

Una prueba positiva debe ser confirmada por medio de técnicas de referencia especiales, entre ellas se cuenta el Western blot, inmunofluorescencia indirecta y radioinmunoprecipitación (RIPA). También puede efectuarse un diagnóstico virológico, detectando el virus o sus partículas precursoras en la célula infectada, empleándose técnicas de microscopía electrónica, inmunoperoxidasa complejo Avidina/Biotina, hibridización *in vitro* o *in situ*.

DESARROLLO:

Consiste en un estudio de seguimiento de un grupo de alto riesgo (prostitutas), para determinar la prevalencia e incidencia de anticuerpos anti-HIV, utilizándose el método de ELISA y la posterior confirmación de los casos positivos por el método de Western blot, esto en un centro de referencia de los Estados Unidos de América. El seguimiento consiste en el estudio de tres muestras de cada prostituta con un intervalo de uno y medio a dos meses entre cada toma de muestras. Se están estudiando 250 prostitutas de la capital que acuden al centro de profilaxia sexual de la Dirección General de Servicios de Salud; 122 que acuden al Centro de Salud de Coatepeque, Departamento de Quetzaltenango, y 100 prostitutas de la capital que no acuden a estos servicios.

Ya se ha completado al esquema de muestreo para los grupos de prostitutas que están controladas por la DGSS, mientras que el grupo de prostitutas que no acuden a dicho control se encuentra en la fase de segundo muestreo.

HALLAZGOS:

Del grupo de prostitutas de la capital controladas por la DGSS, únicamente se ha efectuado la prueba de ELISA a lo que corresponde al primer muestreo. De 250 muestras corridas, una fue positiva para la presencia de anticuerpos anti-HIV.

Del grupo de prostitutas no controladas por la DGSS, se ha efectuado la prueba a 100, que corresponde al primer muestreo, siendo todas negativas para la presencia de anticuerpos anti-HIV.

PERSPECTIVAS:

Hasta que los esquemas de muestreo estén completos y se tengan los datos de las pruebas de ELISA completos, no se podrá efectuar un

análisis profundo del estudio; sin embargo, en base a los datos obtenidos del grupo de prostitutas de Coatepeque, puede inferirse que el estudio seroepidemiológico en base a un seguimiento ha sido efectivo, ya que se demuestra que han aparecido casos de portadoras del virus a través del tiempo. Esto viene a poner mayor interés en los resultados esperados para los grupos de la capital, ya que se espera que exista mayor positividad, es decir, aparecimiento de nuevos casos. Todo lo cual podría indicar la importancia de efectuar este tipo de estudio en mayor escala, es decir, involucrando la mayoría de prostitutas que existen en el país, efectuándoseles periódicamente la prueba para la detección de anticuerpos anti-HIV, para poder lograr un mayor control y evitar la diseminación de la enfermedad en nuestro país. Sin embargo, aún queda pendiente la confirmación definitiva de los casos reportados y los futuros casos que se detecten, por medio del método de Western blot; lo cual se hará al finalizar todos los esquemas de muestreo y el corrimiento de todos los sueros.

REFERENCIAS:

1. Ahlu K. AIDS epidemiology, and Africa. *Lancet* 1987; 458-459.
2. Coffin J et al. Human immunodeficiency viruses. *Science* 1986; 232 (4751): 697.
3. Cooper DA et al. Acute AIDS retrovirus infection: definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet* 1985; 1(8428): 537-540.
4. Curran JW. The epidemiology and prevention of the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med* 1985; 103: 657-662.
5. Francis DP, Chin J. The prevention of acquired immunodeficiency syndrome in the United States. *JAMA* 1987; 257(10): 1357-1362.
6. Gallo D et al. Comparison of detection of antibody to the acquired immunodeficiency syndrome virus by enzyme immunoassay, immunofluorescence and western blot methods. *J Clin Microbiol* 1986; 23: 1049-1051.
7. Harris C et al. Immunodeficiency in female sexual partners of men with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J. Med* 1983; 308: 1181-1184.
8. Melbye M et al. Evidence for heterosexual transmission and clinical manifestations of human immunodeficiency virus infections and related conditions in Lusaka, Zambia. *Lancet* 1986; 2:1113-1115.
9. Piot P et al. Acquired immunodeficiency syndrome in a heterosexual populations in Zaire. *Lancet* 1984; 2(8394): 65-69.
10. Saah AJ. Serologic test for human immunodeficiency virus. *N Engl J. Med* 1986; 314:1460-1465.
11. Van De Perre P et al. Female prostitutes a risk group for infection with human T-cell lymphotropic virus type III. *Lancet* 1985; 524-526.
12. Zulaica D et al. Transmisión heterosexual del retrovirus HTLV-III. *Med. Clin* 1987; 88:721-723.

ELUCIDACION DEL PRINCIPIO ACTIVO ANTIESPASMÓDICO EN EL EXTRACTO n-HEXANO DEL PERICÓN (*Tagetes lucida* Cav)

■ Sergio Domingo Ortiz

OBJETIVOS:

1. Aislar, purificar y caracterizar los compuestos químicos responsables de acción antiespasmódica en el "pericón" (*T. lucida* Cav.) en los distintos extractos que han dado positivo su efecto.
2. Elucidar la estructura química del principio activo en el extracto n-hexano del "pericón" (*T. lucida* Cav.)

ANTECEDENTES

En Guatemala se ha estudiado con bastante interés el "pericón" (*T. lucida* Cav.) habiéndose realizado, entre otros, cinco estudios:

1. La confirmación de la acción antiespasmódica en la infusión fue efectuada por Marroquín en 1981 (1) y en los extractos n-hexano, benceno, dietil éter, cloroformo y etanólico, en etapa de realización, por Salguero en 1987 (2).

2. El análisis fitoquímico preliminar y elucidación de la primera estructura fue realizada por Ortiz en 1977 (3) y el análisis espectrométrico por Guzmán en 1987 (4) conociéndose aproximadamente 12 componentes fitoquímicos pero no su relación con el efecto antiespasmódico. En el primer semestre de 1987, como parte de una investigación personal, Ortiz inició el análisis del extracto n-hexano, obteniendo resultados preliminares muy alentadores y aproximándose bastante a la elucidación de la estructura del principio activo.

El Proyecto General pretende aislar y elucidar la(s) estructura(s) química del(os) compuesto(s) responsable(s) de la acción antiespasmódica en el "pericón" (*T. lucida*), analizando los extractos que hasta el

momento (1, 2) han dado pruebas farmacológicas positivas como anti-espasmódico. El presente estudio, como parte del proyecto general, se centrará únicamente en el análisis del extracto n-hexano para lo cual se separarán los componentes fitoquímicos mediante cromatografía, (columna, capa fina, gases, HPLC) y otros métodos que se crean convenientes y efectivos para tal propósito. Cada una de las fracciones obtenidas serán seleccionadas por su acción antiespasmódica hasta lograr la separación del(os) compuesto(s) en forma pura. Por métodos de espectrométricos (NMR H_1 y C_{13} , IR, UV) y de pruebas químicas usuales en el análisis orgánico se determinará la estructura química del(os) mismo(s).

JUSTIFICACION

El conocimiento de la estructura del principio activo del "pericón" (*T. lucida*) permitirá analizar por vez primera la relación que existe entre el uso y efectividad de la medicina popular guatemalteca y la comercial importada, pudiendo iniciarse así la total validación científica de nuestras tradiciones.

HALLAZGOS PRELIMINARES:

1. 1648 g de pericón (*T. lucida*), se extrajeron con n-hexano y se obtuvo 36 g de extracto crudo.

2. Una porción del extracto crudo de n-hexano se envió al Depto. de Farmacología para efectuar la prueba farmacológica correspondiente sobre la actividad antiespasmódica. El resultado fue positivo.

3. Se efectuó un estudio cromatográfico en capa fina utilizando sílica gel como adsorbente y una serie de disolventes con incremento de polaridad hasta encontrar el mejor sistema.

4. 2 g de extracto n-hexano crudo, se sometieron a una separación cromatográfica en columna usando sílica gel como fase fija y cloroformo, eter, etanol como fase móvil. Se obtuvieron 400 fracciones de las cuales se unieron las que por cromatografía en capa fina dieran manchas iguales. Las fracciones se enviaron al Depto. de Farmacología para el estudio antiespasmódico correspondiente.

5. Durante la cromatografía en columna se obtuvo una serie de sólidos que luego de 8 recrystalizaciones con metanol al 80% dieron un sólido puro. El análisis cromatográfico demostró que este sólido formaba parte de la fracción en que se encontró acción antiespasmódica positiva.

6. El sólido puro se envió al departamento de Farmacología donde se comprobó su acción antiespasmódica.

7. En la Escuela de Química de la Universidad Rodrigo Facio de Costa Rica, se corrieron espectros de NMR Protónica, de Carbono 13 y U.V. vis al sólido aislado.

8. Del punto de fusión, análisis NMR protónico, NMR de Carbono 13, U.V. vis y análisis cromatográfico por capa fina de patrones proporcionados en el Instituto de Química de la UNAM, México, se pudo comprobar que el sólido es una metoxicumarina llamada herniarina.

9. Referencias bibliográficas indican que la herniarina tiene efecto antiespasmódico conocido, entre otros.

PERSPECTIVAS:

A través del estudio se espera:

1. Validar científicamente el uso popular de nuestra medicina tradicional, mediante la demostración de la estructura química del principio activo del "pericón".

2. Proporcionar a los investigadores, los compuestos químicos responsables de la acción farmacológica antiespasmódica para estudios posteriores sobre dosificación, mecanismo de acción y efectos secundarios que tanto el compuesto químico aislado como el producto natural poseen.

3. Demostrar a los escépticos, mediante compuestos químicos aislados y su comprobación farmacológica, el valor y riqueza que posee nuestra medicina popular tradicional.

CONCLUSIONES

Se ha logrado aislar e identificar el principio activo antiespasmódico del pericón (*T. lucida*) mediante una separación cromatográfica, estudio farmacológico de extractos obtenidos y del análisis espectrométrico. Por comparación con sustancias patrón se ha llegado a corroborar la estructura inicial propuesta. La 7-metoxicumarina es responsable del efecto antiespasmódico aunque no puede asegurarse que sea el único compuesto dentro de la planta.

Es la primera vez, reportada en Guatemala, que se encuentra un principio activo de una planta.

REFERENCIAS

1. Marroquín, E. 1981. Contribución al estudio farmacológico del *Tagetes lucida* (pericón), como antiespasmódico. (Tesis). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala. 39 p.
2. Salguero I. 1987. Contribución al estudio farmacológico del *Tagetes lucida* (tesis en realización) Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala.
3. Ortiz SD. 1977. Aislamiento y elucidación de la estructura de los alcaloides del pericón (*Tagetes lucida*). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala. 30 p.
4. Guzmán N del C. 1987. Determinación de estructuras de los componentes mayoritarios del extracto de hojas y flores de *Tagetes lucida* Cav. (Pericón) soluble en éter de petróleo mediante el uso de cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas. (Tesis). Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad San Carlos de Guatemala. 179 p.