

# Empleo del código de barras de ADN para la identificación de plantas medicinales

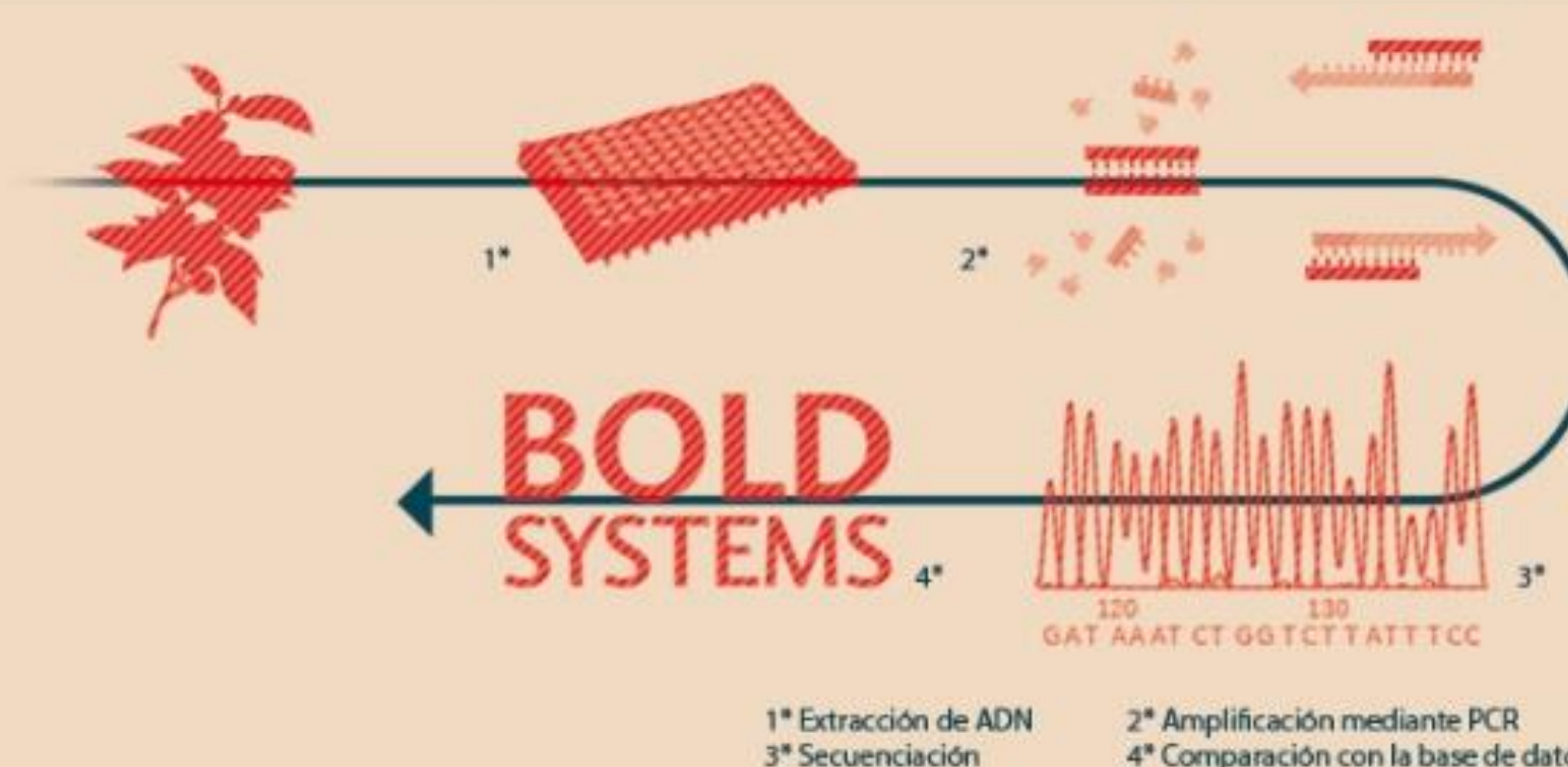
Alba Jiménez Jiménez

## Introducción

La identificación de las especies vegetales en preparados de plantas medicinales o complementos nutricionales es indispensable para la seguridad del paciente.

A pesar de los controles de calidad mediante análisis químicos y macro y microscópicos, muchas veces el material disponible no es suficiente para identificar hasta el nivel de especie de una forma precisa. Todavía se puede encontrar un porcentaje elevado de **adulteraciones** y **sustituciones** en estos preparados que escapan a los controles tradicionales [1]. Por esto se podría recurrir a la técnica denominada código de barras de ADN.

El **código de barras de ADN** pretende identificar una especie mediante un solo marcador del genoma de la célula, que sería una secuencia consensuada. Esta secuencia debe variar entre especies pero ser idéntica (o muy similar) entre todos los individuos de la misma especie. Esta secuencia ha sido difícil de determinar en plantas pero hoy en día se consideran buenos marcadores *matK*, *rbcl*, *trnH-psbA* e ITS[2,3].



## Objetivos

Evaluar estudios que se han llevado a cabo para la identificación de plantas medicinales mediante el código de barras de ADN.

Comprobar cuántas secuencias hay depositadas en la base de datos BOLD para las plantas medicinales más usadas.

¿Se podría emplear el código de barras de ADN en el análisis rutinario de plantas medicinales?.

## Material y Métodos

Revisión bibliográfica: PubMed y Web of Science. Base de datos de códigos de barras de la vida (BOLD).

## Resultados

Estudio	Metodología	Resultados	Especies Identificadas y número de secuencias depositadas en BOLD
2009 Familia Polygonaceae [4]	Marcadores: <i>trnH-psbA</i> (También útiles <i>rbcl</i> o ITS). Comparación con individuos identificados, no con base de datos.	Buena diferenciación de especies dentro de la familia.	<i>Rheum palmatum</i> (42), <i>Fagopyrum dibotrys</i> (6), <i>Polygonum cuspidatum</i> (5), <i>Rheum officinale</i> (35).
2011 <i>Panax</i> sp. [5]	Marcadores: <i>trnH-psbA</i> + ITS. Se estudiaron individuos identificados previamente, no preparados comerciales.	Buena diferenciación de especies concretas.	<i>Panax ginseng</i> (35), <i>Panax quinquefolius</i> (33), <i>Panax notoginseng</i> (32), <i>Panax stipuleanatus</i> (17), <i>Panax pseudoginseng</i> (15), <i>Panax trifolius</i> (14), <i>Panax japonicum</i> (45).
2011 Infusiones comerciales [6]	Marcadores: <i>matK</i> + <i>rbcl</i> (core barcode de CBOL). Comparación con base de datos.	Se encontraron adulteraciones e ingredientes que no estaban en el etiquetado. Escasez de secuencias de referencia.	<i>Matricaria recutita</i> (3), <i>Camellia sinensis</i> (27), <i>Glycyrrhiza glabra</i> (9), <i>Althaea officinalis</i> (6), <i>Verbascum thapsus</i> (23), <i>Lavandula stoechas</i> (7), <i>Melissa officinalis</i> (13), <i>Tevia rebandina</i> (5), <i>Tilia americana</i> (11), <i>Vaccinium myrtillus</i> (21), <i>Foeniculum vulgare</i> (27).
2012 Plantas medicinales en Marruecos [7]	Marcadores: <i>rhoC1</i> + <i>trnH-psbA</i> . Comparación de plantas medicinales compradas en tienda con individuos identificados.	Distintas especies en preparados con el mismo nombre (relacionado con diferente calidad del preparado). Potencial en la identificación de material etnobotánico	<i>Polygonum aviculare</i> (61), <i>Carlina gumnifera</i> (3), <i>Foeniculum vulgare</i> (27), <i>Colchicum autumnale</i> (13), <i>Corrigiola telephifolia</i> (0), <i>Withania frutescens</i> (2).
2012 <i>Panax ginseng</i> [8]	Marcadores: <i>matK</i> , <i>rbcl</i> , <i>trnH-psbA</i> , ITS Productos comprados en Norteamérica.	Sustitución de <i>Panax ginseng</i> por <i>Panax quinquefolius</i> . Adulteraciones y ausencia del componente activo en cinco casos. El código de barras de ADN puede mejorar su regulación, ayudó a la identificación.	<i>Panax ginseng</i> (35), <i>Panax quinquefolius</i> (33), <i>Panax notoginseng</i> (32), <i>Panax stipuleanatus</i> (17), <i>Panax pseudoginseng</i> (15), <i>Panax trifolius</i> (14), <i>Panax japonicum</i> (45).
2013 Plantas medicinales en Norteamérica [1]	Marcadores: 44 productos de 30 especies diferentes que se encontraban en el mercado. Comparación con individuos identificados (100 especies). Marcadores: <i>rbcl</i> + ITS2.	Ingredientes no etiquetados en el 59%, sustitución del ingrediente principal 32% ( <i>Hypericum perforatum</i> por <i>Senna Alexandrina</i> ), 9% solo ADN de aditivos. Contaminación por <i>Tanacetum parthenium</i> y nueces.	<i>Hypericum perforatum</i> (64), <i>Urtica dioica</i> (35), <i>Senna Alexandrina</i> (9), <i>Tanacetum parthenium</i> (8), <i>Amaranthus albus</i> (9), <i>Echinaceae purpurea</i> (11), <i>Ginkgo biloba</i> (72), <i>Juglans nigra</i> (12), <i>Plantago ovata</i> (7), <i>Taraxacum officinale</i> (36).
2013 <i>Hypericum perforatum</i> [9]	Marcadores: ITS, sin buenos resultados en amplificación. Se usaron mini-códigos de barras con primers internos.	Se pudieron amplificar todos, todos los preparados incluían <i>Hypericum perforatum</i> . Se puede incluir en el control de calidad.	<i>Hypericum perforatum</i> (64).
2013 Plantas medicinales recomendadas por la OMS [10]	Marcadores: <i>matK</i> , <i>rbcl</i> e ITS. 27 muestras de 8 especies. Se simuló el control de calidad que se llevaría a cabo con código de barras de ADN + análisis químico.	Especies no incluidas en el etiquetado. En algunos casos no había marcadores químicos con especie correcta y en otros había especie incorrecta y marcadores químicos correctos.	<i>Hamamelis virginiana</i> (15), <i>Matricaria recutita</i> (3), <i>Maytenus ilicifolia</i> (3), <i>Mikania glomerata</i> (12), <i>Panax ginseng</i> (35), <i>Passiflora incarnata</i> (7), <i>Peumus boldus</i> (57), <i>Valeriana officinalis</i> (17).

## Discusión y conclusiones

Dificultades del proceso:

- ADN dañado o degradado ▶ kits de reparación de ADN, hacer identificación antes de procesar el material, mini-códigos de barras.
- PCR inhibida por metabolitos secundarios ▶ modificaciones en extracción, primers o amplificación.
- ¿Qué marcador amplificar? ▶ mayor consenso en los últimos años.
- Escasez de secuencias en base de datos.

Casi todas las plantas medicinales utilizadas normalmente tienen varias secuencias depositadas en BOLD. Sin embargo, siempre será enriquecedor añadir cada vez más secuencias de referencia.

Es posible incluir la técnica en el control de calidad de estos productos: la Farmacopea Británica incluyó en 2016 un apéndice en el que se detallan los pasos a seguir para llevarlo a cabo además de monografías para especies concretas. [11]

Se propone por lo tanto la adición del código de barras de ADN al control de calidad. Se trata de una herramienta más ya que los análisis macro y microscópicos son necesarios para la identificación de la parte de la planta con la que se trabaja y los métodos químicos son indispensables para garantizar que las sustancias activas se encuentran en una concentración suficiente para ejercer su efecto.

## Bibliografía

1. Newmaster SG, Grguric M, Shanmughanandhan D, Ramalingam S, Ragupathy S. DNA barcoding detects contamination and substitution in North American herbal products. BMC Medicine (2013) 11: 222
2. CBOL Plant Working Group. A DNA barcode for land plants. PNAS (2009), 106, nº 31: 12794-12797
3. China Plant BOL Group. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. PNAS (2011), 108 nº49: 19641-19646
4. Song J, Yao H, Li Y, Li X, Lin Y, Liu C, Han J, Xie C, Chen S. Authentication of the family Polygonaceae in Chinese Pharmacopoeia by DNA barcoding technique. Journal of Ethnopharmacology (2009), 124: 434-439
5. Zuo Y, Funamoto T, Wen J, Zhou S. DNA barcoding of *Panax* species. Planta medica (2011), 77: 182-187
6. Stoeckle MY, Gamble CC, Kirpekar R, Young G, Ahmed S, Little DP. Commercial teas highlight plant DNA Barcode identification successes and obstacles. Sci. rep. (2011) 1,42; DOI:10.1038/srep00042
7. Kool A, de Boer HJ, Krüger A, Rydberg A, Abbad A, Björk L, Martin G. Molecular Identification of Commercialized Medicinal Plants in Southern Morocco. PLoS ONE, 7, nº6: 39459
8. Wallace LJ, Boilard SMAL, Eagle SHC, Spal JL, Shokralla S, Hajibabaei M. DNA barcodes for everyday life: routine authentication of Natural Health Products. Food Research International (2012), 49: 446-452
9. Kazi T, Hussain N, Bremmer P, Slater A, Howard C. The application of a DNA-based identification technique to over-the-counter herbal medicines. Fitoterapia (2013), 87:27-30
10. Melo Palhares et. al. Medicinal Plants Recommended by the World Health Organization: DNA Barcode Identification Associated with Chemical Analyses Guarantees their Quality. Plos One (2015)
11. Sgamma T Lockie-Williams C, Kreuzer M, Williams S, Scheyhing U, Koch E, Slater A, Howard C. DNA Barcoding for Industrial Quality Assurances. Plant Med (2017), 83: 1117-1129