

UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas



FQF
Facultad de
Química y Farmacia

Departamento de Farmacia

TRABAJO DE DIPLOMA

**Título: Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium
sartorianum* (O. Berg) Nied.**

Autor: Yisel Fabregat Pérez

Tutor: Dra. Liliana Vicet Muro

MCs. Dailenys Marrero Morfa

Santa Clara , Julio 2019
Copyright©UCLV

UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas



FQF
Facultad de
Química y Farmacia

Pharmacy Department

DIPLOMA THESIS

**Title: Pharmacognostic study of the leaves of *Psidium
sartorianum* (O. Berg) Nied.**

Author: Yisel Fabregat Pérez

Thesis Director: Dra. Liliana Vicet Muro

MCs. Dailenys Marrero Morfa

Santa Clara , July 2019
Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

Atribución- No Comercial- Compartir Igual



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830

Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

Exergo



Produce una inmensa tristeza pensar que la naturaleza habla mientras el género humano no la escucha.

Marie Curie

Dedicatoria



*Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño a
mis padres, Mary y Landy.*

Agradecimientos



A mis padres,

por darme la vida y estar ahí en cada tropiezo y en cada acierto que se me ha presentado. Por darme siempre todo su amor, cariño y comprensión, por demostrarme que cuento infinitamente con todo su apoyo. Por tener siempre una palabra de aliento para mí, buenos consejos y no dejarme decaer para que siguiera adelante, para que sea perseverante y cumpla con mis ideales. Por todo el sacrificio y esfuerzo que han hecho para verme triunfar, por darme una carrera y por creer siempre en mí. Este éxito también es de ellos.

A todos mis compañeros y amigos,

por todos los momentos compartidos en estos años de estudio, por su gran solidaridad, quienes sin esperar nada a cambio compartieron conmigo sus conocimientos, alegrías y tristezas: Dairiana, Susana, Eliany, Beatriz, Marcos, Marco Antonio.

A Laura, Ailín, Sandra, Elianet, por hacer de cada día de mis días una trayectoria inolvidable durante toda la universidad. Por todo su apoyo y confianza, por cada palabra de aliento y cada consejo en tiempos difíciles. Por la alegría y el cariño que han brindado a mi vida sobre todo en este último semestre. Juntos compartimos buenos momentos, estrés académico y alguna que otra fiesta.

A Dailenys, porque a pesar de que nos vemos solo algunos fines de semana siempre nos encontramos con gusto y cariño. Por estar a mi lado desde muy pequeñas, por darme ánimo, por apoyarme y ser mi confidente

A Lisandra, por la amistad que se formó entre nosotras, por escucharme y aconsejarme antes y después de cada mal momento. Por traer a mi vida la amistad verdadera. Por hacer aún mejor estos últimos cinco años, porque en ellos ha estado a mi lado siempre, en las buenas y sobre todo en las malas, en las ocasiones que más necesité su apoyo, esos momentos en los que solo una amiga de verdad se queda a tu lado. Por no decepcionarme nunca, por no tener un no en su boca para mí. Por tener tanta paciencia conmigo, por soportar mi bipolaridad. Por estar ahí cuando las cosas salieron mal aún después de decirme "No lo hagas". Por todo su cariño. Por desestresarme, alentarme y decirme que todo iba a salir bien, aunque la cosa pintara realmente mal. Te quiero amiga mía, mi Ferna.

A Jose Ernesto, por el amor y el apoyo que me ha dado. Por compartir conmigo sus conocimientos y dejarme formar parte de su vida y sobre todo por su comprensión y tenerme mucha paciencia durante todo este tiempo. Por todo su aporte a mi formación como profesional. Por tantas y tantas madrugadas de estudio juntos, hoy podemos ver que

tantas desvelados no fueron por gusto, por repetirme las cosas una y otra vez hasta que las entendiera. Por toda la alegría que ha traído a mi vida y por todos los momentos que pasamos juntos. Por compartirme su sabiduría y sus conocimientos. Sin él a mi lado todo hubiera sido más difícil.

Gracias a todos por convertirse en una parte importante de mí, es realmente muy hermoso y gratificante haberlos conocido y tenido la oportunidad de que formaran parte de mi vida y me dejaran a mi formar parte de la de ustedes.

A toda la familia,

siempre han estado pendiente de mí desde que siquiera tengo memoria, a mi lado dándome fuerzas y apoyándome para concluir mis estudios. Por el esfuerzo realizado por ellos para hacer posible que yo hoy esté aquí, en especial a mis abuelos, mis tías Flora, Zoila, Caito e Isabel; a mis tíos Tomás y Pepe; a Lady, Carmen, Tomay, Ale.

A mis tutoras,

La Dra. Liliana Vicet Muro por toda su asesoría y orientación, por su ayuda científica, transmitiéndome todos los conocimientos necesarios para hacer una tesis de calidad. Muchas gracias por su tiempo y

dedicación revisando y puliendo mi escrito para que quedara lo mejor posible.

La MCs. Dailenys Marrero Morfa por toda su atención, dedicación y apoyo, por todo el tiempo que me dedicó durante la realización de este trabajo de investigación. Por la confianza y paciencia que me tuvo, por todos los consejos y conocimientos brindados.

A los profesores del Departamento de Farmacia de la UCLV, por haberme brindado los conocimientos necesarios en mi formación profesional y todas las facilidades para el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Finalmente, quisiera que la realización de esta tesis y el esfuerzo que he puesto para realizarla sirva de ejemplo para mis primos Itiandro y Etián y mi sobrino Alex, los cuales llenan mi vida de alegría y felicidad, los quiero muchísimo; aunque son muy pequeños aún espero que mis pasos les guíen y que crezcan por el camino correcto y poder algún día verlos graduarse como lo hago yo.

¡Muchas gracias a todos!

R sumen



Psidium sartorianum es una planta autóctona de la región de Casilda, a la cual se le han demostrado propiedades antioxidantes que podrían convertirla en una alternativa terapéutica. Pese a esto no se dispone de información farmacognóstica que permita su propuesta como droga vegetal. Se realizó un estudio farmacognóstico de las hojas de *P. sartorianum*, donde se incluyó las características macromorfológicas y la estandarización del secado por tres vías: a la sombra, al sol y en estufa a 40°C, considerándose este último el más adecuado de acuerdo a los parámetros estudiados. Se evaluó la composición cualitativa de los extractos según la marcha fitoquímica de Miranda y Cuéllar, donde se evidenció de manera general la presencia de saponinas, coumarinas, ácidos grasos, quinonas, taninos y/o fenoles, flavonoides. También se determinaron los índices farmacognósticos de la droga cruda secada en la estufa según las Normas Rames de Salud Pública; cuyos valores promedios obtenidos, se encontraron dentro del rango permisible para este tipo de material vegetal. Se calculó, además, el índice de polifenoles, el contenido de fenoles y de flavonoides totales en los extractos acuoso, etanólico e hidroalcohólico, mostrando este último los mejores valores. Finalmente, se realizó la caracterización fisicoquímica de dicho extracto mostrando resultados apropiados teniendo en consideración la correspondencia con extractos de *P. guajava*. Esta investigación contribuye a ampliar los conocimientos farmacognósticos de las hojas de *P. sartorianum* y por tanto sirve de base para su posible propuesta como planta medicinal.

Abstract



Psidium sartorianum is a plant native to the Casilda region, which has been shown to have antioxidant properties that could make it a therapeutic alternative. Despite this, there is no pharmacognostic information available that would allow its proposal as a herbal drug. A pharmacognostic study was carried out on the leaves of *P. sartorianum*, which included macromorphological characteristics and standardization of drying in three ways: in the shade, in the sun and in an oven at 40°C, the latter being considered the most adequate according to the parameters studied. The qualitative composition of the extracts was evaluated according to the phytochemical march of Miranda and Cuellar,⁽¹⁾ where the presence of saponins, coumarins, fatty acids, quinones, tannins and/or phenols, flavonoids was generally evidenced. The pharmacognostic indices of the raw drug dried in the stove were also determined according to the Rmales Norms of Public Health,^(2, 3) whose average values obtained, were found within the permissible range for this type of vegetal material. In addition, the polyphenol index, the content of phenols and total flavonoids in the aqueous, ethanolic and hydroalcoholic extracts were calculated, showing the best values. Finally, the physicochemical characterization of this extract was carried out, showing appropriate results taking into consideration the correspondence with *P. guajava* extracts. This research contributes to broaden the pharmacognostic knowledge of *P. sartorianum* leaves and therefore serves as a basis for its possible proposal as a medicinal plant.

Psidium sartorianum is a plant native to the Casilda region, which has been shown to have antioxidant properties that could make it a therapeutic alternative. Despite this, there is no pharmacognostic information available that would allow its proposal as a herbal drug. A pharmacognostic study was carried out on the leaves of *P. sartorianum*, which included macromorphological characteristics and standardization of drying in three ways: in the shade, in the sun and in an oven at 40°C, the latter being considered the most adequate according to the parameters studied. The qualitative composition of the extracts was evaluated according to the phytochemical march of Miranda and Cuellar, where the presence of saponins, coumarins, fatty acids, quinones, tannins and/or phenols, flavonoids was generally evidenced. The pharmacognostic indices of the raw drug dried in the stove were

also determined according to the Ramples Norms of Public Health; whose average values obtained, were found within the permissible range for this type of vegetal material. In addition, the polyphenol index, the content of phenols and total flavonoids in the aqueous, ethanolic and hydroalcoholic extracts were calculated, showing the best values. Finally, the physicochemical characterization of this extract was carried out, showing appropriate results taking into consideration the correspondence with *P. guajava* extracts. This research contributes to broaden the pharmacognostic knowledge of *P. sartorianum* leaves and therefore serves as a basis for its possible proposal as a medicinal plant.

Translated with www.DeepL.com/Translator

Índice



Índice

Introducción.....	24
1. Revisión Bibliográfica.....	3
1.1. Flora cubana	3
1.2. Región de Casilda.....	3
1.3. Familia Myrtaceae	4
1.4. Género <i>Psidium</i>	5
1.5. <i>Psidium sartorianum</i> (O. Berg) Nied.....	6
1.5.1. Clasificación taxonómica	6
1.5.2. Descripción botánica	6
1.5.3. Hábitat y distribución	8
1.5.4. Usos atribuidos tradicionalmente.....	9
1.5.5. Composición química	9
1.6. Estudio de secado.....	10
1.7. Índices farmacognósticos.....	10
1.7.1. Pérdida por desecación	11
1.7.2. Cenizas totales	11
1.7.3. Extractivos solubles	12
1.8. Estudios de evaluación fitoquímica	12
1.8.1. Tamizaje Fitoquímico.....	12
1.9. Compuestos fenólicos	13
2. Materiales y Métodos.....	14
2.1. Recolección y descripción botánica del material vegetal	14
2.1.1. Descripción macromorfológica de las hojas de <i>P. sartorianum</i>	14
2.2. Estandarización del secado	15

2.2.1.	Pérdida por desecación	15
2.2.2.	Determinación de las características organolépticas.....	16
2.2.3.	Composición química	16
2.3.	Determinación de índices farmacognósticos.....	18
2.3.1.	Pérdida por desecación	18
2.3.2.	Cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10%.....	18
2.3.3.	Extractivos solubles	20
2.4.	Índice de Polifenoles Totales (IPT)	21
2.5.	Cuantificación de fenoles totales.....	21
2.6.	Cuantificación de flavonoides totales	23
2.7.	Caracterización físico-química del extracto hidroalcohólico	23
2.7.1.	Obtención del extracto.....	23
2.7.2.	Características organolépticas.....	24
2.7.3.	Determinación del pH	24
2.7.4.	Determinación del índice de refracción.....	24
2.7.5.	Determinación de la densidad relativa.....	25
2.7.6.	Análisis capilar.....	25
2.7.7.	Determinación de sólidos totales.....	25
2.7.8.	Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico...	26
3.	Resultados y Discusión.....	27
3.1	Recolección y descripción botánica del material vegetal	27
3.1.1	Descripción macromorfológica de las hojas de <i>P. sartorianum</i>	27
3.2	Estandarización del secado	27
3.2.1	Pérdida por desecación	30

3.2.2	Determinación de las características organolépticas.....	31
3.2.3	Composición química	32
3.3	Determinación de índices farmacognósticos.....	35
3.3.1	Determinación de pérdida por desecación	35
3.3.2	Determinación de Cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %.....	36
3.3.3	Determinación de extractivos solubles	38
3.4	Determinación del Índice de Polifenoles Totales (IPT).....	39
3.5	Cuantificación de fenoles totales.....	40
3.6	Cuantificación de flavonoides.....	42
3.7	Caracterización físico-química del extracto hidroalcohólico	44
3.7.1	Obtención de los extractos	44
3.7.2	Características organolépticas.....	44
3.7.3	Determinación del pH	45
3.7.4	Determinación del índice de refracción.....	45
3.7.5	Determinación de la densidad relativa.....	45
3.7.6	Análisis capilar.....	45
3.7.7	Determinación de sólidos totales	46
3.7.8	Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico...	47
	Conclusiones.....	51
	Recomendaciones.....	52
	Bibliografía	53
	Anexos	60

Índice de tablas

Tabla #1: Resultados del análisis de secado de las hojas de <i>P. sartorianum</i>	28
Tabla #2: Pérdida por desecación para cada método de secado.....	30
Tabla #3: Tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>P. sartorianum</i> secadas por diferentes métodos.....	32
Tabla #4: Análisis de cenizas para las hojas de <i>P. sartorianum</i>	37
Tabla #5: Resultados de la determinación de extractivos solubles para los diferentes disolventes empleados	38
Tabla #6: Índice de polifenoles totales obtenido para los extractos de las hojas de <i>P. sartorianum</i>	39
Tabla #7: Contenido de compuestos fenólicos (mgEAG/gES) en los extractos evaluados.....	41
Tabla #8: Contenido de flavonoides totales (mgQE/gES) en los extractos evaluados.....	43
Tabla #9: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>P. sartorianum</i>	47

Índice de Figuras

Figura #1: Extracción sucesiva de material vegetal para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico	17
Figura #2: Tiempo de secado del material vegetal.....	28
Figura #3: Curva de calibración del Ácido Gálico.....	40
Figura #4: Curva de calibración de Quercetina	43
Figura #5: Análisis capilar del extracto hidroalcohólico. A: sin luz ultravioleta, B: con luz ultravioleta.....	46

Introducción



Introducción

Desde tiempos remotos el hombre se ha valido de las plantas para satisfacer sus necesidades más elementales y, de acuerdo a las propiedades que estas presenten, usarlas para curar sus dolencias y enfermedades.⁽⁴⁾ Nuestros antepasados fueron transmitiendo esos conocimientos de generación en generación y se insertaron en la cultura de los pueblos, sin distinción de razas, sexos, creencias religiosas o desarrollo socioeconómico.⁽⁵⁾

A pesar del tiempo transcurrido, los adelantos en la esfera de la Química Orgánica y el desarrollo alcanzado en la industria farmacéutica el hombre continúa por diversas razones valiéndose de los beneficios que le proporcionan las plantas del entorno en el que se encuentra, independiente de su ubicación geográfica, de su grado de desarrollo cultural y económico.⁽⁴⁾ En la actualidad se estima que alrededor de 80 % de la población mundial recurre a la medicina tradicional herbolaria para la atención primaria de la salud.⁽⁶⁾

Cuba posee una rica flora como parte de su biodiversidad, con plantas medicinales o que potencialmente lo son; y una tradición popular en su empleo para dar solución sobre todo a problemas primarios de salud.⁽⁷⁾ El archipiélago cubano cuenta con una flora con casi 8000 especies, cifra que lo ubica como el territorio insular más rico en plantas a nivel mundial y al mismo tiempo la primera isla en número de especies por kilómetros cuadrados. Alrededor del 45 % de estas especies son endémicas o exclusivas y existen unas 155 variedades a las que se les atribuyen propiedades medicinales, las cuales han sido estudiadas por diferentes investigadores.^(5, 6)

La familia *Myrtaceae* está representada por 133 géneros y 3800 especies de árboles y arbustos, que prosperan en las áreas tropicales y subtropicales del planeta.⁽⁷⁾ A esta familia pertenece el género *Psidium*, y aun cuando este ostenta un importante lugar a nivel nacional y mundial dentro los rubros frutícolas, sus potencialidades farmacológicas aún no han sido completamente investigadas.

*Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium sartorianum**

Introducción

En el departamento de Farmacia de la Universidad Central de Las Villas (UCLV) se trabaja desde hace algunos años varias especies de este género, en particular *Psidium sartorianum*, una planta autóctona con distribución neotropical que se presenta en Cuba en varias localidades de las regiones occidental y central del país,⁽⁸⁾ ha demostrado tener actividad antioxidante medida a través de varios ensayos ⁽⁹⁾ y por tanto con grandes potencialidades para su posible uso en afecciones que involucren reacciones redox.

Tomando en consideración estos aspectos se propone el siguiente **problema científico**: La especie *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied ha demostrado tener potencialidad farmacológica fundamentalmente como antioxidante y antiinflamatorio, sin embargo, no se dispone de información farmacognóstica que permitan su propuesta como droga vegetal y posible introducción en la terapéutica.

Por lo tanto, este trabajo científico parte de la **hipótesis** de que: Los estudios farmacognósticos permiten emitir criterios sobre la calidad de la droga compuesta por las hojas de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied para su posible propuesta como planta medicinal.

Para comprobar dicha hipótesis se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo general

Evaluar desde el punto de vista farmacognóstico el material vegetal procedente de las hojas de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.

Objetivos específicos

- Estandarizar el método de secado del material vegetal procedente de hojas de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.
- Determinar índices farmacognósticos del material vegetal procedente de hojas de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.
- Caracterizar el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied a través de determinaciones físico-químicas.

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Revisión bibliográfica



1. Revisión Bibliográfica

1.1. Flora cubana

La flora cubana es tan heterogénea como lo es la fauna, sobresaliendo por su extraordinaria riqueza y considerable endemismo. Esta isla está bendecida por la presencia de plantas tropicales de río y frutales, que la convierten en un maravilloso escenario para los que gustan de la naturaleza. Integran este gran abanico valiosos ejemplares, como la palma corcho, la palma barrigona, la dracaena de Moa, el pino de Cuba y la planta carnívora.⁽⁵⁾

De acuerdo al resultado de la investigación para la creación de la obra científica "La Lista Roja de la Flora Cubana 2016", el 50 % de las plantas de la flora nacional está en peligro de extinción, el 18 % se encuentra en peligro crítico y el 25 % ya han sido declaradas extintas. Según la publicación Panorama Ambiental de Cuba 2016 de la ONEI (Oficina Nacional de Estadísticas e Información), en Cuba son conocidas 7949 especies de plantas y de ellas un total de 3561 son endémicas del país, para un 45 % de endemismo.⁽⁵⁾ Son varios los factores que han influido favorablemente en este alto nivel de endemismo y la formación de ese mosaico ecológico de gran riqueza y diversidad, como son: insularidad múltiple, clima tropical lluvioso, gran extensión de serpentinas y calizas, notables extensiones de arenas cuarcíticas y una estructura geomorfológica de particular interés, principalmente por tener un elevado porcentaje de rocas carbonatadas en las que se desarrollan procesos cársicos de todo tipo y donde se formó todo un impresionante sistema cavernario.⁽¹⁰⁾

1.2. Región de Casilda

Al sur de la provincia de Sancti Spíritus se ubican las llanuras costeras de Casilda, ⁽¹¹⁾ municipio de Trinidad, provincia de Sancti Spíritus, hacia el centro y sur de Cuba.⁽¹²⁾ Es una llanura fluvio-acumulativa arenosa, que se extiende como un margen costero, desde la Ensenada de Casilda hasta la desembocadura del río Agabama, donde ocupa una superficie de 70 km².⁽¹³⁾ En esta área ha evolucionado una flórula muy particular, debido fundamentalmente a los suelos

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Revisión Bibliográfica

arenoso cuarcíticos (silíceos) predominantes, con alto grado de acidez y bajo contenido de materia orgánica, condiciones que son extremas para las plantas que allí se establecen.⁽¹⁴⁾

La flora de la zona de arenas cuarcíticas de Casilda se compone de 294 taxones infragenéricos, correspondientes a 293 especies, 212 géneros y a 83 familias botánicas. Las familias mejor representadas en la localidad son: *Fabaceae* con 25 géneros y 37 especies, *Poaceae* (15-19), *Rubiaceae* (11-17), *Boraginaceae* (6-15) y *Apocynaceae* (12-13). La mayoría de los taxones presentes en el área pertenecen a la división *Magnoliophyta*, los únicos representantes de otras divisiones de plantas vasculares son *Acrostichum aureum* y *Marsilea polycarpa* de *Monilophyta*, así como *Zamia erosa* de *Cycadophyta*.⁽¹²⁾ Por si fuera poco, en esa pequeña extensión arenosa conviven cuatro especies de arbustos únicos en el mundo, que constituyen endemismos de este lugar. Sus nombres científicos son: *Condea rivularis*, *Mosiera crenulata*, *Psidium claraense* (conocida como guayabita de Casilda) y *Varronia intricata* (la llamada papita enana).⁽¹⁵⁾

Pese a los valores de su diversidad biológica, el depósito de arenas cuarcíticas de Casilda se encuentra entre los sitios naturales más amenazados de la provincia, pues algunas partes son fuertemente explotadas por la minería, otras son utilizadas para el cultivo de frutales, así como para el pastoreo de ganado vacuno, acciones estas que junto a otros impactos humanos ⁽¹⁶⁾ como los fuegos intencionales, la agricultura, la “reforestación” y la proliferación de especies invasoras ⁽¹⁴⁾ ponen en peligro de forma inmediata los importantes ecosistemas que allí confluyen.⁽¹⁶⁾

1.3. Familia Myrtaceae

La familia *Myrtaceae* está representada por 133 géneros y 3800 especies de árboles y arbustos, que prosperan en las áreas tropicales y subtropicales del planeta.⁽⁷⁾

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Revisión Bibliográfica

Es una de las familias más importantes en la flora cubana, representada por unas 300 especies. Sus géneros se caracterizan por gran variabilidad, que se manifiesta en el elevado número de especies endémicas locales de poblaciones pequeñas y áreas muy limitadas de las cuales 85 se encuentran amenazadas.⁽¹¹⁾

Myrtaceae es una familia en donde sus miembros son plantas dicotiledóneas. Dentro de sus características generales podemos decir que todas las especies son arboladas, presentan aceites esenciales, y la flor casi siempre presenta sus verticilos en múltiplos de cuatro o cinco. Una característica representativa de esta familia es que el liber está situado en ambos lados del xilema exterior, difiriendo con el resto de las plantas. Estos árboles presentan hojas perennes, alternas y normalmente con el margen de sus hojas no dentado, estípulas efímeras o ausentes, con puntuaciones glandulares, aromáticas. En muchas ocasiones podemos observar un tallo tipo exfoliativo o de textura áspera, aunque no siempre se cumple con esta característica.⁽¹⁷⁾

Poseen un fruto por lo general capsular como por ejemplo en los siguientes ejemplares: Eucalipto, Corymbia, Angophora, Leptospermum, Melaleuca, Metrosideros. Aunque también se pueden presentar en forma de baya, cápsula o drupa.⁽¹⁷⁾

Varios representantes de esta familia han sido utilizados en la medicina tradicional, principalmente en disturbios gastrointestinales, estados hemorrágicos y enfermedades infecciosas.⁽¹⁸⁾ Así como antioxidantes, antirreumáticos, antiinflamatorios y para disminuir el colesterol en la sangre.^(19, 20)

1.4. Género *Psidium*

El género *Psidium* pertenece a la subtribu *Myrtinae*⁽²¹⁾ es originario de América e incluye más de 100 especies,⁽²²⁾ en Cuba está representado solo por 11;⁽²³⁾ las cuales presentan frutos carnosos y embriones que tienen relativamente un hipocótilo largo y estrecho y usualmente cotiledones cortos, forman un cáliz cerrado o semicerrado, el cual se divide dentro de los segmentos de las flores expandidas. Las semillas poseen una cubierta dura y ósea, con una cavidad

*Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium sartorianum**

interna en forma de “C”, en la que el embrión se desarrolla y emerge por medio de un opérculo.⁽²¹⁾

Son especies ricas en compuestos fenólicos, ácido ascórbico y carotenos, generalmente asociadas con propiedades biológicas importantes, tales como aumento de la protección contra la oxidación celular, actividad antimicrobiana y anticancerígena.⁽²⁴⁾

La especie tipo de este género es *Psidium. guajava* L. la cual se encuentra ampliamente distribuida en todas las zonas tropicales del mundo.⁽²²⁾ También podemos mencionar dentro de las especies que integran este género a *Psidium cattleianum* cuyas hojas contienen compuestos activos contra cepas patógenos de bacterias Gram-positivas resistentes a los antibióticos; las frutas y hojas se utilizan en la medicina tradicional contra hemorragias, diarrea y cólicos,⁽²⁵⁾ se reporta que tiene propiedades antioxidante y antiinflamatoria, así como actividad antiproliferativa del carcinoma gástrico, cáncer de mama y colorrectal.⁽²⁶⁾ *Psidium claraense*, también integra este género, para el que se registran como usos conocidos el del fruto el cual es parte de la dieta de la fauna local, sobre todo insectos, aves y reptiles; tiene potencialidades ornamentales y se presume su utilidad medicinal, por los aceites esenciales que guarda en sus hojas.⁽¹⁴⁾ Se incluye en este género la especie *Psidium sartorianum* en la cual se centra el presente estudio.

1.5. *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied

1.5.1. Clasificación taxonómica

De acuerdo con Delgado-Vargas *et al.* (2005),⁽²²⁾ *P. sartorianum*, pertenece al reino *Plantae*, división: *Magnoliophyta*, clase: *Magnoliopsida*. Se incluye en la subclase *Rosidae*, orden: *Myrtales* y se encuentra dentro de la familia: *Myrtaceae*, género: *Psidium*, especie: *Psidium sartorianum*.

1.5.2. Descripción botánica

Árbol que puede llegar a medir de 10 a 15 m de altura con un diámetro de 30-60 cm, la corteza externa presenta color pardo-amarillenta con manchas grisáceas

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

que se desprenden en placas delgadas; de corteza interna rosada;⁽²⁷⁾ con ramas grisáceas, cilíndricas, algo fisuradas; las ramitas jóvenes son generalmente cilíndricas o ligeramente comprimidas, pubescentes; presenta pelos generalmente pálidos, crispados o con frecuencia antosos, que llegan a medir hasta 0.4 mm de largo.⁽²⁸⁾

Las hojas en tiempo de floración son membranáceas de color verde-amarillentas, pálidas y copiosamente glandular-punteadas, en la madurez son coriáceas, lustrosas, de colores verde o verde pálidas,⁽²⁹⁾ con manchas pálidas en el haz y verde-amarillentas y copiosamente glandular-punteadas en el envés.⁽²⁸⁾ Las hojas son aromáticas, de forma elípticas a ovadolanceoladas,⁽²⁹⁾ algunas presentan formas obovadas de 2-6 cm de largo y de 0.8-3 cm de ancho,⁽²⁸⁾ son glabras en ambas superficies,⁽²⁹⁾ el ápice es de cortamente-acuminado a agudo, la base puede ser de aguda a redondeada o cuneiforme;⁽²⁸⁾ el pecíolo es aplanado o muy ligeramente acanalado ⁽²⁹⁾ de 1.5-4 mm de largo y de 0.5-2 mm de ancho, glabro. El nervio central está ligeramente elevado o aplanado, glabro (con frecuencia pubescente en hojas jóvenes) en el haz, prominente y amarillento en el envés, nervios laterales de 6-8 de cada lado, puede presentarlo escasamente visibles en ambas superficies, con un ángulo de inclinación de 35-40°; el nervio marginal se encuentra escasamente evidente y arqueado entre los laterales de 1-2 mm del margen.⁽²⁸⁾

Las flores se encuentran generalmente solitarias, algunas veces en dicasios con la flor central sésil, las laterales se encuentran sobre pedicelos de 7-8 mm de largo, ubicados en la parte axilar;⁽³⁰⁾ los pedúnculos se encuentran algo comprimidos de 1- 1.5 cm de largo y hasta 1 mm de ancho en el ápice, presentando pubescencia; las yemas son de forma turbinadas a piriformes que llegan a medir de 3-5.5 mm de largo y 2-4 mm de ancho, glabras, completamente cerradas, excepto por un poro apical, algunos pelos largos, apiculadas, las bracteolas se presentan de forma lineal de 3-5 mm de largo que llegan a desprenderse en alguna temporada del año; el hipanto presenta forma campanulada de 1-1.5 mm de largo y hasta 2 mm de ancho en el ápice, copiosamente glanduloso;⁽²⁸⁾ cáliz caliptrado, circunsísil

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

casi al nivel del ápice del ovario dividido generalmente en 4 lóbulos o segmentos irregulares,⁽³⁰⁾ la parte sobresaliente de 1-1.5 mm de largo, glandulosos, pubescentes internamente;⁽²⁸⁾ llega a presentar de 1-4 pétalos de forma ovada o suborbiculados, de forma cóncava de 3-4 mm de largo,⁽³⁰⁾ son ciliados, algunas veces pilosos externamente, glandulosos en ambas superficies; con el anillo estaminal piloso;⁽²⁸⁾ con una agrupación de 80-100 estambres de 5-6 mm de largo; anteras linear-oblongas de 0.4-0.5 mm de largo; el ovario presenta 3 lóculos; con casi 20 óvulos en cada lóculo; el estilo llega a medir de 4-6 mm de largo, con pelos largos principalmente en la base; con estigma capitado.⁽³⁰⁾

Los frutos presentan formas de globosas a piriformes u obladas de 1-2.5 cm de diámetro de tonos amarillos, glabros cuando están inmaduros, pubescentes, principalmente en la base y en el pedúnculo,⁽²⁸⁾ con sabor dulce o agridulce,⁽²⁹⁾ coronados en el ápice con los lóbulos del cáliz. Se presentan de 3-7 semillas angulosas que llegan a medir de 5-8 mm de largo las cuales presenta testa ósea y embriones con apariencia de C.⁽²⁸⁾

1.5.3. Hábitat y distribución

P. sartorianum es una especie que crece tanto en climas templados subhúmedos como en climas con vegetación tropical; en altitudes que van de 700 a los 2,450 msnm; aunque también se ha localizado en altitudes menores a 100 msnm.⁽²²⁾ Se puede encontrar como parte de los siguientes tipos de vegetación: Bosque de encino; Sabana; Selva baja caducifolia; Selva mediana subperennifolia y Matorral espinoso. Posee una excelente adaptación tanto al clima como al suelo,⁽²⁷⁾ tratándose incluso de suelos pedregosos,⁽³¹⁾ es susceptible al frío, no resiste temperaturas menores a 3 °C.⁽³²⁾

En América, *P. sartorianum*, es una especie ampliamente distribuida, ha sido registrado en México, Belice, Guatemala, Nicaragua, Cuba, Costa Rica, Panamá, Honduras, El Salvador, norte de Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia.⁽³³⁾ También se puede encontrar en Uruguay, Paraguay, Brasil, Norte de Argentina, Islas del Caribe, así como las Antillas.⁽²⁸⁾

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

1.5.4. Usos atribuidos tradicionalmente

De esta planta se han reportado diversos usos en la medicina tradicional, entre ellos como tónica, astringente, expectorante, hemostática, eupéptica, antiséptica, digestiva y ligeramente sedante.⁽²⁸⁾⁽²²⁾

En Sinaloa, México esta planta se ha reportado para tratar el resfriado, úlceras, diarreas y desórdenes estomacales. El vástago de la planta se utiliza por vía tópica para tratar abscesos, heridas de la piel, sus hojas también se han empleado como tónico y astringente, para tratar el vómito, diarreas, dolor de estómago y tos.⁽³⁴⁾ Las frutas y hojas maceradas se usan tópicamente en heridas, partes infectadas y úlceras en la piel. Esta planta también se ha utilizado en el tratamiento del asma.⁽²²⁾

Las hojas secas y reducidas a polvo se colocan sobre la herida que produce la caída del cordón umbilical en los recién nacidos. Las hojas en fresco se han utilizado para reforzar las encías y activar la salivación masticándolas durante un rato, todos los días.⁽³⁰⁾ También se emplean para controlar los parásitos intestinales.⁽²⁸⁾

En Amuzgo, Oaxaca, se usa para el dolor después del parto, se corta un manojito de ramitas el cual se hierve y se toma caliente cada vez que se presente el dolor. El fruto por su parte aporta gran cantidad de vitamina C para prevenir males bronco-respiratorios.⁽³⁵⁾

Los extractos metanólicos obtenidos de frutos de arrayán presentan actividad antifúngica contra siete especies de *Trichophyton*,⁽³⁶⁾ y los extractos hexánicos controlan enterobacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y *Shigella spp*.⁽³⁷⁾

1.5.5. Composición química

Los metabolitos secundarios de las plantas resultan de la biosíntesis, transformación y degradación de compuestos endógenos mediante proteínas especializadas,⁽³⁸⁾ en las hojas del *P. sartorianum* destacan taninos, resina,

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

sustancias amargas.⁽²⁸⁾ También se han determinado flavonoides del tipo miricetina y luteonina.⁽³¹⁾

1.6. Estudio de secado

El proceso de secado tiene como función la reducción del contenido de agua de la droga.⁽³⁹⁾ Desde tiempos antiguos y hasta nuestros días, el secado de plantas medicinales, granos y carnes ha sido una práctica habitual de conservación para asegurar la disponibilidad de los productos alimenticios y medicinales durante todo el año. Hoy en día ⁽⁴⁰⁾ este fenómeno impide la alteración de la droga vegetal con el tiempo debido a procesos degradativos causados por enzimas, evitando el desarrollo de microorganismos y las reacciones de hidrólisis.⁽⁴¹⁾ El secado de plantas medicinales puede efectuarse de variadas formas, de acuerdo con la fuente de energía que se emplee para la realización de este proceso; de la especie que será secada; del órgano de la misma; de la sensibilidad del producto a la temperatura; y del costo del proceso.⁽³⁹⁾ Los principales métodos incluyen el secado de forma natural al aire libre o al sol, y también a la sombra o al abrigo, y artificialmente con aire caliente por medio de secadores y/o estufas. El método más antiguo y fácil de secado es el secado al sol el cual es utilizado en regiones de clima cálido y seco.⁽⁴²⁾

1.7. Índices farmacognósticos

La calidad para los medicamentos a base de plantas medicinales es un requisito básico, no sólo por su significación intrínseca, sino porque constituye la base sobre la que reposa la reproducibilidad de los parámetros de seguridad y eficacia.⁽⁴³⁾ Los índices farmacognósticos constituyen parte de los métodos empleados para el control de la calidad de las drogas vegetales, de ahí que el establecimiento de los mismos, es uno de los aspectos más importantes a considerar cuando se trata de producir y comercializar una especie con fines medicinales.⁽⁴⁴⁾ Dichos ensayos se basan en la determinación del contenido de humedad, extractivos solubles, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas ácido-insolubles.

*Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium sartorianum**

1.7.1. Pérdida por desecación

La pérdida por desecación es un parámetro de suma importancia para establecer la calidad de una droga.⁽¹⁾ Comprende el agua libre que contiene el material vegetal, que ha de ser inferior al 14 % para una buena conservación del mismo ⁽⁴²⁾ un contenido superior puede generar contaminaciones con microorganismos y hongos, alteraciones en la composición química de la planta, entre otras.⁽¹⁾ Existen varios métodos para la determinación de la humedad, como son el método gravimétrico, método volumétrico y método Karl-Fisher.⁽⁴⁵⁾

1.7.2. Cenizas totales

Las cenizas representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga que suele ser menor del 5 %, ⁽⁴⁵⁾ las mismas son indicativas de la calidad del material vegetal con que se trabaja.⁽⁴⁶⁾ En condiciones rigurosas, es constante ⁽⁴⁵⁾ y nos ofrecen una base para juzgar la pureza e identidad de la droga, brindando información relativa a la presencia o posible adulteración con materias inorgánicas, cuerpos extraños que posea la planta, o la cantidad de estos elementos,⁽⁴⁶⁾ así como descubrir falsificaciones por otras drogas, tierras u otros minerales.⁽⁴⁵⁾

Su determinación se hace necesaria además porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica (por ejemplo, las sales de potasio son responsables de la acción diurética del equiseto, diente de león y ortosifon).⁽⁴⁵⁾

El método de determinación de cenizas totales se basa en calcinar hasta que quedan blancas. El residuo que queda corresponde a las cenizas derivadas del tejido vegetal (cenizas fisiológicas) y a las de la materia extraña (cenizas no fisiológicas).⁽⁴⁷⁾

Las cenizas solubles en agua se calculan por la diferencia de peso entre las cenizas totales y el residuo remanente después del tratamiento de las cenizas totales con agua.⁽⁴⁸⁾

Por su parte las cenizas insolubles en HCl son el residuo que queda tras extraer las totales o las sulfúricas con HCl. La sílice es insoluble en HCl, por lo que indican presencia de arena o tierra.⁽⁴⁷⁾

1.7.3. Extractivos solubles

Es la extracción de las sustancias solubles que pueden ser en agua, etanol, o mezclas, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota de extracto. El método se basa en la solubilidad de sustancias activas en un solvente dado y, cuando estas no son conocidas, en la actividad farmacológica del extracto obtenido con el solvente.⁽⁴⁷⁾

1.8. Estudios de evaluación fitoquímica

Las plantas producen un amplio espectro de metabolitos secundarios, los cuales participan en sus mecanismos de defensa contra la depredación por microorganismos, insectos y herbívoros. Estos metabolitos son compuestos que no se asocian directamente a los procesos de crecimiento y desarrollo, sino que le confieren a las plantas propiedades biológicas.⁽⁴⁹⁾ Los estudios fitoquímicos permiten la identificación de dichos metabolitos, los cuales además de las funciones antes descritas también permiten la identificación de los metabolitos responsables de la acción terapéutica de las plantas usadas en la medicina popular, y con ella una base científica para su uso apropiado;⁽⁵⁰⁾ conjuntamente el estudio de estas propiedades ha sido el punto de partida para la búsqueda de nuevos fármacos, antibióticos, insecticidas y herbicidas.⁽⁴⁹⁾

1.8.1. Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.⁽⁵¹⁾

El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de los metabolitos presentes en la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

precipitación. Permite la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y debe interpretarse en conjunto con los resultados del tamizaje farmacológico.⁽⁵¹⁾

1.9. Compuestos fenólicos

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios, entre estos los compuestos fenólicos,⁽⁵²⁾ los cuales constituyen una familia de sustancias entre las que se encuentran los ácidos fenólicos, los frolavonoides, las quinonas y los taninos, todos ellos pueden funcionar como eliminadores de especies reactivas del oxígeno (ERO) o agentes quelantes de metales libres, que participan en la formación de otras ERO de mayor reactividad.⁽⁵³⁾

Material es y Métodos



2. Materiales y Métodos

Se llevó a cabo un estudio experimental en el Departamento de Farmacia, Facultad Química – Farmacia de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, en el período comprendido entre los meses de febrero a junio de 2019.

Los reactivos y materiales empleados en las diferentes fases experimentales se relacionan en el anexo #1.

2.1. Recolección y descripción botánica del material vegetal

Las hojas de *P. sartorianum* fueron recolectadas por los especialistas Onel Benigno García Espinosa, Elonay Lisandi Mederos Yumar y Roberto Guerra Meriño, el 11 de febrero del 2019 en los terrenos de Los Diasmones, localidad geográfica de Casilda municipio Trinidad, provincia Sancti Spíritus. Identificándose taxonómicamente con las muestras del Herbario del Jardín Botánico de Sancti Spíritus.

Una vez recolectado, el material vegetal fue trasladado en bolsas de polietileno al Laboratorio de Química Farmacéutica de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y lavado con abundante agua potable para eliminar cualquier residuo de tierra, arena, polvo, insectos u otros contaminantes que este pudiera contener.

2.1.1. Descripción macromorfológica de las hojas de *P. sartorianum*

Se evaluaron 100 hojas de la planta, las cuales se clasificaron por la disposición en el tallo, el recorrido de las venas, contorno, forma del ápice, de la base, por el margen o borde, la consistencia, según la superficie del limbo; se determinó además la textura, superficie, color, olor y peculiaridades que esta pudiera presentar. Se efectuaron también las mediciones de largo y ancho a estas 100 hojas con ayuda de una regla y se calcularon los valores promedios. La descripción macromorfológica de las hojas de la especie se realizó a simple vista y se llevó a cabo según la técnica descrita por Miranda y Cuellar (2001).⁽¹⁾

2.2. Estandarización del secado

Se realizó un estudio de secado del material vegetal mediante tres métodos diferentes: secado en la sombra, al sol y en la estufa con recirculación de aire marca BINDER a una temperatura de 40 °C. Se hicieron tres réplicas para cada método y se tuvo en cuenta el tiempo que demoró la droga en alcanzar peso constante, para ello se determinó el peso de las muestras cada 12 horas.

Una vez secado el material vegetal hasta peso constante, el proceso de molinado de las hojas se realizó en un molino de cuchilla marca IKA WERKE con tamiz de 3 mm de diámetro. La droga seca y molinada se almacenó en bolsas de polietileno negras en una desecadora de vidrio protegida de la humedad hasta el momento de su utilización.

Para la estandarización del secado se evaluaron los siguientes parámetros: características organolépticas de la droga (color y olor), tiempo de secado, pérdida en peso, pérdida por desecación y composición química.

Todos los datos se muestran como media $\pm$ desviación estándar ($X \pm DE$) y fueron procesados por el paquete Microsoft Office Excel 2013. Los datos de pérdida en peso y pérdida por desecación, procedentes de la estandarización de secado fueron procesados en el software IBM: SPSS Statistics, versión 23 del 2015 mediante un análisis de varianza utilizando un test paramétrico de ANOVA One-Way con un nivel de confianza de 95 %.

2.2.1. Pérdida por desecación

La determinación se realizó por el método gravimétrico según se especifica en la norma citada; para ello se pesó 1g del material vegetal, con tres repeticiones, y se transfirió a una placa Petri previamente pesada en una balanza analítica marca Sartorius. El material vegetal se desecó en la estufa a 105 °C durante 3 horas. Pasado este tiempo las placas Petri se pusieron en una desecadora de vidrio y se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente y se pesaron, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora. Esta operación se repitió hasta obtener

peso constante. Se determinó el contenido de Pérdida por desecación por diferencia de peso, según plantea la siguiente ecuación:⁽³⁾

$$H = \frac{M_2 - M_1}{M} 100(\%) m/m$$

Donde:

M2: Masa del pesa filtro con la muestra (g)

M1: Masa del pesa filtro con la muestra desecada (g)

M: Masa de ensayo

100: factor matemático para los cálculos

2.2.2. Determinación de las características organolépticas

Para la determinación de las características organolépticas se colocó muestra molinada de cada una de los métodos de secado sobre placas Petri y se determinó el olor y el color de cada una.

2.2.3. Composición química

Se utilizó un sistema de extracción con una batería de disolventes, de polaridad creciente: éter etílico, etanol y agua, sobre el mismo material vegetal, para lograr que cada metabolito fuera extraído adecuadamente según su selectividad por el disolvente empleado. El procedimiento descrito se muestra en la figura #1.

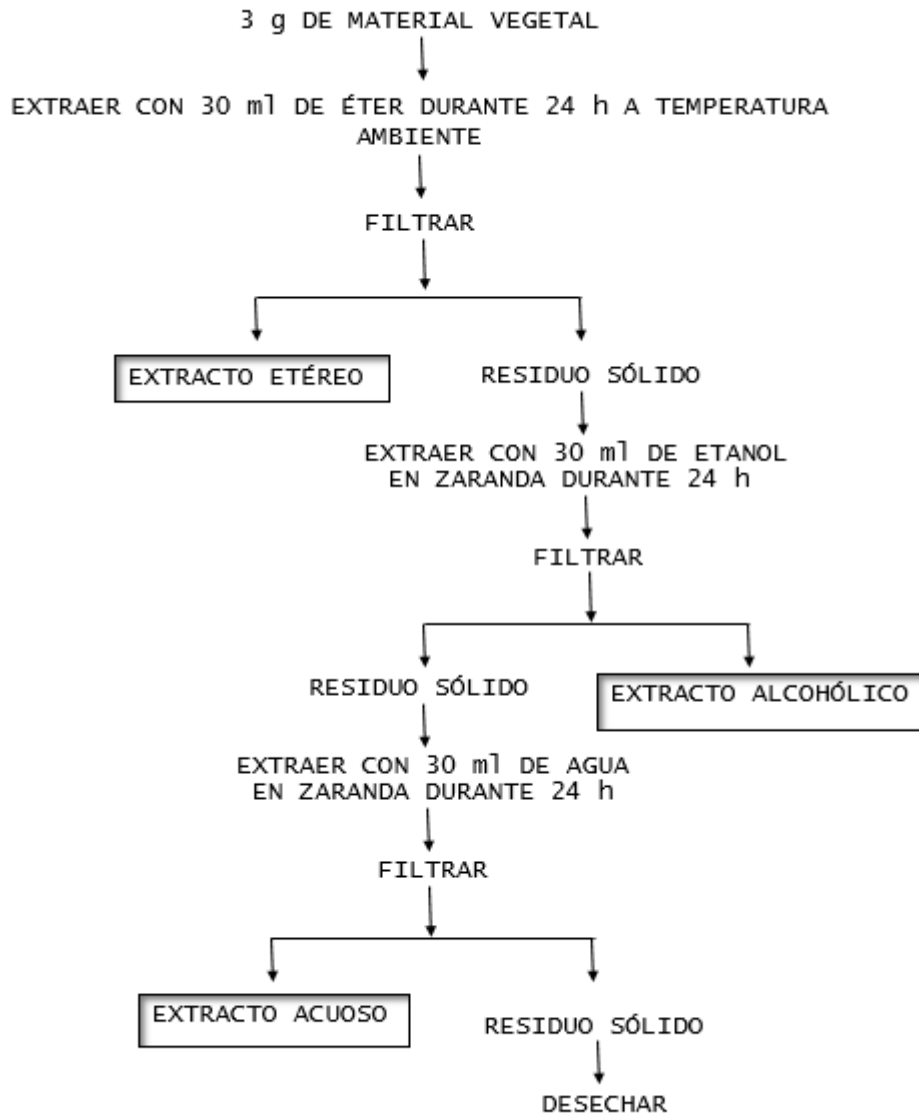


Figura #1: Extracción sucesiva de material vegetal para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico consistió en llevar a cabo un conjunto de ensayos químicos para determinar de manera aproximada y cualitativa los metabolitos presentes en el material vegetal haciendo uso de reactivos de coloración y precipitación tal y como lo describe el método de Miranda y Cuéllar, (2001).⁽¹⁾

Al extracto etéreo se le realizaron los ensayos de Dragendorff, Sudan III, Shinoda, Baljet y Liebermann – Burchard. Sobre el extracto etanólico se efectuaron los

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

ensayos de Resinas, Dragendorff, Kedde, Cloruro férrico, Shinoda, Liebermann – Burchard, Baljet, Fehling, Borntrager, Espuma, Ninhidrina, Antocianida y Sudan III. Por último, al extracto acuoso se le practicaron los ensayos de Shinoda, Cloruro Férrico, Fehling, Dragendorff, Espuma, Mucílagos y Ninhidrina.

En el anexo #2 se describen la descripción de cada ensayo.

2.3. Determinación de índices farmacognósticos

Una vez estandarizado el secado se procedió a la determinación de los índices farmacognósticos, según se establece en la Norma Ramal de Salud Pública # 309. “Droga cruda. Métodos de ensayo”.⁽³⁾

2.3.1. Pérdida por desecación

Se determinó el contenido de humedad empleando el método gravimétrico siguiendo el mismo procedimiento descrito en el **epígrafe 2.2.1.**

2.3.2. Cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %

➤ Determinación de cenizas totales

Se pesaron 3 g del material vegetal en la balanza analítica, en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calentó suavemente la droga aumentando la temperatura hasta que se carbonizó en una plancha eléctrica marca IKA C-MAG HP 7 y luego se incineró en un horno mufla marca Nabertherm a 750 °C durante 7 horas. Se enfrió en una desecadora de vidrio y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difirieron en más de 0,5 mg. Los intervalos entre calentamiento y pesado fueron de 30 minutos. Los cálculos para obtener la cantidad de cenizas totales (Ct) en base anhidra se realizaron según la fórmula siguiente:⁽³⁾

$$C_1 = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} 100\% \quad C_t = \frac{C_1 \cdot 100}{100 - H}$$

Donde:

C1: Cenizas totales en base hidratadas

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

M: Masa del crisol vacío (g)

M1: Masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M2: Masa del crisol con la ceniza (g)

100: Factor matemático para los cálculos

H: Porcentaje de humedad

Se realizaron cuatro réplicas, tomándose de estas dos muestras para llevar a cabo la determinación de las cenizas solubles en agua y dos para la determinación de las cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %.

➤ **Determinación de cenizas solubles en agua**

A las cenizas totales obtenidas, se le añadieron 15 mL de agua destilada. El crisol se tapó y se llevó a ebullición durante 5 minutos, se filtró al vacío a través de papel de filtro libre de cenizas (Xinxing Qualitative Filter Paper 101 Fast). El papel de filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en la plancha eléctrica y luego se incineró en un horno mufla a 750 °C durante 2 horas. Posteriormente se colocó en una desecadora de vidrio hasta enfriar a temperatura ambiente y se pesó. Se repitió el procedimiento hasta alcanzar peso constante. Los cálculos se realizaron empleando la siguiente fórmula:⁽³⁾

$$C_1 = \frac{M_2 - M_4}{M_1 - M} 100\% \quad C_A = \frac{C_1 \cdot 100}{100 - H}$$

Donde:

C1: Porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M: Masa del crisol vacío (g).

M1: Masa del crisol con la muestra de ensayo.

M2: Masa del crisol con las cenizas.

M4: Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua.

H: Porcentaje de Humedad.

➤ **Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %**

A las cenizas totales obtenidas, se le añadieron 15 mL de ácido clorhídrico al 10 %. El crisol se tapó con luna de reloj y se llevó a ebullición durante 10 minutos. Se lavó la luna de reloj con 5 mL de agua caliente y se vertió al crisol. Luego se filtró

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

con papel de filtro libre de cenizas, se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico concentrado; al cual se le añadió una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0,1 mol/L, no mostrara presencia de cloruros. El papel de filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en la plancha eléctrica y se incineró en un horno mufla a 750 °C durante 2 horas. Luego se colocó en una desecadora de vidrio hasta temperatura ambiente y se pesó. Se repitió el proceso hasta peso constante. Los cálculos se realizaron con el empleo de las siguientes fórmulas:⁽³⁾

$$C_1 = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} 100\% \quad C_i = \frac{C_1 \cdot 100}{100 - H}$$

Donde:

C1: Porcentaje de cenizas insolubles en HCL en base hidratada.

M: Masa del crisol vacío (g).

M1: Masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

M2: Masa del crisol con las cenizas insolubles en HCl (g).

H: Porcentaje de humedad.

2.3.3. Extractivos solubles

Se pesaron 5 g de la muestra previamente pulverizada y tamizada, se transfirieron a un balón con tapa de 250 mL, se le añadieron 100 mL de agua, etanol y mezcla etanol:agua (1:1) según corresponda; para los extractos acuoso, etanólico e hidroetanólico respectivamente. Se agitaron durante 6 h en una zaranda marca THYS 2 y se dejaron en reposo hasta el día siguiente, se agitaron durante 30 min, se dejaron reposar 30 min y se filtraron. Se tomó una alícuota de 20 mL, se transfirió a una cápsula de porcelana, se evaporó sobre baño de agua, se desecó a 105 °C en una estufa por 3 h, se enfriaron y se pesaron las cápsulas.⁽³⁾

El porciento de extractivos solubles en base anhidra (Ss) se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$Ss = \frac{R * 500 * 100}{M(100 - H)}$$

Donde:

H: Humedad de la muestra (%).

R: Residuo de la muestra (g).

M: Masa de la muestra (g).

100 y 500: factores matemáticos para los cálculos.

2.4. Índice de Polifenoles Totales (IPT)

Se diluyó 1 mL de los extractos acuoso, etanólico e hidroalcohólico en 50 mL de agua destilada. Se realizó la lectura de la absorbancia (A) a 280 nm utilizando el espectrofotómetro (marca Thermo SCINTIFIC, modelo G10S UV-VIS, de procedencia china), como blanco se empleó agua destilada. En el cálculo del índice se aplica la siguiente ecuación: $IPT = A_{280} \times 50$ (50 factor de dilución).⁽⁵⁴⁾

2.5. Cuantificación de fenoles totales

El contenido total de compuestos fenólicos en los extractos de *P. sartorianum* se determinó empleando la reacción de Folin-Ciocalteu, según el método de Pekal (2014) con algunas variaciones, utilizando ácido gálico como el compuesto fenólico de referencia.⁽⁵⁵⁾

✓ Desarrollo de la técnica.

Preparación de la curva de calibración de ácido gálico:

Solución madre de ácido gálico: se pesó 10 mg del mismo, se disolvió en agua destilada y se enrasó a un volumen de 10 mL para obtener una solución madre con concentración 1 mg/mL.

Procedimiento: Se pipetearon a partir de la disolución madre de ácido gálico las siguientes alícuotas: 68, 136, 272, 408, 544 μ L. De cada una de ellas se tomaron 0.5 mL y se adicionó a continuación 100 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu, 0.3 mL de etanol y 1.1 mL de agua destilada y se incubó durante 5 minutos. Posteriormente se adicionó 1 mL de Na_2CO_3 7% y 0.4 mL de agua destilada. La mezcla se homogenizó y transcurridos 30 minutos en la oscuridad se midió la

Materiales y Métodos

absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro marca Ray Leigh, utilizando la solución preparada con el mismo procedimiento sin la muestra como blanco.

Preparación de las muestras de los extractos de *P. sartorianum*:

Extracto acuoso: A 25 μ L del extracto acuoso (a concentración de 1 mg/mL) se le añadieron 0,3 mL de etanol, 100 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,75 mL de agua destilada. Se mantuvo en la oscuridad durante 5 minutos y posteriormente se le añadió 0,4 mL de agua y 1mL de Na_2CO_3 7%. La mezcla se homogenizó y transcurridos 30 minutos se midió la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro utilizando como blanco la solución preparada por el mismo procedimiento, pero sin la muestra.

Extracto Etanólico: A 25 μ L del extracto etanólico (a concentración de 1 mg/mL) se le añadieron 0,275 mL de etanol, 100 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1,6 mL de agua. Se mantuvo en la oscuridad durante 5 minutos y posteriormente se le añadió 0,4 mL de agua y 1mL de Na_2CO_3 7 %. La mezcla se homogenizó y transcurridos 30 minutos se midió la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro utilizando como blanco la solución preparada por el mismo procedimiento, pero sin la muestra.

La cantidad de compuestos fenólicos en cada extracto se determinó a partir de la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración del ácido gálico y se expresó como miligramos de contenido fenólico equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto seco (mg EAG/g ES).

Extracto hidroalcohólico: A 20 μ L del extracto hidroalcohólico (a concentración de 1 mg/mL) se le añadieron 290 μ L de etanol, 100 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1590 μ L de agua destilada. Se mantuvo en la oscuridad durante 5 minutos y posteriormente se le añadió 0,4 mL de agua y 1mL de Na_2CO_3 7%. La mezcla se homogenizó y transcurridos 30 minutos se midió la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro utilizando como blanco la solución preparada por el mismo procedimiento, pero sin la muestra.

*Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium sartorianum**

2.6. Cuantificación de flavonoides totales

Se determinó el contenido total de flavonoides en los extractos de *P. sartorianum*, según la literatura descrita por (Pekal y Pyrzynska, 2014) con algunas variaciones, utilizando quercetina como compuesto de referencia.⁽⁵⁶⁾

✓ Desarrollo de la técnica.

Preparación de la curva de calibración de quercetina:

Solución madre de quercetina: Se pesó 0,5 mg de quercetina, se disolvió en etanol y se enrasó a un volumen de 10 mL para obtener una disolución madre con concentración 0,05 mg/mL.

Procedimiento: Se pipetearon las alícuotas correspondientes de la disolución madre de quercetina para la obtención de concentraciones de 2, 4, 6, 8 y 10 µg/mL. De cada una de ellas se tomaron 2,5 mL y se le añadió 1,25 mL de AlCl₃ y 1,25 mL de agua destilada. El AlCl₃ fue preparado en etanol. La mezcla se homogenizó y transcurridos 10 minutos se midió la absorbancia a 420 nm contra un blanco de solución hidroalcohólica.

Preparación de las muestras de los extractos de *P. sartorianum*:

A 2,5 mL de extracto se le añadieron 1,25 mL de agua destilada y 1,25 mL de AlCl₃. La mezcla se homogenizó y transcurridos 10 minutos se midió la absorbancia a 420 nm contra un blanco de solución hidroalcohólica. No se realizó prueba control para excluir en los cálculos la contribución a la absorbancia de los extractos en ausencia de AlCl₃ ya que este queda estandarizado en la curva de calibración. Los resultados se expresaron como mg de quercetina equivalente por gramo de extracto seco (mgQE/gES).

2.7. Caracterización físico-química del extracto hidroalcohólico

2.7.1. Obtención del extracto

*Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium sartorianum**

Para la obtención del extracto hidroalcohólico se pesaron 5 g del material vegetal y se añadieron 100 mL de un solvente hidroalcohólico (etanol/agua) a razón de 1:1. Posteriormente se colocó en la zaranda durante 24 horas y seguidamente se filtró. Para la caracterización de los extractos se determinaron los siguientes parámetros según se establece en la Norma Ramal de Salud Pública #312: "Extractos, fluidos y tinturas. Métodos de ensayo".⁽²⁾

2.7.2. Características organolépticas

➤ **Determinación del olor**

Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo. Se dejó evaporar y se determinó su olor.⁽²⁾

➤ **Determinación del color**

Se tomó un tubo para ensayos limpio y seco, se llenó hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.⁽²⁾

2.7.3. Determinación del pH

Se ajustó el pH-metro, marca Hanna instruments, con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realiza la determinación del valor del pH de la muestra. Se introdujo directamente los detectores del pH-metro en la muestra y se realizó la lectura.⁽²⁾

2.7.4. Determinación del índice de refracción

Esta determinación se realizó utilizando el refractómetro, marca atago®. Se colocó sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, utilizando para ello una varilla de vidrio sin cantos agudos, se ajustó el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. Se realizaron tres lecturas y se calculó el promedio de las mismas.⁽²⁾

2.7.5. Determinación de la densidad relativa

Se determinó la densidad relativa a las tres muestras de ensayo con un densitómetro marca Kem (Kyoto Electronics).⁽²⁾

2.7.6. Análisis capilar

Se vertieron 20 mL de la muestra de ensayo en un vaso de precipitado de 100 mL de aproximadamente 5 cm de diámetro y 70 cm de altura y se introdujo en la cámara protectora.

Se colocó una banda de papel de filtro (Whatman # 1), de 4 cm de ancho por 15 cm de longitud, verticalmente de manera que su borde superior esté fijado a una varilla metálica que permite la suspensión de la tira de papel y su extremo inferior esté sumergido dentro de la muestra de ensayo, pero sin tocar el fondo ni las paredes del recipiente. Transcurrido 15 minutos se retiró el papel. Una vez seco se procedió a su inspección visual y caracterización.⁽²⁾

Para el análisis e interpretación de la imagen se tuvieron en cuenta los aspectos siguientes: color, altura, descripción de las diferentes partes, cambios de coloración con vapores de amoníaco y examen bajo la luz ultravioleta.

2.7.7. Determinación de sólidos totales

De la muestra de ensayo previamente homogeneizada se transfirió 1 mL a una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada; la cápsula se colocó en baño de agua y se evaporó hasta que el residuo estuvo aparentemente seco; posteriormente se pasó a una estufa a una temperatura de 105 ± 2 °C durante tres horas.

Se retiró la cápsula de la estufa, se colocó en una desecadora hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesó. Se repitió el proceso anterior hasta obtener masa constante.⁽²⁾

Los sólidos totales (St) se calcularon mediante la fórmula siguiente:

Materiales y Métodos

St= **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.***100

Donde:

Pr: Masa de la cápsula más el residuo (g)

P: Masa de la cápsula vacía (g)

V: Volumen de la porción de ensayo (mL)

100: Factor matemático

2.7.8. Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se realizó siguiendo la metodología descrita en el **epígrafe 2.3.**⁽¹⁾ En este caso al extracto hidroalcohólico se le realizaron los ensayos de Resina, Lieberman-Buchard, Espuma, Ninhidrina, Baljet, Fehling, Bortranger, Shinoda, Antocianidas, Sudan, Dranendorff, Kedde, Cloruro férrico y Mucílagos.

Resultados y Discusión



3. Resultados y Discusión

3.1 Recolección y descripción botánica del material vegetal

La recolección se realizó en horas tempranas de la mañana, y se ejecutó de forma manual, como se recomienda para plantas silvestres, siguiendo las buenas prácticas para este proceso establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se procuró tomar las hojas y dejar ramas suficientes que garantizaran el normal desarrollo de la planta y un uso sostenible de este recurso.

El material vegetal se colectó en buen estado vegetativo y exento de materias extrañas, identificándose a través de herramientas taxonómicas por el Esp. Onel Benigno García Espinosa, como *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied. Se comparó con la muestra correspondiente a la serie 4573 (Herbario del Jardín Botánico de Sancti Spíritus), correspondiendo en su totalidad con las características botánicas para la especie citada.

3.1.1 Descripción macromorfológica de las hojas de *P. sartorianum*

Las hojas de *P. sartorianum* se encuentran dispuestas en el tallo de forma alternas, cortamente pecioladas, de color verde oscuro en el haz y verde limón en el envés, presentan una textura suave, con consistencia membranosa y olor a guayaba. Exhiben forma lanceolada, el ápice es acuminado con base aguda y de borde entero. Según el recorrido de las venas las hojas se clasifican en palminervias. Los resultados promedios para las dimensiones de largo y ancho de las hojas son 6.18 cm y 2.15 cm respectivamente. Estas características coinciden con lo descrito en la bibliografía consultada.⁽⁵⁷⁾

3.2 Estandarización del secado

El exceso de agua en drogas vegetales puede ser responsable del crecimiento de bacterias y hongos, además de la hidrólisis de sus constituyentes. Esto obliga a buscar una forma de conservación de la droga que tenga la mínima cantidad de agua posible.⁽⁵⁸⁾ De ahí que el proceso de secado es uno de los pasos más importantes en el tratamiento de las drogas vegetales.⁽⁵⁹⁾

*Estudio farmacognóstico de las hojas de *Psidium sartorianum**

Resultados y Discusión

El secado de la planta objeto de estudio se realizó por tres vías: a la sombra, al sol y mediante secado artificial en la estufa a temperatura controlada de 40 °C, con vistas a determinar el método recomendable para su secado sin afectar sus características físico-químicas. Para cada caso se realizaron tres réplicas, las cuales fueron promediadas para obtener resultados lo más fiables posibles. Dichos resultados se muestran a continuación en la figura #2.

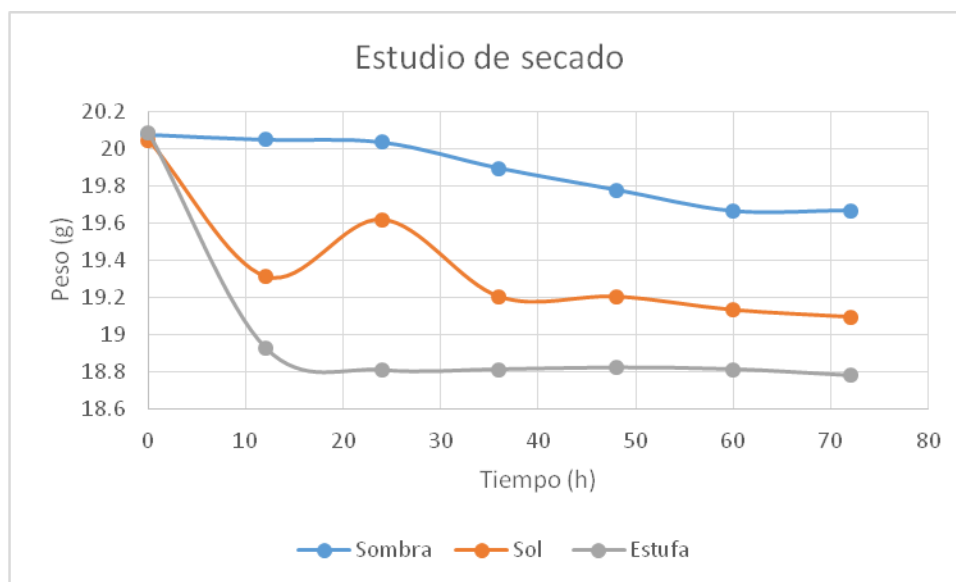


Figura #2: Tiempo de secado del material vegetal

En la tabla #1 se observan los resultados de la pérdida en peso del material vegetal durante la estandarización del secado y el tiempo que demoró cada método en obtener peso constante (tiempo de secado).

Tabla #1: Resultados del análisis de secado de las hojas de *P. sartorianum*

Método de secado	Pérdida en peso (g) $\bar{X} \pm DE$	Tiempo de secado (horas)
Sombra	0.4088 ± 0.08^a	60
Sol	0.9495 ± 0.15^b	60
Estufa	1.3046 ± 0.06^c	20

Resultados y Discusión

Leyenda: X: media, DE: desviación estándar. Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores y letras diferentes que si las hay ($p < 0.05$)

Las hojas de la planta sometidas al secado a la sombra mostraron menor pérdida en peso y tardaron en secarse aproximadamente 60 horas. El secado al sol resultó más eficiente que el método a la sombra ya que permitió perder un mayor porcentaje de agua en el mismo período de tiempo. Esto podría deberse a que, al menos durante el día, las muestras al sol están expuestas a mayor temperatura. Sin embargo, al no poder controlar la intensidad de las radiaciones, no resulta del todo un método aconsejable.⁽⁶⁰⁾

El análisis de varianza demostró la existencia de diferencias estadísticas significativas entre las pérdidas en peso de cada uno de los métodos de secado a un nivel de confianza del 95 %.

Estas diferencias, entre los métodos de secado estudiados, pudieran ser producto, fundamentalmente, de que en el secado natural la droga se rehidrata continuamente por condensación de la humedad, sobre todo en horas de la noche donde la temperatura es menor que durante el día y la humedad relativa aumenta, de ahí que el peso del material vegetal, en las muestras al sol y a la sombra, fluctuaba mucho de un día a otro por lo que se extendió el tiempo de secado. Como el secado depende siempre de la transmisión de calor hacia la muestra para vaporizar el agua; y de la transmisión de agua de la muestra hacia el ambiente, el proceso sería más eficiente si la temperatura es constante y más alta que la temperatura ambiente. Esto explica que el tiempo transcurrido en el secado a la estufa sea menor, puesto que es un proceso controlado.

En comparación con los dos métodos mencionados anteriormente el secado en estufa resulto el más eficiente con mayor pérdida en peso en un tiempo de secado menor, siendo estos valores 6.4947 % y 20 horas respectivamente. Dichos resultados están en correspondencia con los obtenidos para hojas de *Psidium guajava* L., en el que en el proceso de secado en estufa a una temperatura de 43

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

± 2 °C se obtuvo peso constante de las hojas a las 24 horas.⁽⁶¹⁾ y a 40 °C en el que se evalúa el secado por convección de la guayaba variedad manzana, donde a las 20 horas se obtiene peso constante de la droga.⁽⁶²⁾

3.2.1 Pérdida por desecación

Con respecto a la pérdida por desecación, las Normas y Farmacopeas establecen, en dependencia del material vegetal, un contenido de pérdida por desecación entre 8 y 14 %.^(63, 64)

A continuación, en la tabla #2 se muestran los valores de Pérdida por desecación correspondientes a cada método de secado.

Tabla #2: Pérdida por desecación para cada método de secado

Método de secado	Pérdida por desecación (%) X $\pm$ DE
Sombra	7.24 $\pm$ 0.93 ^a
Sol	6.41 $\pm$ 0.46 ^a
Estufa	5.80 $\pm$ 0.97 ^a

Leyenda: X: media, DE: desviación estándar

Como se observa en la tabla anterior los menores porcentajes de pérdida por desecación se obtuvieron para las hojas secadas en la estufa con un 5.80 %, seguido del secado al sol, 6.41 % y por último tenemos que el porcentaje de secado a la sombra fue mayor presentando un valor de 7.24 %. Estos resultados están en correspondencia con la pérdida en peso que se obtuvo por estos métodos de secado y como tal podrían deberse a las mismas razones descritas en el **epígrafe 3.2**.

Estos resultados se corresponden en tendencia con los obtenidos en el estudio realizado a las hojas de *P. guajava*,⁽⁶⁵⁾ en el que el porcentaje de humedad de las muestras secadas en la estufa presentan el menor valor seguido de las secadas al sol y secadas a la sombra, (7,5 %, 13,0 % y 13,7 % respectivamente). Aunque estos valores superan, en todos los casos, a los obtenidos en el presente estudio.

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

Los valores para el porcentaje de humedad estuvieron por debajo de los límites establecidos por la Farmacopea Británica ⁽⁶⁶⁾ no excediendo en ninguno de los casos el 10 %, garantizando de este modo una calidad adecuada del material posterior al secado.

3.2.2 Determinación de las características organolépticas

Una vez que el material vegetal estuvo seco se trituró en un molino de cuchillas, tras lo cual se determinaron las características organolépticas del polvo, las cuales se muestran en la figura # 3, observándose que la droga secada al sol presenta un color más oscuro a diferencia del secado a la estufa y a la sombra, que conservaron el color verde propio de la planta.

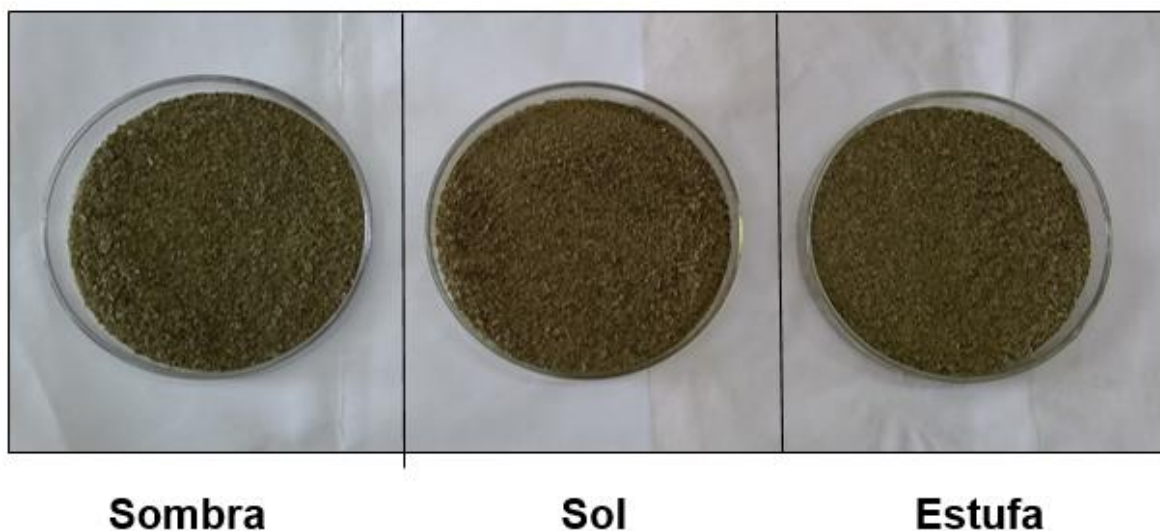


Figura #3: Características organolépticas del polvo de las hojas molinadas de *P. sartorianum* para los diferentes métodos de secado.

En cuanto al olor, los polvos no conservaron el olor similar a guayaba que tenía la planta antes de ser secada y molinada. Aunque cambió su olor original no se apreciaron diferencias entre los tres polvos evaluados, todos con un olor característico aromático.

El secado natural a la sombra permite la conservación del color y el aroma de las plantas frescas,⁽³⁹⁾ no siendo siempre así con el secado al sol, el cual puede

Resultados y Discusión

provocar la pérdida de componentes fotosensibles causando a su vez cambios y alteraciones en el color, olor y sabor originales de la droga.⁽⁴²⁾

3.2.3 Composición química

Uno de los aspectos considerados de interés en el estudio de una droga es conocer de forma preliminar su composición química general por métodos de tamizaje fitoquímico.⁽⁶⁷⁾

Después de realizar una extracción sucesiva con disolventes de polaridad creciente, cada extracto fue analizado por separado, comparándose los resultados para las hojas secadas por diferentes métodos, dichos resultados se muestran en la tabla #3.

Tabla #3: Tamizaje fitoquímico de las hojas de *P. sartorianum* secadas por diferentes métodos

Ensayo	Metabolito	Extracto Etéreo			Extracto Acuoso			Extracto Etanólico		
		S S	SA	SE	SS	SA	SE	SS	SA	SE
Resina								-	-	-
Mucílagos					-	-	-			
Lieberman- Burchard	Triterpenos y/o esteroides	-	-	-				-	-	-
Espuma	Saponinas				+	+	+	+	-	+
Ninhidrina	Aminoácidos							-	-	-
Baljet	Coumarinas	+	+	+				++	++	++
Fehling	Carbohidratos reductores				+	+	+	+	+	+
Bortranger	Quinonas							+++	+++	+++
Shinoda	Flavonoides	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Antocianidina								+	+	+

Resultados y Discusión

S										
Sudan	Ácidos grasos	+	+	+				-	-	-
Dragendorff	Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kedde	Glicósidos cardiotónicos							-	-	-
Cloruro férrico	Fenoles y/o taninos				+	+	+	+	+	+

Leyenda: SS: Secado a la sombra; SA: secado al aire (sol); SE: secado en estufa

Presencia: +, Ausencia: -, Intensidad: ++

Al efectuar los análisis correspondientes a los extractos etéreos se evidenciaron resultados positivos para ácidos grasos y coumarinas.

En el análisis de los extractos etanólicos se encontraron algunas diferencias en cuanto al método de secado fundamentalmente relacionadas con el ensayo de Saponinas. Este fue positivo en el secado a la sombra y a la estufa siendo la espuma formada durante el ensayo de este último caso más intensa que en el primero. Otras presencias positivas se encontraron para metabolitos como fenoles y/o taninos, antocianidas, quinonas, azúcares reductores donde se pudo evidenciar la formación de un precipitado, coumarinas y flavonoides, observándose en la determinación de estos últimos el desarrollo de una coloración naranja.

Para los extractos acuosos no se evidenciaron grandes variaciones en cuanto a los resultados obtenidos para los extractos anteriores obteniéndose una respuesta positiva para los ensayos de Fehling, Espuma, Shinoda y Tricloruro Férrico. En este último se desarrolló una coloración violeta con formación de precipitado que indica la presencia de taninos del tipo pirogalotónicos. Adicionalmente al realizar el ensayo de saponinas se pudo observar que la espuma desarrollada en los métodos de la sombra y la estufa fueron más intensas que la que se obtuvo para las muestras secadas al sol. En el ensayo de Shinoda, para flavonoides, éstos aparecieron solo en el extracto etanólico y acuoso, lo cual nos indica que están

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

como heterósidos flavonólicos; dado que estos son solubles en agua y alcohol e insolubles en disolventes orgánicos de baja polaridad.⁽⁵⁸⁾

En estudios fitoquímicos ⁽⁶⁸⁾ efectuados a especies del género *Psidium* se revela la presencia de ácidos grasos, fenoles y/o taninos, flavonoides y espuma.

Trabajos anteriores en los que se ha estudiado la composición química de la planta en cuestión se ha reportado la presencia de metabolitos no encontrados durante la realización de este screening fitoquímico tal es el caso de los triterpenos y/o esteroides para el caso del extracto etéreo y etanólico ⁽²⁸⁾ así como alcaloides para el extracto acuoso.⁽⁹⁾ Para este último caso algunos autores ⁽⁹⁾ refieren presencia negativa para el mismo *P. sartorianum* y también en algunos casos para *P. guajava*.^(61, 65) Este hecho pudiera deberse posiblemente a la sensibilidad de esta prueba o a que estos metabolitos se encontraban en una baja concentración durante la época de colecta.⁽⁶¹⁾ Adicionalmente también se han encontrado resultados negativos para metabolitos secundarios que si manifestaron su presencia en este estudio como coumarinas y saponinas.⁽⁹⁾

Es necesario destacar que la heterogeneidad de la presencia de los metabolitos y su intensidad de reacción en las diferentes estructuras varía mucho,⁽²⁸⁾ es posible que estos metabolitos sólo sean detectables en determinadas fases del ciclo de vida de las plantas (por ejemplo, en la floración o la fructificación), o según la época del año. Pueden, también, aparecer sólo en determinados órganos del vegetal. La presencia y abundancia de estos metabolitos secundarios en la planta depende de una gran cantidad de factores internos y externos. Los factores internos son aquellos que están relacionados con la especie en cuestión y el desarrollo de la misma, entre estos podemos citar la edad de la planta por lo que no se obtienen iguales resultados cuando se utilizan plantas adultas, de un buen desarrollo, que cuando se utilizan posturas jóvenes. También influye el estadio de desarrollo de la planta, el momento idóneo para cosechar el follaje es al comenzar la floración. Los metabolitos tienen una distribución desigual en los diferentes órganos de una misma planta. Las plantas son seres vivos y están en constante

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

intercambio de energía y materiales con el medio que las rodea (toman agua y nutrientes del suelo, asimilan la luz solar, liberan oxígeno, etc.). Entre los principales factores externos que están relacionados con el contenido de metabolitos secundarios de las plantas están: el suelo, la luz, la temperatura,⁽³⁹⁾ la época del año, la fertilización y los daños ocasionados por las plagas y enfermedades, edades, prácticas culturales, etc.⁽²⁸⁾

Al finalizar el análisis de todos los parámetros evaluados, los resultados evidenciaron que el método más adecuado para el secado de este material vegetal es el secado en estufa a 40 °C, ya que permite un control continuo de la temperatura, lo cual no es posible lograr con los demás métodos de secado. Esto propicia que el secado se realice en un menor tiempo por lo que garantiza una mayor pérdida de agua y por lo tanto permite obtener valores más bajos de humedad residual. Además, este permite conservar las características organolépticas de la droga al mismo tiempo que su composición química, al menos desde el punto de vista cualitativo.

3.3 Determinación de índices farmacognósticos

La determinación de los índices farmacognósticos de una droga vegetal es un paso indispensable para proponer índices de calidad que puedan garantizar su eficacia y seguridad. Para establecer los mismos, una vez secado el material vegetal, se llevó a cabo la determinación de pérdida por desecación, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 % al material correspondiente al secado en la estufa a 40 °C por resultar este método el más adecuado.

3.3.1 Determinación de pérdida por desecación

Un exceso de agua en la droga puede provocar la proliferación de microorganismos e insectos, seguido de la hidrólisis de principios activos y por consiguiente el deterioro de la droga.⁽⁶⁴⁾

Resultados y Discusión

El valor pérdida por desecación para esta planta es de 5.80 % lo cual se acepta pues dicho valor se encuentra por debajo del límite máximo establecido por las normativas (entre 8-14 %) para drogas de esta naturaleza.

Al revisar la literatura se pudo encontrar valores de humedad residual para las hojas de *P. guajava* que se encuentran alrededor de 8.50 %, ⁽⁶¹⁾ valor un tanto superior al determinado en este estudio, las diferencias pudieran estar dadas por las características ambientales de los lugares donde se realizaron los ensayos. Se pudo constatar que para los meses de septiembre y noviembre de 2014, que fue cuando se colectaron las muestras del estudio reportado, la humedad relativa promedio de Bogotá fue de 81 %, ⁽⁶⁹⁾ mientras que para el presente estudio la humedad relativa de Cuba en febrero de 2017 fue de 75 %. ⁽⁷⁰⁾

3.3.2 Determinación de Cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %

La determinación de cenizas es otro de los índices farmacognósticos importantes a determinar en un material vegetal, ya que las plantas absorben del suelo agua y las sales minerales para su crecimiento y desarrollo, el suelo puede estar contaminado con metales pesados por desechos de industria y/o condiciones medio ambientales que hacen que el material vegetal no pueda ser utilizado. ⁽⁷¹⁾

Por lo general, las cenizas totales se componen de carbonatos, fosfatos, sulfatos, silicatos y sílice. ⁽⁵⁸⁾ Estas permiten determinar la cantidad de material remanente después de la ignición: cenizas fisiológicas, derivadas de los tejidos de la planta y cenizas no fisiológicas, que son el residuo después de la ignición de la materia extraña como polvo, arena y tierra que pudiera estar adherida a la superficie de la droga. ⁽⁷²⁾ En el caso del estudio se tuvo especial cuidado en la selección y tratamiento del material vegetal, lavando con agua potable y eliminando toda la materia extraña por lo que se consideró que los valores obtenidos debían corresponderse con las cenizas fisiológicas de la especie.

El valor de las cenizas insolubles en ácido clorhídrico representa el contenido de material inorgánico extraño (tierra, arena) y estas cenizas suelen componerse

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

sobre todo de sílice; y una cantidad elevada de estas, indican contaminación con productos térreos.⁽⁵⁹⁾

Al material objeto de estudio se le realizó la determinación de las cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10 %, cuyos resultados se muestran en la tabla #4.

Tabla #4: Análisis de cenizas para las hojas de *P. sartorianum*

	Valor de Cenizas (%) $\bar{X} \pm DE$
Cenizas totales	4.19 $\pm$ 0.07
Cenizas solubles en agua	0.81 $\pm$ 0.05
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10%	0.53 $\pm$ 0.05

Leyenda: X: media, DE: desviación estándar

Las Farmacopeas plantean un índice de cenizas totales hasta el 5 %.⁽⁷³⁾ En nuestro caso los valores de cenizas hallados se encontraban por debajo del límite exigido (4.19 %).

En estudios anteriores con *P. guajava* se han determinado los valores de cenizas totales (5.960 % ⁽⁶²⁾ y 7.11 % ⁽⁶¹⁾). Estas variaciones, en cuanto a los valores obtenidos para este parámetro farmacognóstico, están asociadas a las características del suelo donde se recolectó cada muestra y al poder acumulativo de elementos de naturaleza inorgánica, fundamentalmente en este caso de las hojas.⁽¹⁾ Pueden influir además la región de cultivo, el período de análisis, almacenamiento, así como el método de secado que se haya utilizado en cada caso.⁽⁷⁴⁾

Adicionalmente se determinó el contenido de cenizas solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico al 10 %, para lo que se utilizaron las cenizas totales obtenidas anteriormente, obteniéndose un valor de 0.81 % para las primeras y de 0.53 % para las segundas. En ambas determinaciones los valores están dentro de los límites establecidos (alrededor del 2 % para plantas medicinales).

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

3.3.3 Determinación de extractivos solubles

La determinación de extractivos solubles es de gran importancia pues posibilita conocer la capacidad extractiva de los solventes utilizados.⁽⁵⁹⁾

En la tabla #5 se muestran los valores de extractivos solubles, obtenidos para el extracto acuoso, etanólico e hidroalcohólico.

Tabla #5: Resultados de la determinación de extractivos solubles para los diferentes disolventes empleados

Extractos	Valor de extractivos solubles (%) $X \pm DE$
Extracto Acuoso	25.70 ± 0.27
Extracto Etanólico	22.22 ± 0.17
Extracto Hidroalcohólico	39.01 ± 0.30

Leyenda: X: media, DE: desviación estándar

Los resultados revelan que se obtiene mayor rendimiento de sustancias extraíbles con el solvente hidroalcohólico, para el cual se obtuvo un valor de 39.01 % seguido del extracto acuoso con 25.70 % y por último el etanólico con valor de 22.22 %. Estos resultados están en relación con la polaridad del solvente; el etanol presenta menor polaridad que el agua, que es considerada la sustancia más polar; la menor extracción con el solvente etanol es de metabolitos de polaridad baja a intermedia, representados fundamentalmente por los triterpenos o esteroides. Eso sugiere que el material vegetal presenta un porcentaje significativo de metabolitos con polaridad intermedia y alta, dada la mayor extracción con el solvente hidroalcohólico, por lo que este se considera como buena alternativa para la obtención de extractos a partir de este material vegetal.

En estudios anteriores se determinó el porcentaje de extractivos solubles para la pulpa de guayaba ⁽⁷⁵⁾ obteniéndose valores que oscilaban entre 8.47-9 %, valores similares a los reportados en otro estudio ⁽⁷⁶⁾ con resultados de 9-10 %. En otra

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

investigación ⁽⁷⁷⁾ en la que se determinó este parámetro a hojas de *P. guajava* se obtuvieron valores de (10.9-11.7). Todos estos resultados son menores que los obtenidos en el presente trabajo, lo cual pudiera estar justificado si tenemos en cuenta que las características fisicoquímicas cambian con el cultivar, la época de cosecha y las condiciones edafoclimáticas.⁽⁷⁷⁾

3.4 Determinación del Índice de Polifenoles Totales (IPT)

Los polifenoles son una clase muy amplia de compuestos cuyos espectros electrónicos tienen un pico de absorción a 280 nm ⁽⁸⁾ esto se debe a que el núcleo bencénico característico de los compuestos polifenólicos tiene su máximo de absorbancia a esta longitud de onda.⁽²⁾ La lectura fotométrica a 280 nm es entonces proporcional a la cantidad de polifenoles presentes en los extractos de la planta.⁽⁸⁾

Los resultados de este índice para los tres extractos de las hojas de *P. sartorianum* se resumen en la tabla # 6.

Tabla #6: Índice de polifenoles totales obtenido para los extractos de las hojas de *P. sartorianum*.

Extractos	Valor de IPT (X) $\pm$ DE
Extracto Acuoso	50.05 $\pm$ 0.36
Extracto Etanólico	48.9 $\pm$ 4.24
Extracto Hidroalcohólico	50.5 $\pm$ 5.78

Leyenda: X: media, DE: desviación estándar

De manera general los valores de IPT obtenidos para cada extracto mostraron valores similares, los cuales se encuentran en concordancia con resultados obtenidos en estudios anteriores en los que se ha determinado el IPT para *P. sartorianum* y *P. guajava*.⁽⁹⁾

Aun así, podemos decir que el extracto hidroalcohólico mostró valores de IPT ligeramente mayores a los extractos etanólico y acuoso (50,5) y aunque este

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

parámetro resulta solo una medida preliminar del posible contenido fenólico presente en extractos naturales dado su sencillez y rapidez en la realización,⁽⁵⁴⁾ se puede inferir que el extracto hidroalcohólico presenta una mayor concentración de estos metabolitos.

3.5 Cuantificación de fenoles totales

La determinación de fenoles se realizó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu, la cual se basa en la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes. Este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que, al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes, forman complejos fosfomolibdico - fosfotúngstico. En medio básico la transferencia de electrones reduce estos complejos a óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cromógenos de color azul intenso que son proporcionales a la cantidad de grupos fenólicos presentes en la molécula de interés.⁽⁷²⁾

El contenido total de compuestos fenólicos se calculó empleando la curva de calibración del ácido gálico como patrón, los resultados se muestran en la figura #3 y se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramos de extracto seco (mgEAG/gES).

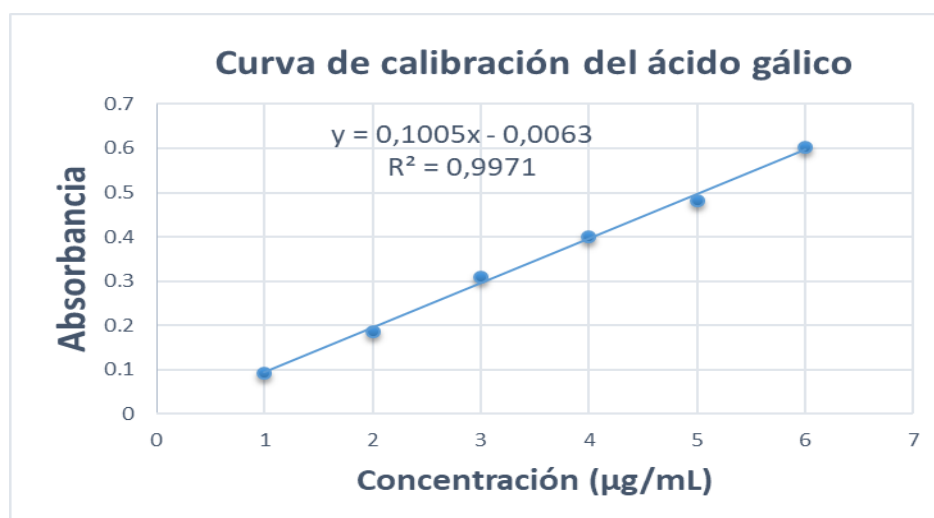


Figura #3: Curva de calibración del Ácido Gálico

Resultados y Discusión

A continuación, en la tabla #7, se muestran los resultados de compuestos fenólicos para los extractos de *P. sartorianum*.

Tabla #7: Contenido de compuestos fenólicos (mgEAG/gES) en los extractos evaluados

Extractos	Valor de fenoles totales (mgEAG/gES $\pm$ DE)
Extracto Acuoso	331.18 $\pm$ 27
Extracto Etanólico	339.30 $\pm$ 21.45
Extracto Hidroalcohólico	459. 66 $\pm$ 10.08

Leyenda: DE: desviación estándar

Los resultados consignados en la tabla #5 indican que el extracto que presentó el mayor contenido de compuestos fenólicos totales fue el hidroalcohólico (459 mgEAG/gES), seguido del extracto etanólico (339.30 mgEAG/gES), mientras que el contenido de estos metabolitos en el extracto acuoso correspondió con el menor valor obtenido (331.18 mgEAG/gES).

La diferencia encontrada entre todos los extractos, en la determinación de fenoles totales, se podría deber a la capacidad de los disolventes para extraer los compuestos desde el material vegetal, a la temperatura o al tiempo de extracción,⁽⁷⁸⁾ considerando la polaridad tanto del disolvente como la de los compuestos fenólicos.⁽⁷⁹⁾ En la literatura existen varios estudios donde señalan que regularmente los extractos orgánicos polares tienen de 3 a 4 veces más fenoles totales que los extractos acuosos.^(80, 81)

Al comparar los valores obtenidos en el presente estudio con otros llevados a cabo anteriormente para hojas de *P. guajava* se encontró que los valores varían mucho de un estudio a otro. Así por ejemplo se hallaron valores de 23.93 mgAGE/gES;⁽⁷⁵⁾ 115.58 mgAGE/gES;⁽⁸²⁾ también en un experimento ⁽⁸³⁾ para la determinación de fenoles y flavonoides, en hojas de guayabo, se determinó para los primeros un valor de 90.71 mgEAG/gES. Estas diferencias pueden deberse a que las plantas responden a variaciones ambientales, como la fertilización, los daños ocasionados

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

por plagas y enfermedades y las causadas por la época del año, lo cual influye en la producción de metabolitos secundarios que regulan la actividad metabólica, tal como los compuestos fenólicos,⁽⁸³⁾ así por ejemplo, la planta en cuestión fue recolectada en el mes de febrero, el cual es considerado un mes poco lluvioso según Lechea (1994) ⁽⁸⁴⁾ y el Instituto de Meteorología, esto pudo influir en el bajo contenido de fenoles totales, pues se plantea que las épocas de sequía y bajas temperaturas pueden disminuir considerablemente la proporción y composición de principios activos, entre ellos los compuestos fenólicos.⁽¹⁾ Igualmente la producción de estos compuestos se ve afectada por el estado fenológico de la planta, siendo la hoja joven el estado fenológico ideal para la cuantificación de estos metabolitos.⁽⁵⁾

Otros factores que pueden influir son el proceso de floración, lo cual demanda una alta disponibilidad de estos metabolitos para apoyar dicho proceso y la humedad, la cual depende fundamentalmente del régimen de precipitaciones. El agua es la encargada de transportar los principios solubles que se encuentran en el suelo e interviene en la síntesis de metabolitos primarios que son el punto de partida en la biosíntesis de metabolitos secundarios, entre ellos, los compuestos fenólicos. ⁽⁵⁾

3.6 Cuantificación de flavonoides

La cuantificación de flavonoides se llevó a cabo empleando la curva de calibración de quercetina como patrón, la cual se muestra en la figura #4. Este método se basa en la capacidad de absorción de los flavonoides presentes en las muestras de ensayo a una longitud de onda determinada. Los espectros UV presentan bandas particulares debido a los sistemas conjugados de los anillos aromáticos presentes en la estructura de los flavonoides, uno de los ensayos para medir el contenido de flavonoides totales es el colorimétrico usando cloruro de aluminio para la formación de complejos en las muestras a una absorbancia de 420 nm.⁽⁸⁵⁾ Los resultados se expresaron como miligramos de quercetina equivalentes por gramos de extracto seco (mgQE/gES).

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

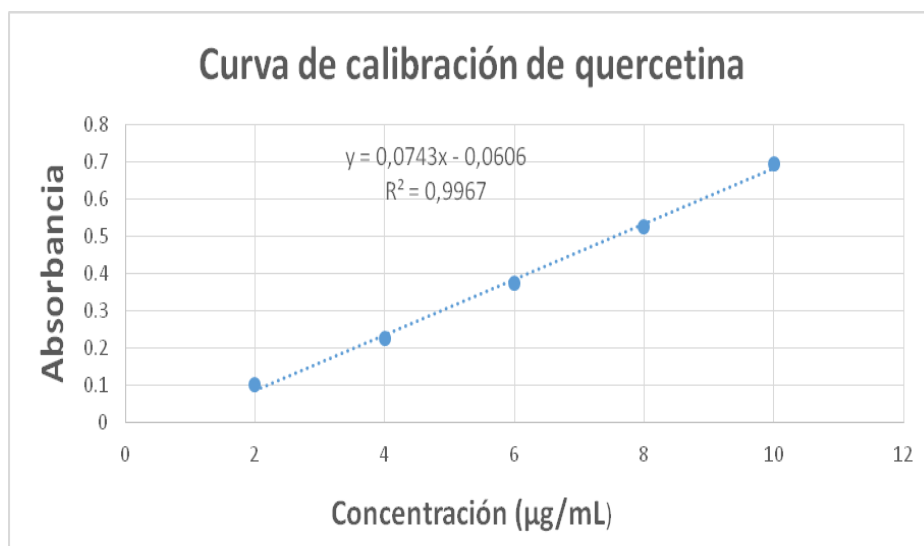


Figura #4: Curva de calibración de Quercetina

Los resultados de la cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales realizadas al extracto acuoso, etanólico e hidroalcohólico de las hojas de *P. sartorianum* secadas a la estufa se presentan en la tabla #8.

Tabla #8: Contenido de flavonoides totales (mgQE/gES) en los extractos evaluados.

Extractos	Valor de flavonoides totales (mgQE/gES ± DE)
Extracto Acuoso	31 ± 0.65
Extracto Etanólico	45.36 ± 4.68
Extracto Hidroalcohólico	59.41 ± 1.16

Leyenda: DE: desviación estándar

Como se puede observar en la tabla #7 el extracto obtenido con etanol presentó una concentración de flavonoides de 45.36 mgQE/gES, mientras que la concentración de estos metabolitos en el extracto acuoso fue menor (31 mgQE/gES), esto pudiera deberse a que los flavonoides se extraen de forma eficiente con alcoholes de baja masa molecular, en particular metanol y etanol.⁽⁸⁶⁾

Resultados y Discusión

A su vez, el valor de flavonoides obtenido para el extracto hidroalcohólico resultó mayor que para los demás extractos (59.41 mgQE/gES). Es posible inferir que las diferencias encontradas en estas determinaciones se deban fundamentalmente a la flora del área ecológica, los ciclos evolutivos de las plantas proveedoras de resinas que condicionan cambios en las concentraciones de las mismas, microorganismos presentes en el entorno geográfico, factores climatológicos.⁽⁸⁷⁾

Al comparar estos resultados con otras investigaciones ⁽⁸⁸⁾ se tiene que para las hojas de *P. guajava* se obtuvo un valor de 10.18 mgQE/gES, al respecto se indica que en varias especies los flavonoides varían sustancialmente entre genotipo, cambio estacional, edad, daños de la hoja y sitios de ubicación.⁽⁸⁹⁾

Según los resultados, el extracto que tuvo mayor contenido de fenoles y a su vez de flavonoides fue el hidroalcohólico, lo cual son resultados lógicos puesto que los flavonoides son un tipo de fenoles, por lo que sería adecuado seguir analizando con más detalle este extracto de la planta y sus efectos en relación con el hombre.

Considerando los resultados obtenidos, para cada extracto, en cuanto a extractivos solubles, índice de polifenoles totales, cuantificación de fenoles totales y de flavonoides podemos decir que el extracto con mejores resultados es el extracto hidroalcohólico por lo que se decidió para continuar la investigación establecer la caracterización físico-química del mismo.

3.7 Caracterización físico-química del extracto hidroalcohólico

3.7.1 Obtención de los extractos

Para la obtención del extracto hidroalcohólico se empleó como método de extracción la maceración, con agitación continua durante 24 horas, por ser uno de los más utilizados en el campo de los productos naturales, y menos agresivo para el material vegetal ya que los metabolitos no se ven afectados por acción del calor.

3.7.2 Características organolépticas

Al analizar las características organolépticas del extracto hidroalcohólico se puede plantear que el olor que prevaleció fue el del solvente empleado, además se

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

puede observar que presenta un color amarillo traslúcido. No se observó en ningún momento la presencia de precipitados, partículas, ni hubo separación de capas.

3.7.3 Determinación del pH

El extracto posee un valor de pH de 5.44, lo cual indica el carácter ligeramente ácido del extracto, justificada por los compuestos presentes en el extracto hidroalcohólico que son los que determinan este valor de pH; ellos en la forma disociada tienen cargas que dificultan los procesos de trasportes pasivos en las membranas celulares, favoreciéndose otros procesos de transporte transmembranas.⁽⁹⁰⁾ Entre los compuestos identificados que aportan características ácidas se encuentran los flavonoides, fenoles y taninos.⁽⁹¹⁾ Similares valores se reportan en otras investigaciones con *P. guajava*.^(61, 65)

3.7.4 Determinación del índice de refracción

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia,⁽¹⁾ por lo tanto, tiene marcado interés a la hora de detectar adulteraciones y envejecimiento; donde sus principales ventajas son: la rapidez y sencillez con que se puede obtener.⁽⁹²⁾

El índice de refracción determinado para el extracto hidroalcohólico es de 1.36, valor muy parecido a los obtenidos en estudios ⁽⁶⁵⁾ donde se evalúa este mismo parámetro para *P. guajava*.

3.7.5 Determinación de la densidad relativa

El resultado de densidad relativa determinada al extracto hidroalcohólico es de 0.937g/mL, valor que podemos considerar adecuados si tomamos en consideración la correspondencia con resultados obtenidos para extractos de *Psidium guajava*.⁽⁶⁵⁾

3.7.6 Análisis capilar

Los resultados del análisis capilar muestran que el extracto hidroalcohólico es muy poco coloreado. En él se observa bien la diferencia entre la banda y la sub-banda

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

siendo estas de color amarillo claro y la subfranja de color blanco, la franja es festonada. En cuanto a la altura podemos clasificar el extracto como alto (9 cm). Al exponer la banda de papel a los vapores de amoníaco no se observan cambios de coloración. En cuanto a la fluorescencia al someterlos a la luz ultravioleta, a 366 nm, se puede plantear que el extracto hidroalcohólico mostró fluorescencia violácea no muy intensa para la subfranja, la banda se puede apreciar de color violácea un poco más intensa, mientras que la parte perteneciente a la sub-banda permanece de color oscuro; además con la luz ultravioleta se puede apreciar mejor la forma que presenta la franja y la coloración que toma de color amarillo. Todo lo anterior se muestra en la Figura #5. Resultados similares para algunos de estos parámetros se obtuvieron en un estudio para *P. guajava*.⁽⁶⁵⁾

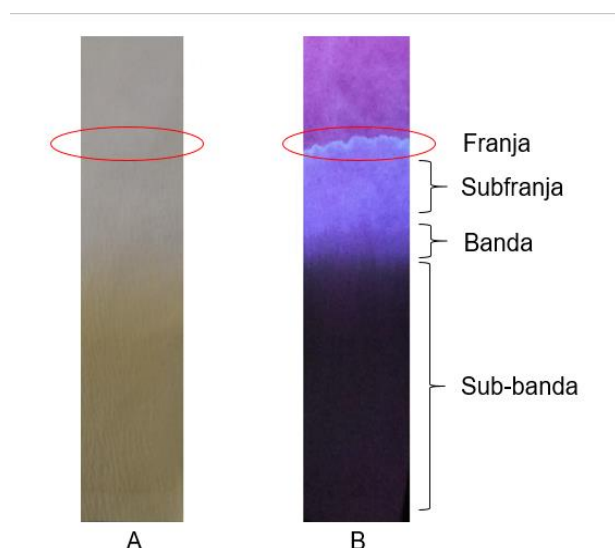


Figura #5: Análisis capilar del extracto hidroalcohólico. A: sin luz ultravioleta, B: con luz ultravioleta

3.7.7 Determinación de sólidos totales

Los sólidos totales indican la presencia de sales y residuos orgánicos en el extracto,⁽⁹³⁾ el resultado obtenido fue de 1.36 %.

En un estudio para *P. guajava* en el que se evaluó la cantidad de sólidos totales para extractos fluidos de estos se determinaron valores que se encontraban en un rango de 5.50 % – 15.38 %.⁽⁶⁵⁾ Otro estudio determinó para la especie *Psidium*

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

cattleianum Sabine, en los extractos etéreo, etanólico y acuosos resultados de 0.27 %, 1.50 % y 2.06 %, ⁽⁶⁷⁾ respectivamente.

Diferencias en los sólidos totales pueden ser atribuidas a las características del suelo, edad y estado vegetativo de la planta en el momento de la recolección. Así por ejemplo en el caso del estudio con *P. guajava* ⁽⁶⁵⁾ la planta se encontraba en estado vegetativo de floración y/o fructificación en todos los casos no siendo así para *P. sartorianum*.

3.7.8 Identificación de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico

Los resultados del tamizaje fitoquímico para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. sartorianum* se muestran a continuación en la tabla #9

Tabla #9: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. sartorianum*

Ensayo	Metabolito	Sombra	Sol	Estufa
Resina		-	-	-
Mucílagos		-	-	-
Lieberman-Buchard	Triterpenos y/o esteroides	-	-	-
Espuma	Saponinas	+	-	+
Ninhidrina	Aminoácidos	-	-	-
Baljet	Coumarinas	++	++	++
Fehling	Carbohidratos reductores	+	+	+
Bortranger	Quinonas	+++	+++	+++
Shinoda	Flavonoides	+	+	+
Antocianidinas		+	+	+

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

Sudan	Ácidos grasos	-	-	-
Dragendorff	Alcaloides	-	-	-
Kedde	Glicósidos cardiotónicos	-	-	-
Cloruro férrico	Fenoles y/o taninos	+	+	+

Leyenda: Presencia: +, Ausencia: -, Intensidad: ++

Teniendo en cuenta los resultados del tamizaje fitoquímico se puede indicar que en la composición de la especie se encuentran compuestos reductores, cumarinas, quinonas, fenoles y/o taninos, flavonoides, saponinas y antocianidas. Estos resultados no difieren mucho de los obtenidos para los extractos analizados anteriormente en el epígrafe 3.2.3.

Los resultados obtenidos y presentados en las tablas #2 y 7 nos muestran que la mayor proporción de metabolitos se encuentra en el extracto hidroalcohólico, por tanto, se infiere que *P. sartorianum*, posee mayor proporción de metabolitos polares.

Los metabolitos secundarios detectados en los extractos evaluados pudieran desempeñar una amplia gama de efectos biológicos. Dentro de ellos, por ejemplo, resulta interesante la presencia de fenoles dado que presentan una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo la actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antihipertensiva, estrogénica, antioxidante y efectos protectores contra enfermedades cardiovasculares. Especialmente estos componentes pueden ejercer efecto antioxidante como el secuestro de radicales libres, donan moléculas de hidrógeno, barren moléculas de superóxido, quelan metales de transición. Estas propiedades son atribuidas principalmente al grupo hidroxilo presente en su anillo estructural.⁽⁵³⁾

En su relación con el hombre, los flavonoides, se utilizan para tratar enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y desórdenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar.

Estudio farmacognóstico de las hojas de Psidium sartorianum

Resultados y Discusión

Algunos flavonoides pueden presentar actividad hepática protectora, antialérgica, antitrombótica, anticancerígena, antibacteriana, antifúngica, e incluso pueden ejercer efectos inhibidores sobre algunas enzimas. Otra de las propiedades de los flavonoides es su capacidad para contribuir a las propiedades de los alimentos, como el sabor o la dulzura. Además pueden ser utilizados en la industria de los cosméticos por su actividad desodorante y reductora de la hiperpigmentación causada por la vejez.⁽⁹⁴⁾

Por su parte para los taninos, que también son considerados como compuestos fenólicos, se ha descrito que actúan como antioxidantes; inhibiendo procesos como la peroxidación lipídica. Actúan como antiinflamatorios, antivirales, antimicrobianos, antitumorales, cardioprotectores, inhibidores de enzimas relacionadas con la diabetes (α -amilasa y α -glucosidasa), inmunomoduladores, antidiarreico asociado a la astringencia, entre otras. Además, se reportan efectos antinutricionales debido a que se complejan con ciertas enzimas asociadas a la digestión y absorción de nutrientes.⁽⁹⁵⁾

La gran diversidad estructural de las saponinas se refleja en sus diferentes propiedades biológicas y fisicoquímicas y en el uso que se hace de ellas en jabones, antimicrobianos, anticancerígenos.⁽⁹⁶⁾ Estos compuestos son poderosos agentes tensoactivos. Cuentan con propiedades detergente, edulcorantes, expectorantes, diurética, antiinflamatoria y se ha reportado que sirven como materia prima para la síntesis de hormonas esteroideas como estrógenos, anticonceptivos orales, andrógenos y otros.⁽⁹⁷⁾

Las quinonas se encuentran dentro de los principios activos de origen vegetal más utilizados en aplicaciones biomédicas.⁽⁹⁸⁾ Ellas desempeñan papeles vitales en la bioquímica de las células y los organismos y ejercen actividades biológicas relevantes, siendo un ejemplo de ello la Vitamina K1, que es un factor importante en la coagulación sanguínea y la coenzima Q, una quinona que interviene en la cadena de transporte de electrones en las células.⁽⁹⁹⁾ Esta familia de metabolitos

Resultados y Discusión

se han utilizado como agentes antimaláricos,⁽¹⁰⁰⁾ antimicrobianos,⁽¹⁰¹⁾ antitumorales,⁽¹⁰²⁾ fungicidas,^(103, 104) anticancerígenos,⁽¹⁰⁵⁾ entre otros.

Por último, en relación a las coumarinas dentro de los compuestos lactónicos, pudieran aportar a los extractos provenientes de *P. sartorianum* posible actividad estrogénica, insecticida, antiviral, antiinflamatoria y anticancerígena considerando el perfil farmacológico reportado para estos metabolitos.

Esta técnica es ampliamente usada para evaluar la composición de las drogas vegetales. Sin embargo, es importante señalar que esta ofrece solo una valoración cualitativa de la composición química de la planta y que no puede tomarse en ningún caso como un resultado concluyente, ya que en la presencia o ausencia de un metabolito puede influir la concentración de los mismos, solubilidad en el disolvente empleado y las interferencias de otros componentes.⁽⁹²⁾

Conclusiones



Conclusiones

1. Se describieron para las hojas de *Psidium sartorianum* las características macromorfológicas.
2. El estudio de secado efectuado permitió establecer el secado en estufa a 40°C como el método más factible para ser aplicado a la especie.
3. Se establecieron los índices farmacognósticos de control de la calidad al material vegetal procedente de las hojas de *P. sartorianum*, los cuales estuvieron dentro de los límites establecidos en los materiales de referencia.
4. El extracto hidroalcohólico mostró los mejores resultados en cuanto a composición química y cuantificación de fenoles.
5. Se caracterizó el extracto hidroalcohólico procedente de la droga cruda y se establecieron sus especificaciones de calidad.

Recomendaciones



Recomendaciones

1. Extender el estudio farmacognóstico a muestras procedentes de diferentes lugares y épocas de recolección con vistas a establecer las especificaciones de calidad de la droga vegetal.
2. Completar el estudio fitoquímico de la planta con el objetivo de aislar y caracterizar los compuestos presentes.
3. Evaluar el potencial farmacológico del extracto hidroalcohólico.

Bibliografía



Bibliografía

1. Miranda M, Cuéllar A. Farmacognosia y productos naturales. La Habana: Editorial Félix Varela. 2001;141.
2. Pública NRdS. 312. Extractos fluidos y tinturas Métodos de ensayos, Minsap. 1991.
3. Pública NRdS. 309. Droga cruda Métodos de ensayo. 1991.
4. Morales Mesa A. El uso popular de las plantas medicinales: tres puntos de vista y un objetivo común. La Habana: CIPS, Centro de Investigaciones Psicológicas y Sociológicas. 2000.
5. Plantas, flora y vegetación endémica de Cuba. 2017.
6. Fernández BE, Armas RC. Producción científica cubana sobre plantas medicinales y productos naturales a partir de la base de datos PlantMedCUBA, 1967-2010. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013;18(3):348-60.
7. Fermin G, editor Myrtaceae in Venezuela: Diversity, distribution and ethno-botanical aspects. II International Symposium on Guava and other Myrtaceae 849; 2008.
8. Greuter W, Rankin Rodríguez R. Plantas Vasculares de Cuba Inventario preliminar. 2017.
9. Marrero Morfa D, Vicet Muro L, Siverio Mota D. Contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de dos especies de *Psidium* que crecen en Casilda [Tesis de Maestría]. Santa Clara: Universidad Central Marta Abreu de Las Villas; 2019.
10. Plantas endémicas de Cuba 2011 [Available from: <http://cubainfodetails.aspx.htm>].
11. Acosta Ramos Z. Taxonomía y conservación del género *Plinia* en Cuba. 2016.
12. Morgado AO, García-Lahera JP. Flora y vegetación del área de arenas cuarcíticas de Casilda, Sancti Spíritus, Cuba. 2014.
13. García-Lahera JP, Morgado AO. Estado de conservación de la flora y la vegetación en los ecosistemas arenoso cuarcíticos de Casilda, Sancti Spíritus, Cuba/Conservation status of the flora and the vegetation on the quartz sands ecosystems, in Casilda, Sancti Spíritus, Cuba. Revista del Jardín Botánico Nacional. 2015:93-102.
14. García-Lahera J, Orozco A. Estado de conservación de plantas endémicas del área de arenas cuarcíticas de Casilda, Trinidad, Sancti Spíritus (Cuba). Bissea. 2013;7(2):1.
15. Proyecto a favor de la flora y la fauna en Sancti Spíritus 2019 [Available from: <http://www.asambleassp.co.cu/2018/11/proyecto-a-favor-de-la-flora-y-la-fauna-en-sancti-spiritus/>].
16. Orozco A, García-Lahera J. Biodiversidad: conocimiento actual de la flora y la vegetación natural. Experiencias en la protección de la biodiversidad y el desarrollo sostenible en la provincia de Sancti Spíritus. 2012:93-107.
17. Plantas comestibles centro América- Familia Myrtaceae. San Jose Costa Rica 2011 [Available from: <http://blog.inbio.ac.cr/editorial/?p=1437>].
18. Cascaes M, Guilhon G, Andrade E, Zoghbi M, Santos L. Constituents and pharmacological activities of *Myrcia* (Myrtaceae): A review of an aromatic and medicinal group of plants. International journal of molecular sciences. 2015;16(10):23881-904.
19. Stefanello MÉA, Pascoal AC, Salvador MJ. Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. Chemistry & biodiversity. 2011;8(1):73-94.
20. Faleiro JH, Gonçalves RC, dos Santos MNG, da Silva DP, Naves PLF, Malafaia G. The chemical featuring, toxicity, and antimicrobial activity of *Psidium cattleianum* (Myrtaceae) leaves. New Journal of Science. 2016;2016.
21. Maldonado GR, Pacheco D, Martín L, Sánchez A, Quirós M, Ortega J, et al. Flavonoides presentes en especies de *Psidium* (MYRTACEAE) de Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía. 2013;30(2).

22. Delgado-Vargas F, Díaz-Camacho S, Salazar-Zamora G, Uribe-Beltrán M, Vega-Aviña R. *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied., an Indigenous plant to México, from biology to biological activity. JN Govil, VK Singh, C Arunachalam In search for natural drugs. 2005;13.
23. Cruz AJU, González-Oliva L, Ramos ZA, Carbó RN. La subtribu Myrtinae (Myrtaceae) en la flora de Cuba. Revista del Jardín Botánico Nacional. 2011;5-10.
24. Medina AL, Haas LIR, Chaves FC, Salvador M, Zambiasi RC, Da Silva WP, et al. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. Food Chemistry. 2011;128(4):916-22.
25. Fasola TR, Oloyede GK, Aponjolosun BS. Chemical composition, toxicity and antioxidant activities of essential oils of stem bark of Nigerian species of guava (*Psidium guajava* Linn.). EXCLI journal. 2011;10:34.
26. E D, P N. Gênero *Psidium*: Aspectos Botânicos, Composição Química e Potencial Farmacológico. Revista Procesos Químicos. 2015.
27. Sánchez PE. Myrtaceae. Flora de Veracruz. Fascículo 621990. p. 146.
28. Hernández Ramírez MC. Extractos de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.(Myrtaceae) y su efecto inhibitorio sobre bacterias Gram-negativas y Gram-positivas: Instituto en Ciencias Biológicas-Licenciatura en Biología-UNICACH; 2015.
29. Rebollar S, Quintanar A, de la Paz Perez C. Estudio anatómico de la madera de *Psidium sartorianum* (Myrtaceae) y *Cordia gerascanthus* (Boraginaceae). Acta Botánica Mexicana. 1994(27):89-97.
30. ISASSI SERRANO M. Evaluación de tres métodos de propagación de *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied: Universidad Autónoma del Estado de México; 2016.
31. Rivero Maldonado GdC. Revisión sistemática de *Psidium* (Myrtaceae) en la región occidental de Venezuela. 2014.
32. R LV, M CB, M GMR, H CL. Barrancas de los Ríos Santiago y Verde, visitas desde el jardín botánico de la CEA. Jalisco, México2011.
33. . !!! INVALID CITATION !!! (19, 25, 27).
34. Pío León JF, López Angulo G, Ahumada Santos YP, López López MdJ, López López MA, Uribe Beltrán MdJ, et al. Actividad antibacteriana de la pulpa de fruto de arrayán *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied. Revista Latinoamericana de Química Universidad. 2008:95.
35. Tapia García F. Las plantas curativas y su conocimiento entre los Amuzgos: árboles grandes y arbustos. 1985.
36. Camacho-Hernández I, Cisneros-Rodríguez C, Uribe-Beltrán M, Rios-Morgan A, Delgado-Vargas F. Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum*. Fitoterapia. 2004;75(3-4):401-4.
37. Pío-León JF, Díaz-Camacho SP, López-López MA, Uribe-Beltrán MdJ, Willms K, López-Angulo G, et al. Actividad antibacteriana de extractos de frutos de nanchi (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), arrayán (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.) y ayale (*Crescentia alata* Kunth). Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. 2013;12(4).
38. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews. 1999;12(4):564-82.
39. Fuentes V, Lemes C, Rodríguez C, Robineau L. Manual de cultivo y conservación de plantas medicinales. Santo Domingo: SATIS. 2000:197.
40. Almada M, Cáceres M, Machaín-Singer M, Pulfer J. Guía de uso de secaderos solares para frutas, legumbres, hortalizas, plantas medicinales y carnes. Asunción, Paraguay: UNESCO. 2005.
41. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos: Convenio Andrés Bello; 2000.

42. Otazu Larrasoña I, Irisarri Alfonso I. Influencia de la temperatura y tiempo de secado en la calidad de las hojas de *Cymbopogon Citratus* DC staf. 2010.
43. Osorio E. Aspectos básicos de farmacognosia. Facultad de Química Farmacéutica de la Universidad de Antioquia. 2009.
44. Méndez G, Fuentes Fiallo VR, Soler BA, Villanueva G, Lemes Hernández CM, Rodríguez Ferrada CA. Variación de índices farmacognósticos en *Passiflora incarnata* L. con la época y hora de cosecha de la droga. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2001;6(3):98-104.
45. *Ánàlisis químico de plantas aromáticas y medicinales. Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales*.
46. Kuklinski C. En libro: *Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Omega, Barcelona. pp; 2000.
47. Ganchozo Z, Ezequiel A. Estudio farmacognóstico y composición proximal de *Cymbopogo Citratus* (Hierba Luisa), *Melissa Officinalis* (Toronjil) y *Lippia Citriodora* (Cedrón) proveniente de las Provincias El Oro y Azuay, Ecuador: Machala: Universidad Técnica de Machala; 2015.
48. Miranda M, Cuéllar A. *Farmacognosia y Química de los Productos Naturales*. Editorial Félix Varela. 2012.
49. Castillo Olvera G, Diana ZC, Carrillo Inungaray ML. *Ánàlisis fitoquímico: una herramienta para develar el potencial biológico y farmacológico de las plantas*. *Revista Académica de Investigación*.
50. Venegas Casanova EA. Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante. 2012.
51. PALACIOS PALACIOS MI. Tema 04: Metabolitos primarios y secundarios. *Clasificación, fundamento químico de marchas fitoquímicas y reacciones de identificación*. p. 10.
52. Ávalos A, Elena G. *Metabolismo secundario de plantas*. *Reduca Biología Serie Fisiología Vegetal* 2 (3): 119–145. 2009.
53. Jáuregui AMM, Escudero FR. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horizonte Médico* (Lima). 2007;7(1):23-31.
54. Cañibano Alberola M. Efecto del perfil fenólico sobre las características antioxidantes de vinos tintos. 2012.
55. Nurmi K, Ossipov V, Haukioja E, Pihlaja K. Variation of total phenolic content and individual low-molecular-weight phenolics in foliage of mountain birch trees (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*). *Journal of Chemical Ecology*. 1996;22(11):2023-40.
56. Pękal A PK. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. *Food Anal Methods*. 2014;7(1):1776-82.
57. . !!! INVALID CITATION !!! (24-26).
58. Reyes R, Guillermo S. Contribución del estudio farmacognóstico y farmacodinámico de las hojas de mangífera indica l. al uso medicinal. 2009.
59. Puerto Abrahan R. Evaluación farmacognóstica y fitoquímica de las hojas de *Eugenia Clarensis* (Britton & P. Wilson): Universidad Central" Marta Abreu" de Las Villas; 2014.
60. Rodríguez Mata PJ, Fito Suñer PJ, Castro Giraldez M, Bailey J. Efecto de la radiación solar en el proceso de secado delas uvas con horno solar. Valencia: Universitat Politecnica de Valencia; 2018.
61. Comas R. Contribución a la estandarización del proceso de obtención a escala de laboratorio de un extracto de las hojas de *Psidium guajava* L: Tesis de maestria). Universidad Nacional de Colombia, Colombia; 2014.
62. Hincapié GA, Barajas JA, Arias Z. Evaluación del secado por convección de la guayaba (*Psidium guajava* L.) variedad manzana. *Revista Investigaciones Aplicadas*. 2011;5(2):92-103.

63. Gutiérrez Y. Estudio farmacognóstico de *Phyllanthus orbicularis* HBK, especie endémica de Cuba. Instituto de farmacia y alimentos Departamento de farmacia. 2011:1-97.
64. Monserrate V. (2014). Elaboración de un condimento para carnes a partir de las hojas deshidratadas de *Mansoa alliacea* de origen ecuatoriano (Ajo sachá) con actividad antioxidante Guayaquil.
65. Rodríguez Rodríguez LE, Gutiérrez Gaiten Y, Quintero R. Estudio farmacognóstico y valoración del extracto fluido obtenido de las hojas de *Psidium guajava* L.(guayaba). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 1997;2(2):26-9.
66. British Pharmacopoeia, (2013).
67. Gavilla AA, Muro LV. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas del guayabo fresa (*Psidium cattleianum* Sabine). Agricultura Tropical. 2018;4(1).
68. . !!! INVALID CITATION !!! (59, 63, 65).
69. Indias OadCd. Humedad relativa promedio.
70. Cuba otra ofrece tiempo Cuba otra ofrece, Cuba: el tiempo en Febrero 2019. Guía de viaje y consejos. Lee un resumen del clima.; 2019.
71. Camacho Sánchez CE, Martínez Gagnay DG. Determinación de Parámetros Físico-Químicos en la Deshidratación de las Hojas de *Ilex guayusa* para la formulación de una Bebida Energética [Tesis de grado]: Escuela superior politécnica del litoral; 2015.
72. Cruzado M, Pastor A, Castro N, Cedrón JC. Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Revista de la Sociedad Química del Perú. 2013;79(1):57-63.
73. Zhi-cen L. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias a proposal on their international unification. WHO/PHARM/80.50: 8-39, Ginebra; 1980.
74. Jongrungruangchok S, Bunrathep S, Songsak T. Nutrients and minerals content of eleven different samples of *Moringa oleifera* cultivated in Thailand. J Health Res. 2010;24(3):123-7.
75. Celis ES. EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PULPA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) VARIEDAD CRIOLLA ROJA. 2014.
76. D ANDRADE R, ORTEGA FA, MONTES EJ, TORRES R, PÉREZ OA, CASTRO M, et al. Caracterización físicoquímica y reológica de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) variedades Híbrido de Klom Sali, Puerto Rico, D14 y Red. Vitae. 2009;16(1):13-8.
77. Rodríguez L, López L, García M. Determinación de la composición química y actividad antioxidante en distintos estados de madurez de frutas de consumo habitual en Colombia, mora (*Rubus glaucus* B.), maracuyá (*Passiflora edulis* S.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y papayuela (*Carica cundinamarcensis* J.). Alimentos Hoy. 2010;19(21):35-42.
78. Sreejith M, Kannappan N, Santhiagu A, Marathakam A, Ajith P, Jasemine S. In vitro xanthine oxidase inhibitory and antioxidant activities of aerial parts of *Flacourtia sepiaria* Roxb. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine. 2013;13(2):113-20.
79. Ricco RA, Wagner ML, Portmann E, Reides C, Llesuy S, Gurni AA, et al. Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de *Lippia* y *Aloysia* (Verbenaceae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2010;9(5).
80. Moreno S, Scheyer T, Romano CS, Vojnov AA. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free radical research. 2006;40(2):223-31.

81. Čanadanović-Brunet JM, Djilas SM, Četković GS, Tumbas VT, Mandić AI, Čanadanović VM. Antioxidant activities of different *Teucrium montanum* L. extracts. *International journal of food science & technology*. 2006;41(6):667-73.
82. Palomares Salvador I. OBTENCIÓN DE FENOLES TOTALES DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS EN DIFERENTES TIEMPOS DE MACERACIÓN DE HOJAS DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) Y DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.).
83. Pérez EP, Ettiene G, Marín M, Padron AC, Silva N, Raga J, et al. Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista de la Facultad de Agronomía*. 2014;31(1).
84. Lechea B. Características climáticas generales de régimen térmico en Cuba. La Habana 1994.
85. Fonseca Montalvo RI. Flavonoides y actividad antioxidante en la especie *Ilex guayusa* (Loes.) 2017.
86. Chávez M, Eustaquio C. Identificación preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos acuosos y etanólicos del fruto y hojas de *Morinda citrifolia* L. noni y cuantificación espectrofotométrica de los flavonoides totales. 2010. Disponible en la Biblioteca de la Facultad de Farmacia y Bioquímica la Universidad Nacional de Trujillo.
87. Palomino García LR, Martínez Galán JP, García Pajón CM, Gil González JH, Durango Restrepo DL. Caracterización fisicoquímica y actividad antimicrobiana del propóleo en el Municipio de La Unión (Antioquia, Colombia). *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*. 2010;63(1).
88. Fernández WO, Torres YA, Rodríguez MEJ, Mayancha DMG, Salinas HMC, Sánchez LRB. Desarrollo y Validación de Técnicas Espectrofotométricas para la Determinación de Flavonoides Totales, Basada en Quercetina, en las Hojas de *Psidium guajava* L. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*. 2016;5(3):276-89.
89. Gómez EO, Arévalo AL, Días DR, Chacón MS. Cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante en hojas, corteza, flores y fruto de dos variedades de guayaba (*psidium guajava* L.). *Revista Investigación y Amazonía*. 2012;1(2):48-52.
90. Pérez-Portero Y, Rodríguez-Leblanch E, Aguilar-Navarro B, González-Pérez M, Hung-Guzmán B. Caracterización físico-química de extractos de *Spondias mombin* L. *Revista Cubana de Química*. 2016;28(1):444-9.
91. . !!! INVALID CITATION !!! (59, 88, 89).
92. Mena Linares Y, González Mosquera DM, Valido Díaz A, Pizarro Espín A, Castillo Alfonso O, Escobar Román R. Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2016;21(4):1-13.
93. Barahona V. Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de la guanábana (*Annona muricata*): Tesis de licenciatura inédita] Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013.
94. Alejandro GNM. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro *Rev Acad*. 2009;1:1-4.
95. . !!! INVALID CITATION !!! (92-94).
96. Díaz Puentes LN. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET Revista de Estudios Transdisciplinarios*. 2009;1(2).
97. Claus M. *Chemistry and Biological Activities of Plants of the Genus Neurolaena*. 1996.
98. Kowski L. *Productos vegetales en investigaciones biomédicas: las quinonas*. 2017.

99. López Maturana B. Quinonas e hidroquinonas, investigación Dr. Oney Ramírez 2011 [Available from: <http://www.quimica.uchile.cl/quinonas-e-hidroquinonas-investigacion-dr-oney-ramirez/>].
100. Prescott B. Potential antimalarial agents. Derivatives of 2-chloro-1, 4-naphthoquinone. *Journal of medicinal chemistry*. 1969;12(1):181-2.
101. Tandon VK, Yadav DB, Singh RV, Vaish M, Chaturvedi AK, Shukla PK. Synthesis and biological evaluation of novel 1, 4-naphthoquinone derivatives as antibacterial and antiviral agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2005;15(14):3463-6.
102. Chou L-C, Chen C-T, Lee J-C, Way T-D, Huang C-H, Huang S-M, et al. Synthesis and preclinical evaluations of 2-(2-fluorophenyl)-6, 7-methylenedioxyquinolin-4-one monosodium phosphate (CHM-1- P-Na) as a potent antitumor agent. *Journal of medicinal chemistry*. 2010;53(4):1616-26.
103. Tandon VK, Chhor RB, Singh RV, Rai S, Yadav DB. Design, synthesis and evaluation of novel 1, 4-naphthoquinone derivatives as antifungal and anticancer agents. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*. 2004;14(5):1079-83.
104. Ryu C-K, Shim J-Y, Chae MJ, Choi IH, Han J-Y, Jung O-J, et al. Synthesis and antifungal activity of 2/3-arylthio-and 2, 3-bis (arylthio)-5-hydroxy-/5-methoxy-1, 4-naphthoquinones. *European journal of medicinal chemistry*. 2005;40(5):438-44.
105. Afrasiabi Z, Sinn E, Chen J, Ma Y, Rheingold AL, Zakharov LN, et al. Appended 1, 2-naphthoquinones as anticancer agents 1: synthesis, structural, spectral and antitumor activities of ortho-naphthoquinone thiosemicarbazone and its transition metal complexes. *Inorganica Chimica Acta*. 2004;357(1):271-8.

Anexos



Anexos

Anexo #1: Equipos, materiales y reactivos empleados

Equipos, instrumentos de medición.	Reactivos
- Balanza digital, SARTORIUS-B51245, Alemania. - Cristalería de laboratorio. - Espectrofotómetro UV-VIS, RAYLEIGH UV-1601, China. - Espectrofotómetro, Thermo SCINTIFIC, modelo G10S UV-VIS, China - Estufa, BINDER, Alemania. - Micropipetas, RONGTAL, China. - Molino de cuchillas, IKA WERKE mf-10 BASIC, Alemania. - Vortex, IKA®-GENIUS 3, Alemania - Zaranda MLV-THYS2, Alemania - Mufla, Nabertherm, Alemania. - Plancha eléctrica, IKA® C-MAG HP 7. - Papel de filtro, Xinxing Qualitative Filter Paper 101 Fast. - Lámpara Ultravioleta, CAMAG, España. - Densitómetro, Kem (Kyoto instruments). - Peachímetro, Hanna instruments. - Refractómetro, atago®.	- Reactivo de Dragendorff - Reactivo de Kedde A y B. (UNI-CHEM) - Cloruro férrico (Analar) - Ácido clorhídrico concentrado (UNI-CHEM) - Cinta de magnesio metálica (Analar) - Ácido sulfúrico concentrado (UNI-CHEM) - Anhidrido acético (UNI-CHEM) - Reactivo de Baljet A y B (UNI-CHEM) - Reactivo de Fehling A y B (UNI-CHEM) - Falta Borntranger - Falta Sudan - Solución de Ninhidrina 2%. - Etanol amílico. (UNI-CHEM) - Cloroformo. (UNI-CHEM) - Etanol absoluto - Folin-Ciocalteau - Carbonato de sodio - Agua destilada - Éter etílico - Etanol 92% (UNI-CHEM)

Anexo #2: Metodología utilizada para el tamizaje fitoquímico

Ensayo	Fundamento	Reactivos	Procedimiento	Evidencia
Mucílagos	Permite reconocer la presencia de estas estructuras tipo polisacárido	-----	Una alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5 °C durante 15 min.	El ensayo es positivo si la solución toma una consistencia gelatinosa.
Resinas	Permite reconocer la presencia de Resinas	-----	Adicione a 2mL de la solución alcohólica del extracto, 10mL de agua destilada agite y deje reposar.	La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo
Dragendorff	Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides .	Reactivo de Drangendorff	Debe evaporarse el etanol en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de HCl (1%). A esta solución acuosa ácida se le añaden 3 gotas del reactivo de Drangendorff.	Se producen complejos insolubles color rojo ladrillo, de tal manera que, si hay opalescencia el ensayo se considera positivo (+), si t(O. Berg) Niedidez definida (++) y si precipitado (+++).
Kedde	Permite reconocer la presencia de glicósidos cardiotónicos	Reactivos A y B partes iguales	Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1mL del reactivo y se deja reposar durante 5-10 min. Y se observan los cambios de coloración.	Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1-2 horas
Cloruro Férrico	Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos . Si está en etanol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos.	Solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica	A una alícuota del extracto etanólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica.	Un ensayo positivo puede dar la siguiente información general: • Coloración rojo –vino, compuestos fenólicos en general. • Coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos. • Coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.
Shinoda	Permite reconocer la presencia de flavonoides .	-Ácido clorhídrico concentrado -Cinta de magnesio metálico	A un mililitro se le adiciona un pedacito de cinta de magnesio metálica. Se añade 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado gota a gota. Después de la reacción se esperan 5 min hasta la aparición del color. - Si no se observan bien los colores se añade 2 mL de agua y se agita la mezcla con 1 mL de etanol amílico y se observan los colores en esta fase.	El ensayo se considera positivo cuando aparece una coloración o el etanol amílico se colorea de diferentes colores, intensos en todos los casos. Los colores están relacionados con la estructura del flavonoide.
Liebermann-Burchard	Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides .	-Anhídrido acético -Ácido sulfúrico	Debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo se dejan correr 2-3 gotas de ácido	Un ensayo positivo se tiene por un cambio de coloración: 4. Rosado- azul muy rápido. 5. Verde intenso, visible

			sulfúrico concentrado sin agitar.	aunque rápido. 6. Verde oscuro- negro, final de la reacción.
Baljet	Permite reconocer la presencia de coumarinas y otros compuestos lactónicos.	Reactivo de Baljet	Se adiciona 1mL de reactivo al extracto.	La aparición de una coloración se considera (+) y de un precipitado (++)
Fehling	Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores	Soluciones A y B mezcladas en iguales cantidades y justo en el momento de realizar el ensayo	Debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2mL de agua. Se adicionan 2mL del reactivo (A+ B recién preparado) y se calienta en baño de agua de 5-10 min.	El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece un precipitado rojo.
Bortranger	Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas	KOH al 5% en agua	A la alícuota disuelta en cloroformo, se adiciona 1mL del reactivo. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.	El ensayo se considera positivo si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado (++) a rojo (+++)
Espuma	Permite reconocer la presencia de saponinas , tanto del tipo esteroideal como triterpénicas	-----	Se diluye en 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10min	El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de espesor o altura y persiste por más de 2 min.
Ninhidrina	Permite reconocer la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general	solución de ninhidrina al 2%	La alícuota del extracto en etanol se mezcla con 2mL de la solución de ninhidrina al 2%. La mezcla se calienta durante 10 min en un baño de agua.	Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color violáceo
Antocianidas			Se calientan 2mL del extracto etanólico durante 10 min con 1mL de HCl con., se deja enfriar y se adiciona 1mL de agua y 2mL de etanol amílico, se agitan y se dejan separar las dos fases.	La aparición de un color rojo a marrón en la fase amílica es indicativo de un ensayo positivo.
Sudan III	Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos	Solución del colorante Sudán III	La alícuota de la fracción en el solvente de extracción se le añade 1mL del reactivo. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente.	La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayo, respectivamente.

