



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“COMPROBACIÓN DEL EFECTO ADELGAZANTE DE LA
TINTURA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) EN RATONES (*Mus
musculus*) CON SOBREPESO INDUCIDO”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

ANA GABRIELA PACHA JARA

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres Luis y Elisa con mucho amor y cariño ya que han sido el pilar fundamental en mi vida, y mi apoyo incondicional en todo momento para lograr todas mis metas.

A mi mami Flora por formar parte de mi vida y por cuidar de mi.

A mis hermanos, Dario, Evelyn, Janeth, Mauri y Gustavo, por apoyarme en todo momento siendo mis amigos, y mis consejeros.

A mi sobrino Edison por ser mi alegría.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme dado la existencia, y ser mi fortaleza en los momentos más duros, permitiéndome así llegar al final de la carrera.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por la formación académica que me ha brindado.

A la Dra. Susana Abdo, y Bqf. Fausto Contero, quienes han orientado en todo momento la realización de esta investigación.

Al Bqf. Diego Vinueza y Dr. Carlos Pilamunga por su valiosa colaboración y asesoramiento en la realización de la presente Tesis.

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A mis amigos, por haberme apoyado siempre y por brindarme su amistad sincera.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“COMPROBACIÓN DEL EFECTO ADELGAZANTE DE LA TINTURA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) EN RATONES (*Mus musculus*) CON SOBREPESO INDUCIDO”**, de responsabilidad de la señorita egresada Ana Gabriela Pacha Jara, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE ESCUELA

Dra. Susana Abdo
DIRECTOR DE TESIS

Bqf. Fausto Contero
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Lcdo. Carlos Rodríguez
DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, **Ana Gabriela Pacha Jara**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

ANA GABRIELA PACHA JARA

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

*	Diferencia estadísticamente significativa
°C	Grados Celsius
µg	microgramo
µL	microlitro
B.	Bacillus
cm	centímetro
DL ₅₀	Dosis letal media
E.	Escherichia
EC	Caldo para <i>Escherichia coli</i>
g	gramo
HPLC	Cromatografía de alta eficiencia
Kg	kilogramo
L	Litro
L-B	Liebermann- Buchard
m.sn.m	metros sobre el nivel del mar
min	minuto
mg	miligramo
mL	mililitro
N.A	No aplicable
nm	nanómetro
NMP	Número más probable
ppm	Parte por millón
Pr. A.	Ensayo Principios amargos
UV	Ultravioleta

ÍNDICES

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	x
ÍNDICE GENERAL.....	xivi
ÍNDICE DE CUADROS.....	xiii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xx
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xxi
ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS.....	xivii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xxiii
INTRODUCCIÓN.....	
CAPITULO I.....	1
1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Sobrepeso y obesidad.....	1
1.1.1 Definición.....	1
1.1.2 Clasificación.....	2
1.1.2.1 De acuerdo al exceso de peso corporal.....	2
1.1.2.2 De acuerdo a la distribución de la masa corporal.....	2
1.1.3 Factores de riesgo.....	3
1.1.4 Factores de comorbilidad asociadas a la obesidad.....	4
1.1.5 Mecanismos de control del apetito y el peso corporal.....	5

1.1.6	Tratamiento para la obesidad y sobrepeso	5
1.1.6.1	Tratamiento básico.....	5
1.1.6.2	Tratamiento farmacológico	5
1.1.6.2.1	Fármacos inhibidores del apetito.....	7
1.1.6.2.2	Fármacos moduladores de la absorción de nutrientes	8
1.1.6.2.3	Fármacos estimuladores de la termogénesis	10
1.1.6.3	Tratamiento quirúrgico de la obesidad	11
1.2	Plantas adelgazantes	12
1.2.1	Concepto	12
1.2.2	Plantas con actividad termogénica.....	12
1.2.2.1	Té Verde (<i>Camellia sinensis</i>).....	12
1.2.2.2	Mate (<i>Ilex paraguariensis</i>).....	13
1.2.2.3	Guaraná (<i>Paullinia cupana</i>).....	14
1.2.3	Plantas Medicinales Reductoras Del Apetito.....	14
1.2.3.1	Hoodia (<i>Hoodia gordinii</i> y <i>Hoodia pilifera</i>).....	14
1.2.3.2	Naranja Amarga (<i>Citrus aurantium</i>).....	15
1.2.4	Plantas con actividad diurética	15
1.2.4.1	Ortosifon (<i>Ortosiphon stamineus</i>).....	15
1.2.4.2	Cola de caballo (<i>Equisetum arvense</i>).....	16
1.2.4.3	Alcachofa (<i>Cynaras colimus</i>).....	16
1.2.5	Plantas inhibidoras de la lipogénesis	17
1.2.5.1	Garcinia (<i>Garcinia cambogia</i>)	17
1.2.6	Plantas saciantes y disminuidoras de la absorción	17
1.2.6.1	Glucomanano.....	17
1.2.6.2	Plantago (<i>Plantago spp.</i>).....	18
1.2.6.3	Fuco (<i>Fucus spp.</i>)	18

1.2.6.4	Judía (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	19
1.2.6.5	Gimnema (<i>Gymnema sylvestre</i>)	19
1.3	Guayusa	19
1.3.1	Concepto	19
1.3.2	Descripción botánica.....	20
1.3.3	Datos taxonómicos.....	20
1.3.4	Datos morfológicos.....	20
1.3.4.1	Nombre Común	20
1.3.4.2	Hábitat	20
1.3.4.3	Tamaño de la especie.....	20
1.3.4.4	Tronco	20
1.3.4.5	Hojas	21
1.3.4.6	Flor.....	21
1.3.4.7	Fruto.....	21
1.3.5	Usos medicinales	22
1.3.6	Principales componentes de la <i>Ilex guayusa</i>	22
1.3.7	Cultura y tradiciones.....	24
1.4	Cafeína	24
1.4.1	Concepto	25
1.4.2	Historia.....	27
1.4.3	En la naturaleza y productos sintéticos.....	30
1.4.4	Propiedades químicas.....	31
1.4.5	Farmacología	31
1.4.6	Metabolismo y vida media	33
1.4.7	Mecanismo de acción.....	35
1.4.8	Propiedades curativas de la cafeína	37

1.4.9	Cafeína y metabolismo de las grasas	37
1.4.10	El metabolismo de la cafeína.....	38
1.4.11	Sensibilidad a la cafeína.....	39
1.4.12	Efectos inmediatos de la cafeína	39
1.4.13	La cafeína y la salud	39
1.4.14	Dosis seguras.....	40
1.4.15	Precauciones y efectos secundarios de la cafeína.....	40
1.5	Animales de experimentación	41
1.5.1	Ratón (<i>Mus musculus</i>).....	41
1.5.1.1	Taxonomía.....	41
1.5.1.2	Ventajas de su uso como animal de laboratorio	41
1.5.1.3	Desventajas.....	41
1.5.1.4	Características generales.....	42
1.5.1.5	Comportamiento del ratón.....	43
1.6	Tintura.....	45
CAPÍTULO II		45
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	45
2.1	Lugar de la investigación	45
2.2	Materiales, equipos y reactivos	47
2.2.1	Material biológico.....	47
2.2.2	Materiales de laboratorio.....	49
2.2.3	Equipos.....	49
2.2.4	Reactivos	49
2.3	Técnicas y Métodos	49
2.3.1	Control de calidad droga cruda.....	50
2.3.1.1	Determinación del contenido de humedad	52

2.3.1.2	Determinación de cenizas totales	52
2.3.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua	52
2.3.1.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	53
2.3.1.5	Tamizaje fitoquímico	54
2.3.1.5.1	Ensayo de Sudan.....	54
2.3.1.5.2	Ensayo de Baljet	55
2.3.1.5.3	Ensayo de Liebermann-Buchart	55
2.3.1.5.4	Ensayo de Dragendorff	56
2.3.1.5.5	Ensayo de Mayer	56
2.3.1.5.6	Ensayo de Wagner	56
2.3.1.5.7	Ensayo de Resinas	56
2.3.1.5.8	Ensayo de Fehling.....	56
2.3.1.5.9	Ensayo Espuma.....	57
2.3.1.5.10	Ensayo Cloruro Férrico (FeCl ₃).....	57
2.3.1.5.11	Ensayo de Ninhidrina.....	57
2.3.1.5.12	Ensayo de Borntrager.....	58
2.3.1.5.13	Ensayo de Shinoda.....	58
2.3.1.5.14	Ensayo de Kedde	58
2.3.1.5.15	Ensayo de Antocianidinas	59
2.3.1.5.16	Ensayo de Mucilagos	59
2.3.1.5.17	Ensayo de Catequinas	59
2.3.1.5.18	Ensayo de Principios Amargos.....	59
2.3.2	Elaboración de la tintura de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>)	60
2.3.3	Control de calidad de la tintura de guayusa	60
2.3.3.1	Determinación organoléptica del extracto hidroalcohólico	60
2.3.3.2	Determinación de los parámetros físico-químicos de la tintura	60

2.3.3.2.1	Determinación del índice de refracción	61
2.3.3.2.2	Determinación de la densidad relativa	62
2.3.3.2.3	Determinación del pH	63
2.3.3.3	Determinación de microorganismos contaminantes	63
2.3.3.3.1	Método de conteo de aerobios mesófilos totales en placa	63
2.3.3.3.2	Determinación de coliformes totales	65
2.3.3.3.3	Determinación de coliformes fecales	65
2.3.3.3.4	Método de conteo de mohos en placa	66
2.3.4	Extracción de la cafeína	67
2.3.5	Extracción de los alcaloides totales	68
2.3.6	Análisis cromatográfica de alta eficiencia (HPLC) de la cafeína extraída	69
2.3.7	Análisis espectrofotométrico UV de la cafeína extraída	70
2.3.8	Análisis cromatográfico en capa fina de la cafeína (TLC) extraída	71
2.3.9	Actividad adelgazante de la guayusa (<i>Ilex guayusa</i>)	71
CAPÍTULO III		73
3.	Resultados y discusión	73
3.1	Control de calidad droga cruda	73
3.1.1	Determinación de humedad	74
3.1.2	Determinación de cenizas totales	75
3.1.3	Determinación de cenizas solubles en agua	75
3.1.4	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	75
3.1.5	Tamizaje Fitoquímico	76
3.2	Control de calidad de la tintura de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>)	76
3.2.1	Determinación organoléptica del extracto hidroalcohólico	76
3.2.2	Determinación de los parámetros físico- químicos de la tintura	77

3.2.3	Cuantificación de la cafeína de la tintura por análisis cromatográfico de la eficiencia (HPLC).....	78
3.2.4	Determinación de microorganismos contaminantes.....	79
3.3	Extracción de la cafeína	79
3.3.1	Análisis cromatográfico en capa fina (TLC) de la cafeína extraída	80
3.3.2	Análisis espectrofotométrico UV de la cafeína extraída.....	81
3.3.3	Análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) de la cafeína extraída.....	82
3.4	Actividad adelgazante de la tintura de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>)	83
	CAPÍTULO IV	89
4.	Conclusiones	89
	CAPÍTULO V	91
5.	Recomendaciones	91
	CAPÍTULO VI	92
6.	Resumen y summary.....	92
	CAPÍTULO VII	94
7.	Bibliografía.....	94
	CAPÍTULO VIII	104
8.	Anexos.....	104

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1	Resultados del control de calidad de la droga seca y pulverizada de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	73
CUADRO N° 2	Tamizaje Fitoquímico de la droga seca y pulverizada de la guayusa.....	75
CUADRO N° 3	Determinación organoléptica de la tintura de guayusa.....	74
CUADRO N° 4	Determinación de los parámetros físico químicos de la tintura de guayusa.....	74
CUADRO N° 5	Cuantificación de cafeína de la tintura de GUAYUSA (<i>Ilex guayusa</i>). ..	78
CUADRO N° 6	Análisis microbiológico de la tintura de guayusa.....	79
CUADRO N° 7	Extracción de cafeína de la planta y del té comercial de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	79
CUADRO N° 8	Resultados del TLC para identificación de cafeína extraída de la guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	80
CUADRO N° 9	Cuantificación (UV) de cafeína de la planta y del té comercial de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	81
CUADRO N° 10	Cuantificación (HPLC) de cafeína de la planta y del té comercial de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	82
CUADRO N° 11	Datos de la diferencia de peso de cada grupo de estudio después de la administración de la tintura de guayusa en ratones (<i>Mus musculus</i>) con sobrepeso inducido.....	83
CUADRO N° 12	Análisis estadístico de la diferencia de peso de los ratones (<i>Mus musculus</i>).....	84
CUADRO N° 13	Anova dos factores para las variables de tratamiento vs tiempo.....	85
CUADRO N° 14	Anova dos factores comparaciones múltiples. Modelo sin interacciones con I.C. HSD de Tukey al 95%.....	85
CUADRO N° 15	Peso promedio de los ratones durante el tratamiento adelgazante y desviación estándar.....	86

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1	Clasificación clínica de la obesidad.....	2
TABLA N° 2	Circunferencia de la cintura/riesgo de patología metabólica.....	3
TABLA N° 3	Principales enfermedades asociadas a la obesidad.....	4
TABLA N° 4	Características ideales de un fármaco para el tratamiento de la obesidad.....	6
TABLA N° 5	Contenido de cafeína de algunos alimentos y fármacos.....	29
TABLA N° 6	Taxonomía de los animales de experimentación empleados en el estudio farmacológico.....	46
TABLA N° 7	Descripción anatómica.....	46
TABLA N° 8	Detalle de condiciones de mantenimiento.....	46
TABLA N° 9	Interpretación del NMP para la determinación de coliformes totales.....	64
TABLA N° 10	Descripción del diseño experimental.....	71
TABLA N° 11	Normativos del control de calidad para la humedad.....	73
TABLA N° 12	Normativos del control de calidad de cenizas totales.....	74

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1	Curva de absorbancia vs concentración de cafeína estándar para cuantificación de la cafeína extraída de la planta de guayusa y del te comercial de guayusa.....	81
GRÁFICO N° 2	Curva de variación del peso vs tiempo durante la administración de los tratamientos.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1	Estructura de la cafeína.....	30
FIGURA N° 2	Metabolismo de la cafeína.....	31
FIGURA N° 4	Tamizaje Fitoquímico.....	53

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1	Cromatografías en capa delgada de la guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).	80
FOTOGRAFÍA N° 2	Extracción del cloroformo en el rotavapor.....	104
FOTOGRAFÍA N° 3	Cristales de cafeína.....	104
FOTOGRAFÍA N° 4	Ensayo para la identificación de alcaloides.....	105
FOTOGRAFÍA N° 5	Ensayo para la identificación de azúcares totales.....	105
FOTOGRAFÍA N° 6	Ensayo para la identificación de azúcares totales.....	105
FOTOGRAFÍA N° 7	Mufla.....	106
FOTOGRAFÍA N° 8	Desecador.....	106
FOTOGRAFÍA N° 9	pHmetro.....	106
FOTOGRAFÍA N° 10	Espectrofotómetro.....	106
FOTOGRAFÍA N° 11	Grupo blanco.....	107
FOTOGRAFÍA N° 12	Percha con los diferentes grupos de estudio.....	107
FOTOGRAFÍA N° 13	Grupo control positivo.....	107

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1	Extracción de la cafeína.....	104
ANEXO N° 2	Tamizaje fitoquímico.....	105
ANEXO N° 3	Equipos utilizados.....	106
ANEXO N° 4	Animales de experimentación.....	107
ANEXO N° 5	Datos del peso de los ratones durante la etapa de engorde.....	108
ANEXO N° 6	Datos del peso de los ratones durante la etapa de adelgazamiento.....	109
ANEXO N° 7	Dosis de la administración de los diferentes tratamientos adelgazantes.....	110
ANEXO N° 8	Volúmenes de la administración de los diferentes tratamientos adelgazantes.....	111
ANEXO N° 9	Cromatogramas del HPLC de la cafeína.....	112

INTRODUCCIÓN

La obesidad es el trastorno metabólico más frecuente y se caracteriza por un aumento en la proporción de tejido adiposo en relación al peso corporal total. La mayoría de las veces, se debe a un desequilibrio entre el aporte y el gasto energético. Este trastorno constituye un importante problema de salud pública, por la alta prevalencia en países desarrollados y al que se le asocia una alta tasa de mortalidad, con múltiples complicaciones o enfermedades crónicas. El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2,8 millones de personas adultas como consecuencia del sobrepeso o la obesidad.(44)(55)

En el Ecuador se realizaron los primeros estudios epidemiológicos sobre este campo a partir de la maestría de alimentación y nutrición de la Universidad Central y luego a través de la SECIAN, sus miembros desarrollaron investigaciones concretas sobre obesidad en niños y adolescentes, estableciendo datos muy recientes que revelan que en nuestro país 14 de cada cien niños de edad escolar y 22 de cada cien adolescentes en áreas urbanas presentan sobrepeso y obesidad.(54)

Debido a este problema de salud que existe hoy en día, el deseo de adelgazar hace que muchas personas hagan cualquier cosa por perder peso, inclusive ingerir medicamentos, pero no hay que olvidar que, sólo tres: Xenical(orlistat), Reductil (sibutramina) y Acomplia (rimonabant), tienen resultados científicamente probados, sin embargo presentan contraindicaciones y efectos secundarios (en algunos casos, importantes), y deben ser tomados bajo estricto control médico. También se puede encontrar una gran variedad de productos naturales, los mismos que contienen principios activos, tales como flavonoides (apiol), alcaloides(cafeína, teobromina), catequinas, polifenoles, sinefrina,

etc. La cafeína es un estimulante moderado del sistema nervioso central y de la zona digestiva, acelera el metabolismo y aumenta los niveles de serotonina, un neurotransmisor que mejora el humor en el cerebro. También tiene efectos termogénicos, diuréticos y acelerador del metabolismo. (35).

Estudios a nivel internacional confirman que el consumo de cafeína activa la lipólisis y que después de su ingesta se observa una mayor concentración de ácidos grasos en el plasma sanguíneo. (Félix Jacob Jure 2008, JW Helge, DA MacLean 2000,) La controversia es si este aumento de ácidos grasos en sangre se traduce en un mayor consumo de grasas por parte del organismo. (39), (50)

Lo publicado en febrero de 1995 por la revista científica American Journal of Physiology titulado "Effects of caffeine ingestion on NE kinetics, fat oxidation, and energy expenditure in younger and older men" explica que se observó claramente al grupo de personas que utilizó cafeína llegó a aumentar su quema de calorías hasta en un 11% con respecto al grupo que utilizó un placebo. (39)

En la actualidad como alternativa para la reducción de peso se utiliza una variedad de plantas, las mismas que actúan realizando funciones como; termogénesis, reductoras del apetito, diuréticas, inhibidoras de la lipogénesis, saciantes y disminuidoras de la absorción. Tomando en cuenta que en la mayoría de estas plantas uno de sus principios activos es la cafeína.

Es por ello que en esta tesis se decidió trabajar con la guayusa que es una planta nativa del oriente Ecuatoriano y tiene un alto contenido de cafeína, la misma que al ser ingerida por el ser humano tiene propiedades de termogénesis, acelerador del metabolismo y diuréticas.

Los objetivos fueron comprobar el efecto adelgazante de la tintura de guayusa (*Ilex guayusa*) en ratones (*Mus musculus*) con sobrepeso inducido, además de observar dicho efecto con la influencia del extracto rico en alcaloides de la guayusa. Por esta razón se incorporó el conocimiento de que la cafeína es un principio activo que ayuda adelgazar y que está presente en casi todos los productos que se utilizan con este fin. El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Riobamba, en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El siguiente objetivo fue realizar el control de calidad de la droga cruda y de la de guayusa (*Ilex guayusa*) para así comprobar que la planta fue debidamente cosechada y asegurar la inocuidad para el consumo de la misma.

Y como último objetivo se realizó la cuantificación de la cafeína del té y de la planta de guayusa y se identificó el efecto adelgazante de la tintura de guayusa mediante su administración a ratones con sobrepeso inducido a diferentes dosis durante tres semanas

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 SOBREPESO Y OBESIDAD

1.1.1 DEFINICIÓN

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. (54)

El sobrepeso es un incremento en el peso corporal; la obesidad es el aumento en el tamaño o la cantidad de células de grasa suficientes para dañar la salud del individuo. Desde un punto de vista epidemiológico, se emplea el cálculo del índice de masa corporal (IMC) o índice de Quetelet que es la relación entre el peso (kg) dividido por la altura (en metros) elevado al cuadrado (kg/m^2). Este índice se correlaciona muy bien con la cantidad de grasa corporal, aunque presente ciertas limitaciones como son las que no consideran la edad, el sexo y la talla, como variables a tener en cuenta. No obstante, a nivel mundial, se emplea este índice como el más idóneo para poder realizar comparaciones entre diferentes poblaciones o estudios clínicos. La clasificación actual de la obesidad está referenciada siempre con el IMC, donde podemos distinguir fácilmente los sujetos con normopeso de aquellos que presentan sobrepeso y diferentes grados de obesidad. (16), (62).

1.1.2 CLASIFICACIÓN

1.1.2.1 De acuerdo al exceso de peso corporal

Actualmente existen métodos científicos simples para medir la grasa del cuerpo (composición corporal) como la bioimpedancia, pliegues cutáneos, otros algo más sofisticados a través de imagenología por rayos X, densitometría, dilución isotónica etc.(6)

La más utilizada en la actualidad, es el Índice de Masa Corporal (IMC) obtenido por la relación entre el peso expresado en kilogramos y la altura en metros al cuadrado (fórmula de Quetelet: $\text{Peso}/\text{talla}^2$). Tomando en cuenta este índice, definimos como sobrepeso a individuos con IMC igual o superior a 25 Kg/m^2 y obesos a aquellos que tienen IMC igual o superior a 30 Kg/m^2 . Es una medida fácil de obtener, con una buena correlación con la composición corporal, reproducible y de valor diagnóstico y pronóstico. (6)

TABLA No 1. CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LA OBESIDAD

CLASIFICACIÓN	IMC (Kg/m^2)	RIESGO DE MORTALIDAD Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR
Normopeso	18.5 – 24.9	Bajo
Sobrepeso	25 -29.9	Riesgo leve
OBESIDAD		
Clase I	30 – 34.9	Moderado
Clase II	35 – 39.9	Alto riesgo
Clase III(clínicamente severa)	≥ 40	Riesgo muy alto

FUENTE: DELBONO, M y CHAFTARE, Y. 2009

1.1.2.2 De acuerdo a la distribución de la grasa corporal

Más allá del IMC, la distribución de la grasa modifica el riesgo para la salud del individuo. Si el tejido adiposo se acumula en la mitad superior del cuerpo, en especial

aquella que se deposita en el abdomen (obesidad androide, en forma de manzana, central o centroabdominal) se asocia con mayor frecuencia de riesgo de diabetes o enfermedad CV. El perímetro de la cintura, medido en el punto medio entre el reborde costal y la cresta ilíaca, se acepta como medida clínica indirecta de distribución central de la grasa y resulta un buen indicador de riesgo CV. (6)

La OMS considera las siguientes medidas de la cintura como indicadoras de riesgo:

TABLA No 2. CIRCUNFERENCIA DE LA CINTURA/RIESGO DE PATALOGÍA METABÓLICA.

	RIESGO AUMENTADO	RIESGO SIGNIFICATIVAMENTE AUMENTADO
HOMBRES	≥94cm	≥102cm
MUJERES	≥80cm	≥88cm

FUENTE: DELBONO, M y CHAFTARE, Y. 2009

1.1.3 FACTORES DE RIESGO

- Herencia genética. Algunos investigadores creen que un gen que se transmite de una generación a la siguiente podría afectar a la manera en que regulamos nuestro peso corporal.
- Edad. Con la edad, el organismo no puede quemar energía con la misma rapidez y no necesitamos la misma cantidad de calorías para mantener estable el peso.
- Sexo. Los hombres queman más energía en reposo que las mujeres, por eso necesitan más calorías para mantener su peso corporal.
- Medio ambiente y hábitos alimenticios. Los restaurantes de comida rápida y la comida chatarra que contiene mucha grasa y colesterol.
- Falta de actividad física. La gente que come mucho pero no hace ejercicio tiene mayores probabilidades de ser obesa.
- Embarazo. Un 15 por ciento de las mujeres embarazadas aumenta 20 libras con cada embarazo.
- Obesidad infantil. Los niños obesos tienen mayores probabilidades de ser adultos obesos. Los niños obesos pueden tener cinco veces el número de células grasas que los niños de peso normal.

- Enfermedades. Problemas hormonales tales como el funcionamiento deficiente de la glándula tiroidea (hipotiroidismo), la depresión y algunas enfermedades cerebrales poco comunes.
- Medicamentos. Los corticoesteroides y algunos antidepresivos pueden ocasionar un aumento de peso.
- Trastornos alimentarios. Los trastornos por atracones e ingesta nocturna representan tanto como el 10 al 20 por ciento de la gente que solicita tratamiento para la obesidad. (55)

1.1.4 FACTORES DE COMORBILIDAD ASOCIADAS A LA OBESIDAD

Epidemiológicamente el sobrepeso y la obesidad se asocian a multitud de enfermedades que son las que, en definitiva, implican un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad entre estos sujetos. Parece razonable que con IMC superiores a 25 kg/m² comiencen a expresarse con más o menos intensidad las diferentes comorbilidades asociadas a esta enfermedad.(16)

Se ha demostrado claramente que el sujeto con sobrepeso u obesidad tiene un mayor índice de mortalidad global por cualquier causa, que la persona sin exceso de peso.(16)

TABLA No 3. PRINCIPALES ENFERMEDADES ASOCIADAS A LA OBESIDAD

<ul style="list-style-type: none">• Hiperlipemia: aumento de triglicéridos, disminución de c-HDL, aumento del c-LDL• Hipertensión arterial• Diabetes mellitus tipo 2• Enfermedades cardiovasculares• Trastornos respiratorios: insuficiencia respiratoria, SAOS• Alteraciones osteoarticulares	<ul style="list-style-type: none">• Insuficiencia venosa de extremidades inferiores o plexo hemorroidal• Alteraciones digestivas: estreñimiento, hernia de hiato, hígado graso, colelitiasis.• Hiperuricemia y gota• trastornos psicológicos: depresión, ansiedad, trastornos de conducta alimentaria.• tumores malignos: colón, recto, próstata, mama, endometrio, riñón, etc.
---	---

FUENTE: NAVARRO, C y ORTEGA, T. 2009

1.1.5 MECANISMOS DE CONTROL DEL APETITO Y EL PESO CORPORAL

Al margen de las propiedades saciantes de los nutrientes (proteínas, carbohidratos, grasas), en un sistema homeostático, el balance de proteínas es prácticamente nulo, porque todas las proteínas que se ingieren se utilizan para la síntesis de proteínas (estructurales o funcionales; como enzimas, inmunoglobulinas, factores de la coagulación, etc.), de tal manera que un exceso de proteínas no se acumula sino que se oxida y se elimina, a través del ciclo de la urea, por la orina. Los carbohidratos se oxidan en su gran mayoría para equilibrar la ingesta o bien se almacenan en forma de glucógeno (500-1000 g), pero, en contra de lo que habitualmente se cree, apenas existe transformación de carbohidratos en grasa (500 g de carbohidratos se transforman en 7 g de grasa). Lo que sí sucede es que mientras el organismo se encarga de oxidar carbohidratos, deja de quemar grasas, lo que se puede traducir en un efecto indirecto de aumento de la reserva de grasa y del peso. (16)

1.1.6 TRATAMIENTO PARA LA OBESIDAD Y SOBREPESO

1.1.6.1 Tratamiento básico

El tratamiento básico para el control del sobrepeso y la obesidad combina la reducción de la energía alimentaria, la actividad física y la terapia conductual.

Con un plan de comidas bajo en calorías se busca la creación de un balance energético negativo con el fin de reducir el excedente de triglicéridos existente en el tejido adiposo.

Los planes alimentarios bajos en calorías se pueden dividir en dos grupos: planes hipocalóricos (800-1.500 kcal/día o 12-20 kcal/kg de peso diana/día) y planes de muy bajo contenido calórico (< 800 kcal/día o < 12 kcal/kg de peso diana/día). (2)

1.1.6.2 Tratamiento farmacológico

El manejo farmacológico de la obesidad es complementario al tratamiento tradicional, no lo reemplaza ni puede indicarse aislado a la dieta y actividad física.

Los candidatos a la farmacoterapia son los que tienen un índice de masa corporal (CMI) mayor de 30; o bien un CMI mayor de 27 y la presencia de uno o más factores de riesgo cardiovasculares o apneas del sueño. Se considera que un descenso de 2kg o más durante el primer mes o bien una caída mayor al 5% del peso inicial a lo largo de seis meses son resultados efectivos. (65)

En la indicación de un tratamiento farmacológico en obesos se deben considerar los factores etiológicos, la respuesta terapéutica (efectos farmacológicos y colaterales), dosis apropiadas, interacciones farmacológicas, contraindicaciones médicas o psiquiátricas. El uso de fármacos en la actualidad sólo se justifica en el contexto de un tratamiento integral (dieta, actividad física, terapia conductual). Debe reservarse para adultos y excepcionalmente se pueden utilizar en adolescentes. (22)

TABLA No 4. CARACTERÍSTICAS IDEALES DE UN FÁRMACO PARA EL TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD

- Reducción demostrada en peso y enfermedades asociadas
- Efectos secundarios tolerables o transitorios
- Sin reacciones adversas mayores después de años de uso
- Eficacia mantenida a largo plazo
- Sin propiedades adictivas
- Mecanismo(s) de acción conocido(s)
- Costo razonable

FUENTE: OMS

Los fármacos que se han utilizado en el tratamiento de la obesidad actúan a través de 3 mecanismos principales:

1. Disminuyendo la ingesta calórica por inhibición del apetito (anorexígenos) o aumento de saciedad (sacietógenos).
2. Aumentando el gasto energético y la oxidación de lípidos (termogénicos).
3. Inhibiendo la digestión y absorción de macro-nutrientes de la dieta (inhibidores de enzimas digestivas). (22)

1.1.6.2.1 Fármacos inhibidores del apetito

Agonistas serotoninérgicos

La serotonina se ha reconocido implicada en el control del apetito y la saciedad. La activación de la neurotransmisión serotoninérgica inhibe la ingesta alimentaria, especialmente en lo que se refiere a carbohidratos y grasas. (66)

Estos fármacos tienen similitudes bioquímicas con los derivados anfetamínicos pero su acción se ejerce sobre los receptores de serotonina (5 hidroxitriptamina), estimulando la liberación de serotonina e inhibiendo su recaptación por lo que carecen del efecto estimulante de la noradrenalina y de su potencial de abuso. (23)

- **Fenfluramina y dexfenfluramina**

Inicialmente se comercializó el compuesto racémico, para sintetizarse posteriormente el isómero dextrógiro (dexfenfluramina) dotado de mayor potencia. El fármaco actúa estimulando la liberación e inhibiendo la recaptación de serotonina en la sinapsis, no descartándose un efecto directo agonista sobre el receptor serotoninérgico. Su dosis habitual era de 15 mg dos veces al día. (66)

Los efectos secundarios más frecuentes eran leve sequedad de boca, astenia y sensación de mareo. Fue retirado en 1997 tras observarse casos de valvulopatías, especialmente mitral y aórtica y de hipertensión pulmonar tras la administración de la combinación dexfenfluramina-fentermina. (66)

Inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina

Son fármacos aprobados para el tratamiento de la depresión y trastornos obsesivos compulsivos que han demostrado producir pérdida de peso a corto plazo (6 meses) aunque después de ese período el peso se recupera a pesar de continuar con la medicación, por lo que su uso ha quedado restringido.(23)

Los más utilizados son: la fluoxetina a dosis de 60 mg/día, la paroxetina a dosis de 20 mg/día que puede aumentarse hasta un máximo de 50mg/día, y la sertralina a dosis de 100- 200 mg/día. (23)

Agonistas adrenérgicos

La noradrenalina puede actuar en el núcleo paraventricular del hipotálamo a través de la interacción con dos tipos de receptores. La activación del receptor β -1 inhibe el apetito, mientras que la del receptor β -2 lo estimula. No obstante, es bien conocido que la administración de agonistas adrenérgicos aumenta la actividad simpática e inhibe el apetito. Tanto la anfetamina como sus derivados metanfetamina y fenmetracina fueron retirados por su capacidad de inducir adicción. Posteriormente, se ha modificado su estructura química con objeto de potenciar el efecto anorexiantes y reducir la capacidad adictiva dando lugar a preparados como dietilpropion, mazindol y fentermina. (66)

- **Mazindol**

Si bien no existen trabajos controlados que avalen su uso, dos estudios observacionales mostraron una reducción significativa de peso en los pacientes que recibieron droga, así como un descenso de la presión arterial y de los niveles de colesterol, triglicéridos e insulina. (65)

- **Fentermina**

Es estructuralmente similar a las anfetaminas pero con escaso o nulo efecto dopaminérgico, lo que disminuye el riesgo de abuso.

La dosis usual es de 30mg por día y los efectos adversos más frecuentes son cefalea, insomnio e irritabilidad. No se aconseja en pacientes con hipertensión no controlada, glaucoma, depresión, hipertiroidismo y antecedentes cardiovasculares. (65)

Agonistas serotoninérgicos y adrenérgicos

- **Sibutramina**

La sibutramina es la única droga de las simpaticomiméticas que es efectiva para bajar de peso en personas obesas adultas con o sin factores de riesgo coronario adicionales. El descenso de peso se sostiene mientras se usa la droga, pero el peso se recupera a los

pocos meses de ser suspendida. También existe evidencia de que la sibutramina mejora la distribución de la grasa corporal total disminuyendo significativamente el tejido celular subcutáneo abdominal y la grasa visceral, principales indicadores de riesgo cardiovascular de la obesidad. (65)

En pacientes obesos diabéticos, dislipémicos e hipertensos el uso de sibutramina mejora los valores de glucemia, hemoglobina glicosilada, triglicéridos, LDL, colesterol total y ácido úrico, aumentando los de HDL pero no en forma significativa. (65)

Agonistas dopaminérgicos

La activación de la vía dopaminérgica en el hipotálamo es capaz de inhibir el apetito a través de la interacción con receptores D2. La anfetamina actúa en parte por efecto agonista dopaminérgico.

La bromocriptina ha mostrado inducir pérdida ponderal en combinación con una dieta hipocalórica. Se le atribuye un efecto adicional inhibitor de la lipogénesis y favorecedor de la tolerancia hidrocarbonada en pacientes obesos. (66)

La doprexina, un conjugado de dopamina y ácido cis-docosahecanoico que actúa como agonista D2, ha demostrado poseer un efecto supresor de la ingesta en ratas. (66)

1.1.6.2.2 Fármacos moduladores de la absorción de nutrientes

- **Orlistat**

El orlistat actúa inhibiendo a la lipasa pancreática evitando la hidrólisis de los lípidos ingeridos en la dieta y aumentando su eliminación fecal.

La dosis recomendada es de 360mg por día dividida en tres tomas con las comidas. El efecto adverso más común es la diarrea, las flatulencias, la urgencia y la incontinencia fecal, siendo con frecuencia causa de abandono terapéutico. (65)

- **Acarbosa**

La acarbosa es un inhibidor de las alfa glicosidasas intestinales que se emplea en la práctica clínica como tratamiento de la diabetes tipo 2 con el objetivo de ralentizar y reducir la absorción de carbohidratos. (66)

- **Fibra**

Se encuentra en forma natural en los alimentos del reino vegetal. Entre los preparados más utilizados se encuentran: goma guar, salvado de trigo y pectina, y psyllium.

El retraso del vaciamiento gástrico producido por la ingesta de fibra contribuye al aumento de la sensación de saciedad, así como a la interferencia en la absorción de glucosa y colesterol a nivel intestinal. La fibra insoluble (salvado de trigo) aumenta el bolo fecal y mejora el estreñimiento, siendo útil cuando se sigue una dieta baja en calorías. Habitualmente se recomiendan 25-30 g/día. (66)

1.1.6.2.3 Fármacos estimuladores de la termogénesis

La posibilidad de incrementar el gasto calórico mediante fármacos estimuladores de la termogénesis constituye un abordaje terapéutico atractivo para desequilibrar la ecuación de balance energético con el objeto de reducir el compartimento graso en pacientes con obesidad. (66)

- **Hormona tiroidea**

La administración de hormona tiroidea tiene la gran desventaja de reducir rápidamente el porcentaje de masa libre de grasa, afectar a la función cardíaca con riesgo de arritmia y favorecer la reabsorción ósea y el desarrollo de osteoporosis. (66)

- **Efedrina y cafeína**

La efedrina es un agente simpatomimético que suprime el apetito a través de su efecto adrenérgico a nivel hipotalámico y ejerce un efecto adicional favorecedor del gasto energético. Estimula la liberación de noradrenalina de las terminaciones nerviosas. Aunque ha sido considerado como un fármaco básicamente termogénico, el 75% de la pérdida de grasa derivado de la administración de efedrina es debida a su efecto

anoréxico y sólo el 25% es consecuencia de un aumento en el gasto energético. La cafeína inhibe la degradación de noradrenalina, lo que potencia el efecto simpático.

La combinación efedrina-cafeína aumenta el nivel de glucemia, insulinemia y péptido C y contribuye a preservar la masa libre de grasa, aspecto muy interesante para evitar la caída de gasto energético en reposo que habitualmente ocurre con la reducción ponderal.(66)

Agonistas β -3 adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos β -3 se localizan en los adipocitos del tracto gastrointestinal y en la grasa. Entre sus funciones se incluyen la regulación de la lipólisis, termogénesis y motilidad del tracto gastrointestinal. (66)

1.1.6.3 Tratamiento quirúrgico de la obesidad

La indicación de cirugía para tratar a pacientes obesos se ha definido en consensos internacionales y nacionales. Se consideran elegibles para este procedimiento a pacientes con IMC igual o mayor de 40 kg/m², o con IMC igual o mayor de 35 kg/m² asociado a condiciones médicas relevantes como diabetes tipo 2, hipertensión arterial, dislipidemias, cardiopatía coronaria, artropatía de grandes articulaciones o apnea obstructiva del sueño, entre otras condiciones. (22)

Existen varias modalidades de cirugía bariátrica, algunas sólo restringen la capacidad gástrica y otras que se combinan con un procedimiento de malabsorción. Las técnicas más ampliamente difundidas y aplicadas en la actualidad son la gastroplastia con bypass gastro-yeyunal en Y de Roux abierto o laparoscópico (BPG), la banda gástrica ajustable laparoscópica, y de más reciente introducción, la gastrectomía vertical en manga (GVM).(22)

Las técnicas que sólo restringen la capacidad gástrica, como la gastroplastia con banda vertical y el banding gástrico han mostrado reducciones de peso menos significativas que el bypass gástrico, mayor frecuencia de reoperaciones y conversiones a técnicas más complejas como el bypass gástrico y mayor recuperación del peso perdido a largo plazo,

aunque aún se consideran atractivas por su menor complejidad técnica y su baja morbilidad postoperatoria. (22)

1.2 PLANTAS ADELGAZANTES

1.2.1 CONCEPTO

Las plantas medicinales cuentan con una larga tradición en el tratamiento y la prevención de los síntomas relacionados con el sobrepeso, y la investigación científica lo que ha hecho ha sido validar su eficacia y acceder al conocimiento de su mecanismo de acción.(52)

Diferentes estudios han demostrado la eficacia y seguridad de la Fitoterapia en el tratamiento del sobrepeso como elemento de apoyo a una alimentación equilibrada, el ejercicio físico y al seguimiento por parte de un profesional sanitario. (52)

1.2.2 PLANTAS CON ACTIVIDAD TERMOGÉNICA

1.2.2.1 Té Verde (*Camellia sinensis*)

Los componentes mayoritarios del té verde reducen la acumulación de ácidos grasos libres, colesterol, glucosa, insulina y leptina, entre otros. A las catequinas, uno de sus activos más importantes, varios estudios le atribuyen un aumento importante de la termogénesis, niveles que se alcanzan con la administración de cafeína pero a niveles muy elevados. Estas propiedades ayudan a perder peso y se centran en la grasa abdominal y subcutánea.(52)

El efecto del té verde sobre la termogénesis es el resultado de las actuaciones conjuntas de la cafeína y de las catequinas que entran en su composición, por interacción de ambos tipos de compuestos en el eje noradrenalina/ AMPc. Las catequinas presentes en el té verde, y en particular EGCG prolongan la vida de la noradrenalina, mediante la inhibición de la COMT (catecol orto-metil-transferasa) enzima encargada de la destrucción de la noradrenalina dando como resultado el incremento de los niveles de

noradrenalina en el espacio sináptico, imprescindible para que se inicie, tras interacción con los receptores beta3 del adipocito, el proceso de termogénesis. La continuación de la termogénesis necesita de la presencia en la célula grasa de niveles adecuados de AMPc, el cual se transforma en 5'-AMP por acción de la fosfodiesterasa, con la consiguiente pérdida de los niveles de AMPc necesarios para la termogénesis. Como consecuencia, cualquier compuesto que inhiba a la fosfodiesterasa dará lugar a un incremento de la termogénesis, tal y como ocurre con la cafeína. Por tanto, como consecuencia de esta suma de actuaciones de la cafeína y de las catequinas presentes en el té verde, se produce un incremento de la termogénesis. (16)

Por vía oral está indicado como coadyuvante en regímenes de adelgazamiento, en el tratamiento de diarreas ligeras y para favorecer la eliminación renal de agua. (52)

La dosis adecuada en caso de sobrepeso es de 1.400 mg/día, repartido en desayuno y comida, durante un período de 3 meses. (52)

1.2.2.2 Mate (*Ilex paraguariensis*)

De igual forma que lo que ocurre con otras especies que también contienen polifenoles y bases xánticas como el té o el guaraná, la comunidad científica ha mostrado un gran interés en ellas en los últimos años, proponiendo su empleo como coadyuvantes para el control del sobrepeso y de la obesidad. (16)

Los extractos de *Ilex paraguariensis* reducen el colesterol y triglicéridos en ratas sometidas a una dieta hipercolesterolémica, previniendo la progresión de la enfermedad aterosclerótica en conejos. Algunos autores sugieren que estos efectos están relacionados con su contenido en saponinas.(16)

La cafeína del mate actúa como en el caso del té, incrementando la liberación de catecolaminas y por ello la termogénesis, la beta-oxidación de los ácidos grasos y los mecanismos de lipólisis, influyendo en este último caso su actividad antagonista de receptores de adenosina puesto que la adenosina suprime la lipólisis en las células grasas.

Las farmacopeas británica y francesa consideran al mate como un coadyuvante en los programas de pérdida de peso por su efecto modulador del apetito, al prolongar el tiempo de vaciado gástrico. Se recomiendan 3 g/día de droga pulverizada. (16)

1.2.2.3 Guaraná (*Paullinia cupana*)

Es originaria de América del Sur. Es una liana tropical con flores de racimo. Se utilizan las semillas, que están dentro de pequeños frutos rojos como cápsulas. (52)

Contiene porcentajes variables de cafeína (2,5-5 %), acompañada de trazas de teofilina y teobromina, almidón (30%), proteínas (15%), compuestos polifenólicos (+)-catequina y (-)-epicatequina, taninos (12%), resina y saponósidos triterpénicos. Algunos autores indican además un pequeño porcentaje de aceite esencial. (16)

Está indicada como coadyuvante en el tratamiento de la obesidad, astenias y diarreas leves. Se aconseja una dosis de 0,5/2 g/día de droga pulverizada o una decocción al 3 por ciento, dos tazas/día.(52)

1.2.3 PLANTAS MEDICINALES REDUCTORAS DEL APETITO

1.2.3.1 Hoodia (*Hoodia gordinii* y *Hoodia pilifera*)

Es una especie espinosa y cactiforme, que crece en zonas desérticas, originaria del desierto de Kalahari (África del Sur), donde las elevadas temperaturas permiten su floración.

Se utiliza como supresora del apetito, tanto en extractos como pulverizada. Según los distintos fabricantes, se aconseja un consumo que va desde los 100 a los 3.000 mg/día. Por tanto se deben hacer estudios para establecer la dosis adecuada.(52)

1.2.3.2 Naranja Amargo (*Citrus aurantium*)

Si bien la corteza de naranja amarga ha sido empleada clásicamente en el tratamiento de la pérdida de apetito, debido al carácter amargo que le prestan flavonoides como el naringósido, en los últimos años se ha propuesto el uso de sus preparados con la finalidad de disminuir el apetito y favorecer la pérdida de peso.(16)

La sinefrina, principal representante de los derivados nitrogenados que entran en la composición del pericarpio de la naranja amarga, es un derivado feniletilamínico, estructuralmente relacionado con la efedrina. Al igual que ella, la sinefrina se comporta como agonista α -adrenérgico, presentando, junto a la octopamina, afinidad hacia los receptores β 3-adrenérgicos de la membrana de los adipositos, cuya estimulación da lugar a un aumento del metabolismo, y a la promoción de la termogénesis, a través de la cual se produce un incremento en el proceso de oxidación de las grasas. (16)

Los preparados elaborados con corteza de naranja amarga se emplean como coadyuvantes de los tratamientos de pérdida ponderal. Se aconsejan 1-2 cucharaditas, 1-3 veces al día, de decocción de pericarpio. En cápsulas, 85 mg de extracto de pericarpio (contenido de 5 mg de sinefrina): 2 cápsulas en el desayuno y dos en la comida.(52)

1.2.4 PLANTAS CON ACTIVIDAD DIURÉTICA

1.2.4.1 Ortosifon (*Ortosiphon stamineus*)

El té de Java está constituido por las hojas y parte superior de los tallos de Ortosifón. Es originaria de Indonesia. Las flores son de color blanco o lila, con estambres alargados como un bigote, por eso se la conoce como "bigote de gato". Es rica en sales de potasio, diterpenos y abundantes compuestos fenólicos (fenoles y flavonoides) entre otros. Está indicada en procesos inflamatorios e infecciosos del aparato urinario, así como en caso de litiasis renal. Se aconsejan de 0,75-1,5 g/día de polvo criomolido de hojas, que puede subir a 2,25 g/día, en 2-3 tomas.(52)

1.2.4.2 Cola de caballo (*Equisetum arvense*)

Se emplean sus partes aéreas y abunda en los suelos húmedos de Europa, Asia y América del Norte. Posee dos tipos de tallos: fértiles y estériles. Los tallos fértiles, no clorofílicos aparecen en primavera y presentan una espiga de forma oblonga. Los estériles se desarrollan más tarde, son huecos y con ramas acanaladas. Tienen hojas insertadas en los nudos. Algunos de sus tejidos están impregnados de sílice. El equiseto es rico en minerales, además posee ácido ascórbico, fitosteroles, fenoles y flavonoides. Está indicado, en uso interno, para favorecer la eliminación renal de agua en caso de afecciones inflamatorias renales y vesicales, y en cálculos renales de pequeño tamaño. Es coadyuvante en régimen de adelgazamiento, en especial si el exceso ponderal está acompañado de retención de líquidos. En el uso externo: se emplea en heridas con mala cicatrización, forma también parte de formulaciones cosméticas destinadas a prevenir arrugas y en el tratamiento de la celulitis. (52)

1.2.4.3 Alcachofa (*Cynaras colimus*)

Se ha utilizado tradicionalmente como colerético, hepatoestimulante, hipocolesterolemico y diurético, responsabilizando de estos efectos a los ácidos fenólicos (cinaricina y ácidos clorogénico y neoclorogénico). La alcachofa es eficaz y segura en el tratamiento de disfunciones hepatobiliares (colerético y colagogo) y trastornos digestivos. Además, en los últimos años diversas investigaciones han demostrado que es capaz de disminuir los valores plasmáticos de lípidos y de ejercer un importante efecto hepatoprotector probablemente debido a sus propiedades antioxidantes. (16)

El efecto sobre el perfil lipídico podría estar relacionado con su capacidad para inhibir de forma indirecta la biosíntesis de colesterol hepático a través de la modulación de la HMG-CoA-reductasa. La combinación de sus propiedades antioxidantes, que evitarían la oxidación de LDL, e hipocolesterolemiantes, hace de la alcachofa un fito-medicamento ideal en la prevención de la aterosclerosis y otras alteraciones cardiovasculares asociadas a la obesidad. (16)

1.2.5 PLANTAS INHIBIDORAS DE LA LIPOGÉNESIS

1.2.5.1 *Garcinia (Garcinia cambogia)*

Conocida como tamarindo malabar, originaria del sur de la India donde se empleaba como especia en enfermedades como hepatitis, laringitis, infecciones bucales y reumatismo. En la medicina ayurvédica se usa como purgante y favorecedora de la digestión. Está indicada en caso de sobrepeso y el mantenimiento de la pérdida ponderal. Se aconsejan 500-1.000 mg de extracto de *Garcinia cambogia*, repartido en 2-3 tomas y administrado entre 30 y 60 minutos antes de cada comida. (52)

1.2.6 PLANTAS SACIANTES Y DISMINUIDORAS DE LA ABSORCIÓN

1.2.6.1 **Glucomanano**

Es una fibra que, **al ser ingerido con una cantidad considerable de agua, se hincha en el tubo digestivo**, lo que genera sensación de saciedad. Numerosos estudios han constatado la eficacia del glucomanano en el tratamiento del sobrepeso, el estreñimiento, la hiperglucemia y la hipercolesterolemia. La mayoría de sus actividades están relacionadas con su capacidad de absorber agua, lo que le permite aumentar hasta 100 veces de tamaño cuando entra en contacto con este líquido, transformándose en un gel viscoso no digerible. Además, el glucomanano se usa en alimentación como fibra soluble desde hace dos décadas (en países occidentales). (52)

También se cree que el glucomanano podría producir una disminución en la absorción de glucosa, además actúa sobre el control de la colesterolemia y los niveles de LDL-colesterol, así como sobre la trigliceridemia, ya que interfiere en la absorción de los mismos. (52)

1.2.6.2 Plantago (*Plantago spp.*)

En especial en la especie Ispaquia, que es la que más se emplea, cuyas semillas también poseen una alta concentración de mucílagos (20-30%). Y también los de la especie Zaragatona con un 10-12 por ciento de mucílagos. Como en el caso del glucomanano, ambas semillas se hinchan en contacto con el agua formando un gel viscoso y voluminoso. De ese modo ejerce también un efecto saciante y regulador intestinal. Además retardan la absorción de algunos nutrientes. Por tal motivo son los laxantes más utilizados actualmente. Numerosos estudios clínicos demuestran su eficacia tanto en el tratamiento del estreñimiento crónico como en el caso del colon irritable. Está indicado como coadyuvante en las dietas de adelgazamiento, ya que es saciante y además disminuye la absorción de carbohidratos y lípidos. Como laxante se aconseja una dosis de 7-30 g de semillas al día o preparados equivalentes, administrados con la necesaria cantidad de líquidos. (52)

1.2.6.3 Fuco (*Fucus spp.*)

El fucus, debido a su contenido mucilaginoso, cuando se administra con suficiente cantidad de líquidos, provoca sensación de saciedad y actúa como regulador intestinal, lo que contribuye a la reducción de peso corporal. Ejerce además un efecto suavizante y protector de la piel y mucosas. Además de por este efecto saciante, su uso como coadyuvante en dietas adelgazantes ha sido atribuido tradicionalmente al contenido en yodo que podría inducir hipersecreción de hormonas tiroideas y por ello un incremento en el catabolismo de las grasas en los adipocitos. (16)

1.2.6.4 Judía (*Phaseolus vulgaris*)

Sus frutos o vainas se emplean con fines terapéuticos. Son ricas en carbohidratos (fibra insoluble y almidones). También poseen inositol y aminoácidos. Los extractos de la variedad blanca de judías se emplean como coadyuvantes en el tratamiento del sobrepeso. Se aconseja tomar una dosis de entre 600 y 1.500 mg junto con las principales comidas.(52)

1.2.6.5 *Gymnema (Gymnema sylvestre)*

Es una planta tropical de Asia y África, presente también en Australia y América Central. Se conoce con el nombre de Gurmar que significa destructor de azúcar. Sus hojas tienen un efecto astringente, diurético y tónico; las raíces, propiedades eméticas y expectorantes. Hoy se le atribuyen propiedades hipoglucemiantes e hipocolesterolemiantes. Recientemente se ha descubierto su utilidad a la hora de combatir la obesidad por la acción de los ácidos gimnémicos para impedir la absorción de glucosa en el intestino. Esta propiedad podría ayudar a disminuir el sobrepeso y la obesidad asociada a la diabetes tipo II. Forma parte de diversos preparados y se aconseja una dosis de 400-1.000 mg/día (con un contenido de un 24 % de ácido gimnémico).(52)

1.3 GUAYUSA

1.3.1 CONCEPTO

La guayusa, (*Ilex guayusa*) es el nombre de un arbusto aromático y medicinal del mismo género del acebo, nativo de la Amazonia ecuatoriana. Está relacionado, aunque en forma distante, con la yerba mate. Sus hojas tienen la más alta concentración de cafeína de todas las plantas conocidas. (46)

Es un árbol muy grande y ramificado. Las hojas de 15 cm de longitud y hasta 7 cm de ancho, dentadas, coriáceas, enteras, elípticas y base aguda. El peciolo corto. Cáliz con cuatro o cinco lóbulos, el fruto es globuloso. En el Ecuador se le encuentra en la región oriental, principalmente en las provincias Napo, Pastaza, en la zona de Puyo.(46)

1.3.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Árbol de 4 a 15 m de altura. Hojas alternas coriáceas, oblongo-elípticas 9,5–17 cm de longitud por 3,8–7 de ancho, ápice acuminado y base aguda, margen simple o ligeramente dentado, haz y envés glabros, peciolo corto de 1 cm de largo, estípulas conspicuas. (46)

Inflorescencias en las axilas de las hojas, fasciculadas. Flores blancas, unisexuales, cáliz persistente, 4-5 lobulado; corola con los pétalos obtusos; estambres en número igual al de los pétalos, anteras oblongas; ovario súpero, subgloboso, usualmente con 4 – 6 celdas, estigma sésil, capitado. Fruto tricarpelar, estigma persistente. (4)

1.3.3 DATOS TAXONÓMICOS DE ACUERDO A CRONQUIST (1981)

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae
- Superorden: Asteranae
- Orden: Aquifoliales
- Familia: Aquifoliaceae
- Género: Ilex L.

1.3.4 DATOS MORFOLÓGICOS

1.3.4.1 Nombre Común.- Es reconocida con el nombre castellano de guayusa en la mayoría de localidades de Ecuador.

1.3.4.2 Hábitat.- Es un árbol perenne nativo de la región amazónica, donde es silvestre, pero también está presente en ciertos lugares subtropicales de la región andina en estado cultivado (Jørgensen y León-Yáñez 1999).

1.3.4.3 Tamaño de la especie.- En general, los individuos de esta especie alcanzan un tamaño promedio de hasta 10 m de altura, poseen un diámetro a la altura del pecho (DAP) de 50-80 cm, tienen una copa irregular y presentan un follaje denso.

1.3.4.4 Tronco.- Tiene un fuste a menudo bifurcado a la altura del pecho, corteza blanca y textura lisa. Las ramas son extendidas y flexibles.

1.3.4.5 Hojas.- la textura son coriáceas, verde oscuro, enteras, oblongo-elípticas, simples, alternas sin estípulas, coriáceas, dentadas, sin pubescencias en el haz y envés, ápice acuminado, base aguda, 15-21 cm de largo, 5- 7,5 cm de ancho, pecíolo corto de 1 cm de largo.

1.3.4.6 Flor.- Posee una corola blanco verdosa con pétalos obtusos, estambres en igual número que los pétalos, anteras oblongas, ovario sésil subgloboso y usualmente con 4-6 cavidades (García Barriga 1992).

1.3.4.7 Fruto.- Es una baya globosa de casi 1 cm de ancho y verde. (64)

1.3.5 USOS MEDICINALES

En Ecuador, el uso más difundido, en forma de té, ha sido como bebida refrescante y tonificante, con efectos semejantes al té asiático o al mate paraguayo-argentino, cosa explicable por el contenido de xantinas, en especial cafeína.

Se le han atribuido diferentes propiedades como la de afrodisiaco y propiciador de éxito en ciertas empresas. Por ejemplo, los shuar del sur del Ecuador han acostumbrado a tomar té de guayusa antes de salir a sus expediciones de cacería o de pesca. También se considera que tiene un efecto péptico, ayuda a mejorar la digestión, se le atribuyen propiedades hipoglucemiantes en los pacientes diabéticos. El té se prepara agregando a un litro de agua hirviendo 4 a 5 hojas y de este se toma una o dos tazas al día. (4)

La infusión de guayusa se lo utiliza como:

- Estimulante nervioso y muscular.
- Se ha evidenciado que es un posible reductor de la glucosa.
- Digestivo
- Expectorante
- Favorece la digestión del estómago

Al uso médico se suma otro muy generalizado: esta planta, preparada como té, es muy energizante. Esta cualidad ayuda a los indígenas a realizar largas caminatas por los senderos selváticos. Fue justamente esta característica la que llamó la atención de los primeros mineros que ingresaron a la Amazonia en busca de oro. Los mineros se

admiraron de la fuerza que otorgaba la guayusa a los indígenas. Fue entonces que decidieron, sin dudar, incorporarle a su dieta diaria. (47)

1.3.6 PRINCIPALES COMPONENTES DE LA *Ilex guayusa*

Las hojas contienen cafeína en cantidades variables, superiores a las del café y el té; contiene además teobromina y cantidades menores de teofilina y otras xantinas, esteroides, terpenoides y lactonasterpénicas. (46)

- Taninos derivados del catenol.
- Esteroides.
- Quinonas.
- Alcaloides tipo cafeína (hasta un 2%).
- Saponinas.
- Flavonoides.
- Aceites esenciales.
- Triterpenos (36).

1.3.7 CULTURA Y TRADICIONES

Esta planta encierra tradiciones y mitos en la Amazonía. En Kichwa su nombre es wayusa, en Shuar, el nombre de la planta es waisi. La Wayusa es una de esas plantas que nos cuidan y nos enseñan, la tomamos en la madrugada, desde las 3 de la mañana, un Kichwa no puede esperar dormido la venida del Sol, la llegada del nuevo día. Los Kichwas velamos con la Wayusa la madrugada, es el momento de nuestro primer encuentro en familia y en comunidad. Despertamos, encendemos el fuego, cosechamos la hoja, la cocinamos y nos sentamos a su alrededor. Lo que nos enseña la Wayusa es sobre los sueños, cuando estamos tomándola todos contamos nuestros sueños porque para los Kichwas los sueños son grandes enseñanzas de los ancestros, por eso es que hay que compartirlos en familia, por eso es que hay que aprender de ellos en comunidad, ellos nos preparan para el nuevo día. (46)

En el oriente peruano – ecuatoriano las siguientes tribus usan esta planta: Omagua, Kokama, Pánobo, Kaschivo, Koto, Pioché, Lamisto, Kichos, Kanelo, Aguano, Kandoschi, Ssabela, Chivaro, Omurana, Yagua, Auschiri, Ssimaku, Ikito, Záparo, Yamco y Pintsche; entre los Pintsche es la bebida preferida, especialmente en las reuniones sociales. (4)

Parece que los indios Jibaros atribuyen a la “guayusa” varios efectos: primero, el emético, un purgante de acuerdo con la creencia, notada por Spruce, que este es nocivo por los residuos de la harina que permanecen en el estomago; segundo, algún efecto narcótico o hipnótico para inducción de “pequeños sueños” y para conocer por adelantado si una expedición de caza va a ser exitosa. Aun para ver en un sueño, la “guayusa” hervida es tomada como un buen presagio. (4)

Además las propiedades estimulantes o tónicas, diaforéticas y diuréticas, han sido indicadas. Ya que la composición química de esta planta es desconocida y la planta no es bien conocida botánicamente, debido a la carencia de suficiente material herbario, solo es posible asumir que la “guayusa” puede contener como lo hacen *Ilex paraguariensis* e *Ilex vomitoria*, un alcaloide similar a la cafeína con un efecto estimulante. (4)

La “guayusa” fue conocida, no solamente en el sector ecuatoriano – peruano del oriente de las regiones montañosas andinas, sino también en la franja Putumayo – Caquetá de Colombia. De acuerdo con Garcia- Barriga (1975) los indios del Putumayo Alto, Amaguajkes y Paraguajes, así como también los blancos de Sibundoy a Mocoa, desde hace mucho tiempo han utilizado las hojas de “guayusa” después de ser desecadas, preparándolas en decocción o en infusión, para tomar la bebida por las mañanas como estimulante nervioso y muscular. Además, actúa digestivo y expectorante, por lo que las hojas de esta planta se emplean para curar afecciones catarrales y gripales. Las hojas se preconizan como antidiabéticas. (4)

En un boletín del Instituto Botánico de la Universidad Central de Quito, Ecuador; 1943 se afirma lo siguiente sobre *Ilex guayusa*: “Entre los pobladores de la región oriental existe la creencia que esta planta “levanta la fuerza” y tiene un decisivo poder

fecundante, o matricial. La “guayusa” posee una cualidad de enorme valor terapéutico que ha permanecido hasta hoy casi desconocida. Las infusiones de guayusa, usadas en forma de tisana, causan un baja inmediata del índice glicémico y glucosúrico de los diabéticos.” (4)

El doctor Andrade por lo pronto encuentra que la “guayusa” contiene 2-3% de cafeína, cantidad esta superior a la que tiene el café y el té. Este resultado corrobora definitivamente la cualidad farmacodinámica atribuida a la planta por los pobladores de la región oriental. Ellos expresan que el agua de “guayusa” levanta las fuerzas, lo que equivale en términos médicos a que es un gran tónico y estimulante, cualidad que está relacionada científicamente con el alto contenido de cafeína” (4)

1.4 CAFEÍNA

1.4.1 CONCEPTO

La cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, sólido cristalino, blanco y de sabor amargo, que actúa como una droga psicoactiva y estimulante. La cafeína fue descubierta en 1819 por el químico alemán Friedrich Ferdinand Runge: fue él quien acuñó el término *Koffein*, un compuesto químico en el café, el cual pasaría posteriormente al español como cafeína. La cafeína es también parte de las mezclas químicas y complejos insolubles guaranina (encontrada en la guaraná), mateína (encontrada en el mate) y teína (encontrada en el té), todas las cuales contienen además algunos alcaloides adicionales como los estimulantes cardíacos teofilina y teobromina y a menudo otros compuestos químicos como los polifenoles, los cuales pueden formar complejos insolubles con la cafeína.(7)

La cafeína puede encontrarse en cantidades variables en las semillas, las hojas y los frutos de algunas plantas, donde actúa como un pesticida natural que paraliza y mata ciertos insectos que se alimentan de las plantas. Es consumida por los humanos principalmente en infusiones extraídas del fruto de la planta del café y de las hojas del arbusto del té, así como también en varias bebidas y alimentos que contienen productos

derivados de la nuez de cola. Otras fuentes incluyen la yerba mate, el fruto del Guaraná y el acebo de Yaupón. (7)

En los humanos, la cafeína es un estimulante del sistema nervioso central que produce un efecto temporal de restauración del nivel de alerta y eliminación de la somnolencia. Las bebidas que contienen cafeína, tales como el café, el té, algunas bebidas no alcohólicas (especialmente los refrescos de cola) y las bebidas energéticas gozan una gran popularidad. La cafeína es la sustancia psicoactiva más ampliamente consumida en el mundo. En Norteamérica, el 90% de los adultos consumen cafeína todos los días. En los Estados Unidos, la Food and Drug Administration (Administración de Drogas y Alimentos) se refiere a la cafeína como una "sustancia alimenticia generalmente reconocida como segura que se utiliza para múltiples propósitos". (7)

La cafeína tiene propiedades diuréticas, si se administra en dosis suficientes a individuos que no tienen tolerancia a ella. Los consumidores regulares, sin embargo, desarrollan una fuerte tolerancia a este efecto, y los estudios generalmente no han podido demostrar la creencia general de que el consumo regular de bebidas cafeinadas contribuye significativamente a la deshidratación. (5)

1.4.2 HISTORIA

Los humanos han consumido cafeína desde la Edad de Piedra. Los pueblos antiguos descubrieron que masticar la corteza y hojas de ciertas plantas tenía el efecto de aliviar la fatiga, estimular el estado de alerta y elevar el ánimo. Sólo mucho después se descubrió que el efecto de la cafeína se incrementaba al remojar tales plantas en agua caliente. Muchas culturas tiene leyendas que atribuyen el descubrimiento de tales plantas a personas que habrían vivido muchos miles de años antes. (40)

Según una leyenda popular china, el Emperador de China Shennong, que se cree habría reinado alrededor del 3000 AC, accidentalmente descubrió que cuando algunas hojas caían en agua hirviendo, el resultado era una bebida aromática y restauradora. Shennong también es mencionado en el ChaJing de Lu Yu, un famoso trabajo antiguo sobre el té.

La historia del café ha sido registrada desde el siglo IX. Durante ese período, los granos de café sólo estaban disponibles en su hábitat natural, Etiopía. Una leyenda popular atribuye su descubrimiento a un criador de cabras llamado Kaldi, el cual aparentemente habría observado que las cabras se tornaban eufóricas y perdían el sueño por las noches después de haber pastado junto a los arbustos de café y, habiendo probado los frutos que las cabras había estado comiendo, experimentó la misma vitalidad. La primera mención literaria del café podría ser una referencia a Bunchum en los trabajos del físico persa del siglo IX Al-Razi. En 1587, MalayeJaziri compiló un trabajo trazando la historia y controversias legales del café, titulado: "Undat al safwa fi hill al-qahwa". En este trabajo, Jaziri registró que un jeque, Jamal-al-Din al-Dhabhani, mufti de Adén, fue el primero en adoptar el uso del café en 1454, y que en el siglo XV los Sufís de Yemén usaban café para mantenerse despiertos durante las oraciones de forma rutinaria.(41)

Cerca del final del siglo XVI, el uso del café fue registrado por un europeo residente en Egipto, y alrededor de este periodo se introduce su uso general en el Oriente próximo. La apreciación del café como una bebida en Europa, donde fue conocido inicialmente como "vino árabe", data del siglo XVII. Durante este período se establecieron "casas de café", abriéndose las primeras en Constantinopla y Venecia. En Gran Bretaña, las primeras casas de café se abrieron en Londres en 1652, en StMichael'sAlley, Cornhill. Pronto se volvieron populares en toda Europa Oriental, y jugó un papel significativo en las relaciones sociales durante los siglos XVII y XVIII. (41)

La nuez de cola, como el fruto del café y la hoja de té, al parecer tienen orígenes antiguos. Es masticada en varias culturas africanas occidentales, de forma individual o en formación social, para restaurar la vitalidad y aplacar la sensación de hambre. En 1911, la cola se tornó en el centro de atención de uno de los primeros temores sobre la salud documentados, cuando el gobierno de los Estados Unidos incautó 40 toneles y 20 barriles de sirope de Coca-Cola en Chattanooga, Tennessee, alegando que la cafeína en su bebida era "perjudicial para la salud". El 13 de marzo de 1911, el gobierno inició el caso de Los Estados Unidos versus cuarenta toneles y 20 barriles de Coca-Cola, esperando forzar a Coca-Cola para que eliminara la cafeína de su fórmula alegando argumentos, como que el uso excesivo de Coca-Cola en un colegio de señoritas condujo a "desenfrenos

nocturnos, violaciones de las reglas de la escuela y los modales femeninos, e incluso inmoralidades". A pesar de que el juez falló a favor de Coca-Cola, dos iniciativas de ley fueron introducidas a la Cámara de Representantes en 1912 con el fin de enmendar el Acta de Alimentos Puros y Drogas, agregando la cafeína a la lista de sustancias "creadoras de hábito" y "dañinas" que deben listarse en la etiqueta de los productos.(40)

1.4.3 EN LA NATURALEZA Y PRODUCTOS SINTÉTICOS

La cafeína se encuentra en muchas especies de plantas, donde actúa como pesticida natural. Según ciertos estudios, los altos niveles de cafeína presentes en plantas jóvenes que aún están desarrollando follaje pero carecen de protección mecánica logran paralizar y matar ciertos insectos que se alimentan de la planta. Altos niveles de cafeína también han sido encontrados en los suelos alrededor de los vástagos en los granos de café germinados. Se deduce de ello que la cafeína tiene una función natural no sólo como pesticida natural sino también en calidad de sustancia inhibidora de la germinación de otros granos cercanos de café dando por lo tanto mejor oportunidad de supervivencia a las plantas en crecimiento. (37)

Las fuentes de cafeína más comúnmente usadas son el café, el té y en menor medida el cacao. Otras fuentes de cafeína usadas con menor frecuencia incluyen a las plantas de yerba mate y guaraná, las cuales a veces son utilizadas en la preparación de infusiones y bebidas energéticas. Dos de los nombres alternativos de la cafeína, mateína y guaranina, son derivados de los nombres de estas plantas. Algunos entusiastas de la yerba mate afirman que la mateína es en realidad un estereoisómero de la cafeína, por lo que sería una sustancia completamente distinta. Esto no es cierto puesto que la cafeína es una molécula aquiral y por lo tanto no tiene enantiómeros, ni tampoco tiene otros estereoisómeros. La disparidad en la experiencia y los efectos entre las variadas fuentes naturales de cafeína podría deberse al hecho de que las plantas que son fuente de cafeína también contienen mezclas ampliamente variables de otros alcaloides xantínicos, incluyendo los estimulantes cardíacos teofilina y teobromina, así como otras sustancias que junto a la cafeína pueden formar complejos insolubles, como los polifenoles.(37)

Una de las fuentes primarias de cafeína en todo el mundo es el grano de café (la semilla de la planta de café), del cual se prepara la bebida de café. El contenido de cafeína en el café varía ampliamente en dependencia del tipo de grano de café y el método de preparación usados; incluso los granos que se encuentran en un mismo arbusto pueden presentar variaciones en la concentración. En general, una porción de café varía entre 40 miligramos para un expreso de unos 30 mililitros de la variedad arábica, hasta cerca de 100 miligramos para una taza (120 mililitros) de café. Generalmente el café tostado tiene menos cafeína que el café claro porque el proceso de tostado reduce el contenido de café del grano. El café de la variedad arábica normalmente contiene menos cafeína que el de la variedad robusta. El café también contiene cantidades traza de teofilina, mas no de teobromina. (37)

El té es otra fuente común de cafeína. A pesar de que el té contiene más cafeína que el café, una porción típica contiene una cantidad mucho menor, puesto que el té se prepara normalmente en una infusión mucho más diluida. Además de la mayor o menor concentración de la infusión, las condiciones de crecimiento, las técnicas de procesamiento y otras variables también afectan al contenido de cafeína. Ciertos tipos de té pueden contener más cafeína que otros. El té contiene pequeñas cantidades de teobromina y niveles ligeramente más altos de teofilina que el café. La preparación y otros factores tienen un impacto significativo en el té, y el color es un indicador muy pobre del contenido de cafeína. Algunas variedades como el té verde pálido japonés *gyokuro*, por ejemplo, contienen más cafeína que otros más oscuros como el *lapsang souchong*, que contiene muy poca. (37)

La cafeína es también un ingrediente común de muchas bebidas no alcohólicas (especialmente las bebidas gaseosas), como refrescos de cola originalmente preparados a partir de la nuez de cola. Estas bebidas contienen típicamente entre 10 y 50 miligramos de cafeína por ración. En contraste, las bebidas energéticas como Red Bull pueden contener más de 80 miligramos de cafeína por ración. La cafeína en estas bebidas se origina a partir de los ingredientes usados en ellas, o es un aditivo derivado del producto de descafeinización o bien de la síntesis química. El guaraná, un ingrediente primario en

las bebidas energéticas, contiene grandes cantidades de cafeína con pequeñas cantidades de teofilina y teobromina junto a un excipiente natural que produce una lenta liberación de estas sustancias. (37)

En los años recientes algunos manufactureros han comenzado a añadir cafeína a productos de baño como el champú y el jabón, asegurando que la cafeína puede absorberse a través de la piel. La efectividad de tales productos, sin embargo, no ha sido comprobada y es probable que tengan poco efecto sobre el sistema nervioso central debido a que la cafeína no se absorbe con facilidad a través de la piel. (37)

TABLA No 5. CONTENIDO DE CAFÉINA DE ALGUNOS ALIMENTOS Y FÁRMACOS

Contenido de cafeína de algunos alimentos y fármacos			
Producto	Tamaño de la ración	Cafeína por ración (mg)	Cafeína por litro(mg)
Pastillas de cafeína (normal)	1 pastilla	100	—
Pastillas de cafeína (extra fuerte)	1 pastilla	200	—
Excedrin pastillas	1 pastilla	65	—
Chocolate (45% cacao)	1 barra (43 g)	31	—
Chocolate con leche (11% cacao)	1 barra (43 g)	10	—
Café (cafetera doméstica)	207 mL	80–135	386–652
Café (cafetera de filtro)	207 mL	115–175	555–845
Café, descafeinado	207 mL	5-15	24-72
Café, espresso	44–60 mL	100	1691–2254
Té negro	177 mL	50	282
Té verde	177 mL	30	169
Coca-Cola	355 mL	34	96
Mountain Dew	355 mL	54.5	154
Jolt Cola	695 mL	280	402
Red Bull	250 mL	80	320

FUENTE: <http://www.salood.com/las-bebidas-con-cafeina/>

Algunos fabricantes comercializan tabletas de cafeína, aduciendo que la cafeína de calidad farmacéutica favorece la alerta mental. Estos efectos han sido sugeridos por estudios que muestran que el uso de cafeína (ya sea en forma de tabletas o no) origina un descenso en la sensación de fatiga y un aumento en la capacidad de atención. Estas tabletas son comúnmente usadas por estudiantes que se preparan para sus exámenes y por personas que trabajan o conducen durante muchas horas. (37)

1.4.4 PROPIEDADES QUÍMICAS

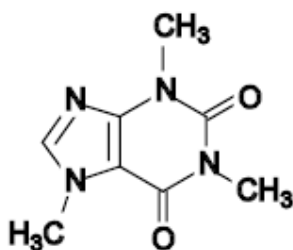


FIGURA No 1. ESTRUCTURA DE LA CAFEÍNA
. <http://www.d-lamente.org/sustancias/caffeina.htm>

La cafeína es un alcaloide de la familia metilxantina, cuyos metabolitos incluye los compuestos teofilina y teobromina, con estructura química similar y similares efectos (aunque de menor intensidad a las mismas dosis). En estado puro es un polvo blanco muy amargo. Fue descubierta en 1819 por Runge y descrita en 1821 por Pelletier y Robiquet.(12)

Su fórmula química es $C_8H_{10}N_4O_2$, su nombre sistemático es 1,3,7-trimetilxantina o 3,7-dihidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-dionay.(12)

Una taza de café contiene de 80 (instantáneo) a 125 (filtrado) mg de cafeína. El café descafeinado, en España, debe contener una cantidad de cafeína no superior al 0,3%. La cafeína se puede conseguir también en píldoras estimulantes de hasta 300 mg. (12)

1.4.5 FARMACOLOGÍA

El consumo global de cafeína fue estimado en 120.000 toneladas por año convirtiéndola así en la sustancia psicoactiva más popular. La cafeína, es un estimulante metabólico y del sistema nervioso central, y es usado tanto recreacionalmente como médicamente para reducir la fatiga física y restaurar el estado de alerta mental en los casos que exista una inusual debilidad o aletargamiento. La cafeína y otros derivados de metilxantina son también usados en recién nacidos para tratar la apnea y para corregir latidos irregulares.

La cafeína activa el sistema nervioso central a niveles más altos, provocando un incremento en la alerta y en la vigilia, un flujo de pensamiento más rápido y claro, e incrementando la atención y mejora de la coordinación corporal. Luego actúa a nivel de la médula espinal cuando se encuentra en dosis altas. Una vez dentro del cuerpo, posee una química compleja actuando a través de diferentes mecanismos de acción. (3)

1.4.6 METABOLISMO Y VIDA MEDIA

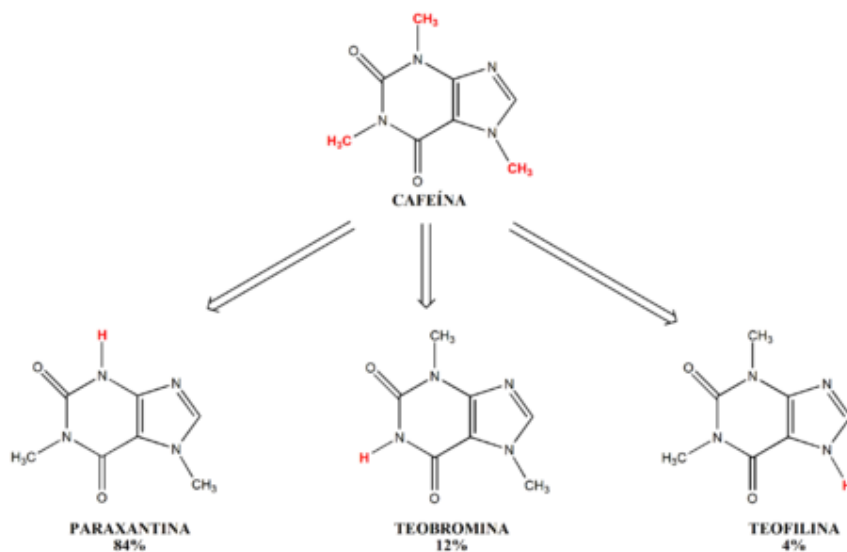


FIGURA No 2. METABOLISMO DE LA CAFEÍNA

<http://www.d-lamente.org/sustancias/cafeina.htm>

La cafeína del café y otras infusiones es absorbida por el estómago y el intestino delgado dentro de los 45 minutos que siguen a la ingestión para luego ser distribuida a través de

todos los tejidos del cuerpo. Su eliminación sigue una cinética de primer orden. La cafeína puede ser ingerida también por vía rectal, como demuestra la prescripción de supositorios de tartrato de ergotamina y cafeína (para el alivio de la migraña), y clorobutanol y cafeína (para el tratamiento de la hiperémesis). (3)

La vida media de la cafeína esto es, el tiempo requerido para que el cuerpo elimine la mitad de la cantidad total inicial de cafeína varía ampliamente entre individuos de acuerdo a ciertos factores como la edad, función hepática, embarazo, algunas drogas concurrentes y el nivel de enzimas en el hígado necesarias para el metabolismo de la cafeína. En adultos sanos, la vida media de la cafeína es de unas 4-9 horas. En mujeres bajo administración de anticonceptivos de vía oral, la vida media es de 5-10 horas, y en mujeres embarazadas la vida media es de aproximadamente de 9-11 horas. La cafeína puede acumularse en individuos con enfermedades hepáticas severas, incrementando su vida media incluso hasta 96 horas. En bebés y niños la vida media puede ser más amplia que en adultos; la vida media en un recién nacido puede ser de hasta 30 horas. Otros factores como el tabaquismo pueden acortar el tiempo de vida media de la cafeína. La fluvoxamina reduce la eliminación de cafeína en un 91.3%, y prolonga su vida media una 11.4 veces respecto a la normal (esto es de 4,9 horas a 56 horas).(3)

La cafeína, es metabolizada en el hígado por el sistema enzimático del Citocromo P450 oxidasa (específicamente, la isoenzima 1A2) en tres productos metabólicos de la dimetilxantina donde cada uno posee sus propios efectos en el cuerpo, que son:

- Paraxantina (84%): Incrementa la lipólisis induciendo el incremento de niveles de glicerol y ácidos grasos libres en el plasma sanguíneo.
- Teobromina (12%): Dilata los vasos sanguíneos e incrementa el volumen de orina. La teobromina es también el principal alcaloide en el cacao.
- Teofilina (4%): Relaja el músculo liso de los bronquios y es así usado para el tratamiento del asma. La dosis terapéutica de teofilina es sin embargo de un múltiplo mayor al obtenido por el metabolismo de la cafeína.(37)

Cada uno de estos metabolitos es luego metabolizado y excretado en la orina.

1.4.7 MECANISMO DE ACCIÓN

El principal modo de acción de la cafeína es como un antagonista de los receptores de adenosina que se encuentran en las células del cerebro.(40)

La cafeína cruza fácilmente la barrera hematoencefálica que separa a los vasos sanguíneos del encéfalo. Una vez en el cerebro, el principal modo de acción es como un antagonista no selectivo del receptor de adenosina. La molécula de cafeína es estructuralmente similar a la adenosina y por lo tanto se une a los receptores de adenosina en la superficie de las células sin activarlos (un mecanismo de acción "antagonista"). Entonces, tenemos que la cafeína actúa como un inhibidor competitivo.(40)

La adenosina se encuentra en casi cualquier parte del cuerpo, debido a que desempeña un papel fundamental en el metabolismo energético relacionado al ATP, pero en el cerebro, la adenosina desempeña funciones especiales. Existen evidencias que indican que las concentraciones de adenosina cerebral se ven aumentadas por varios tipos de estrés metabólico, entre los cuales citamos: Hipoxia e isquemia. La evidencia indica también que la adenosina cerebral actúa protegiendo el cerebro mediante la supresión de la actividad neuronal y también mediante el incremento del flujo sanguíneo a través de los receptores A_{2A} y A_{2B} ubicados en el músculo liso vascular. Al contrarrestar a la adenosina, la cafeína reduce el flujo cerebral de reposo en 22 a 30%. La cafeína también posee un efecto desinhibitorio general sobre la actividad neuronal. De todas formas, no se ha demostrado cómo esos efectos causan un incremento en la vigilia y la alerta.(40)

La adenosina es liberada al cerebro mediante un mecanismo complejo. Hay evidencia que indica que la adenosina funciona como un neurotransmisor liberado en los espacios sinápticos en algunos casos, sin embargo, los incrementos de adenosina relacionada con el estrés, parecerían ser producidos principalmente mediante el metabolismo extracelular del ATP. Ciertamente, la adenosina no es el neurotransmisor primario de ningún grupo de neuronas, pero es liberada junto a otros neurotransmisores por algunos tipos de neuronas. A diferencia de muchos neurotransmisores, al parecer, la adenosina no es almacenada en vesículas que son dependientes del voltaje, por lo cual, la posibilidad de

que se dé ese mecanismo no ha sido completamente descartada. Varias clases de receptores de adenosina han sido descritos, cada una con ubicaciones anatómicas diferentes. Los receptores A_1 están ampliamente distribuidos y actúan inhibiendo la absorción de calcio. Los receptores A_{2A} están densamente concentrados en los ganglios basales, un área que desempeña un papel crítico en el control del comportamiento, pero también pueden ser encontrados en otras partes del cerebro pero en densidades más bajas. Hay evidencia de que los receptores A_{2A} interactúan con el sistema dopaminérgico, el cual está involucrado en el estado de vigilia y recompensa. Los receptores (A_{2A}) pueden ser hallados también en las paredes arteriales y en las membranas celulares de las células de la sangre.(40)

Más allá de sus efectos de neuroprotección, existen razones para creer que la adenosina puede estar más específicamente involucrada en el control de los ciclos de sueño-vigilia. Robert McCarley y sus colegas opinan que la acumulación de adenosina puede ser una causa primaria de la sensación de sueño que sigue a una prolongada actividad mental, y que los efectos pueden ser mediados tanto por inhibición de las neuronas promotoras de la vigilia mediante los receptores A_1 , y por la activación de las neuronas promotoras del sueño mediadas por efectos indirectos en los receptores A_{2A} . Estudios recientes han aportado evidencias adicionales sobre la importancia de los receptores A_{2A} , pero no para los A_1 .

Algunos de los efectos secundarios de la cafeína son probablemente causados por efectos no relacionados con la adenosina. Como otras xantinas metiladas, la cafeína es también un:

1. Inhibidor competitivo y no selectivo de la fosfodiesterasa el cual aumenta el cAMP intracelular, activa la PKA, e inhibe el TNF-alfa y la síntesis del leucotrieno, reduce la inflamación y el sistema inmunitario innato y
2. Receptor antagonista no selectivo de adenosina. (39)

Los inhibidores de fosfodiesterasa ejercen su inhibición sobre las enzimas cAMP-fosfodiesterasa (cAMP-PDE), que convierten al AMP cíclico en su forma no cíclica dentro de las células, entonces, de esta manera permiten la producción de AMPc dentro

de las células. El AMP cíclico participa en la activación de la proteína quinasa A (PKA) que inician a su vez la fosforilación de enzimas específicas que intervienen en la síntesis de glucosa. Mediante el bloqueo de su degradación, la cafeína intensifica y prolonga los efectos de la epinefrina y las drogas tipo epinefrina como las anfetaminas, metanfetaminas o a su vez, las concentraciones altas de AMPc en las células parietales provocan un aumento en la activación de la proteína quinasa A dependiente de AMPc que a su vez incrementa la activación de la bomba de protones, específicamente la H⁺/K⁺ ATPasa, teniendo como efecto último, un incremento en la secreción de jugos gástricos ácidos.(39)

El AMP cíclico también incrementa la actividad de la corriente I_f, que a su vez, incrementa directamente la frecuencia cardíaca. La cafeína es también un análogo estructural de la estricnina y como ella (aunque mucho menos potente) es un antagonista competitivo de los receptores ionotrópicos de glicina. (39)

También los metabolitos de la cafeína contribuyen a sus efectos. La paraxantina es responsable del incremento del proceso de lipólisis, el cual libera glicerol y ácidos grasos al torrente sanguíneo para que sean usados como energía por los músculos. La teobromina es un vasodilatador que aumenta la cantidad de flujo de oxígeno y nutrientes al cerebro y músculos. La teofilina actúa como un relajante del músculo liso que afecta principalmente a los bronquiolos y también actúa como una sustancia cronotrópica e inotrópica incrementando la frecuencia cardíaca y su eficiencia.(39)

1.4.8 PROPIEDADES CURATIVAS DE LA CAFEÍNA

Remedio para el dolor leve crónico: la cafeína posee propiedades miorelajantes, es decir ayuda a relajar la musculatura, lo cual puede ayudar a tolerar dolores musculares, dolor de espalda, etc. La cafeína posee propiedades vasoconstrictoras pericraneales, que son responsables de la migraña o dolor de cabeza, por eso se utiliza la cafeína en la confección de medicamentos para el dolor de cabeza dado que este componente potencia los efectos analgésicos. (61)

Remedio para la fatiga física: la capacidad estimulante de la cafeína puede utilizarse para estimular el organismo en general, lo cual disminuye la sensación de cansancio. El uso de bebidas como el café o el Mate puede ayudar a hacer menos pesado el trabajo. (60)

La cafeína en el deporte: la cafeína ha sido considerada durante algún tiempo como sustancia ilegal para los deportistas. Sin embargo, a partir de enero del 2004. La Agencia Mundial Antidopaje la considero una sustancia legal, siempre que no se tomara en grandes cantidades. (Las dosis aceptadas por el COI son de 12mcg de cafeína por mL de orina). (61)

Existen numerosos estudios bastante opuestos sobre el uso de la cafeína en el deporte. Unos parecen demostrar que su consumo mejora el rendimiento físico de los ciclistas, corredores de fondo, esquiadores. Etc. Según estos estudios, la cafeína produce la liberación de la adrenalina en la sangre lo cual estimula la liberación de la grasa depositada en los músculos. De esta manera, el organismo puede utilizar esta reserva extra sin necesidad de consumir los hidratos de carbono que se mantienen como reserva. Todo ello permite prolongar el esfuerzo durante mucho más tiempo. Para que esto tenga efecto los atletas deberían ingerir entre 3-9mg de cafeína por kg peso una hora antes de realizar la prueba. Otros estudios concluyen que sus efectos no potencian las condiciones físicas. (61)

Remedio para evitar la somnolencia: la cafeína ayuda a mantenernos despiertos, evitando la somnolencia por lo que puede ser útil en personas que realizan trabajos arriesgados, como trabajadores con máquinas peligrosas, personas que se vean obligados a conducir, etc.

Remedio para perder peso: la cafeína posee propiedades diuréticas. La capacidad que le otorgan estos principios para aumentar la diuresis favorece el tratamiento de la retención de líquidos. De esta manera se utiliza como un remedio habitual en regímenes adelgazantes para combatir la obesidad. (61)

Propiedades antioxidantes: la cafeína posee propiedades antioxidantes, capaces de eliminar los radicales libres, causantes de numerosas enfermedades degenerativas, entre las que se encuentra el cáncer. (61)

Estimulante digestivo: utilizado en dosis bajas, la cafeína favorece la digestión de los alimentos ya que incrementa los jugos digestivos y biliares. Por lo tanto una pequeña taza de café podría resultar conveniente en aquellas personas que presenten “estómagos perezosos”. (61)

1.4.9 CAFEÍNA Y METABOLISMO DE LAS GRASAS

En este aspecto existe una controversia y unos hechos probados. Los hechos probados confirman que el consumo de cafeína activa la lipólisis y que después de su ingesta se observa una mayor concentración de ácidos grasos en el plasma sanguíneo. La controversia es si este aumento de ácidos grasos en sangre se traduce en un mayor consumo de grasas por parte del organismo. (13)

1.4.10 EL METABOLISMO DE LA CAFEÍNA

La cafeína llega al torrente sanguíneo a los 30-45 minutos de su consumo. A continuación, se distribuye por el agua de todo el organismo, para posteriormente ser metabolizada y expulsada en la orina. La vida media de la cafeína en el interior del cuerpo es de 4 horas (los cálculos oscilan entre 2 y 10 horas). Durante el embarazo, disminuye la velocidad a la que se metaboliza la cafeína y las mujeres embarazadas mantienen generalmente los niveles de cafeína durante más tiempo.(40)

La capacidad de la cafeína de potenciar el estado de alerta y la atención prolongada está ampliamente documentada, y su función primordial como estimulante del sistema nervioso central se debe a su acción como antagonista de la adenosina. La adenosina es una sustancia química generada de manera natural por nuestro cuerpo que actúa como mensajera regulando la actividad cerebral y modulando el estado de vigilia y sueño (es una “señal de cansancio”). La cafeína bloquea los receptores específicos de la adenosina

presentes en el tejido nervioso, y en particular en el cerebro, manteniéndonos despiertos. Gracias a este mecanismo, la cafeína puede potenciar la capacidad de realizar un esfuerzo físico y mental, antes de que aparezca el cansancio. El bloqueo de los receptores de adenosina puede contribuir a la constricción de los vasos sanguíneos, lo cual alivia la presión de las migrañas y los dolores de cabeza, y explica por qué muchos analgésicos contienen cafeína. (40)

1.4.11 SENSIBILIDAD A LA CAFEÍNA

La sensibilidad a la cafeína varía mucho de una persona a otra. Los científicos han descubierto recientemente un “gen que ralentiza el metabolismo”: las personas que tienen este gen eliminan la cafeína más lentamente. Un estudio epidemiológico reciente mostró que, entre la gente con esta característica, el consumo de café estaba asociado a un mayor riesgo de sufrir infartos de miocardio no mortales, lo que sugiere que la cafeína podría desempeñar un papel en esta asociación. Esta teoría aún debe confirmarse en futuras investigaciones. (40)

Las mujeres embarazadas, y las personas que sufren afecciones médicas o que son sensibles a la cafeína deberían tener cuidado y moderar su consumo. La mayoría de la información epidemiológica disponible indica que un consumo total inferior a los 300 mg al día no supone ningún problema. La cuestión de los posibles efectos en el embarazo y en el bebé debido a un consumo habitual superior a estos niveles permanece abierta. Por esta razón, y debido a la metabolización lenta de la cafeína en el embarazo, se recomienda moderar el consumo de esta sustancia, independientemente de su origen, durante la gestación. En el caso de los niños, que no suelen tomar té ni café, la ingesta de bebidas “energéticas”, refrescos de cola u otros refrescos que contengan cafeína, representa un consumo equivalente a 5,3 mg por kg de peso corporal al día (por ejemplo, 160 mg de cafeína para un niño de 10 años que pese 30 kg). Esto podría causar cambios transitorios de la conducta, como un mayor estado de alerta, irritabilidad, nerviosismo o ansiedad. (40)

1.4.12 EFECTOS INMEDIATOS DE LA CAFEÍNA

Las dosis entre 100 a 600 mg de cafeína permiten pensar con mayor rapidez y claridad, y mejoran la coordinación corporal. Como aspectos negativos, cabría resaltar que la cafeína puede ocasionar agitación y una pérdida del control motor fino. Las cantidades superiores a 2.000 mg pueden causar insomnio, temblores y respiración agitada. Estos síntomas se manifiestan a veces con dosis menores. Sin embargo, el consumo habitual minimiza muchos de estos efectos. Las propiedades estimulantes de la cafeína afectan en menor medida a los consumidores habituales de café que a los consumidores ocasionales. (40)

La cafeína tiene otros muchos efectos inmediatos. Estimula la emisión de cortisol y adrenalina, lo que hace que aumente la presión arterial y que el corazón lata más rápido. Además, tiene un efecto diurético, relaja los bronquios, aumenta la producción de ácido gástrico e incrementa el ritmo metabólico. (40)

1.4.13 LA CAFEÍNA Y LA SALUD

La mayor parte de los estudios dedicados a la cafeína y la salud se basan en realidad en el café. Esto hace que sea muy difícil distinguir los efectos propios de la cafeína de los del café como bebida en general. (40)

Un consumo diario moderado de cafeína, de hasta 300 mg, o el equivalente a 3 tazas de café, no suele representar un riesgo para la salud, siempre y cuando se tengan unos hábitos de vida sanos (en cuanto a la alimentación, al consumo de alcohol y de tabaco, al ejercicio, etc.).(40)

1.4.14 DOSIS SEGURAS

El ser humano no requiere del consumo de cafeína en la dieta; sin embargo, su consumo moderado no está asociado con ningún riesgo para la salud. Tres tazas de café de 235 ml -8 onzas- (250 miligramos de cafeína) por día, se consideran una cantidad moderada o

promedio de cafeína y 10 tazas de 235 ml (8 onzas) se consideran un consumo excesivo. (41)

La ingestión moderada de cafeína (hasta unos 250mg diarios) no produce, en general, ningún riesgo para la salud. (41)

1.4.15 PRECAUCIONES Y EFECTOS SECUNDARIOS DE LA CAFEÍNA

Dosis superiores a 400mg diarios pueden resultar nocivas. Hay que tener en cuenta que muchas bebidas y medicamentos contienen este principio. Por lo tanto, hay que sumar el conjunto de todos ellos para calcular la ingestión total de la misma. Un uso demasiado elevado de este componente puede producir problemas corporales. Igualmente su uso resulta inadecuado para menores o personas con ciertos problemas corporales o cuando se combina con ciertos medicamentos.(41)

1.5 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los animales de laboratorio son biomodelos experimentales que tienen la cualidad necesaria para dar respuesta al cuestionamiento de cómo estudiar las enfermedades que afectan al hombre, a la especie que está estudiando, y a las demás especies productivas y domésticas, y las ratas y ratones están entre los que responden más uniformemente a esos requerimientos, son de fácil manejo y poseen las características zootécnicas adecuadas.(50)

También es definido como cualquier especie animal que, mantenido bajo determinadas condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y docencia, para la generación de datos, los cuales son utilizados como información. (50)

1.5.1 RATON (*Mus musculus*)

1.5.1.1 Taxonomía

- **Clase:**Mammalia
- **Familia:**Muridae
- **Género:** Mus
- **Especie:** Mus musculus. (50)

1.5.1.2 Ventajas de su uso como animal de laboratorio:

- De fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.
- Bajos costo de manutención.
- Cepa definida.
- Diversidad de características específicas que sirven como modelo.
- Eficiencia reproductiva.
- Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc.
- Corto tiempo de generación (51)

1.5.1.3 Desventajas:

- Dificultad en la recolección de material biológico.
- Dificultad la administración de drogas.
- Dificultad en las técnicas quirúrgicas. (51)

1.5.1.4 Características Generales

El ratón *Mus musculus* una especie cosmopolita, se adapta a una gran variedad de condiciones ambientales, desde zonas muy frías hasta regiones tropicales. En general, las especies prefieren ambientes más secos que húmedos.

El ratón es un mamífero de sangre caliente, de hábitos nocturnos y su comportamiento está influenciado por feromonas. Posee un agudo sentido de la audición, por lo que se alteran rápidamente con los ruidos, es por ello que hay que tener cuidado con los equipos que se utilizan. (50)

Su sentido del olfato está muy desarrollado, no sólo para detectar comida y depredadores, sino también para percibir un orden social. (50)

Su visión es muy pobre y no pueden percibir los colores. En la órbita del ojo posee unas glándulas con forma de herradura llamadas glándulas Harderianas, cuando el ratón está en estrés, excreta en la zona periocular una sustancia de color marrón llamada porfirina. (50)

El sistema social depende de la densidad de población, viven en grandes colonias y el rango social está bien desarrollado. Generalmente, son muy dóciles a excepción de algunas cepas exocriadas que mantienen su agresividad, al igual que sus antecesores salvajes. (50)

Por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología. (50)

El tamaño del ratón adulto varía entre 12 a 15 cm desde la punta de la nariz a la punta de la cola; el largo de la cola es igual al largo del cuerpo y con un peso aproximado de 30 gr. Las crías al nacer tienen un peso aproximado de 1 a 2 g y gana rápidamente peso durante la lactancia. Tienen una vida útil de 10 a 12 meses y se obtiene de ocho a diez camadas. (50)

1.5.1.5 Comportamiento del ratón

El ratón es un animal sociable y se mantiene en grupos sin ningún inconveniente, estos grupos deben formarse rápidamente luego del destete.

Sin embargo, los machos de algunas cepas comienzan a mostrar su agresividad entre la séptima y décima semana de edad, aun cuando estos grupos se hayan establecido al destete. En el grupo de machos existe uno dominante que puede ser muy agresivo. Las hembras generalmente no pelean, incluso cuando se hayan agrupado siendo ya adultas.(50)

El acto de comer es cíclico, con un pico máximo durante el periodo de oscuridad. El mayor consumo de agua es durante las horas de oscuridad. El consumo de alimento y agua varía entre las cepas de ratones. (50)

El ratón generalmente divide su caja en áreas específicas para dormir, comer, orinar y defecar. (50)

1.6 TINTURA

Las tinturas son soluciones alcohólicas que logran una concentración muy alta de ciertos principios activos de la planta, precisamente de los que son solubles en alcohol. Se preparan dejando macerar la planta bien seca y triturada en alcohol, a temperatura ambiente, durante dos o tres días o hasta 15 días. (17)

Es un tipo de preparación en el que se usa alcohol etílico o vino. La droga machacada, triturada, desmenuzada o en polvo se pone en un envase de vidrio en la cantidad indicada. Se le añade alcohol etílico absoluto (96%) o mínimo (70%) en la proporción necesaria. Se tapa bien y se deja por un período de 10 a 15 días durante el cual se agita diariamente. Se filtra a través de papel filtro y se guarda herméticamente tapada en lugares frescos, secos y protegidos del sol. A causa del alcohol la tintura sólo se debe usar en gotas, diluida en agua, o en otra bebida, preferiblemente aromática. Se debe usar alcohol apto para consumo humano, nunca el antiséptico (8)

Se elaboran a partir de una gran variedad de materias primas que son total o parcialmente solubles en alcohol. Dichas materia primas incluyen a todas las plantas o partes de las

plantas, animales o secreciones de organismos animales, comprendiendo también sustancias minerales que se disuelven más fácilmente en alcohol que en agua.

Para su obtención se requiere la extracción de los principios activos solubles de las materias primas, para lo cual se tratan con un menstruo o vehículo que tiene la propiedad de disolverlos.

Esta extracción se lleva a cabo por maceración o lixiviación de la materia fresca o seca, triturada y tratada con alcohol de la graduación adecuada o con algunas mezclas de vehículos debidamente escogidos y en las proporciones señaladas en la monografía correspondiente.(1)

En términos generales, el porcentaje de la hierba es del 20% en peso para drogas poco activas (1 g de droga por 5 g de tintura) y al 10% en peso para drogas muy activas (1 g de droga por 5 g de tintura). (34)

La necesidad de estandarizar exige en la actualidad una valoración de las tinturas, indicando los contenidos máximo y mínimo de principios activos. Dependiendo que en la elaboración de la tintura se emplee una o varias drogas, se denominan respectivamente simples y compuestas.

De acuerdo al tipo de disolventes las tinturas son de uso interno, como ocurre en general con las hidroalcohólicas, o para uso externo, como sucede con las tinturas etéreas, clorofórmicas y acetónicas. (62)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Dos kilos de planta seca y pulverizada de guayusa (*Ilex guayusa*). La materia prima fue adquirida en la provincia de Pastaza, cantón Puyo, la temperatura del lugar varía entre los 18° y 33° C y una altitud de 924 m.sn.m.

Animales de experimentación; ratones (*Mus musculus*) entre hembras y machos todos aproximadamente de la misma edad.

- Población: Ratones albinos (*Mus musculus*) provenientes del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia.
- Taxonomía

TABLA No 6. TAXONOMÍA DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EMPLEADOS EN EL ESTUDIO FARMACOLÓGICO

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Mamalia
Orden	Rodentia
Familia	Muridae
Género	Mus
Especie	Musculus

- Descripción

TABLA No 7. DESCRIPCIÓN ANATÓMICA

Edad	3 – 3.5 meses
Sexo	Hembras y Machos
Peso promedio	28 g
Lugar de Nacimiento	Bioterio Esc. BQF

- Condiciones

TABLA No 8. DETALLE DE CONDICIONES DE MANTENIMIENTO

Humedad Relativa	55±10%
Temperatura	22±2°C
Periodo	12 Horas luz – 12 Horas Oscuridad

- Valores de Referencia

Peso del raton *Mus musculus*: 25 – 40 g

2.2.2 MATERIALES DE LABORATORIO

- Balones aforados
- Cápsulas de porcelana
- Crisoles
- Embudo Buchner
- Embudo de separación
- Embudo simple
- Equipo de reflujo
- Erlenmeyer
- Espátula
- Gradilla
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Pinzas
- Pipetas volumétricas
- Probetas
- Reverbero eléctrico
- Trípode
- Tubos de ensayo
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación

2.2.3 EQUIPOS

- Balanza Analítica
- Bomba al vacío
- Estufa
- Mufla
- Espectrofotómetro
- HPLC
- pH – metro

- Refractómetro
- Rotavapor
- UV

2.2.4 REACTIVOS

- Acetato de etilo
- Acetato de sodio
- Acetona
- Ácido clorhídrico
- Acido fórmico
- Acido pícrico
- Acido sulfúrico
- Agua destilada
- Alcohol amílico
- Anhídrido acético
- Carbonato de sodio
- Cloroformo
- Cloruro de sodio
- Etanol
- Éter etílico
- Éter de petróleo
- Hidróxido de sodio
- Magnesio metálico
- Metanol
- Peróxido de hidrógeno
- Quercetina
- Reactivo de dragendorff
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo sudan III

- Tricloruro férrico 5% en solución salina

2.3 TECNICAS Y METODOS

2.3.1 CONTROL DE CALIDAD DROGA CRUDA

Revisión de parámetros definidos de la planta o parte de planta con acción farmacológica que no ha sufrido más manipulación que los procesos de recolección y conservación. (43)
El control de calidad de las drogas se lo realizará considerando metodologías de organismos encargados de asegurar la calidad de los productos fitofarmacéuticos.

Para el control de calidad de la droga cruda se realizan las siguientes pruebas:

2.3.1.1 Determinación del contenido de humedad

FUNDAMENTO: Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestre una droga después de ser desecada en la estufa (14)

MATERIALES

- Balanza analítica
- Cápsula de porcelana
- Estufa
- Desecadora

PROCEDIMIENTO

De la muestra pulverizada se pesó 2g con desviación permisible de 0.5 mg y se transfirieron a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C hasta masa constante; seguidamente se desecó a 105 °C. Durante 3 horas. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora, volviéndose a pesar, hasta obtener masa constante. El ensayo se realizó por triplicado. (28)

Cálculos

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

Donde:

H = Porcentaje de Humedad (%)

M₂= masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M₁= masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M = masa de la cápsula vacía

100 = factor matemático (14) (28)

2.3.1.2 Determinación de cenizas totales

FUNDAMENTO: Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica.

Las cenizas solubles en agua es aquella parte de las cenizas totales que se disuelven en agua y las ácido insolubles, el residuo que se obtiene después de la disolución de las cenizas totales en ácido clorhídrico al 10%. (28)

MATERIALES Y REACTIVOS

- Crisol de porcelana
- Acido clorhídrico al 10%
- Trípode
- Agua destilada
- Papel filtro libre de cenizas
- Mechero
- Acido nítrico
- Mufla
- Desecadora

- Solución de nitrato de amonio 10g/100 mL
- Peróxido de hidrógeno concentrado

PROCEDIMIENTO

Se determinó la masa de 2.0 g. de la muestra de ensayo pulverizada con una variación permisible de 0.5 mg. en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calentó suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y luego se incineró en un horno mufla a temperatura de 700° C a 750° C. Durante 2 horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó.

Se repitió el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difirieran en más de 0.5 mg por g. (masa constante). Para obtener masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30 min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio 10 mg en 100 mL y se calentó hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco. El ensayo se realizó por triplicado

Cálculos:

$$\%Ct = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

C_t: cenizas totales (%)

M: masa del crisol vacío (g)

M₁: masa del crisol con la muestra antes de la incineración (g)

M₂: masa del crisol con la muestra después de la incineración (g)

100 = factor matemático para los cálculos. (14)(28)

2.3.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añadieron de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapó y se calentó suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtró a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en un mechero y luego se incineró en un horno mufla de 700 °C - 750 °C., durante 2 horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repitió el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Cálculos:

$$\%Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

% C_A = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M₂ = masa del crisol con las cenizas totales (g)

M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁ = masa del crisol con la muestra de ensayo

M = masa del crisol vacío

100 = factor matemático (14) (28).

2.3.1.4 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.

A las cenizas totales obtenidas según la técnica se le añadieron de 2 – 3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapó con un vidrio reloj y se calentó sobre un baño de agua hirviente durante 10 min. Se lavó el vidrio reloj con 5 mL de agua caliente y se unió al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al

cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1M no muestre presencia de cloruros.

El filtrado con el residuo se desecó de 100 a 105 ° C., se transfiere al crisol inicial y se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700-750 ° C durante 2h (si no se señala otra temperatura en la norma específica). Posteriormente se colocó en una desecadora y una vez alcanzada la temperatura ambiente se pesa. Se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante.

Cálculos

$$\%C_1 = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

$\%C_1$ = porcentaje de cenizas insolubles an ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porcion de ensayos (g)

M₂= masa del crisol con la ceniza

100 = factor matemático (14)(28)

2.3.1.5 Tamizaje fitoquímico

Se realizó el tamizaje fitoquímico según el siguiente esquema

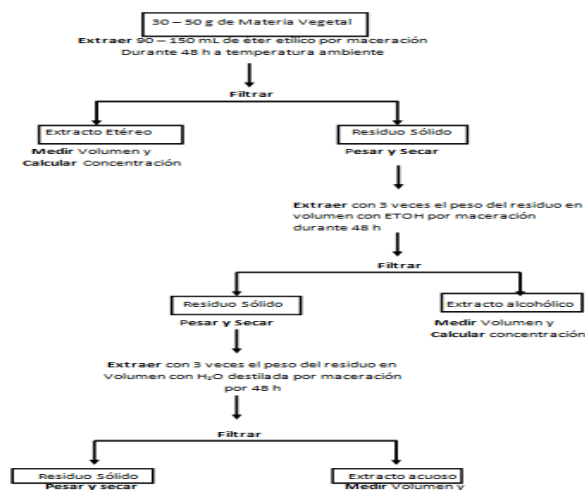


FIGURA No. 3 Tamizaje Fitoquímico (30)(14)

Para iniciar, se tomó el extracto etéreo el cual se dividió en 4 fracciones, 3 fracciones de 5 mL cada una, para el ensayo de Sudan, Baljet, y Liebermann-Buchart, y la última fracción fue de 15 mL, 5 mL se tomaron tanto para Dragendorff, Mayer y Wagner.

Una vez obtenido el extracto alcohólico, se dividen en 13 fracciones, una de 1mL para el ensayo de catequinas, las otras 10 fracciones con un volumen de 2 mL cada una, para ensayo de: resinas, Fehling, Baljet, Liebermann-Buchart, espuma, cloruro férrico, ninhidrina, Borntrager, shinoda, kedde, y antocianidina y finalmente la última fracción debe volverse a dividir en 3 porciones con un volumen de 2mL cada una para los ensayos de Dragendorff, Mayer y Wagner.

Al extracto acuoso se divide también en fracciones, una con 6 mL, en la cual se ocupa un volumen de 2 mL para los ensayos de Dragendorff, Mayer, y Wagner, se necesita 2 mL tanto para el ensayo de: cloruro férrico, shinoda, Fehling y espuma, 1 o 2 gotas para el ensayo de principios amargos y 10 mL para el ensayo de mucílagos.

2.3.1.5.1 ENSAYO DE SUDAN

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente. (26)(14)

2.3.1.5.2 ENSAYO DE BALJET

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Coumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo, considerándose un ensayo

positivo la aparición de una coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente. (29)(14)

2.3.1.5.3 ENSAYO DE LIEBERMANN-BUCHART

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esféroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo 8 y la posición 5-6.

Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

1. Rosado – azul muy rápido
2. Verde intenso – visible aunque rápido
3. Verde oscuro – negro – final de la reacción

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color, Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. (29)(14)

2.3.1.5.4 ENSAYO DE DRAGENDORFF

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff si hay opalescencia se considera (+) turbidez definida (++) , precipitado (+++). (14)(31)

2.3.1.5.5 ENSAYO DE MAYER

Se debe proceder de igual manera que en el ensayo de Dragendorff, hasta obtener solución ácida. Luego añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada de 2 a 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si hay opalescencia se considera (+) turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++). (33)(14)

2.3.1.5.6 ENSAYO DE WAGNER

Se parte de igual manera en los casos anteriores de la solución acida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma. (14)(33)

2.3.1.5.7 ENSAYO DE RESINAS

Para detectar este tipo de compuestos, adicione a 2mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo (14)(33)

2.3.1.5.8 ENSAYO DE FEHLING

Permite conocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 – 2 mL de agua. Se adicionan 2mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5 – 10 min la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. (14)(33)

2.3.1.5.9 ENSAYO ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esferooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 – 10 min.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2mm de altura y persiste por más de 2 minutos. (14) (33)

2.3.1.5.10 ENSAYO CLORURO FÉRRICO (FeCl₃)

Permite determinar la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general.

- Desarrollo de una coloración rojo – vino, compuestos fenólicos en general
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo Pirocatecolicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos. (14) (33)

2.3.1.5.11 ENSAYO DE NINHIDRINA

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2% de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5 – 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo. (14)

2.3.1.5.12 ENSAYO DE BORNTRAGER

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo.

Se adiciona 1mL hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.

Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++). (14) (33)

2.3.1.5.13 ENSAYO DE SHINODA

Permite reconocer la presencia de flavonoides en el extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos. (14)

2.3.1.5.14 ENSAYO DE KEDDE

Permite reconocer en un extracto la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5 a 10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea persistente durante 1 a 2 horas. (14)

2.3.1.5.15 ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C₆-C₃-C₆ del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo. (14)

2.3.1.5.16 ENSAYO DE MUCILAGOS

Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo. (14)

2.3.1.5.17 ENSAYO DE CATEQUINAS

Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo. (14)

2.3.1.5.18 ENSAYO DE PRINCIPIOS AMARGOS

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal reconociendo el sabor de cada uno de los principios, bien diferenciado por el paladar. (14)(33)

2.3.2 ELABORACIÓN DE LA TINTURA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*)

La guayusa seca y triturada se mezcla en una relación 1:1, y se añade alcohol al 40% en una relación 1:2 al peso de la droga, con el fin de que se humecte, se deja durante 2 horas con movimiento continuo. Pasadas las 2 horas, se coloca nuevamente alcohol al 40% hasta que se tape por completo, se lo deja por 7 días, tapado bien y con agitación diaria. Pasados los 7 días se filtra a través de papel filtro y se guarda herméticamente en envases color ámbar. A causa del alcohol la tintura sólo se debe usar en gotas, diluida en agua, o en otra bebida.

2.3.3 CONTROL DE CALIDAD DE LA TINTURA DE GUAYUSA

2.3.3.1 Determinación organoléptica del extracto hidroalcohólico

A los extractos se procede a analizar el aspecto, color, olor, sabor.

- **Aspecto:** Extracto hidroalcohólico se determina observando contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra a ser analizada mediante visualización directa.
- **Color:** Líquido con coloración determinada por el tinte que presenta la muestra.
- **Olor:** Característico a las plantas
- **Sabor:** Característico a las plantas y al solvente

2.3.3.2 Determinación de los parámetros físico-químicos de la tintura

2.3.3.2.1 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

FUNDAMENTO: El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente. (14)

MATERIALES

- Refractómetro de Abbé
- Varilla de vidrio
- Vaso de precipitación

PROCEDIMIENTO

Así se procedió a medir la muestra directamente en el refractómetro. La fórmula utilizada es la siguiente:

$$n_d^{25} = n_d^t + 0.00044 (T - 25)$$

Donde:

n_d^{25} = Índice de refracción a 25°C

n_d^t = Valor leído en la escala del aparato a temperatura t

0.00044 y 25 = Factor de corrección matemática

T = temperatura a la que se realiza la lectura (14) (31)

2.3.3.2.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA.

FUNDAMENTO: Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. (14)

MATERIALES

- Picnómetro
- Balanza analítica

PROCEDIMIENTO

Primeramente pésese el picnómetro vacío y seco a 2°C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 min y ajústesele el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25°C, después de limpiar el picnómetro. (14)

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M_2 = peso del picnómetro con el agua (g)

M = peso del picnómetro vacío (g)

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra (14)(33)

2.3.3.2.3 DETERMINACIÓN DEL pH

FUNDAMENTO: La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación:

$$pH = -\log a [H^+]$$

$a [H^+]$ = actividad de los iones hidrógeno.

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura del pH en la escala de un instrumento medidor de pH. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo. (14)

MATERIALES

- Medidor de pH con electrodo de vidrio combinado

PROCEDIMIENTO

Ajuste el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra. (14)(33)

2.3.3.3 Determinación de microorganismos contaminantes.

2.3.3.3.1 MÉTODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA.

- Pesar 25g de tintura en un erlenmeyer estéril
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Dejar reposar por 1h
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1 % y obtener una dilución 10^{-2} . De este modo realizar otras diluciones
- Se preparan tubos de ensayo tapa rosca con 15 mL de medio de cultivo PCA (platecount Agar).
- A cada tubo con ágar se adiciona 1 mL de la dilución preparada en el agua peptonada al 0.1%
- Homogenizar en un vortex, y el contenido de cada tubo verter en cajas petri
- Incubar a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 h
- Transcurrido este tiempo, realizar la lectura

Contar las colonias que se desarrollan y se anota el resultado de las placas con mayor número de colonias. (10)

2.3.3.3.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

1. Prueba presuntiva.

- Pesar 25g de tintura en un erlenmeyer estéril
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1}

- Dejar reposar por 1h
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1 % y obtener una dilución 10^{-2} .
- Incubar por 24 – 48 h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas)

2. Prueba Confirmatoria

- De los tubos positivos en el caldo lactosado tomar 2 o 3 asadas y sembrar en tubos 10 mL de caldo Brilla
- Incubar por 24 – 48 h a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas)
- Los resultados se interpretaran según la tabla de No 3

TABLA No 9. Interpretación del NMP para la determinación de coliformes totales

Combinación de tubos	NMP	Combinación De Tubos	NMP
0-0-0	≤ 3	3-0-0	23
0-0-1	3	3-0-1	39
0-1-0	3	3-0-2	64
1-0-0	4	3-1-0	43
1-0-1	7	3-1-1	75
1-1-0	7	3-1-2	120
1-1-1	11	3-2-0	93
1-2-0	11	3-2-1	150
2-0-0	9	3-2-2	210
2-0-1	14	3-3-0	240
2-1-0	15	3-3-1	260
2-1-1	20	3-3-2	1100
2-2-0	21	3-3-3	≤ 2400

FUENTE: Cáceres, Armando. Control de calidad Microbiológico de materia prima y productos fitofarmacéuticos. Fanmaya. Guatemala.

2.3.3.3.3 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES.

a). PRUEBA PRESUNTIVA.

Se procede de igual forma que en la prueba presuntiva para Coliformes totales.

b). PRUEBA CONFIRMATORIA.

- De los tubos positivos en caldo lactosado tomar 2 ó 3 asadas y sembrar en tubos 10 mL de caldo EC.
- Incubar por 24-48 h a 35 ± 2 ° C.
- Observar si existe turbidez en el caldo lactosado y/o presencia de burbujas en la campana Durham (fermentación con formación de gas).
- Los resultados se interpretaran según la tabla de NMP. (31)

2.3.3.3.4 MÉTODO DE CONTEO DE MOHOS EN PLACA

- Pesar 25 g de tintura en un erlenmeyer estéril.
- Agregar 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar; de este modo se obtiene una dilución de 10^{-1} .
- Dejar reposar por 1 hora.
- De esta dilución, tomar 1 mL y mezclar con 9 mL de agua peptonada 0.1% y obtener una dilución de 10^{-2} .
- Preparar cajas petri con medio de cultivo OGY.
- Sobre las cajas petri colocar 0.1 mL de las diluciones respectivas y extender mediante un extensor de vidrio.
- Incubar a temperatura ambiente por 5-7 días.
- Realizar el contaje.

El recuento del número de colonias formadas no debe ser mayor de 100 Colonias/caja.

(31)

2.3.4 EXTRACCIÓN DE LA CAFEÍNA

a) Extracción líquido-sólido. Reflujo

1. Pesar en la balanza 50 g del vegetal
2. Colocar la yerba mate previamente molida, en un matraz redondo de 500 ml y añadir 200ml de agua destilada. El matraz, a su vez, se introduce en un calefactor eléctrico o bien en un baño maría.
3. Conectar el matraz redondo al refrigerante (sujetos por un soporte universal mediante pinzas). Proceder a poner en marcha el sistema y calentar a reflujo durante 30 min.
4. Filtrar al vacío en caliente.
5. Añadir 5 g de Na_2CO_3 y agitar hasta que el sólido se disuelva.
6. Dejar enfriar la solución.

b) Extracción líquido-líquido

1. Colocar la solución acuosa después del reflujo y de haber sido tratada con carbonato sódico en un embudo de decantación de 250 ml y añadir 15 ml de cloroformo.
2. Tapar, agitar suavemente durante unos minutos para evitar la formación de emulsiones y recoger la fase orgánica (la más densa).
3. Agregar otra vez otros 15 ml de cloroformo y extraer nuevamente.

c) Rotavapor

1. Pesar el matraz redondo perfectamente limpio y seco, e introducir las fases orgánicas resultantes de la extracción.
2. Agregar pequeñas cantidades de Na_2SO_4 anhidro al extracto orgánico para absorber el agua remanente.
3. Colocar en el rotavapor conectado a una bomba de vacío y poner el reóstato a $60\text{ }^\circ\text{C}$ de temperatura. En caso de no contar con un rotavapor se puede hacer una destilación

simple cuidando que la temperatura no suba mucho (se puede emplear un baño de agua para calentar).

4. Dejar enfriar y pesar el matraz redondo con la cafeína sólida, obteniendo el rendimiento.

d) Recristalización

1. Disolver la cafeína en acetona, calentando y añadiendo a continuación éter de petróleo gota a gota hasta que aparezca una ligera turbidez.

2. Dejar enfriar lentamente a temperatura ambiente, hasta que aparezcan los cristales de cafeína purificada.

3. Filtrar los cristales al vacío.

4. Recoger los cristales en una cápsula de porcelana previamente tarada.

5. Dejar secar a temperatura ambiente (bien tapada) y pesar el contenido de cristales.

CÁLCULOS

$$\text{Concentración media de cafeína \%p/p} = \frac{\text{g de cristales de cafeína}}{\text{g del vegetal}}$$

2.3.5 EXTRACCIÓN DE LOS ALCALOIDES TOTALES

- Poner 50 g de planta molida, 10 g de carbonato calcio en polvo y 150 ml de agua en un matraz de tres bocas equipado con un condensador de reflujo durante aproximadamente 20 minutos, usando una manta de calefacción o un mechero Bunsen.
- Durante el calentamiento del matraz y se agita a intervalos de tiempo preparando un aparato de filtración al vacío, usando un matraz de vacío de 500 ml. Al final de ebullición y cuando los sólidos se depositan, filtrar la solución a vacío a través de un embudo Buchner, utilizando el tipo de papel de filtro.
- Enfriar el filtrado a temperatura ambiente y extraerlo en un embudo de separación con éter etílico.

- Si se agita demasiado duro el embudo de separación, se forma una emulsión desagradable, que sólo puede romperse con dificultad. Para evitar esto, dar la vuelta con cuidado el embudo de separación y mezclar el contenido mediante agitación durante 5 minutos usando un movimiento oscilante.
- Durante este período llevar ocasionalmente el embudo cautelosamente en una posición vertical.
- Dejar en reposo las capas hasta que se forme una interfaz definida entre ellos.
- Recoger la fase orgánica (18)

2.3.6 ANALISIS CROMATOGRAFICO DE ALTA EFICEIENCIA (HPLC) DE LA CAFEINA EXTRAIDA

La cromatografía de líquidos es una técnica de separación que utiliza una fase móvil líquida, es ideal para la separación de macromoléculas de interés biológico y de compuestos iónicos, ya que no depende de la volatilidad o estabilidad térmica de los componentes. (20)

PROCEDIMIENTO

Fase móvil: metanol – agua (30:70)

El agua utilizada para HPLC debe ser bidestilada

a) Preparación de los patrones de cafeína

- Pesar 0.05g de estándar de cafeína
- Transferir a un balón de 100mL y aforar con metanol – agua (30:70)
- Pipetear 0.25mL de la solución madre
- Transferir a un balón de 25ml y aforar con metanol – agua (30:70)
- Filtrar

b) Preparación de las muestras problema

- Pesar 0.05g de la cafeína extraída de la planta
- Transferir a un balón de 100mL y aforar con metanol – agua (30:70)
- Pipetear 0.25mL de la solución madre

- Transferir a un balón de 25ml y aforar con metanol – agua (30:70)
- Filtrar
- Se realiza lo mismo con la cafeína extraída del te comercial de guayusa.

c) Análisis de las muestras

- Se inyecta el estándar y las muestras respectivamente
- Determinación de la concentración de cada muestra
- La medida del tiempo de retención y del área de los picos de los cromatogramas obtenidos de los patrones y las muestras problemas son los parámetros utilizados en la cuantificación de cafeína.
- Se extrapoló la altura del pico correspondiente a la muestra problema en la curva estándar y se obtuvo la concentración de la muestra inyectada. A partir de éste resultado se calculó la cantidad de cafeína presente en la muestra problema inicial para lo que se tuvo en cuenta las diluciones realizadas.

2.3.7 ANALISIS ESPECTROFOTOMETRICO UV DE LA CAFEINA EXTRAIDA

La espectrofotometría UV- visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma. (33)

Procedimiento

- Pesar 0.05g de la cafeína extraída de la planta.
- Aforar con HCl 0.1 N a 100 mL.
- Tomar una alícuota de 0.5 mL
- Aforar con HCl 0.1 N a 25 mL.
- Preparar soluciones de la cafeína extraída de la planta a concentraciones de; 2, 5, 10, 15, 20, 25 ppm.

- Aforar con HCL 0.1 N
- Determinar la absorbancia a 273 nm. (15)
- Como patrón se emplea la cafeína estándar la misma q se prepara a una concentración de 2, 5, 10, 15, 20 y 25 ppm para poder realizar la curva de calibración.
- El blanco consistió en una solución de HCl 0.1 N (15)

Cálculo:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Se realiza el mismo procedimiento con la cafeína extraída del te comercial de guayusa.

2.3.8 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO EN CAPA FINA DE LA CAFEINA EXTRAÍDA

- Mezclar 50 mg de la cafeína extraída de la planta con 10 mL de metanol.
- Usar la solución para la cromatografía.
- Se aplica 10µL de la solución en una placa cromatográfica de sílica gel 60 F₂₅₄ con la ayuda de un capilar.
- Dejar secar después de cada aplicación
- Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm
- Revelar la placa y dejar secar, calentar en la estufa y anotar los R_f.
- Como solución para la aplicación en la placa cromatográfica se puede usar la tintura.

Adsorbentes: Sílica gel 60 F₂₅₄

Sistema de solventes: acetato de etilo - metanol - agua (100:13.5:10)(21)

Revelado: Iodo – Ioduro de potasio en HCl.

Cálculo

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida de la muestra}}{\text{distancia recorrida del solvente}}$$

2.3.9 ACTIVIDAD ADELGAZANTE DE LA GUAYUSA (*Ilex guayusa*)

- Se escogió 18 ratones de la misma edad y peso similar, ente hembras y ratones.
- Se les separó en 6 grupos conformados de tres cada uno
- A 5 de los 6 grupos se les dio una dieta hipercalórica, mientras q al otro grupo se les mantuvo con la dieta normal.
- Se les alimento con la dieta hipercalórica durante 5 semanas
- Se les peso cada día
- Para los resultados se toma en cuenta el peso que presentaban cada semana

Actividad adelgazante: se buscó una respuesta del organismo a diversas sustancias administradas, que posiblemente funcionen incrementando la liberación de catecolaminas y por ello la termogénesis, la beta-oxidación de los ácidos grasos y los mecanismos de lipólisis, aumenta la diuresis lo que favorece al tratamiento de la retención de líquidos.

Se trabajó con ratones (*Mus musculus*) del bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la ESPOCH, los cuales fueron divididos en grupos, blanco (ratones sin sobrepeso y sin tratamiento), control positivo (ratones con sobrepeso tratados con el té adelgazante comprobado), un control negativo (ratones con sobrepeso sin tratamiento) y dos grupos más, al primero con la dosificación simple de la tintura y al segundo grupo tomó la tintura en dosis doble. Todos los grupos constaron de 3 ratones, a los cuales se les tomó el peso antes de iniciar el tratamiento, y posteriormente cada día pero se tuvo en cuenta el peso semanal

TABLA No 10. DESCRIPCION DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

GRUPO	BLANCO	CONTROL (+)	CONTROL (-)	TINTURA DE GUAYUSA (DOSIS SIMPLE)	TINTURA DE GUAYUSA (DOSIS DOBLE)	EXTRACTO RICO EN CAFEINA
G1	B1	O1	C1	X1	Y1	Z1
G2	B2	O2	C2	X2	Y2	Z2
G3	B3	O3	C3	X3	Y3	Z3

En donde:

B= Ratones sin sobrepeso y sin tratamiento

O= Ratones con sobrepeso tratados con un té adelgazante comprobado.

C=Ratones con sobrepeso sin tratamiento

X=Ratones con sobrepeso tratados con la tintura de guayusa a dosis simple.

Y=Ratones con sobrepeso tratados con la tintura de guayusa a dosis doble.

Z=Ratones con sobrepeso tratados con un extracto rico en cafeína.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1.CONTROL DE CALIDAD DROGA CRUDA

Se realizó el control de calidad de la planta seca y pulverizada de guayusa (*Ilex guayusa*), con muestras por triplicado para cada prueba, con lo que se obtuvo los siguientes resultados:

CUADRO No. 1 RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA SECA Y PULVERIZADA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH.RIOBAMBA. ABRIL DEL 2012.

Parámetro	GUAYUSA
Determinación de humedad (%)	9,94
Determinación de cenizas totales (%)	5,79
Determinación de cenizas solubles en agua (%)	4,82
Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico (%)	0.72

3.1.1. DETERMINACION DE HUMEDAD

TABLA No 11. Normativos del control de calidad para la humedad

NORMATIVA	PARAMETRO
	Humedad máxima (%)
	Guayusa
Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos	7 – 15
HIDALGO, J.2010. Tesis. (32)	11,38

La presencia de exceso de agua en las drogas vegetales, puede promover el crecimiento de hongos, insectos y la hidrólisis de constituyentes que provocar el deterioro de la droga. Es por ello, que la determinación del contenido de humedad en la materia prima, es un parámetro de control de calidad, por lo tanto se realizó el análisis en la planta seca de guayusa presentando un porcentaje de humedad del 9,94%, este valor se encuentra en el rango permitido según lo indica las normativas de la Tabla No11.

3.1.2. DETERMINACION DE CENIZAS TOTALES

TABLA No 12. Normativos del control de calidad

NORMATIVA	PARAMETRO
	Cenizas totales (%)
	Guayusa
HIDALGO, J. 2010. Tesis. (32)	9,23
	Cenizas solubles en agua %
Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos	7
	Cenizas insolubles en ácido clorhídrico %
HIDALGO, J. 2010. Tesis. (32)	0,87
Parámetros del control de calidad de la droga cruda. (56)	1.7

Otro índice numérico de interés para el análisis de calidad de una droga es el valor correspondiente a las cenizas totales, el cual da un índice de mayor o menor cantidad de componentes inorgánicos y de sales minerales en la droga, en el caso de la guayusa el valor de la ceniza total es de 5,79%, este valor se encuentra dentro de las normativas señaladas en la Tabla No12.

3.1.3. DETERMINACION DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

Se estableció que el valor de esta determinación para guayusa es de 4,82%, lo cual indica que se encuentra dentro de los valores permitidos tal y como indica la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos (Cuadro No1).

3.1.4. DETERMINACION DE CENIZAS INSOLUBLES EN ACIDO CLORHIDRICO

Es el residuo que queda tras extraer las cenizas totales o las sulfúricas con HCl. La sílice es insoluble en HCl, por lo que indican presencia de arena o tierra, en el caso de la guayusa se determinó que el contenido de cenizas insolubles en ácido clorhídrico es de 0,72%, resultado que se encuentra conforme las normativas de la Tabla No. 12

Los datos de las determinaciones realizadas a la guayusa nos indican que la planta fue cosechada en condiciones y tiempo adecuado.

3.1.5. TAMIZAJE FITOQUIMICO

El tamizaje fitoquímico se realizó con el fin de reconocer la presencia de metabolitos secundarios en la planta de guayusa. Se trabajó con extractos: etéreos, alcohólicos y acuosos a partir de la droga seca y pulverizada, así se pudo determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en planta de guayusa.

CUADRO No. 2 TAMIZAJE FITOQUIMICO DE LA DROGA SECA Y PULVERIZADA DE LA GUAYUSA (*Ilex guayusa*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL DEL 2012.

Ensayo	Metabolito	Ex. etéreo	Ex. alcohólico	Ex.Acuoso
Sudan	Aceites y grasas	+	-	-
Baljet	Lactonas y cumarinas	-	-	-
Dragendorff	Alcaloides	++	+++	+++
Mayer	Alcaloides	-	++	+

Wagner	Alcaloides	+++	++	+++
L-B	Triterpenos y/o esteroides	-	+	-
Catequinas	Catequinas	-	-	-
Resinas	Resinas	-	-	-
Fehling	Azúcares reductores	-	+	++
Espuma	Saponinas	-	+	-
FeCl ₃	Taninos	-	++	-
Borntrager	Antraquinonas	-	-	-
Shinoda	Flavonoides	-	-	-
Antocianidinas	Flavonoides	-	-	-
Mucilagos	Mucilagos	-	-	-
Pr. A	Pr. A	-	-	-

Interpretación de la tabla: (-) no presencia del Metabolito, (+) baja evidencia, (++) evidencia, (+++) alta evidencia

Al realizar el tamizaje fitoquímico se determinó que los resultados concuerdan con los de bibliografía en la que mencionan que la guayusa contiene taninos derivados del catenol, esteroides, quinonas, alcaloides tipo cafeína (hasta un 2,3%), saponinas, flavonoides, aceites esenciales y triterpenos. (12) (48).

Se debe tener en cuenta que la prueba de alcaloides dio positivo para el extracto acuoso, etéreo y alcohólico, debiéndose a su alto contenido de cafeína en la planta, especialmente en sus hojas que tiene cantidades superiores a las del café (hasta un 1,5%) de acuerdo a Bernal H y Gupta M, la misma que ayuda a asegurar la supervivencia de la planta ya que constituye un potente pesticida e insecticida que repele o mata el ataque de insectos, mientras que en el ser humano tiene efectos estimulantes, diuréticos y de termogénesis.(57)

3.2. CONTROL DE CALIDAD DE LA TINTURA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*)

El empleo de métodos físico – químicos de análisis, permite establecer la calidad de los extractos obtenidos a partir de drogas crudas. La tintura de guayusa se obtuvo con etanol al 40% durante 15 días.

3.2.1. DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

CUADRO No.3 DETERMINACION ORGANOLEPTICA DE LA TINTURA DE GUAYUSA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL DEL 2012.

Parámetro	Resultado
Color	Café oscuro
Olor	Característico, agradable
Aspecto	Uniforme, opaco, no translúcido, sin precipitación
Sabor	Inicialmente dulce, amargo y desagradable al final

En la determinación organoléptica de la tintura los parámetros en el cuadro No 3, son característicos de la planta, al igual que el sabor y olor, sin embargo antes de la administración a los ratones se evaporó el alcohol y se diluyó en solución salina para así evitar dañar el estómago de los animales de experimentación.

3.2.2. DETERMINACION DE LOS PARAMETROS FISICO- QUIMICOS DE LA TINTURA

CUADRO No.4 DETERMINACION DE LOS PARAMETROS FISICO QUIMICOS DE LA TINTURA DE GUAYUSA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO DEL 2012.

Parámetro	Resultado
Índice de refracción	1.39
Densidad relativa	0.9613 g/mL
Grado alcohólico	33.37%

pH	6.23
Sólidos Totales	1.63%

El índice de refracción es una determinación muy útil como medio de identificación y comprobación de la pureza de una sustancia. El valor determinado a la tintura de guayusa fue de 1,39, valor que concuerda con el expuesto por Hidalgo, J.(32), al comprobarlo con el del agua se comprueba que es mayor (1.333) indicando que fueron extraídos compuestos químicos en el solvente utilizado que tienen la propiedad de refractar la luz en correspondencia con su estructura química.(24).

La densidad relativa fue de 0.9613g/mL, indica que el proceso de extracción fue realizado de manera correcta, indicando la presencia de metabolitos.

El pH de la tintura fue 6.23, que al compararlo con el pH del solvente es decir del alcohol al 40% fue de 6.92, nos da una idea de que la tintura tiende a la acidez. Este parámetro no concuerda con lo expuesto por Hidalgo, J. (32).

A mayores valores de sólidos totales mayor probabilidad de existencia de metabolitos activos presentes. Este parámetro no refiere exclusivamente la cantidad de principios activos disueltos, pero si puede dar una medida de que a mayor valor del mismo la cantidad de estos metabolitos debe ser mayor. (24)

3.2.3. CUANTIFICACIÓN DE LA CAFEÍNA DE LA TINTURA POR ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)

CUADRO No.5 CUANTIFICACION DE CAFEINA DE LA TINTURA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*).ABRIL DEL 2012.

Componente	Tiempo de retención	Área	Altura	Concentración, ppm	mg/mL muestra
Cafeína estándar	9.950	75,95	4.841	5	
Tintura de guayusa	9.883	195,64	13.161	12.88	3,22

Lo que nos indica el análisis en el HPLC es que la concentración real de la cafeína presente en la tintura de guayusa es de 12,88ppm, lo que nos indica que hay 3,22 mg/mL muestra.

3.2.4. DETERMINACION DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES

CUADRO No.6 ANALISIS MICROBIOLOGICO PARA LA TINTURA DE GUAYUSA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO DEL 2012.

Parámetro	Valores encontrados	OMS 2007	Congreso Nacional(51)
Aerobios mesofilosufc/g	4×10^3	10^5	$\leq 10^4$
Coliformes fecales y E. coliufc/g	0	10	No menciona
Levaduras y hongos ufc/g	0	10^3	$\leq 10^3$

El análisis microbiológico nos indica que la tintura de guayusa es inocua para el consumo humano ya que todos los parámetros que se determinaron se encuentran dentro de los límites permitidos por la OMS 2007.

3.3.EXTRACCIÓN DE LA CAFEÍNA

CUADRO No.7 EXTRACCIÓN DE CAFEINA DE LA PLANTA Y DEL TÉ COMERCIAL DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*).ABRIL DEL 2012.

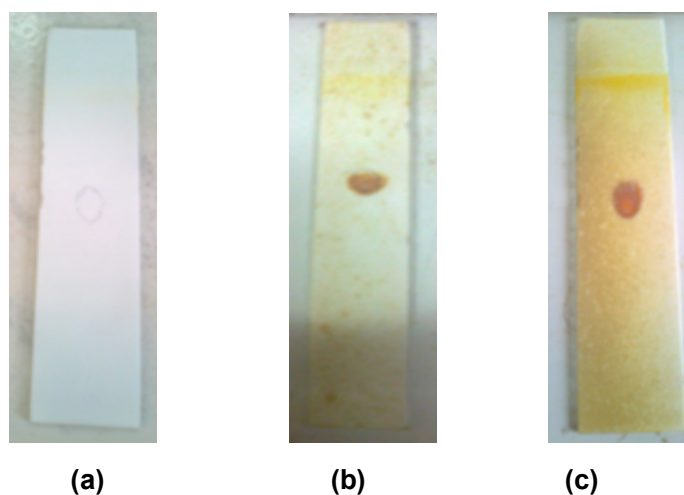
	Concentración media de la cafeína %p/p
Planta de guayusa	1.31
Té comercial de guayusa	1.15

Se realizó la extracción de la cafeína de la planta y del té comercial de guayusa (*Ilex guayusa*) y se pudo determinar que el contenido de cafeína en el té es menor que en el de la planta, debiéndose esto a que la producción de metabolitos secundarios está influenciada por tres factores: 1. analogía estructural (quimiotaxonomía), 2. ontogenia (estado de desarrollo) y 3. factores ambientales, según Núñez M. (51).

El porcentaje que se obtuvo de la extracción fue de 1,31 para la planta de guayusa y 1.15 para el té comercial de guayusa, estos valores concuerdan con lo expuesto por el Dr. Andrade que afirma que el contenido de cafeína en la guayusa es de hasta un 2.3%. (4)

3.3.1. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO EN CAPA FINA (TLC) DE LA CAFEÍNA EXTRAÍDA

La cromatografía se realizó en placas de sílica gel, con un sistema de solventes característico para alcaloides.



FOTOGRAFÍA No. 1 Cromatografías en capa delgada de la Guayusa (*Ilex guayusa*); en placas de Silica gel 60 F₂₅₄; sistema de solventes: Acetato de etilo – ácido fórmico – ácido acético glacial - agua (100:13,5:10); Revelador Yodo – Yoduro de potasio - HCl.

(a) cafeína estándar

(b) cafeína extraída de la planta de guayusa

(c) cafeína estándar

CUADRO No. 8 RESULTADOS DEL TLC PARA CAFEINA EXTRAIDA DE LA GUAYUSA (*Ilex guayusa*). MAYO 2012.

Banda observada	Rf	Compuesto identificado
1	0.57	Cafeína

La cromatografía de capa fina para la presencia de cafeína de la guayusa, tuvo la presencia de 1 componente evidente a la cámara UV con el Rf mostrado en el cuadro No 8, esto en la placa sin revelar, al aplicar el revelador I₂ -KI - HCl la mancha permaneció y tomó un color marrón oscuro mostrada en la Fotografía No1 (b), como se muestra en Wagner H (21) y con la cafeína estándar que se hizo correr en otra placa de sílica gel teniendo que las dos manchas presentan las mismas características físicas y un Rf similar.

3.3.2. ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO UV DE LA CAFEÍNA EXTRAÍDA

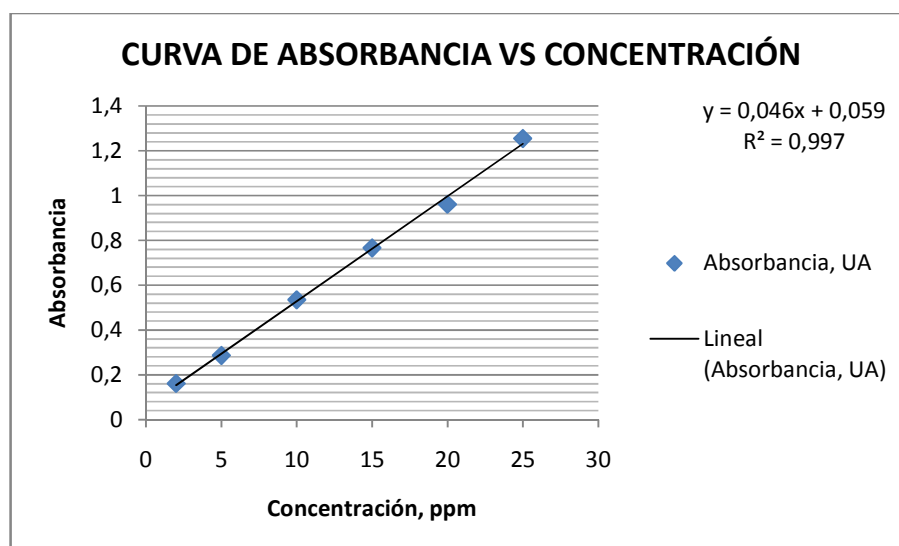


GRÁFICO No. 1. CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACION DE CAFEINA ESTANDAR PARA CUANTIFICACION DE LA CAFEINA EXTRAIDA DE LA PLANTA DE GUAYUSA Y DEL TÉ COMERCIAL DE GUAYUSA. LABORATORIO DE ANALISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ENERO DEL 2012.

CUADRO No.9 CUANTIFICACIÓN (UV) DE CAFEÍNA DE LA PLANTA Y DEL TÉ COMERCIAL DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*). ABRIL DEL 2012.

Muestra	Absorbancia	Concentración	mg/g muestra
Planta	0,476	8,88 ppm	888
Té comercial	0,446	8,25 ppm	825

En el caso de la cuantificación de la cafeína extraída de la planta de guayusa y del té comercial de guayusa, se reemplazó los valores de las absorbancias obtenidas en la ecuación de la curva de calibración de cafeína estándar (gráfico No1), así se obtuvo un valor de 8,88 ppm para la guayusa, o 888mg de cafeína/g planta, lo cual indica que tienen una pureza del 88,8%.

3.3.3. ANÁLISIS DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC) DE LA CAFEÍNA EXTRAÍDA

CUADRO No. 10 CUANTIFICACION (HPLC) DE CAFEINA DE LA PLANTA Y DEL TÉ COMERCIAL DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*). ABRIL DEL 2012.

Componente	Tiempo de retención	Área	Altura	Concentración, ppm	mg/g muestra
Cafeína estándar	9.567	143,568	7.685	5	
Cafeína extraída de la planta guayusa	9.183	136.491	7.563	4.75	950.70
Cafeína del té de guayusa	8.983	832.889	47.517	29.01	725.17

Lo que nos indica el análisis en el HPLC es que la concentración real de la cafeína extraída de la planta y del té comercial de guayusa es de 4,75 y 29,01ppm respectivamente. Se puede observar que la cafeína tiene una pureza del 95.07%

Sabiendo que el HPLC es un método de análisis más eficaz que el UV, ya que su elevada resolución permite la purificación de rutina de mezclas cuya separación no se consigue por otras técnicas y su elevada sensibilidad permite la valoración cuantitativa de cantidades de material menores del picomol, según Túnez I y Muñoz C (42), se justifica que exista una diferencia del % de pureza que dan los dos métodos de análisis realizados.

3.4.ACTIVIDAD ADELGAZANTE DE LA TINTURA DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*).

Se analizó la actividad adelgazante de la tintura de guayusa mediante la administración oral del extracto hidroalcohólico a 6 ratones, a los cuales se les dividieron en dos grupos de 3 cada uno, se trabajó con 2 dosis del extracto, y se obtuvo:

- 1) Grupo de dosis simple la cual consistió en 0.10mL
- 2) Grupo de dosis doble consistió en 0.20mL aproximadamente ya que se calculaba según el peso del ratón (ANEXO 7 y 8).

También se consideró para el estudio los siguientes grupos:

- 3) Grupo blanco el mismo que se le mantuvo con la comida normal de para un ratón (4pelets) durante el tiempo de estudio.
- 4) Grupo control negativo al cual se le mantuvo con una dieta hipercalórica durante el tiempo de estudio pero no se le, administró ninguna sustancia adelgazante.
- 5) Grupo control positivo al que se les administró un té que tiene efectos adelgazantes comprobados.
- 6) Grupo ERA, se les administró un extracto rico en alcaloides.

Se realizaron las respectivas mediciones de peso, al iniciar el tratamiento, cada día, hasta el final del periodo de estudio. Para el análisis se consideró importante trabajar con el peso que presentó cada ratón al término de la semana y los resultados obtenidos se muestran a continuación:

CUADRO No. 11 DATOS DE LA DIFERENCIA DE PESO DE CADA GRUPO DE ESTUDIO DESPUES DE LA ADMINISTRACION DE LA TINTURA DE GUAYUSA EN RATONES (*Mus musculus*) CON SOBREPESO INDUCIDO. FEBRERO 2012.

GRUPOS	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
Blanco	-0,2	-0,4	-0,5
Blanco	-0,2	-0,1	-0,2
Blanco	-0,1	-0,2	-0,3
C. Negativo	-0,6	-1,1	-2,4
C. Negativo	-0,5	-2,2	-2,9
C. Negativo	-0,2	-1,3	-1,9
C. Positivo	0,2	0,7	1,4
C. Positivo	0	0,7	1,7
C. Positivo	0,1	0,5	1,2
Dosis Simple	0,4	1	2,4

Dosis Simple	0,7	1,9	2,5
Dosis Simple	0,5	1,1	2,2
Dosis Doble	0,4	1,9	3,5
Dosis Doble	0,6	1,9	3,2
Dosis Doble	0,7	1,6	3
ERA	1,6	2,1	3,6
ERA	1,9	2,6	3,8
ERA	0,9	1,6	3,7

CUADRO No. 12 ANALISIS ESTADISTICO DE LA DIFERENCIA DE PESOS DEL ESTUDIO DE COMPROBACION DEL EFECTO ADELGAZANTE DE LA TINTURA DE GUAYUSA EN RATONES (*Mus musculus*) CON SOBREPESO INDUCIDO. FEBRERO 2012.

Tratamiento	N	Media	Mediana	Varianza	Desviación típica	Mínimo	Máximo
Dosis Simple	9	1.4111	1.1000	0.7061	0.8403	0.4000	2.5000
Blanco	9	-0.2444	-0.2000	0.0178	0.1333	-0.5000	-0.1000
Dosis Doble	9	1.8667	1.9000	1.3650	1.1683	0.4000	3.5000
Control +	9	0.7222	0.7000	0.3594	0.5995	0.0000	1.7000
ERA	9	2.4222	2.1000	1.1244	1.0604	0.9000	3.8000
Total	45	1.2356	1.0000	1.5273	1.2359	-0.5000	3.8000

Los resultados del cuadro No 12, indican que las medias de la diferencia de los pesos de los ratones de cada grupo tratamiento son diferentes, sin embargo no se puede definir si la diferencia entre medias es significativa y únicamente la media del grupo blanco es la que nos da con valor negativo lo que indica que en vez de bajar de peso los ratones subieron, teniendo en cuenta que ha este grupo no se le realizó ningún tratamiento ni de engorde ni de adelgazamiento.

Observando la desviación típica podemos darnos cuenta que el grupo más homogéneo es el del control positivo ya que presenta menor valor de desviación típica; es decir en este grupo la diferencia de peso al inicio del tratamiento y según avanzaba las semanas es similar entre los tres ratones que conforman el mismo, mientras que en el que se encuentra datos más dispersos es el de Dosis doble.

CUADRO No. 13 ANOVA DE DOS FACTORES PARA LAS VARIABLES DE TRATAMIENTO VS TIEMPO JULIO2012.

Anova Dos Factores					
Variable Respuesta:	PESO				
Variable(s) Explicativa(s):	TRATAMIENTO, SEMANA				
Número de Casos:	45				
ANOVA					
	Suma de Cuadrados	G.L.	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
TRATAMIENTO	38.6209	4	9.6552	38.2487	0.0008E-9
SEMANA	18.9898	2	9.4949	37.6135	0.0010E-6
Residual	9.5924	38	0.2524		
Total (corr.)	67.2031	44			

Para realizar el análisis del cuadro No 13 se debe plantear las siguientes hipótesis:

H_0 : Que los diferentes tratamientos administrados no influyen en la disminución de peso en los ratones.

H_1 : Los tratamientos administrados influyen en la disminución de peso en los ratones.

Para lo cual: Si $p \leq \alpha$ Rechazo la hipótesis nula. O si $p > \alpha$ acepto la hipótesis nula.

En nuestro análisis, el valor de p fue de 0.0008E-9 siendo menor a α que tiene un valor de 0.05. Por lo que rechazamos la hipótesis nula de que los diferentes tratamientos administrados no influyen en la disminución de peso de los ratones.

CUADRO No. 14 ANOVA DOS FACTORES. COMPARACIONES MÚLTIPLES. MODELO SIN INTERACCIONES CON I.C.HSD DE TUKEY AL 95%. JULIO 2012

Anova Dos Factores. Comparaciones Múltiples			
Variable Respuesta:	PESO		
Variable(s) Explicativa(s):	TRATAMIENTO, SEMANA		
Número de Casos:	45		
Modelo sin interacciones			
con I.C. HSD de Tukey al 95.0%			
TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos

BLANCO	9	-0.2444	X
POSITIVO	9	0.7222	X
DOSIS SIMPLE	9	1.4111	X
DOSIS DOBLE	9	1.8667	XX
ERA	9	2.4222	X

Contraste	Diferencia	+/- Límite
BLANCO VS DOSIS DOBLE	*-2.1111	*0.6781
BLANCO VS DOSIS SIMPLE	*-1.6556	*0.6781
BLANCO VS ERA	*-2.6667	*0.6781
BLANCO VS POSITIVO	*-0.9667	*0.6781
DOSIS DOBLE VS DOSIS SIMPLE	0.4556	0.6781
DOSIS DOBLE VS ERA	-0.5556	0.6781
DOSIS DOBLE VS POSITIVO	*1.1444	*0.6781
DOSIS SIMPLE VS ERA	*-1.0111	*0.6781
DOSIS SIMPLE VS POSITIVO	*0.6889	*0.6781
ERA VS POSITIVO	*1.7000	*0.6781

* Diferencia estadísticamente significativa.

En el cuadro No. 14 al realizar una comparación múltiple identificamos claramente que existe una diferencia significativa de -1,0111 entre el grupo de dosis simple y el ERA; determinando así que el mejor tratamiento entre estos dos grupos es el del grupo ERA ya que es el que mayor valor de la media presenta, sin embargo el grupo de dosis doble es igual al de la dosis simple y al ERA, teniendo en cuenta que estos tres grupos tienen una diferencia significativa de 1.1444, 0,6889 y 1,7000 frente al control positivo respectivamente, por lo que se concluye que la tintura de guayusa y el extracto rico en alcaloides influyeron para la disminución de peso.

CUADRO No. 15 PESO PROMEDIO DE LOS RATONES DURANTE EL TRATAMIENTO ADELGAZANTE Y DESVIACION ESTANDAR. JULIO 2012

GRUPOS	SEMANA 0	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3	% PÉRDIDA DE PESO
BLANCO	29,9 ± 1,96	30,1 ± 1,96	30,2 ± 1,84	30,3 ± 1,84	-1,34
CONTROL-	32,8 ± 1,89	33,2 ± 1,97	34,3 ± 1,49	35,2 ± 1,79	-7,32
CONTROL+	37,1 ± 0,94	37 ± 0,86	36,5 ± 0,94	35,7 ± 1,07	5,93

DOSIS SIMPLE	37,3 ± 0,40	36,7 ± 0,33	35,9 ± 0,40	34,9 ± 0,45	6,43
DOSIS DOBLE	35,9 ± 0,81	35,4 ± 0,92	34,2 ± 0,76	32,7 ± 0,63	8,91
EXTRACTO RA	40,6 ± 3,5	39,1 ± 3,7	38,5 ± 3,6	36,9 ± 3,44	9,10

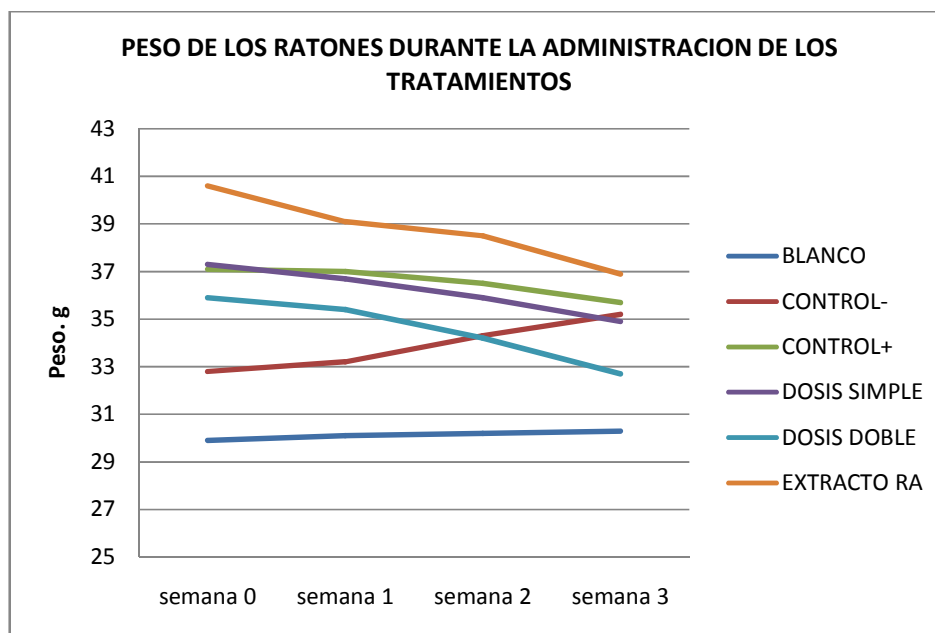


GRÁFICO No 2. CURVA DE VARIACION DEL PESO VS TIEMPO DURANTE LA ADMINISTRACION DE LOS TRATAMIENTOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MAYO 2012

Como en el grafico No 2, Cuadro No 15 se toma en cuenta la media de los pesos de los grupos tratamiento, en este se realizó un gráfico de peso vs tiempo, en el cual se puede observar cómo va disminuyendo el peso a medida que avanza las semanas, presentando una mayor disminución del peso en el grupo de dosis doble y el ERA con un 8,91% y 9,10% de disminución de peso respectivamente, mientras que el control positivo tiene un 5,93% y el grupo de dosis simple un 6,43%. El grupo blanco mantiene su peso, mientras que del control negativo a medida que siguen pasando las semanas incrementa el peso debido a la dieta hipercalórica con la que se los mantiene.

La disminución de peso se debe a la cafeína que es el principio activo que está presente en los tratamientos lo que concuerda con lo publicado en febrero de 1995 por la revista científica American Journal of Physiology titulado "Effects of caffeine ingestion on NE kinetics, fat oxidation, and energy expenditure in younger and older men" explica que se observó claramente al grupo de personas que utilizó cafeína llegó a aumentar su quema

de calorías hasta en un 11% con respecto al grupo que utilizó un placebo, teniendo en cuenta que estudios a nivel internacional confirman que el consumo de cafeína activa la lipólisis y que después de su ingesta se observa una mayor concentración de ácidos grasos en el plasma sanguíneo. (Félix Jacob Jure 2008, JW Helge, DA MacLean 2000,)
(39)

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se identificó el efecto adelgazante de la tintura de guayusa (*Ilex guayusa*), en animales de experimentación con sobrepeso inducido, realizando el análisis estadístico (ANOVA) con el que se determinó que existe una diferencia significativa entre los tratamientos aplicados, teniendo en cuenta que se trabajó con la diferencia de los pesos y el grupo que más diferencia presentó; es decir el que más bajó de peso fue el ERA, sin embargo al aplicar el test de tukey(Cuadro No 14) se estableció que la dosis doble tiene el mismo efecto que la dosis simple y el extracto rico en alcaloides, considerando que estos tres difieren del grupo de control positivo y estos a su vez del grupo blanco. Concluyendo así que el efecto adelgazante está dado por la presencia de cafeína, la misma que es un alcaloide que tiene efectos de diuresis, acelerador del metabolismo y termogénesis.
2. Se realizó el control de calidad de la droga cruda seca y pulverizada de guayusa (*Ilex guayusa*), y se pudo evidenciar que los parámetros analizados se encontraban dentro de las normativas, cuadro No1, de igual manera se realizó el tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico, etéreo y acuoso; en los que se pudo identificar la presencia de alcaloides, azúcares reductores, saponinas, taninos, triterpenos, aceites y grasas.
3. El control de calidad de la tintura de guayusa (*Ilex guayusa*), indicó que los parámetros del análisis microbiológico (Cuadro No 6) se encontraron dentro de lo que establece la OMS 2007, también se realizó el análisis físico como se indica en el Cuadro No 4.

4. Por medio del análisis del HPLC se cuantificó la cafeína de la tintura de guayusa dando una concentración del 3,22 mg/ml y se realizó un análisis de la cafeína extraída de la planta y del té comercial de guayusa, efectuando también una lectura en el espectrofotómetro llegando a la conclusión de que la cafeína extraída de la planta tiene una pureza del 95% y el té comercial de guayusa el 72.52%, y se pudo evidenciar que de la planta se extrajo un 1,31% de cafeína y del té un 1.15%.

5. Se pudo evidenciar que el grupo control negativo aumento de peso según avanzaban las semanas durante el tiempo que duro la investigación, se debe tener en cuenta que a este grupo no se le administró ninguna sustancia adelgazante, mientras que los grupos a los que se les administró el tratamiento adelgazante si disminuyeron de peso, existiendo una diferencia significativa de 0.6889, 1.1444 y 1.7000, respectivamente del grupo de dosis simple, doble y extracto rico de alcaloides frente al control positivo y estos grupos presentan una diferencia significativa frente al blanco.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Cuando se trabaja con animales de experimentación se debe evaporar el alcohol de las tinturas para evitar posibles daños en el estómago de los mismos, observarles constantemente para ver si hay algún cambio en su comportamiento y se los debe manipular de una manera adecuada para evitar que se estresen y esto provoque cambios en el estudio.
2. Realizar el estudio en personas para ver si tiene los mismos efectos que en los animales de experimentación
3. Realizar el estudio toxicológico de la guayusa para así determinar si esta planta causa algún daño en el organismo.
4. Almacenar la tintura en un lugar fresco y en un frasco color ámbar y bien tapado para así evitar la degradación de los metabolitos presentes y la contaminación por parte de microorganismos.
5. Se debe realizar un análisis de identificación de manganeso de las cenizas de guayusa, ya que dieron una coloración celeste después de la incineración.
6. Estudio de la concentración de la cafeína de la planta de guayusa (*Ilex guayusa*) en diferentes épocas de recolección y estadios de la planta.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN Y SUMMARY

La comprobación del efecto adelgazante de la tintura de guayusa (*Ilex guayusa*) en ratones (*Mus musculus*) con sobrepeso inducido, además de observar dicho efecto con la influencia del extracto rico en alcaloides como la cafeína de la guayusa, se llevó a cabo en la ciudad de Riobamba, en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Con la aplicación del método Analítico – Experimental el material biológico se dividió en seis grupos; GB: Blanco, GO: Control Positivo, GC: Control Negativo, GX: Dosis Simple, GY: Dosis Doble, GZ: Extracto Rico de Alcaloides (ERA), cada uno conformado por tres ratones a los que se les pesó diariamente durante el tiempo de estudio.

Los resultados obtenidos fueron analizados al aplicar el test estadístico ANOVA de dos factores y prueba de Tuckey HSD (Honestly Significant Difference) a un intervalo de confianza del 95%. Los resultados muestran claramente que hubo una diferencia significativa de los cuatro grupos con tratamiento adelgazante frente al blanco y una diferencia significativa entre el grupo de dosis simple, doble y Extracto Rico en Alcaloides (ERA) frente al control positivo, es decir en estos tres grupos hubo mayor disminución de peso. Se obtuvo un rendimiento del 1.31% de cafeína de la guayusa y por medio de un análisis en HPLC se determinó que la tintura tiene una concentración de cafeína de 3,22mg/mL con una pureza del 95%.

Se concluye que la guayusa tiene propiedades adelgazantes debido al contenido en cafeína que actúa produciendo termogénesis, diuresis y acelerador del metabolismo.

Se recomienda que a partir de este trabajo continuar con el estudio de extracción de la cafeína en diferentes estadios de la planta.

SUMMARY

The testing of the thinning effect of the guayusa dye (*Ilex guayuisa*) in mice (*Mus musculus*) with induced overweight, besides observing such an effect with the influence of the alkaloid rich extract such as the guayusa caffeine, was carried out in Riobamba in the Science Faculty of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

With the application of the analytical-experimental method the biological material was divided into six groups: GB: white; GO: positive control; GC: negative control; GX: simple dosage; GY: double dosage; GZ: alkaloid rich extract (ERA), each one conformed by three mice that were weighed daily during the study time.

The results obtained were analyzed by applying the ANOVA statistical test of two factors and HSD Tuckey test (Honestly Significant Difference) into a reliance interval of 95%. The results clearly show that there was a significative difference of the four groups into the thinning treatment in front of white and a significative difference among the groups of simple dosage, double one, and alkaloid rich extract (ERA) in front of the positive control, i.e. in those three groups there was a bigger weight decrease.

A performance of the 1.31% of guayusa caffeine was obtained and through an analysis in HPLC it was determined that the dye has a caffeine concentration of 3.22 mg/mL with a purity of 95%.

It is concluded that the guayusa has thinning properties due to the contents in caffeine that acts by producing thermogenesis, diuresis, and a metabolism accelerator.

It is recommended that from this research on the study of caffeine extraction in different stages of the plant should go on.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALONSO, J.**, Tratado de fitofármacos y nutracéuticos. Buenos Aires -Argentina., Corpus., 2004., pp. 166-170, 865-868
2. **ARRIZABALAGA, J., Y OTROS**, Guía de práctica clínica para el manejo del sobrepeso y la obesidad en personas adultas., España - Madrid., 2003., pp. 15 – 16.
3. **CONN MICHAEL P. y GEBHART. G.**, Principios de farmacología., México. D.F. – México., 1989., págs.166 – 180.
4. **CORREA, J. BERNAL, H.**, Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello., 1a. ed., Bogotá – Colombia., Editorial Guadalupe., 1989., pp. 400-412
5. **CUMANDA. J.**, Principios de Fotoquímica., Riobamba – Ecuador., Docucentro. ESPOCH., 2000. pp. 60-65

6. **DELBONO, M y CHAFTARE, Y.**, Manual práctico de obesidad en el adulto., Montevideo – Uruguay., Editorial Artigas., 2009., pp. 10- 11.
7. **FINKEL RICHARD y CLARK. A. MICHELLE.** Farmacología. 4a. ed., Barcelona - España., 1998., pp. 159 – 170.
- 8.**FONNEGRA, R.**, Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia., 2a. ed., Bogotá - Colombia., Universidad de Antioquia., 2007., pp. 9, 44-46
- 9.**FOZ, M. FORMIGUERA,X.**, Obesidad., Barcelona – España., Editorial HarcourtBrace., 1998., pp 121-148
10. **GALLEGOS, J.**, Prácticas de microbiología de alimentos., Riobamba – Ecuador., Docucentro. ESPOCH., 2005., pp. 19-21, 33-35, 91-95.
- 11.**GUPTA, M.**, 270 Plantas medicinales iberoamericanas., 1a. ed., Santafé de Bogotá – Colombia., Editorial CYTED-SECAB., 1995., pp. 42-45
12. **KATZUNG BE RTRAM. G.**, Farmacología Básica y Clínica., 9a. ed.,México - México., 2005., pp. 495 – 511.
13. **KURT. T.**, Natural Product Chemistry a mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism., 1983., pp., 1302-1309

14. **MIRANDA, M.**, Farmacognosia y productos naturales., La Habana - Cuba Universidad de La Habana., 2006., pp. 32-44, 56-62.
15. **MOFFAT, A. Y OTROS.**, Clarke's Analysis of Drugs and Poisons., 3a. ed., Londres – Inglaterra., Editorial Pharmaceutical Press., 2005., pp.562 – 566.
16. **NAVARRO, C., ORTEGA, T.**, Plantas medicinales para el sobrepeso., 1a. ed., Barcelona – España., Editorial Complutense., 2009., pp. 7 – 10, 43-125.
17. **PAMPLONA, J.**, Enciclopedia de las plantas medicinales., 2a. ed., Buenos Aires – Argentina., Editorial Safeliz., 2006., pp. 62 - 63.
18. **PAVIA, D. LAMPMAN G, KRIZ G.**, El laboratorio de química orgánica., Milán – Italia., Editorial Sorbona., 1998., pp. 68
19. **SAMANIEGO ROJAS EDGAR.** Fundamentos de Farmacología médica., 6a. ed., Tomo I., Quito – Ecuador., 2005., pp. 293 – 315.
20. **SKOOG, D. Y OTROS.**, Principios de análisis instrumental., 5a. ed., Madrid-España., Editorial Mc Graw Hill., 2001., pp.824
21. **WAGNER, H.**, Plant Drug Analysis., 2a. ed., Berlín- Alemania., Editorial Springer., 1996., pp. 50 y 197

- 22.CARRASCO, F. Y OTROS.**, Tratamiento farmacológico o quirúrgico del paciente con sobrepeso u obesidad., Volumen 137., No.7., Santiago – Chile., 2009.
- 23.GALICIA, M y SIMAL, A.**, Tratamiento farmacológico de la obesidad del Sistema Nacional de Salud., Vol. 26., No 5- 2002, pp. 121
- 24.FERNÁNDEZ, D. Y OTROS.**, Evaluación preliminar de la estabilidad de una tintura de *Eucalipto citriodora* Hook., No. 25., Infarmate., 2009.
- 25.CONVENCIÓN DE LA FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA.**, USP 30. Farmacopea de los Estados Unidos de América., Washington D. C. – Estados Unidos de América., Vol.1., NF 25., 2007., p. 50-52
- 26.GUÍA PARA EL ANÁLISIS DE VEGETALES.**, 2a. ed., Quito – Ecuador., 1982., p. 55
- 27.REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA.**, Madrid – España., 2a. ed.,2002.,pp.890 - 891
- 28.INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN INEN.**, Fitoterápico Droga Cruda Especificaciones Generales., Quito-Ecuador., INEN., 1999., pp. 6 – 12
- 29. ARAGADVAY, S.**, Elaboración Y Control De Calidad De Tintura Y Gel Cicatrizante Y Antiinflamatorio A Base De Chilca (*Baccharislatifolia*) Y

Hierbamora (*Solanumnigrum*)”, Facultad de Ciencias.,Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica deChimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.**, 2009. pp. 45-49, 54-59, 60-65.

30.AYALA, G., Diseño del proceso de fabricación de un comprimido fitofarmacéutico adelgazante.Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímicy Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.**, 2005., pp. 115 – 120.

31.CRUZ, P., Elaboración y control de calidad del gel Antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico(*Aristiguietia glutinosa*), y Marco (*Ambrosia arborescens*) Para Neo – Fármaco., Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.**, 2009. pp. 47-48.

32.HIDALGO, J., El efecto hipoglucemiante del Extracto Hidroalcoholico de Guayusa (*Illex guayusa*)en Ratas de experimentación (*Rattus novergicus*) con hiperglucemia inducida. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.**, 2010., pp. 60 – 65

33.PILCO, G.,Comprobación del efecto adelgazante de la tintura de apio (*Apiumgraveolens*) y el perejil (*Petroselinumsativum*)en 20 voluntarios riobambeños con sobrepeso. Facultad de Ciencias., Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.**, 2011., pp. 40 - 50

- 34.SAMANIEGO, A.,** Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante de caléndula (*Caléndula officinalis*). Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Riobamba - Ecuador., **TESIS.**,2006., p.116

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

- 35. AGLO, M.** Obesidad y Diabetes
http://www.ucsur.edu.pe/documentos/cientifica_06.pdf
2009-06-24
- 36. ALIMENTA TU SALUD.**
<http://www.alimentatusalud.cl/consejos.html>.
2010-10-12
- 37. ALIMENTOSADELGAZANTES Y CAFEINA.**
http://www.canal-salud.es/adelgazar/alimentos_adelgazantes_y_cafeina.htm.
2009-04-26
- 38. BEBIDA ENERGIZANTEGUAYUSA. García. F.**
<http://es.scribd.com/doc/50868442/Guayusa-Energizante-Natural>.
2010-02-03
- 39. CAFÉ. ADELGAZA**
<http://www.bellefem.com/index.php?itemid=96>.
2010-05-11
- 40. CAFEÍNA.**
<http://www.todonatacion.com/nutricion/cafeina/>
2009-11-11

41. CAFEINA.

<http://www.d-lamente.org/sustancias/caffeina.htm>

2009-03-26

42. CROMATOGRAFÍAS

<http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimica-biol-mol/pdfs/12%20CROMATOGRAF%C3%8DA%20DE%20CAPA%20FINA%20DE%20L%C3%8DPIDOS.pdf>

2011-05-12

43. DESCRIPCION BOTANICA.

cepra.utpl.edu.ec/.../...

2010-10-17

44. DROGA CRUDA, CONTROL DE CALIDAD DEFINICIÓN.

<http://www.elergonomista.com/fitoterapia/definiciones.htm>

2011-09-19

45. FICHA TÉCNICA DE LA GUAYUSA.

<http://prosperoyance.blogspot.com/2008/09/ficha-tnica-de-la-guayusa.html>

2008-05-29

46. FÁRMACOS ADELGAZANTES.

<http://www.medestetica.com/Cientifica/Revista/N1/TratFarmaobesidad.html>

2010-11-15

47. GUAYUSA.

http://es.wikipedia.org/wiki/Ilex_guayusa.

2008-02-01

48. GUAYUSA

<http://www.ecoaldeas.com/plmd/guayusa.htm>

2010-03-10

49. GUIA DE CUIDADO DE ANIMALES DE LABORATORIO.

http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/962_INS68.pdf

2008-03-25

50. MAIZ, A. CONSECUENCIAS PATOLOGICAS DE LA OBESIDAD.

<http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/obesidad/ConsecuenciasPatologicas.html>

2009-01-18

51. METABOLITOS SECUNDARIOS

<http://terpenosycelastraceas.blogspot.com/2011/10/metabolitos-secundarios-utilidad-y.html>

2011-10-23

52. NAVARRO,C. PLANTAS ADELGAZANTES

<http://nutriguia.com/art/7391c90f.html>

2010-03-16

53. NUTRICIÓN.

<http://www.niunadietamas.com/blog/?p=370>

2009-08-11

54. OBESIDAD Y SOBREPESO.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>

22-05-2012

55. OBESIDAD Y SOBREPESO

http://www.texasheartinstitute.org/HIC/Topics_Esp/HSmart/obesity_sp.cf

m

23-09-2011

56. PARÁMETROS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA.

http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol4_2_99/pla07299.htm

2011-09-19

57. PLANTAS MEDICINALES APROBADAS EN COLOMBIA

<http://www.latiendanaturista.com/vademecum/guayusa.htm>

2006-08-3

58. PLANTA PROCESADORA DE TÉ

<http://turnkey.taiwantrade.com.tw/showpage.asp?subid=124&fdname=FO>

[OD+MANUFACTURING&pagename=Planta+procesadora+de+te](http://turnkey.taiwantrade.com.tw/showpage.asp?subid=124&fdname=FO)

2010-06-22

59. POLIFENOLES.

<http://www.bellefem.com/index.php?itemid=96>

2009-03-15

60. POLIFENOLES Y CAFEÍNA.

www.adelgazar.nom.es/.../cafeina-y-su-repercusion-en-el-p...

2008-10-30

61. PROPIEDADES DE LA CAFEÍNA.

<http://www.botanical-online.com/propiedadescafeina.htm>

2008-06-08

62. REQUERIMIENTOS DE LAS TINTURAS Y ALCOHOLATUROS.

http://www.hierbitas.com/preparacion/Tinturas_Alcoholaturos.htm

2011-09-16.

63. SOBREPESO Y OBESIDAD

<http://www.fisioterapiaecuador.org/content/sobrepeso-y-obesidad-una-epidemia-severa>

2009-09-19

64. TAXONOMIA DE LA GUAYUSA

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/767/1/ArticuloGuayusa.pdf>

2010-09-22

65. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA OBESIDAD

<http://www.foroaps.org/files/obesidad.pdf>

2011-10-01

66. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA OBESIDAD

<http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol25/sup1/suple14a.html>

2011-03-24

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO N° 1 EXTRACCIÓN DE LA CAFEÍNA



FOTOGRAFÍA No. 2 Extracción del cloroformo en el rotavapor.



FOTOGRAFÍA No. 3 Cristales de cafeína

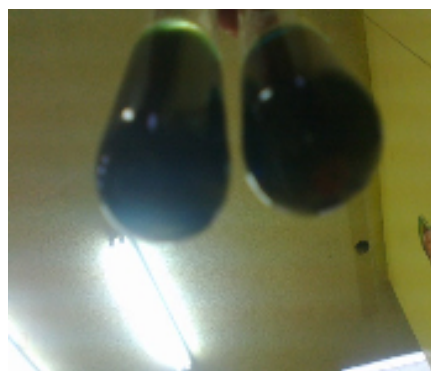
ANEXO N° 2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO



FOTOGRAFÍA No. 4 Ensayo para la identificación de alcaloides



FOTOGRAFÍA No. 5 Ensayo para la identificación de azúcares totales



FOTOGRAFÍA No. 6 Ensayo para la identificación de azúcares totales

ANEXO N° 3 EQUIPOS UTILIZADOS



FOTOGRAFÍA No. 7 Mufia



FOTOGRAFÍA No. 8 Desecador



FOTOGRAFÍA No. 9 pHmetro



FOTOGRAFÍA No. 10 Espectrofotómetro UV

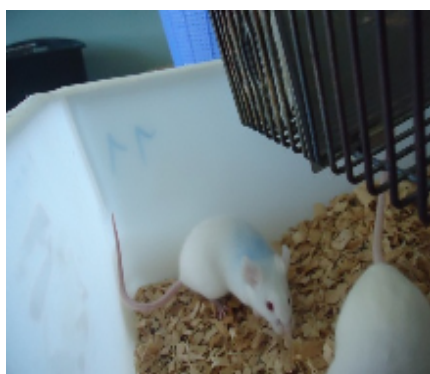
ANEXO N° 4 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



FOTOGRAFÍA No. 11 Grupo blanco



FOTOGRAFÍA No. 12 Percha con los diferentes grupos del estudio



FOTOGRAFÍA No. 13 Grupo control positivo

ANEXO Nº 5 DATOS DEL PESO DE LOS RATONES DURANTE LA ETAPA DE ENGORDE

BLANCO						
SEMANA	0	1	2	3	4	5
B1	26	26.3	26.9	27.2	27.4	27.6
B2	30.9	31	31.8	32	32.1	32.4
B3	28.1	28.5	28.7	29.4	29.9	29.9
CONTROL (-)						
SEMANA	0	1	2	3	4	5
C1	30.7	31.3	32	33.1	34.2	35.3
C2	28.8	29.3	29.9	30.2	31.5	32.4
C3	27.6	28	28.8	29.6	30.5	32.5
CONTROL (+)						
SEMANA	0	1	2	3	4	5
O1	32.4	33.9	34.3	35	36.6	38.3
O2	30.2	31.3	32	33.1	35.4	36
O3	31.7	32.2	33.6	35	35.9	37.1
TINTURA DE GUAYUSA (DOSIS SIMPLE)						
SEMANA	0	1	2	3	4	5
X1	31.9	32.9	33.4	34.5	35.1	36.7
X2	33.5	34.4	35	35.5	36.5	37.5
X3	33.1	34.3	35.4	36.3	36.8	37.6
TINTURA DE GUAYUSA (DOSIS DOBLE)						
SEMANA	0	1	2	3	4	5
Y1	33	34.5	35.7	36.1	36.7	37.1
Y2	30.1	30.9	32.3	33.9	34.7	35.3
Y3	30.5	31.7	32.6	33.5	34.3	35.5
EXTRACTO RICO DE ALCALOIDES						
SEMANA	0	1	2	3	4	5
Z1	30.5	32.7	33.1	34.1	35.6	35.9
Z2	35	36.2	37.7	38.8	40.7	41.5
Z3	38	39.8	41.6	42.9	43.6	44.3

**ANEXO N° 6 DATOS DEL PESO DE LOS RATONES DURANTE LA ETAPA DE
ADELGAZAMIENTO**

BLANCO				
SEMANA	0	1	2	3
B1	27.6	27.8	28	28.1
B2	32.4	32.6	32.5	32.6
B3	29.9	30	30.1	30.2
CONTROL (-)				
SEMANA	0	1	2	3
C1	35.3	35.9	36.4	37.7
C2	30.7	31.2	32.9	33.6
C3	32.4	32.6	33.7	34.3
CONTROL (+)				
SEMANA	0	1	2	3
O1	38.3	38.1	37.6	36.9
O2	36	36	35.3	34.3
O3	37.1	37	36.6	35.9
TINTURA DE GUAYUSA (DOSIS SIMPLE)				
SEMANA	0	1	2	3
X1	36.7	36.3	35.7	34.3
X2	37.5	36.8	35.6	35
X3	37.6	37.1	36.5	35.4
TINTURA DE GUAYUSA (DOSIS DOBLE)				
SEMANA	0	1	2	3
Y1	37.1	36.7	35.2	33.6
Y2	35.3	34.7	33.4	32.1
Y3	35.5	34.8	33.9	32.5
EXTRACTO RICO DE ALCALOIDES				
SEMANA	0	1	2	3
Z1	35.9	34.3	33.8	32.3
Z2	41.5	39.6	38.9	37.7
Z3	44.3	43.4	42.7	40.6

**ANEXO N° 7 DOSIS DE LA ADMINISTRACION DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS
ADELGAZANTES**

TRATAMIENTO ADELGAZANTE A BASE DE <i>Illex guayusa</i>					
		45mg/Kg	45mg/kg	90mg/kg	45mg/kg
	PESO INICIAL, g	DOSIS TÉ AC	DOSIS SIMPLE TG	DOSIS DOBLE TG	DOSIS ERA
RATÓN B1	27.6				
RATÓN B2	32.4				
RATÓN B3	29.9				
RATÓN C1	35.3				
RATÓN C2	30.7				
RATÓN C3	32.4				
RATÓN O1	38.3	0,001724			
RATÓN O2	36	0,00162			
RATÓN O3	37.1	0,00167			
RATÓN X1	36.7		0,001652		
RATÓN X2	37.5		0,001688		
RATÓN X3	37.6		0,001692		
RATÓN Y1	37.1			0,003339	
RATÓN Y2	35.3			0,003177	
RATÓN Y3	35.5			0,003195	
RATÓN Z1	35.9				0,001616
RATÓN Z2	41.5				0,001868
RATÓN Z3	44.3				0,001994

ANEXO Nº 8 VOLUMENES DE LA ADMINISTRACION DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS ADELGAZANTES

VOLUMENES DE ADMINISTRACIÓN DE LAS PREPARACIONES, mL			
DOSIS TÉ AC	DOSIS SIMPLE TG	DOSIS DOBLE TG	DOSIS ERA
0,13			
0,12			
0,12			
	0,10		
	0,10		
	0,10		
		0,20	
		0,19	
		0,20	
			0,19
			0,22
			0,23

CONCENTRACIÓN TÉ AC	1,37%
CONCENTRACIÓN TG	1,63%
CONCENTRACIÓN ERA	0,86%

B= Ratones sin sobrepeso y sin tratamiento
O= Ratones con sobrepeso tratados con el té adelgazante comprobado
C=Ratones con sobrepeso sin tratamiento
X=Ratones con sobrepeso tratados con la tintura de guayusa a dosis simple.
Y=Ratones con sobrepeso tratados con la tintura de guayusa a dosis doble.
Z=Ratones con sobrepeso tratados con un extracto rico en cafeína.

Dosis establecida a partir de los sólidos totales del té con actividad adelgazante comprobada

TÉ JK= TE DE JAMBI KIWA
 TG= TINTURA DE GUAYUSA
 ERA= EXTRACTO RICO DE ALCALOIDES

ANEXO Nº 9 CROMATOGRAMAS DEL HPLC DE LA CAFEINA

