

Caracterización química y efecto antiinflamatorio del extracto metanólico de las hojas de *pelargonium robertianum L*, "Geranio", en *mus musculus*.

Lucy A. Ibáñez V.¹

Resumen

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar la Dosis Letal Media (DL50) y la Dosis Efectiva Media del efecto antiinflamatorio (DE50) del extracto metanólico de las hojas de *Pelargonium robertianum L.*, "Geranio".

Para la DL50 se utilizaron 36 ratones en ayuno de 12 horas dividiéndose en grupos de seis animales, administrándose dosis diferentes del extracto metanólico por vía oral mediante cánulas intragástricas, observándose constantemente durante las 24, 48 y 72 horas. El valor de la DL50 fue de 8,717.02 mg/kg de peso de acuerdo al Método de Lichfield y Wilcoxon.

Asimismo, la DE50 se realizó, según el Modelo de Winter (1970) y Sughisita et.al. Se observó que el extracto metanólico presentó un efecto inhibitor de la inflamación comparable al presentado por Diclofenaco (62%), obteniéndose el 26, 38 y 57% para las diferentes dosis ensayadas y la Dosis Efectiva Media (DE50) fue de 681.9577 mg/kg de peso mediante el método de los Probits. Al evaluar los datos por el Análisis de Varianza se observó resultados signi-

ficativos siendo $p < 0.0001$, $F=5240$ y un R^2 de 0.9979. Del extracto con actividad antiinflamatoria se aislaron compuestos fenólicos y los flavonoides: Rutina y Quercetina, estos dos últimos inhibidores de la ciclooxigenasa observados por HPLC y TLC respectivamente, así como 3 alcaloides denominados GM1, GM2 y GM3 los cuales fueron analizados mediante técnicas de IR, HPLC, RMNC13, RMNH1.

Palabras claves: Antiinflamatorio, *Pelargonium robertianum L*, Geranio, Diclofenaco Inflamación, toxicidad, DL50, DE50, Screening Fitoquímico, HPLCRMNC13, RMNH1, IR, Alcaloide, Flavonoide, Rutina, Quercetina.

Chemical characterization and antinflammatory activity of the methanolic extract of *Pelargonium robertianum L.*, "Geranio", in *Mus musculus*.

Abstract

The present investigation was done to evaluate lethal dose fifty (DL50) and effective dose average (DE50) of the antiinflammatory effect of a methanolic

¹ Magister en Farmacia, Bioquímica. Centro de Investigación de Medicina Tradicional Andina. USMP / Facultad de Medicina Humana USMP.

extract of the leaves of *Pelargonium robertianum* L. "Geranio". To evaluate the DL50, 36 mice were used, divided in groups of 6 animals that received different doses of the methanolic extract by oral route using intragastric cannulae. Animals were observed during the first 24, 48 and 72 hours. The value of the DL50 was of 8,717.02 mg/kg by the Lichfield and Wilcoxon method. DE50 following Winter's Model (1970) and Sughisita et.al. was also performed. We observed that the methanolic extract presented an inhibitory effect of inflammation when compared to that of Diclofenac (62%) obtaining 26, 38 and 57% for the different doses assayed. The Average Effective Dose obtained was of 681,9577 by the method of Probits with ANOVA ($p=0.0001, F=5240, R^2=0.9979$). From the extract with antiinflammatory activity, phenolic compounds and the flavonoids Rutin and Quercetin were isolated, both inhibitors of cyclooxygenase. These compounds were observed by HPLC and TLC respectively and also three alkaloids named GM1, GM2, GM3, were analyzed by means of IR, HPLC, RMNC13, RMNH1.

Keys Words: *Pelargonium robertianum* L, *Gera-nium*, Diclofenac, inflammation, toxicity, DL50, DE50, Phytochemical Screening, HPLC, RMNC13, RMNH1, IR, Alcaloid, flavonoid, Rutin, Quercetin.

Introducción

Pelargonium robertianum, "Geranio", es una planta que se encuentra en patios, jardines, lugares sombreados, distribuyéndose en regiones templadas y en zonas tropicales, las patologías mas comunes tratadas con esta planta en la medicina tradicional son los procesos inflamatorios de diversa índole que producen signos y síntomas en órganos y/o sistemas tales como: artritis, inflamaciones dérmicas y en vías genitourinarias, afeciones de la garganta, además de tener uso como antiespasmódico y antihemorrágico (1).

Materiales y métodos

- *Pelargonium robertianum* L, "Geranio"
- Ratones, *Mus musculus* (20-25g)
- Ratas albinas (250g)

Toma de muestra

Se recolectaron 1 kg de hojas de Geranio, en la provincia de Lima, en el mes de Setiembre siendo identificada taxonómicamente como *Pelargonium robertianum* L., las cuales fueron estabilizadas, posteriormen-

te se pulverizó y se pesaron 400g de hojas secas y molidas procediéndose a la obtención del extracto metanólico al 10% p/v, por maceración a temperatura ambiente por 8 días, después de los cuales fue filtrado y evaporado.

Evaluación de la Dosis Letal Media (DL50)

Se utilizaron 36 ratones albinos procedentes del Instituto de Salud. Se formaron grupos de seis animales cada uno. Las diferentes dosis del extracto metanólico se administraron por vía oral mediante cánula intragástrica con previú ayuno de 12h. Se observaron a las 24h, 48h y 72h. El valor de la DL50 se estimó mediante el método estadístico de los Probits (2).

Evaluación de la Dosis Efectiva Media (DE50) (2)

Se utilizaron 50 ratas albinas machos cuyos pesos oscilaron entre 200 a 250 g (en ayunas de 12 horas) las cuales fueron divididas aleatoriamente en 5 grupos de experimentación: I, Control Negativo (Agua destilada, 3 ml/kg); II, Control positivo (Diclofenaco, 10mg/kg); a los grupos III, IV y V se les administró extracto metanólico de Geranio a las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg de peso respectivamente, la administración se realizó por vía oral 30 minutos previos a la inyección subplantar de 0.1 mL de carragenina al 1% en la pata derecha del tren posterior y en la pata contralateral igual volumen de solución salina al 0.9%. Los resultados fueron procesados estadísticamente. La estimación de la Dosis Efectiva Media (DE50) se realizó mediante el método de los Probits.

Evaluación Fitoquímica

Se realizó en primer lugar un screening fitoquímico en el extracto metanólico totalmente seco a fin de evaluar la presencia de: alcaloides, cumarinas, quinonas, triterpenos, esteroides, flavonoides, etc, utilizando los respectivos reactivos de coloración y precipitación, procediendo de acuerdo al método descrito por Ciulei (3).

Posteriormente se procedió a analizar la presencia del flavonoide Rutina en el extracto metanólico por HPLC e IR. El análisis por HPLC se realizó en un equipo L-7100, frente a un estandar de Rutina en presencia de Ac. Acético 0,025% (solvente A) y Metanol (Solvente B) con un flujo de 2 ml/min y un volumen de inyección de 5,0 ul y 80 ul de extracto metanólico de Geranio siguiendo el método de Merck descrito para el análisis de un flavonoide. El análisis por IR se realizó por película.

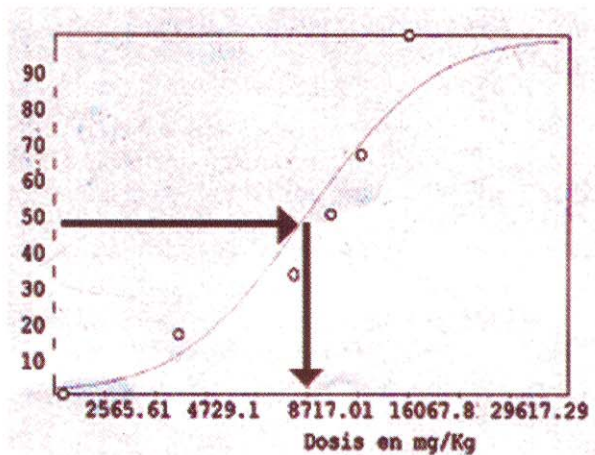
La presencia de Quercetina fue detectada por TLC. Para el aislamiento y la identificación de otros principios activos presentes en el extracto metanólico con actividad farmacológica se sometió a un procedimiento para eliminar la clorofila filtrando con carbón activado. De la CC se obtuvieron las fracciones GM1, GM2, GM3, GACH6 y GACH7. Estas fracciones fueron cromatografiadas en un sistema de solventes Acetona/acetato de etilo 75:25. Frente al reactivo de Dragendorff, GM1, GM2 y GM3, mostraron reacción positiva para alcaloides y frente al reactivo de cloruro férrico, las fracciones GACH6 y GACH7, mostraron reacciones positivas para compuestos fenólicos observándose manchas azules (3). Posteriormente se han realizado los análisis espectroscópicos por IR y RMNH1 para las fracciones GM1 (Alcaloide), GM2 (Alcaloide), GM3 (Alcaloide), GACH6 (Flavonoide), GACH7 (Flavonoide) realizándose el análisis por RMNC13 para GACH6 (Flavonoide) y CACH7 (Flavonoide) en un equipo Varian-Gemini 200 MHz-1.

Resultados

De la Dosis Letal Media (DL50) según Lichfield y Wilcoxon (2).

Los síntomas observados a las dosis administradas han sido sedación, caída del tren posterior, ojos cerrados y respiración acelerada. La DL50 se ha determinado a partir de los porcentajes de mortalidad obtenidos por cada dosis ensayada hallándose un valor igual a 8,717.02 mg/kg con límite superior 95% = 11,500 mg/kg y límite inferior 95% = 6,500 mg/kg (Fig. N°1).

Figura N° 1



De la Dosis Efectiva Media (DE50)

La diferencia entre los volúmenes de las patas por grupo de ensayo, aparecen en la Tabla N° 1. En la Figura N° 2 se puede observar el porcentaje de inhibición de la formación del edema por grupo de tratamiento siendo el efecto inhibitorio mayor cuando se incrementa la dosis, siendo dosis dependiente, mostrando la dosis más alta un efecto inhibitorio similar al obtenido con el diclofenaco. En la Figura N° 3 se observa el valor de la DE50 por el Método de los Probits igual a 681.95 mg/kg.

Tabla N° 1

Porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto metanólico de hojas de Geranio.

Grupo	Dosis mg/kg	Promedio de volumen desplazado	Porcentaje de Inhib. de la inflamación
I (Agua)	3ml/kg	0.65+0.0001	0%
II(Dicl.)	10mg/kg	0.25+0.0001	62%
III(Ger.)	250mg/kg	0.48+0.0001	26%
IV(Ger.)	500mg/kg	0.40+0.0001	38%
V (Ger.)	1000mg/kg	0.28+0.0001	57%

Figura N° 2

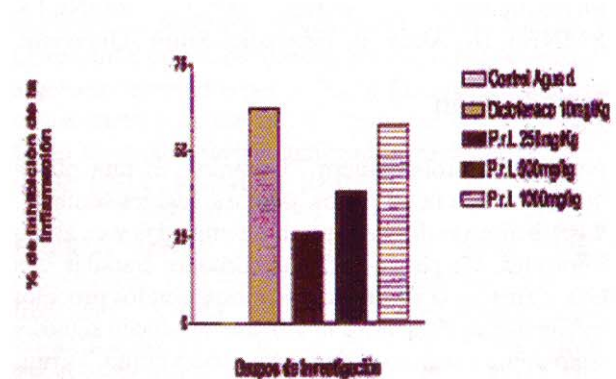
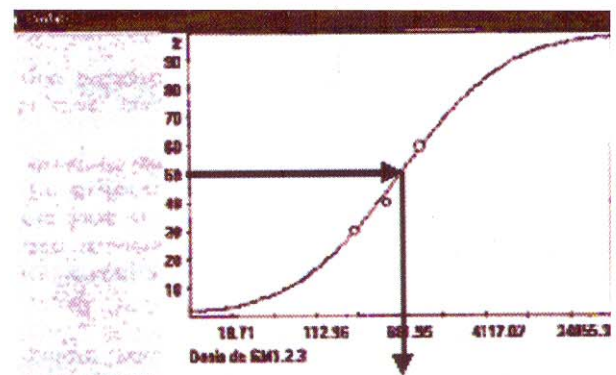


Figura N° 3



mecanismos de acción, así como la participación de otros componentes como los alcaloides GM1, GM2, GM3 presentes en el extracto.

Conclusiones

Se concluye de acuerdo a los resultados obtenidos, que el extracto metanólico de Geranio ejerce un buen efecto antiinflamatorio dosis dependiente, siendo prácticamente inocuo con una gran zona manejable y con un índice terapéutico alto.

Lucy Ibáñez V.
Facultad de Medicina Humana
Universidad de San Martín de Porres

Referencias bibliográficas

1. ARROYO, R.
Estudio antimicrobiano de *pelargonium robertianum* L "Geranio". Tesis para optar el Título de Q. F. Fac. Farmacia y B. UNMSM; 1987.
2. CYTED.
Manual de Técnicas de Investigación; 1995.
3. CIULEI, I.
Metodology D'Analyse des Produit Vegetaux. Mimeografadoi Facultade de Farmacia, Bucareste, Brasil; 1982.
4. HARBORNE, J.B.
The Flavonoids Advances in Research, since 1986 to 1994. First Edition. England; 1994.
5. IBÁÑEZ, V.L.
Importancia de la Investigación Científica en Plantas. Rev. Folium Año XII, Número 34. Pág 5. México; 2003.
6. MASUDA, Y.
El geranylgeraniol induce potentemente la actividad de caspase-3- durante la apoptosis en la leucemia humana en células U937. BIOCHEM-BIOPHYS RES COMMUN. 29 de Mayo ; 234(3): 641-5; 1994.