



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL  
DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda del extracto  
hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'Palma real'

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

**Presentada por**

BR. CHÁVEZ GONZALES, LUZ MARINA

BR. GUTIÉRREZ CONDORI, DARWIN ARMANDO

**ASESORA**

DRA. JUANA ELVIRA CHÁVEZ FLORES

**Lima-Perú**

2013

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>RESUMEN</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	14
1.1. Planteamiento del problema	15
1.2. Justificación y viabilidad de la investigación	15
1.3. Objetivos	16
1.3.1. Objetivo general	16
1.3.2. Objetivos específicos	16
1.4. Variables	16
1.5. Hipótesis	16
<b>II. GENERALIDADES</b>	17
2.1. Estudio botánico de la familia <i>Asteraceae</i>	17
2.1.1. Característica de la familia asteráceas	17
2.1.2. Característica de la especie <i>Tanacetum vulgare</i> L.	18
2.2. Estudio químico	22
2.2.1. Alcaloides	22
2.2.2. Origen	22
2.2.3. Biosíntesis	23
2.2.4. Clasificación	25
2.2.5. Efecto farmacológico de los alcaloides	35
2.2.6. Extracción de los alcaloides	37
2.2.7. Separación de alcaloides por métodos cromatográficos	38
2.2.8. Identificación de los alcaloides por métodos espectroscópicos	39
2.2.9. Estudio toxicológico	39
2.2.10. Ensayo de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg	40
<b>III. PARTE EXPERIMENTAL</b>	41
3.1. Materiales	41
3.1.1. Material biológico	41

3.1.2. Material químico	41
3.1.3. Materiales de laboratorio	42
3.1.4. Equipo de laboratorio	42
3.2. Metodología	42
3.2.1. Estudio fitoquímico	44
3.2.2. Extracción de alcaloides	46
3.2.3. Análisis cromatográfico	48
3.2.4. Análisis espectroscópico	48
3.2.5. Estudio toxicológico	49
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>51</b>
4.1. Prueba de solubilidad	51
4.2. Análisis fitoquímico	53
4.3. Identificación de alcaloides a través de reacción química	55
4.4. Análisis cromatográfico	58
4.5. Análisis espectroscópico	60
4.5.1. Análisis espectroscópico UV-visible	60
4.5.2. Análisis espectroscópico infrarrojo	61
4.6. Evaluación de los cortes anatomopatológicos	63
<b>V. DISCUSIÓN</b>	<b>67</b>
<b>VI. CONCLUSIÓN</b>	<b>69</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES</b>	<b>70</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>71</b>
<b>IX. ANEXOS</b>	<b>74</b>
<b>Anexo 1.</b> Constancia de clasificación taxonómica de la especie <i>Tanacetum vulgare</i> L. “Palma real”	74
<b>Anexo 2.</b> Espectro infrarrojo de la fracción aislada (F1) de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> L. “Palma real”	75
<b>Anexo 3.</b> Reporte del análisis espectroscópico de la fracción aislada (F1) de las hojas de <i>Tanacetum vulgare</i> L. “Palma real”	76
<b>Anexo 4.</b> Identificación de los alcaloides a través de reacciones de precipitación	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<b>Figura 1.</b> <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	21
<b>Figura 2.</b> Aminoácidos y bases que dan origen a los alcaloides	24
<b>Figura 3.</b> Alcaloides tropánicos	26
<b>Figura 4.</b> Esparteína	27
<b>Figura 5.</b> Alcaloides piridínicos y piperidínicos	28
<b>Figura 6.</b> Alcaloides con nitrógeno no heterocíclico	29
<b>Figura 7.</b> Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina	30
<b>Figura 8.</b> Alcaloides derivados del triptófano	32
<b>Figura 9.</b> Pilocarpina	33
<b>Figura 10.</b> Jervina	34
<b>Figura 11.</b> Alcaloides purínicos	35
<b>Figura 12.</b> Recolección de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	44
<b>Figura 13.</b> Selección de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	45
<b>Figura 14.</b> Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	45
<b>Figura 15.</b> Ratonos <i>Mus musculus</i> cepa Balb/C-53	50
<b>Figura 16.</b> Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	52
<b>Figura 17.</b> Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	54
<b>Figura 18.</b> Identificación de alcaloides extraídos por medio alcalino de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real', por medio de reacción de precipitación	56
<b>Figura 19.</b> Identificación de alcaloides extraído por medio alcalino	57
<b>Figura 20.</b> Cromatograma en capa fina de los alcaloides extraídos por medio alcalino de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real', identificado con el revelador de Dragendorff	58
<b>Figura 21.</b> Cromatograma en escala preparativa de los alcaloides extraídos por medio alcalino de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real', identificado con el revelador de Dragendorff	59

- Figura 22.** Espectro UV-visible de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ 60
- Figura 23.** Espectro IR de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ 62
- Figura 24.** Corte anatomopatológico del grupo control: estómago de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (400x) 63
- Figura 25.** Corte anatomopatológico del estómago de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, con tratamiento de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. (100x) 63
- Figura 26.** Corte anatomopatológico del grupo control: hígado de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (100x) 64
- Figura 27.** Corte anatomopatológico del hígado de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53 con tratamiento de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ (400x) 64
- Figura 28.** Corte anatomopatológico del grupo control: riñón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (100x) 65
- Figura 29.** Corte anatomopatológico del riñón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, tratados con 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ (400x) 65
- Figura 30.** Corte anatomopatológico del grupo control: pulmón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (100x) 66
- Figura 31.** Corte anatomopatológico del pulmón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53 tratados con 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ (400x) 66

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<b>Tabla 1.</b> Sistemas de solventes que se emplean en cromatografía en capa fina para alcaloides	38
<b>Tabla 2.</b> Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'. (20 mg/1ml MeOH)	51
<b>Tabla 3.</b> Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'. (20mg/1ml MeOH)	53
<b>Tabla 4.</b> Pruebas químicas de precipitación para reconocer alcaloides extraídos por medio alcalino <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real' (10mg/1ml MeOH)	55
<b>Tabla 5.</b> Principales bandas de absorción del espectro infrarrojo de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	61

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
<b>Gráfico 1.</b> Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda de las hojas frescas del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas del <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	43
<b>Gráfico 2.</b> Extracción de alcaloides por medio básico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	47
<b>Gráfico 3.</b> Estudio de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg. en ratones <i>Mus musculus</i> cepa Balb/C-53, del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de <i>Tanacetum vulgare</i> L., 'palma real'	50

## ABREVIATURAS



<b>AT:</b>	alcaloides totales
<b>Abs.:</b>	absorbancia
<b>msnm:</b>	metros sobre el nivel del mar
<b>C. C. F.:</b>	cromatografía en capa fina
<b>C. E. P.:</b>	cromatografía en escala preparativa
<b>m:</b>	metros
<b>cm:</b>	centímetros
<b>mm:</b>	milímetros
<b>pH:</b>	potencial de hidrogeniones
<b>°C:</b>	grados Celsius
<b>UNMSM:</b>	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
<b>α:</b>	alfa
<b>β:</b>	beta
<b>C<sub>3</sub>:</b>	tercer carbono o carbono 3
<b>UV:</b>	ultravioleta
<b>Vis.:</b>	visible
<b>IR:</b>	infrarrojo
<b>MeOH:</b>	metanol
<b>OECD:</b>	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
<b>CHCl<sub>3</sub>:</b>	cloroformo
<b>p.:</b>	página
<b>OMS:</b>	Organización Mundial de la Salud

## RESUMEN

Se realizó el estudio fitoquímico y toxicológico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'Palma real'. La especie se recolectó en el distrito de Tamburco, Provincia de Abancay, en el departamento de Apurímac. Se realizó una extracción hidroalcohólica de las hojas frescas. Mediante la prueba de solubilidad y el análisis fitoquímico se determinó que es soluble en solventes polares y presenta metabolitos primarios como carbohidratos, grupo amino libre y metabolitos secundarios, como alcaloides, esteroides, flavonoides y compuestos fenólicos. Se extrajeron los alcaloides por medio alcalino; se identificó por cromatografía en capa fina una fracción (F1), usando como sistema de solvente MeOH-CHCl<sub>3</sub> (1:1,5 v/v) y se aisló por cromatografía en escala preparativa. Se identificó una posible estructura química mediante análisis espectroscópicos ultravioleta-visible e infrarrojo, observando grupo amino, carbonilo y aromático. Se empleó el método de Betancourt, modelo de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg, en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53. Se realizaron cortes anatomopatológicos a los órganos perfundidos, evidenciando daño en el hígado y en el riñón. Se observó una toxicidad muy leve en el estómago; sin embargo, el órgano que conservó su estructura anatomopatológica fue el pulmón.

**Palabras clave:** Tamburco; *Tanacetum vulgare* L.; alcaloides; toxicidad aguda; infrarrojo; ultravioleta-visible.

## SUMMARY

We conducted the phytochemical and toxicological study of hydroalcoholic extract of fresh leaves of *Tanacetum vulgare* L. "Palma real". We collected species in Tamburco district, province of Abancay in the department of Apurimac. Extraction was performed hydroalcoholic fresh leaves, solubility by testing and analysis determined that phytochemical is soluble polar solvents quarter and presentations primary metabolites as carbohydrates, free amino group and secondary metabolites as alkaloids, flavonoids, phenolic compounds steroids. Alkaloids extracted by alkaline medium itself identified by thin layer chromatography fraction (F1) Solvent System as using MeOH - CHCl<sub>3</sub> (1:1.5 v/v) and isolated by preparative chromatography itself on the scale. A possible structure was identified chemically by UV - visible spectroscopic analysis and infrared observing amino group, carbonyl and aromatic. Method was used to model acute Betancourt to limit dose of 2000 mg/kg, in *Mus musculus* cepa Balb/C-53. We did pathological cuts to perfused organs, evidencing damage in liver and kidney, toxicity was observed very slight in stomach; however, the organ that retained his pathological structure was the lung.

**Keywords:** Tamburco; *Tanacetum vulgare* L.; alkaloids; acute toxicity; infrared; ultraviolet-visible light.

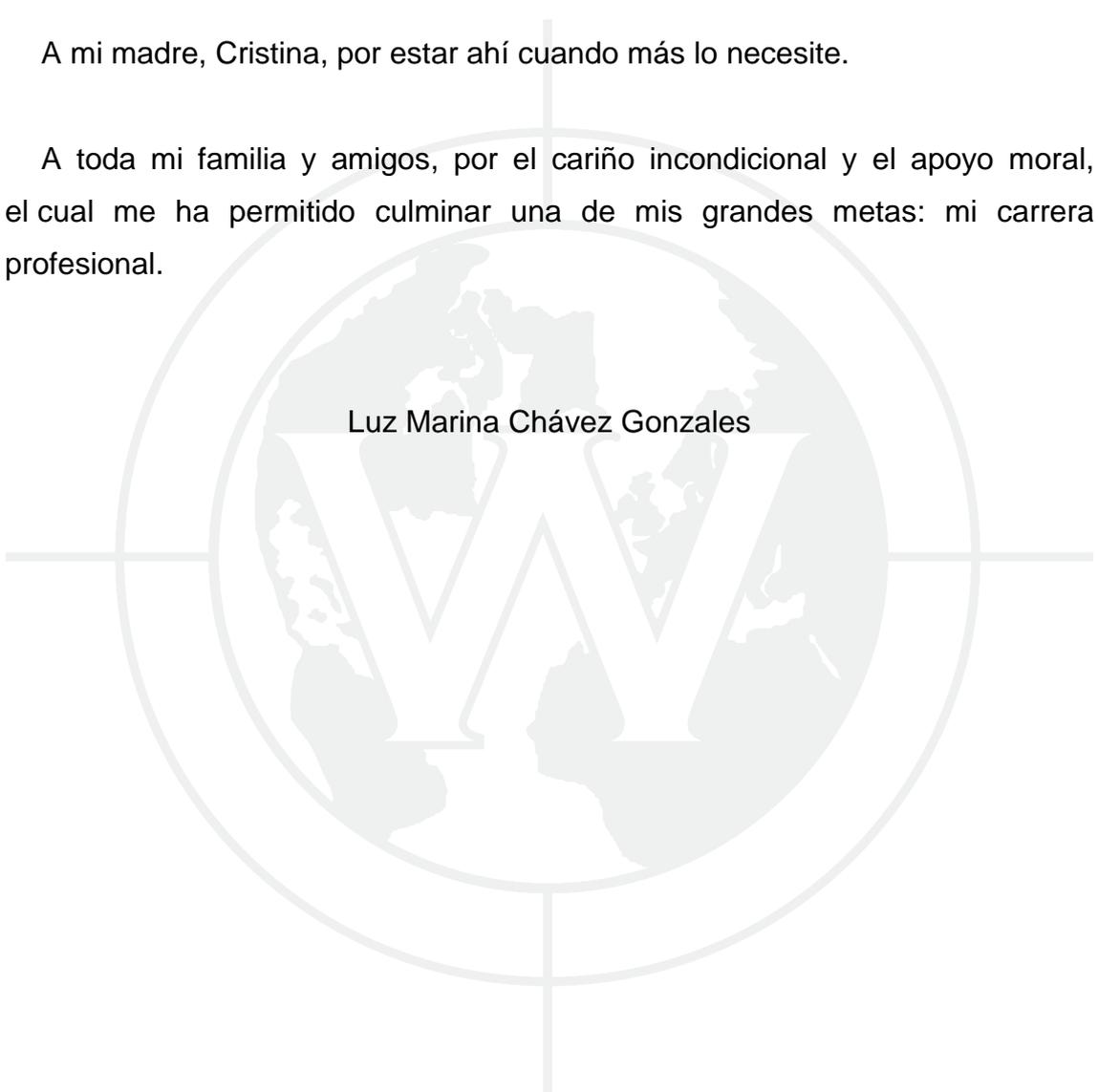
## DEDICATORIA

Quiero dedicar este éxito a Dios, que me ha dado la vida y la fortaleza para culminar mis estudios.

A Leticia y Kike, que confiaron siempre en mí.

A mi madre, Cristina, por estar ahí cuando más lo necesite.

A toda mi familia y amigos, por el cariño incondicional y el apoyo moral, el cual me ha permitido culminar una de mis grandes metas: mi carrera profesional.



Luz Marina Chávez Gonzales

## DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi padre, Armando, por haberme apoyado en todo momento; por sus consejos, sus valores; por la motivación constante, que me ha permitido ser una persona de bien; pero, más que nada, por ser un buen amigo.

A mi madre, Sonia, por los ejemplos de perseverancia y constancia que la caracterizan, y por estar ahí en los momentos más difíciles.

A mis hermanos, Danilo, Abel, Eliana y Gabriela, por estar conmigo y apoyarme siempre: los quiero mucho.

A mi maestra, la doctora Juana Elvira Chávez Flores, por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales.

Y a todos aquellos que participaron directa e indirectamente en la elaboración de esta tesis.

¡Gracias a ustedes!

Darwin Armando Gutiérrez Condori

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios, quien nos dio la vida y la fortaleza para seguir cada día adelante.

A los maestros de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener, quienes nos impartieron conocimientos, que son el soporte de nuestro desarrollo profesional.

A nuestra asesora y maestra, la doctora Juana Elvira Chávez Flores, por ser nuestra guía y modelo profesional a seguir, quien nos impulsó a la investigación y, desde ese momento, nos brindó su apoyo incondicional, dedicación y entrega.

A nuestros padres y hermanos, por su confianza y esfuerzo infatigable por logramos profesionales.

A todas las personas que hicieron posible realizar el presente trabajo.

## I. INTRODUCCIÓN

El Perú posee una milenaria experiencia en el uso de plantas medicinales, empleando raíces, cortezas, hojas, flores, frutos o semillas con fines medicamentosos. Este uso no está basado en la superstición ni en el azar: muchas plantas contienen compuestos que tienen un profundo impacto fisiológico con dosis muy pequeñas. Entrado el siglo XIX, eran casi la única fuente para la cura de enfermedades y dolencias de las comunidades humanas. La medicina tradicional en nuestro país aún hoy ocupa un lugar importante: cerca del 80 % de los pobladores recurren a ella porque no tienen los medios económicos para comprar los medicamentos sintéticos, o por vivir en lugares muy alejados, donde es extremadamente difícil recurrir a la medicina<sup>1</sup>. Un claro ejemplo sucede con los habitantes de la comunidad de San Antonio (distrito de Tamburco, provincia de Abancay, departamento de Apurímac), ubicado aproximadamente a 2581 msnm<sup>2</sup>. Ante una enfermedad o dolencia, habitualmente acuden a las plantas medicinales, debido a la ausencia de centros de salud o de medicamentos, por bajos recursos económicos o por experiencia adquirida desde tiempos milenarios. En esta región, las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. 'palma real', son consumidos en forma de infusión para el alivio de los cólicos intestinales. Al indagar las referencias bibliográficas, estas consideran el efecto antiespasmódico a los alcaloides, y por ello se planteó el siguiente problema: ¿El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', poseerá actividad toxicológica y presentará algún metabolito de naturaleza alcaloide?

Por ello, se propuso como objetivo principal evaluar la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg, y determinar algún metabolito de naturaleza alcaloide de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'. La importancia de la presente investigación radica en conocer si su consumo excesivo ocasiona toxicidad, debido a que la población que consume las hojas de palma real no tiene una medida específica de consumo por persona. Para ello, se aplicará el método de Betancourt<sup>3</sup> (toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg) en ratones *Mus musculus*, cepa Balb/C-53, haciendo cortes anatomopatológicos seriados de los siguientes órganos: estómago, pulmón,

riñón e hígado; y mediante métodos de extracción, análisis fitoquímico, métodos cromatográfico y espectroscópico, se pretenderá identificar y aislar el metabolito de naturaleza alcaloide.

### 1.1. Planteamiento del problema

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L. “Palma real”, poseerá actividad toxicológica a dosis límite de 2000 mg/kg?

### 1.2. Justificación y viabilidad de la investigación

#### Justificación

En la comunidad de San Antonio (distrito de Tamburco, provincia de Abancay, departamento de Apurímac), las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ son consumidas por los pobladores en forma de infusiones, para el alivio de los cólicos intestinales. Al indagar las referencias bibliográficas, estas consideran el efecto antiespasmódico a los metabolitos secundarios de naturaleza alcaloides. Por ello, se planteó determinar la presencia de metabolito secundario alcaloide y la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg<sup>3</sup> en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53.

#### Viabilidad

No se evidencian trabajos o investigaciones de estudios fitoquímicos y toxicológicos de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ en el Perú. Por este motivo, será un aporte al conocimiento y se estará validando el uso tradicional de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’.

### 1.3. Objetivos

#### 1.3.1. Objetivo general

Evaluar la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg y determinar algún metabolito de naturaleza alcaloide de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

#### 1.3.2. Objetivos específicos

1. Identificar los componentes químicos del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.
2. Elucidar la posible estructura química de la fracción aislada por métodos espectroscópicos UV/visible e infrarrojo.
3. Evaluar la seguridad, determinando la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53.
4. Realizar cortes anatomopatológicos seriados de estómago, pulmón, riñón e hígado de los ratones investigados.
5. Evaluar la toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53.

### 1.4. Variables

- **Variable independiente:** extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.
- **Variable dependiente:** toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg.

### 1.5. Hipótesis

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' no presenta actividad toxicológica a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones albinos *Mus musculus* cepa Balb/C-53, y presenta algún metabolito de naturaleza alcaloide.

## II. GENERALIDADES

### 2.1. Estudio botánico de la familia *Asteraceae*

#### 2.1.1. Característica de la familia asteráceas<sup>4</sup>

El *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ pertenece a la familia de las Asteraceae. El nombre deriva de *aster*, término que significa estrella, y hace alusión a la forma de su inflorescencia. También se les conoce con el nombre de “compuestas”, haciendo referencia al tipo particular de inflorescencia compuesta que caracteriza a la familia. Son hierbas anuales perennes y presentan hojas alternas, de enteras a varias veces divididas, espinosas o inertes. Las flores se presentan en inflorescencias de capítulos, flores pentámeras y de fruto aquenio. Los miembros de esta familia se distribuyen desde las regiones polares hasta los trópicos, conquistando todos los hábitats disponibles, desde los desiertos secos hasta los pantanos, y desde las selvas hasta los picos montañosos. Las Asteraceae ocupan el segundo lugar entre las familias más diversas de la flora peruana. Son reconocidas en el Perú por presentar alrededor de 250 géneros y 1590 especies, mayormente hierbas, arbustos y subarbustos. Ocupan la mayoría de las regiones ecológicas, principalmente la mesoandina, bosques pluviales montanos y bosques muy húmedos montanos, desde el nivel del mar hasta por encima de los 4000 msnm<sup>4</sup>. La familia de las Asteraceae presenta 12 subfamilias. Una de estas es la subfamilia Asteroideae, con 1135 géneros y más de 16 000 especies. Es la subfamilia con mayor riqueza de la familia Asteraceae. Presenta distribución cosmopolita; no contiene látex; los capítulos son heterógamos, con flores tubulosas con lóbulos inconspicuos y flores liguladas frecuentemente con tres lóbulos. Se divide en tres hipertribus: las *Senecioneae*, *Heliantheae* y *Asteridae*, encontrándose en esta última el género *Tanacetum*, que contiene cerca de 70 especies de plantas, entre las que se encuentra la especie vegetal *Tanacetum vulgare*.

## 2.1.2. Característica de la especie *Tanacetum vulgare* L.<sup>5</sup>

### Nombre común:

- **Alemán:** rainfarn.
- **Castellano:** hierba de San Marcos, palmita de la India, palma imperial, tanaceto, atanasia, anastasia, balsamita menor, Santa Teresita (España), hierba lombriguera (Argentina) y palma real (Perú).
- **Catalán:** tanacet.
- **Chino:** chi-ai.
- **Eslovaco:** yratic obycajny.
- **Francés:** tanaïs, barbotine, herbe amère, herbe aux vers, herbe de Saint Marc, sent-bon, tanacée, tanaïs commune, tanaïs vulgaire.
- **Finlandés:** kähäräpietaryrtti.
- **Inglés:** tansy, bitter buttons, common tansy.
- **Portugués:** atanasia das boticas, catinga de mulata.
- **Tailandés:** khee kwai.
- **Vasco:** anzarr-belarr.

### 2.1.2.1. Distribución<sup>5</sup>

El *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', es una especie natural de Europa y de Asia que ha sido distribuida a través de su cultivo, por sus propiedades medicinales y, luego, se ha naturalizado en riveras, praderas y bordes de caminos. Actualmente, la palma real se distribuye en casi todo el mundo, especialmente por toda Europa, Norteamérica y Sudamérica.

### 2.1.2.2. Descripción botánica<sup>5</sup>

- **Altura:** es una planta perenne crece de 30 a 150 cm de altura.
- **Tallo:** son cortos y erectos.

- **Hojas:** son de forma oblonga u oval a elíptica; miden hasta 20 por 10 cm; son glabras algo pelosas y presentan de 4 a 10 lóbulos de forma lanceolada de borde dentado (ver figura 1).
- **Flores:** son de color amarillo; son corimbos compactos.
- **Fruto:** es un aquenio de 1,2 a 1,8 mm.

### 2.1.2.3. Cultivo<sup>5</sup>

El *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ crece en terreno pobre y moderadamente arenosa; prefiere los suelos secos y bien drenados a un pH neutro o alcalino. Muchas veces, con el cultivo, suele variar esta especie, volviéndose sus hojas rizadas y otras veces jaspeadas o manchadas de blanco. Pierde el tallo todos los años; crece en grandes colonias y puede convertirse en planta invasora por su sistema de raíces.

### 2.1.2.4. Clima<sup>5</sup>

El *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ se desarrolla muy bien en climas cálidos y fríos, soportando incluso temperaturas invernales menores de 15 °C. Prefiere una posición soleada.

### 2.1.2.5. Usos populares<sup>5</sup>

El *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ tiene múltiples usos para su consumo, siendo la forma de infusión de flores, hojas y raíces la más empleada, además de la más segura. También es utilizado en forma de tintura y en polvo de hojas y flores, en caso de prolongarse la vida útil de esta planta.

Es muy reconocido por su aceites esenciales, que son obtenidos mediante destilación y empleados de manera externa e interna, siendo esta última un poco perjudicial, debido a que un exceso en la dosis puede ocasionar un efecto adverso.

#### 2.1.2.6. Propiedades medicinales<sup>5</sup>

- Las personas emplean la infusión de flores del *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ por su actividad vermífuga y antihelmíntica; por ello, es muy recomendado contra ascárides, tenias y oxiuros.
- Es empleado en forma de infusión en caso de ausencia del flujo menstrual por razones distintas al embarazo, y, a la vez, para evitar el dolor de la menstruación, por su propiedad emenagoga.
- Por su propiedad antiespasmódica, es empleado para calmar las molestias de los cólicos intestinales.
- Se emplea en infusión y tintura madre para calmar el síndrome migrañoso.
- En su aplicación externa, se aplica su aceite esencial para combatir el reumatismo.
- Algunas personas emplean el *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’ para repeler a los insectos.

Sin embargo, algunos estudios realizados en otros países mencionan que se debe tener mucho cuidado con su consumo excesivo y no se debe emplear durante el embarazo, ni en madres que lactan, ni en niños menores de seis años<sup>6</sup>.

#### 2.1.2.7. Clasificación taxonómica y descripción botánica de la especie<sup>7</sup>

La especie vegetal fue identificada taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la UNMSM, fundamentándose en el sistema de clasificación de Arthur Cronquist, en 1981.

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Orden: Asterales.

Familia: *Asteraceae*.

Género: *Tanacetum*.

Especie: *Tanacetum vulgare* L.

Nombre Vulgar: "palma real".



**Figura 1.** *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

## 2.2. Estudio químico

### 2.2.1. Alcaloides<sup>8,9</sup>

Los alcaloides son sustancias orgánicas nitrogenadas, de estructura compleja<sup>8</sup>, cuya molécula está constituida por grupos atómicos que contienen nitrógeno y forman anillos cerrados y, en algunos casos, tienen cadena abierta<sup>9</sup>. Además, están compuestos por carbono e hidrógeno. Muchos llevan oxígeno, lo que les confiere una serie de propiedades físicas (sólidas cristalizables)<sup>10</sup>. Además, no pueden llevar oxígeno y raramente suelen contener azufre. Los alcaloides tienen carácter básico, asemejándose a los álcalis, de quienes deriva su nombre<sup>11</sup>.

La mayoría de los alcaloides son sólidos incoloros, aunque algunos, como la coniina y la nicotina, son líquidos; otros son amarillos, como la berberina, o rojos, como la queleritrina<sup>9</sup>.

Su distribución es abundante en angiospermas, especialmente dicotiledóneas<sup>12</sup>, siendo familias particularmente ricas las siguientes: *Apocynaceae*, *Asteraceae*, *Loganiaceae*, *Papaveraceae*, *Rubiaceae*, *Ranunculaceae*, *Solanaceae*, etc. Entre las monocotiledóneas destaca su presencia en dos familias: *Amaryllidaceae* y *Liliaceae*. Aparecen raramente en hongos: criptógamas y gimnospermas<sup>8,13</sup>.

### 2.2.2. Origen<sup>14</sup>

La palabra alcaloide fue utilizada por primera vez por W. Meissner en el año de 1819 para designar algunos compuestos activos que se encontraban en los vegetales y que poseían carácter básico. Más tarde, Winterstein y Trier (1910) definieron los alcaloides, en un sentido amplio, como compuestos básicos, nitrogenados, de origen vegetal o animal.

A lo largo de la primera mitad del siglo XIX se aislaron numerosos alcaloides. En 1805, Sertürner separó el primer alcaloide, la morfina de *Papaver somniferum*<sup>15</sup>. Posteriormente, Pelletier y Caventou aislaron la estricnina, en 1817; la quinina, en 1820; y la coniina, en 1826. La narcotina fue aislada por Robiquet en 1817; y la codeína, en 1832. Runge descubrió

la cafeína en 1820; y Mein, la atropina, en 1831. El primer alcaloide que se consiguió sintetizar fue la coniina, en 1886. Después se fueron sintetizando muchos más, aunque en algunos casos su síntesis es complicada y cara; en otros casos no ha sido aún posible realizarla<sup>14</sup>.

### 2.2.3. Biosíntesis<sup>8,14</sup>

Los alcaloides derivan principalmente de precursores como los siguientes:

- Aminoácidos alifáticos: la ornitina y la lisina (ver figura 2).
- Aminoácidos aromáticos: el ácido nicotínico, la fenilalanina, la tirosina, el triptófano, el ácido antranílico y la histidina (ver figura 2).
- Bases púricas.
- Unidades terpénicas.
- Derivados del acetato.

A través de una serie de reacciones tipo aldólica entre dos compuestos, conteniendo grupos  $-C = N$ , reacciones tipo Mannich, reacciones de formación de bases de Schiff, reacciones de oxidación y reducción, isomerizaciones, desaminaciones<sup>8,16</sup>.

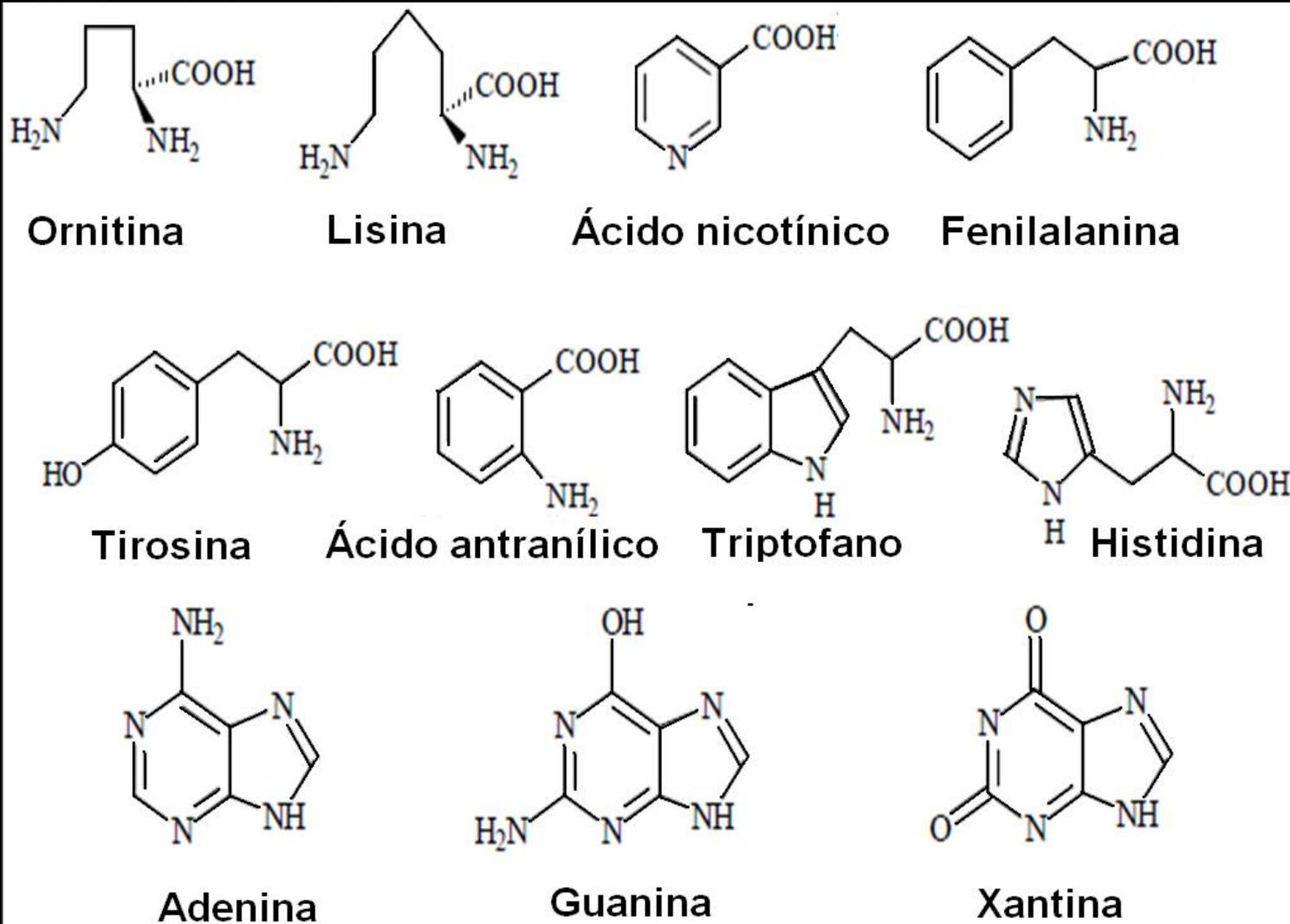


Figura 2. Aminoácidos y bases que dan origen a los alcaloides<sup>14</sup>.

#### 2.2.4. Clasificación<sup>16,17</sup>

Por la variabilidad de sus estructuras, es complejo clasificarlas, pudiéndose relacionar desde distintos puntos de vista. La clasificación biogenética es la de elección; es decir, según su origen o formación en el vegetal<sup>14</sup>.

La gran parte de los alcaloides derivan de unos pocos aminoácidos, de cadenas abiertas o aromáticas; además, esta clasificación está bastante relacionada, en la mayoría de los casos, con la clasificación química.

##### 2.2.4.1. Derivados de ornitina y lisina

Son los precursores de un gran número de alcaloides de complejidad variable, por la formación de estructuras bicíclicas, policíclicas o por la intervención de otros precursores, como el acetato<sup>17</sup>.

##### a. Alcaloides tropánicos<sup>17,18</sup>

Poseen una estructura bicíclica hidroxilada esterificada con ácidos orgánicos, que se origina por la condensación de un anillo pirrolidínico y otro piperidínico, compartiendo dos átomos de carbono. El anillo piperidínico presenta una conformación en forma de silla. La disposición espacial del grupo alcoholílico situado sobre el C<sub>3</sub> determina la existencia de dos tipos de estructuras (ver figura 3)<sup>16</sup>.

- Los alcaloides derivados del 3- $\alpha$ -tropanol son abundantes en la familia *Solanaceae*. Las plantas que contienen este tipo de alcaloides son belladona, estramonio y beleño.
- Los derivados del 3- $\beta$ -tropanol se encuentran en la familia *Erythroxylaceae*, como la coca.

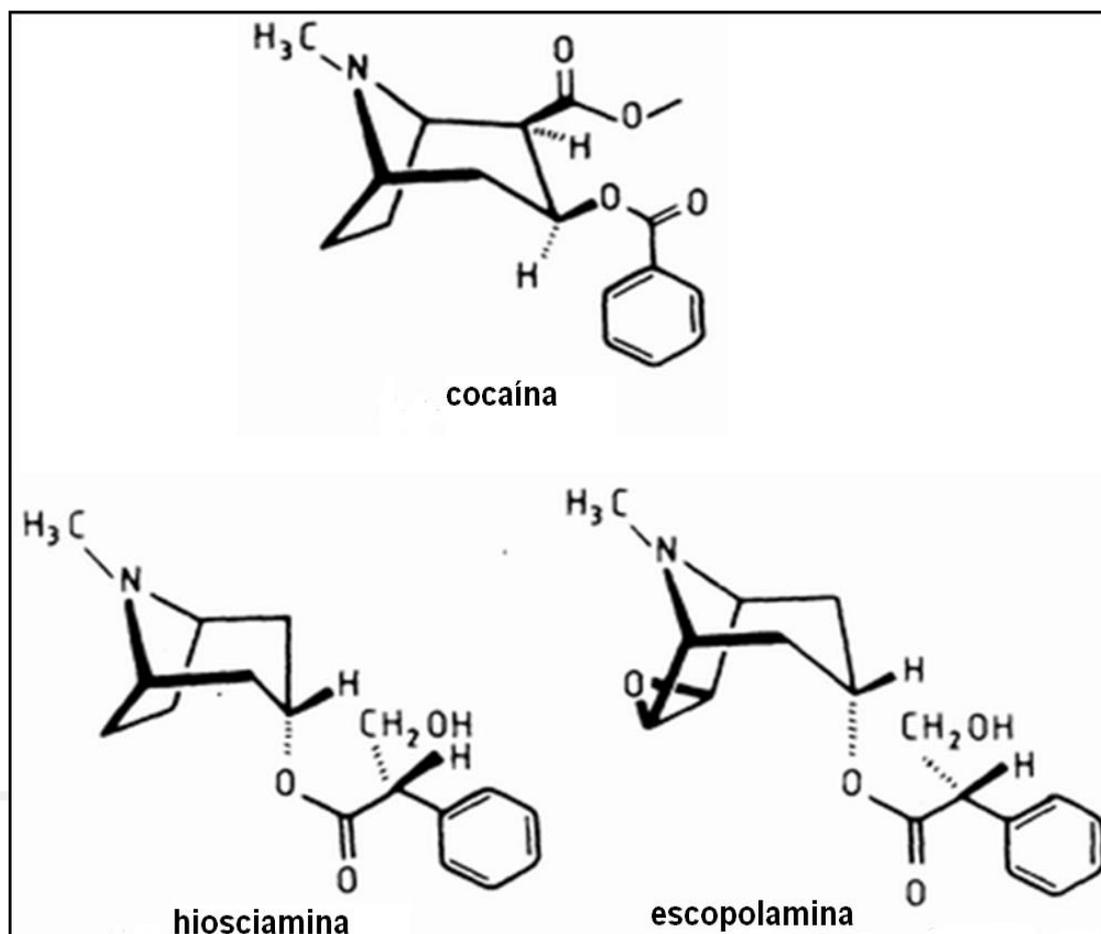


Figura 3. Alcaloides tropánicos<sup>17</sup>.

### b. Alcaloides quinolizidínicos<sup>14,17</sup>

Se forman a partir del aminoácido lisina. Su biosíntesis tiene origen en las partes aéreas de las fabáceas. Las semillas son ricas en este tipo de alcaloide. También se encuentran en las familias berberidáceas, solanáceas, ranunculáceas, quenopodiáceas y rubiáceas<sup>14</sup>. Dentro de este grupo se encuentran alcaloides con actividad terapéutica, como la esparteína. Presentan un heterociclo nitrogenado bicíclico (ver figura 4). Son bloqueantes ganglionares que, a nivel cardiaco, disminuyen la conductividad, frecuencia y amplitud de las contracciones. Periféricamente, tienen una acción bloqueante neuromuscular. Otros alcaloides de este grupo causan hepatotoxicidad<sup>17</sup>.

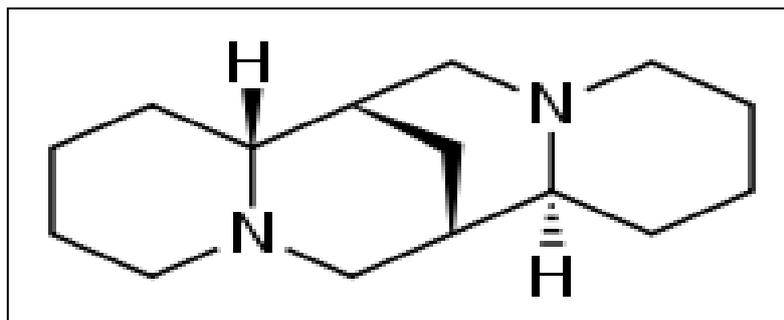


Figura 4. Esparteína<sup>8</sup>.

### c. Alcaloides piridinícos<sup>14</sup>

Entre los alcaloides más representativos están la nicotina y la anabasina del tabaco. La anabasina se encuentra en el árbol del tabaco (*Nicotiana glauca*) y es químicamente similar a la nicotina (ver figura 5). Su uso principal fue como insecticida; en altas dosis produce un bloqueo despolarizante de la transmisión nerviosa, la cual, sintomatológicamente, es muy similar al envenenamiento por nicotina, y produce, finalmente, muerte por asistolia.

### d. Alcaloides piperidínicos<sup>14,17</sup>

Son alcaloides derivados de la lisina. Tienen carácter fuertemente básico, por lo que se extraen fácilmente con solución acuosa ácida. Algunos tienen interés farmacéutico limitado, como la lobelina (ver figura 5); otros, como los presentes en la corteza del granado, son responsables de la actividad antihelmíntica; y otras, como el pimiento utilizado en condimentos<sup>17</sup>.

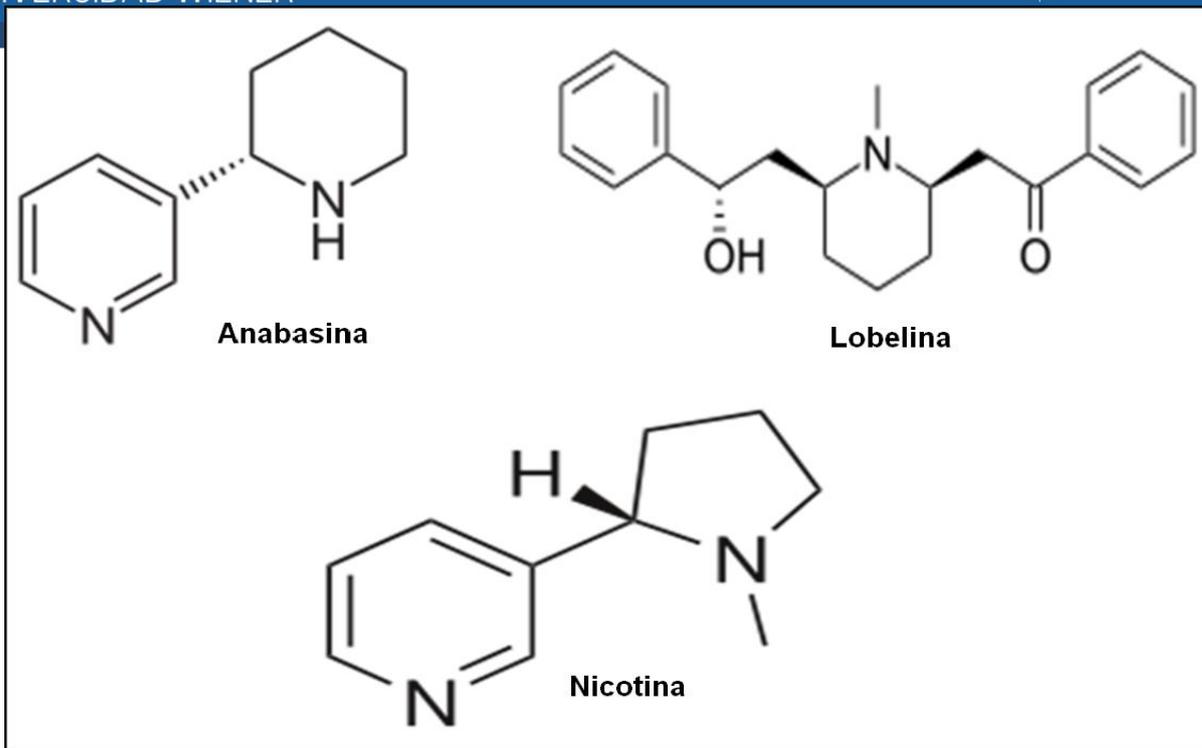


Figura 5. Alcaloides piridínicos y piperidínicos<sup>8,14</sup>.

#### 2.2.4.2. Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina

Es uno de los grupos más complejos y extensos en el reino vegetal, incluyéndose en él estructuras sin aparente relación, como la morfina, la colchicina y los alcaloides feniletilamínicos que no cumplen algunas propiedades de los alcaloides<sup>17</sup>.

##### a. Alcaloides feniletilamínicos<sup>14</sup>

Se caracterizan porque su nitrógeno no forma parte de un heterociclo (ver figura 6). En este grupo se encuentra la efedrina de las sumidades de efedra, la mezcalina del peyote con propiedades alucinógenas.

##### b. Alcaloides derivados de la tropolona<sup>14</sup>

La colchicina es un alcaloide particular, muy soluble en agua y soluble en alcohol y cloroformo, por lo que estas propiedades se utilizan para su extracción. Se extrae a partir del cólchico. Se utilizan las semillas maduras y secas. Es usado como base del tratamiento de la gota (ver figura 6).

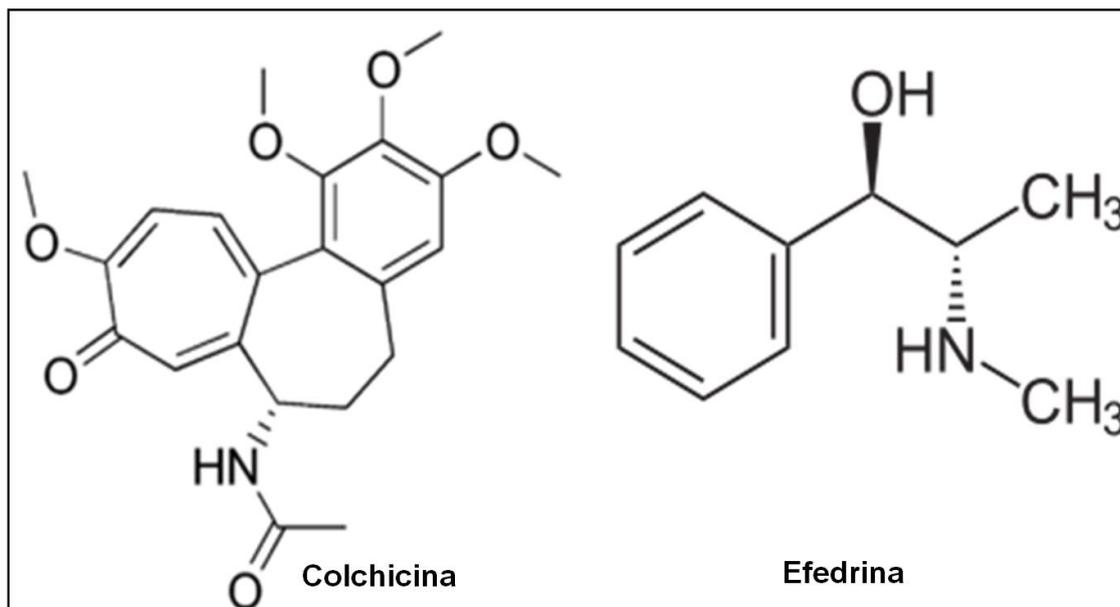


Figura 6. Alcaloides con nitrógeno no heterocíclico<sup>18,19</sup>.

### c. Alcaloides bencilisoquinoleínicos<sup>17</sup>

Es el grupo más complejo. Se encuentran generalmente en forma de tetrahydroderivados, aunque el alcaloide más relevante es la papaverina, que es aislado de las adormideras (*Papaver somniferum*), aunque en la actualidad se prepara por síntesis<sup>14</sup>.

### d. Alcaloides derivados de la aporfina<sup>16,17</sup>

Es un grupo extenso de alcaloides, pero de poca relevancia farmacológica. De este grupo se pueden destacar la boldina (alcaloide colagogo y colerético procedente del boldo) y la apomorfina (un derivado semisintético)<sup>17</sup>.

### e. Alcaloides derivados del morfina<sup>13,14</sup>

La morfina es obtenida a partir del opio y de las cápsulas de adormidera. Es considerado el analgésico por excelencia empleado en enfermedades terminales, como el cáncer<sup>13</sup>, pero induce dependencia física y psíquica, y síndrome de abstinencia.

### f. Alcaloides bisbencilisoquinoleínicos<sup>14</sup>

Entre ellos se encuentran los alcaloides de los curares, como la tubocurarina (ver figura 7). Son extractos complejos, constituidos por especies vegetales diversas y dotadas de actividad relajante muscular.

### g. Alcaloides isoquinolein-monoterpénicos<sup>14</sup>

Están representados específicamente por los alcaloides de las ipecacuanas *Cephaelis* sp. Los principales alcaloides de este grupo son la emetina (ver figura 7) y la cefelina, que poseen propiedades eméticas y antidisentéricas.

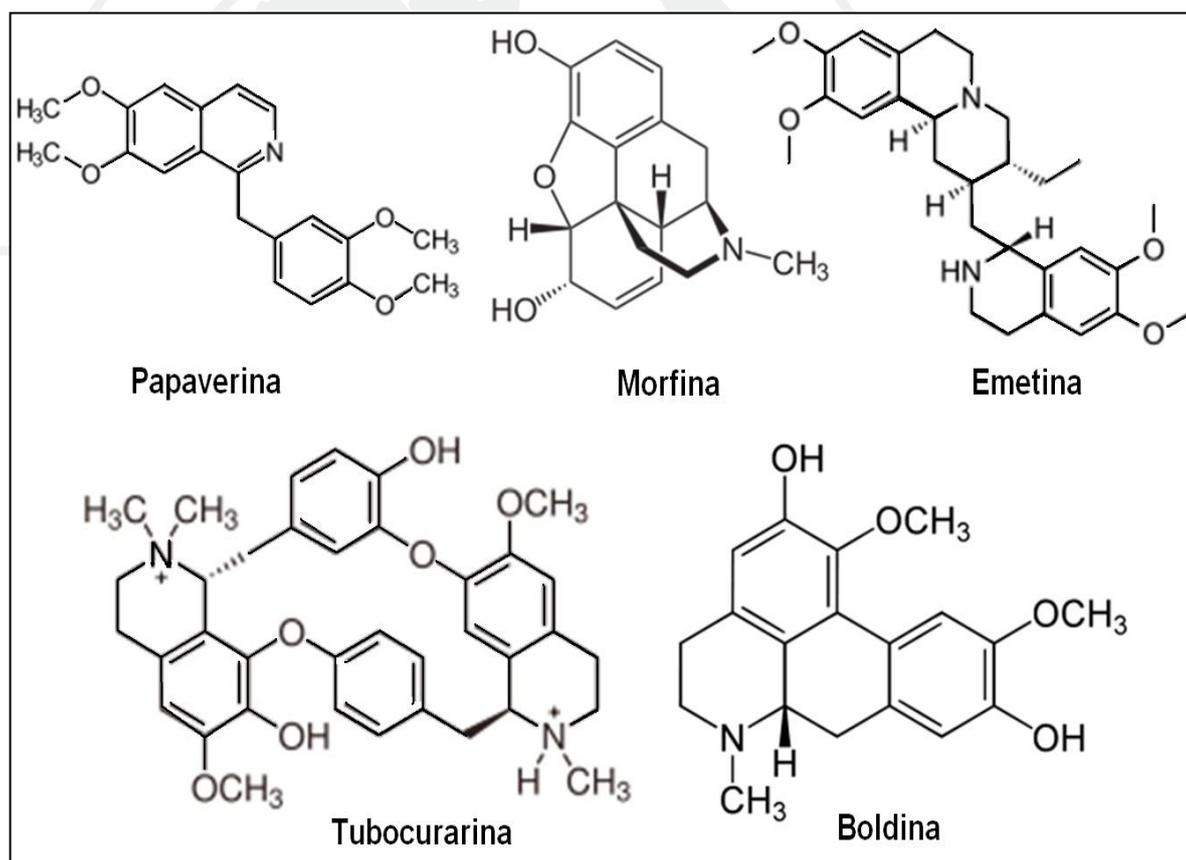


Figura 7. Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina<sup>14</sup>.

### 2.2.4.3. Alcaloides derivados del triptófano<sup>13</sup>

Los alcaloides derivados del triptófano constituyen el grupo más numeroso de alcaloides, con más de 4000 reportados<sup>17</sup>. La mayor parte procede de la triptamina, producto de la descarboxilación del triptófano.

#### a. Alcaloides $\beta$ -carbolina<sup>14</sup>

Biogénicamente formados por condensación de un aldehído o cetoácido con la triptamina, estos alcaloides se encuentran en algunas especies alucinógenas de la zona del Amazonas, como la harmina del ayahuasca (ver figura 8)<sup>14</sup>.

#### b. Alcaloides derivados de la ciclación de la triptamina<sup>14</sup>

Como la fisostigmina del haba del Calabar *Physostigma venenosum* (ver figura 8) es un inhibidor de la colinesterasa, permitiendo un efecto colinérgico más duradero, en la actualidad prácticamente no se utiliza en terapéutica<sup>14</sup>, siendo reemplazado por sus derivados sintéticos, como la neostigmina.

#### c. Alcaloides derivados de la ergolina<sup>14,17</sup>

Proceden de la unión de un indol con una quinoleína hidrogenada (ver figura 8). Se encuentran en el esclerocio de los hongos de la familia *Clavicipitaceae*, los cuales contaminan el centeno, el trigo y otras gramíneas, y son los causantes de intoxicaciones denominadas “fuego sagrado” o ergotismo. En este grupo se encuentran los alcaloides ergotamina y ergometrina<sup>17</sup>.

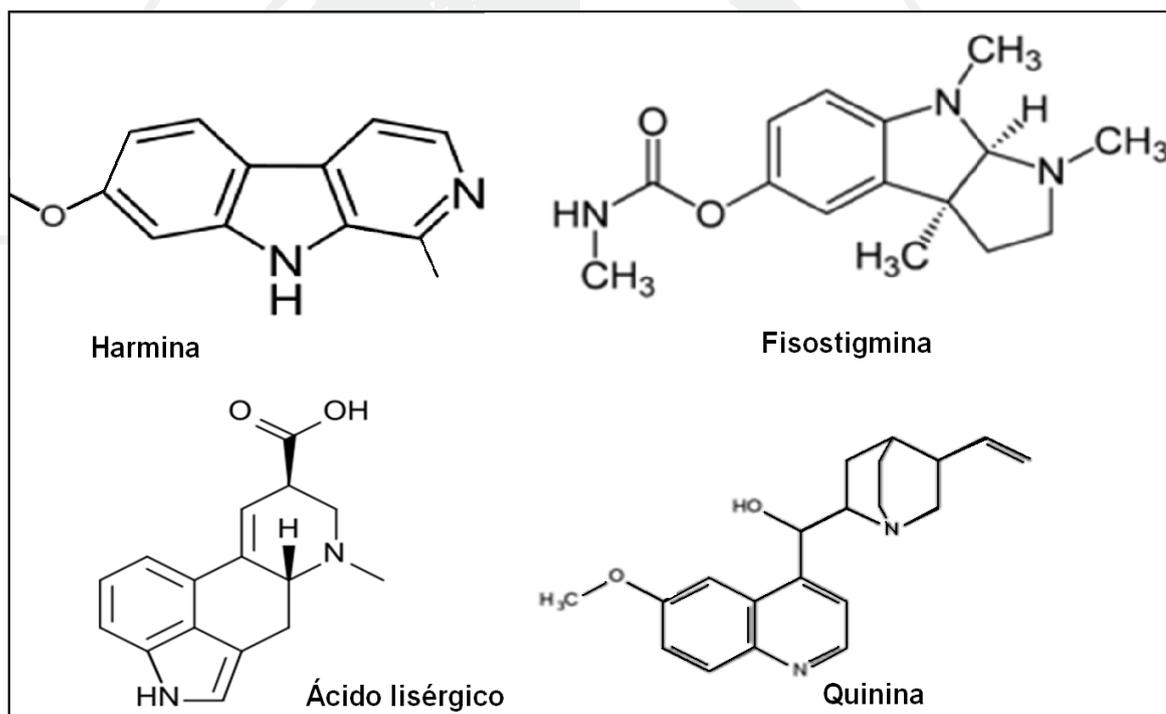
#### d. Alcaloides indolmonoterpénicos<sup>14</sup>

Proceden de la unión de la triptamina con el secologanósido. Este grupo es amplio y en él se encuentran estructuras químicas muy diversas, como

la estricnina, que es un alcaloide muy tóxico, con actividad estimulante medular y procedente de la nuez vómica (*Strychnos nux-vomica*); o la reserpina, alcaloide antihipertensivo aislado de la rauwolfia (*Rauwolfia sp.*).

### e. Alcaloides quinoleínicos<sup>17</sup>

Su biosíntesis se realiza a partir del triptófano por unión al secologanósido, pero, químicamente, su estructura deriva de la quinoleína. Están representados por los alcaloides de *Cinchona*, que poseen un núcleo de quinoleína en vez de indol. Son los estereoisómeros quinidina y quinina, con acción antimalárica (ver figura 8).



**Figura 8.** Alcaloides derivados del triptófano<sup>8,14</sup>.

#### 2.2.4.4. Alcaloides derivados de la histidina

##### a. Alcaloides imidazólicos<sup>14,18</sup>

Presentan actividad parasimpaticomimética. Son biosintetizados a partir de la histidina<sup>8</sup>, y se emplean principalmente en forma de colirio en el tratamiento del glaucoma (ver figura 9). La pilocarpina pertenece a este grupo.

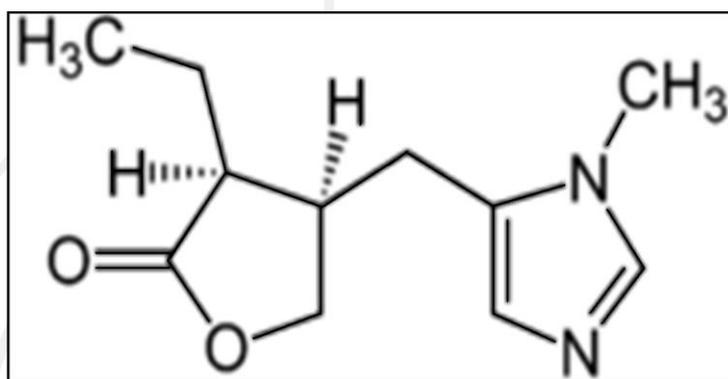


Figura 9. Pilocarpina<sup>18</sup>.

##### 2.2.4.5. Alcaloides derivados del ácido antranílico<sup>19</sup>

El ácido antranílico (ver figura 2) da origen a alcaloides variados, como quinolina, acridina y quinazolina. Es formado, ya sea a partir del ácido chorísmico, o como un producto de degradación del triptófano<sup>8</sup>. Estos alcaloides con frecuencia están representados en la familia de las rutáceas.

##### 2.2.4.6. Alcaloides derivados del metabolismo terpénico

Se forman a partir del isopreno vía ácido mevalónico. Los más interesantes, y que deben conocerse además, por su toxicidad, son los formados por unión de cuatro unidades isoprenicas<sup>14</sup>.

**a. Alcaloides diterpénicos**<sup>17</sup>

La mayoría de estos alcaloides se caracterizan por su elevada toxicidad y complejidad estructural. Pueden constar de 19 a 20 átomos de carbono, por lo que se habla de norditerpenos o de diterpenos. Se encuentran principalmente en especies de las ranunculáceas<sup>17</sup>. Entre las plantas medicinales con este tipo de alcaloides está la raíz de acónito.

**b. Alcaloides esteroidales**<sup>17</sup>

Se caracterizan por presentar un núcleo ciclopentanofenantreno. Son derivados del pregnano, donde el nitrógeno puede ser intra- o extracíclico. Pueden constar de 21, 24 o 27 átomos de carbono, El eléboro blanco (*Veratrum album*) presenta en su composición un alcaloide esteroideal llamado jervina (ver figura 10)<sup>14</sup>.

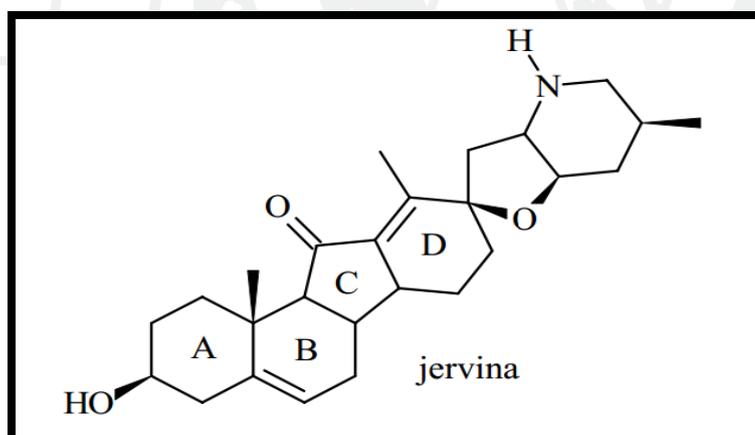


Figura 10. Jervina<sup>14</sup>.

#### 2.2.4.6. Otros alcaloides: bases xánticas<sup>17</sup>

Derivan del anillo de la purina, formado por condensación de una pirimidina con un imidazol (ver figura 11). Las bases púricas con mayor interés, por su utilización en terapéutica, son la cafeína, la teofilina y la teobromina. Presentan características especiales: su comportamiento como anfóteros o el hecho de ser solubles en agua caliente.

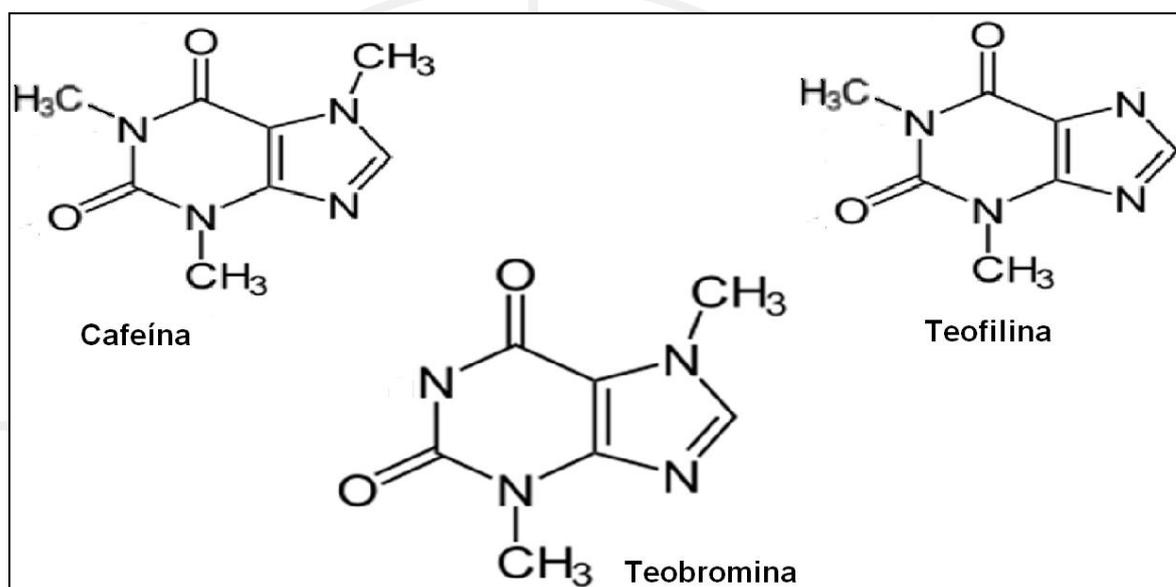


Figura 11. Alcaloides purínicos<sup>8</sup>.

#### 2.2.5. Efecto farmacológico de los alcaloides<sup>7,8,19</sup>

Los alcaloides son de real importancia en la medicina, siendo muy empleados con fines de tratamiento de enfermedades, control de dolencias y mejoramiento de la salud del hombre, entre ellos tenemos los siguientes:

a) **Atropina:** alcaloide con propiedad biológica anticolinérgica, obtenido de plantas solanáceas como la belladona, un arbusto venenoso. Aislada por primera vez en 1831 por Mein, es considerada por la OMS como una medicina esencial para dilatar las pupilas, en trastornos cardiacos (activar el ritmo cardiaco) o como antídoto por envenenamiento por insecticidas organofosforados<sup>13,15</sup>.

**b) Cocaína:** presente en la hoja de la coca, posee propiedad estimulante del sistema nervioso central, concretamente del sistema dopaminérgico. Era empleada en cirugía como anestésico. Tiene efectos adictivos<sup>8,13</sup>.

**c) Codeína:** obtenida del opio, usada contra la tos, calmante similar a la morfina, pero menos potente y menos adictivo<sup>7,8</sup>.

**d) Efedrina:** extraída originalmente de *Epedra vulgaris*. Posee propiedades estimulantes del sistema nervioso simpático de manera indirecta, que actúan liberando noradrenalina de las terminaciones adrenérgicas y evitando su recaptación, además de ser un agonista  $\beta$ -adrenérgico<sup>17</sup>. Es usada como descongestionante nasal por su acción vasoconstrictora local y broncodilatadora<sup>8</sup>.

**e) Emetina:** posee propiedades expectorantes, eméticas y antiamebianas. Por su toxicidad, debe administrarse cuando haya resistencia a otros fármacos antiamebianos, y solo si se desea inducir al vómito, en caso de ingerir sustancias tóxicas<sup>17</sup>.

**f) Escopolamina o hioscina:** se encuentra en solanáceas (escopolia, beleño, mandrágora, etc.). Es depresora de las terminaciones nerviosas y el cerebro, y antagonista de las sustancias que estimulan el sistema nervioso parasimpático. Se usa para dilatar las pupilas en oftalmología<sup>14,15</sup>.

**g) Morfina:** su nombre proviene de Morfeo, el dios del sueño de la mitología griega. Se extrae del opio. Conocida desde 1688, posee fuertes propiedades narcóticas y anestésicas. Es utilizada contra el dolor muy fuerte y produce adicción<sup>8,15</sup>.

**h) Nicotina:** se extrae del tabaco. Su nombre procede de Jean Nicot, que introdujo el tabaco en Francia en 1560. Es un potente veneno que, a bajas dosis, es estimulante. Se usa como insecticida en fumigación en invernaderos y causa la adicción al tabaco<sup>8</sup>.

**i) Papaverina:** se extrae de la amapola del opio. Es empleada en el tratamiento de espasmos viscerales, contracción vascular (corazón y cerebro)<sup>14</sup>.

**j) Quinina:** se extrajo originalmente de la corteza de la quina, árbol originario de Sudamérica, en 1820. Es utilizada contra la malaria<sup>7,17</sup>.

**k) Reserpina:** aislada en 1952 de la raíz desecada de *Rauwolfia serpentina*, es empleada contra la hipertensión arterial<sup>8</sup>.

**l) Lobelina:** se extrae de las hojas de una planta de tabaco de la india (*Lobelia inflata* L.). Tiene actividad mixta agonista-antagonista sobre los receptores nicotínicos, a nivel periférico es estimulante ganglionar, aunque posteriormente ejerce un efecto bloqueante. Además, posee propiedades analépticas, por lo que se ha empleado en reanimación de recién nacidos con apnea; sin embargo, sus efectos son transitorios e inciertos<sup>17</sup>. El sulfato de lobelina es utilizado en remedios para dejar de fumar<sup>8,17</sup>.

**m) Teofilina:** está indicada en el tratamiento del asma con disnea, por su efecto broncodilatador<sup>7,8</sup>.

## 2.2.6. Extracción de los alcaloides<sup>13,15</sup>

El estado natural de los alcaloides es en forma de sales solubles en soluciones acuosas o hidroalcohólicas<sup>8</sup>. Para la extracción de alcaloides existen dos métodos generales: la extracción en medio alcalino (por un solvente orgánico) y la extracción en medio ácido (con agua, alcohol o solución hidroalcohólica)<sup>20,21</sup>.

### 2.2.6.1. Extracción de los alcaloides en medio alcalino<sup>15,16</sup>

Para la realización de la separación de los alcaloides a partir de los tejidos de las plantas y de los componentes inertes, se toma la droga pulverizada, desengrasada y se mezcla con un álcali, como óxido de calcio, carbonato de calcio o hidróxido de amonio, para liberar alcaloides de sus sales. Las bases liberadas son en seguida solubilizadas en un disolvente orgánico de polaridad media. El disolvente orgánico que contiene los alcaloides bases es separado y concentrado a presión reducida; luego se agita con una solución acuosa ácida; los alcaloides se solubilizan en su forma de sales, mientras que otras sustancias que se encuentren en el extracto, como pigmentos, esteroides y otras impurezas, se restan en la fase orgánica. Las soluciones acuosas de las sales de alcaloide son nuevamente alcalinizadas y extraídas con un solvente

orgánico no miscible; el solvente orgánico es deshidratado y concentrado a presión reducida; el residuo son los alcaloides totales (AT)<sup>22</sup>.

## 2.2.7. Separación de alcaloides por métodos cromatográficos

### 2.2.7.1. Cromatografía en capa fina<sup>8,23</sup>

Técnica más empleada para la separación de alcaloides de extractos crudos, utilizando principalmente *silica gel*. Los sistemas de solventes son muy variados, siendo algunos considerados de uso general y otros aplicados más específicamente (ver tabla 1).

El agente revelador de uso general es el reactivo de Dragendorff, cuya aplicación produce manchas generalmente de color anaranjado, que deben conservarse por lo menos por 24 horas, para considerar la prueba positiva. El revelador de yodo platínico de potasio da manchas de color azul característico al calentar 3-5 minutos a 100 °C. El reactivo de Erlich y el FeCl<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> para alcaloides indólicos y el reactivo de Marquis para la solanina.

**Tabla 1. Sistemas de solventes que se emplean en cromatografía en capa fina para alcaloides<sup>8,13</sup>**

Sistema	Aplicación
MeOH : NH <sub>4</sub> OH (220:3 v/v)	General
EtOAc: MeOH: H <sub>2</sub> O (100:13,5:10 v/v)	General
CHCl <sub>3</sub> : MeOH: NH <sub>4</sub> OH (45:2:0,1 v/v)	Alcaloide indólico
CHCl <sub>3</sub> : MeOH (9:1 v/v)	Alcaloide β-carbolina
CHCl <sub>3</sub> : MeOH(85:15 v/v)	Alcaloide isoquinólico

### 2.2.8. Identificación de alcaloides por métodos espectroscópicos<sup>18</sup>

Es aplicable a los alcaloides que absorben a una determinada longitud de onda. Tiene como ventaja su elevada sensibilidad (tienen una gran capacidad de detectar cantidades muy pequeñas de alcaloides, pero resulta muy fácil que otras sustancias presentes puedan ocasionar interferencias)<sup>18</sup>.

#### 2.2.8.1. Espectroscopia UV/visible<sup>8,24</sup>

El espectro UV de los alcaloides depende de su estructura, naturaleza, número, tipo y posición de los sustituyentes. Hay grupos de alcaloides que, careciendo de cromóforos, no absorben en esta región, como en el caso de la mayoría de los alcaloides derivados de aminoácidos alifáticos y algunos derivados del metabolismo terpénico.

En forma general, los alcaloides que tienen átomos con electrones solitarios, dobles o triples enlaces aislados (grupos cromóforos), absorben con cierta intensidad en la región de 150 a 200 nm (ultravioleta).

#### 2.2.8.2. Espectroscopia infrarroja<sup>8,9,25</sup>

Aunque los alcaloides carecen de absorciones que permitan identificarlos, proporciona importante información sobre la presencia o no de ciertos sustituyentes. Las absorciones más útiles son entre 3200 y 3700  $\text{cm}^{-1}$ , en la que absorben los grupos hidroxilos; los grupos fenólicos, entre 3650 y 3500  $\text{cm}^{-1}$ ; los grupos amino, entre 3200 y 3400  $\text{cm}^{-1}$ ; y, en la región entre 1620 y 1780  $\text{cm}^{-1}$ , absorben los grupos carbonilo.

### 2.2.9. Estudio toxicológico<sup>8,13</sup>

Los alcaloides son beneficiosos así como peligrosos; podrían provocar toxicidad y efectos adversos, como alteraciones en el sistema nervioso central, alucinaciones, problemas graves en el sistema digestivo, dependencia física y psíquica y, en muchas ocasiones, la muerte.

### 2.2.10. Ensayo de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg<sup>3,13</sup>

La toxicidad aguda oral permite observar los efectos adversos que aparecen en un tiempo breve, posterior a la administración de dosis única o dosis múltiples administradas en 24 horas. Es importante señalar que los ensayos de toxicidad aguda no son un sinónimo de mortalidad de los animales expuestos al extracto o a la muestra en estudio.



### III. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. Materiales y métodos

##### 3.1.1. Material biológico

###### 3.1.1.1. Material vegetal

Hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

###### 3.1.1.2. Material animal

Seis ratones albinos *Mus musculus*, cepa Balb/C-53 de 20-25 g de peso, provenientes del bioterio del Centro de Control de Calidad del Ministerio de Salud de Chorrillos, quienes fueron albergados a temperatura ambiente en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener durante el período de estudio.

##### 3.1.2. Material químico

**3.1.2.1. Solventes:** agua destilada, metanol de marca Merck<sup>®</sup>, etanol de marca Merck<sup>®</sup>, n-butanol de marca Merck<sup>®</sup>, acetato de etilo de marca Merck<sup>®</sup>, cloroformo de marca Merck<sup>®</sup>, n-hexano de marca Merck<sup>®</sup>, acetona de marca Merck<sup>®</sup>, éter dietílico de marca Merck<sup>®</sup>, éter de petróleo de marca Merck<sup>®</sup> y benceno de marca Merck<sup>®</sup>.

**3.1.2.2. Reactivos:** Bertrand, Dragendorff, Mayer, Popoff, Wagner, AlCl<sub>3</sub> 1 %, FeCl<sub>3</sub> 1 %, Shinoda, Molish, Fehling A y B, Liebermann-Burchard, Salkowski y Ninhidrina 1 %.

**3.1.2.3. Insumos:** amoniaco de marca Merck<sup>®</sup>, ácido acético glacial de marca Merck<sup>®</sup>, *silica gel* 60 GF<sub>254</sub> de marca Merck<sup>®</sup>, placas cromatográficas de *silica gel* G<sub>60</sub> de 20 x 20 cm y de 0,25 mm de espesor de marca Merck<sup>®</sup>.

### 3.1.3. Materiales de laboratorio

- Material de vidrio tipo Pyrex<sup>®</sup>.
- Papel filtro whatman N.º 1.
- Gotero de plástico.
- Sonda orogástrica para ratones.
- Guantes descartables 6 ½ y 8.
- Jaulas metálicas de acero inoxidable.
- Mechero de Bunsen.
- Trípode.
- Rejilla.
- Cocinilla eléctrica de marca Ceran<sup>®</sup> 500209.
- Equipo de disección de marca Osac<sup>®</sup>

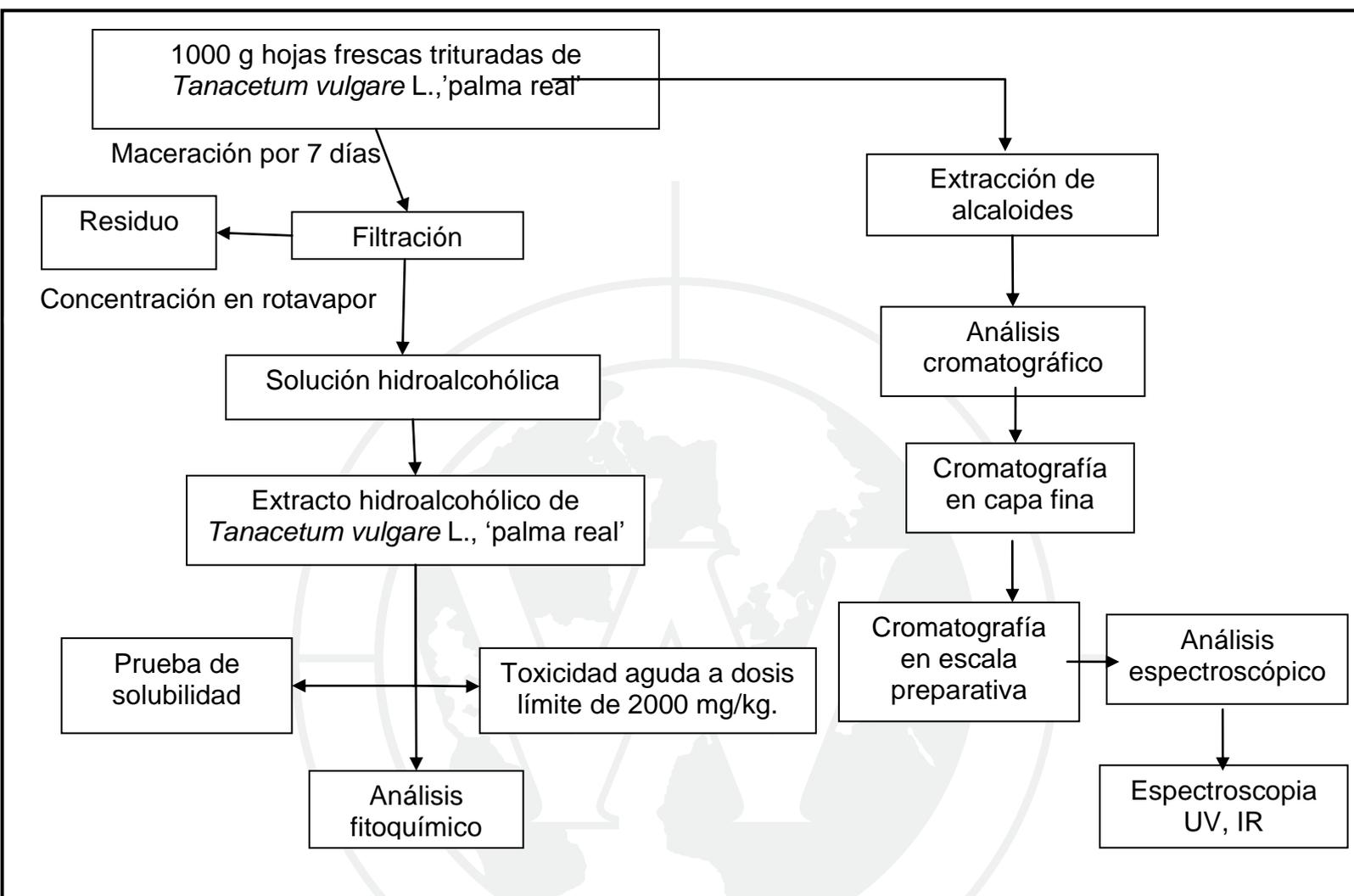
### 3.1.4. Equipo de laboratorio

Campana extractora de marca Klimatechnik (modelo GL 1000 x 850 x 600), balanza analítica de marca Sartorius<sup>®</sup> (modelo TE 4101, serie 17503114), balanza granataria de marca OHAUS<sup>®</sup> (modelo 28073), estufa de marca Memmert GmbH + Co.KG Typ Um 20, espectrofotómetro ultravioleta-visible de marca Shimadzu<sup>®</sup> (modelo 1800), espectrofotómetro infrarrojo de marca Shimadzu<sup>®</sup> (modelo IRAffinity-1).

## 3.2. Metodología

El presente trabajo de investigación es experimental y descriptivo.

**Gráfico 1. Estudio fitoquímico y evaluación de la toxicidad aguda de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'**



### 3.2.1. Estudio fitoquímico

#### 3.2.1.1. Recolección de material botánico<sup>26</sup>

Se recolectaron las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' el 10 de mayo de 2010 en el distrito de Tamburco (provincia de Abancay, departamento de Apurímac), ubicado aproximadamente a 2581 msnm (ver figura 12)<sup>2</sup>.



Figura 12. Recolección de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

#### 3.2.1.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'<sup>27,28</sup>

Se seleccionaron las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' y se pesó 1 kg; luego se lavó y se hizo un extracto de las hojas frescas de palma real, empleando una licuadora, para luego filtrar al vacío; se dejó

macerar en un frasco cerrado herméticamente (ver figura 13); se agitó todos los días para homogenizar la solución hidroalcohólica durante siete días; y se llevó a un rotavapor para concentrar el extracto hidroalcohólico. Finalmente, se secó en una estufa a 40 °C (ver figura 14).



**Figura 13.** Selección de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.



paración del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'Palma real'.

### 3.2.1.3. Prueba de solubilidad<sup>8,28</sup>

En una batería de tubos de ensayo se colocaron 20 mg de extracto hidroalcohólico desecado de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'; se añadieron 1 ml de solventes de diferente polaridad (agua destilada, metanol, etanol, n-butanol, acetato de etilo, cloroformo, n-hexano, acetona, benceno, éter dietílico y éter de petróleo) para cada tubo de ensayo.

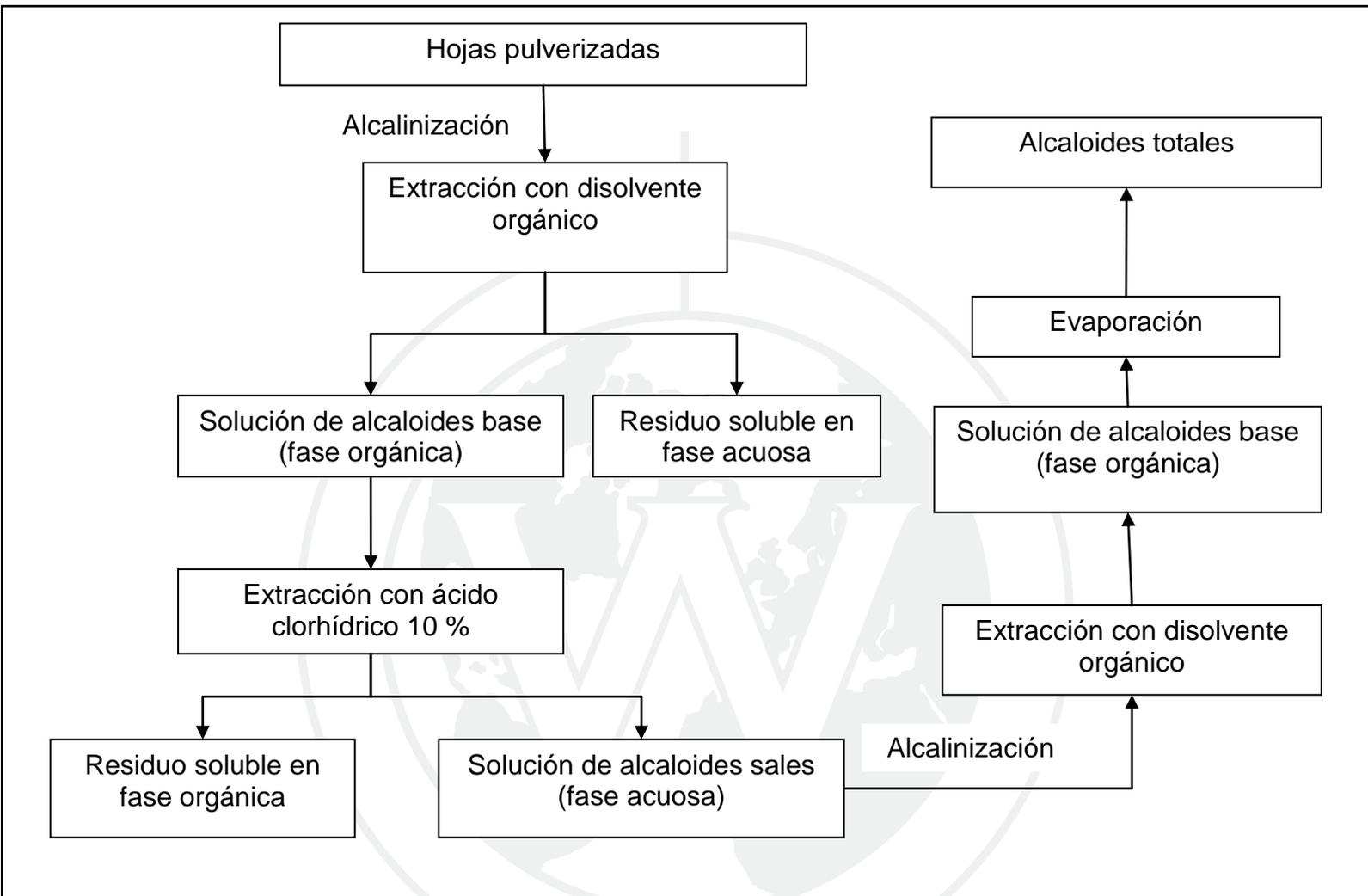
### 3.2.1.4. Análisis fitoquímico<sup>8,9</sup>

Se realizaron las pruebas para determinar la presencia o ausencia de metabolitos primarios y secundarios más importantes. Se utilizaron 20 mg de extracto hidroalcohólico desecado de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'; se disolvieron con el solvente más soluble y se añadieron 1 ml de diversos reactivos; se identificaron los metabolitos primarios y secundarios presentes en el extracto.

### 3.2.2. Extracción de alcaloides<sup>8,17</sup>

Se pulverizaron y desengrasaron las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'. Se mezclaron con óxido de calcio<sup>29</sup> y amoníaco hasta la formación de una papilla; en seguida, se solubilizaron con cloroformo, separando y concentrado los alcaloides en su forma básica; luego se agregó una solución de agua acidulada o ácido clorhídrico al 10 %, donde los alcaloides se solubilizaron en forma de sales, mientras que otras sustancias que se encontraron en el extracto restaron en la fase orgánica. La solución acuosa de los alcaloides en forma de sales fue nuevamente alcalinizada y extraída con cloroformo, y se concentró hasta sequedad, obteniéndose los alcaloides en forma de cristales (ver gráfico 2)<sup>30</sup>.

**Gráfico 2. Extracción de alcaloides por medio básico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'<sup>8,17</sup>**



### 3.2.2.1. Identificación de alcaloides a través de reacciones de precipitación<sup>31,32</sup>

Se comprobó la presencia de alcaloides mediante reacciones de identificación con reactivos Bertrand, Dragendorff, Mayer, Popoff, Wagner a los cristales obtenidos después de haber realizado la extracción por el medio alcalino más 1 ml de ácido clorhídrico al 10 %.

### 3.2.3. Análisis cromatográfico

#### 3.2.3.1. Cromatografía en capa fina

Se utilizaron cromatofolios con *silica gel* G<sub>60</sub> de 20 x 20 cm y 0,25 mm de espesor, en los que se aplicó la muestra del extracto hidroalcohólico de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' en capilares; posteriormente, se colocaron en cámaras cromatográficas previamente saturadas; se usó como sistema de solventes MeOH-CHCl<sub>3</sub> (1:1,5 v/v); se identificó la fracción alcalina con el revelador de Dragendorff.

#### 3.2.3.2. Cromatografía en escala preparativa

Mediante cromatografía en escala preparativa (C. E. P.) se logró aislar y extraer la fracción alcalina (F1). A esta fracción se le realizaron pruebas químicas y espectroscópicas ultravioleta-visible e infrarrojo.

### 3.2.4. Análisis espectroscópico

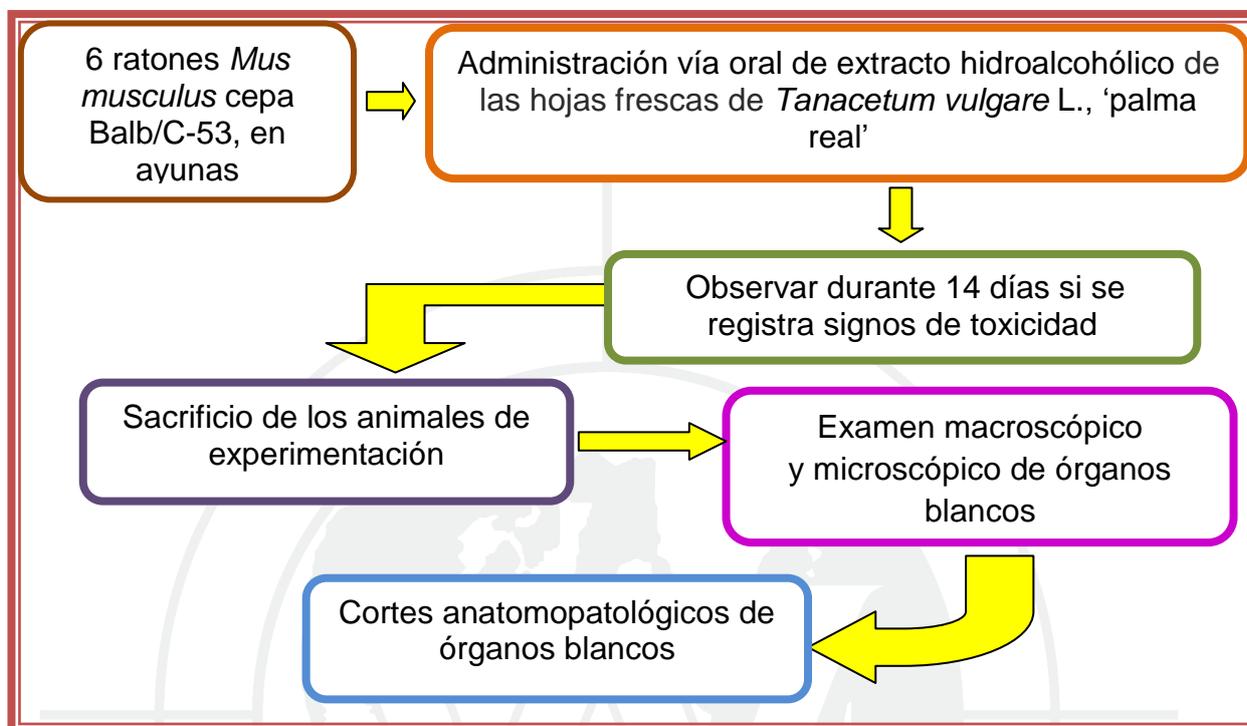
Se realizó el análisis espectroscópico de la fracción (F1) en el espectrofotómetro ultravioleta-visible de marca Shimadzu® (modelo 1800) entre los rangos de 190 a 400 nm; y en un espectrofotómetro infrarrojo de marca Shimadzu® (modelo IRAffinity-1), en la Unidad de Servicios de Análisis Químicos (USAQ) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### 3.2.5. Estudio toxicológico

El método de dosis fijas fue adoptado en la guía N.º 420 de la OECD (OECD guideline for testing of chemicals, 2000) Aleatoriamente, se conformaron grupos de ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53 (ver figura 15): un grupo tratado y otro de control. El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' fue administrado con un ayuno previo de 24 horas, por vía oral, mediante una cánula intragástrica, a dosis única de 2000 mg/kg de peso corporal, teniendo en cuenta la ausencia de signos o síntomas de toxicidad por esta vía de administración. Se dosificaron de acuerdo al peso de cada ratón.

Los animales fueron observados individualmente durante los primeros 30 minutos, con especial atención durante las primeras 4 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento. Pasadas las dos semanas fueron sacrificados y se procedió a realizar el examen macroscópico de órganos blancos y el examen microscópico (ver gráfico 3), para lo cual los órganos fueron fijados en solución de formol al 10 %. Posteriormente, se procedió a realizar cortes con ayuda de un micrótopo; se coloreó con hematoxilina y eosina. Después de la deshidratación y limpieza de las láminas, fueron llevados para observación microscópica.

**Gráfico 3. Estudio de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53, del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’<sup>3</sup>**



**Figura 15.** Ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Prueba de solubilidad

El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', fue soluble en solventes polares, principalmente en metanol, agua y etanol; e insoluble en acetona, acetato de etilo, benceno, cloroformo, éter dietílico, éter de petróleo n-butanol y n-hexano (ver tabla 2 y figura 16).

**Tabla 2. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (20 mg/1 ml MeOH)**

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua destilada	+
Metanol	+
Etanol	+
n-butanol	-
Acetato de etilo	-
Cloroformo	-
n-hexano	-
Acetona	-
Benceno	-
Éter dietílico	-
Éter de petróleo	-

**Leyenda:** (-) Insoluble, (+) soluble.



**Figura 16.** Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

#### 4.2. Análisis fitoquímico<sup>8,9</sup>

El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', presenta alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, carbohidratos, azúcares reductores, esteroides y grupo amino libre (ver tabla 3 y figura 17).

**Tabla 3. Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (20mg/1ml MeOH)**

METABOLITOS	REACTIVOS	RESULTADO
Alcaloides	Bertrand	+
	Dragendorff	+
	Mayer	+
	Popoff	+
	Wagner	+
Flavonoides	AlCl <sub>3</sub> 1 %	+
	Shinoda	+
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub> 1%	+
Carbohidratos	Molish	+
Azúcares reductores	Fehling A y B	+
Esteroides	Liebermann-Burchard	+
	Salkowski	+
Grupo amino libre	Ninhidrina 1 %	+

**Leyenda:** (-) Ausencia de metabolitos, (+) Presencia de metabolitos.



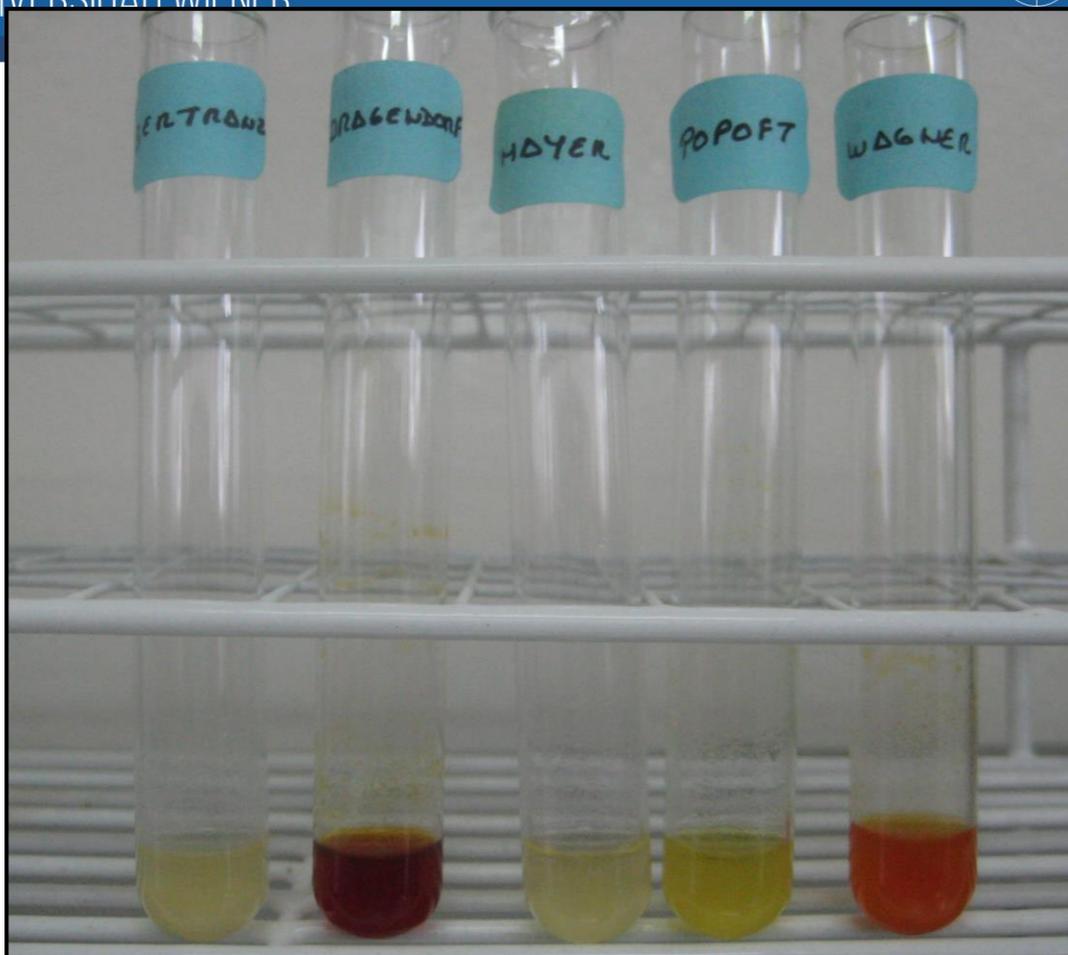
**Figura 17.** Análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

#### 4.3. Identificación de alcaloides a través de reacción química<sup>8,10</sup>

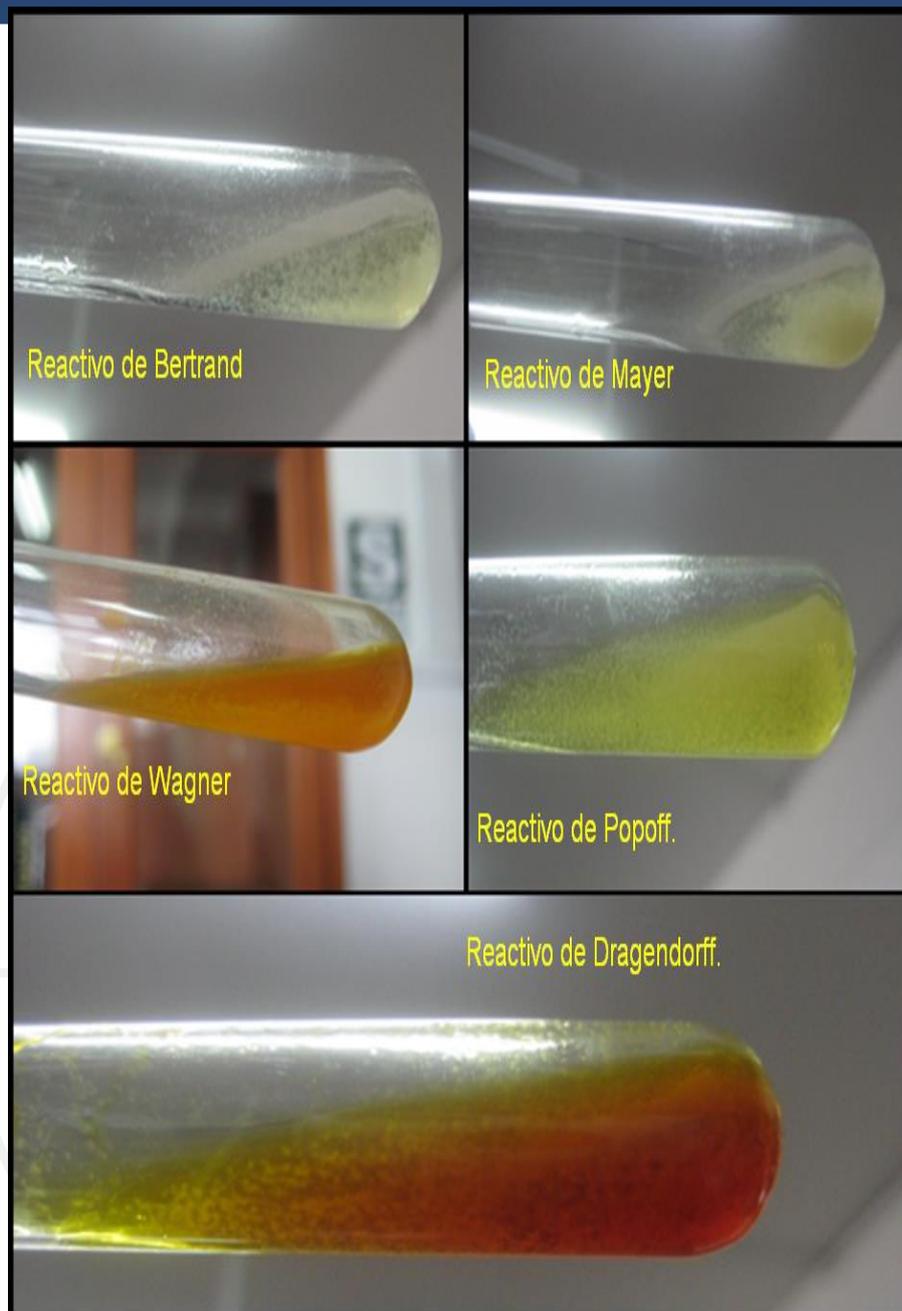
Tabla 4. Pruebas químicas de precipitación para reconocer alcaloides extraídos por medio alcalino *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (10 mg/1 ml MeOH)

PRUEBAS QUÍMICAS DE PRECIPITACIÓN	RESULTADOS
Bertrand	+
Dragendorff	+
Mayer	+
Popoff	+
Wagner	+

**Leyenda:** (-) Ausencia de metabolitos, (+) Presencia de metabolitos.

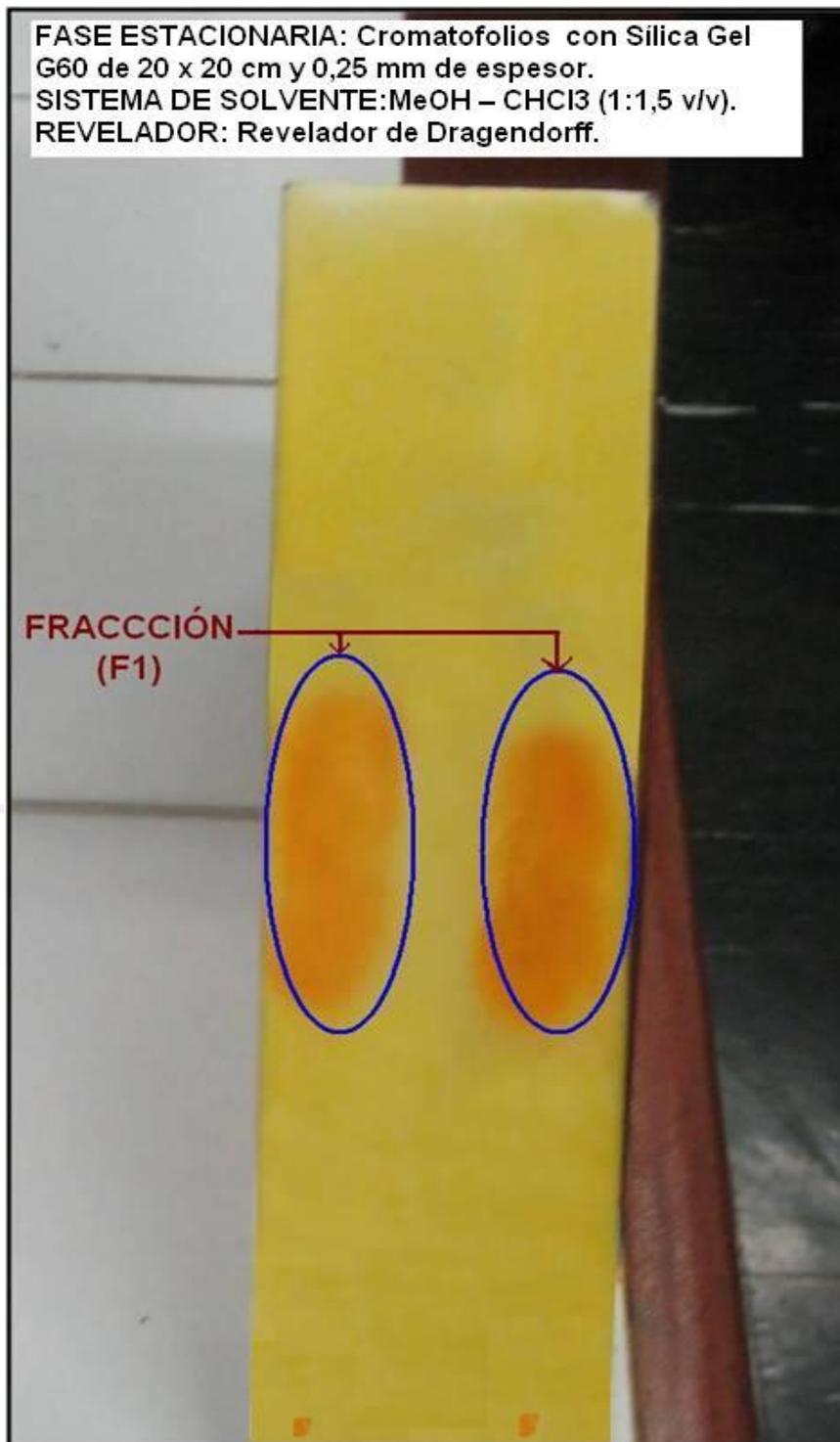


**Figura 18.** Identificación de alcaloides extraídos por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', por medio de reacción de precipitación.

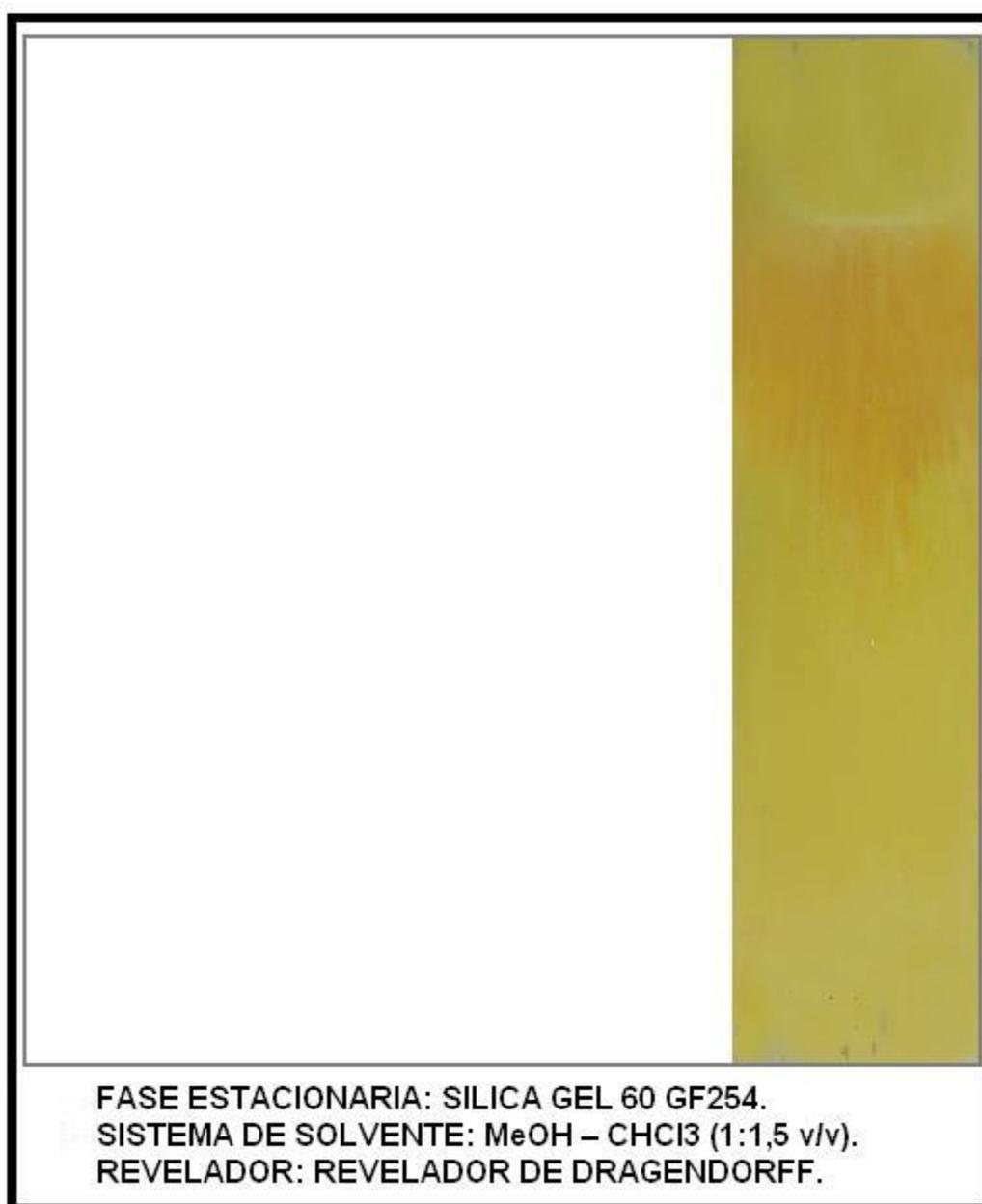


**Figura 19.** Identificación de alcaloides extraído por medio alcalino.

#### 4.4. Análisis cromatográfico



**Figura 20.** Cromatograma en capa fina de los alcaloides extraídos por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', identificados con el revelador de Dragendorff.

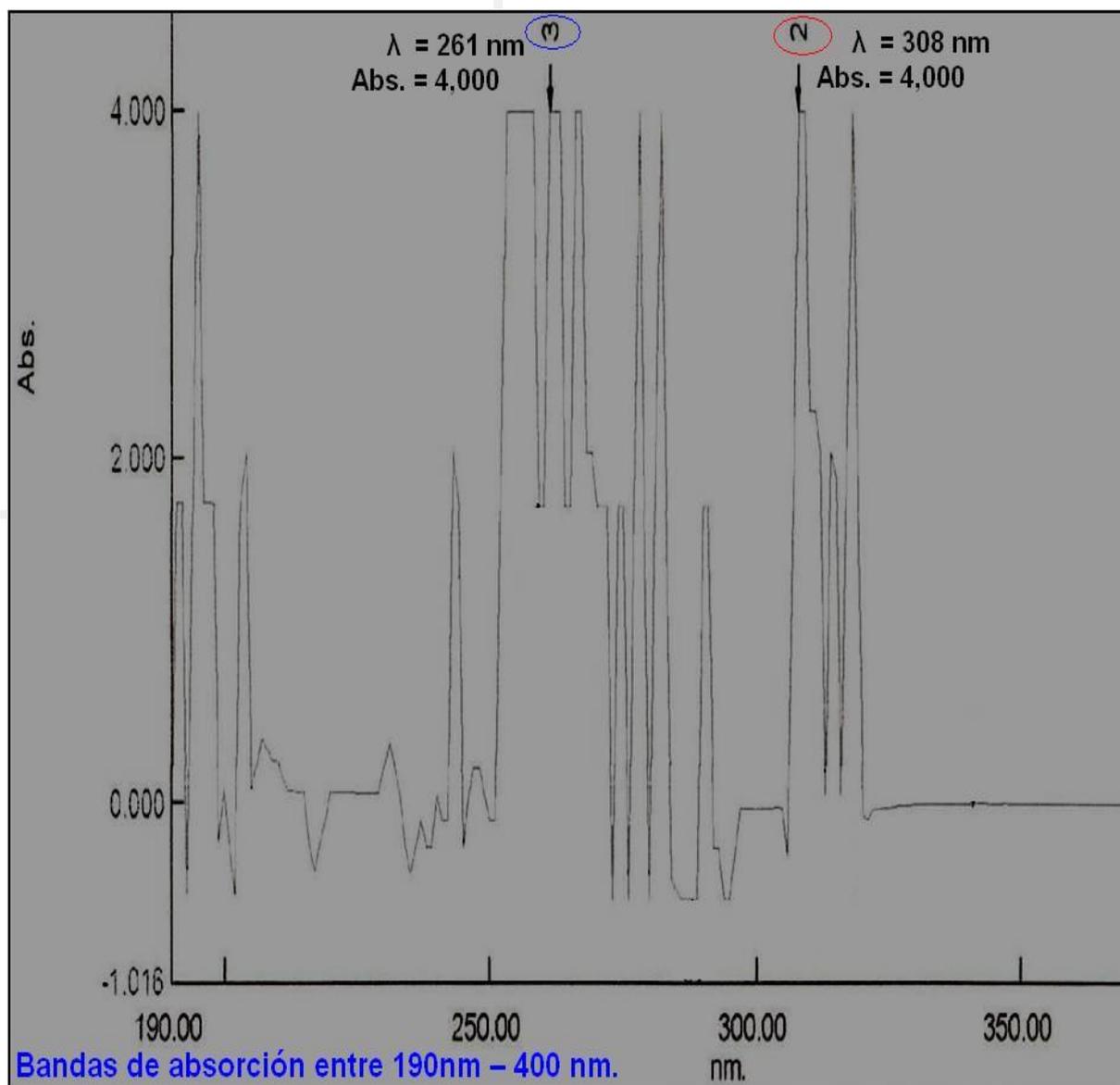


**Figura 21.** Cromatograma en escala preparativa de los alcaloides extraídos por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', identificados con el revelador de Dragendorff.

## 4.5. Análisis espectroscópico

### 4.5.1. Análisis espectroscópico UV-visible

Espectro UV-visible de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.



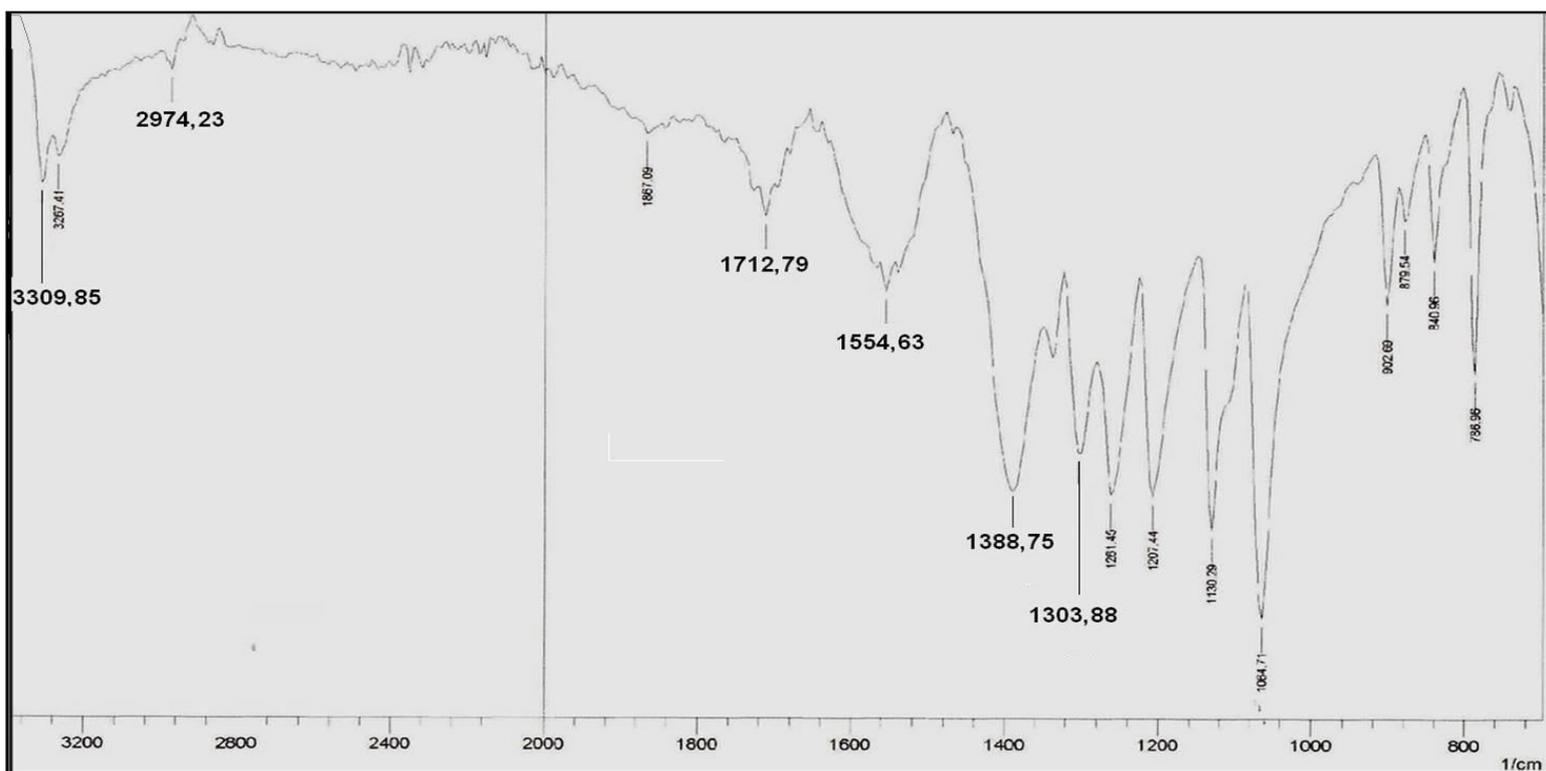
**Figura 22.** Espectro UV-visible de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'. Presentó las longitudes de onda de 261 y 308 nm; la longitud de 308 nm concuerda con el espectro de alcaloides indólicos presentado en la obra *Investigación fitoquímica* de Olga Lock de Ugaz<sup>8</sup>.

**Legenda:**  $\lambda$  = longitud de onda, abs. = absorbancia.

#### 4.5.2. Análisis espectroscópico infrarrojo

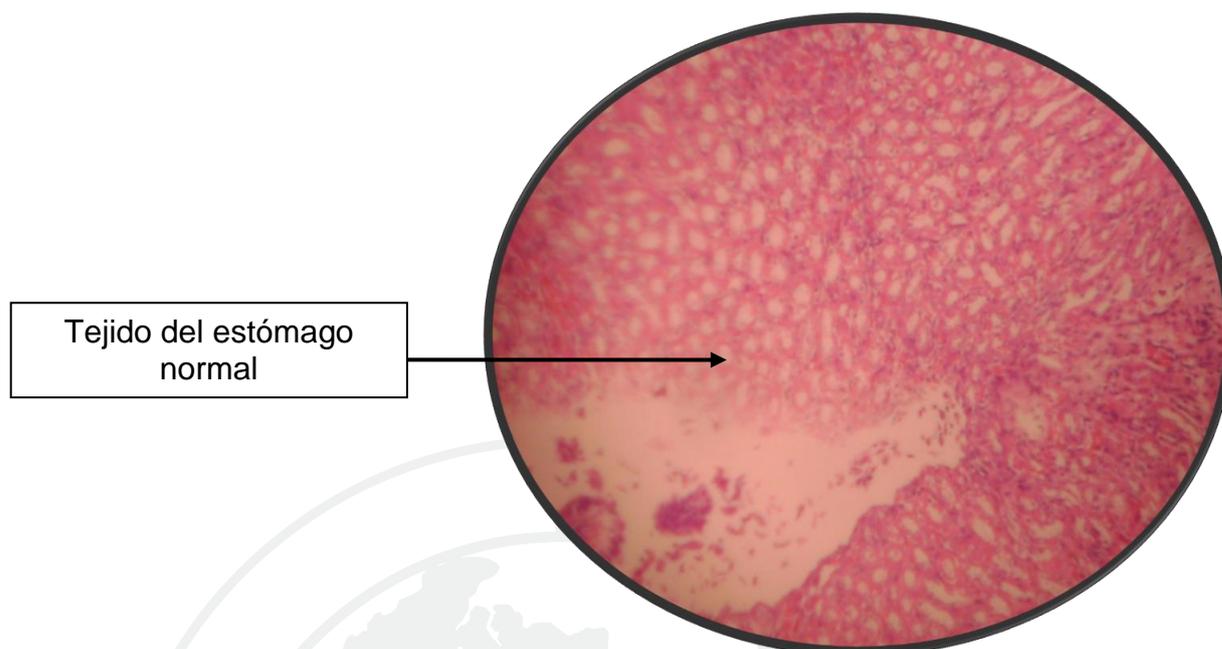
Tabla 5. Principales bandas de absorción del espectro infrarrojo de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'

LONGITUD DE ONDA	GRUPO FUNCIONAL
3309,85 $\text{cm}^{-1}$	NH <sub>2</sub> -
2974,23 $\text{cm}^{-1}$	-C-H
1388,75 $\text{cm}^{-1}$	-CH <sub>2</sub> -
1303,88 $\text{cm}^{-1}$	C=C
1712,79 $\text{cm}^{-1}$	C=O
1554,63 $\text{cm}^{-1}$	ANILLO AROMÁTICO

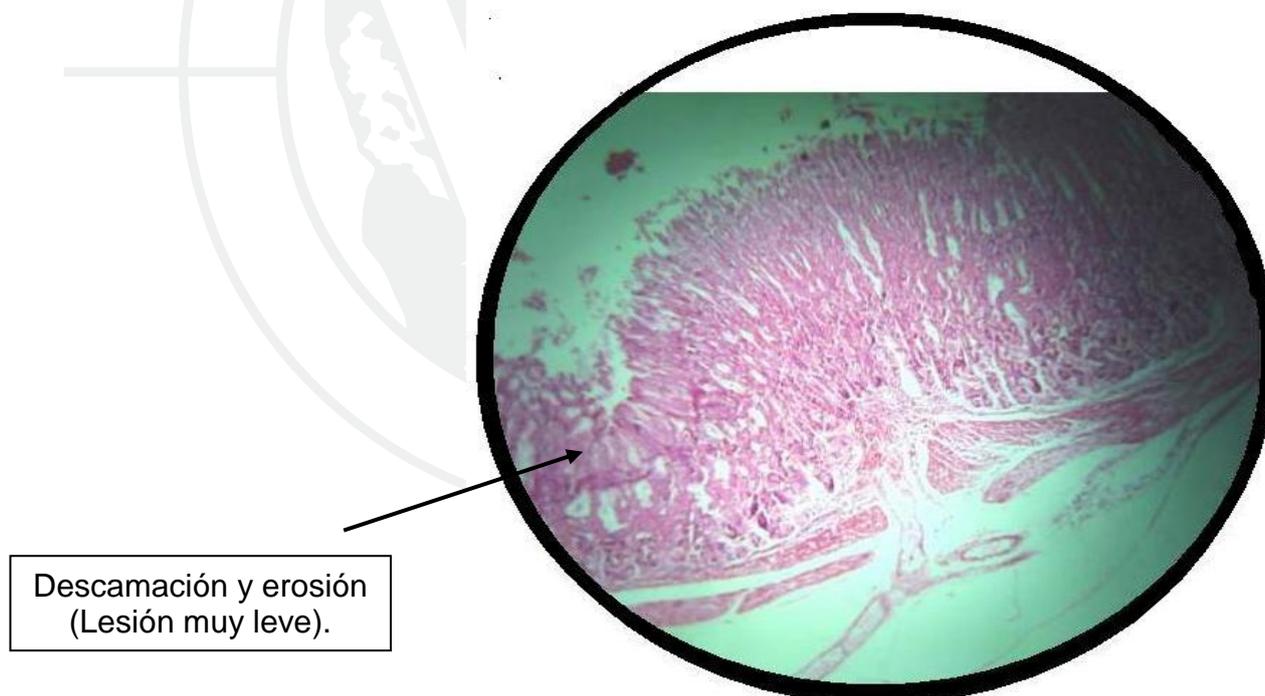


**Figura 23.** Espectro IR de la fracción aislada (F1) extraída por medio alcalino de las hojas *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'. Se observaron bandas de absorción a  $3309,85\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a la banda de absorción de los grupos amino;  $1712,79\text{ cm}^{-1}$  en la que absorben grupos carbonilos y  $1554,63\text{ cm}^{-1}$  donde se absorben los grupos aromáticos;  $1388,75\text{ cm}^{-1}$ ;  $2974,23\text{ cm}^{-1}$ ;  $1303,88\text{ cm}^{-1}$  absorben los enlaces carbono con carbono o hidrógeno, lo cual concuerda con el espectro IR presentado en la obra *Método de investigación fitoquímica* de Jorge Domínguez<sup>9</sup>.

#### 4.6. Evaluación de los cortes anatomopatológicos

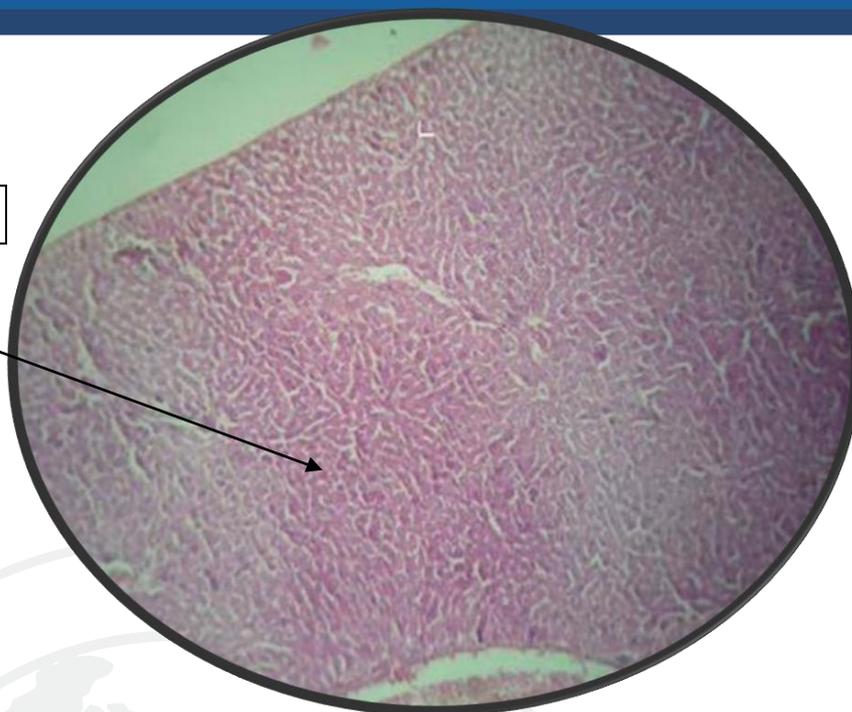


**Figura 24.** Corte anatomopatológico del grupo control: estómago de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (400x). Se observa conservación de la estructura anatomopatológica.



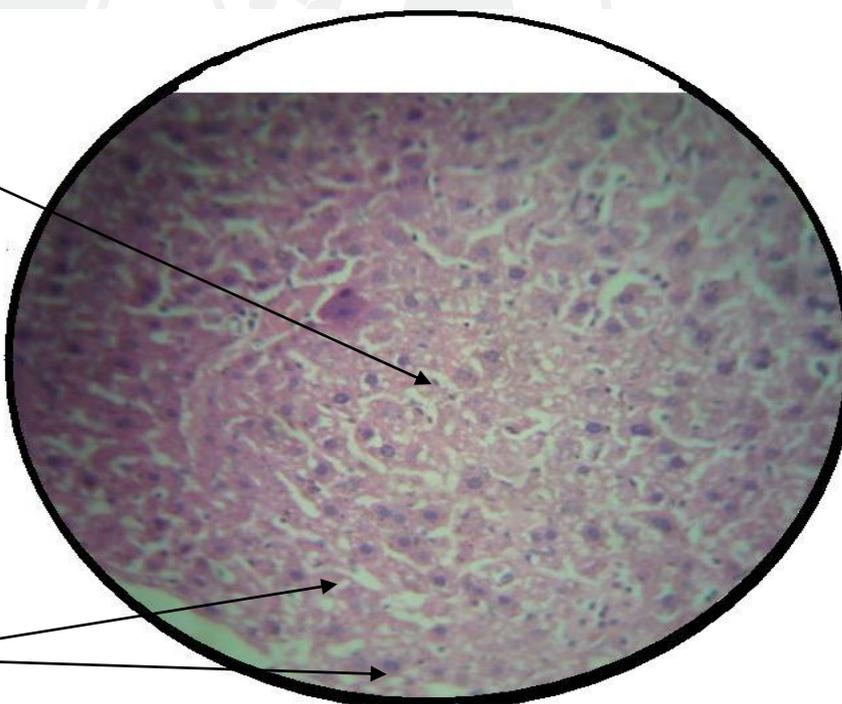
**Figura 25.** Corte anatomopatológico del estómago de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, con tratamiento de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (100x). Se observa descamación y erosión de la estructura del estómago, indicando una lesión muy leve.

Tejido del hígado normal



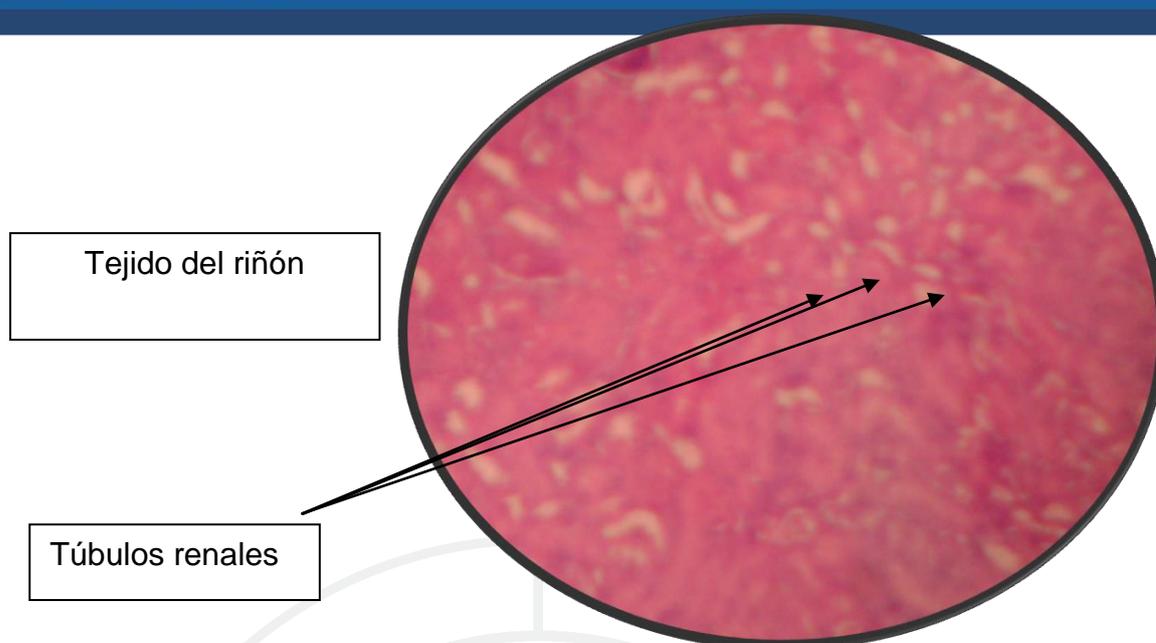
**Figura 26.** Corte anatomopatológico del grupo control: hígado de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (100x). Se observa conservación de la estructura anatomopatológica.

Desorganización de los conductos biliares (indica lesión)

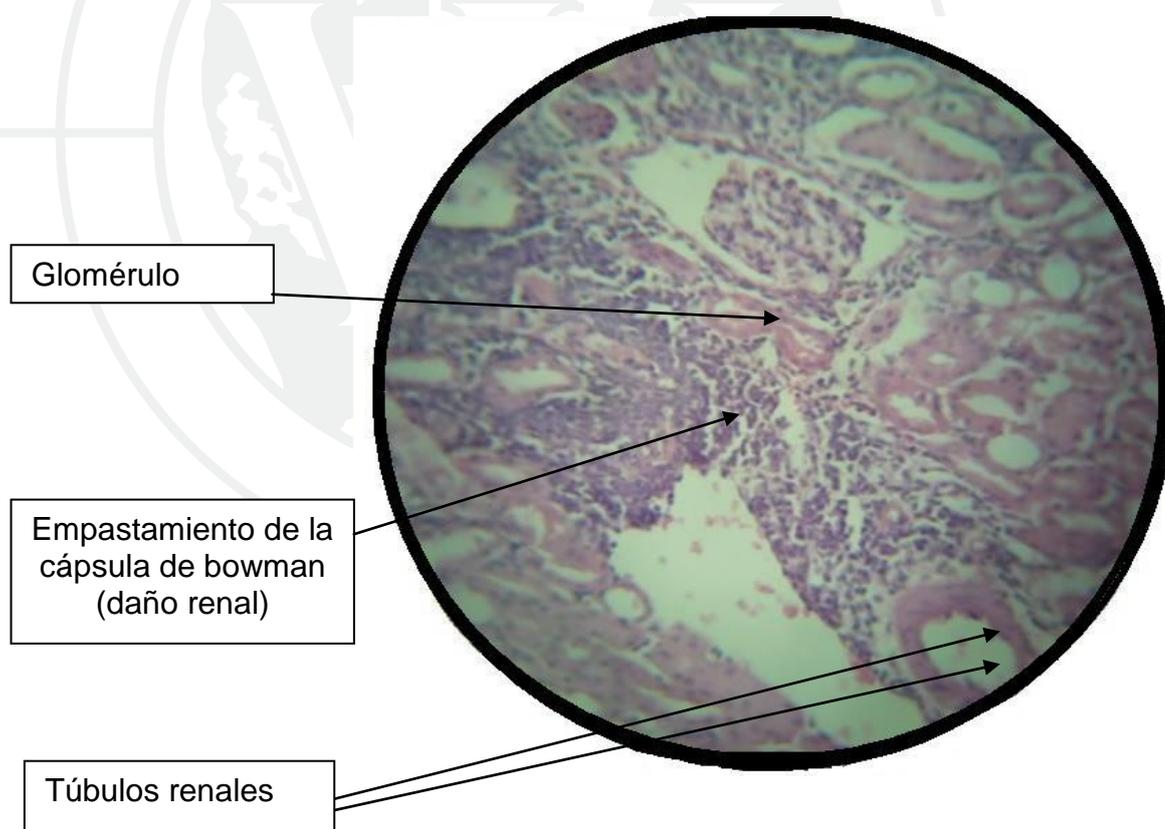


Núcleos picnóticos (indica lesión)

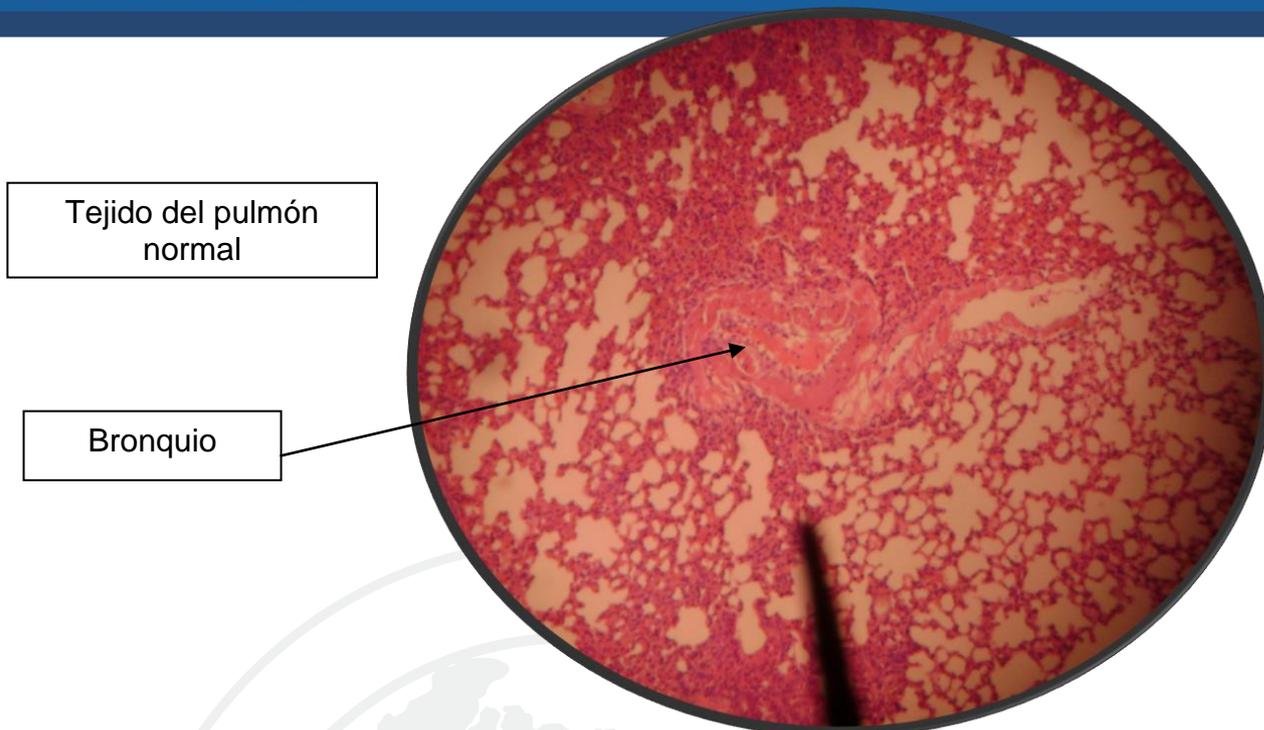
**Figura 27.** Corte anatomopatológico del hígado de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53 con tratamiento de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (400x). Se observa desorganización de los conductos biliares y presencia de núcleos picnóticos en la estructura del hígado, demostrando toxicidad.



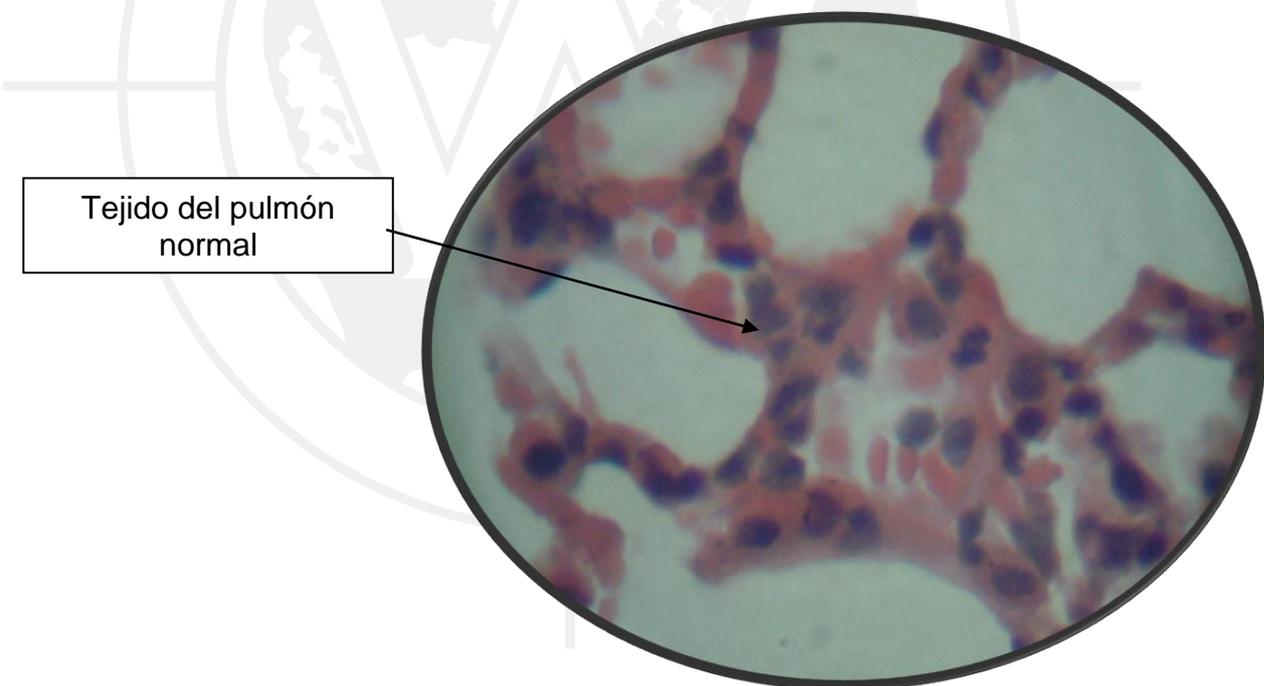
**Figura 28.** Corte anatomopatológico del grupo control: riñón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (100x). Se observa conservación de la estructura anatomopatológica.



**Figura 29.** Corte anatomopatológico del riñón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, tratados con 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (400x). Se observa empastamiento de la cápsula de Bowman y daño renal indicando toxicidad.



**Figura 30.** Corte anatomopatológico del grupo control: pulmón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53, sin tratamiento (100x). Se observa conservación de la estructura anatomopatológica.



**Figura 31.** Corte anatomopatológico del pulmón de ratones albinos especie *Mus musculus* cepa Balb/C-53 tratados con 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real' (400x). No se observa alteración en la estructura anatomopatológica, demostrando que no hubo efecto tóxico.

## V. DISCUSIÓN

El extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', fue soluble en solventes polares (principalmente en metanol, agua destilada y etanol) e insoluble en acetona, acetato de etilo, benceno, cloroformo, éter dietílico, éter de petróleo n-butanol y n-hexano, como se muestra en la tabla 2 y en la figura 16. Fue el metanol el de mayor solubilidad, lo que facilita la disolución de principios activos solubles en solventes polares, tal como lo manifiesta Olga Lock de Ugaz en su obra *Investigación fitoquímica*<sup>8</sup>. El análisis fitoquímico (tabla 3 y figura 17) demostró la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, carbohidratos, azúcares reductores, esteroides y grupo amino libre. Esto ha sido presentado tanto en la obra *Investigación fitoquímica* de Olga Lock de Ugaz<sup>8</sup> como en *Método de investigación fitoquímica* de Xorge Domínguez<sup>9</sup>. La extracción se realizó en medio alcalino; se obtuvieron cristales, que fueron identificados con reacción de precipitación (Bertrand, Dragendorff, Mayer, Popoff y Wagner) como se puede observar en la tabla 4 y en las figuras 18 y 19. Esto, según Xorge Domínguez<sup>9</sup>, Gabriel Arango<sup>14</sup> y Olga Lock de Ugaz<sup>8</sup>, está fundamentado en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos) de combinarse con el yodo con y metales pesados como bismuto, mercurio y tungsteno, formando precipitados. Mediante el análisis cromatográfico en capa fina del alcaloide extraído por medio básico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', y realizando ensayos de identificación con revelador de Dragendorff, se observó la presencia de una fracción de naturaleza alcaloide (F1), que se puede ver en la figura 20, aislándose por cromatografía en escala preparativa. El análisis espectroscópico UV/visible de la fracción (F1) presentó las longitudes de onda de 261 y 308 nm; la longitud de 308 nm concuerda con el espectro de alcaloides indólicos presentado en la obra *Investigación fitoquímica* de Olga Lock de Ugaz<sup>8</sup>. En el análisis espectroscópico IR de la fracción (F1) se observaron bandas de absorción a  $3309,85\text{ cm}^{-1}$ , que corresponden a la banda de absorción de los grupos amino;  $1712,79\text{ cm}^{-1}$  en la que absorben grupos carbonilos; y  $1554,63\text{ cm}^{-1}$  donde se absorben los grupos aromáticos;  $1388,75\text{ cm}^{-1}$ ;  $2974,23\text{ cm}^{-1}$ ;  $1303,88\text{ cm}^{-1}$  absorben los enlaces carbono con carbono o hidrógeno, lo cual concuerda con

el espectro IR presentado en la obra *Método de investigación fitoquímica* de Xorge Domínguez<sup>9</sup>. En el estudio de toxicidad aguda a dosis límite de 2000 mg/kg en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53 del extracto hidroalcohólico de las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', se evidenció una toxicidad muy leve en el estómago; sin embargo, hubo toxicidad en los tejidos del hígado y los riñones. El órgano que no sufrió daño fue el pulmón (figuras 24 a 31).



## VI. CONCLUSIÓN

Las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., ‘palma real’, presentan metabolitos de naturaleza alcaloide y actividad nociva en ratones *Mus musculus* cepa Balb/C-53 a dosis límite de 2000 mg/kg en los órganos perfundidos riñón e hígado; sin embargo, se evidenció efecto nocivo muy leve en el estómago.



## VII. RECOMENDACIONES

- No consumir en exceso las hojas frescas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', porque podrían producir efectos nefrotóxicos y hepatotóxicos.
- Continuar con los estudios fitoquímicos y realizar estudios farmacológicos de la especie *Tanacetum vulgare* L., 'palma real', para otorgarle sustento científico a las propiedades medicinales que se le atribuyen.
- Verificar si el efecto antiespasmódico se debe al alcaloide aislado o es producto del sinergismo de sus metabolitos secundarios.
- Realizar estudios de toxicidad crónica de la especie *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brack A, Valdizán H, Maldonado A, *et al.* “Plantas hierbas medicinales aromáticas, saborizantes, tintóreas”. *Manual Técnico de Producción*. Lima: Indoagro. 2003; p. 470.
2. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). *Conociendo Apurímac, 1999*. Perú: INEI. 1998. [Fecha de acceso: 10 de agosto de 2012]. Disponible en <http://www.inei.gob.pe/biblioineipub/bancopub/Est/Lib0279/cap2.htm>
3. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). *Guidelines for testing of chemicals. Acute oral toxicity. Acute Toxic Class Method*. Guía N.º 425. OECD; 2000. Disponible en <http://www.oecd.org>
4. Beltrán H, Granda A, León B, *et al.* “Asteraceae endémicas del Perú”. *Revista Peruana de Biología*. Perú: Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Diciembre de 2006; 13(2): 64-164.
5. Menéndez J. *Tanacetum vulgare L.* España; 2008. [Fecha de acceso. 15 de agosto de 2012]. Disponible en <http://www.asturnatura.com/especie/tanacetum-vulgare.html#habitat-ecologia>
6. De Pooter H, Vermeesch J, Schamp N. *The essential oils of Tanacetum vulgare L. and Tanacetum parthenium L.* Estados Unidos: Schultz-Bip. 1988; 1(1): 9-13.
7. Macbride J. *Flora of Perú*. Field Museum of Natural History. 21 de diciembre de 1956; 13-III A(2).
8. Lock de Ugaz O. *Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. 2.<sup>a</sup> ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
9. Domínguez X. *Método de investigación fitoquímica*. México: Limusa. 1973; p. 281.
10. Gibaja S. *Guía para el análisis de los compuestos del carbono*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1977; p. 141.

11. Bruneton J. *Farmacognosia, fitoquímica y plantas medicinales*. 2.<sup>a</sup> ed. Zaragoza: Acribia. 2001; p. 166.
12. Cueva A, León J. *Química orgánica fundamental*. 2.<sup>a</sup> ed. Lima: Universidad Nacional Agraria; 1974.
13. Rojas M, Ureta M. *Efecto antiinflamatorio agudo del extracto hidroalcohólico de hojas secas de Ambrosia arborescens Miller, 'altamisa' en ratas y determinación de sus fitoconstituyentes*. [Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener. 2009; p. 62.
14. Arango G. *Alcaloides y compuestos nitrogenados*. Medellín: Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia; 2008.
15. Gennaro A. *Remington: farmacia*. 20.<sup>a</sup> ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2003; p. 1388.
16. Marcano D, Hasegawa M. *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Universidad Central de Venezuela. 1991; p. 451.
17. Villar del Fresno A. *Farmacognosia general*. Madrid: Síntesis; 1999.
18. Kuklinski C. *Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Omega. 2000; p 528.
19. Puchoc E. *Determinación de alcaloides de Cissus gongylodes, 'bejuco chuncho'*. [Tesis para optar al título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener. 2004; p 39.
20. Zárate R, Gorriti A. y otros. *Manual de farmacognosia y productos naturales terapéuticos*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1993.
21. Gorriti A, Jurado B y Quispe F. *Manual de laboratorio I y II*. Cátedra de Farmacognosia y Medicina Tradicional. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2004.
22. Choquesillo F. *Alcaloides*. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006.
23. Randerath K. *Cromatografía en capa fina. Enciclopedia de la química industrial*. Tomo VIII. 2.<sup>a</sup> ed. Bilbao, España: Urmo; 1970.
24. Skoog, West, Holler. *Fundamentos de química analítica*. 8.<sup>a</sup> ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 2008; p. 1100.

25. Calderón J, Avendaño R. *Espectroscopía infrarroja*. Madrid: Alhambra; 1979.
26. Miranda M. *Métodos de análisis clínicos de drogas y extractos*. Instituto de Farmacia y Alimentos. Cuba: Universidad de la Habana. 2002; p. 23.
27. Chávez J. *Estudio fitoquímico y determinación de la actividad cicatrizante de Vallea stipularis L. F., 'chuillur'*. [Tesis]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener. 2004, p. 53.
28. Valencia C. *Fundamentos de fitoquímica*. México: Limusa. 1995; p. 235.
29. Trease G, Evans W. *Pharmacognosy*. Inglaterra: Bailliere Tindall; 1994.
30. Madroñero L, Pedraza L. *Extracción y caracterización de alcaloides de Brugmansia sp. y de Curatella americana*. Departamento de Biología. Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
31. Bullock J. *Biosíntesis de productos naturales*. España: Urmo; 1969.
32. Martínez A. *Notas del curso de farmacognosia y fitoquímica*. Departamento de Farmacia. Medellín: Universidad de Antioquia; 1997.
33. Hardman, J. *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. México: McGraw-Hill Interamericana; 1996.
34. Mc Murry *Química orgánica*. 6.<sup>a</sup> ed. Internacional Thomson; p. 927.
35. Hans B, Wolfgang W. *Manual de química orgánica*. 19.<sup>a</sup> ed. España: Reverté. 1987; p. 1056.
36. Carretero M. *Plantas medicinales. Panorama actual*. 2001; 25(242): 341-346.
37. De Arteaga G, Pera M, Reguero M. "Brugmansia: una especie promisoría para la producción de alcaloides del tropano". *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 1993; 21: 36-40.

## IX. ANEXOS

 Anexo 1. Constancia de clasificación taxonómica de la especie  
*Tanacetum vulgare* L., 'palma real'




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**

---

**CONSTANCIA N° 006-USM-2009**

La JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo y hojas), recibida de la Srta. **GABRIELA ORELLANA TORRES**, estudiante de Farmacia y Bioquímica de la **Universidad Particular Norbert Wiener.**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Tanacetum vulgare* L.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: ***Tanacetum***

ESPECIE: ***Tanacetum vulgare* L.**,

Nombre vulgar: "Palma real"  
Determinada por: Mg. Hamilton Beltrán S.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios

Lima, 19 de Enero de 2009.

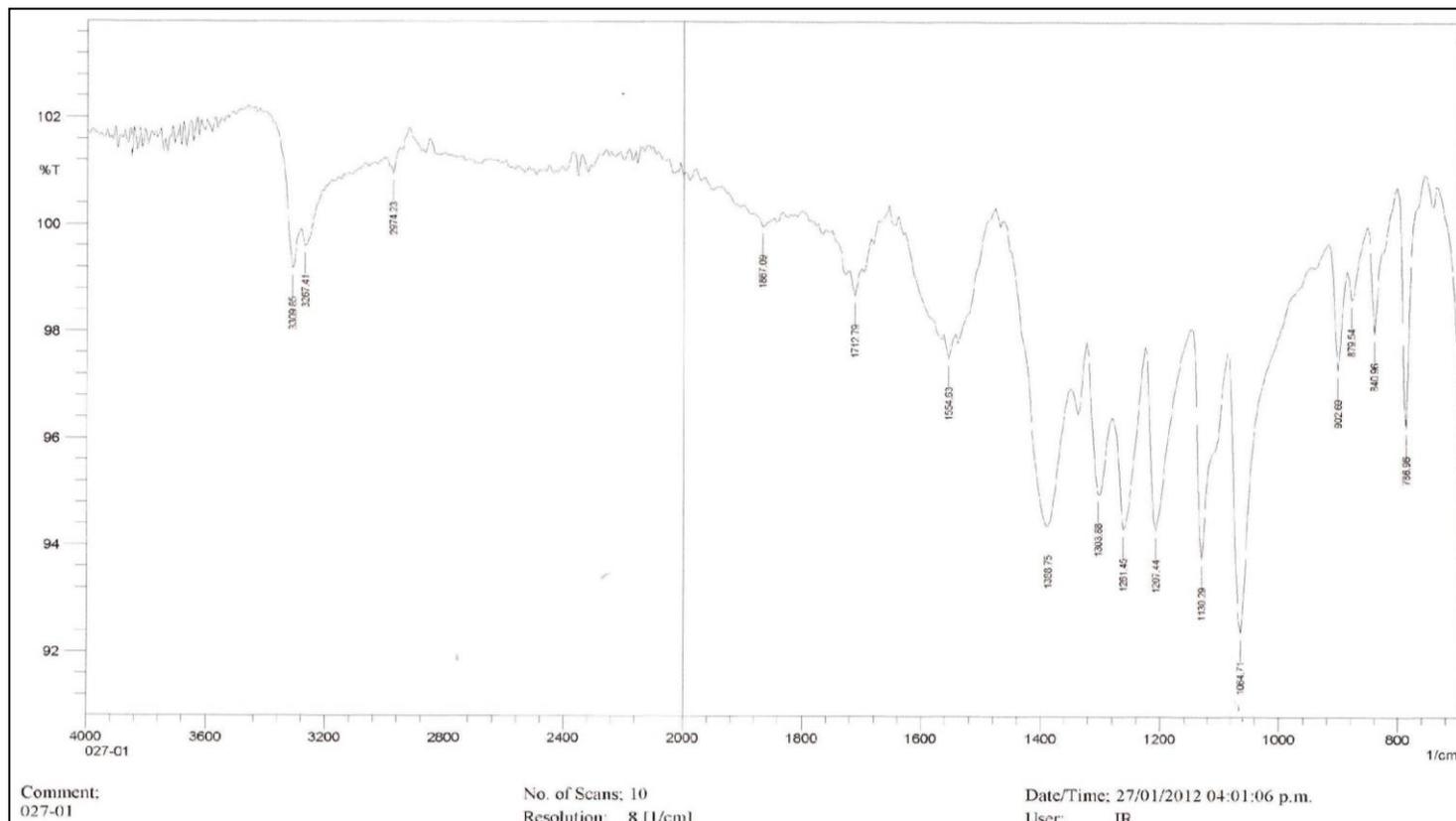


**MG. JOAQUINA ALBAN CASTILLO**  
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS  
(USM)

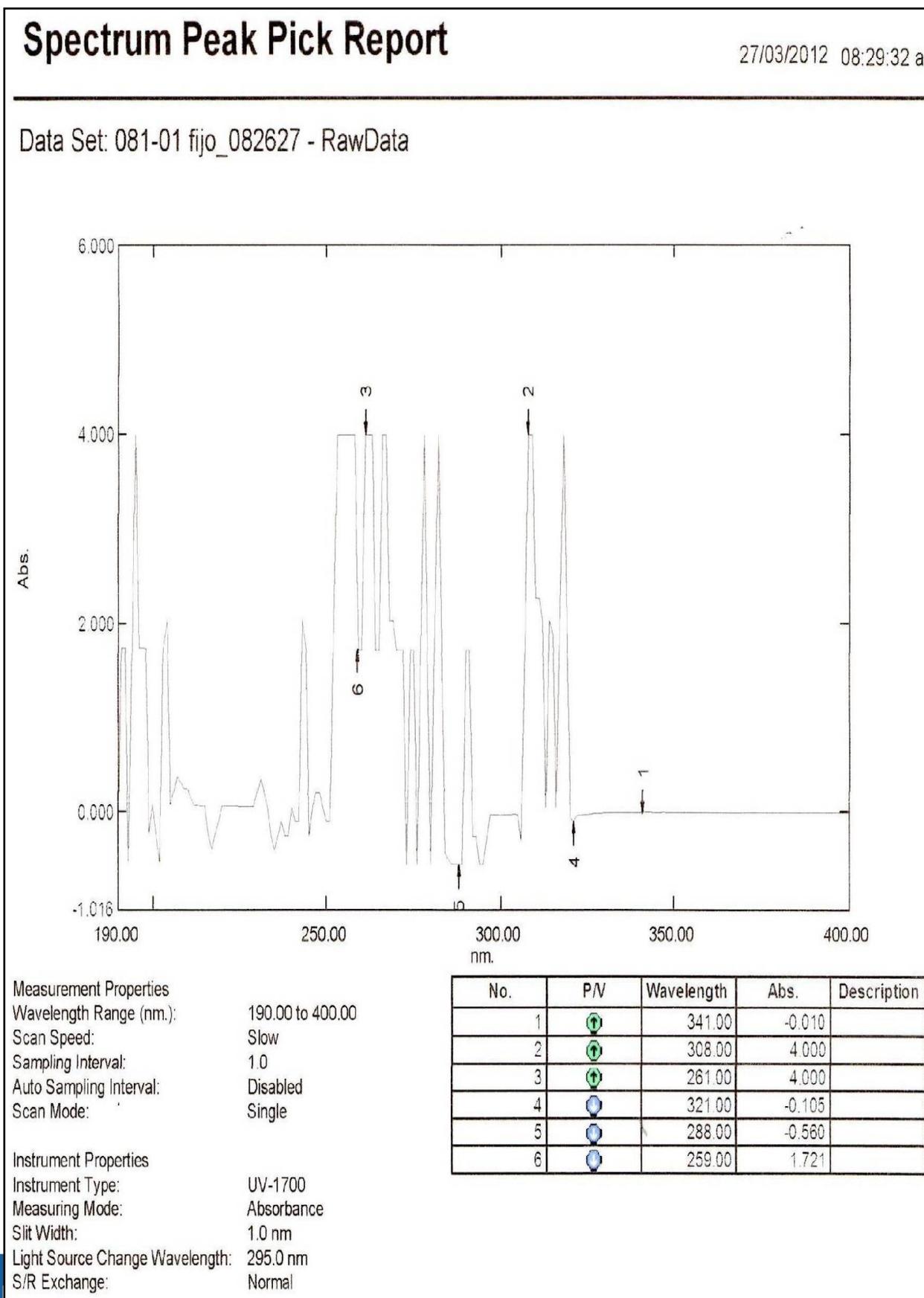


DDB

**Anexo 2. Espectro infrarrojo de la fracción aislada (F1) de las hojas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'**



**Anexo 3. Reporte del análisis espectroscópico de la fracción aislada (F1) de las hojas de *Tanacetum vulgare* L., 'palma real'**



## Anexo 4. Identificación de los alcaloides a través de reacciones de precipitación<sup>20,21</sup>

Las técnicas de reconocimiento están basadas en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos) de combinarse con el yodo y con metales pesados como bismuto, mercurio y tungsteno, formando precipitados.

### 1. Reacción de Mayer<sup>17</sup>

En un tubo de ensayo con muestra extraída, se añaden 0,5 ml de la solución acuosa ácida y dos gotas del reactivo de Mayer (mercurio tetrayoduro de potasio). Si se observa precipitado blanco amarillento, la muestra contiene alcaloides<sup>18</sup>.

### 2. Reacción de Dragendorff<sup>17,22</sup>

En un tubo de ensayo con muestra extraída, se añaden 0,5 ml de la solución acuosa ácida y dos gotas del reactivo de Dragendorff (tetrayodo bismuto de potasio). Si se observa precipitado anaranjado, la muestra contiene alcaloides<sup>18</sup>.

### 3. Reacción de Bertrand<sup>17</sup>

En un tubo de ensayo con muestra extraída, se añaden 0,5 ml de la solución acuosa ácida y dos gotas del reactivo de Bertrand (ácido sílico-túngstico). Si se observa precipitado blanco, la muestra contiene alcaloides.

### 4. Reacción de Popoff<sup>17,22</sup>

En un tubo de ensayo con muestra extraída, se añaden 0,5 ml de la solución acuosa ácida y dos gotas del reactivo de Popoff (ácido pícrico). Si se observa precipitado amarillo, la muestra contiene alcaloides.

**5. Reacción de Sonnenschein<sup>16,17</sup>**

En un tubo de ensayo con muestra extraída, se añaden 0,5 ml de la solución acuosa ácida y dos gotas del reactivo de Sonnenschein (ácido fosfomolibdico). Si se observa precipitado amarillo, la muestra contiene alcaloides.

**6. Reacción de Wagner<sup>17,18</sup>**

En un tubo de ensayo con muestra extraída, se añaden 0,5 ml de la solución acuosa ácida y dos gotas del reactivo de Wagner (yodo-yoduro de potasio). Si se observa precipitado pardo oscuro rojizo, la muestra contiene alcaloides.

