

Caracterización fitoquímica de la especie *Ilex guayusa* Loes. y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial

Matteo Radice
Giovanni Vidari
Università degli Studi di Pavia
Italia

Introducción

De los 17 países megadiversos del mundo cuatro de ellos se ubican en la zona andina y concentran el 75% de la diversidad en especies de animales y plantas, estos son: Colombia, Perú, Venezuela y Ecuador (Estrella *et al.* 2005). La Amazonía ecuatoriana representa una de las áreas con mayor biodiversidad del planeta y por su enorme variedad de plantas se convierte en una fuente de investigación de interés permanente, especialmente para el desarrollo de nuevas materias primas del mercado farmacéutico, cosmético y alimentario. Al interés comercial se unen también el científico y el antropológico, sobre todo cuando se trata de recuperar una de las plantas sagradas de las nacionalidades indígenas que habitan en la región amazónica ecuatoriana conocida con el nombre vernáculo de guayusa (*Ilex guayusa*

Loes.) y que es usada tradicionalmente por los Achuar y mestizos en forma de infusión.

Dentro de este contexto, es fundamental aclarar que el conocimiento fitoquímico de la guayusa es limitado y la literatura científica es escasa, razón por la cual es necesaria una profunda investigación científica con el fin de evaluar su actividad biológica o farmacéutica y los posibles usos comerciales. Actualmente, los pocos datos fitoquímicos de esta planta solo revelan datos de su contenido en cafeína, así como la presencia de triterpenos y ácidos clorogénicos (Rosero Gordón 2006-2007); por lo tanto, aún no se pueden explicar todas las propiedades curativas que la tradición popular le atribuye. Así, los objetivos de esta investigación fueron:

1. Desarrollar un fitofármaco con base en *Ilex guayusa* Loes. que actúe como un coadyuvante en el tratamiento de manifestaciones sintomáticas como gri-

pe, jaqueca y fiebre.

2. Identificar las familias químicas presentes en *Ilex guayusa* Loes.

3. Desarrollar la preparación de un extracto adecuado a la formulación final.

4. Desarrollar un método de cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) para la dosificación de la cafeína en el producto final.

5. Establecer los parámetros de calidad del producto transformado.

6. Realizar un proceso productivo apto a las condiciones tecnológicas locales.

El enfoque de la investigación se puede resumir en nueve etapas principales (Figura 1), las cuales deben ser completadas con el desarrollo de un prototipo sometido a estudios preclínicos y clínicos, pruebas industriales y finalmente, el producto desarrollado debe tener un plan de comercialización.

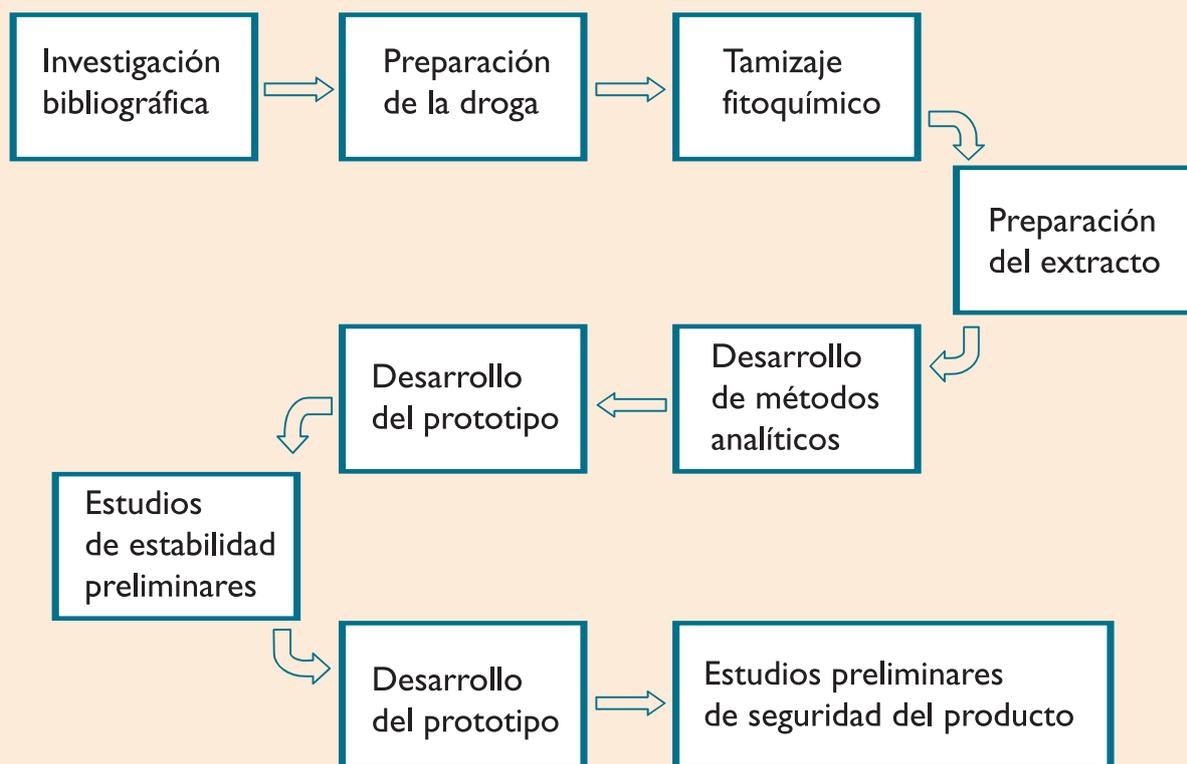


Figura 1. Etapas de la investigación farmacognóstica de *Ilex guayusa* Loes. para obtener un fitofármaco.

Datos ecológicos de *Ilex guayusa* Loes.

El género *Ilex* está presente en las regiones tropicales y subtropicales del continente americano e incluso en Oceanía, se calcula que posee más de 500 especies. El subgénero *Euilex* es el más extenso, puesto que incluye varias especies en el neotrópico distribuidas en Colombia, Ecuador, Brasil, Uruguay, Paraguay y el norte de Argentina (Brücher 1989).

En el Ecuador, de acuerdo a los registros del Herbario de Loja (LOJA), la guayusa está presente en las provincias de Sucumbíos, Napo, Pastaza, Morona Santiago y Zamora Chinchipe; sin embargo Jørgensen y León-Yáñez (1999) también registran individuos en las provincias de Pichincha y Tungurahua. La distribución de la especie es desde el nivel del mar hasta los 1.500 msnm (Jørgensen y León-Yáñez 1999).

Datos taxonómicos de *Ilex guayusa* Loes.

Ilex guayusa Loes. pertenece a la familia Aquifoliaceae y es reconocida con el nombre castellano de guayusa en la mayoría de localidades de Ecuador. 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). 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 (García Barriga 1992). En la localidad de San Luis ubicada cerca de Sevilla Don Bosco (provincia de Morona Santiago), se ha reportado la existencia de un bosque natural de árboles de guayusa con individuos que alcanzan una altura de 20 m y tienen un DAP de 80 a 90 cm.

El tronco tiene un fuste a menudo bifurcado a la altura del pecho, corteza blanca y textura lisa. Las ramas son extendidas y flexibles. Las hojas son coriáceas, verde-oliváceas, enteras, oblongo-elípticas, simples, alternas, coriáceas, dentadas, glabras o subglabras 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 (Schultes 1972; García Barriga 1992). El fruto es una baya globosa de casi 1 cm de ancho y verde. La flor posee una corola blanco verdosa con pétalos obtusos, estambres en igual número que los pétalos, anteras oblongas, ovario sécil subgloboso y usualmente con 4-6 cavidades (García Barriga 1992).

Propiedades y usos de la guayusa

De los cuatro géneros de la familia Aquifoliaceae, el género *Ilex* es el de mayor importancia económica, ya que un gran número de especies se em-

plean como plantas ornamentales y medicinales. Las especies que se destacan como fuente de varias preparaciones ricas en cafeína y teobromina son: *Ilex vomitoria* Aiton (yaupon), *Ilex paraguayensis* A. St.-Hil. (yerba mate) e *Ilex guayusa* Loes. (guayusa).

El investigador colombiano Patiño (1968 citado en Correa y Bernal 1989) relata que en una carta del jesuita granadino Juan Lorenzo Lucero con fecha 23 de agosto de 1683, dirigida al Virrey del Perú, Melchor Navarra y Rocafull, describe una excursión realizada en 1682 por la cuenca del río Santiago o Parosa, un afluente del margen izquierdo del río Marañón, región habitada por los indios Jíbaros. En este documento, Lucero describe que los indígenas durante sus actos médico-mágicos usaban plantas, y relata lo siguiente:

“Ellos colocan juntas estas hierbas demoníacas (*Datura*, *Banisteriopsis* y

otras plantas narcóticas) con ‘guañusa’ y ‘tabaco’, y las dejan hervir hasta que la poca cantidad sobrante del zumo llega a ser la quinta esencia con la creencia de que aquellos que la beben son premiados por el diablo con el fruto de la maldición y para la desgracia de muchos...”.

En la cosmovisión indígena el ritual tiene un significado de purificación, inducción de “pequeños sueños” para adivinar si la expedición de caza será exitosa y también se consume como bebida de “buen presagio”. Es así, que en los rituales es consumida en concentraciones altas para soñar y poder ver el futuro, destacándose que el empleo tradicional de la guayusa entre las nacionalidades indígenas de la amazonía ecuatoriana es muy antiguo (Acosta-Solís 1972; Schultes 1972; Spruce 1996); por ejemplo, los Achuar del sur de Ecuador se han acostumbrado y aún lo practican, a tomar infusión de guayusa antes de salir a sus expediciones de cacería o de pesca. Estos hechos de uso

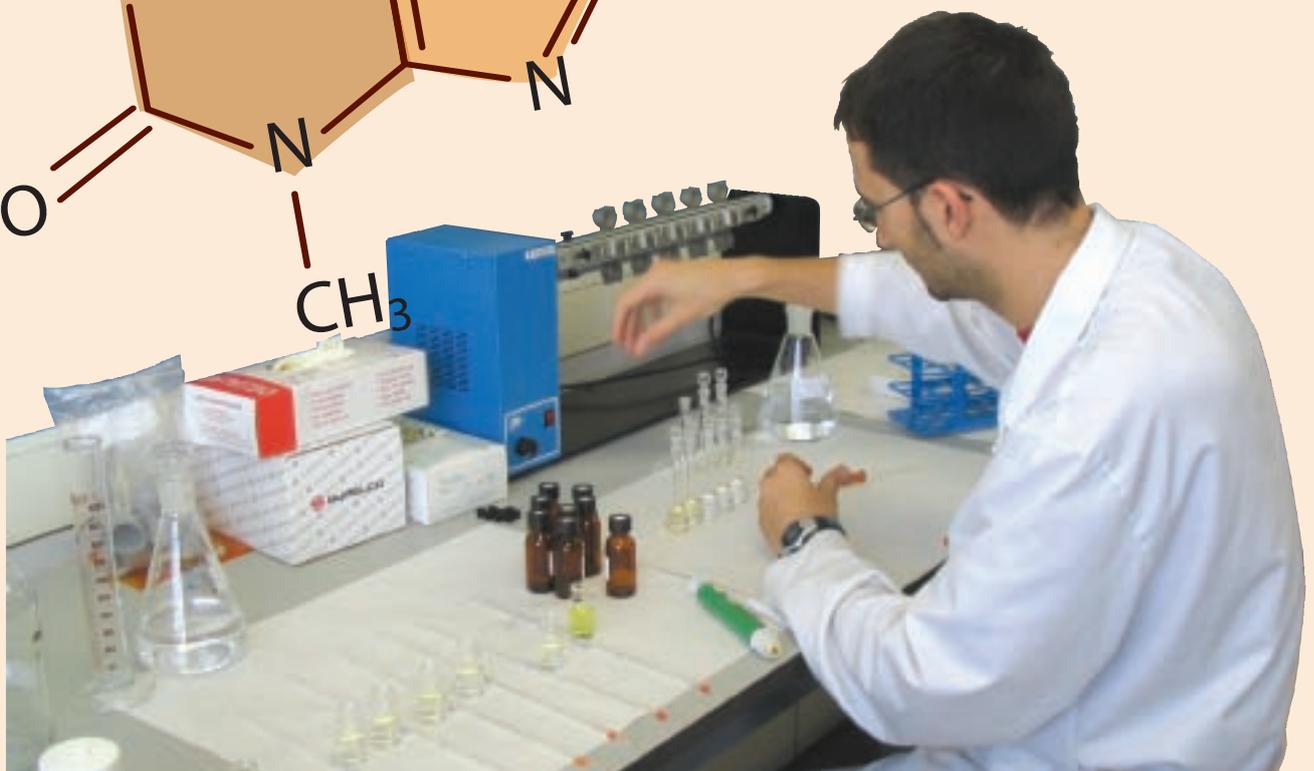
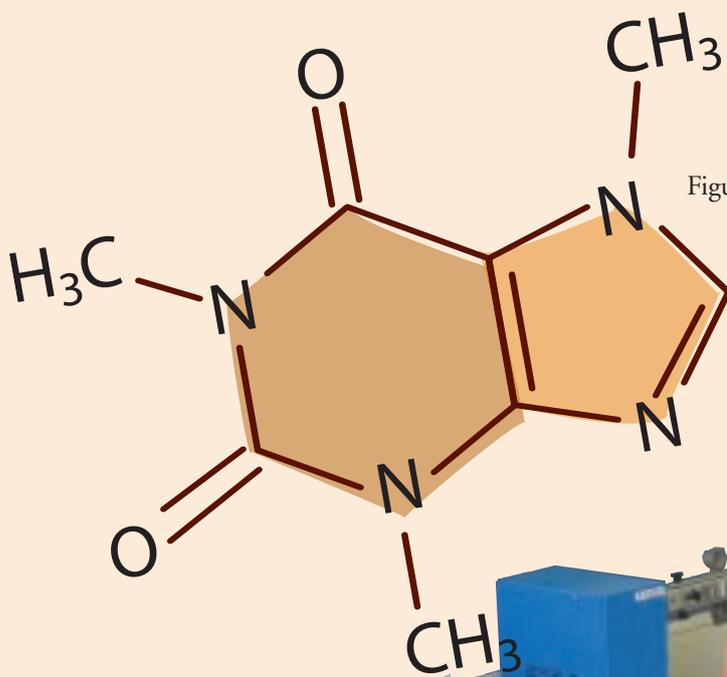
ancestral de la guayusa demuestran que se deben intensificar los estudios farmacéuticos, porque indican diferentes empleos de esta planta en la etnomedicina y que requieren ser más profundizados con pruebas fitoquímicas.

Usos comerciales de la guayusa

El uso del género *Ilex* es muy difundido en Sudamérica y algunas especies están presentes por tradición como parte de las bebidas locales. La infusión de *Ilex guayusa* Loes. se puede considerar como el “mate ecuatoriano”, porque es muy consumida en la región oriental amazónica, donde se la sirve caliente en copas con el desayuno y, sorprendentemente, a pesar de su alto contenido de cafeína también se acostumbra a tomarla en la noche.

En algunas cafeterías de la ciudad de Macas (Amazonía ecuatoriana) se sirve la “guayusa con hueso”, esto es una mezcla de infusión de guayusa y un macerado alcohólico localmente conocido como “chuchuhuaso” que se obtiene de la especie *Maytenus kruckovii* A.C. Sm.

Figura 2. Estructura de una molécula de cafeína.



La cafeína y sus propiedades terapéuticas

La cafeína es la sustancia psicoactiva más popular del mundo y, sin duda, una de las más aceptadas y toleradas a nivel social. Este alcaloide es aceptado legalmente, y es culturalmente admitido en todas las sociedades del mundo, siendo la fuente de consumo más común el café y diferentes productos hechos con base en éste que son muy populares. Además, a lo antes citado se debe agregar la existencia de un sinnúmero de bebidas gaseosas con cafeína con lo cual queda claro el porqué esta sustancia psicoactiva es la más consumida del mundo.

La cafeína favorece la diuresis y acelera el ritmo cardíaco. La cafeína está presente en muchas formulaciones farmacéuticas asociada a otras sustancias como: ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, codeína y paracetamol.

Desde el punto de vista químico, la cafeína es un alcaloide xantínico (1, 3, 7 trimetilxantina) y su acción farmacológica se expresa principalmente a nivel de los sistemas nervioso central, cardiovascular y respiratorio, así como de la función renal por actuar como diurético. Los principales efectos de los alcaloides xantínicos son:

1. Inhibir las fosfodiesterasas y con ello incrementar el campo intracelular.
2. Afectar la concentración del calcio intracelular.
3. Actuar de modo indirecto en la cifra del calcio intracelular por hiperpolarizar la membrana celular.
4. Desacoplar el calcio intracelular

por aumento de elementos contráctiles del músculo.

5. Antagonizar los receptores de adenosina.

El conjunto de los efectos causados por los alcaloides xantínicos se reflejan en diferentes acciones a nivel del músculo liso del sistema nervioso central, aparato cardiovascular y músculo estriado, puesto que la cafeína actúa como excitante cortical estimulando el estado de vela y disminuyendo la sensación de cansancio al favorecer la diuresis y acelerar el ritmo cardíaco.

La cafeína está presente en muchas formulaciones farmacéuticas asociada a otras sustancias como: ácido acetilsalicílico, ácido ascórbico, codeína y paracetamol. Dos ejemplos de medicinas del mercado ecuatoriano que contienen cafeína, en asociación con otros fármacos, son Tonopan (Novartis) y Tempra Plus (Bristol-Myers Squibb) que sirven para el tratamiento sintomático de manifestaciones dolorosas y febriles debidas a diferentes causas como infecciones, estados inflamatorios o malestares como jaqueca, gripe y dolores menstruales, entre otros.

La cafeína es un tóxico en dosis excesivas, pues más de 1 g en el cuerpo produce en el ser humano nervios, irritabilidad, insomnio, arritmia cardíaca y palpitaciones. Advirtiéndose, que una dosis superior a 10 g puede ser mortal. La absorción de la cafeína y de las xantinas en general es rápida en caso de administración oral, rectal o parenteral. La cafeína posee una vida media plasmática entre tres y siete horas, la cual aumenta en mujeres en las últimas etapas del embarazo o con el empleo continuado de anticonceptivos orales. La cafeína se metaboliza en el hígado por desmetilación y por oxidación en la posición 8, causando en los seres humanos la formación de paraxantina que produce metabolitos que pueden ser eliminados en la orina.

Métodos de investigación

1. Preparación de la droga: Una muestra de *Ilex guayusa* Loes. compuesta de una rama con flores y secada al ambiente fue enviada al Herbario Nacional del Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales (QCNE) para la identificación botánica. La droga se obtuvo secando hojas frescas, sanas y lavadas, usando un secador industrial ventilado a una temperatura de 40°C, la pérdida de peso del material fresco fue del 80%. Las hojas secas fueron molidas con un triturador manual de acero.

2. Identificación de los componentes químicos de la planta: La identificación de las familias de los componentes químicos de la guayusa se realizó por el método de tamizaje fitoquímico. Es así, que a partir del mismo lote de planta seca se pesaron tres porciones de 50 g cada una para realizar tres experimentos diferentes con el mismo extracto. Las tres muestras se pusieron a macerar dos días con éter de petróleo, agua y etanol; luego, se filtraron y cada extracto se sometió a un ensayo químico que permitió identificar diferentes grupos químicos de acuerdo a la variación de coloración o formación de precipitados.

3. Preparación del extracto de guayusa: Las técnicas de extracción de metabolitos de una planta son varias y se aplican de acuerdo a las características de cada especie. En el caso de la guayusa, no existe información bibliográfica y se optó por usar un solvente hidroalcohólico al 70% con relación droga/extracto 1,2 p/v, porque es el más común para especies que contienen alcaloides.

La técnica de la percolación se eligió por ser efectiva y de fácil aplicación, se usó un percolador en acero Inox AISI 304, apto para uso alimentario y fitofarmacéutico. La percolación se desarrolló en tres fases de acuerdo al procedimiento sugerido por Pelle:

a. Humectación: La droga seca y molida obtenida exclusivamente de las hojas fue embebida en una cantidad al 70% p/v de solución hidroalcohólica y mezclada suavemente para obtener una masa vegetal homogénea que se dejó descansar durante una hora.

b. Maceración: La muestra humectada fue percolada, prensada suavemente para obtener una masa homogénea y se le agregó una cantidad de solvente suficiente para cubrirla hasta superar un nivel de 3-4 cm, luego permaneció en maceración durante 24 horas.

c. Percolación: La muestra sometida a percolación pasa por un proceso lento, este consiste en un constante flujo de solvente a través de la droga que baja goteando y se enriquece siempre más de principio activo, porque reemplaza desde arriba al solvente fresco que se vuelve a extraer y optimiza el proceso cada vez que lo hace.

Las diferentes farmacopeas indican varias modalidades de percolación, el presente estudio se ha desarrollado siguiendo la FUI que propone 20 gotas por minuto por kg de droga. En general, se separan los primeros 850 ml de solvente por cada kg de droga y esta cantidad se denomina primera fracción, la percolación sigue y separa otra cantidad de líquido denominado segunda fracción que se concentra a un volumen igual o inferior a 150 ml, se agrega a la primera fracción para llegar al volumen de 1.000 ml por kg de solvente (relación peso D/volumen E = 1/1). Si es necesario, se utiliza esta última fracción para extraer solvente por repercolación y se concentra al rotavapor.

El extracto que se obtiene se deja descansar 3-4 días a 4°C, se filtra y se agrega al producto terminado extracto de cascarilla (*Cinchona officinalis* L.) por sus cualidades antifebrífugas.

4. Cuantificación de la cafeína por cromatografía líquida de alta reso-

lución (CLAR): La CLAR es una técnica de separación versátil para análisis de extractos. Se separa una muestra estándar de 1.000 ppm de cafeína disuelta en agua y se inyecta cuatro veces una primera muestra del estándar en concentración de 200 ppm. Posteriormente, se analiza la composición del extracto total y de dos muestras.

La muestra se somete a una dilución del 1 al 50 de extracto de guayusa en una solución de etanol al 70%, se agregan 2 ml de una solución al 35% de hidróxido de amonio y se extrae dos veces con 4 ml de cloruro de metileno. La fase orgánica se lleva a volumen con cloruro de metileno en un matraz de 25 ml. Las medidas han sido desarrolladas con una variante de CLAR acoplada con un PC Dell Optiplex Gx 110 compatible. El equipo consiste de un módulo LC Prostat con un lup de 20 µL y un detector UV-VIS Prestar/Dynamax, la longitud de onda utilizada fue de 273 nm y la columna C₁₈ tuvo una variante de 250 x 4,6 mm. La composición de la fase móvil utilizada fue metanol, agua y ácido acético glacial (69/28/3), estabilizada a un ph 3,0. Los análisis se hicieron a temperatura ambiente y con un flujo de 0,6 ml/min. El agua utilizada para todos los estudios se destiló con un aparato Millipore y es ultrapura 18 µS/cm y en todas las soluciones fue desgasificada por medio de ultrasonido. El estándar de cafeína es de Sigma (Quito).

Desarrollo del producto fitofarmacéutico

La forma farmacéutica propuesta se considera jarabe o elixir y es muy tradicional en la experiencia de las formulaciones galénicas. La fórmula propuesta es un prototipo natural de varias especialidades farmacéuticas aptas al tratamiento sintomático de manifes-

taciones dolorosas y febriles debidas a diferentes causas como infecciones, estados inflamatorios o malestares comunes como jaqueca, gripe y dolores menstruales. La dosificación del preparado tendrá que ser profundizada con el respaldo de ulteriores pruebas de actividad; sin embargo, se ha decidido poner una cantidad de cafeína de 40 ± 1 mg de cafeína por 100 g de producto. En algunas tabletas presentes en el mercado local cada dosis contiene entre 30 y 40 mg de cafeína como es el caso de Tonopan (Novartis) y Tempra Plus (Bristol-Myers Squibb).

La primera formulación del producto planea una dosificación baja hasta obtener datos de la actividad biológica. La solución azucarada se preparó siguiendo la Farmacopea Ufficiale Italiana y los textos de técnicas fitofarmacéuticas. La preparación disuelve a caldo 665g de sacarosa en 335g de agua desmineralizada. La presencia de esta solución azucarada permite conseguir la consistencia densa típica del jarabe y un aroma dulce, pero la función principal es la de proteger la fórmula de la contaminación microbiana actuando sobre la actividad del agua. La solvatación de las moléculas de sacarosa produce una condición osmótica desfavorable para el desarrollo de colonias de microorganismos (Muestra A, Tabla 1). La presencia

La cafeína es un tóxico en dosis excesivas, pues más de 1 g en el cuerpo produce en el ser humano nervios, irritabilidad, insomnio, arritmia cardíaca y palpitaciones.

de glicerina se justifica por su capacidad de detener la cristalización del azúcar, problema que se puede presentar en la fase de desarrollo de estas fórmulas farmacéuticas (Muestra B, Tabla 2).

Tabla 1. Fórmula preliminar del jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes. de la Muestra A.

Código	Ingredientes	Actividad	%
A	Jarabe FUI	Excipiente	69,50
C	Extracto hidroalcohólico de <i>Cinchona officinalis</i> L. 1:1	Febrífugo/antimalárico	25,00
D	Extracto hidroalcohólico de <i>Ilex guayusa</i> Loes. 1:2	Estimulante	5,00
E	Aceite esencial de <i>Citrus x limon</i> (L.) Burm. f.	Aroma	0,50
	TOTAL		100,00

Tabla 2. Fórmulas preliminares del jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes. de la Muestra B.

Código	Ingredientes	Actividad	%
A	Jarabe FUI	Excipiente	59,50
C	Extracto hidroalcohólico de <i>Chinchona officinalis</i> 1:1	Febrífugo/antimalárico	25,00
D	Glicerina USP	Excipiente	10,00
E	Extracto hidroalcohólico de <i>Ilex guayusa</i> 1:2	Estimulante	5,00
F	Aceite esencial de <i>Citrus x limon</i>	Aroma	0,50
	TOTAL		100,00

Parámetros de calidad y estudios de estabilidad del producto

El desarrollo de un producto fitofarmacéutico planea la determinación

de los parámetros de calidad dentro de los rangos requeridos para su comercialización. Los estudios de estabilidad permiten convalidar la fór-

mula determinando una previsión del tiempo de caducidad y la fecha de vencimiento (Tabla 3).

Tabla 3. Ensayo de estabilidad preliminar aplicado al jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes.

Tipo de estudio	Condiciones	Tipo de resultados
Estabilidad preliminar (acelerada)	40°C para 2 meses	Estabilidad de la fórmula y compatibilidad con el envase.

Los datos del tamizaje fitoquímico permiten evidenciar que el extracto etéreo es obviamente rico en alcaloides y presenta cantidades importantes de esteroides, terpenos y compuestos lactónicos o cumarinas. Los otros dos extractos, el acuoso y el etanólico, son aún más interesantes e importantes porque son muy similares al extracto hidroalcohólico que se usa como ingrediente del fitofármaco. En el primer caso, se destaca la presencia de saponinas, fenoles, taninos, azúcares reductores y por supuesto alcaloides. En el segundo caso, se evidencia otra vez la presencia de alcaloides, fenoles, taninos, azúcares reductores, esteroides, terpenos, compuestos lactónicos a los

cuales se suman flavonoides y quinonas. La comparación de los datos evidencia la solubilidad neta de las saponinas en el extracto acuoso y su ausencia en el etanólico, en el caso de que estudios posteriores evidencien una actividad biológica de las saponinas se debería tomar en cuenta la concentración en el extracto hidroalcohólico. Los tres extractos evidencian la ausencia de grasas y catequizas, así como la presencia de mucílagos y compuestos cardenólicos en bajas concentraciones.

Los resultados demuestran que *Ilex guayusa* Loes. es una especie con un fitocomplejo muy rico y que se debe profundizar la investigación en

sus grupos químicos encontrados, porque se podrían explicar mejor las propiedades conocidas en la medicina tradicional y que no se pueden atribuir solo a la cafeína. Se puede admitir por hipótesis que la presencia de flavonoides permite una acción antioxidante y que la presencia de antocianidinas podría agregar a las actividades de los alcaloides el efecto vasoprotector, extremadamente útil si el producto final es indicado para fiebres palúdicas. Al mismo tiempo, el producto fitofarmacéutico que contiene una gran cantidad de compuestos producto de los extractos de guayusa y cascarilla necesita más estudios

de su actividad, especialmente para averiguar si existen sinergias negativas o efectos adversos.

Desarrollar la preparación de un extracto adecuado a la formulación final

La presente investigación postula todos los pasos de transformación de la guayusa, desde la recolección hasta la estabilidad preliminar del fitofármaco, proponiendo la implementación de un proceso para la preparación de un jarabe.

Las operaciones de preparación (selección, lavado y secado) de las hojas y la producción de la droga molida no evidenciaron dificultades. Aclarándose, que en las primeras pruebas el proceso de percolación mostró dificultad en la fase de humectación al evidenciar una elevada absorción de solvente por parte de la droga y problemas de precipitación en la fase de concentración al rotavapor. Por esta razón, se optó por seguir una variación del método para producir un extracto diluido una a dos a partir de 500 g de droga, es así que se decidió ocupar solo la primera fracción recogiendo 850 ml y completando con solvente fresco el volumen de un litro. Este método produce un extracto diluido, pero reduce el riesgo de problemas de precipitación que podrían perjudicar la estabilidad del fitofármaco.

El extracto obtenido fue hidroalcohólico al 70% con relación droga D/E = 1/2 y de éste se utilizó solo la primera fracción que no mostraba problemas de precipitación. La deci-

sión de utilizar la primera fracción del extracto de guayusa se debe a los resultados analíticos, porque con los métodos de extracción utilizados se obtuvo un extracto que contiene 8,13 mg de cafeína por ml, el cual se utilizó como ingrediente del producto final porque la concentración de activo es suficiente para el desarrollo del fitofármaco. Es posible que con métodos de extracción diferentes se pueda optimizar el rendimiento de extracción.

En el caso del extracto de *Cinchona officinalis* L. se siguieron los mismos métodos anteriores, pero el producto fue un extracto con relación a la droga de D/E = 1/1 que no dio problemas de precipitación. Sin embargo, no fue posible cuantificar los alcaloides de *Cinchona officinalis* L. y el desarrollo del extracto fue experimentado con base en datos de la literatura. Por lo tanto, se sugiere realizar más experimentos que contribuyan a la optimización de los métodos de extracción.

Desarrollar un método de CLAR para la dosificación de cafeína en extracto de guayusa

El extracto de guayusa dio un resultado de 8,13 mg por ml de cafeína. Así, la aplicación del método analítico permitió confrontar los siguientes cromatogramas:

1. Extracto total de *Ilex guayusa* Loes.
2. Muestras de extracto de cafeína del extracto de *Ilex guayusa* Loes.
3. Mezcla de estándar de cafeína y teofilina.

El extracto total muestra un pico

más significativo de los demás al tiempo de retención 10.264, pero el pico no está bien resuelto por la presencia de otros compuestos con tiempo de retención similar; por lo tanto, se desarrolló un método de extracción de la cafeína. Las dos muestras evidenciaron un solo pico que sale en tiempos de retención de 10.225 y 10.085, pero este resultado no confirma que el pico mayor del cromatograma del extracto es la cafeína. Además, los resultados permiten proponer un método de extracción de la cafeína por el extracto y cuantificarla; sin embargo, aún se necesitan más pruebas para validarlo.

El análisis de una muestra estándar de teofilina y cafeína demuestra que el tiempo de retención es respectivamente de 6.852 y 9.254. Estos datos permiten admitir como hipótesis que se podría excluir la presencia de teofilina, porque no constituye una posible interferencia en el análisis de CLAR. Además, se debe decir que no fue posible ejecutar la misma prueba con un estándar de teobromina, pero sí se puede pensar en un resultado similar cuando la diferencia de basicidad de las xantinas influye sobre el tiempo de elución en columna.

Establecer los parámetros de calidad del jarabe de guayusa

Los análisis sobre el prototipo de jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes. permiten establecer los parámetros de calidad del producto terminado (Tabla 4). Las muestras A y B han sido estudiadas al tiempo 0 y después, a una estabilidad acelerada de 40°C.

Tabla 4. Parámetros de calidad del jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes.

Parámetros	Valor
Olor	Característico, agradable
Aspecto	Uniforme, opaco, no translúcido, sin precipitación
Color	Café-rojizo oscuro
Sabor	Inicialmente dulce, amargo y desagradable al final
Porcentaje de azúcares	57,3%
pH	4,8
Rotación específica	No determinable, el jarabe no permite el paso a la luz
Densidad relativa	1,2091
Índice de refracción	1,4349
Contenido alcohólico	19,5

Los datos encontrados en la literatura indican que un porcentaje de azúcares superior al 50-55% permite una buena estabilidad microbiológica, situación que fue confirmada con los resultados del control microbiológico del jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes. (Tabla 5).

bargo, antes de resolver el problema del sabor se requiere profundizar en los estudios de actividad para poder establecer cuál es la concentración óptima de fitocomplejos.

posible en ciertas épocas del año, puesto que existen restricciones por la explotación predatoria a la que fue sometida en el pasado esta especie. Los estudios de actividad y el afinamiento del desarrollo del producto pueden ser desarrollados con el apoyo de laboratorios locales, inclusive se puede afirmar que con una correcta inversión financiera el desarrollo local del producto fitofarmacéutico y su producción se podrían realizar en la provincia de Morona-Santiago si se cuenta con el apoyo de la Fundación Chankuap.

Tabla 5. Calidad microbiológica del jarabe con base en *Ilex guayusa* Loes.

Análisis	Valor	Límite permitido
Aerobios totales	< 10 ufc/g	1×10^5
Mohos y levaduras	< 10 ufc/g	1×10^3
Coliformes totales	< 2 ufc/g	1×10^3
<i>Escherichia coli</i> fecal	Ausencia	Ausente

Las normativas ecuatorianas para los productos fitofarmacéuticos no indican los límites permitidos y por esto se ha utilizado los límites de la normativa interna del Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad (CIVABI) de la Universidad Politécnica Salesiana. Sin embargo, los resultados demuestran una buena calidad microbiológica de la fórmula.

Por lo que se refiere al sabor del jarabe, es importante evidenciar que tiene una sensación tanínica similar a la de algunos vinos tintos pero que se siente más intensa y amarga. De este modo, se recomienda el aumento de aceite esencial de limón porque podría solucionar el problema; sin em-

Desarrollar una tecnología de producción apta para las condiciones de Ecuador

La producción de los extractos, los métodos analíticos y los experimentos fitoquímicos fueron desarrollados en los laboratorios del CIVABI. Las tecnologías y métodos utilizados se pueden implementar en el departamento de producción de fitofármacos de la Fundación Chankuap, la que ya posee una red de proveedores que reciben asistencia técnica en el manejo de cultivo y recolección de *Ilex guayusa* Loes.

El abastecimiento de material que proviene de *Chinchona officinalis* L. es

Desarrollar un prototipo fitofarmacéutico de guayusa con potencial comercial

El presente estudio permitió el desarrollo de un prototipo de jarabe de *Ilex guayusa* Loes. que podría tener uso comercial; sin embargo, son necesarias pruebas analíticas y de actividad que comprueben la estabilidad, seguridad y eficacia del producto.

El paso siguiente después de esta investigación con el producto terminado, es la experimentación que demuestre una actividad biológica coadyuvante en el tratamiento sintomático de manifestaciones dolorosas como gripe, jaqueca y estados febriles. Sin embargo, el conocimiento fitoquímico de la especie *Ilex guayusa* Loes. es todavía muy limitado y otras investigaciones podrían sugerir nuevos usos medicinales de la planta, los cuales pueden ser diferentes a los registrados en este estudio.

Las futuras pruebas de actividad biológica pueden confirmar las hipótesis de este estudio respecto a los procesos de producción de los extractos y los métodos de cuantificación de los principios activos y del fitocomplejo. Además, las investigaciones posteriores deben asegurar que el conjunto de

extractos naturales no provocan reacciones adversas, confirmar que el producto tiene estabilidad y garantizar un estricto control microbiológico.

En general, se puede colocar que este estudio se desarrolló con tecnología básica que fue acorde a la realidad

local, pero se debe enfatizar que la producción y comercialización de un producto fitofarmacéutico necesita la implementación de las buenas prácticas de manejo (BPM) en la infraestructura y personal de la Fundación Chankuap.

Literatura citada

- Acosta-Solís, M. 1972. Guayusa, planta medicinal del Oriente ecuatoriano. *Publicación Miscelánea (Quito)* 302: 1-8.
- Brücher, H. 1989. *Useful Plants of Neotropical Origin and their Wild Relatives*. Springer-Verlag, Berlin, Alemania. 296 pp.
- Correa Q., J.E. y H.Y. Bernal. 1989. *Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello, Tomo I "A"*. Ministerio de Educación y Ciencia de España, Junta del Acuerdo de Cartagena (JUNAC) y Secretaría Ejecutiva del Convenio Andrés Bello (SECAB). Editora Guadalupe Ltda. Bogotá, Colombia. 547 pp.
- Estrella, J.; R. Manosalvas; J. Mariaca y M. Ribadeneira. 2005. *Biodiversidad y recursos genéticos: una guía para su uso y acceso en el Ecuador*. Fundación Ecuatoriana de Estudios Ecológicos (EcoCiencia), INIAP, MAE y Ediciones Abya-Yala. Quito, Ecuador. 116 pp.
- Fundación Chankuap. 2006. *Plan de manejo de Ilex guayusa Loes*. Fundación Chankuap. Macas, Ecuador.
- García Barriga, H. 1992. 2ª ed. *Flora Medicinal de Colombia*. Editores Tercer Mundo. Bogotá, Colombia. Tomo 2: 1-537.
- Gupta, M. (Ed.). 1995. *270 plantas medicinales Iberoamericanas*. CYTED-SECAB. Bogotá, Colombia. 617 pp.
- Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato. 1996. 6ª ed. *Farmacopea Ufficiale della Repubblica Italiana*. Libreria dello Stato, Ministero della Salute. Roma, Italia.
- Jørgensen, P.M. y S. León-Yáñez (Eds.) 1999. *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. *Monographs in Systematic Botany from The Missouri Botanical Garden* 75: 1-1181.
- Pelle, B. 1998. *Módulo de Erboristeria domani: Teoria e pratica del laboratorio erboristico*. Manual del fitopreparatore. Studio Edizioni. Milano, Italia.
- Rosero Gordón, A.L. 2006-2007. *Desarrollo y validación de un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de cafeína de un extracto hidro-alcohólico de Ilex guayusa*. Plan de tesis. Laboratorio CIVABI, Universidad Politécnica Salesiana. Quito, Ecuador.
- Schultes, R.E. 1972. *Ilex guayusa* from 500 A.D. to the present. *Etnologiska Studier* 32: 115-138.
- Spruce, R. 1996. *Notas de un botánico en el Amazonas y los Andes*. Ediciones Abya-Yala. Quito, Ecuador. Colección Tierra Incógnita 21: 1-749

