

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a figure on horseback, a crown above, and two lions on either side. The shield is flanked by two columns. The Latin motto "CETERAS SCRIBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" is inscribed around the perimeter of the seal.

**ESTABLECIMIENTO DE CARACTERES FARMACOBOTÁNICOS PARA EL
CONTROL DE CALIDAD DE 3 ESPECIES DE PLANTAS MEDICINALES DE
USO POPULAR EN GUATEMALA**

**BONIER MINELI GARRIDO DE LEÓN
SINDY CARINA POLANCO POSADAS**

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2012

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

**ESTABLECIMIENTO DE CARACTERES FARMACOBOTÁNICOS PARA EL
CONTROL DE CALIDAD DE 3 ESPECIES DE PLANTAS MEDICINALES DE
USO POPULAR EN GUATEMALA**

SEMINARIO DE TESIS

PRESENTADO POR

**BONIER MINELI GARRIDO DE LEÓN
SINDY CARINA POLANCO POSADAS**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICAS BIÓLOGAS**

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2012

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Manuel Cóbar Pinto, Ph. D

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.

Secretario

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal I

Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares

Vocal II

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

Vocal III

Br. Fausto René Beber García

Vocal IV

Br. Carlos Francisco Porras López

Vocal V

DEDICATORIA

A Nuestro Padre Celestial y a Jesucristo

Por permitirnos alcanzar esta meta, haber sido el apoyo más grande en nuestras vidas y acompañarnos en todo momento.

A Nuestros Padres

José Elías Garrido y Aura Marina de León

Elmar Polanco y María Isabel Posadas

Por habernos brindado siempre su apoyo incondicional, haber sido nuestra guía y habernos brindado su amor.

A Nuestros Hermanos

Por su amor fraternal y su compañía a lo largo de este camino.

A Nuestros Amigos

Por ser más que amigos casi hermanos y formar una parte importante en nuestras vidas.

A Mi Compañera de Seminario

Por apoyarme e incentivar-me a seguir y por no perder la fe aunque el camino haya sido difícil.

AGRADECIMIENTOS

A nuestra asesora MSc. Licda. María Eugenia Paredes por todo el apoyo brindado en la realización de este trabajo y por sus valiosas sugerencias.

A nuestra revisora Licda. Isabel Gaitán y a todo el equipo del Laboratorio de Bioensayos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por su valiosa colaboración a lo largo de la fase experimental de este trabajo, por todo su apoyo y consejos.

Al Ingeniero Agrónomo Vicente Martínez y a todo el equipo del Laboratorio de Ecología de la Facultad de Agronomía por permitirnos realizar parte de la fase experimental en sus instalaciones.

A la Licda. Natalia Granados por ayudarnos a perfeccionar la técnica de los cortes a mano alzada y por todos sus consejos.

Al Laboratorio de Investigación de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por permitirnos realizar una parte de la fase experimental en sus instalaciones.

A María Elena Chicas, Sonia Castellanos y Johany Ramírez porque cada una estuvo presente en una parte importante del presente trabajo y sin su ayuda no hubiéramos podido completarlo.

Y a todas y cada una de las personas que de alguna u otra forma estuvieron con nosotras a lo largo de este camino y colaboraron a que este trabajo llegara a término.

INDICE

	Página
1. Resumen	1
2. Ámbito de la Investigación	3
3. Antecedentes	4
3.1. Plantas medicinales	4
3.2. Fenología	5
3.3. Fitoterapia	6
3.4. Control de calidad para las plantas de uso medicinal	8
3.4.1. Calidad de las drogas crudas	11
3.4.2. Selección de Plantas medicinales	19
3.4.3. Recolección	19
3.4.4. Procesado primario	20
3.4.5. Secado	21
3.5. Determinación de metabolitos secundarios	21
3.6. Determinación de aceites esenciales	33
3.7. Material vegetal en estudio	35
3.7.1. Apacín	35
3.7.2. Orégano	43
3.7.3. Pericón	48
4. Justificación	55
5. Objetivos	56
6. Materiales y Métodos	57
7. Resultados	79
7.1. <i>Petiveria alliacea</i>	79
7.2. <i>Lippia graveolens</i>	91
7.3. <i>Tagetes lucida</i>	100
8. Discusión de Resultados	117
9. Conclusiones	131
10. Recomendaciones	132
11. Referencias Bibliográficas	133

1. RESUMEN

Por generaciones completas las plantas se han utilizado para el tratamiento popular de todo tipo de afecciones, considerándose recientemente a esta práctica un tipo moderno y eficaz de medicina, como una alternativa bastante popular para la medicina tradicional que está fuera del alcance de muchas personas, sobre todo en países como el nuestro.

La presente investigación fue realizada en materia vegetal de *Petiveria alliacea* (hojas y raíz), *Lippia graveolens* (hojas), *Tagetes lucida* (hojas y tallos) en etapas fenológicas de follaje y floración.

A partir del material vegetal, se determinaron las características macroscópicas, mediante la elaboración de ejemplares botánicos de cada una de las especies evaluadas. Características organolépticas que se determinaron a través de la observación de la droga cruda.

Las características microanatómicas e histoquímicas se determinaron por medio de tinciones como la de dragendorff (alcaloides), lugol (almidón), safranina (estructura vegetal) y sulfato férrico (taninos), las cuales se llevaron a cabo en tejido vegetal lo cual permitió demostrar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios. Los ensayos microquímicos realizados en los extractos sólidos y sobre todo la cromatografía en capa fina que es la prueba confirmatoria en estas determinaciones que caracterizan a la droga cruda. Los metabolitos determinados a través de tinciones en tejido fueron alcaloides, almidón, mucílagos, saponinas y taninos.

En el tamizaje fitoquímico realizado a través de cromatografía de capa fina se observó la presencia o ausencia de alcaloides, flavonoides y saponinas; los taninos fueron determinados a través de pruebas realizadas en extracto vegetal.

En cuanto a los parámetros de pureza se verificó que el valor de humedad de todas las drogas crudas evaluadas se encuentran por debajo del 10% establecido por la OMS como límite máximo permitido.

Por otro lado, para cenizas totales se llevaron a cabo tres repeticiones de las cuales se obtuvo un promedio. Observándose en los resultados obtenidos, que *Lippia graveolens* tuvo 12.01%; *Petiveria alliacea*, la hoja 16.42% y la raíz 11.83%; *Tagetes lucida* en la etapa de follaje 10.58% y *Tagetes lucida* en la etapa de floración 8.62%.

En lo que a los aceites esenciales respecta, se le realizaron tres repeticiones de los cuales se obtuvo un promedio. De estos resultados, se puede observar que *Lippia graveolens* presentó 1.45%; la hoja de *Petiveria alliacea* 0.68%; *Tagetes lucida* en la etapa de follaje 0.75% y *Tagetes lucida* en la etapa de floración 0.84%. Siendo *Lippia graveolens* la planta con mayor contenido de aceites esenciales respecto a las otras plantas estudiadas. Así mismo, de las dos etapas fenológicas de *Tagetes lucida*, la de mayor rendimiento en cuanto a los aceites esenciales fue la etapa de floración.

Para plasmar las características distintivas de cada especie se realizaron cartillas micrográficas que contienen información acerca de tricomas, estomas y disposición de tejidos dentro de las especies evaluadas.

Las características antes mencionadas evaluadas en cada una de las especies de plantas aromáticas estudiadas, puede ayudar a la elaboración de monografías de control de calidad, para garantizar la correcta identificación y sustento de los efectos medicinales atribuidos a la droga seca evaluada.

2. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Las plantas se han utilizado como medicinas desde tiempos antiguos; en las últimas décadas su uso ha dejado de ser puramente tradicional para convertirse en una elección terapéutica con mucho auge.

Por lo tanto, el control de calidad riguroso de la materia medica vegetal, se hace vital para que esta desempeñe el papel de medicamento.

Una buena identificación Farmacobotánica del espécimen a utilizar, así como la aplicación de Buenas Prácticas de Agricultura, son instrumentos importantes para asegurar la inocuidad y la calidad de diversos productos, sobre todo los de tipo alimentario o farmacéutico (OMS, 2003).

Desde el año 2005, el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, ha venido recabando información importante para el conocimiento de las plantas medicinales, lo que contribuye a la validación del uso popular de las mismas. Por lo que el presente proyecto forma parte de una serie de proyectos individuales que, siguen la línea de Investigación farmacobotánica de las plantas de uso medicinal en Guatemala, cuyo fin principal es la ampliación de la base de datos relacionada a las mismas.

Este estudio surge de la necesidad de implementar las bases del control de calidad en la materia médica vegetal en un país como el nuestro que ha utilizado a las plantas como medicina desde el inicio mismo de la cultura.

3. ANTECEDENTES

3.1 Plantas Medicinales

Desde los tiempos más remotos, todas las sociedades han recurrido a las plantas medicinales como fuente de medicamentos. Según lo reportado por la Organización Mundial de la Salud desde 1993, el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para atender sus necesidades primarias de asistencia médica (Acosta, 2001).

Muchas plantas medicinales están hoy amenazadas de extinción o de graves pérdidas genéticas, pero no se dispone de información detallada al respecto. En el caso de la mayor parte de las especies de plantas medicinales no se ha adoptado ninguna medida de conservación. En la mayor parte de los países ni siquiera se ha hecho un inventario completo de plantas medicinales. Casi todo lo que se sabe sobre el empleo de éstas, está en manos de las sociedades tradicionales, cuya propia existencia se ve actualmente amenazada (Acosta, 2002).

Los aborígenes de Guatemala conocían muchos remedios para tratar enfermedades y dolencias. Entre los Q'eqchi's, Kaqchiqueles y Tzutuhiles había "médicos que transmitían sus conocimientos de padre a hijo. Estos "médicos" eran herbolarios y curanderos capaces de hacer curaciones. Los mayas sabían usar hojas, flores, frutos y raíces de numerosas plantas medicinales, en forma de infusiones, brebajes etc. Conocían propiedades de distintos vegetales que empleaban como purgantes o sedantes, calmantes, otros para bajar la fiebre, entre otros (Ximénes, 1967).

Sin embargo la flora guatemalteca es sumamente rica, pues posee diversas plantas medicinales, muchas de estas, todavía no se han estudiado científicamente (Ximénes, 1967).

3.1.1 Plantas Aromáticas

Desde hace mucho tiempo el hombre ha utilizado plantas aromáticas para aliviar algunas de las dolencias que lo aquejaban y para aromatizar los sitios de sus rituales o los lugares donde moraba. Desde entonces, su memoria se enriqueció con sabores y olores, que fueron formando parte de su cultura e idiosincrasia. Desde los antiguos egipcios en 2,300 a.C., que utilizaban tomillo, hasta los grandes conquistadores que narraban de olores y esencias como la pimienta, canela o cacao, se tienen nociones sobre plantas aromáticas y su uso. Se estima que hay unas 25,000 plantas aromáticas de las cuales solo el 10% se conoce su composición química (Dey & Harbone, 2002).

Generalmente todos los vegetales, como producto de su metabolismo secundario normal, son capaces de biosintetizar un elevado número de compuesto aromáticos, algunos de los cuales son indispensables para sus funciones fisiológicas y otros son de utilidad para defenderse ante situaciones de estrés (hídrico, luminoso, etc.) (Dey & Harbone, 2002).

Existen muchas especies vegetales con propiedades aromáticas, desde plantas superiores, hasta algas o líquenes. Algunas familias botánicas como las *Pináceas*, *Verbenáceas*, *Mirtáceas*, *Lamiáceas*, *Rutáceas*, *Lauráceas*, *Piperáceas*, *Apiáceas* y *Asteráceas* son fuente de productos aromáticos (Villalpando & Ruiz, 1993).

3.2 Fenología

Es el estudio de los cambios visibles de los procesos vitales básicos que se producen en un vegetal, en el transcurso de un ciclo o período, que abarcan la foliación, floración, fructificación, colorido otoñal del follaje y su caída con la consecuente exhibición de la estructura de tronco y ramas (Vanaclocha, 2007).

3.2.1 Etapas Fenológicas

En el proceso de desarrollo, desde la germinación de las semillas hasta la formación de las nuevas semillas, las plantas muestran varios cambios visibles externos, que son resultado de las condiciones ambientales. Estos cambios externos son denominados fases fenológicas (o etapas fenológicas) del desarrollo de la planta y las observaciones que de ellos se hace se denominan observaciones fenológicas (Vanaclocha, 2007).

Los eventos comúnmente observados en cultivos agrícolas y hortícolas son siembra, germinación, follaje, floración (primera, completa y última) y cosecha (Vanaclocha, 2007).

3.3 Fitoterapia

La fitoterapia o “terapia con plantas”, se define como la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico. A su vez, es una intervención para mejorar la salud aplicando el uso terapéutico de material de origen vegetal, independientemente de su potencia farmacológica y su toxicidad, extrayendo drogas o principios activos aislados de las mismas (Moreno, 2007; Cáceres A. 2006; Publica, 2001).

Según la presentación que posea, los productos que se obtengan pueden encontrarse catalogados desde fitoalimentos hasta fitofármacos, entendiéndose al último un aumento medicamento (Publica, 2001).

Los productos fitoterapéuticos, son productos derivados de plantas y / o sus mezclas en forma de extractos, liofilizados, destilados, tinturas, cocimientos o cualquier preparación galénica que tienen utilidad terapéutica y una forma farmacéutica definida. Dicha definición es emitida por la Normativa 24 – 2001 por la Jefatura del Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines (Paredes, 2005).

3.3.1 Fitoterapia en Guatemala

En Guatemala, tanto la geografía, el clima como la cultura, permiten que exista una enorme diversidad genética y riqueza de conocimientos etnobotánicos, que permiten el planteamiento de acciones de revalidación de las prácticas tradicionales e introducir nuevos enfoques en la producción, desarrollo y atención de la salud con alternativas terapéuticas (Cáceres, 1996).

Guatemala goza de una larga tradición en la producción y utilización de plantas medicinales, ya que la cosmovisión indígena valora grandemente las formas naturales de explicar y atender las enfermedades. Sin embargo, esta creencia popular no coincide con los sistemas terapéuticos prevalecientes. Se hace referencia a las 120 plantas medicinales de más amplio uso, de las cuales aproximadamente el 50 por ciento son nativas (Paredes, 2005; Lane, 1999).

En 1993 de Guatemala se exportaban varias presentaciones de 14 especies de plantas medicinales a diferentes mercados. Una de ellas eran las especies del género *Smilax* spp., que en su totalidad provienen de la extracción en bosques naturales, en tanto que el resto son cultivadas (Paredes, 2005).

Guatemala ha sido proveedor de materia prima, pero no hay mucha información sobre el estado actual de la industrialización de plantas medicinales en el país (Cáceres, 1996).

Dos términos que deberán manejarse, son los siguientes:

3.3.1.1 Farmacognosia

El estudio de los medicamentos que se obtienen de fuentes naturales, vegetales y animales. Esta ciencia se inicialmente materia medica y se ocupa del origen botánico y zoológico, la composición bioquímica y los efectos terapéuticos de los fármacos naturales, sus derivados y constituyentes (Katzung, 2005).

3.3.1.2 Farmacobotánica

Rama de la farmacología, que se encarga de la caracterización botánica y química de especies vegetales medicinales. Incluye el análisis macroscópico, microscópico y el tamizaje fitoquímico de las plantas en estudio (Katzung, 2005)

3.4 Control de calidad para las plantas de uso medicinal

La terapéutica utilizando plantas con actividad medicinal, ha cobrado auge enormemente y países industrializados han mostrado interés en la flora nacional debido a la riqueza y diversidad existente (Paredes, 2005).

Pero sobre todo ha mostrado un aumento en su uso hasta ser incluida en los programas de salud sobre todo en países como en nuestro, en desarrollo (Katzung, 2005).

De ahí que parta la necesidad de garantizar la calidad de las plantas utilizadas para estos fines (Cáceres, 1996).

Por lo tanto es de suma importancia que se creen pautas internacionales, destinadas a para asegurar la calidad de las plantas medicinales, usando técnicas modernas y aplicando métodos adecuados. Esto es principalmente importante si se considera la posibilidad de la exportación como materia medicinal, debido a que solo se puede exportar aquellas plantas de las que exista suficiente conocimiento agrotecnológico y que puedan ser manejadas y cultivadas, de forma que se proteja la riqueza natural, y que a su vez cumpla con las normas de garantía de calidad que dictan organizaciones internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA'S), las cuales tienen como objetivos generales proteger al consumidor, al otorgar garantía sobre la inocuidad de alimentos, frutas y hortalizas, fomentar la confianza de los mercados extranjeros en los productos, lograr el reconocimiento de protocolos y/o programas de inocuidad en los mercados objetivos, lograr la diferenciación de los productos cuyo origen sean fincas que aplican condiciones higiénicas en los procesos de producción para otorgar

garantía sobre la inocuidad de los productos ofertados (Salud, 2005; Lane, 1999; Katzung, 2005; Salud, Políticos y Regulación, 2005; Soler, 2009; de Cabrera, 2004)

Guatemala, ha buscado establecer un Sistema Nacional de Calidad, con el fin de cumplir con los requerimientos internacionales, a través de la implementación de la Ley del Sistema Nacional de Calidad (Cáceres, 1996).

Según la Legislación Nacional, el Acuerdo Gubernativo No 71299: (Artículo 7, numeral 7.32) indica que los “medicamentos homeopáticos son productos farmacéuticos que emplean micro dosis de extractos de plantas, minerales y animales” (Orozco, 2005).

Además el Artículo 8 indica que los productos Homeopáticos se reconocen como productos farmacéuticos (Orozco, 2005).

La regulación de los medicamentos de Medicina Alternativa y/o Medicina Complementaria Alternativa, está a cargo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social a través de la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud y el Departamento de Regulación y Control de productos Farmacéuticos y Afines, donde aparecen los requisitos para el registro sanitario de productos Homeopáticos, solicitados por el laboratorio Nacional de salud, entidad encargada de la vigilancia de la calidad de los productos de consumo humano que se comercializan en Guatemala (Guatemala, 2005).

Además el Sistema Nacional de Calidad, esta integrado por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR), la Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA), el Centro Nacional de Metrología (CENAME), la Comisión Nacional de Reglamentación Técnica (CRETEC) y el Centro de Información (CEINFORMA), que tienen a su cargo distintas funciones y objetivos entre los cuales están, promover la adopción de prácticas de gestión de la calidad, con el fin de fomentar la calidad de los bienes y servicios que se ofrecen en el mercado nacional e internacional; minimizar los obstáculos técnicos del comercio y establecer las bases para la adopción de los reglamentos técnicos, que tienen por objeto la

prevención y limitación de riesgos capaces de producir daños o perjuicios a personas, animales, vegetales o al medio ambiente (Perez, 2009).

El análisis y control de las drogas vegetales y derivados, especialmente productos extractivos, constituye uno de los pasos imprescindibles que debe efectuarse previamente a su utilización en un proceso de elaboración industrial o magistral de medicamentos (Bruneton, 1991).

El objetivo de garantizar un control de calidad estricto es asegurar su identidad, de garantizar su pureza, descubrir eventuales adulteraciones, falsificaciones o contaminaciones, de certificar su estado de conservación y de identificar y valorar su contenido en principios activos, los cuales son, en definitiva, los responsables de su acción farmacológica y los que le confieren valor terapéutico (Bruneton, 1991).

Hay dos partes importantes, que involucra el control de calidad de los Productos Naturales Medicinales

- Análisis de materia prima (droga cruda, material semiprocesado y los extractos)
- Producto terminado (Bruneton, 1991).

Por lo tanto deben de ser definidas cada una de las sustancias a utilizar:

Droga cruda: Son las drogas vegetales o animales que han recibido sólo el proceso de recolección y secado para estar en condiciones de ser almacenadas (Bruneton, 1991).

Droga vegetal: puede llegar a serlo un órgano o parte de un órgano de la planta: raíces, rizomas, bulbos, tubérculos, tallos, corteza, leño, hojas, flores, frutos, semillas.

- Varios órganos de la planta: sumidades, partes aéreas.
- Una planta completa (entera, fragmentada o cortada) como en el caso de algunas hierbas.
- Algas, hongos o líquenes.

Usualmente están secas, sin embargo también pueden estar en fresco (Bruneton, 1991).

3.4.1 Calidad de las drogas crudas

La calidad de las drogas crudas depende de numerosos factores que hacen variar el contenido de constituyentes lo que incide en la calidad del producto terminado. Por ello, la calidad del producto final no puede ser asegurada sin el uso de una droga cruda de buena calidad, independientemente de cuán especial es su proceso de manufactura (Bruneton, 1991).

Las drogas vegetales requieren el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura, donde la documentación de los tratamientos realizados a la planta medicinal, desde su lugar de origen hasta su manufactura, constituyen una obligación (Bruneton, 1991).

Para garantizar la calidad son esenciales prácticas adecuadas de cultivo, cosecha o colecta, secado, fragmentación y condiciones de almacenamiento. Ya que puede ocurrir que las drogas cumplan con las descripciones dadas en las Farmacopeas y no posean la calidad adecuada, debido al deterioro por una recolección, embarque o almacenamiento defectuoso, o la alteración debida a la edad. La desecación excesiva hace a las hojas muy frágiles y causa rotura de las mismas en el transporte (Bruneton, 1991).

Para asegurar la calidad de la materia prima natural, son importantes los siguientes parámetros:

3.4.1.1 Identificación

Es la evaluación de características organolépticas, macroscópicas y microscópicas, así como al perfil cromatográfico, reacciones de identificación y parámetros de pureza, entre los que se incluyen humedad, cenizas, constantes físicas, materia extraña, disolventes residuales, contaminación microbiana, metales pesados, residuos de pesticidas, aflatoxinas,

radiactividad, adulteraciones, valoración y contenido de principios activos o marcadores (Cáceres, 1996).

3.4.1.2 Descripción organoléptica

Se refiere a la evaluación del material vegetal por medio de los órganos de los sentidos, olor gusto, tacto, fractura y ocasionalmente el sonido o chasquido. Este análisis consiste en determinar las características del compuesto que aprecian nuestros sentidos: vista y olfato fundamentalmente (Letona, 2007; Gola, Negri, & Cappelletti, 1965).

3.4.1.3 Descripción macroscópica

Los materiales vegetales se describen de acuerdo a sus características organolépticas, macroscópicas y microscópicas, las que constituyen el primer paso para establecer la identidad y el grado de pureza de tales materiales, y deben ser llevados a cabo antes de cualquier otro ensayo (Bruneton, 1991).

La descripción botánica constituye el método de identificación primario tanto para las drogas crudas como para las plantas para tisanas y las drogas pulverizadas, lo que es tomado en cuenta por las farmacopeas de estándares de calidad al menos en caso de drogas vegetales organizadas (Bruneton, 1991; Fahn, 1982).

3.4.1.4 Descripción macroscópica de la materia médica

La valoración macroscópica del material vegetal se basa en la forma, el tamaño, el color y algunas características de la superficie y textura. Así mismo se considera la descripción de la hoja, del tallo, la raíz y las flores (Fahn, 1982).

3.4.1.4.1 Hojas

Las hojas son el órgano de crecimiento determinado y simetría muy variable en estructura y función, aunque suele mostrar especialización como órgano fotosintético. Su

estructura posee propiedades ópticas que determinan el comportamiento de la luz en su interior y la eficiencia con que esta es almacenada y utilizada. Las hojas típicas son estructuras laminares o aciculares que contienen sobre todo tejido fotosintetizador, situado siempre al alcance de la luz. En las hojas se produce la mayor parte de la transpiración, provocándose así la aspiración que arrastra agua y nutrientes inorgánicos desde las raíces. Secundariamente las hojas pueden modificarse para almacenar agua o para otros propósitos (Izco, 2004; Greulach & Adams, 1987)

A través de los estomas, que se pueden encontrar en el envés de las hojas y pueden abrirse y cerrarse, se regula el intercambio de gases y de agua. Con la ayuda de pelos o tricomas, puede reducirse aun más la pérdida hídrica (Izco, 2004).

Para la determinación de las plantas son muy importantes la forma de la hoja y su posición sobre el pedúnculo: verticilada, opuesta, cruzada, alterna. Los verticilos constan de cuatro hojas, pero también es muy frecuente que ese número sea mayor (Greulach & Adams, 1987).

El peciolo puede ser corto o largo, o puede que falte, en ese caso la hoja se denomina “hoja sentada”. Se pueden encontrar así mismo en el punto de inserción, pequeñas hojas que se denominan estipulas (Greulach & Adams, 1987; Fuller, 1974).

También es importante reconocer la nervación de las hojas. En las monocotiledóneas los nervios transcurren paralelos, mientras que en las dicotiledóneas los nervios paralelos o arqueados, son casi una rareza (Izco, 2004).

3.4.1.4.2 El tallo

Es el eje que sostiene las hojas, órganos de asimilación con forma aplanada para una absorción lumínica óptima, y les asegura mediante una filotaxis adecuada, una disposición favorable para captar la mayor radiación con el mínimo sombreamiento mutuo. El tallo es

además la vía de circulación entre raíces y hojas y almacena sustancias de reserva y agua (Fuller, 1974).

La estructura primaria, propia de aquellos tallos con menos de un año de vida, presenta epidermis, corteza, constituida por parénquima, vasos liberianos y leñosos agrupados en haces llamados liberoleñosos, médula o cilindro central constituido por parénquima. El lugar de inserción de la hoja en el tallo es el nudo, y la parte del tallo comprendida entre dos nudos sucesivos es el entrenudo o internodio (Fuller, 1974).

Las dos funciones básicas asociadas a los tallos son, la conducción y el soporte. El tejido vascular (xilema y floema) efectúan la función de conducción, el soporte lo realizan elementos celulares de pared secundaria, como fibras, traqueidas y miembros de los vasos (Izco, 2004; Greulach & Adams, 1987; Fuller, 1974).

El xilema moviliza agua y minerales desde la raíz hasta las hojas, las sustancias sintetizadas en las hojas son transportadas, vía floema, hasta los sitios de utilización. Mucho material de reserva se almacena en el parénquima de las raíces, semillas, frutos y algunos tallos (Flores, 1999).

3.4.1.4.3 Raíz

La raíz es el órgano generalmente subterráneo especializado en, fijación de la planta al substrato, absorción de agua y sustancias disueltas, transporte de agua y solutos a las partes aéreas, almacenaje y en algunas otras las raíces transportan dióxido de carbono (CO₂) para la fotosíntesis, ya que sus hojas usualmente carecen de estomas. Puede ser perdurable o morir cuando lo haga el resto de la planta (Flores, 1999). Se distinguen tipos según su forma:

3.4.1.4.3.1 Raíz Axonomorfa o Pivotante

Raíz principal de una planta formada directamente a continuación del extremo de la raíz o radícula del embrión; forma una raíz principal rígida, adelgazada desde la que nacen pequeñas ramas laterales (Flores, 1999).

3.4.1.4.3.2 Raíz fasciculada

Carecen de raíz principal y tienen muchas raíces semejantes dispuestas en forma de haz (Flores, 1999).

3.4.1.4.3.3 Raíz napiforme o columnar engrosada

Son aquellas raíces principales (axonomorfas) que se engrosan total o parcialmente por acumulación de sustancias de reservas. Consecuentemente, este tipo de raíces sólo se producen en dicotiledóneas (Fuller, 1974; Flores, 1999).

Deben describirse los rizomas, los cormos, bulbos, tubérculos, zarcillos y cladodios (Fuller, 1974).

3.4.1.4.4 Flores

La flor es un eje o tallo de crecimiento definido, con entrenudos muy cortos, en el que se insertan hojas modificadas, los antófilos u hojas florales. En la flor tienen lugar los pasos esenciales de la reproducción sexual que son la meiosis y la fecundación. Comúnmente las flores se encuentran en la axila de hojas. Algunas flores se encuentran en la axila de hojas vegetativas verdes o nomófilos. A veces la forma de las hojas se modifica, al pasar al estado floral, dando lugar a las brácteas o hipsófilos, generalmente coloridas (Greulach & Adams, 1987; Fuller, 1974).

La gran parte de las flores poseen cuatro conjuntos o ciclos de piezas florales (“pieza floral” se denomina a una hoja que ha sido modificada.) Los cuales son, la parte estéril, que

se encuentra en la parte exterior de la flor, que contiene los sépalos, generalmente verdes y con un aspecto rústico, similar a hojas. Estos en su conjunto se constituyen en el ciclo floral del cáliz, el cual encierra y protege a otras partes de la yema floral. Luego podemos encontrar los pétalos, los que colectivamente se unen formando el ciclo floral llamado corola. Su función es la de hacer resaltar a la flor dentro de la vegetación para así atraer a los agentes polinizadores como insectos u otros animales. Luego se encuentra la parte fértil, que está dentro de corola ahí encontramos los estambres, los cuales forman el ciclo floral llamado androceo. Los estambres están formados por filamentos que llevan en la punta una antera o teca dentro de la cual se producen los granos de polen, constituyendo los gametófitos masculinos. Es por ésta razón que el androceo es el órgano de reproducción masculino de la flor (Izco, 2004).

La parte más central de la flor es la formada por los carpelos, los cuales contienen los gametófitos femeninos. El conjunto de carpelos forma el ciclo llamado gineceo. Una flor puede poseer uno o más carpelos, los mismos pueden estar unidos o fusionados. Estos sufren, a su vez, una modificación en sentido vertical, constituyendo, el estigma, el estilo y el ovario (Greulach & Adams, 1987).

En caso de que las plantas presenten flor deben describirse lo más detalladamente posible estructuras como el tálamo o receptáculo, cáliz (sépalos), corola (pétalos), androceos (estambres), gineceos (pistilos), estilo, estigma, filamento, antera y tépalos, con el fin de proporcionar la mayor cantidad de información que permita la identificación de la planta (Bruneton, 1991; Fahn, 1982; Ocampo, 2007).

Debido a que estas características son subjetivas y a que los adulterantes pueden ser muy similares al material genuino, a menudo, es necesario avalar estos resultados mediante análisis microscópicos o físico-químicos (Bruneton, 1991).

3.4.1.5 Descripción microscópica

La observación microscópica se emplea para confirmar la identidad de la planta. La descripción incluye características de los diferentes tipos de tejidos, estomas y tricomas o fibras. La microscopia usando las esporas de licopodio como diluyente indicador, puede emplearse para propósitos cuantitativos (Cáceres, 1996).

3.4.1.5.1 Características microscópicas de drogas constituidas por hojas

Histológicamente la hoja está compuesta de tres sistemas de tejidos: dérmico, fundamental y vascular.

- **Epidermis:** se compone de células epidérmicas propiamente dichas, células oclusivas de los estomas, acompañadas o no de células subsidiarias, tricomas, etc. Los estomas son abundantes en las hojas y pueden ser animocíticos, paracíticos y diacíticos. Por lo general, hay una sola capa de células epidérmicas, pero la epidermis pluriestratificada se presenta con cierta frecuencia en hojas (Fores, 1998).
- **Mesófilo:** ocupa la parte media de la hoja y sus límites superior e inferior son la epidermis adaxial y abaxial respectivamente. Puede ser relativamente homogéneo o puede estar diferenciado en un parénquima en empalizada y un parénquima esponjoso. El parénquima en empalizada, está formado por células altas, alargadas en sentido transversal a la superficie de la hoja. El parénquima esponjoso, en cambio, consiste de células de variadas formas, frecuentemente irregulares. El parénquima en empalizada se localiza habitualmente en la cara superior o adaxial y el parénquima esponjoso en la cara inferior o abaxial (Fores, 1998).
- **Sistema vascular:** los haces vasculares más grandes, poseen traqueidas y vasos como elementos conductores. En los más pequeños los elementos de conducción son exclusivamente traqueidas con engrosamiento anular y helicado (Fores, 1998).
- **Tejidos de sostén:** como tejidos de sostén encontramos, la colénquima, en posición subepidérmica. Muchas hojas presentan esclereidas en el mesófilo. En algunas otras el

tejido que refuerza los numerosos haces vasculares son las fibras del esclerénquima (Fores, 1998).

Para la caracterización microscópica se necesitan de cortes del espécimen a evaluar, estos pueden ser a mano libre o con un micrótomo (Osasuna, 2005).

Se necesitan proceso de diafanizado o decoloración y de técnicas de coloración, la determinación del índice de estomas, que permite la caracterización de hojas por comparación con valores ya determinados. Determinación del índice de empalizada que es fundamental para el control de calidad de las hojas. Estos procesos, forman parte de la histoquímica que se le realiza al material vegetal para la determinación microscópica (Osasuna, 2005).

3.4.1.6 Pureza

El análisis de pureza permite determinar la ausencia de contaminantes químicos, biológicos y físicos. Algunos parámetros a determinar son (Bruneton, 1991)

- Materia extraña
- Humedad
- Cenizas totales y ácido-insolubles
- Contaminación microbiana
- Aflatoxinas
- Residuos de pesticidas
- Determinación de metales pesados
- Contaminación radioactiva

3.4.1.6.1 Potencia

- Índice de amargo
- Índice de pungencia

- Índice de espuma
- Índice hemolítico
- Materia extractiva
- Determinación de grupos químicos (Aceites esenciales, taninos, alcaloides totales, antraquinonas, etc.)
- Determinación de moléculas específicas (Bruneton, 1991).

3.4.2 Selección de plantas medicinales

La especie o la variedad botánica seleccionada para el cultivo debe ser la misma que se especifique en la farmacopea nacional o que se recomiende en otros documentos nacionales autorizados del país del usuario final. Para la correcta identificación de la planta a utilizar como materia medica, se debe realizar un análisis botánico, que permita determinar a través de las características morfológicas que se trata de la especie en cuestión y de la parte usada medicinalmente (Lane, 1999; Salud, 2003)

3.4.3 Recolección

Las materias vegetales medicinales deben recolectarse durante la temporada o período óptimos para cada especie, con el fin de asegurar la máxima calidad tanto de las materias primas, como de los productos terminados. Es bien sabido que la concentración de los componentes con actividad biológica, así como la de los componentes vegetales autóctonos tóxicos o venenosos no deseados, varía según la etapa de crecimiento y desarrollo de la planta. El mejor momento para la recolección (la temporada u horas del día óptimas) debe determinarse basándose en la calidad y la cantidad de los componentes con actividad biológica y no el rendimiento total en materia vegetal de las partes de las plantas medicinales de interés (Salud, 2000; Allen, 1989).

No deben recolectarse plantas medicinales en o cerca de zonas en las que se usen o se encuentren concentraciones altas de plaguicidas u otros posibles contaminantes, como en

los bordes de las carreteras, las zanjas de drenaje, las escombreras de explotaciones mineras, los vertederos y las plantas industriales que puedan producir emisiones tóxicas. Además, debe evitarse recolectar plantas medicinales en zonas de pastoreo activo y en sus inmediaciones (incluidas las márgenes de los ríos aguas abajo de los pastos) con el fin de evitar la contaminación microbiana procedente de los residuos de los animales (Salud, 2000).

Tras la recolección, las materias primas vegetales medicinales pueden someterse a un procesado preliminar adecuado, que puede consistir en la eliminación de materias y contaminantes no deseables, lavado (para eliminar el exceso de tierra), selección y corte. Las materias vegetales medicinales recolectadas deben protegerse de insectos, roedores, aves y demás plagas, así como de los animales de granja y domésticos (Salud, 2000).

3.4.4 Procesado primario

Las materias primas vegetales medicinales cosechadas o recolectadas deben descargarse y desenvasarse con prontitud tras su recepción en la planta de procesado, ya que las reacciones enzimáticas pueden llevar a cambios en la estructura química. Antes de su procesado, deben protegerse de la lluvia, la humedad y otras circunstancias que pudieran ocasionar su deterioro; únicamente deben exponerse a la luz solar directa cuando sea necesario aplicar este método de secado específico. Las materias pueden conservarse refrigeradas, en tarros, en cajas de arena, o mediante medios de conservación enzimáticos u otros medios de conservación adecuados inmediatamente después de su cosecha o recolección y durante su trayecto hasta el usuario final. Debe evitarse el uso de conservantes, pero, si se usan, deben cumplir los reglamentos nacionales y regionales que conciernen a los agricultores o recolectores y a los usuarios finales (Salud, 2000; Allen, 1989; Taíz & Zeiger, 2007).

3.4.5 Secado

El método y la temperatura utilizados para el secado pueden influir considerablemente en la calidad de las materias vegetales medicinales obtenidas, por lo que existen varios métodos de secado de las plantas medicinales:

- Al aire libre (protegidas de la exposición directa al sol)
- Colocadas en capas delgadas sobre bastidores de secado, salas o edificios protegidos con malla metálica.
- Por exposición directa al sol (en los casos en que sea apropiado).
- En hornos o salas de secado y secadores solares y mediante fuego indirecto.
- Horneado.
- Liofilización.
- Microondas o dispositivos de infrarrojos (Salud, 2000).

En el caso del secado natural al aire libre, las materias vegetales medicinales deben distribuirse en capas delgadas sobre bastidores de secado y removerse o voltearse con frecuencia. Para asegurar una circulación adecuada de aire, los bastidores de secado deben situarse a una altura suficiente sobre el suelo. Debe procurarse que el secado de las materias vegetales medicinales sea uniforme, con objeto de evitar el enmohecimiento (Salud, 2000).

En el secado en edificios cubiertos, la duración, la temperatura, la humedad y otros parámetros del secado deben determinarse en función de la parte vegetal sometida a secado (raíces, hojas, tallos, corteza, flores, etc.) y de si existen componentes naturales volátiles, como aceites esenciales (Salud, 2000).

3.5 Determinación de metabolitos secundarios

3.5.1 Definición

Los metabolitos secundarios, son un grupo de compuestos vegetales, que se encargan de defender a las plantas, tanto de herbívoros como de microbios patógenos. Estos pueden

también tener otras funciones importantes, como lo es el soporte estructural, en el caso de la lignina, o pigmentos, en el caso de las antocianinas (Domínguez, 1988).

3.5.2 Características y propiedades

Todas las células vegetales realizan procesos metabólicos comunes que conducen a la formación de compuestos como azúcares simples, aminoácidos, nucleótidos, ácidos grasos y polímeros derivados de ellos, polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, entre otros, los cuales son esenciales para la vida celular. Estos procesos se denominan metabolismo primario y los compuestos formados se designan como metabolitos primarios. Además de estos procesos, las plantas desarrollan otras rutas que conducen a la formación de compuestos usualmente peculiares de ciertos grupos taxonómicos, que forman parte del metabolismo secundario, a los que se les conoce como metabolitos secundarios. Anteriormente, los metabolitos secundarios de las plantas se consideraban sustancias de “desecho” para los vegetales, carentes de una función fisiológica definida; en la actualidad, se conoce que, si bien los compuestos secundarios no tienen, como los metabolitos primarios, una importancia para la célula productora, sí pueden poseer importancia fisiológica para el organismo productor como un todo. Dentro de todos estos compuestos se encuentran los isoprenoides y, más específicamente, los terpenoides, que son compuestos abundantes en los aceites esenciales (Azcón -Bieto & Talón, 2000).

La biosíntesis de los metabolitos secundarios suele hallarse restringida a fases específicas del desarrollo tanto del organismo como de la células especializadas, y a períodos de estrés (causados por la deficiencia de nutrientes, factores ambientales, o el ataque de microorganismos o insectos, entre otros) y se lleva a cabo en tres rutas metabólicas: la del acetato-malonato, del acetato mevalonato y del ácido shiquímico (Yano, 2002).

Sin embargo las propiedades biológicas de los metabolitos secundarios juegan un rol ecológico muy importante en la planta, alentando el desarrollo de este campo, por ejemplo en la búsqueda de nuevas drogas, antibióticos, insecticidas y herbicidas (Yano, 2002).

Existen diferentes métodos para la determinación de dichos compuestos en una planta, como lo son, las pruebas histoquímicas, las extracciones de los metabolitos por medio de solvente, hidrodestilación para los aceites esenciales y por cromatografía de capa fina (Azcón -Bieto & Talón, 2000).

3.5.3 Tinciones Histológicas

Las pruebas histoquímicas que se realizan tanto con material fresco como seco y aun conservado, siendo preferible el estado fresco. Dicha técnica puede utilizarse tanto para detectar compuestos en la pared como lo son celulósica, lignina, suberina y cutícula; así como también puede utilizarse para determinar contenidos celulares como las aleuronas, cristales, grasas, aceites grasos, aceites volátiles, resinas, grupos químicos, mucílago, almidón, entre otros (Osasuna, 2005).

La mayoría de los colorantes son compuestos orgánicos que tienen alguna afinidad específica por los materiales celulares. Muchos colorantes utilizados con frecuencia son moléculas cargadas positivamente (cationes) y se combinan con intensidad con los constituyentes celulares cargados negativamente, tales como los ácidos nucleicos y los polisacáridos ácidos. Ejemplos de colorantes catiónicos son el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina. Otros colorantes son moléculas cargadas negativamente (aniones) y se combinan con los constituyentes celulares cargados positivamente, (proteínas); esos colorantes incluyen la eosina, la fucsina ácida y el rojo Congo. Otro grupo de colorantes son sustancias liposolubles; los colorantes de este grupo se combinan con los materiales lipídicos de la célula, usándose a menudo para revelar la localización de las gotículas o depósitos de grasa, un ejemplo de colorante liposoluble es el negro Sudán (Dewick, 2002).

Algunos colorantes tiñen mejor sólo después de que la célula ha sido tratada con otra sustancia química, que no es un colorante, esta sustancia se denomina mordiente. El mordiente se combina con un constituyente celular y lo altera de tal forma que sí pueda actuar el colorante (Dewick, 2002).

3.5.4 Técnicas de Extracción

La obtención de aceites esenciales se puede llevar a cabo por medio de la destilación por arrastre de vapor, enflorado o hidrodestilación (Bioquímica, 2005).

3.5.4.1 Técnica de cromatografía en capa fina

A través de cromatografía de capa fina, que se utiliza para tener una mejor recuperación de componentes importante en el tamizaje de la planta, como aceites esenciales y metabolitos secundarios. (Osasuna, 2005).

Esta técnica consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. El eluente va a migrar por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla a ser estudiada (Osasuna, 2005).

El movimiento de una sustancia en particular, es constante con respecto al movimiento del frente de un disolvente determinado (Osasuna, 2005).

$$Rf = \frac{Dm}{Dd}$$

Donde

Dm: Distancia recorrida de muestra

Dd: Distancia recorrida del solvente

3.5.5 Metabolitos secundarios

3.5.5.1 Aceites y Grasas

3.5.5.1.1 Definición

Las grasas y aceites de origen vegetal son triglicéridos (también llamados ésteres de la glicerina), con ácidos grasos de larga cadena de hidrocarburos que generalmente varían en longitud. Contienen hidrogeno, oxigeno y carbono; en algunos casos también presenta fósforo (Lopez, Marquez, Salomon, & Gonzalez, 2009).

3.5.5.1.2 Características y propiedades

De forma general, cuando un triglicérido es sólido a temperatura ambiente se le conoce como grasa y si se presenta como líquido se dice que es un aceite. Son solubles en alcohol y éter e insolubles en agua (Gros, 1985).

Las grasas representan en las plantas, alimento de reserva. Medicinalmente tiene propiedades emolientes, nutritivas y energéticas. Algunos pueden utilizarse como laxantes (Gros, 1985).

3.5.5.2 Alcaloides

3.5.5.2.1 Definición

Se incluyen en este grupo de compuestos aquellas sustancias de origen vegetal o animal que contienen en sus moléculas sistemas heterocíclicos nitrogenados y poseen carácter básico frente a los ácidos, formando sales (Yano, 2002; Bello & Paredes, 1999).

3.5.5.2.2 Características y propiedades

La mayor parte de los alcaloides se encuentran en las plantas dicotiledóneas en forma de sales (malatos, tanatos, citratos, etc.). A excepción de algunos como la nicotina, que son líquidos, los restantes son sólidos, poseen sabor amargo y reacción alcalina. Son insolubles en el agua, son más solubles en el éter y fácilmente solubles en el alcohol. Con los ácidos forman sales y con ciertos cuerpos dan reacciones, características pueden coloreadas o no. Tienen por lo común, carácter de aminas terciarias, y por lo general venenos muy potentes. Poseen acción fisiológica energética (medicinal o venenosa). Muchas veces son utilizados en terapéutica como estimulantes cardiacos y cerebrales (Bello & Paredes, 1999).

Para obtener los alcaloides de los vegetales, se extraen de las partes de la planta que los contienen, con agua si están en forma de sales (solubles) o con ácido clorhídrico diluido si están en forma insoluble (Yano, 2002).

3.5.5.3 Almidón

3.5.5.3.1 Definición

Es un polisacárido de reserva alimenticia predominante en las plantas, constituido por amilosa y amilopectina (Medinilla, 2010).

3.5.5.3.2 Características y propiedades

Es el compuesto orgánico más abundante en el reino vegetal, producido en grandes cantidades en las hojas verdes, pues constituye la forma de almacenamiento de los productos fotosintéticos. Constituye el 50 a 60% del peso seco de las semillas de cereales y hasta 80% del peso seco de los tubérculos de papa (Lock, 1994).

El almidón se presenta como gránulos de tamaño y formas características en muchas plantas, lo cual puede utilizarse como medio para identificar el origen botánico del almidón, observando los gránulos al microscopio (Lock, 1994).

Medicinalmente es emoliente y energético. La acción emoliente aporta un efecto suavizante y antiinflamatorio sobre la piel y mucosas. La acción energética se produce durante los procesos digestivos; las enzimas de la digestión rompen el almidón y liberan glucosa (Lock, 1994).

3.5.5.4 Flavonoides

3.5.5.4.1 Definición

Son los pigmentos universales en las plantas. Casi siempre solubles en agua y son responsables del color de flores, frutos y algunas veces las hojas. Muchas veces son, la respuesta adaptativa de las plantas a la intensa radiación ultravioleta. Además pueden producir un sabor desagradable a la planta, por lo cual contribuirían a una ventaja sobre los animales herbívoros (Lock, 1994).

3.5.5.4.2 Características y propiedades

Los flavonoides pertenecen a un grupo de compuestos naturales, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Se conoce como diez clases de flavonoides los cuales pueden encontrarse como aglicona o bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos tres o siete, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa. Es frecuente que diferentes azúcares se hallen unidas a una misma aglicona y en diferentes posiciones lo que hace mayor el número de glicósidos conocidos; es también común, que se encuentren en mezclas como agliconas y/o glicósidos, aún de las diferentes clases siendo esto último lo más frecuente (Solis, 2005).

Se hallan presente en todas las partes de la planta, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles y más restringidos en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas (Solis, 2005).

A los flavonoides se les atribuye diversas propiedades en las plantas, como protección contra la incidencia de rayos ultravioleta y visible, así como protección contra insectos, hongos virus y bacterias. Medicinalmente, poseen propiedades de fortalecimiento de los capilares sanguíneos, así como mejorador de las funciones de oxigenación de los tejidos; son cardiotónicas, hemostáticas y también antiinflamatorias (Solis, 2005).

- Atrayentes de animales con finalidad de polinización.
- Antioxidantes.
- Control de la acción de las hormonas vegetales.
- Agentes aleopáticos.
- Inhibidora de las enzimas (Solis, 2005).

Poseen también importancia farmacológica, como antiinflamatorios, antialérgicos, antiulcerogénicos, antivirales, anti carcinogénicos; asimismo, son utilizados para el tratamiento de la fragilidad capilar, diabetes, afecciones cardiacas, entre otras. La principal propiedad de los flavonoides es una actividad Vitamina P, potencialmente activa sobre las venas, estas disminuyen la fragilidad y permeabilidad capilar (Solis, 2005; Martinez, Gonzalez, Culebras, & Tuñón, 2002).

Son solubles en agua y etanol, poseen carácter fenólico y tienen una intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados. Una clasificación preliminar del tipo de flavonoide en un extracto de planta, puede hacerse basado inicialmente en un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color; seguido por un examen cromatográfico directamente del extracto y/o del extracto hidrolizado (Solis, 2005).

3.5.5.5 Mucílagos

3.5.5.5.1 Definición

Son constituyentes normales de la planta, producto de su metabolismo normal, que se acumulan en células especiales dentro de los tejidos (tegumento externo de las semillas y en distintos órganos como las raíces, bulbos, tubérculos, flores o semillas). Es una sustancia viscosa, coagulable con alcohol, y agua producen disoluciones viscosas (Rojas Hidalgo, 1994; Wagner, 1984)

3.5.5.5.2 Características y propiedades

Su estructura química general corresponde a polisacáridos heterogéneos con un alto contenido en galactosa, manosa, glucosa y derivados de osas (principalmente ácidos). Estos compuestos, en contacto con el agua se hinchan formando soluciones altamente viscosas y geles no adherentes. Algunos de estos mucílagos son capaces de absorber más de cien veces su peso en agua (Rojas Hidalgo, 1994).

Los mucílagos comprenden varias funciones, como la protección de heridas, y la germinación de las semillas. Algunas raíces utilizan los mucílagos para favorecer la introducción de las mismas en la tierra. Se localizan como material de reserva de carbohidratos o como reserva de agua en plantas, proporcionándoles elasticidad y suavidad. No salen de forma espontánea de los vegetales sino que hay que recurrir en muchas ocasiones a la molturación y a la utilización de disolventes para su extracción (Stevens N. , 2003; Anaya, 2003)

Los mucílagos de plantas superiores se clasifican clásicamente en dos grandes grupos: mucílagos neutros y mucílagos ácidos. Los mucílagos neutros reciben esta denominación debido a que su estructura química corresponde a polímeros heterogéneos de la manosa que incorporan en su estructura un porcentaje variable de otras osas. Los más frecuentes son (Rojas Hidalgo, 1994)

- Glucomananas: polímeros de D-manosa con 20 a 50 unidades de D-glucosa, presentes en órganos subterráneos de algunas Monocotiledóneas (Stevens N. , 2003).
- Galactomananas: polímeros de D-manosa que incluyen, en un porcentaje que varía entre el 30 y el 100 % dependiendo de las especies vegetales, una galactosa sobre el hidroxilo del C-5 de la manosa; se localizan en las semillas (endospermo) de distintas plantas pertenecientes a diversas familias botánicas (Stevens N. , 2003).
- Falactoglucomananas: cadenas de glucosa y manosa en las cuales algunas manosas están sustituidas por D-galactosa sobre los hidroxilos del C-6, que forman parte de hemicelulosas acumuladas como material de reserva en algunas semillas (Stevens N. , 2003).

Los mucílagos ácidos reciben esta denominación porque en su estructura, aunque en muchas ocasiones no se conoce totalmente, figuran derivados ácidos de osas (Stevens N. , 2003).

Las plantas que contienen mucilagos se utilizan como laxantes mecánicos, ya que absorben una gran cantidad de agua a nivel del colon, aumentan el volumen, el grado de humedad y la acidez del bolo fecal, incrementando de esta manera el peristaltismo intestinal y facilitando la evacuación del mismo (Stevens N. , 2003).

3.5.5.6 Saponinas

3.5.5.6.1 Definición

Son una serie de productos naturales con características físicas y químicas biológicas comunes: Agentes tensioactivos, hemolíticos, tóxicos para animales, y para el hombre por vía endovenosa (Anaya, 2003).

3.5.5.6.2 Características y propiedades

Por hidrólisis dan: azúcares y agliconas (sapogeninas). Por rotura de una molécula se puede obtener: metilciclopentanofenantreno, naftaleno, fenantreno, sapotaleno. Los esteroides y los triterpénicos están muy relacionados biosintéticamente, siguen la misma vía hasta el escualeno (Anaya, 2003).

Reducen la tensión superficial de las soluciones acuosas y, como los jabones, causan la formación de espumas estables, por lo que se han utilizado ampliamente por sus propiedades detergentes. Esta misma propiedad, incrementa la permeabilidad de las membranas celulares; tienen propiedades hemolíticas, son venenosas si se inyectan, sin embargo por vía oral son prácticamente inactivas (Anaya, 2003).

Son glucósidos que aportan su cualidad limpiadora y antiséptica, actuando al mismo tiempo como agentes suavizantes (Anaya, 2003).

Tienen elevado peso molecular y su aislamiento en estado puro ofrece ciertas dificultades (Stashenko, 1996).

Según la estructura de la genina, sapogenina o grupo aglicón, se conocen dos tipos de saponinas (que probablemente tienen un origen biogénico común) (Stashenko, 1996):

- Esteroides (neutras)
- Triterpenoides (ácidas).

3.5.5.7 Taninos

3.5.5.7.1 Definición

Los taninos son compuestos polifenólicos, más o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor muy astringente y de gusto amargo; conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su utilidad para curtir las pieles. Esto se debe a

su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides (Taiz, 2006; Medinilla, 2006).

3.5.5.7.2 Características y propiedades

Se trata de compuestos hidrosolubles, dando a veces disoluciones coloidales en agua, solubles también en alcohol y en acetona e insolubles en disolventes orgánicos apolares. Dentro de los vegetales los taninos suelen encontrarse en las vacuolas celulares, combinados con alcaloides, proteínas u osas (Taiz, 2006).

Se extraen de las plantas con agua o con una mezcla de agua y alcohol, que luego se decanta y se deja evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final. Los taninos tienen un ligero olor característico, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Expuestos al aire se tornan oscuros y pierden su efectividad para el curtido. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí, de esta forma aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua, y al ataque por microorganismos (Medinilla, 2006).

Se dividen en dos grupos

- Taninos hidrolizables: llamados también gálicos o pirogálicos. Se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y bases como por vía enzimática y son generalmente de formación patológica. Se localizan en algunas dicotiledóneas, especialmente en *Fagaceae*, *Anacardiaceae* y *Leguminosae* (Taiz, 2006; Medinilla, 2006).
- Taninos condensados o proantocianidinas: Se conocen también como no hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad, el tratamiento con calor y ácidos minerales origina polímeros de alto peso molecular (flobáfenos). Este tipo de taninos se producen en el metabolismo normal de los vegetales por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente repartidos en las plantas (Medinilla, 2006).

Actúan como inhibidores enzimáticos al precipitar la fracción proteica de los enzimas; esto permite en ocasiones la buena conservación de otros principios activos en las drogas, como, por ejemplo, algunos heterósidos, ya que impiden su hidrólisis enzimática (Taiz, 2006).

3.6 Determinación de aceites esenciales

3.6.1 Definición

Los aceites esenciales, son sustancias orgánicas de origen natural que forman las esencias odoríferas de un gran número de especies vegetales. Tienen la propiedad en común, de generar diversos aromas agradables y perceptibles al ser humano. Son aceites altamente volátiles, productos de largas cadenas de biosíntesis del metabolito secundario vegetal, lo cual le confiere el efecto de protección. Las plantas sintetizan y almacenan aceites esenciales en diversas partes como flores, hojas, brotes, tallos, madera, frutos, semillas, corteza, resinas, raíces y/o rizomas, y presentan estructuras secretoras especializadas que vierten la esencia al exterior (Gennaro, 1998; Lastarria, 2003).

3.6.2 Características y propiedades

A condiciones de temperatura ambiente, son líquidos menos densos que el agua, pero más viscosos que ella. En algunos casos es de color transparentes, en otros casos, poseen un color en la gama del amarillo hasta tomar un color amarillento oscuro que indica una oxidación. Son escasamente solubles en agua, a la que le comunican su olor (aguas aromáticas) y solubles en solventes orgánicos. Sufren degradación química en presencia de la luz solar, del aire, del calor, de ácidos y álcalis fuertes, generando oligómeros de naturaleza indeterminada. Son inflamables, no son tóxicos, aunque pueden provocar alergias en personas sensibles a determinados terpenoides. Son aceptados como sustancias seguras por la Agencia de Drogas y Alimentos (FDA) (Gennaro, 1998).

La calidad de dicho metabolito, puede afectarse debido a factores tanto internos como externos. Entre los factores internos, podemos mencionar la composición y la calidad del aceite que se produce, así como el desarrollo de la planta, la edad y la parte de dicha planta que se vaya a utilizar. Por otra parte, entre los factores externos, se encuentran el clima, suelo, plagas, condición de cultivo, la cosecha, entre otros (Jayes, 2006).

Son una mezcla compleja de sustancias que pueden agruparse en compuestos terpénicos (monoterpenos y sesquiterpenos), compuestos aromáticos derivados del fenilpropano (como el aldehído, cinámico, eugenol, anetol, entre otros) y otros compuestos presentes en pequeña proporción, como lo son ácidos orgánicos, cetonas de bajo peso molecular y cumarinas volátiles como el bergapteno. Los aceites esenciales, en general, constituyen del 0,1 al 1% del peso seco de la planta (Romero, 2004).

Sus acciones farmacológicas son variadas y muchos casos específicos de cada uno:

- Nivel digestivo: estomáquicos, carminativos, eupépticos, colagogos, hidrocoleréticos y vermífugos.
- Nivel respiratorio: antiséptico y expectorante.
- Nivel renal: antiséptico y diurético.
- Nivel del sistema nervioso central: estimulante, depresor, convulsivante y emanagogo.
- Por vía externa: antiinflamatorios y vulnerarios (Romero, 2004).

Los aceites esenciales, pueden ser utilizados para producir aromas específicos, como por ejemplo, para las lociones, los jabones, los dulces, entre otros. Así mismo pueden ser utilizados para síntesis de sustancias con propiedades farmacológicas, como antibacteriano, sedante, expectorante, estimulante, entre otros (Romero, 2004).

3.7 Especies vegetales en estudio

3.7.1 Apacín

3.7.1.1 Nombre científico

Petiveria alliacea L.

3.7.1.2 Familia

Phytolaccaceae

3.7.1.3 Sinonimia

Petiveria alliacea L. var. *grandifolia* (L.) Moq., *Petiveria alliacea* L. var. *octandra* (L.) Moq, *Petiveria corrientina* Rojas, *Petiveria foetida* Salisb, *Petiveria hexandria* Sessé & Moc, *Petiveria ochroleuca* Moq, *Petiveria octandra* L, *Petiveria paraguayensis* Parodi (Lane, 1999).

3.7.1.4 Nombres vernáculos

Carricillo silvestre, hierba de las gallinitas, japachumi, rama de zorrillo, zorrillo, zorrillo silvestre. En otras partes de América Latina se llama frecuentemente anamú, mapurite o hierba de ajo, cola de alacrán, epazote de zorrillo, hierba del arlomo, uña de gato (Lane, 1999).

3.7.1.5 Descripción botánica

Hierba perenne, a veces leñosa hacia la base de hasta 1.5 m de alto, de hojas alternas de hasta 20 cm de largo y hasta 8 cm de ancho, elípticas a obovadas, puntiagudas, haciéndose angostas hacia la base. Racimos de hasta 25 cm de largo, ubicados hacia las puntas de las ramas, con las flores muy pequeñas y separadas entre sí; flores con 4 tépalos (sin separación de sépalos y pétalos). Como en estas flores no se distingue cáliz de corola, se

dice que presenta un perianto de 4 tépalos de hasta 4.5 cm de largo, blancos; estambres generalmente 8, los filamentos rosados; ovario súpero. El fruto es seco, angosto y alargado, acompañado de los tépalos que se endurecen como espinas. Los frutos giran completamente quedando pegados al eje del racimo, pero apuntando hacia abajo. Posee un fuerte olor a ajo o a zorrillo (Lane, 1999) (Martínez M. , 1979).

3.7.1.6 Hábitat

Nativa de México, Caribe, Centro y Sur América. Se encuentra en campos secos y húmedos, cerca de casas y terrenos sin cultivar. En Guatemala se ha descrito en los departamentos Alta y Baja Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Izabal, Petén, Retalhuleu, Santa Rosa, Sacatepéquez, San Marcos, Suchitepéquez y Zacapa (Stevens, Ulloa, Pool, & Montiel, 2001).

3.7.1.7 Historia

Las fuentes históricas indican que era una planta usada por los mayas para medicina como para rituales mágico-religiosos. Actualmente es una planta de amplio uso medicinal en el área (Stevens, Ulloa, Pool, & Montiel, 2001).

3.7.1.8 Datos Agrotecnológicos

La planta puede ser recolectada en lugares de crecimiento silvestre, regiones bajas o medias, húmedas (700 – 1200 mm de lluvia/año), clima caliente. En cuanto al cultivo, se propaga por esqueje o semilla (Stevens, Ulloa, Pool, & Montiel, 2001).

Los esquejes se siembran en una mezcla de tierra negra, brosa y arena blanca cernidas, se introducen tallos jóvenes de 3-6 yemas con riego frecuente; este método es fácil pero la biomasa y raíces producida es menor. Se prefiere el cultivo por semillas; éstas deben tener 5-6 meses de secado, 90% germina en semilleros de tierra-arena en 7 a 15 días, las plántulas se pasan a bolsas por 2 a 4 meses y luego se siembran en el terreno definitivo a

media sombra (50 a 80%) con irrigación constante. En época de lluvia es atacada por hongos y virus (Stevens, Ulloa, Pool, & Montiel, 2001).

Un primer corte se hace al final de la fructificación en época seca, donde se obtiene semilla con fines agrícolas y una pequeña cantidad de hojas; luego salen 2 a 4 rebrotes de los que pueden hacerse hasta 2 cortes por año: las raíces se sacan a los 2 a 3 años después de la fructificación. Se separan las hojas de los tallos, se lava y seca a la sombra durante 3 a 5 días; la raíz se seca al sol después de lavarla cuidadosamente (Stevens, Ulloa, Pool, & Montiel, 2001) (Rzedowski & de Rzedowski, *Phytolaccaceae En: Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes*, 2000) (Villaseñor & Espinosa, 1998).

3.7.1.9 Fenología

Se reproducen durante todo el año, pero alcanza su máxima floración de octubre a diciembre (Fores, 1998).

3.7.1.10 Composición química y principios activos

El tamizaje fitoquímico de las hojas contiene: esteroides (β -sistosterol), terpenoides (isoarbinol, acetato y cinamato de isoarbinol), saponinas, polifenoles y taninos (Muñoz, 2011).

En la raíz se han identificado al menos 19 cumarinas, tritolaniacina, 3,5-difenil-1, 2,4-tritolan, difeniltrisulfuro, trans-stilbene, trans-N-4-metilprolina, pinitol, alantoina, ácido lignocérico, α -friedelinol, tritolaniacina, benzaldehído y ácido benzoico (Muñoz, 2011)

- Principios activos: Cumarinas, Alantoína, Pinitol, Alcohol lignocerílico, Ácido lignocerílico, Lignocerato de lignoceril, Nitrato de potasio, Triterpenos: isoarborinol acetato de isoarborinol, cinamato de isoarbinol y alfa- friedilinol, Fitoesteroles: beta- sitosterol, Ácidos grasos: linoleico, nonadecanoico, palmítico y esteárico.

- Derivados sulfurados: benzil - hidroxil - etil - trisulfido, dibenzil - trisulfido, tritolaniacina (Muñoz, 2011).

3.7.1.11 Farmacología

3.7.1.11.1 Experimental

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas es inactiva contra bacterias causales de infecciones dermatomucosas, del tracto digestivo y de las vías respiratorias, datos que se confirman en otros estudios; aunque un compuesto alifático aislado de la raíz es activo contra estas bacterias. La tintura de las hojas presenta ligera actividad contra *E. floccosum*. El extracto etanólico es activo contra *P. falciparum* en dosis de 100 mg/mL (Batista, 2011).

La administración de 50 mg/kg de extractos de la planta estimulan la actividad fagocítica del sistema reticuloendotelial al proteger ratones inoculados con dosis letales de *E. coli*. Los extractos acuosos y etanólicos inhiben modelos de tumores (CA-IMA, CA-MCF7, Leuk-K562, etc.) el extracto etanólico inhibe la proliferación de linfocitos (100 mg/mL) y de células de medula ósea (Batista, 2011).

Estudios farmacológicos demuestran que la decocción de las hojas tiene actividad antiinflamatoria y analgésica. El extracto alcohólico de la planta fresca tiene actividad analgésica en ratones (Illnait, 2007).

La raíz tiene actividad antiinflamatoria. La administración oral y tópica del extracto crudo de raíz a ratones y ratas disminuyó el granuloma inducido por algodón y la dermatitis de la oreja por aceite de crotón en forma similar al fármaco de elección (piroxicam y dexametasona) (Illnait, 2007).

En modelos animales se ha demostrado que la raíz es anticonvulsivante. La administración oral de extractos de raíz purificados (bencilpolisulfuros) mostró mejoría

significativa en el tiempo de coagulación anormal y en los niveles de transaminasa glutámica pirúvica (TGP) de ratas en las que se indujo desordenes hepáticos con D-galactosamina. El extracto de hojas disminuye un 60% los niveles de glucosa en ratones normales (Illnait, 2007) (Ankli, 2002).

Referencias etnomédicas cubanas avalan las propiedades inmunoestimulantes del anamú o apacín con resultados experimentales. La decocción de la planta entera de anamú es considerada como inmunoestimulante, ya que activa los esplenocitos del ratón, estimula el gen del receptor de la interleucina 2 y los leucocitos en cultivo de células a 100 µg/mL (Ankli, 2002).

Por otro lado, estimula la producción de interferón e interleucinas 4 y 2, así como la actividad de células asesinas en un 100 %. El extracto hexanólico de *Petiveria alliacea* incrementa el índice fagocítico de los granulocitos humanos y los ratones maduros tratados con el extracto por vía intraperitoneal aumentan la sobrevivencia previamente infectados con *Listeria monocitogenes*. En estos animales, se observó un aumento en el número de colonias del sistema granulocito-macrófago, lo que sugiere un efecto inmunomodulador del extracto sobre la hematopoyesis (Batista, 2011).

Se ha podido comprobar que uno de los compuestos presentes en la planta, capaces de inducir un efecto inmunomodulador es el tribencildisulfuro. Tanto los extractos de ella como este compuesto tienen la capacidad de incrementar el peso del timo y los parches de Payer, pero no modifican la masa del bazo. Además, se ha reportado que el benzaldehído y las cumarinas presentes en las hojas tienen también efecto inmunomodulador. El extracto crudo liofilizado de las raíces produjo un significativo efecto analgésico en modelos experimentales. La administración oral del extracto en dosis de 43,9 mg/kg de peso a ratas, redujo la migración de neutrófilos, células mononucleares y eosinófilos. Las hojas de anamú contienen polifenoles, a los cuales, se les ha descrito un efecto inhibidor de la ciclooxigenasa-1 (COX-1). Las sustancias inhibidoras de la COX-1 son reconocidas por su efecto sobre el dolor y como antiinflamatorias (Illnait, 2007) (Ososki, 2002).

Se ha podido constatar que los extractos metanólicos de *Petiveria alliacea* tienen actividad citotóxica sobre las células del carcinoma hepatocelular humano (línea Hep G2). La acción anticancerosa de las hojas del anamú se atribuye al belcil-2-hidroxietyl- trisulfuro presente en ellas. El dibenciltrisulfuro (DTS) se considera el principal compuesto lipofílico de la *Petiveria alliacea* (Pérez, 2006).

Estudios previos confirman que el DTS tiene un amplio espectro de propiedades biológicas que incluyen propiedades citostáticas y neurotóxicas además de su actividad inmunomoduladora. Se ha podido comprobar que el DTS es también efectivo en otras líneas celulares tales como el sarcoma TE671, el carcinoma mamario MCF-7, el melanoma IPC, el carcinoma primario de vejiga 5637 y el cáncer del pulmón de célula no pequeña además del fibroblasto humano no canceroso HOFA (Illnait, 2007).

Por otro lado, se ha comprobado actividad anticancerosa de la astilbina, el benzaldehído y las cumarinas (Ososki, 2002).

3.7.1.11.2 Farmacología clínica

Se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, analgésicas, inmunoestimulantes y hipoglucémicas. Puede causar abortos en personas y animales (Madueño, 1966).

Las hojas se usan para tratar afecciones gastrointestinales (diarrea, disentería, flatulencia), respiratorias (amigadalis, asma, bronquitis, catarro, tos ferina), nerviosas (calambres, epilepsia, histeria, rabia), dolor de cabeza y de muelas, caries, reumatismo y diabetes (Madueño, 1966).

Tópicamente las compresas y cataplasmas se usan para tratar úlceras, tumores e infecciones dérmicas (abscesos, forúnculos, tiña) (Ososki, 2002) (Madueño, 1966).

La hoja fresca estrujada se inhala para tratar cefalea y sinusitis. La tintura se usa en fricciones como linimento para dolores reumáticos (Ocampo & Maffioli, 2002).

A la hoja se le atribuye propiedad afrodisiaca, antidiarréica, antiséptica, carminativa, desinflamante, diaforética, diurética, espasmolítica, hipotensora, purgante, sudorífica, vermífuga y vulneraria (Ocampo & Maffioli, 2002) (Madueño, 1966).

Estudios previos de la actividad antimicótica de la maceración hidroalcohólica de las hojas no demostraron actividad anticándida, pero si se demostró que el cocimiento de las hojas presenta una ligera actividad contra *Epidermophyton floccosum*. En otros estudios ha demostrado actividad antibacteriana *in vitro* contra microorganismos como, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y levaduras de *Cándida albicans* (Illnait, 2007).

El conocimiento de la raíz administrada por vía oral se usa para tratar asma, catarro, cistitis, dismenorrea, enfermedades venéreas, fiebre, inflamación, histeria y neuropatía; por vía tópica se aplica en compresas y cataplasmas para tratar diversas afecciones de la piel (granos, erupciones, psoriasis), masticadas para dolor de muelas, inhalada para el dolor de cabeza y la sinusitis, en linimento a partir de una tintura para aliviar el reumatismo y machacada para repeler insectos y piojos de los niños y animales domésticos (Ocampo & Maffioli, 2002).

3.7.1.12 Farmacognosia

La materia médica son las hojas y raíces secas.

Del extracto metanólico de raíz se purificaron varios bencilpolisulfuros, un disulfuro mostro actividad profiláctica y terapéutica en el tratamiento de enfermedad hepática experimental inducida a ratas por galactosamina en dosis de 200 mg/kg por vía oral, actividad medida por aumento del 69-78% de la coagulación anormal de la sangre, lo que indica que los derivados sulfurados pueden ser útiles en el tratamiento y profilaxia de desordenes hepáticos (Geermosén, 1997).

No es una planta de uso oficial, por lo que no se encuentra en ninguna farmacopea; se comercializan productos fitofarmacéuticos como infusión, polvo, elixir, tintura y pomadas (Geermosén, 1997).

3.7.1.13 Toxicología

Las semillas pueden ser molestas, ya que por unos minúsculos dientecillos penetran la piel y puede ser difícil su remoción. La raíz se usa para preparar curare y barbasco, se le atribuye propiedad abortiva en humanos y se considera toxica para el ganado. La DL50 por vía oral de hojas secas es de 360 mg/kg en la rata, la DL50 por vía intraperitoneal en ratón es de 1.7 g/kg; no se observó ningún signo externo de toxicidad al administrarse durante 7 días ni causo la muerte de ratones después de administrar una dosis oral única de 10g/kg; la decocción no presenta genotoxicidad en células germinales de rata macho (Lane, 1999) (Batista, 2011).

3.7.1.14 De la droga vegetal

3.7.1.14.1 Denominación

Petiveria alliacea

3.7.1.14.2 Obtención

Planta recolectada en lugares de crecimiento silvestre, regiones bajas, húmedas y calientes. El tiempo de secado para la droga cruda es de cinco días. La humedad residual determinada es de un 5%, encontrándose dentro del rango establecido en las literaturas, para drogas no oficiales (Geermosén, 1997).

3.7.1.14.3 Componentes con actividad terapéuticas

Bencil-2-hidroxitrisulfuro,3-(4-hidroxi-2-metoxifenil)-2propenoico, ribencildisulfuro, dipropildisulfuro, dibencilsulfuro, dibencildisulfuro, dibenciltetrasulfuro, bencilhidroximetilsulfuro y di(benciltrio)metano (Geermosén, 1997).

3.7.2 Orégano

3.7.2.1 Nombre científico

Lippia graveolens HBK

3.7.2.2 Familia

Verbenaceae

3.7.2.3 Sinonimia

Goniostachyum graveolens Small, *Lantana origanoides* Mart. & Gal, *Lippia berlandieri* Schauer.

3.7.2.4 Nombres vernáculos

Orégano, orégano mexicano, orégano de monte, oro vegetal, orégano menudo (Lot & Chieng, 1986).

3.7.2.5 Descripción botánica

Arbustos delgados de alrededor de 2 m de alto; ramas cortamente pilosas. Hojas con la lámina oblonga a elíptica u ovado - oblonga, por lo general 2-4 cm de largo, en el haz densa y suavemente pilosa, el envés glandular y densamente tomentoso a piloso, el margen finamente crenado, el ápice generalmente obtuso o redondeado, raramente agudo, la base redondeada a subcordada; pecíolos de 5-10 mm de largo. Inflorescencia con 2-6 pedúnculos, en las axilas de las hojas, de 4-12 mm de largo, las espigas primero subglobosas pero a menudo cambiando a oblongas, de 4-12 mm de largo; brácteas comúnmente en 4 hileras, ovadas a lanceoladas, glandulares y densamente pilosas, agudas; cáliz 1-2 mm de largo, glandular vellosa; corola blanca, el tubo estriguloso, de alrededor de 3 mm de largo. Frutos pequeños, encerrados en el cáliz (Lot & Chieng, 1986).

3.7.2.6 Hábitat

Lippia graveolens HBK es nativa de la región que está limitada por el sur de Texas de Estados Unidos y el norte de Costa Rica. Se encuentra en bosques secos y monte espinoso subtropical, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos o secos en pastizal con matorral desértico, sobre roca caliza y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, Peten y Zacapa. En lugares rocosos, con arbustos espinosos, roca caliza, con (*Fouquieria*, *Agave lechuguilla*, *A. asperrima*, *Viguiera stenoloba*, *Acacia crassifolia*, *Acacia berlandieri* y *Mimosa* spp) (Ocampo & Maffioli, 2002).

3.7.2.7 Historia

Con el nombre de orégano se conocen más de 53 especies, 32 especies de la familia *Lamiaceae*, 21 de la familia *Verbenaceae*, 1 de la familia *Rubiaceae*, 1 de la familia *Scrophulariaceae*, 1 de la familia *Apiaceae* y 2 de la familia *Asteraceae*. Pero la especie más conocida en Europa es *Origanum vulgare* L. que ha sido usado con fines culinarios y medicinales desde los tiempos de los griegos y romanos (Madueño, 1966).

El nombre “orégano” proviene del griego: *oros* (montaña) y *ganos* (ornamento). La decoración, la belleza de las montañas. Una leyenda griega dice que Afrodita, diosa del amor, fue la primera en cultivar el orégano y le dio a esta planta la fragancia que actualmente posee (Arcila, 2004).

3.7.2.8 Datos Agrotecnológicos

Agronómicamente, el orégano *Lippia graveolens* HBK ha sido recolectado en lugares de crecimiento silvestre, se recomienda su manejo y siembra comercial para garantizar su aprovisionamiento sostenido. Se propaga por semilla o estacas de madera suave. Las hojas se colectan en plena floración y se secan a la sombra y al horno (Cáceres A. , 1996).

El nombre comercial de orégano, tiene un amplio significado y hasta el día de hoy se refieren a dos grandes grupos de especies, es decir, europeo y mexicano (Cáceres A. , 1996)

3.7.2.9 Fenología

Periodo de floración indefinido, por lo que es difícil establecer épocas exactas de corte, pero en general se puede hacer cada tres meses (Fores, 1998).

3.7.2.10 Composición química y principios activos

Se han identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano (Arcila, 2004).

En extractos metanólicos de las hojas de *Lippia graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina, dimetilsecologanosido, ácido logánico, ácido 8-epi-logánico y carioptosido; y tres iridoides mayoritarios como el ácido carioptosídico y sus derivados 6'-O-p-coumaroil y 6'-O-cafeoil. También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina (Arcila, 2004)

Los principios activos de la mayoría del orégano, se encuentran principalmente en los aceites esenciales, resina de sus flores, hojas y algún tanino; este último también abunda en los tallos. En el caso del orégano *Lippia graveolens* HBK, se ha efectuado un estudio donde se ha comparado la diversidad química de 17 poblaciones del oriente de Guatemala. Contiene un aceite esencial rico en Carvacrol, de color amarillo, olor fuerte y muy picante. La planta contiene ácidos fenolitos, caféico, clorogénico, rosmarínico, flavonoides: derivados del apigenol, del luteolol, del diosmetol; ácido ursólico, sustancias tánicas y elementos minerales (Morataya, 2006).

3.7.2.11 Farmacología

3.7.2.11.1 Experimental

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de *Lippia graveolens* es activa contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*, pero inactiva contra *Haemophilus influenzae*; la infusión de hojas demostró actividad contra los mismos microorganismos. Estudios antifúngicos demuestran que los extractos con diclorometano y etanol son activos contra *C. albicans*, *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*, pero inactivos contra *C. neoformans*. La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del extracto diclorometánico contra bacterias es 10 mg/mL y del etanol es 1.75 mg/mL; la CIM de la actividad contra *M. gypseum* es 2.5 mg/mL (Cáceres A. e., 1994) (Arcila, 2004)

3.7.2.11.2 Farmacología Clínica

La decocción o infusión de hojas se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento, indigestión) y respiratorias (asma, bronquitis, catarro, influenza, laringitis, peluresía, resfrío, tos, tos ferina, tuberculosis), hidropesía, ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo. La decocción en leche se usa para tratar asma y bronquitis; un jarabe de las hojas secas se usa para tratar diabetes, disentería, catarro y resfríos. En homeopatía se usa para condiciones histéricas (Cáceres A. e., 1994) (Morataya, 2006).

Tópicamente la decocción se aplica para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones de la garganta; en baños se usa para fortalecer niños debilitados, combatir la gripe y para aliviar el prurito y la sarna; en cataplasma para madurar abscesos, calmar neuralgias y aliviar induraciones, cáncer y tumores; en fricciones y baños se usa como calmante. La planta fresca macerada en aceite se aplica a los dolores reumáticos; la maceración alcohólica contra “ataques”. Se les atribuye propiedad antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética,

digestiva, diurética, emenagoga, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, pectoral, sudorífica y tónica (Cáceres A. , 1996).

3.7.2.12 Farmacognosia

La materia médica son las hojas y sumidades floridas secas, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de la materia prima usada para la elaboración de productos fitofarmacéuticos. En la revisión de literatura realizada se encontraron pocas referencias sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química, no se encontraron estudios tendientes a la formulación de productos fitofarmacéuticos. El aceite esencial tiene densidad 0.890-0.922, índice de refracción 1.479-1.498; contiene timol (40-60%), p-cimeno (7.7-9.2%), 1,8-cineol (4.5-4.8%), carvacrol (3.1-2.1%), γ -terpineo (3.1-3.9%), metil-timol (2.4-3.8%), mirceno (0.8-1.2%), linalool (0.7-1.3%) y al menos 34 elementos más en menores cantidades. *Lippia graveolens* se encuentra únicamente en Farmacopea Mexicana. Se comercializan productos fitofarmacéuticos para tratamientos alopáticos y homeopáticos (Morataya, 2006).

3.7.2.13 Toxicología

Los extractos acuosos y etanólico de hojas (500 ppm) presentan cierta toxicidad dosis-dependiente contra peces del género *Mollinesia*. Su administración durante el embarazo está contraindicada, ya que puede producir aborto. El lapachenol tiene actividad carcinogénica y podría explicar cierta actividad antifertilidad atribuida. La Dosis Letal (DL) del carvacrol por vía oral en conejos es 100mg/kg. Partes usadas como drogas; las hojas maduras secas (Mena, 1994).

Componentes con actividad terapéutica y marcadores: Aceite esencial (timol, p-cimeno, 1,-cineol, carvacrol, γ -terpineo, metil-timol, mirceno, cariofileno, linalool). El timol posee actividad anti infecciosa y el carvacrol actividad antihelmíntico (Mena, 1994).

3.7.2.14 De la droga vegetal

3.7.2.14.1 Denominación

Hoja seca, molida y pulverizada de *Lippia graveolens*.

3.7.2.14.2 Obtención

La droga vegetal se obtiene al pasar la materia vegetal a través de un tamiz obteniendo un pulverizado de color verde pálido, se empaca en bolsas de plástico selladas para ser almacenadas (Mendoza, 1995).

3.7.2.14.3 Componentes con actividad terapéutica y marcadores

El timol posee actividad anti infecciosa y el carvacrol tiene actividad antihelmíntica (Morataya, 2006).

3.7.3 Pericón

3.7.3.1 Nombre científico

Tagetes lucida Cav.

3.7.3.2 Familia

Astareaceae

3.7.3.3 Sinonimias

Tagetes florida Sweet y *Tagetes schiedeana* Less.

3.7.3.4 Nombres vernáculos

Jolomocox, Uca, I'ya (12) (Cáceres A. , 1996)

3.7.3.5 Descripción botánica

Hierba perenne aromática, glabra, erecta, 30-95cm de alto, se levanta desde una base corta, gruesa y leñosa; cimosamente ramificada; ramas escasas, resinosa al secarse. Hojas opuestas, sésiles, oblongo-lanceoladas, 5-10cm de largo, puntiagudas, finamente dentadas, con numerosas glándulas oleosas. Flores amarillas en pequeñas cabezuelas terminales, receptáculo cilíndrico, 9-10mm de diámetro; filarios subulados en el ápice, brácteas 3. Aquenios 6-7mm de largo, estriados, papus escamoso, 3mm de largo (Cáceres A. , 1996) (Soria, 2011).

3.7.3.6 Hábitat

Nativa de México a Honduras en bosques de encino y laderas de 1,000-2,000 msnm. Es abundante en la época de lluvia, desaparece en época seca. En Guatemala se ha descrito en Chimaltenango, El Quiché, Jalapa, Guatemala, Huehuetenango, Petén, Quetzaltenango, Sacatepéquez y San Marcos (Cáceres A. , 1996).

3.7.3.7 Historia

Género de 35 especies. Descrita como adivinatoria, alucinógena, medicinal, mística y religiosa en las principales fuentes históricas precolombinas y coloniales en México y Guatemala. En Guatemala es colectada con fines medicinales. Por su uso extenso en atención primaria de salud para enfermedades comunes, se ha incluido en el Programa Nacional de Plantas Medicinales para su desarrollo químico-agronómico (Cáceres A. , 1996).

3.7.3.8 Datos Agrotecnológicos

Se obtiene principalmente por recolección de la planta silvestre, los grupos que se dedican a su obtención manejan en forma rudimentaria los campos de crecimiento silvestre. Por su eficacia en el tratamiento de afecciones gastrointestinales y su potencial en el mercado de los aceites esenciales, se está promoviendo su domesticación y cultivo a nivel nacional. Su cultivo es principalmente por semilla, que germina a los 15-20 días, se trasplanta a los 2-3 meses a una distancia de 40-50cm; florece a los 5-6 meses. Se colecta toda la planta en su máxima floración si se separan las hojas y flores de los tallos se secan a la sombra, pueden secarse los tallos y luego separar las hojas y flores por aporreo (Cáceres A. , 1996) (Soria, 2011).

3.7.3.9 Fenología

Germinación de 7 días, prolongado a 20 días. Floración a los 165 días luego de la siembra. Plena floración a los 175 días. Y fructificación a los 213 días (Stevens, Ulloa, Pool, & Montiel, 2001).

3.7.3.10 Composición química y principios activos

El análisis proximal de 100 g de semillas secas contiene: proteína (18-21 g) y grasa (9-11g) (De la Cruz, 2005).

En la planta se encuentran los siguientes compuestos: 6,7,8-trimetoxicumarina, herniarina, Ácido gálico, Alcaloides cuaternarios, Compuestos sulfurados: 5-(but-1-ol-3-inil)-2,2'-bitienilo, etilgalato, Cumarinas: dimetilalileter de 7-hidroxycumarina, 7-metoxicumarina, Derivados de tiofeno, Fenilpropanoide: estragol, Flavonoides: glicósidos de quercetina, quercetagitina, tagetona, tagetina, camferol, Glicósidos cianogénicos, Lactona, Leucoantocianinas, Monoterpenos: β -ocimeno, Poliacetileno: (5-(3-buten-1-inil)-2,2'-bitienol), Resinas acídicas, Sales minerales, Sesquiterpeno: limoneno, β -cariofileno,

Taninos, fenoles, saponinas, alcaloides, pectinas, gomas, grasas (De la Cruz, 2005) (Barajas, 2009).

Entre sus principios activos encontramos a los glicósidos de las flavonas como la quercetagrítina (De la Cruz, 2005).

3.7.3.11 Farmacología

3.7.3.11.1 Experimental

Existen estudios que demuestran que tiene actividad antimicrobiana contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *S. pyogenes* y ligeramente activa contra *N. gonorrhoea* (Cáceres A. , 1996) (De la Cruz, 2005).

El espectro de inhibición del extracto alcohólico demostró inhibición de 60% de cepas de *P. aeruginosa* y demostró inhibición de 60% de cepas de *S. typhi*; la tintura tiene CIM 15 mg/dL para *S. aureus*, 34mg/ml para *C. albicans* y 50mg/ml para *S. flexneri*. Diversos extractos inhiben *V. cholerae*, la mayor actividad se extrajo con n-hexano y la CIM es de 10 mg/mL (Cáceres A. , 1996) (Osasuna, 2005)

Estudios antifúngicos demuestran que la tintura inhibe el crecimiento de *C. albicans*, así como de *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* con una CIM de 1-2 mg/mL. Las hojas tienen actividad contra nematodos. Una pomada a base de la tintura redujo el tiempo que tarda en sanar la queratoconjuntivitis experimental en cobayo por *S. dysenteriae* (Cáceres, 1996) (Barajas, 2009).

Estudios farmacológicos demuestran que el extracto alcohólico de hojas al 20% tiene acción depresiva del Sistema Nervioso Central (SNC) y actividad hipotensora, pero no tiene actividad inhibidora del apetito, antiaterogénica, diurética ni antiinflamatoria. Varios extractos de hojas son espasmolíticos *in vitro* en íleon de ratas, la DE₅₀ es de 1.88 g/mL para el extracto bencénico; la infusión tiene una DE₅₀ en ratón de 500 mg/mL *in vitro* y 20

g/kg *in vivo*. Resultados similares se obtuvieron en un modelo en músculo liso de yeyuno de conejo y actividad anticolinérgica en músculo esquelético y cardíaco de rata (Soria, 2011).

Modelos experimentales, han demostrado que el extracto acuoso produce cambios compatibles con broncodilatación: disminuye levemente la presión transpulmonar, aumenta la adaptabilidad dinámica, produce leve taquicardia, caída de la presión venosa central, leve taquipnea, incremento del flujo aéreo traqueal, pero no en forma dosis-dependiente; así mismo, en yeyuno de conejo disminuyó la amplitud y frecuencia de las contracciones, lo que indica actividad relajante de la musculatura lisa (Díaz, 1977).

Estudios preliminares indican que la decocción de hojas tiene cierta actividad inmunomoduladora en ratones medida por un aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos, aunque estos datos no fueron confirmados en estudios posteriores (Díaz, 1977).

3.7.3.11.2 Farmacología Clínica

La infusión de flores y hojas se usa por vía oral para aliviar

- El parto, tratar anemia, inflamación de los ojos, afecciones nerviosas.
- Gastrointestinales: cólico, flatulencia, indigestión, náusea, vómitos. La flor de pericón se usa también para el tratamiento de la diarrea y de la disentería con moco principalmente, así como para combatir la disentería blanca, también es utilizada como anti amebiano. Se emplean las ramas y la flor en forma de infusión principalmente (Cámbar, 1984).
- Respiratorias (amigdalitis, cefalea, fiebre, gripe, neumonía, resfriado, tos ferina), dolor menstrual, mordedura de escorpión, hepatitis, paludismo, reumatismo, retención urinaria, afecciones nerviosas, tumores y úlceras (Cámbar, 1984).

- Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, antioxidante, antiséptica, aromática, carminativa, digestiva, diurética, emenagogo, espasmolítico y galactogogo (Soria, 2011).

3.7.3.12 Farmacognosia

La materia médica son las hojas y flores secas. Según la norma guatemalteca obligatoria, la materia seca vegetal para infusión debe ser aromática, las hojas y flores estar enteras, el extracto acuoso en masa tener un máximo de 32% y el material no contener más del 10% de humedad. Microscópicamente se presentan numerosas glándulas de color amarillo brillante y células de parénquima; flores enteras o en fragmentos de color amarillo, liguladas, cáliz con numerosas glándulas, ovario unilocular y granos de polen equinados (Barajas, 2009).

El aceite esencial tiene un agradable aroma anisado, es amarillo (1.77% de FeCl_3), índice de refracción 1.53 a 26°C, densidad 0.971 a 26°C, punto de ebullición 233°C, soluble en etanol, cloroformo y acetona. Del extracto alcohólico se obtiene una miel color café (3.33mg/ml igual a FeCl_3 2%), soluble en etanol, densidad 1.474 a 26°C, concentración de 30g/100g de materia seca (De la Cruz, 2005) (Barajas, 2009).

La actividad biológica y farmacológica se atribuye a α -tertienilo y herniarina que están presentes en las hojas y flores. El α -tertienilo es un cristal amarillo, peso molecular 248, punto de fusión 93-94°C, soluble en éter, acetona y etanol, insoluble en agua; presenta actividad antimicrobiana (*C. albicans*) (De la Cruz, 2005).

La herniarina (7-metoxicumarina) es un cristal blanco-amarillo, peso molecular 176, con actividad antibacteriana, espasmolítica, diurética y antiinflamatoria. *In vitro* se ha demostrado que 100 y 34 $\mu\text{g/mL}$ tienen actividad antifúngica que se manifiesta por inhibición del crecimiento de las hifas, furcación apical, alteración de la morfología

nuclear, deposición de vesículas densas en el citoplasma, anormalidades mitocondriales y engrosamiento de la pared celular (Cámbar, 1984).

No es de uso oficial en ningún país, por lo que no se encuentra en ninguna de las farmacopeas. Se comercializan productos fitofarmacéuticos como infusión, tintura y elixir (Cámbar, 1984).

3.7.3.13 Toxicología

Popularmente se le atribuye propiedad abortiva. La DL_{50} de los extractos con actividad espasmolítica por vía oral es mayor de 100 mg/kg de peso. El extracto alcohólico provoca en algunas personas síntomas cardiovasculares. El α -tertienilo puede ser fototóxico en presencia de luz ultravioleta cercana y producir una fotodermatitis por un mecanismo que no depende de la peroxidación lipídica de la membrana (Díaz, 1977).

3.7.3.14 De la droga vegetal

3.7.3.14.1 Denominación

Tagetes lucida folia

3.7.3.14.2 Obtención

Luego de la cosecha se hace un lavado con agua potable con el propósito de eliminar tierra y otros materiales extraños. Este lavado se hace en un recipiente plástico, luego se coloca la materia en canastas para eliminar el exceso de agua. Para el secado se recomienda un secador solar (Salud, 2003).

3.7.3.14.3 Componentes con actividad terapéutica y marcadores

α - tertienilo y herniarina (7-metoxicumarina) (Cámbar, 1984).

4. JUSTIFICACIÓN

Guatemala posee una biodiversidad muy grande, y el uso de plantas medicinales ha sido ampliamente distribuido a lo largo de los años, por lo tanto el control de calidad en el proceso de preparación de las plantas medicinales para su venta comercial es de suma importancia.

La determinación de caracteres farmacobotánicos incluye, la correcta identificación de la materia vegetal utilizada, tanto la descripción macroscópica como la microscópica, la identificación y localización de los metabolitos secundarios de interés para dicha planta así como las características organolépticas de la misma.

Las plantas medicinales recolectadas de poblaciones silvestres pueden estar contaminadas con otras especies o partes de plantas debido a la identificación incorrecta, la contaminación accidental o la adulteración intencionada; todas estas circunstancias pueden afectar negativamente a la inocuidad de los productos.

Por lo tanto el control que debe ejercerse sobre ellas debe ser muy específico y veraz para evitar daños al consumidor y pérdidas si se está comercializando.

Es importante recabar información de especies como el apacín, pericón y orégano debido a que estas plantas tienen un uso medicinal muy amplio por su diversidad y distribución. Además eso permitirá la elaboración de monografías de calidad de las especies nativas de uso popular.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Establecer parámetros farmacobotánicos para el control de calidad de las especies guatemaltecas de uso medicinal *Lippia graveolens*, *Petiveria alliacea* y *Tagetes lucida*.

5.2 Objetivos específicos

5.2.1 Determinar las características organolépticas y pruebas de pureza de *Lippia graveolens* y *Petiveria alliacea*.

5.2.2 Determinar las características organolépticas y pruebas de pureza en las etapas fenológicas (follaje y floración) de *Tagetes lucida*.

5.2.3 Identificar las características microscópicas que pueden ser utilizadas en el control de calidad de la materia vegetal en estudio.

5.2.4 Demostrar la presencia de metabolitos secundarios de interés en todas las muestras de las plantas en estudio en dos diferentes etapas fenológicas, a través de cromatografía de capa fina.

5.2.5 Confirmar la presencia de metabolitos secundarios de interés de la materia vegetal en estudio, a través de pruebas histoquímicas.

5.2.6 Determinar pruebas de pureza y porcentaje de rendimiento tanto de extracto vegetal como de aceites esenciales por muestra de cada una de las plantas en estudio.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Universo y muestra

6.1.1 Universo

Se utilizaron tres plantas aromáticas medicinales de uso popular en Guatemala.

6.1.2 Muestra

Se utilizó material vegetal fresco y seco (secado a la sombra), de *Lippia graveolens* (Orégano), *Petiveria alliacea* (Apacín) y *Tagetes lucidas* (Pericón), en etapa de follaje y floración.

6.2 Recursos

6.2.1 Humanos

6.2.1.2 Seminaristas responsables:

Br. Bonier Mineli Garrido de León,

Br. Sindy Carina Polanco Posadas.

6.2.1.3 Asesora: Licda. María Eugenia Paredes.

6.2.1.4 Revisora: Licda. Isabel Gaitán.

6.2.2 Institucionales

- Laboratorio de Bioensayos, del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales – LIPRONAT –
- Herbario BIGU, Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Ecología, Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

6.3 Materiales y equipo

6.3.1 Equipo

- Balanza analítica y de humedad
- Cámara fotográfica
- Desecador
- Destilador Neoclevenger
- Estereoscopio
- Estufa eléctrica
- Horno
- Mechero Bunsen
- Microscopio
- Prensa de madera
- Pinzas de metal
- Pizas para crisol
- Rotavapor
- Sistema de enfriamiento o circulación de agua

6.3.2 Materiales

- Agujas de disección
- Bolsas de plástico (Ziploc)
- Bulbos
- Cucharillas
- Encendedores
- Esmalte de uñas transparente
- Etiquetas
- Extractos de cada planta a utilizar

- Material vegetal seco fragmentado
- Goteros
- Hojas de afeitar Gillette
- Pinceles
- Platillos desechables
- Porta y cubre objetos
- Tijeras
- Tubos capilares

6.3.4 Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado
- Agua destilada
- Alcohol etílico (95%)
- Alcohol etílico (70%)
- Alcohol etílico (50%)
- Azul de cresil (1%)
- Fast green
- Floroglucinol
- Hidrato de cloral (5%)
- Hidróxido de sodio
- Hipoclorito de sodio
- Naranja G
- Ninhidrina (0.3%)
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Lugol (5%)
- Reactivo de Sudan IV
- Safranina (1%)
- Solución fijadora etanol
- Sulfato férrico (0.5 – 1%)
- Xilol

6.3.5 Cristalería

- Balón de boca esmerilada de 125 mL
- Beacker de 250 mL
- Beacker de 500 mL
- Crisoles de porcelana
- Erlenmeyer de 250 mL
- Erlenmeyer de 500 mL
- Tubos de ensayo con tapa de rosca de 15 mL

6.4 Métodos

6.4.1 Recolección de muestra

Se llevo a cabo una recolección de materia vegetal fresco, *Petiveria alliacea* en Samayac, Suchitepequez; *Lippia graveolens* y *Tagetes lucida*, en Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromáticas, Facultad de Agronomía, USAC. Se tomó un kilogramo de materia vegetal de cada planta, en las etapas de follaje y floración, las cuales se colocaron en bolsa ziploc con un trozo de mayordomo (para que absorba exceso de humedad). Una parte de este material se utilizó para la determinación histoquímica, cromatológica y la extracción. Se tomó otra porción, la cual se secó a la sombra (Salud, 2000).

6.4.2 Herborización

De las muestras botánicas de cada planta, se prepararon ejemplares de herborización. Esto se llevó cabo de la siguiente manera:

- Se colocaron los especímenes en medio de 2 hojas de papel periódico.
- Luego los especímenes, se pusieron en cartón corrugado.
- Se formó una pila, se amarraron y apretaron.
- Se transportaron a la secadora para librarse de la humedad de las plantas, evitando el desarrollo de hongos (Gattuso & Gattuso, 1999).
- Por último, se llevaron los especímenes desecados en papel texcote con su respectiva identificación al Herbario Biología de Guatemala (BIGU), donde se fueron identificadas y posteriormente quedaron almacenadas en dicho lugar.

6.4.3 Determinación de características organolépticas y macromorfológicas de las muestras frescas y secas

La determinación de las características macromorfológicas de la materia vegetal se llevó a cabo con lupa o estereoscopio, se revisaron y anotaron detalles para la identificación de la materia tales como: morfología, color, olor (Gattuso & Gatusso, 1999).

6.4.4 Determinación de características micromorfológicas e histológicas de las muestras frescas y las muestras secas

Se llevó a cabo cortes finos de la muestra, para dicho proceso se utilizaron hojas de afeitar. Dichos cortes se tiñeron con reactivos específicos, como lo son (Gattuso & Gatusso, 1999).

6.4.4.1 Ácido sulfúrico concentrado (Saponinas)

A la muestra se agregó 1 gota de ácido sulfúrico concentrado. Se pueden identificar también las saponinas por la producción de espuma persistente en soluciones acuosas levemente ácidas (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

Interpretación: Las saponinas tomaron primero, una coloración amarilla, a los 30 minutos roja y finalmente violeta o azul-verdoso (Gattuso & Gatusso, 1999).

6.4.4.2 Azul de cresil (Mucílagos)

Se realizaron cortes delgados de las hojas de la planta, se montaron entre porta y cubreobjetos usando una gota de azul de cresil al 1% (Paredes, 2005) (Gattuso & Gatusso, 1999).

Interpretación: las cavidades rellenas de mucílago, se tornaron a una coloración azul (Gattuso & Gattuso, 1999).

6.4.4.3 Dragendorff (Alcaloides)

Se realizaron cortes delgados de la planta, después de colocarlos en un portaobjetos, se agregó una gota de Dragendorff, se esperó unos minutos (Paredes, 2005) (Gattuso & Gattuso, 1999).

Interpretación: la existencia de alcaloides, se observó un precipitado rojo ladrillo (Gattuso & Gattuso, 1999) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

6.4.4.4 Lugol (Almidón)

Se utilizaron secciones del material de la planta, se colocaron en portaobjetos, al cual se le agregó una gota de reactivo de Yoduro de Potasio, luego se colocó el cubreobjetos y el montaje se observó en el microscopio (Gattuso & Gattuso, 1999) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

Interpretación: la presencia de almidón, se evidenció con una coloración de azul a negro, si es recién formado será color rojo a morado (Gattuso & Gattuso, 1999) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

6.4.4.5 Safranina (Tejidos)

Se llevaron a cabo cortes delgados de planta, se realizaron 5 lavados con agua destilada de 3 minutos cada uno. Luego de este lavado, se agregó una gota de solución de safranina al 1%, el cual se dejó por 5 minutos, se lavaron con agua destilada y se observó el tejido (Gattuso & Gattuso, 1999) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

6.4.4.6 Sulfato férrico (Taninos)

Se colocaron las secciones del material en solución cloruro férrico al 0.5 – 1.0% en 0.1 mL de Ácido clorhídrico durante 5 – 10 minutos. Se efectuó el montaje para observación en agua (Gattuso & Gatusso, 1999) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

Interpretación: el resultado positivo se evidenció a través de un precipitado de color azul-verdoso a negro (Gattuso & Gatusso, 1999).

Todas estas tinciones, se observaron al microscopio con aumento de 100X y 400X.

6.4.4.7 Reacciones confirmatorias de histoquímica en tubo

6.4.4.7.1 Taninos

En un beacker con agua, se colocaron hojas en fragmentos de la materia vegetal y se colocaron a hervir, se retiraron del fuego y se dejaron enfriar. Luego, se colocó 3 – 5 mL de la solución anterior en un tubo de ensayo, y se le agregó una gota de sulfato férrico. Se observó la reacción (Solis, 2005) (Gattuso & Gatusso, 1999).

Interpretación: El sulfato férrico permitió evidenciar la presencia de taninos, a través de un color azul que indicó la mayor concentración y un color verde menor la concentración de la sustancia (Solis, 2005).

6.4.4.7.2 Alcaloides

En un beacker con agua se colocaron hojas fragmentadas de la materia vegetal se dejó hervir por 2 minutos, y se retiró del fuego y se esperó hasta que se enfrió. A esta mezcla se le colocó de 3 – 5 mL de la solución anterior en un tubo de ensayo y agregar una gota de reactivo de Dragendorff. Observar la reacción (Solis, 2005) (Gattuso & Gatusso, 1999).

Interpretación: El Dragendorff es un reactivo que permitió evidenciar la presencia de alcaloides, un color rojo ladrillo indicando mayor concentración y el amarillo naranja menor concentración de la sustancia (Solis, 2005).

6.4.4.7.3 Flavonoides

Investigación de flavonoides y compuestos afines.

En un beacker se colocaron hojas fragmentadas de materia vegetal y se agregaron 10 mL de agua hirviendo, dejando enfriar. Se agregaron 3 mL de la solución anterior en un tubo de ensayo y se agregó de gota a gota, Hidróxido de sodio hasta que virara el color (Solis, 2005) (Gattuso & Gatusso, 1999).

Interpretación: Los extractos acuosos de pigmentos, mostraron variaciones de color cuando se les adicionó álcali, las flavonas y los flavonoles viraron a color amarillo, las isoflavonas variaron a diversos tonos de rojo, las chalconas a purpura rojizos y las antocianinas a azul (Solis, 2005).

6.4.4.7.4 Saponinas

En un beacker, se colocaron hojas fragmentadas de la materia vegetal, agregándoles agua hirviendo. Se colocaron 5 mL de la solución anterior a un tubo de ensayo y se agregó de 15 – 20 gotas de anhídrido acético y se mezcló. Luego se agregó cuidadosamente una gota de ácido sulfúrico concentrado y se mezcló suavemente (Solis, 2005) (Gattuso & Gatusso, 1999).

Interpretación: Se interpretó como una prueba positiva, una coloración azul a verde, para saponinas (Solis, 2005).

6.4.5 Metodología de observación de epidermis

Para este paso, se realizaron cortes con hoja de afeitar y se dejaron en un recipiente con cloro, a continuación se calentaron en baño de agua por 10 o 20 minutos o hasta que se tornaran transparentes. Posteriormente se lavaron con agua destilada y se les agregó safranina durante 10 minutos. Luego se lavaron con agua destilada dos veces y se pasaron por alcohol etílico al 30, 50, 70 % y etanol absoluto. Luego se agregó xilol (aclarador) (Gattuso & Gattuso, 1999).

6.4.6 Metodología de Semidiafanización

- Se colocó en un vaso de precipitado una mezcla de alcohol al 95% e hidróxido de potasio al 5% en partes iguales y se colocó en una estufa a 60°C durante media hora.
- Se Enjuagaron con agua tibia hasta que el líquido quedó límpido.
- Las muestras se montaron con gelatina – glicerina (Gattuso & Gattuso, 1999).

6.4.7 Metodología de Diafanización Strittmatter

Esta metodología se aplicó a las hojas de las plantas en estudio. Dicha metodología se utilizó con el fin de obtener una mejor observación de la histología de cada planta, ya que permite un aclaramiento en la hoja, permitiendo ver así toda su morfología (Gattuso & Gattuso, 1999).

El procedimiento utilizado fue

- El material se colocó en vasos de precipitado con alcohol al 96%, se llevó a ebullición en baño María durante 10 minutos.
- Luego se pasó a una solución de partes iguales de alcohol al 96% e hidróxido de sodio al 5% y a ebullición en baño María durante 10 minutos.

- Se lavó el material cuidadosamente con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quedo totalmente limpia.
- Con mucha precaución se introdujo el material a cajas de petri que contenía hipoclorito de sodio al 50%, y se dejo reposar por aproximadamente 15 minutos hasta que las hojas quedaron blanco-transparentes.
- Se lavaron varias veces en agua destilada cambiándola cada 3 minutos hasta eliminar el hipoclorito.
- Se removió la opacidad, introduciendo en hidrato de cloral al 5% durante 5 a 10 minutos como mínimo.
- Luego se colocó el material en etanol al 70% durante 10 minutos
- Se tiñó con safranina en etanol al 80% (5 g de safranina en 100ml de etanol al 80%) durante 15-20 minutos.
- Posteriormente se deshidrató en serie etanólica (95%,100%), durante 5 a 100 minutos cada vez.
- Y se sumergió en xilol, realizando dos baños de 5 minutos cada uno (Gattuso & Gattuso, 1999).

6.4.8 Determinación de aceites esenciales

Aceites esenciales, son compuestos que le confieren características aromáticas a cierto grupo de plantas. Químicamente, la mayoría se encuentran formados por monoterpenos, sesquiterpenos y algunos compuestos aromáticos. En esta investigación, se obtuvieron los aceites por medio de destilación por arrastre de vapor, expresión, enflorado e hidrodestilación, para lo cual se utilizó el destilador neoclevenger, llevando a cabo el siguiente proceso (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010):

6.4.8.1 Preparación de la muestra

- Se molieron 100 g de materia seca vegetal y se pesó 50 g del material molido.
- Se introdujeron a un balón de destilación de 1000 mL.

- Se les agregó aproximadamente de 400-500 mL de agua destilada hasta cubrir los 50 g del material (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).
- Se instaló el destilador de aceites esenciales, conectando el balón de destilación con el recipiente colector.
- Se conectó la bomba que circula la solución de enfriamiento por el refrigerante.
- Se llenó con agua el tubo N hasta el nivel B del tubo graduado.
- Se agregó 2 mL de un disolvente orgánico (hexano, pentano o xileno) en el tubo K utilizando una pipeta Pasteur y se colocó el tapón al tubo hasta que empezó a destilar el aceite.
- Se destiló a temperatura constante durante 2 – 3 horas o según lo que se especificaba en la literatura para cada especie, se mantuvo un flujo de destilación de 2 – 3 mL por minuto.
- Se determinó el tiempo de destilación a partir de que empezó a obtenerse el aceite.
- Se midió la capa superior de aceite esencial recogido en el recipiente graduado.
- Se esperó 10 minutos después de terminar el calentamiento antes de coleccionar el aceite.
- Se abrió la llave, se dejó caer el agua y se descartó dicha fracción. Se recibió la parte orgánica en un balón de 125 mL y se agregó al tubo K aproximadamente 1 mL del disolvente orgánico utilizado anteriormente, para lavar y arrastrar todo el aceite recuperado.
- Se eliminó el disolvente orgánico utilizando rotaevaporador.
- Se pesó el aceite obtenido, vertiéndolo en vial color ámbar y se almacenó a 4°C.
- Se determinó el porcentaje de rendimiento a partir del peso del aceite entre el peso de la materia vegetal por cien (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

6.4.9 Extracción de metabolitos secundarios

Los extractos fluidos también conocidos como extractos líquidos, son preparaciones de material vegetal que contienen alcohol como disolvente o como preservante, o ambos,

preparados de tal manera que cada mililitro contiene los constituyentes extraídos de un gramo del material crudo que representa (Solis, 2005).

6.4.9.1 Percolación

La materia cruda a ser extraída fue reducida a pedazos de un tamaño apropiado, si es necesario, luego se mezcló íntimamente con una porción del disolvente especificado y se dejó reposar por 15 minutos. La mezcla se transfirió a un percolador y se añadió cantidad suficiente del disolvente especificado para cubrir toda la masa sólida (Solis, 2005).

La mezcla se dejó percolar lentamente, cubriendo siempre la muestra con una capa de disolvente. El percolado se concentró, generalmente por destilación bajo presión reducida con temperaturas por debajo de los 60°C, de manera que los constituyentes de interés fueran sometidos a la menor cantidad de calor posible (Solis, 2005).

El tiempo de maceración y la tasa de flujo durante la percolación pueden variar para ajustar la cantidad y la naturaleza del material vegetal bajo extracción, siempre y cuando la composición de los constituyentes de interés extraídos no se vea comprometida (Solis, 2005).

6.4.10 Determinación de índice de estomas

El índice de estomas es una constante dentro de ciertos límites, que permite la caracterización de hojas por comparación con testigos o con valores ya tabulados (Solis, 2005).

Primero se debió diafanizar o semidiafanizar un trozo de hoja de alrededor de 5 x 5 mm. Se transfirió a un portaobjetos, cuidando que la epidermis inferior quedara orientada hacia arriba. Se montó con una gota de hidrato de cloral o con gelatina-glicerina. Luego de

realizado esto, se observó con un microscopio, utilizando el objetivo 40X y ocular 6X (Solis, 2005).

Se calculó el resultado con la siguiente fórmula

$$I = \frac{S \times 100}{E + S}$$

I = Índice de estomas

S = Número de estomas en una superficie determinada de la hoja

E = El número total de células epidérmicas en la misma área (incluyendo los tricomas que pudieran aparecer) (Solis, 2005).

6.4.11 Pruebas de pureza

6.4.11.1 Cenizas totales

Al incinerar la materia vegetal se produce una ceniza inorgánica. El porcentaje de ceniza producido es indicativo del cuidado tomado durante el procesamiento del material. El contenido de cenizas proporciona una idea sobre el contenido total de minerales en la muestra. El proceso se llevó a cabo de la siguiente forma:

6.4.11.2 Procedimiento

- Se marcaron los crisoles por la parte de abajo con crayón para identificarlos.
- Se ignicionó en mufla los crisoles de porcelana a 600°C por tres horas.
- Se dejó enfriar dentro de la mufla o en la desecadora hasta el día siguiente.
- Se tararon los crisoles y se anotó el peso exacto inicial de cada uno.
- Se midió la humedad de las muestras vegetales, la que debía estar por debajo del 10%.
- Se pesó en balanza analítica, dos gramos de material vegetal y se anotó el peso exacto.
- Se introdujeron los crisoles en la mufla e se ignicionó a 600°C por tres horas.

- Se dejó enfriar la mufla hasta el siguiente día.
- Se Sacaron los crisoles de la mufla y se inspeccionaron las cenizas obtenidas, si estas poseían una gama de color que vaya desde el gris rojizo hasta el blanco; se pesaron los crisoles y se anotó dicho peso.
- Si las cenizas obtenidas no fueron blancas, quiere decir que no se encontraban libres de carbón, entonces se debió de extraer la masa quemada con agua caliente.
- Se filtró el residuo por un papel filtro, y se apartó el filtrado.
- Se incineró en una estufa el residuo junto con el papel filtro, hasta que la ceniza se tornó blanca o casi blanca.
- Se agregó el filtrado que se aparto con anterioridad y se evaporó la sequedad.
- Se ignicionó de nuevo en la mufla a 600 °C.
- Cuando no se llegó a obtener una ceniza libre de carbón, se dejó enfriar el crisol en la desecadora y se añadió 15 mL. de alcohol.
- Se rompieron las cenizas con una varilla de vidrio.
- Se quemó el alcohol en estufa y otra vez se incineró a 600 °C en la mufla.
- Se enfriaron en la desecadora o en la misma mufla y se pesaron las cenizas obtenidas.
- Se calculó el porcentaje de cenizas totales a partir del peso utilizado de la materia vegetal (Paredes, 2005) (Gattuso & Gattuso, 1999).

Con esta fórmula

$$\% \text{ de cenizas: } \frac{\text{peso final} - \text{peso inicial del crisol vacío}}{\text{Peso exacto de la droga}} * 100$$

6.4.12. Humedad

La humedad hace referencia a la materia volátil que se elimina por calentamiento conduciendo a la pérdida de peso de la muestra. Esta materia puede estar constituida por agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes, materias aromáticas, componentes volátiles y productos de descomposición. Si existe exceso de agua en la muestra puede producirse

hidrólisis de sus constituyentes y se favorece el crecimiento de microorganismos (Paredes, 2005).

En esta investigación se empleó el método de termogravimetría para la determinación de humedad, a través de la implementación de los siguientes pasos:

- Se seleccionó una parte representativa del total de la muestra, se homogenizó y se mezcló.
- Se encendió el aparato y se seleccionó el programa de 15 minutos a 105°C.
- Se abrió la cámara y se colocó el platillo.
- Se determinó la tara del platillo y se agregó la muestra.
- Se colocó en el platillo una capa fina homogénea de aproximadamente 1–2 g.
- Se cerró el aparato y se determinó el peso inicial.
- Se inició el programa de secado y se esperó para leer el resultado.
- Se realizó el procedimiento por triplicado (Paredes, 2005) (Gattuso & Gattuso, 1999).

6.4.13 Determinación de metabolitos secundarios mediante el método de cromatografía en capa fina

Para esta metodología, se llevaron a cabo separaciones de compuestos, por medio de una capa fina de un material adsorbente, el cual estaba adherido a la placa de vidrio. El disolvente que se utilizó movió los compuestos que se separaron, esta separación se basó en la polaridad que cada sustancia contiene (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

6.4.13.1 Procedimiento

- Se activó la cromatoplaqueta en un horno a 110°C durante 15 a 30 minutos. Inmediatamente, se sacó y se dejó enfriar (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

- Se trazó una línea paralela a uno de los extremos de la cromatoplaca. Sobre ella se hicieron las marcas de las muestras, separadas 1.5 cm y se identificaron con números.
- Se aplicaron según orden pre establecido las muestras de los extractos vegetales que se iban a utilizar y muestras de estándares conocidos de los distintos metabolitos a evaluar. Se hicieron dos aplicaciones de cada una de las soluciones, utilizando para ello tubos capilares. Se dejó secar la primera aplicación antes de aplicar la segunda. El diámetro de la mancha de cada aplicación no debía medir más de 2 mm (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).
- Después de que las aplicaciones estuvieran secas, se colocó la cromatoplaca en un recipiente que contenía una pequeña cantidad de eluente. La cromatoplaca se introdujo con el extremo donde se aplicaron las muestras hacia abajo, de forma tal que el nivel del eluente quedaran por debajo de la línea de aplicación de las muestras (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).
- Se cerró el recipiente y se llevó a cabo la cromatografía hasta que el frente del eluente ascendiera a una distancia aproximada de 10cm (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).
- Se removió la cromatoplaca del recipiente y se marcó con un lápiz la posición del frente del disolvente, antes que se evaporara. Se dejó secar la cromatoplaca unos minutos a temperatura ambiente primero y luego se colocó en el horno a 80°C.
- Se roció la placa con solución reveladora. Se secó la cromatoplaca a temperatura ambiente y luego colocarla en un horno a 110°C, durante 5 minutos.
- En algunos casos se debió de colocar la placa bajo luz UV a la longitud de onda determinada por el procedimiento correspondiente.
- Se marcaron alrededor de las muestras con lápiz y se midió la distancia en cm, desde el centro de la mancha hasta la marca inicial. Se calculó el valor de Rf para las muestras.
- Con base en los valores de Rf obtenidos, se identificaron las muestras de las plantas con los controles (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010).

6.4.14 Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta de mayor interés. El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con disolventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y análisis por cromatografía en capa fina. Debe permitir la evaluación rápida, con reacciones sensible, reproducibles y de bajo costo (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010)

6.4.14.1 Investigación de Alcaloides

Ensayos macro y semimicro

- Se pesó 1 g de material vegetal.
- Se agregó 1 gota de solución de hidróxido de amonio al 10% (p/v).
- Se añadieron 25 mL de metanol a 60°C.
- Se filtró con papel filtro whatman 1.
- Se acidificó el filtrado con ácido clorhídrico 2 N.
- La solución que resulte de la mezcla anterior, se dividió en 4 tubos, evaluándolos de la siguiente manera
 - Tubo 1: se agregaron 5 gotas de reactivo de Mayer's. (Color blanco a crema)
 - Tubo 2: se agregaron 5 gotas del reactivo de Dragendroff. (Color rojo a naranja)
 - Tubo 3: se agregaron 5 gotas del reactivo de Wagner. (Color marrón)
 - Tubo 4: testigo.
- Se usó como estándar soluciones al 1% de Atropina y Papaverina.
- Se observó durante 2 horas para determinar la existencia de precipitados, turbidez o precipitación de complejos en los tubos.

6.4.14.1.1 Cromatografía en capa fina

- Se pesó 1g de material vegetal seco y molido.
- Se agregó 1 mL de Hidróxido de amonio (NH_4OH) al 10% (p/v) y se extrajeron con 5 mL de metanol.
- Se colocaron los tubos en baño María a 60°C durante 5 minutos.
- Se filtró y se concentró.
- Se aplicó en una placa de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizando como estándar una solución de atropina y papaverina al 1% en etanol (10 μL) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010)

Fase móvil

- Tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10)
- Acetato de etileno-metanol-agua (100:13.5:10)
- Cloroformo-dietilamina (90:10)
- Acetona-agua-amonio concentrado (90:7:3) (Medinilla, Cruz, & Oliva, 2010)

Detección

- Reactivo de Dragendorff: zonas café o naranja en vis, los colores no son estables.

6.4.14.2 Investigación de flavonoides y antocianinas

Ensayos macro y semimicro

- Se extrajeron 3 g de material vegetal pulverizado con 10 mL de etanol o metanol al 80%.
- Se filtró y se concentró.
- Se enfrió a temperatura ambiente y se trituró el residuo con 15 mL de éter de petróleo hasta que la extracción sea incolora.

- Se disolvió el residuo en 20 mL de metanol al 80%.
- Se filtró y se dividió en 7 tubos, de la siguiente manera:
 - Tubo 1: se agregó 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄).
 - Tubo 2: se agregaron de 3 a 5 gotas de cloruro férrico (FeCl₃) al 10% (pv)
 - Tubo 3: se agregó 0.5 mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado y se calentó en baño de maría por 5 minutos (prueba para leucoantocianinas).
 - Tubo 4: se agregó magnesio metálico y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado.
 - Tubo 5: se agregó un álcali a un extracto acuoso.
 - Tubo 6: se agregó solución de ácido bórico en anhídrido acético.
- Se evaluaron las reacciones, cambios de color y/o formación de precipitado comparados con el testigo (Gattuso & Gatusso, 1999).

Se produjo un cambio inmediato de color flavonas y flavonoides (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración (Gattuso & Gatusso, 1999)

6.4.14.2.1 Cromatografía en capa fina

- Se extrajo 1g de material vegetal seco pulverizado con 10ml de metanol por 5 minutos en baño maría a 60°C.
- Se filtró la solución y se aplicó sobre las cromatoplasmas de silicagel 60 F₂₅₄.
- Como estándar se empleó solución de flavonoides al 0.05 % en metanol (10 µL) (Quercetina, rutina, ácido clorogénico, hiperósido) (Gattuso & Gatusso, 1999)

Fase móvil

- Acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial – agua (100:11:11:27)
- N-butanol – ácido acético – agua (40:10:50)

- Acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial – etilmetilcetona – agua (50:7:3:30:10) (Gattuso & Gatusso, 1999)

Detección

- Reactivo de Productos Naturales (NP/PEG). Fluorescencia intensa en UV – 365nm.
 - Solución 1: solución metanólica al 1% de difenilboriloxietilamina (NP).
 - Solución 2: Solución etanólica al 5% de polietilenglicol 4000 (PEG) (Gattuso & Gatusso, 1999).

6.4.14.3 Investigación de Alcaloides de saponinas

Prueba con espuma

- Tubo 1: se agregó 100 mg de material vegetal pulverizado y seco.
 - Tubo 2: se agregó 2 mL de control de saponinas (0.5%).
 - Tubo 3: se agregó 2 mL de agua.
- A cada tubo se le adicionó 10ml de agua destilada.
 - Se calentó en baño de maría (60°C) durante 30 minutos.
 - Se enfrió, se taparon los tubos, y se agitaron vigorosamente 30 a 40 segundos.
 - Se dejó reposar los tubos durante 30 minutos.
 - Se observó la formación de capa de espuma. Si una capa de espuma mayor de 3 cm persistió en la superficie líquida después de 30 minutos se presumió la presencia de saponinas (Gattuso & Gatusso, 1999).

6.4.14.3.1 Cromatografía en capa fina:

- Se utilizaron 2 g de material vegetal seco.
- Se extrajo con 10 mL de etanol al 70% con reflujo por 10 minutos.

- Se evaporó a 5 mL y proceder a aplicar 25 – 40 µL en una cromatoplaaca de silicagel 60 F₂₅₄ (Gattuso & Gatusso, 1999).

Fase móvil

- Cloroformo – metanol – agua (64:50:10).
- N–butanol – ácido acético – agua (50:10:40).

Detección

- Reactivo de Komarowsky: zonas azules, amarillas y rojas. Vainillina – ácido sulfúrico y anisaldehído – ácido sulfúrico: zonas azules, violetas, amarillentas (Gattuso & Gatusso, 1999).

6.4.14.4 Investigación de taninos

Ensayos macro y semimicro

- Se extrajo 10 g de material vegetal pulverizado con 30 mL de etanol o metanol al 80%.
- Se filtró y evaporó a sequedad.
- Se añadió 25 mL de agua caliente al residuo y se agitó con varilla y se dejó enfriar.
- Se agregó 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10% y filtrar.
- Se adicionaron 3 mL del filtrado a 4 tubos de ensayo, de la siguiente manera
 - Tubo 1: testigo
 - Tubos 2: se agregaron 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1% (p/v).
 - Tubo 3: se agregaron 4 a 5 gotas de gelatina – sal (1% de gelatina y cloruro de sodio al 10%).
 - Tubo 4: se agregaron 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10% (p/v).
- Se observó la formación de precipitado y/o cambio de coloración.

- Con cloruro férrico: grisáceo-negro: catecol; negro-azulado: pirogalol (Gattuso & Gattuso, 1999).

6.5 Diseño Estadístico

Se realizó un muestreo por conveniencia, obteniendo 1 kg de material seco de cada espécimen vegetal. Se trabajó en el caso de *Lippia graveolens* con hojas, con *Petiveria alliacea* con hojas y raíz y *Tagetes lucida* con hojas y tallos, lo cual corresponde a la materia médica de cada espécimen. *Petiveria alliacea* se trabajó en la etapa de post-fructificación. *Lippia graveolens* en estado de floración y en el caso de *Tagetes lucida* se trabajó en etapa de follaje y en etapa de floración.

Se obtuvo un total de 7 muestras; dos muestras de *Petiveria alliacea* (hojas y raíz), una muestra de *Lippia graveolens* (hojas) y cuatro muestras de *Tagetes lucida* (tallos y hojas de follaje y floración). A dicho material se le realizaron tres repeticiones de las pruebas histoquímicas y una prueba confirmatoria en tubo, para evidenciar claramente las reacciones o características propias de cada espécimen.

El porcentaje de rendimiento de aceites esenciales se determinó para cada una de las plantas en estudio en las diferentes etapas fenológicas, a partir de material seco (con un tiempo de secado mayor o igual a 30 días) por medio del método de hidrodestilación utilizando el equipo Neoclevenger con un mínimo de tres corridas, reportándose el promedio para cada caso, que permitió determinar la identidad de *Petiveria alliacea*, *Tagetes lucida* y *Lippia graveolens*, por etapa fenológica.

El presente estudio es de tipo descriptivo, ya que solo se evaluaron ciertos parámetros determinantes en el control de calidad de la materia vegetal a investigar, dentro de los cuales se incluyeron las características cualitativas, es decir, la ausencia o presencia de los metabolitos secundarios de interés y los principales aceites esenciales.

7. RESULTADOS

Se realizó el análisis de tres especies de plantas guatemaltecas de uso medicinal, *Petiveria alliacea* (Apacín), *Lippia graveolens* (Orégano) y *Tagetes lucida* (Pericón); esta última en etapas fenológicas de follaje y floración.

7.1 Apacín (*Petiveria alliacea*) (Hoja y raíz)

7.1.1 Caracteres macroscópicos y organolépticos de identificación botánica

Hierba perenne, aproximadamente leñosa de 60 cm de alto, de tipo vascular, ramificado, tallos delgados (Fig. 1), fuerte olor aliáceo. Hojas simples con filotaxia alterna; tiene una forma elíptica a oblanceolada, ápice apiculado, base redondeada, peciolada; de margen o borde ondulado, de 7 a 9 cm de largo, 2 a 6 cm de ancho (Fig. 2). Posee raíz profunda y leñosa (Fig. 3).

Inflorescencias en racimos delgados, 10–35 mm de largo, poco floreadas; flores subsésiles o en cortos pedicelos, sépalos blanco-verduzcos, oblongo-lineares, 3-4 mm de largo. Frutos comprimidos en el raquis del racimo, angostamente cuneados y 8 mm de largo.

Tanto las hojas como la raíz, poseen un fuerte olor aliáceo. Las hojas tienen una coloración verde, aunque el haz es de una tonalidad más oscura. La raíz tiene coloración blanca-amarillenta.

7.1.2 Herborización

Se llevó a cabo una recolección de *Petiveria alliacea* en Samayac, Suchitepéquez (Anexo 1). La identificación se realizó en el Herbario Biología de Guatemala (BIGU), de la

Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC; donde se depositó un ejemplar de herbario (Fig. 4) con número 52519 (Anexo 2).



Fig. 1: Ejemplar de *Petiveria alliacea*. Samayac, Suchitepéquez

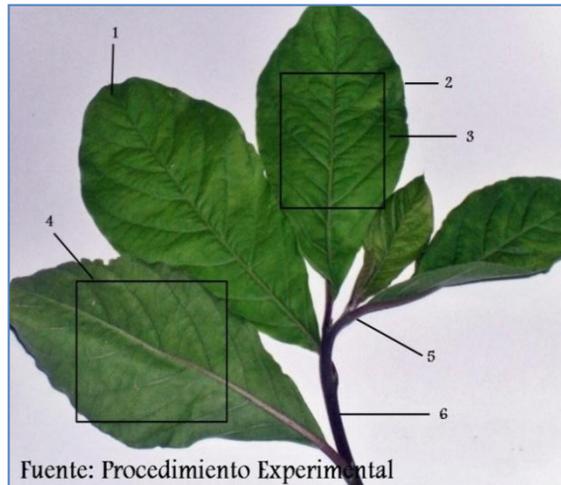


Fig. 2: Partes de la hoja de *Petiveria alliacea*. (1): ápice; (2): margen; (3): haz de la hoja; (4): envés de la hoja; (5): pecíolo; (6): tallo.



Fig. 3: Raíz de *Petiveria alliacea*.



Fig. 4: Ejemplar herborizado de *Petiveria alliacea*.

7.1.3 Análisis Macroscópico y organoléptico de la droga seca

La droga seca de la hoja de *Petiveria alliacea*, aumenta la tonalidad de la coloración verde, comparada con el espécimen fresco. Conserva su olor aliáceo, hojas delgadas y quebradizas al tacto (Fig. 5).

La droga seca de la raíz es fuertemente aromática, presenta un color blanquecino opaco, es quebradiza al tacto y con textura rugosa (Fig. 6).



Fig. 5: Materia vegetal seca de la hoja de *Petiveria alliacea*.

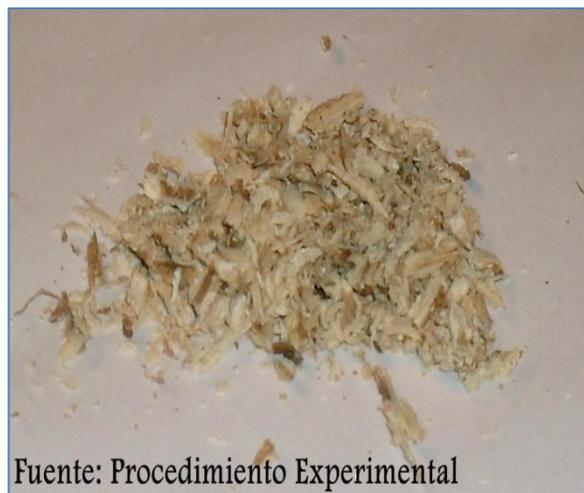


Fig. 6: Materia vegetal seca de la raíz de *Petiveria alliacea*.

7.1.4 Pruebas de pureza y porcentajes de rendimiento de la droga seca

Para la droga seca de *Petiveria alliacea* en estudio, se establecieron los siguientes parámetros: porcentaje de humedad experimental en la hoja de 9.90% y en la raíz 8.97%. El porcentaje de rendimiento del extracto vegetal 15.59%; cenizas totales 16.42% y en raíz 11.83%. El porcentaje de aceites esenciales de la hoja, fue de 0.68% (Cuadro 2).

7.1.5 Caracteres micromorfológicos e histológicos para la identificación

La hoja presenta venación cerrada reticulada de tipo broquidódroma (Fig. 7).

La hoja es hipostomática con mesófilo dorsiventral o bifacial con estomas de tipo paracíticos o rubiáceo (Fig. 8 y 14). En el corte transversal del mesófilo, se observa que la epidermis es uniestratificada, en ambas caras, aunque las células de la epidermis adaxial son más altas que las de la epidermis abaxial y presentan irregularidad en su estructura (Fig. 9 y 11). El parénquima en empalizada es uniestratificado e irregular (Fig. 11). La nervadura central presenta colénquima tipo lagunar, adyacente de epidermis tanto adaxial como epidermis abaxial. También presenta parénquima de almacenamiento. Los haces vasculares son de tipo colateral abierto dispuestos en forma de arco, (Fig. 10, 12 y 13). La raíz presenta cutícula, luego una capa de epidermis, células parenquimatosas en donde se observo un cristal de oxalato de calcio tipo estiloide, haces vasculares (xilema y floema) con distribución de tipo protoestela (Fig. 16).

El diafanizado de la hoja, presenta tricomas pluricelulares de tipo glandular y no glandulares o tectores en la epidermis abaxial. También se observaron cristales estiloides largos de oxalato de calcio en todo el mesófilo en regular cantidad. Por medio del diafanizado se observó también los estomas paracíticos o rubiáceo (Fig. 15).

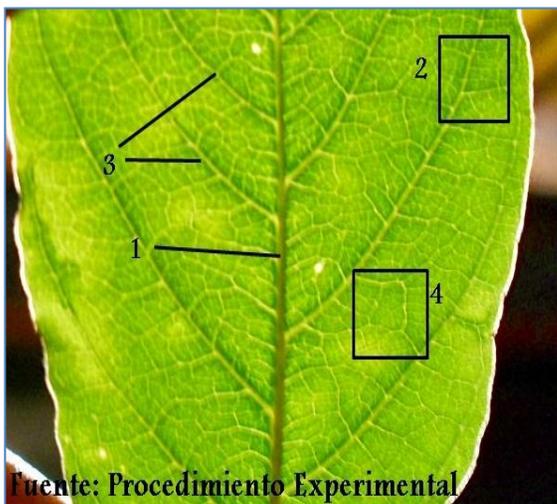


Fig. 7: Tipo de venación de la hoja de *Petiveria alliacea*, materia fresca. (1): vena primaria; (2): venación cerrada; (3): venas secundarias; (4): venación reticulada.

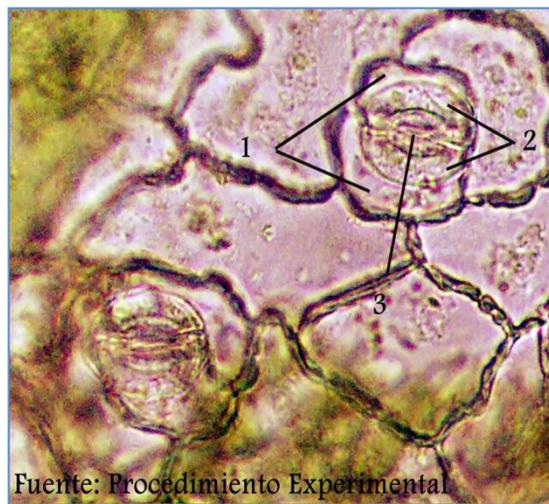


Fig. 8: Preparación en fresco de la hoja de *Petiveria alliacea*. Epidermis abaxial, se observan estomas tipo paracíticos. (1): células subsidiarias; (2): células oclusivas; (3): estoma. Aumento: 40X

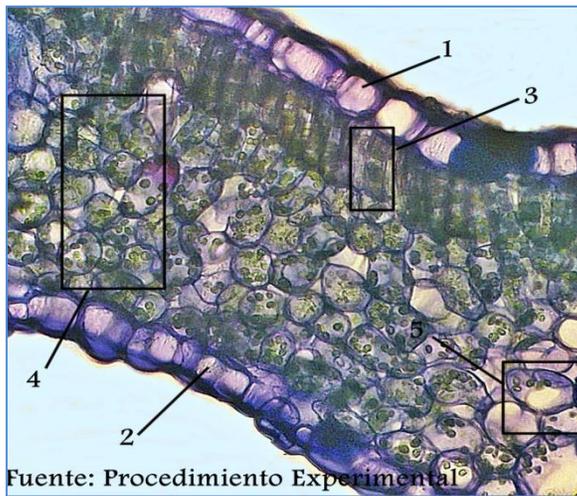


Fig. 9: Corte transversal del mesófilo de la hoja de *Petiveria alliacea*. (1): Epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3): parénquima en empalizada; (4): parénquima esponjoso; (5): célula con cloroplastos. Aumento: 40X.

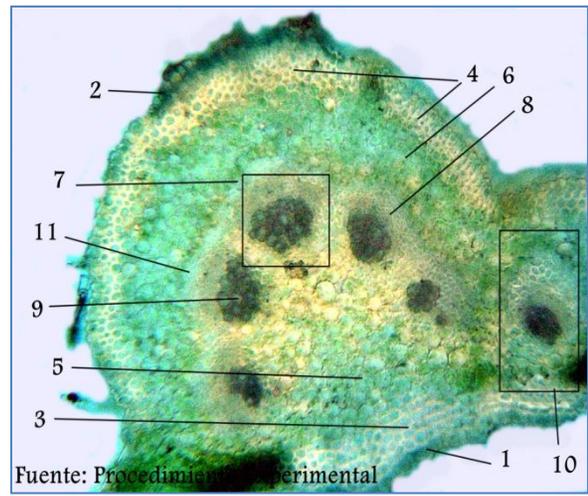


Fig. 10: Corte transversal de nervadura central de hoja de *Petiveria alliacea*. (1): epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3-4): colénquima; (5-6): parénquima; (7): haz vascular; (8): floema; (9): xilema; (10): crecimiento secundario de haz vascular; (11): esclerénquima. Aumento: 40X.

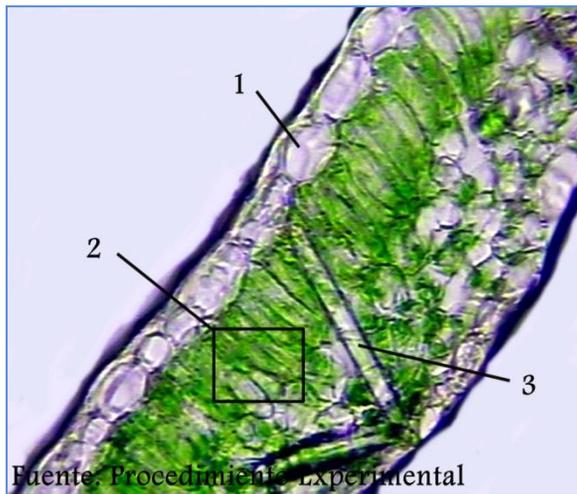


Fig. 11: Corte Transversal de la hoja de *Petiveria alliacea*. Estructura de la hoja (1): células de epidermis adaxial; (2): células irregulares del mesófilo en empalizada. (3): estiloide de oxalato de calcio. Aumento: 40X

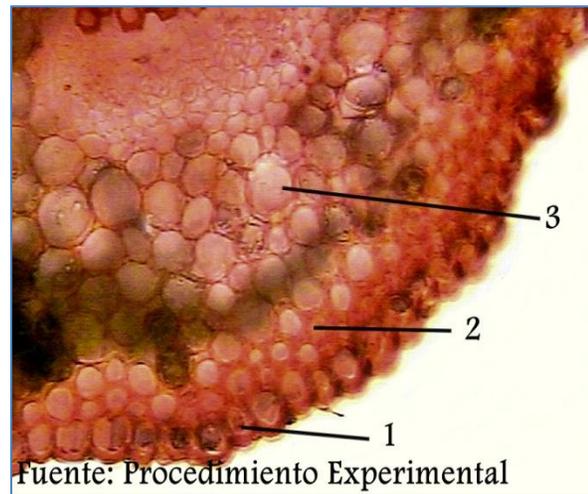


Fig. 12: Corte transversal de la nervadura central de la hoja de *Petiveria alliacea*. (1): Epidermis abaxial; (2): colénquima; (3): parénquima; (4): esclerénquima. Aumento: 40X.



Fig. 13: Corte transversal de la nervadura central de la hoja de *Petiveria alliacea*. Haz Vascular (1): Xilema; (2): floema. Aumento: 40X.



Fig. 14: Diafanizado de la hoja de *Petiveria alliacea*, estomas de la epidermis abaxial. Aumento: 40X

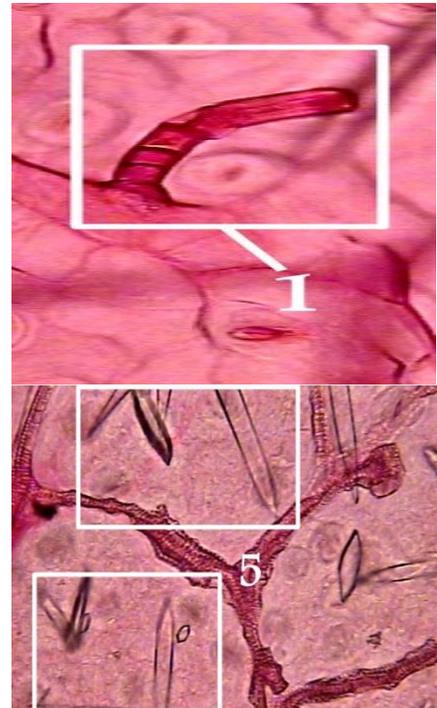


Fig. 14: Diafanizado de hoja de *Petiveria alliacea*, epidermis adaxial: tricomas y estiloides de oxalato de calcio. (1): tricoma pluricelular no glandular; (2): tricoma glandular cabeza unicelular; (3): tricoma no glandular bicelular; (4 y 5): cristal estiloide de oxalato de calcio; Aumento: 40X

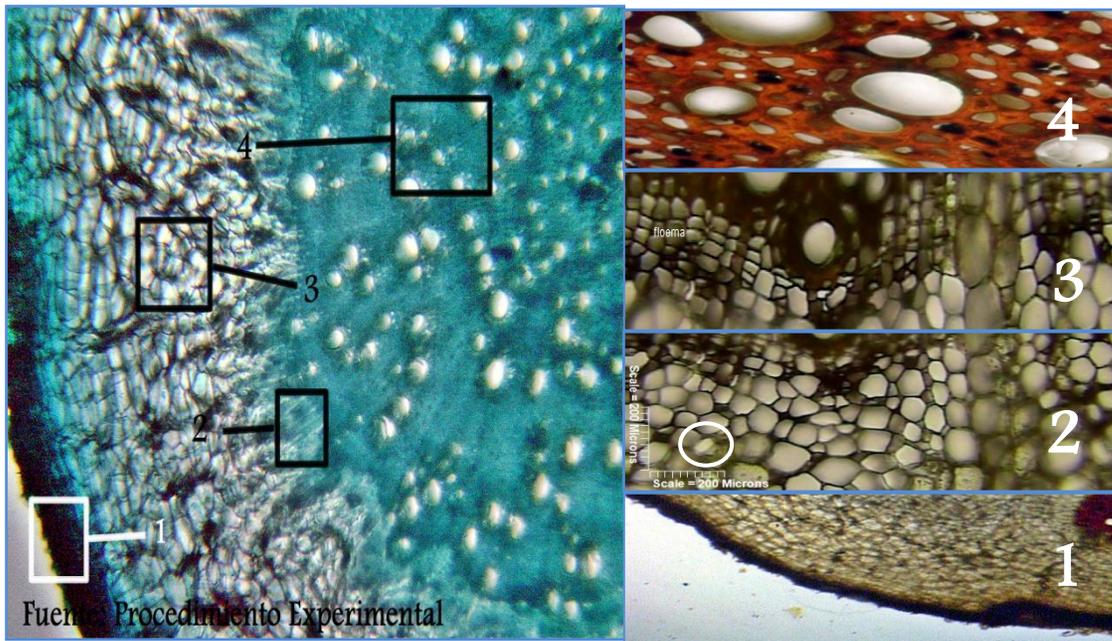
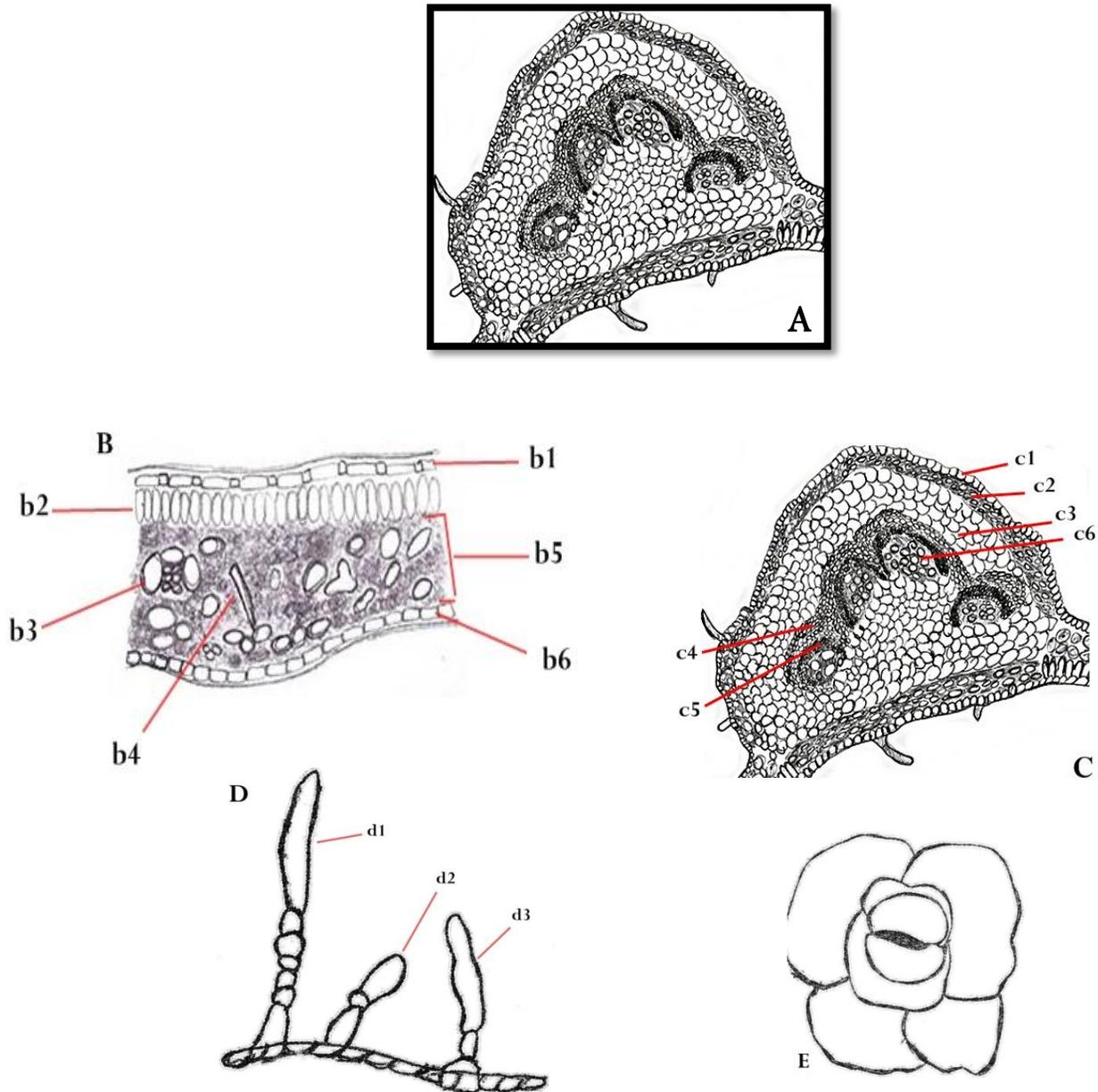


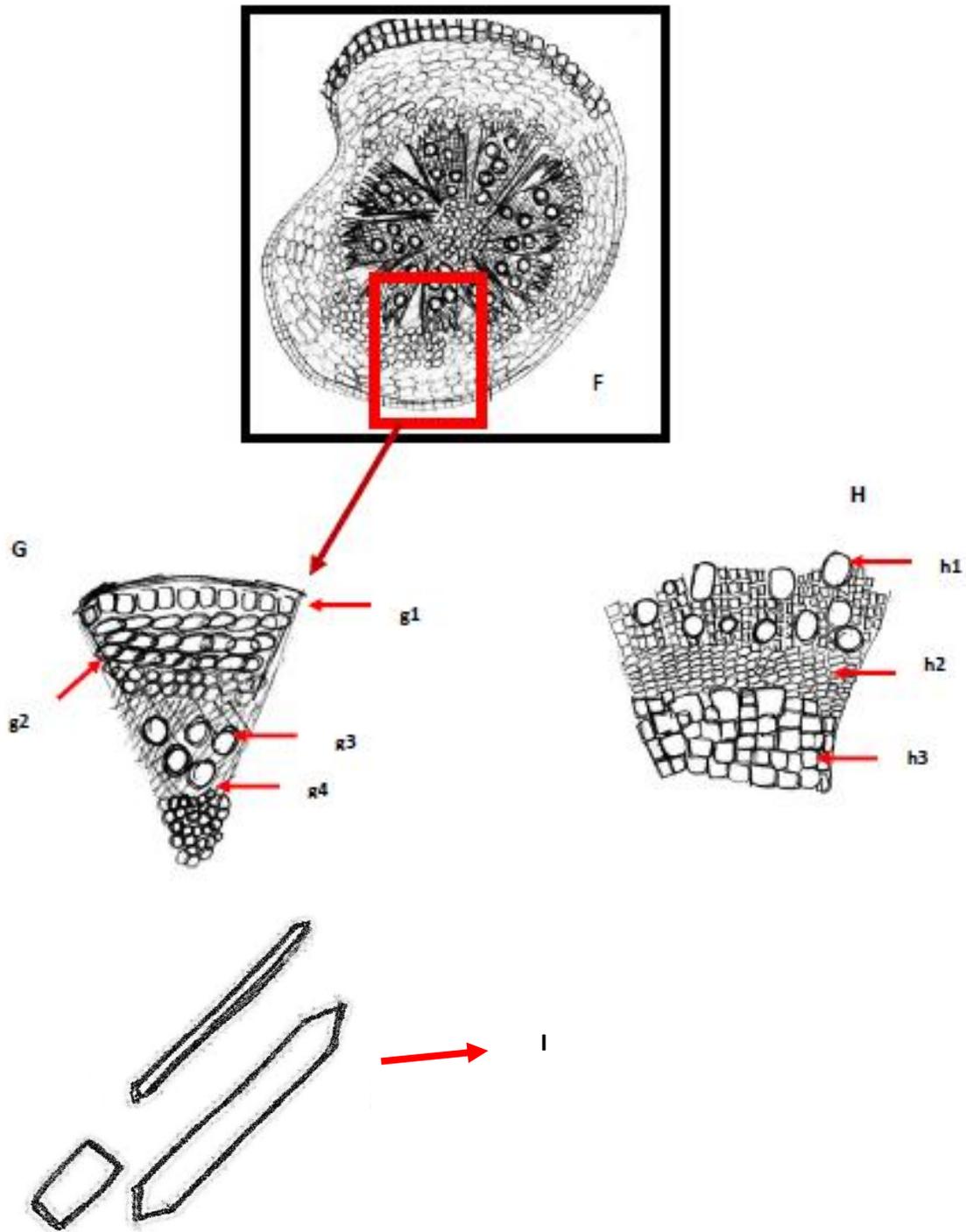
Fig. 16: Corte transversal de la raíz de *Petiveria alliacea*. (1): Epidermis con cutícula; (2): parénquima con un cristal de oxalato de calcio tipo estiloide; (3): floema; (4): xilema. Aumento: 40X.

7.1.6 Cartilla Micrográfica de hoja y raíz

Se presentan las figuras de elementos micrográficos, característicos de la droga vegetal de *Petiveria alliacea* (hoja y raíz).



A. Corte transversal hoja de *P. alliacea* B: Detalle corte transversal hoja; b1: epidermis; b2: parénquima en empalizada; b3: haz vascular; b4: cristal de oxalato de calcio; b5: parénquima. C: detalle corte transversal nervadura central; c1: epidermis; c2: colénquima; c3: parénquima; c4: esclerénquima; c5: floema; c6: xilema; c7: parénquima base. D: Detalle Tricoma. E: Detalle estoma tipo paracíticos.



F: corte transversal raíz; G: detalle corte transversal raíz vasos; g1: epidermis; g2: parénquima; g3: xilema; g4: floema. H: detalle sistema vascular: h1: xilema; h2: floema; h3: parénquima. I: detalle de Cristales de oxalato de calcio.

7.1.7 Tamizaje histoquímico de la hoja y raíz

Se realizaron pruebas de histoquímica tanto a la hoja como a la raíz de *P. alliacea*, llevando a cabo pruebas para alcaloides (reactivo Dragendorff), almidones (reactivo lugol), mucílagos (reactivo azul de cresil), saponinas (ácido sulfúrico) y taninos (sulfato férrico).

- a) Alcaloides: Se obtuvo resultado positivo en la nervadura central, encontrándose en mayor cantidad en el parénquima y en el xilema, así como en el colénquima (Fig. 17). En la raíz se encontraron positivos en xilema tanto primario como secundario, así como también en el floema (Fig. 22).
- b) Almidón: encontró positivo en parénquima esponjoso en la hoja, parénquima de almacenamiento y colénquima en la nervadura central (Fig. 18). Mientras que en la raíz se evidencio positivo en xilema (Fig. 23).
- c) Mucílago: Se evidenció su presencia en el colénquima y floema de la nervadura central (Fig. 19). En la raíz se encontraron positivos en el xilema (Fig. 24).
- d) Saponinas: La reacción fue positiva en todo el tejido de la hoja (Fig. 20). Al igual que en el tejido de la raíz (Fig. 25).
- e) Taninos: se presentaron positivo en el parénquima en empalizada (Fig. 21). Y la raíz evidenció taninos en el parénquima (Fig. 26).

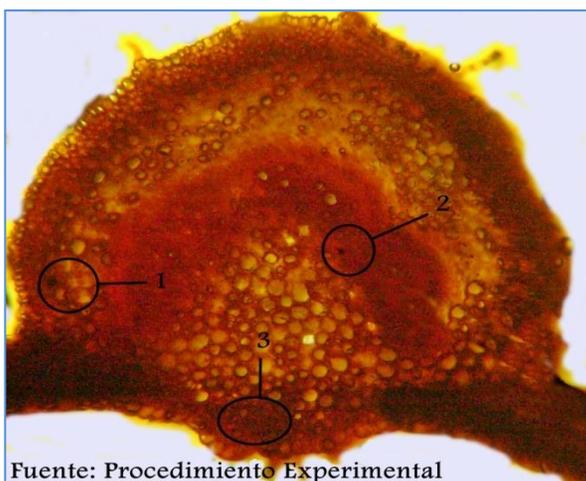


Fig. 17: Corte transversal de la hoja de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para alcaloides. (1): parénquima; (2): xilema; (3): colénquima. Aumento: 40X

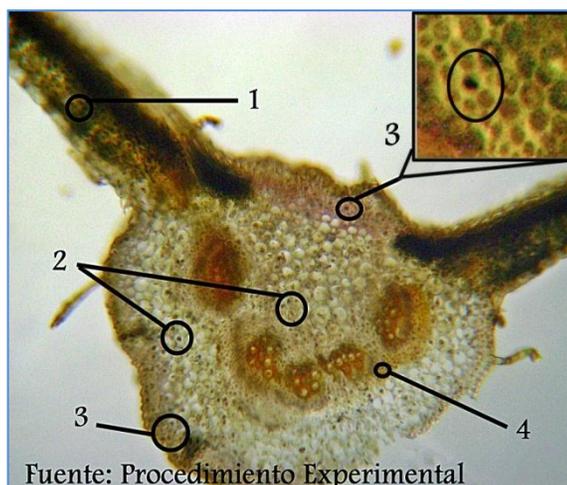
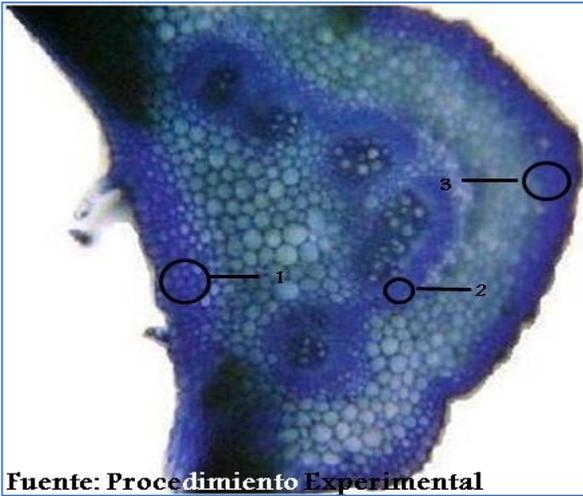
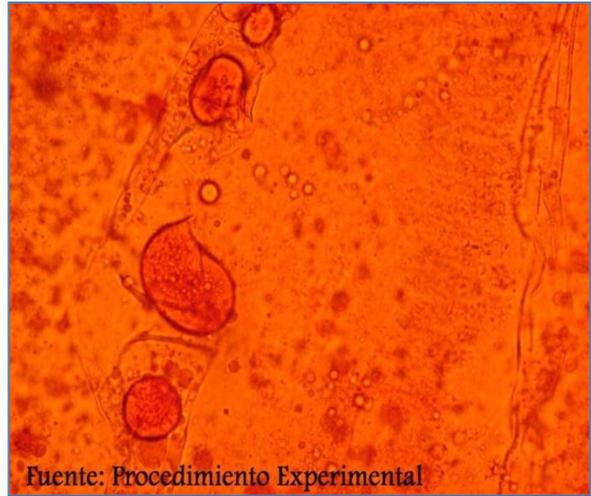


Fig. 18: Corte transversal de la hoja de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para almidones. (1): parénquima esponjoso; (2): parénquima de almacenamiento; (3): colénquima; (4): xilema. Aumento: 40X



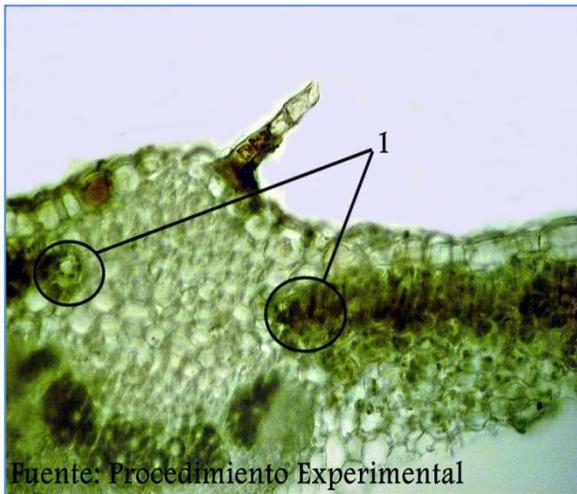
Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 19: Corte transversal de la hoja de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para mucílagos. (1): colénquima del haz; (2): floema; (3): colénquima del envés. Aumento: 40X



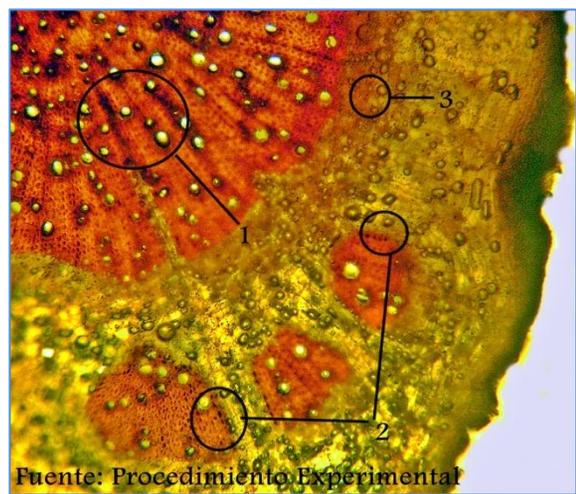
Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 20: Corte transversal de la hoja de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para saponinas. Aumento: 40X



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 21: Corte transversal de la hoja de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para taninos. (1): parénquima en empalizada. Aumento: 40X



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 22: Corte transversal de la raíz de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para alcaloides. (1): xilema primario; (2): xilema secundario; (3): floema. Aumento: 40X

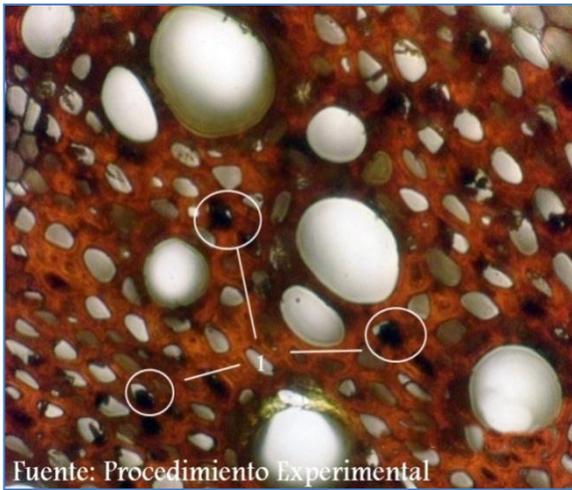


Fig. 23: Corte transversal de la raíz de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para almidones. (1): xilema. Aumento: 100X

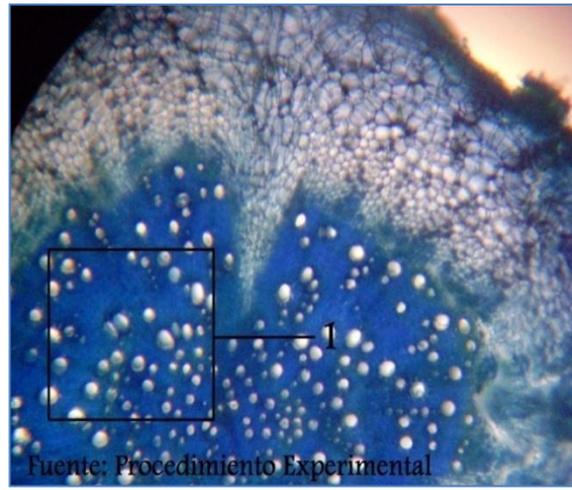


Fig. 24: Corte transversal de la raíz de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para mucílagos. (1): xilema. Aumento: 40X

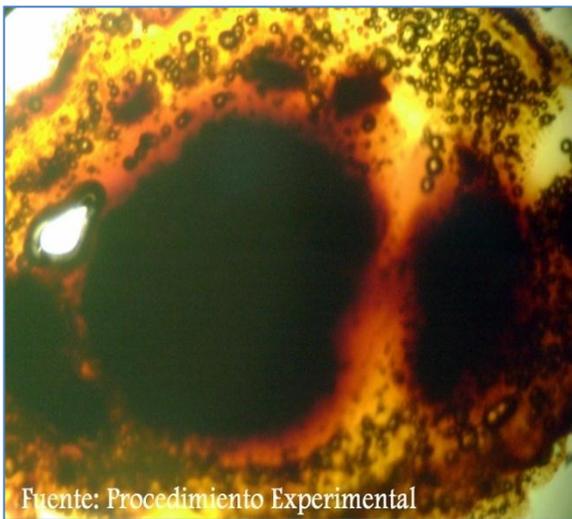


Fig. 25: Corte transversal de la raíz de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para saponinas. Aumento: 40X



Fig. 26: Corte transversal de la raíz de *Petiveria alliacea*. Reacción positiva para taninos. (1): parénquima. Aumento: 40X

7.2 Orégano (*Lippia graveolens*) (Hoja)

7.2.1 Caracteres macroscópicos y organolépticos de identificación botánica

Arbusto leñoso perenne de 1.60 m de alto, tipo vascular, ramificado, tallo leñoso semigrueso (Fig. 27), fuerte aroma picoso, característico de la planta. Hojas simples con filotaxia opuesta; de coloración verde, siendo de mayor intensidad en el haz que en el del envés; oblanceolada, ápice lanceolado, base obtusa, peciolada; margen o borde crenado, de 6 a 8 cm de largo, 3 a 5 cm de ancho. Posee una suave pubescencia que recubre ambas superficies de la hoja (Fig. 28).

Inflorescencia que tiene 2 – 5 pedúnculos, en axilas de hojas de 4 – 12 mm de largo, las espigas primero subglobosas pero que puede cambiar a oblongas. Brácteas de 4 hileras, ovadas a lanceoladas, glandulares y densamente pilosas. Cáliz glandular veloso; corola blanca, tubo estriguloso.

7.2.2 Herborización

Se llevó a cabo una recolección de *Lippia graveolens* en Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromáticas, Facultad de Agronomía, USAC (Anexo 1). La identificación se realizó en el Herbario Biología de Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC; donde se depositó un ejemplar de herbario (Fig. 29) con el número 52520 (Anexo 2).



Fig. 27: Ejemplar de *Lippia graveolens*. Colectada en Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromática, Facultad de Agronomía, USAC.

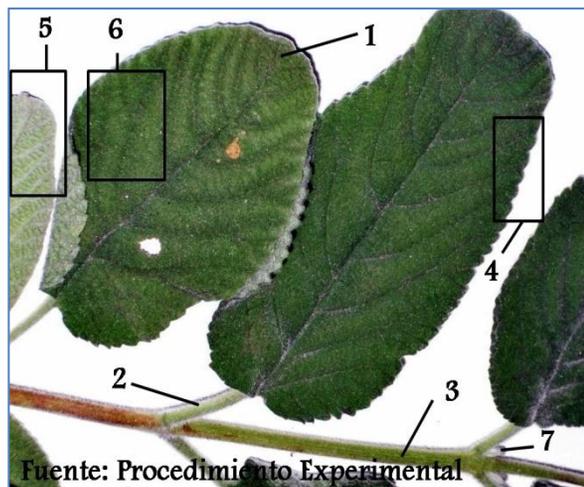


Fig. 28: Partes de la hoja de *Lippia graveolens*. (1): ápice; (2): pecíolo; (3): tallo; (4): margen; (5): envés de la hoja; (6): haz de la hoja; (7): estípula.

7.2.3 Análisis Macroscópico y organoléptico de la droga seca

La droga seca de la materia vegetal de *Lippia graveolens*, cambia su tonalidad de verde claro a verde fuerte, presenta olor característico ligeramente picante y fresco, las hojas son delgadas y quebradizas al tacto (Fig. 30).



Fig. 29: Ejemplar de herborización de *Lippia graveolens*



Fig. 30: Materia vegetal seca de *Lippia graveolens*

7.2.4 Pruebas de pureza y porcentajes de rendimiento de la droga seca

Para la droga seca de *Lippia graveolens* en estudio, se establecieron los siguientes parámetros: porcentaje de humedad experimental de 8.80%. Porcentaje de rendimiento del extracto vegetal 30.46%; cenizas totales 12.01%. El porcentaje de aceites esenciales obtenido, fue de 1.45% (Cuadro 2).

7.2.5 Caracteres micromorfológicos e histológicos para la identificación

La hoja de *Lippia graveolens*, presenta venación abierta reticulada simple, de tipo craspedódroma (Fig. 31).

La hoja es de tipo anfistomática con mésofilo dorsiventral o bifacial (Fig. 32 y 33), con estomas del tipo anisocítico o crucífero tanto en el haz como en el envés (Fig. 35 y 36). En el corte transversal del mesófilo, se observa que la epidermis es uniestratificada en ambas caras. El parénquima clorofílico en empalizada, se observa con una capa de células largas de en la epidermis adaxial y tres capas de parénquima esponjoso en la epidermis abaxial, aunque este último no tenga definida las tres capas a lo largo de la hoja (Fig. 32 y 33). La nervadura central presenta células de colénquima tipo anular, parénquima de almacenamiento. Posee un haz vascular con disposición bicolateral abierto (Fig. 32–34). Presenta tricomas glandulares o colectores unicelulares (con cabeza esférica), tricoma glandular bicelular (con cabeza bicelular) y tricomas no glandulares o tectores en abundante cantidad en toda la hoja (Fig. 37 y 38).

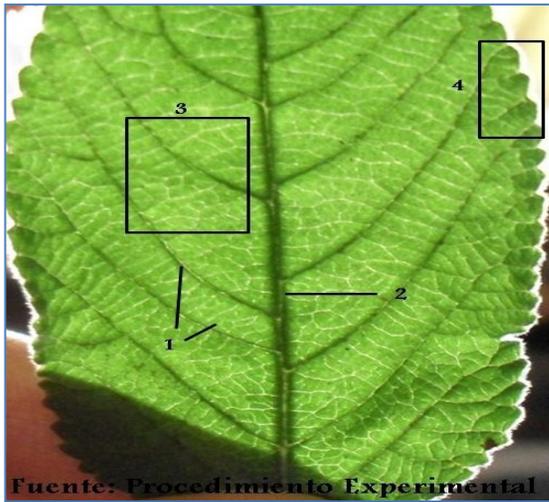


Fig. 31: Tipo de venación de la hoja de *Lippia graveolens*, materia fresca. (1): vena secundaria; (2): vena principal o primaria; (3): venación reticulada; (4): venación abierta.

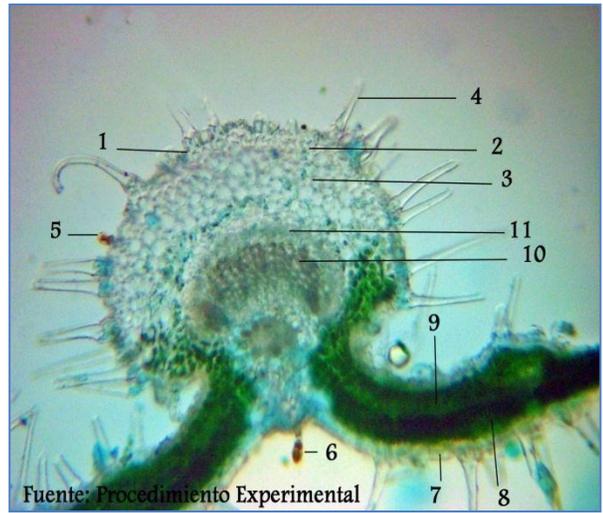


Fig. 32: Corte transversal de nervadura central de La hoja de *Lippia graveolens*. (1): epidermis abaxial; (2): colénquima; (3): parénquima; (4): tricoma no glandular; (5-6) tricoma glandular; (7): epidermis adaxial; (8): parénquima en empalizada; (9): parénquima esponjoso; (10): xilema; (11): floema. Aumento: 40X.

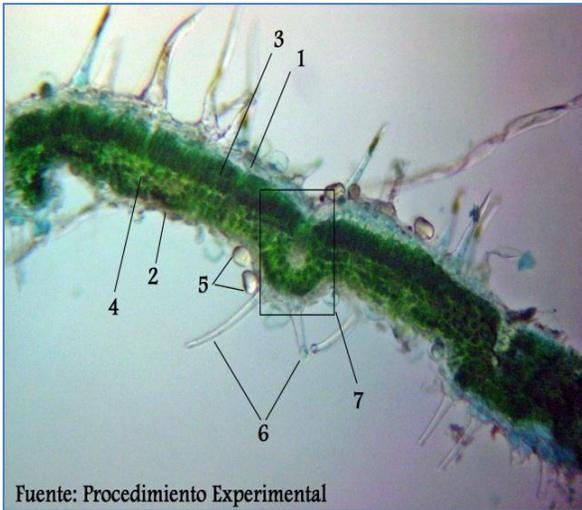
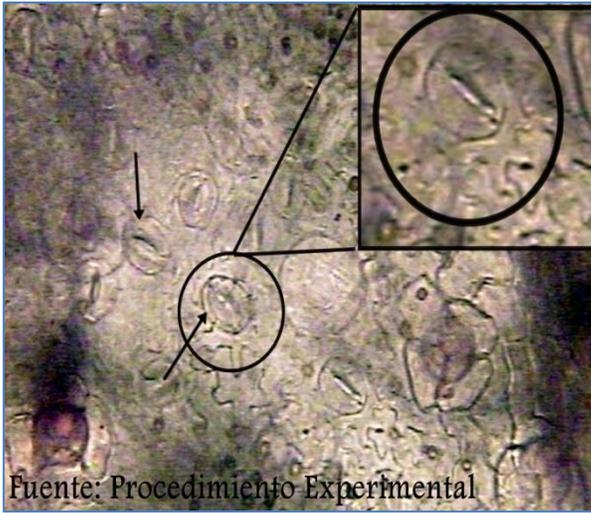


Fig. 33: Corte transversal de la hoja de *Lippia graveolens*. (1): epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3): parénquima en empalizada; (4): parénquima esponjoso; (5): tricomas glandulares o colectores; (6): tricomas no glandulares o tectores; (7): nervadura secundaria. Aumento: 40X

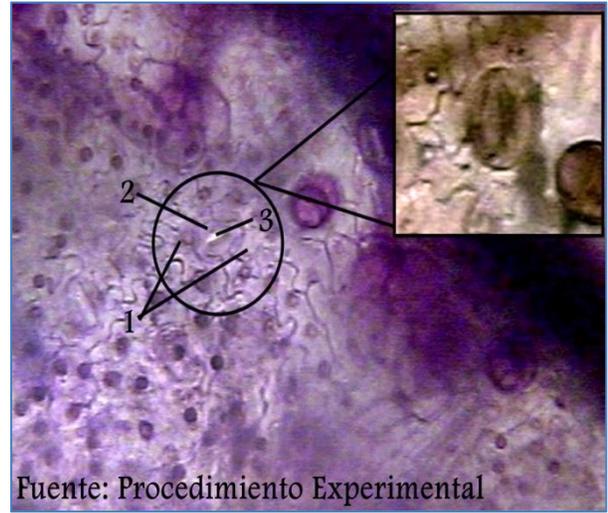


Fig. 34: Corte transversal de la nervadura central de la hoja de *Lippia graveolens*. (1): epidermis abaxial; (2): colénquima; (3): parénquima; (4): tricoma no glandular; (5): floema; (6): xilema; (7): epidermis adaxial. Aumento: 40X.



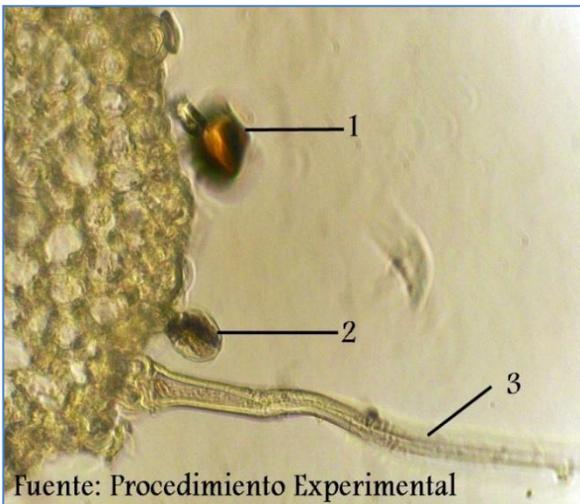
Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 35: Estomas tipo anisocítico de la epidermis adaxial de la hoja de *Lippia graveolens*. Aumento: 40X.



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 36: Estomas tipo anisocítico de la epidermis abaxial de la hoja de *Lippia graveolens*. (1): células subsidiarias; (2): estoma. Aumento: 100X



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 37: Corte transversal de hoja de *Lippia graveolens*. (1): tricoma glandular unicelular relleno de metabolito secundario; (2): tricoma glandular o colector, bicelular; (3): tricoma no glandular o tector. Aumento 40X

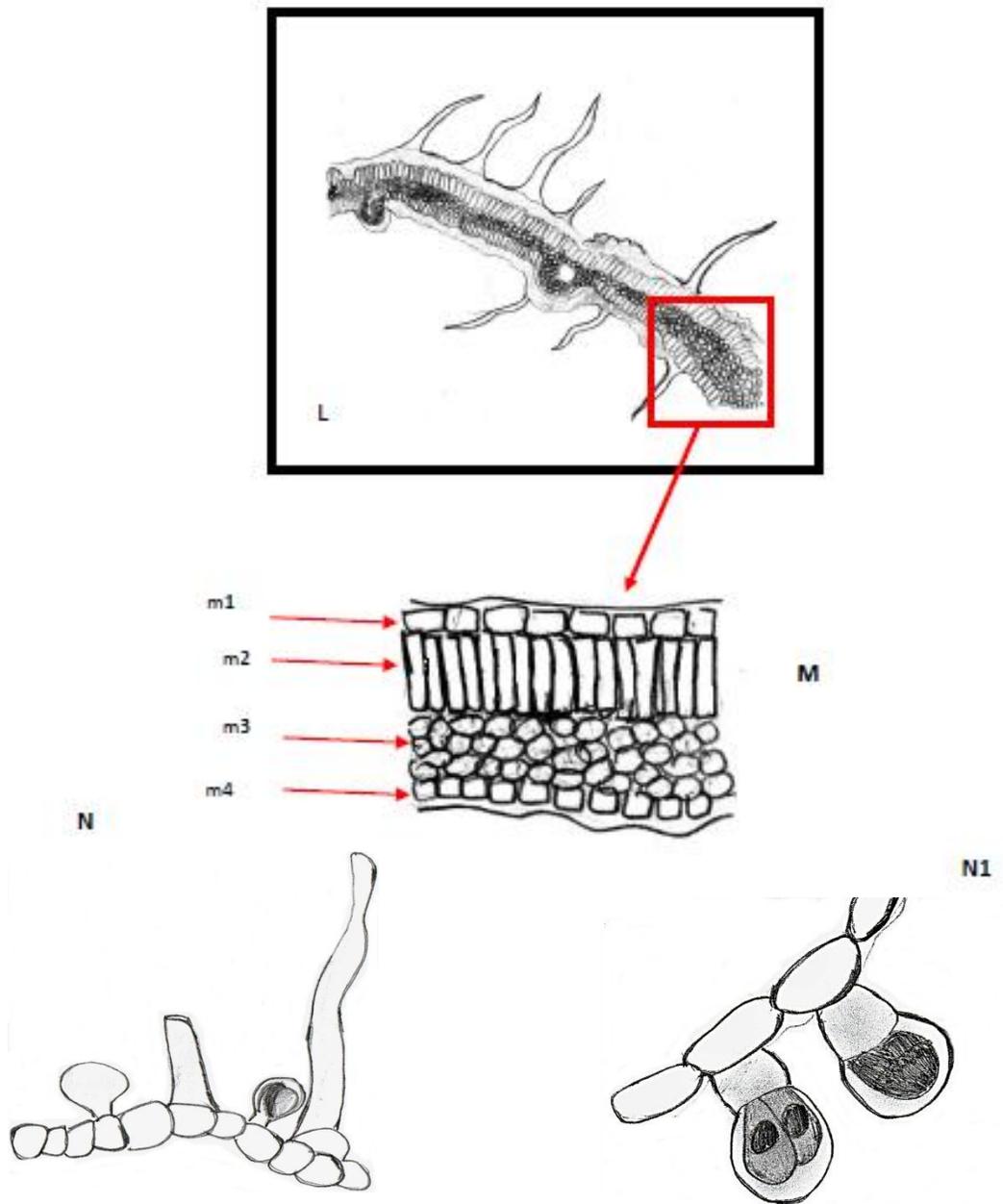


Fuente: Procedimiento Experimental

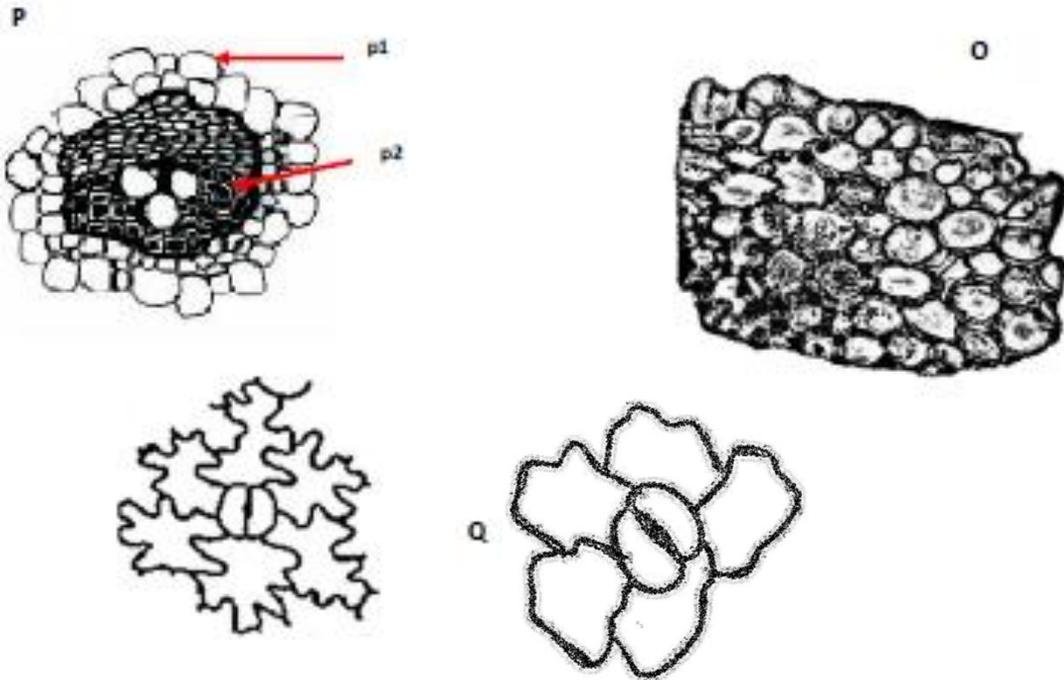
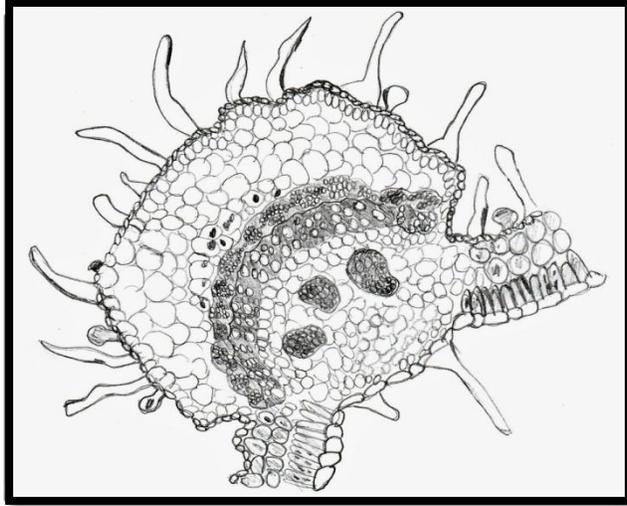
Fig. 38: Tricomas pluricelulares glandulares o colectores con cabeza bicelulares. Aumento: 40X

7.2.6 Cartilla Micrográfica de hoja

Se presentan las figuras de elementos micrográficos, característicos de la droga vegetal de *Lippia graveolens* (hoja).



L: corte transversal nervadura central *L.graveolens*. M: corte transversal epidermis, m1: epidermis adaxial; m2: parénquima en empalizada; m3: mesófilo; m4: epidermis abaxial. N: detalle de tricoma; tricoma atenuado N1: tricoma uniseriado.



O. corte transversal de epidermis, parénquima de almacenamiento. P: detalle sección transversal haz vascular; p1: floema; p2: xilema; Q: detalle estoma tipo anisocítico.

7.2.7 Tamizaje histoquímico de la hoja

Se realizaron pruebas histoquímicas en la hoja de *Lippia graveolens*, para evidenciar alcaloides (reactivo Dragendorff), almidones (reactivo de lugol), mucílagos (reactivo azul de cresil), saponinas (ácido sulfúrico) y taninos (sulfato férrico).

- Alcaloides: se evidenció reacción positiva y en mayor cantidad en el parénquima de la nervadura central (Fig. 39).
- Almidón: reacción positiva en el área del parénquima de almacenamiento en la nervadura central, parénquima en empalizada en el área de la hoja y en el colénquima que se encuentra debajo de la epidermis adaxial de la nervadura central (Fig. 40).
- Mucílagos: se evidencio una reacción positiva en epidermis abaxial, xilema y tricomas tipo glandulares o colectores bicelulares (Fig. 41).
- Saponinas: se obtuvo una reacción positiva en todo el tejido (Fig. 42).
- Taninos: se observó reacción positiva en tricoma glandular bicelular y en el parénquima en empalizada (Fig. 43).

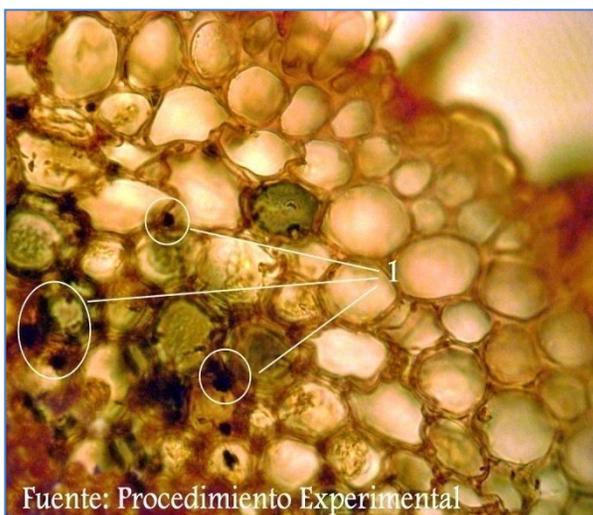


Fig. 39: Corte transversal de la nervadura central de la hoja de *Lippia graveolens*. Reacción positiva para alcaloides. (1): parénquima de almacenamiento. Aumento: 100X

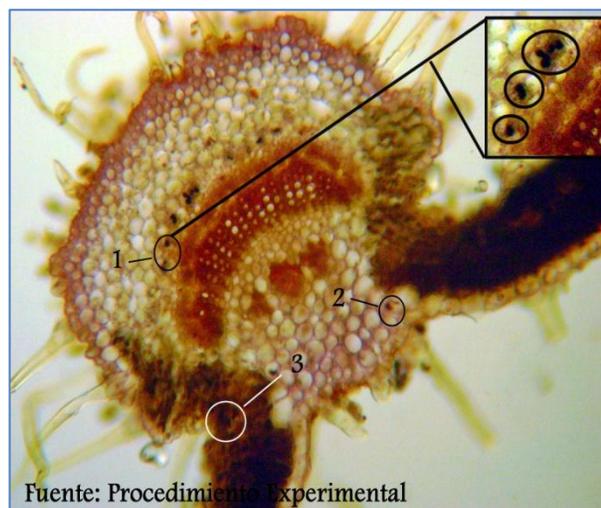
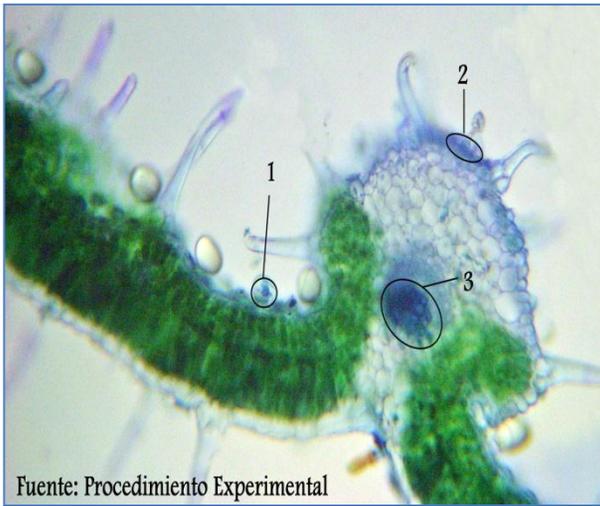
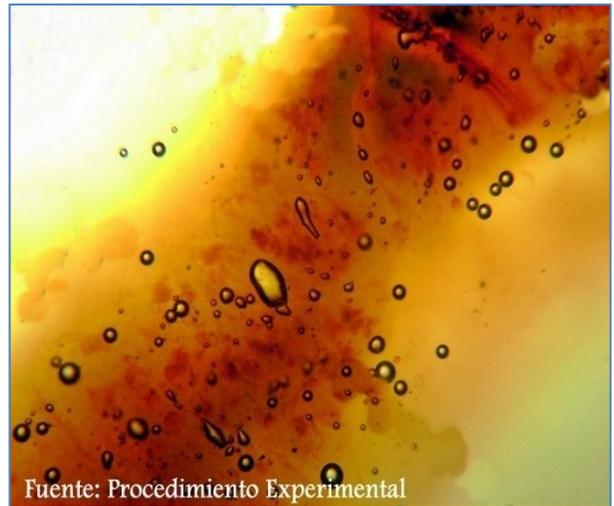


Fig. 40: Corte transversal de la hoja de *Lippia graveolens*. Reacción positiva para almidón. (1): parénquima de almacenamiento; (2): colénquima adaxial; (3): parénquima esponjoso. Aumento: 40X



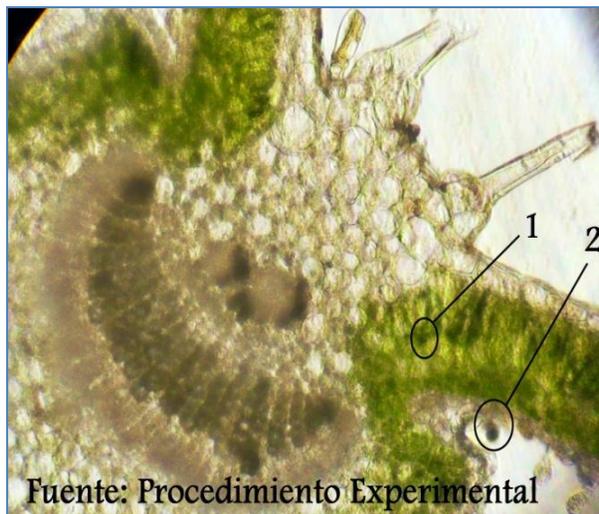
Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 41: Corte transversal de la hoja de *Lippia graveolens*. Reacción positiva para mucílagos. (1): tricoma glandular o colector; (2): epidermis abaxial; (3): xilema. Aumento: 40X



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 42: Reacción positiva para saponinas. Aumento: 40X



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 43: Corte transversal de la nervadura central de la hoja de *Lippia graveolens*. Reacción débilmente positiva para taninos. (1): parénquima en empalizada; (2): tricoma glandular o tector. Aumento: 40X.

7.3 Pericón (*Tagetes lucida*) (Hojas y tallo)

7.3.1 Descripción macroscópica y organoléptica de identificación botánica

Tanto en la etapa fenológica de floración como en la de follaje se puede describir como una hierba perenne de 45 a 58 cm de alto, tipo vascular, ramificado, tallo delgado (Fig. 44 y Fig. 45), tiene un fuerte aroma anisado. Posee hojas simples con filotaxia opuesta; presentan coloración verde, aunque la intensidad que posee el haz es mayor que la que posee el envés; tiene forma oblanceolada, el ápice es agudo, base ligulada, es sésil ya que no posee peciolo y el limbo sale directamente de la rama; margen o borde dentado, de 3 – 5 cm de largo, 2 a 3 de ancho. A trasluz se observa una gran cantidad de glándulas oleosas. Su superficie es levemente suave (Fig. 46-48).

En la etapa de floración se observan flores liguladas de color amarillo con inflorescencia tipo colimbo; su cáliz es tubuloso, ya que posee forma de tubo; según su corola es dialipétala, ya que los pétalos no están unidos. Es hermafrodita, perianto tipo diclamídea, gineceo inferovárico, su simetría es radiada tipo trímera. Estambres diandras, y soldadura de estambres libres. (Fig. 49-51).

7.3.2 Herborización

La recolección de *Tagetes lucida*, se llevó a cabo Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromáticas, Facultad de Agronomía, USAC (Anexo 1). La identificación se realizó en el Herbario Biología de Guatemala (BIGU), Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC; donde se depositó un ejemplar de herbario (Fig. 52), con el número 52521 (Anexo 2).



Fig. 44: Ejemplar de *Tagetes lucida* en etapa fenológica de floración. Colectada en Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromática, Facultad de Agronomía, USAC.



Fig. 45: Ejemplar de *Tagetes lucida* en etapa fenológica de follaje. Colectada en Colección y Huerto Productivo de Plantas Medicinales y Aromática, Facultad de Agronomía, USAC.



Fig. 46: Tallos, hojas y flores frescas de *Tagetes lucida* en floración.



Fig. 47: Tallos, hojas y flores frescas de *Tagetes lucida* en follaje.

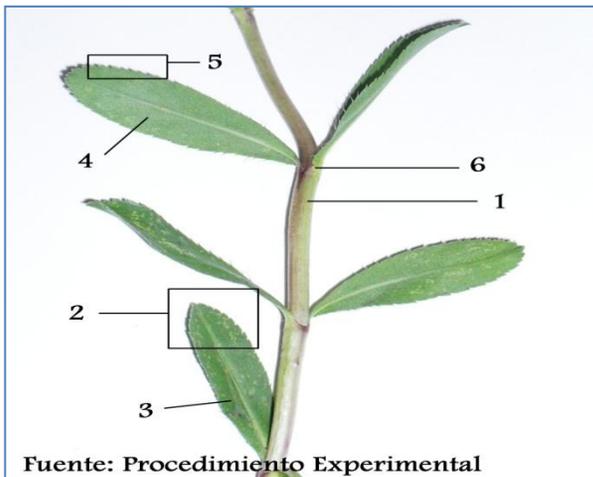


Fig. 48: Partes del tallo y hoja de *Tagetes lucida*. (1): Tallo; (2): ápice; (3): haz de la hoja; (4): envés de la hoja; (5): borde; (6): base sécil.



Fig. 49: Flores amarillas dialipétalas tubulares de *Tagetes lucida*.



Fig. 50: Inflorescencia de *Tagetes lucida*.



Fig. 51: Ejemplar en fresco de la flor de *Tagetes lucida*.



Fig. 52: Ejemplar de herborización de *Tagetes lucida* en floración.

7.3.3 Análisis macroscópico y organoléptico de la droga seca

La droga seca de la materia vegetal de *Tagetes lucida*, cambia su tonalidad de verde fuerte a un verde un poco más suave, mientras que el color de las flores, se intensifica. El olor característico anisado, persiste. La consistencia de hojas es quebradiza al tacto (Fig. 53 y 54).



Fig. 53: Materia vegetal seca de *Tagetes lucida* en floración.



Fig. 54: Materia vegetal seca de *Tagetes lucida* en follaje.

7.3.4 Pruebas de pureza y porcentajes de rendimiento de la droga seca

Para la droga seca de *Tagetes lucida* en estudio, se establecieron los siguientes parámetros: porcentaje de humedad experimental 9.0% en la etapa de floración, mientras que en follaje 9.08%. El porcentaje de rendimiento del extracto vegetal 27% en floración y en follaje de 5.04%; cenizas totales en floración 8.62%, mientras que en etapa de follaje 10.58%. El porcentaje de aceites esenciales obtenido fue de 0.84% en floración y para follaje 0.75%. (Cuadro 2).

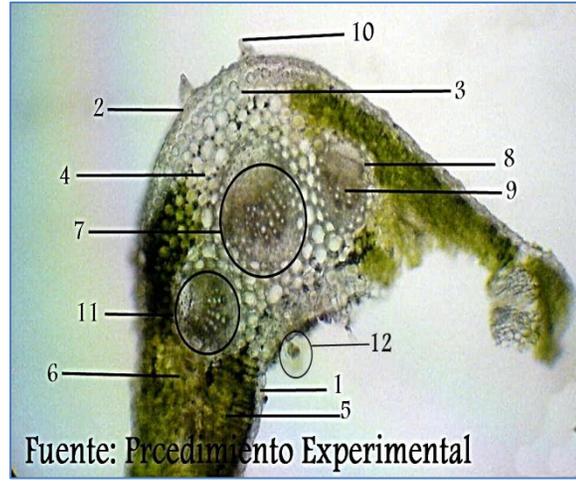
7.3.5 Caracteres micromorfológicos e histológicos para la identificación

La hoja de *Tagetes lucida* es hipostomática, posee mesófilo es unifacial o isolateral. Posee una venación abierta reticulada, pinnada y caspedódroma (Fig. 55). Epidermis uniestratificada en ambas superficies de la hoja, posee una capa de parénquima en empalizada debajo de epidermis adaxial y otra bajo la epidermis abaxial (Fig. 56 y 57). También posee parénquima esponjoso y cavidades secretoras de aceite esencial (Fig. 59).

Presenta estomas de dos tipos, anisocítico o crucífero y anomocítico en la epidermis abaxial. La nervadura central, presenta parénquima de almacenamiento y colénquima tipo laminar; haz vascular tipo colateral abierto (Fig. 56 y 58). Se observaron tricomas tanto glandulares como no glandulares en la parte de la nervadura central que sobresalen de la epidermis adaxial (Fig. 56 y 58). En cuanto al tallo, se puede observar que posee colénquima tipo laminar; también posee esclerénquima tipo braquiesclereidas, que son los más frecuentes en los tallos (Fig. 62 y 64). El tallo posee una forma sifonostela ectofloica, donde el cilindro está formado por floema fuera del xilema y posee médula parenquimática (Fig. 63-65).

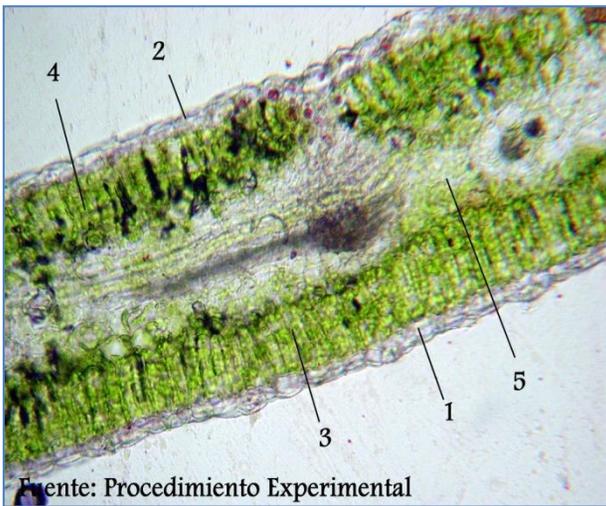


Fig. 55: Tipo de venación de la hoja de *Tagetes lucida*, materia fresca.



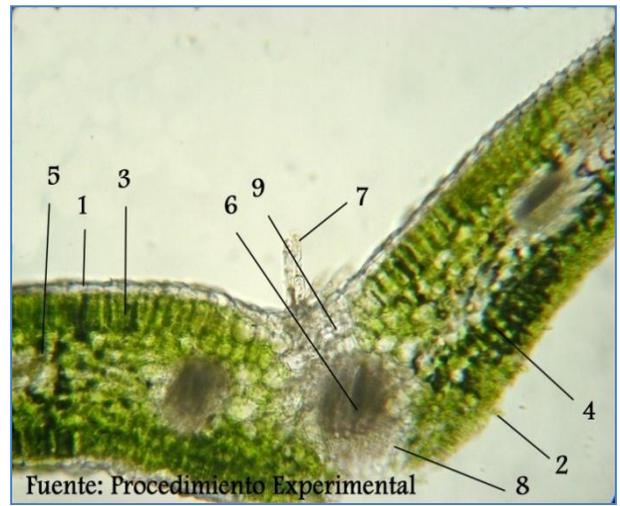
Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 56: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. Nervadura central y parte de hoja. (1): epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3): colénquima laminar; (4): parénquima de almacenamiento; (5): parénquima en empalizada; (6): parénquima esponjoso; (7): haz vascular; (8): floema; (9): xilema; (10): tricoma no glandular o tector; (11): haz vascular de crecimiento secundario; (12): tricoma glandular. Aumento: 40X.



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 57: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. (1): epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3-4): parénquima en empalizada; (5): parénquima esponjoso. Aumento: 40X.



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 58: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. (1): epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3-4): parénquima en empalizada; (5): parénquima esponjoso; (6): haz vascular; (7): tricoma no glandular o tector; (8): parénquima de almacenamiento; (9): colénquima. Aumento: 40X.

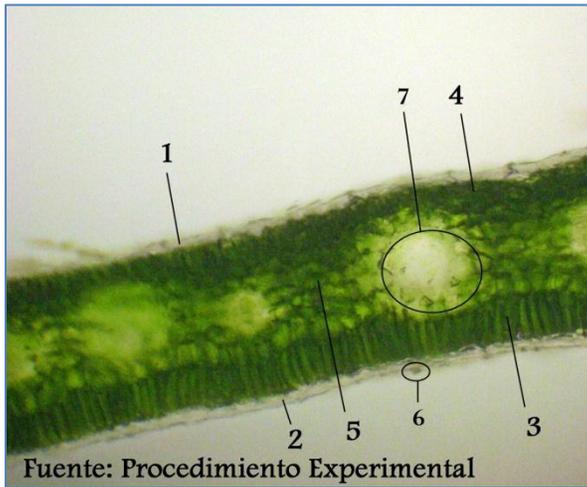


Fig. 59: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. (1): epidermis adaxial; (2): epidermis abaxial; (3-4): parénquima en empalizada; (5): parénquima esponjoso; (6): estomas elevados; (7): cavidad secretora de aceites esenciales. Aumento: 40X.

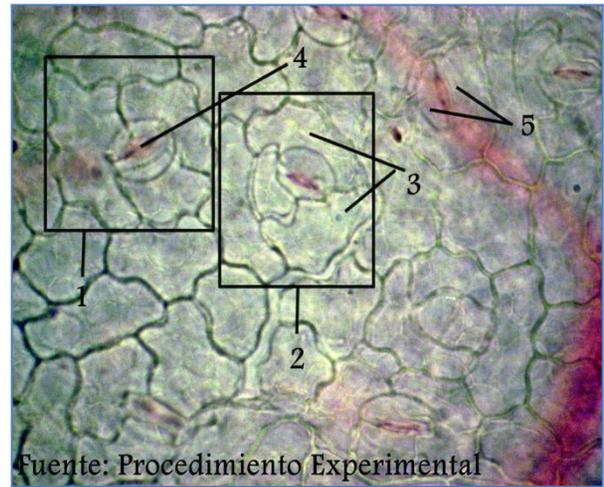


Fig. 60: Diafanizado de hoja: Estomas tipo anisocítico y anomocítico de *Tagetes lucida* en floración. (1): estoma anomocítico; (2): estoma anisocítico; (3): células subsidiarias; (4): estoma abierto; (5): células oclusivas. Aumento: 100X.

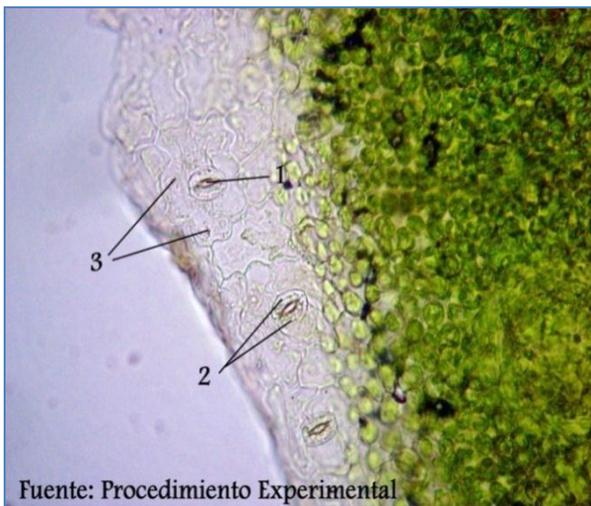


Fig. 61: Preparación en fresco de la hoja de *Tagetes lucida*. Estomas tipo anisocítico o crucífero. (1): estoma abierto; (2): células oclusivas; (3): células adyacentes o subsidiarias. Aumento 100X.

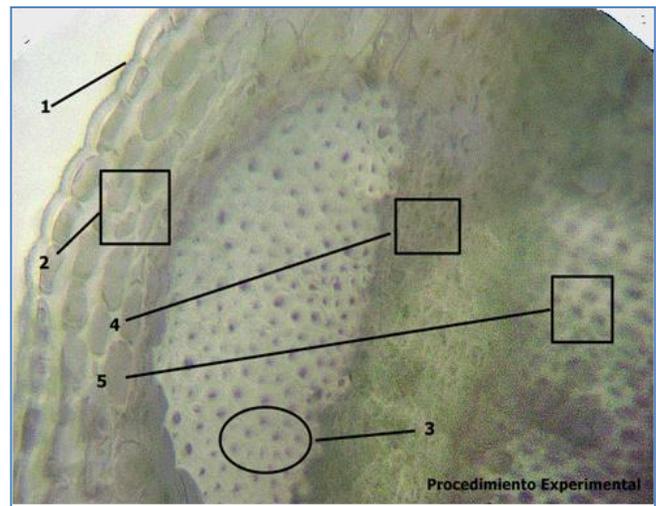


Fig. 62: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. (1): epidermis; (2): colénquima laminar; (3): esclerénquima; (4): floema; (5): xilema. Aumento: 100X.

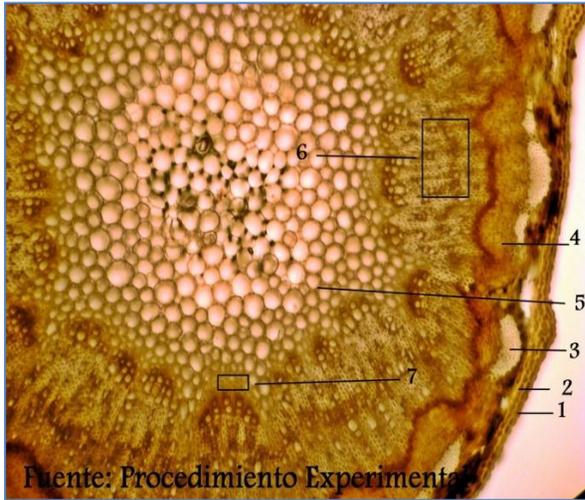


Fig. 63: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. (1): epidermis; (2): colénquima laminar; (3): esclerénquima; (4): floema; (5): parénquima medular; (6): xilema; (7): floema. Aumento: 100X.

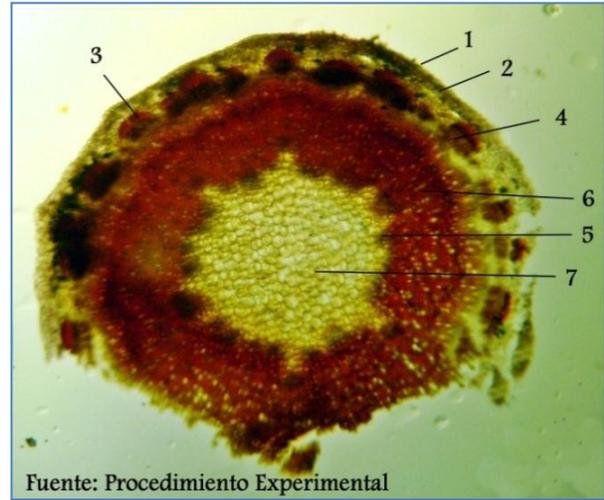


Fig. 64: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. (1): epidermis; (2): colénquima laminar; (3): esclerénquima; (4-5): floema; (6): xilema; (7): parénquima medular. Aumento: 40X.

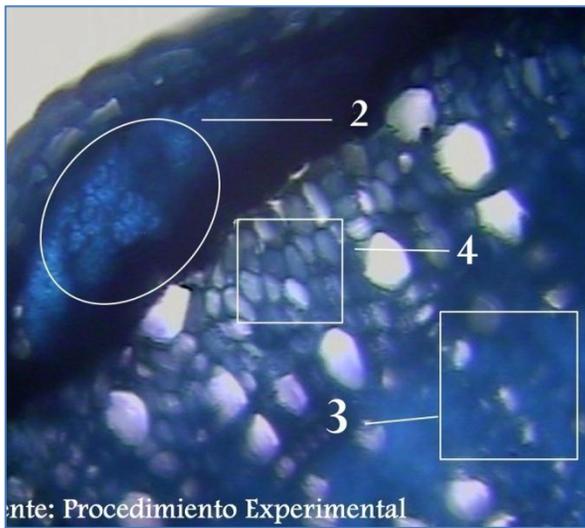
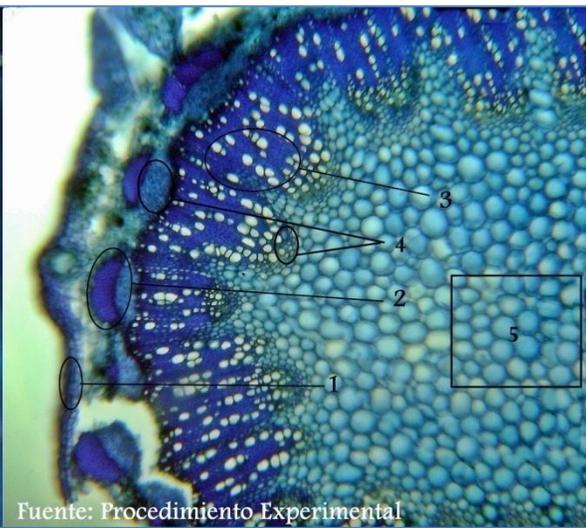
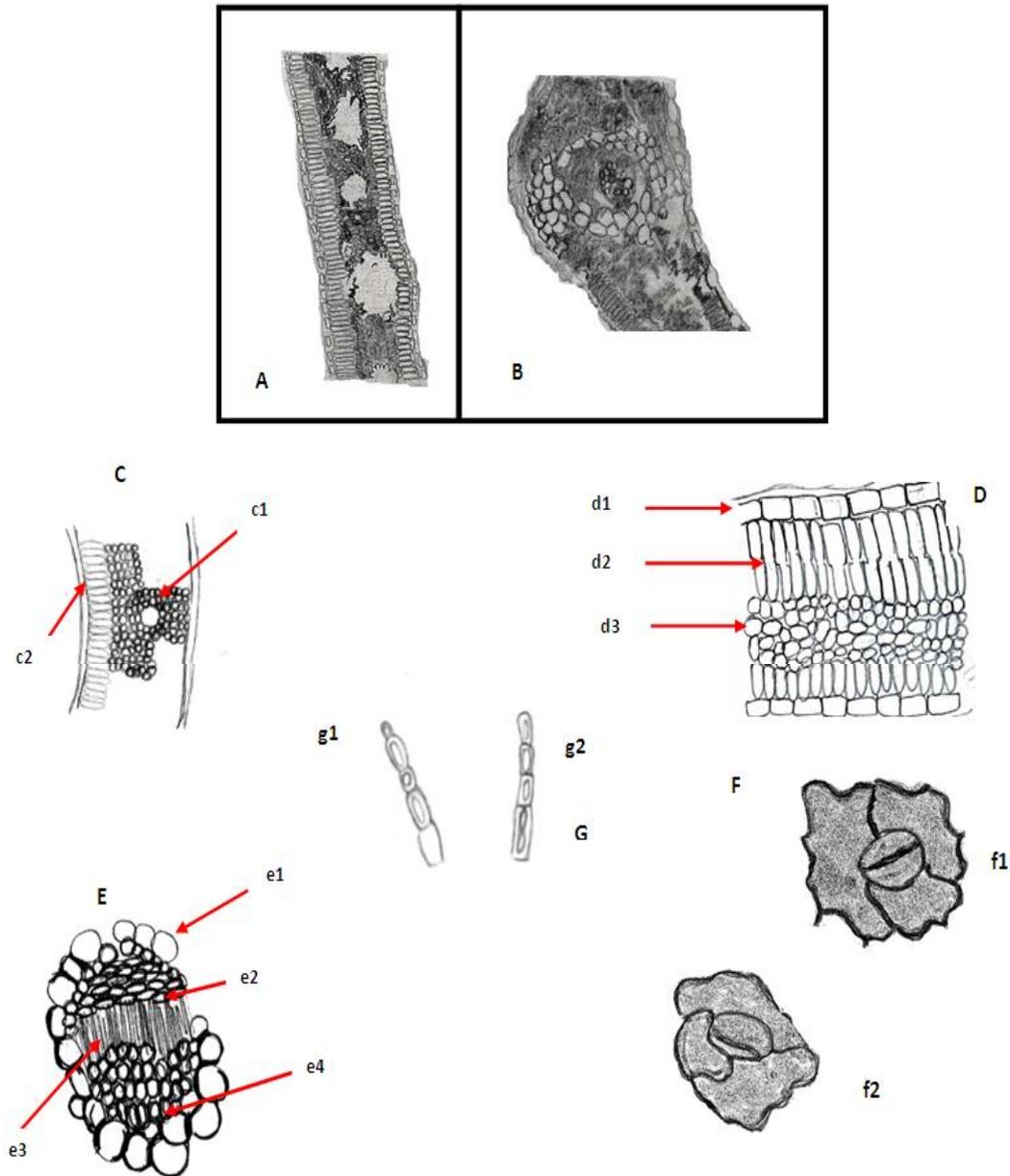


Fig. 65: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. (1): epidermis; (2): esclerénquima; (3): xilema; (4): floema; (5): parénquima medular. Aumento: 100X.

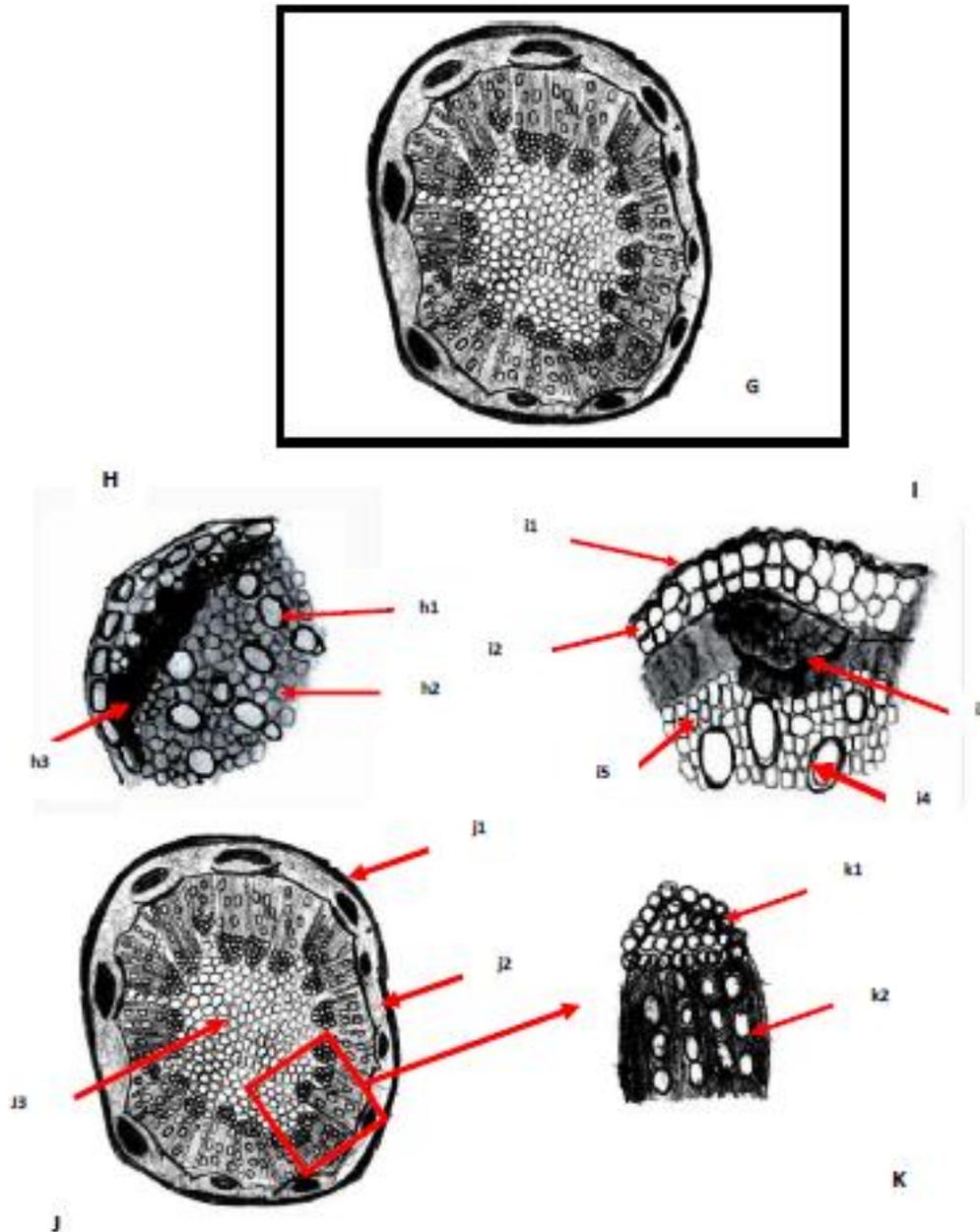


7.3.6 Cartilla Micrográfica de hoja y tallo

Se presentan las figuras de elementos micrográficos, característicos de la droga vegetal de Pericón (hoja y tallo)



A. Corte transversal: Hoja Pericón. B. Corte transversal Nervadura Central. C. Detalle corte transversal; c1: cavidad aceite esencial (estructura secretoria); c2: epidermis. D. Detalle del mesófilo: d1: epidermis; d2: parénquima en empalizada; d3: parénquima esponjoso. E. Detalle vaso conductor; e1: células del haz; e2: esclerénquima; e3: floema; e4: xilema. F. Detalle estoma: f1: estoma aomocítico. f2: estoma anisocítico. G. Detalle de tricoma: g1: tricoma glandular. g2: tricoma no glandular.



G. Corte transversal: Tallo Pericón. H. Detalle tallo; h1: floema; h2: xilema; h3: esclerénquima. I. Detalle tallo; i1: colénquima; i2: epidermis; i3: esclerénquima; i4: floema; i5: xilema. J. Corte Transversal de tallo; j1: Colénquima; j2: epidermis; j3: parénquima medular. K: haz vascular; k1: xilema; k2: floema.

7.4.7 Tamizaje histoquímico de la hoja y tallo *T. lucida* en follaje

Se realizaron pruebas de histoquímica tanto a la hoja como al tallo de *T. lucida*, llevando a cabo pruebas para alcaloides (reactivo Dragendorff), almidones (reactivo lugol), mucílagos (reactivo azul de cresil), saponinas (ácido sulfúrico) y taninos (sulfato férrico).

- a) Alcaloides: se encontró positividad en el parénquima tanto en empalizada como esponjoso (Fig. 66). En el tallo, se observaron en mayor cantidad en xilema y médula parenquimática (Fig. 71).
- b) Almidón: se evidenció positivo en parénquima esponjoso como en el parénquima en empalizada (Fig. 67). En tallo, la positividad se observó en colénquima laminar y en el floema (Fig. 72).
- c) Mucilago: se presentó positivo en la epidermis adaxial y en esclerénquima del haz vascular (Fig. 68). En cuanto al tallo, se evidenció en el xilema (Fig. 73).
- d) Saponinas: la reacción fue negativa (Fig. 69). En el tallo se presentó positiva (Fig. 74).
- e) Taninos: se presentaron positivo en el parénquima en empalizada (Fig. 70). El tallo, evidenció los taninos en la epidermis, floema, colénquima y xilema (Fig. 75).

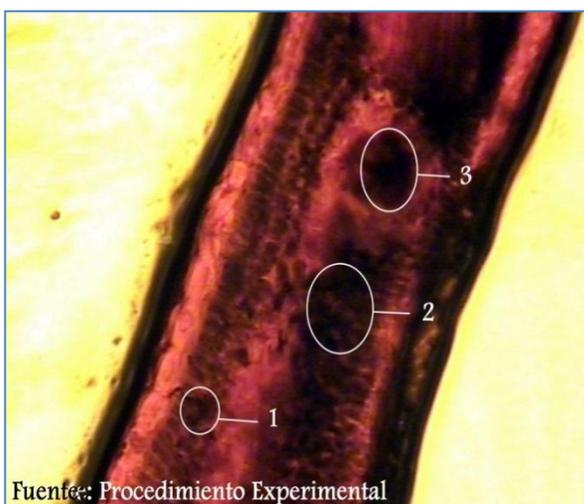


Fig. 66: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para alcaloides. (1): parénquima en empalizada; (2): parénquima esponjoso; (3): haz vascular. Aumento: 40X.

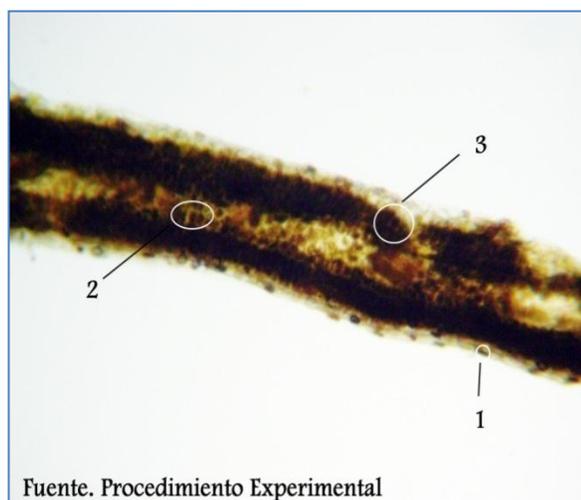


Fig. 67: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para almidón. (1): epidermis; (2): parénquima esponjoso; (3): parénquima en empalizada. Aumento: 40X.



Fig. 68: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para mucílagos. (1): epidermis; (2): esclerénquima del haz vascular. Aumento: 40X.



Fig. 69: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. Reacción negativa Saponinas. Aumento: 40X.

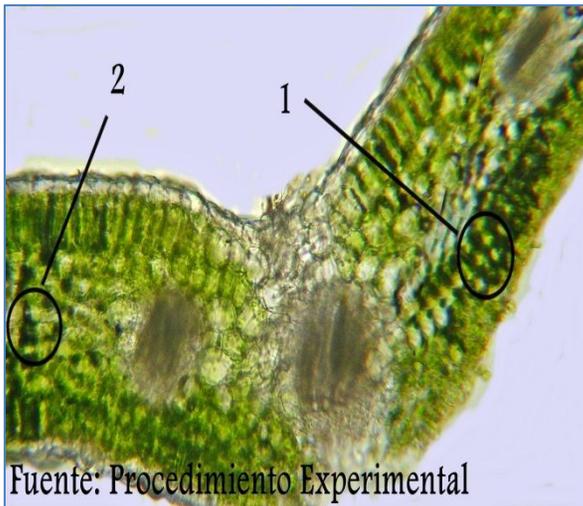


Fig. 70: Corte transversal de la hoja de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para taninos. (1): parénquima en empalizada. Aumento: 40X.

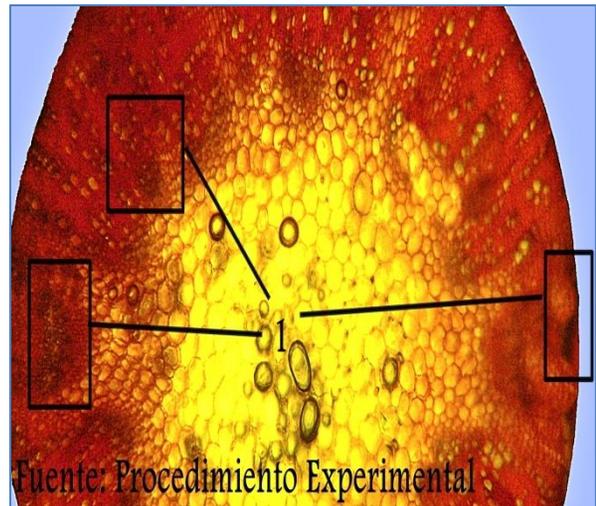
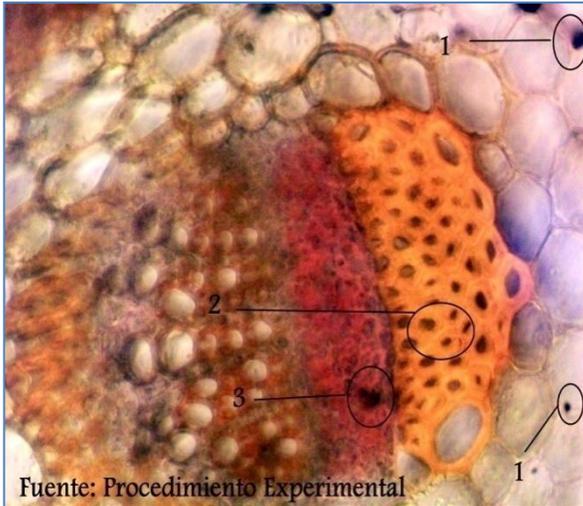
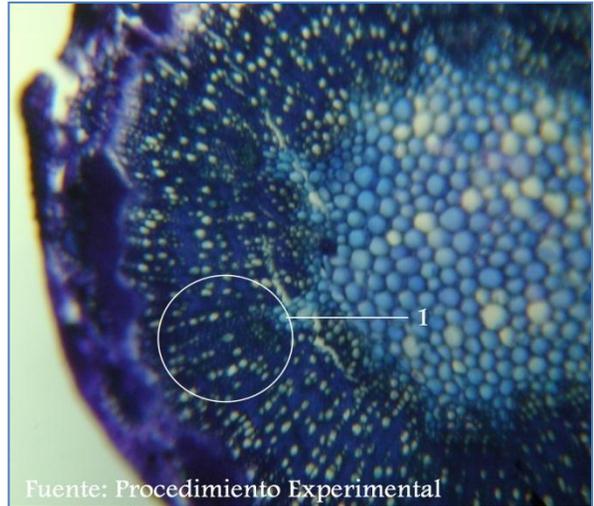


Fig. 71: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para alcaloides. (1): Xilema; (2): parénquima medular. Aumento: 40X.



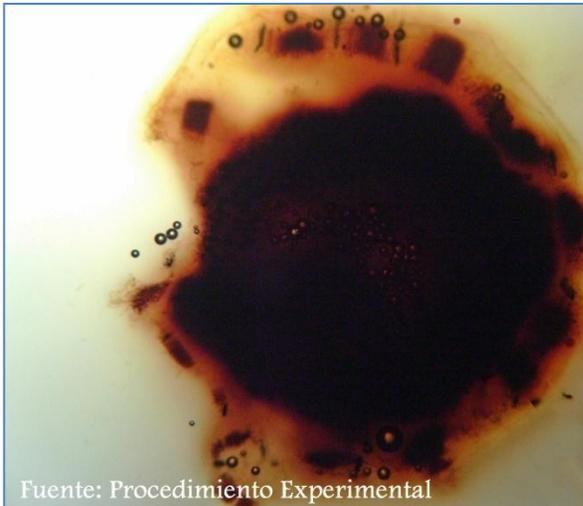
Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 72: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. Reacción positivas para almidones. (1): colénquima laminar; (2): esclerénquima; (3): floema. Aumento: 40X.



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 73: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para mucílagos. (1): xilema. Aumento: 40X.



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 74: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para almidones. Aumento: 40X.



Fuente: Procedimiento Experimental

Fig. 75: Corte transversal del tallo de *Tagetes lucida*. Reacción positiva para taninos. (1): epidermis; (2): floema; (3): colénquima; (4): xilema. Aumento: 40X.

Cuadro 1. Tabla de Resumen de las reacciones histoquímicas en ambas etapas fenológicas de Pericón.

Reacción	Floración	Follaje	Diferencia
Alcaloides	+	+	Floración: positivo en xilema y epidermis Follaje: positivo en parénquima
Almidón	+	+	Floración: reacción positiva en parénquima esponjoso al igual que en Floración. En floración positivo en parénquima en empalizada también.
Hoja Mucílago	+	+	Floración: epidermis abaxial y floema Follaje: epidermis adaxial y esclerenquima del haz vascular
Saponinas	+	-	Floración: positivo en todo el tejido Follaje: negativo en todo el tejido
Taninos	+	+	En ambas etapas positiva en parénquima en empalizada
Alcaloides	+	+	Floración: positivo únicamente en xilema Follaje: positivo en xilema y en medula parenquimática
Almidón	+	+	Floración: positivo en el xilema Follaje: positivo en floema Ambos positivos en colénquima laminar
Tallo Mucílago	+	+	Floración: positivo en esclerenquima y epidermis Ambos positivos en xilema
Saponinas	+	+	Todo el tejido en ambos
Taninos	+	+	Floración: positivo en parénquima medular Follaje: positivo en epidermis y floema Ambos positivos en xilema y colénquima

Fuente: Datos Experimentales

7.4 Porcentajes de Rendimiento: Aceites y Extracto vegetal

El promedio de los resultados obtenidos en cuanto a los porcentajes de rendimiento, se presentan en el Cuadro 2, donde la hoja *Petiveria alliacea*, mostró los mayores porcentajes de humedad y cenizas totales, al comparar ambas etapas fenológicas de *Tagetes lucida*, la etapa fenológica que presentó un mayor porcentaje de humedad y cenizas totales fue la etapa de follaje. En cuanto al rendimiento de los extractos vegetales y el rendimiento de la extracción de aceite esencial, *Lippia graveolens* mostró el mayor porcentaje; mientras que

entre las etapas fenológicas de *Tagetes lucida* fue la etapa de floración la que mostró un mayor rendimiento.

Cuadro 2. Determinación de Porcentaje de Rendimiento

Especie	Promedio % Humedad	Promedio % Cenizas Totales	% Rendimiento Extracto	% Rendimiento Aceite Esencial
<i>P. alliacea</i> (Hoja)	9.90± 0.51	16.42 ± 2.87	15.59 ± 13.21	0.68 ± 0.52
<i>P. alliacea</i> (Raíz)	8.97± 0.51	11.83 ± 2.87	NSR	NSR
<i>L. graveolens</i>	8.80± 0.51	12.0 ± 2.87	30.46 ± 13.21	1.45 ± 0.52
<i>T. lucida</i> Follaje	9.80± 0.51	10.58 ± 2.87	5.40 ± 13.21	0.75 ± 0.52
<i>T. lucida</i> Floración	9.00± 0.51	8.62 ± 2.87	27.00 ± 13.21	0.84 ± 0.52

Fuente: Datos Experimentales

NSR = No se realizó

7.5 Tamizaje Fitoquímico

7.5.1 Prueba de alcaloides

En la prueba de alcaloides, todas las plantas analizadas dieron resultados positivos con los reactivos de Dragendorff y Wagner como se presenta en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Determinación de Alcaloides en extracto vegetal sólido

Muestra	Mayer's	Dragendorff	Wagner	Rf ¹ determinado en la CCF ²
<i>P. alliacea</i> (Hoja)	-	+	+	0.88
<i>P. alliacea</i> (Raíz)	+	+	+	0.33
<i>L. graveolens</i>	-	+	+	0.51, 0.67 y 0.88
<i>T. lucida</i> (Follaje)	-	+	+	0.88 y 0.94
<i>T. lucida</i> (Floración)	-	+	+	-----

Fuente: Datos Experimentales

T: Tubo; CCF: Cromatografía en Capa Fina; +: positivo; -: negativo.

Estándar utilizado:
Atropina Rf: 0.85
Papaverina: no se determino RF

7.5.2 Prueba de Flavonoides

En el Cuadro 4, se observa que todas las plantas analizadas, dieron positiva la prueba de flavonoides, evidenciando su presencia.

Cuadro 4. Determinación de Flavonoides en extracto vegetal sólido

Muestra	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Rf determinado en CCF
<i>P. alliacea</i> (Hoja)	+	+	+	+	+	+	0.93
<i>P. alliacea</i> (Raíz)	+	+	+	+	+	+	0.42
<i>L. graveolens</i>	+	+	+	+	+	+	0.45 y 0.93
<i>T. lucida</i> Follaje	+	+	+	+	+	+	0.18, 0.29, 0.43 y 0.93
<i>T. lucida</i> Floración	+	+	+	+	+	+	0.18, 0.45 y 0.93

Fuente: Datos Experimentales

T: Tubo; CCF: Cromatografía en Capa Fina; +: positivo; -: negativo.

Estándares utilizados:

Quercitin	Rf: 0.61
Rutina	Rf: 0.14
Hiperosido	Rf: 0.34
Ácido clorogénico	Rf: 0.29

7.5.3 Prueba de Saponinas

En el Cuadro 5, se puede observar que entre la técnica de reacción en tubo y la técnica de cromatografía en capa fina, solamente la última técnica pudo evidenciar la presencia de saponinas en todas las plantas.

Cuadro 5. Determinación de Saponinas en extracto vegetal sólido

Muestra	Inicio	30 minutos	Rf ¹ determinado en CCF ²
<i>P. alliacea</i> (Hoja)	-	-	0.74, 0.85 y 0.97
<i>P. alliacea</i> (Raíz)	~ +	-	0.76, 0.87 y 0.97
<i>Lippia graveolens</i>	-	-	0.76, 0.91 y 0.97
<i>T. lucida</i> (follaje)	-	-	0.76, 0.90 y 0.97
<i>T. lucida</i> (floración)	+	-	0.78
Estándar para tubos	+	+	-----

Fuente: Datos Experimentales

+: positivo; -: negativo; ~ + : débilmente positivo

Estándares utilizados

Saponina Rf: 0.78

Diosgenina Rf: 0.78, 0.88 y 0.97

Stigmasterol Rf: 0.78, 0.88 y 0.97

7.5.4 Prueba de Taninos

El Cuadro 6 demuestra la positividad de todas las plantas analizadas en la prueba de taninos.

Cuadro 6. Determinación de Taninos en extracto vegetal sólido

Muestra	Gelatina al 1%	Gelatina-sal (1%,10%)	Cloruro férrico
<i>P. alliacea</i> (Hoja)	+	+	+
<i>P. alliacea</i> (Raíz)	+	+	+
<i>L. graveolens</i>	+	+	+
<i>T. lucida</i> Follaje	+	+	+
<i>T. lucida</i> Floración	+	+	+

Fuente: Datos Experimentales

+: Positivo

El Cuadro 7 muestra el índice de estomas realizado a los diafanizados de todas las hojas en estudio.

Cuadro 7. Índice de estomas

Planta	Índice
<i>P. alliacea</i>	33
<i>L. graveolens</i>	23
<i>T. lucida</i> Follaje	25
<i>T. lucida</i> Floración	25

Fuente: Datos Experimentales

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Durante mucho tiempo se ha sabido que las plantas, son una fuente medicinal de uso popular importante, utilizadas como recursos para el tratamiento de enfermedades comunes, de allí la importancia que se obtenga material vegetal de calidad.

Debido a que las plantas aromáticas no solo son de utilidad en el campo medicinal, si no que tienen una serie de diversos usos, tanto comerciales como alimenticios comprobados; es necesario que se logre la correcta identificación de las mismas. Para esto se utilizan parámetros morfológicos e histoquímicos.

Como lo indican *Martínez, A y colaboradores*, el establecimiento de parámetros de control de calidad para las plantas medicinales, como materia prima, es parte de las nuevas legislaciones adoptadas en países como Colombia, que están regulando la producción y comercialización de productos Fitoterapéuticos. De allí que estudios como el presente pueden brindar antecedentes de identificación y confirmación de características de las plantas medicinales y ayudar a la elaboración de perfiles taxonómicos y analíticos de las especies evaluadas (Martínez M. e., 2004).

En su mayoría los resultados obtenidos en este estudio coincidieron con estudios previos disponibles para los especímenes en análisis, a excepción de la determinación cualitativa de saponinas, que mostró diferencias, por lo que a continuación se detalla lo encontrado.

Las diferencias observadas en los caracteres evaluados, como las características histoquímicas entre las materias primas, se debe a las condiciones propias del cultivo y a las condiciones ambientales que modifican la concentración de los metabolitos secundarios en las plantas.

Se analizaron las plantas objeto de estudio, *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens* y *Tagetes lucida*, esta última en sus dos fases fenológicas, para evaluar cambios entre una fase y otra.

Para el correspondiente estudio de la materia vegetal de cada una de las especies, se evaluaron las características botánicas de cada espécimen, se realizaron cortes histológicos y se realizó diafanizado de las hojas.

Petiveria alliacea, se identificó como una hierba perenne, como característica distintiva su fuerte olor aliáceo, sus hojas alternas y ovaladas con ápice agudo; todo esto coincide con las descripciones realizadas por *Rzedowski, J* en el 2000, quien describió a toda la familia *Phytolaccaceae* y el género *Petiveria* que cuenta con solo una especie y dos variedades (*Rzedowski & de Rzedowski, 2000; Moreno & Cevallos, 2005*).

La materia vegetal preservó un color uniforme casi verde, a lo largo del proceso de secado. Atenuando un poco su fuerte olor aliáceo; debido a que tanto la raíz como la hoja cuenta con un alto contenido de diversos derivados del aminoácido cisteína, así como compuesto sulfurados como petivericina, tiosulfonato, petiveriina, etc. Pero en especial el fuerte olor es debido a la sulfina. Lo que le confiere actividad antifúngica y antibacterial; siendo los compuestos polisulfurados los más activos a tal respecto (*López & Pérez, 2010; Muñoz, 2011*)

La descripción de la morfología y la filotaxia de la hoja son consistentes con la descripción realizada por *Di.C Stasi y Hiruma-Lima CA* en 2002. El tipo de venación es cerrada reticulada del tipo craspedódroma, es decir, una vena principal con venas secundarias escalonadas que terminan en el margen (*Di.C & Hiruma-Lima, 2002*).

La epidermis es uniestratificada, una sola capa de células en la epidermis adaxial, propia del género *Phytolaccaceae* y que además está rodeada de una delgada capa de colénquima. La epidermis adaxial tiene células más altas y presentan irregularidades en su estructura, a

diferencia de las células de la epidermis abaxial. El mesófilo en empalizada, es bifacial con una capa irregular. Se observó colénquima de tipo lagunar y parénquima de almacenamiento (Forestales, 2007; Fahn, 1982).

Se observaron los haces vasculares de forma colateral abierto dispuestos en forma de arco con pleno contacto entre el floema y el xilema con estructuras semilunares de esclerénquima alrededor (Fahn, 1982).

La raíz en un corte transversal presenta cutícula, una capa de epidermis, células parenquimatosas donde se observaron cristales de oxalato de calcio, y los haces vasculares que poseen distribución de protoestela, floema rodeando el xilema (Fahn, 1982).

Se presentaron tricomas pluricelulares de tipo glandular y no glandular o tectores los cuales que garantiza protección ante los insectos además de estar relacionados en la regulación de la temperatura y la hidrofugación; así mismo se observaron cristales estiloides largos de oxalato de calcio en todo el mesófilo en regular cantidad. Es una planta hipostomática y los estomas son paracíticos o rubiáceo, células subsidiarias paralelas a las células estomáticas y a la apertura del estoma (Duarte & Lopes, 2005) (Martínez, Arizaleta, Sanabria, & Brito, 2004)).

Los cristales de oxalato, son producidos por los idioblastos que son células especializadas en la acumulación de calcio en forma de oxalato cristalino. Debido a su constitución los idioblastos participan en procesos metabólicos, los cuales proveen la energía para el secuestro del calcio, la síntesis de proteínas, lípidos y polisacáridos y la producción de ácido oxálico. Estas características se correlacionan con lo observado en el estudio de Duarte, M en 2005 en el que describió las características anatomorfológicas de la hoja y la raíz de *Petiveria alliacea* (Duarte & Lopes, 2005)

Lippia graveolens se identificó como un arbusto leñoso perenne, ramificado, que posee un fuerte aroma pisco que es característico de la planta. Se observó en la hoja una venación abierta reticulada simple (Moreno N. 1984).

La droga vegetal intensifica su coloración verde y se vuelve frágil a medida que se seca, pero conserva su olor característico. Estas observaciones corresponden a lo evaluado por Nuñez, M y colaboradores que describieron al grupo *Verbenaceae* tanto la farmacognosia y la fitoquímica del espécimen fresco (Nuñez, Aguado, Bela, Vonka, & Sansberro, 2007).

En el corte transversal de la hoja se pudo observar epidermis de una sola capa, mesófilo bifacial, parénquima consistente en una sola capa de células largas, clorífico en empalizada y tres capas de parénquima esponjoso en la epidermis abaxial, aunque no se logre visualizar las tres capas. Además se observó colénquima de tipo anular.

El haz vascular se presentó con disposición bicolateral abierto, con dos capas de floema con una capa de xilema en medio de ambos. Los estomas son de tipo anisocítico y las hojas son anfistomaticas, teniendo mayor cantidad de estomas en la cara abaxial (Bonzani, Filipa, & Barboza, 1997).

Presentó varios tipos de tricomas, glandulares o colectores unicelulares (con cabeza esférica), tricoma glandular bicelular (con cabeza bicelular) y tricomas no glandulares o tectores en abundante cantidad en toda la hoja, y se presentan en abundante cantidad a lo largo de la hoja. Los tricomas tectores cumplen funciones de defensa, mientras que los glandulares colaboran en la secreción de sustancias de interés como aceites esenciales y metabolitos secundarios (Fahn, 1982; Bonzani, Filipa, & Barboza, 1997; Molina, 2008).

Todas las características observadas concuerdan con lo observado por Bonzani, N y en 1997 y con lo descrito por Andersen A, y colaboradores en 2006, donde se describían las características más importantes de la familia *Verbenaceae* entre ellos el género *Lippia* (Bonzani, Filipa, & Barboza, 1997; Andersen, Lucchini, Moriconi, & Fernández, 2006).

Tagetes lucida tanto en su etapa de follaje como en floración se identificó como una hierba perenne con un tallo delgado, y un olor característico fuertemente anisado. La disposición de las hojas en el tallo es opuesta, posee un borde dentado y es de forma oblanceolada. Coloración verde con mayor intensidad en el haz.

Posee una gran cantidad de glándulas oleosas, y su superficie es suave. En la etapa de floración se observan flores liguladas de color amarillo fuerte, se describió una inflorescencia tipo corimbo, lo que significa que las flores están colocadas a lo largo del eje floral, con diferentes longitudes pero que quedan a la misma altura, corola de tipo dialipétala, sus pétalos no están conectados. Es hermafrodita, perianto tipo diclamídea, gineceo inferovárico, su simetría es radiada tipo trímera. Estambres diandras, y soldadura de estambres libres. Estas características son similares a lo encontrado por *Visintin, A y Bernardello, G* en 2005 los cuales describían a la familia *Asteraceae* y en específico al género *Tagetes* (Visintin & Benardello, 2005).

La droga seca atenua su color de verde pero mantiene el fuerte olor anisado. Así mismo las flores disminuyen su color y se muestran quebradizas al tacto.

Se determinó que posee un tipo de venación craspedódroma, es decir, una vena principal con venas secundarias escalonadas que terminan en el margen.

Posee una epidermis uniestratificada en ambas superficies de la hoja, tal y como Metcalfe, C en 1950 señaló que *Asteraceae* se caracteriza por poseer hojas con epidermis uniestratificada, aunque no se consideran de valor diagnóstico debido a que puede variar en condiciones ambientales (Metcalfe, 1950).

Según Metcalfe & Chalk en 1950, la familia *Asteraceae* comúnmente posee hoja con mesófilo del tipo dorsiventral. Sin embargo, en este estudio se observó que las hojas de *Tagetes lucida*, posee un mesófilo tipo isolateral, es decir, que poseen una capa de parénquima en empalizada con células alargadas tanto debajo de epidermis adaxial como la

abaxial, quedando en el centro parénquima esponjoso, observándose también una gran cantidad de cavidades con aceite esencial. Pero Roth en 1984, lo atribuyo a condiciones ambientales. Esta es una característica de hojas erguidas o pendulares (Metcalf, 1950; Fahn, 1982; Roth, 1984).

Comúnmente las hojas de la familia Asteraceae son hipostomáticas con estomas anomocíticos. En este estudio se observaron hojas hipostomáticas con estomas tipo anomocíticos, así como estomas anisocíticos. Flores-Vindas en 1999, mencionó que una misma especie puede mostrar diferentes tipos estómaticos (Flores-Vindas, 1999).

La nervadura central, presenta parénquima de almacenamiento y colénquima tipo laminar; haz vascular tipo colateral cerrado, donde el floema y el xilema están conectados. Se observaron tricomas tanto glandulares como no glandulares en la parte de la nervadura central. En el tallo, se puede observar colénquima tipo laminar; también posee esclerénquima tipo braquiesclereidas, o células pétreas que son más o menos isodiamétricas, con paredes muy gruesas, lúmen pequeño y punteaduras simples y ramificadas. El tallo posee una forma sifonostelaectofloica, donde el cilindro está formado por floema fuera del xilema y posee médula parenquimática (Martínez, Arizaleta, Sanabria, & Brito, 2004; Flores, 1999; Fahn, 1982).

Las características morfológicas son las mismas para ambas etapas; por lo que no hay diferencias entre uno y otro estado en lo que a características anatomorfológicas se refiere.

Todos estos datos concuerdan con el estudio realizado por Milan, P *et.al* 2006 en donde se hace una comparación morfológica y anatómica de las hojas y tallos de la especie *Asteracea* a la que posee *Tagetes lucida* (Milan, Hissae, & Appezzato da Glória, 2006).

Se realizaron una serie de ensayos fitoquímicos para determinar los metabolitos secundarios propios de cada especie, objeto de estudio, así evaluar los componentes que le brindan a estas especies sus características médicas.

Como puede observarse en los resultados de los ensayos histoquímicos, la mayor presencia de alcaloides tanto en la hoja, raíz y tallo de las tres especies evaluadas, se evidenció en tejidos como el parénquima y el xilema en el caso de la hoja y la raíz de *Petiveria alliacea* respectivamente, mientras que en *Lippia graveolens* se evidencio en tejidos como parénquima en empalizada; cambiando un poco en *Tagetes lucida* que mostro diferencias en las dos etapas fenológicas ya que en follaje tanto para la hoja como para el tallo se observaron en el parénquima, en empalizada, esponjoso y en el xilema y la medula parénquimática respectivamente, mientras que en floración los tejidos con mayor presencia de alcaloides fueron el xilema y la epidermis.

La presencia de los alcaloides en estos tejidos se debe a que los mismos son productos relacionados con el almacenamiento de nitrógeno, por lo tanto su presencia en tejidos como en el parénquima y el xilema, está asociada con los ácidos orgánicos que le facilitan el transporte a la planta, hacia las partes aéreas donde pueden ser hidrolizados. Además debido a su sabor amargo brinda protección de insectos a las plantas (Arango, 2008).

Las pruebas confirmatorias para la Histoquímica mostraron un resultado levemente positivo a los alcaloides para *Petiveria alliacea* y *Lippia graveolens* mientras que para *Tagetes lucida* en follaje y en floración el resultado fue positivo.

En cuanto al tamizaje fitoquímico, realizado en los extractos etanólicos de la droga vegetal, tanto en los ensayos semi micro como en la cromatografía en capa fina, se mostraron positivos ante la presencia de alcaloides que se correlacionan con las demás pruebas cualitativas realizadas (De la Cruz, 2005).

En la cromatografía en capa fina, los Rfs encontrados para *Lippia graveolens*, la hoja de *Petiveria alliacea* y la hoja de *Tagetes lucida* en follaje pueden compararse con el estándar de atropina, por lo que se deduce que estas tres plantas poseen este tipo de alcaloide, mientras que el extracto de la raíz de *Petiveria alliacea* no corresponde a los Rf de ninguno

de los otros estándares, mientras que el extracto de *Tagetes lucida* en floración no presenta ninguna mancha en la cromatoplaaca (De la Cruz, 2005).

Aunque no todos los Rf's fueron similares a los de los estándares no se puede descartar la presencia de alcaloides, debido a que si se observó una reacción positiva, lo que significa que estas plantas poseen otro tipo de alcaloides que no pudieron ser identificados (Robinson, 1983).

En el caso del *Tagetes lucida* en floración, no se pudo observar una reacción positiva para alcaloides, no porque la planta no los posea; la explicación a este hecho puede ser que debido al carácter de la reacción de identificación cualitativa, algunos alcaloides forman productos de degradación que no muestran la reacción esperada en el desarrollo de la cromatografía, o sea la formación de una mancha color café, y por lo tanto no pueden ser identificados.

Este metabolito secundario tiene actividad farmacológica en el Sistema Nervioso Central y sobre el sistema nervioso autónomo, teniendo propiedades sedantes, además de que se asocia a propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antisépticas, analgésicas, lo que se correlaciona con los usos etnomédicos dados a las tres plantas en estudio (Arango, 2008).

Se determinó la presencia de almidón en forma de gránulos, tanta en las hojas, raíz y tallo de *Petiveria alliacea*, *Lippia graveolens* y *Tagetes lucida* en follaje y floración; generalmente en tejidos de almacenamiento como el parénquima esponjoso, parénquima de almacenamiento y el colénquima en el caso de *Petiveria alliacea* al igual que en *Lippia graveolens* mientras que en el *Tagetes lucida* la diferencia se encontró en el tallo ya que se encontró almidón en el colénquima laminar y el floema en el *Tagetes lucida* en follaje mientras que en floración se encuentra igualmente en el colénquima laminar y en el xilema.

El almidón fue evidenciado en tejidos como el parénquima esponjoso en la hoja y en el parénquima de almacenamiento y colénquima en la nervadura central, debido a que las células del parénquima son una fuente importante de almacenamiento de carbohidratos no celulósicos y en el colénquima debido a que posee grandes espacios intercelulares que pueden ser ocupados por gránulos de almidón. Este es un metabolito que representa una importante fuente de energía, que se encuentra disponible para los procesos celulares. Así mismo tiene propiedades emolientes, aportando un efecto suavizante y antiinflamatorio sobre piel y mucosas, que se correlaciona con los usos en infecciones de la piel, picaduras de animales y en procesos inflamatorios tanto del sistema respiratorio, digestivo y urinario (Robinson, 1983).

Los ensayos histoquímicos para evidenciar la presencia de mucílagos dieron resultado positivo en las tres plantas evaluadas. Teniendo mayor presencia en tejidos como colénquima, xilema y floema en *Petiveria alliacea*, en *Lippia graveolens* mostró muchos tejidos diversos con reacción positiva a mucilagos, en epidermis, xilema pero también en los tricomas glandulares. En *Tagetes lucida* en follaje se presentaron en la epidermis y el parénquima esponjoso, en la hoja, mientras que en el tallo se observó en el xilema. En *Tagetes lucida* en floración se presentó tanto en la epidermis como en el floema mientras que en el tallo fue en el xilema, el esclerénquima y la epidermis.

Los mucílagos se encuentran en este tipo de tejidos debido a que favorecen el almacenamiento de carbohidratos y de agua, además favorecen el transporte de sustancias debido a que brindan elasticidad y suavidad a los tejidos de transporte. Medicinalmente, son importantes debido a que protegen los conductos digestivos y las mucosas ante cualquier agente irritante, sea químico o mecánico, ejemplo de los ácidos digestivos, o los movimientos peristálticos con el bolo alimenticio (Martinez, 2003).

Medicinalmente tienen propiedades emolientes, laxantes suaves, antiinflamatorios y antitúscica por lo tanto puede ser útil en el tratamiento de afecciones inflamatorias del aparato digestivo, de la piel (útil contra el dolor en contusiones) y del aparato respiratorio.

Estas propiedades, son similares a los usos populares que se le han reportado a las plantas en estudios, siendo las tres consideradas estomacales y utilizadas en el tratamiento de afecciones comunes del aparato digestivo (Ikan, 1991).

Los ensayos para determinar la positividad de saponinas se realizaron tanto en la hoja como en la raíz y los tallos de las plantas evaluadas.

En *Petiveria alliacea* tanto los ensayos en hoja como en raíz, dieron resultados positivos, mientras que en *Lippia graveolens* el resultado en hoja fue positivo. En *Tagetes lucida* el resultado en hoja en Follaje fue negativo mientras que en Floración fue positivo. En los tallos en ambas etapas fenológicas el resultado fue positivo.

En el ensayo, fue evaluado todo el tejido, por lo que la positividad del mismo se considera en la totalidad del elemento evaluado, ya sea la hoja, la raíz o el tallo.

La presencia de este metabolito en todo el tejido, puede explicarse debido a que las saponinas aumentan la permeabilidad de la membrana celular lo que puede favorecer el intercambio de sustancias en todo el tejido celular (Robinson, 1983).

Las pruebas confirmatorias para la histoquímica mostraron un resultado negativo a las saponinas para las tres especies. Aunque la teoría indica la presencia de estos metabolitos, el ensayo como tal presenta muchos interferentes, entre ellos la presencia de taninos, los cuales brindan resultados falsos negativos, lo que puede aplicarse a este ensayo en particular (Robinson, 1983).

En cuanto al tamizaje fitoquímico, realizado en los extractos etanólicos de la droga vegetal, en los ensayos semi micro se obtuvo un resultado negativo en las tres especies. Como se indicaba anteriormente se considera que los ensayos para determinar la presencia de saponinas, presenta muchos interferentes, entre los que se puede mencionar la presencia de proteínas y taninos en los extractos etanólicos. Este tipo de interferentes es común

debido al mismo procedimiento de extracción, que quedan como remanentes en los productos finales del proceso de extracción por vapor (Massiel, Baracaldo, Santos, & Nieves, 2003).

En cuanto a la cromatografía en capa fina, los Rf's encontrados para *Lippia graveolens*, la hoja de *Petiveria alliacea* y la hoja de *Tagetes lucida* en follaje pueden compararse con los tres estándares utilizados, la Saponina, Diosgenina y el stigmasterol; por lo que se confirma que estas tres plantas poseen estos tipos de saponinas (Massiel, Baracaldo, Santos, & Nieves, 2003; De la Cruz, 2005; Telenguario, 2008).

Los valores de Rf's tan parecidos al estándar indica la presencia de estos tipos de saponinas en particular en las tres plantas objetos de estudio.

Aunque la cromatografía nos confirma la presencia de este tipo de metabolito secundario. Debido a que el estándar de oro de esta determinación es la determinación a través de la hemolisis en agar sangre (Robinson, 1983).

Todos estos resultados apoyan las propiedades farmacológicas, atribuidas a las plantas evaluadas, entre las cuales se menciona las propiedades antimicrobianas, insecticidas, diuréticas, cardiovasculares, antiinflamatorias, etc (Newall, 1996).

La prueba para determinar la presencia de taninos fue positiva en las tres especies evaluadas, en tejidos como el parénquima en empalizada y en el parénquima en la hoja y raíz de *Petiveria alliacea* respectivamente, mientras que en la hoja de *Lippia graveolens* fueron positivos en el tricoma glandular y en el parénquima en empalizada. En *Tagetes lucida* tanto en follaje como en floración en la hoja los taninos fueron encontrados en el parénquima tanto en empalizada como en el esponjoso; y en el tallo se encontró en el colénquima, xilema y el parénquima medular.

Los taninos son encontrados en estos tejidos debido a que los taninos favorecen la precipitación de proteínas, como las enzimas, logrando de esta manera conservar de esta manera los principios activos que se encuentran en la hoja (Martinez, 2003).

En las pruebas confirmatorias, se mostró una reacción levemente positiva en las tres especies evaluadas. Esto se debe a que los taninos son más polares al agua, y la prueba se realizó con una decocción de la materia vegetal en etanol, lo que no permitió que se evidenciara de manera correcta la reacción.

En cuanto al tamizaje fitoquímico, se evidenció una respuesta claramente positiva en todas las especies evaluadas.

Lo que corresponde a lo indicado por la teoría, ya que las tres plantas, poseen taninos en abundancia.

Los taninos producen efectos repelentes al desnaturalizar las proteínas de los microorganismos lo que apoya el uso etnobotánico como antibacteriano y antiparasitario (Lastra, Rodríguez, Ponce, & Gonzalez, 2000).

Para determinar la pureza de las muestras evaluadas, se deben de tomar en cuenta dos aspectos, el porcentaje de humedad de la muestra a caracterizar y el contenido de cenizas totales.

El porcentaje de humedad es importante debido a que el secado de la materia vegetal necesaria para la realización de todo el proceso de caracterización, es un paso vital para que la muestra sea útil en estas determinaciones; debido a que el agua puede ser un contaminante o hasta un interferente en los distintos ensayos. Además a nivel comercial la humedad produce el deterioro de la materia vegetal, por lo tanto debe evitarse a toda costa. La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica un porcentaje de humedad para la materia vegetal, menor del 10%. En las tres especies evaluadas, este rango de humedad fue

de entre 8.00 a 9.90% dependiendo en gran manera de la morfología de la planta y la época de recolección de la misma (OMS, 2003).

El valor de cenizas totales es otro parámetro importante, en el control de calidad de la materia vegetal, ya que indica el contenido de sustancias inorgánicas. El valor límite según la OMS, para este parámetro es de 12%. En el caso de las tres plantas evaluadas este valor estuvo dentro de los límites en todas las muestras excepto en la hoja de *Petiveria alliacea*. Este valor puede ser influenciado por muchas variables entre las que se pueden mencionar la época del año en que fue recolectada la muestra, las propiedades físicas del suelo en el que es cultivada la planta. Aunque este valor presenta gran variabilidad incluso en repeticiones del mismo material evaluado, por lo tanto puede llegar a carecer de valor en la caracterización de la materia de estudio. Aunque puede dar indicios de posibles adulteraciones con otras materias inorgánicas e incluso trazas de fertilizantes en la materia vegetal a comercializar (OMS, 2003).

Otra característica de importancia de estas plantas es que poseen aceites esenciales de interés.

Se obtuvo un promedio del porcentaje de rendimiento de las mismas, determinando se que para *Petiveria alliacea* el rendimiento fue de 0.68%. Al ser comparado con otro estudio similar (Cáceres A. 2010) que obtuvo un porcentaje de rendimiento de 0.009% se determinó que el porcentaje de rendimiento determinado por este estudio es 75 veces mayor. Este punto es de importancia debido a que, la hoja de *Petiveria alliacea*, no se considera de importancia, debido a que los compuestos que pudieran a llegar interés médico se encuentran en la raíz y no en la hoja; debido a que no fue posible realizar esta extracción, sería interesante conocer los componentes tanto del aceite de las hojas como el de la raíz (Cáceres A. , 2010).

El promedio del porcentaje de rendimiento obtenido para *Lippia graveolens*, fue de 1.45%, un estudio previo (Quezada 2008) determinó que para las hojas de *Lippia*

graveolens el porcentaje de rendimiento experimental es de entre 1.252 a 1528% dependiendo del área, al hacer las correspondientes comparaciones se determina que los porcentajes de rendimiento son muy similares (Quezada, 2008).

El promedio del porcentaje de rendimiento para *Tagetes lucida* en etapa fenológica de Follaje fue de 0.75% para este porcentaje no se cuenta con un dato teórico que sirva para comparación.

Ahora bien para *Tagetes lucida* en etapa de floración el porcentaje de rendimiento fue de 0,84% mientras que el obtenido en el estudio previo (Samol, V & Santizo, B; 2011), fue de 0.26%, esta diferencia entre porcentajes puede ser debido a que la planta fue recolectada en el punto álgido de su fenología que fue entre septiembre y octubre, fecha que coincide con la mayor cantidad de lluvia en el invierno (Samol & Santizo, 2011).

Los porcentajes tanto del extracto sólido como de aceite esencial dependen mucho de condiciones climáticas y de estrés de la planta, lo que puede interferir igualmente en la producción de metabolitos secundarios.

Factores que pueden interferir en la baja o nula producción de metabolitos secundarios, puede ser la falta de lluvia o un invierno atípico con alta concentración de lluvia. Las cantidades de sol que recibe, si la planta se encuentra en el clima que le favorece o esta sembrada en una región distinta a la nativa. Puede interferir igualmente el tipo de suelo en el que se asienta la planta, la inclinación del mismo y la vegetación circundante.

9. CONCLUSIONES

1. Se logró la determinación de las características organolépticas, tanto del espécimen vegetal como de la droga seca, de *Petiveria alliacea* y *Lippia graveolens*. Encontrando que no poseen diferencias en cuanto a las reportadas con estudios previos.
2. Se determinaron las características organolépticas, tanto del espécimen vegetal fresco de *Tagetes lucida* en etapa fenológica de floración como en la etapa fenológica de follaje, observándose entre etapas fenológicas no existe diferencias. Así mismo al evaluar material fresco y material seco, la atenuación de color y la fragilidad del material son las diferencias encontradas. El olor anisado persiste.
3. La identificación microscópica, confirma las estructuras histológicas esperadas para cada planta en estudio.
4. Se confirmó la presencia de alcaloides, flavonoides y saponinas, metabolitos secundarios de interés, en las especies estudiadas a través de cromatografía de capa fina.
5. Las pruebas histoquímicas de *Lippia graveolens*, *Petiveria alliacea* y *Tagetes lucida*, confirmaron la presencia de metabolitos secundarios en los tejidos. La ubicación de los metabolitos secundarios en las distintas estructuras vegetales, se debe a las características propias de cada compuesto así como de la actividad biológica que desempeñan dentro de la misma.
6. Se determinó el porcentaje de rendimiento de la extracción de aceites esenciales y los parámetros de pureza, porcentaje de cenizas y humedad, para cada especie evaluada, observándose que *Lippia graveolens*, posee el mayor porcentaje de aceite esencial comparada con las otras dos plantas. En cuanto a *Tagetes lucida*, la etapa fenológica que presentó mayor porcentaje de rendimiento en cuanto a los aceites esenciales, fue la etapa de floración.

10. RECOMENDACIONES

1. Evaluar cuales fueron las condiciones climáticas que provocaron estrés a las especies en estudio.
2. Determinar de saponinas a través de la prueba de hemólisis, por ser esta metodología la más adecuada, según la literatura.
3. Evaluar distintos tipos de coloraciones en el diafanizado, así lograr mejores contrastes en los tejidos a evaluar.
4. Evaluar una técnica distinta al corte a mano alzada para lograr la determinación más precisa de las distintas estructuras morfológicas de las plantas evaluadas.
5. Realizar una determinación de metabolitos secundarios por medio de cromatografía de gases.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, L. (2001). Las Plantas medicinales en el huerto casero tradicional. *Revista Cubana Plantas medicinales* , 2 (2), 6-10.
- Acosta, L. (2002). Producción de plantas medicinales a pequeña escala; una necesidad de la comunidad. *Revista Cubana de plantas medicinales* (3), 6-10.
- Allen, S. (1989). *Chemical Analysis of Ecological Materials*. Londres, Inglaterra: Blackwell Scientific Publications.
- Anaya, A. (2003). *Ecología Química*. Mexico: Editorila Plaza y Valdes.
- Andersen, A., Lucchini, F., Moriconi, E., & Fernández, E. (2006). Variabilidad en la morfo-anatomía foliar de *Lippia* (Verbenaceae) en la provincia de San Luis (Argentina). *Revista Internacional de Botánica Experimental* (75), 137-143.
- Ankli, A. e. (2002). Yucatec mayan medicinal plants: evaluation based on indigenous uses. *Journal of Ethnopharmacology* (79), 43-52.
- Arango, G. (2008). *Alcaloides y compuestos Nitrogenados*. Documento Tecnico , Universidad de Antioquía, Facultad de Química Farmacéutica , Medellin .
- Arcila, C. e. (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* , 54 (1), 100 - 111.
- autor, c. (2004). Del control de calidad a la Gestión de calidad y las buenas prácticas agrícolas: Herramienta de inocuidad y mercadeo. *Industria y Alimentos Internacional* , 14 (23), 32-37.
- Azcón -Bieto, J., & Talón, M. (2000). *Fundamentos de Fisiología vegetal*. Barcelona: McGraw-Hill.
- Barajas, J. (2009). *Propiedades plaguicidas de cinco especies del género Tagetes*. Tesis de Maestría , Instituto Politecnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Yautepec, Morelos.
- Batista, A. e. (2011). Efecto protector de *Petiveria alliacea* L. (Anamú) sobre la inmunosupresión inducida por 5-fluoruracilo en ratones Balb/c. *Boletín*

- Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas* , 10 (3), 256-264.
- Bello, A., & Paredes, O. (1999). *El almidón: Lo comemos pero no lo conocemos*. Madrid: Editorial Romana.
- Bioquímica, D. d. (2005). *Manual de Practicas de Laboratorio de Bioquímica I*. Documento Técnico, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Bonzani, N., Filipa, E., & Barboza, G. (1997). Particularidades Epidérmicas en algunas especies de Verbenaceae. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autonon.México.Ser.Bot* , 68 (2), 47- 56.
- Bruneton, J. (1991). *Elementos de fisicoquímica y de Farmacognosia*. Zaragoza: Esp. Acribia.
- Cáceres, A. e. (1994). Actividad antibacteriana y antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala. *Congreso Científico 19 años del CYTED*, (págs. 212 - 214). Cancún.
- Cáceres, A. (2010). *Evaluación de la Actividad Inhibitoria de la Acetil Colinesterasa por diez especies medicinales y aromáticas nativas como posible fuentes para el tratamiento de Afecciones de la Memoria*. Proyecto , FODECYT, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia , Guatemala.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de Usos medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cáceres, A. (2006). *Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cámbar, P. e. (1984). Estudio Preliminar de los efectos farmacológicos de: *Tagetes lucida* (Pericón). *Rev. Med. Hondur.* , 52 (3), 142 - 147.
- de Cabrera, S. (2004). Del Control de Calidad a la Gestion de la Calidad y las Buenas Practicas agrícolas: Herramienta de inocuidad y mercadeo. *Industria y Alimentos Internacional* , 8 (25), 32 - 37.
- De la Cruz, B. (2005). *Caracterización de cinco extractos de plantas medicinales nativas de Guatemala, validadas Científicamente* . Tesis de Grado, Universidad de San Carlos de Guatemala , Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.

- de la Cruz, B. (2005). *Caracterización de cinco extractos de plantas medicinales nativas de Guatemala, validadas científicamente*. Tesis de grado, Licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Dewick, P. (2002). *Medicinal Natural Products-A Biosynthetic Approach* (Segunda edición ed.). Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd.
- Dey, J., & Harbone, J. (2002). Methods in Plant Biochemistry. *Plant Phenolics*, 1 (52), 28 - 31.
- Di.C, S., & Hiruma-Lima, C. (2002). *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. Sao Paulo: UNESP.
- Díaz, L. (1977). Ethnopharmacology of Sacred Psychoactive Plants Used by the Indians of México. *Ann Rev. Pharmacol. Toxicol*, 17, 647 - 675.
- Domínguez, X. (1988). *Métodos de investigación fitoquímica*. México D.F, México: Limusa.
- Duarte, M., & Lopes, J. (2005). Leaf and stem morphology of *Petiveria alliacea*. *Fitoterapia* (76), 599-607.
- Fahn, A. (1982). *Anatomía vegetal*. España: Ediciones Piramide.
- Flores, E. (1999). *La planta, volúmenes* (Vol. I y II). Tecnológica de Costa Rica.
- Fores, R. (1998). *Atlas de plantas medicinales y curativas, salud a través de las plantas*. España: Cultura.
- Forestales, F. d. (2007). *Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales*. Recuperado el Abril de 2012, de http://mvegetal.weebly.com/uploads/8/6/3/4863437/12_anatomia_hoja.pdf
- Fuller, H. (1974). *Botánica*. México: Interamericana.
- Gattuso, M., & Gattuso, S. (1999). *Manual de procedimientos de drogas en polvo*. Argentina : UNR Editora.
- Geermosén, L. (1997). *Farmacopea Caribeña*. Santo Domingo: TRAMIL.
- Gennaro, A. (1998). *Ciencia y Práctica de la Farmacia* (Vol. Tomo I). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Gola, G., Negri, G., & Cappelletti, C. (1965). *Tratado de Botánica* (2a ed.). (P. FontQuer, Trad.) España: Labor, S.A.

- Greulach, V., & Adams, E. (1987). *Manual de Botánica y Ecología* (Vol. I). México: Ciencia y Técnica.
- Gros, E. e. (1985). *Introducción al estudio de los Productos Naturales*. Washington, D.C: OEA.
- Guatemala, C. d. (2005). Ley del sistema Nacional de la Calidad, Decreto 82-2005. *Diario de Centroamerica* .
- Ikan, R. (1991). *Natural Products, a laboratory guide*. San Diego: Academic Press.
- Illnait, J. (2007). Principales Referencias etnomédicas sobre el anmú (*Petiveria alliacea*) y principios activos encontrados en la planta . *CENIC Ciencias Biologicas* , 38 (1), 27 - 30.
- Izco, J. (2004). *Botánica* (2a ed.). España: McGraw-Hill Interamericana.
- Jayes, P. e. (2006). *Aceites Esenciales de nueve plantas nativas de Guatemala, familias Verbenaceae y Laureaceae*. Direccion General de Investigacion, Programa Universitario de Investigacion Industrial. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Katzung, B. (2005). *Farmacología básica y clínica*. (I. de Jesús, Trad.) México: Manual Moderno.
- Lane, L. (1999). *Farmacología en Enfermería*. España: Elsevier.
- Lastarria, M. (2003). *Boletin Plantas Medicinales y Aromáticas*. Gobierno de Chile, Fundacion para La Innovación Agraria, Santiago.
- Lastra, H., Rodríguez, E., Ponce, H., & Gonzalez, M. (2000). Método Analítico para la Cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *Rev Cubana de Plant Med* , 5 (1).
- Letona, D. (2007). *CalidadMicrobiologica de Plantas Medicinales Distribuidas en Distintos Puestos de venta de la Ciudad Capital de Guatemala*. Tesis de Graduacion, Universidad de San Carlos, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica, Método en el Estudio de Productos Naturales* . Perú: Fondo Editorial PUCP.

- López, J., & Pérez, J. (2010). Fitoquímica y valor ecológico del olor a ajo en los vegetales. *Medicina Naturista* , 4 (1), 15-23.
- Lopez, O., Marquez, T., Salomon, S., & Gonzalez, M. (2009). Extracción de lípidos de las semillas de Cucurbita pepo L. (calabaza). *Rev. Cubana Plant Med* , 14 (2), 6.
- Lot, A., & Chieng, F. (1986). *Manual del Herbario* . Mexico : Consejo Nacional de la Flora de Mexico .
- Madueño, M. (1966). *Cultivo de Plantas Medicinales* (Vol. 38). Madrid: Manuales Tecnico Seria A.
- Martinez, A. (2003). *Ensayos de Reconocimiento de metabolitos Secundarios de Interés Farmacéutico*. Documento Técnico, Universidad de Antioquia, Facultad de Química Farmacéutica, Medellín.
- Martínez, J., Arizaleta, M., Sanabria, M., & Brito, L. (2004). Características de los estomas, densidad e índice estomático y su variación en función a la injertación en *Annona muricata* L. y *A. montana* . *MADFAC Bioagro* , 16 (3), 213-218.
- Martínez, M. (1979). *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*. Mexico, D.F: Fondo de Cultura Económica .
- Martínez, M. e. (2004). Valores de Referencia para el control de calidad de plantas medicinales como materia prima para fines terapéuticos en Colombia. *VITAE* , 11 (2), 43-49.
- Martinez, S., Gonzalez, J., Culebras, J., & Tuñón, M. (2002). Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Terapéutica* , XVII (6), 271-278.
- Massiel, P., Baracaldo, ., N., Santos, ., M., & Nieves, ., D. (2003). Estudio farmacognóstico, fitoquímico, microbiológico de *Petiveria alliacea* Lin 1998. *Gaceta Médica Espirituria* , 5 (1).
- Medinilla, B. (2010). *Carbohidratos y Compuestos afines; Azúcares y drogas que contienen azúcar: sucrosa, dextrosa, fructosa, lactosa, caramelo, miel*. Universidad de San Carlos, Farmacognosia y Fitoquímica. Guatemala: Depto. de Farmacognosia y Fitoquímica.
- Medinilla, B. (2006). *Introducción a la farmacognosia, concepto y desarrollo, Ciencias relacionadas, Importancia y Futuro*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,

- Farmacognosia y Fitoquímica. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Medinilla, B., Cruz, S., & Oliva, I. (2010). *Manual de Laboratorio de Farmacognosia*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Metcalfe, C. & Chalk, L. (1950). *Anatomy of the Dicotyledons*. Clarendon Press: Oxford.
- Mena, M. (1994). *Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora Salvadoreña* (2da ed.). San Salvador: Universitaria.
- Mendoza, C. (1995). *Confirmación de la actividad antimicrobiana de tres especies del género Lippia*. Tesis de Grado, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Milan, P., Hissae, A., & Appezzato da Glória, B. (2006). Comparative Leaf Morphology and Anatomy of three Asteraceae Species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49 (1), 135-144.
- Molina, M. (2008). *Variación de la pubescencia foliar en plantas y sus implicaciones funcionales a lo largo de gradientes altitudinales*. *Ecosistemas*, 17 (1), 146-154.
- Morataya, M. (2006). *Caracterización Farmacopéica de cuatro plantas aromáticas nativas de Guatemala Albahaca de monte (Ocimum micranthum); Orégano (Lippia graveolens); Salvia sija (Lippia alba) y Salviyá (Lippia chiapasensis)*. Tesis de grado, Licenciatura en Química Farmacéutica, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Moreno, E. (2007). *Pasado, Presente y Futuro de la Fitoterapia, Avances en Fitoterapia*. España: Universit  Abdelmalek SEADI.
- Moreno, N. (1984). *Glosario Botánico Ilustrado*. México: Comp n a Editorial Continental.
- Moreno, N., & Cevallos, S. (2005). Arquitectura Foliar de Anacardiaceae. *Rev. Mex. Biodiv*, 76 (2), 1-125.
- Muñoz, I. (2011). *Evaluacion de los Contenidos metabólicos en cultivos de células de P. alliacea*. Tesis de graduacion Magister en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Medellin.

- Newall, C. e. (1996). *Herbal Medicines: A Guide for Health -Care Professionals*. Londres: The Pharmaceutical Press.
- Núñez, M., Aguado, M., Bela, A., Vonka, C., & Sansberro, P. (2007). Farmacognosia y Fitoquímica de *Lippia G.*, VERBENACEAE. *Bol. Latinoam. Caribe Plant.Med. Aromaticas*, 6 (5), 262-263.
- Ocampo, F., & Maffioli, C. (2002). *Introducción de Plantas Medicinales*. México: Iberoamericana.
- Ocampo, R. (2007). *Manual de Agrotecnología de plantas medicinales nativas* (1era ed.). San José, Costa Rica: Ediciones Sanabria.
- OMS. (2003). *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Ginebra.
- Orozco, I. (2005). *Medicina Homeopática en Guatemala*. Tesis de maestría post grado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC, Guatemala.
- Osasuna, L. (2005). *Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana para Tratar Afecciones Gastrointestinales*. Barcelona.
- Ososki, A. e. (2002). Ethnobotanical survey of medicinal plants in the Dominican Republic used for woman`s health conditions . *Journal of Ethnopharmacology* (79), 285-298.
- Paredes, M. (2005). *Determinación de algunos estándares de identidad y pureza de cuatro plantas medicinales comerciales en Guatemala*. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
- Perez, L. (2009). *Requisitos de Calidad de Productos Naturales Medicinales: En el marco de la Unión Aduanera Centroamericana*. XXI Congreso Centroamericana y del Caribe y XXIV Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, El Salvador.
- Peréz, R. e. (2006). Actividad Citotóxica y Antioxidante de *Petiveria alliacea*. *Chapingo Serie Horticultura*, 12 (1), 51 -56.
- Publica, M. d. (2001). *Acuerdo Gubernativo Normativa 24*. Ministerio de Salud Pública, Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines, Guatemala.
- Quezada, A. (2008). *Evaluación del rendimiento de extracción del aceite esencial crudo de orégano (Lippia graveolens) provenientes de dos zonas de distinta altitud, por*

- medio del método de arrastre de vapor a nivel de planta piloto.* Tesis de Grado, Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuela de Ingeniería Química, Guatemala.
- Robinson, T. (1983). *The organic constituents of Higher Plants.* Cordus Press.
- Rojas Hidalgo, E. (1994). *La fibra dietética: Los carbohidratos en nutrición humana.* Madrid: Aula Medica.
- Romero, M. (2004). *Tratado de Aromaterapia Científica.* Buenos Aires: Kier.
- Roth, I. (1984). *Stratification of tropical forests as seen in leaf structure.* W. Junk Publishers, Boston.
- Rzedowski, J., & de Rzedowski, G. (2000). *Phytolaccaceae En: Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes.* Instituto de Ecología. Patzcuaro, Michuacan: Centro Regional del Bajío.
- Rzedowski, J., & de Rzedowski, G. (2000). Notas sobre el género PHYTOLACCA (PHYTOLACCACEAE) en México. *Acta Botánica México* (53), 49-66.
- Salud, O. M. (2003). *37º Informe sobre Prácticas adecuadas de fabricación de productos farmacéuticos: principios básicos.* Informes Técnicos de la OMS, Comité de Expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas, Ginebra.
- Salud, O. M. (2000). *Pautas generales para la metodologías de Investigación de la medicina tradicional.* Informe Técnico, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.
- Salud, O. M. (2005). *Políticas y Regulación Curso de Gestión de calidad para Laboratorios.* Organización Mundial de la Salud. Gienbra: THS/EV.
- Samol, V., & Santizo, B. (2011). *Actividad Inhibitoria de extractos y aceites esenciales de especies condimentarias, alimenticias y medicinales contra Campylobacter jejuni.* Tesis de Grado, Licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala , Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Soler, B. (2009). *Aspectos Regulatorios de los productos homeopáticos II.* Documento Tecnico , XXXI Congreso Centroamericano y del Caribe y XXIV Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas, El Salvador.

- Solis, P. e. (2005). *Manual de Caracterización y análisis de Drogas Vegetales y Productos Fitoterapéuticos*. OEA, Proyecto de Desarrollo de Tecnología de cultivo de plantas medicinales y Produccion de Fitoterapeuticos. Guatemala: OEA/AICD/AE.
- Soria, H. (2011). *Evaluación farmacológica de Tagetes lucida Cav (Asteraceae) en la nocicepción inducida en ratones*. Tesis de Grado, Universidad Autónoma de México , Facultad de Estudios Superiores Zaragoza , Mexico .
- Soto, M. (2007). Actividad Antioxidante de Flavonoides de Oregano mexicano (*Lippia graveolens*) HBK. Var *Berlandieri* Schauer). *Fitotecnica Mexicana* , 30 (01), 43-49.
- Stashenko, E. (1996). Memorias del IV Congreso Nacional de Fitoquímica. *Congreso Nacional de Fitoquímica* (págs. 29-53). Bogota: Universidad Industrial de Santander.
- Stevens, N. (2003). *Aloe Vera* (5ta edicion ed.). Mexico: Editorial Sirio, S.A.
- Stevens, W., Ulloa, U., Pool, A., & Montiel, O. (2001). *Flora de Nicaragua* (Vol. 85). Missouri: Missouri Botanical Garden Press.
- Taiz, L. y. (2006). *Secondary Metabolites and plant Defense* (4th ed.). California: Sinauer Associates.
- Taíz, L., & Zeiger, E. (2007). *Fisiología Vegetal* (3era. ed., Vol. I). Suecia: Universitat Juame J.
- Telenguario, C. (2008). *Caracterizacion y Cuantificación de Flavonoides, Sapogeninas, Esteroides en extractos de tres plantas mesoamericanas, Lippia graveolens (orégano), Passiflora edulis (marauyá) y Smilax domingensis (zarzaparrilla)*. Tesis de Grado, Licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Vanaclocha, B. (2007). *Fitoterapia: Vademécum Nacional de Plantas Medicinales*. Barcelona: Masson.
- Villalpando, J., & Ruiz, A. (1993). *Observacioes Agrometereológicas y su uso en la agricultura*. México: Lumusa.
- Villaseñor, J., & Espinosa, F. J. (1998). Catálogo de Malezas de México: The lachymatory principle of *Petiveria alliacea*. *Phytochemistry* , 1 (63), 37-40.

- Visintin, A., & Benardello, G. (2005). *Morfología y Anatomía floral de Tagetes (Asteraceae)*. *ARNALDOA* , 12 (1-2), 08-15.
- Wagner, H. e. (1984). *Plant Drug Analysis*. New York: Spinger Verlag.
- Ximénes, F. (1967). *Historia natural del Reino de Guatemala: Sociedad guatemalteca de Geografía e Historia de Guatemala*. Guatemala, Gautemala: José Pineda Ibarra .
- Yano, H. e. (2002). *Disulfite proteome in the analysis of protein function and structure*. Madrid: Universal.