

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or historical figure, seated and holding a book. The figure is surrounded by various symbols, including a crown at the top, a shield on the left, and a lion on the right. The Latin motto "CETERA DESIBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter of the seal.

**CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS DE TRES
PLANTAS CON PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS,
ANTIFÚNGICAS Y ANTIPROTOZOARIAS**

Informe de Tesis

Presentado por

Ixmucané Menéndez Aquino

**Para optar el título de
Química Farmacéutica**

Guatemala, 2 de Agosto de 2007

MIEMBROS DE JUNTA DIRECTIVA

| | |
|---|------------|
| Oscar Cóbar Pinto, Ph.D. | Decano |
| Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto | Secretario |
| Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A. | Vocal I |
| Licda. Liliana Vides de Urízar | Vocal II |
| Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez | Vocal III |
| Br. Mariesmeralda Arriaga Monterroso | Vocal IV |
| Br. José Juan Vega Pérez | Vocal V |

ACTO QUE DEDICO

| | |
|---------------------|---|
| A DIOS | Por permitirme culminar esta etapa de mi vida. |
| A MIS PADRES | Por su apoyo, dedicación y darme las herramientas para realizar mi sueño. |
| A MIS HERMANOS | Nictéh y Eynard por llenar de alegría mi vida. |
| A MIS ABUELITAS | Por enviarme bendiciones desde el cielo. |
| A MIS TIOS Y PRIMOS | Por darme siempre ánimos para continuar. |
| A MIS AMIGOS | Luisa, Lupe, Marisol, Eugenia, Leonor, Sayda, Diana, Víctor, Ryan, Alma y Carol por compartir este trayecto y brindarme su amistad. Maribel, Karen, Wendy, Carlos, Juan, Cristian, Frank, y Leonel por su apoyo y amistad. Pablo por su amor y apoyo. |

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala y a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por haber sido mi casa de estudios y el lugar donde las experiencias vividas me hicieron una mejor persona.

A los Docentes de la Escuela de Química Farmacéutica por participar en mi formación profesional y personal, por sus consejos y apoyo, en especial a la Lcda. Lorena Cerna y la Lcda. Mathilde Macario.

Al Laboratorio de Productos Naturales Farmaya por proporcionar sus instalaciones, equipo y materiales para la realización esta tesis, y en especial a Douglas y Danilo por su colaboración y afecto.

A Laboratorio de Investigación de Productos Naturales LIPRONAT por proporcionar sus instalaciones, equipo y materiales para la realización de la presente investigación.

A mi Asesora Lcda. Virna Rivas por compartir sus conocimientos y dedicación a la realización de esta tesis.

A mi Co-asesor Lic. Armando Cáceres por la oportunidad de ampliar mis conocimientos, por su tiempo y orientación.

A mi Revisora Lcda. Sully Cruz por su apoyo y colaboración en la realización de esta tesis.

A mi amiga Br. Wendy Flores por su amistad y colaboración en la realización de esta tesis.

A Elizabeth Bell por la oportunidad de desarrollo personal y profesional brindada durante mi período de estudios.

INDICE

| | |
|-------------------------------|----|
| 1. Resumen | 03 |
| 2. Introducción | 04 |
| 3. Antecedentes | 05 |
| 4. Justificación | 15 |
| 5. Objetivos | 16 |
| 6. Hipótesis | 17 |
| 7. Materiales y Métodos | 18 |
| 8. Resultados | 39 |
| 9. Discusión | 54 |
| 10. Conclusiones | 58 |
| 11. Recomendaciones | 60 |
| 12. Referencias | 61 |
| 13. Anexos | 66 |

1. RESUMEN

El presente trabajo de tipo descriptivo, se realizó con el objetivo de proporcionar por medio de fichas técnicas las especificaciones de la materia prima, tinturas y extractos, obtenidas de la caracterización de *Neurolaena lobata*, *Piper jacquemontianum* y *Cornutia pyramidata*; y así determinar qué producto intermedio posee mejores características organolépticas y fisicoquímicas para la elaboración de formas farmacéuticas.

Se inició identificando las especies en estudio y determinando las características organolépticas y fisicoquímicas como humedad, cenizas y la concentración de etanol que extrae la mayor cantidad de sólidos; se determinó también la calidad sanitaria de la materia prima.

Se prepararon tinturas 1:10 y 1:5 y extractos 1:1, 2:1 y secos, se determinaron las características organolépticas; fisicoquímicas, como sólidos totales, pH y densidad relativa. Por medio de un tamizaje fitoquímico en cromatografía en capa fina, se determinó la presencia de metabolitos secundarios tales como flavonoides, antraquinonas y principios amargos para las tres especies; compuestos fenólicos para *N. lobata* y *P. jacquemontianum*; cumarinas para *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*; alcaloides, saponinas, y aceites volátiles únicamente para *P. jacquemontianum*.

Por análisis de los resultados se constató que en las tres especies la concentración de extracto que mejor mantiene sus características es el extracto fluido 1:1, pudiendo ser utilizado para la elaboración de formas farmacéuticas. Los extractos 2:1 de *N. lobata* y *C. pyramidata*, no son un producto intermedio apropiado para la elaboración de formas farmacéuticas debido a la formación de dos fases, una líquida y otra semisólida. Los extractos secos de *N. lobata* y *C. pyramidata*, poseen características favorables para la elaboración de cápsulas; sin embargo, el porcentaje de rendimiento es bajo, el tiempo de secado es largo por ser higroscópicos. Los productos intermedios (tinturas y extractos) conservaron los

metabolitos secundarios a los que se les atribuye la actividad terapéutica y fueron identificados mediante el tamizaje fitoquímico.

2. INTRODUCCIÓN

La incidencia de infecciones causadas por microorganismos patógenos se incrementa en la población guatemalteca cuándo es afectada por tormentas tropicales, desbordamientos de ríos y otros desastres naturales.

El alto costo y difícil acceso a los antibióticos sintéticos, dificulta cubrir las necesidades de salud de la población. Sin embargo, Guatemala se caracteriza por ser un país con una alta diversidad de plantas de uso medicinal que poseen propiedades terapéuticas determinadas, en un principio por el uso popular en distintas comunidades, lo que genera la necesidad de validar dichas propiedades. La validación consiste en comprobar la actividad terapéutica de las especies mediante estudios experimentales y determinar la dosis a la cual ejercen el efecto deseado.

Después que una propiedad terapéutica ha sido validada, el siguiente paso es la validación clínica, para lo que se requiere la elaboración de fitofármacos que permite obtener medicamentos seguros, eficaces y de fácil dosificación, a un menor costo y más accesibles para la población. Para lograr estas características es necesario controlar la calidad de la materia prima, así como la caracterización de los diferentes extractos con el fin de escoger el más estable, determinar las especificaciones fisicoquímicas y organolépticas para garantizar la calidad de los productos fitofarmacéuticos.

Este trabajo tiene como objetivo caracterizar los extractos de tres plantas con actividad validada como antibacterianas, antifúngicas y antiprotozoarias, y elaborar una ficha técnica para cada especie con los resultados obtenidos, con el objeto de facilitar la estandarización de extractos y eventualmente formular productos fitoterapéuticos.

Las especies seleccionadas para este estudio son *Neurolaena lobata* (Tres Puntas), *Piper jacquemontianum* (Cordoncillo) y *Cornutia pyramidata* (Jorobté).

3. ANTECEDENTES

3.1 TRES PUNTAS *Neurolaena lobata* L.

3.1.1 Familia

Asteraceae / Compositae

3.1.2 Sinónimo

Conyza lobata L.

3.1.3 Nombres comunes

Tres puntas en Izabal, Mano de Lagarto en Petén, (Guatemala). Gavilana, capitana (Costa Rica). Contragavilana (Panamá). Mano de tigre, Yerba del cáncer, Retama, Romerillo, Victoria (Colombia), Salvia cimarrona (Cuba), Sepi (Puerto Rico)¹

3.1.4 Características botánicas

Planta: Subarborescente, robusta, perenne, llega a alcanzar hasta 3 m de alto, con tallos algo leñosos, estriados o sulcados y con muchas ramificaciones erectas.

Hojas: Alternas, con pubescencia algo escabrosa, dentado-denticuladas muy a menudo trilobuladas, ápice acuminado, angostadas en la base; las inferiores tienen hasta 30 cm de largo y las superiores son mucho más pequeñas y casi sésiles.²

Flores: Inflorescencia corimbosa-paniculada, las cabezuelas numerosas, pediceladas, discoideas; involucro de 5-6 mm de tamaño; filarios alrededor de 4 seriados, oblongos, redondeados al ápice, con 1-3 nervaduras, más o menos puberulento, pálidos, obtusos, 4-5 mm de largo; corolas amarillas a anaranjado-amarillas, alrededor de 4 mm de longitud.²

Fruto: Aquenios negros, esencialmente glabros, alrededor de 1.5 mm de largo; papus uniseriado, las cerdas 30 ó más, alrededor de 4 mm de largo, amarilluzco blancas.²

3.1.5 Hábitat

Nativa del sur de México a Panamá como maleza en plantaciones, lugares escarpados u orilla de caminos o ríos, en matorrales húmedos o bosques de encino, común en crecimiento secundario, en terrenos cultivados y lugares abiertos, se distribuye de 0-1400 msnm.³

Muy común en áreas distribuidas a la vera de los caminos en terrenos montañosos en zonas calientes y lluviosas del Atlántico, usualmente en elevaciones menores a los 800 msnm.⁴

En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Izabal, El Petén, El Progreso, Quetzaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa y Suchitepéquez.^{2,3}

Ámbito: En toda América Tropical continental y en las Indias Occidentales.

3.1.6 Historia

Género de seis especies originarias de América Tropical, cinco de ellas se encuentran en Guatemala. Las hojas y tallos son de amplio uso medicinal en Centro América y se encuentran en los mercados.³

3.1.7 Cultivo y cosecha

Es un arbusto de crecimiento silvestre, sin embargo es aconsejable iniciar actividades de conservación *in situ*, domesticación y cultivo para garantizar su disponibilidad en cualquier momento. Se propaga por semillas, prefiere suelos franco arcillosos o bien franco limosos y requiere mucha humedad para favorecer su germinación normalmente en unas tres semanas, aunque podría prolongarse entre 4 y 5 semanas.⁵

La propagación asexual es por medio de esquejes frescos de la sección apical (ápice o punta) del tallo preferiblemente cuando la planta se encuentra en estado

vegetativo aún, semanas antes de la floración utilizando sustrato orgánico (arena 50% y broza 50%). El enraizamiento puede observarse a las 4 a 8 semanas. Las hojas se colectan en plena floración, lavar y secar a la sombra.⁵

3.1.8 Usos significativos

Guatemala

- Dolor de estómago (hojas)
- Paludismo: hojas en decocción por vía oral; 5-8 hojas en 1 taza de agua hirviendo, retirar del fuego, tapar y dejar que despida. Colar y tomar bien caliente varias tazas al día.
- Procesos febriles^{6, 8}

Costa Rica

- Diabetes: hojas en decocción por vía oral.
- Diarrea: hojas en decocción por vía oral.⁴

Otros usos en la cuenca del Caribe

- Diabetes, malaria y fiebre (hojas): Costa Rica, Honduras, Panamá^{2,3,4,6,7}.
- Cólicos, dolor de estómago (hojas): Panamá⁷.
- Digestiva (hojas): Belice, Jamaica.⁸
- Salpullido, varicela (la planta): Cuba⁸
- Diurética: Jamaica⁹
- Hipertensión, tónica, afecciones hepáticas (hojas y tallos): Panamá¹⁰
- Gonorrea e inflamaciones.⁶
- Las hojas y tallos se usan por su actividad para repeler insectos.⁷

3.1.9 Química

Estudios fitoquímicos preliminares realizados en varios especímenes de la familia Compositae entre los que se encontraba *N. lobata*, mostraron lactonas sesquiterpénicas,¹⁰ de las hojas y tallos se han aislado dos germacranólidos, compuestos nuevos los cuales fueron elucidados por métodos espectroscópicos denominándoseles Lobatina A (I) y Lobatina B (II)¹⁰. En otros estudios fueron

aislados dos germacranólidos sesquiterpenoides de *N. lobata*: Neurolenina A(I, R=H) y Neurolenina B (I, R=Oac).¹¹

Contiene además un flavonoide (R=OH, R´=SO₃, R=H, R=Ome) y 11 flavonoides ya conocidos (R=R=OH, R´=SO₃, Me, R=Ome; R=R=R=OH, R´=glucil; R=R=Ome, R´=H, R=OH)(II-IV respectivamente fueron aislados de *N. lobata*). Seis flavonoides conocidos (R=Ome, R´=glucil, R=OH; R=Ome=OH): cinco de estos flavonoides son derivados de la quercetagenina, cuatro kampferoles y dos luteolinas.¹² Se han aislado además derivados del timol.¹³

3.1.10 Farmacognosia

El estándar de hojas desecadas no debe contener más de 2% de sustancias orgánicas extrañas y por incineración no de contener más del 10% de cenizas ni más de 4% de cenizas insolubles en ácido.³

Del extracto diclorometánico se han aislado varias sesquiterpenlactonas, particularmente Neurolenina A y B, ambas moléculas fueron inactivas contra sarcoma-180 en ratas, aparentemente las variedades geoclimáticas muestran variabilidad infraespecífica en sus patrones de sesquiterpenlactonas. Otras moléculas bioactivas son las Lobatinas A y B, la primera es cristalina, punto de fusión 154°C, rotación óptica específica -304°.³

No es oficial en ningún país, por lo que no se encuentra en las farmacopeas, sin embargo la comprobación preliminar de su actividad antiprotozoarica es interesante. Se consumen preparados domésticos como infusión y tintura.³

3.1.11 Actividad antimicrobiana

Estudios realizados a *N. lobata* demuestran que el extracto etanólico de hojas (tintura 1 g/mL) es activo contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi*, pero inactivo contra hongos levaduriformes (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*) y filamentosos (*Epidermophyton floccosum*, *Microsporium gypseum* *Trichopton rubrum*). La preparación acuosa (infusión) de partes aéreas es activa *in vivo* contra esquizontes de *Plasmodium vinckei*, *P. berghei* (750 mg/kg) y frente a tres

tipos de *Leishmania* (25 y 50 mg/mL). Los extractos alcohólicos (DE₅₀ = 25 mg/mL) son activos contra epimastigotes *in vitro* y contra tripomastigotes *in vitro* e *in vivo* de *Trypanosoma cruzi*,^{3,14,15,16,17,18,19} *Leishmania mexicana*, y *Trichonoma vaginalis*.¹⁸ El puro germacrólido 1 y la mezcla del 2 y 3, aislado del extracto etanólico es altamente activo contra *L. mexicana* y *T. cruzi*.¹⁸

Un estudio demostró que no existe diferencia estadísticamente significativa entre el efecto antimalárico de los extractos metanólicos de hojas de *N. lobata* colectadas en cuatro poblaciones naturales y sus cultivares situados en dos localidades contrastantes de Guatemala.²⁰

3.1.12 Toxicidad

El extracto acuoso administrado a ratones por vía oral no presentó ningún signo de toxicidad en dosis de 3 g/kg. El extracto de hojas y tallo ha mostrado cierta toxicidad.³

Se evaluaron los posibles efectos tóxicos por el uso prolongado de *N. lobata* al administrarse infusiones acuosas de la planta al 10% como única bebida a ratas albinas Wistar recién destetadas, durante 20 días, observando hasta los 60 días. No se manifestó ninguna anomalía anatómica, funcional o conductal aun 40 días después de finalizada la exposición a los extractos.²¹

3.1.13 Indicaciones terapéuticas

Por su actividad antiprotozoarica, antibacteriana y sudorífica, su uso oral está indicado en el tratamiento asintomático de malaria, fiebre, diarrea y dolor de estómago, por su actividad hipoglicemiante puede contribuir al manejo de la diabetes. Se recomienda administrar 2-3 veces/día en dosis de 1-3 g en infusión o 1-2 mL de tintura 1:8 en etanol 35%.³

3.2 CORDONCILLO *Piper jacquemontianum* K.

3.2.1 Familia

Piperaceae

3.2.2 Sinónimo

P. pilibaccum C.DC., *P. uvitanum* C.DC., *P. barbulatum* C.DC.,
P. orosianum Trel., *P. tabanicidum* Trel., *P. aeruginosibaccum* Trel., *P. dendititium*
Trel., *P. onerosum* Trel., *P. vexans* Trel., *P. catalinianum* Trel., *P. siquirresense*
Trel.^{22, 23} *P. panamense* C.DC., *P. citrifolium* C.DC., *P. subcitrifolium* C.DC., *P.*
dimorphophyllum Trel., *P. gentlei* Trel., *P. plumbeicolor* Trel., *P. evulsipilosum*
Trel., *P. tumidipedunculum* Trel., *P. gleasonii* Yunck., *P. jactatum* Trel.^{23,51}

3.2.3 Nombres comunes

ti cual q'én, sunun qil q'én, ri lo mi tzul, poozuyaac (maya).^{24,25}

3.2.4 Características botánicas

Arbustos 1–4 m de alto, esciófilos, profusamente ramificados; tallos verde pálidos, entrenudos (1.5–) 2–4 (–7) cm de largo, estriados, inconspicuamente pelúcido-punteados, granuloso y papilados en los nudos basales, laxa a densamente pilosos y/o hirsutos cuando jóvenes, glabrescentes. Profilo 6–15 mm de largo, remotamente piloso marginal y dorsalmente glabrescente, caduco.^{22,23,26}

Hojas: uniformes en forma y tamaño a lo largo de todos los ejes, asimétricas, elíptico-ovadas, elíptico-lanceoladas a obovadas o incluso oblanceoladas, (9-) 10-15 (-21) cm de largo y (3.5-) 5-8 (-9.5) cm de ancho, ápice largamente acuminado, base inequilátera, el lado más largo obtuso, el más corto cuneado, pelúcido-punteadas en el envés, verde nítidas y lustrosas en la haz y verde pálidas en el envés, cartáceas o coriáceas, verde-grisáceas discoloras y lustrosas en la haz y amarillentas en el envés cuando secas, glabras en la haz, cortamente pilosas o hirsutas en el envés a lo largo de los nervios secundarios, pinnatinervias con 3-4 (-6) pares de nervios secundarios emergiendo entre la base y los 2/3 del nervio principal, divergiendo en ángulos de 45°, generalmente 3 pares divergiendo del 1/3 basal de la lámina, 1 ó 2 pares divergiendo del 1/2-2/3 superiores, nervadura terciaria reticulada e inconspicua, nervadura impresa en la haz, elevada en el envés y a menudo discolora en hojas secas; pecíolos 0.3-0.6 cm de largo (hasta 1.5 cm en nudos estériles), densamente pilosos, pubescencia a menudo en líneas

discretas, con un desarrollo estipular discreto, 0.5 mm de largo en nudos floríferos, hasta 4 mm en nudos estériles, caduco.^{22,23,26}

Inflorescencias: erectas en todos los estadios, blancas en la antesis, verde pálidas en fruto, pedúnculo 0.3-0.7 cm de largo, densa y cortamente piloso, glabrescente, raquis (3.5-) 5-7 cm de largo, glabro, brácteas florales triangulares a deltoides, 0.2 mm de ancho, cortamente fimbriadas, flores densamente agrupadas en el raquis formando bandas discretas tempranamente en la antesis, sésiles; estambres 4, filamentos tan largos como las anteras, éstas con dehiscencia vertical; pistilo umbonado con 3 estigmas sésiles.

Frutos: obovoides, 1 mm de largo, apicalmente obtusos y parcialmente inmersos en el raquis, apicalmente pubescentes, indumento amarillo cuando seco, cuerpo del fruto café oscuro.^{22,23,26}

3.2.5 Hábitat

Bosques o matorrales húmedos o lluviosos, algunas veces en bosque de pino o en pantanos de *Mancaría* 900 msnm o menos. A orilla de caminos, guamiles o sembradíos.²⁴

Distribución: Campeche (Sur de México), al sureste de Panamá,²⁶ Belice y el Caribe. En Guatemala se ha descrito en los departamentos de Alta Verapaz, Petén e Izabal.²⁴

3.2.6 Usos medicinales

Se le atribuyen propiedades astringentes, estimulantes, diuréticas⁸, gástricas y carminativas.²⁷ También es considerada como el mejor remedio para el colapso uterino y como tratamiento efectivo contra la diarrea y la disentería.⁸

En Tzetoc, Alta Verapaz se usa para bajar la fiebre. Se hace un cocimiento de las hojas y se toma por 3 días. En San Marcos, Alta Verapaz se usa para granos. Se hacen baños del cocimiento de las hojas. En San Luis, Alta Verapaz se usa para la tos. Se hace un cocimiento de la raíz y se toman 3 vasos al día. En Santa Lucía, Alta Verapaz se usa para aliviar el dolor de cabeza y de cuerpo. Se aplica la hoja directamente o en baños. También se usa contra el dolor de corazón. Se hacen

baños del cocimiento de las hojas. El cocimiento también se usa por vía oral y se toma 1 vaso, 3 veces al día. En Salacuim, Alta Verapaz se usa como vitamina en estados de convalecencia. Se hace un cocimiento de las hojas.²⁸

En Cuba, la planta es utilizada como diurético y hemostático, también es utilizado para tratar las hemorroides, gonorrea, leucorrea, cistitis, hemoptisis y hemorragias menstruales.⁸ En las Islas Vírgenes, es utilizado como sedante, laxante y como bebida refrescante.⁸

3.2.7 Actividades biológicas

Estudios realizados demuestran que posee actividad biocida contra bacterias Gram (+), *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, contra *Mycobacterium smegmatis*, a una Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 0.5 mg/mL, y actividad contra *T. cruzi* a una CIM de 1 mg/mL.²⁹

Los aceites esenciales de *P. jacquemontianum* presentan actividad contra *M. smegmatis* y *B. subtilis* a una concentración menor de 0.1 mg/mL, actividad contra *Anopheles albimanus* y *Aedes aegypti* a una concentración menor de 0.5 mg/mL y actividad citotóxica a una concentración menor de 0.5 mg/mL.³⁰

Los extractos etanólicos de *P. jacquemontianum* mostraron actividad citotóxica a valores de Inhibición del Crecimiento en 50% de las células (CI₅₀) menores de 10 µg/mL.³¹

3.3 JOROBTE *Cornutia pyramidata* L.

3.3.1 Familia

Verbenaceae

3.3.2 Sinónimo

Hosta pyramidata A.; *H. latifolia* HBK; *Cornutia latifolia* Moldenke in Fedde; *C. grandifolia* Schauer; *C. grandifolia* var. *intermedia* Moldenke; *C. gradifolia* var. *normalis* (Knutze) Moldenke; *C. grandifolia* var. *quadrangularis* Moldenke; *C. grandifolia* var. *strokii* Moldenke; *C. latifolia* (Kunth) Moldenke; *C. lilacina*

Moldenke; *C. lilacina* var. *velutina* Moldenke; *C. pyramidata* L. var. *isthmica* Moldenke; *C. latifolia* f. *alba* Moldenke.³²

3.3.3 Nombres comunes

Flor lila (Guatemala), Hoja de zope (Izabal), lat-che (Petén),³² Loto`o che, Palo cuadrado, Azulejo, Penda azul. Xolte`xnuk, Joro`kté, Jorobté (Guatemala).²⁵ Tzultesnuk y Matasano (Honduras).³² Cucaracha (Nicaragua).²⁵ Palo de vidrio, Bwa kasav (Republica Dominicana).²⁵

3.2.4 Características botánicas

Árboles pequeños o arbustos altos aromáticos, 2-12 m de alto, el tronco mide en algunas ocasiones 15 cm de diámetro, ramas y ramitos erguidos, cuadrangulares y cuando jóvenes densamente pubescentes (pelos cortos).³²

Hojas: opuestas, simples generalmente ovadas o ampliamente elípticas, 8-28 cm de largo (incluyendo el pecíolo) y 4.5-15 cm de ancho, ápice agudo o acuminado, base largamente decurrente sobre el pecíolo, margen entero a levemente dentado, verde grisáceo en el haz, vellosidades punteadoglandulares blanquecinas en el envés.³²

Inflorescencia: panículas pirámides de 10-40 cm de largo y 5-10 cm de ancho, mayormente Terminal, los pedicelos y pedúnculos tetragonales de las cimas son densamente pubescentes, brácteas incospicuas.³² Flores heterostilas; cáliz cuculiforme (peteliforme en el fruto) en la anthesis, 1-3 mm de largo, ápice entero, truncado o tetradentado con los dientes poco profundos, densamente pubescentes; corola hipocrateriforme, curvada o recta, azul o morada (a veces reportada con un punto amarillo en los lobos), tubo 7-11 mm de largo y 1-2.2 mm de ancho, mas corto que el lado abaxial del tubo; labio inferior con un solo lobo grande de 3-7 mm de largo; el ovario es pubescente, 2 estambres fértiles, exertos y de 4-6 mm de largo en las formas de estilo largo, el estilo es corto-pubescente 2 estaminodios, incluidos; estilo de 5-8 mm en las formas de estilo corto e incluido y de 10-13 mm de largo en las formas de estilo corto y exerto, estigma pequeño, desigualmente bilocado. En la *C. pyramidata* el tubo de la corola es mas recto, estrecho y menos dilatado que en la *C. grandifolia*, y el labio inferior de la corola

normalmente no mide más de la mitad de lo que mide el tubo. Tiene solamente dos estambres fértiles.³²

Fruto: drupaceo subgloboso, 0.4-0.7 mm de diámetro y 3-6 mm de largo, pubescentes o puberulentos, con exocarpo carnosos y endocarpo duro, azul, morado o negro, pireno con cuatro semillas.³²

3.2.5 Hábitat

Esta planta crece entre matorrales en zonas húmedas o en bosques densos de segundo crecimiento a una altitud entre los 100-1500 msnm, ha sido reportada en Alta Verapaz (Cahabón), Chimaltenango, Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Izabal, Petén, Quetzaltenango, Sácatepequez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá, Suchitepéquez, Zacapa; así como también en México, El Salvador, Honduras, Nicaragua, y las Indias Occidentales.³²

3.2.6 Usos medicinales

Comúnmente se le atribuyen propiedades antirrábicas y en menor medida anticancerígenos, también es usada en el tratamiento contra gastritis, fiebre, asma, y dolores corporales. La decocción de la raíz se emplea en crisis de nervios.³³

3.2.7 Actividades biológicas

Estudios realizados demuestran que el extracto etanólico posee actividad contra *S. aureus*³⁴ y *M. smegmatis*, a una concentración de 0.5 mg/mL, las particiones clorofórmica y acuosa demostraron actividad contra *S. aureus* a una concentración de 1 mg/mL, la partición acetato de etilo presento actividad contra *S. aureus*, *S. typhi*, *M. smegmatis*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*, a una concentración de 0.5 mg/mL. Se demostró actividad contra *Aspergillus flavus* a una concentración de 1 mg/mL.³⁵

4. JUSTIFICACIÓN

N. lobata, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*, son especies con amplias atribuciones terapéuticas entre las que sobresale la actividad antibacteriana, antifúngica y antiprotozaria, dichas propiedades han sido evaluadas y confirmadas mediante estudios científicos, por lo que pueden ser utilizadas como alternativa para el tratamiento de infecciones por microorganismos patógenos que son de gran incidencia en la población guatemalteca. Su uso se justifica por el alto costo y difícil acceso a los antibióticos sintéticos.

Para la elaboración de fitofármacos a partir de extractos etanólicos, es necesario conocer especificaciones que garanticen la calidad del producto con el fin de obtener el efecto terapéutico deseado. Sin embargo, no se cuenta con información sobre las características fisicoquímicas y organolépticas propias de cada especie, las cuales son necesarias para evaluar la calidad de la materia prima y productos intermedios que se utilizarán para la producción de fitofármacos. Por lo tanto, es necesaria la caracterización de los extractos con el fin de determinar el más estable y las especificaciones físicas, químicas y organolépticas necesarias para realizar una ficha técnica para cada especie, las cuales serán de gran utilidad al analizar futuros lotes y mejorar la reproducibilidad de los mismos, logrando mantener estándares de calidad tanto de la materia prima como del producto intermedio y terminado. Esto favorecerá a la población guatemalteca, la cual consumirá un producto de calidad y cubrirá así las necesidades de salud, aprovechando los recursos con los que cuenta el país.

Los resultados obtenidos en esta investigación serán publicados en la Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos y un ejemplar del informe final de tesis será distribuido a las diferentes bibliotecas afines a fitoterapia y uso de plantas medicinales.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Elaborar una ficha técnica con la información obtenida de la caracterización de los extractos de tres plantas con actividad antibacteriana, antifúngica y antiprotozoaria.

5.2 Específicos

- 5.2.1 Determinar la calidad sanitaria, propiedades fisicoquímicas y organolépticas del material vegetal, tinturas y extractos de *N. lobata*, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*.
- 5.2.2 Determinar el grado alcohólico al cual se extrae la mayor cantidad de sólidos de *N. lobata*, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*.
- 5.2.3 Elaborar los extractos fluido, blando y seco, así como las tinturas 1:5 y 1:10 de *N. lobata*, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*.
- 5.2.4 Identificar los componentes fitoquímicos de los extractos y tinturas de *N. lobata*, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*, utilizando cromatografía en capa fina.
- 5.2.5 Determinar el tipo de extracto que posee mejores características organolépticas y fisicoquímicas.

6. HIPÓTESIS

Por ser una investigación de tipo descriptiva no se presenta hipótesis.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 UNIVERSO

Plantas de uso medicinal en Guatemala a las cuales se le atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas y antiprotozoarias.

7.2 MUESTRA

Materia vegetal, tinturas y extractos etanólicos de las hojas de *N. lobata* (Tres puntas), *P. jacquemontianum* (Cordoncillo) y *C. pyramidata* (Jorobté).

7.3 MEDIOS

7.3.1 Recursos humanos

Autora: Ixmucané Menéndez Aquino.

Asesora: Lcda. Virna Rivas.

Coasesor: Lic. Armando Cáceres.

7.3.2 Recursos institucionales

Biblioteca Central Universidad de San Carlos de Guatemala.

Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.

Biblioteca Universidad del Valle de Guatemala.

Biblioteca Laboratorio FARMAYA, S.A.

Biblioteca Centro Guatemalteco de Información de Medicamentos.
CEGIMED.

Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA S.A.

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT)

7.4 MATERIALES

7.4.2 Equipo

Secador de materia prima vegetal, bombillas de 25 watts, $T^{\circ} < 40^{\circ} \text{C}$; estereoscopio Nacional 10 X; balanza semianalítica Sartorius, modelo CP-423F, capacidad 420 g, desviación 0.001 g; balanza electrónica ACC-WEIGHT, capacidad 10 Kg, desviación 10 g; balanza OHAUS Dial-0-Gram monoplato, capacidad 310 g; estufa eléctrica General Electric; horno Memmert tipo U-10FNr 840510, $T^{\circ} = 220^{\circ} \text{C}$; refrigeradora MABE $T^{\circ} = -5^{\circ} \text{C}$; autoclave All American, modelo 25X, $T^{\circ} = 250^{\circ} \text{C}$; autoclave MMarket Sorge, modelo STM-EL, $T^{\circ} = 473^{\circ} \text{C}$, mufla PARNSTEAD Thermolyne, modelo Furnace 1400, $T^{\circ} = 600$; evaporador rotatorio Buchi, modelo R200/205; campana microbiológica; luz UV; potenciómetro Hanna, modelo 211; incubadora 1 Precision Cientific, modelo 378A serie 22AJ-5, $T^{\circ} = 473^{\circ} \text{C}$; incubadora 2 Thermolyne modelo CV-19225, $T^{\circ} = 130^{\circ} \text{C}$; incubadora 3 MENGTE, $T^{\circ} = 120^{\circ} \text{C}$; picnómetro capacidad 10 mL, 20°C ; densitómetro escala 0.8 - 1 g / mL; Cromatoplasmas de sílica gel 60F-254; cámaras cromatográficas; alcoholímetro escala 0 - 100 °Gay-Lussac.

7.4.3 Reactivos

Agua destilada, etanol a 35%, 50% y 70%, tolueno, acetato de etilo, dietilamina, cloroformo, metanol, cloruro de antimonio III, ácido sulfúrico, vainillina, reactivo de Dragendorff, ácido tartárico, yoduro de potasio, solución de NaCl al 10%, reactivo gelatina-sal, solución de FeCl_3 , polietilenglicol, difenil-boril-oxietilamina, n-propanol, ácido nítrico, hidróxido de potasio, anisaldehído, ácido fórmico, ácido acético glacial.

7.4.4 Medios de cultivo

Caldo lactosado, bilis verde brillante, agar Sabouraud.

7.4.5 Instrumentos y otros

Tijeras de podar, bolsas, canastas caladas, tamiz, pinzas, algodón, papel filtro, percolador plástico de 500 mL, percolador de acero inoxidable de 5 L, frascos plásticos de galón y litro, desecadora, asperjador, asa de nicromo, bulbo, material de oficina, cuaderno de notas.

7.4.6 Cristalería

Vaso de precipitar de 50, 100, 500 y 1000 mL, varillas de agitación, frascos ámbar 100 mL, cápsulas de porcelana, tubos de ensayo con rosca, cajas de petrí, pipetas de 1 mL, probeta.

7.5 MÉTODOS

7.5.1 Recopilación bibliográfica

Se recopilaron todos los datos sobre *N. lobata*, *P. jacquemontanum* y *C. pyramidata*, así como también los métodos de caracterización.

7.5.2 Obtención de la muestra

7.5.2.1 Identificación: Comparar la muestra colectada con un patrón de herbario de Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA S.A.

7.5.2.2 Cosecha: Seleccionar y cosechar el material sano, sólo la parte que interesa, en este caso hojas adultas, al inicio o durante la floración.

Se corta la base de las hojas utilizando tijera manual de podar o bien puede hacerse manualmente, se colocan en canastos debidamente identificados.^{3,36}

7.5.2.3 Poscosecha: Seleccionar cuidadosamente el material vegetal, desechando las partes decoloradas, manchadas, enfermas o deterioradas por insectos y microbios. El lavado se hace con agua potable en una canasta calada de modo que el agua penetre, lave y escurra para eliminar el exceso de agua, práctica que debe hacerse por lo menos dos veces y una lavada de desinfección con 10 ppm de hipoclorito de calcio o sodio o ácido peracético al 0.3-0.4% que son fácilmente degradables.^{3,36,37,38}

7.5.2.4 Secado y almacenamiento: Colocar el material vegetal en bandejas con papel kraft, mover eventualmente, secar evitando que el material vegetal reciba sol

directo,^{36,38} o bien utilizar un secador con luz artificial a una temperatura no mayor de 40°C. Para el almacenamiento el material vegetal debe contener un porcentaje de humedad no mayor al 10%. Almacenar las hojas enteras en bolsas plásticas previamente identificadas.^{39,40}

7.5.2.5 Molienda: Pasar el material vegetal (hojas) por un tamiz # 5 para disminuir el tamaño de partícula, recolectar el material en una bolsa plástica, sellar e identificar con una etiqueta.

7.5.3 Identificación botánica

La identificación de una droga se realiza comparándola con una droga patrón, con descripciones pormenorizadas de distintas farmacopeas y en literaturas especializadas. Las comparaciones pueden ser hechas por procesos directos e indirectos.³⁹

Los procesos directos son los que se realizan al ojo desnudo o con una lupa de poco aumento, nos dan los caracteres macroscópicos y se valen de los órganos de los sentidos; visión (aspecto general: entera, fragmentada, pulverizada), tacto (superficie: lusa, rugosa, tomentosa; consistencia: dura, flexible, membranacea, papiracea, carnosa o suculenta), sabor dulce, amargo, también se puede hacer referencia a sensaciones y se dice sabor astringente, oleoso, mucilaginoso, acre, pungente; olfato, se dice que una droga es inodora u olorosa, con un aroma agradable o desagradable. Cada órgano vegetal presenta características morfologías que le son propias.^{41,42}

Los procesos indirectos son aquellos que se encuadran en tres categorías: proceso físicos, incluye la microscopia y la cromatografía; procesos químicos, son los que emplean transformaciones químicas, reacciones de caracterización e incineración; y proceso biológicos como hemólisis, hemoaglutinación y otros.⁴¹

7.5.4 Determinación organoléptica de la droga seca

Dentro de los procesos directos de identificación de la materia prima están las características organolépticas, aquellas que pueden ser definidas por nuestros

sentidos.³⁹ En un vidrio de reloj colocar la droga seca, con ayuda del estereoscopio determinar el color, materia extraña (hongos, insectos, piedras, etc.); el olor, el cual se evalúa triturando en la palma de la mano la droga seca, se determina si la planta es inodora, o si el olor es débil o fuerte; se determina la sensación del olor indicando si este es aromático, frutal, leñoso, húmedo, mohoso o rancio. Se evalúa la textura de la droga seca indicando si esta es áspera, suave, o blanda.^{41,42}

7.5.4.1 Determinación de materia extraña: El material vegetal debe estar libre de impurezas tales como tierra, polvo, suciedad y otros contaminantes como hongos, insectos y contaminaciones por animales (materia fecal). Tampoco deben mostrar señales de putrefacción. Según la Farmacopea Europea, la cantidad de materia extraña no debe ser mayor al 2%.

Materia extraña es material que consiste de uno o todos los siguientes:

-Órganos extraños: Materia que proviene de la planta original, pero que no está definida como la droga,

-Elementos extraños: Materia que no proviene de la planta de origen y que no es de origen animal ni vegetal.

Para la determinación de Materia Extraña según USP pesar de 250 g del material vegetal (hojas), teniendo cuidado de tomar una porción representativa, y esparcir en una fina capa. Examinar en busca de materia extraña por medio de inspección directa ocular o con la ayuda de un lente 6X, separar la materia extraña, pesar y calcular el porcentaje presente.^{41,42}

7.5.5 Pruebas fisicoquímicas

7.5.5.1 Determinación de humedad de la droga: Lavar, secar y colocar en el horno las cápsulas de porcelana a 105°C por 15 minutos, luego colocarlas en la desecadora 20 minutos. Pesar aproximadamente 1.0 g de la planta en una cápsula previamente tarada. Colocar las cápsulas por una hora en el horno a 105°C, utilizar cronómetro, luego colocarlas en una desecadora por 30 minutos. Pesar y hacer los cálculos de porcentaje de humedad.⁴³

Cálculos⁴³:

$$\frac{\text{Peso inicial de mx húmeda} - \text{Peso final de mx seca}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 = \text{Porcentaje de humedad}$$

7.5.5.2 Determinación de cenizas de la droga: Lavar, secar, y colocar los crisoles en la mufla, cuando esta alcance una temperatura de 600°C programar el cronómetro por 1 hora, luego de concluido el tiempo, apagar la mufla y esperar a que baje la temperatura a 30°C; tarar los crisoles. Pesar aproximadamente 1.0 g del material vegetal el cual debió de haber sido previamente secado en el horno a 100°C por una hora y colocado en la desecadora por 20 minutos. Colocar los crisoles en la mufla, cuando la temperatura alcance los 600°C, programar el cronometro por 1 hora. Al concluir este tiempo, apagar la mufla, esperar a que baje la temperatura a 30°C, sacar los crisoles, pesar y hacer los cálculos de cenizas totales.⁴³

Cálculos⁴³:

$$\frac{\text{Peso final} - \text{Peso Crisol vacío}}{\text{Peso de muestra}} \times 100 = \text{Porcentaje de Cenizas Totales}$$

7.5.5.3 Determinación del mejor disolvente (Materia extraíble en alcohol, método de extracción en frío): Colocar algodón y papel filtro a tres percoladores de 500 mL, pesar 10 g del material vegetal previamente molido y colocarlo en cada percolador. Agregar 100 mL de etanol al 30, 50 y 70% respectivamente. Dejar reposar por 24 horas. Abrir el percolador y recolectar, tomar 25 mL utilizando probetas, colocarlo en una cápsula de porcelana previamente lavada, secada y tarada. Evaporar el solvente en baño de María hasta sequedad. Colocar las

cápsulas en el horno a 105°C por 6 horas. Luego colocarla en la desecadora por 30 minutos. Pesar, realizar el procedimiento por triplicado.⁴⁴

Cálculos:

$$\frac{\text{Cápsula con residuo} - \text{Cápsula vacía}}{25 \text{ mL}} = \text{Sólidos Totales para 1mL}$$

La concentración de etanol que extraiga la mayor cantidad de sólidos totales se considera como el mejor solvente el cual será empleado para la elaboración de las tinturas y extractos.⁴⁴

7.5.6 Preparación de Tinturas

7.5.6.1 Tintura 1:5

Pesar 200 g de material vegetal previamente molido. Preparar el percolador con algodón y papel filtro. Humedecer el material vegetal con la concentración de etanol con la cual se extrae la mayor cantidad de sólidos totales, dejar reposar durante 15 minutos. Agregar al percolador el material vegetal uniformemente. Añadir 1,000 mL de etanol a la concentración en la que se extrae la mayor cantidad de sólidos totales, hasta cubrir el material vegetal. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente, medir el volumen del menstuo, agregar el etanol faltante para completar los 1,000 mL. Reposar 24 horas y repetir la operación. En la última etapa de extracción abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido, presione la planta hasta sacar todo el alcohol, recuperar la solución y medir con probeta para calcular el rendimiento.^{39,44}

7.5.6.2 Tintura 1:10

Pesar 100 g de material vegetal previamente molido. Preparar el percolador con algodón y papel filtro. Humedecer el material vegetal con la concentración de etanol con la cual se extrae la mayor cantidad de sólidos totales, dejar reposar durante 15 minutos. Agregar al percolador el material vegetal uniformemente. Añadir 1,000 mL de de etanol a la concentración en la que se extrae la mayor

cantidad de sólidos totales, hasta cubrir el material vegetal. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente, medir el volumen del menstuo, agregar el etanol faltante para completar los 1,000 mL. Reposar 24 horas y repetir la operación. En la última etapa de extracción abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido, presione la planta hasta sacar todo el alcohol, recuperar la solución y medir con probeta para calcular el rendimiento.^{39,44}

7.5.7 Preparación de Extractos Etanólicos

7.5.7.1 Extracto fluido (1:1)

Pesar 300 g del material vegetal previamente molido. Humedecer con la concentración de etanol con la cual se extrae la mayor cantidad de sólidos totales y reposar por 15 minutos. Agregar al percolador el material vegetal uniformemente. Agregar etanol hasta que el mismo cubra la totalidad de la materia vegetal. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente. Determinar los sólidos totales del menstuo de la primera percolación. Nuevamente agregar etanol al percolador con el material vegetal hasta cubrirlo totalmente. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente. Determinar los sólidos totales del menstuo de la segunda percolación. Repetir el procedimiento hasta que el resultado de sólidos totales reporten que se ha extraído la mayor cantidad de sólidos, es decir hasta que la cantidad de sólidos extraídos sea la más mínima posible. Concentrar los menstuos de las percolaciones comenzando con el más diluido hasta obtener un extracto 1:1 (1 g / 1 mL), es decir concentrar hasta 300 mL.

7.5.7.2 Extracto blando (2:1)

Pesar 600 g del material vegetal previamente molido. Humedecer con la concentración de etanol con la cual se extrae la mayor cantidad de sólidos totales y reposar por 15 minutos. Agregar al percolador el material vegetal uniformemente. Agregar etanol hasta que el mismo cubra la totalidad de la materia vegetal. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente. Determinar los sólidos totales del menstuo de la primera

percolación. Nuevamente agregar etanol al percolador con el material vegetal hasta cubrirlo totalmente. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente. Determinar los sólidos totales del menstuo de la segunda percolación. Repetir el procedimiento hasta que el resultado de sólidos totales reporten que se ha extraído la mayor cantidad de sólidos, es decir hasta que la cantidad de sólidos extraídos sea la más mínima posible. Concentrar los menstuos de las percolaciones comenzando con el más diluido hasta obtener un extracto 2:1 (2 g / 1 mL), es decir concentrar hasta 300 mL.

7.5.7.3 Extracto seco (3:1)

Pesar 600 g del material vegetal previamente molido. Humedecer con la concentración de etanol con la cual se extrae la mayor cantidad de sólidos totales y reposar por 15 minutos. Agregar al percolador el material vegetal uniformemente. Agregar etanol hasta que el mismo cubra la totalidad de la materia vegetal. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente. Determinar los sólidos totales del menstuo de la primera percolación. Nuevamente agregar etanol al percolador con el material vegetal hasta cubrirlo totalmente. Después de las 24 horas abrir la llave del percolador, coleccionar todo el líquido lentamente. Determinar los sólidos totales del menstuo de la segunda percolación. Repetir el procedimiento hasta que el resultado de sólidos totales reporten que se ha extraído la mayor cantidad de sólidos, es decir hasta que la cantidad de sólidos extraídos sea la más mínima posible. Concentrar los menstuos de las percolaciones comenzando con el más diluido hasta obtener un extracto 3:1 (3 g / 1 mL), es decir concentrar hasta 100 mL. Colocar el extracto en la desecadora hasta que este pierda la totalidad de humedad y obtener un polvo.

7.5.8 Análisis microbiológico del material vegetal, tinturas y extractos ^{41, 45,} 46

7.5.8.1 Determinación de coliformes totales

Preparar el caldo lactosado según las instrucciones del fabricante. Agregar 9 mL de caldo lactosado en un tubo de 20 mL con tapón rosca, introducir una campana

de Durham. Preparar de esta forma los 9 tubos a utilizar. Esterilizar los tubos en la autoclave, por 15 minutos a 250 °C y 15 psi de presión. Dejar que se enfríen los tubos.

Pesar 1 g del material o medir 1 mL de tintura o extracto y agregarle 9 mL de agua estéril o 9 mL de solución salina al 0.85% p/v. Agitar de tal manera que el agua entre en contacto con toda la superficie de la muestra. Dejar reposar por 1 hora exacta (medir con cronómetro), tapar con papel aluminio para evitar contaminación. Filtrar la solución con un embudo de vidrio y algodón previamente esterilizados.

En la campana limpia y sanitizada con anterioridad utilizando la lámpara de luz ultravioleta y alcohol al 70%, inocular, a los tres primeros tubos de caldo lactosado agregar 1 mL del filtrado, a los siguientes 3, 0.1 mL y los últimos 3, 0.01 mL del filtrado. Incubar de 24 a 48 horas a 35-37 °C .

Verificar crecimiento bacteriano con producción de gas (burbuja de aire en la campana de Durham), formación de turbidez y precipitado.

Interpretar resultados respecto a la tabla de Número Más Probable (NMP).

A los tubos que den positivo hacerle análisis de Coliformes fecales.^{41, 45, 46}

7.5.8.2 Determinación de coliformes fecales

Preparar el caldo Bilis Verde Brillante (BVB) según las instrucciones del fabricante. Agregar 9 mL de caldo BVB en un tubo de 20 mL con tapón rosca, introducir una campana de Durham. Preparar de esta forma los tubos a utilizar. Esterilizar los tubos en la autoclave, por 15 minutos a 250 °C y 15 psi de presión. Dejar que se enfríen los tubos.

En la campana limpia y sanitizada con anterioridad utilizando la lámpara de luz ultravioleta y alcohol al 70%, inocular los tubos de BVB tomando una asada de cada tubo de caldo lactosado que presento gas. Incubar de 24 a 48 horas a 42-44 °C .

Verificar crecimiento bacteriano con producción de gas (burbuja de aire en la campana de Durham), formación de turbidez y precipitado.

Interpretar resultados respecto a la tabla de Número Más Probable (NMP).

A los tubos que den positivo hacerle análisis de *E. coli*.

7.5.8.3 Determinación de *Escherichia coli*

Preparar el caldo EC según las instrucciones del fabricante. Agregar 10 mL de caldo EC en un tubo de 20 mL con tapón rosca, introducir una campana de Durham. Preparar de esta forma los tubos a utilizar. Esterilizar los tubos en la autoclave, por 15 minutos a 250 °C y 15 psi de presión. Dejar que se enfríen los tubos.

En la campana limpia y sanitizada con anterioridad utilizando una lámpara de luz ultravioleta y alcohol al 70%, inocular los tubos de EC tomando una asada de cada tubo de caldo BVB que presentó gas. Incubar de 24 a 48 horas a 35-37 °C.

Verificar crecimiento bacteriano con producción de gas (burbuja de aire en la campana de Durham), formación de turbidez y precipitado.

A los tubos que den positivo inocular en placas de agar McConkey.

Incubar las cajas a 41-45 °C durante 18- 24 horas.

El crecimiento de colonias rojas, umbilicadas, generalmente no mucosas, indican la posible presencia de *E.coli*.

7.5.8.4 Conteo aeróbico en placa

7.5.8.4.1 Bacterias mesófilas: Pesar 1 g ó medir 1 mL de la muestra y adicionar 9 mL de agua peptonada o solución salina al 0.85% p/v. Agitar o licuar para obtener una mezcla homogénea.

A partir de la dilución anterior, hacer diluciones subsiguientes las que dependen del número sospechado de microorganismos presentes.

Tomar 1 mL de la solución 1:10 y agregarla a 9 mL de agua peptonada o solución salina al 0.85% p/v. De esta tomar 1 mL y proceder conforme lo descrito anteriormente, hasta llegar a la dilución 1:1000.

Colocar 0.1 mL de cada una de las diluciones en tres cajas de Petri estériles de 9-10 cm de diámetro previamente preparadas e incubadas con agar Plate count .

Incubar a 35-37 °C durante 5 días.

7.5.8.4.2 Mohos y levaduras: Pesar o medir 1 g o 1 mL de la muestra y adicionar 9 mL de agua peptonada o solución salina al 0.85% p/v. Agitar o licuar para obtener una mezcla homogénea. A partir de la dilución anterior, hacer diluciones subsiguientes las que dependen del número sospechado de microorganismos presentes. Tomar 1 mL de la solución 1:10 y agregarla a 9 mL de agua peptonada o solución salina al 0.85% p/v. De esta tomar 1 mL y proceder conforme lo descrito anteriormente, hasta llegar a la dilución 1:1000.

Colocar 0.1 mL de cada una de las diluciones en tres cajas de Petri estériles de 9-10 cm de diámetro previamente preparadas e incubadas con agar Sabouraud.

Incubar a 20-25 °C durante 5 días.

Cajas sin crecimiento bacteriano: El resultado se expresa como menor de la dilución más baja sembrada, 10 UFC/g ó mL

Cajas con menos de 25 colonias: Tomar la dilución menor y reportar como recuento aeróbico en placa estimado; o tomar como 25 veces la dilución menor donde aparecen colonias, 250 UFC/g ó mL

Cajas entre 25 y 250 colonias: El conteo final se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$N = \frac{\text{Sumatoria de Colonias}}{[(1*NCdb) + (0.1*NCda)]} * FD$$

N: Número de colonias por g o mL de muestra.

NCdb: Número de cajas contadas de la dilución más baja.

NCda: Número de cajas contadas de la dilución siguiente más alta.

FD: Factor de dilución menor contada.

7.5.9 Caracterización de las tinturas y extractos etanólicos

7.5.9.1 Características organolépticas

Verter en un tubo de ensayo, limpio y seco, de 10 mL de capacidad, alrededor de 5 mL de la muestra. Observar con luz artificial difusa o luz natural la apariencia, y el color de la muestra. Introducir la tira de papel en la muestra, y oler. Registrar los resultados.^{39,46}

7.5.9.2 Características fisicoquímicas

7.5.9.2.1 Sólidos totales: Transferir 25mL de la muestra a una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada. Evaporar en baño de María hasta que el residuo esté aparentemente seco. Someter la muestra a $100 \pm 5^\circ\text{C}$ durante 6 horas. Dejar enfriar dentro de una desecadora y pesar.^{39,46}

Cálculos:^{39,46}

$$S_t = \frac{P_{\text{res}} - \text{Tara}}{\text{Volumen}} * 100$$

P_{res} = masa de la cápsula más el residuo (g)

Tara = masa de la cápsula vacía (g)

Nota: La determinación se realiza por triplicado. Se registra la cantidad de sólidos totales en gramos por L.^{39,46}

7.5.9.2.2 Determinación de pH:

Calibración: Presionar el botón ON/OFF, para encender el instrumento. Colocar la solución amortiguadora en vasos de precipitar limpios, de preferencia utilizar vasos de precipitar de plástico para minimizar cualquier interferencia. Sumergir el electrodo y el probador de temperatura dentro de la solución amortiguadora, presionar CAL y Buf 1. Si es necesario presionar ? °C o ? °C y seleccionar el valor del segundo amortiguador. La indicación NOT READY aparecerá hasta que se halla estabilizado. Cuando la lectura este estable aparecerá READY y CFM. Presionar CFM para confirmar la calibración. Presionar CAL para salir de la calibración y retornar a la operación normal.

Medición: Sumergir el electrodo dentro de la muestra, mantenerlo dentro de la solución el tiempo necesario para estabilizar el electrodo, mínimo 30 segundos. Inmediatamente aparecerá el pH. Lavar el electrodo con agua desmineralizada.⁴⁷

7.5.9.2.3 *Densidad relativa*: Pesar el picnómetro limpio, vacío y seco (utilizar guantes) con un error máximo permisible de $\pm 0.5\text{mg}$. Llenar con la muestra, de manera que no queden burbujas de aire; si es preciso emplear una tira de papel filtro para extraer el exceso de muestra. Tapar el picnómetro y secarlo externamente cuidando de no frotar excesivamente o de transmitir el calor de la mano y pesar. Vaciar el picnómetro, lavarlo con alcohol etílico y posteriormente con agua. Repetir la determinación con agua destilada.³⁹

Calcular la densidad relativa mediante la siguiente fórmula:

$$d_{25} = \frac{M1 - M}{M2 - M}$$

M = masa del picnómetro vacío (g)

M1 = masa del picnómetro con la muestra (g)

M2 = masa del picnómetro con agua (g)³⁹

7.5.10 Caracterización fitoquímica^{41,48,49}

7.5.10.1 Determinación de alcaloides por cromatografía en capa fina:

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos y 0.5 g de extractos secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Mezclar con 1 mL de solución de hidróxido de amonio al 10%. Filtrar las soluciones, el filtrado es usado para cromatografía.
- Estándar: Solución alcohólica de quinina o emetina al 1%.
- Fase estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60F₂₅₄
- Fase móvil: Tolueno - Acetato de etilo – Dietilamina (70:20:10)
- Revelador: Reactivo de Dragendorff
- Interpretación: Se observan manchas color café o naranja luego de asperjar. Los colores no son estables. Las manchas pueden hacerse mas

intensas si se asperja primero el reactivo de Drangendorff y luego una solución de nitrito de sodio al 5% o ácido sulfúrico al 5% en etanol.

7.5.10.2 Determinación de saponinas

7.5.10.2.1 Prueba de espuma: Pesar 100 mg de material vegetal seco y pulverizado o porciones de extractos aproximadamente de 1 mL ó 0.5 g disueltos en etanol y colocarlos en tubos de ensayo.

Para comparar utilizar dos tubos control; uno con 2 mL. De control de saponinas (preparación: disolver 250 mg de estándar de saponinas en 50 mL de agua y otro con 2 mL de agua destilada.

Añadir 10 mL de agua destilada a cada tubo. Calentar en baño de Maria durante 30 minutos.

Enfriar, tapar y agitar vigorosamente durante 30 o 40 segundos. Dejar reposar los tubos en posición vertical durante media hora. Si luego de transcurrido este tiempo se observa una capa de espuma mayor de 3 cm de la superficie del líquido, se presume que la muestra contiene saponinas. Si la espuma es poca y fugaz puede atribuirse a una mínima concentración de saponinas.⁴⁹

7.5.10.2.2 Determinación de saponinas en cromatografía en capa fina

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las soluciones las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos y 0.5 g de extractos o secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Filtrar las soluciones, extraer con 3 mL de butanol. La fase butanólica se utiliza para cromatografía.
- Estándar: Preparar una solución de saponinas al 0.1% en metanol.
- Fase estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60F-254
- Fase móvil: Cloroformo – Metanol – Agua (65:50:10)

Con esta fase móvil se separan todas las mezclas de saponinas contenidas en la droga vegetal. La mezcla debe ser preparada exactamente. Debe usarse cloroformo grado analítico y la cromatografía debe realizarse a 20°C, 30 minutos después de haber saturado la cámara. A temperatura más alta de 20°C la separación no es adecuada.

- Revelador: Cloruro de Antimonio III
Preparar una solución de cloruro de antimonio al 20% en cloroformo. Asperjar la cromatoplaca, luego calentar por 5 minutos a 100 °C.
- Interpretación: Evaluar en visible colores rojo – violeta y bajo la luz ultravioleta a 365 nm fluorescencia rojo – violeta, azul y verde.
Con Vainillina – ácido sulfúrico al 5% en etanol, con este reactivo las saponinas forman zonas principalmente azul o azul violeta y a veces zonas amarillo suaves.
Con Anisaldehído, ácido sulfúrico, los colores son similares al reactivo anterior.

7.5.10.3 Determinación de taninos:

Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y 0.5 g de extractos secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Extraer con 25 mL de agua destilada, llevando a ebullición durante 15 minutos. Dejar de enfriar a temperatura ambiente. Agregar de 3 a 4 gotas de solución de NaCl al 10%, con el objeto de precipitar cualquier compuesto no tánico y evitar obtener un resultado falso positivo.

Filtrar la solución o suspensión resultante ya sea al vacío o por gravedad, transferir 3 mL del filtrado en cuatro tubos de ensayo.

Añadir a cada uno de los tubos de ensayo el reactivo que se indica:

Tubo 1: 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1%

Tubo 2: 4 a 5 gotas de reactivo gelatina-sal (1% de gelatina + 10% de NaCl)

Tubo 3: 3 a 4 gotas de solución de FeCl₃ al 10%

Tubo 4: Ningún reactivo (Control)

Observar en cada caso si se produce formación en precipitado y/o cambio de coloración. Comparar con el tubo control.

Interpretación:

- La ausencia de reacción con cloruro férrico, implica carencia de taninos y compuestos fenólicos.

- Un color grisáceo o negro-grisáceo al reaccionar con cloruro férrico (asumiendo que hubo precipitado luego del reactivo gelatina-sal) implica presencia de taninos del tipo catecol.
- Un color negro-azulado al añadir cloruro férrico (asumiendo que hubo precipitado en el ensayo gelatina-sal) implica presencia de taninos del tipo pirogalol.
- Un resultado negativo con el test gelatina-sal, pero producción de color negro-azulado o grisáceo, luego de añadir cloruro férrico, implica ausencia de taninos y los cambios de color se atribuyen a otros constituyentes fenólicos o de la planta.

7.5.10.4 Determinación de flavonoides por cromatografía en capa fina:

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos y 0.5 g de extractos secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Filtrar las soluciones, el filtrado es usado para cromatografía.
- Estándar: Los compuestos estándar (Quercetina, ácido clorogénico, hiperósidos y rutina) son preparados como una solución 0.05% en metanol.
- Fase estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60F-254
- Fase móvil: Acetato de etilo - Ácido fórmico - Ácido acético glacial - Agua (100:11:11:27).⁵⁰
- Detección sin tratamiento químico: Observar bajo luz UV-254 nm.
Todos los flavonoides fluorescen como zonas azul oscuras sobre fondo amarillo. Bajo luz UV-365 nm los flavonoides fluorescen, dependiendo del tipo de estructura, ya sea de color amarillo, azul o verde.
- Revelador: Reactivo de productos naturales
Asperjar la cromatoplasma primero con difenil-boril-oxietilamina al 1% en metanol, y luego con polietilenglicol-4000 al 5% en etanol.
- Interpretación: Se produce intensa fluorescencia a 365 nm, ya sea inmediatamente o después de 15 minutos. La adición de Polietilenglicol al 5% en etanol incrementa la sensibilidad de 10 hasta 2.5 µg.

7.5.10.5 Determinación de antraquinonas por cromatografía en capa fina:

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos y 0.5 g de extractos secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Filtrar las soluciones, el filtrado es usado para cromatografía.
- Estándar: Solución al 0.1% en metanol de antraquinonas.
- Fase estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60F-₂₅₄
- Fase móvil: n-propanol - acetato de etilo - agua (40:40:30).⁵⁰
- Revelador: Reactivo de ácido nítrico – hidróxido de potasio.
Asperjar la cromatoplasma con ácido nítrico concentrado y calentar por 15 minutos a 120 °C. Luego asperjar con hidróxido de potasio al 10% en etanol.
- Interpretación: Los senosidos se detectan como 7-9 bandas de color café-rojizo en visible, o como zonas fluorescentes amarillo-limón o celestes bajo luz UV-365 nm. Senosido A se localiza a un R_f de 0.4, Senosido B se localiza a un R_f de 0.2; el Senosido C se observa como una banda débilmente coloreada a un R_f de 0.7; el Senosido D aparece a un R_f de 0.5-0.55; y la renina, de color rojo-naranja se localiza a un R_f 0.8. Otras agliconas migran junto al frente del solvente.

7.5.10.6 Determinación de cumarinas por cromatografía en capa fina

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos y 0.5 g de extractos secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Filtrar las soluciones, el filtrado es usado para cromatografía.
- Estándar: Solución de cumarina al 1% en metanol.
- Fase estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60F-₂₅₄
- Fase móvil: Tolueno-acetato de etilo (93:7).
- Detección sin tratamiento químico: Observar bajo luz UV-254 nm. Todas las cumarinas muestran clara fluorescencia.

Observar bajo luz UV-365 nm. Todas las cumarinas muestran intensa fluorescencia azul o azul-verdosa. Las furanocumarinas fluorescen de color amarillo, café o azul.

- Revelador: Reactivo de hidróxido de potasio.
- Interpretación: Las cumarinas no sustituidas fluorescen de color amarillo-verdoso bajo la luz UV-365nm. Las cumarinas se observan azules a esta longitud de onda.

7.5.10.7 Determinación de aceites volátiles:

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos, evaporar hasta sequedad y disolver el residuo en 1 mL de tolueno, aplicar sobre la cromatopla. Pesar 0.5 g de los extractos secos, disolver en 1 mL de tolueno. Aplicar sobre la cromatopla.
- Estándar: Solución de tolueno 1:30 de metanol, timol anisaldehído, acetol, 1,8-cineol (3 microlitros).
- Fase estacionaria: Cromatoplas de sílica gel 60F-₂₅₄
- Fase móvil: Tolueno-acetato de etilo (93:7).
- Detección sin tratamiento Químico: Observar bajo luz UV-254 nm. Todos los compuestos que contienen por lo menos dos dobles enlaces conjugados fluorescen. Los derivados del fenilpropano poseen esta propiedad, ejemplo: el anaetol, safrol, apiol, eugenol. Otros compuestos que fluorescen son el cinamaldehído, anisaldehído, timol y piperitona.
Observar bajo luz UV-365 nm. El metil-antranilato muestra intensa fluorescencia azul.
- Revelador: Vainillina al 1% en etanol – ácido sulfúrico al 5% en etanol.
Asperjar vigorosamente la placa con la solución de ácido sulfúrico e inmediatamente con la solución de vainillina al 1% en etanol. Después de calentar a 110 °C durante 5-10 minutos, evaluar la placa en visible.

- Interpretación: El reactivo detecta los componentes de los aceites esenciales (terpenoides, derivados de fenilpropano, fenoles, etc.). las coloraciones observadas en visible varían entre azul, verde, rojo y café.

7.5.10.8 Determinación de principios amargos por cromatografía en capa fina: Muchos de los principios amargos de las drogas de importancia oficial poseen una estructura terpenoides, derivado representativo de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos.

- Preparación de extractos: Tomar muestras de 1 mL de las tinturas, muestras de 0.5 mL de extractos fluidos y blandos y 0.5 g de extractos secos, disolver estos últimos en 10 mL de etanol por 5 minutos. Filtrar las soluciones, el filtrado es usado para cromatografía.
- Solución de referencia: Solución de artemisina al 1% en metanol.
- Fase estacionaria: Cromatoplasmas de sílica gel 60F-₂₅₄
- Fase móvil: Cloroformo – metanol (95:5)
- Detección sin tratamiento químico: Observar bajo luz UV-254 nm. Sustancias con dobles enlaces conjugados, tales como la cuasina muestran fluorescencia.
- Revelador: Anisaldehído – ácido sulfúrico
Mezclar 0.5 mL de anisaldehído con 10 mL de ácido acético glacial, seguido por 85 mL de metanol y 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, en este orden. El reactivo tiene limitada estabilidad, no debe usarse cuando el color se torna rojo-violáceo. Luego de asperjar la placa se calienta a 100 °C durante 5 a 10 minutos, y se observa en visible o bajo luz UV-365 nm.
- Interpretación: Se observan las siguientes coloraciones: rojo-violeta, café-rojizo, azul-verdoso y azul.

7.6 DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de estudio: descriptivo.

7.6.1 Muestra

Para la selección de la muestra se utilizó un método no probabilístico, por conveniencia.

Las muestras seleccionadas fueron proporcionadas por el Laboratorio FARMAYA, con un peso de 3 kg de *N. lobata* (hoja), *C. pyramidata* (hoja), *P. Jacquemontanum* (hoja).

7.6.2 Variables

7.6.2.1 Dependientes: Extractos y tinturas de las especies seleccionadas.

7.6.2.2 Independientes: Análisis organoléptico, fisicoquímico y fitoquímico, con el fin de seleccionar el extracto más estable para la elaboración de productos fitofarmacéuticos.

7.6.3 Replicas

Los análisis organolépticos y fisicoquímicos de los extractos y tinturas se elaboraron por triplicado. El tamizaje fitoquímico se realizó una vez.

7.6.4 Análisis de Resultados

El análisis de los datos obtenidos se realizó de forma descriptiva, elaborando una ficha técnica para cada especie.

8. RESULTADOS

Para la presentación de los resultados se elaboró una ficha técnica que proporciona los resultados obtenidos en la caracterización de los extractos de *N. lobata*, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata*, los cuales servirán de parámetros para el análisis de futuros lotes de materia prima y extractos etanólicos.

La ficha técnica contiene las especificaciones para el análisis organoléptico y fisicoquímico de la materia prima, seguido por las especificaciones para el análisis organoléptico y fisicoquímico del producto intermedio, que son tinturas y extractos etanólicos a diferentes grados de concentración.

8.1 TRES PUNTAS *Neurolaena lobata* L.

8.1.1 Materia prima vegetal

Identificación botánica

| | |
|-------------------------|---|
| Nombre Científico: | <i>Neurolaena lobata</i> L. |
| Familia: | Asteraceae |
| Nombre Común: | Tres puntas |
| Procedencia: | Samayac, Suchitepéquez |
| Altitud: | 3650 msnm |
| Número de Herbario: | 482 |
| Determinación botánica: | Hojas simples, lobadas con márgenes cerrados. |
| Hábito: | Arbusto |

Análisis organoléptico

| | |
|---------------------------------------|-------------------------------|
| Órgano: | Hojas |
| Color: | Verde oscuro |
| Olor: | Ligeramente dulce (aromático) |
| Sabor: | Amargo |
| Aspecto: | Fragmentada |
| Textura: | Áspera |
| Consistencia: | Papiracea |
| Porcentaje de materia extraña (=10%): | No presenta |

Análisis microbiológico

| | |
|---------------------|------------|
| Coliformes totales: | 2400 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | |
|--------------------------|----------------------------|
| Bacterias mesófilas: | 381 UFC |
| Mohos y levaduras: | 1.35 x 10 ³ UFC |

Análisis fisicoquímico

| | | |
|---|-------------------|------------------------|
| % de Humedad: | 8.83 ± 1.14% | |
| % de Cenizas: | 15.11 ± 0.38% | |
| Mejor disolvente para la preparación de tinturas y extractos: | Disolvente | Sólidos totales |
| | Etanol al 30% | 9.65 ± 0.7 g/L |
| | Etanol al 50% | 15.06 ± 0.1 g/L |
| | Etanol al 70% | 12.98 ± 0.1 g/L |

8.1.2 Tinturas

Análisis organoléptico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Disolvente: | Etanol al 50% | Etanol al 50% |
| Apariencia: | Líquido traslúcido | Líquido traslúcido |
| Color en tubo de ensayo: | Ámbar (Pantone 146 c) | Ámbar (Pantone 146 c) |
| Color mancha sobre papel filtro: | Amarillo pálido (Pantone 393 c) | Amarillo pálido (Pantone 393 c) |
| Olor: | Ligeramente dulce | Ligeramente dulce |
| Sabor: | Amargo | Amargo |

Análisis microbiológico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|---------------------|--------------|-------------|
| Coliformes totales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | | |
|--------------------------|--------------|-------------|
| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
| Bacterias mesófilas: | < 10 UFC | < 10 UFC |
| Mohos y levaduras: | < 10 UFC | < 10 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|------------------|---------------------|--------------------|
| pH: | 5.58 ± 0.03 | 5.65 ± 0.05 |
| Densidad: | 0.932 ± 0.001 g/mL | 0.940 ± 0.001 g/mL |
| Sólidos totales: | 15.05 ± 0.1 g/L | 18.36 ± 0.1 g/L |

Análisis fitoquímico

| Prueba | Estándar | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|--------------------|--|--|---|
| Alcaloides | Papaverina 1%: RF 0.50 Mancha de color naranja que fluoresce a 365 nm | - | - |
| Saponinas | Saponinas 0.1%: RF 0.4, 0.5, 0.05. Manchas fluorescentes a 365 nm color azul violeta | - | - |
| Taninos | Sin estándar | + compuestos fenólicos | + Compuestos fenólicos |
| Flavonoides | Rutina: Sin tratamiento químico, RF 0.44 color verde bajo luz UV-365 nm. Ac. Clorogénico: Sin tratamiento químico, RF 0.60 color azul bajo luz UV-365 nm. Hiperósido: Sin tratamiento químico, RF 0.67 color verde bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.9 color amarillo-verdoso bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento, RF 0.89 color amarillo-verdoso bajo luz UV-365 nm. |
| Antraquinonas | Sen: RF 0.16, 0.75, 0.86, 0.90, coloraciones amarillo, café, rojo, café-rojizo | RF 0.83, 0.93 coloración café y rojo | RF 0.80 coloración café |
| Cumarinas | Cumarina: RF 0.13, 0.50 Ác. p-cumárico: RF 0.13, 0.52 fluorescencia azul | - | - |
| Aceites volátiles | Eugenol: RF 0.2, 0.53 fluoresce a 254 nm Tolueno: RF 0.32 fluoresce a 365 nm | - | - |
| Principios amargos | <i>N. lobata</i> : RF 0.25, 0.31, 0.39, 0.78 coloraciones café rojizo, azul violeta, verdoso. | RF 0.21, 0.29 coloración rojiza, azul violeta. | RF 0.24, 0.29 coloración rojiza, azul violeta |

8.1.3 Extractos

Análisis organoléptico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|----------------------------------|--|--|------------------------------|
| Disolvente: | Etanol 50% | Etanol 50% | Etanol 50% |
| Apariencia: | Líquido fluido | Formación de dos fases. Líquido fluido con porciones sedimentadas de consistencia semisólida. | Polvo fino, higroscópico. |
| Color en tubo de ensayo: | Ámbar amarillento oscuro (Pantone 140 c) | Ámbar amarillento oscuro la fase líquida (Pantone 1615 c) y ámbar negruzco la fase sólida. (Pantone 732 c) | Café rojizo (Pantone 1615 c) |
| Color mancha sobre papel filtro: | Café mostaza (Pantone 140 c) | Café mostaza la fase líquida (Pantone 140 c) y pardo la fase sólida (Pantone 732 c) | Café rojizo (Pantone 1615 c) |
| Olor: | Ligeramente dulce | Ligeramente dulce | Ligeramente dulce |
| Sabor: | Amargo | Amargo | Extremadamente amargo |

Análisis microbiológico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| Coliformes totales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | | | |
|---------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
| Bacterias mesófilas: | < 250 UFC | < 10 UFC | < 250 UFC |
| Mohos y levaduras: | < 10 UFC | < 10 UFC | < 10 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 |
|------------------|---------------------|---------------------|
| pH: | 5.27 ± 0.03 | 4.95 ± 0.02 |
| Densidad: | 1.015 ± 0.0005 g/mL | NA |
| Sólidos totales: | 214.2 ± 3.0 g/L | 396.1 ± 2.0 g/L |

NA = No analizable por la formación de dos fases.

El extracto 3:1 se llevó a sequedad para obtener el extracto seco.

| | Extracto Seco |
|--|----------------------|
| % de Humedad perdido a partir del extracto 3:1 | 24.75% |
| Tiempo aproximado necesario para llevar el extracto 3:1 a sequedad en una desecadora | 6 meses |
| % de rendimiento | 14.64% |
| pH | NA |
| Densidad | NA |

NA = No analizable por las características físicas del extracto.

Análisis fitoquímico

| Prueba | Estándar | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|---------------|--|---|---------------------|---|
| Alcaloides | Papaverina 1%, RF 0.50. Mancha de color naranja que fluoresce a 365 nm | - | NA | - |
| Saponinas | Saponinas 0.1% RF 0.4, 0.5, 0.05. Manchas fluorescentes a 365 nm color azul violeta | - | NA | - |
| Taninos | Sin estándar | + compuestos fenólicos | NA | + Compuestos fenólicos |
| Flavonoides | Rutina: Sin tratamiento químico, RF 0.44 color verde bajo luz UV-365 nm. Ac. Clorogénico: Sin tratamiento químico, RF 0.60 color azul bajo luz UV-365 nm. Hiperósido: Sin tratamiento químico, RF 0.67 color verde bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.89 color amarillo-verdoso bajo luz UV-365 nm. | NA | Sin tratamiento químico, RF 0.89 color amarillo-verdoso bajo luz UV-365 nm. |
| Antraquinonas | Sen RF 0.16, 0.75, 0.86, 0.90, coloraciones amarillo, café, rojo, café-rojizo | RF 0.83, 0.90 coloración café y rojo | NA | RF 0.8, 0.91 coloración café y rojo |
| Cumarinas | Cumarina RF 0.13, 0.50 Ác. p-cumárico RF 0.13, 0.52 fluorescencia azul | - | NA | - |

| | | | | |
|--------------------|--|--|----|---|
| Aceites volátiles | Eugenol: RF 0.2, 0.53 fluorece a 254 nm Tolueno: RF 0.32 fluorece a 365 nm | - | NA | - |
| Principios amargos | <i>N. lobata</i> : RF 0.25, 0.31, 0.39, 0.78 coloraciones café rojizo, azul violeta, verdoso. | RF 0.14, 0.27, 0.5 coloración violeta-rojizo, verdoso | NA | RF 0.17, 0.24, 0.29, 0.5, 0.55 coloración café-rojizo, azul violeta, verdoso |

NA = No analizable, descartado por la formación de dos fases.

8.2 CORDONCILLO *Piper jacquemontianum* K.

8.2.1 Materia prima Vegetal

Identificación botánica

| | |
|-------------------------|---|
| Nombre Científico: | <i>Piper jacquemontianum</i> K. |
| Familia: | Piperaceae |
| Nombre Común: | Cordoncillo |
| Procedencia: | Laguna de Lachuá, Alta Verapaz |
| Altitud: | 1317 msnm |
| Número de Herbario: | 497 |
| Determinación botánica: | Hojas simples enteras inflorescencia en espiga 7.8 cm largo |
| Hábito: | Arbusto |

Análisis organoléptico

| | |
|---------------------------------------|--------------|
| Órgano: | Hojas |
| Color: | Verde oscuro |
| Olor: | Dulce fuerte |
| Aspecto: | Fragmentadas |
| Textura: | Lisa suave |
| Consistencia: | Papiracea |
| Porcentaje de materia extraña (=10%): | No contiene |

Análisis microbiológico

| | |
|---------------------|------------|
| Coliformes totales: | 2400 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | |
|---------------------------------|-----------------------|
| Bacterias mesófilas: | 345 UFC |
| Mohos y levaduras: | 1.7×10^3 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | | |
|---|-------------------|------------------------|
| % de Humedad: | $8.29 \pm 0.2\%$ | |
| % de Cenizas: | $15.6 \pm 0.7\%$ | |
| Mejor disolvente para la preparación de tinturas y extractos: | Disolvente | Sólidos totales |
| | Etanol al 30% | 12.65 ± 0.5 g/L |
| | Etanol al 50% | 18.73 ± 0.2 g/L |
| | Etanol al 70% | 15.88 ± 0.2 g/L |

8.2.2 Tinturas

Análisis organoléptico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Disolvente: | Etanol al 50% | Etanol al 50% |
| Apariencia: | Líquido traslúcido | Líquido traslúcido |
| Color en tubo de ensayo: | Ámbar negro (Pantone 469 c) | Ámbar negro (Pantone 469 c) |
| Color mancha sobre papel filtro: | Amarillo pálido (Pantone 393 c) | Amarillo pálido (Pantone 393 c) |
| Olor: | Herbal | Herbal |

Análisis microbiológico de las tinturas

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|---------------------|---------------------|--------------------|
| Coliformes totales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | | |
|---------------------------------|---------------------|--------------------|
| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
| Bacterias mesófilas: | < 10 UFC | < 10 UFC |
| Mohos y levaduras: | < 10 UFC | < 10 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|------------------|------------------------|------------------------|
| pH: | 6.28 ± 0.02 | 6.37 ± 0.09 |
| Densidad: | 0.936 ± 0.001 g/mL | 0.936 ± 0.001 g/mL |
| Sólidos totales: | 17.38 ± 0.05 g/L | 17.48 ± 1.0 g/L |

Análisis fitoquímico

| Prueba | Estándar | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|--------------------|--|--|--|
| Alcaloides | Papaverina 1%, RF 0.50 Mancha de color naranja que fluoresce a 365 nm | RF 0.57, 0.62, 0.78 fluorescencia azul violeta | RF 0.57, 0.64, 0.8 fluorescencia azul-violeta |
| Saponinas | Saponinas 0.1% RF 0.4, 0.5, 0.05. Manchas fluorescentes a 365 nm color azul violeta | RF 0.06 fluorescencia azul violeta | RF 0.06 fluorescencia azul violeta |
| Taninos | Sin estándar | + compuestos fenólicos | + Compuestos fenólicos |
| Flavonoides | Rutina: Sin tratamiento químico, RF 0.44 color verde bajo luz UV-365 nm. Ac. Clorogénico: Sin tratamiento químico, RF 0.60 color azul bajo luz UV-365 nm. Hiperósido: Sin tratamiento químico, RF 0.67 color verde bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.05, 0.22, 0.37, 0.5, 0.7 color amarillo – verde – azul bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.05, 0.22, 0.37, 0.5, 0.7 color amarillo – verde – azul bajo luz UV-365 nm. |
| Antraquinonas | Sen RF 0.16, 0.75, 0.86, 0.90, coloraciones amarillo, café, rojo, café-rojizo | RF 0.38, 0.76, 0.8 coloración café, rojo, amarillo claro | RF 0.38, 0.76, 0.8 coloración café, rojo, amarillo claro |
| Cumarinas | Cumarina RF 0.13, 0.50 Ác. p-cumárico RF 0.13, 0.52 fluorescencia azul | RF 0.26, 0.3, 0.5 fluorescencia violeta | RF 0.26, 0.3, 0.49 fluorescencia violeta |
| Aceites volátiles | Eugenol: RF 0.2, 0.53 fluoresce a 254 nm Tolueno: RF 0.32 fluoresce a 365 nm | RF 0.17, 0.22, 0.37, 0.41 fluoresce a 254 nm | RF 0.17, 0.22, 0.37, 0.41 fluoresce a 254 nm |
| Principios amargos | <i>N. lobata</i> : RF 0.25, 0.31, 0.39, 0.78 coloraciones café rojizo, azul violeta, verdoso. | RF 0.21, 0.33, 0.40, 0.89 coloraciones azul violeta y violeta rojizo | RF 0.32, 0.40, 0.89 coloraciones azul violeta y violeta rojizo |

8.2.3 Extractos

Análisis organoléptico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|----------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---|
| Disolvente: | Etanol 50% | Etanol 50% | Etanol 50% |
| Apariencia: | Líquido fluido | Líquido fluido espeso y opalescente | Polvo grumoso, extremadamente higroscópico. |
| Color en tubo de ensayo: | Ámbar – pardo oscuro (Pantone 7519 c) | Café-grisáceo opaco (Pantone 7532 c) | Verde-negrusco (Pantone 3435 c) |
| Color mancha sobre papel filtro: | Ámbar (Pantone 110 c) | Verde grisáceo (Pantone 4495c) | Verde-negrusco (Pantone 3435 c) |
| Olor: | Aromático dulce | Aromático dulce | Aromático dulce |

Análisis microbiológico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| Coliformes totales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | | | |
|---------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
| Bacterias mesófilas: | < 250 UFC | < 250 UFC | < 250 UFC |
| Mohos y levaduras: | < 250 UFC | < 10 UFC | < 10 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 |
|------------------|---------------------|---------------------|
| pH: | 5.77 ± 0.06 | 4.92 ± 0.12 |
| Densidad: | 1.077 ± 0.0002 g/mL | 1.116 ± 0.002 g/mL |
| Sólidos totales: | 164.5 ± 1.0 g/L | 180.9 ± 0.4 g/L |

El extracto 3:1 se llevo a sequedad para obtener el extracto seco.

| | Extracto Seco |
|--|----------------------|
| % de Humedad perdido a partir del extracto 3:1 | 9.38% |
| Tiempo aproximado necesario para llevar el extracto 3:1 a sequedad en una desecadora | 7 meses |
| % de rendimiento | 5.15 % |
| pH | NA |
| Densidad | NA |

NA = No analizable por las características físicas del extracto.

Análisis fitoquímico

| Prueba | Estándar | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|--------------------|--|--|---|---|
| Alcaloides | Papaverina 1%, RF 0.50. Mancha de color naranja que fluoresce a 365 nm | RF 0.56 fluorescencia azul violeta | - | - |
| Saponinas | Saponinas 0.1% RF 0.4, 0.5, 0.05. Manchas fluorescentes a 365 nm color azul violeta | RF 0.05 fluorescencia azul violeta | RF 0.05 fluorescencia azul violeta | RF 0.05 fluorescencia azul violeta |
| Taninos | Sin estándar | + compuestos fenólicos | + compuestos fenólicos | + compuestos fenólicos |
| Flavonoides | Rutina: Sin tratamiento químico, RF 0.44 color verde bajo luz UV-365 nm. Ac. Clorogénico: Sin tratamiento químico, RF 0.60 color azul bajo luz UV-365 nm. Hiperósido: Sin tratamiento químico, RF 0.67 color verde bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.05, 0.22, 0.37, 0.5, 0.7 color amarillo – verde – azul bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.05, 0.37 color amarillo – verde bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF 0.05, 0.37 color amarillo – verde bajo luz UV-365 nm. |
| Antraquinonas | Sen: RF 0.16, 0.75, 0.86, 0.90, coloraciones amarillo, café, rojo, café-rojizo | RF 0.37, 0.76, 0.8 coloración café, rojo, amarillo claro | RF 0.81, 0.84 coloración café, rojo, amarillo claro | RF 0.8, 0.84 coloración café, rojo, amarillo claro |
| Cumarinas | Cumarina: RF 0.13, 0.50 Ác. p-cumárico: RF 0.13, 0.52 fluorescencia azul | RF 0.26, 0.3 fluorescencia violeta | RF 0.16, 0.29, 0.4 fluorescencia violeta | RF 0.16, 0.29, 0.42 fluorescencia violeta |
| Aceites volátiles | Eugenol: RF 0.2, 0.53 fluoresce a 254 nm Tolueno: RF 0.32 fluoresce a 365 nm | RF 0.17, 0.22 fluoresce a 254 nm | RF 0.06, 0.17, 0.24 fluoresce a 254 nm | RF 0.06, 0.16, 0.25 fluoresce a 254 nm |
| Principios amargos | <i>N. lobata</i> : RF 0.25, 0.31, 0.39, 0.78 coloraciones café rojizo, azul violeta, verdoso. | RF 0.14, 0.20, 0.27, 0.33, 0.87 coloraciones azul violeta y violeta rojizo | RF 0.41, 0.55 coloraciones azul violeta | RF 0.31, 0.56 coloraciones azul violeta |

8.3 JOROBTE *Cornutia pyramidata* L.

8.3.1 Materia prima Vegetal

Identificación botánica

| | |
|-------------------------|-----------------------------------|
| Nombre Científico: | <i>Cornutia pyramidata</i> L. |
| Familia: | Verbenaceae |
| Nombre Común: | Jorobté |
| Procedencia: | Alotenango, Sacatepéquez |
| Altitud: | 3765 msnm |
| Número de Herbario: | 981, 988 |
| Determinación botánica: | Hojas pubescentes membranosas |
| Hábito: | Árboles pequeños o arbustos altos |

Análisis organoléptico

| | |
|---------------------------------------|----------------------------------|
| Órgano: | Hojas |
| Color: | Verde oscuro |
| Olor: | Fuerte, ligeramente desagradable |
| Aspecto: | Fragmentada |
| Textura: | Pubescente |
| Consistencia: | Papiracea |
| Porcentaje de materia extraña (=10%): | No presenta |

Análisis microbiológico

| | |
|---------------------|------------|
| Coliformes totales: | 2400 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | |
|--------------------------|---------|
| Bacterias mesófilas: | 345 UFC |
| Mohos y levaduras: | 690 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | | |
|---|-------------------|------------------------|
| % de Humedad: | 8.37 ± 0.07% | |
| % de Cenizas: | 9.59 ± 0.02% | |
| Mejor disolvente para la preparación de tinturas y extractos: | Disolvente | Sólidos totales |
| | Etanol al 30% | 10.8 ± 0.06 g/L |
| | Etanol al 50% | 11.3 ± 0.1 g/L |
| | Etanol al 70% | 11.0 ± 0.2 g/L |

8.3.2 Tinturas

Análisis organoléptico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Disolvente: | Etanol al 50% | Etanol al 50% |
| Apariencia: | Líquido traslúcido | Líquido traslúcido |
| Color en tubo de ensayo: | Verde olivo (Pantone 385 c) | Verde olivo (Pantone 385 c) |
| Color mancha sobre papel filtro: | Amarillo pálido (Pantone H 10-7 c) | Amarillo pálido (Pantone H 10-7 c) |
| Olor: | Ligeramente dulce | Ligeramente dulce |

Análisis microbiológico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|---------------------|--------------|-------------|
| Coliformes totales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | | |
|--------------------------|--------------|-------------|
| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
| Bacterias mesófilas: | < 250 UFC | < 250 UFC |
| Mohos y levaduras: | < 10 UFC | < 10 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|------------------|-------------------|-------------------|
| pH: | 6.73 ± 0.03 | 6.85 ± 0.08 |
| Densidad: | 0.930 ± 0.01 g/mL | 0.938 ± 0.02 g/mL |
| Sólidos totales: | 5.66 ± 0.1 g/L | 5.88 ± 0.1 g/L |

Análisis fitoquímico

| Prueba | Estándar | Tintura 1:10 | Tintura 1:5 |
|-------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| Alcaloides | Papaverina 1%, RF 0.50 Mancha de color naranja que fluoresce a 365 nm | - | - |
| Saponinas | Saponinas 0.1% RF 0.4, 0.5, 0.05. Manchas fluorescentes a 365 nm color azul violeta | - | - |
| Taninos | Sin estándar | - | - |
| Flavonoides | Rutina: Sin tratamiento químico, RF 0.44 color verde bajo luz UV-365 nm. | Sin tratamiento químico, RF | Sin tratamiento químico, RF |

| | | | |
|--------------------|--|--|---|
| | Ac. Clorogénico: Sin tratamiento químico, RF 0.60 color azul bajo luz UV-365 nm. Hiperósido: Sin tratamiento químico, RF 0.67 color verde bajo luz UV-365 nm. | 0.6 color azul verdoso bajo luz UV-365 nm. | 0.6 azul verdoso bajo luz UV-365 nm. |
| Antraquinonas | Sen RF 0.16, 0.75, 0.86, 0.90, coloraciones amarillo, café, rojo, café-rojizo | RF 0.93 coloración rojiza | RF 0.93 coloración rojiza |
| Cumarinas | Cumarina RF 0.13, 0.50 Ác. p-cumárico RF 0.13, 0.52 fluorescencia azul | - | - |
| Aceites volátiles | Eugenol: RF 0.2, 0.53 fluoresce a 254 nm Tolueno: RF 0.32 fluoresce a 365 nm | - | - |
| Principios amargos | <i>N. lobata</i> : RF 0.25, 0.31, 0.39, 0.78 coloraciones café rojizo, azul violeta, verdoso. | RF 0.1, 0.18, 0.24, 0.29 coloración violeta-rojizo | RF 0.9, 0.21, 0.27, 0.36, 0.94 coloraciones azul-violeta y violeta-rojizo |

8.3.3 Extractos

Análisis organoléptico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|-------------|-------------------------------------|---|-----------------------------|
| Disolvente: | Etanol 50% | Etanol 50% | Etanol 50% |
| Apariencia: | Líquido fluido uniforme | Formación de dos fases. Una líquida espesa con grumos diminutos suspendidos y una fase semisólida de consistencia caramelo. | Polvo fino, higroscópico. |
| Color: | Ámbar rojizo oscuro (Pantone 732 c) | Fase líquida: ámbar-pardo (Pantone 469 c) Fase semisólida: ámbar-café (Pantone 7519 c) | Verde olivo (Pantone 378 c) |
| Olor: | Ligeramente dulce | Ligeramente dulce | Ligeramente dulce |

Análisis microbiológico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|---------------------|--------------|--------------|---------------|
| Coliformes totales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| Coliformes fecales: | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |
| <i>E. coli</i> : | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g | < 3 NMP/g |

| Conteo aeróbico en placa | | | |
|--------------------------|--------------|--------------|---------------|
| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
| Bacterias mesófilas: | < 10 UFC | < 250 UFC | < 10 UFC |
| Mohos y levaduras: | < 10 UFC | < 10 UFC | < 10 UFC |

Análisis fisicoquímico

| | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 |
|------------------|--------------------|------------------|
| pH: | 5.60 ± 0.1 | 5.55 ± 0.13 |
| Densidad: | 1.054 ± 0.001 g/mL | NA |
| Sólidos totales: | 136.0 ± 0.1 g/L | 541.0 ± 50.0 g/L |

NA = No analizable por la formación de dos fases.

El extracto 3:1 se llevo a sequedad para obtener el extracto seco.

| | Extracto Seco |
|--|---------------|
| % de Humedad perdido a partir del extracto 3:1 | 17.71 % |
| Tiempo aproximado necesario para llevar el extracto 3:1 a sequedad en una desecadora | 6 meses |
| % de rendimiento | 15.15 % |
| pH | NA |
| Densidad | NA |

NA = No analizable por las características físicas del extracto.

Análisis fitoquímico

| Prueba | Estándar | Extracto 1:1 | Extracto 2:1 | Extracto seco |
|------------|--|--------------|--------------|---------------|
| Alcaloides | Papaverina 1%, RF 0.50 Mancha de color naranja que fluoresce a 365 nm | - | NA | - |
| Saponinas | Saponinas 0.1% RF 0.4, 0.5, 0.05. Manchas fluorescentes a 365 nm color azul violeta | - | NA | - |

| | | | | |
|--------------------|---|---|----|--|
| Taninos | Sin estándar | - | NA | - |
| Flavonoides | Rutina: Sin tratamiento químico, RF 0.44 color verde bajo luz UV-365 nm. Ac. Clorogénico: Sin tratamiento químico, RF 0.60 color azul bajo luz UV-365 nm. Peróxido: Sin tratamiento químico, RF 0.67 color verde bajo luz UV-365 nm | Sin tratamiento químico, RF 0.35, 0.56, 0.67, 0.72 coloraciones verde-café-azul bajo luz UV-365 nm. | NA | Sin tratamiento químico, RF 0.35, 0.56, 0.67 coloraciones verde y café bajo luz UV-365 nm. |
| Antraquinonas | Sen RF 0.16, 0.75, 0.86, 0.90, coloraciones amarillo, café, rojo, café-rojizo | RF 0.27 coloración amarillo naranja | NA | RF 0.27 coloración amarillo naranja |
| Cumarinas | Cumarina RF 0.13, 0.50 Ác. p-cumárico RF 0.13, 0.52 fluorescencia azul | RF 0.13 fluorescencia | NA | RF 0.13 fluorescencia |
| Aceites volátiles | Eugenol: RF 0.2, 0.53 flourece a 254 nm Tolueno: RF 0.32 flourece a 365 nm | - | NA | - |
| Principios amargos | <i>N. lobata</i> : RF 0.25, 0.31, 0.39, 0.78 coloraciones café rojizo, azul violeta, verdoso. | RF 0.18 coloración violeta-rojizo | NA | RF 0.1, 0.24, 0.33 coloración violeta-rojizo |

NA = No analizable, descartado por la formación de dos fases.

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos de la caracterización de las tinturas y extractos de *N. lobata*, *P. jacquemontianum* y *C. pyramidata* establecen parámetros para determinar qué producto intermedio es el más adecuado para la realización de formas farmacéuticas; además, proporcionan especificaciones para el análisis de futuros lotes de materia prima, tinturas y extractos de las especies caracterizadas. Para la transformación de plantas medicinales en producto terminado, el primer paso es la identificación botánica de las mismas, para asegurar que la materia prima corresponde a las especies en estudio. Es por esto que para la caracterización de las tinturas y extractos, se inició identificando la materia prima utilizada para la elaboración de dichos productos intermedios; mediante la comparación de las tres especies en estudio con especímenes botánicos del herbario del Laboratorio Farmaya.

Para determinar la calidad de la materia prima, se realizó el análisis organoléptico que fue satisfactorio para las tres especies; se cumplió con la especificación de <10% en % de materia extraña (otras partes de la planta, partes ennegrecidas, partes de otras plantas, insectos, mohos, arena, piedras, etc.).

El análisis microbiológico de las especies en estudio evidenció la calidad sanitaria de la materia prima, cumpliendo con las especificaciones de coliformes totales (2400 NMP/g); coliformes fecales (10 NMP/g); estas se encontraron libres de bacterias patógenas como *E. coli* y los valores de mohos y levaduras se encontraron dentro de los límites permisibles para materia prima vegetal (1×10^4 UFC).

En el análisis fisicoquímico, todas las especies cumplieron con los requerimientos de humedad (<10%). Se observó que *N. lobata* y *P. jacquemontianum* dieron porcentajes de cenizas de 15.11 ± 0.38 y 15.6 ± 0.7 , esto puede deberse a características histológicas y de hábitat de las plantas. El mejor disolvente para la preparación de tinturas y extractos de las tres especies fue el etanol al 50%, que extrajo la mayor cantidad de sólidos; esto se debe a que en esta concentración se

pueden extraer componentes de diferentes polaridades por contener partes equivalentes de etanol y agua.

Las características organolépticas de los productos intermedios tinturas y extractos determinaron si estos podían ser usados para la elaboración de formas farmacéuticas como producto terminado.

En el caso de las tinturas 1:10 (1 g / 10 mL) y 1:5 (1 g / 5 mL) de las especies en estudio, todas mantuvieron sus características organolépticas y fisicoquímicas estables, pudiendo ser utilizadas para la elaboración de formas farmacéuticas, como elixires, jarabes, soluciones para enjuague, lociones y especialmente formas farmacéuticas tópicas, debido al característico sabor amargo de las especies.

Con respecto al análisis organoléptico y fisicoquímico de los extractos de las especies en estudio, se determinó que la concentración de extracto fluido 1:1 (1 g / 1 mL) es la que mejor mantiene sus características, pudiendo ser utilizados para la elaboración de formas farmacéuticas, como elixires, jarabes, soluciones para enjuague, y especialmente formas farmacéuticas tópicas, por el característico sabor amargo de las especies.

Los extractos 2:1 (2 g / 1 mL) de *N. lobata* y *C. pyramidata* formaron dos fases, una líquida y una semisólida, se consideran un producto intermedio inapropiado para la elaboración de formas farmacéuticas más elaboradas, por lo tanto fueron descartados. El extracto 2:1 de *P. jacquemontianum* posee características aceptables como producto intermedio; sin embargo, es necesario realizar pruebas de estabilidad cuando este se utilice como componente en cualquier forma farmacéutica, por tendencia a precipitar en relación al tiempo de almacenamiento.

Los extractos 3:1 (3 g / 1 mL) no son adecuados para utilizarlos como producto intermedio, por su consistencia viscosa, es por esta razón que el extracto 3:1 fue llevado a sequedad en la desecadora hasta obtener extractos secos.

El extracto seco de *N. lobata* posee características favorables para la elaboración de cápsulas, es fácilmente pulverizable; sin embargo, el porcentaje de rendimiento es bajo (14.64%) y debido a las propiedades higroscópicas del extracto, el tiempo de secado es largo (aproximadamente 6 meses) y la estabilidad es corta.

El extracto seco de *P. jacquemontianum* posee características poco favorables para la elaboración de cápsulas, debido a que el pulverizado es grumoso y altamente higroscópico, el porcentaje de rendimiento es bajo (5.15%) y por las propiedades higroscópicas del extracto, el tiempo de secado es largo (aproximadamente 7 meses). Se observó que después de un mes fuera de la desecadora el extracto absorbió casi la totalidad de la humedad perdida en 7 meses; por lo tanto, no se recomienda ser utilizado como producto intermedio en la elaboración de formas farmacéuticas.

El extracto seco de *C. pyramidata* posee características favorables para la elaboración de cápsulas, es fácilmente pulverizable; sin embargo el porcentaje de rendimiento es bajo (15.15%) y debido a las propiedades higroscópicas del extracto, el tiempo de secado es largo (aproximadamente 6 meses) y la estabilidad es corta.

Todos los productos intermedios (tinturas y extractos) cumplieron con las especificaciones de calidad sanitaria para productos fitofarmacéuticos (coliformes totales 100 NMP/g; coliformes fecales y *E. coli* >3 NMP/g; mohos, levaduras y bacterias mesófilas 1×10^3 UFC).

Como parte del control de la calidad de los productos intermedios (extractos y tinturas) de las especies en estudio se realizó un tamizaje fitoquímico, con el fin de confirmar que las tinturas y extractos conservaran los metabolitos secundarios responsables de la acción farmacológica de cada especie.

Para las tinturas y extractos de *N. lobata* se identificaron metabolitos secundarios como flavonoides (coloración amarilla, RF 0.89, 0.9); antraquinonas (coloraciones café y rojo, RF 0.80, 0.83, 0.90, 0.91, 0.93); compuestos fenólicos y principios amargos (coloraciones rojiza, azul - violeta, verdosa RF 0.14, 0.17, 0.21, 0.24, 0.27, 0.29, 0.5, 0.55).

Para las tinturas y extractos de *P. jacquemontianum* se identificaron metabolitos secundarios como alcaloides (coloración azul-violeta, RF 0.56, 0.57, 0.62, 0.64, 0.78, 0.8, 0.89, 0.9); saponinas (coloración azul-violeta, RF 0.05, 0.06); flavonoides (coloraciones amarillas, verdes y azules, RF 0.05, 0.22, 0.37, 0.5, 0.70); antraquinonas (coloraciones café, rojo y amarillo claro, RF 0.37, 0.38, 0.76,

0.8, 0.81, 0.84); cumarinas (fluorescencia violeta, RF 0.16, 0.24, 0.25, 0.26, 0.29, 0.3, 0.4, 0.42, 0.49, 0.5); aceites volátiles (fluorescencia a 254 nm, RF 0.06, 0.17, 0.22, 0.37, 0.41); compuestos fenólicos y principios amargos (coloraciones azul - violeta, violeta – rojiza, RF 0.14, 0.20-0.21, 0.27, 0.31-0.33, 0.40, 0.55-0.56 0.87, 0.89).

Para las tinturas y extractos de *C. pyramidata* se identificaron metabolitos secundarios como flavonoides (coloraciones verde, café, azul, azul verdoso, RF 0.6, 0.35, 0.56, 0.67, 0.72); antraquinonas (coloración rojiza, amarillo naranja, RF 0.27, 0.93); y principios amargos (coloraciones azul - violeta, violeta – rojiza, RF 0.1, 0.9, 0.18, 0.21, 0.24, 0.27, 0.29, 0.36, 0.94)

Los resultados obtenidos son la base para el análisis de materia prima, tinturas y extractos de las especies estudiadas; sin embargo, es necesario validar la metodología y estandarizar los resultados.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Las tres especies en estudio cumplieron con los parámetros botánicos de identidad.
- 10.2 Las tres especies en estudio cumplieron con los parámetros organolépticos y fisicoquímicos para la droga vegetal.
- 10.3 El disolvente que extrajo la mayor cantidad de sólidos en las especies en estudio fue el etanol al 50%.
- 10.4 Las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de las tinturas, se consideran aceptadas por no existir antecedentes de los mismos y cumplir con los parámetros establecidos por las normas de calidad.
- 10.5 En las tres especies, la concentración de extracto que mejor mantiene sus características es el extracto fluido 1:1, por lo que puede ser utilizado para la elaboración de formas farmacéuticas.
- 10.6 Los extractos 2:1 (2 g / 1 mL) de *N. lobata* y *C. pyramidata*, no son un producto intermedio apropiado para la elaboración de formas farmacéuticas más elaboradas, debido a que presentan formación de dos fases.
- 10.7 Los extractos secos de *N. lobata* y *C. pyramidata*, poseen características favorables para la elaboración de cápsulas; sin embargo el % de rendimiento es bajo (14.64% y 15.15%) y el tiempo de secado es largo (aproximadamente 6 meses).
- 10.8 El extracto seco de *P. jacquemontianum* posee características poco favorables para la elaboración de cápsulas, el % de rendimiento es bajo (5.15%) y el tiempo de secado es largo (aproximadamente 7 meses).
- 10.9 Los productos intermedios (tinturas y extractos) conservaron los metabolitos secundarios a los que se les atribuye la actividad terapéutica.
- 10.10 En las tinturas y extractos de *N. lobata* se identificaron compuestos fenólicos, flavonoides, antraquinonas y principios amargos.

- 10.11 En las tinturas y extractos de *P. jacquemontianum* se identificaron alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos, flavonoides, antraquinonas, cumarinas, aceites volátiles y principios amargos.
- 10.12 En las tinturas y extractos de *C. pyramidata* se identificaron flavonoides, antraquinonas, cumarinas y principios amargos.
- 10.13 Todos los productos intermedios (tinturas y extractos) cumplieron con las especificaciones de calidad sanitaria para productos fitofarmacéuticos.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1 Realizar a los extractos y tinturas estudios de estabilidad acelerada y on going (periódica) para determinar cual es el más estable.
- 11.2 Realizar estudios de actividad biológica del producto intermedio (extractos y tinturas).
- 11.3 Estandarizar los extractos de las especies en estudio con el fin de asegurar la reproducibilidad de los lotes.
- 11.4 Realizar con los productos intermedios de las especies estudiadas, formas farmacéuticas tópicas debido al sabor amargo de las mismas.
- 11.5 Realizar este tipo de estudios con otras especies guatemaltecas para brindar información sobre las características propias de materia prima, tinturas y extractos.

12. REFERENCIAS

1. Sauvain, M. 1994. *Neurolaena lobata*. Instituto Boliviano de Biología de Altura. La Paz, Bolivia. Informe TRAMIL.
2. Nash, D.L. y Williams, L.O. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana Botany. 24(12): 272.
3. Cáceres, A. 1996. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Primera edición. Guatemala. Editorial Universitaria. 18-19, 363-364 p.
4. Ocampo, RA. 1990. Seminario TRAMIL 5. ENDA CARIBE. 44 p.
5. Folleto Informativo sobre algunas Plantas Medicinales comúnmente utilizadas por la población Garifuna de Livingston. 1995. TRAMIL. Investigación Aplicada y difusión del uso de plantas Medicinales en el Caribe. Mano de Lagarto. 31 p.
6. Girón, L.M. *et al.* 1991. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. J. Ethnopharmacol. 34: 173-187.
7. Duke, J.A. 1986. Isthmian Ethnobotanical Dictionary. Scientific Publishers. 134 p.
8. Morton, J.F. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield. Charles C. Thomas Publisher. 123, 949 p.
9. Asprey, G.F., y Thornton, P. 1955. Medicinal plants of Jamaica. West Indian Med. 4: 69-82.
10. Borges del Castillo, J. 1982. Panamá Flora. New sesquiterpene latones from *Neurolaena lobata*. J. Nat. Prod. 45(6): 762-765.
11. Manchand, P.S., y Blount, J.F. 1978. Stererostructure of neurolenins A and B novel germacranolide sesquiterpenes from *Neurolaena lobata*. J. Org. Chem. 43(22): 452-454.
12. Kerr, K.M., Mabry, T.J. y Yoser, S. 1981. 6-Hydroxy and 6 methoxyflavonoids from *Neurolaena lobata* and *N. macrocephala*. Phytochem. 20(4): 791-794.
13. Bohlman, F., Natu Arvid, A. y Kerr, K. 1979. Naturally occurring terpene derivatives. Part 185. Thymol derivatives from *Neurolaena* species. Phytochemistry. 18(3). 489-490.

14. Joly, L.G., *et al.* 1987. Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymí indians in western Panamá. Part I. *Ethnopharmacol* 20(2): 145-171.
15. Barrientos, A. 1996. Evaluación de la actividad antitripanosoma de fracciones cromatográficas gruesas obtenidas a partir del extracto etanólico de *Neurolaena lobata* (Tres puntas). Guatemala. 26p. Tesis Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
16. De León, M. 1995. Inhibición de bacterias patógenas por siete plantas nativas del departamento de Alta Verapaz para el tratamiento de infecciones. Guatemala. 47 p. Tesis Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
17. Barahona, J. 1995. Evaluación de la actividad tripanostática *in vivo* de tres especies vegetales de la familia *Asteraceae* de uso común en el tratamiento de protozoarisis en Guatemala. Guatemala. 33 p. Tesis Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
18. Berger, I., Barrientos, A.C., Cáceres, A., Hernández, M., Rastrelli, L., Passreiter, C.M. y Kubelka, W. 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. II. Activity of extracts against *Trypanosoma cruzi*. *J. Ethnopharmacol.* 62: 107-115.
19. Cáceres, A., López, B., González, S., Berger, I., Tada, I., Maki, I. 1998. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants, *Journal of Ethnopharmacology.* 62 (3): 195-202.
20. Rodas, S. 1996. Caracterización Farmacológica de cuatro poblaciones naturales de *Neurolaena lobata* L. (Tres Puntas), evaluadas "in situ", y en dos localidades "ex situ", con el propósito de su domesticación. Guatemala. 14 p. Tesis Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.

21. Anderson, C. 1996. Evaluación de la Toxicidad Subaguda de *Neurolaena lobata* (L.) R. Br (Tres puntas) y *Simarouba glauca* (Aceituno) Guatemala. Guatemala. Tesis Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.
22. Berger, W. 1971. Flora Costaricensis. Fieldiana, Botany. Vol 35. 146 p.
23. Tebbs, M.C. 1993. Revision of *Piper* (Piperaceae) in the New World 3. The taxonomy of *Piper* sections *Lepianthes* and *Radula*. Bulletin of the Natural History Museum. London (Botany). 23(1): 42-44.
24. Standley, P. 1952. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 24(3): 284-285, 432.
25. Martínez, M. 1979. Catalogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. 1era Edición. Fondo de Cultura Económica. México. 512-1053 p.
26. Stevens, W.D. et. al. 2001. Flora de Nicaragua. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. Vol 85. Disponible en: <http://mobot.mobot.org/W3T/Search/Nicaragua/projsf1nic.html>
27. Martínez, M. 1992. Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas. México. p 401
28. Cleaves, C. 2001. Etnobotánica Médica participativa en siete comunidades de la zona de influencia del parque Nacional Laguna Lachúa, Cobán, Alta Verapaz, Guatemala. 177-178 p. Tesis Biología. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Biología.
29. Solís, G. 2003. Actividad Biocida de cuatro plantas de uso medicinal en el parque Nacional Laguna de Lachúa. Guatemala. 36 p. Tesis Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
30. Cruz, S. 2005. Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de Piperaceae. Guatemala. 43 p. Tesis Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de Plantas Medicinales. MUPLAM. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y Facultad de Agronomía.

31. Calderón, A. I. *et al.* 2006. Screening of Latin American Plants for Cytotoxic Activity. *Pharmaceutical Biology*. 44(2):130-140.
32. Standley, P.C. y L.O. Williams. 1970. Flora de Guatemala. USA. Fieldiana Botany. Parte 24. Volumen 9. 196-198 p.
33. Comerford, S.C. 1996. Medicinal plants of two mayan healers from San Andrés, Petén, Guatemala. *Econ Bot* 50(3): 327-336.
34. De Mena, M.G. 1994. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora Salvadoreña. Segunda Edición. Editorial Universitaria. 516-517 p.
35. Molina, R. 2005. Determinación de la actividad biocida del extracto etanólico y sus particiones (Hexánica, clorofórmica, acetato de etilo y acuosa) de hojas de *Cornutia pyramidata* L. (Jorobté). Guatemala. 48 p. Tesis Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.
36. Martínez, J.V., Bernal, H. Y. y Cáceres, A. 2000. Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. Editado por Martínez, Bernal y Cáceres. Santa Fe de Bogota. D.C. Convenio Andrés Bello (CAB) y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED. 48-54. 61,62 p.
37. Logan. 1973. Digestive disorders and plant medicinals in Highland Guatemala. *Anthropos*. 68:537-547 p.
38. Girón L.M. Martínez V. 2001. Buenas Prácticas de Agricultura en el cultivo cosecha y post cosecha de plantas medicinales. Manual para el funcionamiento de formulario de plantas medicinales Conalamed. Guatemala. 6-10 p.
39. Sharapin, N. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santa Fe de Bogota. D.C. Convenio Andrés Bello (CAB) y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED. 22-47, 61-70, 149-150 p.
40. Logan, M. 1993. Digestive disorders and plant medicinals in Highland Guatemala. *Anthropos*. 68:537-547.

41. Solís, P. Guerrero, N. Gattuso, M. y Cáceres, A. 2003 Manual de Caracterización y Análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos. Proyecto Desarrollo de Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterápicos. OEA/AICD/AE089/03. 16, 43, 63, 68, 84 – 88 p.
42. World Health Organization. WHO. 1998. Quality control methods for medicinal plant material. Geneva. 8,9,11,28,33 p.
43. World Health Organization. WHO. 2000. Quality control methods for medicinal plant material. Geneva. 9, 115-118, 88 p.
44. The United States Pharmacopeia. 2005. USP 28. The National Formulary. NF23. 2339, 2708 p.
45. Díaz, R., Gamazo, C., López, I. 1995. Manual Práctico de Microbiología. Editorial Masson, S.A. 47-50, 72-78, 139-146 p.
46. Quality Control Methods For Medicinal Plant Materials– World Health Organization. WHO/PHARM/92.559. 53-60 p.
47. Manual del Fabricante Hanna Instruments. pH Meter 211.
48. Wagner, H., Bladt, S. y Zgainski, E. 1984. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. 225-226, 320 p.
49. Medinilla, B. 2001. Manual de Laboratorio de Fitoquímica. Universidad de San Carlos de Guatemala. 3-26 p.
50. Sherma, J. y Fried, B. 2003. Handbook of Thin Layer Chromatography. Third Edition. New York. Marcel Dekker inc. Revised and Expanded. Chromatographic Science series. Vol 89. 700-701, 723 p.
51. Trópicos. 2006. Nomenclatural Data Base. Missouri Botanical Garden. *Piper jacquemontianum* Kunth. Disponible en: http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast.

10. ANEXOS

10.1 Clasificación botánica *N. lobata*

Reino: Vegetal
Subreino: Embriobionta
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridaceae
Familia: Asteraceae
Genero: *Neurolaena*
Especie: *lobata* (L.) R.Br.¹



Neurolaena lobata



Muestra de herbario *Neurolaena lobata*



Determinación de humedad *Neurolaena lobata*



Tinturas *Neurolaena lobata*



Sólidos totales *Neurolaena lobata*

10.2 Clasificación botánica de *P. jacquemontianum*

- Reino: Vegetal
- Subreino: Embriobionta
- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Subclase: Pilenidae
- Orden: Piperales
- Familia: Piperaceae
- Genero: *Piper*
- Especie: *jacquemontianum*⁵²



Piper jacquemontianum



Determinación de humedad *Piper jacquemontianum*



Tinturas *Piper jacquemontianum*



Sólidos tinturas *Piper jacquemontianum*



Extracto *Piper jacquemontianum*



Sólidos *Piper jacquemontianum*

10.3 Clasificación Botánica de *C. pyramidata*

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida (Dicotiledónea)

Subclase VI: Asteridae

Orden III: Labiales

Familia: Verbenaceae

Genero: *Cornutia*

Especie: *pyramidata* L.⁵³



Cornutia pyramidata



Muestra de herbario *Cornutia pyramidata*



Tinturas *Cornutia pyramidata*



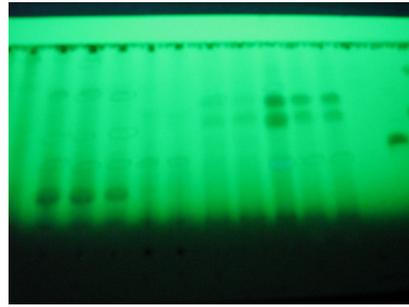
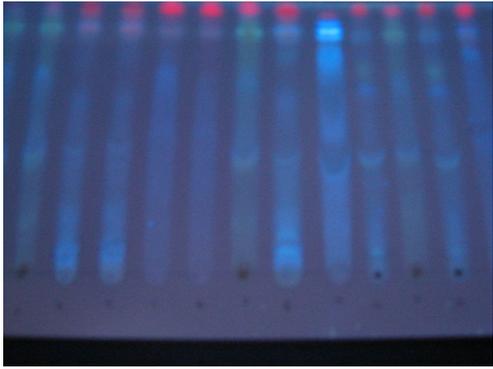
Extractos *Cornutia pyramidata*



Sólidos *Cornutia pyramidata*



Análisis microbiológico



Cromatografia capa fina

Ixmucané Menéndez Aquino
Autora

Lcda. Virna Rivas
Asesora

Lic. Armando Cáceres
Co-asesor

Lcda. Sully Cruz
Revisora

Lcda. Lillian Irving Antillón, M.A.
Directora