

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
UNAN-LEON**



**MONOGRAFIA PARA OPTAR AL TITULO DE LIC. QUIMICO
FARMACEUTICO**

TEMA:

**DETERMINACION DE FENOLES TOTALES EN LA CORTEZA DE LA
ESPECIE *Uncaria tomentosa* (Willd.) DE NICARAGUA.**

AUTOR: Br. SERVIO TULIO MONTALVAN VADO

TUTOR: MSC. FERNANDO BACA

LEON, JULIO 2007



AGRADECIMIENTO

LE DOY GRACIAS A:

Dios por ser el dador de la vida, refugio y fortaleza, que con su amor eterno me ha acompañado a lo largo de todo mi camino.

Mis padres y especialmente mi abuelita, quienes con mucho esfuerzo, sacrificio y amor incondicional han logrado darme mis estudios; herramientas necesarias para triunfar en la vida.

Los docentes, por compartir con nosotros sus alumnos sus conocimientos y experiencias en el lapso de nuestra formación profesional.

A mi tutor Msc. Fernando Baca por brindarme su tiempo, dedicación y estar siempre disponible para orientarme en esta larga jornada.

Todas las personas que en el transcurso de la carrera me brindaron la ayuda y el tiempo necesario para lograr culminar mis sueños.



DEDICATORIA

**Al único que hace grandes
Maravillas y me da
La fortaleza de mi vida**

Dedico este trabajo monográfico a Dios Todopoderoso quien ha estado conmigo a diario, concediéndome bendiciones, salud, fuerza y sobre todo la sabiduría para poder realizar este trabajo, cumpliendo en mí su propósito, Gracias Señor por hacer realidad este sueño.

A mi **Abuelita AURA ESTELA VELAZQUES ROBLETO** por el esfuerzo, cariño y amor que me ha brindado desinteresadamente a lo largo de mi vida. Por ser una madre ejemplar, digna de mi amor y admiración. Gracias por educarme y estar a mi lado.

A mis padres y hermanos quienes han mostrado su cariño y apoyo incondicional, siendo dignos ejemplos a seguir.

A mis amigos que siempre han estado a mi lado y me han motivado a seguir adelante.

A todas las personas que de una u otra forma me han ayudado a salir adelante.



INDICE

	Página
I INTRODUCCION.....	5
II OBJETIVOS.....	7
III MARCO TEORICO.....	8
IV MATERIAL Y METODO.....	29
V RESULTADOS.....	32
VI ANALISIS DE RESULTADOS.....	35
VII CONCLUSION.....	36
VIII RECOMENDACIÓN.....	37
IX BIBLIOGRAFIA.....	38
X ANEXOS.....	39



INTRODUCCION

Desde hace varios años se ha incrementado en Occidente el consumo de hierbas, plantas y frutos con el propósito de disminuir la incidencia de enfermedades como el cáncer y la arteriosclerosis. Este incremento de la dieta preventiva se ha completado con el de un *estilo de vida sano*, en lo que podría conceptuarse como un regreso a "lo verde". Son varias las causas de este retorno: los resultados de innumerables estudios epidemiológicos de los que se infiere el valor protector de ciertas plantas y ejercicios, el redescubrimiento de prácticas ancestrales en regiones del Asia, como el Tíbet y la fascinación que eso produce en quienes quieren vivir más y mejor, pero sobre todo debido al fracaso del modo de vida (en lo que se incluye la dieta y la práctica médica) occidental en la disminución de las enfermedades arriba mencionadas y otras a las que no sin razón se les llama "del desarrollo".

La creciente aceptación de la dieta como terapia preventiva y de la medicina verde como alternativa, está acompañada de muchas ideas erróneas, una de las más frecuentes es atribuirles a las vitaminas todos los beneficios de los vegetales y el desconocimiento (y en consecuencia la falta de estímulo para su estudio) de otros agentes presentes en ellas que contribuyen con un amplio espectro de propiedades a la prevención de ciertas enfermedades, un ejemplo de estos son los poli fenoles.

Los Polifenoles, especialmente flavonoides y Taninos presentes en plantas actúan como antioxidantes en su acción protectora del efecto dañino de los radicales libres en el material genético y la expresión génica. Además, probablemente por algún otro mecanismo, inhiben la iniciación, promoción y progresión de tumores.



Numerosos estudios han demostrado que muchos polifenoles, especialmente flavonoides, además de actuar como antioxidantes en su acción protectora del efecto dañino de los radicales libres en el material genético y la expresión génica, inhiben la iniciación, promoción y progresión de tumores, probablemente debido a algún otro mecanismo.

Se ha observado en extractos sólidos de algunas plantas, retardan drásticamente el desarrollo de tumores cutáneos en ratones. Algunos de los compuestos polifenólicos del vino con efectos anticancerígenos son ácido gálico, ácido caféico, ácido ferúlico, catequina, quercetina y resveratrol. Resveratrol inhibe el desarrollo de lesiones preneoplásicas en glándula mamaria de ratón y el desarrollo de tumores cutáneos en ratones.

En Nicaragua se han desarrollado pocos estudios sobre la *Uncaria tomentosa* conocida como la uña de gato que se comercializa en los diferentes establecimientos farmacéuticos y/o botánicos.

Los estudios sobre los polifenoles presentes en ella (***Uncaria tomentosa (Willd.)***) ya se han realizado pero no se han cuantificados, por lo cual va ser el primer trabajo investigativo de esta categoría.

Con el presente trabajo investigativo se quiere contribuir a la población en general en brindar más información sobre las ventajas del uso de plantas medicinales que contienen gran poder medicinal especialmente la *Uncaria tomentosa*.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar fenoles totales en la corteza de la especie *Uncaria tomentosa* (Willd.) de Nicaragua.

OBJETIVO ESPECIFICO:

- Obtener un extracto seco alcohólico de la corteza de la especie *Uncaria tomentosa* (Willd.) de Nicaragua.
- Identificar fenoles totales a partir del extracto obtenido de la corteza de la especie *Uncaria tomentosa* (Willd.) de Nicaragua.
- Cuantificar fenoles totales mediante el folin usando UV-VIS.



MARCO TEORICO

1- Clasificación Taxonómica

<u>División:</u>	Angiospermas.
<u>Clase:</u>	Dicotiledóneas.
<u>Subclase:</u>	Sympetalae.
<u>Orden:</u>	Gentianales.
<u>Familia:</u>	Rubiáceas.
<u>Nombre científico:</u>	<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.).

2- Aspecto general

La Uña de Gato o Rangayo es un bejuco perenne formado por entrenudos de 7 a 8 cm. de largo, en donde emite o segrega un par de espinas similares a la uña del gato. Esta planta se localiza solamente en el trópico húmedo lluvioso cerca de las zonas bajas, muy húmedas, de suelos fértiles y asociada con árboles de los cuales necesita para subir y establecerse.

Se le puede identificar sobre los chárrales, pues sobresale como una palma abierta, mostrando a primera vista el color de sus hojas senescentes y las espinas aguzadas en forma de garras.

La raíz

La raíz es leñosa y gran parte de ella no profundiza.

El tallo

El tallo también es leñoso y se encuentra sobre la superficie del suelo. Puede alcanzar de 20 a 40 centímetros de diámetro.

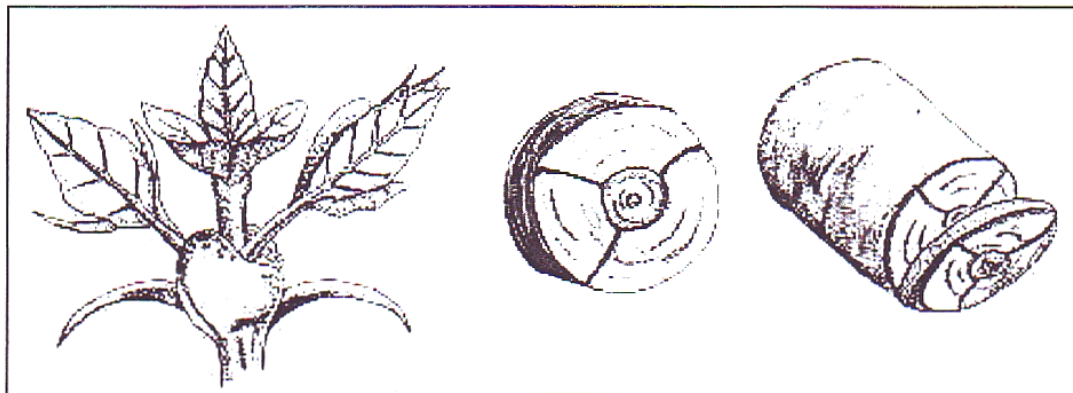


Corteza

Es de color marrón, fisurado. La parte interna fibrosa con un polvo característico de color marrón rojizo cuando está seca.

Secreción en el tallo

Presenta secreciones acuosas de consistencia fluida y sabor ligeramente amargo.



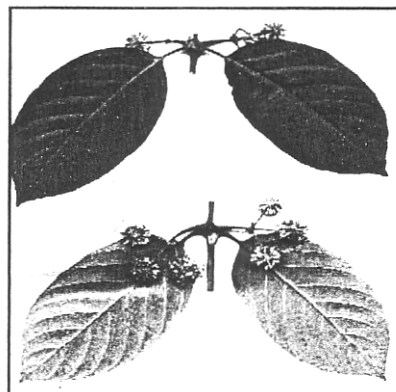
Ramas terminales

Las ramas terminales presentan sección cuadrangular, con médula interior color verde - amarillento, con pelos y hojitas en forma de lanza. Las ramas más adultas tienen un par de espinas curvo - rectas, no retorcidas y puntiagudas, de consistencia leñosa.

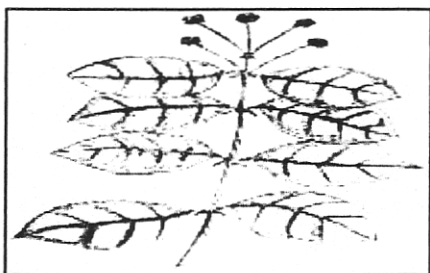


Hojas

Las hojas son simples y opuestas, por lo general orientadas en un mismo plano; borde en general entero; la punta aguda, raramente se prolonga; base redonda y/o en forma de corazón; consistencia membranosa; de color verde opaco por el revés y verde pálido por el envés, en esta zona se observa la presencia de pequeñísimos y finos vellos, llamados tomentos, que se disponen



densamente en toda su extensión y se cruzan o se entremezclan entre si, otras veces aparecen sólo en las venas o nervaduras de abajo. De esta característica proviene el nombre científico de la especie: ***Uncaria tomentosa (Willd.)***. Presenta unas hojitas muy pequeñas en forma de delta entre los tallitos que sostienen a la hoja (pecíolos), llamadas estípulas.

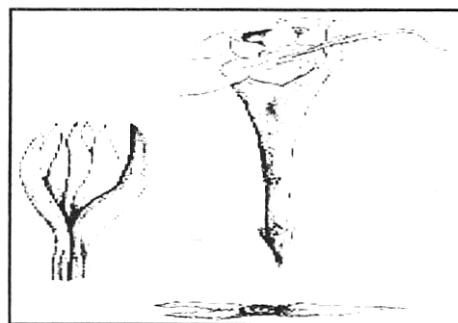


Inflorescencia

Las flores se presentan en inflorescencias que tienen forma de cabezuela, cada cabezuela presenta un diámetro de 1.5 a 2.8 centímetros. La inflorescencia puede llegar a medir desde 7 hasta 18 centímetros de largo.

Flor

Las flores son pequeñas, hermafroditas, en forma de tubo, de color cremoso o amarillo, con pelos pequeños densamente poblados. Presenta una estructura tubular que se prolonga desde la base de la flor, donde coinciden el cáliz y la corola. Los estambres se encuentran soldados en la corola.





Fruto

El fruto es seco formado por 2 valvas, dehiscente, con muchas semillas, generalmente de forma elipsoide, de 5 a 9 milímetros de longitud y 2 a 6 milímetros de diámetro, con el cáliz persistente y acrescente. En las valvas secas se puede observar los pelos persistentes de color blanco. Su fructificación en nuestra zona se realiza durante los meses de Enero y Abril.

Semillas

Las semillas son fusiformes, con alas de consistencia membranosa, un extremo es lineal y el otro extremo profundamente partido, miden de 2.5 a 4 milímetros de longitud y de 0.5 a 0.8 milímetros de ancho.

Hábitat natural

El Rangayo por ser una liana (bejuco) del bosque húmedo tropical, prefiere hábitat tales como: ribera de ríos, suelos limosos, francos y fértiles con abundante materia orgánica, bien drenado y con una pendiente mínima que provoque la esorrentía.

La Uña de Gato se encuentra en forma natural en el bosque húmedo tropical del continente americano como en: Panamá (Bocas del Toro, valle del río Gatún), Nicaragua, Guyanas, Trinidad, Surinam, Costa Rica, Belice, Guatemala, Honduras, Venezuela, Colombia (departamentos de Chocó y Amazonas), Ecuador y en Perú (Loreto, desembocadura del río Santiago; San Martín: Mariscal Cáceres; Junín: Chanchamayo, La Merced; Pasto: Oxapampa, Pozuzo; Madre de Dios: Manú, Tahuamanú; Cusco: La convención, Paucartambo).

Es una liana pionera, el simple contacto con el suelo provoca enraizamientos rápidos y es prolífica en número de hijos enraizados y rebrotados.



En Nicaragua esta especie la podemos encontrar en ecosistemas ribereños y lacustrinos, en bosques primarios y secundarios que van desde 0 a 600 metros sobre el nivel del mar.

Es típica de bosques vírgenes o ligeramente intervenidos, donde se encuentran árboles muy desarrollados y con grandes diámetros, posiblemente muy viejos, donde sólo hubo extracción selectiva de sus especies maderables comerciales, que únicamente permiten una escasa entrada de rayos solares hasta la superficie del suelo, circunstancia que es aprovechada por las semillas para germinar, siendo esta planta heliófila durable.

Especies vegetales que conviven con la Uña de Gato

La Uña de Gato naturalmente se encuentra asociada con los siguientes árboles: Huayruro (*Ormosia* sp.), marupá (*Sánarouba amara*), lupuna (*Chrisia* sp.), shihuahuaco (*Dypteris alata*), tacho (*Terminalia oblonga*), cumala amarilla (*Iryanthera* sp.), banderilla roja (*Jacaranda* sp.), cedro (*Cedrela odorata*), caoba (*Swietenia macrophylla*), roble amarillo (*Terminalia tarapotensis*), tomillo (*Cedrelinga cateniformis*), capirona (*Calycophyllum spruceanum*), balata (*Pouteria* sp.) y zapotillo blanco (*Quararibea* sp.), entre las más importantes.

3-Contenido Químico

Acido quinóvico, Acido Glicosídico, Pro-Antocianidinas, Polifenoles, Triterpenos, Isomitrafalina, Acido Oleanoico, Speciofilina, Rincofilina, Isopteropodina, Uncarina F, Alcaloide Hexa-Oxindol, Pteropodina, Mitraphylina, Hormonas Beta-Sitosterol, Stigmaterol, Campesterol, Cumarinas y Flavonoides.



Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos, mas o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de ser capaces de convertir la piel en cuero, es decir de curtir las pieles. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Están presentes en muchos vegetales como en frutas (uvas, membrillos, granadas, nísperos... y en legumbres). Cómo, también se encuentran en el vino, café, té y en el chocolate. Se detectan fácilmente por su aspereza, sequedad y amargor.

Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides.

Se trata de compuestos hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares.

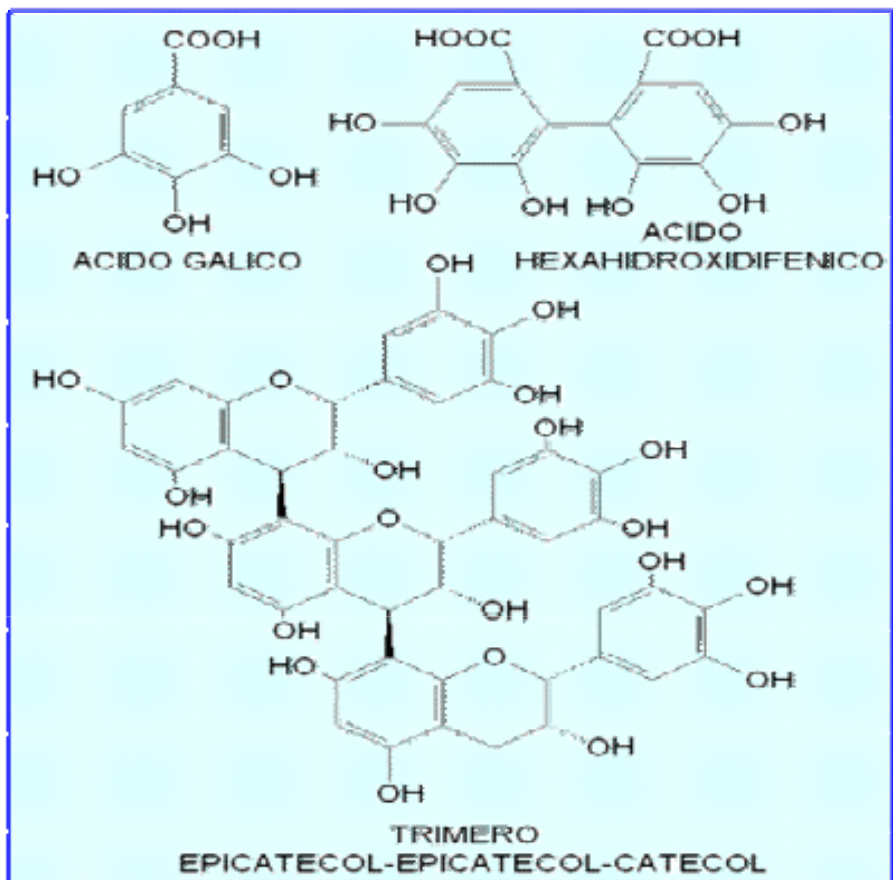
Dentro de los vegetales los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares, combinados con alcaloides, proteínas, etc.

PROPIEDADES DE LOS TANINOS

1. Astringente: por su capacidad de unión a proteínas. Uso externo se emplea como cicatrizante, al unirse a la piel forma una capa protectora que permite que los tejidos subyacentes se regeneren. Tenemos el riesgo por los trastornos que puede producir al ser eliminado vía renal. Como uso interno se emplea como antidiarreico, disminuye el peristaltismo.
2. Vasoconstrictor a nivel de pequeños vasos (varices, flebitis, hemorroides)
3. Antimicrobiano, antivirico y antifungico.
4. Hipoglucemiante.



Clásicamente se han distinguido dos tipos de taninos:



CLASIFICACION

Taninos hidrolizables:

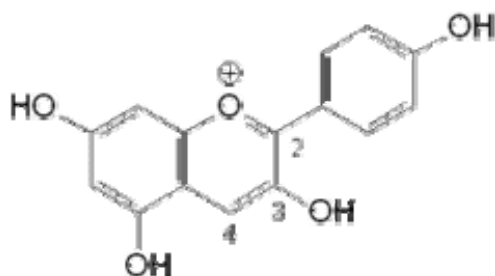
Llamados también gálicos o pirogálicos; Estos taninos como su denominación indica se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática y son generalmente de formación patológica. Se encuentran en este grupo los taninos gálicos propiamente dichos que son polímeros del ácido gálico, ésteres de un poliol, generalmente de la glucosa con varias moléculas de ácido gálico y elagitaninos también ésteres pero en este caso del ácido hexahidroxi-difénico y sus derivados. El ácido hexahidroxi-difénico se forma por acoplamiento oxidativo de dos moléculas de ácido gálico.



El ácido sikímico es el precursor biogénico del ácido gálico.

Se habla también de los llamados taninos complejos que son elagitaninos más o menos modificados. Resultan de la unión de un derivado fenilcrománico sobre un éster de glucosa con el ácido hexahidroxidifénico.

Taninos condensados o proantocianidinas:



Estructura de la antocianidina

Se conocen también como no hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad y por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos minerales origina polímeros de alto peso molecular (flobáfenos). Este tipo de taninos se producen en el metabolismo normal de los vegetales por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en el reino vegetal.

Químicamente se forman por condensación de catequinas o catecoles (flavanoles) con uniones directas C-C entre las moléculas, no contienen azúcares en su estructura. Biogénicamente proceden del metabolismo de los flavonoides, se forman a partir de una flavonona por hidroxilación en el C-3.

Para algunos autores existe un tercer tipo de taninos, los florotaninos, que se han aislado de diversas especies de algas pardas y están constituidos por acoplamiento oxidativo únicamente de unidades de floroglucinol C-C y/o C-O.



Las propiedades más interesantes de los taninos se deben a su capacidad de combinarse con diversas sustancias formando complejos. El empleo más antiguo conocido de estas sustancias, es en la industria de los curtidos.

Presentan también los taninos propiedades antioxidantes comportándose como captadores de radicales libres.

Actúan como inhibidores enzimáticos al precipitar la fracción proteica de los enzimas; esto permite en ocasiones la buena conservación de otros principios activos en las drogas, como por ejemplo algunos heterósidos, ya que impiden su hidrólisis enzimática.

También se han utilizado como antídotos en diversos envenenamientos, por ejemplo con alcaloides tóxicos debido a su propiedad de formar complejos con los mismos.

FLAVONOIDE

Flavonoide (del latín flavus, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Los flavonoides que conservan su esqueleto pueden clasificarse, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados, en 6 clases principales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, y los taninos condensados, más una séptima clase, las auronas, tenidas en cuenta por algunos autores por estar presentes en una cantidad considerable de plantas. También el esqueleto puede sufrir modificaciones, convirtiéndose entonces en el esqueleto de los isoflavonoides



o el de los neoflavonoides, que por lo tanto también son derivados de los flavonoides.

Los flavonoides se biosintetizan en todas las plantas (taxón Embryophyta y también en algunas algas Charophyta), que aunque comparten la vía biosintética central, poseen una gran variabilidad en la composición química de sus productos finales y en los mecanismos de regulación de su biosíntesis, por lo que la composición y concentración de flavonoides es muy variable entre especies y en respuesta al ambiente. Los flavonoides son sintetizados en el citoplasma y luego migran hacia su destino final en las vacuolas celulares. Cumplen funciones metabólicas importantes en las plantas, algunas funciones son comunes a todas las plantas y otras son específicas de algunos taxones. Como ejemplo de funciones universales, los flavonoides son responsables de la resistencia de las plantas a la foto oxidación de la luz ultravioleta del Sol, intervienen en el transporte de la hormona auxina, y se cree que funcionan como defensa ante el herbivorismo. Una función importante cumplida en muchas plantas es la atracción de los animales polinizadores, a través del color o el olor que dan a la planta o a sus flores.

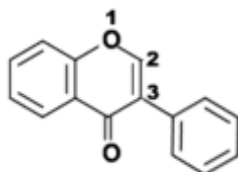
Los flavonoides han adquirido notoriedad pública a raíz de su actividad biológica en el hombre, que los consume con los vegetales. Los flavonoides poseen propiedades muy apreciadas en medicina, como antimicrobianos, anticancerígenos, disminución del riesgo de enfermedades cardíacas, entre otros efectos. También son conocidos por los cultivadores de plantas ornamentales, que manipulan el ambiente de las plantas para aumentar la concentración de flavonoides que dan el color a las hojas y a las flores.

Debido a las importantes funciones metabólicas que los flavonoides tienen en las plantas y los animales, sus vías biosintéticas y mecanismos de regulación están siendo cuidadosamente estudiados. La ciencia aplicada aprovechó este conocimiento en muchos trabajos de ingeniería metabólica, en los que se buscó por ejemplo, aumentar la concentración de flavonoides beneficiosos en las plantas de consumo humano o de uso farmacéutico, modificar su concentración en flores

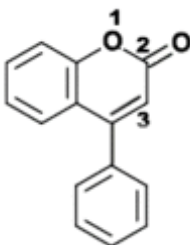


ornamentales para cambiarles el color, e inhibir su producción en el polen para lograr la esterilidad de los híbridos de interés comercial. En lo que respecta a su producción, se ha desarrollado con éxito un cultivo de bacterias que sintetiza flavonoides de interés humano.

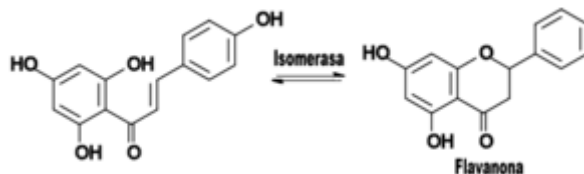
Los científicos dieron usos variados a los flavonoides: los genes de la biosíntesis de flavonoides fueron usados como herramienta para analizar los cambios en el ADN, son ejemplos conocidos el descubrimiento de las leyes de Mendel (que pudo rastrear la herencia de los genes de los flavonoides que dan el color a los guisantes), y el descubrimiento de los genes saltarines de Barbara McClintock (que al "saltar" hacia un gen de un flavonoide lo inutilizan y no se expresa el color en el grano de maíz). La extracción e identificación de flavonoides también fue muy usada por los botánicos sistemáticos para establecer parentescos entre especies de plantas. Aún queda mucho por investigar de los flavonoides, de su valor medicinal, y de su impacto en la nutrición y la salud humana y de los animales. También es necesario continuar la investigación de su estructura, su metabolismo y su biodisponibilidad, por lo que se esperan importantes progresos en este campo.



Esqueleto de los isoflavonoides.



Esqueleto de los neoflavonoides



Estructura base de los **flavonoides** y la acción de la enzima isomerasa

El flavonoide base es un anillo bencénico unido a una cadena propánica que está unida a su vez a otro anillo bencénico. En la mayoría de los flavonoides, la cadena carbonada que une los anillos aromáticos se cicla por acción de una enzima isomerasa, creando la flavanona.

Muchas veces la biosíntesis continúa y los productos finales, también flavonoides, quedan unidos a muy diversos grupos químicos, por ejemplo los flavonoides glucosidados portan moléculas de azúcares o sus derivados. También pueden encontrarse flavonoides parcialmente polimerizados dando lugar a dímeros, trímeros, o complejos multienlazados, como los taninos condensados.

Todos los flavonoides poseen las características de ser polifenólicos y solubles en agua. Poseen un máximo de absorción de luz a los 280 nm.

Clasificación de los flavonoides

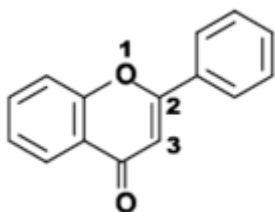
De acuerdo con la nomenclatura de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada pueden clasificarse, según su esqueleto y vía metabólica, en:

Flavonoides, derivados de la estructura 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona).

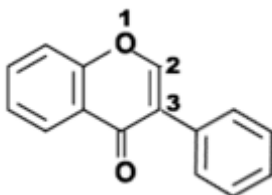
Isoflavonoides, derivados de la estructura 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona).



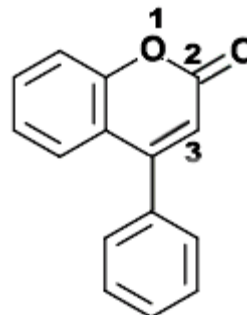
Neoflavonoides, derivados de la estructura 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona).



Estructura química de la **2-fenilcromen-4-ona** (2-fenil-1,4-benzopirona), esqueleto de los **flavonoides**



Estructura química de la **3-fenilcromen-4-ona** (3-fenil-1,4-benzopirona), esqueleto de los **isoflavonoides**.



Estructura química de la **4-fenilcumarina** (4-fenil-1,2-benzopirona), esqueleto de los **Neoflavonoides**

Los isoflavonoides se forman por migración de un anillo bencénico de la posición 2 a 3 del anillo central. El grupo integra más de 230 estructuras, y los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeína. Su función es defender a las plantas del ataque de patógenos.

El número de flavonoides diferentes que es en teoría posible es astronómico, si se tiene en cuenta que diez de los carbonos del esqueleto del flavonoide pueden ser sustituidos por una variedad de grupos diferentes, que a su vez pueden ser hidroxilados, metoxilados, metilados, isoprenilados o benzilados. Además, cada grupo hidroxilo y algunos de los carbonos pueden ser sustituidos por uno o más azúcares diferentes, y a su vez, cada uno de esos azúcares puede ser acilado con una variedad de ácidos fenólicos o alipáticos diferentes. Se han identificado y aislado alrededor de 9.000 flavonoides, pero sin duda aún hay muchos más por descubrir.

Funciones en las plantas:



Protección ante la luz UV. Los flavonoides incoloros suelen acumularse en las capas más superficiales de las plantas y captan hasta el 90% de las radiaciones UV, impidiendo los efectos nocivos de estas radiaciones en los tejidos internos.

Defensa ante el herbivorismo. Algunos flavonoides como los taninos, protegen a las plantas generando sabores desagradables para los herbívoros, principalmente amargos, o texturas que pueden resultar desagradables para los herbívoros, que se ven estimulados a elegir otras plantas.

Atracción de presas. Las plantas carnívoras, como las droseras y las dionaeas, poseen antocianinas en sus flores y hojas, que cumplen una función de atracción de los insectos que les sirven de alimento.

Atracción de animales dispersores de semillas y frutos. Algunos flavonoides confieren aromas y colores a los frutos que los hacen más apetecibles para los herbívoros que se alimentan de ellos, cumpliendo así una función de dispersión de las semillas.

Inducción de la nodulación por parte de las bacterias fijadoras de nitrógeno. Se ha observado que el eriodictiol y la apigenina-7-O-glucósido exudados por la raíz del guisante (*Pisum sativum*) inducen la nodulación de la agrobacteria *Rhizobium leguminosarum*. Se ha visto también que dos isoflavonoides encontradas en exudados de soja, la daidzeína y la genisteína son inductores de los genes de la nodulación de varias cepas de *Bradyrhizobium japonicum*.

Protección contra los hongos. La pisatina es un isoflavonoide producido por el guisante en respuesta a la infección por hongos e induce la expresión del gen PDA1 en éstos. La pisatina y el eriodictiol inducen la germinación de las esporas de ciertos hongos.

Propiedades relevantes para la salud humana:



Antirradicales, antimutagénicas, anticarcinogénicas, retardan la senescencia, antiaterogénicas, antimicrobianas.

Evidencias de su acción antirradicalar:

- Inhiben la oxidación de b -carotenos catalizada por la mioglobina.
- Inhiben la oxidación de b -carotenos producida por el sistema Fe-ácido ascórbico.
- Son donantes de hidrógenos con actividad scavenger.
- Son agentes quelantes.
- Evidencias de su acción antiaterogénica
- Bloquean la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad in vivo.
- Inhiben la oxidación de las LDL ex vivo en presencia de Cu⁺⁺.
- Exhiben mayor capacidad protectora que el a -tocoferol en la inhibición de la oxidación de las LDL.

Evidencias de actividad antimutagénica:

La actividad antimutagénica de los polifenoles es controvertida puesto que el quercetín y los colorantes fenólicos, han sido reportados como positivos en estudios de mutagenicidad.

La quercetina y sus glicósidos muestran un potente efecto supresivo del daño al ADN inducido por H₂O₂ en el ensayo cometa. La inhibición es dependiente de la dosis y también se revela en la correspondencia entre los resultados del cometa y los estudios de citotoxicidad.

La isoquercetina, hiperina, quercitrina y la rutina también protegieron al ADN en el sistema de ensayo cometa en células CHL a dosis mayores que la quercetina.



La mircetina inhibe significativamente la rotura de simple cadena en el ADN del plásmido pbr 322 producida por el oxígeno singulete generado por la disociación térmica de un endoperóxido.

El ácido tánico, (+) catequina, rutina, fisetina, luteolina y apigenina protegen al ADN plasmidial de los daños producidos por oxígeno singulete.

El efecto protector de la mircetina sobre el ADN plasmidial es superior, a concentraciones equimolares, al conferido por el lipoato y b -caroteno.

El efecto anticarcinogénico puede adscribirse a su capacidad de inhibir el daño oxidativo al ADN lo que podría evitar eventos de iniciación.

Su acción anticarcinogénica puede estar relacionada con el bloqueo de la actividad promotora, que en muchos casos está vinculada a la capacidad oxidativa del promotor.

Las proantocianidinas constituyen las formas mas poderosas de los polifenoles, siendo 50 veces mas poderosas que la vitamina E y 20 veces mas poderosa que la vitamina C como eliminador de radicales libres. tanto los polifenoles como las proantocianidinas mejoran la absorción de la vitamina C, poseen propiedades antivirales, antiulcera, antialergicas, antitumorales, anticancerígenos y antiinflamatorias, con capacidad de reforzar el sistema cardiovascular, mejorar la circulación, normalizar la presión sanguínea y neutralizar numerosas toxinas.

METODO UV-VIS

La espectrofotometría o espectroscopia de absorción consiste en la medida de la absorción por las diferentes sustancias de una radiación electromagnética de longitudes de honda situada en una banda definida y estrecha esencialmente monocromática.

Una transición espectroscópica es la energía requerida para llevar una molécula de un estado de baja energía (estado basal o fundamental) a un estado



de alta energía (estado excitado). El cambio de energía esta basado en la ecuación de BOHR.

$$\Delta E = h\nu$$

Donde h es la constante de Planck y ν es la frecuencia de la energía electromagnética absorbida en forma de fotones. Por consiguiente $\nu \propto \Delta E$. La energía de la radiación electromagnética esta relacionada con la longitud de onda λ y la frecuencia ν .

$$\nu \lambda = c$$

$$\lambda \propto 1/\Delta E$$

Un espectro consiste de distintas bandas o transiciones debido a que la absorción (o emisión) de la energía esta cuantizada. El intervalo de energía de una transición y la intensidad de la absorción es una propiedad molecular, y es una característica de la estructura molecular.

Para que una radiación electromagnética sea absorbida por la materia deben cumplirse dos condiciones generales:

La primera de ella es obvia, y es que debe haber una interacción entre el campo eléctrico de la radiación y alguna carga eléctrica de la sustancia.

La energía de la radiación incidente debe ser exactamente igual a la energía cuantizada que requiere la sustancia.

La luz visible y ultravioleta proporcionan suficiente energía para las transiciones electrónicas. Los espectros visibles y ultravioleta se conocen, pues, como espectros electrónicos. La transición electrónica va asociada con muchas transiciones de vibración y de rotación, en disolución las moléculas no se encuentran aisladas sino solvatadas por moléculas del disolvente que frenan su rotación libre y desaparece su estructura rotacional.



TIPOS DE ELECTRONES

Los electrones que contribuyen a la característica de absorción de una molécula orgánica son:

Los que participan directamente en la formación de enlaces entre átomos (electrones σ y π).

Electrones exteriores no enlazados, o no compartidos, situados principalmente en átomos como Oxígeno, Halógenos, azufre y nitrógeno (electrones n).

DEFINICION DE TERMINOS ESPECTRALES

- CROMOFOROS: son grupos de átomos responsables de bandas de absorción en las regiones ultravioleta o visible. Así, de una forma muy general, los sistemas de electrones π son cromóforos en las regiones ultravioleta y visible y los sistemas con electrones σ en la región ultravioleta lejano.
- AUXOCROMOS: Es un grupo funcional que no absorbe en la región ultravioleta, pero que, cuando se unen a grupos cromóforos, desplazan su banda de absorción hacia longitudes de onda, mayores y aumentan la intensidad del pico.

BANDAS DE ABSORCION $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Los electrones sigmas son los enlazantes de los electrones sencillos y las transiciones $\sigma \rightarrow \sigma^*$ se producen a causa de absorción en el ultravioleta lejano. Debido a las dificultades instrumentales, se ha trabajado relativamente poco en esta región del espectro.



BANDAS DE ABSORCIÓN $n \rightarrow \sigma^*$

Un sustituyente con pares de electrones no compartidos introduce la posibilidad de transiciones $n \rightarrow \sigma^*$. Los ejemplos más comunes son compuestos saturados que contienen heteroátomos tales como Azufre, Nitrógeno, Bromo o Yodo (que absorben a longitudes de onda de aproximadamente 200nm) y compuestos con Oxígeno y Cloro (que absorben a longitudes de onda más corta).

LEY DE BEER

Esta ley establece que:

La absorbancia es directamente proporcional a la trayectoria de la radiación a través de la solución y la concentración de la especie que produce la absorción. Es decir:

$$A = kbc$$

En donde k es una constante de proporcionalidad, es independiente de la concentración, paso de la luz e intensidad de la radiación incidente y depende de la temperatura, disolvente, estructura molecular y longitud de onda de la radiación. Si la concentración es expresada en mol/litro, k se escribe como ϵ y se llama absorptividad molar. Si "c" se expresa en moles/litros la constante de proporcionalidad se transforma en "a" que recibe el nombre de "absortividad". Cuando "c" se expresa en porcentaje de peso/volumen (g/100ml) la constante de proporcionalidad se escribe:

$A(1\%, 1\text{cm})$ y se conoce como absorptividad específica.

$$a = A(1\%, 1\text{cm})/10 = \epsilon/PM$$

Donde PM, es el peso molecular de la sustancia



Una gráfica de absorbancia contra concentración debe ser una línea recta que pasa por el origen y cuya pendiente es kb. Las intensidades de la absorbancia suelen expresarse en términos de absortividades molares

DESVIACIONES APARENTES DE LA LEY DE BEER

La ley de BEER se cumple si la curva de calibración de Abs. vs C. de una serie de medidas estándar es una línea recta, que pasa por el origen.

Las desviaciones de la ley de BEER caen en tres categorías: reales, químicas e instrumentales.

LIMITACIONES REALES DE LA LEY DE BEER

INDICE DE REFRACCION DE LA SOLUCION.

Las desviaciones reales provienen de los cambios en el índice de refracción del sistema analítico. En este caso ϵ de la ecuación es reemplazada por:

$$\epsilon n / (n^2 + 2)^2$$

En dónde n es el coeficiente de refracción de la solución. A concentraciones de 10^{-3} M o menores, el índice de refracción es esencialmente constante, pero a concentraciones elevadas el índice de refracción tiene variaciones considerables y por lo tanto ϵ las presenta también.

De este modo se deduce que la ley de BEER es una ley límite, que únicamente es estrictamente valida a concentraciones bajas.

INTERACCIONES ENTRE LAS ESPECIES ABSORBENTES DEL SOLUTO

Para que se cumpla la ley de BEER, todos los centros de absorción (moléculas e iones) deben de actuar de modo independiente, o sea sin depender de su naturaleza y su número. Esta condición obliga a que la ley de BEER sea una ley límite, aplicable solamente a disoluciones diluidas. Las interacciones entre los



centros de absorción alteran la distribución de cargas en las especies absorbentes, en las especies excitadas o en ambas, de modo que se modifica la energía requerida para absorción de la radiación incidente. Como resultado se observa que los picos de absorción varían de posición forma y altura al aumentar la concentración.

INSTRUMENTACION

El espectrofotómetro, es un equipo que mide la absorción de la luz.

Con el sistema de Diodos situado en el plano focal de un monocromador, se puede obtener un espectro con un barrido electrónico en vez de uno mecánico, así pues, todos los puntos necesarios para definir un espectro pueden recogerse esencialmente de forma simultánea. Un detector de diodo de silicio consiste en una unión polarizada inversamente que se monta en un chip de silicio.

Las lámparas de deuterio y tungsteno sirven como fuente de radiación. Después de atravesar la solución del disolvente o analito, la radiación se enfoca en la rendija de entrada y pasa luego a la superficie de una red de reflexión holográfica.

Los resultados se pueden visualizar en una pantalla de video, o bien se pueden imprimir, registrarse en la computadora externa o en un disco.

VENTAJAS DEL SISTEMA DE DIODOS

- ADQUISICION RAPIDA DEL ESPECTRO
- ADQUISICION DE LA LONGITUD DE HONDA
- REPRODUCIBILIDAD DE LA LONGITUD DE HONDA
- ALTA SENSIBILIDAD
- MEDIDAS ESTADISTICAS
- ROBUSTEZ Y VERACIDAD



MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de Estudio: Experimental.

Área de Estudio: Departamento de Control de Calidad de Drogas y Medicamento; situado en el segundo piso del edificio de la Facultad de Ciencias Químicas (Campus Médico-UNAN León), área de farmacognosia.

Universo: Todos las especies de *Uncaria tomentosa* de Nicaragua.

Muestra: 20 mg de corteza de *Uncaria tomentosa* (Willd.)

Unidad de Análisis: corteza.

Tipo de Muestreo: Por Conveniencia.

Diseño del método de extracción.

1. Pesar 100g. de muestra previamente secada y molida.
2. Adicionar a la muestra 1000ml de alcohol a 96%
3. Dejar reposar la solución anterior durante 72 horas a temperatura ambiente y en un lugar fresco y oscuro.
4. Filtrar la solución y exprimir los residuos restantes
5. Evaporar la solución filtrada llevar hasta sequedad.
6. Guardar el secado a temperatura ambiente.



Equipos:

Espectrofotómetro UV-VIS 84x

Vortex

Ultrasonido

Balanza analítica

Cronómetro

Materiales:

Balones volumétricos aforados

Beakers

Pipetas y micropipetas

Espátulas

Tubos de ensayo y gradilla

Reactivo

Reactivo Folin 2N

Na₂CO₃ anhidro 20%

Agua destilada

DMSO(Dimetisulfoxido)

3. Preparación del estándar y curva de calibración

1. Pesar exactamente 10 mg de ácido gálico y llevarlos a balón volumétrico de 10 mL, solubilizarlos completamente con agua destilada y llevar a volumen.
2. Se realizan las diluciones respectivas para la curva de calibración tomando 10, 20,30,40,50,60,70,80,90,100,200,300,400 y 500 µL de la solución anterior y llevando a volumen de 1 mL con agua. Curva 10-500 µg/mL.
3. Adicionar en estricto orden en tubo de ensayo los siguientes componentes: 750 µL de agua destilada y 100 µL de Na₂CO₃.



4. Esperar de 4 a 8 min. Y adicionar luego 50 μL del reactivo Folin 2N.
5. Agitar los tubos en vórtex durante 5 seg. E inmediatamente guardarlos en oscuridad durante 60 min. A temperatura ambiente.
6. Preparar un blanco de ensayo que contenga que contenga 900 μL de agua destilada y 100 μL de dimetilsulfoxido (DMSO).
7. Registra la absorción UV a 900 nm y realizar un gráfico de Abs Vs. concentración en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$.

8. Preparación de la muestra

1. Preparar solución de extracto de *Uncaria tomentosa (Willd.)* a ensayar que contenga 2 mg/mL, tomando una cantidad exactamente pesada de extracto libre de solvente y diluyéndola con solvente DMSO.
2. Llevar a ultrasonido por 5 minutos.
3. Llevar a balón volumétrico de 10 mL y completar a volumen con el solvente utilizado (DMSO).
4. Envasar la solución madre de extracto en frasco ámbar.

9. Ensayo espectrofotométrico para las muestras.

1. Adicionar en estricto orden en tubo de ensayo los siguientes componentes: 750 μL de agua destilada, 100 μL de muestra, 100 μL de Na_2CO_3 .
2. Esperar de 4 a 8 min. Y adicionar luego 50 μL del reactivo Folin 2N.
3. Agitar los tubos en vórtex durante 5 seg. E inmediatamente guardarlos en oscuridad durante 60 minutos a temperatura ambiente.
4. Preparar un blanco de ensayo que contenga que contenga 900 μL de agua destilada y 100 μL de dimetilsulfoxido (DMSO).
5. Registrar la absorción UV a 900 nm y realizar un gráfico de Abs Vs. concentración en $\mu\text{g}/\text{mL}$.
6. Blanco del equipo: 900 μL de agua destilada, 100 mL de DMSO.
7. Realice ensayo por 4 réplicas.



RESULTADOS

En la siguiente tabla se muestran los resultados del extracto alcohólico de la especie *Uncaria tomentosa (Willd.)*, después de haberle hecho lecturas en UV-VIS.

TABLA 1.
ESTANDARD DE ACIDO GALICO.

#	Standard Name	acido galico(ug)	Abs<900nm>
1	Ac. galico	1	0,38956
2	Ac. galico	1	0,41533
3	Ac. galico	1,301	0,40533
4	Ac. galico	1,301	0,42952
5	Ac. galico	1,4771	0,42233
6	Ac. galico	1,4771	0,39715
7	Ac. galico	1,6021	0,43547
8	Ac. galico	1,6021	0,45393
9	Ac. galico	1,699	0,46844
10	Ac. galico	1,699	0,45459
11	Ac. galico	1,7782	0,47391
12	Ac. galico	1,7782	0,49143
13	Ac. galico	1,8451	0,5156
14	Ac. galico	1,8451	0,50171
15	Ac. galico	1,9031	0,54471
16	Ac. galico	1,9031	0,56393
17	Ac. galico	1,9542	0,51978
18	Ac. galico	1,9542	0,55636
19	Ac. galico	2	0,54185
20	Ac. galico	2	0,54101
21	Ac. galico	2,301	0,59318
22	Ac. galico	2,301	0,5598
23	Ac. galico	2,4771	0,54185
24	Ac. galico	2,4771	0,5909
25	Ac. galico	2,6021	0,65686
26	Ac. galico	2,6021	0,65818
27	Ac. Galico	2,699	0,65423
28	Ac. galico	2,699	0,65495



GRAFICO 1.

ESTANDAR DE ACIDO GALICO

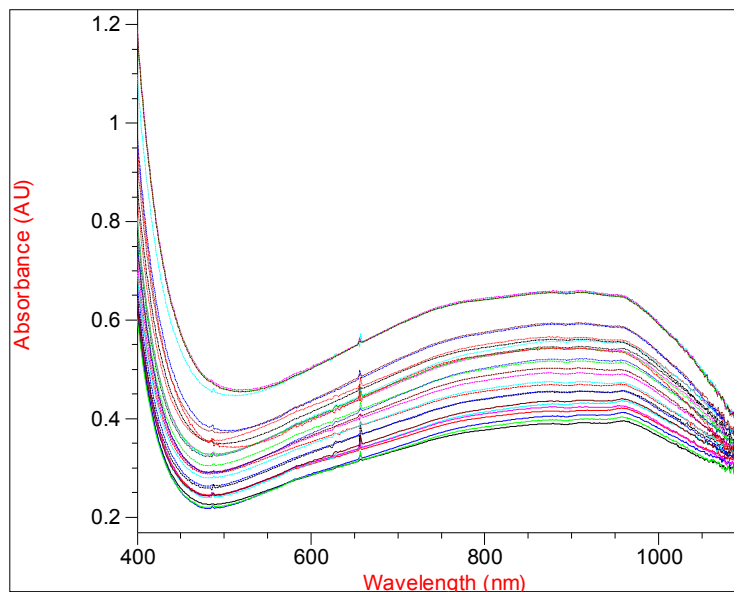


GRAFICO 2.

CURVA DE CALIBRACION (ACIDO GALICO)

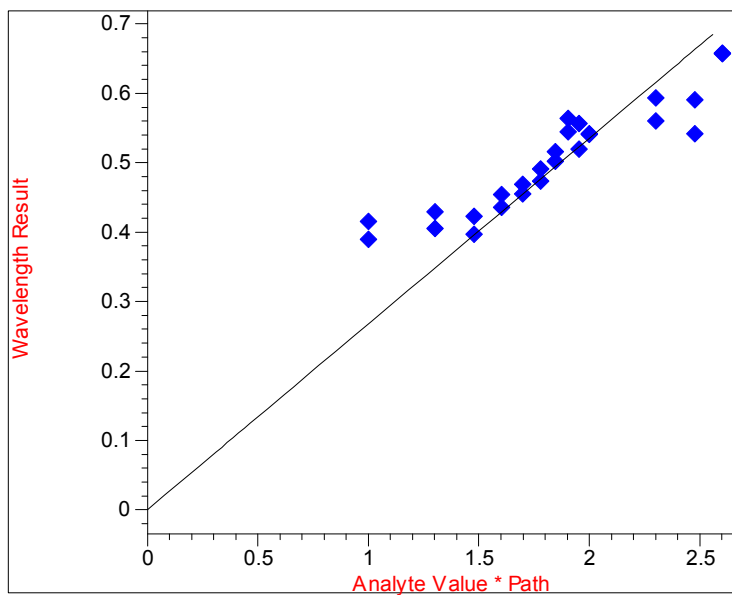
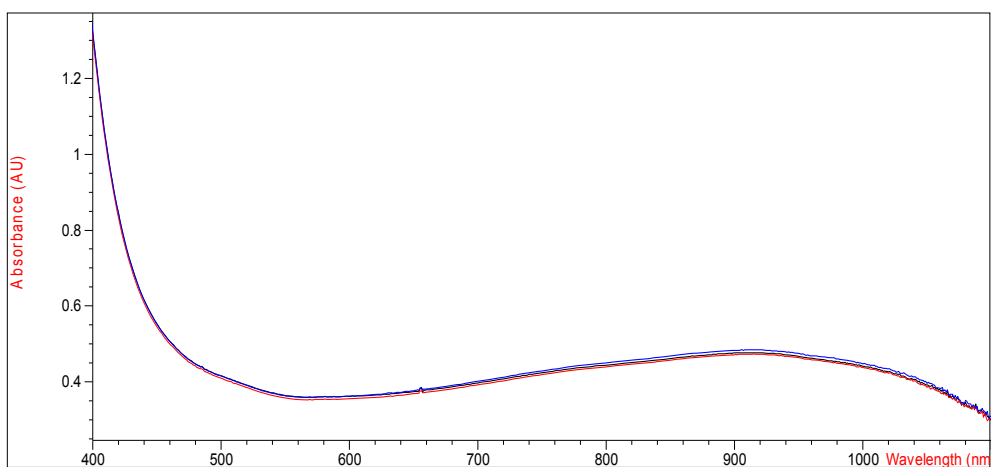




TABLA 2.
MUESTRAS DE LA CORTEZA *Uncaria tomentosa* (Willd.).

#	Name	Dilut. Factor	acido galico(ug)	Abs<900nm>
1	M1	1	1,7778	0,47595
2	M2	1	1,7617	0,47164
3	M3	1	1,8038	0,4829

GRAFICO 3.
ESPECTRO DE LA MUESTRA (*Uncaria tomentosa* (Willd.))





ANALISIS DE LOS RESULTADOS

En base a los resultados obtenidos del extracto alcohólico de la especie vegetal *Uncaria tomentosa (Willd.)* leídos por UV-VIS se obtuvo los siguientes resultados:

- El extracto alcohólico obtenido refleja una concentración media de la muestra de aproximadamente de un 88.5 % de polifenoles presentes en esta especie vegetal.
- Esta concentración es calculada en base a la comparación que se hizo con un patrón de referencia de taninos hidrosolubles como es el caso del ácido galico, lo que hace referencia que los taninos condensados no están siendo cuantificados.
- Bibliográficamente no se encontró referencia de la cantidad de polifenoles totales presente en la especie, aunque si se hace mención de que existe la presencia de estos compuestos, por lo que no podemos hacer una comparación referencial.



CONCLUSIONES

El presente trabajo investigativo se elaboro con el fin de cuantificar en la especie vegetal *Uncaria tomentosa* (Willd.) los polifenoles totales ya que estos poseen una gran actividad antioxidante. Llegándose a la conclusión de que la *Uncaria tomentosa* (Willd.) tiene un alto contenido de polifenoles totales calculados como acido gálico, pudiéndose utilizar esta especies para algunas enfermedades que tengan intima relación con los radicales libres en nuestro organismo, tal es el casos de las gripes, canceres, etc.

Este estudio por ser el primer trabajo investigativo de esta categoría tiene mucha importancia para las futuras generaciones para profundizar más en el tema.



RECOMENDACIONES

Las recomendaciones para este tipo de estudio que deberían de tomarse en cuenta son las siguientes.

- La elaboración del extracto seco alcohólico la realicen con sumo cuidado, para evitar incendios en el laboratorio y obtener extractos carbonizados.
- Para la preparación de los estándares realicen las concentraciones indicada en el procedimiento, haciendo buen uso del manejo de las micropipetas.
- Realizar varias lecturas para disminuir los errores.



Bibliografía

- 270 PLANTAS MEDICINALES IBEROAMERICANO, EDITOR MAHABI P. GUPTA, Ph D, pag 486.
- POLIFENOLES CON ACCION ANTICANCERIGENAS. VOLUMEN 4 · Nº 1 · JULIO 2000. <http://www.bio.puc.cl/vinsalud/boletin/41polifenoles.htm>
- C. GRANDES PLANTAS Y HIERBAS DEL MUNDO, INSTITUTO DE ESTUDIO DE SALUD NATURAL, I.E.S.N./ENERO 2001. WWW.geocities.com/ceniuschile/herbmun.html - 273-
- U Ñ A D E G A T O www.alimentacionsana.com.ar/Portal%20nuevo/compresano/plantillas/una01.htm - 95k
- EFECTO ANTIFLAMATORIO DE LA UNCARIA TOMENTOSA (UÑA DE GATO) www.sisbib.unmsm.edu.pe/Brevitas/odontologia/2000_n6/efec_anti.htm - 16k -
- LA UÑA DE GATO UNA POSIBILIDAD DE VENCER AL CANCER? www.alimentacion-sana.com.ar/informaciones/novedades/una.htm
- ECOALDEA.COM www.ecoaldea.com/plmd/uncaria.html
- UÑA DE GATO () www.hipernatural.com/es/pltuna_de_gato.htm
- CÓMO TRATAR DISCOVERY DSALUD >>> CÁNCER: ¿QUÉ ES Y QUÉ LO CAUSA ...www.dsalud.com/numero52_2.htm
- ESTUDIOS REALIZADOS EN NICARAGUA SOBRE LA PLANTA Unacaria TomENTOSAWWW.ELNUEVODIARIO.COM
- HERNANDEZ ANGEL, MAUREEN Y PRIETO GONZALEZ, ELIO ANTONIO. PLANTAS QUE CONTIENEN POLIFENOLES: ANTIOXIDANTES DENTRO DEL ESTILO DE VIDA. REV CUBANA INVEST BIOMÉD. [ONLINE]. ENE.- ABR. 1999, VOL.18, NO.1 [CITADO 08 AGOSTO 2007], P.12-12. DISPONIBLE EN LA WORLD WIDE Web: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S08640300199900010004&lng=es&nrm=iso. ISSN 0864-0300.
- Historia y Uso Tradicional de la Uña de Gato. <http://www.primalnature.com/spanish/catsclaw2.html>



ANEXOS

a. PREPARACION DE Na_2CO_3 ANHIDRO 20%

Pesar 20mg de Na_2CO_3 llevar a un balón de 100ml diluirlo en 20ml de agua destilada, agitar hasta homogenizar y luego aforar.

PREPARACION DEL REACTIVO FOLIN 2N

En aproximadamente 35ml de agua destilada agregar 5g de tungstato de sodio, luego 1.2g de ácido fosfomolibdico y 2.5ml de ácido fosforito. Hervir la mezcla a reflujo durante 2 horas después enfriar llevar a 50ml y mezclar con agua.

acido galico(ug)	Absorvancia	(Xi-Xmedia)	(Xi-Xmedia)^2	Xi^2	Yi^	(Yi-Yi^)	(Yi-Yi^)^2
1	0,40223868	-0,902785714	0,815022046	1	0,368264909	0,033973771	0,001154217
1,301	0,41724974	-0,601785714	0,362146046	1,692601	0,417282465	-3,27251E-05	1,07093E-09
1,4771	0,40954653	-0,425685714	0,181208327	2,18182441	0,445960178	-0,036413648	0,001325954
1,6021	0,4446042	-0,300685714	0,090411899	2,56672441	0,466316306	-0,021712106	0,000471416
1,699	0,46146304	-0,203785714	0,041528617	2,886601	0,482096377	-0,020633337	0,000425735
1,7782	0,4825905	-0,124585714	0,0155216	3,16199524	0,494994019	-0,012403519	0,000153847
1,8451	0,50860759	-0,057685714	0,003327642	3,40439401	0,505888619	0,002718971	7,3928E-06
1,9031	0,55423669	0,000314286	9,87755E-08	3,62178961	0,515333863	0,038902827	0,00151343
1,9542	0,53775905	0,051414286	0,002643429	3,81889764	0,523655448	0,014103602	0,000198912
2	0,54145984	0,097214286	0,009450617	4	0,531113933	0,010345907	0,000107038
2,301	0,57624835	0,398214286	0,158574617	5,294601	0,580131489	-0,003883139	1,50788E-05
2,4771	0,56584376	0,574314286	0,329836899	6,13602441	0,608809202	-0,042965442	0,001846029
2,6021	0,65751967	0,699314286	0,48904047	6,77092441	0,62916533	0,02835434	0,000803969
2,699	0,6545899	0,796214286	0,633957189	7,284601	0,644945401	0,009644499	9,30164E-05
							0,008116035

GRADO/LIBERTAD	12	Xmedia	1,902785714
PENDIENTE	0,16284902		
INTERCEPTO	0,20541588		
R2	0,91100236		
VAR (RES)	0,00067634		
PM	5,0470287		