

Treball de Recerca

QUAN LA RUTINA NO ÉS AVORRIDA

Aproximació a la química de la ruda

Berta Piqué Smith

Dirigit per: Elena Rodríguez

Curs: 2n de Batxillerat A

Col·legi: Lestonnac l'Ensenyança

Tarragona, 10 de desembre de 2014



Quan la rutina no és avorrida

"Qui té ruda,

Déu l'ajuda."



Agraïments

Abans d'iniciar aquest treball de recerca cal agrair la col·laboració de diferents persones que d'una manera o altra m'han ajudat en el seu desenvolupament. Per començar, cal donar les gràcies als farmacèutics Xavier Gavalrà i Jordi Domingo, així com a l'herbolària Lia Borràs per la informació que m'han facilitat. A Bruno Arnavat pel seu ajut durant la destil·lació de la planta. També a Maria del Mar Cardona i a Rosa Gasol per la seva contribució en la fase experimental del treball. A la meua àvia, Maria Vilalta, per indicar-me la localització de la ruda a les Muntanyes de Prades. I, especialment, el meu agraïment a Elena Rodríguez, la tutora d'aquest treball, per la seva direcció.



Índex del treball de recerca

1. Introducció i objectius.....	2
2. Què són les plantes medicinals?.....	4
2.1. Les plantes remeieres autòctones del Camp de Tarragona.....	4
3. Què són els principis actius de les plantes medicinals?.....	6
3.1. Mètodes d'extracció dels principis actius.....	8
4. La ruda.....	9
4.1. Descripció botànica.....	9
4.2. Procedència i hàbitat.....	10
4.3. Composició.....	11
4.4. Farmacologia.....	13
5. El rutòsid.....	14
5.1. Els glucòsids.....	14
5.2. Els flavonoides.....	15
5.3. Indicacions de la rutina.....	16
6. Medicaments que contenen rutina.....	18
7. Obtenció dels principis actius de la ruda.....	23
7.1. La destil·lació per arrossegament de vapor.....	23
7.2. La maceració amb metanol.....	25
7.3. La maceració amb etanol.....	26
7.4. La infusió.....	26
8. Anàlisi qualitativa del rutòsid al laboratori.....	28
8.1. Experiment 1.....	28
8.2. Experiment 2.....	30
8.3. Experiment 3.....	31
9. Capacitat antifúngica de la ruda en llimones.....	34
9.1. Experiment 1.....	34
10. Capacitat antifúngica de la ruda en plaques de Petri.....	36
10.1. Experiment 1.....	36
10.2. Experiment 2.....	38
11. Capacitat antibacteriana de la ruda en plaques de Petri.....	40
11.1. Experiment 1.....	40



11.2. Experiment 2.....	41
11.3. Experiment 3.....	44
12. Conclusions.....	47
13. Bibliografia.....	50
14. Annexos.....	54
14.1. Annexos del punt 4.....	54
14.1.1. Imatge de la <i>Ruta montana</i>	54
14.1.2. Imatges de la <i>Ruta chalepensis</i>	54
14.1.3. Imatges de les fulles de la <i>Ruta chalepensis</i>	56
14.1.4. Imatge del fruit de la <i>Ruta chalepensis</i>	57
14.1.5. Imatge de l'hàbitat de la <i>Ruta chalepensis</i>	57
14.2. Annexos del punt 6.....	58
14.3. Annexos del punt 7.....	62
14.3.1. Imatges de la destil·lació per arrossegament de vapor.....	62
14.3.2. La maceració amb metanol.....	63
14.3.3. La maceració amb etanol.....	64
14.3.4. La infusió.....	64
14.4. Annexos del punt 8.....	65
14.4.1. Experiment 3.....	65
14.5. Annexos del punt 9.....	65
14.5.1. Experiment 1.....	65
14.6. Annexos del punt 10.....	67
14.6.1. Experiment 1.....	67
14.6.2. Experiment 2.....	68
14.7. Annexos del punt 11.....	71
14.7.1. Experiment 1.....	71
14.7.2. Experiment 2.....	71
14.7.3. Experiment 3.....	73
14.8. Entrevistes.....	76
14.8.1. Entrevista a Lia Borràs.....	76
14.8.2. Entrevista a Xavier Gavalrà.....	77



1. Introducció

Des de l'antiguitat, les plantes medicinals s'han utilitzat per curar malalties. Actualment, però, es pot arribar a pensar que les plantes no tenen un paper tant rellevant en la medicina perquè la síntesi de medicaments és primordialment artificial. Aquesta visió és equivocada, doncs els principis actius dels medicaments deriven de les plantes o estan sintetitzats a la seva imatge pels laboratoris farmacològics.

A l'hora de fer la tria del tema del treball de recerca, vaig decidir centrar-me en les plantes medicinals perquè englobava a la vegada els coneixements de dues assignatures que m'interessaven molt, la química i la biologia i, a més a més, em permetia fer una recerca sobre el terreny i estar en contacte amb la natura. Les plantes medicinals, però, són un grup molt ampli i heterogeni, per la qual cosa va ser aleshores quan vaig decidir que calia centrar-me en una única planta sobre la que treballaria més concretament, al mateix temps, també calia seleccionar algun principi actiu que seria objecte del meu estudi.

Finalment, em vaig decidir per la ruda. Una planta autòctona i no gaire coneguda en el nostre entorn. Tanmateix hi ha una àmplia llegenda al seu voltant: era una herba emprada per les bruixes i per la seva propietat abortiva va estar prohibida durant la dictadura del règim franquista. Actualment, encara, està prohibit vendre'n l'oli essencial i les fulles.

D'altra banda, el principi actiu seleccionat és el rutòsid, descobert per primer cop en aquesta planta, per això porta el seu nom, i que és un dels flavonoides amb més activitat farmacològica.

Després d'informar-me sobre la planta, vaig descobrir que a les nostres contrades en creixien silvestres dos espècies diferents. Una, l'anomenada *Ruta Chalepensis*, es trobava a nivell de mar. Les indicacions facilitades per una herbolària en el transcurs d'una entrevista que vaig realitzar em van permetre localitzar-la als voltants del Pont del Diable de Tarragona.

L'altra, la *Ruta Montana*, creixia a les muntanyes del terme municipal de Vilanova de Prades, en uns terrenys força amagats. Vaig saber de la seva existència i localització per la informació facilitada per la meua àvia, a qui la seva mare, la meua besàvia, l'hi havia ensenyat feia molts anys. Tradicionalment, la ruda s'utilitzava per curar les ferides dels animals.



La hipòtesi del meu treball es basava en que la ruda era una planta que tenia activitat antifúngica i antibacteriana i que el rutòsid era un principi actiu que tenia moltes indicacions i beneficis.

El meu treball està estructurat en dues parts. En primer lloc, la part teòrica, que, d'una banda, conté una breu introducció general de les plantes medicinals i dels seus principis actius i, per l'altra, una descripció més acurada de la ruda i de la química dels seus principis actius, centrant-me principalment en el rutòsid. Aquesta part és una recerca eminentment bibliogràfica, tot i que també s'han tingut en compte les informacions recollides en entrevistes realitzades a un farmacèutic i a una herbolària.

En segon terme, en l'apartat experimental, per tal de proveir-me de la planta que necessitava vaig anar en diferents ocasions tant al Pont del Diable com a Vilanova de Prades. Un cop vaig disposar de la matèria vegetal suficient va caldre realitzar l'extracció dels seus principis actius amb diferents mètodes com per exemple la destil·lació per arrossegament de vapor o la infusió, amb l'objectiu d'efectuar posteriorment l'anàlisi qualitatiu de rutòsid al laboratori i realitzar diferents experiments per tal de determinar la capacitat antifúngica i antibiòtica de la planta.

Els principals objectius d'aquest treball són:

- Identificar les característiques botàniques de la ruda, l'hàbitat on creix i les seves qualitats remeieres .
- Distingir i elaborar les diferents preparacions medicinals que es poden fer amb la ruda per tal d'extreure'n els seus principis actius.
- Entendre d'una manera general la química dels principis actius de la ruda.
- Aprendre les qualitats medicinals i les característiques químiques del rutòsid.
- Realitzar una recerca sobre els medicaments que porten rutòsid i relacionar-la amb els seus beneficis.
- Establir quina reacció de coloració és la més adequada per conèixer l'existència de rutòsid en els diferents extractes de ruda.
- Determinar si la ruda és una planta antibiòtica i antifúngica.



2. Què és una planta medicinal?

Una planta medicinal és qualsevol vegetal que produeix unes substàncies especials en les seves arrels, fulles, flors o llavors que l'hi permeten disposar de més capacitat per a sobreviure. Aquestes substàncies, contingudes en els seus òrgans, tenen diferents activitats farmacològiques que la humanitat ha utilitzat des dels seus principis per crear medicines naturals i s'anomenen **principis actius**. Actualment, aquestes substàncies sintetitzades de forma natural per les plantes, poden ser utilitzades amb finalitats terapèutiques o es poden fer servir com a prototip per obtenir nous fàrmacs mitjançant la síntesi o l'hemisíntesi¹ farmacèutica.

Actualment es coneixen 400.000 espècies de plantes i només un 10% es poden considerar medicinals. La proporció de plantes medicinals pot variar, ja que encara es desconeixen una gran quantitat d'espècies vegetals.

2.1. Les plantes remeieres autòctones del Camp de Tarragona

El clima és un dels factors abiòtics més importants que afecten la biocenosi dels ecosistemes. És per això que en aquest apartat es fa una breu descripció del clima i les seves varietats al Camp de Tarragona ja que aquest influirà directament en les espècies que es desenvolupen en el nostre entorn.

El clima de les comarques tarragonines es caracteritza per ser un clima mediterrani litoral, característic de la ciutat de Tarragona i dels seus voltants o bé un clima mediterrani pre-litoral, propi de les zones amb una altitud elevada, superior als 500m, com el que es registra a la serralada pre-litoral. Breument, el clima mediterrani litoral és benigne, amb hiverns suaus i humits i estius càlids i secs. Per la seva banda, el clima mediterrani pre-litoral presenta hiverns més freds i durs, que sovint aporten glaçades i nevades i uns estius suaus i frescs.

Les temperatures mediterrànies són temperades on els hiverns no superen els 6°C a la zona litoral ni els -5 °C a la pre-litoral. Per altra banda, els estius no solen sobrepassar els 35°C a la zona litoral ni els 25°C a la pre-litoral. La mitjana anual de les temperatures és de 17°C

¹ Procés mitjançant el qual els productes finals s'obtenen a partir de substàncies o compostos precursors de fonts naturals o biològiques.



aproximadament a la costa, com el Tarragonès, i d'uns 12°C a les comarques pre-litorals, com la Conca de Barberà.

Les precipitacions del clima mediterrani són poc previsibles ja que es caracteritzen per la seva irregularitat, encara que es concentren majoritàriament a la tardor i a la primavera són gairebé inexistents a l'estiu. Hi ha períodes de temps amb llargues sequeres i d'altres amb abundants i intenses precipitacions.

Les espècies de flora que viuen al nostre entorn tenen un tret identificatiu, són plantes que han originat una sèrie d'adaptacions² que els han permès evitar al màxim la pèrdua d'aigua, ja que com s'ha vist anteriorment la pluja és escassa durant gran part de l'any. Una adaptació important és la reducció de la mida de les fulles per disminuir la transpiració, procés en el qual una gran part d'aigua absorbida a les arrels passa a les parts aèries de la planta i s'evapora. Aquestes plantes realitzen el seu metabolisme amb un cost mínim d'energia, és a dir, estalviant al màxim la quantitat de matèria orgànica sintetitzada a partir de la fotosíntesi que necessiten per a efectuar les funcions vitals.

Les principals plantes autòctones i medicinals de les nostres comarques són el romaní, la sajolida, la farigola, l'espígol, l'espernallac, el fonoll, la marialluïsa, la tarongina, l'orenga, la ginebra, la noguera, el llorer, l'herba de Sant Joan, l'alzina, l'ametller, l'esbarzer, l'arç blanc, el til·ler, la cirereta de pastor, l'heura, la malva, el saüc, el plantatge, la rosella, el dent de lleó, l'ortiga, l'espígol i el roser.

Pel que fa a la fitoteràpia, la majoria d'espècies nombrades anteriorment s'ingereixen mitjançant la infusió, excepte en els casos de l'alzina, el cirerer de pastor, la noguera, l'esbarzer, l'heura, la malva i el plantatge en els quals s'efectua la decocció de l'escorça triturada, de fulles, de flors o fins i tot de la càpsula verda que envolta en fruit, com és el cas de la noguera. D'aquestes espècies, els olis essencials que s'utilitzen més freqüentment i sempre de forma externa ja que majoritàriament són tòxics, són els de la farigola, del romaní, de l'espígol, de l'ametller i del roser.

² Característiques anatòmiques, fisiològiques o etològiques que desenvolupen els éssers vius i que els permeten tenir més eficàcia biològica, és dir, més capacitat de sobreviure i deixar descendència, en un determinat biòtop.



3. Què són els principis actius de les plantes medicinals?

Les plantes medicinals són un grup ampli i heterogeni de plantes que es diferencien de les plantes alimentàries perquè a part de contenir principis immediats contenen principis actius.

Un principi actiu és aquella substància d'origen humà, animal, vegetal o químic, de la qual se n'esperen unes determinades característiques que exerceixen unes accions farmacològiques beneficioses sobre l'ésser humà. La funció dels principis actius és la d'alterar el funcionament del cos. Per tant, quan aquest no funciona correctament ajudaran a la seva cura o evitaran un empitjorament. Els principis actius, però, també poden tenir una acció perjudicial, com és el cas dels biocides³.

En el cas de les plantes, els principis actius són els compostos orgànics que es troben en diferents parts o òrgans i que les doten d'efectes curatius o remeiers, perquè tenen la capacitat d'alterar o modificar el funcionament dels òrgans i sistemes del cos humà i vegetal. Els principis actius, com s'ha esmentat anteriorment, són útils en el camp de la medicina, però, a més a més, tenen un paper important en els camps de la cosmètica i de l'alimentació.

Els principis actius poden ser substàncies simples (alcaloides) o compostos complexos (olis essencials).

Segons l'estructura química, els principis actius poden ser:

- ❖ Metabòlits primaris: substàncies químiques que es troben pràcticament a totes les formes de vida i que intervenen directament a la supervivència, al creixement i a la reproducció de la planta. Aquests principis actius són les proteïnes, els carbohidrats i fibres, els glúcids, els àcids orgànics, els lípids, les vitamines, els minerals i els derivats d'aminoàcids.
- ❖ Metabòlits secundaris: substàncies químiques que tan sols es troben en certes espècies, gèneres o famílies de plantes i que no són essencials per al metabolisme de la planta i per tant, no estan directament relacionats amb la seva supervivència, encara que els permeten adaptar-se millor a l'ecosistema en el que viuen. Aquests principis actius són sintetitzats per tal de possibilitar l'adaptació de la planta i realitzar funcions de defensa

³ Substància química que serveix per a matar, repel·lir, atraure, regular o interrompre el creixement d'organismes vius.



contra bacteris, fongs, animals i d'altres plantes; és a dir, actuen com uns antibiòtics naturals i són els principis actius més importants des del punt de vista de la salut. Aquests principis actius són els glucòsids o heteròsids⁴, els polifenols, els terpenoides, els olis essencials, les saponines, els alcaloides, etc...

Hi ha diversos factors que afecten la dinàmica d'acumulació de principis actius en les plantes medicinals i per tant, en les propietats de les plantes medicinals. Aquests factors són:

- Tipus i lloc de conreu.
- Temps de recol·lecció (estació, dia/nit, hora).
- Forma d'asseccament.
- Forma de conservació.
- Característiques de les llavors que donaran lloc al sorgiment d'un nou exemplar.
- Variacions d'òrgan a òrgan.
- Edat.
- Canvis intrínsecs que es manifesten durant diferents etapes del procés vegetatiu de les espècies.
- Canvis determinats pels ritmes biològics del cicle diari i estacionari de les plantes.
- Radiacions ionitzants.
- Procés fitosanitari.
- Condicions ecològiques i geogràfiques. Factors climàtics i geogràfics.

Factors climatològics

- La llum afavoreix el creixement dels teixits joves, etapa de creixement en la que es produeix l'acumulació de principis actius.

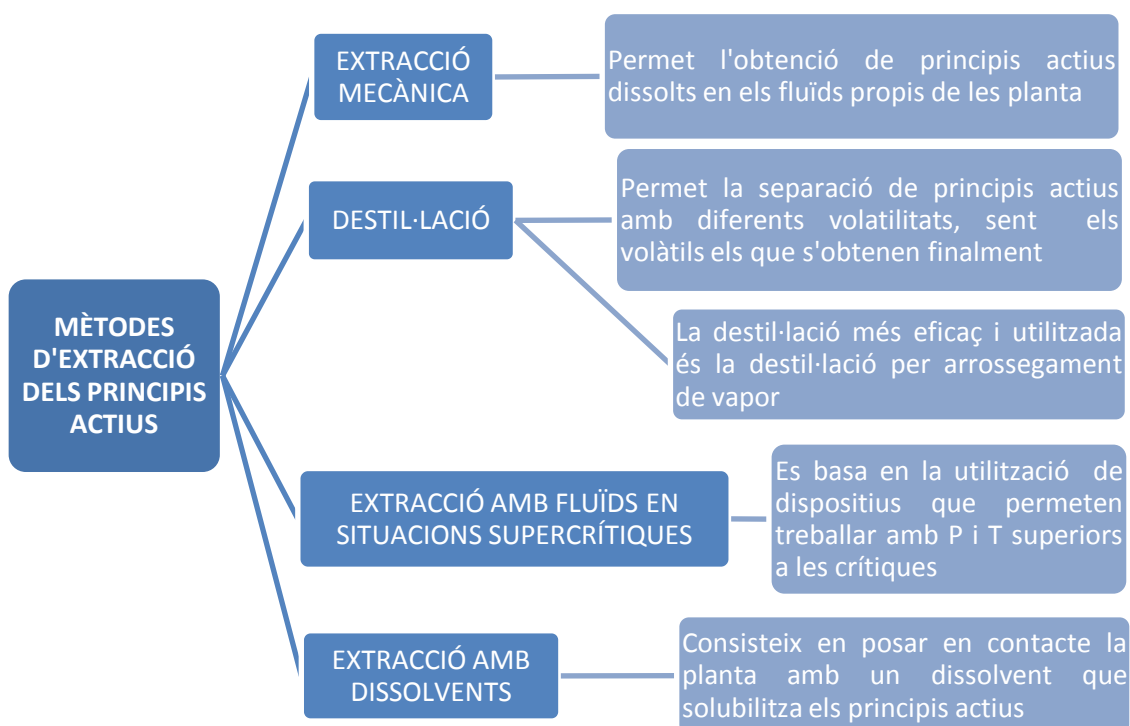
⁴ Molècula formada per un glúcid i un altre compost.



- La temperatura influeix al creixement accelerat de la planta i a l'equilibri entre el procés de fotosíntesi i respiratori i, per consegüent, en la producció de principis actius.
- Les precipitacions poden modificar els efectes d'altres factors climatològics, com per exemple la temperatura, i actuar com a regulador d'aquesta.
- La velocitat del vent és determinant en molts casos, doncs es coneix que la seva acció incrementa l'evaporació d'olis essencials i que, tot i així, en el cas dels alcaloides tropànics, l'augment de la transpiració de les plantes fa que el contingut de líquid que ascendeix des de les arrels sigui major. Per aquesta via, s'incrementa el contingut d'alcaloides a les fulles de les espècies productores.

3.1. Mètodes d'extracció dels principis actius

Per tal d'utilitzar l'activitat farmacològica de les plantes, és necessari extreure'n els seus principis actius. Existeixen diversos mètodes i en la part experimental del treball es descriurà el procés de destil·lació de la ruda per arrossegament de vapor i l'elaboració d'una maceració i d'una infusió. La maceració i la infusió són extraccions amb dissolvents, que són realment, un dels mètodes més utilitzats actualment en la fitoquímica i la farmacèutica, per a extreure principis actius.





4. La ruda

Les rudes són plantes medicinals amb moltes aplicacions en el món de la farmacologia i que han sigut múltiples cops anomenades en el món literari com a herba de la memòria, l'empara i la curació.

Hi ha fins a una quarantena d'espècies conegudes de ruda, però les que creixen silvestres al nostre entorn són la *Ruta montana*⁵ comunament coneguda com a ruda de muntanya i la *Ruta chalepensis* a la qual li corresponen els noms tradicionals de ruda vera, herba de bruixa, ruda, ruda borda, ruda grossa i ruda mascle. Aquestes dues espècies de ruda seran el meu objecte d'estudi.

Considerant els postulats de l'*Internacional Code of Botanical Nomenclature* la ruda pertany al regne *Plantae*, a la divisió *Magnoliophyta*, a la classe *Magnoliopsida*, a l'orde de les *Sapindales*, a la família de les *Rutaceae* i al gènere *Ruta*.

4.1. Descripció botànica

La *Ruta chalepensis*⁶ és un arbust perenne, d'olor forta i desagradable i llenyós a la part inferior. Es caracteritza per tenir una tija de 20 a 65 cm, cilíndrica, erecta i parcialment ramificada des de la base que acaba amb flors de color groc que presenten de 4 a 5 pètals llargament ciliats⁷. Les seves fulles són cintiformes⁸, trifoliades, peciolades, és a dir proveïdes de pecíol, i carneses, d'un color verd blau. Podem afirmar que són compostes perquè estan formades per un nombre parell de folíols i un de solitari a la punta⁹. El fruit¹⁰ d'aquesta planta és una càpsula globulosa formada per quatre lòbuls i unida a la tija per mitjà d'un pecíol¹¹ curt.

⁵ Veure fotografia annex 14.1.1

⁶ Veure fotografia annex 14.1.2

⁷ Pèl o òrgan semblant a un pèl que, en agrupació, forma una franja marginal com les pestanyes a les vores de les parpelles.

⁸ Que té forma de cinta.

⁹ Veure fotografia annex 14.1.3

¹⁰ Veure fotografia annex 14.1.4

¹¹ Cua de la fulla, que uneix el limbe, que es caracteritza per ser la part terminal d'un calze o d'una corol·la, a la base foliar o a la tija.



Es diferencia de la *Ruta montana* per tenir unes fulles més amples i uns pètals més grans, de 6 a 8 mm i de la *Ruta graveolens* en la forma dels pètals, ja que aquesta presenta uns pètals denticulats, i en la forma de creixement, doncs aquesta no creix silvestre sinó que ha de ser cultivada i és la varietat que actualment és fa servir en farmacologia per a sintetitzar medicaments.

La *Ruta montana* és una planta herbàcia aromàtica, perenne i llenyosa per la part de baix. La seva tija cilíndrica i recta té una llargada de 25 a 70 cm i es ramifica en fulles dividides en segments molt estrets que no arriben a 1 mm d'amplada. Les fulles són fines i allargades i tenen un contorn entre ovalat i lanceolat; estan sostingudes per un pecíol llarg i es troben disposades en parelles, dues en cada nus. Les flors són de color groc i primaverals, de menys d'1 cm agrupades als extrems de les branques amb quatre pètals de punta lleugerament ovalada. Les càpsules globuloses mesuren de 1,5 a 3 mm, i tenen un pecíol curt i quatre o cinc lòbuls molt marcats.

La floració de la *Ruta chalepensis* i la *Ruta montana* es produeix entre l'abril i l'agost i la fructificació al setembre.

4.2. Procedència i hàbitat

La ruda és una planta originària de les regions mediterrànies d'Europa meridional i del Nord d'Àfrica i que actualment s'ha estès per les zones temperades i càlides de l'hemisferi Nord i per les regions tropicals de centre i sud Amèrica.

Aquesta planta està àmpliament distribuïda en hàbitats amb climes temperats o temperats freds. La ruda és poc exigent pel que fa al sòl i prospera bé en terrenys secs, àrids, pedregosos i exposats al sol.

La *Ruta chalepensis* creix a nivell de mar i per aquesta raó la planta té molta humitat en el seu interior, per la qual cosa resulta més aromàtica. A les nostres contrades es troba a la zona del Pont del Diable¹².

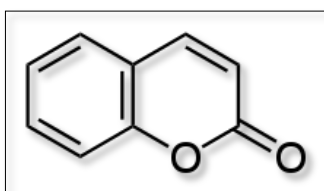
La *Ruta montana*, en canvi, creix en altituds més altes, bàsicament a partir dels 500m i fins als 1200m. La podem trobar als entorns de Vilanova de Prades, on creix en terrenys secs i propera als marges pedregosos dels camins.

¹² Veure annex 14.1.5.



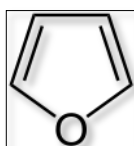
4.3. Composició

La ruda conté substàncies d'un grup de polifenols¹³ anomenat furocumarines (veure imatge 1), que són compostos químics derivats de la cumarina, de fórmula química $C_9H_6O_2$ (veure imatge 2), a la qual s'hi ha unit una molècula de furà, que té la fórmula C_4H_4O (veure imatge 3), i també hi ha una gran part dels seus heteròsids anomenats heteròsids cumarínics, que es caracteritzen perquè estimulen l'acció de l'aparell digestiu, l'activitat de l'estómac i tenen propietats anticoagulants.

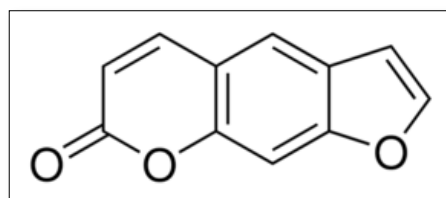


Imatge 2. Cumarina

+

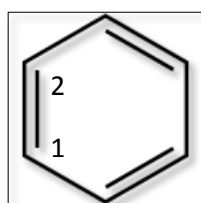


Imatge 3. Furà



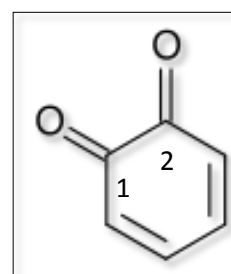
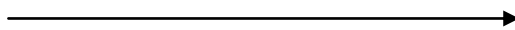
Imatge 1. Furocumarina anomenada psoralen

Dins de l'extens grup dels polifenols, també trobem tanins, que per la seva complexitat i diversitat no es poden classificar dins d'una estructura química única, els flavonoides i els seus glicòsids, que s'anomenen glicòsids flavonoides, on cal destacar la rutina (els quals ampliaré *a posteriori*) i les quinones (veure imatge 4), que són compostos orgànics derivats de cicles aromàtics com el benzè (veure imatge 5) en els quals s'ha canviat un parell de grups $-CH=$ per qualsevol reorganització química que manifesti dobles enllaços.



Imatge 5. Benzè

Canvi de dos grups $-CH=$
(1,2) per dues cetones $C=O$



Imatge 4. 1,2-benzoquinona

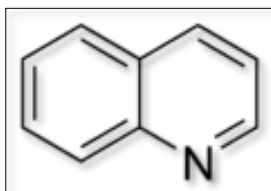
Els terpens són uns principis actius que es poden englobar en el gran grup dels principis actius terpenoides. A la ruda, trobem terpens, que són hidrocarburs que tenen com a fórmula general $(C_5H_8)_n$, ja que resulten de la combinació d'unitats d'isoprè, molècula de fórmula química $CH_2=C(CH_3)CH=CH_2$ que s'anomena 2-metil-1,3-butadiè. Quan els terpens són

¹³ Substàncies químiques provinents de plantes que es caracteritzen per contenir com a mínim un grup fenol per molècula.



modificats químicament per oxidació o per reestructuració del seu esquelet s'anomenen terpenoides.

La ruda conté, d'un 0,4% a 1,4% de la seva composició, diversos alcaloides dels quals cal destacar els que deriven de la quinolina de fórmula química C_9H_7N (veure imatge 6), que també s'anomenen alcaloides quinolínic. Els alcaloides són un grup de principis actius molt ampli que a trets generals es caracteritzen per tenir un sistema heterocíclic que conté nitrogen.



Imatge 6. Estructura química de la quinolina

L'oli essencial constitueix entre un 0,2% i un 0,7% de la ruda, un percentatge elevat respecte d'altres plantes. Està format en un 90% per dues cetones, la metilnonilcetona (2-undecanona) la fórmula química de la qual és $(CH_3COC_9O_{19})$ i la metilheptilcetona (2-nonanona) de fórmula química $(CH_3COC_7H_{15})$. Aquestes dues cetones poden afectar el sistema nerviós i l'aparell digestiu en cas d'ingestió i per això, en altes dosis, l'oli essencial de la ruda és tòxic.

Els olis essencials són compostos químics, líquids, no grassos, volàtils i intensament aromàtics, biosintetitzats per les plantes i que estan formats per un grup heterogeni de substàncies orgàniques, que es produeixen i s'emmagatzemen als canals secretors de les plantes, normalment als seus alvèols.

Els compostos dels olis essencials poden ser no terpenoides o terpenoides, sent aquests últims els més importants pel que fa a les propietats i a la comercialització. Els terpenoides, nombrats anteriorment, estan formats per unitats químiques d'isoprè que constitueixen estructures de 10 i 15 carbonis que solen presentar grups funcionals com els alcohols, les cetones i els aldehids.

Normalment, els olis essencials s'extreuen del vegetal mitjançant l'extracció per arrossegament de vapor. A temperatura normal es caracteritzen per ser incoloros o groguencs, insolubles en aigua però solubles en dissolvents orgànics apolars o en alcohol d'alta graduació. Són unes substàncies lleugeres, és a dir, de poca densitat, la qual sol ser inferior a la de l'aigua, però són molt concentrades i contenen l'energia o l'essència de la planta.



En la majoria de plantes, el contingut d'olis essencials no supera l'1% de la seva composició química, tot i així, compleix unes funcions indispensables per a la supervivència de la planta. Per una banda, els olis essencials actuen com un element de defensa contra paràsits, animals herbívors, insectes i malalties, ja que alguns d'ells contenen components tòxics (heteròsids i alcaloides, entre d'altres), per l'altra, la seva agradable aroma actua per atraure els insectes pol·linitzadors i d'aquesta manera s'assegura la reproducció de la planta.

Per destil·lació amb vapor d'aigua, es pot obtenir fins a 7 gr/kg d'oli essencial de ruda, aquest rendiment depèn de la qualitat de l'alambí i de la mateixa planta, ja que tal i com s'ha vist anteriorment, hi ha múltiples factors que influeixen en la concentració de principis actius de la matèria vegetal. L'oli essencial de la ruda és un líquid groguenc, comunament fluorescent.

4.4. Farmacologia

Les arrels i les parts aèries en dissolució aquosa tenen propietats anticonceptives. L'extracte en acetat d'etil de fulles de ruda presenta propietats antifúngiques amb fongs filamentosos com el *Botrytis sp.*, el *Colletotrichum sp.*, el *Fusarium* i el *Phomopsis*. Per altra banda, la ruda posseeix activitat antitumoral i quan s'aïllen els polifenols i els alcaloides de la planta, activitat antiinflamatòria. L'extracte de les fulles, a més de la capacitat antifúngica anomenada anteriorment, també té capacitat antihelmíntica¹⁴ i algicida¹⁵.

L'oli essencial té propietats antiespasmòdiques i antibiòtiques contra cultius de *Staphylococcus aureus*, entre d'altres bacteris. Aquesta característica també la posseeixen l'extracte aquós i etanòlic de la planta. Les cumarines de la ruda tenen propietats anticoagulants i són, per aquesta raó, emmenagogues, terme que significa que són inductores de la menstruació. Això ha fet que la ruda s'hagi utilitzat molt al llarg del temps per les seves propietats abortives, raó per la qual actualment n'està prohibida la venda d'oli essencial, de fulles seques i és molt difícil adquirir la planta. La ruda té una important capacitat vasodilatadora i abundants beneficis per al sistema cardiovascular. Cal anar amb compte, però, ja que en elevades quantitats la ruda és tòxica.

¹⁴ Bo contra els cucs intestinals.

¹⁵ Bo per destruir algues en medi aquàtics.



5. El rutòsid o rutina

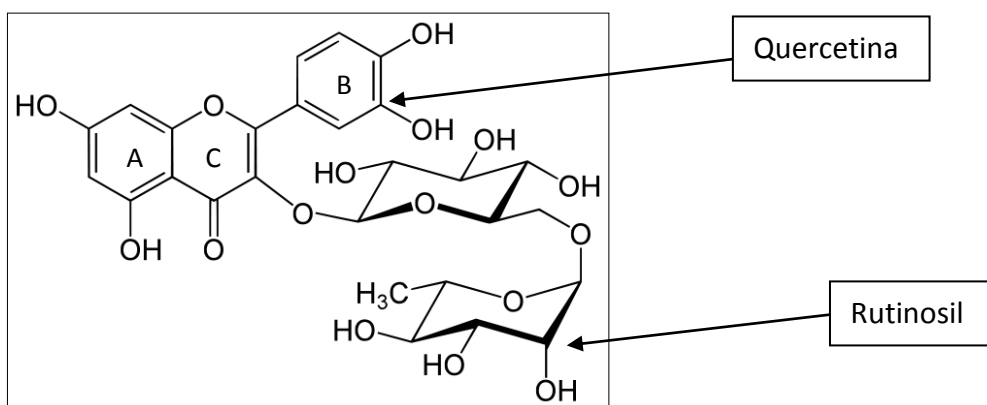
La rutina o rutòsid és un principi actiu de color groc cristal·lí de fórmula molecular $C_{27}H_{30}O_{16}$ que pertany al grup dels glicòsids flavonoides i en particular, dels flavonols, present en les plantes *Ruta*, *Eucalyptus macrorrhyncha* i tabac, entre d'altres. Cal destacar que el rutòsid és un dels flavonoides més importants per la seva capacitat vasoprotectora i vasodilatadora, encara que posteriorment s'ampliarien les seves indicacions.

5.1. Els glicòsids

Els glicòsids, també anomenats heteròsids, són principis actius derivats del metabolisme secundari de la planta formats per dues parts: un sucre i una substància que no és un sucre. La fracció glicídica s'anomena glicona i l'altre part aglicó o genina.

L'activitat farmacològica dels glicòsids es troba sobretot a l'aglicó, tot i que cal destacar que la glicona és necessària per a mantenir la funció total del glicòsid doncs permet la seva solubilitat i absorció i a més, afavoreix la circulació de l'organisme.

La rutina està formada per la quercetina, que és un flavonoide i principalment, el responsable de l'activitat farmacològica del principi actiu i la rutinosa, que és un glúcid, particularment, un disacàrid (veure imatge 7). La quercetina reacciona amb l'OH anomèric de la rutinosa i s'uneixen a través d'un àtom d'oxigen, és per això que la rutina és un O-glicòsid. Els dos anells benzènics (A,B) estan units a través d'un anell heterocíclic que és la pirona (C).



Imatge 7. Estructura del rutòsid

L'enllaç entre les dues parts del glicòsid, en aquest cas la rutina, és hidrolitzable, és a dir, es pot trencar a partir de l'agregació d'una molècula d'aigua, i és necessari per tal d'activar el



compost. Aquest trencament, en estat natural és catalitzat per un enzim que conté la planta anomenat ramnodiastasa, que descompon el rutòsid en quercetina i rutinosa i posteriorment, com que aquesta és un disacàrid es trenca en glucosa i ramnosa. A nivell de laboratori, la hidròlisi s'aconsegueix amb àcids diluïts.

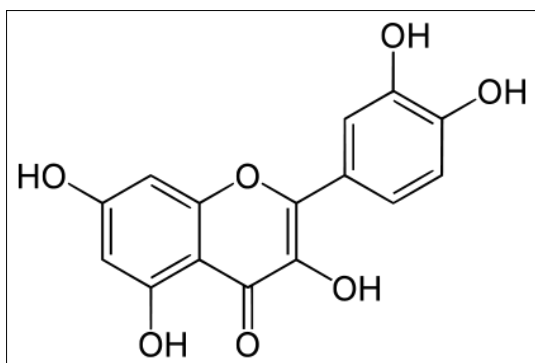
5.2. Els flavonoides

Els flavonoides són un grup molt extens de substàncies químiques que provenen de les plantes. Com s'ha esmentat abans, pertanyen a la família dels metabòlits secundaris i són el subgrup més gran dels fenols. Una de les seves característiques és que milloren l'absorció i eviten l'oxidació de la vitamina C ampliant així, la seva efectivitat sanitària. Els flavonoides van ser descoberts pel premi Nobel de bioquímica, el Dr. Albert Szent-Gyorgi, qui els va denominar com vitamina P, encara que no ho són estrictament.

Els flavonoides comprenen una extensa família de substàncies vegetals que són els pigments que doten a les plantes, a les fulles i als fruits de color i es troben bàsicament als òrgans aeris com les flors i les fulles.

Químicament, en l'ampli grup dels flavonoides s'engloben tots aquells compostos fenòlics, és a dir, formats per fenols, que contenen quinze àtoms de carboni estructurats en dos anells benzènics units per mitjà d'un anell heterocíclic, que pot ser una molècula de pirà, amb cinc àtoms de carboni, un d'hidrogen i dos dobles enllaços i amb fórmula química C_5H_6O o una molècula de pirona, que és un pirà amb el grup funcional cetona en la posició 4 i que té la fórmula química $C_5H_4O_2$. Generalment, els anells benzènics tenen 6 àtoms de carboni cadascun i el compost heterocíclic 3, és per això que els flavonoides es denominen simplement com a compostos $C_6C_3C_6$.

El flavonoide més comú és la quercetina, de fórmula química 5,7,3,4-tetrahidroxiflavonol, que es troba unit al disacàrid rutinosa i forma la rutina (veure imatge 8).



Imatge 8. Estructura de la quercetina



En general, però, els flavonoides es troben lligats a molècules de carbohidrats i formen una combinació del nucli bàsic del flavonoide i una o varies unitats de glúcids, és aleshores quan se'ls denomina glicòsids tot i que si els flavonoides no estan lligats a molècules de carbohidrats se'ls denomina aglicones flavonoides. Les aglicones aïllades són insolubles amb l'aigua, característica que canvia quan es troben unides a l'aglicó, és a dir, formant un heteròsid ja que esdevenen hidrosolubles.

5.3. Indicacions de la rutina

- ❖ **Aparell circulatori:** el rutòsid ajuda a prevenir malalties com l'arteriosclerosi, la hipertensió, les hemorràgies i l'angina de pit, ja que enforteix els capil·lars, disminueix la hipertensió, fluidifica la sang, és a dir, que la fa menys espessa, disminueix la permeabilitat vascular i millora així la seva circulació. Pot reduir els símptomes de la hemofilia i ajuda a prevenir els edemes. La rutina es pot utilitzar en el tractament d'hemorroides, varius i microangiopaties, nom que reben les malalties dels vasos sanguinis.
- ❖ **Agregació plaquetària:** el rutòsid inhibeix l'agregació plaquetària i per tant, dificulta la formació de coàguls i l'aparició de trombosi als vasos sanguinis. Aquest fet està directament relacionat amb la disminució de la probabilitat de patir una embòlia, un accident vascular cerebral o un infart de miocardi.
- ❖ **Colesterol:** ajuda a reduir el risc de malalties cardíques i la citotoxicitat del colesterol LDL oxidat.
- ❖ **Diabetis:** la quercetina és un flavonoide amb propietats antidiabètiques ja que evita el dany que es produeix al ronyó quan hi ha massa sucre a la sang. La rutina inhibeix l'activitat de l'aldosa reductasa, un enzim que catalitza la reducció d'hexoses com la glucosa a sorbitol. L'aldosa reductasa està present a l'ull, al ronyó i als nervis perifèrics.
- ❖ **Antibiòtic natural:** la rutina té propietats antisèptiques i combat les infeccions bacterianes com la cistitis i la halitosi i actua contra els herpes i les al·lèrgies.
- ❖ **Asma:** la quercetina és mucolítica, antitussigen, antiinflamatòria, antibacteriana i antihistamínica. Ajuda a millorar les malalties asmàtiques, infeccions respiratòries, bronquitis, ronquera i redueix els símptomes de l'al·lèrgia.



- ❖ **Alzheimer:** la quercetina és un flavonoide que actua com un factor protector davant de malalties neurodegeneratives.
- ❖ **Antioxidant:** facultats anticanceroses ja que preveu i dificulta el creixement de tumors especialment al pit, a la pell, als ovaris, als pulmons i a la vesícula i valor antioxidant. Ajuda a la conservació d'àcids grassos poliinsaturats.
- ❖ **Fetge:** la rutina és necessària perquè el ronyó filtri adequadament i ajuda al bon funcionament del fetge, a la vegada que el protegeix de les infeccions i malalties.
- ❖ **Vitamina C:** la rutina millora l'absorció de la vitamina C i, per tant, en potencia la seva acció i impedeix que no sigui destruïda per l'oxidació de l'aire.
- ❖ **Antiespasmòdica:** alleuja les contraccions involuntàries que es produeixen en els músculs llisos. És per aquesta raó que resulta un estimulants estomacal i diürètic molt eficaç, ja que relaxa l'aparell digestiu i també l'aparell respiratori, on redueix la tos en cas d'infecció viral.



6. Anàlisi dels diferents fàrmacs que contenen rutòsid o derivats

Com que el món dels principis actius de les plantes és molt ampli i complex, i la ruda, tal i com hem vist abans, conté diferents tipus de substàncies, va resultar indispensable centrar la recerca en un principi actiu específic, el rutòsid. Aquesta substància és un dels flavonoides més importants de la ruda i un principi actiu molt eficaç per als problemes del sistema circulatori, tal i com hem vist anteriorment.

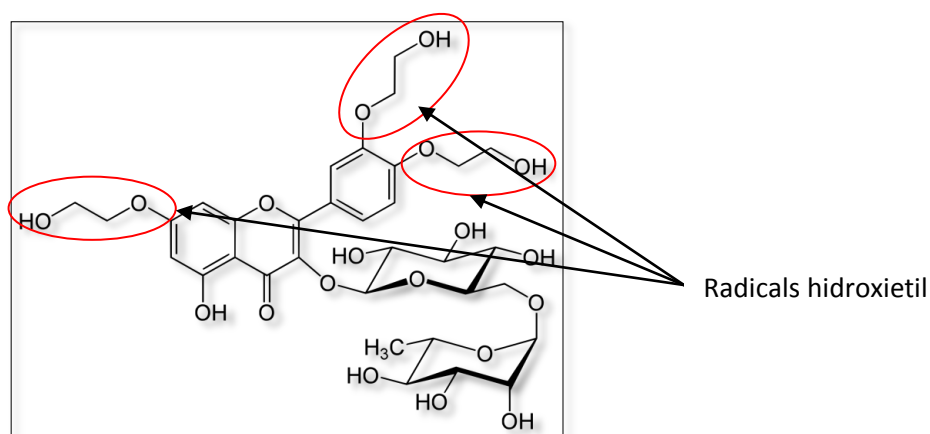
Els fàrmacs contenen principis actius que naturals o sintetitzats per les indústries farmacèutiques proporcionen les accions i els beneficis que aquests ens aporten. Un dels objectius del meu treball era efectuar una recerca sobre els medicaments que porten rutòsid¹⁶ i les seves accions, és per això, que en aquest apartat es va realitzar una recerca exhaustiva sobre els medicaments que contenen rutina i les seves aplicacions en la medicina. Per a fer-ho, vaig visitar diverses farmàcies que em van informar sobre els diferents medicaments que en contenen i a la vegada vaig descobrir també, per a quines patologies s'utilitza. Per tal de veure la incidència que té el rutòsid en els fàrmacs vaig elaborar una taula amb el nom del medicament, la seva acció, els seus possibles efectes adversos, el format amb el que es comercialitza i la concentració de rutòsid que té.

Els derivats del rutòsid anomenats posteriorment a la taula són la troxerutina i les oxirutines.

La troxerutina o tridiroxietilrutina és un bioflavonoide de fórmula molecular $C_{33}H_{42}O_{19}$. Es caracteritza perquè té tres grups funcionals éster que uneixen a través d'un pont d'oxigen el rutòsid o rutina amb tres radicals hidroxietil (veure imatge 9).

Les oxirutines, també anomenades a la taula, són una mescla de derivats hidroxietilats del rutòsid, en les quals hi ha també la troxerutina.

¹⁶ Veure fotografies annex 14.2



Imatge 9. Estructura química troxerutina

MEDICAMENT	ACCIÓ	POSSIBLES EFECTES ADVERSOS	FORMAT	% DE RUTÒSID O DERIVATS
Epistaxol	Facilitar la coagulació sanguínia (hemostasia), originar de forma ràpida la contracció dels vasos sanguinis i reforçar les parets dels vasos sanguinis. Aturar petites hemorràgies que apareixen a les mucoses com és el cas de la mucosa nasal, oral, genital o rectal.	Casos freqüents: sensació de por, ansietat, mal de cap, dificultat respiratòria, sudoració, nàusees i vòmits. Casos pocs freqüents: augment de la pressió sanguínia que en casos greus pot originar hemorràgies cerebrals o una insuficiència cardíaca.	Solució cutània de 10 mL.	0,64% de rutòsid en el medicament.
Esplenol	Combatre la convalescència i l'esgotament i tractar i prevenir els estats de carència de vitamines i minerals.	Casos freqüents: nàusees i vòmits. Casos pocs freqüents: diarrea nerviosisme, mal de cap, irritació de la pell, eufòria, mal d'estómac envermelliment de la cara, gota i pedres als ronyons.	Càpsules toves, comprimits efervescents o càpsules recobertes de pel·lícula.	5,27% de rutòsid en el medicament.
Venorugel	Protegir i estabilitzar els capil·lars, disminuir la seva fragilitat i normalitzar la seva permeabilitat. Alleujament	Irritació i erupcions a la pell.	60g de gel.	2% de troxerutina.



	dels trastorns venosos superficials i dels hematomes produïts per cops.			
Venoruton	Reforçar els vasos sanguinis, reduir la permeabilitat dels capil·lars, actuar contra el dolor, la inflamació i les diferents manifestacions que es presenten amb la insuficiència venosa i alleujar la sensació de cames cansades.	Casos rars: flatulència, diarrea, dolor abdominal, molèsties a l'estómac, urticària, erupcions a la pell i desordres gastrointestinals Casos molt rars: marejos, dolor de cap, cansament i reaccions d'hipersensibilitat.	Solució oral d'1g en pols, en gel de 20mg/g, en càpsules de 300mg i en sobres efervescents de 500mg amb gust de taronja.	100% d'oxirutines en el medicament.
Esberiven	Alleujar els edemes i els símptomes relacionats amb la insuficiència venosa crònica (inflamació, dolor i sensació de cansament a les cames).	Casos pocs freqüents: molèsties abdominals, nàusees i erupcions cutànies.	Solució oral de 100mg/ml.	100% de troxerutina per sobre.
Troxerutina cinsa	Combatre les manifestacions de problemes de circulació crònics.	Casos rars: flatulència, dolor abdominal, urticària, diarrea i erupcions a la pell. Casos molt rars: marejos, cansament i mal de cap.	Solució oral 1g granulat.	100% troxerutina per sobre.
Daflon 500	Combatre les varius, disminuir els espasmes vasculars, augmentar la resistència dels capil·lars, alleujar els edemes i els símptomes relacionats amb la insuficiència cardíaca.	Casos rars: picor a la pell, dolor gàstric, urticària i erupció cutània. Casos freqüents: marejos, nàusees, diarrea i dispèpsia.	500mg de comprimits recoberts.	100% de flavonoides per comprimit.
Gingilone	Combatre la estomatitis i les aftes bucals i protegir les genives.	No s'han mostrat efectes adversos.	6g en crema.	3,66% de rutòsid en el medicament.



Véliten	Alleujar els símptomes de la insuficiència venosa, reforçar la resistència dels capil·lars i combatre les hemorroides.	Reaccions cutànies com urticària o irritació.	30 o 90 càpsules toves.	44,45% de rutòsid per càpsula.
Vincarutine	Tractar el dèficit neurosensorial i la patologia cognitiva en la gent gran.	No hi ha efectes secundaris provats.	Gel.	66,67% de rutòsid al medicament.
Venocur triplex	Combatre els símptomes de la insuficiència venosa (varius, hemorroides, edemes i úlceres varicoses).	No es coneixen efectes secundaris d'aquest medicament.	Càpsules.	75% de rutòsid per càpsula.
Pharmaton complex	Complex de vitamines, minerals i oligoelements. Reforçar les racions diàries recomanades d'aquestes substàncies. Estimular el sistema nerviós central, gràcies a l'aportació de gingseng.	Ansietat, insomni, nerviosisme, insuficiència renal, hipertensió arterial, insuficiència cardíaca i epilèpsia.	30 o 60 càpsules.	5,3% de rutòsid a cada càpsula
Wobenzym	Combatre processos inflamatoris crònics com per exemple l'artritis, la osteoartritis i processos inflamatoris crònics articulars i de teixits blancs.	Casos molts rars: petites sedacions, hiporèxia i lleugera pèrdua de pes. Casos rars: canvi de color, olor i textura dels excrements.	Comprimits.	5,5% de quinoleïna per comprimit.
Vivioptal	Reforçar el nivell de vitamines del cos.	Trastorns gastrointestinals, nàusees, vòmits i diarrees.	90 càpsules.	3,54% de rutòsid a una càpsula.
Venalot depot	Tractar el síndrome d'insuficiència venosa: flebitis, trombosi, tromboflebitis, congestió limfàtica, linfangitis, hemorroides i edemes.	Nàusees acompanyades d'urticària, coloració fosca de l'orina, coloració groga de la pell i el globus ocular i molèsties gastrointestinals.	Càpsules.	85,71% de troxerutina a una càpsula.



Teboven	Ajudar amb els trastorns de la circulació venosa de les cames i les varius, acompanyades de dolor, inflamació o rampes nocturnes.	No s'han mostrat efectes contraris per les indicacions i el mode d'aplicació recomanat.	40 rajoles per caixa.	100% de troxerutines per caixa.
----------------	---	---	-----------------------	---------------------------------

Les conclusions que podem extreure després de realitzar la taula són que el rutòsid és un principi actiu present a molts medicaments encara que el seu coneixement està molt poc divulgat. La majoria de fàrmacs presents a la taula presenten com a principal acció, alleujar els símptomes de les insuficiències venoses com per exemple les hemorroides i les varius, basats en gran part per una mala circulació de la sang. La rutina disminueix la permeabilitat dels capil·lars reduint així el risc d'inflamacions i d'edemes, n'augmenta la seva resistència i millora el corrent sanguini. A més, medicaments com el gingilone protegeixen i actuen contra les panses a la vegada que protegeixen i atorguen resistència a les genives.

Altres medicaments amb rutòsid són compostos vitamínics que combaten el cansament i aporten minerals i vitamines al nostre organisme. Molts fàrmacs d'aquesta classe porten rutòsid ja que sovint incorporen extractes de plantes naturals que en contenen. És el cas, per exemple, del Pharmaton, que porta gingseng, una planta herbàcia que posseeix una petita quantitat de rutòsid. Per aquesta raó, la concentració de rutina en aquesta classe de medicaments és força reduïda.

Per últim, una altra acció diferent que es mostra en la taula és la de tractar el dèficit neurosensorial i les patologies cognitives de la gent gran. El medicament indicat per aquestes afeccions és el vincarutine.

Tal i com s'ha observat, el rutòsid és un principi actiu que és present en molts medicaments i que en canvi, la ruda no és gens coneguda per la població tot i ser la principal planta de la qual s'obté.



7. Obtenció dels principis actius de la ruda

Anteriorment he fet una breu explicació dels mètodes més utilitzats en farmacèutica i fitoteràpia per tal d'extreure els principis actius de les plantes. En aquest apartat, es realitzarà una destil·lació per arrossegament de vapor, una maceració amb metanol, una maceració amb etanol i una infusió de ruda.

La destil·lació per arrossegament de vapor és el mètode més eficaç per a obtenir l'oli essencial d'una planta. La destil·lació és un procés físic, ja que les substàncies químiques no es transformen sinó que només es produeix la seva diferenciació. Aquest mètode consisteix en extraure els components volàtils o les essències de la planta. Les substàncies volàtils es veuen arrossegades pel vapor d'aigua que s'ha format en fer bullir aigua.

La maceració i la infusió són exemples del mètode d'extracció de principis actius amb dissolvents. El terme extracció es defineix com la transferència d'una substància d'una fase a una altra. En aquest cas, els principis actius passen de la fase sòlida a la fase orgànica, quan es tracta d'una solució metanòlica o etanòlica, o a la fase aquosa, quan el dissolvent és l'aigua. Aquest procés consisteix en solubilitzar els principis actius de la planta quan aquesta se submergeix en un determinat solvent, en el nostre cas, ambdós són polars. La difusió dels principis actius es produeix fins que s'arriba a l'equilibri.

Cal destacar que els heteròsids o glucòsids flavonoides, grup en qual situem la rutina, són majoritàriament solubles amb alcohol, mescles hidroalcohòliques i aigua. En general, els glucòsids s'extreuen amb mescles hidroalcohòliques. Per aquesta raó, s'han escollit aquests dissolvents ja que garantien la solubilització del rutòsid, principi actiu amb el que s'experimentarà posteriorment.

7.1. La destil·lació per arrossegament de vapor

La destil·lació de vapor requeria un material del qual no disposàvem al laboratori de l'escola i per això va ser indispensable que em desplaçés a Sarra, on hi ha un taller d'extracció d'olis essencials per mitjà de la destil·lació per arrossegament de vapor. En primer lloc, se'm va fer una breu explicació de com s'havia de realitzar la destil·lació i posteriorment vam començar a extraure l'oli. El procés de destil·lació va durar aproximadament uns 95 minuts i finalment es



van obtenir 3mL d'essència pura. Cal destacar que amb la destil·lació no extraurem el rutòsid de la planta ja que aquest no és un principi actiu volàtil, perquè no té un punt d'ebullició baix.

Material: alambí de 10 L, tela metàl·lica, coll de cigne, embut de decantació, serpentí, placa elèctrica, cèrcol, nou, refrigerant o receptacle.

Reactius: 200 g de ruda seca.

Procediment: per tal de començar amb la destil·lació, s'han de preparar els 200 g de matèria vegetal. La ruda és una planta que conté majoritàriament els principis actius als alvèols de les fulles i de la tija, és per això, que la part de planta que s'ha de destil·lar són les tiges i les fulles. L'alambí que es va utilitzar era de 10 L, per aquesta raó, va caldre tallar la planta en petites porcions¹⁷. Un cop la ruda estava preparada, es posaren 2 L d'aigua de l'aixeta a l'alambí i una tela metàl·lica per tal que la planta no arribés a la part més profunda del recipient i no es pogués cremar, ja que sinó, l'oli podia sortir torrat¹⁸. L'alambí omplert de planta es va posar a sobre d'una placa elèctrica i es va tapar. Es va utilitzar farina amb aigua que posteriorment s'assecaria i impediria la sortida del vapor. L'alambí estava connectat a un coll de cigne i aquest a un serpentí¹⁹, que estava disposat dins del refrigerant o receptacle des d'on sortia un tub que s'introduïa a un embut de decantació (veure imatge 10). Quan l'aigua va bullir, el vapor va arrossegar l'oli essencial a través del circuit fins a acabar a l'embut. El procés de destil·lació va durar aproximadament una 95 minuts. Finalment, es va aconseguir 225 mL d'hidrolat, que és el producte de l'arrossegament de vapor i que no és l'oli essencial pur sinó que està format per aigua, alcohol, restes que contenia la planta i en poca quantitat, oli essencial dissolt. També es van obtenir 3 mL d'oli essencial pur. Primer, s'albirava a l'embut de decantació, una fina pel·lícula d'oli essencial a sobre de l'hidrolat²⁰, el qual s'anava decantant sense arribar a l'oli. Al final del procés, però, es va obtenir una quantitat d'oli essencial superior al rendiment de la majoria de plantes aromàtiques.

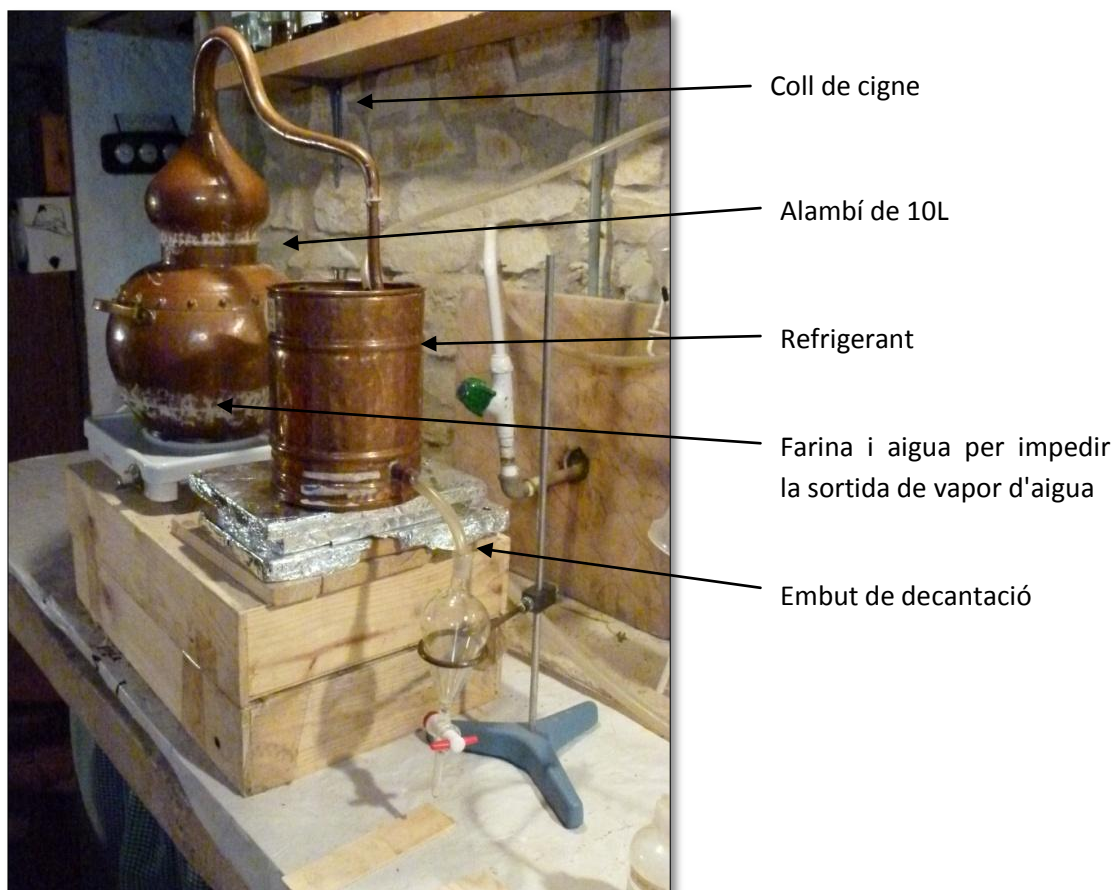
Conclusions: per destil·lació per arrossegament de vapor s'obtenen a partir de fulles seques de ruda aproximadament 3mL/200g d'essència o oli essencial.

¹⁷ Veure fotografia annex 14.3.1

¹⁸ Veure fotografia annex 14.3.1

¹⁹ Veure fotografia annex 14.3.1

²⁰ Veure fotografia annex 14.3.1



Imatge 10. Destil·lació per arrossegament de vapor

7.2. La maceració amb metanol

Tal i com s'ha explicat anteriorment, la maceració amb metanol²¹ és una tècnica d'obtenció dels principis actius de la planta mitjançant l'extracció amb dissolvents, en aquest cas, el metanol.

Mitjançant la maceració metanòlica obtindrem i extraurem tots els principis actius solubles amb metanol de la matèria vegetal tractada, en aquest cas, les fulles, que passaran al dissolvent líquid. Es realitzarà a temperatura ambient.

Material: 22g de fulles fresques de Ruda, vas de precipitats, comptagotes, pot i proveta de 250mL.

Reactius: metanol (CH_4O).

²¹ Veure fotografia annex 14.3.2



Procediment: pesar amb una balança granetari els 22g de fulles fresques de ruda. Calcular els mL necessaris de metanol seguint la proporció 25g/200mL metanol, que són 181,6mL. Posar 175mL de metanol en una bureta de 250mL i afegir la quantitat de metanol que falta d'un vas de precipitats. Posteriorment, enrasar amb un comptagotes. Disposar la matèria vegetal en un pot i posteriorment, afegir el metanol²². Deixar reposar la solució en un pot tancat i a temperatura ambient durant un mínim de set dies. Finalment, filtrar per gravetat.

7.2. La maceració amb etanol

La maceració etanòlica és un tipus d'extracció amb dissolvents mitjançant la qual es poden extraure tots els principis actius solubles en el dissolvent, que en aquest cas és l'etanol. La part vegetal que s'utilitzarà de la ruda seran les fulles fresques. Es realitzarà a temperatura ambient.

Material: 25g de fulles fresques de ruda, un recipient tancat, balança de precisió i un paper de filtrar.

Reactius: etanol (C_2H_6O).

Procediment: pesar 25g de fulles fresques de ruda en una balança de precisió. Submergir la matèria vegetal en 200 mL d'etanol, vigilant que la totalitat de la planta quedi en contacte amb el dissolvent. Posar la planta en un pot tancat²³ en remull un mínim de set dies a temperatura ambient i a sol i serena. Durant aquest període de temps els principis actius solubles en etanol, com és per exemple el cas del rutòsid, s'alliberen al dissolvent fins que s'aconsegueix l'equilibri. Finalment, es filtra la dissolució utilitzant un paper de filtrar.

7.3. La infusió

En la infusió, el dissolvent que sol ser aigua, es porta a ebullició i és aleshores quan s'introdueix la matèria vegetal de la qual volem extreure'n els principis actius. Aleshores es deixa refredar la mescla fins a la temperatura ambient.

Material: 175 mL d'aigua, un cassó i un colador.

Reactius: 2g de fulles de planta seca.

²² Veure fotografia annex 14.3.3

²³ Veure fotografia annex 14.3.4



Procediment: per començar, vaig introduir 175 mL d'aigua al cassó i ho vaig posar tot a bullir. Quan l'aigua bullia vaig afegir les dues culleradetes de ruda seca i ho vaig deixar en ebullició durant 3 minuts aproximadament. Passat aquest temps, vaig tapar el cassó amb un plat, per tal que no s'evaporessin els principis actius volàtils i vaig deixar que la solució es refredés. Finalment, la vaig decantar, guardar en un pot de vidre i posar a la nevera per tal que conservés tota la seva essència fins que fos l'hora de realitzar l'experiment.



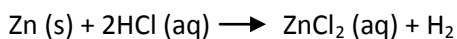
8. Anàlisi qualitativa del rutòsid al laboratori

L'existència de rutòsid en els diferents extractes de la planta es pot determinar d'una manera qualitativa, és a dir, sense expressar quantitats, mitjançant les reaccions de coloració. Per tal de determinar qualitativament l'existència de flavonoides i per tant, de rutòsid en un compost, es poden realitzar diferents reaccions de coloració, encara que en aquest apartat es duran a terme i se'n descriuran dues, la reacció Shinoda, altrament dita, reacció de la cianidina i la reacció amb NaOH.

8.1. Experiment 1

El fonament de la reacció de coloració de Shinoda es basa en que al posar en contacte HCl amb zinc es genera hidrogen que redueix als flavonoides mostrant una coloració rosada.

L'equació química ajustada de la reacció de Shinoda és:



En aquest experiment es realitzarà la reacció de coloració amb els diferents extractes de la planta preparats anteriorment i es podrà determinar si contenen o no rutòsid.

Materials: vas de precipitats de 50mL, forn, sonda, tubs d'assaig, comptagotes 5 mL, pipeta i pera.

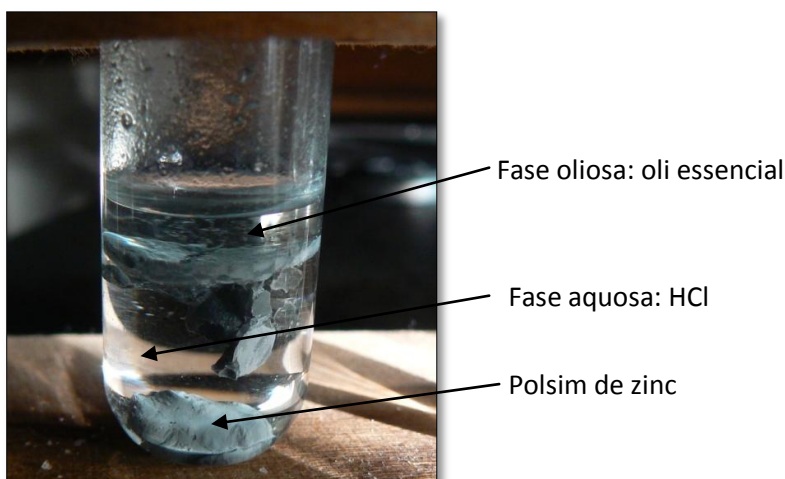
Reactius: zinc en pols, zinc en virutes i HCl 0,1 molar.

Procediment: agafar 5 mL de maceració amb metanol i posar-los en un vas de precipitats de 50 mL. Posteriorment, posar el vas de precipitats al forn i escalfar a 60 °C. Utilitzar un iman per homogeneïtzar per tal que la part inferior no estigui més calenta que la superior. Amb una sonda mirar quan la T de la maceració metanòlica és de 60 °C. Esperar aproximadament dos minuts en ebullició, no deixar més temps ja que sinó, el metanol es vaporitzarà. Finalment, posar la maceració en un tub d'assaig i agregar un polsim de zinc en pols. Després afegir unes gotes d'HCl d'un vas de precipitats on des del pot s'ha posat amb l'ajut d'una pipeta i una pera. La solució pateix un canvi de coloració del verd fosc al groc intens (veure imatge 11).



Imatge 11. Coloració groga amb la maceració metanòlica i HCl 0,1 M

Per a realitzar la pràctica amb l'oli essencial, posar 20 gotes d'essència en un tub d'assaig i posteriorment agregar un polsim de zinc en pols i unes gotes d'HCl. No hi ha cap canvi de coloració. S'ha observat que pel fet que l'HCl és més dens que l'oli, es forma una solució heterogènia amb dues fases fàcilment diferenciables (veure imatge 12). La fase aquosa es trobava a sota, en contacte amb el zinc però la part oliosa a dalt. S'ha observat que aquest fet impedeix que els flavonoides estiguin en contacte amb l'HCl i el zinc i que per tant, es produeixi la reacció. No apareixen però bombolles d' H_2 .



Imatge 12. Diferenciació de dues fases a la solució

Per tal de realitzar la reacció amb l'epistaxol, posar 10 mL de medicament en un vas de precipitats. Posteriorment, agafar 1 mL amb un comptagotes i posar-lo a un tub d'assaig. Després agregar tres encenalls de zinc i unes gotes d'HCl. No s'ha produït canvi de coloració,



però s'han observat bombolletes que pujaven a la superfície, característica que indicava que s'havia generat hidrogen amb la reacció (veure imatge 13).



Imatge 13. Formació de bombolles d' H_2

Observant que potser havia fallat el zinc, he repetit la pràctica de l'oli essencial però amb encenalls de Zn, enlloc de Zn en pols. Per començar, posar 20 gotes d'oli essencial de ruda en un tub d'assaig, posteriorment agregar 5 encenalls de zinc i unes gotes d'HCl. S'han produït bombolles i per tant, s'ha generat H_2 , però com s'esperava, passa el mateix que en la pràctica anterior ja que es formen dues fases i això impossibilita que es detectin els flavonoides.

Conclusions: la reacció de coloració només serà efectiva amb extractes aquosos com maceracions, infusions, hidrolat i solucions aquoses de medicaments com l'epistaxol. També hi ha la possibilitat que els resultats canviïn si utilitzem HCl més concentrat. Per últim, cal destacar que només hem presenciat les bombolles d' H_2 quan utilitzem Zn en encenalls.

8.2. Experiment 2

Es tornarà a realitzar l'experiment tenint en compte les conclusions de la pràctica anterior. És per això que es durà a terme la reacció de coloració només amb extractes aquosos i utilitzant HCl 0,2 M i Zn en encenalls.

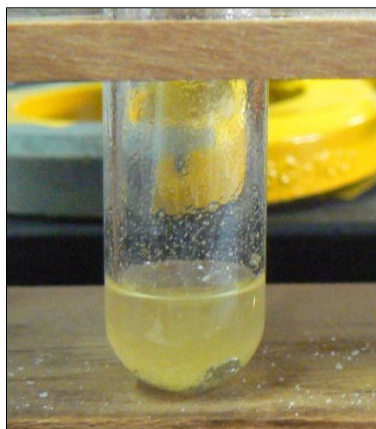
Materials: vas de precipitats de 25mL, forn, sonda, tubs d'assaig, comptagotes 5 mL, pipeta i pera.

Reactius: Zn en encenalls i HCl 0,2 molar.

Procediment: disposar 5 mL de maceració de metanol a un vas de precipitats amb un comptagotes. Posar a escalfar el vas de precipitats en un forn i esperar 10 minuts a 60°C.



Passat aquest temps, col·locar 1 mL de la solució en un tub d'assaig. Posteriorment afegir tres encenalls de zinc i unes gotes de HCl 0,2 M. S'ha produït un petit canvi de coloració de verd intens a groc, com en el intent anterior, però en cap cas, el rosa que hauria d'aparèixer (veure imatge 14).



Imatge 14. Coloració groguenca amb la maceració metanòlica i l' HCl 0,2 M

Realitzar el mateix experiment amb l'hidrolat. Posar 1 mL d'hidrolat a un tub d'assaig i afegir tres encenalls de zinc i unes gotes d'HCl. Es produeix la formació de bombolletes d' H_2 però no hi ha cap canvi de coloració.

L'últim extracte aquós que em queda per analitzar és la infusió. Primer de tot i seguint els passos anomenats en els altres apartats, posar 1 mL d'infusió a un tub d'assaig i afegir tres encenalls de zinc i unes gotes d'HCl. Exactament igual que el cas anterior s'alliberen molècules d' H_2 però no hi ha canvi de coloració.

Conclusions: la reacció de Shinoda no m'ha funcionat perquè o bé la concentració de flavonoides i de rutòsid no és prou elevada en les maceracions, hidrolat i infusions o aquesta reacció no és eficaç amb la ruda.

8.3. Experiment 3

La reacció de Shinoda, com s'ha observat en els experiments anteriors, no funciona amb l'extracte de ruda. Una altra reacció és la de NaOH, que es basa en que la que les flavones i els flavonols es dissolen en àlcalis²⁴ i s'obté una solució groga²⁵.

²⁴ Sals iòniques bàsiques d'un metall alcalí o d'un metall alcalinoterri. Són òxids, hidròxids i carbonats dels metalls alcalins.



En aquest experiment es realitzarà la reacció de NaOH amb els diferents extractes de la ruda per a determinar si hi ha o no flavonoides i per tant, una possibilitat molt elevada que hi hagi rutina o rutòsid. Quan la reacció es produeix es forma una sal que precipita i a nivell químic i estructural de la rutina, apareix una estructura quinònica (amb dobles enllaços), a l'anell benzènic B.

Materials: proveta de 10 mL, vareta de vidre, vas de precipitats de 25 mL i comptagotes.

Reactius: NaOH (lenties) 98% i maceració etanòlica de ruda.

Procediment: com que aquesta reacció requeria un reactiu de NaOH molt concentrat del que no disposàvem en el laboratori, per començar va ser indispensable la preparació d'una solució 2M a partir de lenties de NaOH. Els càlculs realitzats són els següents:

$$20 \text{ mL NaOH} \cdot \frac{2 \text{ mols NaOH}}{1000 \text{ mL}} \cdot \frac{40 \text{ g NaOH}}{1 \text{ mol NaOH}} \cdot \frac{100 \text{ g de producte}}{98 \text{ g NaOH}} = 1,632 \text{ g NaOH (lenties)}$$

Un cop trobat la quantitat de reactiu que necessitem, pesar 1,6 g de NaOH a la balança granetari. Posteriorment posar 20 mL d'aigua destil·lada a un vas de precipitats, afegir els grams pesats i remenar amb una vareta de vidre fins a la seva dissolució. Aquesta reacció és exotèrmica perquè s'allibera energia en forma de calor quan es formen els productes per això la $T_1 < T_2$.

Després, posar 3 mL de la maceració etanòlica de la planta, que és d'un color verd fosc, en una proveta amb un comptagotes. A aquesta, afegir cinc gotes de la solució preparada anteriorment de NaOH. Amb aquesta pràctica es va observar un canvi de coloració cap al groc i una precipitació d'una substància blanca, que és la sal que s'ha format en la reacció.

El mateix experiment va ser realitzat també amb altres extractes de la planta com la maceració metanòlica, l'aigua i l'hidrolat. Utilitzant la maceració vaig obtenir un altre cop la coloració groga i la precipitació de la sal, en canvi, amb la infusió i l'hidrolat no es va produir cap reacció de coloració.

Conclusions: la reacció amb NaOH no va funcionar amb la infusió molt probablement perquè les altes temperatures van provocar la hidròlisi de la rutina i per tant, el trencament del glucòsid en quercetina i rutinosa. Com s'ha explicat anteriorment, la genina aïllada és insoluble en aigua, perquè és un flavonoide i la majoria d'aquest tipus de principis actius no són solubles

²⁵ Veure fotografia annex 14.4.1



en aigua. Aquest fet explicaria que amb la reacció de NaOH no s'hagués produït cap canvi de coloració perquè la rutina s'hauria hidrolitzat i només s'hauria dissolt en aigua el disacàrid rutinosa.

Una hipòtesi possible del perquè no s'ha produït la reacció amb l'oli essencial i l'hidrolat i per tant, no s'ha observat cap canvi de coloració és que en aquests dos extractes no hi ha rutòsid. Tal i com s'ha explicat anteriorment, amb la destil·lació per arrossegament de vapor, s'extreuen els principis actius volàtils de la planta, és a dir, aquells que tenen un punt d'ebullició baix. El rutòsid no és volàtil i per tant, no formava part de l'oli essencial de la ruda ni de l'hidrolat, ambdós productes de la destil·lació per arrossegament de vapor.

La reacció amb NaOH s'ha produït en les dues reaccions perquè el rutòsid és soluble en dissolvents orgànics com és el cas del metanol i l'etanol a temperatura ambient i també, perquè la dissolució aquosa de NaOH és soluble en el metanol i l'etanol.



9. Capacitat antifúngica de la ruda en llimones

La ruda es caracteritza per tenir múltiples indicacions i beneficis. Una capacitat esmentada anteriorment és l'antifúngica. L'objectiu d'aquest apartat és determinar si la ruda veritablement inhibeix el creixement de fongs. L'experiment es realitzarà amb fongs que normalment són els encarregats de la floridura de les fruites. Aquests microorganismes que seran l'objecte d'estudi d'aquest experiment són de color blavós i molt probablement del gènere *penicillium*. Aquest fong es cultivarà sobre mitges llimones espargint les seves espores a diferents llimones, les quals posteriorment es banyaran amb els diferents extractes de la ruda, per tal de determinar si tenen o no capacitat antifúngica.

9.1. Experiment 1

En aquest experiment se sembrarà a les llimones les espores d'un dels tipus de fong més importants que descompon i floreix la fruita. En aquest cas, la mostra s'agafarà d'una taronja florida. Com s'ha explicat abans, és molt probable que aquest fong sigui del gènere *penicillium*. És només una hipòtesi ja que no se n'han analitzat les mostres al laboratori.

Materials: 6 llimones en bon estat, ganivet, 12 bastonets de cosmètica.

Reactius: hidrolat, oli essencial, infusió, maceració amb etanol i maceració amb metanol.

Procediment: deixar una taronja a temperatura ambient durant aproximadament una setmana i mitja fins que es floreixi i hi surtin fongs blavosos²⁶. Un cop tenim els fongs a la nostra disposició, agafar sis llimones i tallar-les per la meitat. Posteriorment, agafar un bastonet, impregnar-lo amb les espores del fong i espargir-les per l'interior i la pell de cada mitja llimona. Reconeixem les espores, que li serveixen per a reproduir-se i assegurar així la pervivència de l'espècie perquè són un polsim blavós. Sembrar el fong a totes les mitges llimones que volem estudiar. Un cop els fongs han estat cultivats, s'aplicarà a cada llimona els diferents extractes de ruda per tal de determinar si tenen o no funció antifúngica. Mullar un bastonet de les orelles amb cada extracte diferent de ruda i cobrir l'interior i la pell de cada mitja llimona, tal i com si la pintéssim.

²⁶ Veure fotografia annex 14.5.1



Observacions: passats sis dies després de la sembra es pot observar que la llimona banyada amb oli essencial²⁷ presenta un aspecte desmillorat amb la part interior blanquinosa i corroïda.

La llimona amb la maceració metanòlica²⁸ presenta una colònia de fongs important a la pell. Pel que fa al seu interior, no presenta diferència amb la maceració etanòlica²⁹, però aquesta última no presenta cap colònia a la coberta. Les llimones amb maceració a simple vista són gairebé iguals que el grup control, és a dir, podem observar petites zones ennegrides. Les llimones amb infusió³⁰ i hidrolat³¹ mostren menys fongs que les altres, és a dir, d'una manera visual, menys zones ennegrides i estan en més bon estat. La llimona grup control³² servirà de referència per analitzar les altres ja que en ella no s'hi ha introduït l'efecte de la variable independent, que és el factor que nosaltres variem i que en aquest experiment, és el tipus d'extracte de ruda.

Conclusions: l'oli essencial és molt potent i en el cas de la ruda, és l'únic extracte considerat tòxic, ja que conté els principis actius d'una forma molt concentrada i per aquesta raó, podem afirmar que està causant l'emblanquiment i està malmetent la llimona. És possible que aquest emblanquiment sigui una colònia d'un fong diferent. La maceració etanòlica i metanòlica no presenten capacitat antifúngica contra el fong objecte d'estudi. La infusió i l'hidrolat, no són fungicides, perquè les dues presenten petites colònies però sí que dificulten d'una manera molt reduïda el desenvolupament i el creixement dels fongs del gènere *penicillium*.

²⁷ Veure fotografia annex 14.5.1

²⁸ Veure fotografia annex 14.5.1

²⁹ Veure fotografia annex 14.5.1

³⁰ Veure fotografia annex 14.5.1

³¹ Veure fotografia annex 14.5.1

³² Veure fotografia annex 14.5.1



10. Capacitat antifúngica de la ruda en plaques de Petri

La capacitat antifúngica es provarà en aquest apartat amb un cultiu en medi sòlid en plaques de Petri esterilitzades, preparat al laboratori amb els nutrients i les sals minerals que els fongs necessiten per a desenvolupar-se. En aquest experiment s'agafaran fongs i bacteris, encara que aquests últims no creixeran al medi de cultiu a temperatura ambient, del nostre entorn més immediat. Les fonts d'on s'agafaran els fongs seran bàsicament mànecs de portes, bitllets i teclats d'ordinador entre d'altres. Aquest fet, farà que resulti impossible determinar amb certesa les espècies de fong que creixeran ja que no dispo del material de laboratori necessari per a fer-ho.

10.1. Experiment 1

En aquest experiment les fonts de microorganismes seran mànecs de portes, bitllets, monedes i el terra. Tocarem amb la punta dels dits tots aquests llocs i posteriorment cultivarem els fongs i bacteris al medi de cultiu tocant amb la panxa del dit tota la superfície del medi.

Materials: un vas de precipitats de 250 mL, 6 càpsules de Petri esterilitzades, una placa calefactora de laboratori, una balança granetari i paper de filtre.

Reactius: 5 g de gelatina en pols i mitja pastilla de caldo de pollastre.

Procediment: pesar 5 g de gelatina a la balança granetari. Posar 250 mL d'aigua de l'aixeta a un vas de precipitats de 250 mL i escalfar-ho a la placa calefactora³³. Quan l'aigua bull, posar la gelatina i la mitja pastilla i mantenir la solució en ebullició durant 10 minuts. Un cop tenim la mescla preparada³⁴, posar 10 mL de medi de cultiu aproximadament, mitjançant la decantació, a cada càpsula de Petri. Amb el medi de cultiu calent, no podem tancar les càpsules de Petri així que s'ha de posar la part inferior amb la solució fent un cercle al voltant d'un encenedor d'alcohol i les tapes al voltant d'un altre, per tal que no es contaminin³⁵. Esperar aproximadament dues hores a que la mescla s'assequi. Un cop el medi de cultiu s'ha solidificat, s'hi ha de cultivar allò que volem que creixi. Els fongs estan en el nostre voltant més immediat,

³³ Veure fotografia annex 14.6.1

³⁴ Veure fotografia annex 14.6.1

³⁵ Veure fotografia annex 14.6.1



és per això que per agafar-los, només cal tocar amb la punta dels dits els mànecs de les portes o finestres, bitllets, monedes i el terra. Posteriorment, tocar amb les puntes dels dits brutes, tota la superfície de la mescla de la càpsula de Petri. Tallar sis circumferències de paper de filtre d'1 cm de diàmetre. Humitejar cinc papers amb maceració amb metanol, maceració amb etanol, hidrolat, infusió i oli essencial 100%, conservar un paper sense cap extracte, ja que serà el grup control. Posar-les en un lloc càlid, protegit i cobertes.

Observacions: el medi de cultiu que s'havia posat a les plaques de Petri estava líquid tres dies després d'haver realitzat la pràctica. El paper de filtre estava submergit i no es veia cap manifestació de la seva acció. Al líquid no s'hi reconeixien fongs grans però sí que hi havia uns punts blancs que podien ser material propi de la mescla solidificat o petits fongs³⁶, encara que no ens servien per a la prova ja que el paper de filtre estava al fons de la càpsula i per tant, no manifestava cap acció sobre el medi. Al vas de precipitats on es va preparar el medi de cultiu sí que hi havien fongs grans i fàcilment diferenciables a la seva superfície, encara que aquest medi no s'havia tocat amb les mans brutes³⁷.

Conclusions: el medi estava líquid perquè o no hi havia la quantitat suficient de gelatina o no s'havia homogeneïtzat bé el medi de cultiu abans de decantar a les plaques, per això, la fase gelatinosa s'havia quedat a baix i només s'havia cultivat la fase aquosa del caldo de pollastre. Podem provar aquest fet perquè posteriorment vam agafar el medi de cultiu de les plaques i el vam posar en una proveta; no es podien diferenciar dues fases sinó que era una mescla homogènia i de textura majoritàriament líquida³⁸. A més, al vas de precipitats on hi havia el medi de cultiu original es podia observar que molta part de la gelatina s'havia quedat al fons, però que tot i així, la mescla era més gelatinosa que la de les plaques. No van sortir fongs a les plaques de Petri perquè o no estaven en contacte amb oxigen perquè les vam tapar (cal considerar que el vas de precipitats amb el medi de cultiu no es va tapar i hi van sortir fongs) o bé, perquè com s'ha esmentat anteriorment no hi havia prou gelatina per retenir-los. El paper de filtre utilitzat, a més, no estava saturat sinó sobresaturat d'extracte. Aquest fet, també

³⁶ Veure fotografia annex 14.6.1

³⁷ Veure fotografia annex 14.6.1

³⁸ Veure fotografia annex 14.6.1



podia distorsionar els resultats esperats perquè l'extracte es podia expandir pel medi de cultiu en una superfície més gran de l'esperada.

10.2. Experiment 2

Es repetirà l'experiment 1 tenint en compte les conclusions obtingudes. Aquesta vegada utilitzaré el doble de gelatina, és a dir 10g i remenaré constantment amb una vareta de vidre mentre decanto el medi de cultiu a les plaques de Petri. Cal tenir en compte que el paper de filtre ha d'estar saturat i no xop de l'extracte de la planta, ja que sinó, el líquid s'espargarà per la superfície i no podrem analitzar d'una forma acurada les propietats antifúngiques de cada substància. Finalment, deixaré les plaques de Petri obertes i en un lloc càlid.

Materials: un vas de precipitats de 250 mL, 6 càpsules de Petri esterilitzades, una placa calefactora de laboratori, una balança granetari, paper de filtre i una vareta de vidre.

Reactius: 10g de gelatina en pols i mitja pastilla de caldo de pollastre.

Procediment: pesar 10g de gelatina a la balança granetari. Posar 200 mL d'aigua de l'aixeta a un vas de precipitats de 250 mL i escalfar la solució a la placa calefactora. Quan l'aigua bull, posar la gelatina i la mitja pastilla i mantenir la solució en ebullició durant 10 minuts i a la vegada, remenar amb una vareta de vidre constantment. Un cop tenim el medi de cultiu preparat, s'ha de seguir remenant amb la vareta de vidre i decantar la mescla a les plaques. Deixar les plaques en contacte amb l'aire fins que aquestes se solidifiquin sota un encenedor d'alcohol, per tal que el medi d'aquestes no es contameni abans de cultivar els fongs i bacteris tal i com s'ha explicat en l'experiment anterior. Un cop el medi de cultiu està sòlid, tocar la superfície de cada placa amb la punta dels dits bruts que anteriorment hem passat per mànecs i bitllets. Posteriorment, retallar sis circumferències de paper de filtre d'1 cm de diàmetre aproximadament. Saturar cinc papers de filtre amb maceració en metanol, maceració en etanol, hidrolat, infusió i oli essencial 100%, conservar un paper sense res que serà el grup control. Posar-les en un lloc càlid i destapades.

Observacions: tres dies després de realitzar l'experiment es pot observar l'aparició de fongs verdosos a les plaques de Petri. No s'han format halos al voltant de les circumferències de paper, sinó que els fongs han format colònies en llocs puntuals i inclús a sobre del paper en les plaques amb maceració metanòlica, hidrolat i en el grup control. La placa d'infusió³⁹ presenta

³⁹ Veure fotografia annex 14.6.2



una quantitat de fongs molt per sota del grup control, la placa amb oli essencial⁴⁰ una petita disminució en comparació amb la placa de Petri grup control⁴¹, les dues plaques amb l'extracte de maceració⁴² no mostren diferència entre elles ni amb el grup control o potser una ínfima i no representativa disminució en la concentració de microorganismes i finalment, l'hidrolat⁴³ potencia d'una manera substancial la concentració de fongs al medi de cultiu.

Conclusions: la infusió de *Ruda Chalepensis* és antifúngica d'una manera representativa. L'oli essencial i la maceració amb etanol i metanol no afecten el cultiu de fongs d'una forma important i finalment, l'hidrolat potencia molt el creixement i el desenvolupament de colònies de fongs; hi ha dos possibles hipòtesis per explicar aquest fet. La primera hipòtesi es basa en que potser l'hidrolat s'havia contaminat des de la seva extracció. La segona, que en fer la destil·lació de ruda, una gran part dels alcohols que formen l'hidrolat s'haguessin evaporat i que aquest estés compost bàsicament per l'aigua resultant de la destil·lació. Aquesta aigua, que també havia arrossegat part de la brutícia de la planta podria ja transportar microorganismes i a més, aportar humitat al medi de cultiu que afavoriria el creixement de fongs.

Podem determinar que no s'observen bacteris i que només podem diferenciar colònies de fongs en el medi de cultiu perquè aquests viuen i es desenvolupen a la temperatura ambient (25°C). Els bacteris també, encara que es desenvolupen i creixen de tal manera que són observables a ull nu quan es troben a T més elevades.

El medi de cultiu té una textura gelatinosa i perfecta quan s'utilitzen 10g de gelatina, 200mL d'aigua de l'aixeta i mitja pastilla de caldo de pollastre.

Per tal que els resultats siguin òptims, en el pròxim experiment seré més acurada pel que fa a mantenir estèrils les càpsules abans de posar-hi el medi de cultiu i també en desinfectar l'estri amb el que tallaré i agafaré les circumferències de paper.

⁴⁰ Veure fotografia annex 14.6.2

⁴¹ Veure fotografia annex 14.6.2

⁴² Veure fotografia annex 14.6.2

⁴³ Veure fotografia annex 14.6.2



11. Capacitat antibacteriana de la ruda en plaques de Petri

En l'apartat anterior només s'han apreciat fongs als medis de cultiu i s'ha extret la conclusió de que l'absència de bacteris és deguda a que aquests es reproduïen i es desenvolupen més ràpid quan es troben a temperatures d'entre 32°C i 37°C. S'ha de tenir en compte que el grup dels bacteris és molt ampli i complex i que n'hi ha que es poden adaptar a temperatures baixes, entre 5°C i 20°C, i n'hi ha que necessiten temperatures altes, entre 40°C i 90°C, per a poder desenvolupar-se. El més normal, però, és que les temperatures elevades els matin, que les fredes inhibeixin el seu creixement i que les temperatures mitjanes afavoreixin la seva reproducció i el seu desenvolupament.

11.1. Experiment 1

En aquest experiment utilitzaré les mateixes quantitats de reactius que en l'apartat anterior, amb la diferència que aquest cop faré servir bastonets de les orelles amb els que captaré els fongs i bacteris de l'ambient enlloc de fer-ho amb les mans. Al nostre laboratori no disposem d'una estufa i és per això que un cop les plaques estaran cultivades, es taparan amb una manta elèctrica per tal d'aconseguir la temperatura de 37°C, òptima per al creixement de bacteris⁴⁴. A més, per tal que totes les circumferències de paper de filtre comparteixin el mateix diàmetre utilitzaré un perforador de fulls prèviament desinfectat. S'espera que el creixement de bacteris inhibeixi en part el de fongs ja que entre aquestes dues espècies es realitzarà una relació biòtica de competència per explotació, ja que es disputaran la matèria orgànica, és a dir, els nutrients. Novament, ens hem trobat amb el problema de que és impossible precisar l'espècie dels bacteris o fongs que cultivem ja que no disposem de la instrumentació necessària.

Materials: un vas de precipitats de 250 mL, 6 càpsules de Petri esterilitzades, una placa calefactora de laboratori, una balança granetari, paper de filtre, una vareta de vidre, un perforador de paper, 6 gases esterilitzades, termòmetre i una manta calefactora.

Reactius: 10g de gelatina en pols, mitja pastilla de caldo de pollastre, hidrolat, oli essencial, infusió, maceració amb etanol i maceració amb metanol.

Procediment: pesar 10g de pols de gelatina neutra a una balança granetari. Posar 200mL d'aigua de l'aixeta en un vas de precipitats de 250mL i portar-la a ebullició amb una placa calefactora. Quan s'està produint l'ebullició afegir 10g de gelatina i mitja pastilla de pollastre a

⁴⁴ Veure fotografia annex 14.7.1



la solució. Remenar constantment i mantenir la mescla en ebullició durant 10 minuts. Obrir les plaques de Petri i disposar-les circularment al voltant d'un encenedor d'alcohol i les tapes al voltant d'un altre. Passat el temps que requeria la preparació del medi de cultiu, remenar la mescla i a la vegada decantar-ne una petita part a cada placa. Un cop el medi de cultiu està preparat, s'ha d'esperar el temps aproximat de dues hores com a mínim per tal que el medi se gelifiqui. Un cop el medi ha gelificat, amb els bastonets de les orelles tocar tota mena d'objectes com mànecs de portes i el teclat de l'ordinador, entre d'altres, tal i com s'ha explicat en els darrers experiments. Posteriorment, utilitzar el perforador amb un paper de filtre per tal d'aconseguir sis circumferències de dimensions idèntiques. Saturar cada paper de filtre amb l'extracte corresponent i posar-lo a la seva respectiva placa de Petri. Disposar les plaques tapades sota una manta elèctrica, intentar mantenir la T per sota dels 37°C i deixar en repòs 24h com a mínim.

Observacions: el medi de cultiu s'ha liquat⁴⁵ i el paper de filtre ha quedat submergit. És un procés químic reversible ja que un cop traiem les plaques de sota la manta elèctrica i esperem uns minuts, el medi de cultiu es refreda i es gelifica. Si aleshores tornem a posar les plaques sota la manta elèctrica, el medi tornarà a liquar-se.

Conclusions: un medi de cultiu el gelificant del qual és la gelatina, no es pot escalfar a més de 35°C ja que la T de fusió d'aquesta oscil·la entre els 25°C i els 35°C depenent de la seva composició. Per tant, és indispensable canviar de substància gelificant si es vol prosseguir amb aquest experiment, ja que requereix una T aproximada de 35°C, que permetrà als bacteris reproduir-se i formar colònies d'una manera més ràpida.

En els laboratoris especialitzats, els creixement de bacteris es produeix en estufes de laboratori que permeten mantenir estable una T determinada. Per manca d'instrumentació, en aquest experiment, la manta elèctrica imita la funció d'una estufa. S'ha de tenir en compte, però, per experiments futurs, que no podem posar les plaques de Petri directament en contacte amb la manta, ja que sinó, podem escalfar massa els bacteris i matar-los a causa de la imprecisió a l'hora de determinar i mantenir estable una temperatura amb la manta elèctrica.

11.2. Experiment 2

El procediment d'aquest experiment serà gairebé idèntic al de l'experiment 1. Tenint en compte les últimes conclusions, però, el reactiu gelificant del medi de cultiu serà l'agar, que té

⁴⁵ Veure fotografia annex 14.7.1



una T de fusió molt més elevada que la gelatina, ja que la seva fusió es produeix a partir de 85°C. Aquest fet impedirà que la solució es liqui abans d'arribar a la T òptima per la creixement de bacteris. A més, per tal d'impedir que els bacteris morin a causa de temperatures massa elevades en estar directament en contacte amb la manta elèctrica, es construirà una imitació casolana d'una estufa de laboratori⁴⁶ amb una capsa de cartró sense tapa, amb petits forats per tal d'oxygenar l'espai, un termòmetre col·locat a l'altura en la que es troben les plaques i quatre mitges oueres que serviran de base per aquestes. A sobre de la capsa es col·locarà la manta elèctrica i una tovallola per intentar que la calor s'escapi menys i s'intentarà que la T en el seu interior sigui l'adequada.

Materials: un vas de precipitats de 250 mL, 6 càpsules de Petri esterilitzades, una placa calefactora de laboratori, una balança granetari, paper de filtre, una vareta de vidre, un perforador de paper, 6 bastonets de les orelles, una manta calefactora, unes pinces, un termòmetre i una capsa de sabates.

Reactius: 3g d'agar-agar en pols, mitja pastilla de caldo de pollastre, hidrolat, oli essencial, infusió, maceració amb etanol i maceració amb metanol.

Procediment: pesar 3g d'agar en pols a la balança granetari. Posar 200mL d'aigua de l'aixeta a un vas de precipitats de 250mL i portar la solució al punt d'ebullició. Un cop l'aigua bull, afegir mitja pastilla de caldo de pollastre i 3g d'agar. Mantenir la solució bullint durant 10 minuts i remenar constantment per tal que l'agar es dissolgui. Un cop passat aquest temps seguir barrejant la solució i decantar la mateixa quantitat del medi de cultiu a cada placa de Petri. Disposar les plaques al voltant d'un encenedor d'alcohol⁴⁷. A diferència de la solució amb gelatina, la solució amb agar va gelificar molt més ràpid, només va requerir el temps de 15 minuts. Un cop passat aquest temps, infectar el medi de cultiu amb bacteris i fongs extrets amb bastonets de les orelles d'interruptors, el teclat de l'ordinador i el tub de l'aixeta, entre d'altres llocs. Posteriorment, perforar un paper de filtre i saturar les sis circumferències amb cada extracte de la planta. Col·locar les sis circumferències de paper de filtre amb els diferents extractes de planta a cada placa de Petri. Posar les sis plaques sense tapa a sobre d'una superfície elevada formada per quatre mitges parts d'oueres, per tal de mantenir les plaques a l'alçada de la meitat de la capsa, on la T és la mitjana. Enganxar un termòmetre al lateral de la

⁴⁶ Veure fotografia annex 14.7.2

⁴⁷ Veure fotografia annex 14.7.2



capsa de cartró i foradar aquesta per tal que es pugui produir la ventilació del seu interior i la T no ascendeixi massa. Col·locar la capsa a sobre de les oueres, que quedaran a mitja altura per tal que la T en aquest punt sigui la mitjana i més estable. Finalment, tapar la capsa amb la manta elèctrica i observar que la T dins d'aquesta sigui d'aproximadament 37°C i graduar-la consegüentment.

Observacions: el medi de cultiu de les plaques de Petri s'ha assecat i solidificat⁴⁸, és possible inclús trencar-la ja que aquesta és molt fina; a més, també s'ha separat de les plaques. La quantitat de medi de cultiu després de realitzar l'experiment és inferior a la inicial. Han aparegut unes concentracions de material de color groguenc⁴⁹ i uns punts blancs molt definits⁵⁰ que poden ser molt possiblement colònies de bacteris. Segurament, hi ha bacteris al medi de cultiu de les plaques, el problema, però, és que aquests no es manifesten d'una manera clara. Per aquesta raó, no es pot determinar amb exactitud si les agregacions de substàncies i els petits punts que es troben a les plaques, són residus de la pastilla del brou juntament amb bacteris o són colònies de bacteris solament.

No hi ha cap diferència entre els resultats a les diferents plaques. No s'observa cap efecte dels extractes diferents a cada placa ni presència d'halos. Per aquesta raó, podem determinar que els diferents extractes de la planta no són antibiòtics o antifúngics per els bacteris o fongs extrets dels llocs indicats anteriorment.

Conclusions: la falta d'humitat dins la caixa ha sigut possiblement la causa per la qual els medis de cultiu s'han assecat i han perdut la seva textura gelatinosa, ja que gran part de l'aigua del medi s'ha evaporat.

No han sortit els resultats esperats perquè les condicions no eren les més adequades. La capsa de cartró imitava l'efecte de l'estufa però resultava difícil mantenir-hi la temperatura constant. A més, no podem determinar amb exactitud el que realment ha sortit a cada placa perquè no disposem del material necessari.

⁴⁸ Veure fotografia annex 14.7.2

⁴⁹ Veure fotografia annex 14.7.2

⁵⁰ Veure fotografia annex 14.7.2



Les condicions d'esterilitat dels materials utilitzats no han estat les més adequades ja que ni els papers de filtre ni les pinces amb les que posteriorment es van agafar no estaven desinfectades.

11.3. Experiment 3

En aquest experiment es disposarà d'una estufa per tal de fer créixer bacteris d'una manera més adequada que amb la capsa de sabates i la manta tèrmica. Aquesta vegada, a més, es prendran mesures més rigoroses alhora d'esterilitzar el material i la font dels bacteris serà un iogurt diluït, que ens proporcioni la certesa del gènere de bacteris que posteriorment s'estudiaran. Alguns iogurts contenen bacteris del gènere *bifidobacterium*, que d'una manera col·loquial es coneixen amb el nom de bifidus actius. Aquests bacteris són un dels gèneres de bacteris que habita a la flora intestinal i ajuda a fer la digestió. En aquest experiment es vol determinar si algun extracte de la ruda tindrà efectes sobre aquests microorganismes. Les proporcions de reactius per a preparar el medi de cultiu seran idèntiques a l'experiment anterior. Les plaques cultivades amb els bacteris es deixaran a l'estufa durant 26h.

Materials: un vas de precipitats de 250 mL, 6 càpsules de Petri esterilitzades, una placa calefactora de laboratori, una balança granetari, paper de filtre, una vareta de vidre, un perforador de paper, unes pinces, 6 bastonets de les orelles, una estufa i un forn.

Reactius: 3g d'agar-agar en pols, mitja pastilla de caldo de pollastre, hidrolat, oli essencial, infusió, maceració amb etanol, maceració amb metanol i iogurt amb bifidus actius.

Procediment: primerament pesar 3g d'agar-agar en pols a la balança granetari. Posar 200mL d'aigua de l'aixeta a un vas de precipitats de 250mL i portar la solució al punt d'ebullició. Un cop l'aigua bull, afegir 5g de pastilla de caldo de pollastre i 3g d'agar. Mantenir la solució en ebullició durant 10 minuts i remenar constantment per tal que l'agar es dissolgui. Passats els 10 minuts remenar i decantar el medi a cada placa de Petri intentant que la quantitat en cada una sigui idèntica. Esperar 15 minuts a que l'agar-agar se gelifiqui. Posar un iogurt amb bifidus actius a un vas de precipitats, diluir-lo amb aigua de l'aixeta i remenar. Posteriorment, mullar un bastonet de les orelles a la dissolució de iogurt i desplaçar-lo en ziga-zaga per la superfície d'una de les plaques de Petri. Realitzar aquest procés a totes les plaques de Petri, per tal de cultivar els bacteris. Resulta primordial desinfectar els papers de filtre i les pinces amb les que els agafarem i els posarem al mig de les plaques. Amb una perforador de fulls, definir sis circumferències de paper de vidre i posteriorment, posar-les al forn a 100°C durant 10 minuts



per tal d'eliminar qualsevol microorganisme que les hagués contaminat. Posteriorment, cremar la punta de les pinces a un fogonet i anar amb compte de no cremar-se ja que el ferro és una material molt conductor de la calor. Obrir amb el menor temps possible el forn, per tal que l'oxigen infecti el mínim possible les circumferències del paper de filtre. Emprar les pinces per agafar una de les circumferències de paper i saturar-la d'un dels extractes de la ruda. Finalment, situar el paper de filtre al mig de la placa de Petri. Repetir aquest procediment per a cada placa de Petri. Per acabar, posar les plaques de Petri tapades i girades a l'estufa i esperar 26h.

Observacions: totes les plaques presenten tant colònies de fongs com de bacteris. També han aparegut uns petits punts blancs en totes les plaques de Petri, que és molt possible que siguin solament bacteris. La placa de Petri amb infusió⁵¹ presenta una colònia molt ben definida a prop del paper de filtre, que es mostra en ziga-zaga i zones blanquinoses disposades heterogèniament per tota la superfície. Les plaques de Petri amb maceracions amb metanol⁵² i etanol⁵³ no mostren cap diferència substancial entre elles. En aquestes plaques han aparegut colònies de fongs i bacteris circulars i molt ben definides. A la placa de Petri amb oli essencial⁵⁴ podem observar també colònies de fongs i bacteris disposats irregularment per tota la superfície. El fet més substancial d'aquestes observacions, que fins ara no han aportat cap informació essencial, és que únicament a la placa de Petri grup control⁵⁵, és a dir, sense cap extracte, han aparegut en ziga-zaga uns punts ataronjats que són indiscutiblement bactèries. La placa de Petri amb hidrolat presenta una colònia de fongs i bacteris molt important al voltant del paper de filtre.

Conclusions: totes les plaques presenten molta contaminació de fongs i bacteris a la superfície. En cap placa s'ha produït una inhibició del creixement ni dels bacteris ni dels fongs. És possible que no s'hagin obtingut els resultats esperats o bé perquè el disc de paper de filtre no estava prou impregnat o bé perquè les plaques es van contaminar.

⁵¹ Veure fotografia annex 14.7.3

⁵² Veure fotografia annex 14.7.3

⁵³ Veure fotografia annex 14.7.3

⁵⁴ Veure fotografia annex 14.7.3

⁵⁵ Veure fotografia annex 14.7.3



Tal i com s'ha explicat a l'apartat de farmacologia de la ruda, aquesta planta té propietats antibacterianes contra el bacteri *Staphylococcus aureus*. Els bacteris del iogurt que hem cultivat són *Bifidobacterium animalis*. En les plaques, per tant, hi són presents bacteris però en cap cas el bacteri *Staphylococcus aureus*, que és un patògen no desitjat. Cal remarcar que els *bifidobacterium* presenten unes característiques molt diferents als *Staphylococcus* i que és molt probable que per aquesta raó, la ruda no manifesti cap efecte envers els microorganismes que han aparegut a les plaques. No es pot determinar quina classe de bacteris són els que presenta la placa grup control però el fet que hagin sortit en aquesta placa és molt probablement fruit de l'atzar o d'una contaminació de la placa.



12. Conclusions

La ruda és una planta medicinal que creix salvatge en el nostre entorn però, en canvi, és desconeguda per bona part de la població. Aquest desconeixement es deu en gran mesura a que n'està prohibida la venda d'oli essencial i de fulles.

La ruda és increïblement alleugeridora dels freqüents i habituals dolors menstruals, per la qual cosa seria aconsellable el seu ús com a teràpia convencional. Tanmateix, això no succeeix. Segons algunes opinions recollides, és possible que darrere de la mala reputació de les propietats de la planta i de la dificultat d'obtenir-ne hi hagi la defensa dels interessos de les indústries farmacèutiques. Cal destacar però, que en altes dosis és abortiva i inclús tòxica.

Aquest vegetal es troba en regions de clima mediterrani litoral i pre-litoral i, concretament, a les nostres contrades en creixen silvestres dues espècies diferents, la *Ruta Chalepensis* i la *Ruta Montana*. En general, podríem afirmar que es una planta forta, molt aromàtica, de tija llenyosa a la part inferior i fulles petites i cintiformes. Bàsicament, creix en hàbitats normalment secs i envoltada d'altres plantes o arbusts o a les vores pedregoses dels camins. La ruda, aporta un ampli ventall de beneficis per la salut ja que presenta un ventall de principis actius molt ampli que confereixen a la planta característiques molt extenses i heterogènies. En concret, la ruda destaca per la seva activitat antifúngica, antitumoral, antiinflamatòria, antihelmíntica, antibiòtica, anticoagulant, antiespasmòdica, abortiva i algicida.

Per tal d'extreure les substàncies actives de les plantes, la tècnica més eficaç i utilitzada en la fitoteràpia és la extracció amb dissolvents, procés que permet extreure els principis actius solubles de la planta en un dissolvent determinat. En aquest treball he après a realitzar la maceració de la ruda amb dos dissolvents diferents, el metanol i l'etanol.

Per tal d'extreure'n l'oli essencial, la forma més utilitzada és la destil·lació per arrossegament de vapor. Aquest és un procés lent que en el cas de la ruda ens permet obtenir aproximadament 3 mL /200g d'essència o oli essencial pur. També s'ha realitzat l'extracció de principis actius solubles en aigua mitjançant la infusió, potser el mètode d'extracció de principis actius més conegut i que s'utilitza d'una forma més àmplia entre la població. Cal destacar, que les dificultats en obtenir la matèria vegetal de la ruda, dificulten la possibilitat de fer una infusió amb aquesta planta.



Els principis actius de les plantes són compostos orgànics que es troben sobretot a les fulles i a les tiges, encara que la seva localització depèn de l'espècie de la planta. Aquestes substàncies no influeixen directament en el metabolisme de la planta, i per tant, poden sobreviure sense els principis actius encara que atorguen a les plantes la capacitat de defensar-se contra insectes, bacteris i fongs, entre d'altres organismes. Es pot afirmar, per tant, que els principis actius són els antibiòtics que generen els propis vegetals.

El món dels principis actius és molt complex i ampli, per aquesta raó em vaig centrar en els que conté la ruda. La ruda conté bàsicament una part molt important de flavonoides, que són el subgrup més important dins del gran apartat dels fenols. Químicament els flavonoides estan compostos per dos anells benzènics units per mitjà d'un anell heterocíclic. En la ruda, la majoria de flavonoides no es troben aïllats sinó que apareixen formant heteròsids, és a dir units a un disacàrid que pot ser glucosa o rutinosa, entre d'altres. A més, però, també conté quinones, tanins, terpens i cumarines, aquestes últimes també formant glicòsids. La formació en glicòsids o glucòsids en el cas que el disacàrid sigui la glucosa, atorga solubilitat al compost ja que en el cas dels flavonoides, quan es troben sols, majoritàriament no són solubles.

El rutòsid és un heteròsid o glucòsid flavonoide que destaca per la seva capacitat vasodilatadora i protectora dels capil·lars i les venes, sent possiblement el principi actiu més important de la ruda. Aquest principi actiu disminueix la permeabilitat de les venes afavorint d'aquesta manera la bona circulació de la sang, ajuda a disminuir el risc de malalties cardíaques, dificulta la formació de coàguls i l'aparició de trombosi a les venes, té propietats antiinflamatòries i antitussígenes, presenta capacitat anticancerosa, antioxidant, antiespasmòdica i antibiòtica, entre d'altres.

Per totes aquestes característiques, la ruda té un gran interès farmacològic i és una substància que cal destacar en medicaments del grup de varicosos sistèmics que disminueixen els símptomes de les deficiències del sistema cardiovascular com les hemorràgies, les varius i els edemes. A més, el rutòsid es troba també en són complexos vitamínics i medicaments que tracten les patologies cognitives de la gent gran, encara que aquests són una minoria.

Per tal de determinar d'una manera qualitativa si en els diferents extractes de la ruda hi és present el rutòsid he realitzat dos tipus de reaccions de coloració que m'han permès concloure si hi ha en cada extracció heteròsids flavonoides. En la reacció de Shinoda els resultats no foren els esperats, bé perquè la concentració de flavonoides no era suficientment alta o bé



perquè és una reacció que no es eficaç amb la ruda. Tot i així, la reacció amb el reactiu NaOH va donar un resultat positiu en els extractes alcohòlics, fet que permet concloure que com a mínim, la maceració metanòlica i etanòlica de la planta conté rutòsid. La infusió no va donar positiu possiblement perquè el rutòsid es va hidrolitzar a causa de l'elevada temperatura i la quercetina va esdevenir insoluble i l'oli i l'hidrolat tampoc perquè com que el rutòsid no és un principi actiu volàtil és molt probable que no l'haguéssim extret mitjançant la destil·lació per arrossegament de vapor.

Després de realitzar diversos experiments podem afirmar que els extractes de la ruda que tenen una capacitat antifúngica més gran són la infusió i l'oli essencial. Les dues maceracions no mostren efecte envers els fongs i l'hidrolat, possiblement perquè estava contaminat, és a dir, que contenia brutícia i microorganismes, o perquè estava compost eminentment per aigua permetia que aquests es desenvolupessin més ràpid degut a la humitat que aportava al medi. Pel que fa a l'activitat antibacteriana, es pot afirmar que no hi ha cap extracte de ruda que inhibeixi o que sigui antibiòtic per als bacteris propis del iogurt.

La recerca inicial estava centrada en la determinació de la quantitat de rutòsid en diferents extractes de la planta. Aquesta part, però, no es va poder realitzar perquè no va ser possible accedir a cap laboratori especialitzat. En un futur, m'agradaria complementar les meves conclusions del treball de recerca amb les dades i les proporcions que podria obtenir estudiant d'una manera quantitativa el rutòsid i els principis actius de la ruda.



13. Bibliografia

13.1. Llibres

BENITO PEINADO, José, CALVO BRUZOS, Socorro, GÓMEZ CANDELA, Carmen i IGLESIAS ROSADO, Carlos. *Alimentación y nutrición en la vida activa: ejercicio físico y deporte*, Madrid, Universidad Nacional de educación a distancia, 2014.

BENTON JONES, J. *Laboratory guide for conducting soil tests and plants analysis*, Florida, CRC Press, 2000.

BOADA, Martí i ROMANILLOS Teresa. *Les plantes tòxiques de Catalunya*, Barcelona, Pòrtic natura, 12 d'octubre de 2009.

CASTILLO GARCÍA, Encarna i MARTÍNEZ SOLÍS, Isabel. *Manual de fitoterapia*, Barcelona, Elsevier Masson, 2007.

CAÑIGUERAL, Salvador i VANACLOCHA, Bernat. *Fitoterapia, vadevécum de prescripciónn*, Barcelona, Elsevier Masson, 2003.

D. PAMPLONA, Roger Jorge. *Enciclopedia de las plantas medicinales*, Madrid, Safeliz, 2001.

FONT i QUER, Pío. *El dioscórides renovado*, Barcelona, Península, 1999.

FORÈS, Ramón. *Atlas de la plantas medicinales i curativas*, Mostoles, Cultural, 1996.

GAUSACHS, Ramon. *Les herbes remeieres Vol II*, Barcelona, Rafael Dalmau, 2007.

GINER, M.Rosa i MÁÑEZ, Salvador. *Farmacognòsia: de la natura al medicament*, València, Universitat de València, 2005.

HASEGAWA, Masahisa i MARCANO Deanna. *Fitoquímica orgánica*, Venezuela, Editorial Torino, 2002.

MUÑOZ, Fernando. *Plantas medicinals y aromáticas*, Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, 2002.

TAIZ, Lincoln i ZEIGER, Eduardo. *Plant physiology, third edition*, Sunderland, Sinauer Associates, 2002.



13.2. Webgrafia

ABOUT.COM. *Drugs from plants, Ethnobotany & Chemistry*,

<<http://chemistry.about.com/library/weekly/aa061403a.htm>>

ALONSO, Ma. José. *Les plantes medicinals*, [pdf],

<http://www.mgc.es/downloads/PDF/setmanes/setmana_ca_200804_01.pdf>

ASTURNATURA. *Ruta Chalepensis*, <<http://www.asturnatura.com/especie/ruta-chalepensis-subsp-bracteosa.html>>

ARRAIZA, M.Paz. *Principios activos en plantas medicinales y aromáticas*, [pdf],

<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/industrial-utilization-of-medicinal-and-aromatic-plants/contenidos/temario/Unit-4/principios_activos.pdf>

AVILA ILLANES, Juan Antonio, BALDERRAMA, Luisa, ESTEVEZ MARTINI, Tito i JIMÉNEZ, Alberto.

Determinación de flavonoides con actividad comercial en la Ruta Chalepensis, ruda, [pdf],

<<http://www.ops.org.bo/textocompleto/rnbiofa93020204.pdf>>

AZUCENA ROMERO, Mary. *Farmacognosia*, [prezi],

<<http://prezi.com/kl3jrqm3xlve/farmacognosia-aceites-esenciales/>>

BIOSORO. *Rutaceae*, <<http://biosoro.wordpress.com/2010/12/12/rutaceae/>>

BOTANICAL-ONLINE. *Flavonoides de la cebolla*, <<http://www.botanical-online.com/medicinalesquercetina.htm>>

– *Flavonoides de los cítricos*, <<http://www.botanical-online.com/medicinalesrutina.htm>>

BOTICA.INFO. *Medicamentos que contienen troxerutina*,

<<http://www.botica.info/principiosactivos/troxerutina>>

BUSTINZA, F. i CABALLERO LOPEZ, A. *Obtención de rutina y quercetina y contribución al estudio de sus propiedades antibacterianas*, [pdf], <dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2969770.pdf>

CARRIOFARMA. *Farmacognosia*, <http://www.slideshare.net/Quimio_Farma/farmacognosia-16219821>



ERASALUD. *Vitamina P*, <<http://www.directoriomedico.com.ve/guias/vitaminas/p/>>

ESCOLA PIA DE TERRASSA. *Què són els principis actius?*,
<<https://sites.google.com/a/terrassa.epiaedu.cat/plantes-medicinals-i-p/que-son-els-principis-actius>>

FLORA CATALANA. *Ruta Chalepensis L.* <<http://www.floracatalana.net/ruta-chalepensis-l->>

GIMÉNEZ INVERNÓN, Judit. *Projecte de cultiu ecològic de planta aromàtica i medicinal i avantprojecte d'assecador a la finca de Mas Teulera, al municipi de Lladó, l'Alt Empordà*, [pdf],
<<http://dugi-doc.udg.edu/bitstream/handle/10256/4339/3Annexos.pdf?sequence=3>>

HEALTH24. *The active constituents of herbs*, <<http://www.health24.com/Natural/Herbs/Why-herbs/The-active-constituents-of-herbs-20120721>>

HOLADOCTOR. *Rutina*, <<http://holadoctor.com/es/hierbas-y-suplementos-a-z/rutina-c27h30o16>>

MARTÍNEZ, Alejandro. *Flavonoides*, [pdf], <<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001>>

NATUREDUCA. *Plantas medicinales, los principios activos*,
<http://www.natureduca.com/med_sustanc_glucosidos3.php>

OLMEDO, Dionisio. *Farmacognosia y fitoterapia*,
<<http://www.slideshare.net/dionisioantonio/apuntes-modulo-farmacognosia-tecnico>>

RAMAN AGARWAL, Radha. *Chemical analysis of indian medicinal plants. The active principle and other constituents of Funaria officinalis Bedd.*, [pdf],
<http://www.new1.dli.ernet.in/data1/upload/insa/INSA_1/20005b8f_319.pdf>

REDNATURALEZA. *Ruta montana*,
<<http://www.rednaturaleza.com/plantas/directorio/ref/ruta-montesina-ruta-montana>>

SANTOS CARRILLO, Marlon Alberto. *EVALUACIÓN DEL RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL DE HINOJO (Foeniculum vulgare Miller) PROCEDENTE DE DOS NIVELES ALTITUDINALES DE GUATEMALA*, [pdf], <http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1009_Q.pdf>



SEUMA AREÑAS, Mireia. *A l'entorn dels medicaments* [pdf],
<http://secundaria.uvic.cat/_treballs/056b3904cd15c142651fe038e6e71cec6451e954_A%20I%27entorn%20dels%20medicaments.pdf>

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA. *Introducción al metabolismo secundario*, [pdf],
<<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/shikimico.pdf>>

UNIVERSIDAD DEL PAIS VASCO. *Curso de biomoléculas, los glicósidos flavonoides*,
<<http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c4.htm>>

UNIVERSIDAD DE PIURA. *Flavonoides*, [pdf],
<<http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2009/04/TP5-GLICOSIDOS-II-2011-F.pdf>>

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID. *Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales, los principios activos de las plantas medicinales y aromáticas*, [pdf],
<<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema6.pdf>>

– *Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales, aceites esenciales*, [pdf],
<<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>>

WIKIPEDIA. *Ruta montana*, <http://es.wikipedia.org/wiki/Ruta_montana>

– *Rutina (flavonoide)*, <[http://es.wikipedia.org/wiki/Rutina_\(flavonoide\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Rutina_(flavonoide))>



14. Annexos

14.1. Annexos del punt 4

14.1.1. Imatge de la *Ruta montana*



Ruta montana

14.1.2. Imatges de la *Ruta chalepensis*



Ruta chalepensis al Pont del Diable



Ruta chalepensis al Pont del Diable



Tija llenyosa a
la part inferior.

Ruta chalepensis al Pont del Diable



14.1.3. Imatges de les fulles de la *Ruta chalepensis*

Fulles d'un color verd blau, trifoliades (amb tres folíols a la terminació), carnosos i compostes.



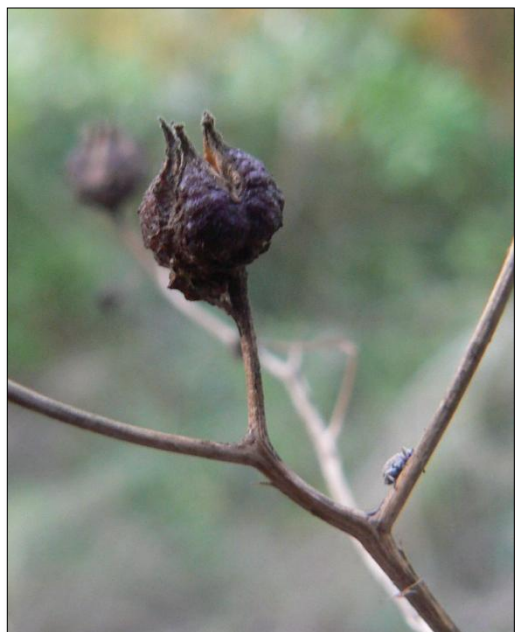
Fulla de *Ruta chalepensis* del Pont del Diable



Fulla de *Ruta chalepensis* del Pont del Diable



14.1.4. Imatge del fruit de la *Ruta chalepensis*



Fruit de *Ruta chalepensis* del Pont del Diable



Fruit de *Ruta chalepensis* del Pont del Diable

14.1.5. Imatge de l'hàbitat de la *Ruta Chalepensis*



Pont del Diable



14.2. Annexos del punt 6

En aquest apartat es mostren les imatges de la majoria de medicaments nombrats anteriorment que porten rutòsid o derivats.

- Epistaxol



- Venorugel



- Venoruton





Quan la rutina no és avorrida

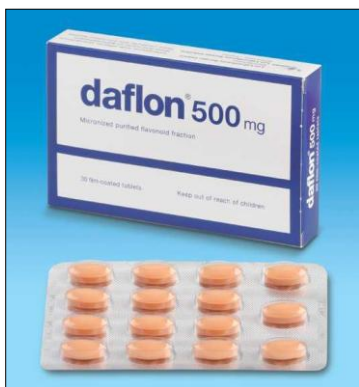
- Esberiven



- Troxerutina cinfa



- Daflon 500





Quan la rutina no és avorrida

- Gingilone



- Véliten



- Venocur triplex



- Pharmaton complex





Quan la rutina no és avorrida

- Wobenzym



- Vivioptal



- Venalot depot





- Teboven



14.3. Annexos del punt 7

14.3.1. Imatges de la destil·lació per arrossegament de vapor



Ruta montana utilitzada per a la destil·lació



Disposició de la *Ruta montana* a l'alambí



Decantació de l'oli essencial



Quan la rutina no és avorrida



Serpentí dins del refrigerant



Ruta montana dins de l'alambí



Fase oliosa, oli essencial

Fase aquosa, hidrolat

Dues fases diferents a la dissolució

14.3.2. La maceració amb metanol



Maceració amb metanol de *Ruta graveolens*



14.3.3. La maceració amb etanol



Maceració amb etanol de *Ruta graveolens*

14.3.4. La infusió

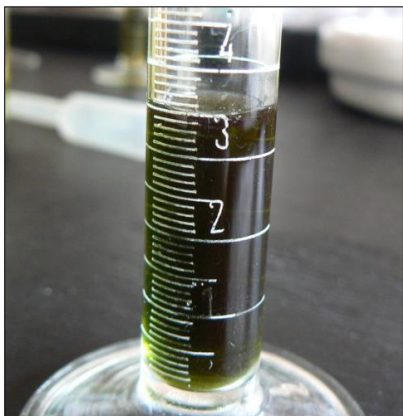


Infusió de *Ruta graveolens*

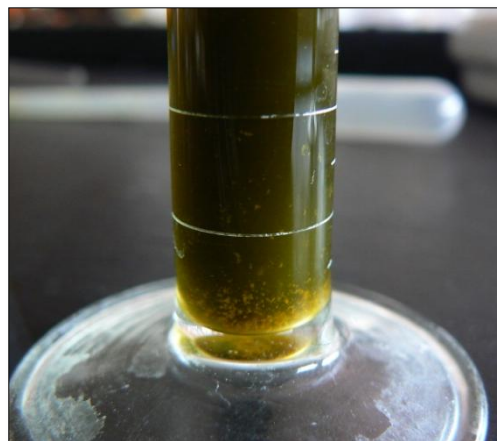
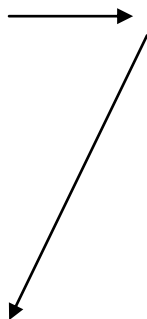


14.4. Annexos del punt 8

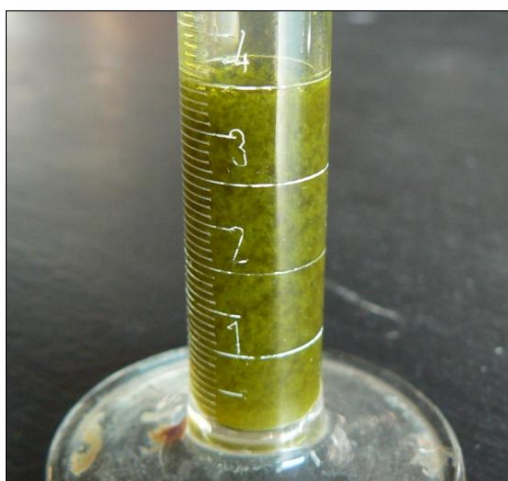
14.4.1. Experiment 3



Maceració amb etanol



Precipitació d'una sal quan la maceració amb etanol està en contacte amb NaOH



Aparició de coloració groguenca després d'agitar la mescla amb la precipitació d'una sal

14.5. Annexos del punt 9

14.5.1. Experiment 1



Colònia de fong possiblement del gènere *penicillium*, font d'on s'extrauran els fongs



Llimona banyada amb oli essencial. Aparició d'un polsim blanc, possiblement un tipus de fong



Llimona grup control



Llimona banyada amb infusió



Llimona banyada amb hidrolat



Llimona banyada amb maceració amb metanol



Interior de la llimona banyada amb maceració amb metanol



Colònia de fongs apareguda a la pell de la llimona banyada amb maceració amb metanol



14.6. Annexos del punt 10

14.6.1. Experiment 1



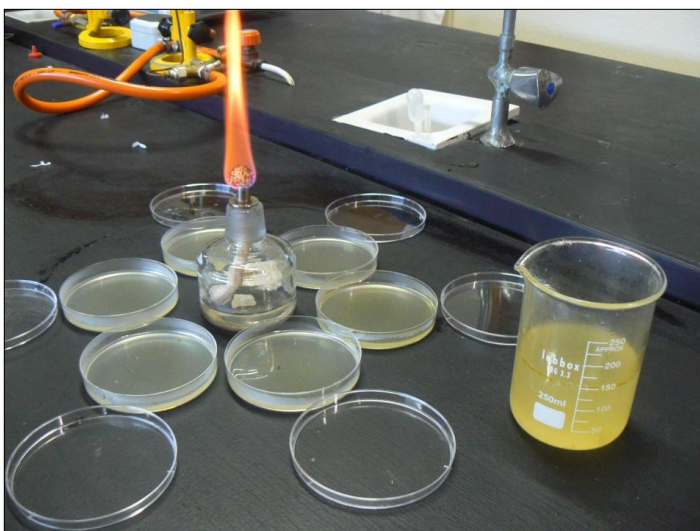
Placa calefactora i medi de cultiu



Medi de cultiu amb 5g de gelatina i mitja pastilla de caldo de pollastre



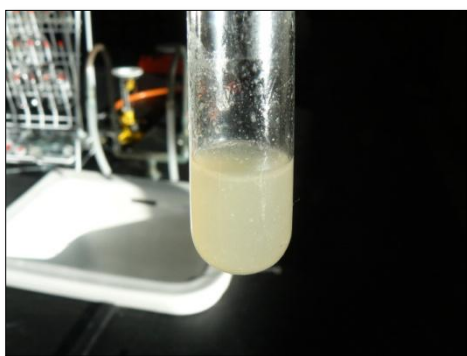
Aparició de fongs al medi de cultiu al cap de tres dies a l'aire lliure



Disposició de les plaques de Petri amb els medis de cultiu i les seves respectives tapes al voltant d'un encenedor d'alcohol per tal que mentre s'estan solidificant, no siguin alterades per fongs de l'aire



Mescla líquida i aparició d'uns discrets punts blancs, que poden ser material propi de la mescla solidificat o fongs petits.



Medi de cultiu extret de les plaques de Petri totalment homogeni. No es pot observar l'existència de fases ja que la solució era eminentment líquida.

14.6.2. Experiment 2



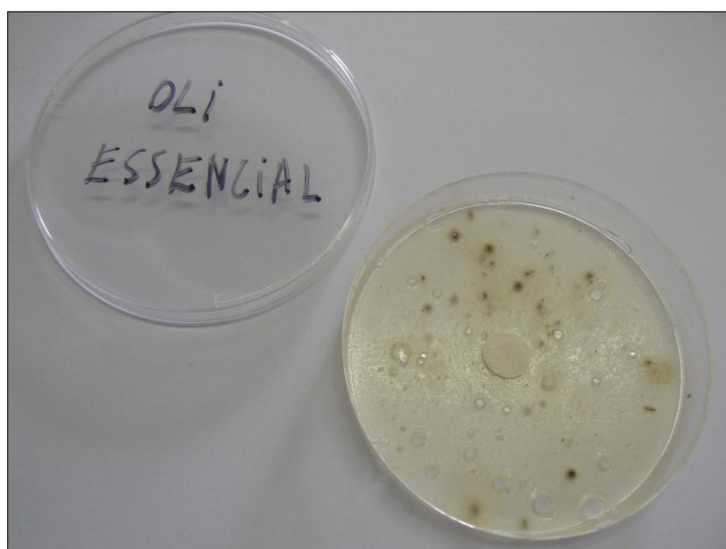
Fongs a la placa de Petri del grup control



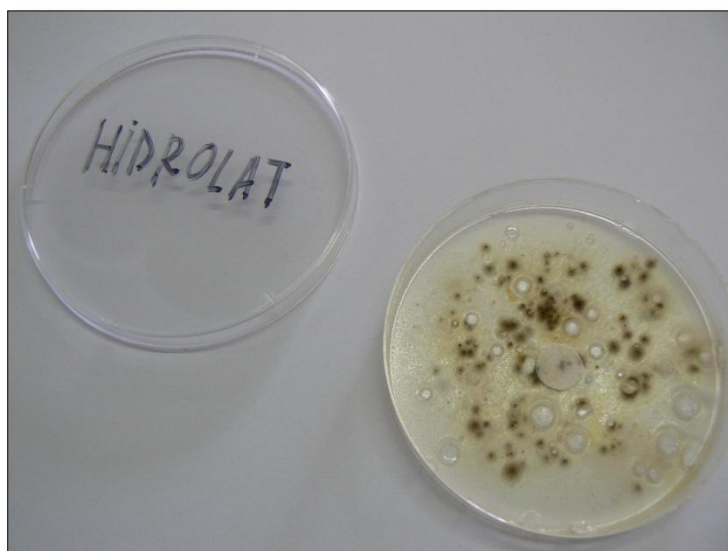
Fongs a la placa de Petri amb maceració etanòlica



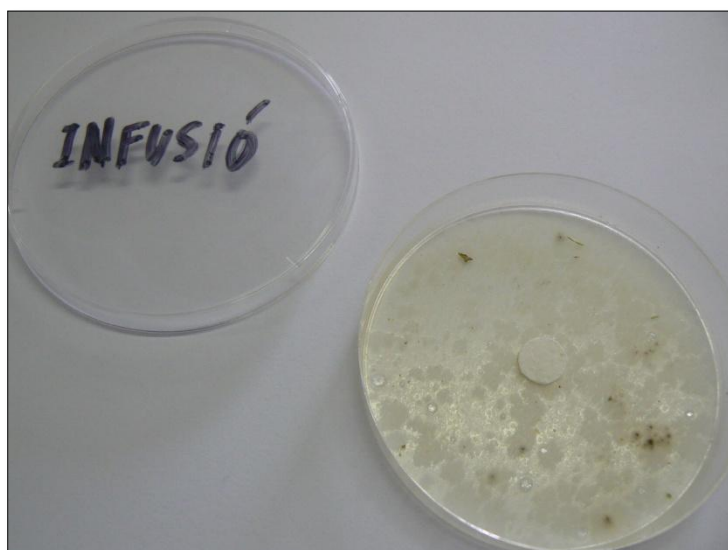
Fongs a la placa de Petri amb maceració metanòlica



Fongs a la placa de Petri amb oli essencial



Fongs a la placa de Petri amb hidrolat



Fongs a la placa de Petri amb infusió

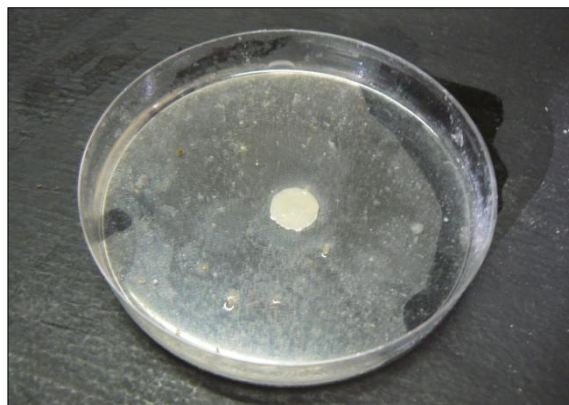


14.7. Annexos del punt 11

14.7.1. Experiment 1

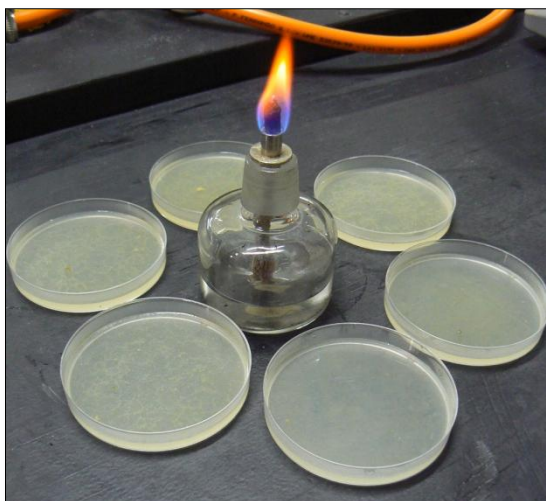


Plaques de Petri cobertes amb una manta elèctrica



Medi de cultiu amb gelatina líquid

14.7.2. Experiment 2



Solidificació dels medis de cultiu amb agar-agar al voltant d'un encenedor d'alcohol



Manta elèctrica, capsa amb petits forats i plaques de Petri disposades sobre oueres tallades per la meitat



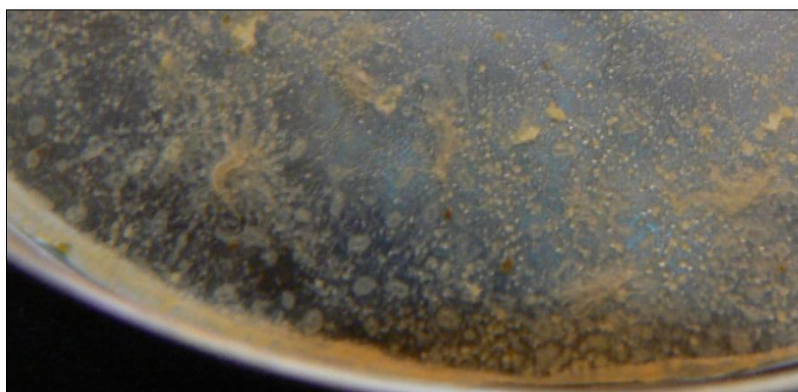
Simulació d'estufa casolana amb una capsa amb petits forats,
una manta elèctrica i una tovallola per sobre



Medi de cultiu solidificat. L'aigua que contenia
s'ha evaporat



Agregació de substàncies pròpies del
brou, molt possiblement, amb bacteris



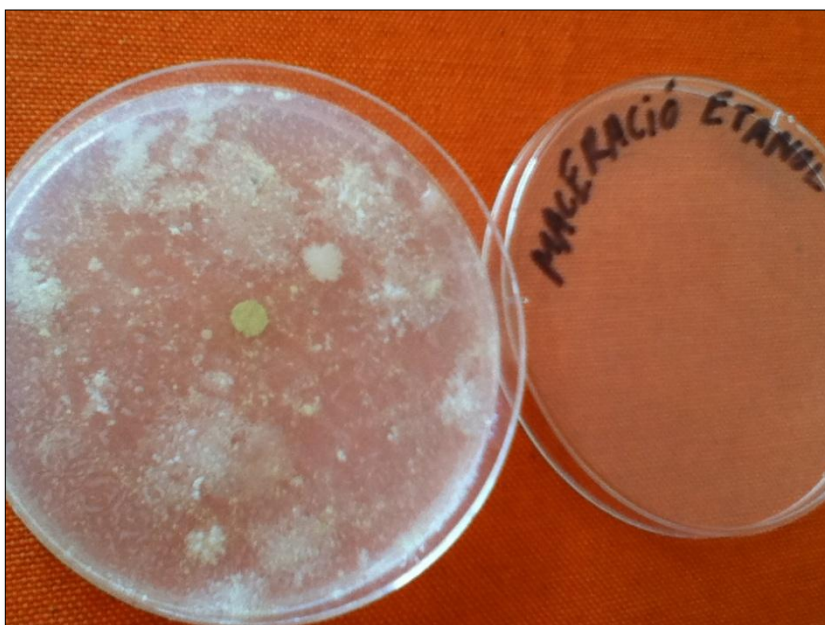
Aparició de punts blancs ben definits que possiblement són colònies
de bacteris



14.7.3. Experiment 3



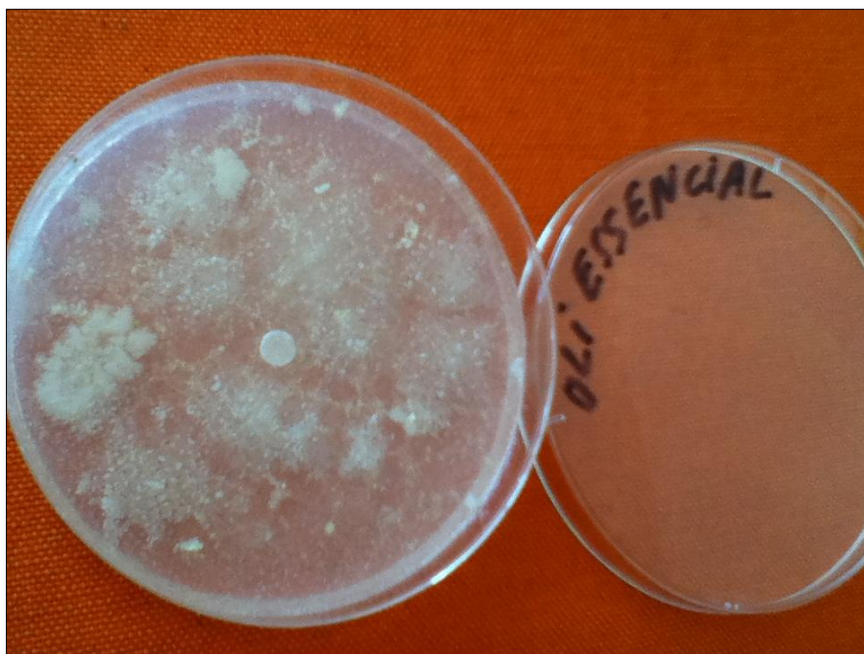
Bacteris apareguts a la placa de Petri amb infusió



Bacteris apareguts a la placa de Petri amb maceració etanòlica



Bacteris apareguts a la placa de Petri amb maceració metanòlica



Bacteris apareguts a la placa de Petri amb oli essencial



Bacteris apareguts a la placa de Petri grup control. Manifestació de bacteris circulars ataronjats



Bacteris apareguts a la placa de Petri amb hidrolat



14.8. Entrevistes

14.8.1. Entrevista a Lia Borràs, propietària de l'herbolari "Gira-sols"

- **Què coneixes de la ruda?**

La ruda és una planta que funciona molt bé quan les dones tenen dolors menstruals. Amb dues infusions o tres et passa el dolor menstrual. Tradicionalment, la ruda es feia servir per això. A més, té atribucions esotèriques i es fa servir barrejada amb romaní per a netejar les cases dels mals esperits, les energies dolentes i per a que els negocis funcionin.

- **On la podem trobar a Tarragona?**

Als voltants de Tarragona la podem trobar al Pont del Diable. A la muntanya no n'hi ha tanta, creix més a nivell de mar.

- **Quines són les preparacions més adequades per a fer servir la ruda?**

Pots fer servir la planta amb infusió i amb maceració amb qualsevol oli, deixada reposar quaranta dies a sol i serena i després friccionar sobre la zona dels ovaris.

- **Com has adquirit aquests coneixements?**

Estudiant medicina natural i dietètica.

- **Quin coneixement té la gent sobre la ruda?**

Molta gent desconeix totalment els efectes medicinals de la ruda perquè ja fa molts anys que està fora del mercat. La gent, però, sí que me la demana per a netejar cases de les males energies.

- **Com és que no es comercialitza actualment?**

Bé, estic casi convençuda que és degut a interessos farmacèutics, perquè funciona molt bé per al dolor menstrual i aleshores es deixen de vendre certs medicaments.



- **Creus que s'hauria de divulgar més les seves propietats i el seu ús?**

Jo crec que sí, perquè la gent realment la pot anar a buscar encara que no es pugui comercialitzar i fer-la servir. S'hauria de lluitar més per poder utilitzar-la, perquè l'estèbia va estar durant molt de temps prohibida i al final, a base d'insistir, s'ha fet servir. Amb la ruda passaria el mateix, el problema és que no es coneix entre la població.

14.8.2. Entrevista a Xavier Gavalrà, farmacèutic

- **Què coneixes de la ruda?**

La ruda es coneix per ser abortiva, també per ser vermífuga o antihelmíntica i per ajudar a millorar la circulació de la sang. Actualment, s'utilitza purificada en certs medicaments per a actuar sobre el sistema circulatori.

- **On la podem trobar a Tarragona?**

La podem trobar a llocs de clima mediterrani, sobretot al litoral encara que segons l'espècie la podem trobar a més alçada.

- **Quines són les preparacions més adequades per a fer servir la ruda?**

Depèn de perquè es vulgui fer servir. Com a antihemorroidal i per les varius, és a dir, per qüestions de circulació, tant amb comprimits com en pomades, encara que actualment es qüestiona el benefici de la pomada.

- **Com has adquirit aquests coneixements?**

Estudiant botànica i farmacologia.

- **Quin coneixement té la gent sobre la ruda?**

Poc, i aquell qui el té és més com a planta guaridora d'encanteris i de malefics, tal i com si fos un amulet.

- **Com és que no es comercialitza actualment?**



Per les seves propietats abortives, encara que la planta sí que es pot comprar.

- **Creus que s'hauria de divulgar més les seves propietats i el seu ús?**

Jo crec que no, encara que el saber coses sempre és bo. Com que el que es fa servir són els seus preparats purificats i en dosis adequades en medicaments, per ús corrent no crec que sigui necessari divulgar les seves propietats. Hi ha coses més interessants i més pràctiques.