

## P51 Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina de *Hibiscus sabdariffa*

Alejandro Zamilpa, M<sup>a</sup> Dolores Pérez y Enrique Jiménez

Centro de Investigación Biomédica del Sur. IMSS. Argentina 1, Colonia Centro, 62790. Xochitepec, Morelos, México.

**Objetivo.** Realizar el fraccionamiento e identificación de los potenciales inhibidores de la Enzima convertidora de la angiotensina (ECA) presentes en *Hibiscus sabdariffa*.

**Método.** El material vegetal (6 Kg) seco y molido fue extraído por infusión (3 L de H<sub>2</sub>O por Kg de planta x 3 veces) a 60° C durante 2 h. El extracto fue concentrado y liofilizado para su posterior evaluación como inhibidor de la ECA mediante el método de hidrólisis del sustrato FAPGG. Se diseñó por HPLC, una curva de calibración para cuantificar el sustrato hidrolizado por ECA. El ensayo biológico comienza preparando varias concentraciones del sustrato (0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 y 0.6 mM) disueltos en HEPES a un pH = 7.74. La reacción se desarrolló durante 1 hora a 37 °C y se inició la reacción adicionando 20 µl (0.001 U) de ECA (SIGMA) la cual se detuvo con la adición de 80 µl de TFA al 5%. Se calculó la actividad enzimática como µmoles de FAPGG hidrolizado por minuto. Estas evaluaciones se realizaron por triplicado en presencia y en ausencia de extractos y compuestos aislados de *H. sabdariffa*. Se construyeron las correspondientes curvas de cinética enzimática de Michaelis – Menten y la transformación de Lineweaver – Burk, para calcular  $K_m$  y  $V_{max}$ , tanto del blanco como de los productos evaluados. Este modelo permitió realizar el fraccionamiento biodirigido del extracto acuoso de esta especie.

**Resultados.** El extracto acuoso integro de *H. sabdariffa* y las fracciones cromatográficas obtenidas presentaron en diversos niveles inhibición de la ECA. De todos los productos evaluados, se encontró que la fracción más enriquecida en las antocianinas presentó el nivel de inhibición de la ECA más alto  $V_{max} = 1.33 \times 10^{-6}$  y  $K_m = 0.173$ . La purificación de esta fracción permitió el aislamiento e identificación de dos antocianinas mayoritarias: 3-sambubiosido de delfinidina y 3-sambubiosido de cianidina.

**Conclusiones.** Considerando los resultados obtenidos, se puede concluir que las antocianinas 3-sambubiosido de delfinidina y 3-sambubiosido de cianidina presentes en la especie *H. sabdariffa* son las responsables del efecto inhibitorio de la ECA que presenta dicha especie. Analizando los datos obtenidos para esta fracción mediante Lineaweaver-Bruk se consideró que produce una inhibición de tipo competitiva.

## P52 Estudio por HPLC-MS/MS de compuestos fenólicos presentes en las hojas de *Tamarindus indica* L.

Marco A. Dehesa<sup>a</sup>, Olga Jáuregui<sup>b</sup> y Salvador Cañigueral<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Laboratorio RENASE, Lugo 327. La Floresta. Quito, Ecuador. <sup>b</sup>Servicios Científico Técnicos. Universidad de Barcelona, Josep Samitier 1-5, 08028 Barcelona, Cataluña España. <sup>c</sup>Departamento de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, 08028 Barcelona, Cataluña, España.

*Tamarindus indica* L., es una planta cuyo fruto es oficial en la Farmacopea Británica<sup>(1)</sup> y a la cual se le ha demostrado científicamente varias aplicaciones terapéuticas, entre ellas, como hepatoprotectora y antimicrobiana por sus hojas<sup>(2)</sup>. Poder aprovechar de manera sostenible las hojas de Tamarindo con fines medicinales, por la presencia de compuestos activos, constituye una alternativa de uso muy interesante. Por ese motivo el presente trabajo investigó la composición cualitativa de las hojas de la especie como una contribución al estudio químico farmacéutico que respalde dicha utilización.

A través del fraccionamiento del extracto fluido, y el análisis por HPLC-MS/MS de la fracción rica en compuestos fenólicos, se pudieron identificar, mediante el empleo de patrones, los flavonoides isoorientina, orientina, isovitexina y vitexina, como los componentes fenólicos mayoritarios de las hojas de la especie. El estudio, a través de la comparación con patrones de referencia y tiempos de retención, permitió identificar compuestos fenólicos no informados con anterioridad para las hojas de la especie *T. indica*: apigenina, ácidos ferulico y cafeico, luteolina-7-O-glucosido, luteolina, rutina y vicenina.

Las condiciones de trabajo utilizadas fueron las descritas por Sánchez-Rabaneda<sup>(3)</sup>, empleando un Equipo HPLC Agilent 1100 (Waldrom, Alemania), bomba cuaternaria, con inyector automático y detector de Arreglo de Diodo. Columna: Phenomenex Luna C<sub>18</sub> (Torrance, CA, USA) de 50 x 2,1 mm, 3,5 µm. Fase móvil: Agua con 0,05% de ácido acético (solvente A) y acetonitrilo con 0,05% de ácido acético (solvente B). Se aplicó un gradiente lineal con diferentes proporciones de A.

**Referencias:** 1. Martindale. *The Extra pharmacopoeia*, 30<sup>th</sup>. Edn. London. The Pharm. Press. 1993: 909-10. 2. Robineau, L.; Weniger, B. (Eds.). *Seminario TRAMIL 7* Antioquia, 1995: 619-20. 3. Sánchez-Rabaneda, F., Jáuregui O. and col. *J. Mass Spectrom.* 2003; 38:35-42.