

Estandarización y caracterización química estructural del fruto de *Swinglea glutinosa* (Bl) Berr. cubano

Standardization and structural chemical characterization of the fruit of *Swinglea glutinosa* (Bl) Cuban Berr.

Eva Salas Olivet¹, Yoslaidis Montes de Oca Crombet², Armando Cuéllar Cuéllar³, David Marrero Delange⁴, Lianet Monzote Fidalgo⁵

¹ Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba. evaso@ifal.uh.cu

² Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba. yolymontes00401@gmail.com

³ Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba. cuellararmandocuellar@gmail.com

⁴ Centro de Productos Naturales (CPN) CENIC. Cuba. david.mdelange@gmail.com

⁵ Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK). Cuba. monzote@ipk.sld.cu



PARA CITAR ESTE ARTÍCULO

Salas Olivet, E., Montes de Oca, Y., Cuéllar Cuéllar, A., Marrero Delange, D., Monzote Fidalgo, L., (2023) Estandarización y caracterización química estructural del fruto de *Swinglea glutinosa* (Bl) Berr. cubano. *Alternativas*, 24(3).

DOI

<https://doi.org/10.23878/alternativas.v24i3.430>

CORRESPONDENCIA

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

Web: 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/>.

Estandarización y caracterización química estructural del fruto de *Swinglea glutinosa* (Bl) Berr. cubano

Standardization and structural chemical characterization of the fruit of *Swinglea glutinosa* (Bl) Cuban Berr.

Eva Salas Olivet¹, Yoslaidis Montes de Oca Crombet², Armando Cuéllar Cuéllar³, David Marrero Delange⁴, Lianet Monzote Fidalgo⁵

¹ Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba. evaso@ifal.uh.cu

² Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba. yolymontes00401@gmail.com

³ Instituto de Farmacia y Alimentos (IFAL). Universidad de La Habana. Cuba. cuellararmandocuellar@gmail.com

⁴ Centro de Productos Naturales (CPN) CENIC. Cuba. david.mdelange@gmail.com

⁵ Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri (IPK). Cuba. monzote@ipk.sld.cu

RESUMEN

Swinglea glutinosa Bl Merr es un arbusto perteneciente a la familia RUTACEAE formada por cítricos; de frutos no comestibles. En Cuba no abunda esta especie, y no ha sido estudiada; puesto que no se encontró registrada en ninguna bibliografía. Dada la disponibilidad de esta planta en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana, se trazó el objetivo de realizar la "Estandarización y caracterización química estructural del fruto de *Swinglea glutinosa* (Bl) Berr. cubano". Se valoraron los parámetros de calidad de tres partes del fruto fresco (exocarpo I, mesocarpo II y semillas III) y de los extractos obtenidos; por el Método de Maceración empleando solución hidroalcohólica al 70%; se determinó la composición química cualitativa mediante Tamizaje Fitoquímico, Cromatografía en Capa Delgada; se cuantificaron por CG-EM, Cromatografía Líquida de Alta Resolución, Espectroscopia Infrarrojo, Ultravioleta Visible. Los resultados expresaron la composición química cualitativa entre las tres partes del fruto muy similar, sugiriéndose la presencia de diferentes tipos de metabolitos secundarios en su ruta biosintética: alcaloides, fenoles, triterpenoides, flavonoides, coumarinas, limonoides, principios amargos y lignanos con amplio espectro de actividad biológica. Se obtuvo y caracterizó el aceite esencial del exocarpo I del fruto de *S. glutinosa* con un 0,12 % de rendimiento y se identificaron por CG-EM como componentes mayoritarios el β -pineno, sabineno, germacreno B y D, terpinen-4-ol, limoneno, α -pineno, eucaliptol y β -cariofileno. Los tres extractos hidroalcohólicos al 70 % mostraron similar actividad secuestradora del radical DPPH, siendo el de mayor respuesta el procedente del exocarpo I con un CI50 de 17,1 μ g/ML.

PALABRAS CLAVE

Swinglea glutinosa Bl Merr, cítricos; de fruto no comestible, antiprotozoos.

ABSTRACT

Swinglea glutinosa Bl Merr is a shrub belonging to the RUTACEAE family made up of citrus fruits; of inedible fruits. This species is not abundant in Cuba, and it has not been studied; since it was not found recorded in any bibliography. Given the availability of this plant at the Institute of Pharmacy and Food. University of Havana, the objective was set: "Standardization and Structural Chemical Characterization of the fruit of *Swinglea glutinosa* (Bl) Berr. Cuban. The quality parameters of three parts of the fresh fruit (exocarp I, mesocarp II and seeds III) and the extracts obtained were assessed; by the Maceration Method using 70% hydroalcoholic solution; The qualitative chemical composition was determined by Phytochemical Screening, Thin Layer Chromatography; They were quantified by GC-MS, High Resolution Liquid Chromatography, Infrared Spectroscopy, and Visible Ultraviolet. The results expressed the qualitative chemical composition between the three parts of the fruit very similar, suggesting the presence of different types of secondary metabolites in its biosynthetic route: alkaloids, phenols, triterpenoids, flavonoids, coumarins, limonoids, bitter principles and lignans with a broad spectrum of biological activity. The essential oil of exocarp I of the fruit of *S. glutinosa* was obtained and characterized with a 0.12% yield and β -pinene, sabinene, germacrene B and D, terpinen-4-ol were identified by GC-MS as major components. α -limonene, α -pinene, eucalyptol and β -caryophyllene. The three 70% hydroalcoholic extracts showed similar DPPH radical scavenging activity, with the one from exocarp I having the greatest response with an IC50 of 17.1 μ g/ML.

KEYWORDS

Swinglea glutinosa Bl Merr, citrus; inedible fruit, antiprotozoa.

Introducción

Las plantas medicinales son una importante fuente de productos biológicamente activos, muchos de los cuales han servido como modelos para la síntesis de un gran número de fármacos, lo que ha propiciado importantes avances en la terapéutica de varias enfermedades (OMS, 2014-2023). En este sentido, el empleo de las plantas actualmente se ha incrementado considerablemente debido no solo a los efectos colaterales y adversos de varios medicamentos sintéticos, sino también a sus altos precios y a la filosofía actual de consumir medicamentos lo más naturales posibles (USP 33, 2010); (WHO, 2011); (Cañigual, 2013); (Salvamani y col, 2014); (Gupta y col., 2014). La investigación de las propiedades medicinales de una planta es una labor compleja, que abarca desde los informes etnográficos hasta el análisis en el laboratorio de químicos y médicos (Bruneton, 2000); (Evans, 2009); (USP 33, 2010); (Vidal, 2010); (WHO, 2011); (Roig, 2012); (Sánchez, 2013). La familia RUTACEAE está conformada por más de 1.600 especies, entre ellas se encuentra el género *Citrus* al que pertenecen: naranjas, limones, mandarinas y limas (Evans, 2009). Sin embargo, hay otros géneros que han sido menos estudiados como el *Swinglea* que posee una sola especie: *Swinglea glutinosa* Merr (Blanco, 1995). Ésta es oriunda de la isla Luzón, Filipinas, donde se conoce como Tabog o Swinglea y señalan que fue introducido en América después de la Primera Guerra Mundial en los países de Sudamérica y Centroamérica. En Cuba, fue introducido en la década del 1950 por el Dr. Frank D. Venning desde la Florida, Estados Unidos de Norteamérica en la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas (INIFAT) (Swingle y Reece, 1967). La familia RUTACEAE contiene diversos metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, fenoles, triterpenoides, aceites esenciales, coumarinas, limonoides y lignanos con un amplio espectro de estudios de actividades biológicas (Evans, 2009); (Proestos, Chorianopoulos, Nychas, Komaitis, 2005). Se hizo una encuesta para determinar el conocimiento en Cuba de la especie *S. glutinosa* y arrojó que es conocida como Limón ornamental y no es muy abundante, solamente se ha informado su existencia en La Habana, Cienfuegos, Villa Clara, Camagüey, Santiago de Cuba y Guantánamo (Gutiérrez y col., 2006). La disponibilidad de esta planta en el patio del Instituto de Farmacia y Alimentos, de la Universidad de La Habana; y,

florece y fructificar en cualquier época del año, es la razón que dio lugar a este estudio.

Materiales y métodos

Procedimiento de Estandarización de frutos de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr

Herborización de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr

Se escogió un ejemplar representativo del total de la especie *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr (hojas, tallo, flores, frutos y raíz), con número de serie K000582980, fue herborizado por los autores; siguiendo el protocolo de herborización de julio, 2013. Para su autenticación se depositó dicho espécimen en el herbario del Instituto de Ecología y Sistemática de la Academia de Ciencias de Cuba; donde se solicitó el servicio de autenticación. El Material Vegetal; u órgano ensayado fueron los frutos de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr.

Procesamiento del material vegetal.

Se emplearon frutos de plantas adultas en estado fenológico de fructificación y floración. Para el desarrollo de la investigación cada parte del fruto fue separado en exocarpo (I), el mesocarpo (II) y las semillas (III).



Figura 1. Imagen del fruto de *Swinglea glutinosa* Bl. Merr.

Métodos físico-químicos aplicados al análisis del material vegetal crudo. Parámetros de control de calidad. Determinación de las cenizas totales

Los resultados se expresan según la fórmula descrita en: Miranda y Cuéllar (2000).

Determinación del porcentaje de cenizas solubles en agua e insolubles en ácido al 10 %

En ambos casos se procede según lo establecido en la Norma Ramal 309 (1992), y Miranda y Cuéllar (2000), como reactivos, agua destilada en el primer caso y ácido clorhídrico (HCl) al 10 % en el segundo.

Determinación del contenido de humedad residual

Se realizó por el Método Azeotrópico según la Norma Ramal 309 (1992), y Miranda y Cuéllar (2000). Se empleó una plancha de calentamiento, y una balanza técnica y tolueno saturado en

agua como reactivo. Para ello se reflujo tolueno en presencia de agua durante 45 minutos. Se deja reposar y se separa la fase de tolueno (transparente) con el cual se realizó la determinación en el equipo (figura 2).

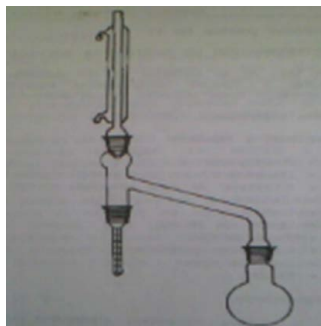


Figura 2. Equipo de determinación de contenido de humedad. Método Azeotrópico.

Determinación de sustancias solubles

Para la determinación de sustancias solubles se utilizó una disolución hidroalcohólica al 70 %. Para ello, se empleó una zaranda, una balanza analítica marca Sartorius BS 2202S, estufa y plancha de calentamiento. Los resultados se expresan mediante la fórmula descrita en (Miranda y Cuéllar, 2000).

Obtención de los extractos de I, II y III del fruto de *S. glutinosa* para el tamizaje fitoquímico.

El exocarpo (I), mesocarpo (II) y las semillas (III) de los frutos cortados; bajo un tamiz de 2mm; fueron sometidas individualmente a tres extracciones sucesivas; en orden creciente de polaridad; sobre el mismo material, según Miranda y Cuéllar (2000). De cada muestra vegetal (I, II y III) del fruto de *S. glutinosa* se pesaron 50g en una balanza analítica y se colocaron en un erlenmeyer de 250mL de capacidad, se les añadieron 100mL de éter dietílico, medidos con probeta de 100mL, se maceró durante 48 horas, empleando agitación esporádica en zaranda. Transcurrido este tiempo se filtró a través de un embudo de vidrio y gasa para evitar el arrastre del material vegetal, se midió el volumen del filtrado con una probeta de 100mL. El material vegetal sólido que quedó de cada una de las muestras I, II y III luego de la filtración fue secado en la estufa a 40°C, con recirculación de aire a razón de 1700rpm, realizándole pesadas cada 24 horas, hasta lograr un peso constante. Posteriormente se realizó la extracción en medio hidroalcohólico de cada una de las partes mediante la adición de 150mL de etanol al 95%, se maceró durante 48 horas, se filtró a través de

un embudo de vidrio y gasa, se midió el volumen del filtrado obtenido con una probeta de 100mL. Cada residuo sólido (I, II y III) de la filtración anterior se colocó en la estufa a 40 °C, realizándole pesadas sucesivas cada 24 horas, hasta lograr una masa constante. Se procedió a la extracción en un medio acuoso para lo cual se añadieron 100 mL de agua destilada y se maceró durante 48 horas, transcurrido el tiempo indicado se filtró mediante embudo de vidrio y gasa. El material vegetal sólido I, II y III extraído se secó en la estufa a 40°C y se realizaron pesadas sucesivas hasta obtener una masa constante. A los tres filtrados obtenidos se le midió el volumen con una probeta de 100mL. Concluido el proceso de secado se registró el peso seco de los residuos I, II, III, y se desechó el material vegetal sólido.

Preparación del material vegetal para la hidrodestilación del aceite esencial (AE)

El órgano ensayado; para el Método de Hidrodestilación del AE, según Lou Zhi Cen en 1980 solo se utilizó el exocarpo I del fruto, se determinó la masa con una balanza técnica, y se colocó en un balón de boca esmerilada de 2000mL de capacidad, el cual se acopló al equipo de destilación Clevenger, acoplado a un condensador conectado a un criostato con recirculación de metanol a -15 °C. Al balón se le introdujeron 831g del exocarpo I del fruto fresco, se le añadieron 300 mL de agua corriente. Se colocó sobre una plancha de calentamiento, hasta ebullición. Una vez iniciado el proceso de destilación, este se continuó hasta que el volumen del aceite se mantuvo constante en el tiempo (1,5-2,0 horas). El AE se envasó en un recipiente de color ámbar de cristal sellado previamente tratado con sulfato de sodio anhidro como agente desecante.

Caracterización del aceite esencial por Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM)

El análisis de las muestras se realizó en un Cromatógrafo de Gases Agilent Technologies 6890N acoplado a detector selectivo de masas cuadrupolar 5975 (HP, Palo Alto, California, USA), con columna capilar apolar de sílice fundida HP-5 Ms con fase estacionaria 5 %-fenilpoli (metilsiloxano) (30 m x 0,25 mm d.i. y 0,25 µm de espesor de película, Agilent, USA) y un sistema para adquisición y procesamiento de datos HP MS ChemStation. Programación del horno: de 40 °C (2 min isotérmico) hasta 250 °C a 6 °C/min. El flujo del gas portador (helio): 0,9 mL/min. El inyector, en modo split (1:30), se

calentó a 250 °C. Las temperaturas del inyector, interface, fuente de ionización y cuádrupolo fueron: 250, 250, 230 y 150°C, respectivamente. La energía de ionización fue 70 eV y la adquisición se realizó de 20 a 600 m/z. El volumen de inyección empelado fue 0,3 µL.

Determinación Cuantitativa

La identificación de los compuestos se realizó comparando sus espectros de masas con los de la biblioteca de espectros instalada (Wiley MS, 6ª ed. y NIST 2011, ADAMs 2000) y los de la literatura Islam, S. K. N.; Gray, A. Y.; Waterman, P. G.; Ahasan, M. También se calcularon los índices de retención de Kováts (IK) respecto a las parafinas de C8-C32 Quantitative calibration mix D-2887, cat 4-8882, Supelco, PA, USA. Tanto los espectros de masas como los IK fueron comparados con los de la literatura. Otros patrones utilizados fueron Camfeno (80%), Limoneno (97%), α -pineno (98 %), 1,8-cineole (99%), y α -fellandreno (50 %) (Sigma, USA).

Dónde:

k'_s = índice de retención para el componente “x” en la fase estacionaria
“s” (índice de Kováts, IK).

N = número de átomos de carbono del *n*-alcano menor.

n = diferencia en número de átomos de carbono de los *n*-alcanos entre los que se encuentra el componente.

$t_{R,x}$, $t_{R,N}$, $t_{R(N+n)}$ = tiempos de retención del componente x, y los *n*-alcanos entre los que se encuentra este componente.

Determinación cuantitativa al AE

Para ello se empleó el método de normalización interna (%), que es ampliamente utilizado para este tipo de análisis.

$C(\%) = A(\text{analito}) / \text{Sumatoria de las áreas totales} \times 100$

Métodos físicos y físico-químicos aplicados al análisis de los extractos hidroalcohólicos de I, II y III del fruto de *S. glutinosa*.

Se determinaron los parámetros de control de calidad físico-químicos a los extractos según lo establecido en la Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) # 312, y Miranda y Cuéllar, (2000) realizándose tres réplicas en cada caso.

Determinación del PH

El PH de los extractos se determinó mediante el Método potenciómetro a través del peachímetro modelo PHSJ-4A, según la NC-ISO 1842: 2001.

Determinación del índice de refracción

Se empleó un refractómetro de Abbe a 25°C según la NC-ISO 2173: 2001.

Determinación de la densidad relativa

Se empleó agua destilada, un picnómetro de 10mL y una balanza analítica marca Sartorius máx. 120 g d= 0.1 mg.

Determinación de sólidos totales

Se utilizó una balanza analítica marca Sartorius BS1245 máx. 120 g d= 0.1 g.

Métodos de análisis cromatográficos: Cromatografía en Capa Delgada (CCD) Cámara cromatográfica

Se utilizó una cámara de vidrio de 21,5 cm de altura, 23 cm x 6 cm el área de la base y 28 cm x 13 cm el área de la cara superior. Se trabajó a temperatura ambiente (25-29°C). Se estima un tiempo de saturación de 30 min aproximadamente antes de ser empleadas para realizar los correspondientes cromatogramas.

Tipo de absorbente

Se emplearon placas fluorescentes de Sílica gel GF254 (Merck) sobre soporte de vidrio para los análisis cualitativos. Las placas no fueron activadas y presentaron dimensiones de 20 x 20 cm.

Aplicación de la muestra

Se realizó una aplicación por punteo con el uso de un capilar de vidrio, efectuándose un secado espontáneo de las aplicaciones.

Muestras estudiadas

Muestra I (extracto hidroalcohólico de exocarpo), Muestra II (extracto hidroalcohólico de mesocarpo), y Muestra III (extracto hidroalcohólico de semillas).

Corrida o desarrollo del cromatograma

Se desarrolló una corrida ascendente con fase móvil *n*-butanol: ácido acético: agua (65:25:10) que se preparó a través de un simple proceso de mezclado. El *n*-butanol utilizada fue de la firma Riedel-de Haën y el ácido acético de la firma Scharlau. El punteo se realizó a 1 cm del borde inferior y la corrida fue aproximadamente de 6,4 cm. La distancia entre cada punteo fue de 1,5 cm. Después de la corrida, el secado de la placa se efectuó a temperatura ambiente bajo la corriente de aire de la campana.

Revelado e identificación

Se realizaron dos tipos de revelado, físico y mixto. El revelado físico se desarrolló a través

de la luz ultravioleta, a una longitud de onda de 254nm. Para el revelado mixto se utilizaron dos variantes: 1.-Revelado con vapores de amoníaco: Una vez corrida la placa se puso en contacto con los vapores de amoníaco en la campana y se esperó hasta que tuvieran lugar los cambios en la apariencia de la misma. 2.-Ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 5% /etanol y calor (revelador general). Después de asperjar la placa se observó a temperatura ambiente y luego se calentó a una temperatura entre 105 y 110 °C de 3 a 5 min., hasta que se modificó su apariencia.

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Las separaciones se desarrollaron en una columna nucleosil C-8 (300 x 7,8nm). Como fase móvil se utilizó un sistema de elución isocrático: mezcla de metanol-agua-ácido acético. La fase móvil fue impulsada por bombas Waters 590 a una velocidad de flujo de 2,5mL/min. Las inyecciones se realizaron manualmente y se empleó un "loop" de 100 µL. El estudio se realizó a temperatura ambiente.

Métodos de análisis Espectroscópicos

Espectroscopía Ultravioleta visible (UV). El análisis se realizó en un equipo Specord 200.

Espectroscopía Infrarrojo (IR). El análisis se realizó en un equipo Jasco FT/IR-460.

Determinación de la capacidad antioxidante. Método de DPPH

El ensayo consistió en determinar la capacidad captadora del radical libre estable 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH) de los extractos hidroalcohólicos del exocarpo (I), mesocarpo (II) y las semillas (III) de los frutos de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr mediante procedimiento propuesto por Brand-Williams y col., 1995. Consiste en la medición a 517 nm de la reducción del radical libre estable DPPH. La absorbancia característica de este radical que posee un color violeta intenso, disminuye en presencia de un antioxidante (que sea capaz de capturar un electrón libre) u otro radical, lo que permite cuantificar la capacidad captadora de radicales libres que poseen ciertos compuestos mediante la determinación del grado de decoloración que provoca a una solución etanólica de DPPH. Se tomaron 5 mg de los extractos hidroalcohólicos de I, II y III de los frutos obtenidos según la metodología descrita. Brand-Williams et al., 1995, y se disolvieron en 10 mL de etanol. Para el ensayo se prepararon las concentraciones finales de 5; 12,5; 25; 37,5 y 50 µg/mL. Como patrón se empleó el Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8 -tetrametilmecrona-2-

carboxílico), una concentración de 20 µM. La actividad de este patrón como capturador de DPPH a esta concentración es de alrededor de 50 %. Las lecturas del Trolox y los extractos se realizaron por triplicado de manera cinética hasta 30 minutos (cada 5 minutos) para comparar las velocidades de reacción. Se calculó el porcentaje de inhibición de la coloración del DPPH siguiendo la fórmula descrita en el PNO. Se calculó la concentración de la muestra que inhibe el 50 % de la coloración del DPPH (CI_{50}).

Resultados y discusión

Resultados del Procedimiento de Estandarización de frutos de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr: Herborización de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr

Se tomó una muestra representativa de la totalidad de la especie la que fue herborizada por los autores y depositada en el Instituto de Ecología y Sistemática perteneciente a la Academia de Ciencias de Cuba, donde fue autenticada como *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr. Con el número de herbario SV 43068 por la especialista Dra. Ramona Oviedo.

Recolección y Procesamiento inicial del material vegetal

Para la recolección y procesamiento del material vegetal se tuvo en cuenta que fuera lo más saludable y representativo posible.

Métodos físico-químicos aplicados al análisis del material vegetal. Parámetros de control de calidad. Determinación de las cenizas totales

Las cenizas totales representan 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. Los valores de cenizas totales están dentro de los intervalos generales que se describen para las plantas medicinales (Lou, 1980), (Tabla 1). De manera general el porcentaje de cenizas totales del exocarpo (I) y el mesocarpo (II) es menor que el de las semillas (III) y esto es debido a la diferencia fisiológica, química, posición física y estructurales que presentan estas tres partes del fruto, pues en el caso de III, posee mayor complejidad estructural ya que en su composición química tiene sustancias oleaginosas, cuenta con estructuras como cotiledones y es la parte del fruto donde se desarrollan los embriones (en constante transformación)

que son los que posibilitan el desarrollo del futuro vegetal, además, las paredes celulares se revisten de sustancias como lignina y cutina que le confieren dureza, entre otras propiedades para evitar la degradación y dar tiempo a la germinación. Por todo lo anterior se justifica que el contenido de cenizas totales sea mayor en III. En el caso de I y II, se encuentran en la parte más externa del fruto, tienen mayor contenido de agua porque presentan tejidos acumuladores o de reserva que no son oleaginosos como los de III. Además en su composición contienen aceites esenciales que poseen consistencia líquida, por lo tanto el porcentaje de cenizas totales es menor (Blanco, Grane y Nieto, 1995). El análisis de varianza muestra que existió diferencia significativa en cuanto al contenido de cenizas totales entre el exocarpo I, mesocarpo II y las semillas III del limón Swingle cubano, lo que permite corroborar que la composición química varía según la parte del fruto analizada.

Determinación del porcentaje de cenizas solubles en agua e insolubles en ácido

Los ensayos de cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido clorhídrico permiten determinar los posibles metales pesados presentes y por consiguiente la factibilidad de toxicidad que ellos pudieran inferir mediante un fármaco elaborado con esta deficiencia durante el control de calidad en la materia prima de partida o droga (USP 32, 2010) y (Miranda y Cuéllar, 2000). Como una medida de seguridad el otro parámetro de control de calidad analizado durante esta investigación fue el porcentaje de cenizas que se disuelven en agua o que no lo hacen en ácido clorhídrico al 10%, estas determinaciones permiten evaluar la pureza de la droga con que se trabaja. Los valores de cenizas solubles en agua están dentro de los límites de especificaciones establecidos para la mayoría de las plantas medicinales (Lou, 1980), y de forma general deben corresponder a iones de metales alcalinos y/o alcalino térreos que no afectan al organismo (Tabla 1). En el caso de las cenizas insolubles en ácido, los valores nos indican un contenido de metales alcalino térreos aceptables para este tipo de planta. En la literatura se describe que este parámetro es inferior al 2% para la mayoría de las plantas medicinales (Lou, 1980). El análisis de varianza demostró que en cuanto al contenido de cenizas solubles en agua e insolubles en ácido clorhídrico al 10 %, las semillas III presentaron diferencias significativas con respecto al exocarpo I y el mesocarpo II, lo que indica que existen

diferencias entre el contenido de metales entre estas partes del fruto. Estos a su vez no presentaron diferencias significativas entre ellos.

Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad es un parámetro de control de calidad de suma importancia, ya que si se observa un valor elevado durante su determinación, indica un exceso de agua en la droga, que puede dar lugar a la proliferación de microorganismos e insectos, la oxidación e hidrólisis de los constituyentes químicos de la muestra durante el almacenamiento y puede falsear el peso y constituyentes a uno que no es el real. Si el peso es falso la dosis de metabolitos a la hora del diseño de una formulación farmacéutica será errónea. El contenido de agua es uno de los índices numéricos que deciden la calidad del material vegetal en cuestión, sus límites deben ser predeterminados durante el estudio de la droga vegetal, principalmente para aquellas que se comportan higroscópicas o en aquellos casos que el deterioro puede ser promovido por la presencia de la misma. El Método Azeotrópico, que es uno de los más aceptados por la norma que rige el trabajo con las plantas medicinales que contengan aceites esenciales (Norma Ramal 309, 1992), fue el seleccionado durante este estudio por ser general y apropiado para los frutos de *S. glutinosa*. Se observó en todos los casos que el contenido de humedad está dentro de los límites establecidos (60-70 %) y para el caso de las semillas (III) el promedio fue alrededor del 53 %, aunque algunas determinaciones si llegaron al 60%, lo cual se corrobora por la desviación estándar (Tabla 1). Como se esperaba el menor valor de contenido de humedad lo tuvieron las semillas, lo cual es atribuible a las propiedades químicas, fisiológicas y estructurales que se mencionan en la discusión de las cenizas totales, en el caso del exocarpo (I) y el mesocarpo (II) tuvieron un mayor valor. No obstante, el análisis de varianza mostró que no existió diferencia significativa en cuanto al contenido de humedad entre las tres partes del fruto.

Determinación de sustancias solubles

Los resultados de la determinación de las sustancias solubles mostraron que para las tres partes estos se encuentran en un rango adecuado dentro de los límites de especificaciones establecidos (Lou, 1980), aunque para el caso de las semillas (III) el valor es bajo teniendo en cuenta que contienen una gran cantidad de sustancias de reserva como son proteínas y carbohidratos

por lo que se debía esperar que los valores pudieran ser algo superiores a los encontrados, esto se explica por las propiedades químicas, fisiológicas y estructurales mencionadas en el acápite de determinación de cenizas totales; que le confieren consistencia dura al material vegetal III, por lo que el disolvente no pudiera extraer mayor cantidad de sustancias extraíbles (Tabla 1). A través de un análisis de varianza; se demostró que existen diferencias significativas para el contenido de las sustancias solubles entre el exocarpo I, mesocarpo II y las semillas III de *S. glutinosa*. En resumen, los valores encontrados para los parámetros farmacognósticos evaluados están dentro de los intervalos esperados para las plantas medicinales (Lou, 1980), (Miranda y Cuéllar, 2000).

Tabla 1. Resultados de la determinación de los parámetros físico-químicos aplicados al análisis de I, II y III del fruto fresco de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr.

PARÁMETROS (%) X/DS	I	II	III
Cenizas totales	1,52 / 0,1631a	1,11 / 0,1811b	3,18 / 0,4545c
Cenizas solubles en agua	1,06 / 0,1998a	0,78 / 0,0954a	2,18 / 0,27b
Cenizas insolubles en ácido	0,92 / 0,1473a	0,82 / 0,0493a	1,4 / 0,2994b
Contenido de humedad	71.5 / 3.5355a	65.5 / 6.3640a	53 / 7.0711a
Sustancias solubles	26.90 / 4.0472a	20.28 / 0.0000b	8.50 / 3.6835c

Nota: Letras diferentes significan diferencias significativas ($p < 0,05$).

Leyenda: I Exocarpo; II Mesocarpo; III Semillas

Resultados del Tamizaje Fitoquímico a exocarpo I, mesocarpo II, y semillas III.

Los resultados del tamizaje fitoquímico del exocarpo (I), mesocarpo (II) y las semillas (III) del fruto de *S. glutinosa* muestran cualitativamente presencia de compuestos bioactivos como alcaloides, flavonoides, triterpenoides y aceites esenciales que hacen a la planta de interés para la industria farmacéutica. En general, se observó que los tres materiales vegetales tienen una composición química cualitativa similar. Michael, (2007) citó en esta familia la presencia de alcaloides de acridona lo que coincide con la detección de estos metabolitos para el fruto de *S. glutinosa* en estudio. Se ha descrito que estos compuestos han mostrado una gran variedad de propiedades biológicas, como son: actividad antibacteriana, anticancerígena, antiprotzoaria, antioxidante, antialérgica, hipotensoras y estimulantes y anti-VIH (Virus de

Inmunodeficiencia Humana), (Trease y Evans, 1978); (Basco y col., 1994); (Zee-cheng, 1997); (Fujiwara y col., 1999); (Quader y col., 1999); (Tringali y col., 2001); (Islam y col., 2002); (Ahua y col., 2004); (Delmas y col., 2004); (Chukaew y col., 2008). La detección de alcaloides en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso de I, II y III sugiere que el limón *Swinglea* también pudiera poseer propiedades farmacológicas similares a las descritas anteriormente. También los alcaloides se emplean para tratar dolencias y enfermedades como vómitos y náuseas, colitis, entumecimiento nocturno de pierna y Alzheimer. Un estudio reciente sobre *S. glutinosa* determinó que algunos de los alcaloides de la acridona aislados de esta planta, inhiben la fotosíntesis en la fase luminosa y la síntesis de ATP de algunas plantas, lo que causó el retraso en sus crecimientos. Todo esto permite inferir que existe una posible actividad alelopática positiva en *S. glutinosa* de la familia RUTACEAE (Veiga-moura y col., 2006). El resultado positivo para la prueba de fenoles y taninos, coincide con la literatura consultada (Rondón y col., 1993) y (Adersen, 2005). Según Rondón los taninos confieren propiedades fungicidas y son utilizados como defensa química ya que gracias a su capacidad de precipitar proteínas actúan como antinutricionales ante el ataque de predadores (Asquith y Butler, 1986). Según Rice, (1984) es posible que entre la gran variedad de compuestos secundarios alelopáticos existentes en las plantas, los fenoles y los terpenos representan a los principales agentes alelopáticos que se conocen en la actualidad (Lizalda, 2008). La presencia de fenoles se debe a que estos compuestos están íntimamente relacionados con la actividad de repelencia por las plantas a poblaciones de insectos y al ser las hojas el blanco más común, es lógico que sean empleados en defensa química. Por sus propiedades antioxidantes estos compuestos han demostrado efectos beneficiosos a la salud humana como antiinflamatorios, antiescleróticos y antivirales (Silva, Gottlieb, Ehrendorfer, 1998); (Silva, 2000); (Silva, Lacerda, Jones, 2005); (Gupta y col, 2014). El resultado de flavonoides fue positivo en los extractos hidroalcohólicos de I, II y III. Se ha demostrado que estos metabolitos exhiben un amplio rango de acciones farmacológicas y acciones bioquímicas tales como: actividades antimicrobianas, antitrombótica, antimutagénicas y anti carcinogénico, antiepiléptico (Gupta, 2014); (Salvamani y col., 2014).

Resultados del Tamizaje Fitoquímico del Extracto etéreo

El resultado positivo (I, II, III). El ensayo de aceites esenciales dio positivo; coincide con los artículos consultados (Blanco, 1995); (Díaz y col., 2005); (Pino y col., 2006), estos compuestos tienen gran aplicación en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria (Kimball, 1999); (Gudul, Aydin, Aydin, 2013). Estas fracciones líquidas volátiles biosintetizadas por algunos vegetales, están constituidas por sustancias responsables del aroma que percibimos de las plantas. También dieron positivos en el extracto etéreo los compuestos grasos, Triterpenos y esteroides, Alcaloides en I, II, y III.

Resultados del Tamizaje Fitoquímico del Extracto hidroalcohólico.

Se pudo evidenciar cualitativamente en el Extracto hidroalcohólico el resultado positivo en (I, II, y III) de alcaloides, aminoácidos libres, compuestos fenólicos y/o taninos, flavonoides, lactonas y coumarinas, triterpenos y esteroides. El resultado de la presencia de quinonas dio dudoso en III. Resina resultó positiva en I y II. La presencia de triterpenoides coincidió con lo informado por Bagge (2003) para la familia de RUTACEAE. Preecha y col., (2006) también mencionaron la presencia de triterpenoides, entre ellos se destacan los limonoides en diferentes especies rutáceas (Bennett, Hasegawa, and Wong, 1993) y (Wattanapiromsakul, Forster, and Waterman, 2003), esto coincide con los resultados obtenidos. Se ha informado que estos presentan acción cito tóxica de estas moléculas sobre células cancerígenas (Bagge, 2003).

Resultados del Tamizaje Fitoquímico del Extractos acuoso.

Las lactonas y coumarinas, compuestos reductores, fenoles y/o taninos, y principios amargos, resultaron positivos en (I, II, III) aceites esenciales en I, alcaloides, saponinas y mucílagos en III los que fueron detectados en los tres extractos acuosos del fruto, de *S. glutinosa* estas lactonas se encuentran relacionadas con la defensa química de la planta contra insectos. Se ha citado que estos metabolitos presentan efectos antibacterianos, sedantes y analgésicos, (Álvarez, 2010).

Obtención y caracterización del aceite esencial del exocarpo de *S. glutinosa*.

Teniendo en cuenta que en el tamizaje fitoquímico se detectó la presencia de aceite esencial

en el exocarpo I del fruto y que en Cuba no se había estudiado, se decidió realizar su obtención y caracterización química. Para ello, dicho exocarpo fue sometido a un procedimiento de Hidrodestilación en un equipo tipo Clevenger. Se obtuvo un aceite esencial de color amarillo claro y olor agradable a cítrico; como la Lima, con un rendimiento de extracción de 0,12% (Tabla 2). Tanto las características organolépticas como los rendimientos de extracción del aceite esencial de *S. glutinosa* que crece en Cuba concordaron con lo informado en la literatura (0,20-0,4 %) para la especie que crece en Colombia (Blanco, 1995); (Díaz y col. 2005. Como se puede apreciar dichos rendimientos son inferiores respecto a otras especies de cítricos (Bruneton, 2000); (Evans, 2009).

Tabla 2. Resultados de la determinación del rendimiento del aceite esencial de *S. glutinosa*

MATERIAL VEGETAL	PESO (G)	ACEITE(P)	RENDIMIENTO (P/P)
Exocarpo I	831,52	1,021	0,12

Nota: G gramo; P peso

Métodos de análisis cromatográficos. Cromatografía en capa delgada (CCD)

En la figura 3 se observan las cromatoplas obtenidas de cada uno de los extractos ensayados. Al analizar la placa al visible se observa poca complejidad cromatográfica, la mayoría de las manchas se observan en el último tercio del cromatograma, próximo al frente del disolvente. Las manchas tienen una coloración amarilla; posiblemente propia de flavonoides. Al exponer la placa cromatográfica a la luz ultravioleta se observan en los tres casos manchas fluorescentes, lo cual es indicativo de metabolitos secundarios con grupos cromóforos en sus estructuras. Desde el punto de vista cromatográficos la muestra I es más compleja y va disminuyendo de II a III. Generalmente el comportamiento cromatográfico es similar para los tres extractos (Figura 3). Al exponer la placa con los extractos a los vapores de amoníaco se observa cómo se va intensificando la coloración de las manchas hacia amarillo, lo cual es indicativo de la presencia de compuestos flavonoides y fenólicos, tendiente a morado; fenoles, de manera general compuestos que contienen en su estructuras grupos OH. Al asperjar la placa cromatográfica con un revelador general (H₂SO₄ al 5% en etanol más calor), se observaron manchas de color amarillo en las tres muestras,

características de flavonoides, siendo en los tres casos más intensas en 1 ($R_f = 0,39$); siguiéndole 2 ($R_f = 0,5$) y por último 3 ($R_f = 0,86$). Lo notorio en este caso fue observar para las tres muestras tres manchas de color amarillo bien definidas (figura 12) lo cual corresponde con estructuras del tipo flavonoides que coincide con lo descrito en la literatura sobre la composición química de la familia RUTACEAE (Chlouchi y col., 2007). Y lo detectado cualitativamente durante el tamizaje fitoquímico en éste estudio. Otro aspecto importante es que se observaron manchas de color violáceo cercano al frente del disolvente que pudieran estar asociadas a estructuras del tipo triterpenoides o fenólicos, o ambos.

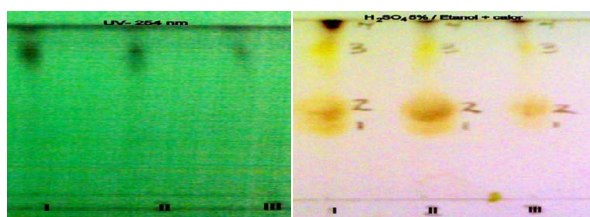


Figura 3. Cromatogramas de las tres muestras de extractos I, II y III de *S. glutinosa*, reveladas con luz UV (254 nm) y ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 5 % / etanol más calor. I Exocarpo; II Mesocarpo; III Semillas

Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR)

Mediante el análisis de los tres extractos por Cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) se pudo observar que para el extracto del exocarpo (I) se obtuvo un cromatograma sencillo, con la presencia de dos picos cromatográficos, obteniéndose el área mayor (75,93 %) para el pico que eluyó a 5,3 minutos. Para el mesocarpo (II) y las semillas (III) se mostró también una apariencia sencilla, aunque visualizándose el aumento de la complejidad en II, pues se mostraron tres picos cromatográficos obteniéndose igualmente como mayoritario (59,02 %) el pico que eluyó a 5,2 minutos (Tabla 3). De la misma manera, para III se obtuvieron dos señales, donde la mayoritaria (96,7 %) fue la que eluyó a 5,2 min. Como se puede apreciar existe una coincidencia en cuanto al pico mayoritario (5,2 min) en las tres partes estudiadas, pero existen otros componentes que eluyen a tiempos de retención diferentes, lo que sugiere una composición desigual para cada extracto en particular; lo cual es lógico teniendo en cuenta las diferencias en la posición física, fisiológica, química y estructural que presentan estas tres partes del fruto (I, II, III)

Tabla 3. Resultados de la Cromatografía líquida de alta resolución. CLAR de los tres extractos hidroalcohólicos de *S. glutinosa*.

EXTRACTOS	# DE PICO	TIEMPO DE RETENCIÓN (MIN)	ÁREA RELATIVA (%)
I	1	2,7	24,07
	2	5,3	75,93
II	1	1,9	4,14
	2	2,4	36,85
	3	5,2	59,02
III	1	3,7	3,27
	2	5,2	96,73

Nota: I Exocarpo; II Mesocarpo; III Semillas.

Al comparar los tres extractos de las tres partes del fruto (I, II y III) se observaron diferencias en cuanto a CLAR, siendo II el del cromatograma más complejo. En la figura 4 se muestran los cromatogramas de los tres extractos hidroalcohólicos de I, II y III del fruto de *S. glutinosa*.

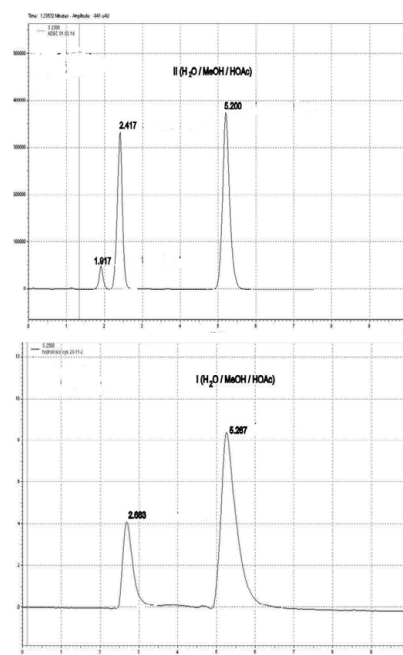


Figura 4. Cromatogramas obtenidos al aplicar CLAR a los tres extractos hidroalcohólicos de *S. glutinosa*.

Métodos de análisis Espectroscópicos. Espectroscopía Ultravioleta visible (UV)

Al analizar los tres extractos por Espectroscopía ultravioleta visible, sólo se observaron dos absorciones, una entre 220 y 230 nm que es típica de todos los compuestos orgánicos naturales que tienen un anillo aromático y otra entre 260 y 270 nanómetros que es clásica de compuestos con grupos carbonilos insaturados o fenoles insaturados, lo cual concuerda con los resultados del tamizaje fitoquímico; y CCD; estas técnicas

aunque son útiles ofrecen solamente una orientación respecto a la posible presencia de grupos funcionales al igual que el infrarrojo (Figura 5).

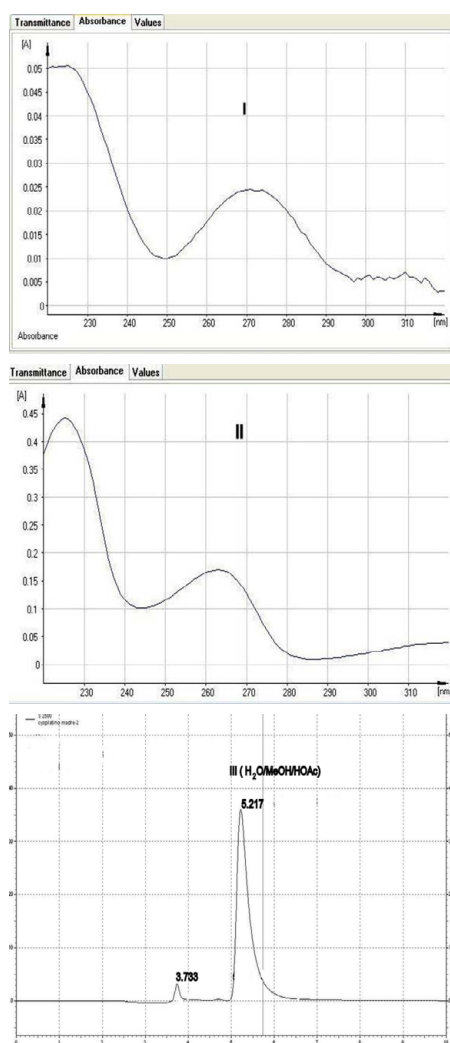


Figura 5. Espectros obtenidos al aplicar Espectroscopía ultravioleta visible a los tres extractos hidroalcohólicos de las tres partes del fruto de *S. glutinosa*. (I, II, III.)

Espectroscopía Infrarrojo (IR).

Al analizar los tres extractos por Espectroscopía Infrarrojo, se observaron en los tres casos bandas entre 800-900 cm^{-1} (figura 5), lo que es característico de grupos aromáticos. Las bandas de 1550-1600 cm^{-1} indican que hay varios dobles enlace y las de 2400-2500 cm^{-1} que hay hidroxilos o NH , o sea que debe haber prevalencia de compuestos fenólicos y posiblemente compuestos nitrogenados aunque no se puede diferenciar cuál estaría presente. Esto se corrobora con los resultados del tamizaje fitoquímico ya que si no hay otros espectros no se puede asegurar la presencia de alcaloides que da positivo y de compuestos fenólicos que si pueden

ser sugeridas por las otras bandas del espectro infrarrojo.

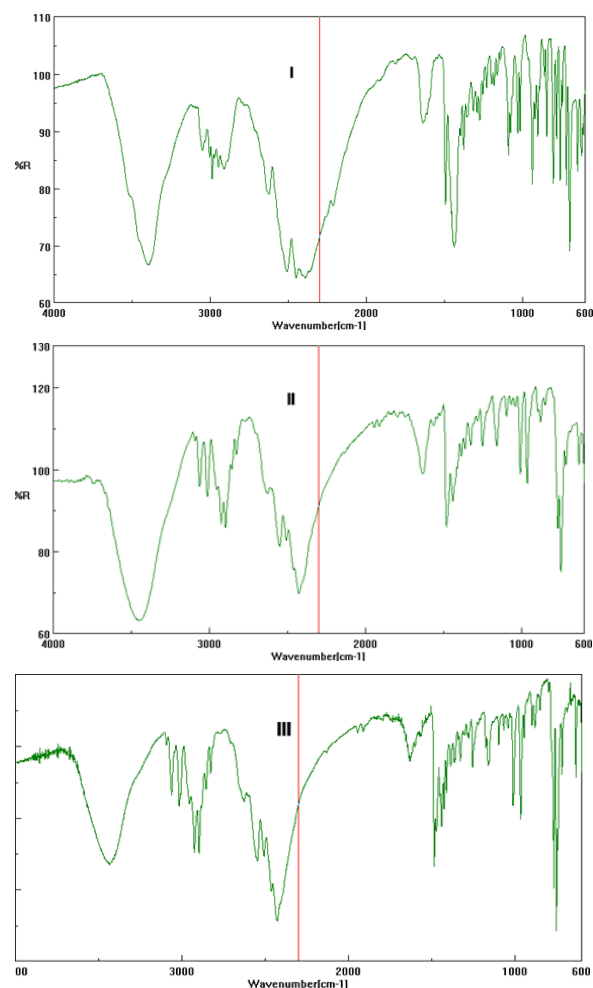


Figura 6. Espectros IR de los tres extractos hidroalcohólicos de I, II y III del fruto de *S. glutinosa*.

Análisis del aceite esencial de I, de *S. glutinosa* por Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de masas.

En el análisis por CG-EM del AE obtenido se detectaron 50 compuestos (Figura 7 y Tabla 4). De ellos se identificó el 98,4 % de la composición química total del aceite esencial de *S. glutinosa* cubano.

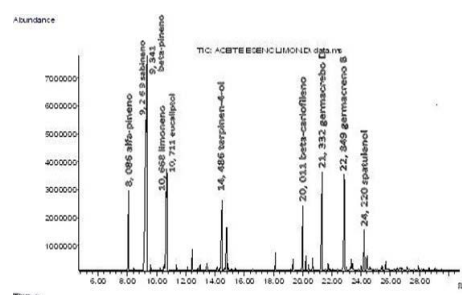


Figura 7. Perfil cromatográfico del aceite esencial del exocarpo I de *S. glutinosa*.

Los compuestos mayoritarios fueron β -pineno (18,03%); sabineno (16,08%); germacreno-B (9,16%) y D (9,02%); terpinen-4-ol (7,10%); limoneno (6,37%); α -pineno (5,05%) y eucaliptol (5,02%). También se pudo constatar que los monoterpenos hidrocarbonados (47,2%) y sus análogos oxigenados fueron los compuestos más abundantes en este aceite esencial, lo cual coincide con lo informado para el aceite esencial obtenido del exocarpo del fruto de esta especie en Colombia 51% (Stachenko, Martínez, Medina, y Durán, 2015) y 56% (Díaz y col. 2005). Estos detectaron 64 y 16 compuestos respectivamente y de la misma manera identificaron como compuestos mayoritarios, para cada AE, trans-nerolidol (19,1%) y β -cubebeno (28%); lo que demuestra las diferencias entre dichos aceites esenciales, y el AE estudiado durante ésta investigación. Sin embargo, en otro estudio con esta especie que también crece en Colombia se informó que el β -pineno fue el componente mayoritario (Jaramillo-Colorado, Palacio-Herrera, y Duarte-Restrepo, 2012), lo cual coincide con nuestros resultados, aunque Díaz, (2005) también lo encontró como segundo componente mayoritario (24,19-28,83%). Por su parte Pino y col. (2006) encontraron bajos porcentajes (0,5%) pero en las hojas; no en exocarpo I; al igual que Blanco y col. (1995) para otros cítricos como el limón, la mandarina y la naranja (0,29 -1,05%). Teniendo en cuenta que tanto las especies de Cuba y Colombia contienen una elevada cantidad de hidrocarburos monoterpénicos, donde el β -pineno resultó el mayoritario, estos compuestos pudieran ser utilizados como marcadores quimiotaxonómicos de este género. Coincidiendo con la investigación de Díaz, (2005) uno de los aspectos relevantes en la composición AE del exocarpo del limón *Swinglea* es la proporción en la que se identificó el β -Pineno (18,03%). Ninguno de los autores citados anteriormente reportan este compuesto con abundancias superiores al 16% solo Díaz (24,19-28,83%).

En Cuba, no existen estudios químicos, farmacológicos; ni de estandarización sobre los frutos de esta planta. Solamente se encontró un estudio de los componentes volátiles de las hojas (Pino y col., 2006); no así del fruto. En dicho estudio se informó la identificación de 69 compuestos lo que representó el 89% de la composición del aceite, dentro de los cuales los mayoritarios fueron nerolidol (41,3%) y β -cariofileno (20,9%). Otros compuestos encontrados en menores proporciones y que coinciden con los detectados en nuestro estudio del aceite esencial de la cáscara

del fruto fueron α -pineno (4,2%), camfeno (0,1%), sabineno (0,2%), β -pineno (0,5%), mirceno (0,5%), fellandreo (<0,1%), p-cimeno (0,1%), limoneno (1,9%), γ -terpineno (0,1%), terpinoleno (<0,1%), trans-pinocarveol (0,1%), terminen-4-ol (<0,1%), α -terpineol (0,1%), α -humuleno (1,4%), y óxido de cariofileno (3,0%). Como puede apreciarse, aunque existen coincidencias de manera general entre algunos compuestos presentes en las hojas con los identificados en el Exocarpo I, si se puede observar una gran diferencia en cuanto a las proporciones en que ellos se encuentran. Resultados lógicos por ser órganos diferentes de la planta.

Tabla 4. Composición (%) del aceite esencial de la corteza del fruto de *S. glutinosa*.

NO.	TR (MIN)	COMPUESTO	IK-EXPTAL	IK-ADAMS	CONTENIDO(%)
1	7,884	α -tujeno	928	924	0,05
2	8,086	α -pineno	935	932	5,05
3	8,435	Camfeno	950	946	0,16
4	9,269	Sabineno	975	969	16,08
5	9,341	β -pineno	977	974	18,03
6	9,598	Mirceno	991	988	0,26
7	9,931	α -fellandreno	1003	1002	0,04
8	10,255	α -terpineno	1017	1014	0,15
9	10,515	p-cimeno	1026	1022	0,52
10	10,668	Limoneno	1026	1024	6,37
11	10,711	1,8- cineol (eucaliptol)	1028	1026	5,02
12	11,366	γ -terpineno	1058	1054	0,31
13	12,127	terpinoleno	1089	1086	0,18
14	12,450	Linalool	1097	1095	1,23
15	12,780	Exo-fenchol	1117	1118	0,06
16	12,833	NI	1120		0,10
17	12,987	Cis- β -terpineol	1125	1125	0,32
18	13,440	Trans- pinocarveol	1139		0,64
19	14,021	pinocarvone	1165	1160	0,07
20	14,144	borneol	1169	1165	0,27
21	14,307	isopinocanfene	1175	1173	0,11
22	14,486	Terpinen-4-ol	1177	1174	7,10
23	14,645	p-cimen-8-ol	1183	1180	0,13
24	14,795	α -terpineol	1189	1188	3,41
25	14,893	mirtenol	1196	1194	0,41
26	15,134	Cis-piperitol	1198	1192	0,10
27	16,594	nerol	1230	1228	0,10
28	18,139	δ -elemeno	1338	1335	0,92
29	19,340	β - elemeno	1391	1389	0,63
30	20,011	β -cariofileno	1419	1417	4,54
31	20,222	γ - elemeno	1437	1434	0,80

32	20,402	sesquibabinene	1460	1459	0,36
33	20,564	γ -muuroleno	1480	1478	0,03
34	20,684	α -humuleno	1455	1452	0,66
35	21,332	Germacreno D	1483	1484	9,02
36	21,749	Bisaboleno	1506	1505	0,38
37	22,849	Germacreno B	1561	1559	9,16
38	22,994	1,5-epoxysalvial-4(14)-eno	1570	1568	0,16
39	23,322	óxido de cariofileno	1583	1582	0,62
40	23,404	Isospatulenol	1584	1583	0,36
41	24,009	NI	1586		0,31
42	24,220	spatulenol	1620	1619	3,08
43	24,408	Óxido de isoaromadendreno	1641	1639	0,91
44	25,440	NI	1730		0,23
45	25,682	Óxido II de aromadendreno	1737		0,46
46	26,667	Germacra-4(15), 5, 10(14)-trien-1- α -ol	1830		0,16
47	27,155	NI			47,2
48	27,916	NI			18,97
49	28,658	NI			26,50
50	29,043	NI			5,75
51		Monoterpenos hidrocarbonados			1,55
52		Monoterpenos Oxigenados			47,2
53		Sesquiterpenos hidrocarbonados			18,97
54		Sesquiterpenos Oxigenados			26,50
55		NI			

Nota: tr(min): tiempo de retención; IK-Exptal: Índice de retención experimental respecto a las parafinas; IK-teór.: Índice de retención teórico y por Adams en Columnas similares; NI: No identificados.

Por su parte, Díaz y col., (2005) en un estudio realizado en Colombia para la caracterización del AE del exocarpo del fruto del limón *S. glutinosa* en tres estados de madurez, encontraron la presencia de ocho componentes (β -Cubebeno, β -Pineno, Elixeno, Anozol, β -Cariofileno, β -Felandreno, Limoneno y α -Pineno) en todas las muestras analizadas, las cuales debido a su abundancia se pueden considerar como mayoritarios, destacándose el β -Cubebeno (26,48–28,74%), el β -Pineno (24,19–28,83%) y el Elixeno (10,13–11,03%). Estos resultados les permitieron

afirmar que la composición del AE de la corteza del limón *Swinglea* difiere significativamente con respecto a la mayoría de cítricos hasta el momento estudiados y explotados comercialmente, ya que en ellos generalmente el componente mayoritario suele ser el Limoneno. Esta aseveración se puede corroborar por varios autores que han estudiado otras variedades de frutas cítricas, como Braddock, (1999) quien afirma que el mayor constituyente del aceite del exocarpo de los cítricos comestibles es el Limoneno. Otra investigación que constata la afirmación hecha por el anterior autor fue realizada por Lota, Serra Tomi, y Casanova (2002), quienes estudiaron la composición del AE de la corteza de 19 variedades de limón por el Método de Expresión en frío y posterior análisis por CG/EM, identificando 51 componentes en todos los AE analizados, y donde el Limoneno presentó la mayor abundancia (38,1–95,8%), seguido por el β -Pineno (0,1–15,8%), γ -Terpineno (trazas–18%), linalol (0,1–25,1%) y acetato de linalilo (trazas–31,2%). Para el caso del limón *Swinglea* en estudio, el limoneno se encuentra presente en baja proporción (6,37%) con respecto a otras especies y variedades de cítricos, pero en correspondencia con lo encontrado por Díaz y col en el (2005). En este sentido, las variaciones observadas en la composición química del AE estudiado respecto a otros de diferentes regiones pueden corresponder a diversos factores tales como las características genéticas de la especie, el estado fenológico de la planta, las condiciones climáticas, la época y lugar de recolección, así como a las variaciones intrínsecas de los métodos de obtención y análisis empleados, entre otros (Bruneton, 2000); (Evans, 2009); (Díaz y col., 2005). Otro aspecto importante es la presencia de compuestos como Sabineno, β -Cariofileno, y α -Pineno en proporciones que varían entre 4 y 16 %, normalmente estos compuestos se encuentran en baja proporción en la mayoría de los cítricos de interés comercial. (Minh, Li, y Tao, (2002) reportan el β -Cariofileno (0,2%) y α -Pineno (0,7%); Lota y col., 2002 reportan el α -Pineno (0,1–2,3%); Caccioni (1998) identificaron el α -Pineno (0,4–2,3%) y el β -Cariofileno (0,01–1,6%) en diferentes cítricos procedentes de Italia (naranjas, mandarinas, limones y algunos híbridos). Por su parte, Pino y col. (2006) reportan el Sabineno (0,2%), β -Cariofileno (20,9%) y el α -Pineno (4,2%); Díaz y col. (2005) informan el β -Cariofileno (9,6–9,5%), α -Pineno (4,4–6,6%), estos resultados están en correspondencia de

forma general con los obtenidos en la presente investigación aunque con pequeñas diferencias en cuanto a los porcentajes en que se encuentran. La determinación de los componentes del aceite esencial del exocarpio I del fruto de *S. glutinosa* cubano en el presente trabajo, constituye el primero realizado en Cuba y aporta resultados y datos novedosos no solo para la identificación de los componentes mayoritarios de los AE sino para los minoritarios, ya que en el país solamente se ha llevado a cabo el estudio de los componentes volátiles en hojas; de dicha especie; y no de las especies presentes en el patio del IFAL; por lo que los resultados alcanzados en este trabajo permiten dar información de interés para avalar el uso de los AE de esta planta en la medicina u otra industria. Esto pudiera basarse en que diversos compuestos encontrados en el AE de *S. glutinosa* han mostrado propiedades farmacológicas como antioxidantes, antimicrobianas, antifúngicas, anticarcinogénicas, antiinflamatorias, antiosteoartríticas, genotóxicas, antiespasmódicas, hepatoprotectoras (Gudul, Aydin, Aydin, 2013).

Conclusiones

La determinación de los componentes del aceite esencial del Exocarpio I del fruto de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr cubano en el presente trabajo, constituye el primero realizado en Cuba y aporta resultados y datos novedosos no solo para la identificación de los componentes mayoritarios de los AE sino para los constituyentes minoritarios también de gran valor e importancia.

Los estudios físico-químicos permitieron establecer los parámetros de control de calidad para las tres partes (I, II, III) de los frutos de *Swinglea glutinosa* (Bl.) Merr cubano.

Se obtuvieron tres compuestos α -pineno, eucaliptol y β -cariofileno.

Los tres extractos hidroalcohólicos al 70% mostraron similar actividad secuestradora del radical DPPH, siendo el de mayor respuesta el procedente del exocarpo con un CI_{50} de 17,1 μ g/mL.

Los extractos hidroalcohólicos al 70 % de las tres partes del fruto presentaron actividad antileishmanial y citotoxicidad frente a macrófagos con valores de CI_{50} menores que 100 μ g/mL.

Referencias bibliográficas

Jaramillo-Colorado, Palacio-Herrera, Duarte-Res-trepo. (2012). Antioxidant and biological activities of essential oil from Colombian Swinglea

glutinosa (Blanco) Merr fruit. ResearchGate. <https://www.researchgate.net>342>.

Adersen, A.; Smitt, U. W.; Simonsen, H. T.; Christensen, S. B.; Jaroszewski, J. W. Prenylated acetophenones from Melicope obscura and Melicope obtusifolia ssp. obtusifolia var. arborea and their distribution in Rutaceae. Biochemical Systematics and Ecology 35, 2007, 447-453

Ahwa, K. M.; Ioset, J-R.; Ransijn, A.; Mauël, J.; Mavi, S.; Hostettmann, K. Antileishmanial and antifungal acridone derivatives from the roots of Thamnosma rhodesica. Phytochemistry, 2004, 65: 963-968.

Arrázola, G. Caracterización Del Aceite Esencial En La Corteza Del Limón Swinglea (Swinglea Glutinosa) Por CG/EM. Temas agrarios, 2005. 10: 22-28. Available from: <http://www.emas.co.cl/categorias/cnaturales/alelopatia.htm>.

Asquith, T. N. y Butler, L. G. Interaction of condensed Tannins with selected proteins. Phytochem. 1986, 25 (7): 1591-1593.

Gudul, H., Aydin, I. Aydin, D. (2013). Effect of Plantation Spacins on Some Technological Properties...OUCI. <https://ouci.dntb.gov.ua>works>.

Bagge, D. (2003). Limonoids: Pesticide to anticancer applications from secondary metabolites of the Rutaceae and Meliaceae. Colorado, USA. Colorado State University Fort Collins, Colorado, 2003.

Basco, L. K.; Mitaku, S.; Skautsounis, A-L.; Raue-lomanantsoa, N.; Tillequin, F.; Koch, M.; Le Bras, J. In vitro activities of furoquinoline and acridone alkaloids against Plasmodium falciparum. Antimicrob. Agents Chemother, 1994, 38: 1171-1169.

Basco, L. K.; Mitaku, S.; Skautsounis, A-L.; Raue-lomanantsoa, N.; Tillequin, F.; Koch, M.; Le Bras, J. In vitro activities of furoquinoline and acridone alkaloids against Plasmodium falciparum. Antimicrob. Agents Chemother, 1994, 38: 1171-1169.

Bennett, R. D., Hasegawa, S. and Wong, R. Y. Limonoids from Atalantia zeylanica. Phytochemistry, 1994, Volume 36, Issue 1, Pages 163-166.

Blanco, C.; Grane, N. y Nieto, M. Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography, 1995, 697:501 - 513.

Blanco, C.; Grane, N. y Nieto, M. Comparative study of Colombian citrus oils by high-

- resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1995, 697:501 – 513.
- Blanco, C.; Grane, N. y Nieto, M. Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1995, 697:501 – 513.
- Braddock, R. (1999). *Handbook of Citrus. Products and Processing Technology*. Editorial Wiley, New York, 1999, p.247- 256
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wissu Technol*, 28: 25-30, 1995.
- Bruneton, J. (2000). Nuevo agente de control parasitario y vectorial. Universidad Autónoma de Madrid. <https://repositorio.uam.es>.
- Bucharan, B.; Gruissem, W.; Jones, R. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Cap. 24 Natural Products (Secondary Metabolites). Ed. American Society of Plant Physiologist, 2000, 1302-1308.
- Caccioni, M. (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology*, 1998, 43:73– 79.
- Cañigüeral, 2013, Disponible en <https://pesquisa.bvsalud.org/ressource/ibc-132783>.
- Chlouchi, A.; Girard, C.; Bevalot, F.; Waterman, P. G.; Muiyard, F. (2007). Taxonomically significant coumarins from three *Philotheca* species (Rutaceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 35, 2007, 251-254.
- Chukaew, 2008, ResearchGate. Detección de alcaloides
- Delmas, F.; Avellaneda, A.; Di Giorgio, C.; Robin, M.; De Clerq, E.; Timon-David, P.; Galy, J-P. Synthesis and antileishmanial activity of (1,3-benzothiazol-2-yl) amino-9-(10H)-acridinone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, 2004, 39: 685-690.
- Díaz, C.; Arrázola, G.; Ortega, F. y Gaviria, J. Caracterización del aceite esencial en la corteza del limón Swinglea (*Swinglea glutinosa*) por CG/EM. *Temas Agrarios*, 2005, 10(1), 5-13.
- Díaz, C.; Arrázola, G.; Ortega, F. y Gaviria, J. Caracterización del aceite esencial en la corteza del limón Swinglea (*Swinglea glutinosa*) por CG/EM. *Temas Agrarios*, 2005, 10(1), 5-13.
- Espectroscopia Ultravioleta-Visible. Actualizado 29 de septiembre de 2014. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_ultravioleta-visible. Consultad 03
- Evans, W.C. (2009). Disponible en <https://www.scrip.org>refence>.
- Fujiwara, M.; Okamoto, M.; Okamoto, M.; Watanabe, M.; Machida, H.; Shigeta, S.; Konno, K.; Yokota, T.; Baba, M. Acridone derivatives are selective inhibitors of HIV-1 replication in chronically infected cells. *Antiviral Res.*, 1999, 43: 179 -189.
- Gupta y col. (2014). Disponible en <https://rev.plantasmedicinales.sld.cu>pla>printerFriendly>.
- Gutierrez, 2006, Apuntes sobre la flora y la vegetación del sector costero Corintia. Disponible en <https://go.gale.com>i.do>.
- Islam, S. K. N.; Gray, A. Y.; Waterman, P. G.; Ahasan, M. Screening of eight alkaloids and ten flavonoids isolated from four species of the genus *Boronia* (Rutaceae) for antimicrobial activities against seventeen clinical microbial strains. *Phytotherapy, Res.*, 2002, 39: 672-674.
- Islam, S. K. N.; Gray, A. Y.; Waterman, P. G.; Ahasan, M. Screening of eight alkaloids and ten flavonoids isolated from four species of the genus *Boronia* (Rutaceae) for antimicrobial activities against seventeen clinical microbial strains. *Phytotherapy, Res.*, 2002, 39: 672-674.
- Kimball, 1999. Soil Respiration in Alder Swamp (*Alnus glutinosa*) in Southern Taiga...<https://www.mdpi.com>1999-4907 MDPI>
- Lizalda, C. Estudio Fitoquímico y Alelopático de Extractos Polares de las Hojas de las hojas de *Swinglea glutinosa* Merr. (Rutaceae), 2008.
- Lota, M.; Serra R.; Tomi, F. y Casanova, J. (2002). Variability of peel and leaf essential oils from *Citrus reticulata* Blanco. *Journal Biochemical Systematic and Ecology Chemical*, 2002, 28:61-78.
- LOU ZHI, CEN. General Control Methods for Vegetable Drugs. World Health Organization, 1980. WHO/PHARM/80.50.
- LOU, Z. C. General Control Methods for Vegetable Drugs. World Health Organization, 1980. WHO/PHARM/80.50.
- Mesa-Vanegas, A. M.; Gaviria, C. A.; Cardona, F.; Sáez- Vega, J. A.; Trujillo, S.; Rojano, B. A. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2010, 15(2), 13-26
- Michael, J. P. Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids. *Natural Product Reports*, 2007, 24: p. 223-246.
- Minh, T.; Li, P. y Tao, N. (2002). Characteristic odor components of *Citrus Shaerocarpa* Tanaka (Kabusu) coldpressed peel oil. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 2908-2913.
- Miranda M. M., Cuéllar A C. Manual de prácticas de laboratorio. Farmacognosia y productos naturales. Ciudad Habana, p: 34 - 49. (2000): Editorial Félix Varela; 2000: 25-49, 74-79
- NC-ISO 1842: 2001.PRODUCTOS DE FRUTAS Y VEGETALES DETERMINACIÓN DEL PH.
- NC-ISO 2173: 2001 <https://especialidades.sld.cu>norma>. Norma cubana publicadas, sustituidas y corregidas durante el mes de junio 2023
- NRSP 309. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Droga cruda. Métodos de ensayo, 1992.
- NRSP 312. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Extractos fluidos y tinturas. Medicamentos de origen vegetal Métodos de ensayo; 1992:15-19. NRSP 311. Norma Ramal. Extractos y tinturas. Medicamentos de origen vegetal. Proceso tecnológico. 1991.
- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2013. Disponible en: https://www.who.int › bitstream › 9789243506098_spa2.
- Preecha Phuwapraisirisan, Serm Surapinit, Pongpun Siripong, Santi Tip-pyanga and Udom Kokpola.(2006):Feroniellides A and B, apotirucallane triterpenes with novel cyclic acetals from Feroniella lucida. Tetrahedron Letters 48, 2007, 527-530.
- Proestos, C.; Chorianopoulos, N.; Nychas, G. J. E.; Komaitis, (2005). M. RPHPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxi-dant capacity and antimicrobial activity. J. Agric. Food Chem., 2005, Vol. 53, 1190-1195.
- Protocolo para la herborización: Colección y preservado de ejemplares botánicos en procesos de supervisión forestal (2013).
- Quader, M. A.; Nutan, M. T. H.; Rashid, M. A. Antitumor alkaloid from Glycosmis pentaphylla. Fitoterapia, 1999, 70: 305-307.
- Rice, E.L. Allelopathy. 2nd ed. Academic Press, New, 1984
- Roig JT. Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos. Tomo I. 4ta ed. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 2014:295.
- Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica; 1974:297.
- Rondón, A.; Hung.G.; Reyes, F.; Solorzano, R. Reacción De Patrones Citricos A Phytophthora nicotianae B. de Haan. var. Parasítica (Dastur Waterh, EN CONDICIONES DE UMBRACULO. Agronomía Tropical, 1993, 443(3-4), p. 117-125.
- Salvamani y col, 2014; Disponible en <https://pubmed.Nim.nih.gov>.
- Salvamani y col., 2014; Investigación en plantas de importancia Química. <https://es.scribd.com>document>I>
- Sánchez, J. A. Diccionario de plantas medicinales. España Editorial Ta-BooK, 2013, 540. ISBN: 978-84-941386-1-4.
- Silva, F.; Borges, F., Guimaraes; C. Lima; J. Matos, C; Reis, S. (2000). Phenolic acids and derivatives: studies on the relationship among Food Chem., 2000, 48: 2122- 2126.
- Silva, F. M.; Lacerda, P. S. B., Jones Jr., J. (2005). Desenvolvimento sustentável e química verde. Quim. Nova, 2005, 28: 103- 110.
- Silva, M. F. das G. F. da; Gottlieb, O. R.; Ehren-dorfer, F. (1998). Plant Syst. Evol. 1998, 161, 97.
- Stachenko, E.; Martínez, J.; Medina, J.; Durán, D. (2015). Analysis of essential oils isolated by stream distillation from Swinglea glutinosa fruits and leaves. Journal of Essential Oil Research , 2015. DOI:10.1080/10412905.2015.1045087.
- Swingle, W. T. The Botany of Citrus and its Wild Relatives. The Citrus Industry. California Univ. Press, Berkeley, 1967, vol. 1, 2nd ed.
- Trease, G. E. y Evans, W. C. Pharmacology 11th. Bailliere Tindall Ltd (Ed.), London, 1978, 60-75.
- Tringali, C.; Spatafora, C.; Cali, V.; Simmonds, M. S. J. Antifeedant constituents from Fagara macrophylla. Fitoterapia, 2001, 72: 538- 543.
- USP 32-Nf 27 2010, 3 Vol. Set (United States Pharmacopeia/National. <https://www.liberlibro.complp>. ISBN 10:1889788813-ISBN 13:9781889788814-US.
- USP 33, 2010; Disponible en <https://wwwUSPnf.com>USP 33>.
- Veiga-moura, T. A; Santos-Pereira, D. A.; Vieira, P. C. Alcaloides Acridónicos de Swinglea glutinosa (bl) merr. (Rutaceae) son inhibidores de la fotosíntesis. Departamento de bioquímica, conjunto E, Facultad de Química, ciudad universitaria, UNAM, CP 04510, México, D.F, 2006.
- Vidal. Le Guide des Plantes qui soignent - La phytothérapie à l'épreuve de la science. Editora Vidal. Francia, 2010, 468. ISBN 978-2-85091-192-7.
- Wang, Y. The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. Food Chemistry, 2008, 106: 277-284.

- Wattanapiromsakul, C; Forster, P. I. and Waterman, P. G. (2003). Alkaloids and limonoids from *Bouchardatia neurococca*: systematic significance. *Phytochemistry*, Volume 64, Issue 2, September 2003, Pages 609-615.
- WHO, 201, Disponible en <https://www.who.int> >....>i>.
- WHO. World Health Organization (WHO) (2018). World Malaria. Report, 2018, ISBN 978.
- Zee-Cheng, R. K. Anticancer research on Loranthaceae plants. *Drugs Future*, 1997, 22(5): 515-530.