

## Evaluación de la calidad, seguridad y capacidad antioxidante de *Murraya paniculata* L y su tintura

### Evaluation of the quality, safety and antioxidant capacity of *Murraya paniculata* L and its tincture

MSc. Celia Magaly Casado Martí,<sup>I</sup> Dra. Yamilet Irene Gutiérrez Gaitén,<sup>I</sup>  
MSc. Noel Varona Torres<sup>II</sup>

<sup>I</sup> Departamento de Farmacia. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Laboratorios Novatec. La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** *Murraya paniculata* (L.) Jack (Rutaceae) es empleada tradicionalmente en nuestro país para el alivio del dolor y la inflamación asociados a enfermedades osteomioarticulares, pero no se reportan estudios que profundicen en elementos tan importantes como lo constituyen su calidad y seguridad. En el presente trabajo se evalúa su potencialidad para ser empleado como alternativa terapéutica.

**Métodos:** la droga vegetal (hojas frescas de *M. paniculata*), y su derivado galénico (tintura), fueron sometidas a un estudio farmacognóstico que incluyó la evaluación macromorfológica de las hojas de la especie, así como la determinación de sus índices numéricos de calidad y el tamizaje fitoquímico. Asimismo la tintura obtenida fue sometida a la evaluación de sus requisitos organolépticos, índices numéricos de calidad, análisis capilar, tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa delgada; desde el punto de vista preclínico, fue evaluada su seguridad a través de un estudio de toxicidad aguda dérmica y su capacidad antioxidante mediante las técnicas FRAP y DPPH.

**Resultados:** los parámetros de calidad establecidos fueron incluidos en la Guía de fitofármacos y apifármacos. Los resultados preclínicos obtenidos en la evaluación de la tintura fueron satisfactorios, ya que no generó efectos tóxicos, el análisis cualitativo DPPH evidenció su capacidad antioxidante y el análisis por FRAP mostró un poder antioxidante similar al de la vitamina C.

**Conclusiones:** los resultados alcanzados permiten garantizar que *M. paniculata*

sea una alternativa segura y eficaz para el uso en la terapéutica, como parte del arsenal de nuestro sistema de salud en Medicina Natural y Tradicional.

**Palabras clave:** *Murraya paniculata*, evaluación farmacognóstica, actividad antioxidante.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** *Murraya paniculata* (L.) Jack (Rutaceae) has been traditionally used in our country to treat pain and inflammation caused by osteoarticular disorders. However, there are no reports of studies about such important topics as its quality and safety. The present paper evaluates the potential use of *M. paniculata* as a therapeutic alternative.

**Methods:** a pharmacognostic study was conducted of the plant drug (fresh leaves of *M. paniculata*) and its galenic derivative (tincture) which included a macromorphological evaluation of the leaves, determination of numerical indices of quality and phytochemical screening. The tincture obtained was evaluated for organoleptic requirements and numerical indices of quality, and underwent capillary analysis, phytochemical screening and thin-layer chromatography. Preclinical safety was assessed in an acute dermal toxicity study. Antioxidant capacity was examined by FRAP and DPPH.

**Results:** the quality parameters obtained were included in the Guide of Phytomedicines and Apimedicines. Preclinical evaluation of the tincture was satisfactory, since no toxic effects were found. Qualitative DPPH analysis revealed antioxidant capacity and FRAP found an antioxidant power similar to that of vitamin C.

**Conclusions:** results confirm the status of *M. paniculata* as a safe, effective therapeutic alternative within the natural and traditional medicine stock of our country's health system.

**Key words:** *Murraya paniculata* , pharmacognostic evaluation, antioxidant activity.

---

## INTRODUCCIÓN

El uso y la comercialización de fitofármacos y productos naturales, con fines medicinales, muestran un crecimiento acelerado en los últimos años, lo cual se evidencia en el aumento significativo de la demanda mundial. Es preocupante que en muchos casos, no se cuenta con estándares mínimos de calidad necesarios, para garantizar su seguridad y eficacia, lo que representa un riesgo para la salud de sus consumidores.<sup>1</sup>

En este sentido y teniendo en cuenta que el resurgir del uso de los productos naturales en los países del tercer mundo, es fundamentalmente debido a una necesidad primaria en los sistemas de salud y en la estructura económica, de lo cual no queda exenta Cuba, es que se considera de suma importancia el estudio y la introducción en el arsenal fitoterapéutico de nuestra comunidad a *M. paniculata*, lo que redundaría en un beneficio social para nuestras áreas de salud.

---

*M. paniculata*, también conocida por los sinónimos de *Chalcas paniculata* L., *M. exótica* y por los nombres comunes de naranjo de jazmín, jazmín de Persia, mirto, murallera y café de la india, es reconocida tradicionalmente por sus propiedades astringentes, estimulantes, analgésicas, antiinflamatorias, entre otras.<sup>2-6</sup>

La evaluación farmacognóstica de la droga vegetal, así como, la determinación de los parámetros de calidad de su tintura, unido a la evaluación de su seguridad y capacidad antioxidante, constituyen los objetivos fundamentales del presente trabajo y contribuirán a la validación futura de dicha especie vegetal, como una alternativa terapéutica viable, a tener en cuenta dentro de nuestra Medicina Natural y Tradicional.

## MÉTODOS

### **Recolección, selección y establecimiento de los parámetros de calidad del material vegetal de *M. paniculata***

La especie vegetal, *M. paniculata*, fue recolectada en la Estación Experimental de Plantas Medicinales del municipio Alquizar, provincia Artemisa y registrada en el herbario del Jardín Botánico Nacional con el código de identificación HFC 85586 (HAJB). Para el desarrollo de la investigación se emplearon las hojas y tallos finos en estado fresco.

El establecimiento de los parámetros de calidad se llevó a cabo siguiendo las normativas de la OMS<sup>7</sup> y los procedimientos descritos por Miranda y Cuéllar.<sup>8</sup> Se realizó la evaluación macromorfológica y fueron determinados el contenido de agua (método azeotrópico), las cenizas totales, sustancias extraíbles (utilizando etanol al 70 % como menstruo) y fue desarrollado el tamizaje fitoquímico.

### **Obtención de la tintura y determinación de sus parámetros de calidad**

A partir del material vegetal fresco, se elaboró una tintura al 20 % por el método de maceración, por un período de 7 días, empleando etanol al 70 % como menstruo, según lo reportado por la NRSP 312<sup>9</sup> y Miranda y Cuéllar.<sup>8</sup> Los procedimientos descritos en dichas fuentes, fueron seguidos también, para la determinación de sus parámetros de calidad, realizándose cinco réplicas para cada experimento, siendo evaluados los requisitos organolépticos (olor, color), así como, pH, densidad relativa (picnometría), sólidos totales, índice de refracción, asimismo, se desarrolló el análisis capilar, tamizaje fitoquímico y la cromatografía en placa delgada.

En el caso específico del análisis cromatográfico fue desarrollo de forma ascendente, utilizando como fases móviles las mezclas de disolventes siguientes: acetato de etilo: metanol: agua (100:13,5:10) y hexano: acetato de etilo (7:3). Para el revelado de las placas fueron empleadas las condiciones siguientes: luz UV a 254 y 365nm de longitudes de onda, exposición a los vapores de amoníaco, y rociado con sulfato cérico y calor.

## Evaluación preclínica

*Ensayo de toxicidad aguda dérmica de M. paniculata.*

Se desarrolló la metodología descrita en la Guía de la OECD número 402 establecida en el año 1987.<sup>10</sup> Para ello se emplearon ratas procedentes del CENPALAB (Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio), se confeccionó un grupo tratado compuesto por 5 animales, que recibieron el producto en estudio. El ensayo tuvo una duración de 19 días (5 de aclimatación y 14 de ensayo). Se aplicaron 4ml por 200mg de peso corporal de las ratas, por vía dérmica y se evaluaron en ellos, signos clínicos y conductuales, así como, la ganancia de peso, entre otros elementos.

## Evaluación de la capacidad antioxidante de *M. paniculata*

Para la caracterización cualitativa y cuantitativa de la capacidad antioxidante de la tintura de *M. paniculata* se desarrollaron dos ensayos, un análisis DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) cualitativo, en CCD (Cromatografía en Capa Delgada) y el ensayo para la determinación del Potencial de Reducción Total (FRAP: Ferric Reduction Antioxidant Power). En el primer caso se emplearon las condiciones cromatográficas siguientes: placas de 10 x 5cm de gel de sílice F254nm, el desarrollo cromatográfico fue ascendente y la fases móvil acetato de Etilo: metanol: agua (100:13.5:10), el revelado se realizó mediante rociado con disolución de DPPH (0,2 %) en metanol y el tiempo de espera fue de 60 minutos. En la evaluación cuantitativa por FRAP las determinaciones se realizaron mediante un lector de placas de 96 pocillos, marca SUMA (Sistema ultramicroanalítico) con filtro 590 nm.

## RESULTADOS

### Parámetros de calidad del material vegetal de *M. paniculata*

En el análisis macromorfológico de las hojas y tallos de *M. paniculata*, pudieron describirse un grupo importante de elementos. Las hojas en su condición fresca presentaron forma aovadas, de borde entero, base aguda-obtusa, palminervias, con textura membranosa, superficie glabra, color verde oscuro por el haz y más claro por el envés, con un olor aromático y valores de 3,64 ± 0,49 cm de largo por 1,86 ± 0,34 cm de ancho. Por su parte los tallos en su condición fresca presentaron una consistencia herbácea, forma cilíndrica, con una superficie externa verde lisa y una superficie interna color crema claro, fibrosa, con pequeñas estrías.

En la tabla 1 se exponen los valores obtenidos, en porcentaje, para los parámetros físico-químicos evaluados en el material vegetal.

**Tabla 1.** Índices numéricos determinados al material vegetal de *M. paniculata*

Parámetros (%)	Resultados Valor medio/S
Contenido de agua	54,0/1,41
Sustancias solubles en etanol al 70%	44,20/1,25
Cenizas totales	2,55/0,17

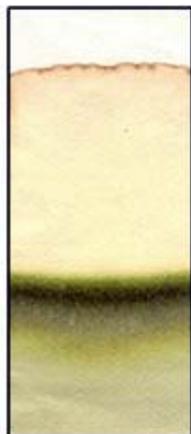
Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado evidenciaron la posible presencia en la droga vegetal de: compuestos grasos, lactonas, coumarinas, triterpenos; esteroides, saponinas, aminoácidos, sustancias reductoras; fenoles, taninos, flavonoides y la presencia dudosa de quinonas.

**Parámetros de calidad de la tintura de *M. paniculata***

Una vez obtenida la tintura, se le determinaron un conjunto de parámetros de calidad cuyos resultados se muestran en la [tabla 2](#). Adicionalmente, la [figura 1](#) muestra la imagen capilar resultante del análisis realizado a la tintura.

**Tabla 2.** Características físico-químicas de la tintura de *M. paniculata*

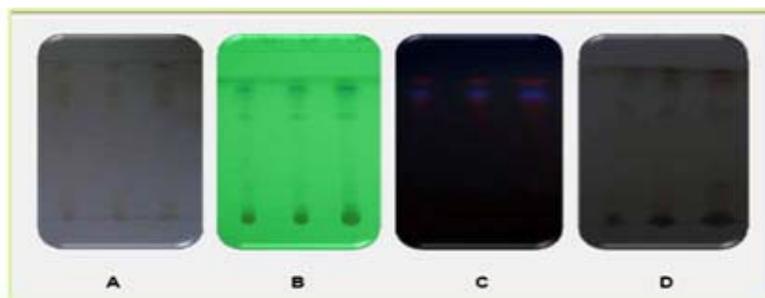
	Resultados/S
Olor	Característico
Color	Verde intenso
pH	6,97/0,03
Sólidos totales (%)	2,02/0,02
Índice de refracción	1,3588/0,001
Densidad relativa	0,9121/0,001
Contenido alcohólico (%)	65,05/1,43



**Fig. 1.** Análisis capilar de la tintura.

El tamizaje fitoquímico realizado a la tintura manifestó respuesta positiva de los ensayos efectuados para saponinas, aminoácidos, sustancias reductoras, taninos, estructuras triterpénicas y/o esteroides y coumarinas, resultando dudosa la presencia de quinonas y negativo para el resto de los ensayos.

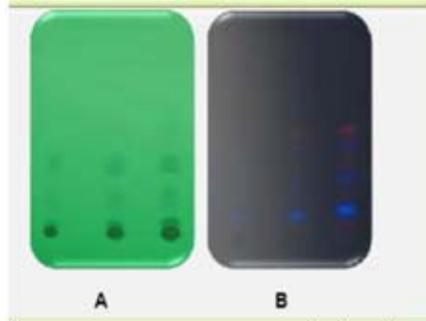
El análisis cromatográfico realizado, utilizando como fase móvil acetato de etilo: metanol: agua (100:13,5:10), evidenció un aumento en la intensidad de las manchas a la luz UV 254 nm y modificación de su color, especialmente dos cercanas al frente del disolvente con Rf de 0,91 y 0,88 que manifiestan color azul grisáceo y azul claro respectivamente, un comportamiento similar ocurre con la de Rf 0,71, la cual toma un color azul grisáceo; con el frente de disolvente corre una mancha de color pardo y cercano al punto de aplicación quedan retenidas unas manchas de color pardo. A la luz UV 365 nm, las manchas señaladas anteriormente cambian la coloración a azul violáceo, azul celeste y naranja-rojizo respectivamente, también aparece una mancha de color rojo que corre con el frente del disolvente. Frente a los vapores de amoníaco la mayoría de las manchas se tornan amarillas, especialmente las cercanas al punto de aplicación. Al rociar la placa con sulfato cérico y exponerla al calor, las manchas que se observaban al visible modifican su coloración. (Figura 2A)



**Fig. 2A.** Cromatogramas de la tintura de la *M. paniculata* en la fase móvil acetato de etilo: metanol: agua (100:13,5:10) (A: visible; B: luz UV 254 nm; C: luz UV 365 nm; D: Frente a sulfato cérico/calor).

La fase móvil constituida por hexano: acetato de etilo (7:3), permitió observar a la luz UV 254 nm gran cantidad de manchas fluorescentes en la primera mitad del

cromatograma. A 365 nm se visualizan manchas de fluorescencia azul y roja. Frente a los vapores de amoníaco y sulfato cérico/calor se evidencia un comportamiento similar al obtenido para la fase móvil anterior. (Figura 2B)



**Fig. 2B.** Cromatogramas de la tintura de la *M. paniculata* en la fase móvil. Hexano: Acetato de etilo (7:3) (A: luz UV 254 nm; B: luz UV 365 nm).

### Evaluación preclínica

#### Toxicidad aguda dérmica de *M. paniculata*

Tras el desarrollo de este ensayo y bajo las condiciones experimentales evaluadas, no fueron observados signos clínicos en ninguno de los animales sujetos al estudio, no provocando el producto ensayado, efecto alguno sobre la ganancia de peso de los mismos. Por otra parte y teniendo en cuenta las autopsias realizadas, tampoco se encontraron afectaciones macroscópicas en los órganos examinados.

#### Capacidad antioxidante de *M. paniculata*

La [figura 3](#) muestra el comportamiento cromatográfico resultante del análisis por DPPH, cualitativo, realizado a la tintura objeto de estudio.

La evaluación de la capacidad antioxidante mediante la técnica FRAP, permitió constatar un Potencial de Reducción Total de  $437,22 \pm 70,1\text{mM}$ , para la tintura de *M. paniculata* a una concentración de 6,2 mg/mL.

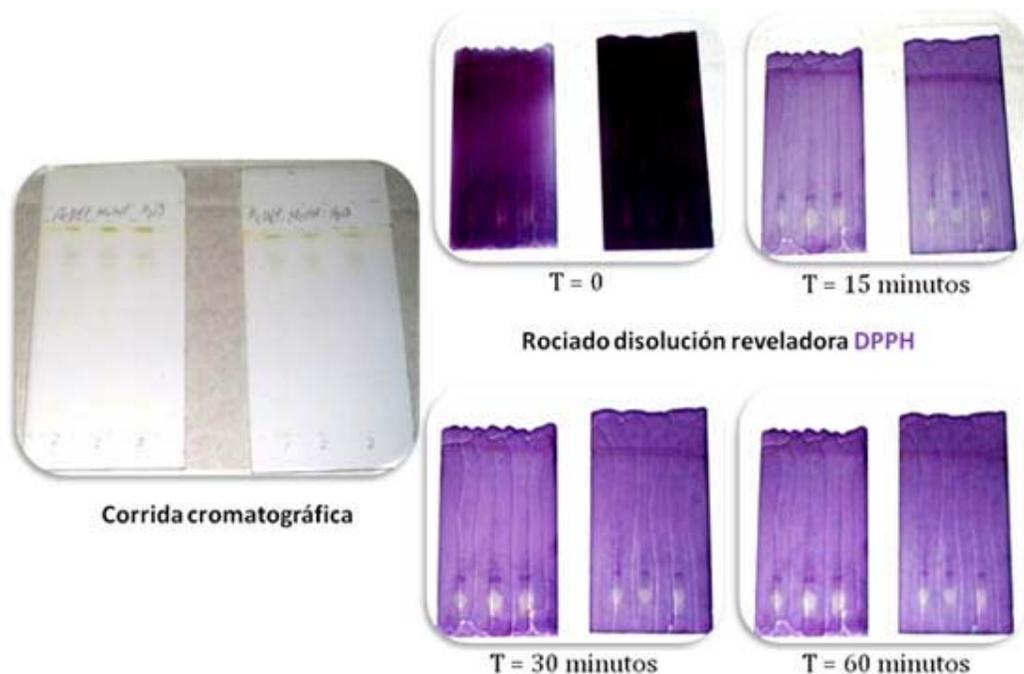


Fig. 3. Cromatoplasas resultantes del análisis por DPPH.

## DISCUSIÓN

Las observaciones realizadas durante el análisis macromorfológico de la droga vegetal permitieron establecer las características que se exponen para hojas y tallos de la especie, pudiendo constatarse que las mismas concuerdan en gran medida, con la información reportada en la literatura.<sup>2</sup> Asimismo, ha podido establecerse parámetros de calidad para dicha droga (Tabla 1), lo que constituye un aporte en cuanto al aseguramiento de la calidad de los fitopreparados que a partir de ella se elaboren.

Por otra parte y a pesar de que en estudios fitoquímicos efectuados a la especie se revelan la presencia de alcaloides, flavonoides, coumarinas, carotenoides; aceite esencial rico en cariofileno, nerolidiol, germacreno, entre otros, algunos de estos metabolitos no pudieron ser detectados a través de reacciones de tamizaje fitoquímico, aunque si se confirman de manera tentativa algunos compuestos como flavonoides y coumarinas referidos por Rout.<sup>11</sup>

En el caso específico del tamizaje fitoquímico realizado a la tintura, el mismo manifestó gran concordancia en cuanto a la respuesta positiva de los ensayos efectuados al material vegetal y por otro lado el análisis capilar brindó evidencias de la presencia de metabolitos con características ácidas, a partir de la respuesta observada frente a los vapores de amoníaco. Los parámetros de calidad establecidos han sido incluidos en la Guía de fitofármacos y apifármacos (Tabla 2), lo que constituye también una herramienta crucial en el control de calidad de las formulaciones que se desarrollen a partir de *M. paniculata*.

El análisis cromatográfico desarrollado (Figura 2A y B), permitió lograr una adecuada separación entre las manchas a lo largo de la placa, mostrando poca

complejidad al visible, en términos generales se puede señalar, que las dos fases móviles empleadas logran separar los componentes de la muestra según su polaridad, siendo notoria la existencia de metabolitos secundarios con fluorescencia azul, lo cual pudiera estar relacionado con la presencia de coumarinas.

Desde el punto de vista preclínico y en cuanto a la seguridad de la tintura, debe destacarse que los resultados del ensayo de toxicidad aguda dérmica evidenciaron que la administración de la misma no produce efectos tóxicos en los animales de experimentación. Por otro lado, la existencia en la muestra, de sustancias capaces de secuestrar radicales libres, se comprueba mediante el análisis cualitativo por DPPH (Figura 3), al producirse un cambio del color violeta o púrpura a color amarillo claro o blanco (en función de la cantidad de antioxidante presente en la misma). Así mismo, la decoloración de las manchas en el tiempo, evidencia una ligera proporcionalidad con la actividad secuestradora. El poder reductor determinado, superior a los  $404 \pm 22,1 \mu\text{M}$  determinado para la vitamina C, en este ensayo, constituye también un acercamiento a la potencialidad antioxidante de esta alternativa terapéutica.

Por último es necesario destacar, que la posible presencia en la droga vegetal y la tintura de *M. paniculata*, de taninos y flavonoides, entre otros metabolitos secundarios, podría estar asociada al potencial de reducción encontrado para la muestra evaluada y a su capacidad secuestradora de radicales libres. Asimismo, han sido presentadas evidencias por diversos autores, indicativas de que un gran número de plantas con flores, deben sus propiedades antiinflamatorias flavonoides capaces de inhibir un amplio espectro de enzimas y de secuestrar radicales libres. Estos resultados nos brindan un amplio camino de trabajo a seguir, en el empeño de validar esta alternativa terapéutica como una herramienta segura y eficaz de la Medicina Natural y Tradicional, para el alivio del dolor y la inflamación asociados a enfermedades osteomioarticulares.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harish P. Herbal drugs. Meeting report. Current Science. 2001;81(1):15-16.
2. Roig JT. Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos. Editorial Científico Técnica, La Habana, Cuba. 1988. p. 695.
3. Ghani A. Medicinal plants of Bangladesh: Chemical constituents and uses. 2nd ed. Dhaka: Asiatic Society of Bangladesh. 2003.p.309-310.
4. Dash GK, Patro CP, Maiti AK. Anti-inflammatory and analgesic activity of leaf essential oil from *Murraya koenigii* Spreng. Hamdard Medicus. 2004;47:22-26.
5. Rahman MdA, Hasanuzzaman Md, Uddin N, Shahid IZ. Antidiarrhoeal and anti-inflammatory activities of *Murraya paniculata* (L.) Jack. Pharmacology online. 2010;3:768-776.
6. Narkhede MB, Ajmire PV and Wagh AE. Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activity of etanol extract of *Murraya paniculata* leaves in experimental rodents. Research article. Internacional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2012;4(1):247-250.

7. WHO. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. WHO/PHARM/92.559. Ginebra. 1998.
8. Miranda MM, Cuéllar AC. Farmacognosia y productos naturales. La Habana: Editorial Félix Varela. 2001. p. 364-370.
9. NRSP 312. Norma Ramal. Medicamentos de origen vegetal. Extractos fluidos y tinturas. Métodos de ensayo. 1992. p. 15-19.
10. OECD # 402. Organización para la Cooperación y el Desarrollo-Económicos Guidelines for the Testing of Chemicals. París. 1987.
11. Rout PK, Rao YR, Sree A, Naik SN. Composition of essential oil, concrete, absolute, wax and headspace volatiles of *Murraya paniculata* (L.) Jack flowers. Flavour Fragr J. 2007;22:352-7.

Recibido: 18 de junio 2013.

Aprobado: 15 de diciembre de 2013.

*MSc. Celia Magaly Casado Martín* . Dirección particular: Calle Río # 21 e/ Rosalina y Las Palmas. Reparto El Roble. Guanabacoa. La Habana. Correo electrónico: [celiamcm@ifal.uh.cu](mailto:celiamcm@ifal.uh.cu) Teléfono: 7977883