

## Comparación química entre tallos y hojas de *Cupressus sempervirens* L. ("Ciprés") de origen cubano, como antiinflamatorios

Chemical comparison between stems and leaves of *Cupressus sempervirens* L. ("Cypress") of Cuban origin, as anti-inflammatories

Eva Salas Olivet<sup>1</sup>, Chavelys López Torres<sup>2</sup>, Bárbara González Dávila<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba. [evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)

<sup>2</sup> Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba. [evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Químicas. Universidad de La Habana, Cuba. [evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)



### PARA CITAR ESTE ARTÍCULO

Salas Olivet, E., López Torres, C., González Dávila, B. (2023) Comparación química entre tallos y hojas de *Cupressus sempervirens* L. ("Ciprés") de origen cubano, como antiinflamatorios. *Alternativas*, 24(1).

### DOI

<https://doi.org/10.23878/alternativas.v24i1.418>

### CORRESPONDENCIA

[evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)



UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL

Av. Carlos Julio Arosemena, Km 1,5. Guayaquil, Ecuador  
Teléfono: +593 4 380 4600  
Correo electrónico: [revista.alternativas@cu.ucsg.edu.ec](mailto:revista.alternativas@cu.ucsg.edu.ec)  
Web: [www.ucsg.edu.ec](http://www.ucsg.edu.ec)



© The Autor(s), 2023

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. To view a copy of this license visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

# Comparación química entre tallos y hojas de *Cupressus sempervirens* L. ("Ciprés") de origen cubano, como antiinflamatorios

Chemical comparison between stems and leaves of *Cupressus sempervirens* L. ("Cypress") of Cuban origin, as anti-inflammatories

Eva Salas Olivet<sup>1</sup>, Chavelys López Torres<sup>2</sup>, Bárbara González Dávila<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba. [evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)

<sup>2</sup> Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Cuba. [evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)

<sup>3</sup> Instituto de Investigaciones Químicas. Universidad de La Habana, Cuba. [evaso@ifal.uh.cu](mailto:evaso@ifal.uh.cu)

## RESUMEN

*Cupressus sempervirens* Linneo (Ciprés), perteneciente a la familia botánica de las *Cupressaceae*, tiene gran importancia por presentar metabolitos con gran potencial terapéutico; nos trazamos el objetivo de comparar en tallos y hojas la caracterización química del "*Cupressus sempervirens* L. (Ciprés)" cubano; como antiinflamatorio. Se evaluaron parámetros de calidad de las hojas y tallo: características organolépticas y por Infrarrojo cercano humedad residual, cenizas totales, proteína, fibra y almidón, la mayoría de los resultados obtenidos cumplen con las especificaciones descritas en las monografías oficiales. El Método de extracción realizado fue la Maceración, utilizando como menstruo etanol al 95%. Para el análisis físico-químico del extracto, se determinaron los parámetros siguientes: características organolépticas, densidad relativa, índice de refracción, pH y sólidos totales. Se estableció la composición química cualitativa de la planta mediante Tamizaje Fitoquímico; expresándose: aceites esenciales, grasas, alcaloides, triterpenoides y esteroides, resinas, azúcares reductores, saponinas, flavonoides, compuestos fenólicos, mucílagos y principios amargos y por cromatografía líquida de alta resolución; sugiere que posiblemente los compuestos que presentaron tiempo de retención en tallos de 15,2 y 15,9 minutos y los de tiempo de retención en hojas de 15,2 y 16,0 minutos, respectivamente, sean dos compuestos que representen al mismo tipo de metabolitos, en cada caso, producido por la planta en cada parte del vegetal; por separado. Se muestran compuestos presentes en hojas que no aparecen en tallos y viceversa. Se determinó la actividad antiinflamatoria por el Método de Edema Auricular del extracto etanólico el cual mostró el resultados esperado para la especie.

## PALABRAS CLAVE

*Cupressus sempervirens* L., composición química, PINÁCEAES

## ABSTRACT

*Cupressus sempervirens* Linnaeus (Cypress), belonging to the botanical family *Cupressaceae*, is of great importance for presenting metabolites with great therapeutic potential; We set the objective of comparing the chemical characterization of the Cuban "*Cupressus sempervirens* L. (Cypress)" in stems and leaves; as anti-inflammatory. Quality parameters of the leaves and stem were evaluated: organoleptic characteristics and by Near Infrared residual humidity, total ash, protein, fiber and starch, most of the results obtained comply with the specifications described in the official monographs. The extraction method carried out was Maceration, using 95% ethanol as menstruum. For the physical-chemical analysis of the extract, the following parameters were determined: organoleptic characteristics, relative density, refractive index, pH and total solids. The qualitative chemical composition of the plant was developed through Phytochemical Screening; expressing: essential oils, fats, alkaloids, triterpenoids and steroids, resins, reducing sugars, saponins, flavonoids, phenolic compounds, mucilages and bitter principles and by high resolution liquid chromatography; suggests that possibly the compounds that have a retention time in stems of 15,2 and 15,9 minutes and those with a retention time in leaves of 15,2 and 16.0 minutes, respectively, are two compounds that represent the same type of metabolites, in each case, produced by the plant in each part of the plant; separately. Compounds present in leaves that do not appear in stems and vice versa are shown. The anti-inflammatory activity was determined by the Auricular Edema Method of the ethanolic extract, which showed the expected result for the species.

## KEYWORDS

*Cupressus sempervirens* L., chemical composition, PINACEAES.

## Introducción

La medicina tradicional constituye una fuente inagotable de conocimientos ancestrales cuyo uso data desde que el hombre tuvo conciencia de que podía emplear los recursos que lo rodeaban para la cura de enfermedades. Dicha información ha sido transmitida de generación en generación de forma oral y escrita. El incremento de la población mundial, ha conllevado al uso indiscriminado de drogas sintéticas, que llevan asociados los efectos secundarios nocivos y el costo elevado; países en desarrollo han dirigido los esfuerzos a evaluar la reserva natural con fines terapéuticos (Castro, 2009 y Aligiannis, Kalpoutzakis, Mitaku, & Chinou, 2001). La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de múltiples enfermedades al ser una fuente de descubrimiento de nuevas drogas que en algunos casos tiene un costo inferior. El regreso del interés científico sobre las plantas medicinales, la investigación de su riqueza y variabilidad química, ha impulsado una revalorización de su empleo en muchas partes del mundo, lo que representa una forma complementaria de curar, en que el empirismo de la terapia queda atrás en función de la evidencia científica, lo que armoniza la medicina tradicional con las terapias oficiales de cada país (Avello y Cisternas, 2010). La utilización de las plantas medicinales y productos que se originan de ellas se han extendido en el mundo y han ganado una gran popularidad, muy pocas especies y productos se han estudiado con fines médicos y un número menor cuenta con estudios realizados sobre su seguridad, eficacia y calidad (Cáceres, 1999). La calidad es un requisito básico de los medicamentos, no sólo por su significación intrínseca, sino porque constituye la base sobre la que reposa la reproducibilidad de los parámetros seguridad y eficacia. Ello resulta aún más importante en los medicamentos a base de plantas medicinales, en los que la problemática es mucho más compleja que en los fármacos de síntesis. Algunos aspectos, que no se dan en estos últimos, pueden influenciar en la calidad de los fitofármacos o dificultar su control, por ejemplo: se trata de sistemas multicomponentes, con una composición compleja, mucho más difícil de caracterizar que un compuesto puro, sea sintético o natural; en ocasiones no se conocen los constituyentes químicos responsables del efecto terapéutico o, con frecuencia, éste se debe a un conjunto de ellos. Además, los procesos de reco-

lección y tratamiento postcosecha (deseccación, almacenamiento, etc.), así como los procesos de extracción, pueden también tener una influencia importante en la calidad (Cañigueral y Vila, 2005). Los productos naturales ofrecen una gran diversidad química incomparable con la complejidad estructural y la potencia biológica. Ocupan una región complementaria en el campo de la química farmacéutica comparada con los compuestos de origen sintético. Además de que los productos naturales pueden ser utilizados como medicamentos o plantillas para la producción de medicamentos, también tienen una gran utilidad en el estudio de los blancos moleculares y fisiopatologías de diferentes enfermedades, lo cual se ve reflejado en un mejor entendimiento de estos procesos; como ejemplo se tiene que mediante la elucidación del mecanismo de acción antiinflamatorio del ácido acetilsalicílico llevó al descubrimiento de las isoenzimas ciclooxigenasas COX-1 y COX-2, qué se usó en el desarrollo de nuevos medicamentos antiinflamatorios selectivos COX-2. La incorporación y utilización de las plantas medicinales en el tratamiento de diversas reacciones inflamatorias, en particular el reumatismo, son prácticas comunes en la medicina tradicional. Hoy día es evidente que el interés por las sustancias anti-inflamatorias de origen vegetal va en aumento, porque ofrecen en algunos casos ventajas en relación a los antiinflamatorios clásicos, como es la baja incidencia de efectos secundarios (Gómez Estrada, González Ruiz, y Medina Domingo, 2011).

Sobre la base de las proyecciones actuales del Ministerio de Salud Pública de Cuba (MINSAP) en el Programa Nacional para el Desarrollo y Generalización de la Medicina Natural y Tradicional y las tendencias actuales que dicta la Organización Mundial de la Salud (OMS) en lo concerniente al trabajo con productos naturales en la terapéutica, se desarrolló la presente Investigación Científica de la especie cubana *Cupressus sempervirens* L. (Ciprés) como objeto de estudio. *Cupressus sempervirens* L., el ciprés común o ciprés mediterráneo, es una especie arbórea de hoja perenne de la familia *Cupressaceae* (Christenhusz y col, 2011). El Ciprés es nativo de la zona mediterránea. Sin embargo, la planta se ha distribuido en el norte de África, Asia (Irán, Palestina, Jordania, Líbano, Siria, Irak, Turquía), en el sur de Europa (Grecia e Italia) y América del Norte (Chaudhary y col, 2012). La familia *CUPRESSACEAE* comprende el género, *Cupressus*. El género está constituido por 16 espe-

cies, las cuales abarcan una gama muy diversa de formas de crecimiento. *Cupressus sempervirens* L. pertenece al género que fue descrito por Carlos Linneo (Laubenfels, Husby & Griffith, 2012). En Cuba se cultivan las siguientes especies de Cupressus: *C. arizonica* Greene, *C. macrocarpa* Martweg, *C. lusitánica* Mill., *C. funebris* Lindl., *C. torulosaa* D. Don., *C. Benthami* Endl. Y *C. glabra* Sudworth (Roig y Mesa, 1988). Tomando en cuenta la poca divulgación del estudio Fitoquímico del Ciprés en el mundo y la marcada carencia de investigaciones en Cuba referentes al *Cupressus sempervirens* Linneo nos proyectamos la siguiente suposición "El Ciprés de origen cubano presenta metabolitos que le confieren "propiedades terapéuticas antiinflamatorias".

## Materiales y métodos

### Procedimientos de estandarización de *Cupressus sempervirens* L.

- **Recolección.** El estudio se desarrolló fundamentalmente en los laboratorios del Departamento de Farmacia del Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL) ubicado en el municipio de La Lisa, La Habana, Cuba. El material vegetal utilizado en la investigación fueron las hojas frescas y tallos de *Cupressus sempervirens* L. (Ciprés) los cuales se recolectaron en la Casa Comercial de los Laboratorios Novartis (calle A esq. 19) en El Vedado, Municipio Plaza de la Revolución, en la provincia de La Habana, Cuba.
- **Tratamiento post-cosecha. Lavado y desinfección de la droga.** Luego de la recolección del material vegetal, se procedió a lavarlo con abundante agua, seguidamente se sumergió en hipoclorito de sodio al 1% por un tiempo de 5 minutos e inmediatamente se lavó con abundante agua; hasta retirar completamente el hipoclorito.
- **Características organolépticas. Evaluación macroscópica de la droga.** La evaluación macroscópica de la planta, se realizó mediante la determinación de los parámetros de control de la calidad, establecidos (Miranda y Cuéllar 2001). Para la caracterización de las hojas se determinaron los siguientes parámetros: tamaño (dimensiones en largo y diámetro), color, olor, forma (se toma en cuenta el pecíolo, ápice, base, borde), condición (fresca, seca, entera, cortada)

y caracteres de la superficie (lisa, arrugada, estirada, anillada). El tallo con gran rugosidad y áspera cascara, con olor resinoso característico de la especie.

- **Método de secado.** El material vegetal fue sometido al proceso de secado artificial empleando una estufa marca MLW WSU 100 a una temperatura de 40°C con recirculación de aire, a razón de 1700 rpm. La planta fresca, fue colocada y esparcida por triplicado en tres bandejas esmaltada las cuales se distribuyeron dentro de la estufa. Fue removida cada dos horas durante el tiempo que transcurrió el proceso, hasta obtener una masa constante. Los resultados obtenidos, se promediaron y se registraron las observaciones y las sucesivas pesadas cada 24 horas; hasta lograr peso constante.
- **Herborización.** Se tomó una muestra representativa del material colectado para la herborización según la metodología propuesta por el Protocolo para la Herborización: "Colección y preservado de ejemplares botánicos en proceso de supervisión forestal" (julio 2013) con modificaciones realizadas, la muestra se conservó en cartulina, no en bolsas de plástico como sugiere el protocolo. Luego se trasladó hacia el Instituto de Ecología y Sistemática (La Habana, Cuba) con el objetivo de obtener una identificación auténtica.
- **Trituración, almacenamiento y conservación del material vegetal.** Al finalizar el proceso de secado la planta se reduce a tamaño de partículas de granulometría de 1 a 2 mm, mediante trituración en un molino de cuchilla marca FURNAS de procedencia italiana con un tamiz de 2 mm y se almacenó en un pomo ámbar herméticamente cerrado dentro de una desecadora hasta el momento de su posterior uso en otras evaluaciones experimentales.
- **Análisis farmacognóstico de la droga cruda (*Cupressus sempervirens* L.). Análisis por Espectroscopia de Infrarrojo cercano (NIR).** Los análisis farmacognósticos se analizaron también por un equipo NIR, modelo FOSS DS 2500 para las determinaciones de humedad residual, cenizas totales, contenido de proteína, fibra, y almidón.

■ **Valoración de la droga. Estudio fitoquímico cualitativo. Tamizaje Fitoquímico.** El Tamizaje Fitoquímico es el Método generalmente empleado para determinar cualitativamente los principales grupos funcionales o metabolitos secundarios a un extracto de uso farmacéutico. Es particularmente útil cuando la mayoría de las reacciones son positivas. Con la finalidad de conocer la presencia o no de los mismos a partir del material vegetal seco, triturado y homogéneo se empleó el Método de Tamizaje Fitoquímico, utilizando un sistema de disolvente en orden creciente de polaridad (Extracto Etéreo, Extracto Etanólico y Extracto Acuoso), según el procedimiento descrito en la literatura consultada. Se realizó tamizaje fitoquímico a las hojas y tallos de la especie vegetal. Con la planta fresca, se realizaron 3 extracciones sucesivas siguiendo el esquema representado según la figura 1. A cada extracto se le midió el volumen obtenido y se le calculó su concentración. El ensayo se realizó según lo descrito en el Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Miranda y Cuellar, (2000).

En la figura 1 se muestra el procedimiento para la obtención de los extractos etéreo, alcohólico y acuoso del material vegetal para la aplicación de las técnicas de tamizaje fitoquímico.

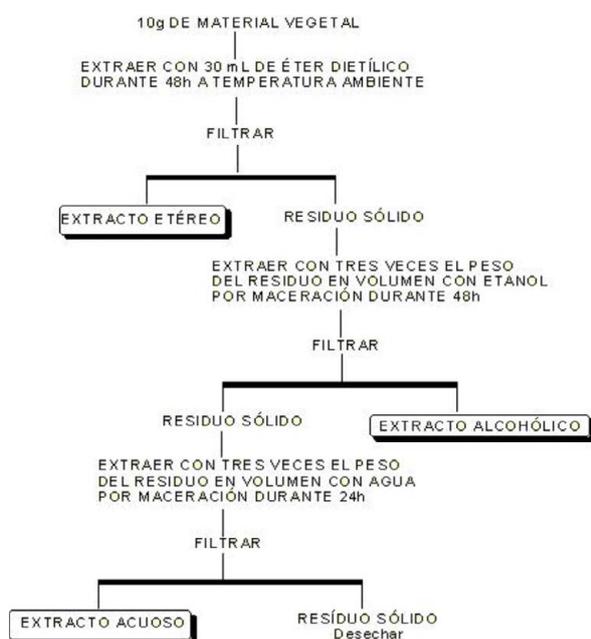


Figura 1. Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de tamizaje fitoquímico.

Una vez obtenidos los extractos a partir del material vegetal se realizaron los ensayos correspondientes al tamizaje fotoquímico para cada uno de ellos. En la figura 2 se observa el esquema de los ensayos a realizar en el extracto etéreo.

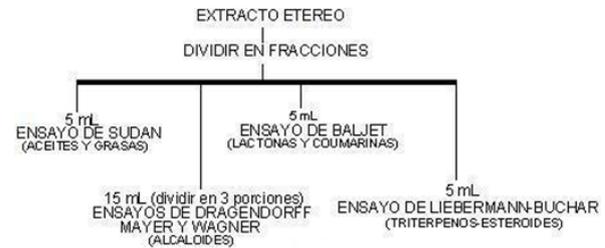


Figura 2. Esquema de reacciones a realizar en el extracto de éter etílico.

La figura 3 muestra el esquema de los ensayos a realizar al extracto alcohólico.

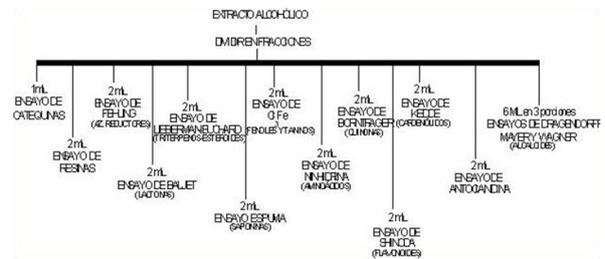


Figura 3. Esquema de reacciones a realizar en el extracto alcohólico.

En la a figura 4 se muestra el esquema de ensayos a realizar al extracto acuoso.



Figura 4. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso.

■ **Extracción a la droga cruda para determinar los parámetros de calidad a los extractos.** Para la continuación del estudio se prepararon las condiciones para aplicar el Método de extracción al órgano ensayado que fueron hojas frescas y el tallo. Para la obtención de los mismos utilizando como disolvente etanol a una concentración 95% (v/v). Se empleó el Método de Maceración ampliamente utilizado ya que resulta menos agresivo para el material vegetal al no aplicar calor ni agentes químicos,

que puedan afectar su composición química. Este método se mantuvo por siete días, a temperatura ambiente y protegido de la luz al igual que el extracto resultante, según lo descrito por (Miranda y Cuéllar, 2012). Los extractos obtenidos se colectaron en frascos de vidrio ámbar de 250 ml de capacidad, para la posterior determinación de los parámetros de calidad.

- **Análisis físico-químico del extracto.** El análisis físico-químico del extracto se realizó a través de parámetros cuya metodología es descrita por Miranda y Cuéllar, (2001).
- **Características organolépticas del extracto. Determinación del color.** Se realizó en un tubo de ensayo de vidrio transparente, bien limpio y seco en el cual se depositó la muestra en estudio. A continuación se observó el color, la transparencia, la posible presencia de partículas y la separación en capas.
- **Determinación del olor.** Se tomó una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo. Se percibió el olor y se determinó si correspondía con las características del producto.
- **Determinación de la densidad.** Para realizar esta determinación se empleó agua destilada, un picnómetro de 10 ml y una balanza analítica marca Sartorius máx. 120g d= 0.1 mg. Los resultados se expresan mediante la fórmula siguiente:

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Dónde:

D.-Densidad relativa (g/mL)

M<sub>1</sub>: peso del picnómetro con la muestra (g)

M<sub>2</sub>: peso del picnómetro con el agua (g)

M: peso del picnómetro vacío (g)

- **Determinación del índice de refracción.** Se utilizó un refractómetro ABBE y el procedimiento se realizó según lo descrito en el Manual de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Miranda y Cuéllar, (2000).
- **Determinación de pH.** El pH del extracto se determinó utilizando un potenciómetro modelo PHSJ-4A, según la NC-ISO 1842: 2001.

- **Determinación de sólidos totales.** Se le determinó los sólidos totales a los extractos de hojas y tallo del Ciprés según lo descrito en el Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales, Miranda y Cuéllar, (2000). Los resultados se expresan mediante la fórmula siguiente:

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Dónde:

St. Sólidos totales. (%)

Pr = masa de la cápsula más el residuo (g).

P = masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 = factor matemático para el cálculo.

- **Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR).** Para la separación cromatográfica se empleó un cromatógrafo líquido de alta resolución marca AZURA de fabricación alemana, equipado con un detector UV-Vis a una longitud de onda de 280 nm, una bomba de gradiente cuaternario en baja presión AzuraP6.1L, un horno termostato Azura CT 2.1, un inyector manual de 20 µL y se acopló una columna de fase reversa Eurospher C-18, 60 Å, 5 µm (d.i), 250 x 4 mm, de fabricación alemana. La identificación e integración de picos se realizó utilizando una Computadora compatible con el Programa de control del CLAR de adquisición y manipulación de datos cromatográficos Clarity Chrom versión 6.1.0.130 (KNAUER, Alemania). Los reactivos empleados para el desarrollo experimental de la técnica cromatográfica fueron como eluyente A: agua ultra pura y como eluyente B: acetonitrilo grado superior para cromatografía líquida. Durante todo el análisis se fijó una temperatura de 25°C y se utilizó un modo de elución a gradiente de 15-85% de B, durante 40 minutos a razón de 1mL/min seguido por mantenimiento del gradiente, incrementando hasta 50 % el A, durante 10 minutos sostenidos, revirtiendo hasta 0 % del eluyente B durante 5 min. El análisis se realizó con el extracto de la planta fresca a la concentración de 95%(v/v) en etanol.
- **Determinación de la actividad anti-inflamatoria por el Método de Edema Auricular inducido por aceite de**

**crotón.** Se siguió el Método del Edema Auricular que se basa en la aplicación de 12- TetradecanoilForbol-13 Acetato (TPA), uno de los componentes responsables de la acción irritante del aceite de crotón, en el pabellón auditivo del ratón. La respuesta inflamatoria consiste en eritema, edema e infiltración por leucocitos polimorfos nucleares, así mismo se liberan mediadores de tipo eicosanoide y se induce la desgranulación de mastocitos; en consecuencia, las sustancias inhibitoras de la biosíntesis de prostaglandinas y leucotrienos son evaluables por esta técnica (CYTED, 1996; Voegel, 1997).

- **Animales de experimentación.** Se emplearon ratones albinos de la línea OF1, machos, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), Bejucal, La Habana, los cuales se mantuvieron en cuarentena. Todos los ratones tenían su certificado de calidad que garantizaba la salud de los mismos así como que se encontraban aptos para efectuar este tipo de ensayo, siguiendo la Guía para los cuidados y el empleo de los animales de laboratorio establecida por la Comunidad Económica Europea (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1987). El peso de los ratones variaba de 25 a 30 g. El acceso al agua y a la comida fue "ad libitum". Las condiciones de luz y humedad fueron las descritas para la especie. El medicamento fue suministrado por la vía tópica. Todos los animales fueron pesados, para que todos los ratones recibieran una dosificación exacta de acuerdo al peso de las mismas. Antes del comienzo del ensayo (24 horas) les fue retirada la comida de los ratones y solo se les permitió el acceso al agua.

- **Ensayo del Edema Auricular.** La solución irritante que provocó el edema auricular en el pabellón auditivo del ratón fue el aceite de Crotón, éste se utilizó al 5% en acetona, aplicándose con una micropipeta, 10 µL, y depositándose por cada cara (externa e interna) de la oreja derecha del animal. Pasados 30 minutos después de la aplicación de la solución irritante se sacrificaron a los ratones siguiendo los procedimientos de Refinamiento, de manera tal que no se infringiera dolor o estrés en los mismos, para esto se colocaron

en una campana con éter posteriormente se procedió a cortar las orejas a través de las aristas. Con un sacabocado se cortaron discos de tejido de 6 mm de diámetro y se pesaron en una balanza analítica. Se confeccionaron tres grupos de 5 animales cada uno, los que a continuación se describen en la tabla 1. Los animales fueron distribuidos de forma aleatoria dentro de los diferentes grupos.

**Tabla 1. Diseño y Descripción de tratamiento**

GRUPO	TRATAMIENTO
1. Control	Se administró aceite de crotón 10 µL por ambas caras de la oreja y no se suministró medicamento alguno.
2. Control Positivo (Indometacina)	Se administró aceite de crotón (10 µL) por ambas caras de la oreja e inmediatamente se aplicó Indometacina, de forma que cubriera el pabellón auditivo.
3. Extracto del <i>Cupressus sempervirens</i> L.	Se administró aceite de crotón 10 µL por ambas caras de la oreja e inmediatamente se aplicó el Extracto del <i>Cupressus sempervirens</i> L. 25 µL por ambas caras del pabellón auditivo de la misma forma que el aceite de crotón.

- **Cálculos:** Se determinó el porcentaje de inflamación de la oreja tratada con respecto a la sin tratar calculada según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inflamación} = \frac{T \times 100}{ST} - 100$$

T: es el promedio de los pesos de las orejas tratadas (derecha)

ST: es el equivalente a las orejas sin tratar (izquierda).

Se determinó el % de Inhibición de la inflamación mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C: Es el valor medio del porcentaje de la inflamación de los animales del grupo control.

T: Es el valor medio de los animales del grupo problema o patrón.

- **Procesamiento Estadístico.** Se aplicó un Análisis de Varianza de una Vía de clasificación y a posteriori la prueba de Student Newman Keuls ( $p < 0.05$ ).

## Resultados y discusión. Material vegetal (hojas de *Cupressus sempervirens* L.)

- **Recolección del material vegetal.** Durante toda la investigación, la muestra del

material vegetal se mantuvo de la misma procedencia, lo cual permitió observar el comportamiento de reproducibilidad y réplica de resultados durante todo el proceso, desde los parámetros farmacognósticos de la droga cruda hasta los modelos investigativos aplicados a la droga.

- **Tratamiento pos cosecha.** Se realizó el lavado al material vegetal según lo establecido en las monografías oficiales, con el objetivo de evitar contaminación microbiana y el ataque de insectos a la planta, OMS (1998) y Miranda y Cuéllar, (2001).
- **Características organolépticas. Evaluación macroscópica de la droga.** Para la caracterización de las hojas y tallo del *Cupressus Sempervirens* L. se establecieron los parámetros que aparecen en la Tabla 2.

Tabla 2. Características organolépticas

PARÁMETROS	OBSERVACIONES
Color	Verde oscuro mate
Forma	Finas pequeñas, escamiforme, trianguladas, empizarradas, ordenadas en 4 series; gábulas casi globosas
Condición	Fresca y completa
Caracteres de la superficie	Arrugada
Tamaño	Largo de 2 a 5 mm y ancho de 2 a 3 cm de diámetro

Las características organolépticas de la planta corresponden con las referencias citadas por diferentes autores (Roig, 1988; CONABIO, 2009).

### Características organolépticas

- **Método de secado.** Dentro de los estudios farmacognósticos encaminados a establecer la calidad de una droga cruda se encuentra el Método de Secado. Es uno de los principales parámetros de control de calidad a tener en cuenta; pues favorece la estabilidad y conservación de la misma debido a que evita la proliferación y/o activación de procesos enzimáticos o fermentativos que modifiquen las estructuras y propiedades de las células vegetales y por consiguiente los principios activos, además de la contaminación microbiana de la planta. Un buen secado garantiza una molienda eficiente de la droga (Miranda y Cuéllar, 2001). Debido al gran porcentaje de humedad que presenta nuestro país, se determinó realizar

el proceso de secado por el método de secado en estufa. A 144h o sea seis días de secado es que la planta mantiene un peso constante y adicionalmente se desmenuza fácilmente hasta con las manos, lo cual nos indica la validez del método de secado a temperatura controlada (40°C), lo que nos permitió trabajar bajo estas condiciones para luego utilizarla durante toda la investigación. Los resultados del Método de Secado empleado se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Secado de la planta

RÉPLICAS	MASA INICIAL (G)	MASA FINAL (G)	PÉRDIDA POR DESECACIÓN %
I	8.00	4.13	51.62
II	8.00	4.10	51.25
III	8.00	4.24	53.00

Se puede observar, que el estudio de secado reporta valores esperados. Se indica que el proceso de secado culmina en el momento en que la droga es fácilmente desmenuzable o frágil a sucesivos pesos constantes, y una apariencia homogénea de la coloración verde oscuro con menor intensidad del material vegetal propio de la deshidratación.

- **Herborización.** Esta planta fue herborizada por los autores, en el laboratorio de Síntesis e identificada por la especialista MSc. Isora Baró Oviedo, Investigadora Auxiliar, perteneciente al Instituto de Ecología y Sistemática de la Academia de Ciencias de Cuba. La cual autenticó la especie vegetal cubana como *Cupressus sempervirens* L. con el número de herbario HAC43083
- **Trituración, almacenamiento y conservación del material vegetal.** Para la conservación de la droga seca, la misma se guardó en un pomo ámbar herméticamente cerrado dentro de una desecadora para evitar que absorbiera humedad del ambiente, sitio del cual se fueron adquiriendo porciones para investigaciones posteriores. Según las literaturas examinadas, las plantas secas por lo general se pueden llegar a conservar durante un periodo de dos años. Al menos este es el lapso durante el cual se considera "fresca", (Theiss, 1991).
- **Análisis farmacognóstico de la droga cruda (*Cupressus sempervirens* L.). Aná-**

**lisis por Espectroscopia de Infrarrojo cercano (NIR).** Los resultados se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4. Análisis por Espectroscopia de Infrarrojo cercano (NIR)**

PARÁMETROS	I	II	III
Humedad	13.51	13.24	13.57
Cenizas	15.55	15.59	16.06
Proteína	14.04	14.06	14.17
Fibra	29.96	30.31	30.17
Almidón	22.33	22.63	21.88

- **Determinación del contenido de humedad residual. Método gravimétrico.** Este método permite evaluar la efectividad del secado empleado. El contenido de humedad es uno de los índices numéricos que determinan la calidad del material vegetal, los valores reportados por la OMS están entre un 8% y un 14%. La humedad residual presenta valores de 13%, resultado esperado; según un estudio realizado por Bernabé y Moya, (2013) reportaron una humedad de hojas y ramas frescas de 84-96% Respectivamente, refieren que la capa densa y compacta del follaje actúa como una esponja que retiene la humedad debido a las dimensiones reducidas de las hojas.
- **Determinación de cenizas totales.** Los resultados que se obtuvieron fueron altos y se infiere que se deba a que la planta fue fumigada con insecticidas. Se recomienda un estudio de determinación de pesticidas para corroborar dicho resultado. El intervalo de cenizas totales según el criterios establecidos por las farmacopeas USP 32, 2010 (de 3-6%) para la mayoría de las plantas medicinales. Representa un indicativo de la calidad de la materia a emplear y constituye un elemento determinante para juzgar la identidad y pureza de la droga, brindando una información con relación a la posible adulteración con materia inorgánica o cuerpos extraños que posea la misma o cantidad de dichos elementos en su contenido.
- **Fibra.** El *Cupressus sempervirens* L., presenta un 30% de contenido de fibra vegetal. Las fibras naturales vegetales están presentes en casi la totalidad del reino vegetal en diversas formas; existen plantaciones de manera natural, campos, ciénagas o plantaciones agrícolas específicamente cultivadas para este

fin. Hasta mediados del siglo pasado las fibras naturales tuvieron aplicaciones en diferentes industrias. Cabe destacar que estos resultados poseen gran relevancia ya que no se cuenta con referencias de los parámetros farmacognósticos de la droga vegetal *Cupressus sempervirens* L. en Cuba; siendo ésta la primera investigación científica al respecto.

- **Determinación del contenido de proteínas. Método de Dumas.** Los resultados muestran valores de 14% por lo cual se deduce que la planta presente poco contenido de aminoácidos como metabolitos secundarios. Un alto contenido de nitrógeno en el suelo, aumenta el contenido proteico a nivel de las hojas y demás partes de la planta.
- **Almidón.** Como se observa en la Tabla 4 los valores correspondientes a almidón son altos, se refiere a que estos compuestos son considerados desde el punto de vista micro morfológico, como inclusiones citoplasmáticas de carbohidratos y se pueden encontrar de forma aislada o agrupados (Esau K, 1985). Los tallos cortos y gruesos, generalmente fusiformes o esféricos constituyen un lugar donde se acumula casi siempre almidón como sustancia de reserva. Todas las plantas verdes cuando son expuestas a la luz producen almidón, pero la forma de este cuando se almacena en ciertos órganos puede ser de valor taxonómico (Miranda y Cuellar, 2001).
- **Perfil fitoquímico del extracto etanólico de *Cupressus sempervirens* L.** Los extractos se obtuvieron por el método de extracción de maceración, es uno de los más utilizados cuando se realiza la elaboración de fitomedicamentos, ya sea a pequeña escala o en centros de producción local, son utilizados también cuando se quiere estandarizar uno de esos procesos extractivos a nivel industrial, además se basan en que ambos métodos se realizan a temperatura ambiente y con ello se asegura que ninguno de los componentes extraídos de la droga vegetal se puedan degradar, por otra parte si tiene algún compuesto algo volátil se puede lograr que permanezcan dentro del grupo de componentes que se puedan extraer por parte del menstreo, esto depende también del menstreo que se utilice. Otro aspecto importante

en sentido general es el equipamiento que se utiliza para su ejecución, estos son los menos complejos, Las técnicas de "screening" (tamizaje) permiten detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos funcionales de compuestos, que se apoyan de la micro química para evidenciar estos grupos de constituyentes mediante la formación de precipitados, coloraciones, sabor, entre otras. El tamizaje se le realizó a la planta fresca y los resultados muestran presencia de compuestos bioactivos que hacen a la planta, de interés para la industria farmacéutica, estos resultados así como los ensayos realizados se observan en la Tabla 5. Se obtuvieron los extractos de diferentes polaridades éter, etanol y agua mediante el método de maceración a temperatura ambiente durante 48 h. La fase etérea del extracto de hojas del Ciprés mostró en la fase etérea una fuerte positividad a compuestos grasos, alcaloides, triterpenos/esteroides y aceites esenciales, mientras que en la fase etanólica se observó una fuerte reacción para triterpenos/esteroides, resinas, azúcares reductores, saponinas, compuestos fenólicos, y flavonoides. En la fase acuosa se observó la presencia de alcaloides, azúcares reductores, saponinas, flavonoides, mucílagos y principios amargos todo con una marcada incidencia.

**Tabla 5. Composición cualitativa de las hojas del Ciprés**

ENSAYOS	METABOLITOS	EXTRACTOS		
		ETÉREO	ALCOHÓLICO	ACUOSO
Sudan	Compuestos grasos	+++		
Dragendorff	Alcaloides	+++	-	+++
Baljet	Agrupamiento Lactónico	-	-	
Liebermanm.B	Triterpenos/esteroides	+++	+++	
Catequinas	Catequinas		-	
Resinas	Resinas		+++	
Fehling	Azúcares reductores		+++	+++
Espuma	Saponinas		+++	+++
Cloruro Fe	Compuestos fenólicos		+++	-
Ninhidrina	Aminoácidos libres		-	
Borntrager	Quinonas benzoquinó		-	
Shinoda	Flavonoides		+++	+++
Kedde	Glicósidos cardiotónico		-	
Antocianidin	Antocianinas		-	
Mucílagos	Mucílagos			+++
Principios. A	Principios. A			+++
Aceite esen.	Aceites esenciales	+++		

**Leyenda:** +++ marcada incidencia; - No presencia.

Los resultados obtenidos fueron similares al análisis del fitoquímico preliminar referente para otros autores, como el árbol de la vida con múltiples virtudes; el cuál reveló que la planta presenta alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, fenoles, aceites esenciales como compuestos mayoritario y muchos otros metabolitos biológicamente activos, estos compuestos muestran propiedades farmacológicas tales como: antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiinflamatorias, antiparasitario, insecticida, antioxidante, cicatrizante, anticancerígeno, estrogénico, anticoagulante y muchos otros efectos (Ali E, 2016). El tamizaje fitoquímico sugiere que la composición química cualitativa de la planta puede estar influenciada por factores externos como: la temperatura, los niveles de nutrientes, la irradiación solar (Fuentes et al., 2000; Farooq et al., 2007 y Waller & Nowacki, 1978). Los resultados del tamizaje fitoquímicos expuestos son novedosos al no contarse anteriormente con este tipo de estudio de *Cupressus sempervirens L.* "Ciprés" en Cuba.

#### ■ **Análisis físico- químico del extracto.**

Para el análisis físico-químico del extracto, se evaluaron los siguientes parámetros: características organolépticas, densidad relativa, índice de refracción, pH y sólidos totales, los valores se muestran en la Tabla 6.

**Tabla 6. Características organolépticas del extracto**

PARÁMETROS	EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS (95 %)
Determinación del color	Verde intenso
Transparencia	Traslúcido
Presencia de partículas	no
Separación en capas	no
Determinación de olor	Característico de la planta

#### ■ **Determinación de la Densidad relativa y del Índice de refracción.**

Los parámetros son indicativos de la calidad del extracto, incluso, son una medida de la estabilidad del mismo, pues los valores guardan estrecha relación con la composición química de la muestra objeto de estudio. Los resultados se observan en la Tabla 7.

**Tabla 7. Parámetros Farmacognósticos**

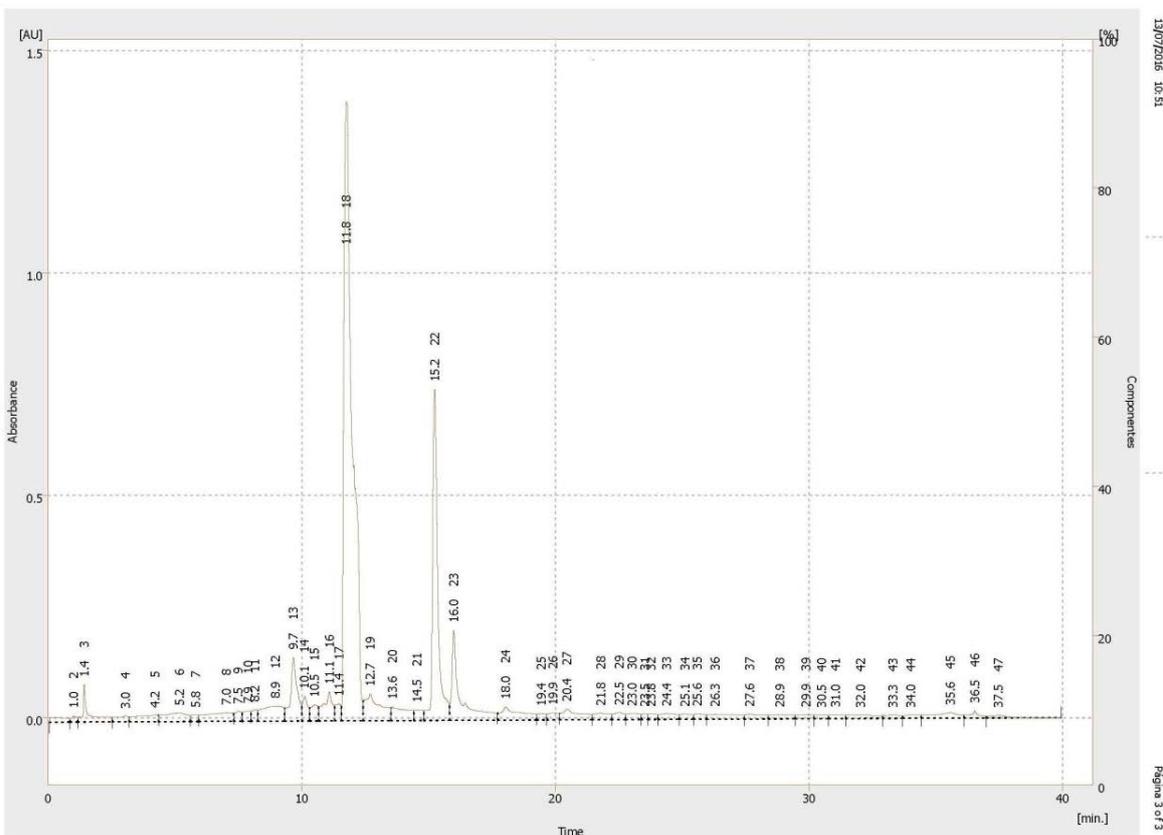
VARIABLES	I	II	III	MEDIA
Densidad relativa (g/ml)	0.865	0.864	0.866	0.865
Índice de refracción	1.5788	1.5780	1.5756	1.5775
pH	5.16	5.11	5.14	5.13

**Tabla 8. Sólidos Totales**

VARIABLES	SÓLIDOS TOTALES (%)
I	3.6
II	3.8
III	3.8

- **Determinación de pH.** La determinación del pH ofrece el comportamiento del carácter ácido o básico de una solución, haciéndose necesario su control para garantizar la estabilidad de un extracto. Según los resultados obtenidos los extractos mantienen un pH con tendencia ácida esto puede deberse a que la planta presenta metabolitos que le brindan un carácter ácido, como pudieran ser los compuestos fenólicos.
- **Determinación de sólidos totales o sustancias solubles.** La determinación de sólidos solubles al extracto permite conocer su rendimiento. El disolvente extrae la mayor concentración de estos. Además de ser un requisito importante en el análisis de control de la calidad de los extractos que se obtienen de plantas medicinales (Neto y col. 2001)

- **Resultados del análisis por CLAR.** Los sistemas de separación por cromatografía líquida han desarrollado una tecnología importante en la química analítica, es una de las técnicas utilizadas para separar un sistema multicomponentes, con una composición compleja mucho más difícil de aislar que un compuesto puro. El extracto etanólico de la hojas del *Cupressus sempervirens* L. Ciprés reveló un perfil cromatográfico con un tiempo de retención de 40 min. Se observó en el cromatograma una apariencia sencilla, visualizándose nueve picos, obteniéndose el mayor porcentaje de área relativa (40,2%) para el pico que eluyó a los 11,8 minutos. Los compuestos químicos mayoritarios eluyeron a los 10,1; 11,1; 11,8; 12,7; 15,2; 16,0; 18,0; 20,4 y 36,6 minutos, respectivamente. Los picos más significativos son aquellos que



**Figura 5.** Cromatograma del extracto etanólico de *Cupressus sempervirens* L.

se observan a los 1,8; 15,2 y 16,0 minutos de tiempo de retención, Ver Figura 3.

Según A. Romani y col, (2002) identificaron, en un análisis por HPLC MS que en un tiempo de retención entre 0.0 y 6.5 min, flavonoides como rutina del flavonoides, isoquercitrin, quercitrin, y kaempferol 3 - O-rhamnosido, amentoflavona y metil y dimetil flavonoides. Adicionalmente encontraron con un tiempo de retención entre 7.0 y 11.0 min, el robustaflavona, biflavonoides. Por lo tanto se infiere que los picos entre 10 y 11.8 de *Cupressus sempervirens* L. sean compuestos de estructura de flavonoides.

Los resultados recientes manifiestan, que los principales componentes químicos de la planta se encuentran en el rango de mediana polaridad.

- Efecto antiinflamatorio del extracto de las hojas de *Cupressus sempervirens* L. El extracto se administró por vía tópica en la oreja del ratón después de la aplicación del aceite de croton. La duración del ensayo fue de 6 días.
- Resultados Analíticos En la tabla 9 aparecen los valores medios y la desviación estándar para los tres grupos sometidos al estudio, con relación a la inflamación que se presentan en las orejas después de ser tratadas con el aceite de Croton, el control y el extracto objeto de estudio. Desde el punto de vista clínico no se produjeron alteraciones en los animales durante el estudio.

**TABLA 9. Ensayo del efecto antiinflamatorio del extracto del *Cupressus sempervirens* L. (± d.s.)**

GRUPO	PESO MEDIO DE LAS OREJAS (MG)	
	DERECHA	IZQUIERDA
I. CONTROL (croton)	11.9 ± 1.0 a	7.98 ± 0.97 d
II. EXTRACTO DE <i>Cupressus sempervirens</i> L.	9.98 ± 1.48 b	8.14 ± 1.38 d
III. CONTROL (INDOMETACINA)	9.68 ± 0.45 b	9.2 ± 0.66 d

Como se puede apreciar las orejas izquierdas, (no tratadas) de los animales no diferían desde el punto de vista estadístico.

Las orejas derechas se puede observar que presentaron diferencias entre el grupo tratado con Croton y los de indometacina y el extracto del *Cupressus sempervirens* L., pero no manifiestan diferencias entre el grupo tratado con el control positivo y el grupo tratado con el extracto. En la tabla 10 se muestran los resultados.

**Tabla 10. Efecto antiinflamatorio del extracto de *Cupressus sempervirens* L.**

GRUPO	% DE INFLAMACIÓN	% DE INHIBICIÓN
I. CONTROL (CROTON)	50	-
II. EXTRACTO DE <i>Cupressus sempervirens</i> L.	22.6	53.8
III. CONTROL (INDOMETACINA)	5.21	89.31

Se puede apreciar como él por ciento (%) de Inflamación de la Indometacina es inferior al extracto de *Cupressus sempervirens* L., pero ambos son inferiores al grupo control de Croton, por tanto el extracto de *Cupressus sempervirens* L. demostró ejercer efecto antiinflamatorio en el modelo de edema auricular en ratón inducido por el 13-Acetato de 12-O-tetradecanoil-forbol (TPA), como agente inductor de la inflamación. Estos resultados mantienen estrecha relación con los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico del extracto, en el cual se sugiere, que pudiera presentar en su composición química compuestos triterpénicos, alcaloides, fenólicos en general y flavonoides. Todos estos metabolitos ampliamente distribuidos en la naturaleza, poseen una gran variedad de efectos biológicos entre los que sobresale la actividad antiinflamatoria (Gómez et al., 2011).

## Conclusiones

- Las características organolépticas, la humedad residual, las cenizas totales, proteína, fibra y almidón son parámetros farmacognósticos del material vegetal cubano *Cupressus Sempervirens* Linneo cumplen con las especificaciones descritas en las monografías oficiales, exceptuando la humedad residual (13%) y las cenizas totales (15%).
- Se estableció la composición química cualitativa de las hojas frescas de *Cupressus Sempervirens* Linneo, el cuál reveló que la planta presenta alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, fenoles, aceites esenciales como compuestos mayoritarios.
- Se determinaron los parámetros físico-químicos (características organolépticas, densidad relativa, índice de refracción, pH y sólidos totales) de calidad del extracto etanólico las hojas de *Cupressus sempervirens* Linneo, según lo establecido en las normas y farmacopeas.

- En el cromatograma obtenido del extracto etanólico del Ciprés se observaron nueve picos prominentes revelando la presencia de metabolitos de gran significación, obteniéndose el mayor porcentaje de área relativa (40,2%) para el pico que eluyó a los 11,8 minutos
- Se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Cupressus sempervirens* Linneo cubano mostrando resultados positivos para una concentración de sólidos totales de 3,8%
- El extracto de *Cupressus sempervirens* L cubano demostró ejercer efecto antiinflamatorio en el modelo de edema auricular en ratón inducido por el 13-Acetato de 1-12-O-tetradecanoil-forbol (TPA), como agente inductor de la inflamación erigiéndose como un resultado novedoso.

## Referencias bibliográficas

- Aliagiannis, N., E. Kalpoutzakis, S. Mitaku, I.B. Chinou (2001): Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric Food Chem* 49(9): 2900-2920, 4168-70.
- Avello, M y Cisternas, I. (2010): Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *RevMed Chile*. 138: 1288-1293
- Cáceres A. (1999). Plantas de uso medicinal en Guatemala, Editorial Universitaria, Ciudad de Guatemala, Guatemala. 1999.
- Cañigueral S, Vila R. (2005). La Fitoterapia como herramienta terapéutica. *Ginecología y Obstetricia Clínica* 2005; 6(1):43-51
- Castro, I. (2009). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. Editorial. *Rev. Cub-PlantMed*. 11 (2)
- Chaudhary HJ, Shahid W, Bano A, Ullah F, Munis F, Fahad S and Ahmad I. (2012). In vitro analysis of *Cupressus sempervirens* L plant extracts antibacterial activity. *Journal of Medicinal Plants Research* 2012; 6(2): 273-276.
- Christenhusz, M. J. M., J. L. Reveal, A. K. Farjon, M. F. Gardner, R. R. Mill & M. W. Chase. (2011). A new classification and linear sequence of extant gymnosperms. *Phytotaxa* 19: 55-70. Referencias Bibliográficas 2017
- CONABIO. (2009). Catálogo taxonómico de especies de México. 1. In Capital Nat. México. CONABIO, Mexico City
- CYTED. (1999). Curso para Investigadores en el descubrimiento de nuevos medicamentos, Lima Noviembre de 1996, Edema Auricular pp 83.
- Esau, K. (1985). Anatomía Vegetal. 3a Ed. rev. Barcelona.
- Gómez Estrada, Harold Alberto; González Ruiz, Karina Noreica; Medina Domingo, José. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 10, núm. 3, mayo, 2011, pp. 182-217.
- Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 1987. National Research Council. Washington, DC: The National Academies Press.
- Laubenfels, D. J., C. E. Husby & P. Griffith. 2012. Further nomenclatural action for the cypressus (*Cupressaceae*). *Novon* 22(1): 8-15 Referencias Bibliográficas 2017
- Miranda, M. y Cuellar, A. (2000). Manual de prácticas de laboratorio de análisis farmacognóstico. Félix Varela. 2000.
- Miranda, M. y Cuéllar, A. (2001): Farmacognosia y Productos Naturales. Libro de texto. Félix Varela.
- Miranda, M. y Cuéllar, A. (2001). Farmacognosia y Química de Productos Naturales. Editorial Félix Varela. 2da Edición.
- Universidad autónoma de Madrid-<https://repositorio.uam.es/handle>
- Fuente, V. R. Revista UH. <https://revistas.uh.cu/article>. PDF
- Universidad de Oviedo-<https://digibuo.uniovi.es/T...PDF>.
- Gale-<https://go.gale.com/i.do>. Propiedades medicinales de plantas con acetypy <https://www.conacyt.gov.py>>PDF
- Scribd-<https://es.scribd.com/document> PDF-Cromatografía líquida de alto rendimiento
- Moya, B., & Moya, J. (2013). El "sistema ciprés" de barreras cortafuegos: selvicultura preventiva. Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe sobre la salud en el mundo 1998: la vida en el siglo XXI: una perspectiva para todos: resumen.
- Roig, JT. (1988). Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana. Ed. Científico-Técnica, 1125.
- Voegel, G. (1997). *Drugs Discovery*
- Waller, G.R y E.K. Nowacki (1978): Role of alkaloids. *Alkaloid Biology and Metabolism in Plants*. Plenus Press, New York. 249pp

