencia de tejido colágeno central, al compararla con el estándar y control.

Los flavonoides intervienen en la cicatrización porque evitan la liberación de prostaglandinas, histaminas, evitan la migración de elementos formes (neutrófilos y otros). Además, estabilizan la membrana celular capturando a los radicales libres presentes, evitando así el daño celular y activando el complejo sistema bioquímico para la regeneración del tejido⁹.

CONCLUSIONES

- La gran presencia de compuestos fenólicos presentes en el extracto, especialmente del tipo flavonoides, puede ser responsable de la actividad cicatrizante.
- El extracto etanólico del *Senecio culcitoides* Weed presentó una diferencia significativa al ser comparado con el fármaco sangre de grado al 1% (Vibe ®) y el control, corroborándose con los respectivos estudios histológicos.

AGRADECIMIENTO

A la Dra. Berta Pareja por su motivación y consejos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRAKOL, ZARUCHI J. Catalogue of flowering Plants and Gymnosperm of Perú. Monograph in Sistematic Botany from the Missouri Botanical Garden; 1993.
2. Classification and diversity of Asteraceae in Peru. Certificado (Base de datos en Internet) (Actualizado sept. 2003) <http://www.sacha.org/fenil/aster/peruaster.html>.
3. BRAGG A. Diccionario Enciclopédico de Plantas útiles del Perú. Centro de estudios regionales andinos Bartolomé de las Casas. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo; 1999.
4. BONILLA P, LOZANO M, ARROYO J, et al. Acción antiinflamatoria, antioxidante y analgésica de compuestos fenólicos del *Senecio serratifolius*. VI jornadas de investigación en Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas "Dr. Fernando Montesinos Ampuero". Agosto de 2003.
5. SOUKUP J. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros. Lima: Editorial Salesiana; 1987.
6. LOCK O. Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales. 2ª Edición. Lima: Fondo Editorial PUC P; 1994.
7. MABRY T, MARKHAM K, THOMAS M. The systematic identification of flavonoids. New York: Springer Verlag; 1970.
8. VILLEGAS L, FERNÁNDEZ I, MALDONADO H, TORRES R, ZAVALA A, VAISBERG A, et al. Evaluation of the wound healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. J of Ethnopharmacology. 1997;55(3):193-200.
9. HAVSTEEN B. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol Ther. 2002;96:135-202.