REVISTA PUCE 94

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE QUÍMICA

3 DE MAYO-3 DE NOVIEMBRE DE 2012
QUITO-ECUADOR
ISSN 1013-89X

CENTRO DE PUBLICACIONES
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATÓLICA DEL ECUADOR

Centro de Publicaciones
Escuela de Química
Revista PUCE
Quito-Ecuador

Rector
Dr. Manuel Corrales Pascual, S.J. (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Vicerrector
Ing. Pablo Iturralde Ponce (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Director General Académico
Dr. Carlos Acurio Velasco (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Director del Centro de Publicaciones
Magíster Jesús Aguinaga Zumárraga (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Directora Escuela de Ciencias Químicas
Dra. Lorena Meneses O. Ph.D.
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Miembros del Comité Ejecutivo del Centro de Publicaciones (Comité Editorial):

Presidente (Editor en Jefe)
Magíster Jesús Aguinaga Zumárraga (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Vocales (Comité Editorial):
Dr. Hugo Reinoso Luna (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Dr. Luis María Gavilanes Del Castillo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Secretario (Coordinador del Comité Editorial)
Lcdo. Walter Jiménez Sarabia (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Miembros del Comite Editorial de la Escuela de Ciencias Químicas

Dra. Lorena Meneses (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Mtr. Fernanda Pilaquinga (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Mtr. Pablo Pozo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Secretaria
Fátima Tasiguano Morales (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Autores
Cristina Mena (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Fernanda Pilaquinga (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Lorena Meneses (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Pamela Carrillo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
David Romero (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Wendy Heredia (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Alejandra Hidalgo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Alexandra Hidalgo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Yolanda Jibaja (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Marco Dehesa (Universidad Politécnica Salesiana, Quito-Ecuador)
Migdalia Miranda (Universidad de La Habana-Cuba)
Fernanda Montaño (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Pablo Pozo (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Pablo López (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)
Andrea Guzmán (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Corrector de estilo y ortografía
Alfonso Sánchez (Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador)

Colección n.º 94
3 de mayo de 2012
Publicación Semestral
ISSN. n.º 1013-89X
Registro de Derecho Autoral n.º 010645

La Revista de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador es una publicación semestral (mayo y noviembre) de su Centro de Publicaciones, que difunde trabajos académicos y científicos, estrictamente originales en español, en la áreas de Leyes, Pedagogía, Ingeniería, Economía, Biología, Química, Historia, Geografía, Antropología, Sociología, Filosofía, Teología, Comunicación, Lingüística, Literatura, Medicina, Administración, Arquitectura, Gestión Social, Psicología y Diseño, y es arbitrada por especialistas de indiscutible valor, cuyos nombres se mantienen en absoluta confidencialidad, recibe trabajos todo el año; el propósito de la Revista PUCE es difundir conocimientos, intercambiar experiencias e incentivar la producción del pensamiento especializado. El contenido de esta revista está dirigido a docentes, investigadores, estudiantes universitarios y público en general.

Los artículos son de responsabilidad exclusiva de sus autores
Los derechos de autor son exclusivos de la PUCE
Se prohíbe la reimpresión parcial o total con cualquier finalidad

Editorial: (Punto de Venta)
Centro de Publicaciones PUCE
Av. 12 de Octubre y Robles
Apartado n.º 17-01-2184
Telf.: 593-02-2991700
2991 700 (TRONCAL). Extensiones: 1013, 1014, 1711, 1122
Telf.: 593-02-2991711 (directo)
(se aceptan canjes)
jesus_aguinaga@hotmail.es
Quito-Ecuador.

Impresión:
PPL Impresores
Estados Unidos N16-56
593-02-2529762
pplimpresores@gmail.com
Quito-Ecuador

FORMULACIÓN DE UN FITOFÁRMACO A PARTIR DE LAS HOJAS DE *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (ISHPINGO)

FORMULATION OF A PHYTOMEDICINE FROM LEAVES OF *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (ISHPINGO)

YOLANDA JIBAJA A.
MARCO DEHESA
MIGDALIA MIRANDA

Recibido 26 de marzo de 2012
Aceptado 9 de abril de 2012

REVISTA PUCE. ISSN 1013-89X. NÚM. 94
3 MAYO-3 NOV 2012. JIBAJA, DEHESA & MIRANDA. PP. 93-111

FORMULACIÓN DE UN FITOFÁRMACO A PARTIR DE LAS HOJAS DE *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. (ISHPINGO)

Yolanda Jibaja A.[1], *Marco Dehesa*[2], *Migdalia Miranda*[3]

PALABRAS CLAVES: *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm., aceite esencial, fitofármaco, ishpingo, extracto

KEY WORDS: *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm., essential oil, phytomedicine, ishpingo, extract

RESUMEN

En esta investigación se formuló un fitomedicamento a partir de las hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm., para ofrecer a la industria nacional una nueva formulación que debidamente estandarizada podría beneficiar a las comunidades indígenas, al contar con un medicamento de origen natural, efectivo y a bajo costo, además posibilitaría mejorar la situación económica si se desarrollan cultivos de la especie.

Se estandarizó el extracto fluido de hojas obtenido por maceración, que sirve como materia prima para la elaboración del fitomedicamento. Los parámetros de calidad analizados son aceptables y por lo tanto permiten se lo considere como tal. A partir de este extracto se diseñó la formulación: tintura

1 Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Quito, Ecuador (yjibaja@puce.edu.ec).
2 Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
3 Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, Cuba.

al 40% en etanol al 40%, la misma que presentó características organolépticas aceptables y parámetros de calidad que corresponden a los establecidos para este tipo de formulaciones. La tintura demostró buena estabilidad en vida de estante durante el tiempo que duró el estudio; sin embargo es necesario realizar un estudio de estabilidad a tiempos prolongados, con inclusión de su efectividad antimicrobiana.

El estudio se realizó con una muestra tomada en Archidona, provincia del Napo, Ecuador; se desarrolló en los Laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana y contó con el auspicio del Proyecto VIS-UPS.

ABSTRACT

This research developed a phytomedicine or drug from the leaves of *Ocotea Quixos* (Lam.) Kosterm, to offer to the national domestic industry a new formulation that properly standardized could be a benefit to the community, we could have a natural medicine, effective and at low cost.

We standardized fluid extract obtained by maceration of leaves, used as raw material for the production of phytomedicine or drug. The quality parameters analyzed are acceptable and therefore allow it considered as such. From this extract is designed the formulation: 40% dye in ethanol 40%, the same presented reliable organoleptic characteristics and parameters of acceptable quality that correspond with those established for this type of formulations. The dye showed good shelf life stability during the period of the study, but it is necessary to conduct a study of prolonged stability, including its antimicrobial effectiveness.

The study was conducted with a sample taken in Archidona, province of Napo, Ecuador; was developed in the laboratories of the Universidad Politécnica Salesiana and was sponsored by Project VIS-UPS.

INTRODUCCIÓN

Ocotea quixos (Lam.) Kosterm., es el nombre científico para el ishpingo, una Lauracéae que crece en las estribaciones orientales andinas y en la región Amazónica del Ecuador y posiblemente al sur de Colombia, el uso principal en el Ecuador tanto de los cálices leñosos como de la corteza de las ramas es como aromatizante; en el campo de la medicina tradicional se lo ha utilizado

como infusión para atenuar los dolores estomacales y en forma de tintura para calmar el dolor de piezas dentales (White, 1985); se ha empleado y aún se emplea como especería para aromatizar ciertas comidas, como un postre especial que se sirve el 2 de noviembre denominada "colada morada" y también en algunas preparaciones de chicha de maíz.

Es conocido en el Ecuador con diferentes nombres vernáculos, entre los cuales se destacan: canela amazónica, canela de quijos, canela americana, canelo, ispingu o ishpingo. El hábitat natural de este árbol es el bosque húmedo tropical de la Amazonía ecuatoriana; se encuentra entre 310 y 1250 msnm y se destaca por ser endémico de este lugar. Es un árbol perenne de 8-12 m de altura; las hojas de 14.5-23.5 cm de longitud por 3.5-6 cm de ancho, olor a canela, flor blanco-verdosa, cáliz persistente de seis sépalos y fruto ovalado de 4 cm de longitud. La especie florece y fructifica cada dos años cuando alcanza por lo menos quince años de madurez.

La parte más utilizada es la cápsula (estructura que rodea la base de la semilla), es dura y en forma de sombrero cónico; molidas se usan para dar sabor a dulces y comidas, contiene aceites esenciales semejantes a los de la canela. La bibliografía reporta a los cálices leñosos como la parte del vegetal tradicionalmente utilizados con olor a cinnamon (Naranjo, 1981), constituido principalmente por cinnamaldehido, o-metoxicinnamaldehido, ácido cinámico y metil cinamato (Naranjo *et al.*, 1995).

I OBJETIVOS

Objetivo General:

Diseñar un fitofármaco estable y útil como antimicrobiano a partir de las hojas de *Ocotea quixos*.

Objetivos específicos:

- Realizar el estudio farmacognóstico de las hojas y cálices de *Ocotea quixos*.
- Extraer el aceite esencial de las hojas y cálices de *Ocotea quixos* y comparar su rendimiento y propiedades físico-químicas.
- Determinar la fracción bioactiva de las hojas de *Ocotea quixos*.

II MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y preparación del material vegetal

Los cálices y las hojas de *Ocotea quixos* se colectaron según normas establecidas (CYTED, 1993), en Archidona, provincia del Napo, Ecuador (00° 45´ 00" S 77° 48´00´´W); es una zona de clima cálido-húmedo caracterizada por una diversa flora y fauna, una amplia red hidrográfica, abundantes precipitaciones atmosféricas y temperaturas que oscilan entre 25-30°C. Los ejemplares colectados se colocaron dentro de hojas de papel periódico dobladas por la mitad, para proceder a su herborización y finalmente un ejemplar se envió al Herbario de la Universidad Católica para su comprobación taxonómica.

Las hojas y cálices se lavaron con agua potable y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante 30 minutos; se escurrió el agua y se colocaron en bandejas correctamente identificadas para el secado a temperatura ambiente. El material seco se troceó manualmente y guardó en fundas de papel para protegerlos de la luz.

Valoración de las drogas

Para la evaluación macromorfológica de hojas y cálices, se utilizó una muestra de 50 hojas, se determinó el largo y ancho con una regla graduada para el posterior análisis estadístico.

Para la evaluación físico-química se determinó el porcentaje de cenizas totales, cenizas solubles en ácido y humedad, según la norma cubana (NRSP 309, 1992).

Se identificaron los metabolitos secundarios presentes en hojas y cálices por la técnica de Tamizaje fitoquímico descrita por Miranda & Cuellar (2001).

Control microbiológico de hojas y cálices de *Ocotea quixos*

Para el control microbiológico se realizó el conteo total de microorganismos y el control de microorganismos específicos, se trabajó con la metodología planteada por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1998).

Extracción, cuantificación y caracterización preliminar del aceite esencial de *Ocotea quixos*

Se extrajo el aceite de una muestra seca de 100 g, mediante hidrodestilación durante dos horas, la emulsión fría aceite-

agua se saturó con cloruro de sodio. Se añadió éter etílico, se agitó y dejó en reposo hasta que estén separadas las fases. Se eliminó el agua de la capa etérea con sulfato de sodio anhidro, el éter se retiró por evaporación y se determinó el rendimiento.

Se realizó la caracterización físico-química del aceite esencial (color, olor, densidad relativa y el índice de refracción) y se analizaron muestras de aceite esencial obtenidos de tres destilaciones separadas por cromatografía de gases.

Determinación de la fracción bioactiva de las hojas de *Ocotea quixos*

Se comprobó la actividad inhibitoria de extractos, fracciones acuosas y aceite esencial frente a varios microorganismos. Para obtener los extractos fluidos se trabajó según la Norma Cubana para extractos vegetales (NRSP 311, 1992). Para comprobar la actividad antimicrobiana se procedió según la Técnica de Bauer-Kirby (CYTED, 1991). Se utilizaron los microorganismos: *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Cándida albicans* (ATCC 10231), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Streptococcus* sp., y *Proteus* sp., procedentes del laboratorio de Microbiología de la Universidad Católica. Como controles positivos se emplearon Gentamicina, Ampicilina y Fluconazol, procedentes de los Laboratorios LIFE, Acromax y Pfizer y como controles negativos se emplearon los vehículos en los cuales se encontraban las muestras.

Especificaciones de calidad del extracto fluido de hojas de *Ocotea quixos* en etanol al 80%

Se determinaron los parámetros pH, características organolépticas, índice de refracción, densidad relativa, contenido de sólidos totales, contenido alcohólico y análisis capilar según la Norma Cubana para extractos vegetales (NRSP 312, 1992) y el contenido de aceites esenciales por hidrodestilación (OMS, 1998).

Formulación de un fitomedicamento a partir del extracto fluido de las hojas de *Ocotea quixos*

Se diseñó la formulación del fitomedicamento y se evaluaron sus propiedades organolépticas, pH, densidad relativa, índice de refracción, contenido alcohólico, contenido de aceite esencial y estabilidad natural.

III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio Farmacognóstico de *Ocotea quixos*

La evaluación macromorfológica de hojas y cálices de *O. quixos* reporta las siguientes características:

Hojas: forma: peciolada, acuminada, aguda, entera, coniforme, palminervia. Textura: coriáceas. Superficie: glabra. Color: envés verde - amarillento. Olor: muy agradable, dulce al masticar. De 13.4 cm de largo y 4.1 cm de ancho. Muy brillantes.

Cálices: forma: semejan pequeños embudos con los bordes dirigidos al exterior de 3 cm de diámetro por 4 cm de largo. Resistentes a la presión manual, de color café oscuro, de olor muy agradable, con un peso promedio de 2.67 g. Presentan rugosidades en los bordes externos.

Las observaciones corresponden con las señaladas por Gupta (1995) con respecto a los cálices; la misma fuente se refiere a las flores frescas de la planta, que no pudieron ser observadas ni colectadas, debido a que la fecha de recolección (junio) no coincidió con la época de floración de la especie.

Parámetros de control de calidad

El contenido de cenizas totales en hojas y cálices (4.78 y 2.8% respectivamente) se encuentra dentro de los rangos establecidos por la OMS (1998) y USP (2001), de esos valores, más del 50% son solubles en agua en el caso de las hojas (2.8%) y casi la totalidad de los obtenidos de cálices (2.7%), lo cual sugiere que se trata de metales de baja toxicidad o material de tipo orgánico. El porcentaje de humedad residual en hojas y cálices (8 y 12% respectivamente), corresponde a valores comprendidos dentro del rango establecido para drogas vegetales (Miranda, 2001; Sharapin 2000). Tabla 1.

Tabla 1: Evaluación físico-química de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm

ENSAYO	HOJAS	CÁLICES
Cenizas totales	4.8 %	2.8 %
Cenizas solubles en agua	2.8 %	2.7 %
Humedad	8.0 %	12.0 %

Tamizaje fitoquímico:

El tamizaje fitoquímico constituye uno

de los análisis que se utiliza para la determinación cualitativa de los principales grupos de constituyentes químicos presentes en las plantas. Los resultados del tamizaje fitoquímico en los extractos acuoso, alcohólico y etéreo de las hojas y cálices de *Ocotea quixos*, se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2: Tamizaje fitoquímico de hojas y cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm

METABOLITO	EXTRACTO					
	Etéreo		Alcohólico		Acuoso	
	Hojas	Cálices	Hojas	Cálices	Hojas	Cálices
Aceites y grasas	+/-	+/-				
Alcaloides	-	-	-	-	-	-
Triterpenos Esteroides	-	-	-	-		
Saponinas			+	+	+	+
Azúcares Reductores			+	+	+	+
Fenoles y taninos			+	+	+	+
Aminoácidos			-	-		
Flavonoides			+	+	+	+
Cardenolidos			+	+		
Quinonas			-	-		
Antocianidinas			+	+		
Mucilagos					-	-

Los metabolitos secundarios identificados son saponinas, azúcares reductores, fenoles y taninos, flavonoides y aceites esenciales, estos aunque no dieron una franca reacción con Sudán, se detectaron por su intenso aroma. Los metabolitos taninos y glúcidos corresponden a los componentes mayoritarios identificados en la canela (Hussain, 1988).

Control microbiológico

Los valores de aerobios totales (300 UFC/g y 340 UFC/g) en hojas y cálices

respectivamente, están dentro de los rangos establecidos por la OMS (WHO, 1998), referente a límites permitidos para drogas crudas no tratadas, el ensayo para determinar mohos y levaduras fue negativo. Tabla 3.

Tabla 3: Control microbiológico de hojas y cálices de *Ocotea quixos*. Contaje en placa

MICROORGANISMOS	RESULTADOS		
	Hojas	Cálices	Límites máximos*
Aerobios totales	300 UFC/g	340 UFC/g	10^7 UFC/g
Mohos y levaduras	< 10 upml/g	< 10 upml/g	10^5 upml/g

*(OMS, 1998)

El ensayo para microorganismos específicos, Tabla 4, reporta la presencia de *Coliformes, Salmonella y Pseudomona* en hojas, revela la contaminación de la droga en el momento de la colección y transporte y un mal lavado del material vegetal en el laboratorio, en el caso de los cálices el ensayo para *Salmonella* es positivo.

Estos resultados indican la necesidad de realizar controles rigurosos e incrementar la desinfección del material vegetal, antes de emplearlo para la elaboración de un fitomedicamento

Tabla 4: Control microbiológico para microorganismos específicos

MICROORGANISMO	PRESENCIA DE MICROORGANISMOS	
	Hojas	Cálices
Coliformes	+	-
Salmonella	+	+
Staphylococcus aureus	-	-
Pseudomona	+	-

Rendimiento y características físico - químicas del aceite esencial de *Ocotea quixos*

Para extraer el aceite esencial de hojas y cálices se empleó el método de hidro-

destilación. El rendimiento del aceite esencial de cálices fue de 1.24%, obtenido después de 2 horas de destilación con el empleo de cálices troceados manualmente. Guerrini *et al.*, (2006) reportó el 1.9% de rendimiento mediante hidrodestilación acoplada al aparato comercial Clevenger después de 8 horas de destilación; la literatura no informa datos respecto a aceite esencial extraído de hojas, pero en este caso el rendimiento fue del 0.88%.

Las características físico - químicas del aceite esencial se indican en la Tabla 5, la densidad relativa e índice de refracción son más altos para el aceite esencial de las hojas comparado con el de los cálices.

Tabla 5: Características físico - químicas del aceite esencial de *Ocotea quixos*

Parámetro	Hojas	Cálices
Rendimiento	0.88%	1.24%
Olor	Dulce, agradable	Dulce, agradable
Color	Amarillo claro	Amarillo claro
Índice de refracción	1.59	1.57
Densidad	0.93	0.77

Análisis cromatográfico del aceite esencial de *Ocotea quixos*

El análisis por Cromatografía de gases del aceite de cálices, Figura 1, revela la presencia de dos picos importantes con tiempos de retención: 12.213 y 13.718 minutos; en tanto que en el aceite de hojas, Figura 2, se observaron también dos picos importantes con una ligera variación en sus tiempos de retención (12.117 y 13.677 minutos) respecto al aceite de cálices.

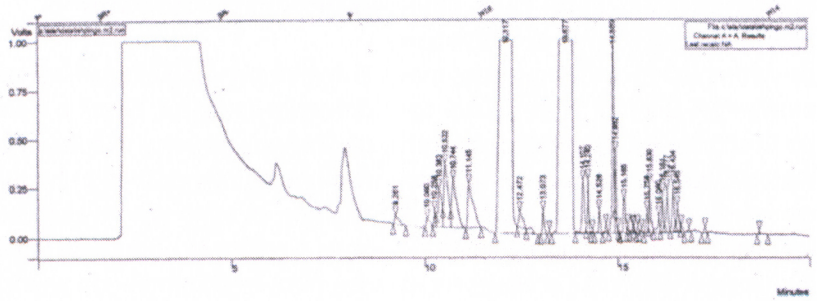


Figura 1: Análisis cromatográfico, GC, del aceite esencial de cálices de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm

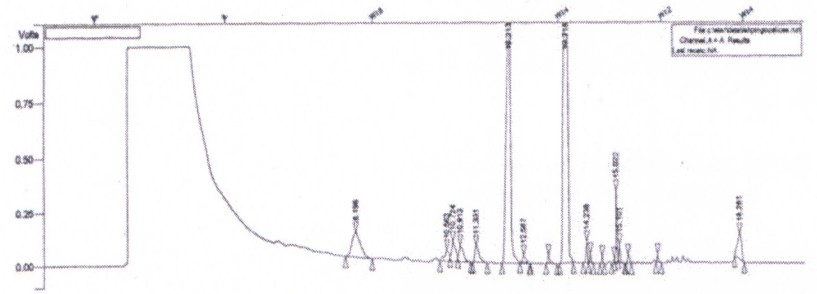


Figura 2: Análisis cromatográfico, GC, del aceite esencial de hojas de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm

De acuerdo con estos resultados se asumió que desde el punto de vista cualitativo las dos partes del material vegetal presentan composición muy similar, por lo cual se puede considerar que el uso de las hojas, es la forma más viable respecto a los cálices ya que estos no están disponibles todo el tiempo, por cuestiones fisiológicas del ciclo vegetativo del árbol de ishpingo, por esta razón se continuó con la evaluación de las hojas.

Determinación de la fracción bioactiva de las hojas de *Ocotea quixos*

Los hidrodestilados remanentes de la destilación (fracción sin aceite) no presentaron actividad antimicrobiana, lo cual indica que esta no puede atribuirse a ningún componente soluble en agua.

De los extractos fluidos analizados, el obtenido en etanol al 80% presentó actividad frente a los microorganismos ensayados, excepto frente a *Pseudomona aeruginosa*.

El aceite esencial presentó mayor actividad, desarrolló halos de inhibición en todos los casos superiores a los desarrollados por los antimicrobianos de síntesis empleados como patrón, a pesar que las concentraciones empleadas fueron menores, 20µL. (Tabla 6).

Tabla 6: Actividad antimicrobiana de hojas de *Ocotea quixos*

Microorganismo	Halos de inhibición (mm)							
	Extracto alcohólico al 80%	Extracto alcohólico al 50%	Extracto alcohólico puro	Fracción sin aceite 1	Fracción sin aceite 2	Aceite esencial	Ampicilina Control A	Cloranfenicol Control B
Staphylococcus epidermidis	9	8	19	0	0	42	0	17
Streptococo sp	10	8	23	0	0	40	23	22
Bacillus subtilis	20	11	22	0	0	40	30	35
Pseudomona aeruginosa	8	5	11	0	0	29	0	0
Cándida albicans	>70	0	>70	0	0	>70	>70	>70
Staphylococcus aureus	12	10	14	0	0	40	16	20.5
Proteus sp	11	8	15	0	0	37	21.5	20.5
Escherichia coli	18	10	15.5	0	0	39	17.5	27.5

El análisis de los controles negativos mostró que la actividad antimicrobiana de las diferentes fracciones no se debía al efecto antiséptico del etanol como se ha demostrado en algunos trabajos realizados por Egas (1999).

Parámetros de calidad del extracto fluido en hojas de *Ocotea quixos*

Los parámetros de calidad del extracto fluido, Tabla 7, muestran las especificaciones de calidad de la materia prima utilizada para la preparación del fitofármaco. Los parámetros organolépticos del extracto fluido no tienen estándares de referencia para su comparación, ya que estos son propios y característicos de la especie y de la parte de la planta analizada. Los parámetros físicos: el pH, 5.7, demuestra la presencia de compuestos químicos con características ácidas débiles como flavonoides, taninos, entre otros; el índice de refracción 1.38 es mayor al del agua, revela la presencia de sustancias disueltas; los sólidos totales son inferior al límite mínimo establecido por la OMS; el contenido alcohólico del extracto fluido es inferior al valor inicial utilizado para la preparación del mismo, lo cual significa que este se pierde por evaporación.

Tabla 7: Parámetros de calidad del extracto fluido de hojas de *Ocotea quixos*

PARÁMETRO	RESULTADOS
Descripción organoléptica	Olor agradable, dulce, similar al de la canela. Líquido homogéneo de color café claro, translúcido, no se observan partículas suspendidas.
pH	5.7
Índice de refracción	1.38
Densidad relativa a 20 °C	0.94
Sólidos totales	2.36%
Contenido alcohólico	52.64%
Contenido de aceite esencial	0.51%
Análisis capilar	Imagen coloreada en tono café amarillento; normal (6.2 cm); presenta una franja irregularmente dentada translúcida de color café oscuro, la subfranja de un tenue color café de 1.4 cm de amplitud; la banda de color café intenso de 1.3 cm y la sub-banda muy amplia de color café verdoso. Por efecto de la luz UV de 366 nm la franja se torna de un color verde intenso, el resto de la imagen toma una coloración café rojiza. Con vapores de amoníaco la franja presenta una intensa coloración amarilla de 2 mm de ancho y el color de la banda es café oscuro.

Estudio de estabilidad forzada del extracto fluido en etanol al 80%

El análisis por cromatografía en capa delgada, CCD, demostró que después del tratamiento ácido, básico y oxidativo al cual se sometió al extracto, mostró perfiles cromatográficos diferentes al del extracto sin degradar; el perfil cromatográfico del tratamiento con luz UV resultó muy similar al extracto sin degradar.

Las soluciones degradadas se analizaron cualitativamente por cromatografía de gases, GC, y comparadas con el extracto sin degradar, presentaron resultados diferentes.

Diseño de la formulación

De acuerdo con el diseño experimental utilizado, se escogió la concentración del extracto fluido en la tintura a formular, de dos variantes de formulación. El análisis estadístico demostró que la tintura al 40% resultó ser la de mayor eficacia por su actividad antimicrobiana a una concentración de 70 µL, presentó los mejores halos de inhibición en todos los microorganismos ensayados, Tabla 8.

Estudio de la estabilidad de la tintura al 40%

La tintura seleccionada se sometió a un estudio de estabilidad natural durante 14 días. Los resultados, Tabla 9, demuestran que los parámetros analizados se mantienen estables, el pH varió de 5.5 a 5.6; el índice de refracción se mantiene constante, 1.36; el contenido alcohólico presenta una disminución, puede ser por evaporación del disolvente y el contenido de aceite esencial se mantiene en rangos desde 0.008 - 0.0070%, la disminución se atribuye también a una posible evaporación.

Tabla 8: Actividad antimicrobiana de tinturas de hojas de *Ocotea quixos*

Microorganismo	Halos de inhibición (mm.)								
	Tintura al 20%			Tintura al 40%			Controles		
	30µL	50µL	70µL	30µL	50µL	70µL	G50µL	C50µL	F50µL
St. epidermidis	10.3	11	12	10	12.6	13.6	29	24	
	10	10	11	10.6	11	11.2	30	22	
	9.2	11	12	10.3	11	13	30	25	
Pseudomona aeruginosa	0	0	0	0	0	0	30	0	
	0	0	0	0	0	0	30	0	
	0	0	0	0	0	0	28	0	
Bacillus subtilis	10	10	10	11	11	14	35	30	
	10	10	10	10	11	12	35	31	
	9	10	10	10	11	12	35	30	
Cándida albicans	10	11	12	11	13	13	30		0
	9	10	11	11	12	13	30		0
	8	10	10	10	11	12	30		0
St. aureus	0	10	9	10	12	13	24		
	0	8	10	10	11	12	24		
	0	8	10	10	11	13	24		
E. coli	0	0	0	0	0	0	22		
	0	0	0	0	0	0	22		
	0	0	0	0	0	0	22		
Streptococo sp	0	0	8	7	8	9	24		
	0	0	7	7	8	9	24		
	0	0	7	7	8	9	24		
Proteus sp.	0	0	8	0	0	8	12		
	0	0	8	0	0	8	13		

Leyenda: C: Cloranfenicol, F: Fluconazol, G: Gentamicina

Tabla 9: Estabilidad natural de la tintura al 40% de hojas de *Ocotea quixos*

Parámetro	Tiempo 0 días	Tiempo 7 días	Tiempo 14 días
Descripción organoléptica	Líquido café claro translúcido, olor agradable, dulce	Líquido café claro, translúcido, olor agradable, dulce	Líquido café claro,, translúcido, olor agradable, dulce
pH	5.5	5.5	5.6
Índice de refracción	1.36	1.36	1.36
Densidad relativa	0.95	0.95	0.95
Contenido alcohólico	41.6%	41.28%	32.23%
Contenido de aceite esencial	0.008 %	0.0072%	0.0070

Temperatura: 19°C
Humedad ambiental: 45%
Inicio: 4 de abril del 2003
Término: 18 de abril del 2003
Tamaño del lote: 200 mL.
Envase de la tintura: vidrio ámbar calidad tipo I y tapa rosca de polipropileno

IV CONCLUSIONES

1. Los parámetros de calidad de las hojas y cálices de *Ocotea quixos*, se encuentran en el rango establecido para drogas vegetales.
2. Se obtuvieron los aceites esenciales de hojas y cálices, el rendimiento es menor en las hojas.
3. La caracterización físico - química de los aceites esenciales demostró que el aceite de las hojas, enseñan mayor densidad relativa e índice de refracción que el aceite de los cálices y desde el punto de vista cualitativo presentan una composición similar.
4. A través del estudio de la actividad antimicrobiana se demostró que la fracción bioactiva de las hojas de *O. quixos* corresponde al aceite esencial.
5. El extracto fluido de hojas de *O. quixos* en etanol al 80%, mostró actividad antimicrobiana.

6. El estudio físico - químico del extracto fluido de hojas de *O. quixos* en etanol al 80%, permitió establecer especificaciones de calidad del mismo, como materia prima para elaborar fitofármacos.
7. Se diseñó una tintura al 40% de hojas de *O. quixos* de calidad farmacéutica estable al menos por 14 días, en el envase estudiado y con las condiciones de temperatura y humedad ambientales analizadas, útil como antimicrobiano frente a *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Cándida albicans y Bacillus subtilis.*

LITERATURA CITADA

CYTED. (1991). *Manual de técnicas de investigación. Subprograma de Química Fina Farmacéutica. Proyecto X-1. Búsqueda de principios Bioactivos de Plantas de la Región*. [s.n].

Cuba, Ministerio de Salud Pública. (1992). *Medicamentos de origen vegetal: Droga cruda. Métodos de ensayo*. La Habana, Cuba: MINSAP.

Cuba, Ministerio de Salud Pública. (1992). *Medicamentos de origen vegetal: Extractos y Tinturas. Procesos Tecnológicos*. La Habana, Cuba: MINSAP.

Cuba, Ministerio de Salud Pública. (1992). *Medicamentos de origen vegetal: Extractos y Tinturas. Métodos de ensayo*. La Habana, Cuba: MINSAP.

Egas, J. (1999). *Laboratorio de Microbiología*. Manual no publicado, Universidad Católica, Quito, Ecuador.

Guerrini, A. & Sacchetti, G. (2006). Composition of the volatile fraction of Ocotea bofo Kunth (Lauraceae) calyces by GC-MS and NMR fingerprinting and its antimicrobial and antioxidant activity. *Agric Food Chem*, 54 (20), 7778-88.

Gupta, M. (1995). *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Bogotá, Colombia: Editorial Presencia Ltda.

Hussain, A. & Virmani, O. (1998). *Major essential oils bearing plants of India*. Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants. Lucknow.

Miranda, M. & Cuellar, A. (2001). *Manual de prácticas de laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales*. Cuba: Editorial MES.

Naranjo, P. & Escaleras, R. (1995). *Farmacología y Medicina tradicional*. Quito, Ecuador: Universidad Andina Simón Bolívar.

Naranjo, P. (1981). *Fundamentos de Farmacología médica*. (3ª.ed.). Quito, Ecuador: Editorial Universitaria.

Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapeúticos*. Bogotá, Colombia. Convenio Andrés Bello.

White, A. (1985). *Hierbas del Ecuador: Plantas medicinales*. Quito, Ecuador: Ediciones Libri Mundi.