



Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
Departamento Farmacia

Trabajo de Diploma
en opción al título de
Licenciado en Ciencias Farmacéuticas

Caracterización farmacognóstica de los tallos y hojas de la especie *Lawsonia inermis* L. (Lythraceae)

Autora: Yilenia Betancourt Góngora

Tutoras: MSc. Imilci Urdaneta Laffita
Profesor Asistente

MSc. Lourdes Padró Rodríguez
Profesor Auxiliar

Santiago de Cuba
Curso: 2018-2019



Pensamiento

“Cuando tomamos cierto interés en los grandes descubridores y en sus vidas es cuando la ciencia se hace soportable, y sólo cuando rastreamos el desarrollo de las ideas es cuando se hace fascinadora”



James Clerk Maxwell



Dedicataria

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, a la Virgen de la Caridad del Cobre y a mis padres.

A Dios y a la Virgen porque han estado conmigo en cada paso, cuidándome y dándome fuerzas para continuar.

A mis padres por ser aquellos que a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento, depositando su entera confianza en cada reto que se presentaba sin dudar nunca de mi capacidad para seguir adelante. Es por ellos que he llegado hasta aquí y siento mucho orgullo, pues hoy se hace realidad nuestro sueño.





Agradecimientos

AGRADECIMIENTOS

- ❖ *Gracias a Dios y a la Virgen de la Caridad del Cobre.*
- ❖ *A mis padres por ser mis guías, por educarme con amor, por cuidarme siempre, y por no dudar nunca de mí.*
- ❖ *A mi esposo Leonardo que a pesar de la distancia siempre nuestros corazones permanecieron unidos, más que mi esposo es mi amigo y mi compañero, quien comprende todo de mí y que no ha dudado nunca en apoyarme solo para verme feliz.*
- ❖ *A mi tía Mirelis por ser parte de este triunfo, y ser especial, por ayudarme, comprenderme, escucharme y por siempre estar ahí en todo momento.*
- ❖ *A mis abuelos Deisy y George por su paciencia infinita y su amor incondicional.*
- ❖ *A todos mis familiares que de una forma u otra han contribuido a mi formación, Andrés, Yuli, Pipo, Pablo, Yudari, a mis abuelos Reina y Wilfredo y a todos mis tíos Jorge, Ramón, Frank y Alexy; a mis tías Rosa, Maidelín, Marlenis y Maité.*
- ❖ *A mis primos, Lisaidis, Liena, Andrey, Georgito, Yudi y a los más pequeñitos Lisa, Sami y Robertico por ser no solo mis primos sino los hermanos que no tuve a ellos les agradezco con todo mi corazón pues los quiero muchísimo.*

- ❖ *A Yurizan, Yudelín, Hironachy, Mailet, Jorge, Ramón y Raidel que a pesar de la distancia nunca los he dejado de querer.*
- ❖ *A mi profe Eberto quien se tomó el trabajo de transmitirme sus conocimientos; no siempre lo lograba pero aun así me ofreció sabios consejos para poder seguir adelante.*
- ❖ *A mis vecinos Delkis e Idelisa por ser tan atentos y especiales.*
- ❖ *A Yanisleydis Fernández que me demostró que la amistad es muy fuerte y que no se deteriora nunca cuando es verdadera, además gracias a ella comprendí que no hace falta ser hermanas de sangre cuando ya se es hermana de corazón.*
- ❖ *El destino pone a muchas personas en nuestras vidas pero solo las mejores permanecerán para siempre: Mariuska, Diana Escalona, Diana L., Lisbeth, Rafael N. quienes siempre estuvieron en todo momento ayudándome y a quienes extraño con toda mi alma.*
- ❖ *A mis amigos que los quiero muchísimo y que siempre estarán en mi corazón Otniel y Leonardo, porque sin ellos nada de esto hubiese sido posible.*
- ❖ *A mis compañeras de aula Lilian, Yasmina, Bárbara, Yuselis, Isitania, Marilín, Naila y Elinay.*

- ❖ *A mis compañeros de cuarto que no olvidaré jamás, Daimé, Yuli, Yaniuska, Liudis, Yalena, Yaidelín, Liseth, Dailén.*
- ❖ *A mis amistades, Yadiana, Aines, Yaillet, Dumilka, Claudia, Yoel, Asiel, Victor, Javier, Leandro, Beltis, Daniela, Elizabeth, Leydi, Sandra, Elainis, Yakira, Daili, Lilibel, Zulema, Karelis, Arlet y Adrián.*
- ❖ *En la elaboración de este trabajo recibí el apoyo de muchas personas pero ninguna comparada con alguien muy especial que recordaré siempre pues a pesar de no haber sido sencillo este proceso me dedicó todo su tiempo y nunca me abandonó. De manera muy especial quiero agradecerle a Yaribey Guaspe.*
- ❖ *A los técnicos de laboratorio Mauris y Layra por ayudarme tanto, a ellos muchísimas gracias.*
- ❖ *A mi profe Félix por confiar en que yo si llegaría a graduarme y que hoy no se encuentra entre nosotros pero desde el cielo está observando este triunfo.*
- ❖ *A mis dos tutoras Imilci y Lurdes: MIL GRACIAS por todo su tiempo.*
- ❖ *A todos los profesores del Departamento de Farmacia que me formaron como profesional.*
- ❖ *A aquellos que me preguntaron cómo iba la tesis, a todos muchísimas;*

GRACIAS...
GRACIAS...



Resumen

RESUMEN

En este trabajo se realizó una caracterización farmacognóstica de la especie *Lawsonia inermis* L., la cual fue recolectada en la comunidad “La loma”, municipio Urbano Noris, Holguín. La muestra fue dividida en dos porciones, la primera destinada a la preparación de extractos acuosos al 10% por infusión y decocción; la segunda fue sometida al método de secado al aire, variante sol para realizar la caracterización farmacognóstica de tallos y hojas, según procedimientos descritos en la Norma Ramal de Salud Pública 309. Los resultados fueron procesados empleando el programa estadístico Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.14. Tres extractos mostraron una coloración amarilla y solo la infusión con droga seca fue roja; olor característico, sabor ligeramente amargo y astringente (infusiones), acentuándose en las decocciones; todos transparentes y homogéneos; identificándose alcaloides, quinonas, cumarinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, flavonoides, principios amargos y astringentes. La decocción del material vegetal fresco mostró mayor valor de sólidos totales 10,061%. Se caracterizaron farmacognósticamente los tallos y hojas a partir del análisis macromorfológico; determinación de hojas ennegrecidas y otras partes de la propia planta (1%); determinación de materias orgánicas (tallos-0,0045%, hojas-0,0042%) e inorgánicas (tallos-0%, hojas-0,0082%); determinación de sustancias solubles resultando la solución hidroalcohólica al 70% la mejor; cenizas totales (hojas- 4,34%, tallos-2,51%); cenizas solubles en agua (tallos-0,968%, hojas-2,003%); la humedad residual resultó ser en tallos 13,02% y hojas 12,18%. Se evidenció para ambos órganos a través del tamizaje fitoquímico la presencia de alcaloides, flavonoides, quinonas, cumarinas, azúcares reductores, fenoles, taninos, aminoácidos, aminos, triterpenos y esteroides, principios amargos y astringentes.



Abstract

Abstract

In this work, a pharmacognostic characterization of the *Lawsonia inermis* L. species was carried out, which was collected in the community "La loma", Urbano Noris municipality, Holguín. The sample was divided into two parts, the first one destined to the preparation of 10% aqueous extracts by infusion and decoction; the second was submitted to the air drying method, variant sun, to perform the pharmacognostic characterization of stems and leaves, according to procedures described in the Public Health Branch Standard 309. The results were processed using the statistical program Statgraphics Centurion XV, version 15.2. 14. Three extracts showed a yellow coloration and only the infusion with dry drug was red; characteristic odor, slightly bitter and astringent flavor (infusions), accentuated in the decoctions; all transparent and homogeneous; identifying alkaloids, quinones, coumarins, reducing sugars, phenols, tannins, flavonoids, bitter and astringent principles. The decoction of fresh plant material showed a greater value of total solids 10.061%. The stems and leaves were characterized pharmacognostically from the macromorphological analysis; determination of blackened leaves and other parts of the plant itself (1%); determination of organic (stems- 0.0045%, leaves-0.0042%) and inorganic (stems-0%, leaves-0.0082%); determination of soluble substances resulting in the best 70% hydroalcoholic solution; total ash (leaves – 4.34%, stems-2.51%); Water soluble ashes (stems-0.968%, leaves-2.003%); the residual humidity turned out to be in stems 13.02% and leaves 12.18%. The presence of alkaloids, flavonoids, quinones, coumarins, reducing sugars, phenols and tannins, amino acids, amines, triterpenes and steroids, bitter and astringent principles was demonstrated for both organs through phytochemical screening.



ÍNDICE

ÍNDICE		Pág
INTRODUCCIÓN		1
CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA		5
I.1	Utilidad de las plantas medicinales	5
I.2	Estudios farmacognósticos	6
I.2.1	Parámetros farmacognósticos para el control de la calidad del material vegetal	7
I.2.1.1	Recolección del material vegetal	7
I.2.1.2	Examen preliminar	9
I.2.1.3	Determinación de materias extrañas	10
I.2.1.4	Estudio de secado	10
I.2.1.5	Determinación del contenido de humedad residual	11
I.2.1.6	Cenizas totales y cenizas solubles en agua y ácidos insolubles	12
I.2.1.7	Sustancias solubles	12
I.3	Estudios fitoquímicos	12
I.3.1	Importancia de los estudios fitoquímicos para el profesional Farmacéutico	13
I.4	Tamizaje fitoquímico	14
I.5	Familia Lythraceae. Generalidades	14
I.5.1	Características generales de la especie <i>Lawsonia inermis</i> L.	16
I.5.1.1	Clasificación taxonómica y descripción botánica	16
I.5.1.2	Hábitat y Distribución	17
I.5.1.3	Usos y propiedades terapéuticas reportadas	17
I.5.1.4	Composición química reportada para la especie	18
I.6	Antecedentes de estudios reportados para la especie vegetal <i>Lawsonia inermis</i> L.	21

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

II.1	Características generales de la investigación	23
II.2	Metodología de la investigación	23
II.2.1	Recolección y procesamiento del material vegetal	23
II.2.2	Identificación Taxonómica de la especie	24
II.2.3	Método de secado	24
II.3	Obtención de extractos acuosos por métodos convencionales	25
II.3.1	Determinación de los requisitos organolépticos de los extractos acuosos al 10 %	26
II.3.2	Determinación de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10%	26
II.3.3	Determinación de sólidos totales	26
II.4	Caracterización farmacognóstica de la especie	27
II.4.1	Comprobación de los requisitos macromorfológicos	27
II.4.2	Determinación de hojas ennegrecidas	27
II.4.3	Determinación de otras partes de la propia planta	28
II.4.4	Determinación de materia orgánica e inorgánica extraña	28
II.4.5	Determinación de cenizas totales y cenizas solubles en agua	29
II.4.6	Determinación del contenido de humedad residual	30
II.4.7	Determinación de sustancias solubles	30
II.5	Determinación de la composición química cualitativa	31
II.6	Procesamiento matemático y análisis estadístico de los resultados	34

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1	Recolección y procesamiento del material vegetal	35
III.1.1	Identificación Taxonómica y/o Botánica de la especie	35
III.1.2	Método de secado	35

III. 2	Obtención de extractos acuosos al 10 % por métodos convencionales	36
III.2.1	Determinación de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10 %	37
III.2.2	Determinación de sólidos totales en los extractos acuosos al 10 %	39
III.3	Caracterización farmacognóstica de la especie	40
III.3.1	Comprobación de los requisitos macromorfológicos	40
III.3.2	Determinación de hojas ennegrecidas	41
III.3.3	Determinación de otras partes de la propia planta	41
III.3.4	Determinación de materia orgánica e inorgánica extraña	42
III.3.5	Determinación de cenizas totales y cenizas solubles en agua	43
III.3.6	Determinación de humedad residual	44
III.3.7	Determinación de sustancias solubles	45
III.4	Determinación de la composición química cualitativa	47
	CONCLUSIONES	53
	RECOMENDACIONES	54
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
	ANEXOS	



Introducción

INTRODUCCIÓN

Desde que el hombre existe, una de sus grandes preocupaciones ha sido la lucha por la supervivencia, tratando de conseguir los remedios para curar sus males e incluso incrementar sus expectativas de vida. Las plantas han provisto de diversos materiales que han servido como alimentos y cura a la raza humana a través de los años. Este tipo de conocimiento referente a las propiedades medicinales de las plantas, que en un principio surgió por casualidad y luego por necesidad, se ha transmitido de forma verbal de generación tras generación y se ha ido acumulando hasta nuestros tiempos.¹

La medicina tradicional y natural conocida internacionalmente como alternativa, energética y naturalista o complementaria, forma parte del acervo de la cultura universal.² Es una de las costumbres más difundidas en las poblaciones humanas según sus culturas e idiosincrasia.^{3,4,5} Su importancia es muy grande y a pesar de ser transmitida oralmente, tiene gran relevancia, es por ello que, cada día se presta más atención al estudio de las plantas medicinales.^{6,7,8}

Según nos señala la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 80% de la población mundial, más de cuatro mil millones de personas, utiliza las plantas como principal remedio medicinal.⁹ Esta práctica está asociada al empirismo en muchos casos, y la carencia de estudios químicos, clínicos, toxicológicos y epidemiológicos no permite que se confirmen de forma fehaciente los efectos farmacológicos de las plantas y los metabolitos activos responsables. No hay que olvidar que el 25% de los fármacos existentes se obtienen de extractos vegetales, o bien se han sintetizado a partir de sustancias identificadas en la investigación fitoquímica.^{10,11}

Hoy en día, es precisamente en los países del tercer mundo donde la medicina tradicional sobrevive de una forma más auténtica, y esto hace más fácil identificar las especies vegetales que necesitan ser científicamente avaladas. Parece que la distancia entre la medicina tradicional y la convencional empieza a acortarse y que ya no se considera la primera como un obstáculo del progreso científico.¹²

Cuba, la mayor isla de las Antillas, se localiza en el Caribe, uno de los puntos calientes de diversidad biológica del mundo. La flora cubana es considerada como una de las diez más variada y abundante de los ecosistemas insulares del mundo, conteniendo aproximadamente 7000 especies vegetales,¹³ sin embargo, existen muchas de estas especies que no están avaladas científicamente, y que son empleadas por la población cubana sin conocer los riesgos que estas pueden ocasionar, cobrando gran importancia el estudio de las mismas.¹⁴

Una de ellas es la especie *Lawsonia inermis* L., conocida en nuestro país con el nombre de resedá,^{15,16} mientras que en otros lugares del mundo se le conoce como alheña, mendi, shudi, madurang, manghati, goranti y en el idioma inglés, henna.¹⁷ Esta planta pertenece a la familia Lythraceae del género *Lawsonia*,^{18,19} es originaria de la región tropical del Viejo Mundo, principalmente de la India y África, aunque se ha vuelto sub-espontánea en todas las Antillas Mayores y en algunas de las Menores.²⁰

La especie ha sido utilizada como cosmético y como medicamento por más de 9000 años.²¹ Uno de los usos a gran escala de esta especie con fines cosméticos incluye su utilidad como pigmentos para teñir el cabello y las uñas de color amarillo rojizo, además de ser útil para la creación de tatuajes en la India.^{22,23} Otro uso en particular es en las industrias textiles para pintar lana y nylon.²⁴ Las hojas, flores, semillas, corteza del tallo y raíces son usadas en medicina tradicional para tratar una variedad de dolencias como artritis reumatoide, dolor de cabeza, úlceras, diarrea, lepra, fiebre, leucorrea, diabetes, enfermedades cardíacas y hepáticas.²⁵ De la planta se emplean sus órganos por separados o de forma mixta, ya que a cada parte de ella se le atribuyen diferentes propiedades farmacológicas.²⁶

Diferentes estudios de la especie reportan que la misma posee actividad antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria, antiviral, anticancerígena, antidiabética, tuberculostática, antiinflamatoria, entre otras,^{27,28} que pudieran estar en correspondencia con su composición química referida por Kadhem y colaboradores²⁹ en el año 2016 donde se

informa la presencia de: carbohidratos, flavonoides, taninos y compuestos fenólicos, alcaloides, terpenoides, quinonas, cumarinas, xantonas y ácidos grasos.

Aunque esta planta es utilizada ampliamente para el tratamiento de diversos síntomas y enfermedades, en el mundo existen pocos reportes de usos tradicionales para el alivio de afecciones nerviosas como la ansiedad y el insomnio, sin embargo en Cuba, donde a pesar de no ser originaria o endémica del país, posee un significativo uso medicinal por la población dado por su efecto sedante, fundamentalmente en la región oriental, según lo informado por Hernández en el 2004³⁰ donde notifica el uso medicinal de *Lawsonia inermis* L. como sedante en las provincias orientales Guantánamo y Santiago de Cuba. Así mismo, Nápoles y colaboradores en el 2016³¹, realizaron un estudio etnofarmacológico de plantas medicinales con efectos sedantes en la comunidad Songo, Municipio Songo-La Maya de la provincia Santiago de Cuba, el cual arrojó como resultado que la resedá fue una de las especies que tuvo un nivel de uso significativo por la comunidad objeto de estudio. En el año 2017, el estudio etnobotánico de *Lawsonia inermis* L. realizado en el Consejo Popular Distrito José Martí Norte de la provincia Santiago Cuba, llevada a cabo por Izaguirre y colaboradores¹⁵, mostró que el 85,2 % de las personas entrevistadas tienen conocimiento de la especie y de estas la utilizan 76,7 %, se notificaron un total de siete usos siendo el más reportado el de calmar los nervios, resultando las partes aéreas de la especie vegetal las más empleadas.

Partiendo del hecho que la especie es ampliamente usada por nuestra población, principalmente por su efecto sedante y que de la cual no constan antecedentes de estudios en el país referentes a la caracterización farmacognóstica y composición química cualitativa que respalden su uso en la terapéutica, es que se hace necesario iniciar investigaciones farmacognósticas, farmacológicas y toxicológicas que avalen científicamente el uso popular y tradicional que muestra la especie siguiendo la Ruta Crítica de Investigación en Plantas Medicinales donde se establecen las normas nacionales e internacionales para el estudio de especies vegetales. Por lo que formulamos el siguiente problema científico:

Problema científico

Insuficientes evidencias farmacognósticas de los tallos y hojas de la especie *Lawsonia inermis* L. no permiten disponer de un patrón de calidad que avalen su aplicación como material vegetal para su uso etnomedicinal.

Hipótesis

La caracterización farmacognóstica de los tallos y hojas de *Lawsonia inermis* L. contribuye a establecer un patrón que asegura la calidad del material vegetal empleado para uso tradicional.

Objetivo general

Caracterizar farmacognósticamente los tallos y hojas de la especie vegetal *Lawsonia inermis* L.

Objetivos específicos

- Determinar las características organolépticas, composición química cualitativa y los sólidos totales de cuatro extractos acuosos al 10% obtenidos por infusión y decocción empleando material vegetal fresco y seco.
- Determinar los parámetros farmacognósticos y la composición química cualitativa a los tallos y hojas de la especie *Lawsonia inermis* L.



Revisión Bibliográfica

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

I.1 Utilidad de las plantas medicinales

La historia del hombre está estrechamente ligada con las plantas medicinales y aromáticas. Antes de conocer el fuego y domesticar a los animales, su subsistencia dependía en gran parte de las hierbas, los frutos, la miel y los jugos que extraía de las mismas.³²

Nadie sabe exactamente donde se utilizó las plantas medicinales por primera vez. Seguramente la búsqueda de algún remedio fue algo que se dio en todas las culturas a la vez, fruto del deseo de los hombres de sanar por cuestiones mágicas, religiosas o de algún preparado que le proporcionase una mayor felicidad temporal.³³ Los pueblos primitivos atribuían los efectos curativos de las plantas a la intervención de uno de sus dioses, sin embargo, durante mucho tiempo estos remedios naturales fueron el principal e incluso el único recurso que disponían las personas para poder curar, lo que hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales y ampliara su experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen.³⁴

El uso de las plantas y sus efectos curativos se fueron acumulando durante milenios y posteriormente pasó a ser parte integral de sistemas y tradiciones como el ayurveda en la India, la medicina tradicional china o las tradiciones de los indios norteamericanos.³⁵

Debido a su actividad farmacológica, las plantas medicinales actúan directamente sobre el organismo produciendo cambios significativos en su funcionamiento. En este sentido, son consideradas como fármacos (o drogas) con capacidad de operar, alternativamente, como remedios o venenos, dependiendo de las dosis, la vía de administración, la idoneidad de quien las indica y la constitución del sujeto tratado.³⁶

La búsqueda de nuevos compuestos químicos a partir de fuentes naturales, constituye hoy en día una de las áreas de investigación importante en todo el mundo. Por tanto, encontrar nuevas entidades químicas en las especies vegetales medicinales, constituye una necesidad actual,⁸ donde se estima que alrededor del 80 % de la población mundial utiliza la medicina tradicional herbolaria para la atención primaria de salud.³⁷

I.2 Estudios farmacognósticos

La farmacognosia fue siempre, desde que la humanidad comenzó a tratar las enfermedades, una parte de las ciencias y las artes médicas. Se desarrolló desde las civilizaciones más antiguas que usaban plantas y animales para preparar pociones curativas que eliminaban el dolor, atenuaban el sufrimiento y combatían las enfermedades. Surgió de los misteriosos encantamientos de las tribus y sobrevivió a las fórmulas secretas de los curanderos. Ha progresado desde una época de empirismo hasta la era actual de agentes terapéuticos específicos.³⁸

La farmacognosia es hoy una ciencia altamente especializada y se enfoca particularmente al estudio de los principios activos de origen vegetal, animal y mineral, así como de los derivados que pudieran tener una aplicación terapéutica, comercial o industrial. En un sentido más amplio la farmacognosia abarca el estudio de la historia, el cultivo, la recolección, preparación, preservación, comercialización, distribución, identificación y evaluación de los componentes químicos de origen natural, la farmacología y el uso tradicional de esos compuestos o sus derivados para mejorar la salud y el bienestar del ser humano.⁸

En nuestros días no existen dudas sobre la importancia de las plantas medicinales y lo necesario que resultan los estudios farmacognósticos pues a pesar del desarrollo alcanzado por los medicamentos de síntesis, las plantas constituyen un arsenal de sustancias biológicamente activas con acción farmacológica en muchos casos con evidencia científica demostrada. Sin embargo en ocasiones se hace referencia a la

inocuidad de los medicamentos naturales, solo que el uso de los fitofármacos en la terapéutica requiere, al igual que en el caso de los medicamentos sintéticos, de profundas investigaciones pues no debemos olvidar que lo natural no siempre es benéfico para el organismo, sino que depende de la cantidad, los controles de calidad y su procesamiento, lo cual hace necesario incrementar los estudios científicos para identificar o refutar las propiedades que pudieran ejercer en el ser humano a corto y largo plazo.^{39,40}

Tomando como base la importancia que estos estudios representan para el trabajo con plantas medicinales, muchas de las investigaciones en el área de la farmacognosia están encaminadas a la identificación de especies controversiales y a la autenticidad de las plantas medicinales usadas comúnmente a través de los análisis morfológicos, físico-químicos y fitoquímicos, resultando necesarios para establecer los parámetros farmacognósticos del material vegetal asegurando su calidad, seguridad y eficacia.⁴¹

1.2.1 Parámetros farmacognósticos para el control de la calidad del material vegetal

Las drogas vegetales deben ser sometidas a rigurosos ensayos o pruebas de control de calidad antes de ser empleadas con fines terapéuticos. Estos controles constituyen un factor de gran importancia para garantizar la seguridad, eficacia e inocuidad del producto final obtenido.⁴²

1.2.1.1 Recolección del material vegetal

La recolección del material vegetal asegura una fuente natural valiosa para la obtención de productos de calidad. El momento propicio para la recolección reviste particular importancia ya que la naturaleza y la cantidad de constituyentes varían constantemente, y el mejor momento es cuando la parte vegetal de la droga tiene el más alto contenido de principios activos.^{43,44} Por lo que se hace necesario un conocimiento previo por parte del recolector para llevar a cabo esta tarea.

Para la recolección de una especie se deben tener en cuenta algunos requisitos, que se expondrán a continuación:

- ◆ Se coleccionarán las partes que se consideren necesarias, se separarán adecuadamente evitando la putrefacción del material; si se va a trabajar con material fresco, este será de inmediato procesado, en caso contrario será necesario su secado (las partes más suculentas o difíciles de secar se deben fraccionar adecuadamente).
- ◆ Se debe evitar la fumigación del material colectado, pues puede traer consigo cambios químicos en la composición del mismo, además de ser por sí solo contaminante. Los insectos pueden ser eliminados congelando las muestras o en el proceso de secado.
- ◆ La época de recolección: Las variaciones en la acumulación del principio activo no sólo poseen un ritmo de variación anual o estacional, sino que en ocasiones pueden llegar a tener un curso diario. Es por esto que algunos autores recomiendan cosechar no solo en la misma época, sino que incluso lo hacen a una misma hora sobre todo cuando se realizan estudios de dinámica de acumulación.
- ◆ El estado vegetativo de la planta: A pesar de que cada especie posee características propias en lo que a traslocación y acumulación de sustancias activas en los diferentes órganos de la planta se refiere, la mayor parte de los autores coinciden en considerar una serie de reglas generales en dependencia del órgano que se va a cosechar. Así tenemos:
 - En los órganos subterráneos, tales como raíces, bulbos, tubérculos y rizomas, la máxima acumulación de principios activos suele ocurrir después que la planta ha finalizado los períodos de floración y fructificación, es decir, en el período de reposo relativo que precede a una nueva etapa de desarrollo vegetativo y crecimiento. En plantas anuales o bianuales, cuyas

partes aéreas desaparecen una vez finalizada la floración y la fructificación, el momento más adecuado para la cosecha es cuando se produce el marchitamiento de las partes aéreas, antes que las mismas desaparezcan.

- En los tallos, hojas y retoños, el factor a considerar para determinar el momento óptimo de cosecha lo constituye el grado de acumulación del principio activo, lo que debe ser determinado para cada especie. Generalmente a finales del período vegetativo y antes del comienzo del período de floración, suele ocurrir el máximo desarrollo vegetal y la mayor acumulación.
- Las flores, frutos y semillas son necesarias recolectarlas en sus respectivas fases de desarrollo.⁴⁴

1.2.1.2 Examen preliminar

Comprende los análisis organolépticos macroscópicos y microscópicos. El aspecto general de la droga indica frecuentemente si es probable que la droga cumpla con las especificaciones oficiales, pero no es concluyente, ya que mediante los mismos no puede ser detectado el deterioro de la droga debido a una recolección y almacenamiento defectuoso o por la alteración debida a la edad, los cuales influyen en la proporción de los principios activos.^{43,44}

La inspección visual (características sensoriales y macroscópicas), está basada en la forma, tamaño, color, características superficiales, textura y fractura. Sin embargo a veces es necesario contar con otros recursos, pues la adulteración en drogas vegetales es muy común y puede ser causada intencionalmente o de manera accidental lo cual conllevaría a una pérdida de calidad o a una calidad inferior; así que esto puede ser evitado con una selección cuidadosa del materia vegetal con la cual se va a trabajar y la autenticación del mismo a través de su identificación y en muchas ocasiones a través de una valoración microscópica.^{43, 44}

El examen microscópico de las drogas se usa en desde 1847 y se ha mantenido debido al valor que posee en la identificación de las fibras textiles en especies vegetales. Este ensayo no solo es esencial para el estudio de adulteraciones en las plantas sino que es indispensable para la identificación de ellas. Las partes de la monografía oficial encabezadas por histología y polvo se ocupan casi exclusivamente del aspecto microscópico de la droga en cortes histológicos y bajo la forma de polvo.⁴⁴

I.2.1.3 Determinación de materias extrañas

La pureza de las drogas depende de la ausencia de materias extrañas. Si bien es cierto que resulta prácticamente imposible alcanzar un estado de pureza absoluta durante la recolección y procesamiento de la droga, la presencia de una limitada cantidad de materia extraña adherida a la droga o mezclada con ella no suele ser perjudicial.

Se considera materia extraña a cualquier parte de la planta medicinal que no esté comprendida en la definición o en la descripción de la monografía correspondiente como, por ejemplo: tierra, piedras, arena o polvo. Durante el almacenamiento, los productos deben mantenerse en un área limpia de modo que se evite su contaminación y tomarse precauciones especiales para impedir la proliferación de hongos, dado que algunos de ellos pueden generar aflatoxinas.

Por materia orgánica e inorgánica extraña se entiende toda sustancia vegetal o animal que no sea un constituyente normal de la droga.⁴⁴

Las farmacopeas y tratados oficiales contienen especificaciones referentes a los porcentajes permitidos de otras partes de la planta o de otras materias es decir si excede ese valor permisible el material vegetal debe ser desechado.⁴⁴

I.2.1.4 Estudio de secado

Después de recolectar la droga es necesario someterla a un proceso de secado o estabilización para su adecuada conservación.^{43,44,45} Puede realizarse por secado al

aire (al sol o a la sombra), o con calor artificial, teniendo esto la ventaja de que permite cortar inmediatamente la actividad enzimática interna de las plantas. El secado previene la acción de las enzimas, de las bacterias, los hongos y otros posibles cambios por los efectos oxidativos; previendo así el enmohecimiento y posibles alteraciones químicas de la planta. Fija los constituyentes y facilita el molinado, así como la transformación de la droga en una forma más fácilmente comercializable y transportable.^{44,45}

El éxito del secado depende de dos principios fundamentales: el control de la temperatura y el flujo de aire. El control de esta operación está determinado por la naturaleza del material o el aspecto deseado en el producto final.⁴⁴

Otro de los parámetros a tomar en cuenta es el análisis físico-químico incluyendo en ellos la determinación de humedad residual, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido clorhídrico al 10%, cenizas solubles en agua, sustancias solubles y otros que resulten de interés para el investigador.^{43,44}

I.2.1.5 Determinación del contenido de humedad residual

La humedad residual es considerada como la cantidad mínima de agua presente en la droga una vez que es sometida a un proceso de secado. Una excesiva humedad en el material vegetal puede promover el crecimiento de hongos o provocar la hidrólisis de los constituyentes que puedan dar lugar al posterior deterioro, por lo que un correcto proceso de secado que reduzca los niveles de humedad residual es fundamental. La principal causa del aumento de la humedad en la materia vegetal es una excesiva humedad atmosférica, para evitar este factor es importante colocar la droga vegetal luego de haber sido secada, en lugares adecuados que eviten dicha humedad, como es el caso de fundas de papel, sacos de yute o cajas de cartón.⁴⁴

Para su determinación se reportan dos métodos: el método volumétrico (azeotrópico del tolueno) para aquellas plantas que contienen sustancias volátiles y

el método gravimétrico (estufa e infrarrojo) para aquellas que no contienen dichas sustancias. Los límites de agua establecidos en las farmacopeas para las drogas, oscila entre un 8 y un 14% para drogas no oficiales, correspondiendo los valores más altos con la humedad de cortezas, tallos y raíces.⁴⁶

I.2.1.6 Cenizas totales y cenizas solubles en agua y ácidos insolubles

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica. Los valores de las mismas, son empleados para determinar la calidad y pureza de la droga cruda, indicando la presencia de varias impurezas como carbonatos, oxalatos y silicatos. Son considerados valores altos de cenizas totales, si resulta mayor de un 5 %.⁴³

Las cenizas solubles en agua son aquellas partes de las cenizas totales que se disuelven en agua y se usan para descubrir la presencia de material agotado por agua, mientras que las cenizas insolubles en ácido es el residuo que se obtiene después de la disolución de las cenizas totales en ácido clorhídrico al 10% y determinan la presencia excesiva de sílica especialmente de arena y tierra silícea.^{43,45}

I.2.1.7 Sustancias solubles

El ensayo de sustancia solubles es realizado para determinar la cantidad de sustancias extraíbles desde un material vegetal en un solvente en particular. Esto va a estar determinado fundamentalmente por la naturaleza de los metabolitos y del solvente. Es recomendado para aquellas plantas poco estudiadas.⁴³

I.3 Estudios fitoquímicos

Los estudios fitoquímicos permiten determinar la presencia o ausencia de los principales grupos de metabolitos en una especie vegetal, estudiar sus características físico-químicas, la elucidación estructural de los mismos, evaluar la

complejidad de sus caminos de biosíntesis y degradación, así como los mecanismos de regulación.^{47,48}

Para determinar la composición química de las plantas medicinales y conocer sus constituyentes biológicamente activos pueden seguirse metodologías que van desde un análisis fitoquímico preliminar hasta estudios químicos sistemáticos. Puesto que este último tipo de estudio requiere una inversión considerable de tiempo y recursos, lo ideal es iniciar con estudios fitoquímicos preliminares que permitan hacer una discriminación de las plantas a estudiar en términos de su composición química, con el fin de seleccionar únicamente aquellas más interesantes para posteriores estudios sistemáticos. A través de estos estudios se puede dar un criterio de la presencia de compuestos activos a los que pueden atribuirse una serie de actividades farmacológicas como son: antibacterianas, hipoglicemiantes, antiespasmódicas, hepatoprotectoras, antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales y otras.⁴⁹

I.3.1 Importancia de los estudios fitoquímicos para el profesional Farmacéutico

Las plantas poseen en su metabolismo sustancias que le permiten crecer, multiplicarse, defenderse y sobrevivir. Específicamente el metabolismo secundario de estas puede definirse como el nivel funcional no indispensable para el crecimiento y desarrollo del vegetal, pero si para la supervivencia de la especie. Dada la riqueza química que presentan las plantas, éstas fueron consideradas la fuente natural de numerosos medicamentos y por ello fueron usadas en la medicina tradicional, popular o folklórica y sus cualidades fueron transmitidas a través de las culturas de los pueblos de diferentes generaciones.⁵⁰

El estudio fitoquímico de las plantas permite identificar y aislar grupos de metabolitos secundarios como: alcaloides, antraquinonas y naftoquinonas, esteroides y triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, lactonas terpénicas y cardiotónicos, que se encuentran relacionados con actividades biológicas específicas, por lo que partiendo de los resultados obtenidos en estos

estudios es posible orientar investigaciones posteriores para determinar la actividad biológica de las especies en cuestión y los principios activos involucrados,⁴⁹ con la finalidad de desarrollar nuevos medicamentos que posean el efecto deseado y que al mismo tiempo no posean efectos secundarios.⁵¹

I.4 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, técnica que se utiliza para detectar metabolitos secundarios presentes en especies vegetales, desde el punto de vista cualitativo y se basa en la realización de reacciones químicas con diferentes reactivos, donde la aparición de un determinado color o precipitado o no es indicativo de la presencia de un determinado metabolito.⁵² Los ensayos que se realizan no brindan un criterio absoluto y confirmativo de la presencia de metabolitos, pues se pueden producir numerosas interferencias en estas reacciones, producto de la presencia en el medio de otras sustancias (metabolitos secundarios o no), capaces de reaccionar en forma similar, provocando reacciones falsas positivas. Sin embargo, esta técnica si da un criterio de la composición química que pueda existir en un extracto de una droga vegetal.⁴⁶

El tamizaje fitoquímico permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en las plantas y a partir de ahí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés, de ahí su importancia. Para llevar a cabo la técnica de tamizaje fitoquímico se usan variados esquemas de trabajo que comprenden a su vez el uso de diferentes solventes de extracción, por ejemplo: la extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente, con la finalidad de lograr el mayor agotamiento de la droga, ensayándose en cada extracto los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad puedan ser extraídos en estos solventes.^{46,53}

I.5 Familia Lythraceae. Generalidades

La familia Lythraceae es una de las familias vegetales de mayor amplitud en cuanto a su distribución mundial. Comprende 31 géneros y 620 especies distribuidas por los trópicos y subtrópicos de ambos hemisferios, con algunos representantes en zonas templadas.⁵⁴ Numerosas especies son cultivadas como ornamentales, entre ellas se encuentran la *Lagerstroemia indica* L. (crespón), *Lawsonia inermis* L., *Cuphea racemos*, entre otras, hallándose otras variedades de diversos colores que florecen durante casi todo el año.^{55,56}

Las flores de Lythraceae se consideran bisexuales, períginas, con pétalos espatulados, estambres con los filamentos separados y los contiguos de diferente longitud, visitadas por abejas, mariposas, polillas, colibríes y murciélagos (polinizadores de Lafoensia) que buscan néctar y polen. Sus hojas se reconocen por ser simples, opuestas o sub-opuestas, con el margen entero y una vena intramarginal; los frutos generalmente son capsulares. La endogamia no es algo inusual en la familia.⁵⁷

Esta familia es ampliamente utilizada para la extracción de colorantes y en la medicina popular. En la primera actividad la especie más utilizada es la *Lawsonia inermis* L. (henna) de la que se extrae un tinte cosmético color naranja llamado alheña, a partir de las hojas y raíces jóvenes. Una vez que el árbol alcanza los dos años de edad se pueden cortar sus ramas para la obtención del tinte.⁵⁸

En la medicina popular es muy utilizado el género *Cuphea* (siete sangrías), cuya infusión se toma como diurético y depurativo contra dolores del riñón, para la presión sanguínea, dolores del corazón, palpitaciones, regulación del período menstrual, prevención de embarazos y arteriosclerosis. La corteza de la raíz de la especie *Punica granatum* es empleada para expulsar parásitos como las tenias y otros vermes intestinales. Con el jugo se prepara la granadina, utilizada para diversos refrescos y para curar afecciones de la garganta.⁵⁸

I.5.1 Características generales de la especie *Lawsonia inermis* L.

I.5.1.1 Clasificación taxonómica y descripción botánica

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*.

Clase: *Magnoliopsida*.

Subclase: *Rosidae*.

Orden: *Myrtales*.

Familia: *Lythraceae*.

Género: *Lawsonia*.

Especie: *Lawsonia inermis* L.²⁰



Otros nombres

Esta planta se conoce como henna o mhendi en diferentes regiones del mundo. Es conocida además por otros nombres vulgares como; resedá de las Antillas, resedá francesa, resedá princesa (Cuba) y flor del paraíso.^{16,29,59}

Descripción botánica

Arbusto lampiño, muy ramificado de 3 m o más de altura, con las ramillas cilíndricas, inermes o espinescentes. Hojas opuestas, enteras, oblongas o algunas de ellas obovadas, delgadas, verde oscuras, de 2 a 5 cm de longitud, con nerviación delicadamente pinnada, el ápice agudo, la base estrechada, los pecíolos de 1 a 2 mm de largo.^{16,59}

Las flores son pequeñas, fragantes, en panículas, estas subcorimbosas más largas que las hojas, comúnmente multifloras, pedicelos filiformes, de 3 a 6 mm de largo, poseen diversos tonos entre los que se encuentran el blanco y el amarillo, así como el rojo, rosa o púrpura. Tubo del cáliz, turbinado triangular, mucho más corto que los cuatro lóbulos ovados, extendidos. Pétalos cuatro, sésiles y erosos. Estambres

algo más largos que los pétalos, en número de ocho, insertos en la base del tubo del cáliz, filamentos afezados, anteras oblongas. Ovario globoso, 4-locular, estilo filiforme, estigma capitado. Cápsula globosa, de 5 a 7 mm de diámetro, que se abre irregularmente al final.⁵⁹ La *Lawsonia inermis* L. es hermafrodita y por tanto se autopoliniza sin necesidad de animales o insectos en el proceso reproductivo.^{16,20,59}

1.5.1.2 Hábitat y distribución

La aldeña o resedá es un arbusto nativo del norte de África, Asia y Australia. Se naturaliza y se cultiva en los trópicos de América, Egipto y en la India. Se distribuye ampliamente por todo el norte y sur de Nigeria, se ha vuelto subespontánea en todas las Antillas Mayores y en algunas de las Menores.^{16,20,60} La producción comercial se limita a unos pocos lugares en India, Pakistán, Irán, Egipto, Libia, Níger, Nigeria y Sudán.²⁰

1.5.1.3 Usos y propiedades terapéuticas reportadas

La historia antigua de la India describe los usos de esta planta como cosmético, pues las hojas en particular tienen un componente que procesado de manera industrial o llevado a pasta o a polvo es ampliamente utilizado para la creación de decoraciones en uñas de manos y pies, debido a su pigmento color naranja.⁶¹ También se utiliza como tinte para el cabello y como principal responsable para la creación de tintas para tatuajes²². Además de ser muy usada en industrias textiles para la coloración de diversos productos tales como nylon y lanas.²⁴ Las flores son muy fragantes y debido al aceite que contienen se usan para extraer un perfume, que se utiliza como base para aromas locales. Las semillas son usadas para la creación de desodorantes.^{20,28,62}

Esta especie desempeña un papel importante en la medicina a base de hierbas ayurvédicas o naturales reconocidas por todo el mundo. Su uso se convirtió en popular en diferentes países debido a sus efectos, pues sus hojas, flores, semillas, tallos y raíces, se utilizan desde tiempos inmemoriales para tratar una variedad de dolencias como la artritis reumatoide, cefalea, úlceras, diarrea, lepra, diabetes,

enfermedades cardíacas y como agentes hepatoprotectores. Además se utilizan para aliviar la ictericia, enfermedades de la piel, enfermedades venéreas, viruela y espermatorrea.⁶³

La infusión de las flores es una aplicación valiosa para los moretones y la decocción de las mismas se describe como un emenagogo según Roig.¹⁶ Las semillas son buenas en medicina natural, en forma de decocción para trastornos del hígado y para tratar quemaduras y escaldaduras. Se supone que la raíz y las hojas al igual que las flores son útiles en el tratamiento de la histeria y los trastornos nerviosos.^{16,20} Con el polvo de las hojas diluido en agua se hace una pasta que se aplica en los pies para combatir la fetidez del sudor¹⁶. Se administra además infusiones de esta planta usando las hojas para tratar una variedad de afecciones, como ictericia, agrandamiento del bazo, cálculo, como alternativa en lepra y piel dañada por otros tipos de dermatitis. La raíz se considera astringente y además es usada para los ojos adoloridos. Aplastada, también puede ser aplicada para tratar forúnculos. Se considera que una decocción de raíces de la henna actúa como diurética, pero combinada con el índigo preparado actúa como un poderoso abortivo.^{20, 64,65}

A la especie se le atribuyen además, propiedades bactericidas y anti-fúngicas, siendo empleada para prevenir las infecciones y para el tratamiento de las dermatofitosis y otras afecciones cutáneas. Este uso tiene su base científica en estudios relacionados con la determinación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de esta especie vegetal frente a microorganismos como: *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* y *Candida sp.* Así mismo se demostró la actividad fungicida del extracto de los tallos de la planta frente a los dermatofitos *M. gypseum* y *T. mentagrophytes*, reflejando que la 2-hidroxi-1,4-naftoquinona es la molécula responsable de dicha actividad.⁶⁶ Se le ha reportado también, efecto analgésico, antioxidante, astringente, antiparasitario, anticancerígeno, antisiklémico y anticoagulante.^{20,28}

1.5.1.4 Composición química reportada para la especie

La fitoquímica de la *Lawsonia inermis* L. ha sido ampliamente estudiada en el mundo revelando muchas informaciones interesantes.^{20,67,68} El principal componente de la especie está presente en las hojas y es el 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, más conocido como Lawsona ($C_{10}H_6O_3$), utilizado como colorante en cosmética y en la industria textil. En la figura 1 se muestra la estructura química correspondiente a la lawsona.²⁰

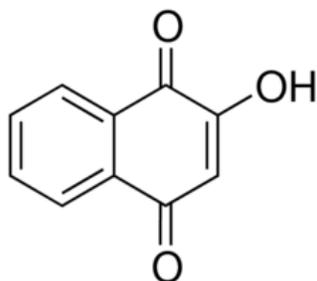


Figura 1. Estructura química de la lawsona (2-hidroxi-1, 4 naftaquinona)

A la especie *Lawsonia inermis*L. se le ha reportado la presencia de alcaloides, glucósidos, flavonoides, taninos, azúcares reductores y proteínas, y se ha descubierto que varias propiedades curativas de la henna o resedá se deben al comportamiento de estos metabolitos secundarios.⁶⁸ En general, la planta completa contiene los siguientes compuestos químicos: 3-beta-hidroxi-20-oxo-30-norlupano (Triterpeno), Acacetin-7-O-glucósido (flavonoide), ácido henosídico (naftoquinona), Luteolina (flavonoide), Lupeol (triterpeno), Resedina (alcaloide). Además de otros constituyentes presentes como, el ácido gálico, la glucosa, las grasas, D-manitol, la resina (2%), el mucílago y alcaloides.^{63,69} Algunos de estos metabolitos se muestran en la figura 2.²⁰

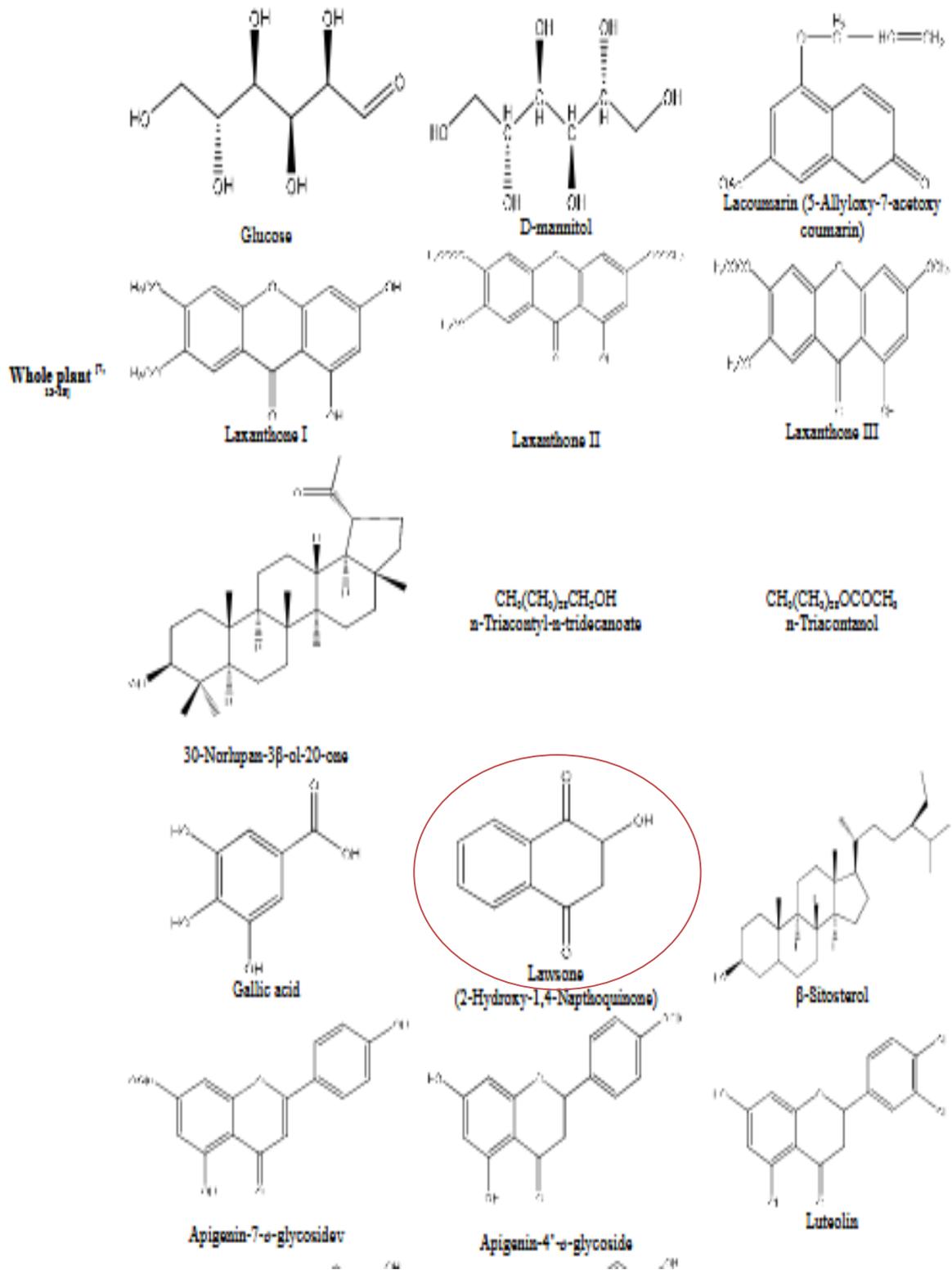


Figura 2. Algunos de los metabolitos identificados en la especie *Lawsonia inermis* L.

Las hojas en particular producen ácido tánico y una resina verde de aceite de oliva, soluble en éter y alcohol. 1,2-dihidroxi-4-glucosilnaftaleno, Apigenina-7-O-beta-glucósido, ácido gálico, ácido henosídico, beta-sitosterol, luteolina-3-glucósido, luteolina-7-O-glucósido, pentosanos, clorofila, hidroxycumarinas (fraxetina, esculetina, escopoletina), quinonas, resinas, taninos. En las hojas de la *Lawsonia inermis* se identifican xantonas, es decir, 1,3 dihidroxi-6,7-dimetoxixantona y 1-hidroxi-3,6-diácetoxi-7 metoxixantona, estos compuestos se conocen comúnmente como laxantona I y II.^{20,28}

Las flores producen un aceite esencial (0,01-0,02%) de color marrón o marrón oscuro, fragancia fuerte y consisten principalmente en α -y β -iononas, un compuesto nitrogenado y resina.²⁰ Las semillas contienen proteínas (5,0%), carbohidratos (33,62%), fibras (33,5%), aceites grasos (10-11%) compuestos de ácido behénico, ácido araquídico, ácido esteárico, ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico.²⁰

I.6 Antecedentes de estudios reportados para la especie vegetal *Lawsonia inermis* L.

La revisión bibliográfica efectuada sobre los estudios fitoquímicos y farmacológicos más importantes de la especie *Lawsonia inermis* L. revelan la versatilidad que posee la planta en el campo de la industria farmacéutica siendo las partes aéreas las más estudiadas y de estas, las hojas. A continuación se mencionan algunas de las investigaciones más recientes realizadas en la especie.

- S.H. Muhammad y S. Muhammad en el 2005,²⁸ investigaron el efecto de extractos acuosos y de cloroformo obtenidos de las hojas de *Lawsonia inermis* L. en el tratamiento de las infecciones en heridas causadas por quemaduras. El estudio evidenció que los extractos de hojas de la henna fueron capaces de inhibir el crecimiento de los microorganismos *A. niger*, *F. oxysporum*, *Streptococcus sp.* y *S. aureus*, lo que sugiere que esta planta puede ser valiosa en el manejo de las infecciones en heridas de la piel dañada por quemaduras.

- Gunjan y colaboradores en el 2011⁷⁰, realizaron un estudio sobre la inhibición del daño celular inducido por Cromo (VI) de extractos acuosos y metanólicos obtenidos de la especie *Lawsonia inermis* L. Los extractos mostraron un potencial significativo en la eliminación de radicales libres (DPPH • y ABTS • +) y Fe^{3+} , y en la inhibición de la peroxidación lipídica. Observándose además, una disminución de la citotoxicidad inducida por Cromo (VI) en las células de carcinoma de mama humano con un aumento en la dosis de ambos extractos individualmente. Se demostró que los extractos contienen un alto contenido de compuestos fenólicos y se encontró una fuerte correlación positiva y significativa con el potencial de eliminación de radicales, la capacidad de inhibición de la peroxidación de lípidos y la eficacia cito protectora contra Cromo (VI) en el daño celular oxidativo inducido, siendo algunos de los principales metabolitos identificados en ambos extractos los compuestos fenólicos, los que podrían ser responsables del potencial antioxidante y las propiedades del ADN y la cito-protección.
- La investigación realizada por Uddin y colaboradores en el 2013,⁷¹ logró el aislamiento de siete constituyentes de los tallos de *Lawsonia alba* L., el cual incluye dos nuevos compuestos, el lawsorosemarinol y la lawsufructosa; además de otra sustancia conocida como 2-(β-D-glucopiranosilo)-1, 4-naftoquinona y cuatro constituyentes más que son la 4-hidroxi-cumarina; 3-(4-hidroxifenil)-triacontil-(Z)-propenoato; 3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-triacontil-(Z)-propenoato y 7-hidroxi-4-metilocumarina, aislados por primera vez de *Lawsonia inermis* L. o *Lawsonia alba* L (sinónimo).
- En el año 2014, Manpreet Kaur y colaboradores realizaron un estudio de toxicidad de la especie *Lawsonia inermis*L.⁷² con el objetivo del determinar los efectos adversos del extracto de hojas de la planta utilizando ratas albinas wistar de ambos sexos. El perfil de toxicidad aguda se determinó con un patrón de dosis de 100 mg, 500 mg, 1000 mg y 2000 mg / kg / b.w durante 72 horas. Después de determinar la dosis letal se realizó un estudio

subagudo con dosis de 200 mg, 500 mg y 1000 mg / kg / b.w. durante 14 días. Después de 14 días, se extrajeron muestras de sangre para varias pruebas bioquímicas, se sacrificaron los animales y se estudiaron histológicamente el corazón, el hígado, el riñón y el bazo. Los resultados histopatológicos y bioquímicos mostraron que no se observaron cambios patológicos ni hematológicos con un nivel de dosis de 200 y 500 mg / kg / b.w. en comparación con el grupo control.

- El estudio realizado por Daemi A. y colaboradores en el año 2018,⁷³ estuvo basado sobre la administración tópica de una nueva formulación de ungüento cuyo principio activo consiste en el extracto hidroalcohólico obtenido de las hojas de *Lawsonia inermis* L., para comprobar su efecto en el proceso de curación de las heridas mediante la expresión génica del transportador de glucosa-1 (Glut-1) y el factor de crecimiento tipo insulina I (Igf-1) en ratas Wistar. Los animales fueron tratados tópicamente con diferentes dosis de esta formulación durante el tiempo que duró la investigación. En el estudio se comprobó que la administración tópica de la especie *Lawsonia inermis* L. promovió el proceso de cicatrización de las heridas mediante la mitigación de la fase inflamatoria del tejido y el aumento de la captación de glucosa, que fue mediada por la regulación positiva de la expresión de Igf-1 y Glut-1.



Materials
Materials
y
Métodos

CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1 Características generales de la investigación

Se realizó un estudio farmacognóstico a los tallos y hojas de la especie vegetal *Lawsonia inermis* L. Se elaboraron extractos acuosos al 10 % a partir de una mezcla de tallos y hojas de la especie en estado fresco y seco, empleando métodos convencionales, y se les determinaron las características organolépticas, la composición química cualitativa y sólidos totales. Se determinaron además, los parámetros farmacognósticos principales para las diferentes partes de la planta (tallos y hojas secos) y su composición química cualitativa.

El estudio se llevó a cabo en los laboratorios de Tecnología Farmacéutica, MEDICUBA-Suiza del Departamento de Farmacia y en los de las carreras de Biología y Química de la Facultad de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Oriente; en el período comprendido de enero – mayo del 2019.

II.2 Metodología de la investigación

II.2.1 Recolección y procesamiento del material vegetal

Los tallos y las hojas de la especie vegetal *Lawsonia inermis* L. fueron recolectadas en la comunidad La loma del municipio Urbano Noris de la provincia Holguín, en horario de la mañana del 26 de febrero del 2019. Se trabajó con un lote de material vegetal el cual fue dividido en dos porciones:

- La primera porción fue destinada a la obtención de extractos acuosos al 10 % por los métodos convencionales infusión y decocción a partir de mezclas de tallos y hojas tanto en estado fresco como seco. Para el secado del material vegetal se aplicó el método de secado al aire, variante sol. A estos extractos acuosos al 10 % se les determinó: características organolépticas, composición química cualitativa y la determinación de sólidos totales.
- La segunda porción del material vegetal, destinada a la determinación de los parámetros farmacognósticos de la especie, fue sometida a un proceso de

secado empleando el método de secado al aire en su variante al sol, separando las hojas y los tallos.

El criterio para la selección del método de secado empleado estuvo condicionado por los reportes de estudios de investigación realizados para la especie donde se comprueban que este método es de elección, para garantizar la calidad físico-química y química cualitativa de la droga.^{74,75}

II.2.2 Identificación Taxonómica de la especie

La especie vegetal recolectada fue identificada taxonómicamente por especialistas del Centro Oriental de Ecosistemas y Biodiversidad (BIOECO), en el Museo Tomás Romay de Santiago de Cuba, para confirmar que se trata de la especie objeto de estudio.

II.2.3 Método de secado

El material vegetal fue sometido al proceso de secado empleando el método al aire por la variante al sol hasta obtener peso constante con el objetivo de eliminar la humedad del material vegetal evitando así una posible contaminación microbiana, y a su vez propiciar las condiciones óptimas para la preparación de los extractos acuosos obtenidos por los métodos convencionales y la caracterización farmacognóstica de la especie.^{43,44}

Las partes de las plantas (tallos y hojas) tanto unidas como separadas fueron esparcidas en bandejas previamente taradas y colocadas al sol diariamente, removiéndose de forma manual 2 ó 3 veces al día. Después de la exposición diaria al sol se pesaron las bandejas con el material para el control de la pérdida de peso, repitiendo el proceso hasta obtener valores constantes en tres mediciones sucesivas.

Una vez seca la droga vegetal fue molinada en un molino de cuchilla KM-700 procedente de Suiza con el objetivo de disminuir el tamaño de partícula y así favorecer los posteriores procesos de extracción.⁷⁶

II. 3 Obtención de extractos acuosos por métodos convencionales

La inevitabilidad de la práctica de la medicina tradicional herbaria y la tendencia creciente de la utilización de plantas medicinales, hacen que sea necesario disponer de conocimientos básicos sobre las hierbas de uso común, sus efectos, así como identificar los factores que le atribuyen las propiedades a las plantas, en el proceso de elaboración casera y administración de productos herbáceos.⁷⁷

Teniendo en cuenta lo antes planteado y lo reportado por Izaguirre y colaboradores en el año 2017¹⁵, en su estudio etnobotánico para la especie *Lawsonia inermis* L, se emplearon los métodos tradicionales infusión y decocción⁴³ para la obtención de cuatro extractos a partir de la droga vegetal (mezcla de hojas y tallos), en estado fresco y seco, según se muestra en la figura 3. Para ello se tomaron como punto de partida 10 g de la droga (peso aproximado de un manojo de mezcla de hojas y tallos), para cada una de las preparaciones, teniendo en cuenta los criterios emitidos por la población acerca del uso y forma de obtención de extractos, en dicho estudio.

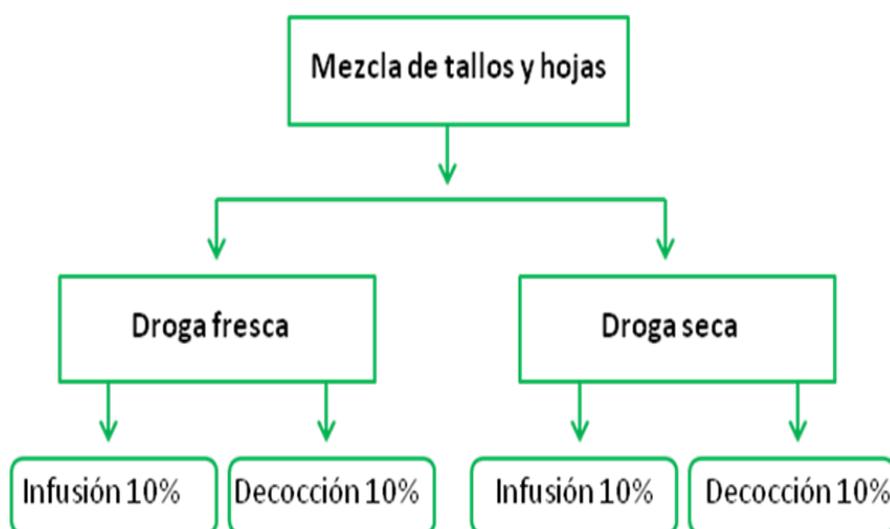


Figura 3. Proceso de obtención de los extractos acuosos al 10% realizado por los métodos convencionales (infusión y decocción).

Se elaboraron los extractos por duplicados y una vez obtenidos fueron utilizados inmediatamente para la determinación de las características organolépticas, la composición química cualitativa y el por ciento de sólidos totales.

II.3.1 Determinación de los requisitos organolépticos a los extractos acuosos al 10%

Con el objetivo de determinar las propiedades organolépticas de los extractos obtenidos por los métodos tradicionales se procedió a realizar una valoración teniendo en cuenta las características organolépticas (color, olor, apariencia, sabor) según el procedimiento descrito en la Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) # 312.⁷⁸

II.3.2 Determinación de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10%

A los extractos obtenidos a partir de 10 g del material vegetal fresco y seco por los métodos convencionales se les determinó su composición química cualitativa, a través de los ensayos químicos que se describen en la literatura.⁴⁶ Realizándose los correspondientes ensayos para la identificación de: alcaloides, quinonas, cumarinas, saponinas, poliurónidos, azúcares reductores, fenoles y taninos, flavonoides, mucílagos y principios amargos y astringentes.

II.3.3 Determinación de sólidos totales

Este ensayo se realizó por el método gravimétrico según el procedimiento descrito en la Norma Ramal de Salud Pública 312/92.⁷⁸ La muestra de ensayo es previamente homogeneizada. Se tomó una cápsula de porcelana limpia, seca y se pesó en una balanza analítica (Sartorius, Alemania). Se transfirieron 5 mL del extracto a la cápsula y se colocaron en baño de agua hasta evaporar el contenido y el residuo estuviera aparentemente seco. Posteriormente, se colocó la cápsula en una estufa (MIM, Hungría) a una temperatura de $105 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 3 h. Al cabo de este tiempo se retiró la cápsula de la estufa, se colocó en una desecadora hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se pesó y luego se repitió el proceso anterior, pero

empleando sólo 60 min de secado, hasta obtener dos valores de pesadas consecutivos con diferencia menor de 0,02g.

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

$$\text{St} = (\text{Pr}-\text{P}) / \text{V} \times 100 \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

Pr → masa de la cápsula más el residuo (g)

P → masa de la cápsula vacía (g)

V → volumen de la porción de ensayo (mL)

100 → factor matemático

II.4 Caracterización farmacognóstica de la especie

II.4.1 Comprobación de los requisitos macromorfológicos

- Para el análisis macromorfológico de los tallos se determinaron las características generales de este órgano.^{78,79}
- Para realizar el análisis macromorfológico de las hojas se tomó una muestra de 100 unidades procedentes al menos de cinco individuos de la especie, colectadas de las partes baja, medio y alta de las mismas, se establecieron dimensiones medias de ancho y largo expresadas en cm para describir la morfología externa (forma), se tuvo en cuenta las características generales (olor, color, textura) la disposición del tallo, la venación, la forma del vértice y la base, por margen o borde, tamaño del peciolo (expresado en mm) y además se observó si existían contaminaciones ocasionadas por materia extrañas.^{78,79}

II.4.2 Determinación de hojas ennegrecidas

Este ensayo se efectuó a partir de 100 g de la droga fresca, separando de forma manual las hojas ennegrecidas.⁷⁹ El % de hojas ennegrecidas (HE) se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$HE = m/M \times 100(\%)$$

Ecuación 2

Donde:

M → masa inicial de la muestra de ensayo (g).

m → masa de hojas ennegrecidas (g).

100 → factor matemático para los cálculos.

II.4.3 Determinación de otras partes de la propia planta

De la muestra de ensayo (100 g) se procedió a separar manualmente otras partes de la propia planta no incluidas en la definición y que estaban presentes en la misma.^{78, 79}

El % de otras partes de la propia planta (Pp) se determina mediante la fórmula siguiente:

$$Pp = m/M \times 100 (\%)$$

Ecuación 3

Donde:

M → masa inicial de la muestra de ensayo (g).

m → masa de otras partes de la propia planta (g).

100→ factor matemático para los cálculos.

II.4.4 Determinación de materia orgánica e inorgánica extraña

Se procedió a la separación manual de la materia orgánica extraña (insectos, excreta de roedores, pelos de roedores, etc.) (M_O) y de la materia inorgánica extraña (partículas de tierra, arena, piedrecitas presentes) (M_I), en 100 g de la droga fresca.^{78,79}

Los cálculos se realizan utilizando las siguientes expresiones:

Materia orgánica extraña

$$Mo = m/M \times 100(\%)$$

Ecuación 4

Donde:

M → masa inicial de la muestra de ensayo (g).

m → masa de materia orgánica extraña (g).

100 → factor matemático para los cálculos.

Materia inorgánica extraña

$$MI = m/M \times 100 (\%)$$

Ecuación 5

Donde:

M → masa inicial de la muestra de ensayo (g).

m → masa de materia inorgánica extraña (g).

100 → factor matemático para los cálculos.

II.4.5 Determinación de cenizas totales y cenizas solubles en agua

En una cápsula de porcelana, previamente tarada, se pesaron 2 g de la muestra de ensayo pulverizada con un error máximo de 0,5 mg. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar (550 °C) y posteriormente se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 horas. Se enfrió la cápsula de porcelana en una desecadora y se pesó. Se repitió el proceso a partir de la incineración, hasta obtener una masa constante pero en intervalos de 30 min.^{78,79} Estos ensayos se realizaron por triplicado según la metodología descrita en la Norma Ramal de Salud Pública 309/92 (NRSP 309/92): “Droga Cruda. Métodos de Ensayo”⁷⁹ y el Folleto de Actividades Prácticas de las Asignaturas Farmacognosia y Química de los Productos Naturales.⁴⁶

La cantidad de cenizas totales (Ct) se calculó por las fórmulas siguientes:

$$C1 = (M2-M) / (M1-M) \times 100(\%)$$

Ecuación 6

$$Ct = C1 \times 100 / 100-H$$

Ecuación 7

Donde:

C1 → Cenizas totales en base hidratada.

M → Masa del crisol vacío (g).

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

M₂ → Masa del crisol con la ceniza (g).

100 → Factor matemático para los cálculos.

H → % humedad.

II.4.6 Determinación del contenido de humedad residual

El contenido de humedad residual se determinó por el método gravimétrico. El ensayo se realizó por triplicado según la metodología descrita en la Norma Ramal de Salud Pública 309/92 (NRSP 309/92): “Droga Cruda. Métodos de Ensayo”⁷⁹ y el Folleto de Actividades Prácticas de las Asignaturas Farmacognosia y Química de los Productos Naturales.⁴⁶

II.4.7 Determinación de sustancias solubles

Se basa en la extracción de las sustancias en diferentes solventes mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto.⁷⁹ Para su determinación se emplearon 5 g de la droga vegetal seca y como solventes: agua, solución hidroalcohólica al 70% y etanol al 95%, para la elección del solvente de mayor capacidad extractiva según sus polaridades.

Se realizaron tres réplicas para cada uno de los solventes.

Los cálculos se realizaron con la utilización de la expresión siguiente:

$$S_s = (R \times 500 \times 100) / (M \times (100-H)) \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde:

H → humedad de la muestra en %.

500 y 100 → factores matemáticos para los cálculos.

R → residuo de la muestra (g).

M → masa de la muestra (g).

II.5 Determinación de la composición química cualitativa

La determinación de la composición química cualitativa por la técnica de tamizaje fitoquímico permite identificar los metabolitos secundarios presentes en especies vegetales. Se basa en la realización de reacciones químicas con diferentes reactivos, donde la aparición de determinado color o precipitado coloreado es indicativo o no de la presencia de un determinado metabolito. Para la determinación de la misma en tallos y hojas de la especie se determinó siguiendo el procedimiento descrito en el Folleto para las actividades prácticas de la asignatura Farmacognosia y Química de los Productos Naturales de 1999,⁴⁶ como se muestra en la figura 4, partiendo de 10 g de material vegetal en cada caso y empleando 100 mL de cada solvente de extracción (éter de petróleo, alcohol al 95 %, solución hidroalcohólica al 70 % y agua); solventes estos de polaridad creciente, con vistas a lograr el total agotamiento del material vegetal

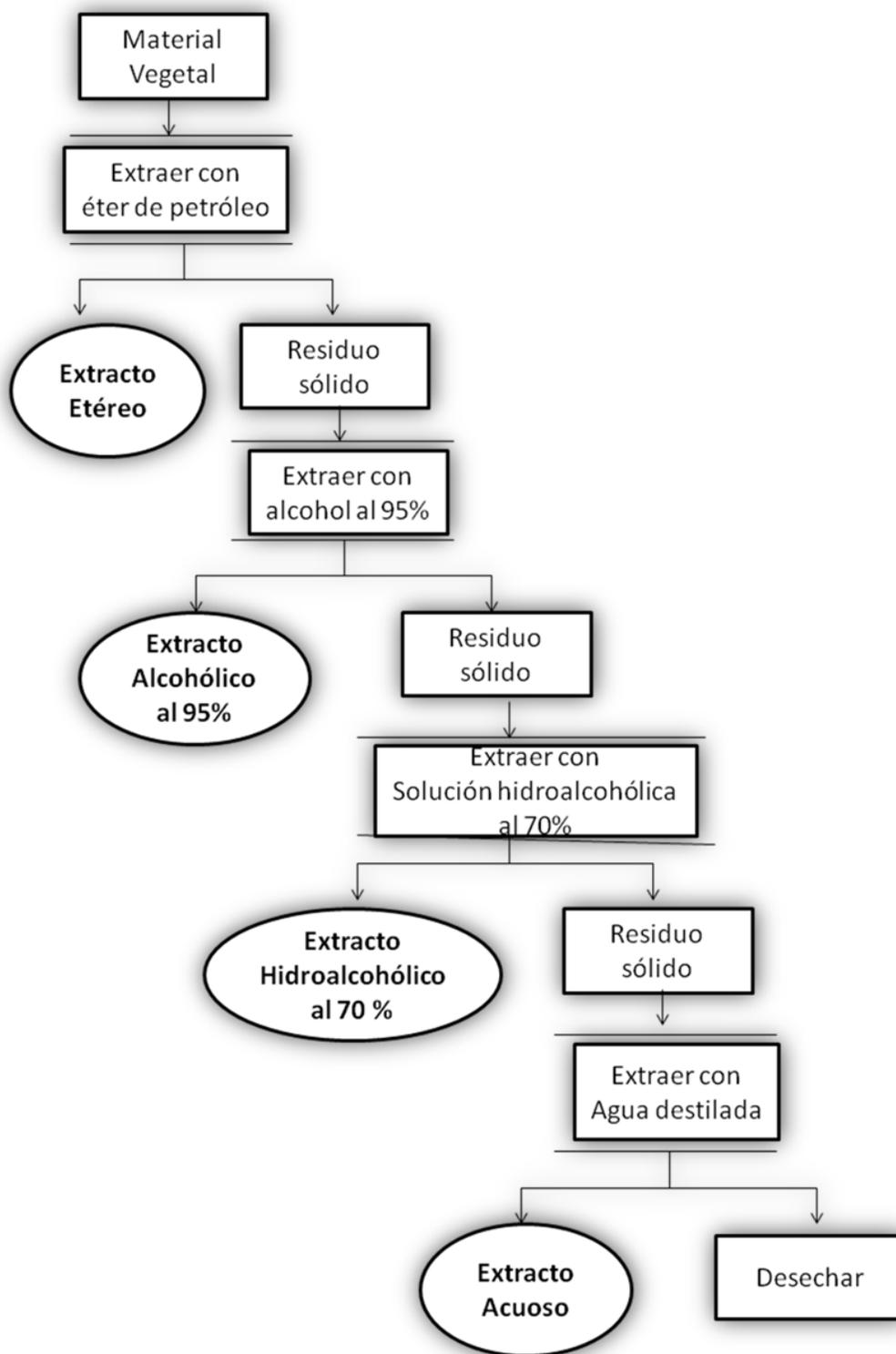


Figura 4: Técnica de Tamizaje Fitoquímico

A los extractos obtenidos, se les determinó su composición química cualitativa a través de los ensayos químicos que se describen en la literatura para la identificación de los metabolitos secundarios según se muestra en la tabla I.^{46, 79}

Tabla I. Metabolitos a identificar en cada extracto del tamizaje fitquímico

Metabolitos	E.E	EE – 95%	EHA – 70 %	EAc
Alcaloides	*	*	*	*
Triterpenos y esteroides	*	*	*	
Quinonas	*	*	*	*
Cumarinas	*	*	*	*
Saponinas		*	*	*
Poliurónidos				*
Azúcares reductores		*	*	*
Fenoles y taninos		*	*	*
Aminoácidos libres y aminas en general		*	*	
Flavonoides	*	*	*	*
Aceites esenciales	*	*	*	*
Resinas		*	*	
Mucílagos				*
Principios amargos y astringentes				*

Leyenda: E.E: extracto etéreo; EE- 95%: Extracto alcohólico; EH-70 %: extracto hidroalcohólico – 70 %; EAc: extracto acuoso; *: ensayos a realizar

II.6 Procesamiento matemático y análisis estadístico de los resultados

Para el procesamiento matemático y análisis estadístico de los resultados fueron utilizados, el software Microsoft Excel contenido en el paquete Microsoft Office 2007 para el análisis de los resultados obtenidos en los estudios macromorfológicos de las hojas y el programa estadístico Statgraphics Centurion XV, versión 15.2.14 para las determinaciones de contenido de humedad residual, las sustancias solubles, determinación de cenizas totales y solubles en agua, y para los sólidos totales se realizó un ANOVA y posteriormente la prueba rangos múltiples para identificar entre que grupos existían diferencias significativas, para un nivel de confianza de 0,05.



Resultados y Discusión

CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

III.1 Recolección y procesamiento del material vegetal

Se recolectó y procesó el material vegetal para realizar la investigación diseñada cumpliendo con los requisitos establecidos para este propósito.⁴⁴

III.1.1 Identificación Taxonómica y/o Botánica de la especie

La identificación taxonómica de la especie se realizó en el Centro de Ecosistema y Biodiversidad (BIOECO) ubicado en el Museo Tomás Romay de Santiago de Cuba, por el Ingeniero Forestal Félix Acosta Castillo, especialista de la rama, corroborándose que se trabajó con la especie *Lawsonia inermis* L. según se muestra en el anexo 1.

III.1.2 Método de secado

El secado es la operación que proporciona la conservación del producto por un tiempo lo más prolongado posible al disminuir la humedad en el material vegetal hasta porcentajes que impiden su fermentación, el desarrollo de los microorganismos y consecuentemente la pérdida de los principios activos.^{43,80}

El proceso de secado de los tallos duró 16 días, mientras que el de las hojas solo tomó 14 días. A pesar de que no existe mucha diferencia entre el tiempo de secado de las partes de las plantas se puede decir que los tallos necesitaron más días de exposición al sol, lo que pudiera estar atribuido a que los mismos van a contener una mayor cantidad de agua y sustancias de reserva almacenadas con respecto a las hojas.⁴³

En cuanto a la coloración observada podemos decir que las hojas durante el proceso de secado fueron cambiando su coloración de verde a marrón oscuro debido a la desecación producto a la exposición directa de los rayos del sol, en cambio los tallos mantuvieron un color marrón en la parte externa, observándose cambio de coloración de verde claro a pardo en la parte interna. Para ambos órganos, a medida que pasaron los días, se obtuvo una mayor friabilidad del material vegetal evidenciado por la consistencia quebradiza de la droga seca.

III. 2 Obtención de extractos acuosos por métodos convencionales

Se obtuvieron cuatro extractos acuosos al 10 % a partir de una mezcla de tallos y hojas en estado fresco y seco, por los métodos tradicionales infusión y decocción. En la tabla II se muestran las características organolépticas observadas.

Tabla II. Características organolépticas de los extractos acuosos al 10% obtenidos por los métodos convencionales

Extractos obtenidos	Características organolépticas			
	Color	Olor	Sabor	Apariencia
IDF	Amarrillo claro	Característico	Ligeramente amargo y astringente	Líquido transparente y homogéneo
IDS	Rojo vino	Característico	Ligeramente amargo y astringente	Líquido transparente y homogéneo
DDF	Amarrillo claro	Característico	Amargo y astringente	Líquido transparente y homogéneo
DDS	Amarrillo intenso	Característico	Amargo y astringente	Líquido transparente y homogéneo

Leyenda: IDF- infusión droga fresca; IDS- infusión droga seca; DDF- decocción droga fresca; DDS- decocción droga seca.

Como se puede constatar los extractos obtenidos con la droga fresca por ambos métodos mostraron un color amarillo claro, a diferencia de los extractos obtenidos con la droga seca, donde se evidenció una tonalidad más intensa, a excepción del extracto obtenido por infusión el cual resultó ser de color rojo; coloración que pudiera estar relacionada con la presencia de la lawsona en las hojas de la especie^{20,81}, el cual es un pigmento natural de color naranja²² que varía según el estado de la droga (fresco o seco) que le atribuye a la especie su utilización como colorante en la industria textil y cosmética.²³ En sentido general puede plantearse que los resultados obtenidos pueden estar asociados a la variación de la composición

química de la especie debido al proceso de secado al cual fue sometido el material vegetal, no influyendo en este parámetro en los métodos de extracción empleados. Todos los extractos mostraron un olor característico de la especie y ser transparentes y homogéneos. El sabor resultó ser ligeramente amargo para los extractos obtenidos por infusión y amargo para los obtenidos por decocción, mostrándose astringencia para los cuatro extractos, lo que pudiera justificarse por la presencia de principios amargos y astringentes, alcaloides y taninos, los cuales aportan estas características al medio.⁴⁴

III.2.1 Determinación de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10 %

Los resultados de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10% son mostrados en la tabla III. Como puede apreciarse se evidenció de forma general la presencia de alcaloides, quinonas, cumarinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, flavonoides, principios amargos y astringentes, lo que está en correspondencia con lo reportado por otros autores en estudios realizados a la especie^{20,21,81}, existiendo variaciones entre los diferentes extractos.

Como puede apreciarse en los extractos obtenidos por el método de decocción son los que muestran una mayor variedad en la composición química cualitativa mostrándose la presencia de los metabolitos antes mencionados, lo que pudiera ser atribuible a las características de extracción del método empleado pues se conoce que en el mismo al estar el material vegetal expuesto a una temperatura de 100 ° C por más tiempo (20 minutos) se logra una mayor extracción de principios activos, en comparación con el método de infusión, donde solo se identificó la presencia de cumarinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, flavonoides, principios amargos y astringentes. Es válido resaltar que los tallos por ser un órgano de consistencia más gruesa, el cual presenta fibras en su composición,^{43,44} es necesario someterlo por un periodo más prolongado de exposición al calor (decocción) para lograr un adecuado proceso extractivo y con ello el agotamiento total de dicho material vegetal. Este

hecho pudiera hacer más evidente que la decocción con respecto a la infusión es el método más efectivo para la preparación de extractos para la especie.

Tabla III. Resultados de la determinación de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10 %

Metabolitos secundarios	Ensayos cualitativos	Evidencias			
		IDF	IDS	DDF	DDS
Alcaloides	Dragendorff	-	-	+	+
	Mayer	-	-	+++	++
	Wagner	-	-	+++	++
Quinonas	Borntrager	-	-	+	+
	Variante con Benceno	-	-	+	+
Cumarinas	Baljet	+	+	+	+
	Legal	+	-	+	-
Saponinas	Espuma	-	-	-	-
Poliurónidos	Poliurónidos	-	-	-	-
Mucílagos	Mucílagos	-	-	-	-
Azúcares reductores	Fehling	+	+	+	+
	Benedict	+	+	+	+
Fenoles y Taninos	Cloruro férrico	+	+	+	+
Flavonoides	Ácido sulfúrico concentrado	+	-	+	-
	Shinoda	+	+	+	+
	Álcalis	+	+	+	+
	Rosemheim	+	+	+	+
Principios amargos y astringentes	Sabor	-	-	+	+

Leyenda: IDF- infusión droga fresca; IDS- infusión droga seca, DDF- decocción droga fresca, DDS decocción droga seca.

Al analizar la composición química cualitativa de los extractos teniendo en cuenta el estado del material vegetal (fresco y seco) se puede plantear que el método de secado influye en la misma, pues existen ligeras diferencias entre los extractos obtenidos empleando material vegetal en ambos estados, para los métodos de extracción, correspondiendo la mayor cantidad de metabolitos detectados a los extractos obtenidos a partir de material vegetal fresco.

Estos resultados son indicativos que la mejor combinación método de extracción/estado del material vegetal, para la especie en estudio, resultó ser la decocción/material vegetal fresco, por los criterios antes expuestos.

III.2.2 Determinación de sólidos totales en los extractos acuosos al 10 %

Los sólidos totales representan la cantidad de sustancia extraída por el mensturo expresada en unidades de masa.⁴³ Esta característica lo hace de especial interés pues representa la capacidad del mensturo y del método de extracción para extraer los metabolitos presentes en una droga en estudio. Los resultados obtenidos de esta variable se observan en la tabla IV.

Tabla IV. Resultados del contenido de sólidos totales en los extractos acuosos al 10%

Partes de la planta	Sólidos totales (%)	
	Infusión M(±DS)	Decocción M(±DS)
Droga fresca	8,128 (± 2,0)	10,061 (± 0,08)
Droga seca	6,414 (± 1,0)	8,965 (± 0,45)

Leyenda: M: media; DS: desviación estándar

Como se puede apreciar el mayor por ciento de sólidos totales se obtiene por el método de decocción tanto para la droga fresca como seca, 10,0% (±0,08) y 8,9 % (±0,45) respectivamente, obteniéndose el mayor valor cuando se emplea la droga fresca. Esto pudiera estar asociado a las características propias del método de extracción explicadas anteriormente. Por otra parte, los valores superiores

obtenidos al emplear el material vegetal fresco indican que el método de secado influye en la composición química de la especie, denotado por los valores alcanzados en este parámetro, estando en correspondencia además con los resultados de la determinación de la composición química cualitativa.

Al parecer la influencia de las radiaciones ultravioletas emanadas de la luz solar es evidente y directa, pues se observa claramente las diferencias en cuanto a composición química cualitativa y cuantitativa (sólidos totales).

El análisis estadístico arrojó diferencias estadísticas entre las medias de las determinaciones, en cuanto a método de extracción y estado del material vegetal; con un p-valor menor que 0,05 con un nivel del 95,0 % de confianza (Anexo II: A, B, C y D), lo que se explica por las cuestiones antes planteadas.

Estos resultados no pueden ser comparados por no existir referencias de estudios relacionados para la especie.

III.3 Caracterización farmacognóstica de la especie

III.3.1 Comprobación de los requisitos macromorfológicos

En el control de calidad farmacognóstico de una planta completa o de sus órganos en forma de droga cruda, existen diferentes ensayos: organolépticos, botánicos, fisicoquímicos, farmacodinámicos y biológicos. En los ensayos botánicos se controlan las características morfológicas tanto macroscópicas y microscópicas, con el fin de identificar correctamente a las especies vegetales y poder detectar falsificaciones.⁸²

El análisis macromorfológico de la especie *Lawsonia inermis* L. mostró que la misma presenta tallos aéreos, ya que crecen en contacto con el aire, ricamente ramificados. Se consideran erguidos y se elevan de forma vertical en sentido opuesto a la raíz; en el cuerpo del tallo se observan nudos en los que se insertan las hojas, tronco pequeño de color marrón oscuro, que se presentan como tubos compuestos por la presencia de cortezas.

Las hojas son pequeñas, delgadas de color verdes oscuras, olor característico, lisas, cortamente pecioladas, opuestas según la disposición del tallo, con nervadura delicadamente pinnada, forma elíptica, que de acuerdo con el ápice y atendiendo a la base se consideran agudas y según al borde del limbo son enteras y simétricas. Las dimensiones de las hojas determinadas en este estudio fueron de $3,92 \pm 1,0290$ cm de longitud y $1,97 \pm 0,7381$ cm de ancho, y peciolo de $1,73 \pm 0,8000$ mm de longitud, valores estos que se encuentran en correspondencia con lo reportado por el eminente botánico cubano Dr. Juan Tomás Roig Mesa¹⁶ y por el Fitomed III⁵⁹ (1994), en los que se informa que las hojas de la resedá miden de 2 a 5 cm de largo y los peciolo de 1 a 2 mm de longitud.

En sentido general, las descripciones botánicas de los tallos y hojas de la especie *Lawsonia inermis* L realizadas en esta investigación coinciden con lo reportado en la literatura por los autores Muhammad, 2005²⁸; Jain²¹, 2010; Orwa⁸³, 2009; Gagandeep²⁰, 2010; Santosh⁸¹, 2013; Sharma⁴¹, 2016.

III.3.2 Determinación de hojas ennegrecidas

Las drogas vegetales deben presentar un conjunto de especificaciones que aseguren su calidad. Precisamente para prevenir algún resultado no deseado durante la investigación se procedió a la determinación de hojas ennegrecidas pues la confiabilidad del resultado final obtenido depende de la selección del material vegetal que se haya realizado,⁴³ obteniéndose un valor de un 1 %, resultado este que no puede ser comparado por no existir reportes de estudios previos que nos permitan comparar este parámetro.

III.3.3 Determinación de otras partes de la propia planta

Una vez recolectada la droga se procedió a realizar su selección, pues es fundamental tener bien clasificadas las muestras de estudio, teniendo en cuenta que en las mismas no estén incluidas otras partes de la planta ya que pueden interferir en el resultado final,⁴³ obteniéndose un valor de un 1 %, resultado este

que no puede ser comparado por no existir reportes de estudios previos que nos permitan comparar este parámetro.

III.3.4 Determinación de materia orgánica e inorgánica extraña

La determinación de materia orgánica e inorgánica extraña es de gran interés para detectar aquellas partes de la droga que no corresponden a las exigencias que señala la literatura en cuanto a la presencia de minerales como: tierra, piedras, arena y polvo, vidrio, metal y plástico o cualquier otro material extraño, además las drogas deben estar libres de microorganismos, insectos y cualquier otra contaminación animal, incluyendo excretas. Estos pueden estar sueltos o adheridos al material vegetal y deben ser eliminados antes de que este sea molinado para posteriores análisis.

Tabla V. Determinación de materia orgánica e inorgánica extraña

Partes de la planta	Materias presentes en las drogas (%)	
	Materia orgánica extraña	Materia inorgánica extraña
Tallos	0,0045	0
Hojas	0,0042	0,0082

Como se puede apreciar en la tabla V la materia orgánica e inorgánica extraña encontrada en las partes de la planta que se evaluaron (tallos y hojas), obtuvieron porcentos bajos, lo que demuestra que posterior al procesamiento se logró eliminar la mayor parte de estas materias.

Teniendo en cuenta que la colecta se realizó en una zona relativamente seca, alejada de la contaminación ambiental y de los efectos dañinos del hombre, es de esperar que no influyan durante el desarrollo de la planta los parámetros determinados y por lo tanto obtener valores adecuados para la calidad de la droga. No obstante estos resultados no pueden ser comparados por la no existencia de estudios farmacognósticos para la especie.

III.3.5 Determinación de cenizas totales y cenizas solubles en agua

Los valores de cenizas para la droga seca es un indicador de la calidad del material con que se trabaja y constituye una base para juzgar su pureza e identidad, brindando información relativa a la posible adulteración con materias inorgánicas o cuerpos extraños que posea o la cantidad de estos elementos en su contenido.^{43,44}

Los resultados de la determinación de cenizas totales y cenizas solubles en agua son mostrados en la tabla VI.

Tabla VI. Determinación de cenizas totales y cenizas solubles en agua

Partes de la planta	Determinación de cenizas (%)	
	Cenizas totales M(\pm DS)	Cenizas solubles en agua M(\pm DS)
Tallos	2,51 (\pm 0,20)	0,968 (\pm 0,039)
Hojas	4.34 (\pm 0,78)	2,003 (\pm 0,017)

Leyenda: M: media; DS: desviación estándar

Las cenizas totales usualmente consisten en carbonatos, fosfatos, silicatos y sílica.⁸⁴ Los resultados obtenidos de cenizas totales para los tallos resultó ser de 2,51 % (\pm 0,20) y 4,34 % (\pm 0,78) para las hojas; valores que se encuentran en el rango permisible reportado por la literatura (hasta un 5%),^{44,85,86} siendo inferiores a 14,60%, valor reportado por Jain²¹ en el 2010.

La determinación de cenizas solubles en agua constituye también otro parámetro de interés para evaluar la calidad y pureza del material vegetal que se analiza. Los resultados obtenidos para tallos y hojas fue de 0,968 % (\pm 0,039) y 2,003 % (\pm 0,017), respectivamente, están en correspondencia con lo reportado en la literatura, donde se admite hasta un 2%,⁴⁴ lo que es indicativo de la posible presencia de pequeñas cantidades de sílica, especialmente de arena o tierra silícea.⁴³

El análisis estadístico arrojó la existencia de diferencias significativas entre los órganos de la planta analizados, en ambas determinaciones de cenizas (Anexo III)

puesto que el p-valor es menor que 0,05 en ambos casos, con un nivel del 95,0 % de confianza. La superioridad de los valores observados en las cenizas totales para las hojas pudiera estar relacionado al hecho de que al ser el órgano vegetativo más importante donde se elaboran fundamentalmente las sustancias nutritivas de las plantas ⁴³, por tanto se van a encontrar sustancias y minerales ^{43,87} y más cuando se sabe que este parámetro está asociado a la presencia de material inorgánico (sales inorgánicas) que almacena la planta para su desarrollo metabólico.⁸⁸

Estos resultados pudieran ser atribuibles a diversos factores, entre los que se pueden citar: temperatura, humedad relativa, precipitaciones y a la época de recolección donde la disponibilidad de nutrientes absorbidos del suelo pueden provocar un efecto acumulativo de elementos de naturaleza inorgánica.⁸⁹ Sumado además a las características del suelo donde se recolectan las mismas y al poder acumulativo de elementos de naturaleza inorgánica, fundamentalmente, del órgano que se estudie.⁸⁶

III.3.6 Determinación de humedad residual

El exceso de agua en drogas vegetales es el responsable del crecimiento de bacterias y hongos y también de la hidrólisis de sus constituyentes. Las monografías de las farmacopeas limitan el contenido de agua, especialmente en las drogas que tienen la facilidad de absorberla, o en las drogas en las cuales el exceso de agua causa su deterioro.^{21,44}

El contenido de humedad residual fue determinado por el método gravimétrico, obteniendo como resultado 13,02% ($\pm 0,5105$) para los tallos y de 12,18 % ($\pm 0,1802$) para las hojas, valores que se ubican dentro de los límites establecidos por la Farmacopea Británica para drogas no oficiales (8 y 14 %), ^{90,91} resultando ser las hojas el órgano que exhibió valores inferiores con respecto a los tallos.

Esto está en correspondencia con las características propias de cada órgano, pues son los tallos los encargados de realizar la función de almacenamiento de sustancias

de reservas y agua en las plantas,⁴³ lo que implicaría que el acumulo de estos componentes podría conllevar a un mayor contenido de humedad en los mismos, a pesar del proceso de secado al que fueron sometidos ambos órganos.

Estos valores obtenidos pueden afirmar que el proceso de secado resultó útil en la reducción de la cantidad de agua tanto en los tallos como en las hojas, lo que ofrece garantías de estabilidad pues un exceso de agua en la droga puede ocasionar la proliferación de microorganismos e insectos, seguido de la hidrólisis de principios activos que puedan provocar su deterioro.⁴⁴

Al analizar el comportamiento de este parámetro entre órganos no denotó la existencia de diferencias estadísticamente significativas, dado por el p-valor obtenido, mayor que 0,05 (0,0690) con un nivel del 95,0 % de confianza según muestra el anexo IV.

III.3.7 Determinación de sustancias solubles

La determinación de sustancias extraíbles se realiza cuando no existen métodos para determinar los constituyentes activos de la droga por procesos químicos o fisicoquímicos. Generalmente se determina las sustancias extraíbles con agua, con etanol en varias diluciones y raramente con éter.⁸⁵ Estos valores van a indicar la cantidad de principios activos en una cantidad dada de droga extraída por cada uno de los solventes utilizados.

Este ensayo es uno de los índices numéricos más importantes para seleccionar los mejores disolventes a emplear en los posteriores procesos de extracción que se apliquen. Nótese en la tabla VII que los resultados obtenidos indican que el solvente de mayor capacidad extractiva resultó ser la solución hidroalcohólica al 70% para ambos órganos, siendo el agua el solvente de menor rendimiento para los tallos y el etanol al 95% para las hojas; resultados indicativos de las características estructurales de las sustancias extraídas, mostradas por su polaridad.

En la siguiente tabla se muestran los valores obtenidos para los diferentes solventes empleados.

Tabla VII. Resultados de la determinación de sustancias solubles

Órganos analizados	Sustancias solubles por solventes utilizados (%)		
	ETOH 95% M (±DS)	SH 70% M (±DS)	Agua M (±DS)
Tallos	15,275 (± 2,73896)	18,923 (±0,5190)	8,301 ± (0,4362)
Hojas	16,301 (±1,75211)	27,945±(1,3973)	23,781 ± (1,130)

Leyenda: ETOH: etanol; SH: solución hidroalcohólica; M: media; DS: desviación estándar

El análisis de varianza arrojó la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre solventes de extracción y órganos analizados (Anexo IV, A y B) para un valor de p menor que 0,05 en ambos casos, con un nivel del 95,0 % de confianza. Lo que estaría asociado, en primer lugar, a la relación estructura-solubilidad de los diferentes compuestos que pudieran estar presentes en cada extracto, que le permiten su afinidad por uno u otro solvente, y así ser extraído en el solvente apropiado, y en segundo lugar, por las diferencias (anatómicas y fisiológicas) propias de cada órgano analizado, que hacen que este factor tenga un efecto significativo en la determinación de sustancias extraíbles en cada solvente empleado, siendo las hojas el órgano que ofrece mayores valores. Pudiera valorarse la posibilidad de la influencia de otros factores como el grado de división de la droga ya que las hojas presentaron un menor tamaño de partícula con respecto a los tallos, lo que conlleva a una mayor superficie de contacto entre el solvente y las membranas del material vegetal favoreciendo de esta forma, según la ley de Fick, el proceso extractivo; otro factor a considerar sería la agitación del medio la cual presentó irregularidades durante el proceso de experimentación.^{43,45}

Considerando los resultados obtenidos en la determinación de sustancias extraíbles en agua, solución hidroalcohólica al 70 % y etanol al 95 %, se propone que el

solvente de elección a utilizar en la técnica de tamizaje fitoquímico sea la solución hidroalcohólica al 70%.

III.4 Determinación de la composición química cualitativa

La evaluación de la composición química cualitativa de las especies vegetales resulta de especial importancia, pues permite determinar aquellos metabolitos mayoritarios que potencialmente podrán participar en la actividad de la especie investigada y contribuir a verificar los usos que se les atribuyen desde antaño.

En las tablas VIII y IX se muestran los resultados de la composición química cualitativa de los extractos etéreos, alcohólicos al 95 %, hidroalcohólicos al 70 % y acuosos, obtenidos a partir de los tallos y hojas de la especie, respectivamente, los cuales nos van a permitir identificar la familia química de los compuestos presentes en los mismos, pudiendo ser los posibles responsables de las diferentes propiedades terapéuticas atribuidas a la especie.

Como se puede apreciar en la tabla VIII, los extractos obtenidos a partir de los tallos de resedá que mostraron mayor variedad de composición química cualitativa corresponden a los extractos alcohólico 95% y solución hidroalcohólica al 70%, evidenciando la presencia de los metabolitos: alcaloides, triterpenos y esteroides, cumarinas, flavonoides, azúcares reductores, fenoles y taninos, aminoácidos y aminas, principios amargos y astringentes. Las diferencias observadas en estos extractos radican en la ausencia de quinonas en el extracto alcohólico al 95%, donde además se acentúan las evidencias observadas en la determinación de alcaloides y cumarinas. Estos resultados se corresponden con los metabolitos secundarios reportados en la literatura^{20,68} para la planta en general, no existiendo referencia de estudios fitoquímicos para los tallos de la especie.

Tabla VIII. Resultados del tamizaje fitoquímico para los tallos de la especie

Metabolitos secundarios	Ensayos cualitativos	Evidencias			
		E. E	EA. 95%	EHA 70%	EAc
Alcaloides	Dragendorff	-	+++	++	-
	Mayer	-	+++	+	-
	Wagner	-	+++	++	-
Triterpenos y esteroides	Solkowski	+	+	+	n/r
	Lieberman–Burchard	+	+	+	n/r
	Rosemheim	-	-	-	n/r
Quinonas	Borntrager	-	-	+	-
	Variante con benceno	-	-	+	-
Cumarinas	Baljet	-	+++	++	++
	Legal	-	+	++	+
	Hidroxamato férrico.	-	+	+	-
Saponinas	Espuma	n/r	-	-	-
Poliurónidos	Poliurónidos	n/r	n/r	n/r	-
Resinas	Resinas	n/r	-	-	-
Mucílagos	Mucílagos	n/r	n/r	n/r	-
Aceites esenciales y sustancias grasas	Sudán III	-	-	-	-
	C/ papel blanco sin reactivo	-	-	-	-
Azúcares reductores	Fehling	n/r	+	+	+
	Benedict	n/r	+	+	+
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	n/r	+	+	+
	Gelatina	n/r	+	+	n/r
	Cafeína	n/r	+	+	n/r
Aminoácidos y aminas en general	Ninhidrina	n/r	+	+	-
Flavonoides	Ácido sulfúrico concentrado	+	+	+	+
	Shinoda	+	+	+	+
	Álcalis	+	+	+	+
	Rosemheim	+	+	+	-
Principios amargos y astringentes	Sabor	n/r	n/r	n/r	+

Leyenda: E.E: extracto etéreo; EA:Extracto alcohólico; EHA:Extracto hidroalcohólico; EAc: Extracto acuoso; (+):Evidencia positiva;(-):evidencia negativa; n/r: no realizado

En la tabla IX se muestran los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a las hojas de la especie.

Tabla IX. Resultados del tamizaje fitoquímico para las hojas de la especie

Metabolitos secundarios	Ensayos cualitativos	Evidencias			
		E.E	EA. 95%	EHA 70%	EAc
Alcaloides	Dragendorff	-	+++	++	+
	Mayer	-	+++	+	+
	Wagner	-	+++	++	+
Triterpenos esteroides y	Solkowski	+	+	+	n/r
	Lieberman-Burchard	+	+	+	n/r
	Rosemheim	-	+	+	n/r
Quinonas	Borntrager	-	+	+	+
	Variante con Benceno	-	+	+	+
Cumarinas	Baljet	-	++	++	++
	Legal	-	++	++	++
	Hidroxamato férrico.	-	+	+	+
Saponinas	Espuma	n/r	-	-	-
Poliurónidos	Poliurónidos	n/r	n/r	n/r	-
Resinas	Resinas	n/r	-	-	-
Mucílagos	Mucílagos	n/r	n/r	n/r	-
Aceites esenciales y sustancias grasas	Sudán III	-	-	-	-
	C/ papel blanco sin reactivo	-	-	-	-
Azúcares reductores	Fehling	n/r	+	+	+
	Benedict	n/r	+	+	+
Fenoles y taninos	Cloruro férrico	n/r	+	+	+
	Gelatina	n/r	+	+	n/r
	Cafeína	n/r	+	+	n/r
Aminoácidos y aminas en general	Ninhidrina	n/r	+	+	-
Flavonoides	Ácido sulfúrico concentrado	+	+	+	+
	Shinoda	+	+	+	+
	Álcalis	+	+	+	+
	Rosemheim	+	+	+	+
Principios amargos y astringentes	Sabor	n/r	-	-	+

Leyenda: E.E: extracto etéreo; EA:Extracto alcohólico; EHA:Extracto hidroalcohólico; EAc: Extracto acuoso; (+):Evidencia positiva;(-):evidencia negativa; n/r: no realizado

En las pruebas químicas cualitativas de las hojas de la especie *Lawsonia inermis* L. se evidenció la presencia de flavonoides en todos los extractos evaluados, mientras que los alcaloides, quinonas, cumarinas, azúcares reductores, fenoles y taninos resultaron positivos para los extractos acuoso, alcohólico 95% e hidroalcohólico 70%. Como se puede observar, en estos dos últimos extractos se logró extraer mayor variabilidad de metabolitos dentro de los que se encuentran los mencionados anteriormente, además de los triterpenos y esteroides, aminoácidos y aminos en general, principios amargos y astringentes, siendo el extracto alcohólico al 95% donde se acentúan las evidencias observadas en la determinación de alcaloides. Es válido señalar que el etanol es considerado un solvente universal de mediana polaridad y el más usado en las preparaciones de fitofármacos ya que es capaz de extraer gran cantidad de sustancias de polaridad intermedia presentes en las plantas, siendo evidente con los resultados obtenidos en este ensayo.⁹² Estos resultados se encuentran en correspondencia con los estudios fitoquímicos de las hojas de la especie *Lawsonia inermis* L. realizados por Jain, 2010 y Raja, 2013.^{21, 27}

Los alcaloides identificados en los extractos alcohólico al 95% y solución hidroalcohólica al 70%, en ambos órganos de la planta; son compuestos que presentan una gran variedad estructural y a su vez, una amplia gama de aplicaciones y actividades biológicas que justificarían las propiedades antioxidante, antiinflamatoria, antibacteriana, citotóxica, antitumoral, antiviral, analgésica e hipotensora reportadas para la especie.^{18,20,21,25, 43}

Por su parte los triterpenos y esteroides no identificados en el extracto acuoso, por ser metabolitos no extractables en este medio, debido a sus características estructurales, y sí en el resto de los extractos, serían los posibles responsables de las actividades analgésicas, antiinflamatorias, antitusivas y expectorantes, venotónicos y antihemorroidales, , entre otras.^{25, 27, 28, 29, 73}

Las quinonas son compuestos presentes en la naturaleza y su importancia se debe a su amplia gama de actividad biológica ya que se han utilizado como agentes

antimaláricos, antimicrobianos, antitumorales, anticancerígenos, entre otros, siendo estas actividades reportadas en la literatura especializada para la especie *Lawsonia inermis* L.⁹³ Dentro las quinonas se destacan las naftoquinonas que pueden ser empleadas en cosmética como colorantes naturales, como ocurre con la lawsona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) también con actividad fungicida, presente en las hojas de la especie que además de ser un importante fungicida, se fija a los grupos tiólicos de la queratina capilar proporcionándoles un color rojo-anaranjado al cabello.⁹⁴

Las cumarinas identificadas en ambos órganos y en la totalidad de los extractos, a excepción del etéreo, tienen estructuras muy variadas, por lo que sus propiedades farmacológicas abarcan una amplia gama terapéutica. Entre todas ellas, podemos destacar la acción sedante e hipnótica, anticoagulante, antihelmíntica, antibacteriana, antimicótica, antiinflamatoria, antiespasmódica, analgésica y vasodilatadora coronaria⁹⁵, ya reportadas para la especie *Lawsonia inermis* L.

En cuanto a la evidencia positiva y a la coloración verde intensa obtenida en los ensayos para la identificación de fenoles y taninos en los tallos y hojas de la especie, podemos decir que los mismos pertenecen al tipo pirocatecólicos. La presencia de los mismos en los extractos se encuentra relacionada con las propiedades cicatrizantes, antisépticas y antidiarreicas atribuidas a la planta.^{27,28}

En el caso particular de los flavonoides nótese que fueron identificados en todos los extractos usando los tallos y las hojas. Pudiéndose inferir, por las diferentes coloraciones observadas en los ensayos con ácido sulfúrico y Shinoda, que los flavonoides presentes corresponden al tipo de las flavonas y flavonoles⁴⁶. Arun, P. y colaboradores en el 2010⁹⁶, asocia las propiedades antimicrobianas, antioxidantes, citotóxicas, efectos antiproliferativos relacionados con la inhibición de la progresión del ciclo celular y la inducción de la apoptosis con la presencia de este tipo de metabolito.

La variación de la composición química observada puede estar asociada a la influencia de diversos factores, tales como: clima, cambios estacionales, condiciones externas como la luz, la humedad, el cambio climático el cual interviene drásticamente en la disponibilidad, la salinidad del agua y varias condiciones adversas del suelo que tienen una relación directa con los rendimientos originales de los metabolitos en las plantas.⁹⁷ ya que puede modificar la producción de metabolitos secundarios porque influye directamente sobre la expresión de genes responsables de la producción de los principios activos, pudiendo ser activados o desactivados de acuerdo con las condiciones climáticas.⁸⁴ Alguno de estos factores pudieran influir en la producción de los metabolitos secundarios presentes en la especie estudiada.

De forma general estos resultados se encuentran en correspondencia con lo reportado en la literatura para la especie donde se demuestra que los metabolitos mayoritarios son los alcaloides, cumarinas, aminoácidos, flavonoides y taninos²⁸ aunque existen otras bibliografías que reportan la presencia de, saponinas y mucílagos.²⁰

Estos resultados constituyen un punto de partida para futuras investigaciones de la especie, sentando las bases para la continuidad de estudios farmacognósticos, toxicológicos y farmacológicos.



Conclusiones

CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron cuatro extractos acuosos al 10% por métodos tradicionales (infusión y decocción), los cuales:
 - Mostraron una coloración amarilla a excepción de la infusión usando la droga seca que resultó ser roja; olor característico, sabor ligeramente amargo y astringente para las infusiones siendo más amargas las decocciones; todos los extractos resultaron ser transparentes y homogéneos.
 - La composición química cualitativa arrojó la presencia de alcaloides, quinonas, cumarinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, flavonoides, principios amargos y astringentes.
 - El extracto obtenido por decocción a partir del material vegetal fresco mostró un mayor porcentaje de sólidos totales correspondiéndose a 10.061% (± 0.08).
2. Se logró caracterizar farmacognósticamente los tallos y las hojas de la especie vegetal *Lawsonia inermis L.*, a partir del análisis macromorfológico de tallos y hojas; la determinación de hojas ennegrecidas y la determinación de otras partes de la propia planta fue de un 1%; la determinación de materias orgánicas resultó ser de 0,0045% para tallos y 0,0042% para hojas, y para las materias inorgánicas 0% para tallos y de 0,0082% para hojas; la determinación de sustancias solubles evidenció como mejor solvente la solución hidroalcohólica al 70%; las hojas mostraron un mayor valor de cenizas totales 4,34% ($\pm 0,78$) y de cenizas solubles en agua 2,003% ($\pm 0,017$); los valores de humedad residual resultaron 13,02% ($\pm 0,51$) para tallos y de 12,18% ($\pm 0,18$) para hojas. Se identificó para ambos órganos, la presencia de alcaloides, flavonoides, quinonas, cumarinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, aminoácidos y aminas en general, triterpenos y esteroides, principios amargos y astringentes.



Recomendaciones

RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio de secado para establecer el método y los límites permisibles para la especie *Lawsonia inermis* L. teniendo en cuenta que la misma es una droga no oficial.
- Determinar la composición química cuantitativa de la especie *Lawsonia inermis* L.
- Realizar una caracterización farmacognóstica a las flores de la especie *Lawsonia inermis* L.



Referencias

Bibliográficas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cruz EM. Estudio etnofarmacológico de plantas medicinales utilizadas para afecciones del sistema digestivo en la comunidad de Salgacero, Jesús Menéndez, Las Tunas. [Tesis en opción al título de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas]. Departamento de Farmacia, Facultad Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. 2016.
2. Bosch F. La medicina tradicional y natural en Cuba. RESUMED. 1999; 12(1):3-6.
3. Naseem T, Muhamad AF. Antibacterial Activity of green synthesis of iron nanoparticles using *Lawsonia inermis* and *Gardenia jasminoides* leaves extract. Journ of Chemis. 2019: 1-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/912342> [Acceso: 4 Feb. 2019]
4. Sosa GR. El poder medicinal de las plantas. 4ta Ed. Asociación Publicadora Interamericana. España. 1997. p.5. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/272137719/>.pdf [Acceso: 4 Feb. 2019]
5. Hernández F. Cuatro libros de la naturaleza y virtudes medicinales de las plantas y animales de la nueva España. Universidad Autóctona de Nuevo León. Disponible en: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/la/1080019528/1080019528.pdf> [Acceso: 4 Feb. 2019]
6. Victoria JI, Delgado VA, Pilcue WA, Valencia GC. El mundo indígena como clave de lectura. Plumilla Educativa. 2016; 18 (2): 146-162.
7. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac med. 2016; 77(4): 327-332.
8. Cortez GV, Macedo CJ, Hernández AM, Arteaga AG, Espinosa GD, Rodríguez LJ. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. Revista Biomédica. 2004; 15(2): 123-136.
9. Organización Mundial de la Salud. Estrategias de la OMS sobre la Medicina Tradicional 2002-2005. OMS. Ginebra, Suiza. 2002; 1:1-2. Disponible en:

https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67314/WHO_EDM_TRM_2002.1 [Acceso 4 feb. 2019]

10. Pérez MM, Sueiro OM, Boffill CM, Morón RF, Marrero FE, Rodríguez RM, et al. Estudio etnobotánico de las plantas más utilizadas como diuréticas en la provincia de Villa Clara, Cuba. BLACPMA. 2011; 10(1):46-55.
11. Beyra AM. León E. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). Anales del Jardín Botánico de Madrid. 2004; 61(2):185-203.
12. Manco DC, Martínez MJ, Duarte BA. Memoria cultural etnobotánica en la vereda El Hatillo, cabecera municipal El Paso, Departamento del Cesar-Colombia. Resp. 2015; 20(2): 73-81.
13. González GPA, Suárez TS, Hechavarria SL, Oviedo R. Plantas exóticas invasoras o potencialmente invasoras que crecen en ecosistemas naturales y semi-naturales de la provincia Holguín, región nororiental de Cuba. Botánica Complutensis. 2009; 33(103): 89.
14. Pimentel PO. Estudio Etnobotánico de las plantas medicinales en el Valle de San Andrés. Pinar del Río Cuba. 2002. Disponible en: http://www.monografias.com/trabajos71/estudio-etnobotanicoplantasmedicinales/e_studio-etnobotanico-plantas-medicinales.shtml. [Acceso 12 feb. 2019]
15. Izaguirre H Y. Caracterización etnobotánica de la *Lawsonia inermis* L. en el Consejo Popular "Distrito José Martí Norte" del municipio Santiago de Cuba. [Tesis en opción al título de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas]. Departamento de Farmacia, Facultad Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. 2017
16. Roig MJT. Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba. Editorial Científico-Técnica. La Habana. 2012. pp: 818-819.
17. Almeida P. Sensibilización a para-fenilendiamina por tatuajes temporales: estudio clínico y analítico en el área sur de Gran Canaria. [Tesis doctoral].

- Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas, Facultad de Ciencias de la salud, Universidad de las Palmas de Gran Canaria. 2010. pp: 60-62
18. Kamal M, Jawaid T. Pharmacological activities of *Lawsonia inermis* Linn: a review. IJBR. 2010; 1(2): 62-68.
 19. Lyon M, Shaw JC, Linder JL. Allergic contact dermatitis reaction to henna. Archives of dermatology. 2000; 136(1):124-125.
 20. Gagandeep C, Sandeep P, Priyanka P. *Lawsonia inermis* Linnaeus: a phytopharmacological review. Int J Pharm Sci Drug Res. 2010; 2(2): 91-98.
 21. Jain VC, Shah DP, Sonani NG, Dhakara S, Patel NM. Pharmacognostical and preliminary phytochemical investigation of *Lawsonia inermis* L. leaf. Rom. J. Biol. - Plant Biol. 2010; 55 (2): 127-133.
 22. González F, Bravo DL. Historia y actualidad de productos para la piel, cosméticos y fragancias_ Especialmente los derivados de las plantas. Ars Pharmaceutica. 2017; 58(1): 5-12.
 23. Cartwright C. Henna para Cabelo "How-To". 2006. Disponible en: <http://www.hennaforhair.com/freebooks/hennaforhairPortuguese.pdf> [Acceso 21 ene. 2019].
 24. Badri B, Burkinshaw SM. Dyeing of wool and nylon 6.6 with henna and lawsone. Dyes and pigments. 1993; 22(1):15-25.
 25. Dawood AK, Hassan F, Ullah H, Karim S, Baseer A, Ali M, et al. Antibacterial activity of *Phyllanthus emblica*, *Coriandrum sativum*, *Culinaris medic*, *Lawsonia alba* and *Cucumis sativus*. Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research. 2013; 70 (5): 855-859.
 26. Hanke ME. The Biochemistry and Physiology of Henna (*Lawsonia alba*): its use as a remedy for intestinal amoebiasis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 1961; 55(1): 56-62.
 27. Raja W, Ovais M, Dubey A. Phytochemical screening and antibacterial activity of *Lawsonia inermis* L. leaf extract. Medicine. 2013; 6(1):8.

28. Muhammad HS, Muhammad S. The use of *Lawsonia inermis* Linn. (henna) in the management of burn wound infections. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4(9): 934-937.
29. Kadhem MA. Anti-arthritic activity of ethanolic extract of *Lawsonia Inermis* in Freund adjuvant induced arthritic rats. *IOSR-JAVS*. 2016; 9(6): 1-6.
30. Hernández CJ, Volpato G. Herbal mixtures in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology*. 2004; 90: 293–316.
31. Nápoles GI, Urdaneta LI, Padró RL. Estudio etnofarmacológico de plantas medicinales con efectos sedantes en una comunidad del municipio Songo-La Maya. [Tesis en opción al título de Licenciatura en Ciencias Farmacéuticas]. Departamento de Farmacia, Facultad Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente. Santiago de Cuba. 2016.
32. Fretes F. Plantas medicinales y aromáticas. Una alternativa de producción comercial. Unidad de Comunicaciones del Programa Paraguay. 2010. Disponible en:https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf. [Acceso 12 feb. 2019]
33. Pargas F. Enfermería en la medicina tradicional y natural. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2005. pp: 1-51. [Acceso: 16 ene. 2019]
34. Jaramillo A. La Medicina del Siglo XXI, Curaciones naturales. Santa Fe de Bogotá. Círculo de Lectores S.A. 1995; 2: 12.
35. Large RJ. Medicina Natural. Las Plantas Medicinales. Madrid: Edisan S.A. 1987; 4. pp: 6- 13.
36. Mora SL, Falquez ZF. Establecimiento de una colección de especies medicinales tropicales en la zona de Quevedo. Editorial Quevedo: UTEQ. 2005; 131. p: 13-15.
37. Suazo RL. Factores del uso de plantas medicinales como tratamiento de enfermedades respiratoria agudas en pobladores del consejo 4, barrio Sutiava, León-Nicaragua. 2016. Disponible en: <http://repositorio.cnu.edu.ni/Record/RepoUNANL6525> [Acceso 12 de abr 2019].

38. Fresno ÁV. Nacimiento, desarrollo y futuro de una nueva ciencia farmacológica: la farmacognosia. Portal Real Academia Nacional de Farmacia. *Discursos*. 1999. Disponible en: <http://www.analesranf.com/index.php/discurso/article/view/776/742>. [Acceso 27 de ene 2019].
39. Santos ML, Perdomo DJ, González PEV. Comportamiento de las reacciones adversas reportadas por productos naturales. *Rev méd electrón*. 2009; 31(6): 22-25. Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202009/vol6%202009/tema1.htm> [Acceso may. 2019].
40. Tres JC. Interacción entre fármacos y plantas medicinales. *An. Sist. Sanit. Navar*. 2006; 29 (2): 233-252. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/asisna/v29n2/revision3.pdf> [Acceso: 3 may. 2019]
41. Chanda S. Importance of pharmacognostic study of medicinal plants: An overview. *J Pharmacogn Phytochem*. 2014; 2 (5): 69-73.
42. Pérez INM. Control de calidad de drogas vegetales. Venezuela. 2014. Disponible en: <http://saber.ucv.ve/bitstream/123456789/7964/1/%204.%20CONTROL%20DE%20CALIDAD%20DROGAS%20VEGETALES%202013-2014.pdf>. [Acceso: 3 abr. 2019]
43. Cuellar MM, Cuellar AC. Farmacognosia y química de productos naturales. Editorial Félix Varela. La Habana 2001. p. 135-146, 186, 251, 276, 291, 293, 295, 306, 316, 357.
44. Claus EP, Tyler VE. Farmacognosia. Ed. Revolucionaria. Cuba. 1989. p: 3-64
45. Sharapin N. Fundamentos de Tecnología Farmacéutica de productos fitoterapéuticos. Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de productos fitofarmacéuticos del subprograma X del CYTED; Colombia. 2000. pp: 147-150.

46. Ochoa PA, López GT, Colombat RM. Folleto para las actividades prácticas de las asignaturas Farmacognosia y Química de los Productos Naturales. Monografía. 2002. pp: 15-30.
47. Ringuelet J, Viña S. Productos Naturales Vegetales. 1ª edición. Editorial de la Universidad de La Plata. Argentina, 2013. pp: 8-16.
48. Barcellos MF, Dos Santos RI, Oliveira CMS. Introdução a Análise Fitoquímica. En: Oliveira CMS. Farmacognosia: da planta ao medicamento. Editora da Universidade Federal De Santa Catarina. Porto Alegre. Brasil. 2007. pp: 229-244.
49. Carvajal RL, Hata UY, Sierra MN, Rueda ND. Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas. Revista Colombia Forestal. 2009; 12: 161-170.
50. Sampietro AR, Isla M, Quiroga EM, Vaituone MA. Importancia del estudio fitoquímico en la formación del profesional farmacéutico. Acta Farm. Bonarense. 1997; 16: 245.
51. Cordero MY, Arcia CRC, Cordero MEM, Martín VL. Uso y efectividad de los fitofarmacos. Policlínico Hermanos Cruz. Pinar del Río. 2004. Rev. Ciencias Médicas. 2005; 9(2): 1-8.
52. Mata BRD. Screening fitoquímico y evaluación de la actividad antimicrobiana de: *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Justicia pectoralis* Jacq. y *Scoparia dulcis* L. FIGEMPA: Investigación y Desarrollo. 2017; 1 (1): 68-78.
53. Brewster R, Vanderwerf C, Mcfven W. Curso Práctico de Química Orgánica. Editorial Pueblo y Educación ICL. Cuba. 1975. Pp 29, 42
54. Sánchez CJ. Plantas ornamentales de los jardines de Murcia. Lythraceae. 2012. Disponible en [https:// www. Árboles ornamentales. es/FLORA%20ORNAMENTAL% 20DE%20MURCIA.%20FAMILIA%20LYTHRACEAE.pdf](https://www.Árboles ornamentales.es/FLORA%20ORNAMENTAL%20DE%20MURCIA.%20FAMILIA%20LYTHRACEAE.pdf). [Acceso 3 abr. 2019]
55. Novara L, Gómez SE. Lythraceae. Aportes Botánicos de Salta-Serie Flora. 1994; 2(23): 1-23.
56. Zumrutdal E, Ozaslan MA. Miracle plant for the herbal pharmacy; Henna (*Lawsonia inermis*). IJP. 2012; 8 (6): 483-489.

57. González J. Lythraceae. Flora digital de la selva. Organización para Estudios Tropicales. 2009.
[Disponible en: <https://sura.ots.ac.cr/local/florula4/families/LYTHRACEAE.pdf>
[Acceso: 3 abr. 2019]
58. Usuf MA. Review on Phytochemistry, Pharmacological and Coloring Potential of *Lawsonia inermis*. *Handbook of Renewable Materials for Coloration and Finishing*. 2018:169-188.
59. Colectivo de autores. Plantas medicinales. Fitomed III. Editorial Ciencias Médicas. Ciudad de la Habana, 1994. p: 48.
60. Mir T. *Lawsonia inermis* markedly improves cognitive functions in animal models and modulate oxidative stress markers in the brain. *Medicina*. 2019; 55(5): 192.
61. Guía de Consultas Botánica II. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE) ROSIDAE-Myrtales-Lythraceae. 2002. p: 348. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/carreras/docs/8-%20Rosideas.pdf> [Acceso 22 de may 2019]
62. Goyal L, Deepika A. Investigations into endophytes in *Pimenta dioica* L Merr. 2019; 1(21): 35-44.
63. Dawood AK, Hassan F, Ullah H, Karim S, Baseer A, Ali M, et al. Antibacterial Activity of *Phyllanthus emblica*, *Coriandrum sativum*, *Culinaris medic*, *Lawsonia alba* and *Cucumis sativus*. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. 2013; 70 (5): 855-859.
64. Pasandi P, Farahbakhsh AH. *Lawsonia inermis* L. leaves aqueous extract as a natural antioxidant and antibacterial product. *Natural product research*. 2019; 1: 1-5. Disponible en : <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1569006>. [Acceso 22 de may 2019]
65. Chhipa A S, Sisodia SS. Indian medicinal plants with antidiabetic potential. *JDDT*. 2019; 9(1): 257-265.
66. Othman L, Sleiman A, Massih RM. Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle Eastern Plants. *Frontiers in Microbiology*. 2019; 10: 911.

67. Pérez FA, Rodríguez FA, Douglas S, Bussmann R, Guerrero G, Willner K, et al. Estudio fitoquímico y antibacteriano de mezclas de plantas medicinales en búsqueda de nuevos componentes. UPAO. 2012; 23(2): 337-343.
68. Nigha M, Hammad ZM, Ghaffar A. Complete Prospective of *Lawsonia inermis* Linn- Review. IJIR. 2016; 2 (2): 190-197.
69. Siddiqui B, Nadeem M, Kardar N. Triterpenoids from *Lawsonia alba*. Phytochemistry. 2001; (58): 1195-1198.
70. Gunjan G, Rajkumar V, Ashok RK and Lazar M. Antioxidant activity of *Lawsonia inermis* extracts inhibits chromium (VI)-induced cellular and DNA toxicity. Evid Based Complement Alternat Med. 2011; (6): 9 pages. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/40686195_Antioxidant_Activity_of_Lawsonia_inermis_Extracts_Inhibits_ChromiumVIIInduced_Cellular_and_DNA_Toxicity. [Acceso: 4 Feb. 2019]
71. Uddin N. Bioassay-guided isolation of urease and α -chymotrypsin inhibitory constituents from the stems of *Lawsonia alba* Lam. (Henna). Fitoterapia. 2013; 84: 202–207.
72. Manpreet K, Dangi C BS, Singhai A, Singh M, Kosta1 S, Singh H, et al. Toxicity profile of ethanolic extract of *Lawsonia inermis* leaves in albino wistar rats. 2014; 3(5): 835-848. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/262070742_Toxicity_profile_of_ethanolic_extract_of_Lawsonia_inermis_leaves_in_albino_wistar_rats
73. Daemi A, Farahpour M R, Oryan A, et al. Topical administration of hydroethanolic extract of *Lawsonia inermis* (henna) accelerates excisional wound healing process by reducing tissue inflammation and amplifying glucose uptake. *The Kaohsiung journal of medical sciences*. 2019; 35(1): 24-32.
74. Labed A, Moumami N, Aoues K and Benchabane A. Solar drying of henna (*Lawsonia inermis*) using different models of solar flat plate collectors: An experimental investigation in the region of Biskra (Algeria). *Journal of Cleaner Production*. 2016; 112: 2545-2552.

75. Kalakotla S, Jayarambabu N, Krishna, Rabiatal B. A novel pharmacological approach of herbal mediated cerium oxide and silver nanoparticles with improved biomedical activity in comparison with *Lawsonia inermis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2019; 174: 199–206.
76. PNO. Manipulación y limpieza. Molino de cuchilla KM-700. Laboratorio MEDICUBA-SUIZA.
77. Manuel M, Schotborgh SZ. Intoxicación herbácea en niños, aspectos básicos. *Revista venezolana de salud pública*. 2013; 1(2): 61-68.
78. Ministerio de Salud Pública (MINSAP). Norma Ramal de Salud Pública 312 (NRSP 312). Extractos Fluidos y Tinturas. Métodos De Ensayos; 1992: 16-20.
79. Ministerio de Salud Pública (MINSAP). Norma Ramal de Salud Pública 309 (NRSP 309). Medicamentos de origen vegetal. Droga cruda. Métodos de ensayo; 1992: 16-20.
80. Rodríguez CA, Carballo GC., Hechevarría SI, Acosta L. Ahorro de energía en el secado de plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2005; 10(1), 1-5.
81. Santosh Y, Kumar A, Jytsna D, Ashok K. Essential Perspectives of *Lawsonia inermis*. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*. 2013; 2(2): 888-892.
82. Sánchez L. Estudio macromorfológico y micromorfológico de plantas del género *passiflora* de la provincia de Chimborazo (Ecuador). *Perfiles*. 2017; 17 (1): 32-40.
83. Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. World Agroforestry Centre, Kenya. 2009. Disponible en: http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Lawsonia_inermis.PDF. [Acceso: 3 may. 2019]
84. Osorio D EJ. Aspectos básicos de Farmacognosia. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. 2014. pp: 12-25. Disponible en:

- https://www.academia.edu/28706443/UNIVERSIDAD_DE_ANTIOQUIA_ASPECTOS_B%81SICOS_DE_FARMACOGNOSIA [Acceso: 3 may. 2019]
85. Zhi-cen. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias and proposals on their international unification. 1980. WHO/PHARM/80.502. 8-39.
86. World Health Organization (WHO). Quality control methods for medicinal plant materials. Ed ilustrada. Ginebra: World Health Organization; 1998. Disponible en: <https://apps.who.int/medicinedocs/documents/h1791e/h1791e.pdf> [Acceso: 3 may. 2019]
87. Funciones del Tallo en la planta. Disponible en <https://www.lifeder.com/funciones-tallo-planta/> [Acceso: 3 may. 2019]
88. Peña E, Saralegui H. Técnicas de Anatomía vegetal. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, 1982. p.100.
89. Lou Z. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopoeias and proposals on their international unification. 1980. WHO/PHARM/80.502. 8-39.
90. British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia, 1ra Ed. England. Appendix IX. 2000. p: 321.
91. Dhimi, N. Trends in Pharmacognosy: A modern science of natural medicines. Journal of Herbal Medicine. 2013; 3: 123-131.
92. Núñez CE. Comentarios sobre solventes y solubilidades de sustancias orgánicas. 2008. Disponible en: <http://www.cenunez.com.ar/archivos/51-Comentariosobresolventesy solubilidades.pdf> [Acceso: 3 may.. 2019]
93. Leyva E, Loredó-Carrillo SE, López LI, Escobedo-Avellaneda EG y Navarro-Tovar G. Importancia química y biológica de naftoquinonas. Revisión bibliográfica. AFINIDAD LXXIV. 2017; 577: 36-50.
94. Leyva - E Compuestos fenólicos: quinonas 2017 .Disponible en: [https://botplusweb.portalafarma.com/documentos/panorama%20documentos%](https://botplusweb.portalafarma.com/documentos/panorama%20documentos%20de%20quinonas.pdf)

20multimedia/PAM236%20PLANTAS%20MEDICINALES%20CON%20QUINONAS.PDF. [Acceso: 3 may. 2019]

95. Ramakrishna A, Gokare A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior* 2011; 6:11, 1720-1731.
96. Palacios P MI. Texto digital de Farmacognosia y Fitoquímica. Facultad de Ciencias de la salud Universidad Católica “Los Ángeles de Chimbote”. 2013. Disponible en: http://files.uladech.edu.pe/docente/32924394/Farmacognosia_y_Fitoquimica/Sesion_10/TEMA_10.pdf. [Acceso: 4 may. 2019]
97. Arun P. In vitro antibacterial activity and flavonoid contents of *Lawsonia inermis* (Henna). *International Journal of PharmTech Research*.2010; 2(2):1178-1181.



Anexos

ANEXOS

Anexo I. Identificación taxonómica de la especie *Lawsonia inermis* L.

 BIOECO CENTRO ORIENTAL DE ECOSISTEMAS Y BIODIVERSIDAD	HERBARIO BSC CENTRO ORIENTAL DE ECOSISTEMAS Y BIODIVERSIDAD	No. <input type="text"/>
Nombre Científico	<i>Lawsonia inermis</i> L.	Familia <i>Lythraceae</i>
Nombre Común	Reseda	
Localidad	San Germán	
Provincia	Halgüen	Fecha 16-10-2018
Colector	Jilmar Belancort	Congora
Formación vegetal		
Hábito		
Sustrato		
Fenología		
Observaciones		

 **DIRECCIÓN**
CENTRO ORIENTAL DE ECOSISTEMAS Y BIODIVERSIDAD
Ing. Valer Bosta Castillo

Anexo II. Resultados del análisis estadístico realizado a los extractos acuosos 10%

A. Droga Fresca. Infusión vs Decocción

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5,17267	1	5,17267	605,22	0,0000
Intra grupos	0,0341873	4	0,00854683		
Total (Corr.)	5,20686	5			

B. Droga Seca. Infusión vs Decocción (anexo 1)

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	9,48784	1	9,48784	208,33	0,0001
Intra grupos	0,182165	4	0,0455413		
Total (Corr.)	9,67	5			

C. Método de extracción Infusión: Droga seca vs droga fresca

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2,86212	1	2,86212	75,03	0,0010
Intra grupos	0,152595	4	0,0381488		
Total (Corr.)	3,01472	5			

D. Método de extracción Decocción: droga seca vs droga fresca

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,784817	1	0,784817	49,24	0,0022
Intra grupos	0,0637573	4	0,0159393		
Total (Corr.)	0,848574	5			

Anexo III. Resultados del análisis estadístico de la determinación de cenizas totales y solubles en agua

A. Cenizas Totales: Hojas vs tallos

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5,0784	1	5,0784	20,97	0,0102
Intra grupos	0,968737	4	0,242184		
Total (Corr.)	6,04714	5			

B. Cenizas solubles en agua: Tallos vs Hojas

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,60787	1	1,60787	1788,18	0,0000
Intra grupos	0,00359667	4	0,000899167		
Total (Corr.)	1,61147	5			

Anexo IV. Resultados del análisis estadístico de la determinación de humedad residual

Humedad residual: Hojas y tallos.

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,0584	1	1,0584	6,10	0,0690
Intra grupos	0,694	4	0,1735		
Total (Corr.)	1,7524	5			

Anexo V. Resultados del análisis estadístico de sustancias solubles

A. Sustancias solubles: Hojas

Tabla ANOVA

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	208,859	2	104,43	49,72	0,0002
Intra grupos	12,6009	6	2,10015		
Total (Corr.)	221,46	8			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
alcohol 95%	3	16,3013	X
agua	3	23,781	X
alcohol 70 %	3	27,945	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
agua - alcohol 70 %	*	-4,164	2,89534
agua - alcohol 95 %	*	7,47967	2,89534
alcohol 70% - alcohol 95 %	*	11,6437	2,89534

* indica una diferencia significativa.

B. Sustancias solubles: Tallos**Tabla ANOVA**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	174,767	2	87,3835	32,93	0,0006
Intra grupos	15,9233	6	2,65388		
Total (Corr.)	190,69	8			

Pruebas de Múltiple Rangos

Método: 95,0 porcentaje LSD

	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
agua	3	8,30133	X
alcohol 95 %	3	15,2747	X
alcohol 70 %	3	18,9233	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
alcohol 70% - alcohol 95%	*	3,64867	3,25473
alcohol 70% - agua	*	10,622	3,25473
alcohol 95% - agua	*	6,97333	3,25473

* indica una diferencia significativa.

Anexo VI. Ficha de datos de seguridad. Ácido sulfúrico.

1. **Nombre del producto indicado en la etiqueta:** Ácido sulfúrico concentrado.
2. **Identificación de peligros:** Provoca graves quemaduras en la piel (hasta destrucción del tejido corporal) y lesiones oculares. Puede descomponerse a altas temperaturas formando gases tóxicos como el dióxido de azufre. No es inflamable pero reacciona violentamente con el agua generando calor y serias salpicaduras.
3. **Composición, Información sobre ingredientes (incluir número CAS, Chemical Abstract Service):** Identidad química de la sustancia: Ácido sulfúrico. Nombres comunes: ácido de batería, ácido de cámara, ácido fertilizante. Número CAS: 7664-93-9. Otros componentes: no contiene.
4. **Medidas de primeros auxilios:** Contacto con la piel: Retirar las ropas contaminadas inmediatamente. Lavar las partes afectadas del cuerpo con abundante agua durante 15 minutos. Contacto con los ojos: Lavar con agua, inmediatamente durante 15 minutos, levantando ocasionalmente los párpados. Ingestión: Si la víctima está consciente, administrar grandes cantidades de agua inmediatamente. No intentar hacer vomitar a la víctima. Trasladar inmediatamente el paciente al hospital. Inhalación: Llevar al accidentado al aire fresco, mantener abrigado y aplicar respiración artificial si fuera necesario. La administración boca a boca puede exponer al administrador. Transportar a la víctima al hospital inmediatamente. Otros consejos médicos: después de la exposición, el paciente se mantendrá bajo vigilancia médica durante al menos 48 hs, como prevención a un posible desarrollo de edema pulmonar.
5. **Medidas contra incendios:** Medios de extinción apropiados: Para fuegos pequeños: usar extintores de polvo. Tener en cuenta que el ácido reacciona con el agua produciendo desprendimiento de calor. En caso de fuegos mayores: usar agua para refrigerar los recipientes, asegurándose que no entre en contacto con el producto. Protección a bomberos: usar equipos de respiración autónoma y ropa de protección total. Sustancias liberadas por el calor o descomposición: óxidos de azufre e hidrogeno.
6. **Medidas en caso de vertido accidental:** Ponerse el equipo de protección antes de entrar en el área de peligro. Ventilar la zona de derrame o fuga. Use equipo antiácido, mascara completa o pantalla facial, guantes antiácidos, botas de PVC, por dentro del equipo. Proceder con precaución. Restringir el acceso al área. Mantener el personal sin protección en posición contraria a la dirección del viento en el área de derrame. Evitar el contacto con el producto derramado. Tomar precauciones para evitar la contaminación de los cursos de agua y drenajes. Para mitigar sus efectos se puede neutralizar, con carbonato de calcio, carbonato de sodio, calizas o dolomita.
7. **Almacenamiento y manipulación:** Proporcionar una ventilación adecuada. Utilizar protección de ojos y manos cuando se manejen pequeñas

cantidades. Usar equipo de protección total cuando exista riesgo de salpicaduras o derrames. Cuando se diluye, adicionar siempre el ácido sobre el agua y nunca el agua sobre el ácido. Se almacena en recipientes y tanques de hierro, acero inoxidable o bidones de plástico apropiados. Es conveniente ubicarlos en locales bien ventilados y al abrigo de la luz del sol.

8. **Controles de exposición/protección personal:** Ventilación local asistida. Instalar equipos lava-ojos y duchas de seguridad en cualquier lugar en donde se pueda producir contacto con los ojos y la piel. Protección para ojos y cara: usar pantalla de protección facial. Protección de la piel: usar equipo antiácido o delantal de PVC, guantes antiácidos, botas de PVC, pantalón por fuera de las botas. Protección respiratoria: en caso de presencia de niebla ácida se debe usar máscara con cartuchos para gases ácidos.

9. **Propiedades físicas y químicas:**

Aspecto: líquido incoloro a amarillo, viscoso.

Olor: sin olor cuando está frío, si se calienta se desprenden vapores de SO₃

Umbral Olfativo: Para niebla de SO₃ < 1mg/m³

PH (sin diluir): < 0.1

Punto de fusión y/o congelamiento: 3º C

Punto de ebullición: entre 310 y 335 ºC

Presión de vapor: < 0,001 mm Hg a 20 ºC; 1 mm Hg a 146 ºC

Densidad de vapor (aire=1): 3,4

Densidad relativa: 1.84 g/ml

Solubilidad: completamente soluble.

10. **Estabilidad y reactividad:** Es extremadamente reactivo con metales, álcalis y muchos productos químicos orgánicos e inorgánicos. La dilución con agua genera calor excesivo y pueden ocurrir salpicaduras o ebullición. Este producto es muy estable bajo condiciones normales de almacenamiento, manipulación y uso. Por contacto con cianuros, sulfuros y carburos se pueden desprender gases peligrosos como cianuro de hidrógeno, sulfuro de hidrógeno y acetileno. El contacto con materia orgánica combustible puede causar fuego o explosión. Deben evitarse las altas temperaturas.
11. **Información toxicológica:** Contacto con la piel: Provoca quemaduras graves profundas y dolorosas. Las quemaduras extensas pueden tener como resultado el shock y muerte. Contacto con los ojos: Provoca quemaduras graves profundas y dolorosas. Ingestión: Puede tener como resultado quemaduras graves en boca, garganta, perforación del esófago, estómago, manchas y erosión de dientes, náuseas y vómitos de sangre y tejidos erosionados, y hasta la muerte. No inducir el vómito. Inhalación: La niebla ácida puede causar irritación de vías respiratorias. Altas concentraciones pueden causar estornudo, tos, dificultad para respirar y edemas de vías respiratorias, con graves consecuencias.

12. **Información ecológica:** Efecto perjudicial en organismos acuáticos. Efecto perjudicial por desviación del pH. Corrosivo incluso en forma diluida. No produce consumo biológico de oxígeno. Existe peligro para el agua potable en caso de penetración en suelos y/o acuíferos.
13. **Consideraciones de Disposición Final:** Recuperar todo el ácido posible mediante bombeo para reprocesarlo. No lavar hacia drenajes ni permitir que se alcance cursos naturales de agua. Los desechos de neutralización se dispondrán de acuerdo con los requerimientos regulatorios. Si se neutraliza con piedra caliza o dolomita o ceniza de soda (carbonato de sodio) se requerirá de buena ventilación debido a que se libera dióxido de carbono.
14. **Transporte:** Nombre según ONU: Ácido Sulfúrico. Clasificación de riesgo para el transporte: 8. Grupo de embalaje: II

Anexo VII. Ficha de datos de seguridad. Ácido clorhídrico.

- 1. Nombre del producto indicado en la etiqueta:** Ácido clorhídrico concentrado.
- 2. Identificación de peligros:** Inhalación: Corrosivo. Exposición ligera: irritación nasal, quemaduras, tos y sofocación. Exposición prolongada: quemaduras, úlceras en la nariz y la garganta. Si la concentración es elevada causa ulceración de la nariz y la garganta, edema pulmonar, espasmos, shock, falla circulatoria, incluso la muerte. Ingestión: Corrosivo. Puede generar quemaduras en la boca, garganta, esófago y estómago; náuseas, dificultad al comer, vómitos, diarreas; en casos graves colapso y muerte. Piel: puede causar inflamación, enrojecimiento, dolor y quemaduras, dependiendo de la concentración. Ojos: Corrosivo. Produce irritación, enrojecimiento, dolor, lagrimeo excesivo y puede ocasionar pérdida total de la visión. Efectos crónicos: asma ocupacional, las exposiciones repetidas pueden generar coloración café y daños en el esmalte de los dientes, dermatitis y sangrado de la nariz.
- 3. Composición, Información sobre ingredientes (incluir número CAS, Chemical Abstract Service):** Componente: ácido clorhídrico. Número CAS: 7647-01-0
- 4. Medidas de primeros auxilios:** Inhalación: trasladar al aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial (evitar respiración boca a boca). Si respira con dificultad suministrar oxígeno. Mantener la víctima abrigada y en reposo. Buscar atención médica inmediata. Ingestión: lavar la boca con agua. Si está consciente, suministrar abundante agua. No inducir el vómito; si este se produce de forma natural, inclinar la persona hacia el frente para evitar la broncoaspiración. Piel: Retirar la ropa y calzado contaminado. Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón, mínimo durante 15 minutos. Si la irritación persiste repetir el lavado. Ojos: lavar con abundante agua, mínimo durante 15 minutos. Levantar y separar los párpados para asegurar la remoción del químico.
- 5. Medidas contra incendios:** Usar el agente de extinción adecuado según el tipo de fuego alrededor. En caso de grandes incendios use agua en forma de rocío, espuma resistente al alcohol. Evacuar o aislar el área de peligro. Restringir el acceso a personas innecesarias y sin la debida protección. Ubicarse a favor del viento. Utilizar protección personal.
- 6. Medidas en caso de vertido accidental:** Evacuar o aislar el área de peligro. Restringir el acceso a personas innecesarias y sin la debida protección. Ubicarse a favor del viento. Ventilar el área. No tocar el líquido ni permitir el contacto directo con el vapor. Eliminar toda fuente de calor. Evitar que la sustancia caiga en alcantarillas, en zonas bajas o confinadas. Lavar la zona con abundante agua.

- 7. Almacenamiento y Manipulación:** Usar protección personal siempre, aunque la exposición sea corta. Mantener estrictas normas de higiene, no fumar, ni comer en el sitio de trabajo. Rotular los recipientes adecuadamente. Para preparar soluciones adicionar lentamente el ácido al agua, para evitar salpicaduras. Almacenar en lugares ventilados, secos y frescos; lejos de fuentes de calor y de la acción directa de los rayos solares.
- 8. Controles de exposición/protección personal:** Ventilación local y general resistente a la corrosión, para asegurar que la concentración no exceda los límites de exposición ocupacional. Suministrar aire de reemplazo continuamente para suplir el aire removido. Debe disponerse de duchas y estaciones lava-ojos. Utilizar gafas de protección resistente a químicos con protección lateral, guantes, overol y botas. Respirador con filtro para vapores ácidos.
- 9. Propiedades físicas y químicas:**
Apariencia, olor y estado físico: es un líquido humeante incoloro o amarillo claro con olor penetrante e irritante.
Gravedad específica (Agua=1): 1.184
Punto de ebullición (°C): 50 a 70 mm Hg
Punto de fusión (°C): -66
Densidad relativa de vapor (Aire=1): 1.27
pH: 0.1
Solubilidad: soluble en agua, alcoholes, éter y benceno.
- 10. Estabilidad y reactividad:** Estable bajo condiciones normales de manipulación y almacenamiento. Es sensible a la luz solar directa. Evitar la exposición al calor y a materiales incompatibles.
- 11. Información toxicológica:** Los valores de toxicidad se han reportado para el producto concentrado:
DL₅₀ (Intraperitoneal, ratón) =40.142mg/Kg.
DL₅₀ (oral, conejo) =900mg/Kg.
No es carcinógeno para humanos.
- 12. Información ecológica:** Alteración del pH en medio acuático. Este ácido se disocia totalmente; por lo que puede afectar significativamente el medio. Es mortal a concentraciones mayores de 25 mg/L.
- 13. Consideraciones de Disposición Final:** Adicionar cuidadosamente ceniza de soda o cal, los productos de la reacción se pueden conducir a un lugar seguro, donde no tenga contacto con el ser humano.
- 14. Transporte:** Etiqueta negra y blanca de sustancia corrosiva. No transporte con sustancias explosivas, gases venenosos, sustancias que puedan presentar combustión espontánea, comburentes, peróxidos, radiactivos, ni sustancias con riesgo de incendios.

Anexo VIII. Ficha de datos de seguridad. Benceno.

1. **Nombre del producto indicado en la etiqueta:** Benceno.
2. **Identificación de peligros:** Puede provocar cáncer, defectos genéticos. Líquidos y vapores muy inflamables. Provoca irritación ocular grave, irritación cutánea, daños en los órganos y puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.
3. **Composición, Información sobre ingredientes (incluir número CAS, Chemical Abstract Service):** Componente: benceno. M.=78.11. Fórmula: C₆H₆
4. **Medidas de primeros auxilios:** En caso de pérdida del conocimiento nunca dar a beber ni provocar el vómito. Inhalación: Trasladar a la persona al aire libre. En caso de asfixia proceder a la respiración artificial. Contacto con la piel: Lavar con abundante agua. Quitarse las ropas contaminadas. Ojos: Lavar con agua abundante (mínimo durante 15 minutos), manteniendo los párpados abiertos. Pedir atención médica. Ingestión: Evitar el vómito. Riesgo de aspiración. Pedir atención médica. Laxantes: sulfato sódico (1 cucharada sopera en 250 ml de agua). Administrar aceite de vaselina como laxante (3 ml/kg). Lavado de estómago. (Únicamente si es inevitable, y con sumo cuidado).
5. **Medidas contra incendios:** Utilizar como medio de extinción espuma y polvo seco.
6. **Medidas en caso de vertido accidental:** No inhalar los vapores. Prevenir la contaminación de suelos y aguas. Recoger con materiales absorbentes; en su defecto arena o tierra secas y depositar en contenedores para residuos para su posterior eliminación de acuerdo con las normativas vigentes. Limpiar los restos con agua abundante.
7. **Almacenamiento y Manipulación:** Evitar la formación de cargas electrostáticas. Almacenar en recipientes bien cerrados, locales bien ventilados, protegido de la luz, alejado de fuentes de ignición y calor. Temperatura ambiente. No almacenar en recipientes de plástico.
8. **Controles de exposición/protección personal:** Asegurar una buena ventilación y renovación de aire del local. En caso de formarse vapores/aerosoles, usar equipo respiratorio adecuado. Usar guantes apropiados de nitrilo y gafas apropiadas.
9. **Propiedades físicas y químicas:**
 - Aspecto: Líquido
 - Color: incoloro.
 - Olor: Característico.
 - Punto de fusión/punto de congelación: 5,5 °C
 - Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición: 80,1 °C
 - Punto de inflamación: - 11 °C
 - Presión de vapor: 101 hPa (20 °C)
 - Solubilidad: 0,7 g/l agua 20 °C

10. **Estabilidad y reactividad:** Deben evitarse temperaturas elevadas. Los gases/ vapores pueden formar mezclas explosivas con el aire
11. **Información toxicológica:** Inhalación: Irritaciones en vías respiratorias. Absorción: efectos en el sistema nervioso central, dolores de cabeza, vértigo, arritmias, espasmos, hipotensión, dificultades respiratorias, ansiedad, narcosis, parálisis respiratoria y muerte. Ingestión: náuseas y vómitos. Riesgo de aspiración al vomitar. En contacto con la piel: irritaciones. Riesgo de absorción cutánea. Puede tener un efecto desengrasante sobre la piel, con riesgo de infección secundaria. Por contacto ocular: Irritaciones en mucosas.
12. **Información ecológica:** Clasificado como alto riesgo para el medio acuático y terrestre.
13. **Consideraciones de Disposición Final:** los residuos no deben desecharse con la basura doméstica, no debe llegar al alcantarillado. Los embalajes se deben eliminar de acuerdo a las disposiciones oficiales.
14. **Transporte:** Terrestre, marítimo y aéreo: Clase 3. Grupo de embalaje: II.

Anexo IX. Ficha de datos de seguridad. Cloroformo.

1. Nombre del producto indicado en la etiqueta: Cloroformo.

2. Identificación de peligros: puede ser fatal si es tragado, inhalado o absorbido a través de la piel. Causa irritación a la piel, ojos y aparato respiratorio. Puede afectar el sistema nervioso central, sistema cardiovascular, hígado y riñones. Se sospecha de riesgo de cáncer. Puede causar cáncer. El riesgo de cáncer depende del nivel y duración de la exposición.

3. Composición, Información sobre ingredientes: Ingredientes: Cloroformo. Número CAS: 67-66-3.

4. Medidas de primeros auxilios: Inhalación: retirarse al aire fresco. Si la persona no respira, dar respiración artificial. Si la respiración fuera difícil, dar oxígeno. Ingestión: no inducir el vómito. Nunca dar nada por la boca a una persona inconsciente. Contacto con la piel: Lave la piel inmediatamente con agua abundante, mientras se quita la ropa y zapatos contaminados. Contacto con los ojos: Lave los ojos inmediatamente con abundante agua, elevando los párpados superior e inferior ocasionalmente para asegurar la remoción del químico.

5. Medidas contra incendios: leve peligro de incendio cuando se expone a calor fuerte; de otro modo, prácticamente no es inflamable. Los contenedores sellados pueden romperse al calentarse. Utilice cualquier medio apropiado para extinguir fuego alrededor. En el evento de un fuego, usar vestidos protectores completos y aparato respiratorio autónomo con mascarilla completa operando en la demanda de presión u otro modo de presión positiva.

6. Medidas en caso de vertido accidental: No fumar. Evitar respirar los vapores. Recoger el vertido con materiales absorbentes no combustibles (tierra, arena). Verter el producto y el absorbente en un contenedor adecuado. La zona contaminada debe limpiarse inmediatamente con un descontaminante adecuado. Desechar el descontaminante a los restos y dejarlo durante varios días hasta que no se produzca reacción, en un envase sin cerrar.

7. Almacenamiento y Manipulación: guarde en un envase resistente a la luz, cerrado herméticamente y almacene en un área fresca, seca y bien ventilada. Aísle de las sustancias incompatibles. Los envases de este material pueden ser peligrosos cuando están vacíos ya que retienen residuos del producto (vapores, líquido).

8. Controles de exposición/protección personal: proveer una ventilación adecuada y un buen sistema general de extracción. Debe llevarse un equipo de respiración adecuado. Para los contactos prolongados o repetidos utilizar guantes del tipo alcohol polivinílico o goma de nitrilo. Utilizar gafas protectoras, especialmente diseñadas para proteger contra las salpicaduras de líquidos. Instalar estaciones lavaojos de emergencia en las proximidades de la zona de utilización.

9. Propiedades físicas y químicas:

Aspecto: Líquido incoloro con olor dulce

Punto de inflamación: Ninguno

Solubilidad en agua: 8 g/l a 20° C

Punto de fusión: -63 °C

Punto de ebullición: 61°C (760 mm de Hg)

Presión de vapor: 159 mm Hg a 20°C

Densidad de vapor: 4,1

Índice de refracción: 1.4459 a 20°C, 589 nm

Temperatura de autoignición: mayor de 1000°

Densidad: 1.498 g/ml (a 15 °C); 1.484 (a 20°C)

Peso específico: 1.48 g/cm³

Viscosidad (cP): 0.855 (a -13°C), 0.70 (a 0°C), 0.563 (a 20°C) y 0.51 (a 30°C).

10. Estabilidad y reactividad: estable en condiciones ordinarias de uso y almacenamiento. El pH disminuye con la exposición prolongada a la luz y aire debido a la formación de HCl. Puede producir monóxido de carbono, dióxido de carbono, cloruro de hidrógeno y fosgeno cuando se calienta hasta la descomposición.

11. Información toxicológica: este material produce cáncer en animales de laboratorio, y en la IARC se enumera como un probable carcinógeno humano. La inhalación y la ingestión son dañinos y pueden ser mortales. Puede causar daño a la reproducción. Irritante. El consumo de alcohol puede aumentar los efectos tóxicos. El contacto prolongado o repetido con la piel puede producir dermatitis.

12. Información ecológica: no existen datos disponibles ensayados sobre el preparado. No se debe permitir que el producto pase a las alcantarillas o a cursos de agua. Evitar la penetración en el suelo. Evitar la emisión de disolventes a la atmósfera.

13. Consideraciones de Disposición Final: Tratar los residuos, lavar y descartar los envases según la legislación vigente.

14. Transporte: terrestre y marítimo. Grupo de empaque: III

Anexo X. Ficha de datos de seguridad. Éter de petróleo

1. Nombre del producto indicado en la etiqueta: Éter de petróleo

2. Identificación de peligros: Líquido y vapores extremadamente inflamables. La inhalación causa síntomas de intoxicación, desórdenes nerviosos periféricos y depresión del sistema nervioso central. Causa quemaduras en el tracto digestivo si es tragado, al igual que visión borrosa, vómito y diarrea. Causa irritación en piel y ojos. Personas con desordenes preexistentes en la piel, los ojos, pulmones e hígado, pueden ser más susceptibles a los efectos de la sustancia.

3. Composición, Información sobre ingredientes, El éter de petróleo es una mezcla de hidrocarburos por lo que no posee una sola fórmula química.

4. Medidas de primeros auxilios: Inhalación: retirarse al aire fresco. Si la persona no respira, dar respiración artificial. Si la respiración fuera difícil, dar oxígeno. Ingestión: no inducir el vómito. Nunca dar nada por la boca a una persona inconsciente. Contacto con la piel: Lave la piel inmediatamente, mientras se quita la ropa y zapatos contaminados. Contacto con los ojos: Lave los ojos inmediatamente, elevando los párpados superior e inferior ocasionalmente para asegurar la remoción del químico.

5. Medidas contra incendios: Inflamable. peligro de incendio. Se deben usar Químicos secos, espuma o dióxido de carbono. El agua puede que sea inefectiva. No permitir que el agua se vaya a la cañería.

6. Medidas en caso de vertido accidental: No fumar. Evitar respirar los vapores. En caso de: a)Inhalación:Transferir al afectado a un lugar ventilado y si es necesario dar respiración artificial. b) Ingestión:NO INDUCIR EL VÓMITO, dar grandes cantidades de agua o leche. c)Contacto con piel y ojos: Lavar con abundante agua durante 15 min. En cualquiera de los casos es necesario recibir atención médica.

Almacenamiento y Manipulación: Color de almacenamiento:Rojo (Inflamable). Goggles"y careta, bata y mandil; campana de ventilación; guantes;extinguidorclase B. os envases deberán estar cerrados apropiadamente. Los envases vacíos pueden ser peligrosos debido a los residuos (vapores o líquido) retenidos en ellos.

8. Controles de exposición/protección personal: proveer una ventilación adecuada y un buen sistema general de extracción. Debe llevarse un equipo de respiración adecuado. Para los contactos prolongados o repetidos utilizar guantes. Utilizar gafas protectoras, especialmente diseñadas para proteger contra las salpicaduras de líquidos. Instalar estaciones lava ojos de emergencia en las proximidades de la zona de utilización.

Propiedades físicas y químicas:

Apariencia: Líquido incoloro y transparente.

Olor:Gasolina o queroseno

Solubilidad:Insoluble en agua

Densidad:0.60 a 0.75

pH:No hay información disponible.

% de volátiles por volumen a 21°C: 100

Punto de ebullición: 20 -75°C

Punto de fusión: -73°C

Densidad de vapor:2.5

Presión de vapor (mm Hg): 40 a 20°C

10. Estabilidad y reactividad: estable en condiciones ordinarias de uso y almacenamiento. Puede provocar efectos sobre el ambiente a largo plazo.

11. Información toxicológica: este material produce cáncer en animales de laboratorio. Puede causar daño a la reproducción. Irritante. El consumo de alcohol puede aumentar los efectos tóxicos. El contacto prolongado o repetido con la piel puede producir quemaduras.

12. Información ecológica: Evitar la penetración en el suelo. Evitar la emisión de disolventes a la atmósfera.

13. Consideraciones de Disposición Final: Tratar los residuos, lavar y descartar los envases según la legislación vigente.

14. Transporte: Etiqueta roja. Terrestre y marítimo. Grupo de empaque: III

Anexo XI . Otras sustancias utilizadas

- **Reactivos del tamizaje:**

1. Reactivo Dragendorff.
2. Reactivo Mayer.
3. Cloruro de sodio.
4. Reactivo Wagner.
5. Anhídrido acético.
6. Ácido tricloroacético al 90%.
7. Hidróxido de sodio.
8. Reactivo de Baljet.
9. Reactivo Sudán III.
10. Reactivo de Fehling.
11. Reactivo de Benedict.
12. Cloruro férrico.
13. Reactivo Ninhidrina.
14. Zinc (sólido).

- **Solventes**

1. Éter de petróleo
2. Etanol al 95% y al 70%.

ERRATAS

1. El nombre del compuesto químico apigenina que aparece en la página 21 en mayúscula debe ir en letra minúscula en el texto.
2. En el capítulo III. Resultados y discusión; página 38, donde se muestra la tabla III. Resultados de la determinación de la composición química cualitativa de los extractos acuosos al 10%. El ensayo para determinar la presencia de principios amargos y astringentes realizado a las infusiones por droga fresca y seca (IDF Y IDS) en ambos casos fue positivo.