UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS AMÉRICAS

CARRERA DE FARMACIA

“ANALISIS DE LAS PROPIEDADES EXPECTORANTES DEL EUGENOL EXTRAIDO APARTIR DE LA PLANTA SYZYGIUM AROMATICUM”

Tesis para optar por el grado de Licenciatura

Olman Picado Flores

Tutor:

Licda. Dra. Melissa Martínez Domínguez

Lector:

Dra. Gloria Ledezma Gutiérrez

San José, 2017

CONTENIDO

CAPITULO I 16
Planteamiento del problema 17
Hipótesis 19
Objetivos 19
Objetivo general 19
Objetivos específicos 19
Justificación 20
Proyecciones 21
Antecedentes 22

CAPÍTULO II 24
El sistema respiratorio 25
Infecciones respiratorias 33
La tos 27
Tos aguda 28
Tos subaguda 28
Tos crónica 29
Expectoración 31
Aceites esenciales 36
Syzygium aromaticum 40
Descripción de la planta 42
Clasificación 43
Usos y propiedades 44

Uso del eugenol como expectorante 46
Toxicidad 47
Destilación 48
Destilación fraccionada 49
Destilación por arrastre de vapor 50
Espectroscopia 51
El espectro infrarrojo 54
Interpretación del espectro 55

CAPÍTULO III. 58
Marco metodológico ..... **¡Error! Marcador no definido.**
Enfoque 59
Diseño 59
Muestra de la investigación 59
Objeto de estudio 65
Variables 65
Procedimiento de recolección e instrumentos 66
Materiales y equipo 67
Procedimiento del destilado, extracción y aislamiento de la muestra 67
Pruebas de identificación del aceite esencial del clavo de olor 71
Prueba de Dragendorff 72
Prueba de cloruro férrico 72
Prueba de permanganato de potasio 73
Identificación del eugenol presente en el aceite esencial de clavo de olor mediante espectroscopia infrarroja 75

Evaluación cualitativa del eugenol como expectorante en moco hecho a base de linaza 75
Presupuesto de la investigación 76

CAPÍTULO IV 77
Análisis de resultados 77
Extracción del aceite esencial de la planta Syzygium aromaticum mediante arrastre por vapor 78
Caracterización del aceite esencial de Syzygium aromaticum 79
Caracterización mediante el reactivo de Dragendorff 80
Análisis mediante el reactivo de cloruro férrico (III) 81
Prueba de permanganato de potasio 82
Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite esencial del extracto del clavo de olor 82
Evaluación cualitativa del eugenol como expectorante 86

Capítulo V 91
Conclusiones 92
Recomendaciones 93

Índice de figuras

Figura 1……27
Figura 2……30
Figura 3……31
Figura 4……37
Figura 5……37
Figura 6……38
Figura 7……39

Figura 8……..……40
Figura 9……..……47
Figura 10……48
Figura 11……49
Figura 12……51
Figura 13……52
Figura 14……52
Figura 15……53
Figura 16……57
Figura 17……58
Figura 18……58
Figura 19……59
Figura 20……60
Figura 21……61
Figura 22……65
Figura 23……66
Figura 24……67
Figura 25……68
Figura 26……70
Figura 27……71
Figura 28……76
Figura 29……77
Figura 30……78
Figura 31……79
Figura 32……80
Figura 33……81
Figura 34……84
Figura 35……85

Figura 36……86
Figura 37……87

Índice de tablas

Tabla 1……41
Tabla 2……..…62
Tabla 3……..…76

CAPITULO I

Planteamiento del problema

Los problemas respiratorios son afecciones muy frecuentes que pueden complicar de manera sustancial al paciente, afectando su salud y calidad de vida de manera aguda o bien de forma crónica, e inclusive conllevar a severas complicaciones de salud. Según el foro de las Sociedades Respiratorias Internacionales (2017), estas patologías representan una elevada carga sanitaria a nivel global, donde cinco de estas enfermedades son las causas más frecuentes de muerte en todo el mundo.

El Foro de las Sociedades Respiratorias Internacionales (2017), resalta una estimación donde se estimó que 65 millones de personas habían adquirido algún tipo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), los cual posicionó a estas enfermedades como la tercera causa de muerte a nivel mundial y catalogó el asma como la enfermedad crónica más habitual en niños con alrededor de 334 millones de personas con este padecimiento.

Este foro expone que los pulmones son órganos vitales expuestos a infecciones y padecimientos, originados por elementos externos como químicos, agentes infecciosos y la contaminación que pueden poner en riesgo su correcto funcionamiento y, por ende, la salud y calidad de vida de las personas. Alrededor del mundo cuatro millones de personas fallecen de forma prematura por año, como consecuencia de las enfermedades respiratorias, esto según datos obtenidos del Foro de las Sociedades Respiratorias Internacionales (2017), en su informe global más reciente.

Entre los síntomas más habituales de patologías respiratorias se encuentran la tos y la expectoración. Como mencionan Pacheco, Diego, Domingo, Lamasd, Gutiérrez, Naberanf, Garriguesg y Vime (2015), la tos es un síntoma habitual en el ejercicio médico ambulatorio y un síntoma consustancial a la protección del aparato respiratorio. Esta manifestación puede clasificarse dependiendo del tiempo que los pacientes la posean: si la tos persiste de tres a cuatro semanas se clasifica como una tos aguda; si lo hace durante ocho semanas o más, se cataloga como tos crónica.

Según Castro, Monge, Vera, Puppo, Céspedes y Villaró (2014), la tos consiste en un mecanismo natural de defensa de las vías aérea inferiores que ejecuta dos funciones elementales:

conservar las vías respiratorias libres de agentes extraños y eliminar el exceso de secreciones producidas en esta zona del sistema respiratorio.

Sánchez et al. (2009) fundamentan que la expectoración consiste en la expulsión a través de la boca de sustancias producidas en las vías respiratorias inferiores. Comúnmente el material expulsado se mezcla con saliva, por lo que se debe distinguir de los contenidos gástricos. El esputo resulta ser el elemento expelido, el cual posee una consistencia mucosa e incolora, con una textura gelatinosa. En ocasiones, el esputo está compuesto de sustancias con un alto grado de viscosidad que tiende a formar obstrucciones que dan la sensación al paciente de que se puede ahogar. Al recolectar información al respecto, es importante indagar sobre su inicio, el tiempo que el paciente lo ha presentado, la cantidad, el color y si posee un olor peculiar o se observa algún elemento sólido.

Gasteiz (2012) menciona en su investigación sobre antitusígenos y mucoliticos que han sido cuantiosos los intentos para encubrir la tos, ya que este síntoma resulta ser un síntoma engorroso que altera el descanso e incide de forma negativa la cotidianeidad de las personas. En la antigüedad se utilizaban productos naturales para el alivio de síntomas como la tos y en el siglo XVIII se comenzó a usar fármacos especializados con características antitusígenas como la quinina. La autora expone que a partir del año 1827 se realizan estudios en los cuales la morfina y la codeína comenzaron a utilizarse para el tratamiento de la tos. Estos fármacos presentaron una tendencia a generar dependencia al paciente, por lo cual, se buscaron alternativas como el dextrometorfano y la cloperastina, los cuales se empezaron a utilizar a partir del año 1960. No obstante, al pasar medio siglo de uso de estas alternativas antitusígenas, no ha sido posible argumentar su eficacia como terapia y la mejoría de estas patologías se justifica por la evolución natural de la enfermedad.

En la actualidad, el uso de fármacos para la eliminación de la tos se encuentra en crecimiento. Ante esta situación se plantea la necesidad de investigar nuevas alternativas antitusígenas de productos naturales como una solución al elevado costo de los fármacos en el mercado y la creciente demanda que tienen estos productos.

Actualmente, se investigan nuevas alternativas de tratamientos antitusígenos, debido al creciente interés de la población por obtener productos con un origen más natural, con menos efectos secundarios y con un valor económico menor a los que ya se encuentran en el mercado.

La planta Syzygium aromaticum, conocida comúnmente como clavo de olor, al poseer propiedades terapéuticas, permite formular la hipótesis de que, mediante la extracción del eugenol como metabolito activo del material vegetal,— esta pueda poseer una actividad expectorante y aporte a la industria farmacéutica y medicina natural un respaldo científico de un beneficio novedoso que ofrece la planta. Ello reduciría el costo de producción de fármacos expectorantes, debido a que la obtención y elaboración de productos a partir de este extracto disminuye los gastos del proceso~~s~~ de extracción, lo cual permite ofrecer al paciente un precio menor en el producto final.

Hipótesis

Propiedades expectorantes de eugenol extraído de la planta Syzygium aromaticum.

Objetivos

Objetivo general

Analizar la propiedad expectorante de un extracto de eugenol a partir de la planta Syzygium aromaticum.

Objetivos específicos

- Realizar la extracción del principal metabolito activo del eugenol, utilizando el método de arrastre por vapor.
- Analizar mediante una identificación cualitativa las diferentes estructuras funcionales más relevantes presentes en el extracto.
- Identificar el componente principal del aceite esencial de Syzygium aromaticum al comparar respecto de un patrón de eugenol mediante espectroscopia IR.
- Verificar mediante un análisis cualitativo las propiedades expectorantes del eugenol.

Justificación

La OMS (2014) clasifica a las enfermedades respiratorias como la segunda causa de muerte prematura a nivel mundial, donde un 90% de las muertes por EPOC se producen en países de bajos y medianos ingresos, donde las condiciones socioeconómicas crean un terreno fértil para el de incremento de estos padecimientos. En el caso de Costa Rica, un estudio realizado por La Nación (2017) argumenta que las enfermedades respiratorias ocasionaron la muerte de 112 personas en el año 2016 y ratifica que la contaminación en el Gran Área Metropolitana implica gastos millonarios por muertes y males respiratorios.

Por lo tanto, ante los datos suministrados por las estadísticas mencionadas, la industria farmacéutica ha mostrado interés por la formulación de preparados farmacéuticos que combatan estas patologías. Así mismo, las personas muestran un interés por tener alternativas a nivel farmacológico de preparados antitusivos y expectorantes que combatan la tos producida por enfermedades del tracto respiratorio.

Ante la gran oferta que ofrece la industria farmacéutica de productos antitusivos y expectorantes, surge la necesidad de encontrar una nueva alternativa que tenga un origen de preparación más natural y que pueda cubrir todas las necesidades del paciente sin que posea alguna contraindicación que disminuya el efecto terapéutico deseado ni altere o provoque algún inconveniente en otras patologías que padezca el paciente. También, ante la demanda en el mercado, la cual va en aumento, se plantea dar una propuesta de un principio activo de bajo costo para formular fármacos que sean accesibles para cualquier extracto social y nivel adquisitivo.

La presente investigación ayuda a encontrar una alternativa ante los fármacos tradicionales que, en su gran mayoría, suelen tener precios elevados y que son elaborados con moléculas que pueden tener reacciones adversas y efectos secundarios con mayor facilidad que una molécula extraída de un origen vegetal. El uso del eugenol en la industria farmacéutica se ha orientado en mayor grado a especialidades odontológicas, por su propiedad supresora del dolor, ya que posee actividad anestésica; además, está presente en formulaciones higiénicas orales y como protector dental.

En los últimos años se han realizado investigaciones en las cuales se descubrió su uso como expectorante y se demostró su potencial farmacéutico para elaborar tratamientos que contrarresten trastornos a nivel de vías respiratorias. Por lo tanto, el desarrollo de preparados

farmacéuticos a partir de este componente es de gran interés para la comunidad de industrias farmacéuticas, tanto por sus beneficios terapéuticos como económicos.

La realización de una investigación como esta, donde se muestra la actividad expectorante del eugenol, sirve de respaldo para futuros trabajos que permita analizar y comparar los resultados obtenidos con otros estudios, para así crear una base científica que pueda respaldar una formulación de preparados farmacéuticos que incremente la oferta de fármacos con un efecto seguro para el tratamiento de afecciones respiratorias.

La Nación (2017) afirma que los casos de afecciones respiratorias han ido en ascenso en los últimos años en Costa Rica como consecuencia de un aumento en los factores de riesgo, tales como una población cada vez más longeva, el aumento de la contaminación, malos hábitos alimenticios que originan enfermedades cardiacas, diabetes y la obesidad mórbida. El factor de riesgo que corresponde a la edad, seguirá aumentando ya que nuestro país cuenta con un sistema de salud que permite a los cuidados tener una expectativa de vida comparable con países desarrollados.

En Costa Rica, una parte de los medicamentos son importados por grandes casas farmacéuticas internacionales, lo cual repercute en el costo final en que la población adquiere los productos en el mercado nacional. Esta investigación permitirá demostrar que el país cuenta con materias primas naturales de las cuales es posible extraer metabolitos activos para la elaboración de fitofármacos, con un costo menor para los pacientes, dado que el proceso de formulación es menor al contar con el principio activo en el territorio nacional.

Proyecciones

- Se pretende obtener el extracto orgánico de eugenol a partir del método de arrastre por vapor empleando el clavo de olor como material vegetal.
- Se probará la propiedad expectorante del extracto de eugenol, mediante un análisis cualitativo de los componentes presentes en el extracto.

- Se determinará la actividad expectorante mediante un análisis de viscosidad por medio de pruebas que corroboren su eficacia.

Antecedentes

Para la presente investigación se utilizaron bases de datos como Pubmed, revista Subcielo, BINASS y bibliotecas públicas, con el fin de obtener la información requerida para la investigación.

Debjit, Akhilesh y Amit (2012) mencionan el uso del aceite esencial del Syzygium aromaticum en los clavos de olor como especia en la India. También mencionan que este puede tener la capacidad de colaborar con la salud digestiva, como purificante de sangre, antinflamatorio y ayudante al sistema inmune. Así mismo, citan su efectividad al aliviar síntomas de reumatismo, lumbalgia y dolor dental.

Hamini-Kadar, Handane, Boutoutaou, Kihal y Henni (2014) efectuaron una investigación sobre la actividad antifúngica del clavo de olor, en la cual observaron que su aceite esencial posee terpenos, terpenoides y derivados alifáticos y aromáticos que le otorgan una actividad bactericida, antiviral y fungicida. Los autores mencionan que se han publicado varios trabajos que confirman un efecto farmacológico del aceite esencial y sus principales compuestos sobre hongos patógenos.

Pulikottil y Nath (2015) realizaron una revisión sobre las características farmacológicas del clavo de olor, donde mencionan que el eugenol es un potente anestésico local, de bajo costo y relativamente fácil de usar. También comentan que este componente no necesita una concentración elevada para realizar este potente efecto anestésico.

López-Malo y Aguilar-Gonzales (2013) argumentan que el clavo de olor posee un efecto repelente contra especies de insectos como el mosquito de la fiebre amarilla (Aedes aegypti), el mosquito vector de la filariasis (Culex quinquefasciatus) y el mosquito vector de la malaria (Anopheles dirus). Este se probó a diferentes concentraciones con aceite de soya, para después exponer a los insectos y así evaluar el efecto de dichas soluciones del extracto de clavo de olor. Los autores también mencionan que el extracto de esta especie se ha catalogado por sus facultades medicinales como estimulante contra trastornos digestivos y diarrea.

Apparecido, Sartoretto, Schmidt, Caparroz, Bersani-Amado y Kenji (2009) desarrollaron un estudio en animales para determinar la capacidad antinflamatoria del aceite esencial de Syzygium aromaticum luego de administrarlo por vía parenteral y compararlo respecto a fármacos utilizados comúnmente tales como la Indometacina y Celecoxib. Estos autores resaltan en su estudio el uso del eugenol como antiséptico y analgésico; además de ser activo contra bacterias asociadas a caries dentales, incluyendo un gran número de bacterias y virus. Además, mencionan su uso en la industria de cosméticos, perfumería, farmacia y como aditivo en las comidas, como fuente de muchos procesos a nivel industrial.

Kumar y Eko (2012) mencionan en su estudio realizado en Malasia que el eugenol, a bajas concentraciones, se usa como agente antioxidante y antinflamatorio; mientras que, a elevadas concentraciones, tiene la capacidad de ser un pro-oxidante y causar la generación de daño tisular por consecuencia de radicales libres. Aunado a lo anterior, se mencionan las propiedades anticancerígenas que posee por su mecanismo molecular que induce a la apoptosis en el melanoma, tumores en piel, osteosarcoma, leucemia, entre otros.

Hamri, Rhazri, Hafid, Ouchetto,– Hajbi y Khouili (2013) destacan el uso que se le da al aceite del clavo de olor como una hierba medicinal que se ha utilizado para la epilepsia y el olvido en Asia oriental durante siglos; al igual que su uso como materia prima para la elaboración de fármacos.

Debjit, Akhilesh y Amit (2012) realizaron un estudio acerca del uso del clavo de olor desde la era antigua en India y China, donde se utilizaba para curar tratamientos dentales. En este estudio se dedujo que el clavo de olor reduce de manera sustancial el dolor dental. También se identificaron sus propiedades antisépticas siendo un protector ante infecciones.

A nivel nacional, Xatruch (2015), de la Universidad Internacional de las Américas, realizó una investigación a partir del aceite esencial extraído de la planta Syzygium aromaticum para uso tópico en el tratamiento del acné. En la Universidad Latina de Costa Rica no se encuentran estudios acerca del uso del eugenol. En la Universidad Iberoamericana no se encuentran estudios con la planta del clavo de olor o el uso del eugenol.

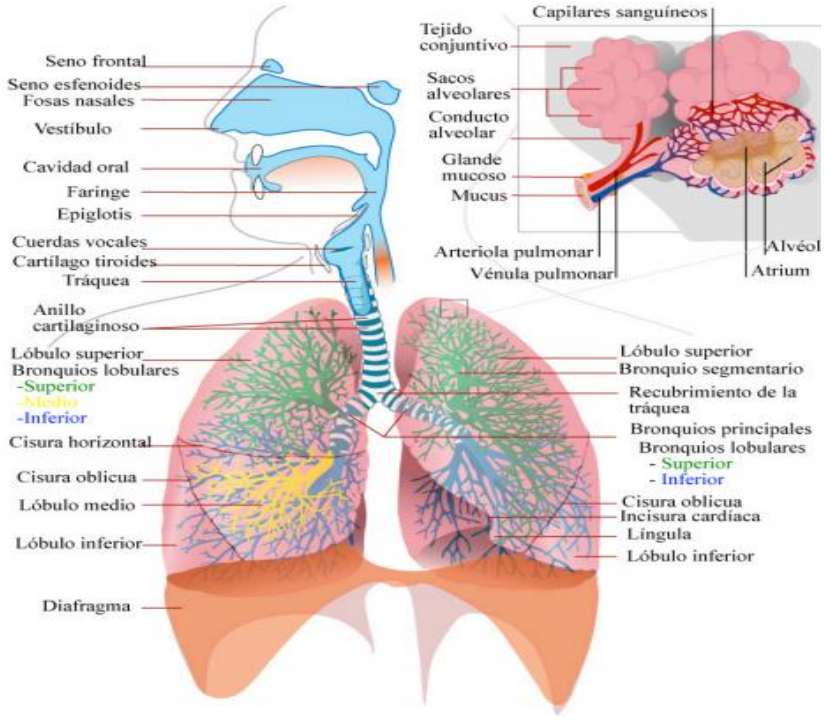
CAPÍTULO II

El sistema respiratorio

Las células que constituyen el cuerpo humano necesitan del oxígeno para tener energía y liberar el dióxido de carbono (Martínez, 2012). El sistema respiratorio dota de oxígeno a las moléculas encargadas de transportarlo a diferentes partes del cuerpo. Este intercambio de gases se conforma de tres fases:

- **Ventilación pulmonar:** Esta fase ocurre cuando el aire ingresa a los pulmones y luego es expulsado de los mismos.
- **Respiración externa:** En esta etapa del proceso se lleva a cabo el intercambio de los gases entre los pulmones y la sangre.
- **Respiración interna:** Se le conoce también como respiración celular, debido a que las células que componen los tejidos intercambian, de forma recíproca, el oxígeno por el dióxido de carbono

Figura 1. Aparato respiratorio



Fuente: Martínez, 2012.

Martínez J (2012) menciona que el aparato respiratorio se conforma de un grupo de órganos que son los que hacen posible el intercambio de gases. Estos se clasifican en vías respiratorias superiores e inferiores. Las superiores se componen por la nariz, la faringe y demás estructuras; mientras que las inferiores se componen por la laringe, la tráquea, los bronquios y los pulmones.

Arce Y (2014) en su publicación Aparato respiratorio y patologías asociadas a la función respiratoria: Asma, describe los órganos del sistema en mención de la siguiente manera:

Nariz: Esta estructura anatómica tiene como función la entrada y salida del aire a las vías respiratorias inferiores, también se involucra en la acción del lenguaje verbal.

Faringe: la faringe forma parte tanto del sistema respiratorio como del digestivo, esta interviene en la fonación. Esta posee una estructura tubular favoreciendo el paso del aire a través de ella.

Laringe: posee una forma triangular que se encuentra formada por cartílagos ensamblados entre sí. En este órgano se produce la voz y participa en la fonación.

Tráquea: es un tubo que se compone por cartílagos en forma de "C", esta estructura está formada por dos bronquios principales.

Bronquios: Los bronquios tienen una estructura incompleta la cual a medida que van incorporándose a los pulmones se van ramificando. Todos los bronquios van a componer las vías respiratorias de conducción, con la función de transportar el aire hacia donde se lleva a cabo el intercambio de gases.

Alveolos: posterior a los bronquios terminales se encuentran los bronquiolos respiratorios siendo este el lugar donde inicia el intercambio de gases.

La autora menciona que una de las funciones más importantes de este sistema es el intercambió de gases, donde el aire aspirado llega a la sangre y el dióxido de carbono producido por las células es expulsado para su eliminación. Este sistema de intercambio gaseoso ocurre mediante una diferencia de presiones, que facilita este proceso.

La tos

García y Sibila (2013) mencionan que el sistema respiratorio se encuentra sumamente expuesto con el exterior, debido a que para poder realizar el proceso de la respiración donde se lleva a cabo el intercambio gaseoso, el organismo está en contacto con aproximadamente de 10 000 litros de aire, en los cuales pueden existir una gran cantidad de microrganismos y sustancias nocivas que pueden afectar los órganos que conforman el sistema respiratorio.

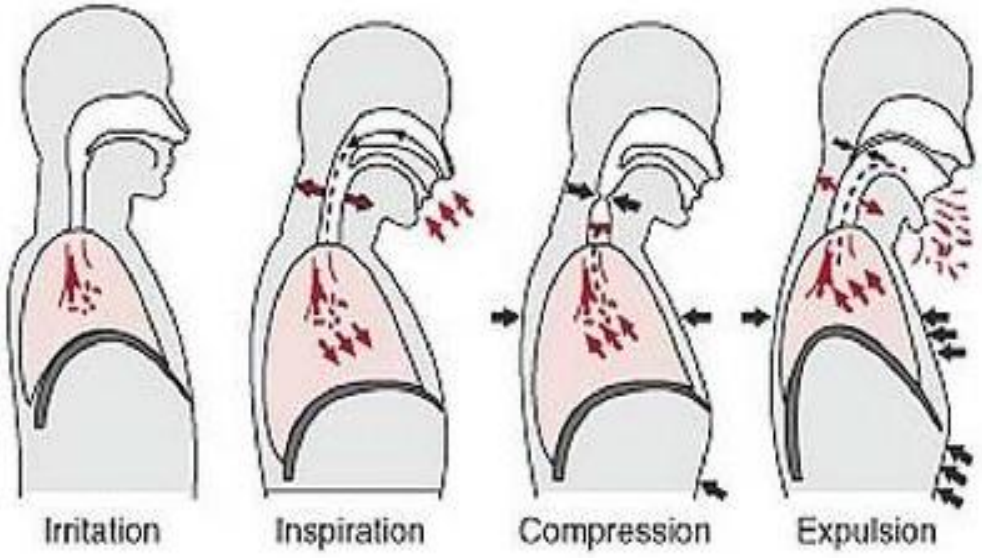
Los autores señalan que existen mecanismos que se encargan de la defensa de los pulmones en el cuerpo ante distintos factores externos que pueden poner en riesgo la salud de estos órganos vitales y el sistema al cual pertenecen. Estos mecanismos tienen como función principal expeler de la vía aérea patógenos o sustancias que hayan ingresado en el proceso de la respiración. Así mismo, la primera barrera de protección del aparato respiratorio se conforma por los diversos órganos respiratorios, la tos y el sistema mucociliar.

Así mismo, definen la tos como un mecanismo reflejo que consta de una espiración que ocurre de forma violenta, con el fin de proteger a los pulmones, eliminando de las vías respiratorias excreciones y patógenos externos que puedan ser altamente peligroso; además, ante una excesiva cantidad de moco permite liberar las vías respiratorias de las secreciones acumuladas (García y Sibila, 2013). El mecanismo de la tos inicia con la irritación que se da en sus receptores; posteriormente, es enviada al tronco cerebral una señal transmitida por el nervio vago y como réplica se da una estimulación en los nervios del diafragma, los músculos intercostales y la laringe, que propicia la potencia explosiva que produce la tos.

Según Torres, Monge, Vera, Puppo, Céspedes y Vilaró (2014) la tos consta de tres fases:

- Fase inspiratoria: consiste en inspirar la mayor cantidad de aire.
- Fase compresiva: consiste en el cierre de la glotis y la urgencia del aparato respiratorio por la contracción de los músculos del abdomen.
- Fase expulsiva: cuando el aire es expulsado de forma violenta.

Figura 2. Reflejo de la tos



Fuente: Biocuriosidades, 2017.

Lamas, Ruiz y Máiz (2014) mencionan que, de acuerdo con su tiempo de duración, la tos se clasifica como tos aguda, tos subaguda o tos crónica.

Tos aguda

Este tipo de tos suele aparecer de forma espontánea y puede prolongarse por un lapso de dos semanas. En ocasiones, se dar por la inhalación de un cuerpo extraño o alguna infección de tipo bacteriana.

Tos subaguda

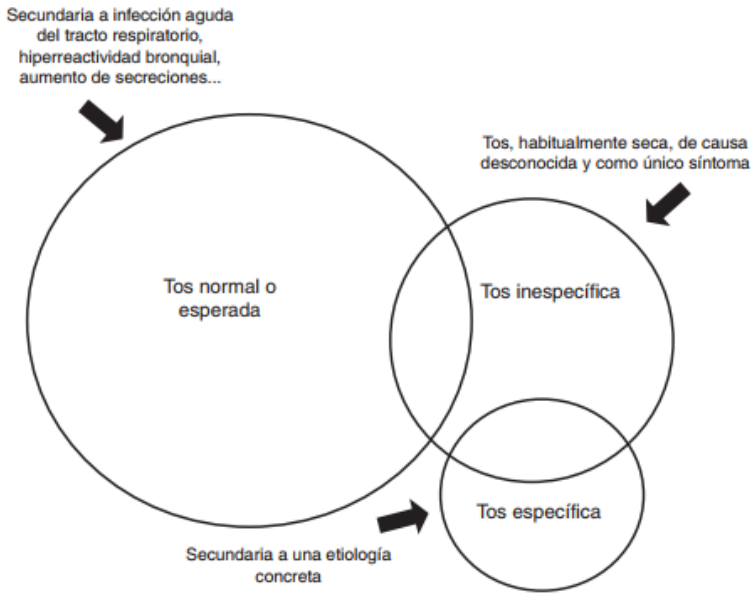
La tos subaguda se da cuando el tiempo de duración de la tos aguda se prolonga sin alcanzar las características de una tos crónica. En la mayoría de los casos, se da por una infección

provocada por una bacteria que prolonga su tiempo o se solapan unas con otras. Si la tos no desaparece se cataloga como una tos crónica.

Tos crónica

La tos crónica se diagnostica cuando su periodo ha superado las cuatro semanas. Este tipo de tos se puede clasificar en tres grupos: tos normal o esperada (el motivo de su causa es conocido por lo que no es necesario un estudio específico), tos especifica (presenta síntomas y signos que indican después de un estudio específico que existe una causa que la ocasiona) y la tos inespecífica (no presenta síntomas o signos que indiquen un diagnóstico y usualmente se manifiesta con una tos seca).

Figura 3. Clasificación de tos crónica



Fuente: Chang AB, 2003**.**

Nota, Pelliteri, Ingratta, Baudino, Cadile, Lühning y Unsain (2015) describen que la causa de la tos se debe a patologías respiratorias, cardiovasculares, mediastínicas, del Sistema Nervioso Central y miscelánea.

Respiratorias: son conocidas como enfermedades de origen respiratorio la bronquitis aguda y crónica, rinitis, tosferina, asma bronquial, bronquiectasias, carcinoma broncogénico, neumonías infecciosas, tuberculosis, y neumotórax.

Cardiovasculares: entre las enfermedades cardiovasculares que pueden producir tos se encuentran el agrandamiento de la aurícula izquierda, la insuficiencia ventricular izquierda, la embolia pulmonar y la pericarditis.

Mediastínicas: la enfermedad de Hodgkin, bocio intratorácico, tumores neurales y teratoma son también causantes de tos.

Sistema Nervioso Central: la tos psicógena.

Miscelánea: enfermedad del oído y reflujo gastroesofágico.

Los autores consideran que para calificar el síntoma de la tos se debe tomar en cuenta como primer punto cuándo inició, para determinar si es aguda o crónica. En segundo lugar, se debe conocer cuándo aparece con el fin de observar si se produce cuando la persona está en reposo o en actividad y si se da en horas del día o la noche. En tercer lugar, es necesario determinar cómo es la tos (si es seca o húmeda, su intensidad, su tono, frecuencia). Como cuarto punto, es importante identificar los factores que la agravan, ya sea cambios de temperatura, la presencia de polvo, fuertes fragancias o el humo que emana de los cigarros.

Como quinto factor, se debe tomar en cuenta cuáles factores la atenúan, ya sea medicación o el reposo. En sexto lugar, es importante visualizar la existencia de otros síntomas que acompañen la tos, por ejemplo, si el paciente presenta fiebre, pérdida de peso, dolor en el tórax, entre otros. Como sétima recomendación, se debe tener presente si existe algún factor ambiental que la ocasione y, como último punto, si la persona presenta antecedentes personales que la causen.

La tos puede aparecer como efecto secundario por diferentes mecanismos de acción de fármacos que trabajan a nivel cardiovascular. García S y Parodp R (2010) en su publicación Tos y angioedema en pacientes tratados con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, describen a los IECAS como medicamentos de primera línea ante diferentes patologías, no obstante este tipo de fármacos puede provocar como efecto secundario una tos seca no productiva que generalmente se va a presentar durante el tratamiento con dicha familia de fármacos. Esta tos se puede ver acompañada con una sensación de cosquilleo o de malestar a nivel de garganta.

Los autores mencionan que se nota una mayor incidencia con este efecto secundario con los pacientes que son tratados por una insuficiencia cardiaca. La intensidad de la tos comúnmente se vuelve de leve a moderada que obliga a descontinuar el tratamiento, debido a esto es difícil precisar el porcentaje de pacientes que abandonan el tratamiento.

El ministerio de salud y protección social de Colombia (2013) en su informe destacan que la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, se caracteriza por una limitación de la entrada de aire hacia las vías respiratorias inferiores, el cual puede ser progresivo y se asocia con una respuesta inflamatoria delas vías aéreas. El EPOC puede presentar como síntomas la tos crónica, la expectoración crónica y la disnea.

Expectoración

Martin S y Benedí J (2014) hablan acerca de la secreción bronquial como un componente importante para la protección de las vías aéreas frente agentes infecciosos, las cuales pueden estar presentes en la aspiración del aire. Este moco denominado también esputo atrapa las partículas y las depura mediante la expectoración.

Este moco posee ciertas propiedades físicas que le permiten atrapar las partículas y también poder ascender por las vías respiratorias en contra de la gravedad. La viscoelasticidad de esta secreción depende principalmente del contenido de agua y de las glucoproteinas o mucinas presentes en el esputo, no obstante los puentes de hidrogeno cumplen la función de ser viscosantes en la muestra bronquial.

La secreción se dispone sobre la mucosa en dos capas, la capa más superficial posee la mayor parte de glucoproteinas, y la capa más profunda que está constituida mayoritariamente por agua y se encuentra en contacto con el polo apical de las células epiteliales

Según Nota et al. (2015), la expectoración es la expulsión a través de la tos de elementos fluidos o semifluidos que se originan en los pulmones o vías respiratorias. Un adulto genera de 15 a 100 ml de excreción bronquial durante el día, la cual no es del todo absorbida por la mucosa de los bronquios. Además, una gran parte es enviada a la tráquea, por medio del epitelio ciliado para posteriormente ser deglutida.

Muniagurria y Libman (2015) mencionan que la sustancia excretada está formada por mucina, agua, proteínas en menores cantidades, la descamación de células y por macrófagos, y cuando se sobre pasan sus cantidades se produce la tos y la expectoración para su eliminación. Las características del esputo son relevantes: color, consistencia, olor, cantidad, presencia de sangre, pus u otras sustancias permiten dar un diagnóstico y a su vez proporcionar un adecuado tratamiento.

Nota et al. (2015) expresan que, de acuerdo con la observación macroscópica del esputo y de las propiedades que presente, la expectoración se clasifica de la siguiente manera:

Mucosa

Se asemeja a una clara de un huevo, con un color de transparente a blanco y se da cuando existe un incremento de la excreción en los bronquios.

Serosa

Su consistencia es muy fluida. En ocasiones presenta espuma y tiende a ser más homogénea. Se presenta debido a trasudación serosa alveolar.

Purulenta

Su composición es más viscosa, no es muy fluida y resulta ser opaca con una tonalidad verdosa y amarillenta. Está constituida por pus cuando se presentan infecciones y supuraciones broncopulmonares.

Mucopurulentas

Este tipo de esputo es plano y tiene una forma redonda, se conoce como esputo numular. Es opaca, con una coloración entre verde y amarillo.

Sanguinolenta

El esputo presenta rastros de sangre y se conoce como esputo hemoptoico.

De acuerdo con los autores para poder clasificar la expectoración es necesario conocer:

1. **Desde cuando el paciente presenta la expectoración:** esto permite identificar el tiempo de duración del cuadro en el paciente, para conocer si este es reciente o antigua.
2. **En qué momento aparece:** es fundamental conocer si la expectoración se produce en horas de la mañana o de la noche, y conforme a las actividades que desempeña el paciente.
3. **Cómo es el esputo:** identificar su color, olor y consistencia muestra qué tipo de enfermedad puede estar produciendo la expectoración.

   Color: cuando la expectoración es blanquecina da indicios de asma bronquial; si es de color amarillo, su causa se puede deber a infecciones; si su color es más verdoso, indica posibles procesos purulentos; si más bien presenta una tonalidad herrumbrosa, proporciona información de un caso de neumonía; ~~y~~y, por último, si su color es más rosáceo, es posible la existencia de un edema agudo de pulmón.

   Olor: la expectoración puede no tener un olor determinado, o bien presentar un olor fétido que indique una patología como abscesos e infecciones.

   Consistencia: puede presentar una consistencia serosa, mucosa y gelatinosa, la consistencia será de acuerdo con los elementos como agua, mucus y fibrina que conformen el esputo.
4. **La cantidad de expectoración:** para medir la intensidad de la expectoración, se determina si es escasa, abundante con más de 500 ml en un día o vómica con una expulsión violenta y en gran cantidad de esputo con pus.

Infecciones respiratorias

Según Chertorivski et al. (2012), las infecciones respiratorias agudas son patologías de origen viral y bacteriano que afectan al sistema respiratorio de forma leve, sin la presencia de

síntomas que alerten de su existencia. En algunos casos, pueden afectar de manera grave y ocasionar serios problemas de salud. Las consecuencias de este tipo de infecciones varían según la bacteria o el virus que las provoque, así como el organismo del paciente y el ambiente externo cuando se dé el contagio.

Los autores denotan que entre las causas que propician el desarrollo de infecciones respiratorias se encuentran los cambios bruscos en el clima, los cuales provocan que la calidad del aire que se respira se vea afectada, ya sea por el uso de medios para calefacción a base de madera o carbón como por el uso de aires acondicionados que facilitan la reproducción de patógenos causantes de estas patologías. Así mismo, los sistemas de salud poseen un papel fundamental en el tratamiento de estas enfermedades evitando su propagación mediante las campañas de vacunación y su capacidad de reacción para poder atender una posible epidemia.

Otro factor que incide en el desarrollo de infecciones respiratorias agudas, del que hacen mención los autores, corresponde a la existencia de personas que, por su genética, son más propensos a padecer patologías como asma, displasia broncopulmonar, enfermedades congénitas en el corazón e inmunodeficiencias selectivas. Como ultima variable, citan a los factores del huésped relacionados a su alimentación, la capacidad que posee el organismo para contagiar a otros, hábitos como el fumado y si padece de forma recurrente infecciones.

Aguirre, Céspedes, Rubal, Maza y Terán (2014) destacan que las infecciones respiratorias han sido la causa de muerte de millones de personas a lo largo de la historia en el mundo. Desde la época de Hipócrates hasta mediados del siglo XVII se han registrado un sin número de epidemias y pandemias que cambiaron de forma radical la demografía en países europeos, africanos y americanos.

Los autores señalan que las infecciones respiratorias originas por virus son más comunes, con una incidencia de hasta un 90%; mientras que las que son ocasionadas por bacterias son menos frecuentes y poseen la tendencia de afectar el sistema respiratorio superior. Indican además que su ciclo de incubación va de uno a tres días y el contagio se da de forma indirecta a través de las vías aéreas por medio de estornudos, tos y gotas de saliva que puedan salir expulsadas de la nariz y la boca; así como de forma directa por medio de excreciones que se encuentren en objetos.

Linaza

La linaza es un producto muy utilizado desde la antigüedad por sus propiedades carminativas par el organismo humano, según Lopez (2010), la composición de este material vegetal y su extracto en solución acuosa, posee alrededor de un 40% de acidos grasos y alrededor de un 20-25% de proteínas.

Según Ostojich Z y Sangronis E (2012) en su publicación Caracterización de semillas de linaza (Linum usitatissimum L.) cultivadas en Venezuela, la semilla de lino o linaza corresponde a una oleaginosa procedente del mediterráneo, esta semilla contiene un alto nivel de fibra, grasas, proteínas y ácidos grasos omega 3, además posee lignanos con propiedades que coadyuvan en la regulación de las hormonas, sus componentes polifenólicos le otorgan una gran capacidad antioxidante que es beneficioso en el tratamiento preventivo de enfermedades como cáncer y diabetes.

Jiménez P, Masson L y Quitral R (2013) en su estudio Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3, mencionan que el aceite de la semilla de lino posee un gran contenido de ácidos grasos poliinsaturados como el linoleico y linolénico, además también se puede encontrar en su estructura ácido oleico con un 15,76%.

López L (2010) en su estudio Caracterización de distintas variedades de linaza mediante la determinación del contenido de materia grasa y perfil lipídico menciona que la linaza se encuentra constituida por un embrión, un endospermo, dos cotiledones y un endospermo que recubre la semilla de linaza. Los países que más la producen son Canadá, India y china, anualmente se producen alrededor de 2.5 millones de toneladas de esta semilla.

La autora describe que la planta tiene una altura entre los 25 cm y 1 m en otras variedades de la misma, sus hojas son sésiles, enteras y con forma lineal, su flor posee una coloración azul. Con respecto a la semilla de linaza esta es de forma plana y ovalada con un borde puntiagudo, su tamaño oscila entre los 4-6 mm, su consistencia es tostada, chiclosa y cuando la semilla se come libera un sabor a nuez. El color de la semilla es vital para diferenciar las variedades que existen de linaza, además conforme sea el color de la semilla así será su contenido de aceite, el color común de la semilla es café oscuro, pero se pueden encontrar en color amarillo claro.

Adolphe J y Fitzpatrick (2010) en su publicación Linaza: Un estudio nutricional, mencionan que la semilla de lino posee 4g de fibra por cada 2 cucharadas lo que corresponde a

un 16% del valor diario que las personas deben consumir, en esta semilla se puede encontrar una sustancia llamada mucílago que tiene una consistencia gomosa que la convierte en una fibra soluble, que la mezclarse con agua produce una consistencia viscosa y gomosa.

La linaza, al poseer estas características químicas, que asemejan a las proteínas y acidos grasos que posee el esputo humano, y su consistencia al entrar en contacto con agua, favorecen su uso como un esputo natural para pruebas en el laboratorio.

Aceites esenciales

Flores (2010) define los aceites esenciales como sustancias altamente volátiles que se originan gracias al metabolismo secundario y que puedan poseer varias especies de plantas. En este metabolismo puede intervenir una proporción de hidrocarburos, acompañados de varios compuestos oxigenados, tales como los alcoholes, esteres, éteres, aldehídos y varios compuestos fenólicos. Estos aceites esenciales son los responsables del olor particular de flores, plantas y semillas y suelen ser productos químicos densos y volátiles.

Según la autora, las plantas tienden a formar compuestos orgánicos que superficialmente no llegan a tener algún propósito en el crecimiento y desarrollo. A estas sustancias se les llaman metabolitos secundarios y no participan de las actividades primarias de la planta, tales como la respiración, la fotosíntesis, transporte de solutos, entre otros. Estos metabolitos secundarios se clasifican según su estructura química en terpenos o terpenoides, fenoles y sus derivados, y alcaloides.

Caballero y Rodríguez (2014) argumentan que estos aceites se localizan como pequeñas gotas entre las células de las plantas. Dichas sustancias ejecutan actividades hormonales, catalizadoras y de regulación. Así mismo, facilitan la adaptación de las plantas a su medio externo e incrementan su rendimiento ante aquellas situaciones de estrés. Dichos aceites tienen una actividad protectora ante enfermedades y agentes parasitarios que puedan afectar a la planta, son capaces de atraer una gran cantidad de insectos que ayuden a la polinización y crean una barrera natural como mata hierbas selectivas. Los autores describen que los aceites esenciales se clasifican conforme a su consistencia, origen y composición química de los componentes mayoritarios.

Consistencia

Oleorresinas

De consistencia viscosa y semisólida. Poseen la fragancia de la planta de forma concentrada y los principios activos de la planta, los aceites esenciales, los aceites fijos y los colorantes.

Esencias fluidas

Estas son sustancias liquidas volátiles a temperatura ambiente.

Bálsamos

Suelen ser sustancias de consistencia más espesa, poco volátiles y formadas principalmente por sesquiterpenos.

Origen

Aceites esenciales naturales: estos se obtienen de la planta y no van a tener ningún tipo de modificación química.

Artificiales: estos se forman mediante la agregación de uno de sus componentes. Se pueden obtener por la unión de esencias naturales extraídas de varias plantas.

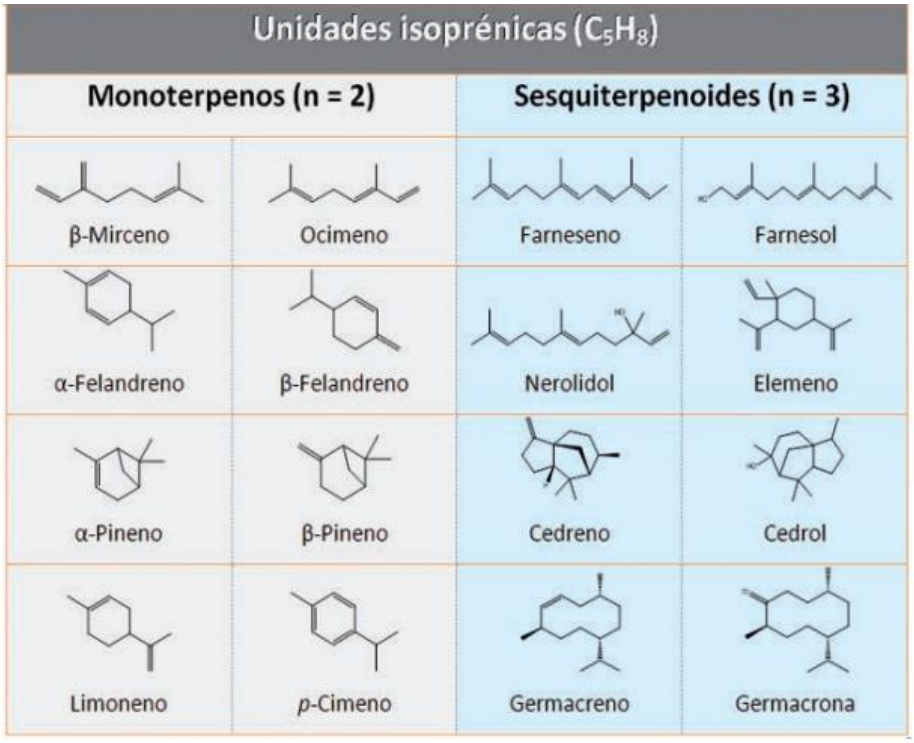
Sintéticos: se componen de mezclas de varios productos que se han formado por procesos químicos, estos tienden a ser más económicos, por esta razón son utilizados en la industria alimentaria y la fabricación de perfumería.

Naturaleza química

Conforme a su composición química, estos aceites se dividen en tres grupos principales:

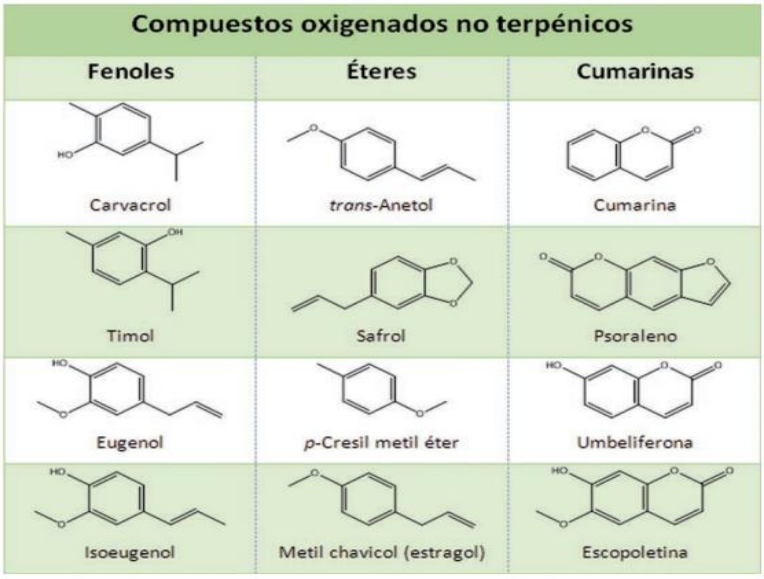
- Monoterpenoides
- Sesquiterpenoides
- Compuestos oxigenados

Figura 4. Unidades isoprénicas



Fuente: Stachenko, 2009.

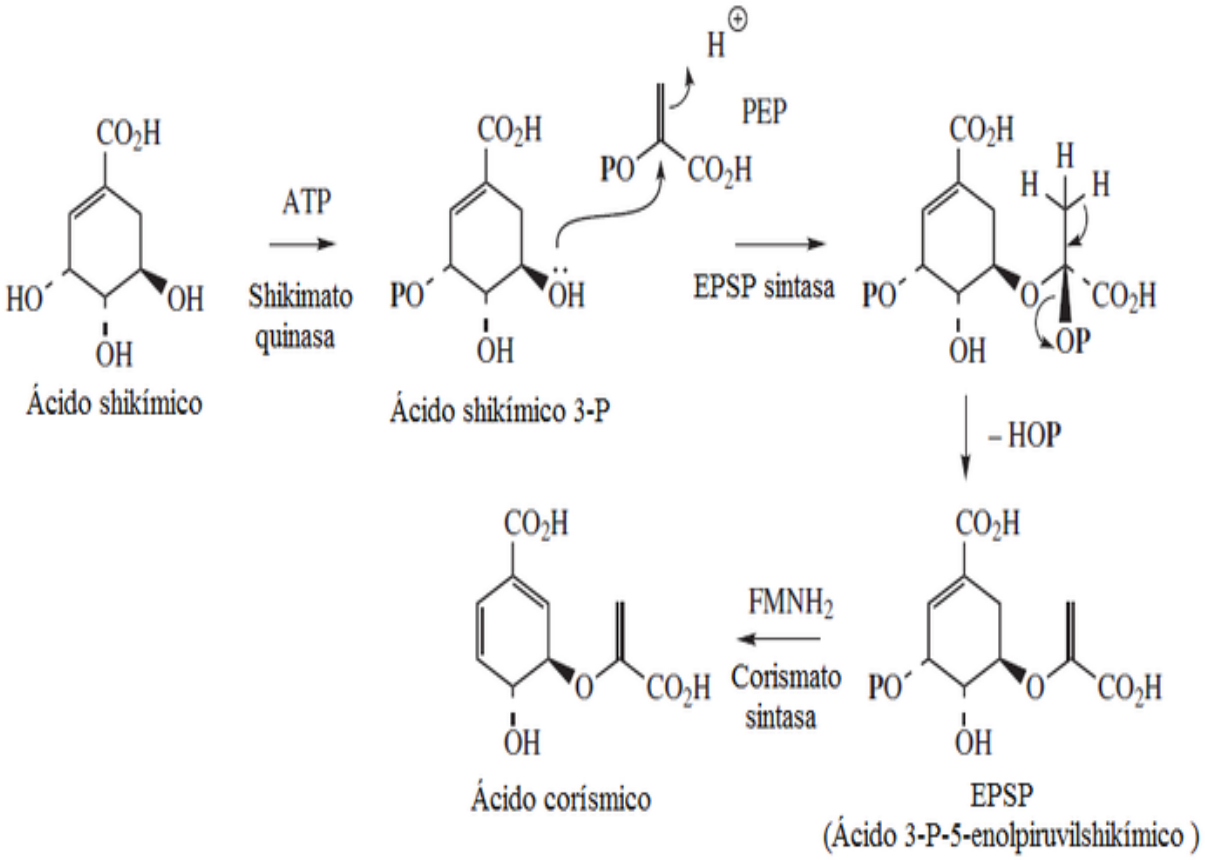
Figura 5. Compuestos oxigenados no terpenicos



Fuente: Stachenko, 2009.

En relación a la formación de metabolitos secundarios, es importante destacar el ácido shikimico como precursor principal de estas sustancias. Avalos y Pérez (2009) explican cómo la ruta del ácido shikimico se encarga de la biosíntesis de compuestos fenólicos. Esto inicia por medio de la eritrosa-4-P y del ácido fosfoenolpiruvico, los cuales dan como resultado este ácido y sus derivados.

Figura 6. Síntesis del ácido corísmico a partir del ácido shikimico.



Fuente: Mephisto spa

Syzygium aromaticum

La planta Syzygium aromaticum, conocida comúnmente como clavo de olor, es una planta que tiene una gran variedad de usos. Según Aguilar-Gonzales y López-Malo (2013), esta planta destaca como una especia que puede ser aprovechada en diferentes industrias, tales como la perfumería, industria alimentaria, para usos medicinales y mayoritariamente como un saborizante.

De acuerdo con Aguilar-Gonzales y López-Malo (2013), la planta del clavo de olor proviene de la familia Myrtaceae que se cultiva principalmente en zonas tropicales. Esta planta es

nativa de Indonesia. Sin embargo, hoy en día se planta en países como Brasil, Haití, India, Madagascar, Malasia, México, Sri Lanka, entre otros.

Celis (2010) destaca que el árbol del clavo de olor dura veinte años en alcanzar su punto de desarrollo y llega a una altura de 12 a 15 metros. Su nombre proviene del latín clavus, debido a que el fruto de esta planta, al estar seco, posee una forma característica que se asemeja a un clavo.

La calidad del fruto se asocia a que su cosecha se dé en el momento idóneo, el cual ocurre cuando la planta comienza a rosear, antes de que se abran los capullos. Después de recolectar sus botones, estos se colocan en cámaras a elevadas temperaturas, o bien expuestas al sol, con lo cual se lleva a cabo el proceso de secado en el cual el fruto pierde dos terceras partes de su peso inicial y toma su coloración característica marrón oscuro.

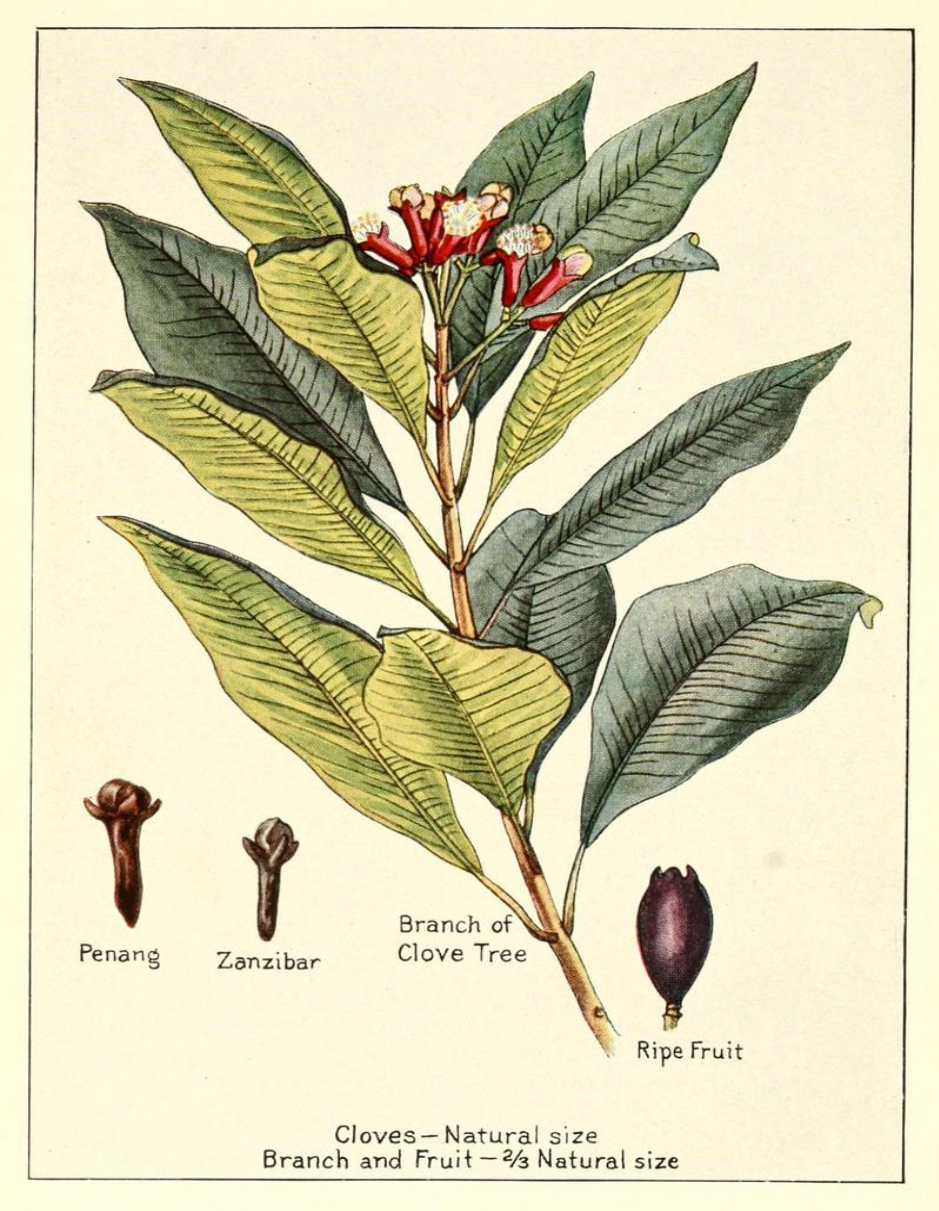
Figura 7. Flor de planta Syzygium aromaticum

Fuente: Snaplant, 2015.

Descripción de la planta

Según Carrero M (2013), entre sus características posee una altura máxima de 20 metros, sus hojas tienen una forma oval y opuesta, las flores poseen un color blanquecino y tienden a juntarse de forma ramificada. La flor posee un tallo de 10 a 12 milímetros formado por cuatro pétalos bajo los cuales es posible encontrar un elevado número de estambres.

Figura 8. Planta Syzygium aromaticum



Fuente: McCormick, 1915.

El aceite esencial del clavo de olor posee una composición mayoritaria de tres compuestos, según la European Medicines Agency (2011). Este aceite esencial contiene como compuesto mayoritario el eugenol, el cual puede alcanzar un 88% de su composición, seguido por el acetil eugenol, con una proporción alrededor de un 15% y, seguido a este, la beta cariofileno que puede alcanzar hasta un 14% de su composición total.

La concentración de aceite en la planta puede cambiar; sin embargo, esto no va a modificar sus compuestos mayoritarios. Este aceite puede obedecer a una mayor concentración en su fruto, pero es posible encontrarlo en toda la planta.

En cuanto a la distribución de los principales componentes del aceite esencial del clavo de olor en la planta, según Celis (2010), el fruto alberga hasta un 90% de eugenol, cariofileno y acetato de eugenol; las hojas hasta un 88% de eugenol con cantidades mínimas de acetato de eugenol y otros componentes minoritarios. Por su parte, el tallo puede poseer hasta un 95% de eugenol, acompañado de otros componentes en menor grado.

Clasificación

En un estudio realizado por Gómez (2012), se clasifica taxonómicamente a la planta Syzygium aromaticum como:

Tabla 1. Clasificación

Reino	Plantae
División	Angioespermas
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Subfamilia	Myrtoideae

Tribu	Syzygieae
Género	Syzygium
Especie	Syzygium aromaticum

Usos y propiedades

La planta Syzygium aromaticum fue utilizada en la antigua China como una especie y perfume por más de 2000 años, según Kamatou, Veermak y Viljoen (2012). Su uso más usual en esta cultura fue el tratamiento de dolores dentales. En la medicina tradicional China el aceite de clavo de olor se utilizó como carminativo, antiespasmódico, antibacterial y agente antiparasitario.

Además de estos usos, los autores mencionan sus propiedades para el tratamiento de la dispepsia, gastritis crónica y la diarrea. Así mismo, enfatizan que, por medio de estudios científicos realizados a la planta, se ha determinado que posee bondades antioxidantes, antinflamatorias y analgésicas, entre otros. La molécula de eugenol es muy versátil y se ha incluido como ingrediente en la industria cosmética y perfumes.

Bhowmik, Kumar,Yadav, Srivastava, Paswan y Dutta (2012), expresan que el aceite aromático del clavo de olor posee características estimulantes y efectos irritantes. Dicho aceite puede incrementar la circulación sanguínea, así como disminuir la temperatura corporal. También señalan su uso como infusión para el alivio de las náuseas, vómito y dolor estomacal.

Dentro de los usos conocidos de la planta, Hamini- Kadar, Hamdane, Boutoutaou, Kihal y Henni (2014) destacan que el clavo de olor contiene una alta actividad antifúngica, ya que este aceite posee una variedad de moléculas volátiles como terpenos, terpenoides, derivados aromáticos y compuestos alifáticos, los cuales gozan de propiedades fungicidas, bactericidas y antivirales. Diversos estudios expuestos por los actores confirman los efectos del aceite esencial de clavo de olor y sus principales compuestos sobre hongos patógenos.

Aguilar-Gonzales y López-Malo (2013) realizaron una investigación sobre el potencial de la planta Syzygium aromaticum como agente antimicrobiano en alimentos, debido a los compuestos fenólicos que contiene el aceite esencial. Este estudio establece que, a mayor proporción de compuestos fenólicos, mayor será la actividad antimicrobiana. Esta actividad es

posible, ya que los fenoles pueden desnaturalizar las proteínas y al mismo tiempo interaccionar con fosfolípidos de las membranas celulares, alterando la permeabilidad y ocasionando la muerte microbiana.

Los autores mencionan un estudio realizado por Ahmed (2011) que expone que el crecimiento en animales puede aumentar por el uso de antibióticos; por lo tanto, se empleó el aceite de S. Aromaticum como una opción natural para estimular el crecimiento en pollos. Dicho estudio reportó que estos animales tratados con el aceite obtuvieron una ganancia de peso corporal en comparación con los que fueron tratados con antibióticos.

Por último, Aguilar-Gonzales y López-Malo (2013) discuten en su investigación que el aceite de clavo tiene un efecto repelente contra especies de insectos tales como Culex quinquefasciatus (filariasis) y Anopheles dirus (malaria). También se realizó esta investigación con A. aegypti el cual mostró resistencia a todas las concentraciones probadas de este aceite.

Celis (2010) comenta que, al tratarse de una esencia, se debe tener precaución al momento de su uso, ya que posee una acción irritante sobre las mucosas. Por otra parte, este aceite puede actuar como excitante del sistema nervioso central. Se puede utilizar de diferentes formas:

Como infusión para uso interno: se recolectan 10 g por cada litro de agua y se prepara una infusión que Celis (2010) recomienda tomar hasta tres veces al día, ya sea antes o después de las comidas.

Infusión de uso externo: se prepara una infusión la cual debe poseer una concentración del 2% y se aplica en lavadas, enjuagues o gargarismos.

Esencia: se utilizan de 1 a 3 gotas por día, las cuales pueden ser aplicadas en una solución oleosa, o bien, de forma externa.

Tintura: se utilizan entre 10 a 30 gotas al día, antes de las comidas.

Debjit et al. (2012) hablan acerca de las propiedades del aceite de clavo de olor para el tratamiento de quemaduras de primer y segundo grado y pequeños cortes o heridas, aplicando directamente sobre la zona afectada. El aceite ayudar a aliviar el dolor y reduce la posibilidad de infecciones, mejorando el proceso de curación. Así mismo, en heridas abiertas se puede rociar el clavo de olor molido, para detener el sangrado y eliminar el dolor, por su característica anestésica.

Ramírez, Guerra, Guzmán y Garza (2008) citan la capacidad antioxidante del eugenol, ya que retrae la formación del radical súper óxido en el sistema xantina-xantina oxidasa, así como la

formación del hidroxilo, eludiendo la posible oxidación Fe+2 en la reacción de fenton, el cual es el radical más agresivo para los tejidos. Este aceite es capaz de bloquear la quimiotaxis de los neutrófilos a bajas concentraciones. Por otra parte, a concentraciones elevadas posee facultades bactericidas debido a los fenoles por degradación de las proteínas.

Almeida (2014) describe al eugenol como un compuesto orgánico derivado del fenol. Este se extrae principalmente a partir del clavo de olor, aunque también se puede encontrar en pimienta, hojas de laurel, canela, albahaca y eucalipto, entre otros. Esta sustancia es un líquido aceitoso de color amarillo leve y su olor es muy fácil de reconocer.

El aceite de clavo de olor es inmiscible en agua y posee una serie de características físico-quimicas que serán mencionadas en la siguiente figura.

pH	5.0 en dispersión acuosa
Punto de fusión	-12°C
Punto de ebullición	253 °C
Punto de inflamación	>112 °C
Densidad	1.063g/ml

Uso del eugenol como expectorante

Esteva (2008) describe los expectorantes como compuestos con la facultad de aumentar los estímulos para la eliminación de sustancias en el aparato respiratorio superior. La utilidad de los expectorantes comerciales ha generado duda sobre su efectividad en los consumidores; no obstante, es frecuente que los pacientes tengan una impresión de mejoría con el uso de estos fármacos.

Las plantas medicinales han tenido utilidad por sus propiedades antitusivas expectorantes y antisépticas respiratorias. Tal es el caso de plantas con actividad expectorante como el orégano, el tomillo, el ciprés, el clavo de olor, entre otras.

Raina, Srivastava, Aggarwal, Syamasundar y Kumar (2007) realizaron un estudio sobre la composición química del aceite esencial del clavo de olor en la India, donde el análisis mostró un resultado que identificaba 16 componentes del aceite. Dentro de la composición se obtuvo que el eugenol es el compuesto más rico de este aceite (94.4%). Los autores mencionan en su estudio la

propiedad del eugenol como medicina tradicional, utilizado como un estimulante, antiflatulento y como expectorante en el tratamiento de la tos productiva.

Sultana, Anwa, Mushtaq, Aslam y Ijaz (2014) realizaron un estudio donde investigaron la actividad fenólica del extracto Syzygium aromaticum y determinaron que la función biológica del extracto de la planta posee beneficios contra el asma, la tos, las infecciones dentales, y es utilizado como antiséptico y expectorante por las propiedades que lo constituyen.

Toxicidad

Ramírez, Guerra, Guzmán y Garza (2008) publicaron un estudio realizado en conejos sobre la toxicidad de formulaciones que contuviesen eugenol. Se obtuvo como resultado que, en el área donde se aplicó la formulación, hubo casos de necrosis isquémica debido al daño directo, tiempo de exposición, dosis y concentración del eugenol en la formulación. Entre los tipos de toxicidad que mostro la formulación con eugenol, se encuentran la dermatitis, reacciones alérgicas, problemas hepáticos, coagulación intravascular diseminada, hipo glicemia severa e incluso la muerte debido a una falla en órganos vitales.

Según Natural Medicines (2010), se han realizado investigaciones que han demostrado que el Syzygium aromaticum puede ocasionar un riesgo de sangrado, por lo que pacientes con trastornos de sangrados o pacientes con tratamiento anticoagulante deben tener especial cuidado y realizar un ajuste de dosis en su tratamiento. Así mismo, el uso de clavo de olor se debe pausar antes de una intervención quirúrgica.

Además de estos efectos, si el aceite del clavo de olor no se diluye, puede producir por contacto una dermatitis severa, así como quemaduras cuando es aplicado directamente en la piel. Se conoce que algunas formulaciones que contienen aceite de eugenol y que se aplican en el pene pueden causar problemas de erección o eyaculación.

Es sabido que el clavo de olor puede provocar reacciones alérgicas de gravedad (anafilaxis), con síntomas como el sarpullido, la picazón y la falta de aliento. Se han dado alertas por posibles casos de urticaria en fumadores que utilizan cigarrillos que contienen clavo de olor.

Celis (2010) menciona que en varios estudios en los cuales se probó la actividad mutagénica de diferentes extractos realizados de provenientes partes de la planta, la mayoría de los resultados obtenidos han sido negativos, teniendo así una actividad genotóxica. Este estudio

se realizó comparando el aceite esencial a la concentración de 0.2 mg con una muestra comercial de la flor, evaluados frente a una cepa de Bacillus subtilis.

Destilación

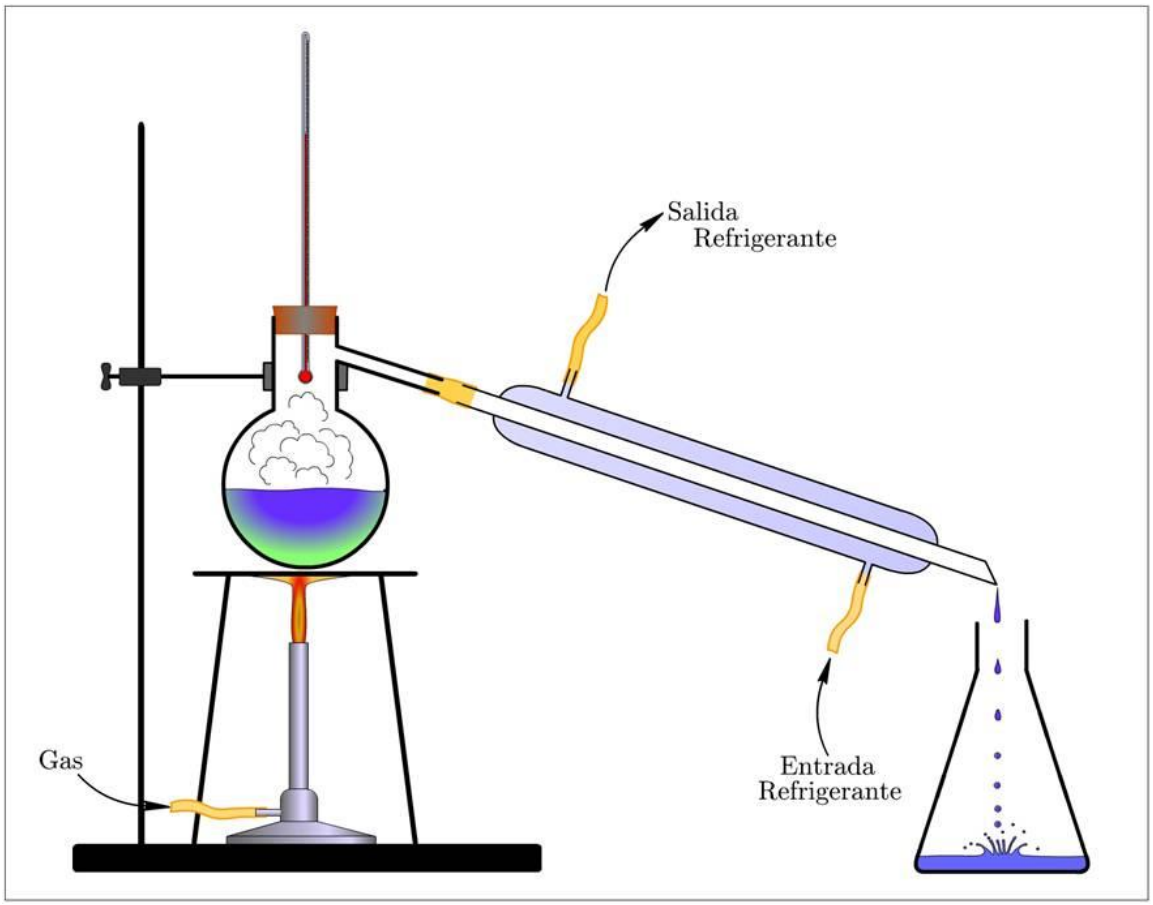
Según Iglesia (2012), la destilación es la función de separar mediante evaporación y condensación diferentes compuestos que se encuentren en distintos estados de la materia, aprovechando los diferentes puntos de ebullición de cada una de las sustancias.

Entre los métodos de aislamiento de sustancias, este proceso se destaca por lo económico y sencillo que puede ser. Dentro de sus variedades encontramos la destilación fraccionada, el arrastre por vapor y la destilación simple. La destilación simple consiste en la vaporización parcial de la mezcla y a través de ella se obtiene un vapor con una alta cantidad de componentes volátiles

Según Guerra, Mallén, Struck, Valera y Zitlalpopoca (2008), la destilación simple es un proceso que explota las diferentes propiedades de las sustancias que componen la mezcla. Fácilmente, se podrán separar estas sustancias sin incurrir en procedimientos de mayor complejidad.

Los autores mencionan que la mezcla es expuesta a ebullición, donde los vapores se van a desprender y eliminar del recipiente que los contiene de forma continua. Estos vapores se van a condensar y recolectar sin que haya algún retorno al recipiente inicial. Esta primera parte del destilado va a contener la sustancia más volátil y, conforme avance el destilado, el producto va volviéndose menos concentrado.

Figura 9. Equipo de destilación simple



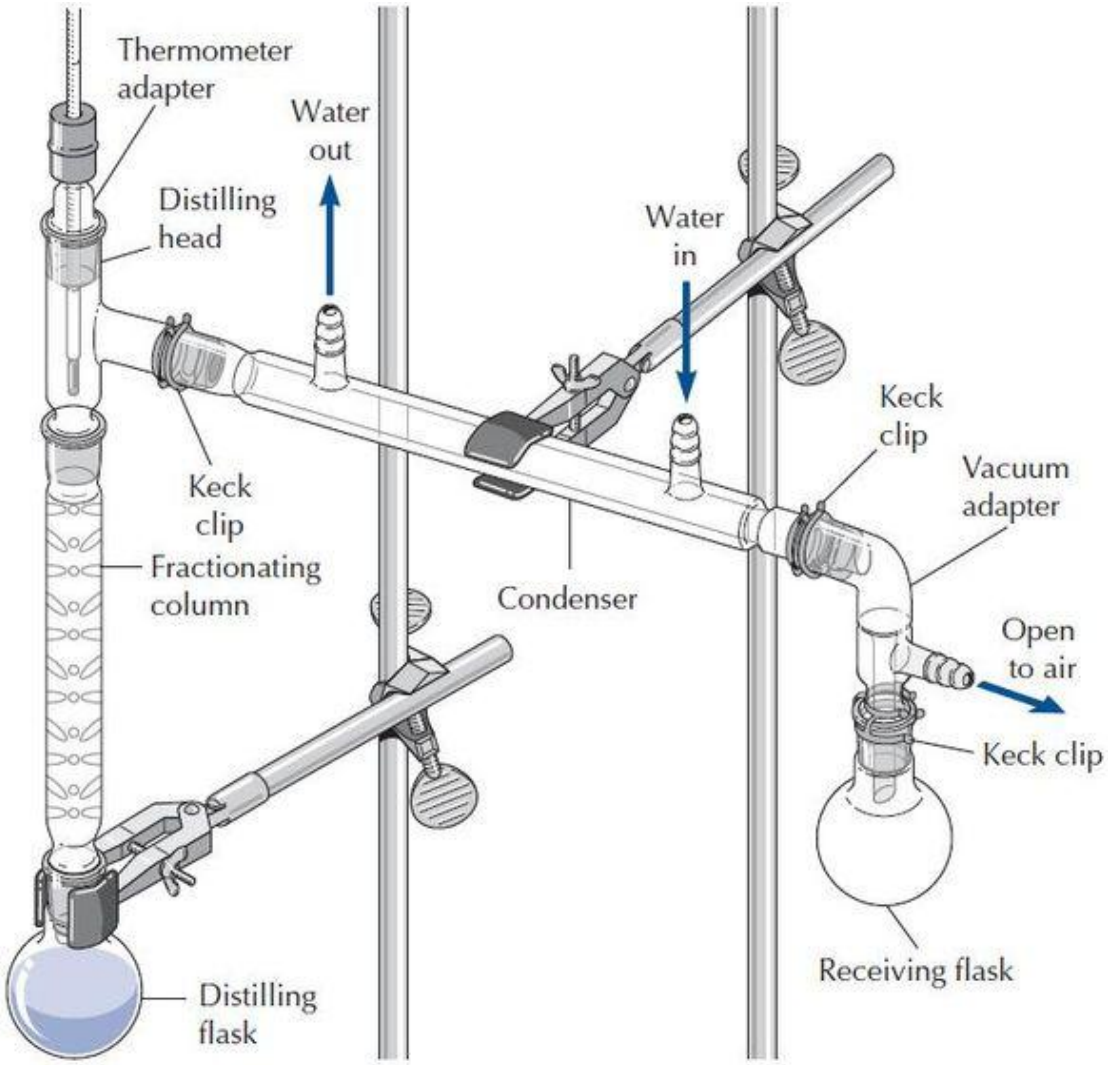
Fuente: Educa, 2012.

Destilación fraccionada

Sanchez y Velandia (2007) describen la destilación fraccionada como una destilación que proporciona una enorme superficie para el intercambio de calor, que, bajo condiciones de equilibrio que se da entre el vapor que sube y la sustancia condensada que baja, ocasiona una

serie de vaporaciones y condensaciones en todo el largo de la columna de fraccionamiento. El condensado recibe calor para nuevamente ser evaporado y, al ser condensado nuevamente, va a ser más rico en la sustancia más volátil.

Figura 10. Sistema de destilación fraccionada



Fuente: Mohrig, 2010.

Destilación por arrastre de vapor

Castillo (2010) afirma que esta técnica es la más antigua y la más sencilla para la obtención de aceites esenciales a partir de material vegetal. Este proceso se realiza para separar

sustancias que son insolubles en agua y que poseen un alto punto de ebullición, ya que este método va a destilar a una menor temperatura evitando la descomposición del material orgánico.

Al alcanzar el punto de ebullición del agua, la sustancia volátil es arrastrada junto con este vapor de agua, permitiendo que se extraigan los compuestos volátiles, separándolos y extrayéndolos de la forma más pura sin que estos se modifiquen. Esta técnica es muy utilizada a nivel industrial, ya que posee un rendimiento muy favorable, así como una gran pureza en el aceite obtenido. Además, es económico ya que su tecnología no es sofisticada.

Figura 11. Destilación por arrastre de vapor

Fuente: Autor.

Espectroscopia

La espectroscopia es un método de análisis de sustancias que analiza la relación entre la radiación electromagnética y la materia en sí. Estos análisis son extensamente utilizados en varias áreas de la industria, entre ellas cabe destacar la química, biología y la física.

Skoog (2015) cita respecto al significado de la espectroscopia:

Los métodos espectroscópicos analíticos se basan en medir la cantidad de radiación producida o absorbida por las especies moleculares o atómicas de interés. Podemos

> clasificar los métodos espectroscópicos de acuerdo con la región del espectro electromagnético utilizada o producida durante la medición. Se han utilizado las regiones de rayos g, rayos X, ultravioleta (UV), visible, infrarrojo (IR), microondas y las de radiofrecuencia (RF). (p. 650)

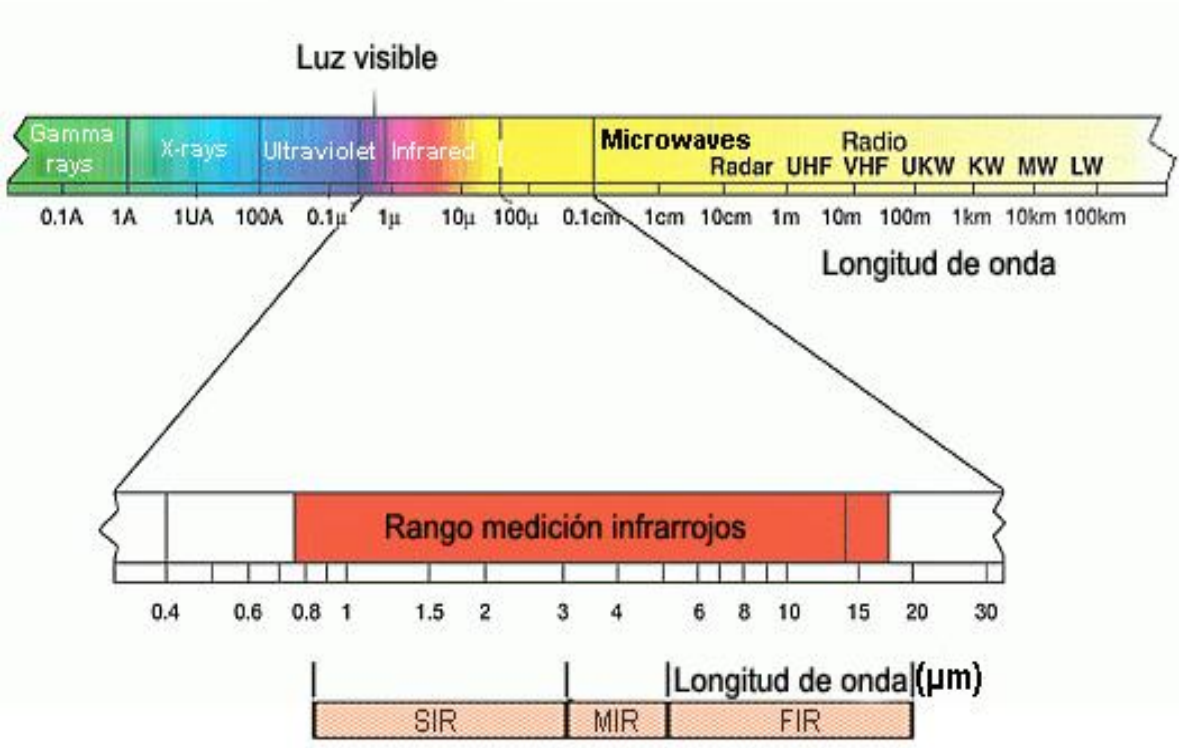
Este tipo de cuantificaciones simbolizan un método de análisis para el estudio de la composición de la materia con la interacción ante numerosos componentes del espectro electromagnético. Así mismo, es ampliamente usado para el reconocimiento, identificación y cuantificación de sustancias orgánicas e inorgánicas. A lo largo del tiempo, los análisis por espectroscopia han sido esenciales para la industria, resultando de suma importancia en el área que involucra la formulación de productos farmacológicos y formando parte del análisis en áreas como la exploración de nuevas moléculas, desarrollo de nuevos fármacos y estabilidad del mismo.

Dentro de los aspectos que se toman en cuenta para la formulación de fármacos, se encuentra el control de calidad, el cual hace énfasis en el uso de instrumentos de análisis de sustancias que puedan identificar estructuras químicas, ya sean rastros de agentes contaminantes, estructura de principios activos y excipientes que se encuentren dentro de la formulación. Algunas de las técnicas que pueden utilizarse mediante la espectroscopia son la ultravioleta, infrarroja y la de alta resolución.

Torres y Nájera (2009) definen la espectroscopia infrarroja como una radiación que se clasifica por su energía, debajo de la luz roja y su energía oscila entre 3x10-2 y 38Kcalmol. Dentro de las diferentes partes del infrarrojo es posible destacar:

- **Infrarrojo cercano:** puede ser utilizado en gafas de visión nocturna o telecomunicaciones de fibra óptica.
- **Infrarrojo medio:** puede ser utilizado por medio de visión térmica, termómetros de infrarrojo o misiles guiados por infrarrojo. En este rango de frecuencia se retribuye con energía necesaria para que los enlaces de las moléculas vibren.
- **Infrarrojo lejano**: esta zona de infrarrojo casi no tiene una utilidad para la detección.

Figura 12: Radiación infrarroja en el espectro

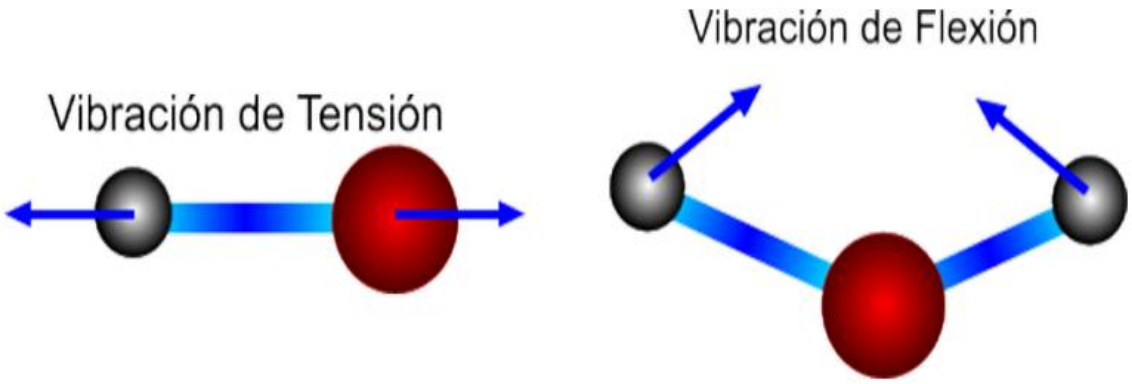


Fuente: Testo Argentina SA, 2010.

Los autores mencionan que este tipo de radiación va a producir, por su interacción con la materia, dos tipos de vibraciones. Las vibraciones de tensión son obtenidas al prolongar o reducir el tamaño de los enlaces presentes en la molécula. Así mismo, las vibraciones de fracción son distorsiones, en las cuales participan al menos tres átomos y producen un cambio conformacional en los enlaces y los ángulos que estos átomos posean.

Las vibraciones van a presentarse en una frecuencia y en un lugar específico, ya que por el tipo de enlace que presenta la molécula, va a interaccionar en determinadas radiaciones con una frecuencia apropiada.

Figura 13. Vibraciones de tensión y flexión

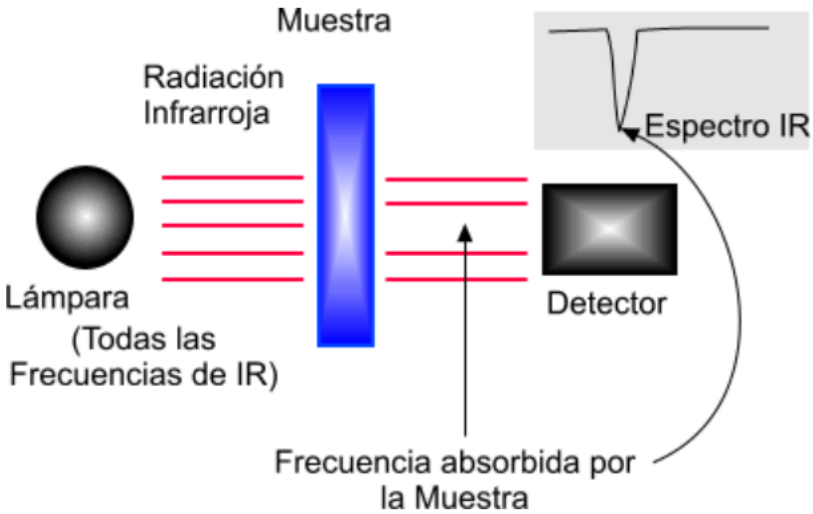


Fuente: Torres y Nájera, 2009.

El espectro infrarrojo

El espectrofotómetro está equipado con una fuente que emite radiación infrarroja. Esta radiación pasa por una celda que va a contener el compuesto orgánico que se desea estudiar. Según Torres y Nájera, la radiación que emite la lámpara se dirigen hacia todas las longitudes del infrarrojo donde la molécula al poseer enlaces va a coincidir con esta radiación vibrando en la misma frecuencia mientras que la radiación que no coincide no es absorbida.

Figura 14. Esquema de un espectrofotómetro



Fuente: Torres y Nájera, 2009.

Interpretación del espectro

Ante un espectro de infrarrojo, se pueden caracterizar y reconocer diferentes grupos funcionales que posee la molécula, ya que estos presentan diferentes tipos de vibración característicos de la molécula en estudio. Torres y Nájera (2009) mencionan una clasificación donde el espectro de IR se divide en cuatro zonas distintas:

- Vibraciones entre 500-1600 cm^{-1}: en esta zona se encuentra la frecuencia de vibración y tensión entre los enlaces simples de dos átomos diferentes al hidrógeno.
- Vibraciones entre 1600-1900 cm^{-1}: en esta zona tienen lugar las vibraciones de tensión que poseen los dobles enlaces.
- Vibraciones entre los 1900-2500 cm^{-1}: aquí es posible encontrar las vibraciones de tensión con enlaces triples.
- Vibraciones entre los 2500-4000 cm^{-1}: en este rango de vibración se obtienen las vibraciones de tensión de los enlaces con hidrógeno.

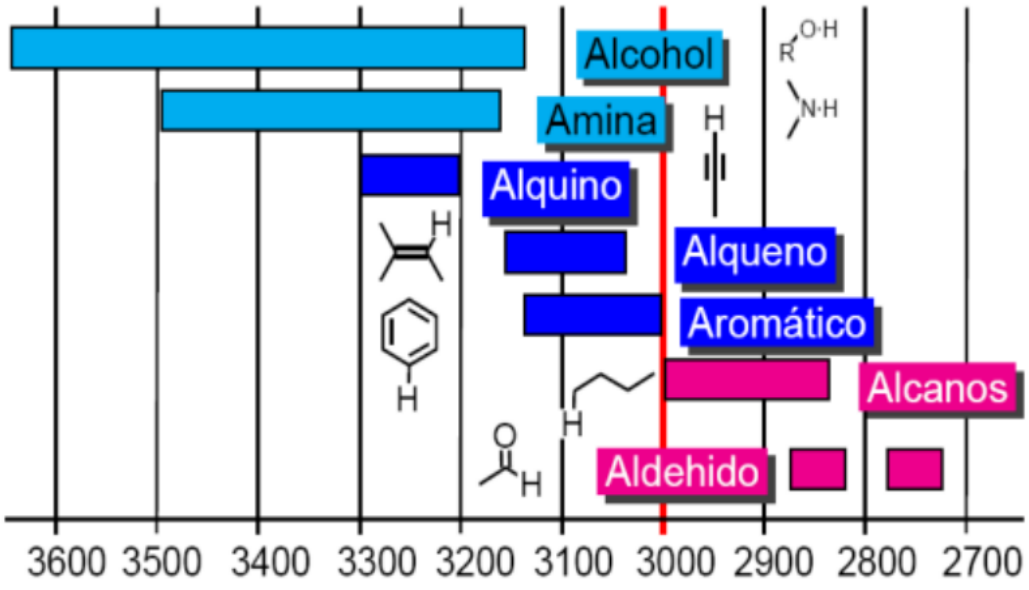
Frecuencia aproximada a la que se encuentran distintos grupos funcionales en el espectro infrarrojo

Grupo funcional	Tipo de vibración	Frecuencia (cm^{-1})
C-H	Alcanos (estiramiento)	3000-2850
	CH_3 (flexión)	1450-1375
	CH_2 (flexión)	1465
	Alquenos (estiramiento)	3100-3000
	Aromáticos (estiramiento)	3150-3050
	Aldehído	2900-2800

C=C	Alqueno Aromático	1680-1600 1600-1475
C≡C	Alquino	2250-2100
C=O	Aldehído Cetona Ácido carboxílico Ester	1740-1720 1725-1705 1725-1700 1750-1730
C-O	Alcohol, éter, éster, ácido carboxílico.	1300-1000
O-H	Alcohol, Fenoles Ácido carboxílico	3650-3200 3400-2400
N-H	Aminas primarias y secundarias, amidas	3500-1550
C-N	Aminas	1350-1000
N=O	Nitro	1550-1350
S-H	Mercaptanos	2550
S=O	Sulfóxidos	1050

Fuente: Autor

Figura 15. Frecuencia de vibración de enlaces



Fuente: Torres y Nájera, 2009.

Posibles desviaciones en análisis espectroscópicos

Según Skoog (2015), los análisis espectroscópicos pueden tener una serie de inconvenientes como las desviaciones, ya que por diferentes motivos las sustancias analizadas pueden tener algún tipo de actividad de descomposición, disociación o asociación con disolventes.

Además, se pueden dar desviaciones debido a los instrumentos, entre ellas Skoog (2015) destaca:

- Falta de fuentes de luz monocromática
- Luz dispersada o parásita
- No contar con paredes paralelas en el equipo
- No utilizar cubetas transparentes

CAPÍTULO III.

Enfoque

El estudio realizado utiliza un enfoque cuantitativo, ya que, según Hernández Sampieri (2014), un enfoque cuantitativo debe ser secuencial y demostrable, por lo que las etapas de este estudio en particular no pueden ser eludidas. El orden es secuencial y, por lo tanto, estricto. No obstante, deja una ventana para la modificación adecuada de alguna de las fases en la secuenciación.

El autor menciona que, luego de la definición del tema y las preguntas que se puedan plantear, se obtienen los objetivos y la hipótesis. Posteriormente, se realiza un estudio de la literatura donde se traza un plan probatorio que permita medir las variables, utilizando como herramientas los métodos estadísticos para obtener una serie de conclusiones, a partir de la investigación en cuestión.

Diseño

Según Hernández Sampieri (2014), el diseño de un trabajo investigativo "se refiere al plan o estrategia concebida para obtener la información que se desea con el fin de resolver el planteamiento del problema" (p. 128).

De acuerdo con el problema planteado, objetivos, proyecciones y su enfoque, este trabajo de investigación será de tipo experimental, debido a que se emplearon procesos de laboratorio para la extracción de un aceite esencial del fruto del clavo de olor, así como la realización de pruebas de identificación a los grupos funcionales y pruebas in vitro para mostrar su capacidad expectorante en tos productiva. Los diseños experimentales "se basan en hipótesis preestablecidas, miden variables y su aplicación debe sujetarse al diseño concebido con antelación, al desarrollarse, el investigador está centrado en la validez, el rigor y el control de la situación de investigación" (Hernández 2014, p. 150).

Muestra de la investigación

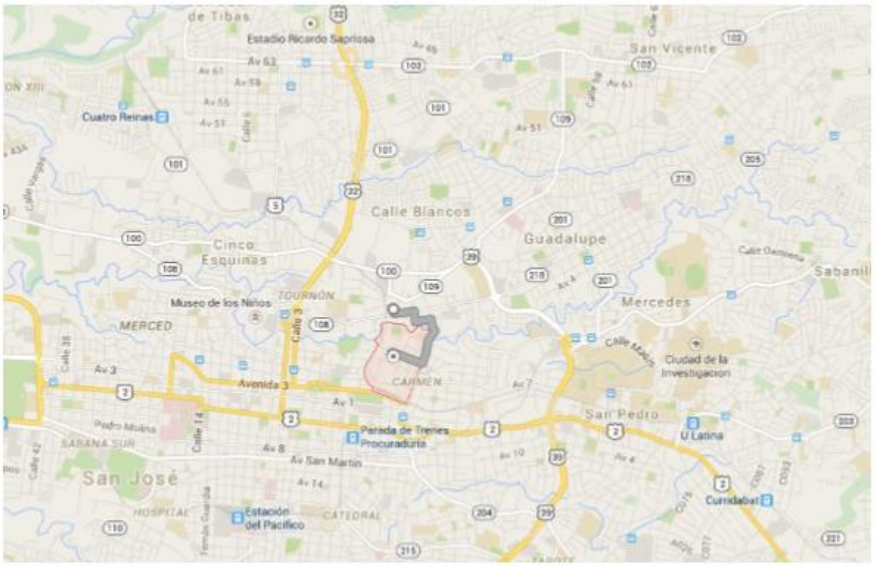
En relación con la muestra de la investigación, no existe una como tal, ya que el proceso es básicamente experimental y los análisis realizados fueron recabados en un laboratorio.

La investigación realizada se ubica en el Barrio Aranjuez, fundado por el catalán Juan Aranjuez de España en 1882. En sus inicios, el barrio se poblaba principalmente por familias de origen burgués. De aquí que hoy en día aún se aprecien construcciones antiguas con una arquitectura europea neoclásica y barroca.

Su historia inicia a finales del siglo XIX, cuando Juan Aranjuez se asentó en este lugar al adquirir una finca que años después le vendió a Bernardo Soto, quien la dividió en lotes y decidió ponerlos a la venta.

Barrio Aranjuez se ubica en San José, entre el Río Torres y Barrio Otoya y colinda con Calle Blancos, Guadalupe, Tournón y San Pedro, tal como se observa en la figura 16.

Figura 16. Ubicación y límites de Barrio Aranjuez, San José, Costa Rica



Fuente: Google Maps, 2017.

En el año de 1891, iniciaron las operaciones de la vía férrea entre Limón, San José y Alajuela, y tuvo gran relevancia la estación del ferrocarril al atlántico. El barrio Aranjuez está ligado al crecimiento socioeconómico de la capital. Dentro de su espacio geográfico se fundaron la Aduana Principal, la casa de la moneda, tanques para la captación de agua y la iglesia Santa Teresita.

Figura 17. Antigua Casa de la Moneda, Costa Rica

Fuente: Autor.

Figura 18. Iglesia Santa Teresita, Costa Rica

Fuente: Autor.

Como acontecimiento histórico en la historia de Costa Rica, fue en el Barrio Aranjuez donde se inauguró la primera planta de energía eléctrica que comenzó sus funciones el 9 de agosto de 1884. Esta planta fue construida en la esquina sureste del Hospital Calderón Guardia, el

cual aún no existía en ese año. Con esta edificación se iluminó San José con 25 postes de luz convirtiéndose en la tercera ciudad en el mundo y la primera en Latinoamérica en poseer electricidad.

Hoy en día se caracteriza por ser un barrio donde transita gran parte de la clase trabajadora y estudiantil, debido a que en él se ubican varias universidades y un colegio. Además de que en él se encuentra el Hospital Nacional Calderón Guardia y en sus cercanías hay muchos sectores importantes de la capital del país. En 1942, durante la administración de Rafael Ángel Calderón Guardia, se fundó la Caja Costarricense del Seguro Social, construyéndose el Hospital Calderón Guardia.

Figura 19. Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia

Fuente: Leticia Contreras, 2012.

Otra edificación de gran importancia fue la Antigua Aduana, la cual tenía como funciones, servir en el bodegaje o almacenamiento, registro y despacho de mercancías trasladadas desde la estación del Ferrocarril al Atlántico.

Dicha edificación se conserva aún en día, pero su uso está enfocado en la realización de eventos culturales y comerciales principalmente. Incluso esta edificación posee hoy en día un teatro.

Además, cabe destacar que la Casa de la Moneda fue trasladada a un costado de la Aduana Principal. Sin embargo, hoy en día solo constituye una estructura metálica utilizada como galerón.

Figura 20. Antigua Aduana Principal de Costa Rica

Fuente: Autor.

La presencia de estas edificaciones generó un gran impacto, de manera que produjo que una mayor cantidad de personas se trasladaran al barrio y permitió consolidarlo aún más, lo cual generó mayor crecimiento, como la aparición del Cine Eloisa, Cine Trípoli y el Cine Aranjuez.

De igual forma, la Iglesia Santa Teresita, fundada en 1920, fue de gran atracción poblacional, diseñada por José María Barrantes y diseñada con grandes conceptos de innovación arquitectónica.

Es importante destacar que el tren estuvo inactivo por muchos años, pero aproximadamente hace cuatro fue reactivado y ha permitido alivianar la congestión vehicular tan alta que experimenta el país, por el aumento demográfico. También ha permitido brindar una

forma rápida, entretenida y cómoda de transportarse desde zonas relativamente aledañas, como el cantón central de Heredia, Cartago y Alajuela.

Figura 21. Estación de Ferrocarril al Atlántico

Fuente: Autor

Además de las edificaciones mencionadas, actualmente se encuentran varios centros de educación, entre ellas la Universidad Internacional de las Américas, la Universidad Central, la Universidad Hispanoamericana y la Universidad Autónoma.

La Universidad Internacional de las Américas es una institución de educación superior universitaria de carácter privado. Inició sus operaciones en 1986, aprobada por el CONESUP (Consejo Nacional de Educación Superior) como una de las primeras instituciones universitarias privadas creadas en el país.

La Universidad Internacional de las Américas tiene como misión “la formación de profesionales que actúen como ciudadanos críticamente conscientes y creativos respecto de sí

mismos, del medio socioeconómico y del sistema de valores individuales y sociales, a fin de fortalecer una sociedad con un clima de justicia, libertad y paz".

Además, la universidad tiene como visión "ser una universidad líder en el campo de la formación superior globalizada, de carácter internacional que ampliará los espacios de trabajo de sus estudiantes conforme a los procesos socioeconómicos que se desarrollan, producto de la inserción del país y del bloque de las américas en un mundo globalizado, a partir de los ejes del desarrollo humano sostenible, globalización, la investigación y la educación permanente y continua".

Objeto de estudio

La extracción de aceite esencial del fruto del clavo de olor a partir de 100 gramos del material vegetal seco.

Variables

Tabla 2. Variables

Objetivo	**Variable**	**Definición conceptual**	**Definición operacional**	**Instrumentalización**
Realizar la extracción del principal metabolito activo del eugenol, utilizando el método de arrastre por vapor.	Metabolitos activos.	Componente que otorga la actividad farmacológica a una o varias sustancias	Extraer el metabolito activo mediante el método de destilación de arrastre por vapor.	Se realiza mediante la utilización de materiales vegetales y equipo de laboratorio.

Analizar las diferentes estructuras funcionales más relevantes presentes en el extracto, mediante una identificación cualitativa.	Existencia de los metabolitos activos en el extracto de clavo de olor.	Presencia de la sustancia activa en el extracto de clavo de olor en estudio.	Identificación del metabolito activo con los métodos de Espectroscopia infrarroja, y por medio de la realización de pruebas de identificación de grupos funcionales.	Infrarrojo, tubo de ensayo, gotero y soluciones de los reactivos para las pruebas de coloración.
Verificar mediante un análisis cualitativo las propiedades expectorantes del eugenol.	Propiedad expectorante del Eugenol.	Consiste en la expulsión, a través de la boca, de sustancias producidas en las vías respiratorias inferiores,	Análisis mediante pruebas de viscosidad	Vidrio reloj, viscosímetro, goteros, espátula.

Fuente: Autor.

Procedimiento de recolección e instrumentos

La técnica se fundamentará en la elaboración y observación de procesos llevados a cabo en el laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas, donde se utilizan métodos químicos para la extracción e identificación de la muestra por analizar. Así mismo, se emplearán procedimientos para demostrar la eficacia expectorante del extracto.

Materiales y equipo

Los instrumentos a utilizar son:

- Balón de fondo redondo de 500 ml
- Balón de tres bocas de 500 ml
- Columna de relleno para termómetro
- Termómetro
- Condensador para destilación
- Alargadera
- Erlenmeyer de 250 ml
- Mangueras para conexiones
- Agitador magnético-calentador
- Beaker de 500 ml
- Cloruro de sodio
- Diclorometano
- Sulfato de sodio anhidro
- Embudo de decantación de 500 ml
- Clavos de olor = 100 gramos

Procedimiento del destilado, extracción y aislamiento de la muestra

Se realiza la extracción del aceite esencial de clavo de olor por medio de la destilación de arrastre por vapor. Para ello, se colocan alrededor de 100 gramos de fruto seco de clavo de olor en un balón de tres bocas con una capacidad de 500 mililitros que esté limpio y seco.

Figura 22. Balón de tres bocas con 100 gramos de clavo de olor

Fuente: Autor.

Seguidamente, se agrega una cantidad de 100 mililitros de agua destilada al balón, para, posteriormente, comenzar con el ensamblaje del equipo de destilación. Este proceso se mantiene

en funcionamiento de dos horas a tres horas, en el cual se utiliza un balón de fondo redondo que contenga agua destilada hasta el punto de ebullición.

Figura 23. Equipo de destilación

Fuente: Autor.

Durante el tiempo de destilación, se le aplica temperatura constante al balón de tres bocas, así el extracto se mantiene con una temperatura y presión interna sin fluctuaciones. Al comenzar la destilación, es posible apreciar que la sustancia destilada presenta un color blanco lechoso, el cual puede cambiar su coloración en el transcurso de la destilación.

Este proceso se debe mantener hasta que la coloración lechosa no aparezca en las gotas del destilado. Ese cambio de color indicará que se ha completado el destilado.

Figura 24. Extracto destilado del clavo de olor

Fuente: Autor.

Seguido a esto, se le agrega al destilado cloruro de sodio hasta que se sature el medio. Posteriormente se traslada la mezcla a un embudo separador de 500 mililitros. Al realizar este paso, se procede a efectuar de tres a cuatro extracciones, cada una con 15 mililitros de diclorometano, ya que este compuesto orgánico arrastra y disuelve el aceite en sí mismo.

Al combinarse el diclorometano en la mezcla se procede a secar la muestra con sulfato de sodio anhidro, para posteriormente realizar una filtración por gravedad y obtener la mezcla de diclorometano y eugenol sin ningún rastro de agua o cloruro de sodio y sulfato.

Finalmente, se expone la mezcla obtenida a una separación por medio de un arrastre al vacío del diclorometano, al calentar la muestra mediante un baño maría, y conectando el Erlenmeyer en el tubo que genera la corriente de agua.

Como último paso, se trasvasa el aceite obtenido a un envase limpio y seco para su posterior análisis.

Figura 25. Aceite esencial del clavo de olor

Fuente: Autor.

Pruebas de identificación del aceite esencial del clavo de olor

Se procede a realizarle pruebas de identificación al extracto previamente envasado, con el fin de caracterizar los principales componentes estructurales.

Prueba de Dragendorff

Esta es una prueba útil para la caracterización de alcaloides, según Limaco E (2010), en su trabajo de investigación sobre la extracción de alcaloides, estos al entrar en contacto con el reactivo de dragendorff van a precipitar en su solución neutra o ligeramente acida. Este reactivo puede ser preparado previamente mediante la formación de dos soluciones.

Para la solución A, se mezclan 0,85 g de nitrato de bismuto con 10 mililitros de ácido acético glacial y 40 mililitros de agua. Para la solución B, se mezclan 8g de yoduro de potasio disueltos en agua; de esta manera el reactivo se prepara uniendo 5 mililitros de A, 10 mililitros de B y 100 mililitros de agua.

Al realizar la prueba, se disuelve de 1 a 2 mg de la disolución del aceite esencial en etanol y se colocan unas gotas en el tubo de ensayo, luego se añaden unas gotas del reactivo y se agita. Esta prueba será positiva si se presenta un color rojizo o naranja, el cual puede durar hasta 24 horas.

Materiales para la prueba de identificación de alcaloides con el reactivo de Dragendorff

- Reactivo de Dragendorff elaborado con reactivos de calidad GR, los cuales son aportados por la Universidad Internacional de las Américas.
- Etanol
- Gotero
- Tubos de ensayo
- Aceite esencial del clavo de olor

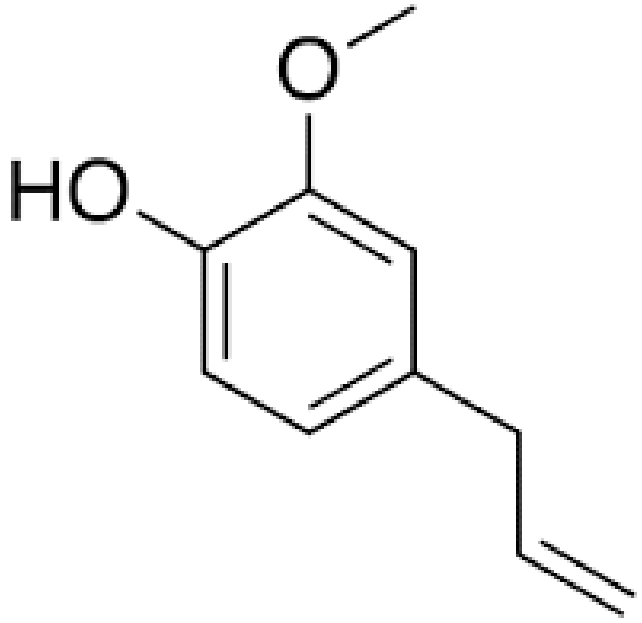
Prueba de cloruro férrico

Esta prueba se realiza para la identificación de fenoles presentes en la estructura. Para su realización, se colocan en un tubo de ensayo 20 gotas del extracto del aceite esencial y 10 gotas del reactivo de cloruro férrico. Esta prueba es positiva cuando se presenta la formación de un color rojo, azul, violeta o verde.

Materiales para la prueba de identificación de fenoles con cloruro férrico

- Reactivo de cloruro de Hierro III elaborado con reactivos de calidad GR, los cuales son aportados por la Universidad Internacional de las Américas.
- Tubos de ensayo
- Gotero
- Aceite esencial de clavo de olor

Figura 26. Estructura del eugenol



Fuente: Autor.

Prueba de permanganato de potasio

Dicha prueba es realizada para el reconocimiento de los dobles enlaces que se presenten en la estructura del aceite esencial del clavo de olor. Se coloca de 1 a 2 mg de la muestra del

aceite en un tubo de ensayo y se disuelve en 1 mililitro de metanol. En seguida, se añade gota a gota la solución de KMnO4 al 5% al tubo de ensayo que posee el extracto disuelto en etanol. Esta prueba es positiva si, al estar en contacto las dos sustancias, se forma un precipitado café como resultado de la interacción de este reactivo formando el bióxido de manganeso que se observa en forma de sólido.

Materiales para la prueba de identificación de permanganato de potasio

- Etanol reactivo de calidad GR, el cual es aportado por la Universidad Internacional de las Américas.
- Permanganato de potasio 5% elaborado con reactivos de calidad GR, el cual es aportado por la Universidad Internacional de las Américas.
- Tubos de ensayo
- Gotero
- Aceite esencial del clavo de olor

Figura 27. Equipo de pruebas de identificación

Fuente: Autor.

Identificación del eugenol presente en el aceite esencial de clavo de olor mediante espectroscopia infrarroja

Otra prueba útil para la identificación de especies químicas es la espectroscopía infrarroja. Para dicho análisis, se utilizó una sustancia de referencia de eugenol 99,0% de pureza y el aceite esencial de clavo de olor extraído previamente. Se procedió a colocar ambas sustancias en el equipo infrarrojo de la Universidad Internacional de las Américas, el cual es u n espectrofotómetro FTIR, Agilent Technologies, modelo Cary 360, mediante el cual se podra obtener ambos espectros y poder comparar las señales obtenidas según los grupos funcionales presentes.

Reactivo: Eugenol estándar

- **Potencia: 82,67%**
- **Lote: EUG0416**
- **H/W: 0,26%**
- **Expira: 01-2019**
- **Tara: 6,4 g**
- **Peso: 2 g**

Evaluación cualitativa del eugenol como expectorante en moco hecho a base de linaza

Para la identificación de esta prueba se elabora un moco a partir de linaza, el cual representa el esputo humano. Para ello, la linaza se coloca en un beaker de 500 mililitros con una cantidad suficiente de agua de modo que, al calentarse este, se pueda formar una sustancia de consistencia viscosa y pegajosa. Esta sustancia se utiliza en vidrios de reloj para observar las propiedades del extracto de eugenol y caracterizar cualitativamente su comportamiento.

Materiales

- Linaza
- Beaker
- Espátula
- Vidrio de reloj
- Eugenol

Así mismo, se realizó una prueba de expectoración comparativa. Para ello, se utiliza el moco preparado previamente con la linaza, el cual se coloca en un espaciador para fármacos inhalados, donde se pretende observar el corrimiento que puede tener la muestra del moco sin aceite esencial y otra muestra con aceite esencial, por lo que se somete a corrientes de aire para así verificar que dicho aceite favorece a la expectoración y salida de esputo a nivel de vías respiratorias superiores.

Materiales

- Espaciador Chamber
- Linaza
- Beaker
- Gotero
- Eugenol

Presupuesto de la investigación

La presente investigación es de muy bajo costo, ya que la información es suministrada por páginas web que no generan costo alguno en sus visitas. Así mismo, el equipo empleado y el lugar utilizado es proporcionado por la Universidad Internacional de las Américas, la cual posee instalaciones para uso académico.

Cabe destacar que el material vegetal fue comprado en la zona de Cartago, con un costo aproximado de 15 mil colones. Dicho material permitió la obtención de 3 a 4 extracciones del aceite esencial de la planta.

A continuación, se expondrán los resultados obtenidos mediante las pruebas realizadas.

CAPÍTULO IV

Análisis de resultados

Extracción del aceite esencial de la planta Syzygium aromaticum mediante arrastre por vapor

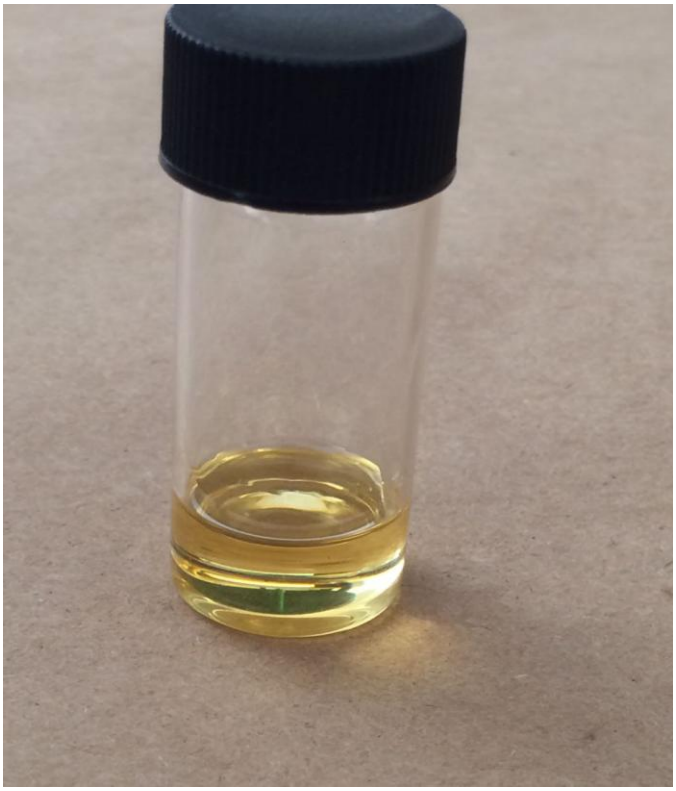
El proceso de destilación utilizado logró ser eficiente ante la extracción del aceite esencial que se encontraba dentro del material vegetal. Este proceso tuvo una duración aproximada de 2 horas y media y no hubo ningún tipo de fluctuación ni factores que pudiesen afectar la temperatura y la presión del sistema en funcionamiento.

Una de las ventajas del sistema de arrastre por vapor es que la sustancia utilizada (agua) no interacciona con los metabolitos arrastrados por el vapor que se forma en el proceso de destilado. Aunado a esto, el material vegetal nunca entra en contacto directo con el calor que se genera desde la plantilla, por lo tanto, no se daña o modifica el aceite que se extrae del mismo. Así mismo, el destilado que se recoge posee una coloración lechosa, la cual contiene el eugenol que le confiere a la mezcla el olor característico de este compuesto.

Al terminar la etapa de destilado, se obtuvo una cantidad de 250 mililitros de la solución, a la cual posteriormente se le realizó una extracción con diclorometano mediante 3 lavados, para disolver el aceite esencial en este solvente orgánico, ya que posee una gran afinidad hacia este tipo de compuestos. Debido a que este solvente posee un bajo punto de ebullición, es de fácil eliminación para la purificación del aceite esencial.

Al realizar la evaporación del diclorometano de la muestra se obtuvo una cantidad aproximada de 5 mililitros que fue envasada y refrigerada con su respectiva etiqueta.

Figura 28. Aceite esencial de clavo de olor



Fuente: Autor.

Tabla 3. Características físicas del aceite esencial de la planta Syzygium aromaticum

Muestra	Aceite de eugenol
Olor	Fuerte, atrayente
Color	Amarillo leve
Textura	Levemente viscoso

Caracterización del aceite esencial de Syzygium aromaticum

El clavo de olor tiene como principal componente el eugenol que se encuentra en alrededor de un 80% de los metabolitos presentes en la planta. Esta molécula está compuesta por diferentes grupos identificables, tales como las insaturaciones tipo alquenos, grupo fenol, entre

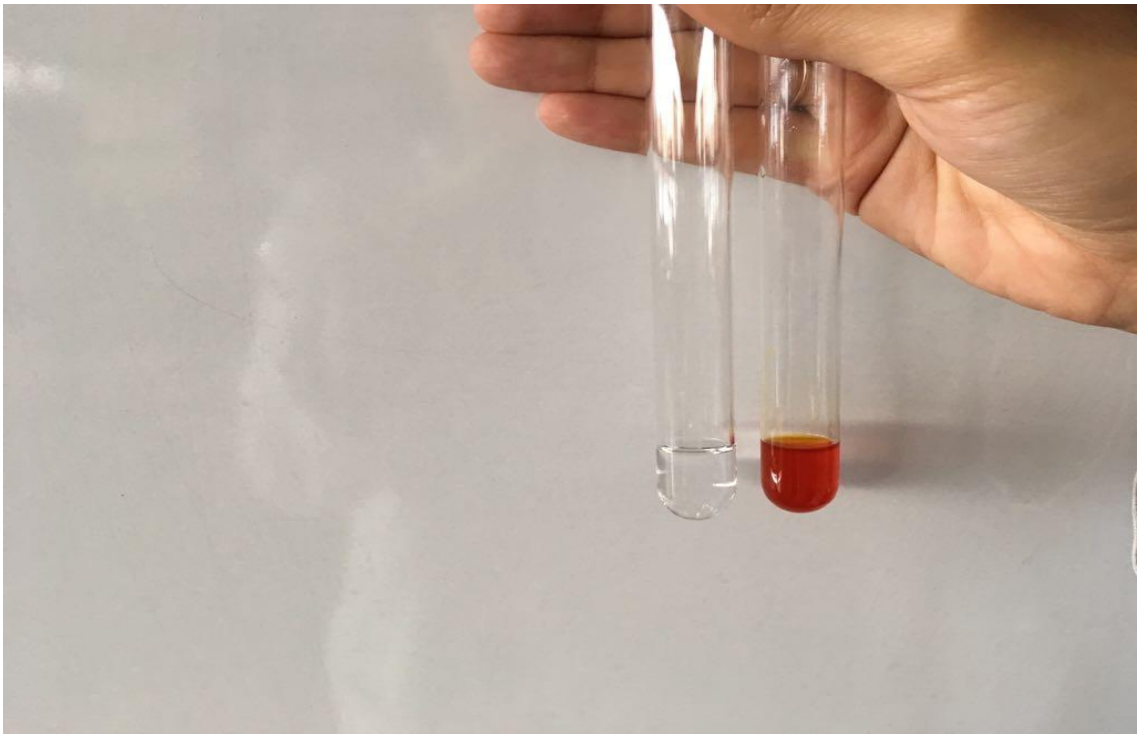
otros. Mediante la identificación de estos compuestos se puede determinar que realmente la sustancia que se obtuvo es la estudiada en el presente ensayo.

Caracterización mediante el reactivo de Dragendorff

Al realizar la prueba con el reactivo de Dragendorff, se verificó en la muestra que había presencia de alcaloides, los cuales están presentes en los metabolitos de las plantas. Esta prueba, al ser positiva, se manifiesta con un cambio en la coloración de la muestra, tornándose de color rojizo o naranja que puede durar hasta 24 horas.

Se preparó la muestra del aceite esencial disuelta en etanol, la cual al agregarse el reactivo formó la coloración deseada como se muestra en la siguiente figura.

Figura 29. Prueba con reactivo de Dragendorff

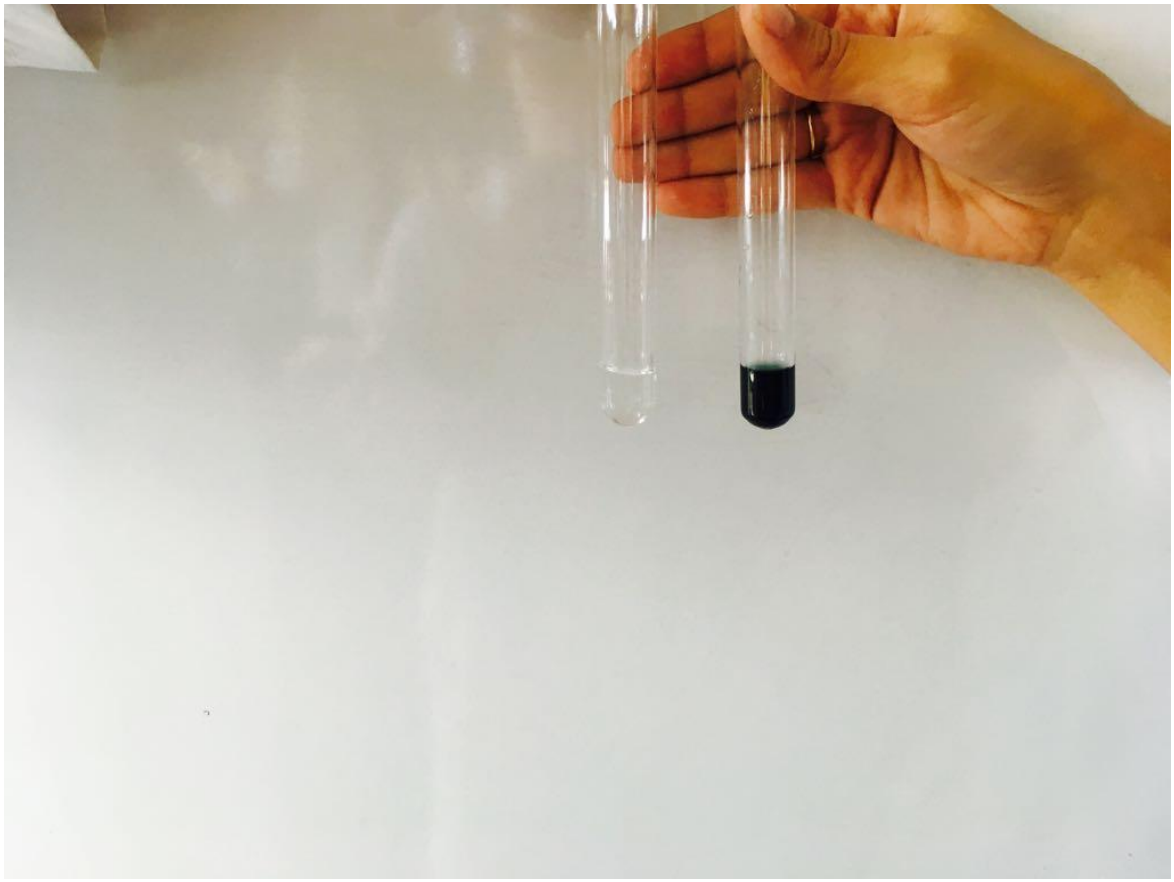


Fuente: Autor.

Análisis mediante el reactivo de cloruro férrico (III)

Esta prueba de identificación para la caracterización de fenoles, se realizó agregando una solución del reactivo al 3%, la cual al reaccionar forma quelatos con los componentes fenólicos de la muestra que posee eugenol. Al tubo de ensayo con la muestra del extracto de clavo de olor se le agregaron 10 gotas de cloruro férrico que, al agitarse y disolverse, obtuvo una coloración verdosa.

Figura 30. Prueba con cloruro férrico

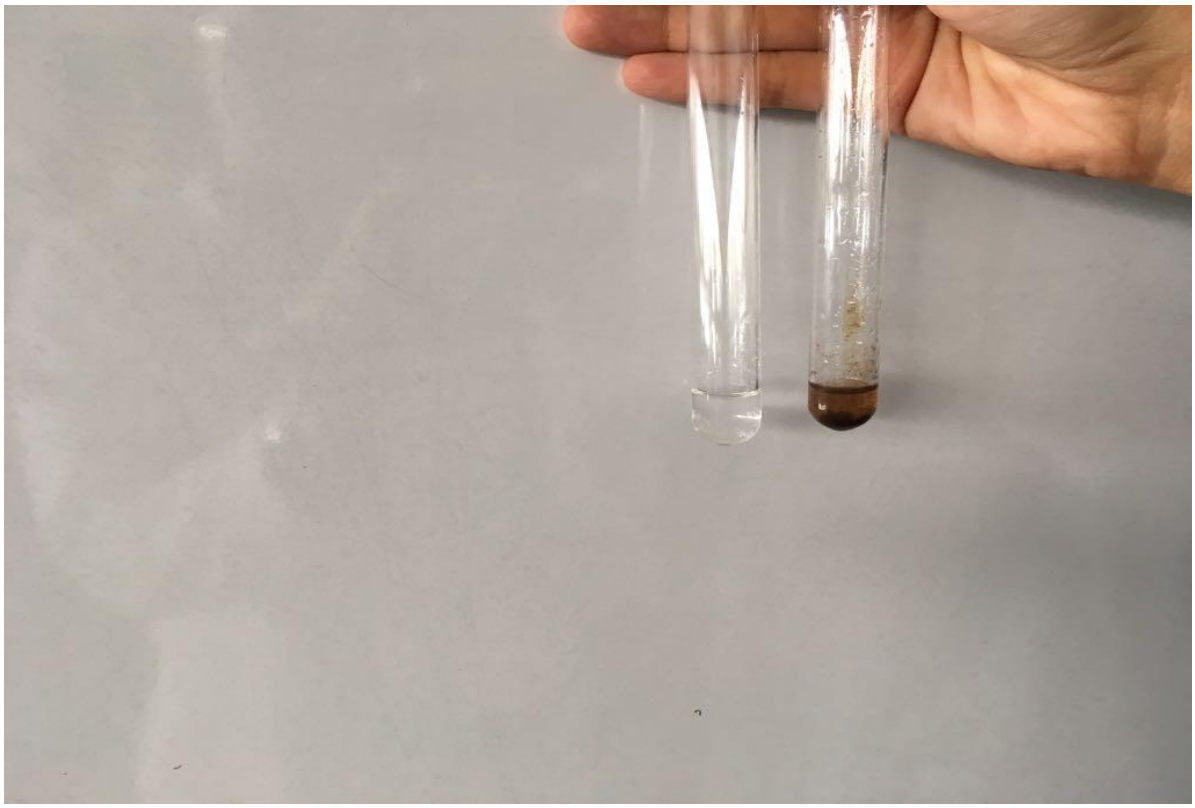


Fuente: Autor.

Prueba de permanganato de potasio

La prueba consistió en la identificación de los dobles enlaces que puedan estar presentes en la muestra analizada, los cuales al reaccionar con el compuesto forman un precipitado color café. Lo anterior muestra que, en efecto, se trata de los dobles enlaces presentes en la molécula.

Figura 31. Prueba con permanganto de potasio

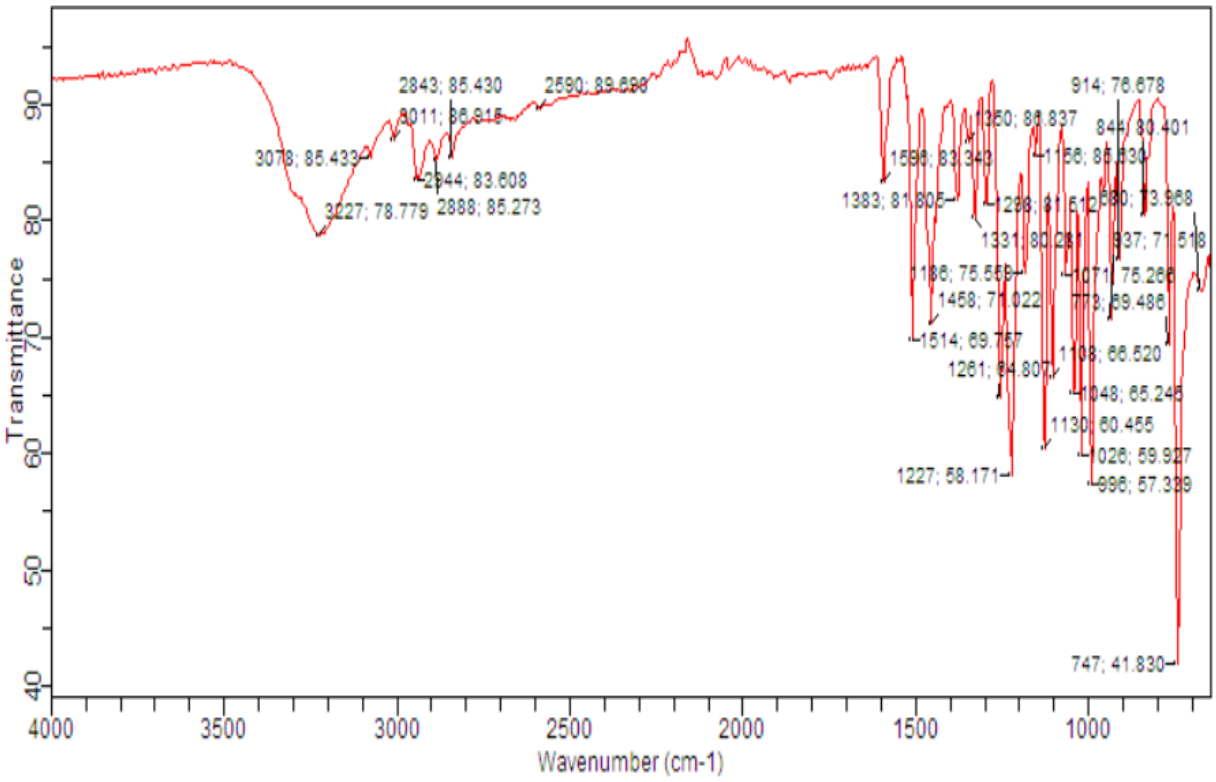


Fuente: Autor.

Análisis cualitativo por espectroscopia IR del aceite esencial del extracto del clavo de olor

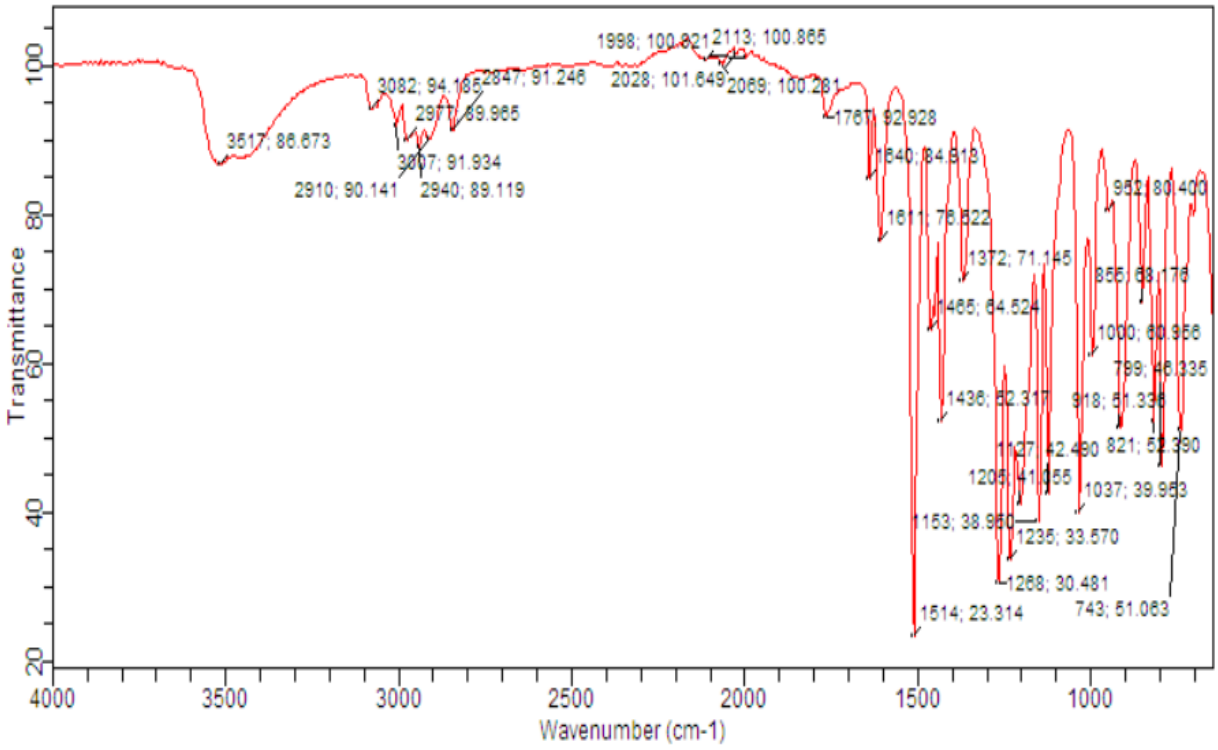
La muestra obtenida por el método de destilación, fue sometida a un análisis por espectroscopia infraroja, donde se obtuvieron los resultados que se exponen a continuación.

Figura 32. Análisis espectroscopia IR de muestra patrón



Fuente: Autor.

Figura 33. Análisis espectroscopia, muestra del destilado



Fuente: Autor.

Según las figuras anteriormente mencionadas, se destaca que el componente encontrado en mayor cantidad en el aceite extraído del clavo de olor es el eugenol. Por lo tanto, tomando como referencia la muestra del patrón de eugenol, se verificó que el espectro de la muestra extraída en el laboratorio tuviese una gran cantidad de puntos que coincidan.

Una de las primeras señales que se observa en los espectros es la señal detectada a los 3517 cm-1, que, según lo establecido, corresponde a un grupo hidroxilo (OH), el cual es una característica del grupo fenol que está presente en la estructura del eugenol.

Seguidamente, la zona encontrada entre los 2850 cm-1 y los 3150 cm-1 es la zona donde se observan señales de vibración y movimiento o estiramiento de enlaces sp3 y sp2. Por lo tanto, se pudo verificar una señal a los 3082 cm-1, perteneciente a la señal que existe entre un hidrógeno y un carbono aromático de hibridación sp^2, los cuales son característicos de los enlaces que forman el anillo aromático presente en la molécula de eugenol.

De igual forma, la señal que se visualiza a los 3007 cm^{-1} en el espectro obtenido corresponde al enlace hidrógeno con carbono de hibridación sp^2, presente en la molécula en los enlaces tipo alqueno. Para esta señal se obtuvo dos señales más, las cuales tenían un valor de 1611 cm^{-1} y 1640 cm^{-1}, respectivamente.

Las señales obtenidas en los valores de 2940 cm^{-1}, 2977 cm^{-1} y 2847 cm^{-1} pertenecen a los enlaces hidrogeno con carbono de hibridación sp^3. Aparte de estas señales, se encontraron las señales que corresponden a las de movimiento o de flexión en el valor de 1465 cm^{-1}, el cual es el valor teórico para un carbono –CH2, con una hibridación sp^3, y otra señal detectada a los 1436 cm^{-1} para el carbono tipo sp^3 en forma de –CH3, los cuales son carbonos presentes en la estructura del eugenol.

Dentro de los picos detectados en el análisis de la muestra se obtuvieron señales a los 1767 cm^{-1} y 1640 cm^{-1}, las cuales no aparecen en el espectro IR del patrón de eugenol y pueden ser causadas por los componentes minoritarios que complementan el aceite esencial de la planta. Esta primera señal detectada es característica de un grupo éster. Lo anterior posiblemente obedece al éster presente en el salicilato de metilo, el cual es uno de los componentes de dicho extracto.

La señal de 1711 cm^{-1} corresponde a un grupo carbonilo de una cetona que puede ser producto de la oxidación del compuesto durante el proceso de extracción por el método de arrastre por vapor, al elevarse la temperatura en el balón, o bien, producto del tiempo que tardó el análisis espectroscópico.

El pico que más intensidad tuvo, y que está presente de la misma manera en los dos espectros estudiados, corresponde a la señal que está en los 1514 cm^{-1}, perteneciente a la señal carbono-carbono del compuesto aromático que posee una hibridación sp^2, el cual se encuentra dentro de la estructura química del eugenol.

Dentro de los picos de estudio se encontró una señal a 1268 cm^{-1} correspondiente al movimiento vibracional del enlace C-O que está presente en el grupo fenol en la molécula. De igual forma, en el espectro del aceite esencial extraído, se encontró una señal a los 1205 cm^{-1}, la cual es un indicativo del enlace carbono–oxigeno. Dicha señal solo se encuentra en este espectro y es atribuible al segundo compuesto en importancia del aceite esencial: el isoeugenol.

Una de las zonas de reconocimiento dentro del espectro IR es la bien conocida “huella digital” la cual se encuentra en un rango de 600 cm^{-1} a 950 cm^{-1}. Se registró dos valores los cuales

tenían un valor de 821 cm^{-1} y 952 cm^{-1} y son característicos de un movimiento de flexión propio de un compuesto aromático tri-sustituido, como lo es el eugenol.

Dentro de esta misma zona, se detectó para ambos espectros la señal a los 799 cm^{-1} correspondiente a un valor teórico para el grupo funcional de tipo alqueno con carbonos sp^2, el cual se presenta como un movimiento de flexión característico.

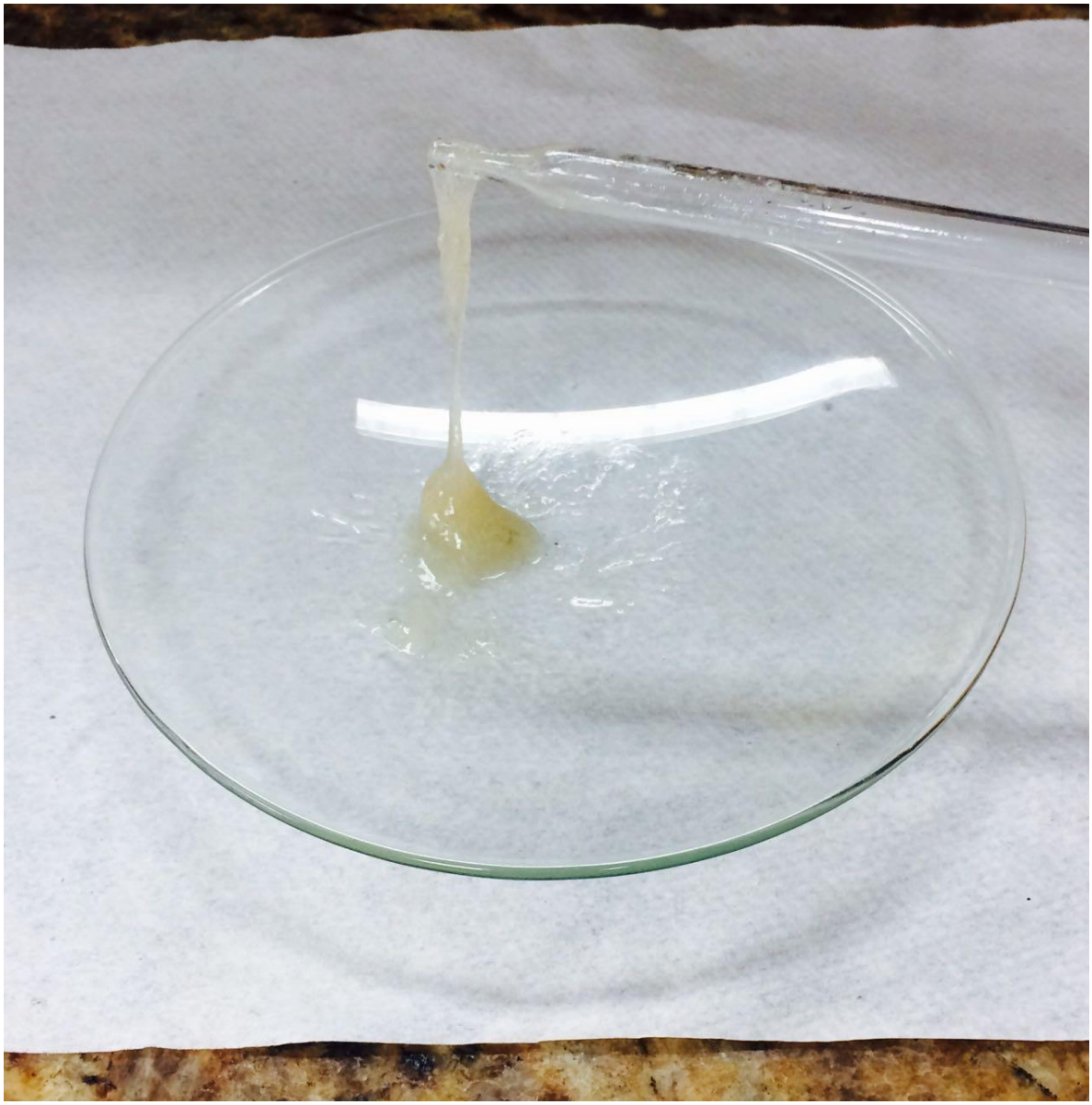
Evaluación cualitativa del eugenol como expectorante

Luego de la formación del esputo constituido por linaza, se procedió a realizar una prueba cualitativa, evaluando la característica expectorante que posee el extracto de eugenol. Se colocó muestra a dos vidrios de reloj con la muestra de esputo formada anteriormente, al cual a una de ellas se le agrego el aceite esencial del clavo de olor.

Figura 34. Esputo mezclado con eugenol

Fuente: Autor

Figura 35. Esputo normal



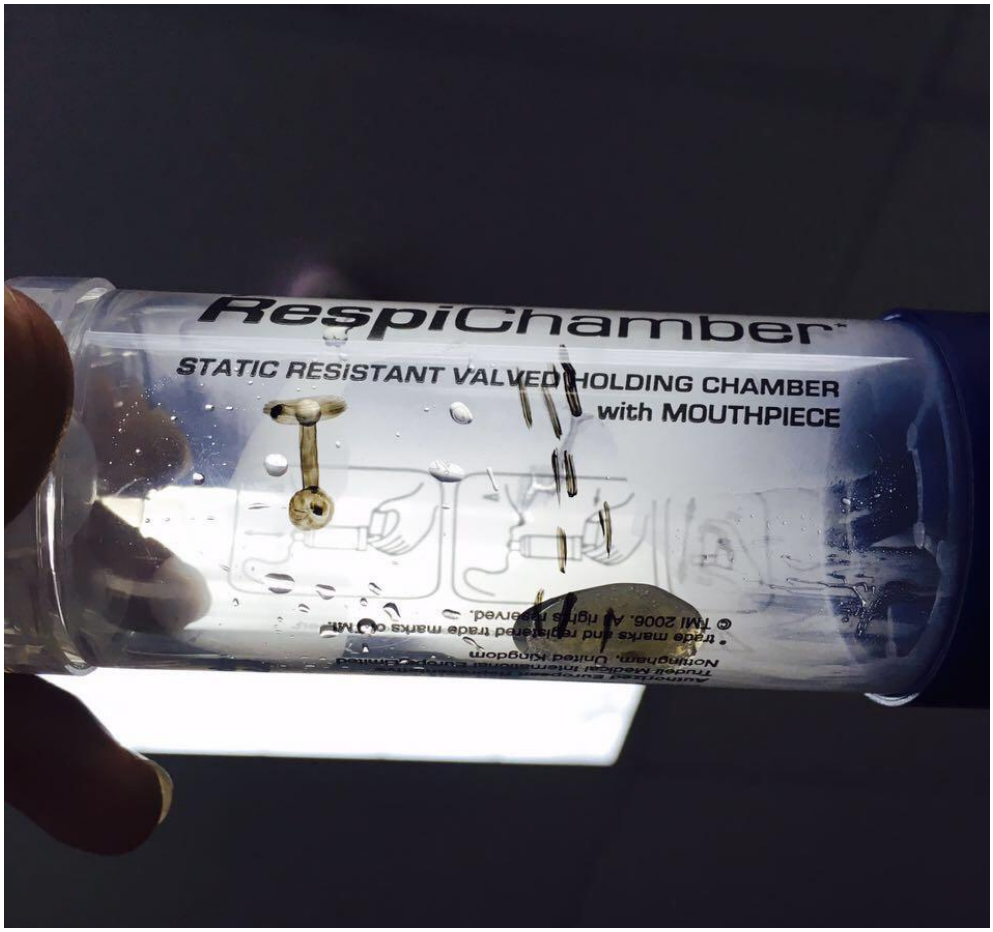
Fuente: Autor.

La primera figura contiene el moco con varias gotas del extracto de eugenol, la cual, luego de ser expuesta al aceite esencial, comenzó a variar en consistencia y forma. Se notó una facilidad para separarlo del vidrio reloj, lo cual hace pensar que el eugenol, por su propiedad expectorante, favorece la salida de esputo del tracto respiratorio superior. Ante esto, la segunda muestra sirvió para verificar que realmente la muestra se modificó luego de la aplicación del metabolito.

Ante lo observado en esta prueba, se procedió a realizar una prueba cualitativa acerca del movimiento que pueda tener el esputo de linaza con la muestra de eugenol extraída en el laboratorio. Para ello, se utilizó un espaciador para fármacos inhalados, el cual iba a ejemplificar el tracto respiratorio superior, donde el efecto del eugenol como expectorante se vería con mayor intensidad.

Se colocó una muestra de esputo con la muestra de eugenol y otra sin ello, y se procedió a realizar aspiraciones y expiraciones constantes para verificar el movimiento que pudo tener la muestra en la garganta artificial que se acoplo a la respiración de la persona voluntaria.

Figura 36. Muestra del esputo con eugenol dentro del espaciador



Fuente: Autor.

Figura 37. Muestra del esputo sin eugenol en el espaciador

Fuente: Autor.

Según lo observado en las figuras 36 y 37, la muestra que posee eugenol tuvo un corrimiento al ser afectada por la respiración normal de una persona. Lo anterior indica que ese corrimiento se debe al efecto expectorante, pues se trata de eliminar, ya sea expulsando la muestra por la "boca", o bien, transportándola hacia el estómago, eliminándose así mediante diferentes mecanismos excretores del cuerpo humano.

Así mismo, la muestra que se observa en la figura 37, da una idea de que el esputo que no fue tratado con el aceite esencial no tuvo ningún movimiento dentro del espaciador. Ello indica que el eugenol afecta de manera positiva el corrimiento de flemas, ya que es un potencial

principio activo que puede ser utilizado para la formulación de formas farmacéuticas que provean esta función expectorante.

Capítulo V

Conclusiones

- El material vegetal permite la extracción del aceite esencial mediante la destilación de arrastre con vapor, sin que necesite solventes orgánicos para su extracción.
- La destilación por arrastre con vapor para la extracción del aceite esencial es un proceso que puede llegar a tener una duración de 2 a 3 horas.
- La técnica de extracción es realmente barata, ya que solo utiliza agua como medio de arrastre.
- La extracción del aceite esencial se da mediante la evaporación del compuesto orgánico a una temperatura baja, así se evita que se afecte el extracto deseado.
- De acuerdo con la prueba de Dragendorff, existen alcaloides en la muestra de eugenol extraída.
- Según la prueba de fenoles con cloruro de hierro (III), la muestra es positiva por la presencia del fenol en la estructura del eugenol.
- La prueba de permanganato de potasio dio positiva al reconocer el doble enlace de la molécula del eugenol.
- La prueba cualitativa sobre su consistencia resultó positiva al notarse un cambio de adherencia en el vidrio de reloj
- La prueba cualitativa de corrimiento resultó ser provechosa al notarse un traslado de la muestra a lo largo del espaciador.
- Mediante la espectroscopia infrarroja se determinó la presencia de los principales compuestos funcionales del eugenol, por tanto, se determinó que era realmente la muestra que se quería.
- El esputo, al entrar en contacto con el eugenol, modifica sus características físicas para ser removido con mayor facilidad.
- Se encontró como una cualidad del eugenol su capacidad expectorante, para la eliminación de esputo en vías respiratorias superiores.

Recomendaciones

- Al realizar la extracción mediante arrastre con vapor, se recomienda no exponer la muestra a temperaturas tan elevadas, con el fin de evitar transformaciones químicas en el extracto.
- Como mejoramiento del proceso se puede comenzar a contar el tiempo de extracción del clavo de olor a partir de los primeros 20 minutos de la ebullición de la muestra.
- Aunque dicha molécula es muy fácil de identificar y determinar, se recomienda realizar una prueba por cromatografía de gases.
- Al ser comprobable su acción expectorante, se sugiere realizar una formulación farmacéutica para promover su uso a nivel tópico.
- Se aconseja realizar una validación del método utilizado para la extracción del aceite esencial de la planta Syzygium aromaticum.
- Se podría investigar o crear nuevas formas de comprobar la expectoración de manera in vivo para uso del laboratorio.
- La muestra de eugenol debe ser manipulada bajo condiciones adecuadas, por lo que esta se debe mantener en custodia a una temperatura entre los 5 a 15 grados centígrados, sin exponerse al sol.

Bibliografía

Hamini-Kadar N , Hamdane F, Boutoutaou R, Kihal M and Henni J E (22 de Setiembre de 2014) antifungal activity of clove (syzygium aromaticum l.) essential oil against phytopathogenic fungi of tomato (Solanum lycopersicum L) in algeria. [archivo de pdf]. Recuperado de: http://www.jebas.org/00200520102014/Hamini%20et%20al%20JEBAS.pdf.

Debjit Bhowmik, K.P. Sampath Kumar, Akhilesh Yadav , Shweta Srivastava , Shravan Paswan, Amit Sankar Dutta (2012) (Recent Trends in Indian Traditional Herbs Syzygium aromaticum and its Health Benefits). [archivo de pdf]. Recuperado de: http://www.phytojournal.com/vol1Issue1/Issue_may_2012/1.pdf.

Teresa Castillo Sánchez (10 de abril de 2010) trabajo final de tesis, Extraccion y cuantificación de aceite esencial de cascara de granada (Punica granatum L.) y determinar su efecto antifungico sobre Penicillium sp. [archivo de pdf]. Recuperado de: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/433/61274s.pdf?sequence=1

Dayana Velandia, Jairo Sanchez (19 de setiembre de 2007). DESTILACION SIMPLE Y FRACCIONADA. Recuperado de http://jackorganica.blogspot.com/2007/09/destilacion-simple-y-fracionada.html.

José Manuel de la Iglesia Ceballos. (2012) Operaciones y Procesos. Recuperado de: http://ocw.unican.es/ensenanzas-tecnicas/operaciones-y-procesos/materiales/BLOQUE2-OyP.pdf.

Juan Francisco Almeida Ludeña (2014) "Aislamiento y caracterización experimental y computacional de eugenol en Albahaca de sal (Ocimum basilicum) y Albahaca de dulce (Ocimum americanum)" PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES. Recuperado de: http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/11439/Tesis%20Eugenol%20empastados.pdf?sequence=1

Hakki, A., Murat, E., Nitz, S., & Kollmannsberger, H. (2007). Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated turkish clove. Bioresources , 265-269.

Adolfo Ávalos García. Elena Pérez-Urria Carril. (2009) Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid. Metabolismo secundario de plantas. Recuperado de: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf .

Yohasky Fiorella Caballero Ospino, María de los Ángeles Rodríguez Domínguez (2014) universidad de san buenaventura, obtención de aceites esenciales a partir de cáscara de mango (mangifera indica l.) mediante técnica de destilación por arrastre de vapor. recuperado de: http://bibliotecadigital.usb.edu.co/bitstream/10819/2599/1/Obtenci%C3%B3n%20de%20aceites%20esenciales%20a%20partir%20de%20c%C3%A1scara%20de%20mango_Yohasky%20Caballero_USBCTG_2015.pdf

María Carolina Flores Gutiérrez (2010) Universidad de chile, investigación de los aceites esenciales, sus caracteristicas y finalidad de uso. análisis del estado de su regulación en chile y el mundo. Recuperado de: http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2010/qf-flores_mc/pdfAmont/qf-flores_mc.pdf .

Kumar, S., & Eko, S. (2012). Antiproliferative and molecular mechanism of eugenolinduced apoptosis in cancer cells. Molecules , 6290-6304.

Carlos A. Nota, Miguel A. Pelliteri, Rosa Ingratta, Carlota A. Baudino, Isaac Cadile, Susana D. Lühning, Fernando E. Unsain (2015) Manual de SÍNTOMAS EN ENFERMEDADES CLÍNICAS. Recuperado de: http://semiologiahnc.webs.fcm.unc.edu.ar/files/2016/06/Semiologia.-Apunte.pdf.

Gustavo Del Fabbro (2017) Universidad Nacional de Rosario, Santa Fe, Argentinta, Cátedra de Semiología Clínica. Recuperado de: http://www.semiologiaclinica.com/index.php/libros/49-capitulos/122-expectoracion.

Rodrigo Torres-Castro, Gonzalo Monge, Roberto Vera, Homero Puppo, Juan Céspedes, Jordi Vilaró (2014) Estrategias terapéuticas para aumentar la eficacia de la tos en pacientes con enfermedades neuromusculares. Recuerado de http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v142n2/art13.pdf.

MsC. Elisa Juy Aguirre, MsC. Enrique Céspedes Floirian, MsC. Alina de la C. Rubal Wong, MsC. Amparo Matilde Maza González y MsC. Carlos Alberto Terán Guardia (2014) Articulo

original, Morbilidad por infecciones respiratorias agudas en menores de 5 años. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/pdf/san/v18n11/san021811.pdf.

Dra. Vesta Richardson López Collada, Dra. Diana Leticia Coronel Martínez, Dra. María Teresa Murguía Peniche, Dra. Velia Rosas Benítez, Dra. Lucia Álvarez Hernández (2012) Manual de Enfermedades Respiratorias 2012 Prevención, diagnóstico y tratamiento. Recuperado de: http://salud.edomex.gob.mx/html/descarga.php?archivo=MEDICA/MANUAL%20DE%20ENFERMEDADES%20RESPIRATORIAS%20AGUDAS.%20%20PREVENCION%20DIAGNOSTICO%20Y%20TRATAMIENTO.PDF.

Laia Garcia- Bellmunt, Oriol Sibila (2013) Mecanisms de defensa pulmonar. Recuperado de: http://www.neumologiaysalud.es/descargas/R6/R62-3.pdf

Jorge Martínez Fraga (14 de abril del 2012) Anatomía y Fisiología. Tema 8: El Aparato Respiratorio. Recuperado de http://www.elmodernoprometeo.es/Sitio_web/Anatomia_files/respiratorio.pdf

Skoog, H. C. (2014). Principios de análisis instrumental (Novena ed.). México DF: Cengage Learning.

V. K. Raina,S. K. Srivastava,K. K. Aggarwal,1K. V. Syamasundar and Sushil Kumar (2016) Essential oil composition of Syzygium aromaticum leaf from Little Andaman, India. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/230097670_Essential_oil_composition_of_Syzygium_aromaticum_leaf_from_Little_Andaman_India.

Chami N, Bennis S, Chami F, et al. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol in vitro and in vivo. Oral Microbiol.Immunol 2005;20(2):106-111.

Celis, L. (2010). Usos medicinales del clavo de olor. Cuernavaca: Tlahui

Alma, E. N. (2007). Chemical composition and content of essential oil from the bud of cultivated turkish clove (Syzygium aromatocum l.). Bioresources , 265-269.

Mario Alberto Maldonado Ramírez, Rocío Azalea Barrera Guerra, Rene Martín Guzmán Juárez, Viridiana Pantoja Garza (2008) Eugenol: material de uso dental con riesgo de toxicidad local y sistémica. Recuperado de: http://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2008/ora0828d.pdf.

Fermín Gómez Gómez (2012) Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro, Estimacion del efecto inhibitorio de Alternaria solani y Aspergillus flavus con cinco extractos vegetales. Recuperado de: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1504/ESTIMACI%D3N%20DEL%20EFECTO%20INHIBITORIO%20DE%20Alternaria%20solani%20y%20Aspergillus%20flavus%20CON%20CINCO%20EXTRACTOS%20VEGETALES.pdf?sequence=1

Bushra Sultana, Farooq Anwar, Muhammad Mushtaq, Maryam Aslam and Sidra Ijaz (2014) In vitro antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (Syzygium aromaticum L.) seed extracts. Recuperado de: http://www.pjps.pk/wp-content/_uploads/pdfs/27/4/Paper-22.pdf.

G. Torres, F. Nájera, Y. Vida (2009) Universidad de Málaga. La mecánica cuántica. La espectroscopia Infrarroja. Recuperado de: https://ocw.uma.es/ciencias/modelizacion-molecular/ocwuma0055/docs/Tema3_04_doc.pdf

Y. Arce. Escuela de enfermería Casa de Salud Valdecilla. Aparato respiratorio y patologías asociadas a la funcion respiratoria: asma. Recuperado de: https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/5566/ArceDiegoY.pdf;sequence=1

Ministerio de salud y protección social. (2013) Colombia. Informe acerca de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica – EPOC. Recuperado de https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/epoc.pdf

Srivastava, K. Antiplatelet Principles from a food spice clove (Syzygium aromaticum). Prostaglandins Leukotrienes and essential fatty acids , 363-372.

Garcia S y Parodp R (2010). Tos y angioedema en pacientes tratados con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina. Recuperado de http://www.scielo.org.ar/pdf/rac/v79n2/v79n2a12.pdf

S. Martín, J. Benedí (2014) .Farmacoterapia mucolítico-expectorante. Recuperado de Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 06/08/2017.

Limaco E, (2010). Trabajo de investigación, Extracción de alcaloides. Recuperado de: https://capitanswingysanlamuerte.files.wordpress.com/2015/04/trabajo-de-investigacion-universidad-nacional-de-san-cristobal-de-huamanga.pdf

ANEXOS