

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

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*).

INFORME FINAL DE TESIS

María Alejandra Morataya Morales

Para optar el título de

Química Farmacéutica

Guatemala, febrero 2006

INDICE

	Página
1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
3. Antecedentes.....	3
4. Justificación.....	19
5. Objetivos.....	20
6. Hipótesis.....	21
7. Material y Métodos.....	22
8. Resultados.....	32
9. Discusión de Resultados.....	51
10. Conclusiones.....	55
11. Recomendaciones.....	57
12. Referencias.....	58
13. Anexos	

1. RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó con el propósito de contribuir a la fabricación de productos fitofarmacéuticos de mejor calidad, garantizando su seguridad y eficacia, puesto que no se tiene información sobre las características organolépticas de la materia prima (hojas), físicoquímicas y fitoquímicas de tinturas y extractos etanólicos con los cuales son elaborados algunos fitofármacos. Se seleccionaron 4 plantas nativas de Guatemala que contienen aceites esenciales, fuertemente aromáticos, a los que popularmente se le atribuyen propiedades medicinales. Las plantas fueron colectadas en Samayac, Suchitepéquez. Uno de los primeros pasos fue realizarle la identificación botánica. Para la caracterización de la materia prima vegetal se obtuvieron algunos parámetros físicoquímicos porcentaje de humedad y cenizas. Se obtuvieron tinturas 1:10 y 1:5, extractos 1:1, 2:1, 3:1 y 4:1, con el etanol adecuado según la prueba de mejor disolvente efectuada anteriormente. A estas tinturas y extractos se les realizó la caracterización organoléptica (apariencia, color, olor) y físicoquímica (pH, densidad y sólidos totales).

A través de diferentes ensayos y cromatografía en capa fina se realizó la caracterización fitoquímica preliminar identificando posibles metabolitos secundarios importantes según su actividad terapéutica encontrada, se utilizaron patrones de comparación, estándares ya reconocidos según las diferentes farmacopeas.

Por último se evaluó los componentes del aceite esencial a través de cromatografía de gases.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se considera satisfactoria la caracterización de las tinturas y extractos de las 4 plantas, ya que cumplieron con los parámetros evaluados de identidad y pureza.

2. INTRODUCCIÓN

En Guatemala existe una variedad de plantas que han demostrado actividad farmacológica. Muchas de ellas contienen compuestos odoríferos llamados “aceites volátiles”, los cuales están ubicados principalmente en las hojas, y son utilizados en perfumería, como saborizantes y en medicina.

Albahaca de monte (*Ocimum micranthum*), orégano (*Lippia graveolens*), salvia sija (*Lippia alba*) y salviyá (*Lippia chiapasensis*), son algunas de las plantas aromáticas que desde tiempos remotos han sido utilizadas por la población guatemalteca por sus propiedades medicinales.

Con el presente trabajo se realizó la caracterización de las cuatro especies aromáticas, para poder obtener extractos con una concentración estándar de principio activo y con la calidad necesaria para ser usados como materia prima para elaborar productos fitofarmacéuticos, ya que éstos son comercializados sin saber si se les está aprovechando al máximo sus propiedades medicinales y sin ningún control de calidad que garantice la uniformidad entre lotes.

Esta caracterización dio como resultado una ficha técnica estándar de producto, en la cual se obtuvieron datos de identificación botánica, análisis organoléptico de la materia vegetal y productos intermedios como tintura (1:10 y 1:5), extractos etanólicos (1:1, 2:1, 3:1, 4:1 y 5:1) y aceites esenciales empleando el método de hidrodestilación según la Farmacopea Europea.

3. ANTECEDENTES

ALBAHACA

1. DE LA PLANTA MEDICINAL

1.1. Nombre científico: *Ocimum micranthum* Willd.

Género: *Ocimum*

Especie: *Ocimum micranthum*

Familia: Lamiaceae/Labiatae

1.2. Sinonimias: *Ocimum americanum* L., *O. canum* Sims.

1.3. Nombres comunes: Albaac (Petén, Maya), albahaca, albahaca cimarrona, albahaca de gallina, albahaca de monte, albahaca silvestre, albajoque, Barsley, baisley (Belice), cacaltún (Yucatán), guinocuana, hierba del toro (Huehuetenango), kajaltun, xkakalun.^{11,60}

1.4. Descripción Botánica: Hierba erecta anual, usualmente 50 cm de altura o menos, tallos puberulentos o glabros; hojas delgadas, finas-peteoladas, aserradas, ampliamente ovaladas a oblonga-ovaladas, 2-7 cm de largo, agudas, redondeadas, agudas en la base, casi glabras, densa y finamente glandular, pálidas al envés. Inflorescencia con numerosos verticilios florales, separados, en alargada panícula racemosa, pedicelos 4-7 mm de largo, recurvados; cáliz de 7-8 mm de largo, verde, puberulento o glabro, labio superior amplio, cóncavo, el más bajo de 4 lóbulos angostos, corola blanca, aproximadamente 4 mm de largo, filamentos desnudos, de 1 mm de largo.⁶⁰

1.5. Hábitat y distribución: Originaria de Centroamérica. Crece silvestre en climas cálidos y terrenos fértiles, muy raras veces en lugares frescos. La especie es nativa de Centro América y del Caribe, encontrada en matorrales secos o húmedos o en sembrados; a menudo en laderas rocosas o en las orillas a lo largo de corrientes.⁶⁰

En Guatemala se localiza en los departamentos de Alta Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Petén, Santa Rosa, Zacapa, probablemente en los departamentos de las tierras bajas. Nativa de América tropical por lo que se localiza en Belice, El Salvador, Florida, México, Panamá, en las Islas del Caribe y en América del Sur.⁶⁰

- 1.6. Obtención:** Se obtiene por recolección en las regiones de crecimiento silvestre. Se recomienda iniciar actividades de manejo, domesticación y cultivo para garantizar su disponibilidad. Se multiplica por semilla que puede germinar en semillero o directamente en el suelo, las primeras se trasplantan a filas de 30 cm. Las hojas se colectan en plena floración y se secan a la sombra.¹¹
- 1.7. Historia:** Planta usada en la agricultura guatemalteca por sus virtudes medicinales y culinarios desde hace muchos años.
- 1.8. Usos etnomédicos:** Ha sido utilizada para tratar afecciones gastrointestinales, respiratorias y nerviosas. Los indígenas lo han utilizado para dolor de oído y cabeza, inflamación, resfriados, catarros, tos, estreñimientos, dolor de cabeza, nervios, indigestión, diarrea, vómitos, cólicos y parásitos. La decocción de la planta es utilizada para matar larvas, para el dolor de estómago, mal de ojo, reumatismo, gota, fiebre, presión alta, dolor de muelas, llagas, úlceras y granos, insomnio, regulador menstrual y baño posparto.¹¹
- 1.9. Otros Usos:** Las hojas frescas y secas se usan para sazonar comidas y ensaladas. El olor de la planta es un buen repelente contra los mosquitos, razón por la que se cuelgan ramas frescas en las viviendas, tiene uso aromático, ornamental y cosmético.¹¹
- 1.10. Composición Química:** La hoja contiene aceite esencial, saponinas y taninos. El aceite esencial contiene eugenol, iso-eugenol, 1,8-cineol, α -terpineol, β -cariofileno, linalool, β -pineno, α -pineno, canfeno, mirceno.
- 1.11. Partes usadas como droga:** Las hojas maduras secas.

2. DEL VEGETAL

2.1. Denominación: *Ocimum micranthum folia*.

2.2. Definición: Hojas secas, maduras, de color café.

2.3. Obtención: Las hojas maduras verdes y frescas, libres de insectos, hongos u otros materiales contaminantes, se lavan con agua y se secan a la sombra.³²

2.4. Propiedades Organolépticas: La droga pulverizada es de textura fina de color café, olor fuerte, aromático, sabor ligeramente amargo.

2.5. Descripción macroscópica: Hojas secas delgadas, ampliamente ovaladas de 2-4 cm de largo, la base de color café y pálidas al envés, aserradas casi glabras, finamente glandular.

2.6. Descripción microscópica: No se tiene información.

2.7. Posibles adulterantes o sustituyentes: Generalmente usada indistintamente con *Ocimum basilicum*.

2.8. Componentes químicos con actividad terapéutica y marcadores: Triterpenos (eugenol, 1,8-cineol, β -cariofileno).¹⁷

2.9. Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía en capa fina y cromatografía de gases.

3. DE LA DROGA VEGETAL:

3.1. Denominación: *Ocimum micranthum folia*.

3.2. Obtención: La droga vegetal se obtiene al pasar la materia vegetal a través de un tamiz obteniendo un pulverizado de color verde musgo pálido, se empaca en bolsas de plástico selladas para ser almacenadas.

3.3. Componentes con actividad terapéutica y marcadores: Los componentes activos responsables de su actividad farmacológica en afecciones gastrointestinales y respiratorias son los triterpenos y los posibles marcadores a utilizar son el eugenol, 1,8-cineol, β -cariofileno.^{17,63} El aceite volátil de la planta inhibe el movimiento de la musculatura intestinal y uterina.¹¹

3.4 Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía en capa fina y cromatografía de gases.

4. PRECLÍNICA

4.1. Estudios farmacológicos: El aceite esencial es activo contra patógenos humanos como bacterias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) y hongos (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*), hongos fitopatógenos (*Diplodia natalensis*, *Lenzites trabea*, *Penicillium digitatum*, *Polyporus versicolor*), insectos (*Aphis gossypii*, *Callosobruchus chinensis*, *Dysdercus cingulatus*, *Lenzites trabea*, *Oncopeltus fasciatus*, *Polyporus versicolor*, *Sitophilus oryza*, *Stegobium paniceum*, *Tetranychus cinnabarinus*, *Triboilum castaneum*) y larvas (*Culex fatigans*). El extracto etanólico es activo común contra *Culex quinquefasciatus* (100 ppm). ^{11,49}

El extracto etanólico no tiene actividad diurética medida por cateterización de la vejiga en ratas, no es antihipertensiva ni aumenta la frecuencia cardíaca en ratas espontáneamente hipertensas. El extracto acuoso de hojas produce bradicardia en ratas y gatos (10-20 mg/Kg). El aceite esencial tiene actividad espermaticida y relajante del músculo liso (tráquea de cobayo DE₅₀ 10.0 mg/L; tráquea de cerdo DE₅₀ 32.0 mg/L). ^{11,52}

4.2. Estudios toxicológicos: Los extractos acuosos y etanólicos fueron inocuos en peces del género *Mollinesia*. El jugo de la hoja puede ser ligeramente narcótico, algunos de sus compuestos como safrol y estragol pueden ser cancerígenos. La DL₅₀ del estragol en ratas por vía oral es 1,820 mg/Kg, en ratones es 1,250 mg/Kg; la DL₅₀ del eugenol en ratas por vía oral es 2,680 mg/Kg, en ratones es de 3,000 mg/Kg. ^{11,49}

4.3. Otros estudios: En 1941 Peckolt realizó una destilación del aceite esencial de las hojas de *O. micranthum* procedente del Brasil reportando un rendimiento del 0.14 % y densidad a 23 °C de 0.982. ²⁵

En 1981 se menciona que el aceite esencial es repelente de mosquitos. ⁴¹

La información obtenida en NAPRALERT indica que existen varios estudios sobre la composición del aceite esencial y la actividad biológica de los extractos.⁴²

En 2001 se confirma que los componentes mayoritarios de aceite esencial de las hojas de *O. micranthum* cultivadas en Guatemala son eugenol (26.6206%), 1,8-cineol (12.1061%), α -terpenol (7.1054%), β -cariofileno (6.4555%), linalool (2.6533 %). El aceite de *O. micranthum* procedente de Chiguaxte, Samayac, Suchitepéquez en Guatemala, presenta mayor cantidad de eugenol comparado con otras especies.¹⁷

Los metabolitos secundarios más importantes presentes en las hojas de la misma son: saponinas, flavonoides.¹⁷

5. CLÍNICA

5.1. Indicaciones terapéuticas: Por vía oral en el tratamiento, digestiones lentas, meteorismo, espasmo gastrointestinal, dolor de estómago.^{4,52}

Se recomienda administrar tres veces al día una dosis de 3-5 g/taza en infusión o decocción, 30 a 60 gotas /taza al día de tintura 1:8 y 6 a 10 gotas/taza al día de esencia (20 gotas/ml).

Para aplicación tópica están indicadas las lociones , esencias y el polvo en el tratamiento de heridas, eczema y dolores musculares.⁴

5.2. Efectos secundarios: La esencia puede producir irritación de la mucosa y a dosis alta efectos narcóticos.

ORÉGANO MEXICANO

1. DE LA PLANTA MEDICINAL

1.1. Nombre científico: *Lippia graveolens* HBK

Género: *Lippia*

Especie: *Lippia graveolens*

Familia: Verbenaceae

1.2. Sinonimias: *Lantana origanoides* Mart. & Gal., *Lippia berlandiere* Schauer in DC, *Goniostachyum graveolens* Small.¹¹

1.3. Nombres comunes: Mejorana, orégano de monte, orégano.

1.4. Descripción Botánica: Arbusto delgado hasta 2 m de alto, ramas con pubescencias cortamente pilosa. Hojas en peciolo 5-10 mm de largo, oblongas a elípticas, 2-4 cm de largo, obtusas o redondas en el ápice, a veces agudas, redondeadas o subcordadas a la base, densamente pilosas, suaves al tacto, glandulares y densamente tomentosas o pilosas al envés. Los márgenes finamente crenados; pedunculados de 2-6 en las axilas de las hojas, de 2-4 mm. Flores subglobosas a oblongas, 4-12 mm de largo, brácteas ovado-lanceoladas, agudas; cáliz glandular y densamente pilosas, de 1-2 mm de largo, corola blanca, 3-6 mm de largo.⁶⁰

1.5. Hábitat y distribución: Nativa del sur de Texas a Nicaragua, se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, Péten y Zacapa.

53, 60

1.6. Obtención: Recolectada en sus lugares de crecimiento silvestre, hay proyectos de 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.^{11,53.}

1.7. Historia: Con el nombre de Orégano se conocen más de 53 plantas de diferentes especies e incluso familias, que por sus aceites esenciales de

aromas parecidos han sido usados indistintamente. En Guatemala ha sido utilizado con fines culinarios y medicinales desde hace muchos años.¹¹

1.8. Usos etnomédicos: La decocción o infusión de hojas se usan para tratar anemia, afecciones gastrointestinales y respiratorias. 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 resfrío. 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 el cataplasma para madurar abscesos, calmar neuralgias, cáncer y tumores; en fricciones y baños se usa como calmante. La planta fresca macerada en aceite se aplica para 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.^{11, 18, 36, 53}

1.9. Otros Usos: Por su sabor, aroma y valor nutritivo las hojas secas se usan para sazonar carne, pescado, embutidos, ensaladas, guacamol, pozol, salsas y licores; además se usa como planta de jardín aromática, cosmética y para preparar arreglos florales.^{11, 53}

El aceite esencial tiene uso en perfumería, jabonería y cosmética. Las semillas se utilizan para extracción industrial de ácidos grasos, con un rendimiento de 29.2%.⁴²

1.10. Composición Química: El tamizaje fitoquímico contiene: Aceite esencial (1.8%), glicósidos saponínicos y triterpenos, celulosa, pigmento y elementos minerales; la corteza y la raíz contienen glicósidos saponínicos, aceite esencial y taninos. Las hojas contienen además flavononas (pinocembrina, naringenina) y lapachenol.^{19, 42, 49.}

1.11. Partes usadas como droga: Las hojas maduras secas.

2. DEL VEGETAL

2.1. Denominación: *Lippia graveolens folia*.

2.2. Definición: Hojas secas, maduras de color verde.

2.3. Obtención: Las hojas maduras verdes y frescas, libres de insectos, hongos u otros materiales contaminantes, se lavan con agua y se secan a la sombra.³²

2.4. Propiedades organolépticas: La droga pulverizada es de textura fina de color verde, olor fuerte y característico.

2.5. Descripción macroscópica: Hojas secas oblongas a elípticas, 2-4 cm de largo, obtusas o redondas en el ápice, subcordadas a la base, densamente pilosas, suaves al tacto.

2.6. Descripción microscópica: No se tiene información.

2.7. Posibles adulterantes o sustituyentes: Posible presencia de fragmentos de tallo y hojas de otras especies.

2.8. 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 antiinfecciosa y el carvacrol actividad antihelmíntico.^{11, 62}

2.9. Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de cromatografía de capa fina y cromatografía de gases.

3. DE LA DROGA VEGETAL:

3.1. Denominación: Hoja seca, molida y pulverizada de *L. graveolens*.

3.2. 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.

3.3. Componentes con actividad terapéutica y marcadores: El timol posee actividad antiinfecciosa y el carvacrol tiene actividad antihelmíntica.¹¹

3.4 Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía de capa fina y cromatografía de gases.

4. PRECLÍNICA

4.1. Estudios farmacológicos: Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de *L. 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 microorganismo. 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 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.^{10, 11, 40}

4.2. Estudios toxicológicos: Los extractos acuoso y etanólico de hojas de *L. graveolens* (500 ppm) presentan cierta toxicidad 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 DL del carvacrol por vía oral en conejos es 100 mg/Kg.^{11, 19, 49.}

5. CLÍNICA

5.1. Indicaciones terapéuticas: Por su acción antiséptica, digestiva y expectorante está indicado su uso por vía oral en el tratamiento de inapetencia, digestión lenta, meteorismo, tos, faringitis, sinusitis, bronquitis y amenorrea. Se recomienda administrar tres veces al día en dosis de 2-4 g en infusión, 1-3 mL de extracto fluido, 4-6 gotas de esencia, 1-2 cápsulas de 50 mg, 0.1-0.4 g en supositorios. Tópicamente se aplican inhalaciones húmedas y aerosoles para tratar afecciones respiratorias. Por sus propiedades antisépticas y cicatrizantes la infusión y esencia en linimento y pomadas están indicadas para tratar heridas, tinea y dolores reumáticos; el cataplasma se aplica en los abscesos varias veces al día.^{4, 11.}

5.2. Efectos secundarios: No se tiene ninguna información.

SALVIA SIJA

1. DE LA PLANTA MEDICINAL

1.1. Nombre científico: *Lippia alba* N.E. Browne e Brit & Wils.

Género: *Lippia*

Especie: *Lippia alba*

Familia: Verbenaceae

1.2. Sinonimias: *Lantana alba* Mil.; *L. lippiioides* H.A. *Lippia geminata* HBK; *L. geminata* variedad *microphylla* Griseb.; *L. lantanoides* Coult.¹¹

1.3. Nombres comunes: Juanilama, Mastranto, Salvia Santa, Santa María.¹¹

1.4. Descripción Botánica: Arbusto aromático, 1-2 m de alto, ramas largas, cayentes, densamente puberulentas o estrigosas. Hojas opuestas, oblongas, 2-8 cm de largo, peciolo 2-14 mm de largo, arrugadas, festonadas, cubiertas con pelillos cortos; venas prominentes en la cara externa; pedúnculos solitarios. Flores tubulares, 4-5 mm de largo, brácteas puberulentas, ovadas, acuminadas, las inferiores mucronadas; cabeza floral redonda u oblonga, 8-12 mm de largo, en pares, en pequeños tallitos en las hojas axilares, cáliz viloso, corola, púrpura o blanca.⁶⁰

1.5. Hábitat y distribución: Nativa de América, crece de México a Sur América y el Caribe en laderas, a la orilla de caminos y riveras de los ríos en alturas hasta de 1800 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Sacatepéquez, Sólola y Suchitepéquez.^{11, 60.}

1.6. Obtención: Recolectada en los campos de crecimiento silvestre o por alguna siembra doméstica en huertos familiares. Se recomienda su manejo o cultivo para garantizar su aprovisionamiento sostenido. Para su cultivo se requiere suelo bien drenado, media sombra; la propagación suele hacerse por estacas de madera dura que enraízan fácilmente, acodos subterráneos o por semilla; no existen cultivos establecidos en el país. Las hojas y flores se colectan en plena floración y se secan a la sombra.^{15, 46.}

1.7. Historia: Planta nativa frecuentemente cultivada en jardines de toda Centro América como ornato, por su fuerte aroma y sus propiedades medicinales y culinarias.¹¹

1.8. Usos etnomédicos: El cocimiento de hojas y flores se usa por vía oral para el tratamiento de afecciones hepáticas, gastrointestinales (cólico, colitis, diarrea, dispepsia, estomatitis, indigestión, flatulencia, náusea, vómitos) y respiratorias (asma, catarro, laringitis, resfrío, tos), diabetes, fiebre, insomnio, enfermedades venéreas, goma, artritis, dolores musculares y de muelas, hipertensión y atención del parto.¹¹

Por vía tópica, las hojas machacadas se inhalan para inducir sueño, la infusión se aplica en afecciones dermatomucosas y flujo vaginal. El extracto alcohólico se usa en fricciones contra resfriado y congestión de las vías respiratorias y reumatismo.

Se le atribuye actividad antiséptica, astringente, diaforética, emenagoga, espasmolítica, estomáquica, expectorante, febrífuga, pectoral y sudorífica.¹¹

1.10. Composición química: El tamizaje fitoquímico demuestra la presencia de alcaloides, derivados diterpénicos, taninos, aceite esencial y resinas.³

1.11. Partes usadas como droga: Las hojas maduras secas.

2. DEL VEGETAL

2.1. Denominación: *Lippia alba folia*.

2.2. Definición: Hojas secas, maduras de color verde.

2.3. Obtención: Las hojas maduras verdes y frescas, libres de insectos, hongos u otros materiales contaminantes, se lavan con agua y se secan a la sombra.³²

2.4. Propiedades organolépticas: La droga pulverizada es de textura fina de color verde, olor fuerte y característico.

2.5. Descripción macroscópica: Hojas secas oblongas, 2-8 cm de largo, peciolo 2-14 mm de largo, arrugadas, cubiertas con pelillos cortos.

2.6. Descripción microscópica: No se tiene ninguna información

2.7. Posibles adulterantes o sustituyentes: Posible presencia de fragmentos de tallo y hojas de otras especies.

2.8. Componentes con actividad terapéutica y marcadores: Aceite esencial (1.2%) está compuesto de geraniol (34%), neral (23%), β -cariofileno (6%), metilheptona (5.8%), citronelal (5.2%), geraniol (4.1%), borneol (2.6%), óxido de coriofileno (2.5%), allo-aromadendreno (2.4%), cis- α -bisaboleno (2.1%), germacreno D (2%), nerol (1.6%), linalool (1.1%), citronelal (0.7%), limoneno (0.4%), isobutirato de geranilo (0.4%), cubenol (0.3%), trans-ocimeno (0.2%), butirato de geranilo (0.2%), eugenol (0.2%).^{11, 41.}

2.9. Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía en capa fina y cromatografía de gases.

3. DE LA DROGA VEGETAL:

3.1. Denominación: Hoja seca, molida y pulverizada de *Lippia alba*.

3.2. 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.

3.4 Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía de capa fina y cromatografía de gases.

4. PRECLÍNICA

4.1. Estudios farmacológicos: Estudios antibacterianos muestran que la tintura de hojas es activa contra *S. aureus*, *S. pneumonie*, *S. pyogenes* y *S. typhi*. El aceite esencial es activo contra *C. albicans* y *T. mentagrophytes* y el extracto etanólico contra *Neurospora crassa*. Las hojas han demostrado actividad contra hongos fitopatógenos y contra insectos de granos almacenados.^{3, 7, 8, 9.}

El extracto etanólico de hojas es inactivo contra células CA-9KB en dosis de 20 μ g/mL, pero presenta actividad hipotensora en perros en dosis de 50 mg/Kg. El extracto hidroalcohólico concentrado de hojas tiene moderada actividad analgésica por la prueba de la contorsión y el

golpe de cola en ratón en dosis de 1g/Kg por vía oral. El aceite volátil presente en hojas y tallos tiene un efecto pectoral.¹¹

4.2. Estudios toxicológicos: La infusión de hojas y flores no produjo mortandad en el ratón en dosis mayores de 67 g/Kg. El extracto etanólico administrado por vía intraperitoneal al ratón tiene una DL₅₀ de 1 g/Kg.¹¹

4.3. Estudios realizados: En 1995 Mendoza realizó un estudio en el que encontró que la especie *L. alba* posee actividad antimicrobiana.⁴⁰

Sánchez realizó un estudio en 1994 con el que confirmó que las infusiones de *L. alba* poseen actividad analgésica.⁵⁴

Existe evidencia preliminar de la presencia de flavonoides del tipo flavonas y flavonoles según cromatografía en capa fina.

5. CLÍNICA

5.1. Indicaciones terapéuticas: Por su actividad antiséptica, astringente y analgésica está indicado su uso por vía oral en el tratamiento de infecciones digestivas y respiratorias así como para aliviar las molestias del parto, en dosis de 200-300 cc/día de infusión de 3-6 g/taza de hojas o 15-30 gotas/día de tintura.⁶⁰

5.2. Efectos secundarios: No se tiene ninguna información.

SALVIYÁ

1. DE LA PLANTA MEDICINAL

1.1. Nombre científico: *Lippia chiapasensis* Loes.

Género: *Lippia*

Especie: *Lippia chiapasensis*

Familia: Verbenaceae.

1.2. Sinonimias: No se tiene ninguna información.

1.3. Nombres comunes: Salviyá.

1.4. Descripción Botánica: Arbusto aromático, 1-2 m de alto, ramas largas, densamente puberulentas o estrigosas. Hojas opuestas, oblongas, 2-8 cm de largo, peciolo 2-14 mm de largo, arrugadas, cubiertas con pelillos cortos; venas prominentes en la cara externa; pedúnculos solitarios. Flores 4-5 mm de largo, brácteas puberulentas, ovadas, acuminadas.⁶⁰

1.5. Hábitat y distribución: Crece en áreas del Quiché y Totonicapán.⁶⁰

1.7. Obtención: Recolectada en los campos de crecimiento silvestre. Se recomienda su manejo o cultivo para garantizar su aprovisionamiento sostenido. Para su cultivo se requiere suelo bien drenado, media sombra; la propagación suele hacerse por estacas de madera dura que enraízan fácilmente, acodos subterráneos o por semilla. Las hojas y flores se colectan en plena floración y se secan a la sombra.^{15, 46.}

1.8. Historia: Esta planta es usada por el grupo étnico quiché, los cuales viven en la región de Totonicapán, y se les asigna diversos usos.

1.9. Usos etnomédicos: Se usa para el tratamiento de afecciones respiratorias (asma, catarro, laringitis, resfrío, tos), nerviosas y dolores musculares.

1.10. Composición química: El tamizaje fitoquímico demuestra la presencia de alcaloides, derivados diterpénicos, taninos, aceite esencial y resinas.³

1.11. Partes usadas como droga: Las hojas maduras secas.

2. DEL VEGETAL

2.1. Denominación: *Lippia chiapasensis folia*.

2.2. Definición: Hojas secas, maduras de color verde.

2.3. Obtención: Las hojas maduras verdes y frescas, libres de insectos, hongos u otros materiales contaminantes, se lavan con agua y se secan a la sombra.³²

2.4. Propiedades organolépticas: La droga pulverizada es de textura fina de color verde, olor fuerte y característico.

2.5. Descripción macroscópica: Hojas secas oblongas, 3-8 cm de largo, pecíolos 3-14 mm de largo, arrugadas, cubiertas con pelillos cortos.

2.6. Descripción microscópica: No se tiene ninguna información

2.7. Posibles adulterantes o sustituyentes: Posible presencia de fragmentos de tallo y hojas de otras especies.

2.8. Componentes y marcadores: Del aceite esencial han sido identificados 142 constituyentes de los cuales los más importantes son monoterpenos con un alto porcentaje (78.9%): trans-dihidrocarvona (14.2%), geraniol (10.1%), neral (7.3%) y 1,8-cineol (7.2%). Dentro de los sesquiterpenos el más abundante e importante fue el β -cariofileno (3.0%).⁴⁵

2.9. Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía en capa fina y cromatografía de gases.

3. DE LA DROGA VEGETAL:

3.1. Denominación: Hoja seca, molida y pulverizada de *Lippia chiapasensis*.

3.2. 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.

3.4 Metodología analítica: Análisis de aceites volátiles por medio de la cromatografía de capa fina y cromatografía de gases.

4. PRECLÍNICA

- 4.1. Estudios toxicológicos:** No se tiene ninguna información.
- 4.2. Estudios realizados:** Recientes estudios de Hernández y colaboradores demostraron que el aceite de salviá está compuesto de 142 constituyentes de los cuales los más importantes fueron los monoterpenos.²⁷

5. CLÍNICA

- 5.1. Indicaciones terapéuticas:** Se le atribuye propiedad analgésica, usado en el tratamiento de afecciones respiratorias y nerviosas.
- 5.2. Efectos secundarios:** No se tiene ninguna información.

4. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala ha ido incrementándose cada vez más el uso de las plantas medicinales y aromáticas en la producción de fitofármacos a base de aquellas que han demostrado cierta actividad farmacológica. Es importante señalar que las plantas tales como albahaca, orégano, salvia sija y salviyá presentan dentro de sus constituyentes, aceites esenciales, responsables de la actividad farmacológica, por lo que es necesario caracterizar y estandarizar los mismos, y obtener un mejor producto.

Actualmente solo se cuentan con datos puntuales y a veces muy subjetivos para la extracción de aceites esenciales y formulación de productos farmacéuticos a base de estas plantas y no se tienen fichas técnicas estándar de procedimientos para la obtención de dichos componentes (tinturas y extractos). Estas drogas por su origen vegetal fácilmente pueden variar y no presentar los mismos componentes en cantidades o calidad.

De allí la justificación de esta investigación, ya que al caracterizar estos aceites en forma farmacopéica se podrán obtener productos con una mayor calidad, garantizando así su seguridad y eficacia.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Caracterizar y estandarizar extractos, tinturas y aceites esenciales de albahaca de monte (*Ocimum micranthum*), orégano (*Lippia graveolens*), salvia sija (*Lippia alba*) y salviyá (*Lippia chiapasensis*) para elaborar una ficha técnica.

5.2. ESPECÍFICOS

- 5.2.1. Cuantificar el porcentaje de rendimiento de aceite esencial extraíble en cada planta.
- 5.2.2. Evaluar el material vegetal para la formulación posterior de los productos farmacéuticos.
- 5.2.3. Determinar el porcentaje de etanol como mejor solvente para la obtención de las diferentes tinturas y extractos de cada planta.
- 5.2.4. Caracterizar los constituyentes presentes en los aceites esenciales de las diferentes especies, por cromatografía en capa fina.
- 5.2.5. Sugerir los marcadores fitoquímicos de cada uno de las especies que podrían usarse para su estandarización y control de calidad.

6. HIPOTESIS

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

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. UNIVERSO Y MUESTRA

7.1.1. UNIVERSO

Plantas aromáticas nativas de Guatemala de uso medicinal validado.

7.1.2. MUESTRA

Hojas de Albahaca (*Ocimum micranthum*), orégano (*Lippia graveolens*), salvia sija (*Lippia alba*) y salviyá (*Lippia chiapasensis*).

7.2. MEDIOS

7.2.1. RECURSOS HUMANOS

7.2.1.1. Br. María Alejandra Morataya Morales, estudiante de la carrera de Química Farmacéutica.

7.2.2.2. Asesora: Licda. Sully Cruz

7.2.2. RECURSOS INSTITUCIONALES

7.2.2.1. Laboratorio de Productos Naturales (LIPRONAT)

7.2.2.2. Laboratorios de Productos Fitofarmacéuticos (FARMAYA)

7.2.2.3. Proyecto “Desarrollo de Tecnología de Cultivo de Plantas Medicinales y Producción de Fitoterapéuticos” OEA /AICD /USAC

7.3. RECURSOS MATERIALES

7.3.1. MATERIALES

7.3.1.1 Equipo

Balanza analítica, horno, estufa, percoladores, rotavapor, equipo de Neoclevenger, manta de calentamiento, cromatógrafo de gases, lámpara para U.V., potenciómetro y campana para extracción de gases.

7.3.1.2. Reactivos

Agua, Agua desmineralizada, Etanol al 35, 50, 70 y 95%, Tolueno grado reactivo, Acetato de etilo grado reactivo, N – hexano grado reactivo, Etil-metil-cetona grado reactivo, Metanol grado reactivo, Diclorometano, Silica gel 60F₂₅₄,

Cloroformo, KOH 5%, estándares de los componentes activos presentes en las cuatro plantas, reveladores y n-pentano.

7.3.1.3. Cristalería

Erlenmeyer de 250 mL y 1000 mL, probetas de 10, 25, 50, 100, 500 y 1000 mL, beakers de 100 y 250 mL, micropipetas, tubos de ensayo de 30 mL, cápsulas de porcelana, varillas de vidrio, pipetas volumétricas de 5, 10, 20 mL, balón de 250 mL y 500 mL, viales de 3 y 5 mL.

7.3.1.4. Materiales de laboratorio

Papel filtro y papel parafin.

7.3.1.5. Materiales de oficina

7.4. MÉTODO

7.4.1. Selección de la planta:

Se realizó una recopilación bibliográfica en la Facultad de de Ciencias Químicas y Farmacia y Farmaya, se seleccionaron cuatro especies por su disponibilidad en el momento del estudio.

7.4.2. Obtención de muestras:

Las muestras se recolectaron en las regiones de crecimiento silvestre o cultivo, siguiendo las buenas prácticas de colecta. Las hojas adultas se cosecharon al inicio de la floración, en algunos casos hasta la fructificación en luna creciente por la mañana. Se escogieron plantas sanas, vivas y representativas de la población. Se colectaron cuando tenían algunos frutos maduros pero antes de la madurez completa. Se cortó la base de las hojas utilizando una tijera manual de podar o manualmente. Se desecharon partes, decoloradas, enfermas o deterioradas por insectos o parásitos y se lavaron con abundante agua potable e hipoclorito de sodio.⁷

La planta se secó en condiciones libres de la humedad, el sol directo y el polvo, ya que pueden deteriorar el material y destruir sus propiedades medicinales. Después de la identificación botánica, determinación macroscópica y microscópica, la parte a utilizar (hoja)

como es muy frágil solamente se pasó a través de un tamiz para obtener un material semi-fino, se colectó en una bolsa plástica, se selló y se identificó con una etiqueta para los posteriores análisis.

7.4.3. Determinación organoléptica de la droga seca

Se colocó una muestra de la planta en un vidrio de reloj. Haciendo uso del estereoscópo se determinó el color y posible materia extraña (hongos, insectos, piedras, etc.). Se evaluó la textura tocando la planta, clasificándola como dura, áspera, blanda, suave, etc. Se evaluó el olor colocando una parte de la planta en la palma de la mano y se trituró para clasificarla como inodoro, débil o fuerte. La sensación del olor se clasificó como aromático, frutal, leñosos, húmedo, mohosos, rancio.⁵⁴

7.4.4. Parámetros físicos

7.4.3.1. Porcentaje de humedad

Se pesó 1 g de planta en una cápsula de porcelana, previamente lavada y tarada. Se colocó dentro de un horno a una temperatura aproximada de 110°C por una hora. Pasado el tiempo las cápsulas se colocaron 30 minutos dentro de una desecadora para eliminar cualquier residuo para después cuantificar el agua eliminada. (Ver cálculos en anexo No. 2)

7.4.3.2. Cenizas

Se pesó 1 g de planta en un crisol previamente lavado y tarado (este después de lavado se dejó por una hora dentro de la mufla a una temperatura de 600°C y se sacaron hasta que esta tenía una temperatura de 40°C), luego se colocó el crisol con la planta dentro de la mufla por una hora a 600°C (se tuvo en cuenta que cuando se utilizó la mufla esta se abrió hasta el siguiente día). Por último se realizaron los cálculos. (Ver cálculos en anexos)

7.4.5. Extracción

7.4.5.1. Mejor disolvente para preparación de tinturas y extractos etanólicos:

Se utilizó etanol al 35, 50, 70 y 95%. Para esto se colocaron 4 g de material vegetal en cuatro erlenmeyers y luego se le adicionó a cada uno 100 mL de etanol a diferente concentración. Se maceró con agitación frecuentemente por 6 horas. Se dejó reposar por 18 horas. Se filtró y se tomaron 25 mL del filtrado para colocarlo en una cápsula de porcelana previamente lavada, desecada y tarada (esto se hizo por triplicado). Se evaporó en baño María y se colocaron en el horno a 105°C por 6 horas. Por último se dejaron 30 minutos en la desecadora y se obtuvieron sólidos totales. (Ver cálculos en anexos)

7.4.5.2. Preparación de tinturas etanólicas 1:10 y 1:5:

Para una tintura 1:10 se colocaron 20 g de material vegetal en un percolador con 200 mL del etanol que se obtuvo en el mejor disolvente y se llevó a volumen; para una tintura 1:5 se utilizaron 40 g y 200 mL de etanol. Se cubrió el material y se dejaron 2 cm de etanol sobre él. Se dejó reposar por 24 horas. Transcurrido el tiempo se abrió la llave del percolador y se recogió el líquido en un erlenmyer, se llevó a volumen. Por último a las tinturas se les realizó análisis organoléptico, fisicoquímico y porcentaje de rendimiento.

7.4.5.3. Preparación de extractos etanólicos 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 y 5:1:

Se colocaron 500 g de material vegetal en un percolador y se le adicionaron 5L de etanol y se dejó en reposo por 48 horas. Transcurrido el tiempo establecido se abrió la llave del percolador y se obtuvo una tintura 1:10. Para obtener un extracto 1:1 se le extrajo el etanol por medio de un rotavapor hasta dejar en el balón del mismo un volumen de 500 mL de extracto. Se dejaron 100 mL de extracto en retención para análisis organoléptico y fisicoquímico. A los

400 mL de extracto 1:1 se le extrajeron 200 mL de etanol en el rotavapor y así se obtuvo el extracto 2:1, se dejaron 50 mL en retención para posteriores análisis. A los 150 mL de este extracto se le extrajeron 75 mL de etanol dejando un extracto 3:1. Si este extracto estaba heterogéneo se siguió extrayendo etanol hasta obtener el extracto 4:1 y si es posible 5:1.

7.4.5.4. Extracción de aceite esencial por Neoclevenger y análisis de constituyentes del aceite por cromatografía de gases.

Extracción de aceite esencial

Se pesó 50 g (por triplicado) del material vegetal y se introdujo en un balón de destilación de 1,000 mL. Se agregó agua destilada hasta cubrir el material. Se instaló el destilador de aceites esenciales. Ver Anexo No. 1

En el recipiente recolector, se llenó de agua y se conectó el refrigerante, se agregó 3 mL de pentano.

Se destiló a temperatura constante, aproximadamente durante 3 horas, al final de las cuales el agua y el aceite esencial se condensaron. Se midió la capa superior de aceite esencial recogido en el recipiente graduado. Se abrió la llave, se dejó caer el agua y se descartó. Se recibió la parte pentánica en un balón de 125 mL, se lavó el tubo con pentano y se agregó al destilado. Se colocó el balón al rotavapor, para separar el pentano del aceite, se colocó el aceite en un vial previamente tarado, se pesó el aceite esencial y se calculó el % de rendimiento.⁵⁹

Cromatografía de gases:

Preparación de estándares

Se inyectaron mezclas de estándares y por separado.

Mezcla No. I

Eucaliptol, carvacrol, timol, citronelal, α terpineol, nerol, linalool.

Mezcla No. II

P-cimeno, geraniol, isoeugenol, limoneno.

Mezcla No. III

Linalool y timol.

Preparación de las muestras

Se hizo una mezcla de las extracciones obtenidas, las cuales fueron inyectadas y se les dieron un tiempo de corrida de 60 minutos.

Cromatógrafo y condiciones

Marca y modelo: Hewlett Pacard HP-6890 series

Tipo de columna: HP20M Carbo wax 50 m x 0.32 cm.
0.3 ml film.

Temperatura: 220°C

Gas portador: Nitrógeno

Volumen inyectado: 1 μ L

Lavado de jeringa: hexano

Tipo de inyector: Normal

Tipo de detector: FID

7.4.6. Caracterización de tintura y extractos etanólicos.

7.4.6.1. Caracterización organoléptica

- Apariencia: Se clasificará como sólido, semisólida y líquida.
- Olor: Por ser plantas con aceite esencial todas presentaron un olor característico. Este se pudo evaluar inhalando

suavemente el extracto en un vaso de precipitar, y se repitió la inhalación tres veces.

- Color: Se comparó con uno de referencia (Pantone ® Color Formula Guide 1000 SICPA) en una habitación en donde hubo luz blanca.

7.4.6.2. Caracterización fisicoquímica

- pH: Este se obtuvo utilizando un potenciómetro (Por triplicado).
- Densidad: Se llevó a cabo con un densímetro o un picnómetro (Por triplicado).
- Sólidos Totales: Se filtró y se tomó un volumen conocido de tintura y de extracto filtrado para colocarlo en una cápsula de porcelana previamente lavada, desecada y tarada (esto se hizo por triplicado). Se evaporó en baño María y se colocaron en el horno a 105°C por 6 horas. Por último se dejaron 30 minutos en la desecadora y se obtuvieron sólidos totales. (Ver cálculos en anexo No. 2)

7.4.6.3. Caracterización fitoquímica.

7.4.6.3.1. Investigación de alcaloides

Se pesó 1g de extracto vegetal sólido. Se agregaron 2 gotas de solución de hidróxido de amonio al 10% (p/v), luego se añadieron 25 mL de metanol a 60°C. Se filtró con papel filtro Whatman No. 1 y se acidificó con ácido clorhídrico 2N. La solución resultante se dividió en 4 tubos y se evaluó de la siguiente manera:

Tubo No. 1: se agregaron 5 gotas de reactivo de Mayer.

Tubo No. 2: se agregaron 5 gotas de reactivo de Dragendorff

Tubo No. 3: se agregaron 5 gotas de reactivo de Wagner

Tubo No. 4: testigo

Se uso como estándar solución al 1% de atropina y papaverina.

Se observó durante dos horas la existencia de precipitado o turbidez.

7.4.6.3.2. Investigación de taninos

Se pesó 1 g de extracto sólido y se disolvió en 10 mL de etanol y se filtró, se agregó 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10% y se filtró. Se adicionaron 3 mL del filtrado a 4 tubos de ensayo y se evaluó de la siguiente manera:

Tubo No. 1: testigo

Tubo No. 2: se agregaron 4-5 gotas de gelatina al 1% (p/v)

Tubo No. 3: se agregaron 4-5 gotas de gelatina-sal al 1% de gelatina y cloruro de sodio al 10%.

Tubo No. 4: se agregaron 3-4 gotas de solución de cloruro férrico al 10% (p/v).

Se observó formación de precipitado y/o cambio de coloración. Al agregar cloruro férrico la solución se pudo tornar de color grisáceo-negro (presencia de catecol); color negro-azulado (presencia de taninos tipo pirogalol).

7.4.6.3.3. Investigación de Saponinas

Se utilizaron 2 mL de estándar de saponinas y se utilizaron 10 mL de extracto 1:1. Se tapó y se agitó vigorosamente los tubos durante 30-40 segundos. Se dejó reposar los tubos en posición vertical y se observó durante un lapso de 30 minutos. Si una capa de espuma mayor de 3cm persistía en la superficie del líquido después de los 30 minutos, se presumió que la muestra tenía saponinas.

7.4.7. Análisis Cromatográfico de capa delgada

Se utilizaron láminas TLC-60 F254 de Merck, con aproximadamente una distancia de 15cm para el revelado.³

Se aplicaron aproximadamente 20-25 μ L de las soluciones

etanólicas a diferentes concentraciones, tinturas, 15 μ L extractos fluidos o blandos y 10-15 μ L extractos semisólidos o secos, (disolviendo estos en 10 mL de etanol). Todas las muestras fueron filtradas antes de aplicarlas en la cromatoplaça. Se aplicaron de 3 a 10 μ L de los estándares.

- Identificación de alcaloides:

Las diferentes muestras se mezclaron con 1 mL de solución de amonio al 10%, se filtró y se utilizó el filtrado para la cromatografía.

Sistema de disolventes: Tolueno - acetato de etilo - dietilamina
(70:20:10)

Métodos de detección: Dragendorff, Iodoplatinato. Las zonas que aparecen al asperjar la cromatoplaça son de color naranja café a naranja. En luz ultravioleta a 365 nm se observa un azul intenso.⁶²

Estándares: Papaverina, reserpina, Ajmalina y Atropina (0.1% en metanol).

- Identificación de aceites esenciales:

Sistema de disolvente: Tolueno-acetato de etilo (93:70)

Método de detección: Vainillina - ácido sulfúrico, ácido fosfomolibdico.

Estandares: Soluciones en tolueno (1:300) de Eucaliptol, carvacrol, timol, citronelal, alfa-terpineol, nerol, linalool, p-cimeno, geraniol, isoeugenol, limoneno.

- Identificación de flavonoides:

Sistema de disolvente: acetato de etilo - ácido fórmico - ácido acético glacial-agua (100:11:11:27)

Método de detección: Reactivo de productos naturales.

Estándares: Se aplicaron 10 microlitros de soluciones al 0.05% en metanol de ácido clorogénico, quercetina, rutina

y apigenina. Un Típico color fluorescente intenso en UV-365 nm es producido al agregar el revelador o después de 15 minutos.

- Identificación de saponinas:

Sistema de disolvente: cloroformo – metanol (95:5)

Método de detección: Vainillina - ácido sulfúrico. Con este reactivo las saponinas forman principalmente azul o azul violeta y a veces zonas amarillos suaves.

Estándares: Soluciones al 0.1% en metanol de saponinas, adenosina.

7.4.6. Análisis e interpretación de resultados.

Este se realizó después de un profundo análisis de los resultados obtenidos, comparándolos con la literatura consultada y otras investigaciones sobre dichas plantas.

Para la interpretación de resultados se elaboró una ficha técnica de cada planta, la cual tuvo la siguiente información:

- Identificación botánica
- Análisis Organoléptico de la materia vegetal
- Algunos parámetros físicos
- Mejor disolvente para preparación de tinturas y extractos
- Caracterización fitoquímica

7.4.7. Elaboración de ficha técnica

Ver anexo No.3

8. RESULTADOS

Para la presentación de los resultados se elaboró una ficha técnica para cada planta estudiada con la siguiente información:

- 8.1. Identificación botánica: Se colocó el nombre científico de la planta, familia, nombre común, procedencia y número de herbario con la que esta identificada la muestra de referencia.
- 8.2. Análisis Organoléptico de la materia vegetal: Se incluyó parte de la planta estudiada, color y olor de la misma, porcentaje de aceite esencial extraído y los componentes identificados del mismo.
- 8.3. Algunos parámetros físicos: Tales como porcentaje de humedad y cenizas.
- 8.4. Mejor disolvente para preparación de tinturas y extractos.
- 8.5. Caracterización de tinturas y extractos: Se realizó un análisis organoléptico a cada tintura y extracto con las pruebas siguientes:
 - 8.5.1 Apariencia
 - 8.5.2 Color
 - 8.5.3 Olor
- 8.6. Análisis fisicoquímicos con las pruebas siguientes:
 - 8.6.1. pH
 - 8.6.2. Densidad
- 8.7. Análisis fitoquímico

Incluye pruebas de diferentes compuestos, cromatografía en capa fina y cromatografía de gases para la identificación de algunos metabolitos importantes según la literatura consultada.

Tabla No. 1

DE LA MATERIA VEGETAL			
Identificación botánica			
Nombre Científico:	Ocimum micranthum		
Nombre Común:	Albahaca		
Procedencia:	Samayac		
Análisis organoléptico			
Órgano	Hojas		
Color:	Café		
Olor:	Característico		
Parámetros físicos y químicos			
% de humedad	8.00 %		
% de cenizas	11.32 %		
DEL PREPARADO VEGETAL			
Mejor disolvente para preparación de extractos y tinturas			
Disolvente		Sólidos totales	
Etanol 35%		0.165 g (± 5%)	
Etanol 50%		0.155 g (± 5%)	
Etanol 70%		0.124 g (± 5%)	
Características de tinturas y extractos			
Propiedades organolépticas			
Tinturas	Apariencia	Olor	Color
1:5	Translúcida	Característico	155C
1:10	Translúcida	Característico	468C
Extractos	Apariencia	Olor	Color
1:1	Translúcida	Característico	466C
2:1	Sedimentación	Característico	465C
3:1	2 Fases	Característico	464C
4:1	Sólido	Característico	469C
Propiedades físicoquímicas			
Tinturas	pH	Densidad	Sólidos
1:5	6.12	0.994	0.01755 (± 5%)
1:10	6.11	0.992	0.01075 (± 5%)
Extractos	pH	Densidad	Sólidos
1:1	5.3	1.13	0.1185 (± 5%)
2:1	5.34	1.2	0.2143 (± 5%)
3:1	5.34	No determinado	0.5955 (± 5%)

4:1

No determinado

No determinado

No determinado

% ACEITE ESENCIAL

0.9876

COMPONENTES: Linalool, alfa-terpineol, eugenol, eucaliptol.

Análisis fitoquímico

Metabolito Secundario	Ensayo	Reacción	Resultado Rf (cm)
Aceites Volátiles	CCF	Color, mancha	
Linalool		Azul	0.43
Alfa-terpineol		Morado	0.32
Eugenol		Amarillo-café	0.25
	CG	Tiempo de Retención (min)	Área de Porcentaje
Eucaliptol		5.807	3.3520
Linalool		7.717	76.6043
Alfa-terpineol		9.717	0.2782

Tabla No. 2

DE LA MATERIA VEGETAL			
Identificación botánica			
Nombre Científico:	Lippia graveolens		
Nombre Común:	Orégano		
Procedencia:	Samayac		
Análisis organoléptico			
Órgano	Hojas		
Color:	Verde-café		
Olor:	Característico		
Parámetros físicos y químicos			
% de humedad	9.96 %		
% de cenizas	10.91 %		
DEL PREPARADO VEGETAL			
Mejor disolvente para preparación de extractos y tinturas			
Disolvente	Sólidos totales		
Etanol 35%	0.167 g (± 5%)		
Etanol 50%	0.169 g (± 5%)		
Etanol 70%	0.178 g (± 5%)		
Características de tinturas y extractos			
Propiedades organolépticas			
Tinturas	Apariencia	Olor	Color
1:5	Translúcido	Característico	458u
1:10	Translúcido	Característico	459u
Extractos	Apariencia	Olor	Color
1:1	Sedimentación	Característico	128u
2:1	Sedimentación	Característico	127u
3:1	Sedimentación	Característico	141C
4:1	Sólido	Característico	453C
Propiedades físicoquímicas			
Tinturas	pH	Densidad	Sólidos
1:5	5.74	0.978	0.02945 (± 5%)
1:10	5.69	0.977	0.0199 (± 5%)
Extractos	pH	Densidad	Sólidos
1:1	4.93	1.0035	0.0385 (± 5%)
2:1	4.58	1.0119	0.594 (± 5%)
3:1	4.48	No determinado	0.1143 (± 5%)

4:1	No determinado	No determinado	No determinado
% ACEITE ESENCIAL			
1.8022			
COMPONENTES: Timol, linalool, p-cimeno, eucaliptol, carvacrol.			
Análisis fitoquímico			
Metabolito Secundario	Ensayo	Reacción	Resultado Rf (cm)
Saponinas	Prueba de Espuma	Presencia de espuma	Negativo
Flovonoides	CCF	Fluorescencia	
Rutina		Naranja	0.53
Quercetina		Naranja	0.96
Aceites Volátiles	CCF	Color, mancha	
Timol		Violeta	0.54
Linalool		Azul	0.27
	CG	Tiempo de Retención (min)	Área de Porcentaje
Eucaliptol		5.877	4.7992
para-cimeno		5.980	10.8352
Linalool		7.763	0.2844
Timol		17.884	64.5003
Carvacrol		18.712	0.1880

Tabla No. 3

DE LA MATERIA VEGETAL			
Identificación botánica			
Nombre Científico:	Lippia alba		
Nombre Común:	Salvia sija		
Procedencia:	Samayac		
Análisis organoléptico			
Órgano	Hojas lanceoladas		
Color:	Verde		
Olor:	Característico		
Parámetros físicos y químicos			
% de humedad	10.06 %		
% de cenizas	12.00 %		
DEL PREPARADO VEGETAL			
Mejor disolvente para preparación de extractos y tinturas			
Disolvente		Sólidos totales	
Etanol 35%		0.172g (± 5%)	
Etanol 50%		0.174 g (± 5%)	
Etanol 70%		0.148 g (± 5%)	
CARACTERÍSTICAS DE TINTURAS Y EXTRACTOS			
Propiedades organolépticas			
Tinturas	Apariencia	Olor	Color
1:5	Translúcido	Dulce	4535u
1:10	Translúcido	Dulce	4545u
Extractos	Apariencia	Olor	Color
1:1	Sedimentación	Melaza	464u
2:1	Sedimentación	Melaza	146u
3:1	Sólido	Melaza	1395u
Propiedades físicoquímicas			
Tinturas	pH	Densidad	Sólidos
1:5	6.46	0.988	0.02755 (± 5%)
1:10	6.4	0.986	0.0163 (± 5%)
Extractos	pH	Densidad	Sólidos
1:1	6.06	1.0107	0.0738 (± 5%)
2:1	6.56	1.0206	0.08205 (± 5%)
3:1	No determinado	No determinado	No determinado

% ACEITE ESENCIAL

0.0345

COMPONENTES: β -cariofileno, linalool, nerol, geraniol.**Análisis fitoquímico**

Metabolito Secundario	Ensayo	Reacción	Resultado Rf (cm)
Taninos	Test de sal de gelatina	Formación de ppt	positivo
Aceites Volátiles	CCF	Color, mancha	
β -cariofileno		Violeta-morado	0.97,0.4
Linalool		Azul	0.27
Nerol		Gris-azul	0.18
	CG	Tiempo de Retención (min)	Área de Porcentaje
Geraniol		9.699	72.7159
Nerol		11.551	0.2548

DE LA MATERIA VEGETAL**Identificación botánica**

Nombre Científico:	<i>Lippia alba</i>
Nombre Común:	Salvia sija
Procedencia:	Samayac

Análisis organoléptico

Órgano	Hojas redondas
Color:	Verde
Olor:	Característico

Parámetros físicos y químicos

% de humedad	9.95 %
% de cenizas	11.22 %

DEL PREPARADO VEGETAL**Mejor disolvente para preparación de extractos y tinturas**

Disolvente	Sólidos totales
Etanol 35%	0.181 g ($\pm$ 5%)
Etanol 50%	0.190 g ($\pm$ 5%)
Etanol 70%	0.148 g ($\pm$ 5%)

Características de tinturas y extractos**Propiedades Organolépticas**

Tinturas	Apariencia	Olor	Color
1:5	Translúcido	Dulce	616c
1:10	Translúcido	Dulce	615c

Extractos	Apariencia	Olor	Color
1:1	Translúcido	Melaza	4505c
2:1	Sedimentación	Melaza	463c
3:1	Sólido	Melaza	1255u

Propiedades físicoquímicas

Tinturas	pH	Densidad	Sólidos
1:5	6.56	0.966	0.02925 ($\pm$ 5%)
1:10	6.58	0.964	0.0186 ($\pm$ 5%)

Extractos	pH	Densidad	Sólidos
1:1	5.52	1.11	0.1280 ($\pm$ 5%)
2:1	5.6	1.27	0.379 ($\pm$ 5%)
3:1	No determinado	No determinado	No determinado

% ACEITE ESENCIAL

1.4831

COMPONENTES: β -cariofileno, linalool, nerol, citronelal, geraniol, limoneno.**Análisis fitoquímico**

Metabolito Secundario	Ensayo	Reacción	Resultado Rf (cm)
Taninos	Test de sal de gelatina	Formación de ppt	Positivo
Aceites Volátiles	CCF	Color, mancha	
B-cariofileno		Violeta-morado	0.94,0.41
Linalool		Azul	0.28
Nerol		Gris-azul	0.19
	CG	Tiempo de Retención (min)	Área de Porcentaje
Citronelal		7.248	0.7463
Linalool		7.665	0.5001
Geraniol		10.990	0.4956
Nerol		11.478	0.10059
Limoneno		16.185	1.9126

DE LA MATERIA VEGETAL**Identificación botánica**

Nombre Científico: *Lippia chiapasensis*
 Nombre Común: Salviyá
 Procedencia: Samayac

Análisis organoléptico

Órgano: Hojas
 Color: Verde
 Olor: Característico

Parámetros físicos y químicos

% de humedad: 10.3 %
 % de cenizas: 10.73 %

DEL PREPARADO VEGETAL**Mejor disolvente para preparación de extractos y tinturas**

Disolvente	Sólidos totales
Etanol 35%	0.218 g ($\pm$ 5%)
Etanol 50%	0.166 g ($\pm$ 5%)
Etanol 70%	0.224 g ($\pm$ 5%)

Características de tinturas y extractos**Propiedades organolépticas**

Tinturas	Apariencia	Olor	Color
1:5	Translúcida	Dulce	616u
1:10	Translúcida	Dulce	614u

Extractos	Apariencia	Olor	Color
1:1	Translúcida	Hierbas	466c
2:1	Sedimentación	Hierbas	465c
3:1	Sólido	Hierbas	132c

Propiedades físicoquímicas

Tinturas	pH	Densidad	Sólidos
1:5	6.44	0.976	0.0402 ($\pm$ 5%)
1:10	6.39	0.975	0.0208 ($\pm$ 5%)

Extractos	pH	Densidad	Sólidos
1:1	5.04	1.0025	0.0273 ($\pm$ 5%)
2:1	5.05	1.0138	0.064 ($\pm$ 5%)
3:1	No determinado	No determinado	No determinado

% ACEITE ESENCIAL

0.7533

COMPONENTES: β -cariofileno, linalool, nerol, R-(+)-citronelal, geraniol, limoneno.**Análisis fitoquímico**

Metabolito Secundario	Ensayo	Reacción	Resultado Rf (cm)
Taninos	Test de sal de gelatina	Formación de ppt	Positivo
Aceites Volátiles	CCF	Color, mancha	
β -cariofileno		Violeta-morado	1.05,0.47
Linalool		Azul	0.32
Nerol		Gris-azul	0.22
R-(+)-citronelal		Azul	0.68
	CG	Tiempo de Retención (min)	Área de Porcentaje
Citronelal		7.313	0.4549
Linalool		7.713	4.1767
Geraniol		10.561	23.1071
Nerol		11.525	0.2942
Limoneno		16.185	2.7005

CROMATOGRAMA NO.1

ALBAHACA

CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL

TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPONENTES IDENTIFICADOS	AREA DE PORCENTAJE
5.807	Eucaliptol	3.3520
7.717	Linalool	76.6043
9.717	Alfa-terpineol	0.2782

30 PICOS INTEGRADOS

3 IDENTIFICADOS

27 NO IDENTIFICADOS

CROMATOGRAMA NO.2

ORÉGANO MEXICANO

CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL

TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPONENTES IDENTIFICADOS	AREA DE PORCENTAJE
5.877	Eucaliptol	3.3520
5.980	p-cimeno	76.6043
7.763	Linalool	0.2782
17.884	Timol	64.5003
18.712	Carvacrol	0.1880

37 PICOS INTEGRADOS

5 IDENTIFICADOS

32 NO IDENTIFICADOS

CROMATOGRAMA NO.3

SALVIA SIJA
HOJA REDONDA

CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL

TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPONENTES IDENTIFICADOS	AREA DE PORCENTAJE
7.248	Citronelal	0.7463
7.665	Linalool	0.5001
10.990	Geraniol	0.4956
16.185	Limoneno	1.9126

68 PICOS INTEGRADOS
5 IDENTIFICADOS
63 NO IDENTIFICADOS

CROMATOGRAMA NO.4

SALVIA SIJA
HOJA LANCEOLADA

CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL

TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPONENTES IDENTIFICADOS	AREA DE PORCENTAJE
10.880	Geraniol	72.7159
11.551	Nerol	0.2548

23 PICOS INTEGRADOS

2 IDENTIFICADOS

21 NO IDENTIFICADOS

CROMATOGRAMA NO.5

SALVIYÁ

CONSTITUYENTES DEL ACEITE ESENCIAL

TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPONENTES IDENTIFICADOS	AREA DE PORCENTAJE
7.313	Citronelal	0.4549
7.713	Linalool	4.1767
10.561	Geraniol	23.1071
11.525	Nerol	0.2942
16.185	Limoneno	2.7005

58 PICOS INTEGRADOS

4 IDENTIFICADOS

54 NO IDENTIFICADOS

MEZCLA DE ESTÁNDARES I

MEZCLA DE ESTÁNDARES II

MEZCLA DE ESTÁNDARES III

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se hizo la caracterización fisicoquímica para evaluar que la materia prima se encuentra en condiciones adecuadas para la elaboración de productos intermedios como tinturas y extractos. Los parámetros a evaluar como el porcentaje de humedad estuvieron por debajo 10 %, cenizas por debajo del 12 % cumpliendo así con lo establecido según la Farmacopea Herbolaria (British Herbal Pharmacopea)

La mayoría de extractos fitofarmacéuticos están elaborados utilizando etanol como solvente, se hicieron pruebas de extracción a diferentes concentraciones (35, 50 y 70%), y se determinó que el mejor solvente para la albahaca fue el de 35 %, el orégano y salviyá el 70% y salvia sija tanto en hoja lanceolada como hoja redonda fue el de 50%.

Se evaluó las características organolépticas y fisicoquímicas de las tinturas y extractos elaborados con el etanol ya determinado para cada planta. Estos parámetros como el pH y densidad se observaron bastante satisfactorios ya que los rangos de pH estaban dentro de 4.58 a 6.59 y la densidad 1.000 ± 0.1 siendo estos estables para la elaboración de estos productos. En algunos extractos no se determinó la densidad ya que éstos presentaron dos fases.

En la caracterización fitoquímica se utilizaron estándares conocidos para comparar los posibles metabolitos presentes en las cuatro plantas, a los cuales se les atribuye su actividad farmacológica y los que presentan un mayor porcentaje dentro de las mismas.

Hay que tomar en cuenta que el rendimiento dependerá de varios factores como: condiciones climáticas del lugar, cultivo, época de año, grado de humedad de la planta.

Al analizar los constituyentes del aceite esencial por medio de cromatografía de gases, se utilizaron estándares reportados con mayor actividad

terapéutica según la literatura consultada. Se inyectó tres mezclas de estándares, esto se hizo para que los mismos estuvieran en condiciones parecidas con la muestra ya que estas contienen diferentes componentes, siendo este un factor para que el tiempo de retención de los componentes varíe un poco. El porcentaje de área que se obtuvo de los diferentes compuestos identificados fue recalculado eliminando el porcentaje de área que el cromatograma presentó el disolvente con el cual se lavó la jeringa. Para la albahaca se identificó el eucaliptol, linalool y alfa-terpineol, teniendo mayor porcentaje de área el linalool. En el orégano los dos compuestos más importantes dentro del aceite esencial son el timol y el carvacrol, según su actividad farmacológica estudiada. En la especie de Guatemala se podría decir que el compuesto mayoritario es el timol ya que se encontró un 64.05003% del mismo. Al comparar la salvia sija hoja lanceolada con la de hoja redonda, se observa que el único compuesto en común encontrado según la cromatografía en capa fina es el geraniol, siendo mayoritario en la salvia sija de hoja lanceolada, está presente además nerol. La salvia sija hoja redonda presentó varios compuestos aunque con un porcentaje de área muy bajo: geraniol y nerol. También se comparó la salvia sija hoja lanceolada con la salviá teniendo en común el geraniol y el nerol, aunque siempre las hojas de salvia sija presentaron mayor porcentaje de área en lo que se refiere al geraniol. Salviá presentó el citronelal, el linalool y el limoneno además de los ya mencionados.

Se realizó la prueba de saponinas para confirmar la presencia de las mismas en el orégano según la literatura, pero ésta fue negativa, por lo que se podría decir que la especie de Guatemala no presenta saponinas dentro de su composición.

También se realizó una caracterización de los constituyentes presentes en los aceites esenciales por cromatografía en capa fina, utilizando algunos estándares ya mencionados anteriormente, tanto en las muestras de mejor solvente, tinturas y extractos. Se observaron bandas del mismo color y con el mismo R_f que los estándares aplicados. En la albahaca se identificaron el linalool, alfa-terpinol y eugenol. En el orégano se identificó el timol, linalool. En la salvia sija hoja lanceolada se identificó el β -cariofileno, linalool y nerol. La salvia sija hoja redonda presentó los mismo compuestos identificado que las salvia sija hoja lanceolada. Salviyá presentó los mismo compuestos que salvia sija además se pudo identificar el R-(+)-citronelal.

Se realizó la cromatografía de capa fina para la determinación de flavonoides, observándose la presencia de rutina y quercetina en el orégano.

Se realizó la prueba de alcaloides para confirmar la presencia de éstos tanto en la salvia sija hoja lanceolada y hoja redonda como en salviyá pero se obtuvo un resultado negativo, porque no se formó ningún precipitado en la muestra, pudiendo decir que posiblemente la especie de Guatemala no es rica en alcaloides.

Al realizar la prueba de taninos en salvia sija hoja lanceolada y hoja redonda y salviá, se observó la formación de precipitado y cambio de coloración. Al agregar cloruro férrico la solución se tornó de color negro-azulado pudiendo tener taninos tipo pirogalol.

10. CONCLUSIONES

1. Se cuantificó el porcentaje de aceite esencial por medio hidrodestilación con el aparato de Neoclevenger según la Farmacopea Europea. De las cuatro plantas estudiadas el que posee mayor porcentaje de aceite es el del orégano con 1.8022% y el de menor salvia sija hoja lanceolada con 0.0345%. Se obtuvo un porcentaje en la albahaca de 0.9876%, salvia sija hoja redonda 1.4831% y salviyá 0.7533%.
2. Los parámetros fisicoquímicos de humedad y cenizas evaluados en las 5 especies aromáticas cumplieron con lo establecido en las Farmacopea Herbolaria.
3. El mejor disolvente para la preparación de tinturas y extractos de cada especie fue: **albahaca** (etanol al 35%), **orégano** (etanol al 70%), **salvia sija hoja lanceolada** (etanol 50%), **salvia sija hoja redonda** (etanol 50%) y **salviyá** (etanol al 70%).
4. El extracto recomendado como producto intermedio por sus características es: **albahaca** (extracto 4:1), **orégano** (extracto 4:1), **salvia sija hoja lanceolada** (extracto 3:1), **salvia sija hoja redonda** (extracto 3:1) y **salviyá** (extracto 3:1).
5. Se obtuvo un porcentaje de aceite esencial de: **albahaca** 0.9876%, **orégano** 1.8022%, **salvia sija hoja lanceolada** 0.0345%, **salvia sija hoja redonda** 1.4831% y **salviyá** 0.7533%.

6. Los metabolitos encontrados según la cromatografía en capa fina fueron: **albahaca**, aceites esenciales; **orégano**, saponinas, flavonoides y aceites esenciales; **salvia sija hoja lanceolada**, taninos y aceites esenciales; **salvia sija hoja redonda**, taninos y aceites esenciales; y **salviyá**, taninos y aceites esenciales.
7. Los componentes del aceite esencial encontrados según la cromatografía de gases fueron: **albahaca**, eucaliptol, linalool y alfa-terpineol; **orégano**, eucaliptol, p-cimeno, linalool, timol y carvacrol; **salvia sija hoja lanceolada**, citronelal, linalool, geraniol, y limoneno; **salvia sija hoja redonda**, Geraniol y nerol y **salviyá**, Citronelal, linalool, geraniol, nerol, y limoneno.

11. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar un estudio cromatográfico de aceites esenciales con cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas ya que este identificaría con mayor precisión los compuestos encontrados.
2. Utilizar los siguientes grados alcohólicos para preparar tinturas y extractos de: **albahaca** (etanol al 35%), **orégano** (etanol al 70%), **salvia sija hoja lanceolada** (etanol 50%), **salvia sija hoja redonda** (etanol 50%) y **salviyá** (etanol al 70%).
3. Utilizar los siguientes extractos como producto intermedio: **albahaca** (extracto 4:1), **orégano** (extracto 4:1), **salvia sija hoja lanceolada** (extracto 3:1), **salvia sija hoja redonda** (extracto 3:1) y **salviyá** (extracto 3:1) ya que sus características son óptimas para un producto fitofarmacéutico.
4. Realizar estudios de estabilidad y validación de los métodos para la caracterización de los extractos.
5. Equipar con instrumentos y estándares la capacidad analítica de la Facultad en los aspectos relacionados con el análisis.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 12.1 AGUILAR A. 1981. Contribución al estudios farmacológico de la *Lippia alba* como hipnótico y tranquilizante. Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 43 p.
- 12.2 ALONSO J. 1998. Tratado de Fitomedicina. Argentina. Edit. ISIS. Pp 1-40
- 12.3 ALVAREZ A. 1997. Inhibición de *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus* por extractos vegetales usados en el tratamiento de afecciones respiratorias. Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 47 p.
- 12.4 ARTECHE A. 1992. Fitoterapia. Vademécum de Prescripción. Bilbao. 835 p.
- 12.5 ARTECHE G. 1992. Vanaclocha. Güenechea. Fitoterapia. Vademécum de Prescripción. Edit. Masson S.A. pp 11-25.
- 12.6 BUDAVARI S. 1989. The Merk Index. 286 p.
- 12.7 CÁCERES A., Samayoa B. 1989. Tamizaje de la actividad antimicrobiana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Cuaderno de Investigación No. 6-89. Guatemala. (DIGI-USAC). 138 p.
- 12.8 CÁCERES A., Álvarez A., Ovando A., Samayoa B. 1991. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 against Gram-positive bacteria. *J. Ethnopharmacol.* 31:193.
- 12.9 CÁCERES A., Cano O., Samayoa B., Aguilar L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J Ethnopharmacol* 30:55-73.
- 12.10 CÁCERES A., Salvador L., Mendoza J., Meza F., Deleon M., Jáuregui E. 1994. Actividad antibacteriana y antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala. Congreso Científico 19 años del CYTED. Cancún. pp. 212-214.

- 12.11 CÁCERES A. 1996 Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Editorial Universitaria. Guatemala. pp 67-70,182-184, 287-289, 313-315, 337-338, 363-364 pp.
- 12.12 CANO T. 2002. Planta Piloto de extracción - destilación para la realización de investigación en aceites esenciales y extractos vegetales. Guatemala. pp 4.
- 12.13 CEMAT-FARMAYA.1992. Fichas Populares sobre Plantas Medicinales. Serie 2. Guatemala. 180 p.
- 12.14 CHARLES D. 1990. Essential Oil Constituents of *Ocimum micranthum* Willd. J. Agric. Food Chem. 38 (1):120-122 pp.
- 12.15 CORREA C., Ming L., Scheffer M., 1991. Cultivo de Plantas Medicinales Condimentares e Aromáticas. Curitiba. SAEBEMATER, 151 pp.
- 12.16 COUSSIO J. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Colombia. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para EL Desarrollo. Subprograma de Química Fina Farmacéutica CYTED. Convenio Arderes Bello. 617 pp.
- 12.17 CRUZ S. 2001. Fraccionamiento Bioguiado y tamizaje Fitoquímico del Extracto etanólico con actividad antiartemia de *Ocimum micranthum* Willd, albahaca de monte. Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Pp. 15, 16, 27, 32, 39.
- 12.18 DABROY L. 1994. Confirmación de la actividad antibacteriana de algunas especies del género *Lippia* contra bacterias que causan infección respiratoria. Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia 45 p.
- 12.19 DOMINGUEZ X., Sánchez H., Suárez M., Baldas J., González M. 1989. Chemical constituents of *Lippia graveolens*. Planta Med. 55:208-209 pp.
- 12.20 DUKE J. 1994. Amazonian Ethnobotanical Dictionary. Boca Raton. CRC Press. pp. 303.
- 12.21 FUENTES V. 1997. Conozca las plantas medicinales. La Habana. Edit. Científico-Técnica. pp 17-150-176.

- 12.22 FUN C. Svendsen A. 1990. The essential oil of *Lippia alba* (Mill.)N.E. Br. J Essent Oil Res 2:265-267 p.
- 12.23 GIRON L., Freire A., Alonzo A., Cáceres A. 1991. Ethnobotanical suvery of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *J. Ethnopharmacol.* 34:173-187 pp.
- 12.24 GUPTA, M. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas. Bogotá. CAB-CYTED. pp 320-321.
- 12.25 GUENTER, E. 1949. The Essential Oils: Individual Essential Oils of the Plant Families *Rutaceae* and *Labiatae*.III New York D. Van Nostrand Company Inc. 654 p.
- 12.26 HERNÁNDEZ, C. y C. J. 1997. Plantas Silvestres Comestibles; Parque Nacional Machalilla. Ecuador. Ediciones ABYA-AYALA. 78 p.
- 12.27 HERNANDEZ, R. Vila, S., Cañigüeral. Composition of the essential oil of *Lippia chiapasensis* LOES. Barcelona.
- 12.28 INTERSTATE Pubs, Il Chokechaijaroenporn, O.N. Bunyapraphatsara, and S. Kongchuensin. 1994. Mosquito repellent activities of *Ocimum* Volatile oils. *Phytomed.* 1: 135-139. pp.
- 12.29 KOCH H. y Steinegger, E. 1980. Ingestion of the Alkaloids y Flavonoids of *Passiflora* Species. *Planta Med.* 38: 210-211 pp.
- 12.30 LÉRIDA L. 1993. Proporciónese Salud. Cultive Plantas Medicinales. La Habana. Edit. Científico-Técnica. 28,31, 71, 74. pp.
- 12.31 LÓPEZ R. 1999. Evaluación de Acción Diurética de las Infusiones de las Plantas *Lippia graveolens* (orégano), *Ruta chalepensis* (ruda) y *Brassica oleraceae* (repollo) Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 75 p.
- 12.32 LOT A. y Chieng F. 1986. Manual del Herbario. Primera Edición. Consejo Nacional de la Flora de México. México, 11-30, 93-100, 133-142. pp.
- 12.33 LOCK de Ugaz O. 1994. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Perú. Edit. Fondo Editorial de la Pontífica Perú. pp. 1-40

- 12.34 MAIA J. 1988. Uncommon Brazilian Essential Oils of the Labiatae and Compositae. Dev Food SCI 18: 177-188 pp.
- 12.35 MARTINDALE. The Extra Pharmacopeia. 1982. Londres, James ES Reynolds. pp.430.
- 12.36 MARTINEZ M. 1992. Las plantas medicinales de México. México, Ed. Botas, 621 pp.
- 12.37 MEDINILLA B. 2002. Manual de Laboratorio de Fitoquímica. Guatemala pp 20-21
- 12.38 MEJIA, K.1995. Plantas Medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana. Tarea Asociación gráfica Educativa. 249 p.
- 12.39 Memorias, XIII Seminario Nacional De Plantas Medicinales y Productos Derivados. X Exposición Nacional de Plantas Medicinales, "Plantas Medicinales para el Nuevo Milenio". 2000, Guatemala, pp 91, 105.
- 12.40 MENDOZA C. 1995. Confirmación de la actividad antimicrobiana de tres especies del género *Lippia*. Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 48 pp.
- 12.41 MORTON J. 1981. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield, Charles C Thomas. pp 776-777.
- 12.42 Napralert Profile for *Lippia alba* (3part query for nap) 2002.
- 12.43 Napralert profile for *Lippia graveolens* 2001
- 12.44 Napralert profile for *Lippia graveolens*. (3part query for nap.) 2002.
- 12.45 Napralert profile for *Lippia chiapasensis* 2004
- 12.46 OCAMPO R. Maffioli A. 1987. El uso de algunas plantas medicinales en Costa Rica. San José, Trejos Hnos., 200 p.
- 12.47 OROZCO L. 1993. Estudio Farmacológico de la actividad antiespasmódica in vitro de *Casimiroa edulis* Llave & Lex (matasano), *Piscidia piscipula* (L.) Sarg (barbasco) *Passiflora ligularis* Juss (granadilla), *Ceiba Pentandra* (L.) Gaerth (ceiba) y *Cymbopetalum penduliflorum* (Dunal) Baill (Orejuela). Tesis. Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 63 pp.

- 12.48 ORTIZ B., Brower Ch. 1985. Chemical bases for medicinal plants use in Oaxaca, México. *J. Ethnopharmacol.* 13:57-88.
- 12.49 PLANTER. 1989. Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña. San Salvador, Universidad de El Salvador. 619 p.
- 12.50 RASTRELLI. Cáceres A. Morales, De Siimone, F: Aquino, R. 1998. Iridoids From *Lippia graveolens* Phytochemistry 496: 1829-1832
- 12.51 RIVERA D. Yodom, C. 1995 The Ethnobotanical, pharmacology of Madeira and Porto Satuto Islandas, A. Riviera. *J. Ethnopharmacol.* 46: 73-93
- 12.52 ROBINEAU L. 1991. Hacia una Farmacopea Caribeña, Santo Domingo. ENDA-Caribe, UNAH, 474 pp.
- 12.53 RONQUILLO F. Melgar M. Carrillo J. Martínez, A (1988). Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Cuadernos DIGI 5-88. 249 pp.
- 12.54 SANCHEZ F. 1994. Estudio de la acción analgésica de las infusiones de *Catopheria chiapasensis* (linimiento). Semilla de *Moringa oleífera* (paraíso blanco) y hoja de *Lippia alba* (salvia sija) utilizada popularmente en Guatemala. Guatemala. 67 pp.
- 12.55 SHARAPIN, N. 2000. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. CYTED. pp. 22-47.
- 12.56 SUTHERLAND N. 1986. Plantas Comunes de Honduras. Honduras. 922 pp.
- 12.57 SOUZA A., Souza A. 1993. Forty years of Brazilian medicinal plant center. *J. Ethnopharmacol.* 39:53.
- 12.58 STANDLEY P.C, Nash. 1884. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24. Part II. No.4.
- 12.59 STANDLEY P.C, Steyemark 1946. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24(4): 196.
- 12.60 STANDLEY, P.C. & Williams, L.O. 1970. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany V. 24 IX

- 12.61 IX Seminario Nacional de Plantas Medicinales y VI exposición Nacional de Plantas Medicinales y Productos Derivados (memorias). 1996. Guatemala 31,70, 72, 74, 92, 117. pp.
- 12.62 URIBE-HERNANDEZ C. Hurtado J, Omedo E, Martínez M. 1992. The essential oil of *Lippia graveolens* HBK from Jalisco. J. Essent. Oil Res. 4:647-649 p.
- 12.63 WAGNER, H. S. Bladt, EM. Zgainski. 1984. Plant drug analysis, a thin layer cromatography atlas. Springer- Verlag. Berlin. pp. 225-226.
- 12.64 WORD HEALTH ORGANIZATION. 2000. Quality control methods for medicinal plant material. Geneva: WHO 9-18, 88 p.

ANEXO No. 2

PORCENTAJE DE HUMEDAD

%

$$\text{HUMEDAD} = \frac{(\text{Cápsula} + \text{muestra después del horno}) - \text{Cápsula vacía}}{\text{Muestra pesada en g}} \times 100\%$$

PORCENTAJE DE CENIZAS

$$\% \text{ CENIZAS} = \frac{(\text{Peso del crisol} + \text{cenizas}) - \text{tara}}{(\text{Peso del crisol} + \text{muestra}) - \text{tara}} \times 100\%$$

SOLIDOS TOTALES

SOLIDOS

$$\text{TOTALES} = \frac{(\text{Cápsula} + \text{muestra después del horno}) - \text{cápsula vacía}}{\text{Volumen tomado}} \times 100 \%$$

ANEXO No. 3

Tabla No. 1

DE LA MATERIA VEGETAL			
Identificación botánica			
Nombre Científico:			
Nombre Común:			
Procedencia:			
Número de Herbario:			
Análisis organoléptico			
Órgano			
Color:			
Olor:			
Parámetros físicos y químicos			
% de humedad			
% de cenizas			
DEL PREPARADO VEGETAL			
Mejor disolvente para preparación de extractos y tinturas			
Disolvente	Sólidos totales		
Etanol 35%			
Etanol 50%			
Etanol 70%			
Características de tinturas y extractos			
Propiedades organolépticas			
Tinturas	Apariencia	Olor	Color
1:5			
1:10			
Extractos	Apariencia	Olor	Color
1:1			
2:1			
3:1			
4:1			
Propiedades físicoquímicas			
Tinturas	pH	Densidad	Sólidos
1:5			
1:10			
Extractos	pH	Densidad	Sólidos
1:1			
2:1			

3:1

4:1

% ACEITE ESENCIAL

COMPONENTES:

Análisis fitoquímico

Metabolito Secundario	Ensayo	Reacción	Resultado Rf (cm)
-----------------------	--------	----------	-------------------

	CG		
--	----	--	--

		Tiempo de Retención (min)	
--	--	------------------------------	--

		Área de Porcentaje	
--	--	--------------------	--