

POTENCIAL BIOLÓGICO Y QUÍMICO DE VERBENA LITTORALIS, UNA PLANTA MEDICINAL USADA EN COSTA RICA COMO AGENTE ANTIDIARREICO

Oscar Castro* y Eduardo Umaña

Universidad de Costa Rica, Escuela de Química, Centro de Investigación en Productos Naturales (CIPRONA), San José 2060, Costa Rica

Marco Luis Herrera

Hospital Nacional de Niños, Laboratorios de Ensayos Biológicos, San José, Costa Rica.

One cafeoil glycoside (Verbascoside) and two iridoid (verbenalin and brasoside) were isolated from the aerial parts of *Verbena littoralis* (Verbenaceae). The biological and chemical potential of this plant used as antidiarrhea in Costa Rica is discussed.

INTRODUCCION

El género *Verbena* (Fam. Verbenaceae) solo está representado en Costa Rica por *Verbena littoralis* H.B.K.

De todas las especies de *Verbena*, la *V. officinalis* es la de mayor reconocimiento mundial como planta medicinal, reportándose su uso desde el Oriente (China, Corea, Taiwán) para el tratamiento de eczemas, bronquitis y desórdenes menstruales¹, hasta el Occidente (México, Brasil), donde se le ha utilizado como remedio popular contra el cáncer que ataca principalmente las vísceras. En Europa se le usa como anti-diarréica y para el tratamiento de trastornos hepáticos. Esta planta actualmente ha sido clasificada por la FDA como inocua².

Verbena littoralis sustituye en nuestra flora medicinal a *V. officinalis* y se le puede encontrar creciendo desde el nivel del mar hasta los 1300 m de altura³.

La infusión acuosa de la parte aérea es empleada, vía oral, como uno de los remedios populares y de mayor credibilidad para combatir diarreas. Inclusive, Pedro Arbeláez describe su reconocimiento, como Tisana, para combatir tifoidea y la efectividad de estos extractos aplicados tópicamente para curar eritemas causados por insectos⁴.

Los extractos orgánicos obtenidos y los compuestos aislados dieron negativos los ensayos in vitro contra los siguientes microorganismos: *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Shigella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*⁶.

DISCUSION DE RESULTADOS

Aunque los resultados in vitro arriba citados son contradictorios con respecto al uso de *V. littoralis* como antidiarético, las siguientes investigaciones justifican en parte el uso tradicional que se ha dado a esta planta.

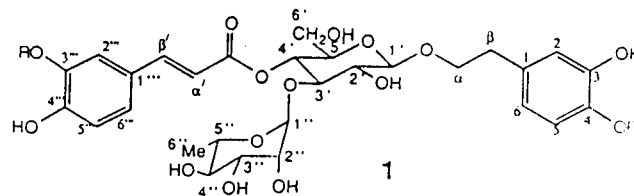
Recientemente se han reportado propiedades analgésicas y antimicrobiales para el Verbascosido **1**⁷ y han sido estudiados algunos iridoides como potenciales agentes antimicrobiales⁸ y antitumorales⁹.

Estos estudios han demostrado que los iridoides, como glucósidos, no tienen actividad alguna, sin embargo, bajo hidrólisis enzimática con beta-glucosidasa presentan actividad, sospechándose que la estructura hemiacetalica es indispensable para potenciar tanto la actividad antimicrobiana como la antitumoral.

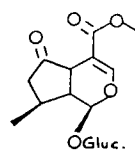
En apoyo a esta evidencia, investigaciones sobre el iridoide genipósido expuesto al jugo gástrico y contenido intestinal de ratas, demuestran que este metabolito secundario no sufre hidrólisis en presencia del jugo gástrico (pH = 1.8, 37°C, pero si se hidroliza en contacto con el jugo intestinal¹⁰ donde es posible encontrar beta-glucosidasas debido a la flora intestinal. También Ishiguro et al.⁸ reportaron la actividad antimicrobiana in vitro contra *Staphylococcus aureus* del Verbenalin **2**, en presencia de beta-glucosidasas, evidenciándose de nuevo la importancia de la función hemiacetalica.

En conexión con estos resultados experimentales también se ha descubierto que compuestos derivados del ácido cafeoilico (Ácido 3,4-dihidroxicainámico), constituyen una nueva familia de compuestos con interesante potencial antiviral, por lo pronto contra, Herpes simplex y la influenza A que es un miembro del grupo Myxovirus¹¹.

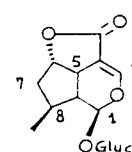
Se presupone que esta clase de arilpropanoides introducidos en grandes moléculas, como es el caso del Verbascosido, son una promesa como nueva alternativa para la quimioterapia antiviral.



R = H



2



3

* A mi maestro quien continua estimulando mis mejores inquietudes por conocer la naturaleza y respetarla.

Tabla 1. Asignación de datos espectroscopicos para los iridoi-des verbenalin 1 y brasosido 2.

Car- bono	¹³ C RMN (67.5MHz, CD ₃ OD)		¹ H RMN (360 MHz, CD ₃ OD)	
	Compuesto		Compuesto	
	1	2	1	2
1	99.7	94.76	4.64 d (7.7Hz)	5.75 s
2	153.81	150.24	7.41 s	7.34 d (2.5Hz)
4	100.58	104.83	-	-
5	43.55	39.48	3.51 d (7.5Hz)	3.51 dt (7.0, 2.5Hz)
6	215.81	83.31	-	5.07 t (7.5Hz)
7	43.73	42.98	2.00-2.52 m	1.70-2.10 m
8	29.92	33.00	2.00-2.52 m	1.70-2.10 m
9	45.46	46.75	2.00-2.52 m	1.70-2.10 m
10	20.57	17.85	1.24 d (6.5Hz)	1.05 d (6.5Hz)
1'	97.04	99.96	4.64 d (7.7Hz)	4.74 d (8.0Hz)
2'	74.67	74.74	3.18-3.40 m	3.15-3.40 m
3'	78.39	77.94	3.18-3.40 m	3.15-3.40 m
4'	71.60	71.57	3.18-3.40 m	3.15-3.40 m
5'	77.98	78.43	3.18-3.40 m	3.15-3.40 m
6'	62.76	62.72	3.88 d (12.2Hz)	3.90 d (12.2Hz)
			3.64 dd (12.2, 4.0Hz)	3.70 br dd (12.2, 4.0Hz)
OCH ₃	51.95	-	3.72 s	

EXPERIMENTAL

El material botánico fue recolectado en Escazú, San José, Costa Rica en agosto, cuando la planta estaba en floración.

Extracción y Aislamiento: La parte aérea de *V. littoralis* (1k g) fue extraída exhaustivamente en forma fresca por maceración en frío con EtOH de 90 grados. Estos extractos una vez concentrados hasta consistencia siruposa fueron filtrados y extraídos sucesivamente con Hexano (10.0 g), CH₂Cl₂ (38.6 g) y AcOEt (19.6 g).

Los extractos hexánicos y de CH₂Cl₂ revelaron por análisis cromatográfico variados compuestos de naturaleza carotenoide. Dado que los espectros infrarrojos de estos extractos crudos únicamente mostraron bandas características de compuestos alifáticos, se dejaron para posteriores investigaciones.

El extracto de AcOEt (5 g), purificado en columna de gel de sílice usando como eluyente AcOEt-MeOH (7:3), ofreció principalmente el cafeoilglicósido, Verbascosido 1 (200 mg), que fue caracterizado por los siguientes datos espectroscópicos.

¹H RMN (360 MHz, CD₃OD, δ): **Aglicona;** 6.70 (1H, d, J=2.0Hz, H-2), 6.62 (1H, d, J=8.1Hz, H-5), 6.56 (1H, dd, J=8.1, 2.0Hz, H-6), 3.72 (1H, m, H-8), 4.40 (1H, m, H-8), 2.79 (2H, t, H-7); **Glucosa;** 4.38 (1H, d, H-1), 4.90-3.38 (4H, m); **Rhamnosa;** 5.18 (1H, d, J=1.5Hz, H-1), 3.92-3.56 (3H, m), 1.09 (3H, d, J=6.2Hz, H-6); **Acido Cafeico;** 7.04 (1H, d, J=1.9Hz, H-2), 6.77 (1H, d, J=8.2Hz, H-5), 6.95 (1H, dd, J=8.2, 1.9Hz, H-6), 6.28 (1H, d, J=16.0Hz, H-α), 7.88 (1H, d, J=16.0Hz, H-β).

¹³C NMR (67.5 MHz, CH₃OD): **Aglicona;** 131.6 (C-1),

116.6 (C-2), 144.5 (C-3), 117.2 (C-5), 121.2 (C-6), 72.8 (C-8), 36.6 (C-7); **Glucosa;** 104.2 (C-1), 75.9 (C-2), 81.6 (C-3), 70.7 (C-4), 76.3 (C-5), 62.5 (C-6); **Rhamnosa;** 102.9 (C-1), 72.4 (C-2), 73.9 (C-4), 70.4 (C-5), 18.4 (C-6); **Acido Cafeico;** 127.8 (C-1), 114.8 (C-2), 146.7 (C-3), 149.6 (C-4), 116.4 (C-5), 123.3 (C-6), 115.5 (C-α), 148.1 (C-β), 168.5 (C=O).

¹³C RMN fue comparado con la literatura⁵ y el espectro IR con el de una muestra auténtica (Frank R. Stermitz).

El remanente alcohólico acuoso (8g) mostró la presencia de dos posibles iridoi-des por análisis cromatográfico y revelando con vainillina. Esta fase fue particionada entre BuOH y H₂O. Los extractos butanólicos concentrados (1 g), fueron purificados en columna cromatografica de gel de sílice, pero de grano fino (60 6F 254, Merck), y usando como eluyentes CH₂Cl₂/MeOH (82.5:17.5).

De este modo se obtuvieron dos conocidos compuestos de naturaleza iridoidea: Verbenalin 2 y Prasosido 3, caracterizados por los datos espectroscópicos que se detallan en la tabla 1.

En consideración a estas expectativas, actualmente estamos abordando esta planta analizando el extracto tal y como lo prepara la gente (infusión acuosa en caliente) y evaluando química y biológicamente los diferentes extractos expuestos a estos medios biológicos. Estas investigaciones se encuentran en proceso.

AGRADECIMIENTO

A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, por el apoyo económico a través del Proyecto No. 809-82-025. Al Dr. R. Andrade de la Universidad de Alberta, Canadá, por la realización de los espectros de ¹H R M N y al Dr. F.R. Stermitz de la Universidad de Colorado USA, por el envío de la muestra patrón de Verbascosido.

También queremos agradecer al Laboratorio de Ensayos Biológicos del Hospital Nacional de Niños de Costa Rica por las facilidades brindadas.

REFERENCIAS

- Makboul, A.; *Fitoterapia*, (1986), 57, 50.
- Duke, J. "Handbook of Medicinal Herbs". CRC Press, Florida, p.508, (1985).
- Núñez, E., "Plantas Medicinales de Costa Rica". Universidad de Costa Rica, San José, p.230, (1975).
- Pérez Arbeláez, E.; *Plantas Útiles de Colombia*. Editada por Litografía Arco, Colombia, p.745 (1978).
- Junior, P., *Planta Medica*, (1982), 45, 127.
- Herrera, M.L.; Hospital Nacional de Niños de Costa Rica. Comunicación Personal.
- Andary, C.; Privat, G.; Chevallet, P.; Orzalesi, H.; Serrano, J.J.; Boucart, M.; *Il Pharmaco Ed. Sci*, (1980), 35, 3.
- Ishiguro, K.; Yamakai, M.; Takagi, S.; *Yayugaku Zasshi*, (1982), 102, 755.
- Ishiguro, K.; Yamaki, M.; Takagi, S.; Ikeda, Y.; Kawakami, K.; Ito, K.; Nose, T.; *Chem. Pharm. Bull.*, (1986), 34, 2375.
- Masanori, M.; Sakae, A.; Yukio, O.; *Planta Medica*, (1988), 54, 556.
- König, B.; Dustmann, J.H.; *Naturwissenschaften*, (1985), 72, 659.