

## Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *Morus alba* L. (morera)

### Qualitative evaluation of secondary metabolites in extracts of *Morus alba* L. (mulberry) varieties and hybrids

DraC. Maykelis Díaz Solares,<sup>I</sup> Lic. Yanet Cazaña Martínez,<sup>II</sup> Lic. Yunel Pérez Hernández,<sup>II</sup> DraC. Aymara Valdivia Ávila,<sup>II</sup> Lic. Marlene Prieto Abreu,<sup>I</sup> Ing. Yudit Lugo Morales<sup>I</sup>

<sup>I</sup> Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba.

<sup>II</sup> Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO). Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** el género *Morus* constituye una fuente importante de sustancias bioactivas de diversa naturaleza química. Además, el uso de *Morus alba* L., planta conocida como morera, se ha diversificado gracias a que posee excelentes cualidades nutricionales. En Cuba, sobresale como fuente de forraje por su capacidad de producción de biomasa, composición química, alta degradabilidad, adaptabilidad a diversas condiciones de clima y suelo, perennidad ante el corte y disponibilidad.

**Objetivos:** realizar el tamizaje fitoquímico de 10 variedades e híbridos de *M. alba* y evaluar la toxicidad de los extractos acuosos en ratas de laboratorio.

**Métodos:** se recolectaron las hojas frescas. Se lavaron, desinfectaron, secaron, y pulverizaron y se extrajeron con n-hexano, etanol y agua. Los extractos se filtraron y se les realizaron las pruebas fitoquímicas de identificación. En ratas se realizó una evaluación de toxicidad de los extractos acuosos para la determinación preliminar de su inocuidad.

**Resultados:** el estudio fitoquímico mostró considerables cantidades de triterpenos y esteroides, así como fenoles y taninos en los extractos evaluados, mientras que no fueron detectados quinonas ni alcaloides. En el ensayo de toxicidad no se manifestaron síntomas clínicos importantes como mortalidad, convulsiones, alteraciones en el ritmo cardíaco o respiratorio.

**Conclusiones:** el análisis fitoquímico de las variedades e híbridos de *M. alba*, mostraron abundantes cantidades de metabolitos secundarios descritos como agentes antioxidantes. El estudio de toxicidad realizado mostró una inocuidad del extracto acuoso en ratas, por lo que estos extractos sugieren la presencia de propiedades farmacológicas para el tratamiento de numerosas enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

**Palabras clave:** *Morus alba*, fitoquímica, toxicidad, fenoles, terpenos, alcaloides.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** the *Morus* genus constitutes an important source of bioactive substances of diverse chemical nature. In addition, the use of *Morus alba* L., plant known as mulberry, has been rapidly diversified because it has excellent nutritional qualities. In Cuba, it stands out as forage source due to its biomass production capacity, chemical composition, high degradability, adaptability to different climate and soil conditions, perennial character when pruned and availability.

**Objectives:** to perform the phytochemical sieving of 10 *M. alba* varieties and hybrids and evaluate the toxicity of the aqueous extracts in laboratory rats.

**Methods:** the fresh leaves were collected. They were washed, disinfected, dried, and pulverized and extracted with n-hexane, ethanol and water. The extracts were filtered and the phytochemical identification tests were ran on them. A toxicity evaluation of the aqueous extracts was conducted in rats for the preliminary determination of their innocuousness.

**Results:** the phytochemical study showed considerable quantities of triterpenes and steroids, as well as phenols and tannins in the evaluated extracts, while neither quinones nor alkaloids were detected. In the toxicity trial no important clinical symptoms, such as mortality, convulsions, or alterations of the heart or respiratory rate, appeared.

**Conclusions:** the phytochemical analysis of the *M. alba* varieties and hybrids showed abundant quantities of secondary metabolites described as antioxidant agents. The toxicity study conducted showed innocuousness of the aqueous extract in rats, for which these extracts suggest the presence of pharmacological properties for the treatment of many diseases associated to the oxidative stress.

**Key words:** *Morus alba*, phytochemistry, toxicity, phenols, terpenes, alkaloids.

---

## INTRODUCCIÓN

La búsqueda de plantas con propiedades medicinales constituye un tópico importante dentro de la medicina tradicional. Muchos de los componentes vegetales introducidos al organismo humano a través de la alimentación, tales como compuestos fenólicos, terpenoides, lactónicos y esteroides, han sido reportados como modificadores de procesos biológicos que permiten reducir enfermedades crónicas en humanos y animales como la diabetes, el cáncer y procesos inflamatorios, entre otras.<sup>1,2</sup>

*Morus alba* L. pertenece a la división *Spermatophyta*, clase *Magnoliatae*, subclase *Dicotiledónea*, orden *Urticales*, familia *Moraceae*, género *Morus*. Es un árbol leñoso, perenne, deciduo de porte bajo a medio, semicaducifolia en las condiciones de Cuba, de rápido crecimiento, monoica o dioica, con un sistema radical profundo.<sup>3</sup>

En la especie *M. alba* ha sido reportada la presencia de varios metabolitos secundarios de diferente naturaleza y función.<sup>4,5</sup> Sin embargo, se conoce que numerosos factores pueden afectar los resultados en el análisis fitoquímico, entre ellos se encuentran los ambientales como el clima, la temperatura, la fertilidad de los suelos y la exposición a patógenos.<sup>5</sup> Otros factores como el órgano vegetal de muestra, el tiempo de recolección del material y los métodos de determinación, afectan también considerable los resultados.<sup>5,6</sup>

El presente trabajo tiene como objetivo realizar el tamizaje fitoquímico en 10 variedades e híbridos de *M. alba*; así como evaluar la toxicidad de los extractos acuosos en ratas de laboratorio.

## MÉTODOS

### Material vegetal

Para los ensayos de tamizaje fitoquímico se utilizaron hojas de 5 variedades y 5 híbridos de *M. alba* recolectadas y referenciadas en el herbario en la Estación Experimental de Pastos y Forrajes "EPPF Indio Hatuey". Las accesiones estudiadas fueron: Indonesia, Cubana, Acorazonada, Criolla, Tigreada, IZ-13/6, IZ-15/7, IZ-40, IZ-64, IZ-56/4.

### Evaluación de los componentes fitoquímicos

Las hojas jóvenes de las diferentes variedades e híbridos de *M. alba*, fueron colectadas y transportadas al laboratorio, para su lavado con agua destilada y secado a temperatura ambiente, con condiciones adecuadas de ventilación y oscuridad. Las muestras fueron posterior, molidas, tamizadas hasta obtener fragmentos inferiores a 1mm y almacenadas en frascos ámbar.

Se realizaron tres extracciones con diferente grado de polaridad.<sup>7</sup> El primer extracto se obtuvo mediante la suspensión de 2 g de polvo de hojas, 20 mL de n-hexano. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se mantuvo sin agitación durante 48 horas, posterior, se filtró para obtener el extracto n-hexano. La fracción sólida se resuspendió en 20 mL de etanol absoluto y se procedió de manera similar a la anterior para la obtención del extracto etanólico. En último lugar, el extracto acuoso se obtuvo a partir de resuspensión del sólido resultante de ambas extracciones en 20 mL de agua destilada.

Se evaluó la presencia de los siguientes metabolitos en los extractos obtenidos:

- n-hexano*: alcaloides, triterpenos y esteroides, quinonas, agrupamiento lactónico.
- etanol*: agrupamiento lactónico, fenoles y taninos.
- agua*: fenoles y taninos, triterpenos.

La determinación de los metabolitos se realizó de manera cualitativa a través, del sistema no paramétrico de cruces:

- + + +: presencia cuantiosa.
- + +: presencia notable.
- +: presencia leve.
- : ausencia.

### Ensayo de toxicidad

Para la prueba de toxicidad se utilizó la variedad Tigreada con ratas *Wistar* machos entre 200 y 250 g organizadas aleatoriamente en dos grupos de 10 ratas cada uno, a los cuales se les administraron por vía oral las siguientes soluciones:

- Grupo I (control)*: 1 ml de suero fisiológico.
- Grupo II*: 1 mL de extracto fresco de hoja (800 mg/mL).

Los animales fueron monitoreados a intervalos regulares durante 48 h y se evaluaron los siguientes parámetros: convulsiones, hiperactividad o sedancia, aumento o decremento del ritmo respiratorio y cardiaco y pérdida del apetito.

Las ratas fueron mantenidas en un régimen de agua y alimentación *ad libitum* durante el ensayo.

## RESULTADOS

### Análisis cualitativo en los extractos n-hexano

La [tabla 1](#) muestra los metabolitos presentes en el extracto n-hexano. Todas las variedades mostraron una marcada presencia de triterpenos, esteroides y agrupamientos lactónicos, donde se destaca para este último, como el de mayor abundancia en las variedades Indonesia, Criolla, IZ-40 y Cubana; mientras que no se observó la presencia de quinonas y alcaloides en ninguna de ellas.

**Tabla 1.** Metabolitos presentes en extractos n-hexano de hojas de *M. alba*

METABOLITOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Triterpenos y esteroides	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Quinonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Agrupamiento lactónico	+++	++	++	++	+++	+++	++	++	++	+++
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Los números corresponden a las variedades;

1: Indonesia, 2: IZ-13/6, 3: IZ-15/7, 4: Acorazonada, 5: Criolla, 6: IZ-40, 7: Tigreada, 8: IZ-64, 9: IZ-56/4, 10: Cubana.

### Análisis cualitativo en los extractos etanólicos

En los extractos etanólicos se observó una presencia leve de agrupamientos lactónicos en todas las variedades. Los fenoles y/o taninos por otra parte, fueron encontrados en cuantiosa o notable presencia en todas las variedades ([tabla 2](#)).

**Tabla 2.** Metabolitos presentes en extractos etanólicos de hojas de *M. alba*

METABOLITOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Agrupamientos lactónicos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fenoles y/o taninos	++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Los números corresponden a las variedades;

1: Indonesia, 2: IZ-13/6, 3: IZ-15/7, 4: Acorazonada, 5: Criolla, 6: IZ-40, 7: Tigreada, 8: IZ-64, 9: IZ-56/4, 10: Cubana.

### Análisis cualitativo en los extractos acuosos

Los extractos acuosos mostraron cantidades cuantiosas y/o notables de fenoles y/o taninos en todas las variedades, mientras que los triterpenos y esteroides fueron en lo particular, abundantes en la variedad IZ-13/6, notablemente presente en la variedad criolla y en el resto de las variedades se obtuvo una presencia leve de estos compuestos (tabla 3).

**Tabla 3.** Metabolitos presentes en extractos acuosos de hojas *M. alba*

METABOLITOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fenoles y/o taninos	+++	+++	++	++	+++	+++	++	++	+++	+++
Triterpenos y esteroides	+	+++	+	+	++	+	+	+	+	+

Los números corresponden a las variedades;

1: Indonesia, 2: IZ-13/6, 3: IZ-15/7, 4: Acorazonada, 5: Criolla, 6: IZ-40, 7: Tigreada, 8: IZ-64, 9: IZ-56/4, 10: Cubana.

También se pudo observar la presencia abundante de los metabolitos triterpenos y esteroides, fenoles y/o taninos y agrupamientos lactónicos (en n-hexano), en las distintas variedades e híbridos de morera.

### Evaluación de la toxicidad de los extractos acuosos por vía oral

Los animales no mostraron en ninguno de los tratamientos síntomas de hiperactividad o sedancia durante el tiempo de monitoreo, manifestaron un comportamiento habitual en correspondencia con el horario del día. No se observaron principios de convulsiones o alteraciones en el ritmo respiratorio o cardíaco y mantuvieron un régimen de alimentación e hidratación similar al control.

## DISCUSIÓN

Las variaciones encontradas en los extractos evaluados pueden estar relacionadas con diferencias genotípicas entre las variedades e híbridos. Por otra parte, las diferencias entre extractos para una misma variedad, puede estar asociado a las diferentes polaridades de los extractos utilizados para la extracción.<sup>8</sup>

Los metabolitos secundarios encontrados en diferentes variedades e híbridos de morera en estudio, han sido descritos por numerosos autores como potenciales bioactivos para el tratamiento de diversas enfermedades.<sup>9-12</sup>

Los compuestos triterpenoides y flavonoides se reportan como promotores del saneamiento de heridas, atribuido en lo principal a sus propiedades astringentes y antimicrobianas, lo que se asocia a la reducción del área dañada y al incremento de la velocidad de epitelización.<sup>13</sup>

Los terpenos también han sido reportados como compuestos de actividad antiulcerogénica en extractos obtenidos de diferentes especies.<sup>14,15</sup> Se conoce que algunos terpenos son considerados drogas antiúlceras y su acción ha estado asociada a la reducción del metabolismo de las prostaglandinas en la mucosa, la acción citoprotectora y la reducción de la permeabilidad vascular gástrica.<sup>16</sup>

Los compuestos fenólicos constituyen una familia de sustancias entre las que se encuentran los ácidos fenólicos, los flavonoides, las quinonas y los taninos,<sup>17</sup> los cuales pueden funcionar como eliminadores de especies reactivas del oxígeno (ERO) o agentes quelantes de metales libres, que participan en la formación de otras ERO de mayor reactividad, provoca el fenómeno de peroxidación lipídica.<sup>18</sup> Entre los distintos compuestos fenólicos con actividad antioxidantes los principales son los ácidos fenólicos y los flavonoides, siendo los primeros, la clase mayoritaria, distribuidos en el reino vegetal, especial, en los frutos y los vegetales.<sup>5</sup>

La presencia de esteroides ha sido reportada previamente en *M. alba*.<sup>19</sup> Entre los fitoesteroles más comunes en las plantas se encuentra el sitosterol (b-sitosterol),<sup>20</sup> encontrado también en callos obtenidos de *M. alba*.<sup>21</sup> Ensayos *in vitro* e *in vivo* con este compuesto han reportado diversas propiedades farmacológicas, como actividad antiinflamatoria, se utiliza además, para reducir los niveles de colesterol en sangre.<sup>20</sup>

Las lactonas, por otra parte, son compuestos de naturaleza química heterogénea, presentes en varias familias de plantas y que han sido descritos por varios autores como agentes antiinflamatorios en diferentes estudios farmacológicos.<sup>22</sup>

La ausencia de trastornos macroscópicos como principios de convulsiones, alteraciones en el ritmo respiratorio o cardíaco entre otras, en las ratas administradas con extracto acuoso de *M. alba* variedad Tigreada, puede estar asociado a la ausencia de compuestos como las fitoquinonas, las cuales se incluyen dentro del grupo de compuestos de mayor toxicidad.<sup>3</sup>

En estudios realizados anteriormente con *M. alba*,<sup>3</sup> tampoco fue reportada la presencia de otros compuestos citotóxicos como proantocianidinas/catequizas (taninos condensados), los cardinólicos y los cianógenos.

Las cantidades significativas observadas de metabolitos secundarios de naturaleza antioxidante, unido a la no macrotoxicidad de los extractos, apunta hacia la posible aplicabilidad de los extractos de *M. alba* para el tratamiento contra trastornos gástricos, como las úlceras, donde se ha comprobado el efecto positivo de compuestos antioxidantes en la protección de estas patologías asociado a una inhibición de la peroxidación lipídica en las células gástricas<sup>23</sup> o por inhibición de la secreción de ácido gástrico.<sup>24</sup>

De manera similar, pudiera ser de interés la aplicación tópica de estos extractos en lesiones cutáneas y en ensayos antiinflamatorios, donde se ha comprobado el efecto positivo de los agentes antioxidantes en la recuperación o reducción de estas patologías.<sup>25-27</sup>

Sin embargo, para la explotación de estas variedades son necesarias otras pruebas analíticas, para la purificación, identificación y cuantificación de metabolitos secundarios, que permita detallar el modo de acción durante los ensayos biológicos.

El análisis fitoquímico de las variedades e híbridos de *M. alba*, mostraron abundantes cantidades de metabolitos secundarios descritos en la literatura como agentes antioxidantes. Los compuestos más abundantes en los extractos obtenidos

fueron los triterpenos y esteroides, así como los fenoles y taninos; mientras que no fueron detectados alcaloides o quinonas.

El estudio de toxicidad realizado mostró una inocuidad del extracto acuoso en ratas, por lo que estos extractos sugieren la presencia de propiedades farmacológicas para el tratamiento de numerosas enfermedades asociadas al estrés oxidativo como procesos inflamatorios, trastornos gástricos, entre otros.

### Apoyo financiero

Por el Ministerio de Educación Superior de Cuba como parte del proyecto de I+D con el código 6170.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zhang Y, Ren C, Lu G, Mu Z, Cui W, Gao H, et al. Anti-diabetic effect of mulberry leaf polysaccharide by inhibiting pancreatic islet cell apoptosis and ameliorating insulin secretory capacity in diabetic rats. *Int Immunopharmacol.* 2014;22(1):248-57.
2. Hunyadi A, Liktor-Busa E, Márki A, Martins A, Jedlinszki N, Hsieh TJ, et al. Metabolic effects of mulberry leaves: exploring potential benefits in type 2 diabetes and hyperuricemia. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013: ID 948627; doi:10.1155/2013/948627.
3. García DE. Evaluación de los principales factores que influyen en la composición fitoquímica de *Morus alba* (Linn.). Tesis presentada en opción al Título Académico de Master en Pastos y Forrajes. EEPF "Indio Hatuey", Matanzas, Cuba; 2003. p. 1-97.
4. Sarikaphuti A, Nararatwanchai T, Hashiguchi T, Ito T, Thaworanunta S, Kikuchi K, et al. Preventive effects of *Morus alba* L. anthocyanins on diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Exp Ther Med.* 2013;6(3):689-95.
5. Demiray S, Pintado ME, Castro PML. Evaluation of phenolic profiles and antioxidant activities of Turkish medicinal plants: *Tilia argentea*, *Crataegi folium* leaves and *Polygonum bistorta* roots. *World Academy of Science, Engineering and Technology.* 2009;3(6):251-6.
6. Lisiewska Z, Kmiecik W, Korus A. Content of vitamin C, carotenoids, chlorophylls and polyphenols in green parts of dill (*Anethum graveolens* L.) depending on plant height. *J. Food Comp. Analys.* 2006;19(2-3):134-40.
7. Cazaña-Martínez Y, González JA, Prieto-González S, Molina J, González-Guevara J, Urquiola A, et al. Evaluación fitoquímica preliminar de tres especies cubanas de *Erythroxylum*. *Acta Farmacéutica Bonaerense.* 2004;23(2):193-7.
8. Lee WJ, Choi SW. Quantitative Changes of Polyphenolic Compounds in Mulberry (*Morus alba* L.) Leaves in Relation to Varieties, Harvest Period, and Heat Processing. *Prev Nutr Food Sci.* 2012;17(4):280-5.
9. Iqbal S, Younas U, Sirajuddin, Chan KW, Sarfraz RA, Uddin K. Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus* sp.): a comparative study. *Int J Mol Sci.* 2012;13(6):6651-64.

10. Chen YC, Tien YJ, Chen CH, Beltran FN, Amor EC, Wang RJ, et al. *Morus alba* and active compound oxyresveratrol exert anti-inflammatory activity via inhibition of leukocyte migration involving MEK/ERK signaling. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 13(1): 45-55.
11. Ali A, Ali M. New triterpenoids from *Morus alba* L. stem bark. *Nat Prod Res*. 2013; 27(6): 524-31.
12. Kim GN, Jang HD. Flavonol content in the water extract of the mulberry (*Morus alba* L.) leaf and their antioxidant capacities. *J Food Sci*. 2011; 76(6): 869-73.
13. Shivananda Nayak B, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. *eCAM*. 2009; 6(3): 351-56.
14. De Almeida AB, Luiz-Ferreira A, Cola M, Di Pietro Magri L, Batista LM, de Paiva JA, et al. Anti-ulcerogenic mechanisms of the sesquiterpene lactone onopordopicrin-enriched fraction from *Arctium lappa* L. (*Asteraceae*): role of somatostatin, gastrin, and endogenous sulfhydryls and nitric oxide. *J Med Food*. 2012; 15(4): 378-83.
15. Takayama C, de-Faria FM, de Almeida AC, Valim-Araújo de A, Rehen CS, Dunder RJ, et al. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (*Lamiaceae*). *J Ethnopharmacol*. 2011; 135(1): 147-55.
16. Guilhon-Simplicio F, Pinheiro CC, Conrado GG, Barbosa Gdos S, Santos PA, Pereira M, et al. Anti-inflammatory, anti-hyperalgesic, antiplatelet and antiulcer activities of *Byrsonima japurensis* A. Juss. (*Malpighiaceae*). *J Ethnopharmacol*. 2012; 140(2): 282-6.
17. Cai Y, Luo Q, Sun M, Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci*. 2004; 74(17): 2157-84.
18. Schroeter H, Boyd C, Spencer JPE, Williams RJ, Cadenas E, Rice-Evans C. MAPK signaling in neurodegeneration: Influences of flavonoids and of nitric oxide. *Neurobiol. Aging*. 2002; 23(5): 861-80.
19. García DE, Medina MG, Dominguez C, Baldizán A, Humbría J, Cova L, et al. Evaluación química de especies no leguminosas con potencial forrajero en el estado Trujillo, Venezuela. *Zootecnia Trop*. 2006; 24(4): 401-15.
20. Mors WB, do Nascimento MC, Ruppelt BM, Álvares N. Plant natural products active against snake bite - the molecular approach. *Phytochemistry*. 2000; 55(6): 627-42.
21. Ueda S, Nomura T, Fukai T, Matsumoto J, Kuwanon J. A new diels-alder adduct and chalconoracin from callus culture of *Morus alba*. *Chem Pharm Bull*. 1982; 30(8): 3042-50.
22. Singh A, Malhotra S, Subban R. Anti-inflammatory and analgesic agents from indian medicinal plants. *IJIB*. 2008; 3(1): 1-57.
23. Nartey ET, Ofosuhen M, Kudzi W, Agbale CM. Antioxidant and gastric cytoprotective prostaglandins properties of *Cassia sieberiana* roots bark extract as an anti-ulcerogenic agent. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012; 12(1): 65-75.



24. Zakaria ZA, Balan T, Suppaiah V, Ahmad S, Jamaludin F. Mechanism(s) of action involved in the gastroprotective activity of *Muntingia calabura*. J Ethnopharmacol. 2014; 151(3): 1184-93.
25. Cruz C, Bolívar P, Gómez-Velasco A, Juárez ZN, Sánchez E, Hernández LR, et al. Antimicrobial, antiparasitic, anti-inflammatory and cytotoxic activities of *Lopezia racemosa*. The Scientific World Journal. 2013; ID 237438; doi:10.1155/2013/237438
26. Rai A. The antiinflammatory and antiarthritic properties of ethanol extract of *Hedera helix*. Indian J Pharm Sci. 2013; 75(1):99–102.
27. Aquino AB, Cavalcante-Silva LH, Matta CB, Epifânio WA, Aquino PG, Santana AE, et al. The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae) The Scientific World Journal. 2013; ID 218627; doi:10.1155/2013/218627.

Recibido: 3 de julio de 2014.  
Aprobado: 17 de junio de 2015.

*Maykelis Díaz Solares*. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". Matanzas, Cuba. Correo electrónico: [maykelis.diaz@ihatuey.cu](mailto:maykelis.diaz@ihatuey.cu)