

# CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, ÓPTICA Y REOLÓGICA DE SOLUCIONES EXTRACTIVAS DE *PHYLLANTHUS SELLOWIANUS* Y *BAUHINIA FORFICATA*

## PHYSICOCHEMICAL, OPTICAL AND RHEOLOGICAL CHARACTERIZATION OF EXTRACTIVE SOLUTIONS FROM *PHYLLANTHUS SELLOWIANUS* AND *BAUHINIA FORFICATA*

P. Busznierz<sup>a\*</sup>, H. Mascaro<sup>a</sup>, M. Delannoy<sup>a</sup>, O. Di Sapio<sup>a</sup>, B. Riquelme<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR, (2000) Rosario, Argentina

<sup>b</sup> Grupo de Óptica Aplicada a la Biología, IFIR (CONICET-UNR), (2000) Rosario, Argentina

Recibido: 19/11/15; Aceptado: 10/08/16

Las especies *Phyllanthus sellowianus* (*Ps*) o Sarandí Blanco y *Bauhinia forficata* (*Bf*) o Pezuña de Vaca, se encuentran naturalmente y se utilizan tradicionalmente en nuestro país para el tratamiento de la Diabetes. En este trabajo se prepararon distintas soluciones extractivas acuosas con el leño y las hojas de las especies mencionadas y se midieron los parámetros fisicoquímicos, ópticos y reológicos de las mismas. Los resultados obtenidos permiten una caracterización de estos extractos demostrando la presencia de distintos componentes químicos, como compuestos fenólicos y saponinas triterpénicas, variando su concentración según el método de extracción empleado. Estos resultados ayudarán a estudios futuros para una mejor comprensión de los mecanismos de acción por los cuales los extractos de estas especies o sus componentes fitoquímicos pueden ser utilizados para el tratamiento de la diabetes en fitomedicina.

*Palabras clave:* Extracto vegetal acuoso, Diabetes, Fitomedicina.

The species *Phyllanthus sellowianus* (*Ps*) or White Sarandí and *Bauhinia forficata* (*Bf*) or Hoof of Cow, are both found and used traditionally in our country for the treatment of Diabetes. In this work, different extractive solutions were prepared with the wood and leaves of the plant species mentioned and physicochemical, optical and rheological parameters were measured. Obtained results allow a characterization of these extracts demonstrating the presence of different chemical components such as phenolic compounds and triterpenic saponins, varying in concentration as the extraction method used. These results help to future research for a better understanding of the action mechanisms by which extracts of these species or their phytochemical components can be used for the treatment of diabetes in phytomedicine.

*Keywords:* Aqueous plant extract, Diabetes, Phytomedicine

### I. INTRODUCCIÓN

*Phyllanthus sellowianus* (*Ps*) o popularmente conocido como Sarandí Blanco es una Angiosperma y pertenece a la familia de las Phyllanthaceae. Es un arbusto hidrófilo que alcanza una altura de 2 a 7 metros, se encuentra generalmente en márgenes de cursos de agua, en las regiones templadas y húmedas de nuestro país. *Bauhinia forficata* (*Bf*) conocida popularmente por Pezuña de vaca, también es una angiosperma, crece como árbol y puede pasar de los 6 metros de altura, pertenece a la familia Fabaceae y se distribuye en regiones húmedas del país. Ambas especies son autóctonas de la Argentina y sus plantas se utilizan popularmente como infusiones o cocimientos preparados con las hojas y los tallos, que se usan en la medicina tradicional por sus propiedades hipoglucemiantes y diuréticas.

El uso de estas especies se ha extendido a toda la República Argentina, figuran en la Farmacopea Argentina y se comercializan en herboristerías y

farmacias, siendo de interés estudiar su mecanismo de acción y su hemocompatibilidad para futuros usos terapéuticos<sup>1</sup>. Diversos estudios orientados a cumplir estos objetivos han sido realizados a la fecha por Busznierz *et al.*<sup>1,2,3</sup>. Se ha estudiado su acción hemorreológica mediante la determinación de la deformabilidad, viscosidad superficial de membrana, módulo elástico y viscoelasticidad dinámica eritrocitarias, utilizando soluciones extractivas obtenidas de la corteza de *Ps*<sup>2</sup>. Además, el análisis digital de imágenes ha brindado importante información sobre la alteración inducida por estos extractos sobre la adhesión eritrocitaria y su posible acción hemoaglutinante<sup>3</sup>.

En las referencias bibliográficas sobre plantas medicinales utilizadas tradicionalmente para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2, los compuestos químicos que se repiten en las distintas especies son: saponinas, flavonoides, alcaloides, cumarinas, esteroides, ácidos carboxílicos, azúcares, etc. En el presente trabajo, se evalúa por métodos físicos y fisicoquímicos

\* E-mail: [patricia.bus@hotmail.com](mailto:patricia.bus@hotmail.com), [pbusznierz@fbioyf.unr.edu.ar](mailto:pbusznierz@fbioyf.unr.edu.ar), [riquelme@ifir-conicet.gov.ar](mailto:riquelme@ifir-conicet.gov.ar)

cualitativos la presencia de compuestos Fenólicos y Saponinas en ambas especies, *Ps* y *Bf*.

Los resultados sobre la eficiencia extractiva de las distintas soluciones fisiológicas y la caracterización fisicoquímica de las mismas brindarán información relevante para futuras investigaciones sobre las características y propiedades medicinales de estas especies vegetales.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Las partes utilizadas son el leño (L) de *Ps* y las hojas (H) de *Bf*, cuyas caracterizaciones endomorfológica y exomorfológicas fueron analizadas por Microscopía Óptica.

Las muestras vegetales, tallos de *Ps* (Figura 1), obtenidas para este estudio, provienen de las orillas del río Nogoyá, Provincia de Entre Ríos<sup>4</sup>, mientras que las de hojas de *Bf* (Figura 2) fueron obtenidas de la Ciudad de Rosario, Provincia de Santa Fe<sup>5</sup>.



Figura 1: Tallo y flor de *Phyllanthus sellowianus*



Figura 2: Hojas de *Bauhinia forficata*

En cada caso se seleccionaron tallos y hojas de los individuos mayores, procediendo a la recolección manual de los mismos al finalizar el verano. El material recolectado se ubicó en bastidores especiales para su desecación natural a temperatura ambiente y al abrigo de la luz, 7-14 días en el caso de las hojas y 15-30 días las ramas. Finalizado el secado, las hojas enteras y las partes más pequeñas de las ramas fueron conservadas en

envases de vidrio color caramelo. Posteriormente se prepararon las soluciones extractivas. Las hojas de *Bf* fueron trituradas y la corteza de *Ps* se separó del leño muy cuidadosamente con ayuda de un bisturí, fraccionándolo luego en partes más pequeñas a fin de favorecer la extracción de los principios activos<sup>6</sup>.

### Obtención de extractos fluidos

Las soluciones extractivas del leño de *Ps* y de hojas de *Bf* se prepararon por distintos métodos de extracción de los principios activos, utilizando en todos los casos Solución Fisiológica (Rivero) como solvente. Se obtuvieron soluciones extractivas de *Ps* al 5 % P/V y *Bf* al 1 % P/V<sup>7,8</sup>.

Los diferentes procedimientos de extracción varían en función de la temperatura de trabajo empleada:

- Cocimiento (CL y CH): Muestra vegetal y solvente en contacto se llevan a ebullición (Figura 3).
- Digestión Controlada (DL y DH): Muestra vegetal y solvente en contacto se llevan a 38° C.
- Infusión (IL e IH): Muestra vegetal y solvente en contacto, previamente llevado a temperatura de ebullición.
- Maceración (ML y MH): Muestra vegetal en contacto con solvente a temperatura ambiente (Figura 4).

El cocimiento de la muestra vegetal se realizó con balón por tratamiento a reflujo como se muestra en la Figura 3. El tiempo de extracción requerido fue de 25 minutos hasta ebullición, que se mantuvo durante 5 minutos más. Se agregaron esferas pequeñas de vidrio para evitar proyecciones. Se dejó reposar unos minutos, llevando luego a volumen final con el agregado de 2 mL de disolvente.

La digestión controlada pudo realizarse con la utilización de un baño termostático a 38°C, con agitación, durante 30 minutos.

Tanto en el procedimiento de maceración como de infusión, se mantuvo la agitación durante la preparación de las mismas. En ambos casos el material vegetal en contacto con el disolvente se conservó durante 24 horas protegidos de la luz.

Las diferentes soluciones extractivas se filtraron con filtros Acrodisc a fin de eliminar impurezas de diámetros superiores a 0,2 µm, produciéndose al mismo tiempo la esterilización de la solución. El paso de filtración se realizó en tubos estériles y bajo flujo laminar (o mechero), de acuerdo a los protocolos establecidos para condiciones estériles<sup>9</sup>. Las soluciones obtenidas se envasaron en frascos de vidrio color caramelo y se almacenaron en refrigerador durante un día hasta realizar los análisis físicos y fisicoquímicos.

### Propiedades estudiadas

Se procedió al estudio de las siguientes propiedades:

- Transparencia color, olor, sabor y formación de espuma por observación directa (características organolépticas).

- Determinación de índice de refracción: se utilizó un refractómetro de Abbe.
- Determinación de pH: se utilizó pHmetro Hanna Instruments HI 83141.
- Determinación de la densidad relativa: se utilizó picnómetro seco siguiendo la técnica descrita en Farmacopea Argentina 7° Ed, Vol. 1<sup>9</sup>.
- Determinación de la viscosidad: se utilizó un viscosímetro cono/plato rotacional (Brookfield DV-II) a  $115.2 \text{ s}^{-1}$ , a  $T = (25 \pm 2)^\circ\text{C}$ .
- Determinación la absorbancia por Fotómetro digital (Andali), observando la intensidad de la luz transmitida a 450 nm y 640 nm.
- Características analíticas cualitativas, utilizando reactivo  $\text{FeCl}_3$  (Proanálisis, marca Cicarelli) para la identificación de compuestos fenólicos y la posterior determinación de flavonoides.



Figura 3: Solución extractiva de leño de *Phyllanthus sellowianus* obtenida por cocimiento del leño, color ámbar, con la formación de espuma



Figura 4: Solución extractiva de la maceración de las hojas de *Bauhinia forficata* de color amarillo característico

### III. RESULTADOS

Se obtuvieron soluciones de L de *Ps* color ámbar y soluciones de H de *Bf* color amarillento. Las reacciones cualitativas colorimétricas resultaron positivas para *Bf* con reactivo  $\text{FeCl}_3$ , demostrando la identificación de compuestos fenólicos, levemente positivo sólo para CL de *Ps*. Se observó la presencia de espuma, revelando la identificación de saponinas en las soluciones extractivas de *Ps*, particularmente de manera abundante en CL.

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de las mediciones de pH, densidad y viscosidad de cada una de las soluciones extractivas del L de *Ps*. En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos de las mediciones de pH, densidad y viscosidad de cada una de las soluciones extractivas de las H de *Bf*.

TABLA 1: SOLUCIONES DE *Phyllanthus sellowianus*

Solución	pH	Densidad $\text{g/cm}^3$	Viscosidad cp
ML	4.66	$1,04 \pm 0,04$	$0,97 \pm 0,02$
IL	5.54	$1,02 \pm 0,04$	$1,04 \pm 0,02$
DL	5.31	$1,04 \pm 0,04$	$1,53 \pm 0,02$
CL	6.10	$1,02 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,02$

TABLA 2: SOLUCIONES DE *Bauhinia forficata*

Solución	pH	Densidad $\text{g/cm}^3$	Viscosidad cp
MH	6,58	$1,02 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,01$
IH	6,26	$1,02 \pm 0,02$	$1,01 \pm 0,01$
DH	6,08	$1,02 \pm 0,02$	$1,33 \pm 0,01$
CH	6,15	$1,02 \pm 0,02$	$1,11 \pm 0,01$

En las Tablas 3 y 4 se muestran los valores de Absorbancia obtenidos con cada una de las soluciones extractivas de ambas especies estudiadas.

TABLA 3: ABSORBANCIA *Phyllanthus sellowianus*

$\lambda$	405 nm	640 nm
DL	$0,374 \pm 0,001$	$0,040 \pm 0,001$
IL	$0,259 \pm 0,001$	$0,043 \pm 0,001$
MC	$0,227 \pm 0,001$	$0,032 \pm 0,001$
CL	$0,339 \pm 0,001$	$0,052 \pm 0,001$

TABLA 4: ABSORBANCIA *Bauhinia forficata*

$\lambda$	405 nm	640 nm
DH	$1,034 \pm 0,001$	$0,135 \pm 0,001$
IH	$1,193 \pm 0,001$	$0,104 \pm 0,001$
MH	$1,286 \pm 0,001$	$0,115 \pm 0,001$
CH	$1,266 \pm 0,001$	$0,086 \pm 0,001$

#### IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las soluciones extractivas de *Ps* presentaron mayor acidez que las de *Bf*. Los valores correspondientes a la viscosidad de las distintas soluciones oscilan entre 1 y 1,53 cp, En particular las soluciones extractivas obtenidas por DL de *Ps* y DH de *Bf* alcanzaron los valores de mayor viscosidad. La absorbancia tanto a 405 nm como a 640 nm, resultó ser menor en todos los extractos de L de *Ps*, alcanzando el mayor valor para MH a 640 nm. Los valores del índice de refracción obtenidos son levemente superiores al del agua y dependen del método extractivo utilizado, habiéndose obtenido el mayor valor para DH de *Bf*.

Las muestras de extractos de *Ps* y *Bf* presentaron características organolépticas particulares. En cuanto a los estudios fisicoquímicos realizados demuestran la presencia de saponinas y compuestos fenólicos en ambas especies, en concordancia con la bibliografía analizada.

Actualmente alrededor de 1200 especies vegetales en todo el mundo han sido reconocidas por su actividad antidiabética, incluyendo un gran número de familias (Leguminosae, Cucurbitaceae, Araliaceae, Liliaceae, Solanaceae, Compositae, Campanulaceae, Myrtaceae). Hasta el momento, sólo un tercio de ellas fueron estudiadas, analizadas y documentadas en alrededor de 460 publicaciones<sup>10</sup>. Aunque se han realizado importantes investigaciones, el estudio del mecanismo de acción para el desarrollo de nuevas y mejores drogas es una tarea aun por cumplir. Por ello, los resultados obtenidos sobre las características fisicoquímicas, ópticas y reológicas estudiadas en el presente trabajo, contribuirán a la mejor comprensión de los mecanismos de acción por los cuales los extractos de estas especies o sus componentes fitoquímicos pueden ser utilizados como antidiabéticos en fitomedicina, brindando al mismo tiempo información para la posible preparación de distintas formas farmacéuticas (inyectables, comprimidos, jarabes, etc.) en dosis terapéuticas estandarizadas.

#### V. REFERENCIAS

- 1 - Busznierz P, Riquelme B. Cell Bioch Biophys (2014). <http://link.springer.com/article/10.1007/s12013-014-0072-8>
- 2 - Busznierz P, Riquelme B. Publicaciones Reológicas 1:76-87 (2013).
- 3 - Busznierz P, Valverde J, Riquelme B. Biocell 35(2):A171 (2011).
- 4 - Arambarri A, Freire S, Colares M, Bayón N, Novoa M, Monti C, Stenglein S. Bol. Soc. Argent. Bot. 43 (1-2):31-60 (2008).
- 6 - Cortadi A, Di Sapio O, Martínez ML, Rodríguez MV, Gattuso M. Atlas Morfoanatómico de Especies Nativas de la Flora Santafesina. UNR Editora, 112:46-47 (2011).
- 6 - Gattuso M, Gattuso S. Manual de procedimientos para el análisis de drogas en polvo. Editora UNR (1999).
- 7 - Navarro et al. Acta Farm. Bonaerense 23 (4):520-3 (2004).
- 8- Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 14 (1):21-32 (2015).
- 9- Farmacopea Argentina, 7ma. Ed. Vol. 1. Buenos Aires (2003).
- 10- Qi LW, Liu EH, Chu C, Peng YB, Cai HX, Li P. Anti-diabetic agents from natural products--an update from 2004 to 2009. Current Topics in Medicinal Chemistry 10(4):434-57 (2010).