



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TRABAJO DE GRADO

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

“INGENIERO AGROINDUSTRIAL”

TÍTULO DEL PROYECTO:

**ANÁLISIS COMPARATIVO DEL GRADO DE VARIACIÓN DEL
CONTENIDO DEL PRINCIPIO ACTIVO (Apigenina 7-glucosido) DE LA
MANZANILLA (*Matricaria chamomilla*) Y MATICO (*Budeja globosa*)
FRESCA Y DESHIDRATADA**

AUTORAS:

**CARINA PAOLA CARRASCO COBOS
KARINA ISABEL LARA CARILLO**

**DIRECTOR:
DR. ARQUIMIDES HARO**

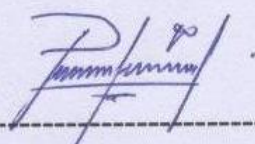
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Los miembros del Tribunal de Graduación del proyecto de investigación de título: “ANÁLISIS COMPARATIVO DEL GRADO DE VARIACIÓN DEL CONTENIDO DEL PRINCIPIO ACTIVO (Apigenina 7-glucosido) DE LA MANZANILLA (*Matricaria Chamomilla*) Y MATICO (Budeja Globosa) FRESCA Y DESHIDRATADA”, presentado por las señoritas egresadas: Carina Paola Carrasco Cobos y Karina Isabel Lara Carillo y dirigida por: Dr. Arquimides Xavier Haro Velastegui.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en la cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ingeniería de la UNACH.

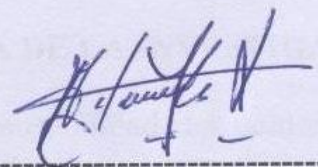
Para constancia de lo expuesto firman:

Ing. Paúl Ricaurte
Presidente del Tribunal



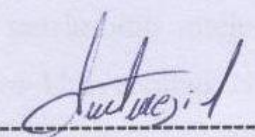
Firma

Dr. Arquímedes Haro
Tutor del Tribunal



Firma

Dra. Ana Mejía
Miembro del Tribunal



Firma

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, nos corresponde exclusivamente a: Carina Paola Carrasco Cobos y Karina Isabel Lara; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo”.

AGRADECIMIENTO

A Dios por su incondicional amor, cuya presencia en nosotras lleno de luz este camino, guiando nuestras acciones, mostrándonos con claridad la dirección a seguir, enseñándonos a tomar únicamente lo mejor de las circunstancias que en la vida suelen darse

A nuestros padres por ser la chispa que enciende la llama del éxito.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, a la Facultad de Ingeniería, Escuela de Agroindustrial y a todos los profesionales que supieron impartir sus conocimientos. Especialmente a la Dra. Anita Mejía por su ayuda incondicional, Dr. Arquimides Haro Director de nuestra tesis por su apoyo brindado.

A la Dra. Cumanda Játiva, Dra. Lourdes Cuadrado, Ing. Feliz Falconi, Ing. Ulises Sánchez por aportar sus conocimientos desinteresados en el desarrollo de nuestra tesis.

Al proyecto “Diseño de un secador solar multiuso bajo condiciones físicas y meteorológicas de la ciudad de Riobamba”, por haber dado la oportunidad de desarrollar el tema de tesis.

A la empresa Jambi kiwa por el apoyo.

A los profesores quienes con su apoyo y paciencia incondicionales a lo largo de estos años hicieron de este proceso una grata experiencia, que orgullosamente puedo observar al concluir la carrera.

Paola C y Karina L

DEDICATORIA

Hemos culminado una etapa importante dentro de nuestra vida y siendo este trabajo el reflejo del esfuerzo realizado lo dedicamos:

A mis padres, hermano y a mi pequeño
Sebastián, quien es la razón más
importante por la cual trabajar y salir
adelante. Ellos se merecen mis victorias.

Paola

Dedico a mis padres que me han
educado con sacrificio y han confiado en
mí a mis hermanos, sobrinos quienes
con su amor y consejos, guiaron mis
pasos por el mejor camino.

Karina

ÍNDICE GENERAL	vi
INDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN	vii
SUMMARY	vi

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN _____	1
1.FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA: _____	3
1.1 PLANTAS MEDICINALES _____	3
1.1.1 Empleo _____	3
1.2 PLANTAS UTILIZADAS _____	4
1.2.1 Manzanilla _____	4
1.2.1.1 Aspectos taxonómicos _____	4
1.2.1.2 Descripción y Hábitat _____	4
1.2.1.3 Composición Química. _____	5
1.2.1.4 Propiedades y usos. _____	5
1.2.1.5 Toxicología. _____	6
1.2.1.6 Acción Farmacológica _____	6
1.2.1.7 Indicaciones de la manzanilla. _____	7
1.2.1.8 Contraindicaciones de la manzanilla _____	7
1.2.1.9 Uso terapéutico y dosis de la manzanilla. _____	7
1.2.1.10 Uso externo _____	8
1.2.2 MATICO _____	8
1.2.2.1 Aspectos taxonómicos. _____	8
1.2.2.2 Descripción Botánica _____	9
1.2.2.3 Propiedades _____	9
1.2.2.4 Usos Farmacológico _____	9
1.2.2.5 Usos en medicina tradicional _____	10
1.2.2.6 Composición Química. _____	10
1.2.2.7 Actividad Farmacológica. _____	11
1.3 DROGAS VEGETALES. _____	11
1.3.1 Principios Activos _____	12

1.3.1.1 Metabolitos Primarios y Secundarios.	12
1.4 FLAVONOIDES	15
1.4.1. Estructura.	15
1.4.3 Clasificación de los flavonoides	16
1.4.4 Propiedades	16
1.5 APIGENINA 7-GLUCÓSIDO	18
1.5.1 Introducción	18
1.5.2 Propiedades	18
1.5.3 Mecanismos de acción	19
1.5.4 Formula molecula “Apigenina”	19
1.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO	21
1.6.1 Extracción de Materias Primas Vegetales	21
1.6.1.1 Tipos de extracción	22
1.7 DESHIDRATACION DE PLANTAS MEDICINALES	23
1.7.1 Porcentaje de humedad en plantas deshidratadas	24
1.8 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN	25
1.8.1 Ensayos de coloración	25
1.8.1.1 Ensayo de Shinoda	26
1.9 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA	26
1.9.1 Definición de cromatografía.	26
1.9.2 Concepto de Rf.	26
1.9.3 Cromatografía en capa fina. (CCf o TLC)	27
1.9.3.1 Eluyentes más comunes para cromatografía en capa fina	28
1.9.3.2 Reveladores más comunes para cromatografía en capa fina	28
1.9.3.3 Adsorbentes más comunes para Cromatografía en Capa Fina.	28
1.9.3.4 Factores que influyen en una separación por Cromatografía de Capa Fina.	29
1.10 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO	29
1.10.1 Espectrometría	29
1.10.2.1 Aplicaciones	30
1.10.3 Equipo utilizado: Espectrofotómetro ultravioleta-visible	31
1.10.4 Espectro ultravioleta-visible	32
1.11 CURVA DE CALIBRACIÓN	32
1.11.1 Introducción	32
CAPÍTULO II	36
2. METODOLOGÍA	36

2.1 TIPO DE ESTUDIO _____	36
2.2 POBLACIÓN Y MUESTRA _____	36
2.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES _____	38
2.4 PROCEDIMIENTOS _____	40
2.4.3 Técnicas, métodos e instrumentos _____	41
2.5 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS _____	43
2.5.1 Deshidratado de la manzanilla y matico _____	43
2.5.2 Métodos de extracción _____	44
2.5.2.1 Preparación de la muestra _____	44
2.5.2.2 Método de extracción _____	45
2.5.3 Análisis de identificación _____	46
2.5.3.1 Prueba de Shinoda _____	46
2.5.3.2 Cromatografía: (Cromatografía en capa fina) _____	47
2.5.3 Análisis Cuantitativo _____	49
2.5.3.1 Elaboración de la curva de calibración _____	49
2.5.3.2 Cuantificación de los extractos _____	50
CAPÍTULO III _____	51
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	51
3.1 DESHIDRATADO DE LAS PLANTAS MEDICINALES _____	51
3.1.1. Determinación de humedad _____	51
3.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE EXTRACTOS _____	53
3.3 IDENTIFICACIÓN FLAVONOIDES _____	56
3.3.1 identificación de Flavonoides _____	56
3.4. ANÁLISIS DE RESULTADOS CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA _____	58
3.5. ANÁLISIS ESPECTRÓMETRO UV- VISIBLE _____	60
3.5.1. Curva de calibración _____	60
3.5.2. Análisis de las longitudes de ondas de los extractos _____	62
CAPÍTULO IV _____	70
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES _____	70
4.1 Conclusiones _____	70
4.2 Recomendaciones _____	71
CAPÍTULO V _____	72
5. PROPUESTA _____	72
5.1 TÍTULO DE LA PROPUESTA _____	72
5.2 INTRODUCCIÓN _____	72
5.3 OBJETIVOS _____	73

5.4 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO –TÉCNICA _____	73
5.4.1 Plantas medicinales _____	73
5.4.1.1 Sustancias activas _____	74
5.4.1.2 Beneficios de las plantas medicinales _____	74
5.4.2 Manzanilla _____	74
5.4.3 Apigenina 7-glucósido _____	76
5.4.3.2 Propiedades _____	76
5.4.3.3 Mecanismos de acción _____	77
5.6 METODOLOGÍA _____	78
5.6.1 Operacionalización de variables. _____	79
5.6.2 Procedimientos _____	80
5.7 CRONOGRAMA _____	81
5.8 BIBLIOGRAFÍA _____	82
CAPÍTULO VI _____	83
6. BIBLIOGRAFÍA _____	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resumen de los principales metabolitos vegetales primarios y secundarios.	13
Tabla 2: Humedades de plantas medicinales deshidratadas.....	24
Tabla 3: Operacionalización de variables	39
Tabla 4: Determinación promedio de humedad	51
Tabla 5: Determinación del rendimiento del deshidratado de manzanilla y matico	52
Tabla 6: Rendimiento del deshidratado de matico	53
Tabla 7: Porcentajes de extracción de manzanilla fresca.....	53
Tabla 8: Rendimiento de los extractos de manzanilla deshidratada a 40°C.....	54
Tabla 9: Rendimiento de los extractos de manzanilla deshidratada a 70°C.....	54
Tabla 10: Rendimiento de los extractos de matico fresco.....	55
Tabla 11: Rendimiento de los extractos de matico deshidratado a 40°C.....	55
Tabla 12 Rendimiento de los extractos de matico deshidratado a 70°C.....	55
Tabla 13 Reacción de Shinoda para determinación cualitativa de flavonoides en manzanilla.	56
Tabla 14: Reacción de Shinoda para determinación cualitativa de flavonoides en matico.....	57
Tabla 15: Rf de los extracto de manzanilla y matico utilizando un fase movil 1.	59

Tabla 16: Rf de los extracto de manzanilla y matico utilizando un fase movil 2.	59
Tabla 17: lectura de la solución madre apigenina 7 glucósido de absorbancia.....	60
Tabla 18: Absorbancias y concentraciones de la curva de calibración de Apigenina 7 glucósido	61
Tabla 19: Lecturas en Espectrofotómetro (UV) de las bandas del extracto de manzanilla fresca y deshidratada	62
Tabla 20: Lecturas en Espectrofotómetro (UV) de las bandas del extracto de matico.....	63
Tabla 21: Cuadros comparativos de concentración de partes de manzanilla.....	64
Tabla 22: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla fresca.....	65
Tabla 23: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 40 ° C.....	65
Tabla 24: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 70 ° C	65
Tabla 25: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla fresca en base seca	66
Tabla 26: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 40 ° C base seca	66
Tabla 27: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 70 ° C base seca	66
Tabla 28: Resumen de Concentración	67
Tabla 29: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla fresca.....	67
Tabla 30: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 40 ° C	67
Tabla 31: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 70 ° C	68
Tabla 32: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla fresca base seca.....	68
Tabla 33: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 40 ° C base seca	68
Tabla 34: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 70 ° C base seca	69
Tabla 35: Resumen de Concentración de Matico	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1: Planta de manzanilla	4
Fig 2: Planta de matico.....	8
Fig 3: Estructura molecular base de los flavonoides	16
Fig 4: Fórmula Molecular “Apigenina”	20
Fig 5: Curva de Calibración	33
Fig 6 Interpolación Gráfica	34
Fig 7: Las diez plantas medicinales de uso más frecuente en la provincia de Chimborazo.	37
Fig 8: Muestra de materia prima.....	38
Fig 9: Reacción de Shinoda.....	58
Fig 10 : Placas cromatograficas en la cámara cromatografica	58
Fig 11: Espectro curva de calibración.....	61
Fig 12: Ilustración de la Curva de Calibración de apigenina 7 glucósidos.....	62

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Pruebas de deshidratado laboratorio UNACH	87
Anexo 2: Método de extracción.....	88
Anexo 3: Diagrama de extracción	91
Anexo 4: Método de extracción.....	92
Anexo 5: Análisis de identificación (cromatografía en capa fina)	93
Anexo 6: Análisis cuantitativo	95
Anexo 7: Norma INEN de plantas aromáticas	97

RESUMEN

El propósito de esta investigación fue analizar el grado de variación del contenido del principio activo (apigenina 7-glucosido) en la manzanilla (*matricaria chamomilla*) y matica (*budeja globosa*) fresco y deshidratado, la materia prima fue adquirida de las parcelas de la asociación Jambi kiwa ubicada en la provincia de Chimborazo.

Para desarrollar los objetivos planteados se aplicó exclusivamente métodos de extracción (maceración y agitación en un medio alcohólico) para su identificación y cuantificación se utilizó la prueba de shinoda, técnica de cromatografía y espectrofotometría UV-Visible.

En la identificación por cromatografía en capa fina del principio activo (Apigenina 7-glucosido) de los extractos se obtuvieron Rf de 0,69 similar a al estándar por lo que se concluye que este principio activo están presentes tanto en la manzanilla como en el matico.

Los resultados de apigenina obtenida en las muestras frescas y deshidratadas de las plantas medicinales expresadas en base seca presentan los siguientes porcentajes: en planta fresca se obtuvo 1,2 %, en deshidratada a 40°C y 70°C el contenido de apigenina es de 0.53 0.52%. En el matico el porcentaje de apigenina en fresco es de 0,27%, e muestra deshidratada a 40°C y 70 °C es de 0.074 y 0.079% respectivamente.

Con los resultados anteriores se concluye que existe una pérdida del principio activo al deshidratar de un 56% en la manzanilla y de 70% el matico



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE INGENIERIA
CENTRO DE IDIOMAS



Lic. Geovanny Armas
06 de Marzo de 2014

SUMMARY

The purpose of this research was to analyze the variation degree of the content of the active ingredient (apigenin 7- glucoside) in fresh and dehydrated chamomile (matricariachamomilla) and matico (globosabuddleja), the raw material was purchased from the plots of Jambi Kiwa association located in the province of Chimborazo.

In order to develop de objectives, some extraction methods (maceration and agitation in alcohol) were applied, for identification and quantification, the shinoda test was used; it is a UV-Visible chromatography and spectrophotometry technique.

In the identification by chromatography of the active ingredient thin layer (Apigenin 7-glucoside) from the extracts, an Rf of 0,69 similar to the standard was obtained, for this reason, it is concluded that this active ingredient is present in chamomile as well as in matico.

Apigenin results obtained in fresh and dehydrated samples of medicinal plants expressed as dry basis have the following percentages: fresh plant was obtained in 1.2% in at dehydrated plants 40 ° C and 70 ° C the content of apigenin is 0.53 and 0.52% respectively. In percentage matico fresh apigenin is 0.27%, and dried sample at 40 ° C and 70 ° C is of 0.074 and 0.079% respectively.

With the above results we conclude that there is a loss of the active ingredient to dehydrated 56% in chamomile and 70% in matico.



INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país reconocido por sus recursos productivos, uno de ellos son las plantas medicinales, las tendencias de la producción de plantas medicinales se han ido incrementando en estos últimos años en la provincia de Chimborazo, lo que muestra el aporte en el avance económico para el país.

La salud intercultural manifestada por los actores ancestrales llamados así a los médicos naturistas indígenas de nuestro sector ha recabado mucha experiencias que ha sido recibido por sus antecesores donde se observa preferencias de uso de algunas plantas medicinales, que lo utilizan como planta fresca o deshidratada preparándole de distintas formas: infusiones, te, aceites, extractos, capsulas, procedimientos que se aplican en las dolencias por personas que conocen las plantas medicinales.

Según datos obtenidos por el proyecto “Determinación de principios activos presentes en plantas medicinales de uso ancestral en la provincia de Chimborazo” se determino que las plantas medicinales más utilizadas son la Manzanilla Matico en un 52,40% y 51,20% respectivamente, estas contienen según bibliografía flavonoides son principios activos siendo uno de los más importantes la apigenina esta posee características valiosas de uso medicinal como: antiinflamatorias, antioxidantes, antiangiogénica, antialergizantes, antígenotóxicas y anticancerosas

Se escogió este tema porque nos interesa conocer si existe variación en el contenido del principio activo (apigenina) en manzanilla y matico, al deshidratar.

No existen estudios realizados en la escuela Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Chimborazo, sobre el tema antes mencionado.

Se planteo el objetivo de realizar un análisis comparativo del grado de variación del contenido del principio activo (apigenina -7 glucósidos) en planta fresca y deshidratada, por medio de esto comprobar la hipótesis

La presente investigación se trabajara conjuntamente con el proyecto “Diseño de un secador solar multiuso bajo condiciones físicas y meteorológicas de la ciudad de Riobamba”.

Para cumplir con los objetivo planteados realizaremos análisis cualitativos y cuantitativos en las plantas medicinales seleccionadas (manzanilla y matico).

La tesis contiene cinco capítulos; el primer contiene información teórica como: plantas medicinales, principios activos, flavonoides, apigenina. El segundo capítulo describimos la metodología utilizada. El tercer capítulo contiene los resultados y discusión verificando el cumplimiento de los objetivos planteados. El cuarto capítulo detallamos conclusiones y recomendaciones que nos permite cumplir los objetivos. El quinto capítulo realizar una propuesta para continuar con la investigación.

CAPÍTULO I

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA:

1.1 PLANTAS MEDICINALES

De acuerdo a la organización mundial de la Salud, “Una planta medicinal es cualquier planta que, en uno o más de sus organismos contiene sustancias que pueden ser usadas para propósitos terapéuticos”. [14]

Esta definición permite una distinción entre aquellas plantas medicinales cuyas características terapéuticas han sido científicamente comprobadas y otras plantas usadas en la medicina que no han sido aun estudiadas. [14]

1.1.1 Empleo

La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de droga vegetal, y puede suministrarse bajo diferentes formas galénicas: cápsulas, comprimidos, crema, decocción, elixir, infusión, jarabe, tintura, ungüento, etc.

Sólo raramente la planta entera tiene valor medicinal; normalmente los compuestos útiles se concentran en alguna de sus partes: hojas, semillas, flores, cortezas y raíces se utilizan con relativa frecuencia.

Los modos de aplicación varían del mismo modo; una forma frecuente de empleo es la infusión, en que el principio activo se disuelve en agua mediante una cocción más o menos larga.

Otras plantas se preparan en tinturas, se comen, se inhala el humo de su combustión, o se aplican tópicamente como emplastos o cataplasmas. [20]

1.2 PLANTAS UTILIZADAS

1.2.1 Manzanilla

La *Matricaria chamomilla*, es una planta herbácea y anual que se encuentra en todo sitio de verano y es conocida notoriamente por sus propiedades aromáticas.



Fig 1: Planta de manzanilla
Fuente: Revista Solo plantas medicinales

1.2.1.1 Aspectos taxonómicos

Clasificación Botánica

Familia: *Asteraceae*

Género: *Compositae*

Nombre Científico: *Matricaria chamomilla*

Nombres Comunes: Manzanilla, Camomila, Matricaria

1.2.1.2 Descripción y Hábitat

Se trata de una planta herbácea anual perteneciente a la familia de las Compuestas, caracterizada por presentar una altura de 30 cm aproximadamente; tallo cilíndrico erguido, ramoso, de color verde blanquecino; hojas alternas

dividas en pequeños segmentos muy finos. Cada ramita presenta en su extremo el botón floral de color amarillo lígulas de color blanco. Estas últimas corresponden a la parte unisexuada de la flor, mientras que la amarilla, ubicada en la zona central, en la parte hermafrodita. Los frutos son lineales amarillo-dorado y odita pequeños, elipsoidales y de color pardo. Florece a partir de mes de abril y continúa su floración hasta la primavera. [11]

1.2.1.3 Composición Química.

- El aceite esencial (0,2-1,8%) está compuesto de:
- Camazuleno, alfa-bisabolol (levomenol) óxidos de bisabolol, óxidos de bisabolona, beta-trans-farnesina, espatulenol.
- Flavonoides: principales la apigenina-7-O-glucosido, apigenina glucósido acetato luteol, apigenol, quercetol, agliconas incluyendo quercetina, isohamnetina, patuletina, apigenina agliconas, luteolin, crisoeriol y los glicósidos.
- Hidroxicumarinas: umbeliferona y herniaria.
- Mucílagos: urónicos, ramnogalacturonanos. .
- Lactonas sesquiterpénicas (principios amargos: matricina, matricarina, precursoras del camazuleno) y sales minerales (8-10%).
- Otros: aminoácidos, ácidos grasos, ácidos fenólicos, colina (más del 0.3%). [21]

1.2.1 4 Propiedades y usos.

Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de males, tales como afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia, flatulencia, gastralgia, gastritis, inflamación intestinal, parasitismo, indigestión, inapetencia), inflamación urinaria, amigdalitis, cefalea, convulsiones, difteria, dismenorrea, gota, histeria, insomnio, lumbago, ictericia e hidropesía, nerviosismo y reumatismo.

Tópicamente la decocción se usa en compresas, cataplasmas y emplastos para tratar afecciones dermo mucosas (hemorroides, hinchazón, llagas, raspones), inflamaciones, oftalmía, induraciones, tumores, cáncer y reumatismo.

Por vía oral se le atribuye propiedad anticatarral, antiemética, antiinflamatoria, aromática, calmante, carminativa, depurativa, diaforética, diurética, emenagoga, emoliente, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, sedante, sudorífica y tónica, por vía tópica se le atribuye propiedad antiséptica, antiflogística, antiinflamatoria, cicatrizante y vulneraria. [27]

1.2.1.5 Toxicología.

El manejo de las flores puede producir dermatitis de contacto y reacciones alérgicas, aunque su frecuencia es sumamente baja. El uso excesivo de la infusión puede ser abortivo por ser un estimulante uterino, de donde está contraindicado su uso en embarazadas. Sus compuestos no son tóxicos, se ha demostrado una DL50 del extracto crudo de 670 mg/kg en ratón. El camazuleno tiene una DL50 de 3 g/kg por vía intramuscular en ratón blanco. [21]

1.2.1.6 Acción Farmacológica

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra agentes causales de infección dérmica (*C. albicans*, *E. coli*, *P. aereuginosa* y *S. aureus*). El aceite esencial es activo contra *C. albicans*, *M tuberculosis*, *S. typhimurium* y *S. aureus*. El extracto acuoso es activo contra *M. cookei*.

El extracto de flores tiene actividad contra organismos fitopatógenos tales como: insecticida (*Blatta orientalis*, *Spodoptera litura*), contra ticks (*Dermacentor marginatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Ixodes redikorzevi*, *Rhipicephalus rossicus*) y contra nematodos (*Melodogyne incógnita*).

El extracto acuoso retarda el apareamiento de convulsiones [15].

1.2.1.7 Indicaciones de la manzanilla.

Gastritis, ulcus gastroduodenal, colitis, espasmos gastrointestinales, inapetencia, náuseas, vómitos, dispepsias hiposecretoras, meteorismo, disquinesias hepatobiliares, colecistitis, colitis. Ansiedad, nerviosismo e insomnio (incluso infantil), cefaleas. Bronquitis crónicas, asma. Dismenorreas.

En uso externo: blefaritis, conjuntivitis, eczemas, neuralgias, heridas, contusiones, estomatitis, aftas bucales, parodontopatías, vulvovaginitis, distrofia de la mucosa vaginal. [11]

1.2.1.8 Contraindicaciones de la manzanilla

Salvo indicación expresa, recomendamos abstenerse de prescribir aceites esenciales por vía interna durante el embarazo, la lactancia, a niños menores de seis años o a pacientes con gastritis, úlceras gastroduodenales, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hepatopatías, epilepsia, Parkinson u otras enfermedades neurológicas.

No administrar, ni aplicar tópicamente a niños menores de seis años ni a personas con alergias respiratorias o con hipersensibilidad conocida a éste u otros aceites esenciales.

No prescribir formas de dosificación con contenido alcohólico para administración oral a niños menores de dos años ni a consultantes en proceso de deshabitación etílica. [16]

1.2.1.9 Uso terapéutico y dosis de la manzanilla.

Uso interno:

Infusión: una cucharada de postre por taza. Infundir diez minutos. Tres o cuatro tazas al día, antes de las comidas.

- Aceite esencial: 2-3 gotas, una a tres veces al día. Recomendamos no superar las 5 gotas por toma.
- Polvo: 300-500 mg por dosis, una a tres tomas al día.
- Extracto fluido (1:1): 20-50 gotas, una a tres veces al día.
- Tintura (1:5): 50-100 gotas, una a tres veces al día.
- Extracto seco (5:1): 0,3 a 1 g/día, en tres tomas.
- Jarabe (5-10% de extracto fluido): 10 a 50 g/día. [16]

1.2.1.10 Uso externo

- Infusión: 50 a 60 g/l, aplicar en forma de compresas, lociones, lavados, baños oculares (isotonizar), colutorios, irrigaciones vaginales o enemas.
- Extracto glicólico (1:5), extracto fluido incoloro, extracto fluido, tintura, en forma de lociones, geles o cremas.
- Oleato de manzanilla. [16]

1.2.2 MATICO



Fig 2: Planta de matico
Fuente: Isidrovillavicencio

1.2.2.1 Aspectos taxonómicos.

Reino: *Plantae*

División: *Angiospermae*

Clase: *Magnoliopsida*

Especie: *Aristiguietia glutinosa* o *Eupatorium glutinosum*

N. común: Matico, Hierba de soldado, Chuzalongo

1.2.2.2 Descripción Botánica

Se trata de arbustos perennes que alcanza una altura de 1 a 3 m de altura. Presentan ramas grises, hojas aromáticas, opuestas de color verde brillante, de 7 – 10 cm. de largo por 2.5 – 3.5 cm. de ancho, con bordes dentados y envés claro. Las flores son tubulares, en espigas solitarias, de tonalidad fucsia y brácteas marrón oscuro. El fruto es de color negro y contiene una semilla pequeña oscura en su interior.

Crece en la región interandina del Ecuador, entre 3.000 a 3.700 m sobre nivel del mar, así como también a la vera de los caminos, matorrales cordilleranos y plantaciones de piretro. [23]

1.2.2.3 Propiedades

La medicina tradicional le atribuye propiedades variadas. Las hojas en decocción se usan como cicatrizante en el tratamiento de hemorragias, en lavados antisépticos sobre heridas y en infusión para evacuar cálculos biliares, para aliviar o curar enfermedades del tracto respiratorio (antiinflamatorio, expectorante y antitusígeno), en dolencias gastrointestinales ("empacho", diarreas agudas o crónicas) y tópicamente en infusión de las hojas para hacer gárgaras.

1.2.2.4 Usos Farmacológico

Es usada como emoliente y protector de la piel. Es comercializado con éxito el jabón antiséptico de matico. [18]

1.2.2.5 Usos en medicina tradicional

La medicina tradicional la ha utilizado como infusión de las hojas y corteza en el tratamiento de quemaduras, úlceras internas y externas y en la cicatrización de heridas.

Las hojas son utilizadas para lavar heridas y las hojas pulverizadas para curar úlceras y viejas heridas.

La infusión de las hojas se administra oralmente para tratar hemorroides, hepatitis y catarro. El tratamiento de úlceras y verrugas usando los jugos e infusiones de las hojas, también ha sido descrito. La infusión de las hojas también se ha empleado como antiséptico urogenital. [19]

1.2.2.6 Composición Química.

El componente activo más importante en la planta, desde el punto de vista cuantitativo, y al que se atribuye en parte sus virtudes cicatrizantes, es el tanino. Esta sustancia se encuentra en una concentración de 5,7%. También contiene cumarinas, flavonoides, alcaloides, esteroides, triterpenos, saponinas y fenoles. [18]

Del extracto bioactivo de diclorometano se ha aislado una mezcla de esteroides siendo el glucósido de β -sitosterol el más abundante, junto con stigmasterol, campesterol y β -sitosterol. [5]

Los feniletanoides y flavonoides fueron los compuestos más abundantes del extracto metanólico, en especial verbascosido, 7-O-glucosido de luteolina, quercetina, 7-O-glucosido de apigenina siendo los dos primeros los mayoritarios [2].

1.2.2.7 Actividad Farmacológica.

Los estudios de laboratorio realizados, han confirmado la acción cicatrizante, antiinflamatoria, antiséptica del matico y como inhibe las bacterias: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y los hongos *Cryptococcus neoformans* y *Trichophyton mentagrophyte*.

Aunque no se conoce con exactitud la biotoxicidad de esta planta, la etnomedicina lo considera como una de las plantas con propiedades medicinales, que no produce efectos secundarios cuando se usa en la dosis adecuada. [24]

1.3 DROGAS VEGETALES.

Son aquellas partes de una planta medicinal que contienen en mayor o menor proporción uno o varios de los principios activos que se extraerán posteriormente; y son hojas, flores, frutos, tallos, raíces, semillas. Las hojas son ricas en heterósidos y alcaloides, el tallo es solo una vía de tránsito entre las raíces y las hojas sin embargo pueden tener los principios activos en la corteza o en la albura.

La raíz extrae el agua con sales minerales del suelo y la bombea hacia las hojas, acumula a menudo azúcares, otras veces vitaminas y alcaloides; la flor también contiene principios activos sobre todo es rica en pigmentos.

El conjunto de las pequeñas hojas y pedúnculos florales constituye las sumidades florales.

Los frutos carnosos constituyen una reserva de vitaminas, ácidos orgánicos y azúcares. [12]

1.3.1 Principios Activos

Los principios activos son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal. [6]

Son los fármacos y son aquellos componentes de las plantas medicinales que tienen acción farmacológica y son extraídos a partir de una droga vegetal, con la finalidad de provocar una acción en el organismo.

Estos pueden ser de diferentes tipos y se los puede clasificar en dos grandes grupos: metabolitos primarios y secundarios. [12]

1.3.1.1 Metabolitos Primarios y Secundarios.

Las especies vegetales poseen diversos componentes en su estructura, los cuales sin lugar a duda son importantes para el desarrollo, crecimiento y mantenimiento de las plantas. Estos componentes son de diversa naturaleza química, por lo que se les clasifica en dos grandes grupos: orgánicos e inorgánicos. [12]

Los componentes inorgánicos más importantes son el agua y los minerales.

El agua, se encuentra en cantidad variable de acuerdo a la especie y a la parte de la planta así, “las hojas y los tallos contienen más cantidad de agua, hasta un 80% en algunos casos, mientras que las semillas contienen menos cantidad” [12]

Los minerales pueden presentarse en diversas formas como sales solubilizadas (cloruros, nitratos, fosfatos, etc.), sales cristalizadas (carbonato cálcico, oxalato cálcico, etc.), además se encuentran oligoelementos (magnesio, hierro, manganeso, flúor, etc.). Los minerales se encuentran combinados con las sustancias orgánicas dentro de las especies vegetales.

Dentro de los *componentes orgánicos* podemos citar tanto a los metabolitos básicos o primarios relacionados con el metabolismo esencial celular y los metabolitos secundarios que no están necesariamente relacionados con el

metabolismo esencial pero son en su mayoría responsables de la actividad terapéutica de las drogas vegetales, los más importantes se resumen en la Tabla 1:

Compuestos procedentes del Metabolismo Primario	Compuestos procedentes del Metabolismo Secundario
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Glúcidos ▪ Lípidos y Grasas ▪ Aminoácidos ▪ Proteínas ▪ Ácidos Nucleicos ▪ Compuestos Nitrogenados ▪ (glucósidos cianogénicos, enzimas) 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Isoprenoides: terpenos, aceites esenciales, saponinas, cardiotónicos ▪ Derivados Fenólicos: fenoles simples, ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, lignanos, quinonas, flavonoides: antocianinas ▪ Alcaloides

Tabla 1: Resumen de los principales metabolitos vegetales primarios y secundarios.

Fuente: Kuklinski; 2000

1.3.1.1.1 Metabolitos Secundarios

Las rutas metabólicas básicas constituyen los orígenes del metabolismo secundario de las plantas, dando lugar a una variada serie de compuestos, algunos de estos son responsables de olores, colores de los vegetales, otros son responsables de virtudes culinarias, medicinales o venenosas.

Los metabolitos secundarios se acumulan en grandes cantidades en las células vegetales o pueden ser expulsados fuera de éstas. [12]

Los metabolitos secundarios más importantes son:

Isoprenoides: Se forman a través de la ruta del ácido mevalónico a partir de la Acetil CoA, en donde se incorpora unidades de C5, presentan estructuras diversas y pueden encontrarse como tal o formando parte de compuestos más complejos.

A los isoprenoides se los puede clasificar de la siguiente manera:

- Terpenos
- Aceites esenciales
- Saponinas
- Heterósidos cardiotónicos

Alcaloides: Los alcaloides típicos son de origen vegetal, contienen uno o más átomos de nitrógeno (generalmente en anillo heterocíclico).

Derivados fenólicos: Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo hidroxilo en un anillo aromático, que les confiere una estructura fenólica.

Existen dos rutas básicas implicadas en su biosíntesis: La ruta del acetato que conduce a la formación de cadenas policíclicas que mediante ciclación, dan lugar a compuestos policíclicos aromáticos y la ruta del ácido shikímico que es precursor de una serie de ácidos benzoicos hidroxilados y aminados. En la mayoría de los casos los compuestos aromáticos provienen de ésta ruta y suelen formarse por desaminación de aminoácidos aromáticos. [8]

Se describirán los compuestos fenólicos más importantes, entre ellos tenemos: fenoles simples, ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, lignanos, quinonas, flavonoides: antocianinas, etc.

- Fenoles simples
- Ácidos fenólicos
- Taninos
- Cumarinas
- Lignanos
- Quinonas

1.4 FLAVONOIDES

Los flavonoides constituyen un grupo amplio de fenoles naturales, se encuentran tanto como agliconas libres o en forma de heterósidos.

En la actualidad se conocen más de 2000 de estos compuestos, de los cuales unos 500 se encuentran en estado libre.

Los flavonoides proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y policétidos. Están ampliamente distribuidos en las plantas superiores, sobre todo en las partes aéreas: hojas, flores, frutos.

Por regla general los flavonoides son insolubles en éter de petróleo, lo que permite desengrasar un material antes de extraer. [9]

1.4.1. Estructura.

Los flavonoides poseen como unidad básica un esqueleto de quince átomos de carbono provenientes de la malonil CoA y del p-cumaril CoA. Son estructuras del tipo C6-C3-C6 con dos anillos aromáticos (A y B) unidos entre sí por una cadena de tres carbonos ciclada a través de un oxígeno (anillo C). Todos los flavonoides poseen un grupo carbonilo en la posición 4 y las variaciones se producen en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad C3 y en el anillo B. son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático y por lo tanto son estructuras polifenólicas. De los tres anillos, el anillo A se biosintetiza a través de la ruta de los policétidos y el anillo B y C proceden de la ruta del ácido shikímico. [9]

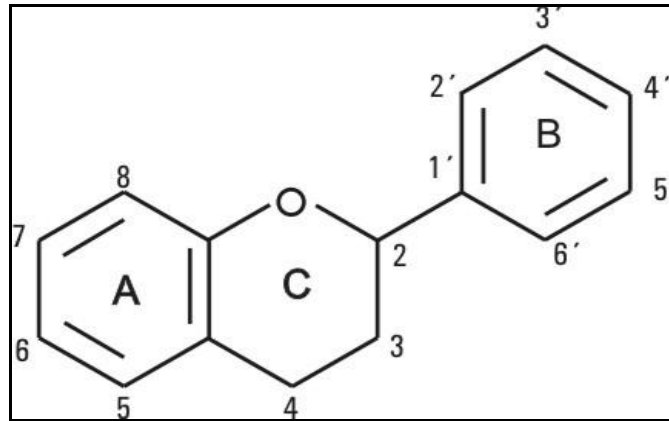


Fig 3: Estructura molecular base de los flavonoides

Fuente: Wikipedia

1.4.3 Clasificación de los flavonoides

Los flavonoides se pueden clasificar dependiendo de la estructura de su esqueleto base, teniéndose, así: [22]

- Flavanona
- Dihydroflavonol
- Flaván-3,4-diol
- Flavona
- Flavonol

1.4.4 Propiedades

Aunque los flavonoides han sido empleados desde mucho tiempo como colorantes de lana, se les atribuye diversas propiedades en las plantas, estos compuestos poseen también importancia farmacológica, entre ellos podemos citar:

Propiedades antioxidantes: la mayoría de ellos, especialmente las catequinas del te verde, tienen una alta capacidad para neutralizar los radicales libres e impedir los perniciosos efectos que ejercen en la salud de nuestro organismo. Usado como

complementos en combinación muchas veces con la vitamina C pueden ser capaces de neutralizar ciertos virus como los del herpes.

Propiedades anticancerosas: muchos flavonoides se han mostrado tremendamente eficaces en el tratamiento del cáncer.

Propiedades cardiotónicas: tienen un efecto tónico sobre el corazón, potenciando el musculo cardiaco y mejorándole la circulación.

Fragilidad capilar: mejoran la resistencia de los capilares y favorecen el que estos no se rompan, por lo que resultan adecuados para prevenir el sangrado.

Propiedades antitrombóticas: la capacidad de estos componentes para impedir la formación de trombos en los vasos sanguíneos posibilidad una mejor circulación.

Disminución de colesterol: su capacidad para rebajar el colesterol y los triglicéridos supone una ventaja en la salud del aparato circulatorio.

Antinflamatorios y analgésicos: La apigenina y otros flavonoides, se han utilizado para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis.

Antimicrobiano: La mayoría de estos principios han demostrado tener propiedades antivirales, anti fúngicas y antibacterianas.

Protección a los vegetales: contra la incidencia de rayos ultravioleta y visible, así como protección contra insectos, hongos virus y bacterias,

Atrayentes de animales: con finalidad de polinización, [12]

Como características generales de estos compuestos debemos señalar su solubilidad en agua y etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la

región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados. Una clasificación preliminar del tipo de flavonoide en un extracto de planta, puede hacerse basado inicialmente en un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color; esto, seguido por un examen cromatográfico directamente del extracto y/o del extracto hidrolizado.

Todos los flavonoides poseen las características de ser poli fenólicos y Poseen un máximo de absorción de luz a los 280 nm [8]

1.5 APIGENINA 7-GLUCOSIDO

1.5.1 Introducción

La apigenina 7-glucosido es un flavonoide natural presente en las frutas y las verduras, como el perejil, la cebolla, el apio, la manzanilla, el té o el pomelo. Una de las fuentes más comunes de consumo de apigenina es la chamomila. La apigenina también está presente en el vino tinto y en la cerveza. La apigenina está reconocida como un flavonoide bioactivo. [3]

La apigenina se halla en cantidades elevadas en perejil, tomillo y hierbabuena. La apigenina también puede encontrarse en varias hierbas, pero más prominentemente en la manzanilla (*Matricaria chamomilla*). [6]

Estandarización: no debe contener no menos de 0,4 de aceite esencial y no menos de 0,3% de 7- glucósido de apigenina. [10]

1.5.2 Propiedades

Los estudios epidemiológicos sugieren que una alimentación rica en flavona reduciría el riesgo de determinados cánceres, en particular los de mama, tubo digestivo, piel y próstata. Se ha sugerido que la apigenina 7-glucosido tendría una acción protectora en otras enfermedades en las que se produce un proceso oxidativo, como los trastornos cardiovasculares y neurológicos.

La apigenina tendría también propiedades destoxicantes, al inducir la UGT glucuronosiltransferasa, responsable de la reacción de conjugación del ácido glucurónico.

Esta reacción es la principal vía de eliminación de los medicamentos, de los xenobióticos (carcinógenos y sustancias fitoquímicas) y de los sustratos endógenos como la bilirrubina y los esteroides.

Propiedades importantes como son: Antiinflamatorias, Antioxidantes, Antiangiogénica, Antialergizantes, Antigenotóxicas y Anticancerosas.

Tiene potencial para reducir el riesgo de cáncer, ya que tiene actividad anti-tumoral.

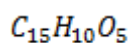
Poco a poco, esta sustancia ha generado un amplio interés a nivel mundial por sus extraordinarias propiedades para la salud en general, pero sobretodo por sus prometedores resultados en la lucha contra el cáncer. [3]

1.5.3 Mecanismos de acción

La apigenina 7-glucosido posee propiedades quimiopreventivas y antiinflamatorias. En efecto, tras la exposición solar, induce un fuerte aumento de la apoptosis, el mecanismo de suicidio celular. [6] Inhibe la liberación de prostaglandina, de nitrito y de ácido araquidónico. [3]

La apigenina posee numerosas propiedades vasculares. Reduce la fragilidad de los capilares sanguíneos, reforzando la matriz dérmica que sostiene la red microvascular. En efecto, inhibe una colagenasa, la metaloproteinasa de matriz 1 y reduce su expresión a través de la inhibición de la activación de la proteína AP-1. De este modo, reduce la degradación del colágeno de la matriz dérmica. [3]

1.5.4 Formula molecula “Apigenina”



Punto de fusión y solubilidad: mp 256-258 ° C

Breve: Polvo Amarillo

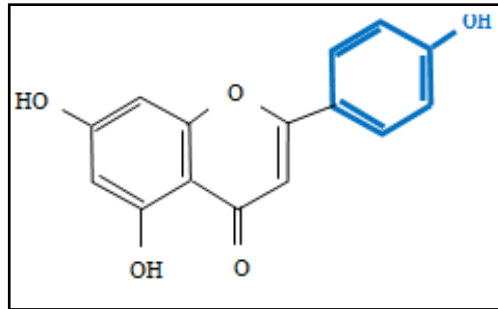


Fig 4: Formula Molecular “Apigenina”
Fuente: Flavonoids and flower color

1.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El Tamizaje Fitoquímico o "screening" fitoquímico es la etapa inicial de la investigación para determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y a partir de allí realizar la extracción para el aislamiento de los grupos de mayor interés, utilizando los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración. [13]

Consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración; debe permitir la evaluación rápida con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo, los resultados del mismo constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse. [13]

1.6.1 Extracción de Materias Primas Vegetales

En la industria se utiliza preferencialmente como materia prima, el material vegetal seco, una vez que este material se sometió a procesos de secamiento y estabilización. El secado del material en cuestión interrumpe los procesos enzimáticos en las células vegetales e impide el crecimiento de microorganismos, facilitando el almacenamiento y transporte de este material sin los riesgos de deterioro.

Para la elaboración de medicamentos a base de material vegetal se debe tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los principios activos contenidos en dicha planta, los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender del procedimiento técnico y de la naturaleza química del principio activo. [22]

1.6.1.1 Tipos de extracción

Percolación: Es un método que consiste en que el menstuo (generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica) atraviesa la masa de droga pulverizada siempre en un solo sentido, alcanzando concentraciones crecientes de tal modo que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza, por lo que la droga bañada siempre por nuevas proporciones de menstuo acaba por ceder todos sus componentes solubles de manera progresiva.

Éste tipo de extracción se realiza en recipientes (percoladores) cilíndricos o cónicos que poseen dispositivos de carga y descarga, lográndose una extracción total de los principios activos (prácticamente se obtiene hasta el 95% de sustancias extraíbles); se debe tomar en cuenta que el tiempo en el que la droga permanece en contacto con el menstuo y la relación existente entre la droga y el líquido extractivo (cantidad de disolvente), son dos factores decisivos dentro de la percolación. “La percolación es el método extractivo menos adecuado en el caso de gran gelificación o si las drogas son muy voluminosas” [26]

Maceración: Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga con el menstuo constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el menstuo actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos y disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular.

Es el procedimiento de extracción más simple, al conjunto de droga más solvente se lo protege de la luz, para evitar posibles reacciones y debe agitarse continuamente (tres veces por día, aproximadamente); el tiempo de maceración es diverso, las distintas Farmacopeas prescriben tiempos que oscilan entre cuatro y

diez días. A partir de este método no se consigue el agotamiento de las sustancias extraídas. “Cuanto mayor sea la relación entre el líquido extractivo y la droga, tanto más favorable será el rendimiento”. [26]

Decocción: Llamada también cocimiento, este procedimiento consiste en llevar a la mezcla de droga más menstroo a la temperatura de ebullición del agua, manteniendo esta temperatura durante un período variable que suele oscilar de 15 a 30 minutos. [26]

Infusión: Es el proceso en cual se somete a la droga previamente humedecida al contacto con el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua por cinco minutos, se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se prepara al 5%. [26]

Digestión: “Es una maceración realizada a una temperatura suave que oscila alrededor de los 50 o 60° C”. Al aumentar medianamente la temperatura se consigue un mayor rendimiento de la extracción, puesto que disminuye la viscosidad del solvente lo que hace que éste pueda ingresar más rápidamente al interior de las células y así extraer los principios activos. [26]

1.7 DESHIDRATACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES

El secado de una planta no es más que el proceso de extraer la humedad que contiene, para evitar que se pudra, enferme o pierda las sustancias activas, además de permitir su almacenamiento por un tiempo determinado antes de su utilización. En muchas ocasiones, antes de secar las plantas, se riegan incluso para limpiarlas de tierra o polvo; se preparan, separan, trocean, etc., según el caso, para a continuación proceder al secado propiamente dicho. Éste se puede realizar con calor natural o artificial; sea cual sea el sistema, el propósito es eliminar progresivamente la humedad contenida en las partes útiles, mediante técnicas

adecuadas a cada especie de forma que no se pierdan o devalúen las sustancias que se pretender retener.

El secado y almacenamiento de las plantas medicinales hasta el momento de su utilización, requiere una serie de técnicas aplicables incluso a otro tipo de plantas, como las especias o las de uso industrial, pero especialmente importante en las medicinales, las cuales, dado el fin que se les va a dar, precisan conservar las sustancias activas en su máximo grado de efectividad. [23]

1.7.1 Porcentaje de humedad en plantas deshidratadas

La cantidad de agua a extraer no debe superar ciertos valores, la planta no debe presentarse al comercio reseca y quebradiza, tal que al manipularla se convierta en polvo. En general, en el comercio existen valores establecidos de contenido de humedad para cada hierba o sus partes para mantener las propiedades. [23]

HIERBA	HUMEDAD MAXIMA
Albahaca dulce	10 %
Manzanilla	9 %
Matico	9 %
Laurel hojas	9 %
Eneldo	10 %
Mejorana	10 %
Orégano	11 %
Romero	9 %
Salvia	10 %
Ajedrea	12 %
Estragón	10 %
Tomillo	9 %

Tabla 2: Humedades de plantas medicinales deshidratadas

Fuente: Revista Post cosecha-secado Métodos

1.7.2 Equipo utilizado: Deshidratador de bandejas

El deshidratador de bandejas está especialmente diseñado para secar frutos, plantas medicinales y hortalizas mediante flujo de aire a contracorriente. De uso universal.

Principio: Se compone de una cámara de secado donde se disponen 4 bandejas de acero inoxidable y ranurado, donde se deposita la materia prima preparada para secar. En un costado se sitúan los controles de temperatura y humedad del aire. Disponen de una antecámara donde se sitúa el sistema de admisión, salida y almacenamiento del aire. [1]

Mantenimiento: Todas las partes de la máquina son accesibles y se desmonta fácilmente permitiendo su fácil limpieza.

Capacidad: La capacidad de la máquina varía en función de la calidad de la materia prima y de la humedad final que se desee obtener. La capacidad de cada bandeja para fruta limpia de piel, hueso y semillas es aproximadamente de 80 kg. El equipo consta de 4 bandejas.

Construcción: La construcción general de la máquina se realiza en acero inoxidable AISI 304, exceptuando el material utilizado en la calorifiugación del equipo. [23]

1.8 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN

1.8.1 Ensayos de coloración

Los flavonoides se pueden reconocer experimentalmente mediante diferentes ensayos de coloración. A continuación se describen un ensayo general de

reconocimiento como es el ensayo de Shinoda, y otros ensayos más específicos para varias clases de flavonoides.

1.8.1.1 Ensayo de Shinoda

Los flavonoides con el núcleo benzopirona (p. ej. flavonas, flavonoles, flavanonas, etc.) Producen coloraciones rojizas cuando a sus disoluciones acuosas o alcohólicas se les adiciona magnesio seguido de HCl concentrado. Aunque no se conoce el mecanismo de esta prueba, es muy utilizada para reconocer esta clase de compuestos. [25]

1.9 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

1.9.1 Definición de cromatografía.

Recientemente la I.U.P.A.C define la cromatografía de forma más amplia como: “Método usado principalmente para la separación de los componentes de una muestra, en el cual los componentes son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido soportado en un sólido o en un gel (matriz). La fase estacionaria puede ser empaquetada en una columna, extendida en una capa, distribuida como una película, etc. [7]

1.9.2 Concepto de Rf.

Rf es el registro y se define como la distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación a la distancia que recorre el disolvente hasta el frente del eluyente.

La constante *RF* (Ratio of Front)

Rf es el registro, es una relación de distancia, y se define como:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida de la muestra}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

El valor de R_f depende de las condiciones en las cuales se corre la muestra (tipo de adsorbente, eluyente, así como las condiciones de la placa, temperatura, vapor de saturación.). Tiene una reproducibilidad de $\pm 20\%$ por lo que es mejor recorrer duplicados de la placa [7]

La distancia recorrida por el compuesto se mide en centímetros, generalmente desde el centro de la mancha. El máximo valor de R_f que se puede alcanzar es de 1, lo ideal para apigenina 7 glucosido es un R_f entre 0.6 y 0.65. [7]

1.9.3 Cromatografía en capa fina. (CCf o TLC)

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas.

La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares. [7]

Los tamaños de la placa para CCf convencional son: 20 x 20; 10 x 20 y 5x2.

1.9.3.1 Eluyentes más comunes para cromatografía en capa fina.

- Acetato de etilo
- Acetona
- Ácido acético
- Ciclohexano
- Cloroformo
- Diclorometano
- Dietil-eter, t-butil-éter
- Etanol
- Éter de petróleo
- Éter dietílico
- Iso-propanol
- Metanol
- N-pentano, n-hexano
- Tetracloruro de carbono
- Tolueno
- n-butanol

1.9.3.2 Reveladores más comunes para cromatografía en capa fina

- Las manchas de color son, por supuesto, inmediatamente visibles; las incoloras pueden revelarse mediante: [7]
- Luz UV: si la sustancia absorbe luz ultravioleta, se puede usar una fase estacionaria impregnada con un indicador fluorescente (F254 ó F366).
- La introducción de la placa en vapores de yodo.
- El rocío con una solución de magnesio/H₂S₀₄ 1:1 (dentro de un compartimiento especialmente protegido y bajo una campana de extracción de gases).
- Después calentar intensamente, por ejemplo, con un mechero hasta carbonizar los compuestos.

1.9.3.3 Adsorbentes más comunes para Cromatografía en Capa Fina.

- Sílica-gel (se utiliza en el 80% de las separaciones)
- Óxido de Aluminio ó Alúmina (ácida, neutra ó básica)
- Celulosa (Nativa o micro-cristalina)
- Poliamidas

Para la selección de adsorbentes deber tomar las siguientes consideraciones:

- Polaridad
- Tamaño de partícula
- Diámetro- Área Superficial
- Homogeneidad
- Pureza

1.9.3.4 Factores que influyen en una separación por Cromatografía de Capa Fina.

- Temperatura: a menor temperatura las sustancias se adsorben más en la fase o estacionaria.
- La cromatografía debe llevarse a cabo en un área sin corrientes de aire.
- Limpieza de las placas, muchas placas están contaminadas con grasa o agente plastificantes o adhesivos. Para el trabajo a pequeña escala, éstas deben limpiarse corriendo primero una mezcla de cloroformo y metanol y después dejar secar completamente antes de aplicar la muestra
- Pureza de los disolventes. [7]

1.10 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO

1.10.1 Espectrometría

La espectroscopia surgió con el estudio de la interacción entre la radiación y la materia como función de la longitud de onda (λ).

La espectrometría es la técnica espectroscópica para tasar la concentración o la cantidad de especies determinadas. En estos casos, el instrumento que realiza tales medidas es un espectrómetro o espectrógrafo.

La espectrometría a menudo se usa en física y química analítica para la identificación de sustancias mediante el espectro emitido o absorbido por las mismas. [10]

1.10.2 Espectrometría ultravioleta-visible

La espectrometría ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-Vis implica la espectroscopia de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible. Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes (el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano).

En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas.

Esta técnica es complementaria de la espectrometría de fluorescencia, que trata con transiciones desde el estado excitado al estado basal, mientras que la espectrometría de absorción mide transiciones desde el estado basal al estado excitado. [10]

1.10.2.1 Aplicaciones

La espectrometría UV/Visible se utiliza habitualmente en la determinación cuantitativa de soluciones de iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados.

Soluciones de iones metálicos de transición: Las soluciones de iones metálicos de transición pueden ser coloreadas (es decir, absorben la luz visible) debido a que los electrones en los átomos de metal se pueden excitar desde un estado electrónico a otro. El color de las soluciones de iones metálicos se ve muy afectado por la presencia de otras especies, como algunos aniones o ligandos. [10]

Compuestos orgánicos: Los compuestos orgánicos, especialmente aquellos con un alto grado de conjugación, también absorben luz en las regiones del espectro electromagnético visible o ultravioleta. Los disolventes para estas determinaciones son a menudo el agua para los compuestos solubles en agua, o el etanol para compuestos orgánicos solubles. Los disolventes orgánicos pueden tener una significativa absorción de UV, por lo que no todos los disolventes son adecuados para su uso en espectrometría UV. El etanol absorbe muy débilmente en la mayoría de longitudes de onda. La polaridad y el pH del disolvente pueden afectar la absorción del espectro de un compuesto orgánico.

Aunque los complejos de transferencia de carga también dan lugar a colores, éstos son a menudo demasiado intensos para ser usados en mediciones cuantitativas.

La ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de la solución. Por tanto, la espectrometría UV/VIS puede usarse para determinar la concentración de una solución. [10]

1.10.3 Equipo utilizado: Espectrofotómetro ultravioleta-visible

El instrumento utilizado en la espectrometría ultravioleta-visible se llama espectrofotómetro UV-Vis. Mide la intensidad de luz que pasa a través de una muestra (I), y la compara con la intensidad de luz antes de pasar a través de la muestra (I₀). La relación I / I₀ se llama transmitancia, y se expresa habitualmente como un porcentaje (%T). La absorbancia (A) se basa en la transmisión: [10]

$$A = - \log (\%T)$$

Las partes básicas de un espectrofotómetro son una fuente de luz (a menudo una bombilla incandescente para las longitudes de onda visibles, o una lámpara de arco de deuterio en el ultravioleta), un soporte para la muestra, una rejilla de

difracción o monocromador para separar las diferentes longitudes de onda de la luz, y un detector. [10]

1.10.4 Espectro ultravioleta-visible

Un espectro ultravioleta-visible es esencialmente un gráfico de absorbancia de luz frente a una longitud de onda en el rango del ultravioleta o la luz visible. Este espectro puede ser producido directamente con los espectrofotómetros más sofisticados, o bien pueden registrarse los datos de una sola longitud de onda con los instrumentos más simples. La longitud de onda se representa con el símbolo λ . Del mismo modo, para una determinada sustancia, puede hacerse un gráfico estándar del coeficiente de extinción (ϵ) frente a la longitud de onda (λ). Este gráfico estándar sería efectivamente "la concentración corregida" y, por tanto, independiente de la concentración. Para una sustancia determinada, la longitud de onda en la cual se produce el máximo de absorbancia en el espectro se llama λ_{max} , y se pronuncia "lambda-max". [10]

1.11 CURVA DE CALIBRACIÓN

1.11.1 Introducción

Dentro de las metodologías analíticas, las determinaciones cuantitativas tienen una especial relevancia en diversas actividades como la investigación, docencia, industria farmacéutica, alimentaria, en diagnóstico clínico, en cuestiones ambientales, etc. donde la información será utilizada para la toma de decisiones.

Uno de los métodos más utilizados para determinar la concentración de una muestra problema, es el método de la curva de calibración. Esta curva de calibración es una gráfica que relaciona la concentración de al menos cinco

soluciones de estándar de concentraciones conocidas, con la absorbancia de cada uno de ellos a la longitud de onda máxima (λ max). [25]

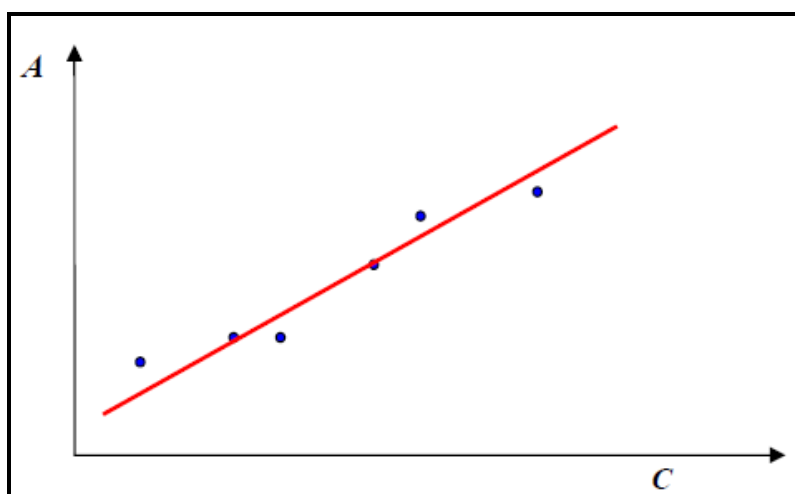


Fig 5: Curva de Calibración

Fuente: Skoog A. D, Holler J. F, Nieman T .A

Una vez obtenida la gráfica se determina la función matemática que presenta dicha recta a través del tratamiento estadístico de regresión de los mínimos cuadrados, la cual relaciona la absorbancia y la concentración de un analito. La siguiente ecuación matemática corresponde a dicha función.

$$A = m c + n$$

A : Absorbancia. *n* : Intercepto de la recta

m : Pendiente de la recta y que corresponde al producto entre absortividad *a* de la muestra y el espesor *b* de la cubeta.

Luego se mide la absorbancia de la solución problema y se interpola su valor en la gráfica o se reemplaza en la ecuación, para obtener el valor de concentración del analito. La concentración de la solución problema debe estar comprendida en el rango de concentración que comprende la curva de calibración. Si la concentración de la solución problema es menor que la concentración del estándar más diluido, debe usarse el método de adición estándar, que consiste en adicionar

un volumen determinado de un estándar concentrado a la solución problema, antes de realizar la lectura y que permite que esta lectura este dentro de las obtenidas para la curva de calibración. En el caso contrario, si la concentración del analito es mayor que la concentración del estándar más concentrado la solución problema deberá ser diluida.

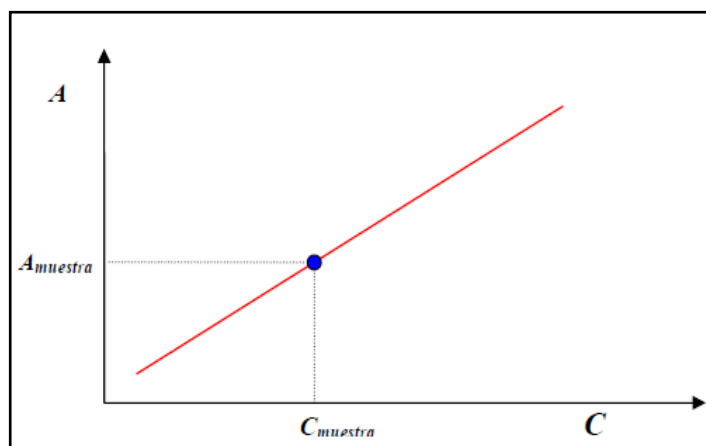


Fig 6 Interpolación Gráfica

Fuente: Skoog A. D, Holler J. F, Nieman T. A

Al hacer la curva de calibración, se debe emplear la longitud de onda de máxima absorbancia ($\lambda_{max.}$), para obtener una recta con la máxima pendiente y así tener mayor sensibilidad y precisión al hacer las mediciones.

La medición de la absorbancia de la solución problema debe hacerse a la misma longitud de onda que fue hecha la curva de calibración.

La obtención de una curva de calibración, nos permite cuantificar la concentración de muestras problema con cierto grado de certidumbre, es ahí donde la estadística y la química interaccionan para darle al químico analítico las herramientas necesarias para asegurar la calidad de los resultados generados en el proceso. Los químicos necesitan parámetros de calidad, se enumeran los criterios cuantitativos de funcionamiento de los instrumentos, criterios que se pueden utilizar para

decidir un determinado método instrumental es o no adecuado para resolver un problema analítico. Estas características se expresan en términos numéricos. Para un problema analítico dado, los parámetros de calidad permiten reducir la elección de los instrumentos a tan solo unos pocos y entonces la elección entre ellos ya se hace con los criterios cualitativos de funcionamiento. Para los parámetros de calidad se debe de tomar en cuenta criterios importantes como la precisión que es la reproductibilidad de resultados, es decir, al obtener el mismo resultado todas las veces que se repita el evento, pero la exactitud que también es un criterio toma en cuenta el acercamiento posible al valor real o verdadero. Para la determinación de errores sistemáticos o determinado de un método analítico nos referimos al sesgo.

[25]

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

La metodología utilizada en el proyecto de investigación se encuentra basada en la presentación de datos de análisis cualitativos y cuantitativos, para determinar el contenido del principio activo (apigenina 7-glucosido) de la manzanilla (*matricaria chamomilla*) y matico (*budeja globosa*) en planta fresca y deshidratada.

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Para el presente trabajo de investigación se aplicó dos tipos de metodología como son:

- Investigación bibliográfica o documental, recopilando información de libros, proyectos, tesis e internet.
- Investigación experimental o de laboratorio, realizando extracciones, por análisis físico-químico en muestras de planta fresca y deshidratada de manzanilla y matico.

2.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Las plantas seleccionadas para desarrollar los análisis son la manzanilla (*matricaria chamomilla*) y matico (*budeja globosa*), las cuales son las más utilizadas en la provincia de Chimborazo, según constan en las encuestas realizadas en el Proyecto “Determinación de principios activos presentes en

plantas medicinales de uso ancestral en la provincia de chimborazo”, en el cual se mencionan las personas que hacen uso aplicando en las dolencias que presentan sus paciente las diez más frecuentes resultaron en Manzanilla 52,40%, Matico 51,20%, Ortiga 33,30%, Marco 33,30%, Ruda 32,10%, Eucalipto 31%, Llantén 28,60%, Santa María, 26,20% Borraja 26,20%, Caballo chupa 25%.

En la fig.8 se demuestra las10 plantas de uso más frecuente en Chimborazo con sus respectivos porcentajes.

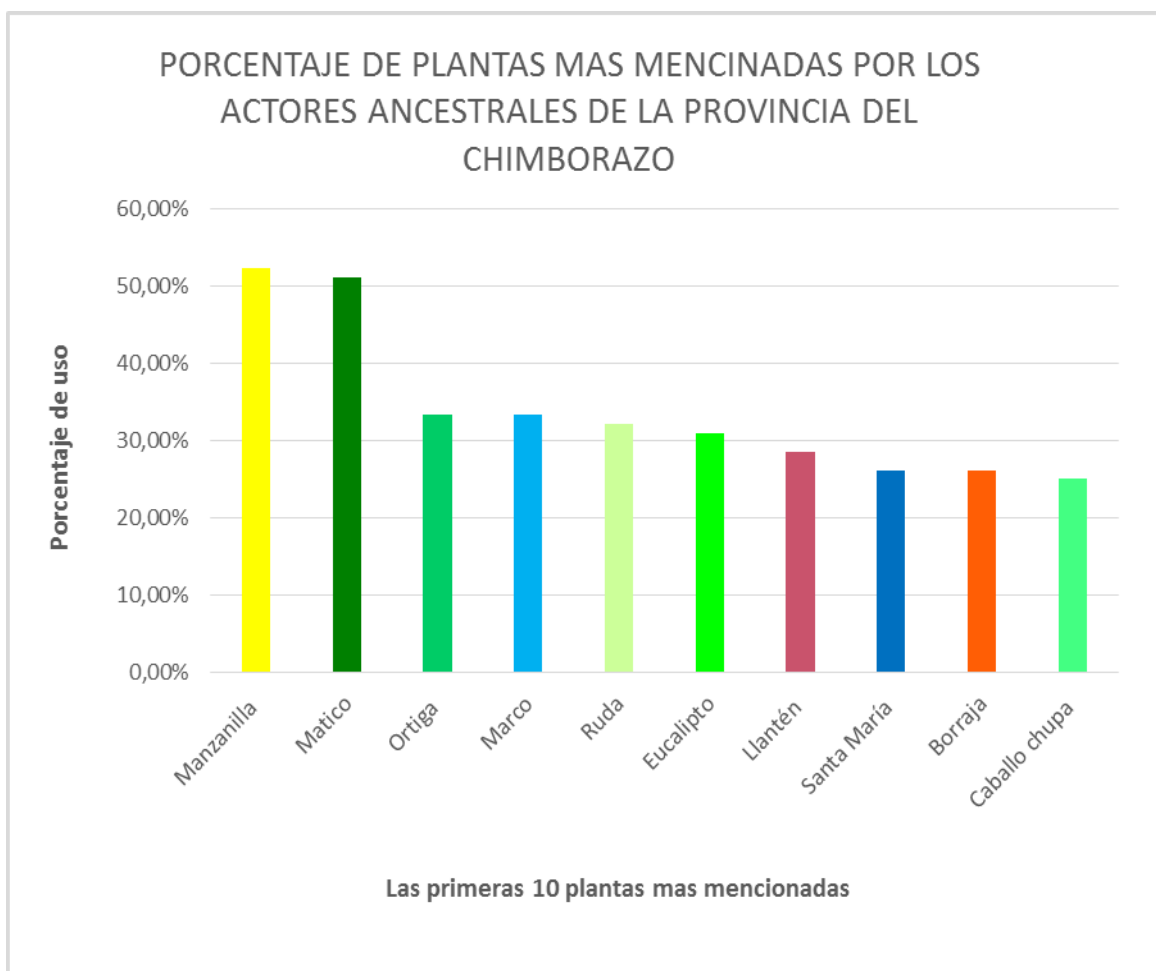


Fig 7: Las diez plantas medicinales de uso más frecuente en la provincia de Chimborazo.

Fuente: Revista Workshop plantas

La materia prima (manzanilla y matico) a ser analizadas fueron adquiridas de las parcelas de la asociación Jambí Kiwa, ubicado en el Barrio Santa Cruz, Parroquia Yaruquies, Cantón Riobamba.



Fig 8: Muestra de materia prima

Fuente: Sociedad plantas nativas

2.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

El proyecto estudia las variables independientes sobre las dependientes, para precisar la relación entre los mismos datos obteniendo.

VARIABLE	CONCEPTO	ÍNDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Dependiente Porcentaje Apigenina 7-glucosido	Son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal	Cromatografía de Capa Fina Prueba de Shinoda Porcentaje de apigenina	Rf Ausencia o presencia de flavonoides % de apigenina/100 gr de muestra
Independiente Planta fresca (manzanilla y matico)	Plantas medicinales frescas son aquellas plantas cuyas partes o extractos contienen el total de agua en sus partes y se utilizan como drogas o medicamentos para el tratamiento de alguna afección o enfermedad que padece un individuo o animal.	Cromatografía de Capa Fina Prueba de Shinoda Porcentaje de apigenina Determinación de humedad	Rf Ausencia o presencia de flavonoides % de gr/100 gr de producto % de humedad
	Plantas deshidratadas, la razón más importante desde el punto de vista técnico por la que secamos las hierbas es su conservación; por este método se promueve el mantenimiento de los componentes del vegetal fresco y se evita la proliferación de microorganismos.	Cromatografía de Capa Fina Prueba de Shinoda Porcentaje de apigenina Determinación de humedad Deshidratación	Rf Ausencia o presencia de flavonoides % de apigenina/100 gr de muestra % de humedad °T de deshidratado
Planta deshidratada (manzanilla y matico)			

Tabla 3: Operacionalización de variables

Fuente: Autoras

2.4 PROCEDIMIENTOS

Para cumplir con los objetivos planteados en esta investigación se realizan las siguientes actividades:

- **Deshidratado:** el deshidratado se realizó en el secador de bandejas localizado en los laboratorios de Ingeniería Industrial.
- **Extracciones:** las extracciones se realizó por maceración y agitación en las plantas tanto en las plantas frescas y deshidratadas, procedimiento realizado en el Laboratorio de control de calidad de ingeniería agroindustrial, ubicado en Facultad de Ingeniería bloque D.
- **Identificación de la apigenina:** la identificación cualitativa la apigenina se hace mediante cromatografía capa fina procedimientos que se realizó en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Chimborazo, Campus Norte “Ms. Edison Riera R.se identifico también a través de la Prueba de shinoda realizado en el Laboratorio de control de calidad de Ingeniería Agroindustrial.
- **Cuantificación de la apigenina:** se realizó por espectrofotometría UV-Visible, en el Laboratorio de control de calidad de ingeniería agroindustrial, ubicado en Facultad de Ingeniería bloque D.
- **Interpretación de resultados:** los resultados obtenidos se detalla y se interpreta en su respectivo capitulo.

2.4.3 Técnicas, métodos e instrumentos

Se aplicó exclusivamente las siguientes técnicas y métodos:

- 1) Método de extracción por maceración y agitación.
- 2) Técnica cromatográfica, utilizando el método de cromatografía de capa fina.
- 3) Técnica de espectrofotométrica en la región UV-Visible.

Los materiales, equipos y reactivos utilizados en los tres procedimientos son:

Cristalería:

- Pipetas
- Balones de 25 mL
- Erlenmeyer
- Varillas de agitación
- Embudo
- Probetas
- Magnetos
- Vasos de precipitación
- Tubos de ensayo

Equipo:

- Plancha de calentamiento y agitadora
- Secador de bandejas
- Equipo de filtrado al vacío
- Refrigerador
- Balanza analítica
- Espectrofotómetro UV-1603 (SHIMADZU)
- Celdas de cuarzo
- Placas cromatografías de sílica gel de plástico

- Soxhlet
- Rotavapor
- Termo balanza,

Reactivos:

- Estándar Apigenina 99% de pureza
- Etanol
- Éter etílico
- Limaduras de magnesio.
- Acido clorhídrico concentrado (HCl)
- Acetato de etilo
- Acido fórmico
- Ácido acético glacial
- Agua destilada
- N-butanol
- Ácido Acético
- Metanol
- Cloroformo
- Vainillina

Otros: papel filtro, tapones de hule, soportes de metal, mangueras, anillos, toallas, dedal.

2.5 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

A continuación se detalla el procedimiento que se siguió para cumplir los objetivos del presente trabajo de investigación:

2.5.1 Deshidratado de la manzanilla y matico

La temperatura del deshidratado de las plantas medicinales, manzanilla (*matricaria chamomilla*) y matico (*budeja globosa*) fue realizado en base a datos de temperatura manejados por la asociación Jambi Kiwa, que son de 40 y 7°C

A continuación se detalla cada uno de las actividades que se realizaron para el proceso de deshidratación de las dos especies medicinales.

- **Adquisición materia prima** (manzanilla y matico): Las plantas utilizadas deben estar en estado fresco. (recién cosechadas), las cuales fueron adquiridas en la Asociación Jambi Kiwa, ya lavadas y preparadas para la deshidratación.
- **Pesado:** Se pesó la materia prima para obtener rendimientos de cada especie con la ayuda de una balanza digital.
- **Deshidratado:** Las especies se introdujeron al equipo de secado (secador de bandejas), se determino previamente las humedades en el laboratorio, durante el deshidratado se determino el tiempo de secado hasta llegar a una humedad de 9% a las T° 40 y 70°C.
- **Enfriado:** Las especies deshidratadas se enfriaron a temperatura ambiente antes de envasar determinamos la humedad, antes de envasar.

- **Pesado:** Las hojas, flores y tallo deshidratados se pesaron con la ayuda de una balanza electrónica con el fin de determinar rendimientos a través del balance de materiales.
- **Envasado:** Se utilizaron fundas ziploc, las cuales nos brindan una máxima impermeabilidad.
- **Almacenado:** Las plantas secas se almacenaron en un lugar limpio, fresco, aireado, evitando el contacto directo con la luz solar y separada entre las plantas para evitar que estas intercambien olores.

Las fotografías de deshidratado se puede observar en el anexo 1.

2.5.2 Métodos de extracción

Se debe indicar que la extracción de la apigenina en muestras frescas se lo realiza inmediatamente que llega al laboratorio (una parte se deshidrata y la otra se realiza la extracción), se realizaron tres repeticiones en cada una de las muestras y por duplicado y repetición.

2.5.2.1 Preparación de la muestra

Las muestras de planta deshidratada y fresca se trituran hasta obtener una partícula completamente fina, con la ayuda de un triturador.

2.5.2.2 Método de extracción

El siguiente método fue utilizado en las dos plantas medicinales (manzanilla y matico), en estado fresco y deshidratado, el mismo que se adaptó de la metodología descrita en el artículo ver el anexo 2.

- Pesar 2 gr aproximadamente en una balanza analítica.
- Anotar el peso respectivo
- Colocar la muestra en cartuchos de papel filtro o de tela, para evitar que ocupe demasiado espacio en el recipiente, una vez humedecidas.
- Colocar los cartuchos en vasos de precipitación para la extracción, mediante agitación con 200 ml de alcohol etílico al 30%, operación que se realiza con la ayuda de una plancha agitadora con ayuda de agitadores magnéticos por un tiempo de 3.5 horas.
- Filtrar al vacío el extracto
- Evaporar hasta sequedad (evitando que no se quemé).
- Para desengrasar la muestra colocar 20 ml de éter etílico hasta cubrir el extracto seco, el mismo que se deja agitando durante 12 horas a temperatura ambiente y completamente tapado.
- Filtrar al vacío finalizado el tiempo de desengrasado.
- El extracto seco y desengrasado obtenido disolver con 5 ml de una solución de hidróxido de sodio 1N.
- Una vez disuelto todo el extracto trasvasar a un balón aforado de 100 ml y se completa con agua destilada (se debe disolver completamente el extracto seco, el recipiente del extracto debe quedar completamente limpio).
- La muestra o extractos obtenidos almacenar en un lugar oscuro.

Las fotografías y diagrama de la extracción se observa anexo 3 y 4.

2.5.3 Análisis de identificación

2.5.3.1 Prueba de Shinoda

Se utiliza esta técnica con la finalidad de determinar la presencia o ausencia de flavonoides en los extractos.

Procedimiento:

- Tomar una pequeña cantidad de muestra o extracto y se coloca en un tubo de ensayo
- Mezclar con 1 ml. de etanol.
- Agregar un pequeño trozo de magnesio, aproximadamente de 1 cm, si existe burbujeo se presume que hay flavonoides.
- Sujetar el tubo con unas pinzas y añadir 1 mL de ácido clorhídrico concentrado (HCl), se agita.
- Dejar reposar durante 15 minutos.
- Observamos los resultados.

Interpretación: Si existe cambio de coloración a tonalidad naranja. Se confirma la presencia de flavonoides, la cantidad de flavonoides se mide por la intensidad de color y los Rf se expresan con asterisco según el siguiente criterio; en que el número de asterisco indica mayor cantidad en función de su tonalidad como se detalla a continuación:

*** Naranja pálido**

**** Naranja**

***** Naranja encendido**

****** Naranja intenso**

2.5.3.2 Cromatografía: (Cromatografía en capa fina)

Esta técnica fue utilizada para identificar la flavona apigenina-7 glucósido.

Procedimiento:

Preparación de la fase móvil

Se realizaron varias pruebas utilizando algunas formulaciones de fase móvil para el corrido de las placas estas son:

- a) 12 ml n-butanol, 6 ml Acido Acético y 15ml agua destilada
- b) 20 ml Acetato de Etilo, 4 ml Acido Acético 4 ml H₂O destilada y 2 ml Metanol
- c) 20 ml Cloroformo y 13,3 ml de Acido Acético
- d) 4ml Acetato de etilo, 11 ml Acido Fórmico, 11 ml Acido Acético y 7 ml H₂O destilada.

Procedimiento:

- Mezclar los reactivos en su respectivo orden.
- Agitar durante 5 min en un frasco de vidrio.
- Colocar la solución a la cámara cromatografía, la cual debe permanecer tapada para evitar que se evapore la solución.

Preparación de las muestras

- Evaporar el extracto obtenido a sequedad
- Disolver el extracto adicionando 5ml de una solución de Hidróxido de Sodio 1N.

- Filtrar las muestras y colocar en tubos de ensayo
- Almacenar la solución en recipiente sellado, debidamente identificado para su posterior lectura.

Preparación de las soluciones estándares

- Pesar 1 mg del estándar de apigenina 7-glucosido al 99% marca CAL300-EM.
- Mezclar 5 mL de una solución de hidróxido de sodio 1N.
- Agitar la solución para homogenizarla.
- La solución se almacena recipiente sellado, debidamente identificado.

Preparación de la solución reveladora:

La solución reveladora se prepara de la siguiente manera:

- Preparar una solución de vainillina de 0,5% en etanol
- Preparar una solución de ácido sulfúrico de 30%
- Luego se mezcla las dos soluciones en una relación 1:1
- Con la solución procedemos a rociar la placa en la cámara de gases.

Preparación y corrida de la placa cromatografía:

- Se corta un área específica de un cromatofolio de plástico de sílice gel 60F254
- Se realizan los siguientes trazos: Un centímetro arriba de la parte inferior de la placa se traza una línea horizontal con lápiz, y a lo largo de esa línea se colocan 7 puntos, separados unos de otros por 1,3 cm de distancia. Ver anexo
- Colocar con un capilar cada muestra preparada y del estándar, en cada punto trazado en la placa cromatografía.
- Colocar una gota de la solución estándares que se preparó.
- Colocar la placa en la cámara cromatografía que contiene a la fase móvil.

- Dejar que la solución corra hasta que las muestras lleguen a una distancia de 2 cm de la parte superior de la placa.
- Retirar las placas y se colocan en la campana de gases durante un corto tiempo con la finalidad de que se seque la fase móvil.
- Revelar las placas
- Secar la placa en la estufa a 100 °C por 5 min.
- Determinar el Rf de los compuestos.

Las fotografías de cromatografía en capa fina observamos en el anexo 5.

2.5.3 Análisis Cuantitativo

Para poder determinar el contenido de apigenina 7-glucosido en las diferentes muestras, se aplica la técnica espectrofotométrica UV-visible, el procedimiento detallamos a continuación:

2.5.3.1 Elaboración de la curva de calibración

Para elaborar la curva de calibración se procede de la siguiente manera:

- Disolver 10 mg del estándar apigenina 7-glucosido en una solución de hidróxido de sodio 1 N y aforar a 25 ml con agua destilada.
- A partir de la solución madre preparada en las siguientes soluciones de concentraciones; 0.128, 0.512, 1.024, 1.536, 2.048, 2.56 mg/ 100ml.
- Realizar un barrido a lo largo del campo UV visible (200-900 nm) de las soluciones preparadas.
- Observar su espectro y determinar la longitud de onda con el pico de mayor absorbancia.
- Con la longitud de onda determinada, elaborar la curva de calibración, tomando las lecturas de concentración vs absorbancia.

2.5.3.2 Cuantificación de los extractos

En condiciones normalizadas de trabajo y realizando cuantificaciones por triplicado, se realiza el siguiente procedimiento:

- Tomar 1 ml, 2ml y 3 ml de la solución de las muestras de manzanilla y matico que se preparo en el pico de absorbancia 390. (2.5.2.2)
- Colocar en un balón y aforar con 100ml agua destilada.
- Agitamos para homogenizar
- Determinamos las absorbancias a 390 nm

Las fotografías se observan en el anexo 6.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se muestra los resultados obtenidos de la investigación “Análisis comparativo del grado de variación del contenido del principio activo (apigenina 7- glucósido) de la manzanilla (matricaria chamomilla) y matico (budeja globosa) fresca y deshidratada”.

3.1 DESHIDRATADO DE LAS PLANTAS MEDICINALES

3.1.1. Determinación de humedad

En la tabla 4 se indica los promedios de las humedades de las muestras frescas y muestras deshidratadas cabe recalcar que al deshidratar a 40 y 70 °C se llegaba a una humedad similar.

Plantas	Humedad inicial (%)	Humedad final (%)	
		40 °C	70 °C
Manzanilla	87,90	8,75	8,45
Matico	57,39	5,89	5,76

Tabla 4: Determinación promedio de humedad

Fuente: Autoras

3.1.2 ANÁLISIS DEL RENDIMIENTO EN DESHIDRATADO

Con el objetivo de determinar el rendimiento durante el proceso, para ello se estableció valores promedios de los tratamientos, para temperatura, tiempo, peso inicial y peso final, a continuación se detalla en las Tabla 5.

Para el cálculo del rendimiento de estas especies en estudio se toma en consideración hacerlo en forma total y para el proceso de deshidratado, haciendo uso de la siguiente expresión con cada una de las especies:

$$R = \frac{\text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100\%$$

En la tabla 5 y 6 el rendimiento al ser deshidratada la manzanilla y matico

	Repetición	Temperatura °C	Tiempo (horas)	Humedad %	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Rendimiento (gr/100gr muestra)
Manzanilla	1	40	4	8,76	37	8,73	23,59
	2			8,69	41	9,85	24,02
	3			8,57	39	9,26	23,74
	1	70	2	8,33	42	10,23	24,36
	2			8,74	40	9,56	23,90
	3			8,57	35	8,37	23,91

Tabla 5: Determinación del rendimiento del deshidratado de manzanilla y matico

Fuente: Autoras

	Repetición	Temperatura °C	Tiempo (horas)	Humedad %	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Rendimiento (gr/100gr muestra)
Matico	1	40	3,5	5,77	32	12,56	39,25
	2			6,10	43	17,32	40,28
	1	70	1,5	5,7	39	15,83	40,59
	2			5,72	35	14,23	40,66

Tabla 6: Rendimiento del deshidratado de matico

Fuente: Autoras

Los resultados de las tablas 5 y 6 Nos permite deducir que el al deshidratar a 40 y 70 °C, se obtiene un similar rendimiento en el deshidratados.

3.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE EXTRACTOS

Los extractos de manzanilla preparados según metodología (2.5.2) permiten obtener los porcentajes que se indican en las tablas 7, 8 y 9.

MANZANILLA FRESCA	DUPLICADO	PESO 1	PESO 2	%
R 1	1	29,97	7,42	24,76
	2	13,28	3,15	23,71
R 2	1	10,11	2,39	23,64
	2	21,73	5,36	24,66
R 3	1	17,67	4,03	22,81
	2	21,05	4,97	23,61

Tabla 7: Porcentajes de extracción de manzanilla fresca

Fuente: Autoras

MANZANILLA 40oC	DUPLICADO	PESO 1	PESO 2	%
R 1	1	9,52	2,51	26,33
	2	9,26	2,35	25,36
R 2	1	14,40	3,53	24,52
	2	15,04	4,02	26,74
R 3	1	13,88	3,20	23,08
	2	14,45	3,60	24,95

Tabla 8: Rendimiento de los extractos de manzanilla deshidratada a 40°C

Fuente: Autoras

MANZANILLA 70°C	DUPLICADO	PESO 1	PESO 2	%
R 1	1	3,62	0,92	25,41
	2	4,13	1,06	25,30
R 2	1	2,06	0,52	25,24
	2	2,23	0,57	25,56
R 3	1	2,22	0,54	24,32
	2	1,97	0,54	27,41

Tabla 9: Rendimiento de los extractos de manzanilla deshidratada a 70°C

Fuente: Autoras

El porcentaje promedio del extracto de manzanilla fresca es de 23,86 %, de manzanilla deshidratada a 40°C 25,16 % y a 70°C 25,70%.

El porcentaje de extracto a 70° C es mayor o igual que la de 40 °C se puede decir que aumentando la temperatura a 70°C igual el promedio de extracto.

Los extractos de matico preparados según metodología (2.5.2) permiten obtener los porcentajes que se indican en las tablas 10, 11 y 12

MATICO FRESCO	DUPLICADO	PESO 1	PESO 2	% 100g
R 1	1	19.3907	2.2579	11.64
	2	18.0876	1.85	10.23

Tabla 10: Rendimiento de los extractos de matico fresco

Fuente: Autoras

MATICO	DUPLICADO	PESO 1	PESO 2	% 100g
R 1	1	19.5369	2.804	14.35
	2	16.0073	2.19	13.68

Tabla 11: Rendimiento de los extractos de matico deshidratado a 40°C

Fuente: Autoras

MATICO	DUPLICADO	PESO 1	PESO 2	% 100g
R 1	1	14.6352	2.7052	18.48
	2	16.7034	2.9791	17.84

Tabla 12 Rendimiento de los extractos de matico deshidratado a 70°C

Fuente: Autoras

En cambio en el matico se puede observar a 40°C no alteran en mayor porcentaje al extracto, más bien se obtiene a mayor °T mayor rendimiento.

3.3 IDENTIFICACIÓN FLAVONOIDES

3.3.1 identificación de Flavonoides

La determinación cualitativa de flavonoides totales se realizó mediante la reacción de Shinoda, la cual se describe en la metodología (2.5.3.1), la tabla 13 y 14 muestra los resultados obtenidos. La reacción se considera positiva por la aparición de coloración naranja cuya intensidad se valorara por cruces.

	Repetición	Duplicado	Reacción positiva	Intensidad de la reacción
MANZANILLA FRESCA	1	1	+	**
		2	+	**
	2	1	+	**
		2	+	**
	3	1	+	**
		2	+	**
MANZANILLA DESHIDRATADA A 40 C	1	1	+	***
		2	+	***
	2	1	+	***
		2	+	***
	3	1	+	***
		2	+	***
MANZANILLA DESHIDRATADA A 70 C	1	1	+	***
		2	+	***
	2	1	+	***
		2	+	***
	3	1	+	***
		2	+	***

Tabla 13 Reacción de Shinoda para determinación cualitativa de flavonoides en manzanilla.

Fuente: Autoras

	Repetición	Duplicado	Reacción positiva	Intensidad de la reacción
MATICO FRESCO	1	1	+	*
		2	+	*
MATICO DESHIDRATADO A 40 C	1	1	+	*
		2	+	*
MATICO DESHIDRATADO A 70 C	1	1	+	*
		2	+	*

Tabla 14: Reacción de Shinoda para determinación cualitativa de flavonoides en matico.

Fuente: Autoras

Interpretación de la reacción:

* Anaranjado pálido,

** Anaranjado

*** Anaranjado encendido,

**** Anaranjado intenso)

La reacción de Shinoda para la determinación cualitativa de flavonoides practicada en las dos plantas seleccionadas manzanilla y matico para la presente investigación es positiva para todas las extracciones vegetales muestreadas, lo que nos permite concluir que la Investigación bibliográfica (25) realizada para la técnica y que señalaba presencia de flavonoides en las plantas citadas, coincide con los resultados obtenidos en la investigación experimental.

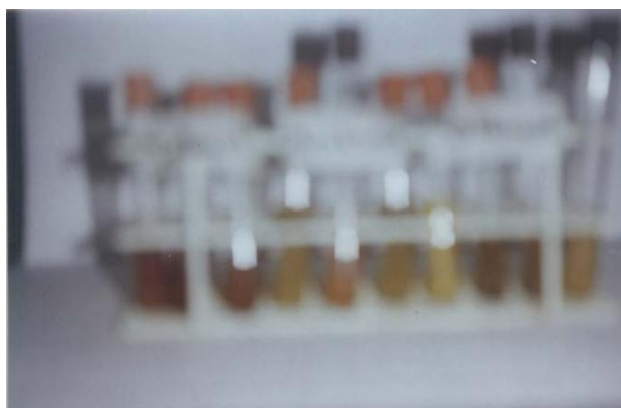


Fig 9: Reacción de Shinoda

Fuente: Autoras

3.4. ANÁLISIS DE RESULTADOS CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Por medio de la experimentación se demostró que las siguientes **fases móviles** definen de mejor manera las manchas de apigenina 7 glucósidos en los extractos:

1.- 40ml de acetato de etilo, 8ml ácido acético, 8ml agua destilada, 4ml de metanol

2.- 12ml n-butanol, 6ml ácido acético, 35ml agua.

En la figura 12, se puede observar las placas cromatograficas en la camara cromatografica.



Fig 10 : Placas cromatograficas en la camara cromatografica

Fuente: Las autoras

En las siguientes tablas, se puede observar los Rf determinados de los extractos:

Muestra		Color	Rf
E	Standar	Amarilla	0.609
1	Flor blanca de manzanilla	Amarilla	0.609
2	Hojas y 15cm de tallo manzanilla	Amarilla	0.609
3	Flor amarilla de manzanilla	Amarilla	0.609
4	Planta completa de manzanilla	Amarilla	0.609
5	Flor matico	Amarilla	0.609
6	Hojas y flor de matico	Amarilla	0.609

Tabla 15: Rf de los extracto de manzanilla y matico utilizando un fase movil 1.

Fuente: Autoras

Muestra		Color	Rf
E	Standar	Amarilla	0.609
1	Flor blanca de manzanilla	Amarilla	0.609
2	Hojas y 15cm de tallo manzanilla	Amarilla	0.609
3	Flor amarilla de manzanilla	Amarilla	0.609
4	Planta completa de manzanilla	Amarilla	0.609
5	Flor matico	Amarilla	0.609 - 0.4
6	Hojas y flor de matico	Amarilla	0.609 - 0.54

Tabla 16: Rf de los extracto de manzanilla y matico utilizando un fase movil 2.

Fuente: Autoras

En la fase móvil 1 se identificó en los extractos manchas al mismo nivel que el estándar de apigenina, además en las muestras 5 y 6 perteneciente a matico se visualizó dos manchas adicionales pertenecientes a otros compuestos, mientras en las corridas que con la fase móvil únicamente se identificó la apigenina 7 glucósidos en las muestras.

En las prueba cromatografía, se puede observar claramente las manchas en la placa cromatografía que demuestran la presencia de apigenina 7 glucósidos ya que se encuentran al mismo nivel todas las manchas al mismo nivel la mancha del estándar, con un R_f de 0,609 en todas las muestras, comparando con datos bibliografía (23) lo ideal para apigenina 7 glucosido es un RF entre 0.6 y 0.65 demostrando que en las dos plantas en estudio existe la presencia de apigenina 7 glucósido.

3.5. ANÁLISIS ESPECTRÓMETRO UV- VISIBLE

3.5.1. Curva de calibración

Para realizar la curva de calibración se realiza el espectro del estándar (fig 12), en el que se observa tres picos (tabla 17), el pico que mayor absorbe es en una absorbancia de 390 nm que es el que se tomara para realizar la curva y leer las muestras.

En la tabla 17 detallamos las absorbancias de los picos característicos del estándar de apigenina

λ (nm)	ABS
390	1.5383
321	0.7346
274	1.0919

Tabla 17: lectura de la solución madre apigenina 7 glucósido de absorbancia
Fuente: Autoras

En la figura 12, se puede observar el espectro de la curva de calibración

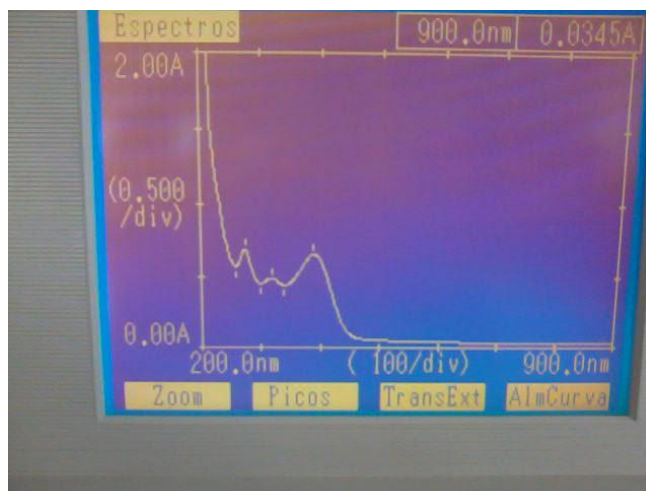


Fig 11: Espectro curva de calibración
Fuente: Autoras

En la tabla 18 se indica las absorbancias de los 6 patrones con las que se realiza la regresión lineal (fig 13) para poder cuantificar las muestras. Cabe indicar que la linealidad es de $R^2= 0,9994$.

PATRON	ABS	Conc mg/100g
A	0.165	0.128
B	0.538	0.512
C	1.019	1.024
D	1.507	1.536
E	1.983	2.048
F	2.404	2.56

Tabla 18: Absorbancias y concentraciones de la curva de calibración de Apigenina 7 glucósido
Fuente: Autoras

En la figura 13, observamos la curva de calibración de la apigenina 7-glucosido

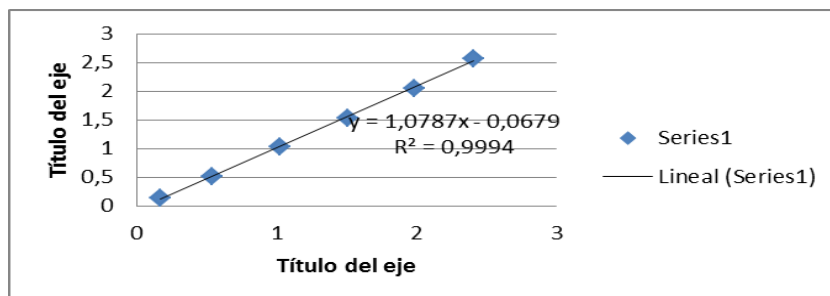


Fig 12: Ilustración de la Curva de Calibración de apigenina 7 glucósidos
Fuente: Autoras

3.5.2. Análisis de las longitudes de ondas de los extractos

En las tablas 19-20 conjuntamente con las Fig. 14 y 15 se indica la longitud de onda de las muestras de manzanilla y matico tanto fresco como deshidratado, en ellos se puede observar el pico característico a 390 nm que se encuentra en el patrón.

Repetición	Duplicado	λ (nm)		
		Manzanilla fresca	Manzanilla 40 C	Manzanilla 70 C
1	1	372	366	381
		262	262	268
	2	371	367	369
		262	260	268
2	1	389	376	380
		270	268	268
	2	373	378	381
		270	269	269
3	1	371	376	380
		271	269	269
	2	377	379	381
		272	268	268

Tabla 19: Lecturas en Espectrofotómetro (UV) de las bandas del extracto de manzanilla fresca y deshidratada .

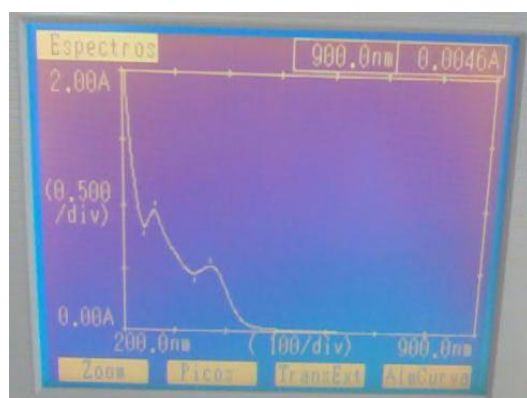


Fig 14: Espectro extracto manzanilla
Fuente: Autoras

Las absorbancias obtenidas de cada una de las muestras de manzanilla se encuentran en los rangos de los picos representativos del estándar apigenina glucósido por lo que se demostró q en la manzanilla existe apigenina

Repetición	Duplicado	λ (nm)		
		Matico fresca	Matico 40 C	Matico 70 C
1	1	366	-	344
		-	-	-
	2	-	-	-
		-	-	-
2	1	368	344	-
		307	-	-
	2	-	364	344
		-	-	-

Tabla 20: Lecturas en Espectrofotómetro (UV) de las bandas del extracto de matico.

Fuente: Autoras

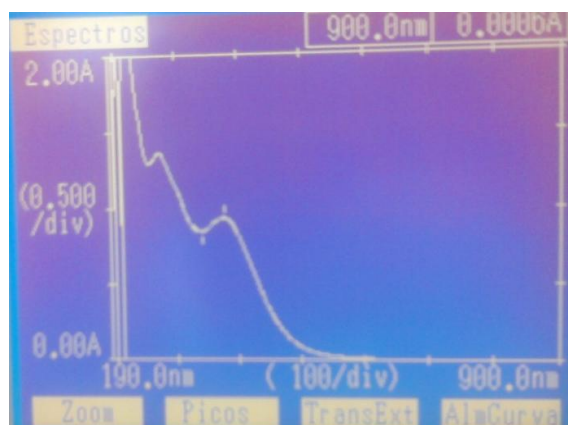


Fig 14: Espectro extracto matico

Fuente: Autoras

3.5.3 Cuantificación de apigenina 7-glucosido en las muestras

En las siguientes tablas podemos evidenciar las concentraciones de apigenina 7-glucosido en un número de patrones de manzanilla

Partes de manzanilla deshidratada a 70 C	Concentración %
Flor amarilla	1.44
Flor blanca	1.04
Hojas y tallo	0.50

Tabla 21: Cuadros comparativos de concentración de partes de manzanilla

Fuente: Autoras

Con estos análisis comparativos se demostró que en la flor amarilla y ligualadas blancas existe más porcentaje de apigenina y en las hojas y el tallo un porcentaje menor las demás partes.

Cuantificación de la manzanilla

En las tablas 22 -24 detallamos las concentraciones de apigenina 7-glucosidos de muestras de manzanilla.

	Duplicado	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
		(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)
Manzanilla	1	0.07	0.21	0.11
Manzanilla	2	0.14	0.18	0.18
	Promedio	0.10	0.20	0.14
			Promedio Total	0,15

Tabla 22: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla fresca
Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
		(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)
Manzanilla 45°C	1	0.20	0.68	0.36
Manzanilla 45°C	2	0.25	0.65	0.33
	Promedio	0.23	0.67	0.34
			Promedio total	0.41

Tabla 23: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 40 ° C
Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
		(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)
Manzanilla 70 °C	1	0.27	0.69	0.51
Manzanilla 70 °C	2	0.23	0.67	0.49
	Promedio	0.25	0.68	0.50
			Promedio Total	0.48

Tabla 24: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 70 ° C
Fuente: Autoras

En las tablas 25 -27 detallamos las concentraciones de apigenina 7- glucosidos de base seca de manzanilla.

	Duplicado	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
		(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)
Manzanilla	1	0.56	1.75	0.92
Manzanilla	2	1.13	1.49	1.45
	Promedio	0.84	1.62	1.18
			Promedio Total	1,21

Tabla 25: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla fresca en base seca

Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
		(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)	(gr/100gr muestra)
Manzanilla 40 °C	1	0.22	0.75	0.39
Manzanilla 40 °C	2	0.27	0.71	0.36
	Promedio	0.50	0.73	0.37
			Promedio Total	0,53

Tabla 26: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 40 ° C base seca

Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
		Manzanilla 70 °C	1	0,3
Manzanilla 70 °C	2	0,25	0,74	0,54
	Promedio	0,27	0,75	0,55
			Promedio Total	0,52

Tabla 27: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de manzanilla 70 ° C base seca

Fuente: Autoras

La tabla 28, se evidencia el resumen de concentraciones de la manzanilla

Manzanilla	Fresca	40 C	70 C
	(gr/100gr muestra)		
Base húmeda	0.15	0.41	0.48
Base seca	1.21	0.53	0.52

Tabla 28: Resumen de Concentración

Fuente: Autoras

Cuantificación del matico

En las tablas 29-31 detallamos las concentraciones de apigenina 7-glucosidos de muestras de manzanilla.

	Duplicado	Repetición 1
		(gr/100gr muestra)
Matico	1	0,027
Matico	2	0,032
	Promedio	0.030

Tabla 29: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de maticofresco

Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1
		(gr/100gr muestra)
Matico 40 °C	1	0,083
Matico 40 °C	2	0.086
	Promedio	0.085

Tabla 30: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de matico 40 ° C

Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1
		(gr/100gr muestra)
Matico 70 °C	1	0,079
Matico 70 °C	2	0,087
	Promedio	0.083

Tabla 31: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de matico 70 ° C
Fuente: Autoras

En las tablas 32 -34 detallamos las concentraciones de apigenina 7- glucosidos de base seca de matico.

	Duplicado	Repetición 1
		(gr/100gr muestra)
Matico	1	0.25
Matico	2	0.28
	Promedio	0.27

Tabla 32: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de matico fresca base seca
Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1
		(gr/100gr muestra)
Matico 40 °C	1	0,076
Matico 40 °C	2	0,082
	Promedio	0.079

Tabla 33: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de matico 40 ° C base seca
Fuente: Autoras

	Duplicado	Repetición 1
		Conc. %
Matico	1	0,071
Matico	2	0.076
	Promedio	0,074

Tabla 34: Concentración de apigenina 7 glucósidos de muestras de matico 70 ° C base seca

Fuente: Autoras

La tabla 36, se evidencia el resumen de las concentraciones del matico

Matico	Fresca	40 °C	70 °C
	(gr/100gr muestra)		
Base húmeda	0.030	0.085	0.083
Base seca	0.27	0.079	0.074

Tabla 35: Resumen de Concentración de Matico

Fuente: Autoras

Al analizar las concentraciones en base secas en las muestras, podemos decir que al deshidratar perdemos concentraciones de apigenina 7-glucosido, ya que en la planta fresca tenemos 1,21 gr/100gr muestra y en el matico 0,27 gr/100gr muestra al deshidratar se reduce en el extracto de manzanilla al 0.52 gr/100gr muestra y en matico 0,079 gr/100gr muestra.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- El deshidratado se llevo acabo en las plantas medicinales se realizó a 70 y a 40 °C, utilizando un tiempo de 2 y 4 horas respectivamente llegando a una humedad aproximadamente de 9% en el caso de la manzanilla, para el matico por contener menos humedad se utiliza menos tiempo que la manzanilla 1,5 y 3 horas.
- En la identificación por cromatografía en capa fina del principio activo (Apigenina 7-glucosido) de los extractos se obtuvieron Rf de 0,69 similara al estandar por lo que se concluye que este principio activo están presentes tanto en la manzanilla como en el matico.
- En la cuantificación por espectrofotometría UV-Visible, las muestras de manzanilla y matico definieron el pico característico en las lecturas obtenidas dentro del rango de longitud de onda de 390, concluyendo que contiene apigenina las dos plantas.
- Los resultados de apigenina obtenida en las muestras frescas y deshidratadas de las plantas medicinales expresadas en base seca presentan los siguientes porcentajes: en planta fresca se obtuvo 1,2 %, en deshidratada a 40°C y 70°C el contenido de apigenina es de 0.53 0.52% . En el matico el porcentaje de apigenina en fresco es de 0,27%, e muestra deshidratada a 40°C y 70 °C es de 0.074 y 0.079% respectivamente.

- Con los resultados anteriores se concluye que existe una pérdida del principio activo al deshidratar de un 56% en la manzanilla y de 70% el matico
- Todas las partes de la planta de manzanilla contiene apigenina 7-glucosido, con un alto contenido en la flor amarilla. En el matico se encuentra principalmente en la flor amarilla

4.2 Recomendaciones

- Realizar extracciones de la apigenina 7-glucosido a nivel industrial, para realizar productos Fito-farmacéuticos, ya que es uno de los principales flavonoides que evita el cáncer de mama.
- Mantener tapada la fase móvil preparada para evitar evaporación de los reactivos.
- La fase móvil debe ser desechada al día siguiente de haber sido utilizada.
- Analizar los principios activos de las plantas medicinales de nuestra provincia, para determinar la importancia de las mismas.
- Las extracciones se debe realizar en planta fresca.

CAPÍTULO V

5. PROPUESTA

5.1 TITULO DE LA PROPUESTA

OBTENCION DE EXTRACTOS DE MANZANILLA (*Matricaria Chamomilla* A NIVEL INDUSTRIAL) PARA LA EXTRACCION DEL PRINCIPIO ACTIVO (*Apigenina*)

5.2 INTRODUCCIÓN

Está comprobado que la apigenina es uno de los principales flavonoides, son importantes para el desarrollo y buen funcionamiento de las plantas al protegerlas contra agentes agresores externos, como la radiación UV, microorganismos, animales hervívoros y del medio ambiente. Pueden actuar como señalizadores químicos, indicando a los insectos que planta es apropiada para su alimentación, oviposición o simplemente guiándolos y facilitando así la polinización. [1]

En su relación con el hombre, es importante recalcar el uso de apigenina para tratar enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios y desordenes cardiovasculares debido a la actividad que ejercen sobre el sistema circulatorio mejorando la circulación periférica, la movilización del colesterol y disminuyendo la fragilidad capilar, también presenta actividad hepática protectora, antialérgica, antitrombótica, anticancerígena, antibacteriana, antifúngica, e incluso pueden ejercer efectos inhibitor es sobre algunas enzimas. [4]

La extracción de la apigenina se realiza a partir del material fresco o seco, siempre y cuando no se altere su composición. Se utilizan inicialmente disolventes no polares o ligeramente polares para separar las clorofilas, gomas y agliconas de altamente metoxiladas. La apigenina, posee un grupo hidroxilo o azúcar, son considerados polares, por lo que son ligeramente solubles en disolventes polares, como el metanol, etanol, o agua. El filtrado final se concentra y todo el disolvente se remueve. Este proceso es favorable para la extracción de mayor cantidad apigenina. [1]

El contenido de apigenina es de 0,3 % en el extracto alcohólico de la planta de manzanilla es el factor de calidad, y la apigenina es el constituyente mayoritario del extracto. [4]

5.3 OBJETIVOS

Objetivo generales:

Obtener extractos de manzanilla (*matricaria chamomilla* a nivel industrial) para la extracción del principio activo (*apigenina*)

Objetivos específicos:

- Estudiar otros solventes para optimizar el proceso de extracción.
- Determinar el rendimiento de la extracción de apigenina con los diferentes métodos empleados.
- Elaborar una forma farmacéutica como propuesta.

5.4 FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO –TÉCNICA

5.4.1 Plantas medicinales

Son aquellos vegetales que elaboran sustancias que ejercen una acción farmacológica beneficiosa ó perjudicial para el organismo vivo. []

5.4.1.1 Sustancias activas

Son producto del metabolismo secundario de las plantas, no se encuentran en estado puro en las mismas, sino en forma de complejos cuyos componentes se complementan y se refuerzan en su acción sobre el organismo. Estas sustancias activas presentan un equilibrio fisiológico dentro de la planta y el organismo, debido a ello, resulta más asimilable por el cuerpo y carecen de efectos nocivos. [6]

5.4.1.2 Beneficios de las plantas medicinales

- Como medicamento son más baratas y menos tóxicas.
- Como medicamento preventivo ayudan a enfermarse con menor frecuencia.
- Como condimento en la industria alimentaria y casera.
- En farmacología para la elaboración de cosméticos.
- En la agricultura se utilizan como barreras vivas.
- En la protección de suelos como barreras antierosivas.
- Para la elaboración de extractos como insecticidas y fungicidas.
- Se aprovechan mejor los huertos, jardines y parcelas caseras [6]

5.4.2 Manzanilla

La Matricaria chamomilla, es una planta herbácea y anual que se encuentra en todo sitio de verano y es conocida notoriamente por sus propiedades aromáticas.

5.4.2.1 Aspectos taxonómicos

Clasificación Botánica

Familia: *Asteraceae*

Genero: *Compositae*

Nombre Científico: *Matricaria chamomilla*

Nombres Comunes: Manzanilla, Camomila, Matricaria

5.4.2.2 Descripción y Hábitat

Se trata de una planta herbácea anual perteneciente a la familia de las Compuestas, caracterizada por presentar una altura de 30 cm aproximadamente; tallo cilíndrico erguido, ramoso, de color verde blanquecino; hojas alternas divididas en pequeños segmentos muy finos. Cada ramita presenta en su extremo el botón floral de color amarillo lígulas de color blanco. Estas últimas corresponden a la parte unisexuada de la flor, mientras que la amarilla, ubicada en la zona central, en la parte hermafrodita. Los frutos son lineales amarillo-dorado y odita pequeños, elipsoidales y de color pardo. Florece a partir de mes de abril y continúa su floración hasta la primavera. [5]

5.4.2.3 Composición Química.

- El aceite esencial (0,2-1,8%) está compuesto de:
 - Camazuleno, alfa-bisabolol (levomenol) óxidos de bisabolol, óxidos de bisabolona, beta-trans-farnesina, espatulenol.
 - Flavonoides: principales la apigenina-7-O-glucosido, apigenina glucósido acetato luteol, apigenol, quercetol, agliconas incluyendo quercetina, isohamnetina, patuletina, apigenina agliconas, luteolin, crisoeriol y los glicósidos.
 - Hidroxicumarinas: umbeliferona y herniaria.
 - Mucílagos: urónicos, ramnogalacturonanos. .
 - Lactonas sesquiterpénicas (principios amargos: matricina, matricarina, precursoras del camazuleno) y sales minerales (8-10%).
 - Otros: aminoácidos, ácidos grasos, ácidos fenólicos, colina (más del 0.3%).
- [5]

5.4.2.4 Propiedades y usos.

Las hojas y flores son ampliamente usadas para tratar una gran diversidad de males, tales como afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia,

flatulencia, gastralgia, gastritis, inflamación intestinal, parasitismo, indigestión, inapetencia), inflamación urinaria, amigdalitis, cefalea, convulsiones, difteria, dismenorrea, gota, histeria, insomnio, lumbago, ictericia e hidropesía, nerviosismo y reumatismo.

Tópicamente la decocción se usa en compresas, cataplasmas y emplastos para tratar afecciones dermato mucosas (hemorroides, hinchazón, llagas, raspones), inflamaciones, oftalmía, induraciones, tumores, cáncer y reumatismo. [5]

5.4.3 Apigenina 7-glucósido

5.4.3.1 Introducción

La apigenina 7-glucosido es un flavonoide natural presente en las frutas y las verduras, como el perejil, la cebolla, el apio, la manzanilla, el té o el pomelo. Una de las fuentes más comunes de consumo de apigenina es la chamomila. La apigenina también está presente en el vino tinto y en la cerveza. La apigenina está reconocida como un flavonoide bioactivo. [1]

La apigenina se halla en cantidades elevadas en perejil, tomillo y hierbabuena. La apigenina también puede encontrarse en varias hierbas, pero más prominentemente en la manzanilla (*Matricaria chamomilla*). [1]

5.4.3.2 Propiedades

Los estudios epidemiológicos sugieren que una alimentación rica en flavona reduciría el riesgo de determinados cánceres, en particular los de mama, tubo digestivo, piel y próstata. Se ha sugerido que la apigenina 7-glucosido tendría una acción protectora en otras enfermedades en las que se produce un proceso oxidativo, como los trastornos cardiovasculares y neurológicos.

La apigenina tendría también propiedades destoxicantes, al inducir la UGT glucuronosiltransferasa, responsable de la reacción de conjugación del ácido glucurónico.

Propiedades importantes como son: Antiinflamatorias, Antioxidantes, Antiangiogénica, Antialergizantes, Antigenotóxicas y Anticancerosas. Tiene potencial para reducir el riesgo de cáncer, ya que tiene actividad anti-tumoral. [2]

Poco a poco, esta sustancia ha generado un amplio interés a nivel mundial por sus extraordinarias propiedades para la salud en general, pero sobre todo por sus prometedores resultados en la lucha contra el cáncer. [1]

5.4.3.3 Mecanismos de acción

La apigenina 7-glucosido posee propiedades quimiopreventivas y antiinflamatorias. En efecto, tras la exposición solar, induce un fuerte aumento de la apoptosis, el mecanismo de suicidio celular. Inhibe la liberación de prostaglandina, de nitrito y de ácido araquidónico. [1]

La apigenina posee numerosas propiedades vasculares. Reduce la fragilidad de los capilares sanguíneos, reforzando la matriz dérmica que sostiene la red microvascular. En efecto, inhibe una colagenasa, la metaloproteinasa de matriz 1 y reduce su expresión a través de la inhibición de la activación de la proteína AP-1. De este modo, reduce la degradación del colágeno de la matriz dérmica. [2]

5.5 DESCRIPCIÓN DE LA PROPUESTA

Justificamos nuestra investigación al proponer una alternativa de extracción de apigenina proponiendo con un método de extracción de bajo costo adecuado a las condiciones socio-económicas de nuestro país. El estudio del principio activo (apigenina) es muy importante en el tratamiento de diversas

enfermedades por sus valiosas propiedades, Antiinflamatorias, Antioxidantes, Antiangiogénica, Antialergizantes, Antigenotóxicas y Anticancerosas, tiene potencial para reducir el riesgo de cáncer, ya que tiene actividad anti-tumoral.

Poco a poco, esta sustancia ha generado un amplio interés a nivel mundial por sus extraordinarias propiedades para la salud en general, pero sobre todo por sus prometedores resultados en la lucha contra el cáncer

La importancia de dar a conocer las propiedades farmacológicas que posee este producto, proporcionando un método de extracción, a bajo costo, siendo esto una buena alternativa en la provincia de Chimborazo, ya que es una de las principales provincias productoras de plantas medicinales y mas de manzanilla.

5.6 METODOLOGÍA

En el trabajo se aplica procesos teóricos, experimentales y deductivos que establece un método para obtener un alto rendimiento de apigenina, el cual consiste en lo siguiente:

Método de extracción (medio alcohólico)

- Pesar la muestra
- Anotar el peso respectivo
- Colocar la muestra en cartuchos de papel filtro o de tela, para evitar que ocupe demasiado espacio en el recipiente, una vez humedecidas.
- Color los cartuchos en un recipiente apropiado para la extracción.
- Colocar alcohol etílico al 30% hasta cubrir la muestra mediante agitación con la ayuda de agitadores magnéticos por un tiempo de 3.5 horas.
- Filtrar al vacío el extracto
- Evaporar hasta sequedad (evitando que no se queme).

- Para desengrasar la muestra colocar éter etílico hasta cubrir el extracto seco, el mismo que se deja agitando durante 12 horas a temperatura ambiente y completamente tapado.
- Filtrar al vacío finalizado el tiempo de desengrasado y recuperar el solvente.
- Secar la muestra hasta obtener el polvo de apigenina
- La muestra o extractos obtenidos almacenar en un lugar oscuro.

5.6.1 Operacionalización de variables.

VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	UNIDADA DE MEDIDA
Independiente Apigenina	Los principios activos son sustancias que se encuentran en las distintas partes u órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal.	Procesos	Porcentaje de apigenina
Dependiente Manzanilla	Es una planta herbácea anual de la familia de las asteráceas. Nativa de Europa y las regiones templadas de Asia, se ha naturalizado en algunas regiones de América y Australia.	Procesos	Porcentaje de apigenina

Elaborado por: Los autores

5.6.2 Procedimientos

- ✓ Recopilación información sobre métodos de extracción de apigenina.
- ✓ Revisión bibliográfica
- ✓ Análisis respectivos
- ✓ Determinación de equipos y reactivos
- ✓ Evaluación de resultados
- ✓ Desarrollo del trabajo escrito

5.7 CRONOGRAMA

ACTIVIDADES		MESES																							
		1				2				3				4				5				6			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
ESTUDIO Y TRABAJO DE CAMPO																									
1	Búsqueda de información	■	■																						
2	Trabajo de campo			■	■	■	■																		
3	Reuniones con el tutor de la tesis							■	■																
DISEÑO DEL MODELO EXPERIMENTAL Y PROCESOS																									
4	Revisión bibliográfica									■	■	■													
5	Definición de procesos												■	■											
6	Ensayos y análisis														■	■	■	■	■	■					
7	Discusión de los resultados obtenidos																				■	■	■		
EVALUACIÓN DE RESULTADOS																									
8	Diseño del método de extracción																							■	■
9	Análisis del porcentaje de apigenina.																								■
11	Desarrollo del trabajo escrito																								■

5.8 BIBLIOGRAFÍA

[1] **Apigeni**, Apigenin Prevents UVB-Induced Cyclooxygenase 2 Expression: Coupled RNA Stabilization and Translational Inhibition. Tong X et al. Mol Cell Biol. 27(1):283-96. 2007.

[2] DIETAWEB.IT . Antioxidantes y los flavonoides. www.dietaweb.it.com 30 julio 2003

[3] INFOAGRO, www.infoagro.com/citricos/pomelo2asp 10 agosto2003

[4] Farmacopea Argentina Octava Edición

[5] **JÁTIVA**, C. 2004. Texto Básico de Farmacognosia de los vegetales a las Medicinas. Riobamba: Docucentro ESPOCH. pp. 56 – 59

[6] Revista Biocenosis Vol. 21 2009

CAPÍTULO VI

6. BIBLIOGRAFÍA

[1] Almacenamiento y Conservación De Plantas Medicinales

<http://www.poscosecha.com/es/empresas/marrodasas/id:29547,seccion:catalogodeproductos,producto:9795/>

[2]Apablaza C. Diseño de la estandarización química y evaluación de la actividad analgésica tópica de un extracto activo de *Budeja globosa* 2006.

[3] Apigeni, Apigenin Prevents UVB-Induced Cyclooxygenase 2 Expression: Coupled RNA Stabilization and Translational Inhibition. Tong X et al. Mol Cell Biol. 27(1):283-96. 2007.

[4] Apigenin 7-Glucosido, Enhancement of UVB-Induced Apoptosis by Apigenin in Human Keratinocytes and Organotypic Keratinocyte Cultures. Abu-Yousif AO et al. Cancer Res, 68(8):3057-3065. 2008.

[5] Backhouse, N, Analgesic, antiinflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globosa* Hope, Buddlejaceae. Journal of Ethnopharmacology. En prensa, 2007.

[6] Cultivo De Plantas Medicinales, Medicinales y Fitoterapia. Módulo 2. Cultivo de plantas medicinales. Tecnología y Producción.

[7] Cromatografía En Capa Fin

depa.pquim.unam.mx/~fercor/dqo/manuales/1311/p7.pdf

[8] **Encarna**, *Farmacognosia*, Interamericana, 2007.

[9] **Evans William C**, *Pharmacognosy*, Elsevier Limited, 16° Edition, 2009.

[10] Espectrometría Ultravioleta

http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible_201005

[10] Farmacopea Argentina Octava ediccion pag. 37

[11] **JÁTIVA, C.** 2004. Texto Básico de Farmacognosia de los vegetales a las Medicinas. Riobamba: Docucentro ESPOCH. pp. 56 – 59

[12] **Kuklinski Claudia**, Farmacognosia, Barcelona, Omega S.A., 2001.

[13] **LOCK, O.** Fitoquímica “Métodos en el estudio de producs naturales”. 2ed. Lima-Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994, pp 127,128

[14] **Lopatinsky A., Gandara A., Gonzales D.** 2003. Plantas medicinales para potencial su producción y exportación en el Ecuador. ESPOL. Instituto de Ciencias Humanísticas y Económicas. Ecuador. Tesis. Pags. 10)

[15] **Naranjo, P.** 2000. Plantas del Ecuador. Quito: Universitaria. pp. 45, 256, 257.

[16] **Manzanilla.**

<http://www.saludparati.com/manzanilla.htm200771109>

[17] **Marco.**

<http://images.google.com.ec/images?hl=es&q=Ambrosia+L.UTF-20080209>.

[18] Propiedades y usos del matico.

http://www.mundonuevo.cl/areas/Areas_Tematicas/Terapias_matico.php. 20080509.

[19] **Pardo F**, Un nuevo glucósido de *Budeja globosa* con actividad bactericida. Boletín de la Sociedad Chilena de Química 42(1): 101-104, 1997.

[20] Plantas Medicinales.

(http://es.wikipedia.org/wiki/Planta_medicinal)

[21] Productos Naturales

<http://ecuadorcostaaventura.com/productos.html>

[22] **Romo De Vivar Alfonso**, *Química de la flora mexicana*, UNAM, 2005

[23] Secado de plantas medicinales

http://www.natureduca.com/med_usos_secado2.php

[24]. Sugerencias para el uso de matico.

http://www.mundonuevo.cl/areas/Areas_Tematicas/Terapias_Naturales/plantas_medicinales/matico.php. 20080909.

[25]. **Skoog A. D, Holler J. F, Nieman T .A.** Principios de Análisis instrumental, 5ª edición, pp. 11-16 Grupo editorial Mc Graw Hill/ Interamericana de España, Aravaca (Madrid), 2001.

[26] **Shelles Flores**, *Farmacia galénica*. Madrid, Selsa, 1992.

ANEXOS

Anexo 1: Pruebas de deshidratado laboratorio UNACH



Preparación de las Muestras



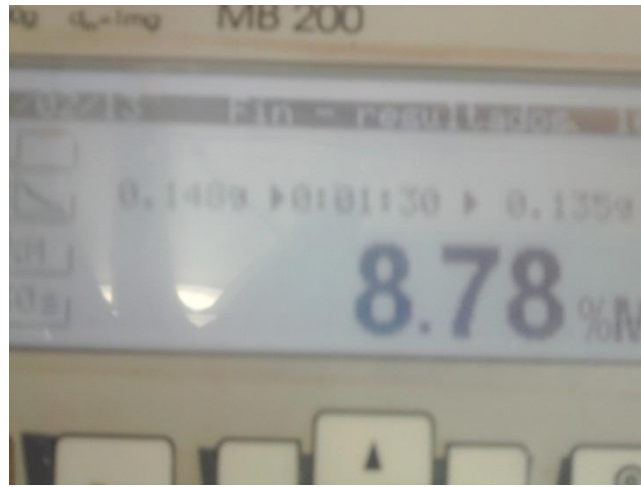
Secado de la manzanilla



Control de Temperatura



Manzanilla deshidratada

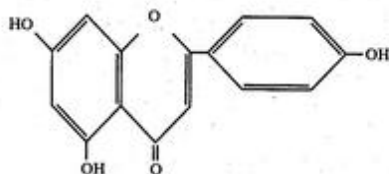


Control de Humedad Manzanilla
deshidratada

Anexo 2: Método de extracción

EXTRACTIVE PROCESS FOR PREPARING APIGENIN

This invention relates to a new industrially significant extractive process for producing apigenin, and to therapeutic compositions of spasmolytic activity containing apigenin as their active principle. Apigenin is the name given to 4',5,7-trihydroxyflavone of formula



which has been known to botanists for many years, firstly identified in the form of glucoside (apiin) in parsley extracts, and then in the total extracts of camomile flowers, again in the form of various glucosides not completely identified, and as aglicone.

Studies conducted up to the present time on apigenin have been of a strictly scientific kind, in that the possibility of economically using the natural raw materials which contain it for its large-scale production has never been conceived.

In particular, the inflorescence, improperly known as flowers, of the *Matricaria Chamomilla*, which have been the only parts of the plant used up to the present time for industrially preparing total extracts, contain apigenin in a percentage not exceeding 0.2-0.3 on the dry basis, and in mixture with other flavones having strictly analogous physical properties, because of which it is very difficult to separate it.

Under such conditions, an economically convenient industrial process for the extractive production of apigenin from camomile flowers is inconceivable.

An extractive process, which forms the object of the present invention, has now been discovered which is extremely simple and economical, because of the nature of the solvents used, the number of extractive stages and the total processing time. This process uses as its raw material not the camomile inflorescence but instead the ligules of *Matricaria Chamomilla* L., which represent a part of the plant which up to the present time has been discarded and for which there has been no known industrial use.

The new process comprises essentially the following operational stages:

- (a) totally extracting the ligules in a continuous extractor for a time of 7-8 hours, with a water/ethyl alcohol mixture containing at least 30% by volume of ethyl alcohol;
- (b) evaporating the extract to dryness then again taking it up in ethyl ether in the proportion of about 10 parts by volume per 1 part by weight of the initial ligules, then leaving it under strong agitation for 24 hours and filtering;
- (c) hydrolysing the solid obtained by treating it with a volume of 10% HCl approximately equal to the volume of ether used in stage (b). In this manner, after about 10 hours, all the apigenin extracted from the ligules both as such and in the form of glucosides precipitates in known manner as free aglicone. The apigenin can be further purified by

crystallisation from ethanol or from other suitable solvents.

With the process of the present invention, a pure apigenin yield of 4.5-6% with respect to the initial ligules in their dry state is obtained. Such a yield is to be considered truly interesting from the point of view of industrialisation of the process, especially so because of the very low commercial value of the material processed.

The great advantage of using *Matricaria Chamomilla* L. ligules as the starting material derives not only from the fact that the ligules contain 7-9% of apigenin in the form of glucosides and 0.3-0.5% free apigenin (and therefore approximately 10% of useful product for the purposes of the present process), but also, and in particular, the fact that apigenin is the only flavone present in the ligules, and there are therefore no separation problems. The other substances present in the ligules are so different in their chemical nature from the flavones that it has been possible, both in the initial extractive stage and in the subsequent separation stage, to find extremely selective operational conditions which enable practically all the apigenin to be recovered in the pure state.

It should be noted that the operational conditions (a), (b), (c) indicated heretofore are the optimum conditions which critically give maximum selectivity, and thus the maximum yield of the product of pharmaceutical purity, with industrially valid process times and materials.

Many other solvents and solvent mixtures have been tried, but in no case have the results been totally satisfactory from the industrial process aspect, whereas they could still be considered acceptable for preparing small quantities of product for laboratory study purposes.

In stage (a), it has for example been found that the use of water/ethanol mixtures with an ethanol content of progressively less than 30% by volume leads to increasingly incomplete extraction of the free apigenin contained in the ligules, down to the point where there is total insolubility and thus practically total loss of the free aglicone when water alone is used as the extraction medium.

If water/ethanol mixtures of increasing ethanol content are used, there is no substantial variation in the results, while obviously the economic convenience decreases proportionally with the quantity of alcohol used, until the process becomes decidedly uneconomical with absolute ethanol.

Common organic solvents such as acetone and ethyl acetate have on the other hand shown a decidedly poor extractive power towards the apigenin glucosides.

In stage (b) in which it was necessary to find a solvent in which the apigenin glucosides and aglicone are both practically insoluble whereas the many organic substances extracted in the first total extraction stage are totally soluble, and a solvent from which both the glucosides and the aglicone would precipitate in a crystalline form which could be easily filtered and purified, ether has been found to be critically the only solvent which satisfies these many and different requirements.

Thus, while solvents such as acetone, ethyl acetate, chloroform, and aliphatic and aromatic hydrocarbons have a satisfactory solvent power towards the chlorophyll and fatty matter contained in the total ligule extract, they have practically no solvent power towards tannins, polyhydroxylated coumarin derivatives and like compounds, which thus remain with the apigenin and

3

its glucosides as a strong impurity, which can certainly not be tolerated in a product for pharmaceutical use.

On the other hand, solvents such as alcohols and water which have a good solvent power towards all the foreign substances contained in the extract from stage (a) also dissolve the apigenin glucosides and therefore have no resolutive power. Finally, with regard to stage (c) for producing free apigenin, it has been found that if strong dilute acids with a concentration not exceeding 1% are used, then hydrolysis of the glucosides does not occur. If strong acids are used at a concentration of 1 to 10%, hydrolysis is very slow. With a strong acid of 10% concentration, the optimum hydrolysis rate is reached, and this does not further increase as the concentration increases. In fact, at high concentrations the apigenin becomes soluble, and there is a risk of partially decomposing the product.

Of the various acids, the preferred acid is obviously HCl both for economical reasons and because the danger of decomposition is reduced to a minimum.

As initially stated, the present invention also relates to the use of the pure product apigenin in human therapy.

In this respect, pharmacological studies carried out on apigenin have shown that it has good spasmolytic activity both on the intestinal and bronchial muscular systems, in addition to having good anti-inflammatory and anti-shock activity.

Its spasmolytic activity, which seems to be its main activity, lies between $\frac{1}{2}$ and $\frac{1}{3}$ of the activity of papaverine. However, whereas papaverine has an LD50 i.v. of 25-30 mg/kg, apigenin shows an absolute lack of toxicity up to 250 mg/kg i.v.

This means that apigenin has a therapeutic index which is extremely more interesting than that of papaverine, and therefore its use in the pharmaceutical field in all cases in which up to the present time papaverine was the best medically available drug can give truly satisfactory results, under conditions of absolute safety for the patient.

Apigenin can be administered orally or parenterally by the normal forms of administration, such as capsules, tablets, oral suspensions and injectable suspensions.

In order to allow the process according to the present invention to be more easily reproduced, one detailed working example thereof is given hereinafter, but this can be varied within the range heretofore defined.

4

EXAMPLE

(a)

50 grams of Bulgarian camomile ligules (1976 production, moisture content 8%) are extracted in a continuous extractor with a water/ethyl alcohol mixture containing 7 parts by volume of water and 3 parts by volume of ethanol.

Extraction is carried out for 7 hours. To prevent the vegetable material becoming insufficiently wetted by the solvent and thus imperfectly extracted, the ligules are placed in cloth bags, in a quantity of not more than 6-7 grams per bag, and totally covered with the solvent.

(b)

The extract obtained is evaporated to dryness and then taken up in 500 ml of ether. The mixture is left under vigorous agitation for 24 hours at ambient temperature and is then filtered through a porous filter.

The filtered solid is washed with three 50 ml portions of ether, and then dried under vacuum at ambient temperature. 9 g of product are obtained in the form of a yellow powder.

(c)

The yellow powder obtained in the preceding stage is placed in a 1000 ml flask, into which 500 ml of 10% HCl is poured. The mixture is heated under reflux for about 10 hours.

After this time, it is filtered at a temperature of 50° C., the precipitate is washed on the filter until neutrality, and is then dried in an oven at 100° C. By crystallising from 96% ethanol, 2.61 g of very pure apigenin are obtained (characteristics corresponding to those of the literature), equal to a yield of 5.22% by weight with respect to the initial ligules.

What we claim is:

1. A process for preparing very pure apigenin for therapeutic use, wherein the ligules of *Matricaria Chamomilla* L. are extracted continuously for 7-8 hours with a water/ethanol mixture containing at least 30% by volume of ethanol; the extract is evaporated to dryness and taken up in a volume of ether in the ratio of about 10 parts by volume to 1 part by weight of the initial ligules, and is kept under strong agitation for about 24 hours at ambient temperature; the precipitated solid is hydrolysed with 10% HCl by heating under reflux for about 10 hours.

2. A process as claimed in claim 1, wherein the apigenin obtained is purified by crystallisation from ethanol.

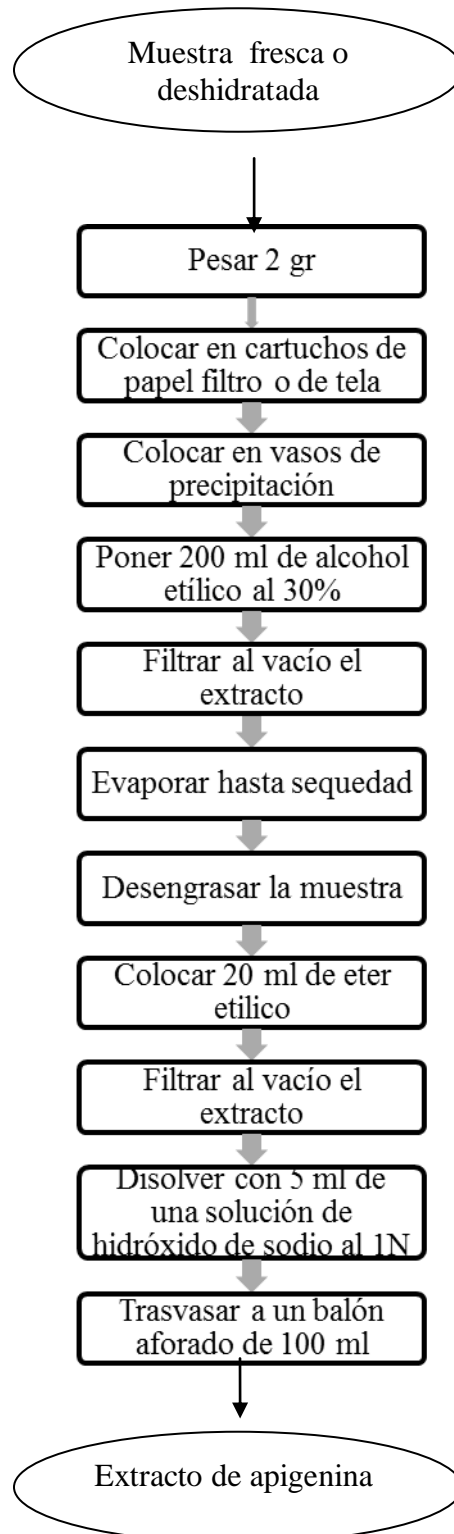
* * * * *

35

60

65

Anexo 3: Diagrama de extracción



Anexo 4: Método de extracción



Extracción de apigenina



Filtrado al vacío



Extractos de flavonoides

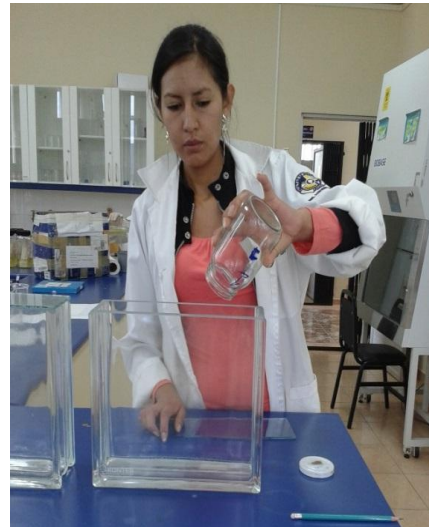


Desengrasado de la muestra

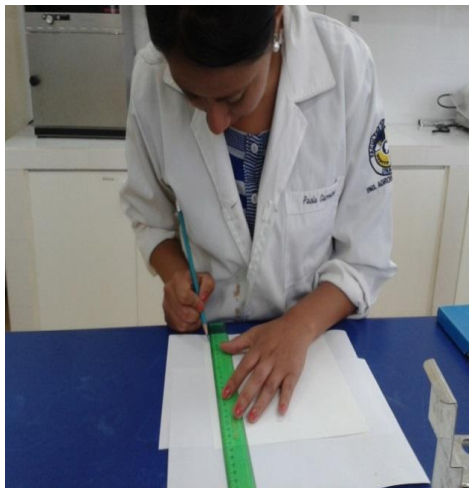


Dilución del Extracto de apigenina

Anexo 5: Análisis de identificación (cromatografía en capa fina)



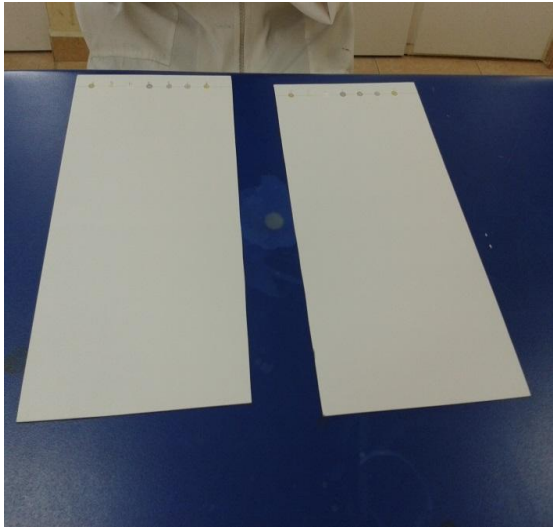
Preparación fase móvil



Trazado de los puntos en la placa cromatografía



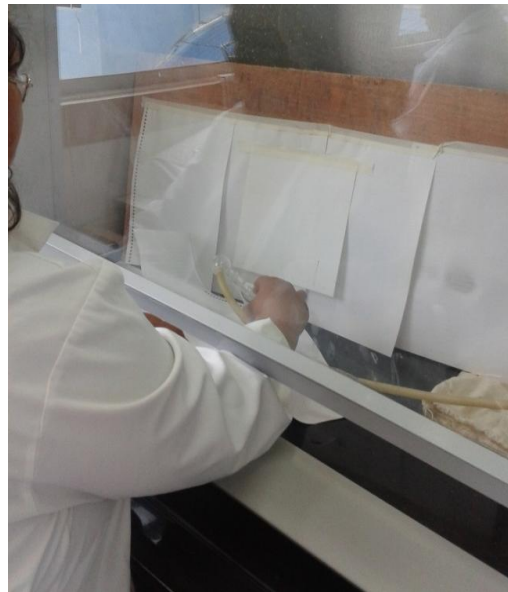
Colocar las muestras y estándar en las placas



Corrida de la placa cromatografía



Secado de la placa en la estufa



Revelado de las placas con la solución reveladora

Anexo 6: Análisis cuantitativo



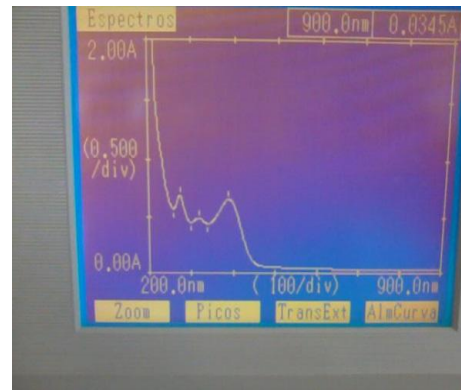
Dilución del estándar



Soluciones del estándar



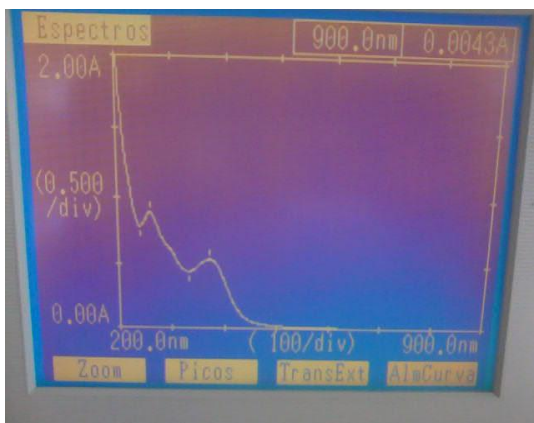
Curva de Calibración



Espectro de la curva de



Diluciones de los extractos




Espectro de los extractos

Muest Nº	A B S	Conc.(%)
1 - 1	0.5726	0.5960
1 - 2	1.1782	1.2262
1 - 3	1.1958	1.2445
1 - m	0.9822	1.0223
2 - 1	0.4402	0.4581
2 - 2	0.8101	0.8431
2 - 3	1.2877	1.3402
2 - m	0.8460	0.8805
3 - 1		

Absorbancias y concentración

Anexo 7: Norma INEN de plantas aromáticas



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN
Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2 392:2007

HIERBAS AROMÁTICAS. REQUISITOS

Primera Edición

AROMATIC HERBS. SPECIFICATIONS

First Edition

DESCRIPCIÓN: Tecnología de alimentos, té, hierbas aromáticas, requisitos
AL 03 06-410
CCLC: 693.82
CIR: 3121
ISO 67.140.10

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	HERBAS AROMÁTICAS. REQUISITOS.	NTE INEN 2 392:2007 2007-01
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma establece los requisitos que deben cumplir las plantas aromáticas, procedentes de las diversas especies que se destinan a la preparación de infusiones para el consumo humano.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma se aplica a las hierbas aromáticas procedentes de las especies de plantas de las que se tiene su caracterización taxonómica, toxicológica y química (ver 6.1.1).</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Hierbas aromáticas. La denominación de hierbas aromáticas comprende ciertas plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas (aceites esenciales), y que por sus aromas y sabores característicos, se destinan a la preparación de infusiones.</p> <p>3.2 Té de hierbas. Con el nombre genérico de té de hierbas se conoce al procedente de especies vegetales procesadas con las que se prepara infusiones diferentes al té de las téáceas.</p> <p style="text-align: center;">4. DISPOSICIONES GENERALES</p> <p>4.1 Las hierbas aromáticas deben, corresponder taxonómicamente a la especie declarada, que cumplan condiciones higiénicas y presentar las características macroscópicas y microscópicas que les son propias.</p> <p>4.2 Las hierbas aromáticas deben estar limpias y exentas de materia extraña.</p> <p>4.3 No debe contener más de 15% de otras partes del vegetal exentas de propiedades aromatizantes y saborizantes.</p> <p>4.4 Las hierbas aromáticas deben contener los aceites esenciales que caracteriza a cada una.</p> <p>4.5 Las hierbas aromáticas pueden expendirse enteras o molidas, solas o mezcladas entre sí, adicionadas con frutas, azúcar o miel en una cantidad que no supere el 20 %.</p> <p>4.6 Se permite la adición de saborizantes naturales y artificiales permitidos en la NTE INEN 2 074.</p> <p>4.7 Las hierbas aromáticas se deben procesar bajo las condiciones establecidas en el Código de la Salud y sus Reglamentos que permita reducir la contaminación.</p> <p>4.8 Los residuos de plaguicidas, pesticidas y sus metabolitos, no podrán superar los límites establecidos por el Codex Alimentario en su última edición.</p> <p>4.9 No se permite la adición de colorantes.</p> <p>4.10 Los procesadores de hierbas aromáticas deberán cumplir con buenas prácticas de manufactura y se exigirá paulatinamente a los productores el cumplimiento de los requisitos de Buenas Prácticas Agrícolas.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <p>DESCRIPCIÓN: Tecnología de alimentos, té, hierbas aromáticas, requisitos.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) – Calle 1301-A-2600 – B. Segundo Morano B1-05 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción Mas

5. DISPOSICIONES ESPECÍFICAS

5.1 Las hierbas aromáticas, destinadas para preparar infusiones, en la etiqueta de su envase no deben declarar propiedades terapéuticas para prevenir o curar enfermedades.

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos Específicos

6.1.1 Se consideran hierbas aromáticas a las siguientes ⁽¹⁾:

Nombre común	Nombre científico	Parte usada
Anís estrella	<i>Illicium anisatum</i>	Fruto
Anís verde (pan de anís)	<i>Pimpinella anisum</i>	Fruto
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> <i>Cinnamomum cassia</i>	Corteza
Cedrón	<i>Aloysia triphylla</i> (L. Nees) Britton	Hojas
Clavo de olor	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Flores,
Eneldo	<i>Anethum graveolens</i>	Tallo, hojas, flores
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Hojas
Falso tilo (seuco)	<i>Sambucus nigra</i> L.	Flores
Hierbabuena	<i>Mentha spicata</i>	Hierba, hojas y copos florescentes
Hierba Luisa	<i>Cymbopogon citratus</i>	Hojas
Jazmín	<i>Jasminum officinale</i>	Flores
Limón	<i>Citrus limonum</i> , <i>Citrus limetta</i>	Hojas, fruto, cáscara,
Manzanilla	<i>Matricaria camomila</i>	Flores y planta
Mejorana	<i>Origanum majorana</i>	Partes aéreas
Menta	<i>Mentha pulegium</i> <i>Mentha piperita</i>	Partes aéreas
Naranja	<i>Citrus aurantium</i>	Hojas y flores
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Partes aéreas
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Partes aéreas
Rosa	<i>Rosa</i> spp	Flores, escaramujo
Tipo	<i>Minthastrachya mollis</i>	Tallo, hoja, flores
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Parte aérea
Toronjil	<i>Melissa officinalis</i>	Partes aéreas

⁽¹⁾ Esta lista no excluye la utilización de otras plantas que luego de su estudio toxicológico, y contenido de aceites esenciales, hayan sido aprobadas como tales por el Ministerio de Salud a través del Instituto de Higiene.

6.1.2 Las hierbas aromáticas, deben cumplir los requisitos establecidos en las siguientes tablas:

TABLA 1. Requisitos físicos-químicos

Requisitos	Mín.	Método de ensayo
Humedad, %	12	NTE INEN 1114
Cenizas insolubles en HCl al 10 %, % mín	2	NTE INEN 1118

(Continúa)

TABLA 2. Contenido de aceites esenciales

Hierba Aromática	Aceite esencial, % Min	Método de ensayo AOAC 968.20
Anís estrella*	5,0	
Anís verde*	2,0	
Canela	1,2	
Cedrón	0,2	
Clevo de Olor	13,0	
Eneido	3,0	
Eucalipto	1,5	
Falso tilo	0,03	
Hierba buena	0,08	
Hierba luisa	3,0	
Limónero	2,5	
Manzanilla	0,2	
Mejorana	0,7	
Menta	0,25	
Naranja	0,2	
Orégano	0,5	
Romero	1,5	
Rosa	0,01	
Tipo	1,2	
Tomillo	1,5	
Toronjil	0,3	

6.1.3 Los requisitos microbiológicos que deben cumplir las hierbas aromáticas, son los que se especifican en la tabla 3.

TABLA 3. Requisitos Microbiológicos

REQUISITO	Mín	Método de ensayo
Aerobios totales ufc/g	1×10^7	NTE INEN 1520-5
Escherichia coli ufc/g	1×10^4	NTE INEN 1520-7
Enterobacteriaceas ufc/g	1×10^4	NTE INEN 1520-13
Mohos y levaduras upc/g	1×10^4	NTE INEN 1520-10
Clostridium, ufc/g	ausencia	NTE INEN 1520-18
Salmonella, en 1 g	ausencia	NTE INEN 1520-15
Shigella, en 1 g	ausencia	NTE INEN 1520-18

6.1.4 El contenido máximo de contaminantes presentes se especifican en la tabla 4.

TABLA 4. Contenido máximo de contaminantes

Contaminante	mg/kg
Asénico, As	1,0
Plomo, Pb	0,5

(Continúa)

7. INSPECCIÓN

7.1 Muestreo

7.1.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo a la NTE INEN 1 109.

7.2 Aceptación o rechazo

7.2.1 Se acepta el producto si cumple con los requisitos establecidos en esta norma, en caso contrario, se rechaza.

8. ENVASADO Y EMBALADO

8.1 El material de la bolsita filtrante debe ser el adecuado para el uso al que está destinado y debe cumplir las especificaciones, para estos fines, establecidas por la legislación nacional, el Codex Alimentarius, el FDA, y otros organismos similares.

8.2 El material del envase debe ser resistente e inerte a la acción del producto y no debe alterar las características del mismo.

8.3 El embalaje debe hacerse en condiciones que mantenga las características del producto durante el almacenamiento, transporte y expendio.

9. ROTULADO

9.1 Rotulado debe cumplir con los requisitos establecidos en el Código de la Salud, en el Reglamento de Alimentos, en la Ley Orgánica de Protección al Consumidor, en la NTE INEN 1 334-1 y 1 334-2, en cuanto no se contrapongan con dicho Reglamento.

9.2 En cada envase debe estar claramente indicada la manera de preparar el producto.

9.3 El peso o contenido neto de los envases debe cumplir con el peso declarado.

9.4 No debe contener leyendas relativas a efectos terapéuticos ni indicaciones terapéuticas, ni leyendas de significado ambiguo, o descripción de características del producto que no puedan ser comprobadas.

9.5 Para efectos de comercialización, el producto se denominará "Te de hierbas o Hierbas aromáticas".

(Continúa)

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1100:1984	Café soluble. Muestras
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1114:1984	Café soluble. Determinación de pérdida por calentamiento
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1118:1984	Café tostado molido. Determinación de las cenizas insolubles en ácido
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-1:2000	Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1334-2:2000	Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 2. Rotulado nutricional. Requisitos
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-5:1990	Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de microorganismos aeróbicos mesófilos REP
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-7:1990	Control microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-10:1998	Control microbiológico de los alimentos. Determinación del número de mohos y levaduras viables.
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-13:1998	Control microbiológico de los alimentos. Determinación Enterobacteriaceae. Recuento en placa por siembra en profundidad
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-15:1998	Control microbiológico de los alimentos. Salmonella. Método de detección
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-16:1995	Control microbiológico de los alimentos. Shigella. Método de detección
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1520-18:1998	Control microbiológico de los alimentos. Clostridium perfringens. Recuento en tubo por siembra en masa
Código de la Salud	Decreto Ejecutivo 188. Registro Oficial 158. 22 de febrero de 1971
Reglamento de Alimentos	Decreto Ejecutivo 4114. Registro Oficial 984. 22 de julio de 1988
Codex Alimentarius	Residuos de Plaguicidas en los alimentos, Volumen 2.
American Organization of Analytical Chemists, AOAC 968.20	Método de Destilación (Scott). titulación.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

- Reglamento Chileno de los Alimentos, Título XXIV De los Estimulantes o Frutivos. Párrafo I Del té. Santiago de Chile, 2003
- Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias. Comisión del Codex Alimentarius. Residuos de Plaguicidas en los Alimentos. Volumen 2, Roma 1994
- Organización Mundial para la Salud, OMS. QUALITY CONTROL METHODS FOR MEDICINAL PLANT MATERIALS Revised DRAFT UPDATE September 2005
- Farmacopea Española Segunda Edición, 2002
- Mason. Fitoterapia. Vademecum de Prescripciones de Plantas Medicinales. 3ra. Edición, 1998
- Plantas del Ecuador. Catálogo de nombres vulgares y científicos.

(Continúa)