

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

UNAN- LEON

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

CARRERA DE FARMACIA



“A la libertad por la Universidad”

TESIS PARA OPTAR AL TITULO DE QUIMICOS FARMACEUTICOS

TEMA:

**Verificación de la calidad de un Fitoterápico en capsulas comercializado en los
Departamentos de Managua, Estelí y León, durante Octubre 2010**

AUTORES:

Br. José Luis Silva García

Br. Meyling Yessenia Valle Vallejos

**Tutor: Lic. Kelvin Núñez
Químico Farmacéutico**

UNAN-León

León, Nicaragua Octubre 2011



INTRODUCCION

La calidad de los productos Fitoterápicos debe ser un aspecto a considerar por las autoridades sanitarias de nuestro país, en la actualidad la globalización y la armonización mediante los tratados de libre comercio han llevado a nuestros países a declarar reglamentos que puedan garantizar en alguna medida la calidad de dichos productos

Como es sabido la calidad de los productos naturales o Fitoterápicos no es homogénea desde sus materias primas que suelen ser material vegetal que se encuentra expuesto a altos índices de contaminación desde su cultivo principalmente por microorganismos los que frecuentemente suelen ser patógenos (*Estafilococos, Salmonella, Shiguella, E.coli* entre algunos), y no de menor importancia esta la calidad química de los compuestos que contienen y suelen ser los de propiedades fitoterapéuticas.

Actualmente existe en Nicaragua un Reglamento técnico centroamericano (R.T.C.A) 11.03.56.09 para la verificación de la calidad de productos naturales como producto de la armonización de la unión aduanera de nuestros países centro americanos pero este tiene como debilidad el estar orientado a determinar pruebas microbiológicas y únicamente pruebas de identificación para componentes activos en los productos, omitiendo la relevancia de cuantificación del contenido químico de los principales constituyentes de las plantas, por lo cual debería conocerse al menos el mínimo permitido de los compuestos con actividad fitoterapéutica en las especies vegetales.

En países en desarrollo se ha venido implementando metodologías que han permitido dar origen a los conocidos productos naturales estandarizados los que declaran el contenido químico aproximado de los componentes terapéuticos de las especies medicinales estos es en gran medida son un aporte para la inocuidad y seguridad que estos productos puedan brindar a sus consumidores ;Sin embargo los fabricantes de productos Fitoterápicos ven como un obstáculo dichos procesos por el coste de inversión que significa la estandarización sacrificando la calidad de los productos y la falta de seguridad para los consumidores.



Tema

Verificación de la calidad de un producto Fitoterápico en capsulas comercializado en los Departamentos de Managua, Estelí y León

Objetivos:

Generales:

- ✓ Verificar la calidad microbiológica y contenido fitoquímico de un producto Fitoterápico en capsulas de acuerdo a las especies vegetales descritas en su marbete

Específicos:

- ✓ Verificar la calidad microbiológica del producto analizado mediante el ensayo de limite microbiano según limites del actual Reglamento Técnico Centroamericano (R.T.C.A) 11.03.56.09.
- ✓ Realizar pruebas cromáticas generales para alcaloides, glucósidos, taninos, aceites esenciales y compuestos acetilénicos, basados en la composición química de las especies declaradas en el marbete del producto.
- ✓ Realizar ensayos de cromatografía en capa fina que permitan identificar marcadores de compuestos acetilénicos que establezcan la identidad de las especies declaradas en el marbete del producto.
- ✓ Comprobar mediante espectrofotometría UV-Visible la presencia de compuestos acetilénicos como forma de establecer la identidad de las especies declaradas en el marbete del producto.
- ✓ Analizar microscópicamente el contenido de capsulas de un Fitoterápico.



ACERCA DE LAS BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA DE FITOFÁRMACOS

Las buenas prácticas de manufactura son pautas universales aplicadas en la producción farmacéutica. Los fitofármacos no tienen consideraciones especiales, pero existen algunas peculiaridades en el complejo de la producción y del control de calidad de los mismos.

Presentamos un resumen de los aspectos relacionados con el Control de Calidad considerados en las pautas adicionales a las buenas prácticas de manufactura conformadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS):

Las Especificaciones de calidad de la materia prima vegetal deben contemplar:

- ✓ Nombre botánico.
- ✓ Detalles de la fuente de la planta (lugar de origen, fecha de cosecha, método de cosecha, pesticidas empleados, etc.).
- ✓ Parte de la planta utilizada.
- ✓ En caso de planta seca, debe especificarse el sistema de secado.
- ✓ Descripción macro y micro morfológica.
- ✓ Ensayo de identificación, en el caso que sea posible, de los ingredientes activos o marcadores.
- ✓ Evaluación de los componentes de actividad terapéutica conocida o de marcadores.
- ✓ Métodos para determinar la posible contaminación con pesticidas y límites aceptables.
- ✓ Ensayos para la determinación de contaminación microbiana, incluyendo aflatoxinas e infestación por plagas y límites aceptados.
- ✓ Ensayos de metales pesados y adulterantes.

Cualquier tratamiento utilizado para reducir la contaminación debe ser documentado. Los detalles del proceso deben ser reflejados, así como los límites de los residuos. (1)

1. Con relación a las especificaciones del Producto Final, se exige que: El ensayo de control debe ser tal que refleje la determinación cualitativa y cuantitativa de la composición de los ingredientes activos y las especificaciones son dadas utilizando marcadores si se desconocen los constituyentes activos, de lo contrario, deben especificarse y determinarse cuantitativamente.



Si el producto final contiene más de una materia vegetal o preparaciones de diversas drogas vegetales y no es posible la determinación cuantitativa de cada ingrediente, se efectúa la evaluación de la mezcla total.

2. Sobre los ensayos de estabilidad: Teniendo en cuenta que el material vegetal o la preparación de la planta es considerada en su totalidad como el ingrediente activo, una determinación de la estabilidad de los constituyentes con actividad terapéutica conocida no es suficiente, debe demostrarse por ejemplo a través de perfiles cromatográficos que otros componentes presentes en la droga vegetal o sus preparaciones son estables y que su contenido permanece constante.

Si el producto contiene varios materiales vegetales o preparaciones de diferentes materiales de plantas y si no es posible determinar la estabilidad de cada ingrediente activo, puede evaluarse por el perfil cromatográficos, y otros métodos de ensayos. (1)

Actualmente se establecen requisitos y parámetros para verificar la calidad de productos de origen natural descritos en la tabla 1 dentro de los cuales cabe señalar los aspectos siguientes

PRUEBAS FÍSICAS QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS

Tabla N° 1

FORMA FARMACÉUTICA	PRUEBAS
Tabletas con y sin recubrimiento	✓ Características organolépticas
	✓ Variación de peso
	✓ Friabilidad
	✓ Desintegración
	✓ Determinación de Agua
	✓ Identificación general o específica
	✓ Recuento microbiano
	✓ Desintegración



Continuación la tabla N^o 1

Capsulas de gelatina dura y blanda	✓ Características organolépticas
	✓ Desintegración (capsulas duras)
	✓ Variación de peso
	✓ Determinación de agua
	✓ Identificación general o especifica
Soluciones, Suspensiones y Emulsiones	✓ Recuento microbiano
	✓ Características organolépticas
	✓ Volumen de entrega *
	✓ pH
	✓ Densidad
	✓ Identificación general o especifica
✓ Contenido alcohólico	
✓ Recuento microbiano ⁽¹⁾	
Cremas, Ungüentos y Geles	✓ Características organolépticas
	✓ Llenado mínimo *
	✓ pH
	✓ Identificación general o especifica
Parte entera, triturados y polvos	✓ Recuento microbiano
	✓ Características organolépticas
	✓ Llenado mínimo*
	✓ Determinación Metales Pesados
	✓ Determinación Arsénico
	✓ Perdida por secado
	✓ Determinación de agua
	✓ Identificación general o especifica
	✓ Cenizas totales
✓ Cenizas insolubles en acido	
✓ Recuento microbiano ⁽¹⁾	

NOTAS:

1. Las pruebas a las que se refiere la tabla se ejecutaran cuando apliquen de acuerdo a las monografías oficiales, o en su defecto a las aportadas por el fabricante.
2. Las especificaciones de las pruebas físicas y químicas mencionadas en la tabla serán tomadas de los libros oficiales o de la literatura técnica reconocida, o en su defecto las que establezca el fabricante.
3. (*) Las pruebas indicadas con asterisco serán realizadas a los productos naturales por vigilancia sanitaria o denuncia recibida.



METABOLITOS SECUNDARIOS EN ESPECIES VEGETALES

Alcaloides

Se llaman alcaloides (de *álcali*, carbonatos de alcalinos, y *-oide*, parecido a, en forma de) a aquellos metabolitos secundarios de las plantas sintetizados, generalmente, a partir de aminoácidos. Los alcaloides verdaderos derivan de un aminoácido, son por lo tanto nitrogenados. Son básicos (excepto colchicina), Sus estructuras químicas son variadas. Se considera que un alcaloide es, por definición, un compuesto químico que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos; de proceder de otra vía, se define como Pseudoalcaloides. (2)

Clasificación

De acuerdo a la estructura química del núcleo:

✓ Grupo Pseudoalcaloides

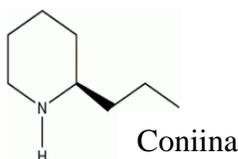


Fig.1

✓ Grupo Tropano:

El núcleo tropanico comprende un heterocíclico nitrogenado bicíclico:

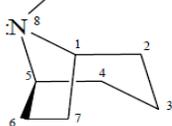


Fig.2

✓ Grupo Quinolina:

Sub grupo I: Furo quinoleína

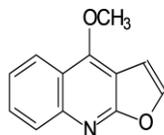
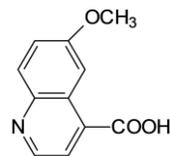


Fig.3

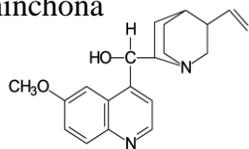
Dictamina

Subgrupo 2: Chinchona



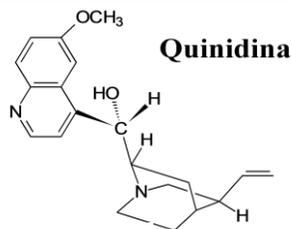
Ácido quínico

Fig.4



Quinina

Fig.5



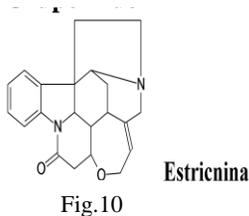
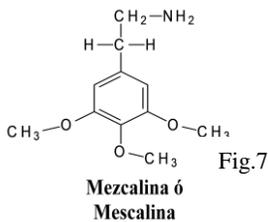
Quinidina

Fig.6

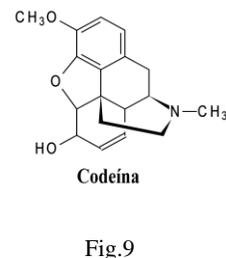
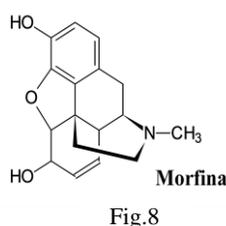


Grupo Isoquinolina

No Opiáceos



Opiáceos



Identificación.

Los alcaloides, junto a otras drogas básicas de interés toxicológico, tienen un comportamiento análogo frente a un grupo de reactivos de precipitación que permiten sospechar su presencia. en una pericia toxicológica se hace uso de estas reacciones como primer paso de identificación, ya que una reacción positiva excluye la presencia de estos tóxicos, aunque una reacción positiva no asegura su presencia.(2)

- ✓ La reacción con el Reactivo de Mayer (tetra yodo mercuriato de potasio) da lugar a la formación de un precipitado amarillento amorfo o cristalino.
- ✓ El Reactivo de Dragendorff (yodo bismutato de potasio) forma precipitados de color rojo anaranjado y en general amorfo.
- ✓ El Reactivo de Bouchardat (triyoduro) genera precipitados de color rojo pardo.

El procedimiento para estos reactivos generales comienza con la evaporación de 2 a 3 gotas del extracto etanólico en vidrio de reloj. Se agregan luego 2 a 3 gotas de ácido clorhídrico 5% hasta solubilizar los residuos. A esta solución se agrega una gota del reactivo correspondiente.

(2)



ACEITES ESENCIALES

Los Aceites Esenciales o esencias vegetales son productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales. El término aceite esencial se aplica también a las sustancias sintéticas similares preparadas a partir del alquitrán de hulla, y a las sustancias semi sintéticas preparadas a partir de los aceites naturales esenciales.

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales. Por lo general no son oleosos al tacto. Pueden agruparse en cinco clases, dependiendo de su estructura química: alcoholes, ésteres, aldehídos, cetonas, lactonas y óxidos. (4)

Clasificación química de los aceites Esenciales:

Químicamente son una mezcla compleja de componentes, que pueden agruparse en:

- ✓ Compuestos terpénicos, formados por unidades de isopreno (5 carbonos), que pueden ser monoterpenos (10 carbonos) y sesquiterpenos (15 carbonos). Estos monoterpenos y sesquiterpenos pueden ser a su vez acíclicos, monocíclicos y bicíclicos, y también oxigenados y no oxigenados.
- ✓ Compuestos aromáticos derivados del fenilpropano: aldehído cinámico, eugenol, anetol, aldehído anísico y safrol entre otros.
- ✓ Otros compuestos presentes en pequeña proporción: ácidos orgánicos (ácido acético, valérico e isovalérico), cetonas de bajo peso molecular y cumarinas volátiles (bergapteno).

(4, 5)

Características químicas de los aceites esenciales

Los componentes de los aceites se clasifican en terpenoides y no terpenoides.

- ✓ **No terpenoides.** En este grupo tenemos sustancias alifáticas de cadena corta, sustancias aromáticas, sustancias con azufre y sustancias nitrogenadas.
- ✓ **Terpenoides.** Los terpenos derivan, de unidades de isopreno (C5) unidas en cadena. Principalmente encontramos en los aceites monoterpenos (C10), aunque también son comunes los sesquiterpenos (C15) y los diterpenos (C20). Pueden ser alifáticos, cíclicos o aromáticos. (4, 5)



Según los grupos funcionales que tengan pueden ser:

- ✓ Alcoholes (mentol, bisabolol) y fenoles (timol, carvacrol)
- ✓ Aldehídos (geranial, citral) y cetonas (alcanfor, thuyona)
- ✓ Ésteres (acetato de bornilo, acetato de linalilo, salicilato de metilo, compuesto antiinflamatorio parecido a la aspirina).
- ✓ Éteres (1,8 – cineol) y peróxidos (ascaridol)
- ✓ Hidrocarburos (limoneno, α y β pineno)

Los aceites esenciales son compuestos formados por varias sustancias orgánicas volátiles, En general son los responsables del olor de las plantas. Se definen, según AFNOR (1998), como: Productos obtenidos a partir de una materia prima vegetal

Naturaleza química

El contenido total en aceites esenciales de una planta es en general bajo (inferior al 1%) per mediante extracción se obtiene en una forma muy concentrada que se emplea en los diversos usos industriales. La mayoría de ellos, son mezclas muy complejas de sustancias químicas. El término **quimiotipo** alude a la variación en la composición del aceite esencial, incluso dentro de la misma especie.

En la Tabla N^o3 se muestran los grupos funcionales alusivos a diversos quimiotipos.

Compuesto	Grupo funcional	Ejemplo	Propiedades
Alcohol	$\begin{array}{c} \\ -C-OH \\ \end{array}$	Mentol, geraniol	Antimicrobiano, antiséptico, tonificante, espasmolítico
Aldehído	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-H \end{array}$	Citral, citronelal	Espasmolítico, sedante, antiviral
Cetona	$\begin{array}{c} O \\ \\ R_1-C-R_2 \end{array}$	Alcanfor, tuyaona	Mucolítico, regenerador celular, neurotóxico
Éster	$\begin{array}{c} O \\ \\ R_1-C-O-R_2 \end{array}$	Metil salicilato	Espasmolítico, sedativo, antifúngico
Éteres	-C - O - C -	Cineol, ascaridol	Expectorante, estimulante
Éter fenólico	Anillo - O - C	Safrol, anetol, miristicina	diurético, carminativo, estomacal, expectorante
Fenol		Timol, eugenol, carvacrol	Antimicrobiano Irritante Estimulante inmunológico
Hidrocarburo	Sólo contiene C y H	Pineno, limoneno	Estimulante descongestionante antivirico, antitumoral



CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos se presentan en forma de azúcares, almidones y fibras, y son uno de los tres principales macro nutrientes que aportan energía al cuerpo humano (los otros son los lípidos y las proteínas). Los carbohidratos o hidratos de carbono ó glúcidos constituyen compuestos químicos formados principalmente por carbono, hidrógeno y oxígeno. Estas biomoléculas ejercen funciones fundamentales en los seres vivos, como: soporte (celulosa), reserva de alimento (almidón), reserva energética (glucógeno), energía inmediata (6)

Clasificación De Los Glicósidos

Glicósidos Antraquinónicos

Contienen una aglicona derivada de la antraquinona. Están presentes el ruibarbo y los géneros *Aloe* y *Rhamnus*; tienen un efecto laxante y purgante. (7)

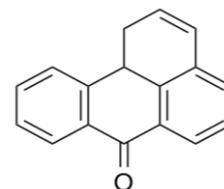
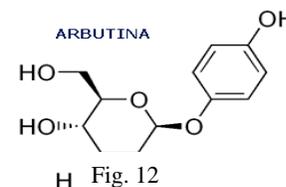


Fig.11

Glicósidos Fenólicos simples

La aglicona tiene una estructura fenólica simple. Un ejemplo es la *arbutina*. Tiene un efecto antiséptico urinario. (7)



H Fig. 12

Glicósidos Alcohólicos

Un ejemplo de glucósido alcohólico es la *salicina*, tiene efecto analgésico, antipirético, antiinflamatorio y anticoagulante (para casos de infartos). (7)

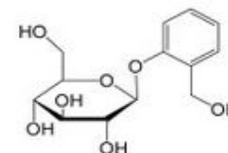


Fig. 13

Glicósidos Flavónicos

Aquí el aglicona es un derivado de los flavonoides. Es un grupo muy grande de glucósidos. Algunos ejemplos son la hesperidina, la *naringina*, la rutina y la quercetina. Estos glucósidos tienen un efecto antioxidante. También se sabe que disminuyen la fragilidad capilar. (7)

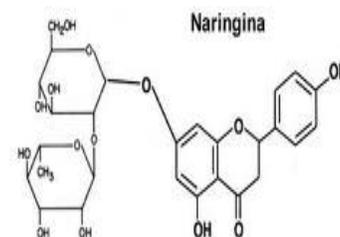


Fig. 14

Glicósidos Cardíacos

En su estructura, la aglicona es un núcleo esteroideo. Se utilizan en el tratamiento de las enfermedades cardíacas como arritmia y fallo cardíaco. (8)

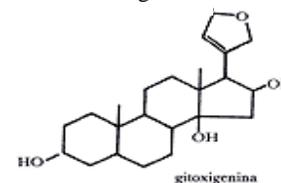


Fig. 15



Glicósidos Cumarínicos

Aquí el aglicona es un derivado de la **cumarina**. Un ejemplo es la *apterina* que se utiliza para dilatar las arterias coronarias, así como, para bloquear los canales del calcio (8)

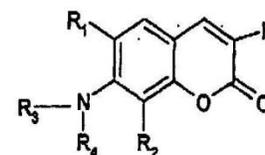


Fig. 16

Glicósidos Cianogénicos

En este caso, la aglicona contiene un grupo cianuro y el glucósido puede generar el venenoso ácido cianhídrico. Un ejemplo de éstos es la *amígdalina*, un glucósido particular de las almendras. (7)

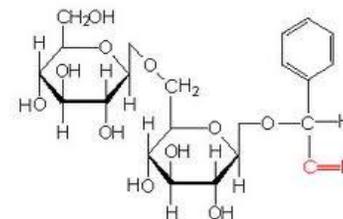


Fig. 17

Saponinas

Las saponinas son glicósidos (combinación de azúcares y agliconas o sapogeninas) que están presentes en gran diversidad de plantas y se caracterizan por su capacidad para formar espuma en soluciones acuosas. Existen dos clases de saponinas: las de tipo esteroidal, generalmente triterpenostetracíclicos, y las de tipo triterpenoides pentacíclicos, estas últimas conocidas comúnmente como saponinas triterpenoides. (8)

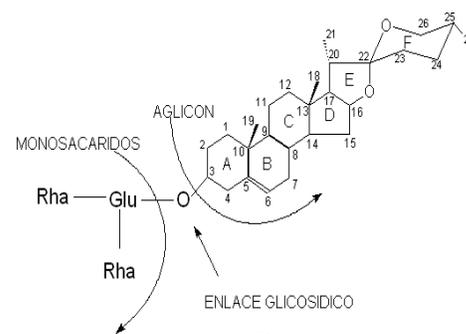


Fig. 18

Las saponinas tienen un amplio rango de actividades biológicas tales como su acción antimicótica, antiviral, anticancer, hipolesterolemica, hipoglicémica, antitrombótica, diurética, antiinflamatoria y molusquicida. Por hidrólisis de las saponinas se obtienen las sapogeninas esteroidales, de gran interés para la industria farmacéutica por ser precursores en la síntesis de hormonas y corticoides. (8)

Glicosidos Antraquinónicos

Los glucósidos antraquinónicos contienen una aglicona derivada de la antraquinona. Están presentes el ruibarbo y los géneros *Aloe* y *Rhamnus*; tienen un efecto laxante y purgante (8,9).

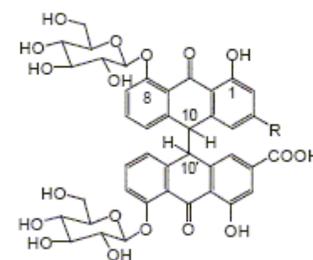


Fig. 19



Glicosidos Cascarósidos

Se obtienen a partir de la corteza seca de *Rhamnuspurshiana* (Cáscara sagrada). Posee propiedades como **laxante o purgante** según la dosis. La glicona está constituida por dos moléculas de glucosa. Una de ellas se une a la aglicona mediante un enlace O-glicosídico y la otra mediante un enlace C-glicosídico. Por tanto, es a la vez un O-glicósido y un C-glicósido. (9, 10)

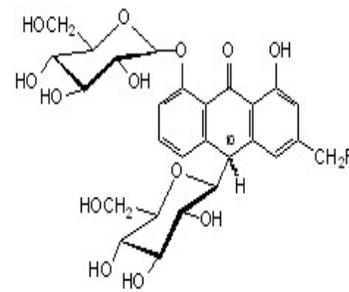


Fig. 20

Glicosido Aloinósido

El **aloinósido** o **aloína** se obtiene a partir de *Aloe vera* o *Aloe ferox*. La aloína es un C-heterósido que por hidrólisis genera la glicona (glucosa) y la genina (aloe-emodina). (9,10)

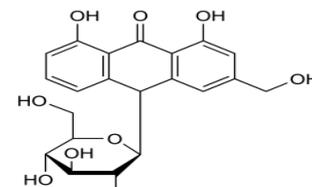


Fig. 21

Antocianidina

Son pigmentos hidrosolubles que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos. Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glicósidos de las antocianidinas, constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. Sus funciones en las plantas son múltiples, desde la de protección de la radiación ultravioleta hasta la de atracción de insectos polinizadores. (9,10)

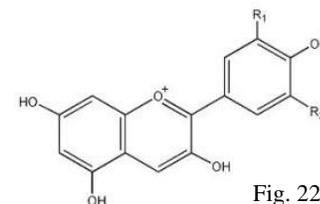


Fig. 22

R ₁ = H;	R ₂ = H:	Pelagonidin
R ₁ = OH;	R ₂ = H:	Cyanidin
R ₁ = OH;	R ₂ = OH:	Delphinidin
R ₁ = OCH ₃ ;	R ₂ = OH:	Petunidin
R ₁ = OCH ₃ ;	R ₂ = OCH ₃ ;	Malvidin

Reacciones de identificación de los carbohidratos

1. Reacción de Molisch

Reacción en la cual el ácido sulfúrico cataliza la hidrólisis de los enlaces glucosídicos de la muestra y la deshidratación a furfural (en las pentosas) o hidroximetilfurfural (en las hexosas). Estos furfurales se condensan con el alfa naftol del reactivo de Molisch (reacción de Molisch) dando un producto coloreado. (11)

2. Reacción de Benedict

Una de las reacciones más comunes en la identificación de carbohidrato, esta reacción es específica para azúcares con grupo reductores libres (C=O). Todos los monosacáridos poseen un grupo reductor libre. La coloración dependerá de la concentración de óxido de cobre y ésta a su vez de la reducción del cobre. (11)



3. Reacción de Seliwanoff

Los carbohidratos se clasifican como cetosas o aldosas. En el carbono 2 tienen una función cetona, que en presencia de un ácido fuerte producen rápidamente derivados furfúricos que reaccionan con un fenol llamado resorcina. La sacarosa (un disacárido formado por glucosa y fructosa) y la inulina (un polisacárido de la fructosa) dan positiva la reacción, ya que el HCl del reactivo provoca en caliente la hidrólisis del compuesto liberando fructosa (responsable de la reacción positiva). (11)

Poliacetilenos en plantas

Los mono y poliacetilenos naturales se encuentran en muchas plantas y muchos de ellos tienen propiedades farmacológicas y toxicológicas. (12)

Los Poliacetilenos son un grupo de compuestos orgánicos con alternancia de enlaces covalentes simples y triples. El ejemplo más simple es el diacetileno o buta-1,3-diino. $\text{HC}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{CH}$. Los Poliacetilenos se distinguen de las otras cadenas orgánicas por su rigidez. (12)

Tabla N° 4 Bandas de absorción $\pi\pi^*$ en poliacetilenos del tipo $\text{CH}_3-(\text{C}\equiv\text{C})_n-\text{CH}_3$

N	λ_{max} /nm	ϵ_{max}	λ_{max} /nm	ϵ_{max}
2			236	330
3	207	135000	286	200
4	234	281000	328	180
5	261	352000	348	210



TANINOS

Los taninos comprenden un grupo de sustancias complejas que están ampliamente distribuidas en los vegetales, suelen localizarse en diferentes partes de la planta, como

Son: las hojas, la corteza, el tallo y en los frutos inmaduros que generalmente desaparecen en la maduración. Los taninos son compuestos químicos no cristalizables que forman soluciones coloidales de reacción ácida y de sabor astringente. Producen precipitación de soluciones de gelatinas y de alcaloides dando compuestos azules o negros. Con las sales férricas producen compuestos de color rojo. (13)

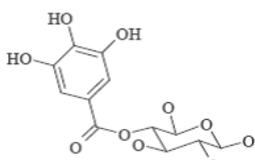
Desde el punto de vista químico se clasifican en:

- ✓ Taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos). En estos se distinguen los taninos gálicos. Poliésteres de azúcar (Glucosa) o un poliol y de un número variable de ácidos, fenoles. Son hidrolizables por ácidos, álcalis y enzimas.

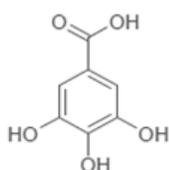
Según su naturaleza: Taninos Gálicos: (ácido gálico o 3, 4,5trihidroxibenzoico)

Taninos elágicos: o ácido elágico

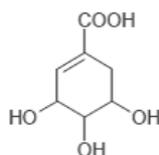
- ✓ Taninos condensados: no hidrosolubles, tienen una estructura similar a la de los flavonoides y carecen de osas en su molécula. Destacan los taninos catéquicos (formados por 2 o más moléculas de 3-flavanoles) y los leucoantocianos o procianidoles (formados por 2 o más moléculas de 3,4-flavandioles).
Estructura de taninos hidrolizables: Taninos gálicos



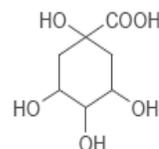
Glucogalina
Fig. 23



Ácido gálico
Fig. 24

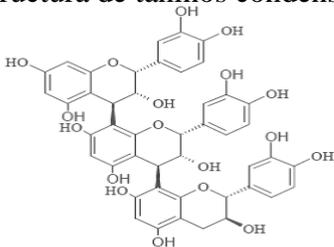


Ácido sikímico
Fig. 25

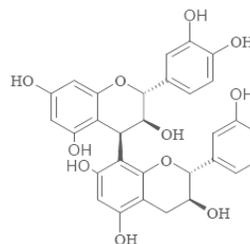


Ácido quínico
Fig. 26

Estructura de taninos condensados o Proantocianidinas



Poliepicatequinas
Fig. 27



Procianidinas
Fig. 28



INFORMACION DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO

I. ABEDUL (*Betula Alba*)

Sinónimos:

- ✓ *Betula alba L.*
- ✓ *Betulaermani*
- ✓ *Betula lenta (similar)*
- ✓ *Betulaodorata (sinónimo)*

Familia: Betuláceas.

Parte de planta empleada: Flores, hoja, yemas, savia y corteza de ramas jóvenes.

Descripción:

El nombre Abedul proviene del celta betule. El Abedul puede alcanzar los 30 m, y su corteza de color blanco plateado, es lisa y se agrieta con el tiempo. Su crecimiento es rápido al principio, pudiendo desarrollar hasta un metro al año; pero se estanca hacia los 20 años. No es una especie longeva. Las hojas del Abedul son caducas, romboidales, alternas y con bordes dentados. La parte inferior de las hojas es más clara que la superior. Posee flores colgantes, con filamentos estamíneos bifidos, unisexuales, formando largos amentos colgantes amarillos o verdes. El mismo árbol posee flores masculinas y femeninas, separadas y bien diferenciadas; de un color verde amarillento, y curiosamente la floración se produce antes de salir las hojas. El fruto del Abedul es un aquenio con dos alas membranosas. Tiene un olor aromático y un sabor amargo. ⁽¹⁴⁾

Composición química:

Principios activos: Flavonoides (2-3%): hiperósido (0,8%), avicularina (0,5%), galactosil-3-miricetol, glucoronil-3-quercetol, quercitrósido. Aceite esencial (1%): monotropitósido (90%) que se hidroliza en salicilato de metilo; triterpenos: ácido betulínico, betulinol

Vitamina C, carotenos, ácidos fenoles, ácido nicotínico, ácido acetilsalicílico, taninos, principios amargos, mucílagos, resinas, antisépticos vegetales, azúcares, saponinas, betulina, flavonoides (como la miricitrina), aceites esenciales, una esencia rica en betulenol y metilbetulenolresinas.



Hojas ricas en aceite esencial (0,04%) el cual tiene hasta un 25% de betulenol. Tanino (9%), saponinas (3%), ácido nicotínico (5%) y ciertas agliconas como la miricetina (llamada también miricitrina). El principal aromático es el ácido betulábico.

Componente de interés es la betulina (alcanfor de abedul), heterósido que se encuentra sobre todo en las hojas jóvenes. En menor cantidad hay glicósidos flavónicos: quercetol-3-galactósido (hiperósido) y miricetin-3-digalactósido (2%).⁽¹⁴⁾

La corteza tiene mayor cantidad de taninos (10 al 20%) y betulina (10 al 14%). El aceite esencial contiene cantidades importantes de salicilato de metilo y triacontano. En la corteza se ha encontrado un alcohol triterpénico (betulinol).

Indicaciones y Contraindicaciones:

Consumir con precaución, en los pacientes con insuficiencia cardiaca y renal.

- ✓ Edemas: ayuda a eliminar los líquidos retenidos en el organismo, especialmente en caso de insuficiencia renal o cardiaca. A diferencia de otros diuréticos químicos, las infusiones de hojas de abedul no provocan la pérdida de grandes cantidades de sales minerales con la orina, ni irritan los tejidos del riñón. Por el contrario, son capaces de regenerarlo y desinflamarlo, haciendo disminuir la eliminación de albúmina con la orina en casos de nefrosis e insuficiencia renal.
- ✓ Síndrome premenstrual: Tomando esa tisana durante los días precedentes a la regla, aumenta el volumen de orina y disminuye la hinchazón de los tejidos, especialmente en piernas, vientre y mamas.⁽¹⁴⁾
- ✓ Cálculos renales: las infusiones de hojas y yemas de abedul facilitan la eliminación de las arenillas de la orina e impiden que se formen cálculos renales. Se ha podido comprobar que, en algunos casos, pueden incluso disolverlos. El uso de la infusión se halla indicado tanto durante el ataque de cólico nefrítico (de riñón), como de forma continuada para evitar la formación de cálculos.
- ✓ Afecciones de la piel: por su efecto depurativo, su uso por vía interna resulta indicado para limpiar la piel de impurezas en casos de eccemas crónicos y celulitis.



Toxicidad del abedul

Los aceites esenciales del abedul resultan ser muy tóxicos. Debido a lo anterior el consumo de estos aceites esenciales debe ser estrictamente indicado por un médico. Los aceites esenciales del abedul, también conocido como abedul blanco, presentan salicilato de metilo, el cual es el responsable de su toxicidad.

Dosis elevadas de esta sustancia pueden ocasionar la muerte en las personas que lo consumen. Esta sustancia también es posible de absorber por la piel, además de ocasionar irritaciones. Por lo anterior tampoco es recomendable la aplicación externa de los aceites esenciales de este árbol.

Los preparados naturales en base al árbol de abedul, cuyo nombre científico es *Betula alba*, no resultan ser tóxicos. Sin embargo, no es recomendable su consumo por mujeres que se encuentren embarazadas o que estén en la etapa de lactancia. Tampoco es aconsejable el consumo de preparados en base a abedul por niños menores. (15)

II. Romerillo, Romerillo blanco: (*Bidens pilosa* L).

Familia botánica: Asteraceae

Parte útil: *Toda la planta.*

Descripción

Hierba anual, lampiña o algo pubescente, de 30 a 100 cm de altura y más o menos ramificada. Hojas opuestas, a veces alternas en la parte superior, pecioladas, 3-partidas; segmentos aovados o lanceolados y aserrados. Cabezuelas florales terminales, compuestas por flores tubulares de color amarillo intenso y las radiales con sobresalientes pétalos blancos. Aquenio, provisto de vilano. (15)

PROPIEDADES

La composición de la materia prima hojas de *Bidens pilosa* por cada 100 gramos de porción comestible es: 85 g de agua, energía 180 kJ (43 kcal), proteínas 3,8 g, 0,5 g de grasa, hidratos de carbono 8,4 g, fibra 3,9 g, β -caroteno 1800 mg.

Los extractos de *Bidens pilosa* muestran actividad antimalárica in vitro e in vivo.



El etanol in vitro del extracto crudo (50 mg / ml) hace que hasta un 90% de inhibición del crecimiento por *Plasmodium falciparum* en comparación con 86-94% de inhibición de la fracción de cloroformo y 68-79% para la fracción butanol (ambos a 50 mg / ml).

In vivo el extracto crudo de etanol y la causa fracción de cloroformo alrededor del 40% de reducción de la parasitemia por *Plasmodium berghei* en ratones. Fenilacetilenos y flavonoides se han encontrado en el extracto etanólico de las hojas y las raíces. Los resultados indican que la actividad antimalárica de *Bidens pilosa* puede atribuirse a la presencia de compuestos de acetileno. La utilidad terapéutica directa de estos compuestos parece limitado, ya que se oxidan fácilmente por el aire y la luz. (15)

Los Poliacetilenos también tienen actividad antimicrobiana. Una serie de poliacetilenos extractos de *Bidens pilosa* son tóxicos para las levaduras y algunas bacterias. Este compuesto es un anti-parasitaria activa. El consumo de las hojas, como en Sudáfrica, se ha encontrado para promover el desarrollo de cáncer de esófago, y hojas secas de *Bidens pilosa* tienen una acción co-cancerígenas de los tumores de esófago inducida en ratas. Además de los acetilenos, otros compuestos como los fitosteroles (β -sitosterol), triterpenos y ácido cafeico también se informó de *Bidens pilosa*. Los flavonoides en los extractos de la hoja principal se auronos y chalconas.

Varios flavonoides tienen propiedades anti-inflamatorias, su detección en extractos de *Bidens pilosa*, junto con la presencia de los acetilenos descrito, puede explicar el uso de *Bidens pilosa* en la medicina tradicional, especialmente para el tratamiento de heridas, contra las inflamaciones y las infecciones bacterianas del tracto gastrointestinal las vías.

El extracto etanólico de *Bidens pilosa* mostró una inhibición de la síntesis de prostaglandinas de alta en un ensayo in vitro de los inhibidores de la ciclo-oxigenasa. El extracto de metanol mostró que la actividad la protección radiológica de la médula ósea. Además, la actividad farmacológica de otros como, antihiperglucemiantes, inmunomodulador, anti-úlceras y la actividad de hipotensión se presentaron. (15)

Propiedades medicinales reconocidas

Sistema Digestivo: Colerética Antiulcerosa

Piel y mucosas: Antifúngica Antibacteriana



Advertencias

Las hojas frescas contienen cristales de silicato que pueden inducir carcinogénesis. Investigaciones toxicológicas aún no concluidas.

III. Nogal Negro

Nombre binomial: *Juglans nigra* L.

Familia: *Juglandaceae*

Género: *Juglans*

Especie: *J. nigra*

Nogal Negro (*Juglans nigra*) es una especie de árbol en flor en la familia de la nuez dura, Juglandaceae, que es nativa del este de Norteamérica.

El nogal negro es un árbol grande, caducifolio alcanzar alturas de 30-40 pies (9,1 a 12 m). En la competencia se desarrolla un bosque alto y claro tronco, las formas cultivadas al aire libre tiene un tronco corto y copa ancha. La corteza es de color gris-negro y surcado profundamente. ⁽¹⁶⁾

Usos

El núcleo de nogal negro es rico en grasas insaturadas y proteínas. Un análisis de aceite de nuez de cinco cultivares llamado *Juglans nigra* (Ogden, Sparrow, Baugh, Carter y Thomas) mostró que el ácido graso más prevalente en el aceite de *Juglans nigra* es el ácido linoleico (27,80 a 33,34 g/100g núcleo seco), seguido (en las mismas unidades) por el ácido oleico ácido linolénico, ácido palmítico, y el ácido esteárico. El aceite de la variedad Carter tuvo el porcentaje más alto de linoleato mol (61,6), linolenato (5,97%) y palmitato, El Negro nogal contienen junglona (5-hidroxi-1,4-naftoquinona), plumbagina (pigmentos amarillos quinona), y tanino. ⁽¹⁶⁾



MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Los principales activos contenidos en las plantas pueden ser extraídos mediante diversas técnicas extractivas o bien pueden ser administrados como tales, tal y como se encuentran en la planta desecada o en la planta fresca. El método de extracción utilizado depende del tipo de planta a emplear (caracteres organolépticos), de la concentración de principios activos y de sus propiedades farmacológicas. (17,18)

Según la textura o los componentes de la planta, existen varios procedimientos:

- ✓ **Infusión:** se vierte el agua hirviendo sobre la planta colocada en un recipiente de cierre bien ajustado, a fin de evitar la pérdida de principios activos, y se deja en reposo de 5 a 15 minutos, filtrándose y tomándose inmediatamente. Generalmente se utiliza para flores, hojas y tallos tiernos.
- ✓ **Decocción:** consiste en echar la planta en agua hirviendo y dejarla hervir durante 5 ó 20 minutos, a una temperatura superior al punto de ebullición, en un recipiente cerrado para evitar la evaporación. Se utiliza para raíces, tallos fuertes y cortezas.
- ✓ **Digestión:** se trata de macerar la planta en agua a temperatura media, alrededor de 50°C, durante un tiempo determinado. Se utiliza sobre todo para el agotamiento de las drogas resinosas o cuando los disolventes empleados son grasos (preparación de aceites medicamentosos).
- ✓ **Percolación o lixiviación:** El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el tanque percolador. El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar el extracto.
- ✓ **Diálisis:** en la cual una membrana semipermeable permite una selección de las sustancias arrastradas por el disolvente. (17)
- ✓ **Maceración:** El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto. (17,18)



CLASIFICACIÓN DE LOS EXTRACTOS VEGETALES

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

- ✓ Extractos fluidos o líquidos
- ✓ Extractos semisólidos o blandos
- ✓ Extractos secos. ⁽¹⁹⁾

Obtención de extractos

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal por ejemplo.

Naturaleza química de la materia prima vegetal: conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.

Elección del solvente: definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.

- ✓ **relación sólido-líquido:** la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.
- ✓ **tamaño de partícula del sólido:** de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.
- ✓ **temperatura:** el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstuo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.



- ✓ **velocidad de agitación y tiempo de extracción:** los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones. (19,20)
- ✓ **viscosidad del medio:** no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta. El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total. (21)

La separación sólido líquido.

La separación sólido-líquido se realiza con el objetivo de retirar el residuo de la droga después de la extracción. En la actualidad prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica se incluyen etapas de separación sólido-líquido sobre los cuales recae una gran importancia técnico-económica.

La selección de un separador con este fin es una tarea mucho más compleja que la selección de otros equipamientos utilizados en los procesos tecnológicos. En la industria se emplean procedimientos de sedimentación, filtración (filtro nutche, prensa) o centrifugación.

Para la selección del equipo de separación adecuado hay que tener en cuenta el tipo de separación, tamaño de las partículas de los sólidos suspendidos, contenido de sólidos en la alimentación, densidad relativa de los componentes, capacidad de procesamiento deseado y capacidad abrasiva, inflamable o explosiva. (22)

Concentración de extractos

Toda vez que se ha realizado la etapa de extracción y separación, se procede a eliminar parte del solvente de extracción para aumentar el contenido de sólidos en el extracto. Este proceso se realiza a presión reducida con lo que se disminuye la temperatura de calentamiento necesaria para la salida del solvente, el rota evaporador es una buena alternativa para trabajos en el laboratorio y es ampliamente usado mientras que sistemas análogos se utilizan a escala industrial (evaporadores, condensadores). También pueden utilizarse métodos de precipitación del principio activo, combinados con etapas de filtración, extracción líquido-líquido, entre otras.



CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas. (23)

La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares.

(23)

Ventajas de la cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina presenta una serie de ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa,) ya que el método que precisa es más simple. El tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor y la separación es generalmente mejor. Pueden usarse reveladores corrosivos, que sobre papel destruirían el cromatograma. El método es simple y los resultados son fácilmente reproducibles, lo que hace que sea un método adecuado para fines analíticos.

Adsorbentes

Al realizar la elección del adsorbente se debe tener en cuenta el tamaño de las partículas del adsorbente, cuanto más finamente dividido esté mayor será su adhesión al soporte, aunque también se le puede añadir un adherente (yeso).

Algunos de los adsorbentes más utilizados son:

- ✓ Almidón
- ✓ Celulosa
- ✓ Azucres
- ✓ Gel de sílice (silicagel)
- ✓ Óxido de aluminio (alúmina)
- ✓ Carbón activo (carbón en polvo)
- ✓ Kieselguhr

Índice

1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	2
3. Marco teórico	
3.1. Buenas practicas de manufactura de fitofármacos.....	3
3.2. Metabolitos secundarios en especies vegetales.....	6
3.3. Extracción de alcaloides.....	8
3.4. Aceites esenciales.....	9
3.5. Clasificación de los glicosidos.....	11
3.6. Reacciones de identificación de carbohidratos.....	13
3.7. Taninos.....	15
3.8. Información de las especies en estudio.....	16
3.9. Métodos de extracción.....	21
3.10. Cromatografía en capa fina.....	24
3.11. Ensayo de drogas vegetales en polvo.....	27
4. Material y método.....	30
5. Resultados e interpretación de resultados.....	37
6. Conclusiones.....	46
7. Recomendaciones.....	48
8. Anexos	



Aplicación de las muestras

Los productos a examinar se disolverán, cuando sea posible, en un disolvente orgánico no polar que tenga un punto de ebullición lo suficientemente bajo para que se evapore después de la aplicación. Sin embargo a menudo se necesitan disolventes polares; la mezcla cloroformo: metanol (1:1) es efectiva. Frecuentemente se emplean disoluciones al 1%, de manera que al aplicar 2 μ l resulta en la carga 20 μ g de producto sólido. Muchos reactivos de revelado llegan a detectar 0.1 μ g de material; por esto con esta carga puede llegarse a observar un 5% de impurezas. (23)

Elección del eluyente

La elección del eluyente dependerá lógicamente del componente que se va a separar y del material en que la separación se lleva a cabo.

Principales eluyentes en orden creciente de polaridad:

- | | |
|----------------------------|------------------|
| ✓ Éter de petróleo. | ✓ Etanol. |
| ✓ Eterdietílico. | ✓ Cloroformo. |
| ✓ Ciclohexano. | ✓ Metanol. |
| ✓ Acetato de etilo. | ✓ Diclorometano. |
| ✓ Tetracloruro de carbono. | ✓ Agua. |
| ✓ Benceno. | ✓ Ácido acético |

En la elección del eluyente influyen varios factores:

- ✓ Pureza.
- ✓ No utilizar mezclas de eluyentes (reproducibilidad).
- ✓ No utilizar compuestos muy volátiles.
- ✓ Evitar que contengan trazas de metales (catalizadores).



Desarrollo de la cromatografía

El desarrollo de los cromatogramas en capa fina se realiza normalmente por el método ascendente, esto es, al permitir que un eluyente ascienda por una placa casi en vertical, por la acción de la capilaridad. La cromatografía se realiza en una cubeta. Para conseguir la máxima saturación posible de la atmósfera de la cámara, las paredes se tapizan con papel impregnado del eluyente. A veces pueden obtenerse separaciones mejores sin poner papeles en las paredes, cosa que no debe olvidarse.

Generalmente el eluyente se introduce en la cámara una hora antes del desarrollo, para permitir la saturación de la atmósfera. El tiempo de desarrollo, por lo general, no llega a los 30 minutos. El tiempo de una cromatografía cualitativa suele ser de un par de minutos, mientras que el tiempo de una cromatografía preparativa puede llegar a un par de horas. (23)

Las placas pueden desarrollarse durante un tiempo prefijado, o hasta que se alcance una línea dibujada a una distancia fija desde el origen. Esto se hace para estandarizar los valores de RF . Frecuentemente esta distancia es de 10 cm.; parece ser la más conveniente para medir valores de RF . Después del desarrollo, las placas pueden secarse rápidamente con una corriente de aire caliente. (23)

La mejor posición de desarrollo para un componente es el punto medio entre el origen y el frente del eluyente, ya que permite separar las impurezas que se desplazan con mayor y menor velocidad. El frente del eluyente nunca debe llegar a tocar el borde de la placa.

Si la placa se estropea por acción del aire o de la luz, se secará en una cámara que contenga un gas inerte o aislada de la luz. (23)

Constantes R_f Y R_x

La constante RF (Ratio of Front) es simplemente una manera de expresar la posición de un compuesto sobre una placa como una fracción decimal, mide la retención de un componente. Se define como (23):

$$RF = \frac{\text{Distancia recorrida desde el origen por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida desde el origen por el frente del eluyente}} = \frac{X}{Y}$$



La distancia recorrida por el compuesto se mide generalmente desde el centro de la mancha, los cálculos se simplifican si el denominador es 10. Para que los *RF* sean reproducibles deben ser fijadas una serie de condiciones (Espesor de la placa, fase móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra). El máximo valor de *RF* que se puede alcanzar es de 1, lo ideal es un *RF* entre 0.65 y 0.7

ENSAYO PARA DROGRAS VEGETALES EN POLVO

Generalidades.

Se denominan drogas vegetales a los órganos de las plantas en algunos casos a plantas completas y también a las sustancias que se obtienen de ellas, si las mismas no son compuestos químicamente homogéneo y son empleados para la obtención de medios medicamentosos o sustancias medicamentosas o en calidad de sustancias auxiliares para la preparación de las formas medicamentosas. (24)

En el casos que en las drogas existan insectos dañinos o contaminación ocasionados por ellos, no deben ser utilizadas.

Ensayo para mezclas inocuas e impurezas.

Se entienden por mezclas inocuas aquellas partes o del tallo que no corresponde a las exigencias que señala la monografía en cuanto a color, tamaño, forma estado y grado de pulverización y a las mezclas de partes de otras plantas. Por impurezas se entiende los insectos dañinos y la contaminación ocasionadas por estos.

Para el ensayo se utilizan según el tipo de droga, las cantidades siguientes:

De semillas y frutos muy pequeños	10,0g
De semillas y frutos normales	20,0g
De drogas pulverizadas	50,0g
De flores, hojas, cortezas, raíces, rizomas, bulbos	100,0g

La droga pesada tamizada se coloca sobre un tamiz de 200 a 250 cm² de superficie, que corresponde al grado de pulverización exigido. La droga se tamiza durante 60 segundos evitando golpes fuertes. (24)



La porción tamizada se pesa para la prueba de impurezas y seguidamente se pasa a un vaso de precipitado de 50 ml que fue desecado a 105⁰ c hasta masa constante. Después de enfriarse en la desecadora, se pesa y se le añade 25 ml de agua. La mezcla se agita y se deja 60 segundos en reposo. A continuación se extrae la parte de la droga que se encuentre en la superficie del líquido, el cual es decantado cuidadosamente. El vaso de precipitado con el residuo se deseca a 105⁰ C hasta masa constante.

La droga retenida sobre el tamiz se pasa a una placa de vidrio, la cual se encuentra sobre un pliego de papel blanco con la ayuda de una pinza y una aguja apropiada, se seleccionan las partes no activas de la droga y las impurezas. También habrán de separarse, mediante un corte o extracción, de las partes de la droga que no corresponden a la descripción. (24)

Se consideran requisitos que no corresponden a las exigencias de las monografías los componentes de la droga que están solo parcialmente acorde con la descripción. En el caso de los componentes en los que se han determinado varias características, las cuales no son admitidas en la monografía o solo limitadamente, la evaluación se lleva a cabo tomando en cuenta la predominación de una característica.

La parte de la mezcla inocua se pesa. El grado de pulverización se calcula por la diferencia entre la masa del residuo que se encuentra en el vaso de precipitado y la masa de las partes que han pasado a través del tamiz.

Para calcular la parte de las mezclas inocuas se suma la masa del residuo del vaso de precipitado con la masa de las mezclas separadas por la selección.

El resultado se indica en porcentaje de masa, relación con la droga a ensayar.



ENSAYO MICROSCÓPICO Y MICROQUÍMICO

El procedimiento a emplear para el ensayo microscópico se orienta según el tipo de droga y su grado de pulverización.

Polvo

El polvo se observa en una gota de glicerina o una solución de hidrato de cloral (100g/100 ml). En último caso se calienta ligeramente el preparado, colocando el portaobjeto rápidamente a la llama de un mechero.

Las drogas ricas en contenido de células se hierven durante algunos minutos con hidróxido de sodio (5%) antes del ensayo microscópico, se enjuagan con agua.

Las drogas crudas se hierven de 20 a 60 minutos con ácido clorhídrico (2%) antes del ensayo microscópico, y se enjuagan con agua.

Las drogas que contienen aceite volátil o graso, se tratan a través de repetidos enjuagues con éter de petróleo, benceno o éter para eliminar grasa. (24)

Drogas pulverizadas o partículas de drogas

Si la proviene de hojas, o flores, las partículas se hierven de 1 a 2 minutos con hidróxido de sodio (5%), se enjuagan con agua y se observan en una gota de glicerina. En el caso de grandes partículas de drogas se pulverizan previamente para los tejidos internos se observan más fácilmente con la inserción correspondiente. (24)

Si la droga proviene de frutos, cortezas, raíces o bulbos, las partículas de drogas se tratan como se han indicado anteriormente.

Las semillas carmelitas y de pigmentación intensa se hierven antes del ensayo microscópico de 15 a 20 minutos con hidróxido de sodio (5%) y se enjuagan con agua.

Preparación del corte de drogas enteras u órganos vegetales

El material seco se ablanda hirviéndose en agua, o también con hidróxido de sodio (5%), glicerina u otras, para clasificar las sustancias a utilizar, las cuales son indicadas siempre en las monografías. Si la droga a probar contiene mucilagos, se deja expuesta al aire por 24 horas. El proceso del material ablandado (corte, clarificación, y coloración) se efectúa según la técnica microscópica habitual. (24)



Tipo de estudio:

Experimental y Descriptivo

Universo:

Productos Fitoterápicos en presentación de capsulas comercializados en los departamentos de Nicaragua utilizados como adelgazantes

Muestra:

9 frascos de 100 capsulas cada uno

- ✓ 3 frascos de 100 Capsulas procedentes de León de tres establecimientos diferentes
- ✓ 3 frascos de 100 Capsulas procedentes de Estelí de tres establecimientos diferentes
- ✓ 3 frascos de 100 Capsulas procedentes de Managua de tres establecimientos diferentes
- ✓ Muestra de referencia hojas frescas trituradas de *Psidium guajaba*

Área de estudio:

Laboratorio de farmacognosia y microbiología del departamento de Farmacia Industrial de la carrera de Farmacia facultad de Ciencias Químicas de la UNAN-león

Unidad de análisis:

Capsulas conteniendo

- ✓ Flavonoides , antocianinas y trazas de aceite esencial contenidas en *Betula alba linne*
- ✓ Alcaloides, compuestos poliacetilenicos ,azucares, y trazas de aceite esencial contenidos en *Bidens pilosa linne*
- ✓ Furfural y taninos contenidos en *Juglans nigra Linne*



Procedimiento:

Actividades a realizar

I. Procedimiento para la determinación de microorganismos

Recomendaciones Generales:

- ✓ Toda muestra deberá analizarse bajo condiciones asépticas.
- ✓ El tiempo transcurrido desde la primera dilución hasta su incorporación en el medio de cultivo, no deberá exceder de una hora.
- ✓ Antes de proceder a realizar el análisis microbiológico los envases que contienen la muestra, deberán ser limpiados con algodón y alcohol de 70°, y se debe esperar a que seque el envase para luego iniciar el trabajo.

A.1. Recuento De Organismos Mesófilos Aerobios

Método En Placa:

NOTA: En función del grado de contaminación esperado en el producto, efectuar las diluciones decimales que se estimen convenientes para que 1 g contenga entre $< 10^4$ UFC / g (mayor significado estadístico). Cuando no se tiene antecedentes al respecto es conveniente efectuar hasta la dilución 10^3 y ampliar o reducir el número de diluciones en base a la experiencia.

A.1.1 Efectuar tres diluciones decimales:

- Primera dilución: se toman 10 ml de muestra. Se añaden a 90 ml del diluyente seleccionado contenido en un Erlenmayer.
- Segunda dilución: Transferir 1 ml de la primera dilución a un tubo de ensayo conteniendo 9 ml de solución diluida de Fosfatos pH 7.2 (diluyente).
- Tercera dilución: Transferir 1 ml de la segunda dilución a un tubo de ensayo conteniendo 9 ml de solución diluida de Fosfatos pH 7.2 (diluyente).

NOTA: Utilizar una pipeta única para cada dilución.

- ✓ Simultáneamente inocular por duplicado 1 ml de cada dilución del producto en platos petri, añadir a cada placa 15 –20 ml de medio Agar tripticaseína previamente esterilizado y mantenido en baño María a temperatura entre 45-48 °C (para mantenerlo fundido).



- ✓ Con movimientos suaves rotatorios, mezclar la alícuota de la muestra con el medio de cultivo, evitando que se produzca un derrame. Permitir que el medio solidifique e incubar las placas en posición invertida a 35 °C - 37 °C , durante 48 – 72 horas.
- ✓ Después del período de incubación contar el número de UFC con ayuda del contador de colonias. Se determina la media o promedio de UFC por cada dilución. Informar el número de UFC por gramo o por ml del producto, considerando el factor de dilución de la muestra.
- ✓ El producto se acepta si se observan UFC en cantidades menores de 10⁵ UFC por ml de muestra.

A.1.2 Recuento De Hongos Filamentosos Y Levaduras

- ✓ Se procedió igual como se indica en el recuento de organismos mesofilos aerobios, con la excepción que se utiliza el medio agar dextrosa – sabouroud o agar dextrosa – papa. incubar a 22 °c - 25 °c durante cinco a siete días.
- ✓ Después del período de incubación contar el número de UFC existentes con ayuda del contador de colonias. Informar el número de UFC por ml de muestra, tomando en cuenta el factor de dilución de la muestra.El producto se acepta si hay ausencia de colonias o la cantidad existente es menor de 10² colonias por ml de muestra.

A.1.3 Determinación De Microorganismos Patógenos.

A.1.3.2 Staphylococcus aureus

Medir 10 ml de muestra con 90 ml de cultivo enriquecido a 35 °C - 37 °C, durante 24 – 48 horas. Examinar el medio visualmente. Si hay crecimiento, a partir del caldo, hacer una resiembra por estría cruzada en Agar Bair Parker e incubar los platos en posición invertida a 35 °C - 37 °C , durante 24 – 48 horas. Deberá establecer la ausencia del patógeno para considerar conforme la prueba.

A.1.3.3 Salmonella

- ✓ Medir 10 ml de muestra y añadir a un volumen de 90 ml de Caldo Lactosa e incubar a 35 °C - 37 °C , durante 24-48 horas.Examinar el medio para ver si hay crecimiento (turbidez).
- ✓ Si lo hay, agitar el medio y tomar 1ml y añadirlo a tubos de ensayo (2) que contienen 10 ml de Caldo Selenito-cistina y Caldo tetratonato. Mezclar e incubar de 12 a 24 horas a 35 °C - 37 °C .



- ✓ Una vez incubado, con un asa se toma una muestra a los tubos de ambos caldos y se efectúa una resiembra al menos en dos medios sólidos diferentes. Se puede elegir entre los siguientes: Agar verde Brillante, xilosa-lisina-dexosicolato y agar citrato-desoxicolato. Invertir los platos e incubar a $35^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$, durante 48 – 72 horas. Deberá establecer la ausencia del patógeno para considerar conforme la prueba

A.1.3.4 *Escherichia coli*

Medir 10 ml de muestra y añadir a un volumen de 90 ml de Caldo Lactosa e incubar a $35^{\circ}\text{C}-37^{\circ}\text{C}$, durante 24-48 horas. Examinar el medio para ver si hay crecimiento (turbidez). Si lo hay, transferir con un asa al Agar Macconkey. Incubar de 48 a 72 horas a $35^{\circ}\text{C}-37^{\circ}\text{C}$. Deberá establecer la ausencia del patógeno para considerar conforme la prueba.

II. Preparación de extractos

B.1- Para la preparación de los extractos se procedió a extraer en solución hidroalcohólica al 35 % en relación 1:5

- La maceración se realizó a temperatura ambiente por 72 horas y posteriormente sometidas a reflujo por espacio de una hora a 45°C , posteriormente se procedió a evaporar el solvente en rota vapor hasta obtener un extracto fluido para posterior utilización

B.2. Fraccionamientos de los extractos obtenidos

C.1 Se realizó el fraccionamiento de los extractos con solventes de polaridad diversa a fin de garantizar las extracciones de otros componentes y obtener mejores resultados en la determinación de los compuestos químicos contenidos en las especies (alcaloides, azúcares y compuestos acetilénicos) los solventes fueron:

- ✓ Cloroformo,
- ✓ Acetato de etilo,
- ✓ Hexano

C.2 Se adiciono en un embudo separador de 250 ml 60 ml de extracto y 30 ml de solvente se agito mecánicamente por 5 minutos, repitiendo la operación por triplicado y posteriormente recolectando las fracciones del solvente para su posterior concentración,

C.3 Se procedió a repetir el paso anterior con cada uno de los solventes restantes, el fraccionamiento se dio inicio con los solventes en orden de polaridad decreciente.



III. Pruebas micro químicas (pruebas cromáticas)

C.1 *Bidens pilosa* linne

C.1.2 Azucares

C.1-3 Reactivo de Fehling: Mezclar a partes iguales (el día de su uso) las soluciones A y B: -
Solución A de Fehling: Sulfato de cobre 0.28 N (35 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua destilada).

-*Solución B de Fehling:* Tartrato sódico-potásico 1.5 N (158 g en 500 ml) en hidróxido potásico 4 N (112 g en 500 ml de agua destilada). (29)

C.1.3 Ensayo para alcaloides

C.1.3.1 Mayer, 0.271 g cloruro de mercurio + 0.98 g Ioduro de potasio + agua c.s.p 20 ml

C.1.3.2 Dragendorff, Subnitrito de bismuto 1.5 g +HCL conc gotas + Ioduro de potasio + agua c.s.p 20 ml

C.1.3.3 Wagner , Iodo sublimado 0.1 g +0.2 g / Agua c.s.p 20 ml

C.1.3.4 Bertrand, Acido silicotugnstico 0.1 + agua c.s.p 20 ml (29)

C.2 *Junglans nigra* ,

Observaciones

C.2.1 Ensayo 1.Furfural *Ensayo de Seliwanoff* usado para distinguir cetosas de aldosas, se basa en la conversión de la cetosa en 5-hidro-metil-furfural y su posterior condensación con resorcinol formando así complejos coloreados. Una solución roja es indicativa de una respuesta positiva al test.

C.2.2 Furfural Solución de α -naftol al 0.5% (p/v; 0.5g en 100 ml) en etanol absoluto. Ensayo de Bial distingue hexosas de pentosas

C.2.3 Furfural Solución de resorcinol al 0.06% (p/v; 60 mg en 100 ml) en ácido clorhídrico 6N.

C.2.4 Determinación de taninos:

Añadir a cada uno de los tubos de ensayo el reactivo que se indica:

- ✓ gotas de solución de gelatina al 1%
- ✓ gotas de reactivo gelatina-sal (1% de gelatina + 10 % de NaCl).
- ✓ gotas de solución de FeCl_3 al 10%



Observar en cada caso si se produce formación de precipitado y/o cambio de coloración. Comparar con el tubo control.

C.3 *Betula alba linne*

C.3.1 Pruebas cromáticas para flavonoides:

C.3.1.2 Bortrager: NaOH 5 %, la prueba indica ser positiva cuando la fase acuosa vira a roja , positivo para antraquinonas y naftoquinonas

C.3.1.3 Cloruro férrico 5 %, azul –verde –negro, pos compuestos fenolicos y taninos

C.3.1.4 Ac bórico: Muestra en acetona + acido bórico y acido cítrico u oxálico en solución, color amarillo –amarillo verdoso, positivo 5-hidroxiavona

C.3.1.5 Gelatina en cloruro de sodio: 1 g gelatina en 100 ml de agua más 10 g NaCl, positivo precipitado para taninos

C.3.2.5 Marini-betolo: 5 ml de CCL₄ + 1 ml de SbCl₅ al 2 % en CCL₄, precipitado amarillo positivo flavonas, flavonoles, flavanonas, precipitado rojo-violeta positivo charconas

C.3.2.6 Shinoda: limadura de Mg +gotas de HCL concentrado positivo tonos de color rojo adicionando alcohol isoamilico pasa a la capa. (25, 26, 27,28)

C.3.2 Identificación de aceites esenciales

C.3.2.1 Acido fosfomolibdico: Solución etanólica al 20% de acido fosfomolibdico

C.3.2.2 Anisaldehido-acido sullfurico: 0.5 ML de anisaldehido se mezcla con 10 ml de acido acético glacial, seguido por 85 ml de metanol y 5 ml de H₂SO₄ concentrado en ese orden (el reactivo es de limitada estabilidad por ello descartar si el color se torna violeta). En el visible los componentes de los aceites esenciales muestran coloraciones intensas: azul, verde, roja y marrón; algunos compuestos muestran fluorescencia bajo UV-365 nm.

C.3.2.3 Vainillina-acido sulfúrico: Solución a: solución etanólica de H₂SO₄ al 5% Solución b: solución etanólica de vainillina al 1%.Mezclar muestra con solución a y luego con b calentar 5-10 min a 110⁰C .



IV. Ensayo en cromatografía en capa plana (TLC)

Para el caso de los compuestos poli acetilénicos se realizara un ensayo en TLC en placas de sílica gel F₂₅₄ como fase estacionaria, la fase móvil será una mezcla de hexano- acetato de etilo (85:15), el tiempo de saturación de la cámara será de 30 min, la detección se realizara a 365 nm utilizado como revelador sulfato sérico, se caracteriza por la aparición de una mancha de color azul R_f aproximado de 0.46 (Tomado como referencia de *Eupatoriummorifolium* Mill. (Asteraceae). Se realizo ensayo de TLC para los residuos de las fracciones hexánicas para comprobar su correspondencia entre sí. En comparación con solución de referencia de ácido dehidromatricarico el cual fue preparado en solución al 0.1% en hexano como disolvente

V. Determinación espectrofotométrica de compuestos poliacetilénicos en fracción

La valoración para la determinación de compuestos acetilénicos se realizo en la fracción hexanica extraída de las muestras ensayadas y que fueron concentradas de un volumen inicial de 60 ml a un volumen final de 20 ml

- ✓ Se adiciono como blanco hexano para realizar un barrido del espectro
- ✓ Posteriormente se adiciona la muestra y se valoran los picos máximos en 243 nm, 273 nm y 324 nm así mismo se consideraran las bandas entre 200-300 son características de los compuestos acetilénicos (Tomado como referencia de *Eupatoriummorifolium* Mill. (Asteraceae)

VI. Analizar Microscópicamente el polvo de las muestras adquiridas

Al hacer el análisis microbiológico encontramos que una de las muestras ensayadas presentaba olor característico a la hoja de *psidium guajaba*, por lo cual procedimos a realizar el análisis microscópico en comparación con triturados de muestra de *psidium guajaba* para comprobar si dicha especie estaba contenida en la muestra, de la siguiente manera:

- ✓ se tomo una muestra de 10 capsulas
- ✓ se vació su contenido extendiéndolo sobre una superficie plana, de color blanco, posteriormente tomamos la muestra y se monto en un portaobjeto.
- ✓ Se añadió una gota de aceite de inmersión y se coloco un cubreobjeto
- ✓ Se valoro al lente 10x,40x60



Tabla N^o 5 Resultados de límite microbiano muestras analizadas

Parámetro ensayado	Especificaciones RTCA 11.03.56.09	RESULTADOS								
		M1			M2			M3		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
BAM ufc/g	10 ⁴	1	0	0	1	0	0	1	0	0
HL/ ufc/g	10 ²	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enterobacterias	10 ²	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
<i>Salmonella</i>	Ausencia	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
<i>Shiguella</i>	Ausencia	Ausencia			Ausencia			Ausencia		
<i>E.aureus</i>	Ausencia	Ausencia			Ausencia			Ausencia		

BAM: Bacterias Aerobias Mesófilas

H/L: Hongos y levaduras

ufc: Unidades formadoras de colonias

g: gramos

M1: Extractos de muestras adquiridas en el departamento de Managua

M2: Extractos de Muestra Adquiridas en el departamento de Estelí

M3: Extractos de Muestra Adquiridas en el departamento de León

La tabla N^o 5 muestra los resultados microbiológicos para lo cual se evidencia crecimiento de bacterias aerobias Mesófilas para la dilución 10⁻¹ equivalente a <10 ufc. Para las muestras ensayadas, Razón por la cual el valor de contaminación en las muestras es aceptable dentro del límite del reglamento

No se evidencio crecimiento de hongos y levaduras para las muestras ensayadas ,ni microorganismos patógenos Enterobacterias , *Salmonella*, *Shiguella* y *E.aureus* indicados como ausentes en el Reglamento Técnico Centroamericano (R.T.C.A) 11.03.56.09 ,

Lo anterior indica que la flora aerobia mesófila es el principal marcador de contaminación de las muestras ensayadas.



PREPARACIÓN DE EXTRACTOS Y FRACCIONAMIENTO

Se prepararon un total de cuatro muestras para el ensayo cuyas denominaciones son:

Muestra 1: Extractos muestras aAdquiridas en el departamento de Managua

Muestra 2: Extractos de Muestra Adquiridas en el departamento de Estelí

Muestra 3: Extractos de Muestra Adquiridas en el departamento de León

Muestra 4: Muestra alternativa preparada el día del ensayo Extracto preparado a partir de hojas frescas de Guayaba (*Psidium guajaba*)

Las muestras fueron preparadas en solución hidroalcoholica al 35 % para su extracción , maceradas a temperatura ambiente por 5 días y posteriormente sometidas a reflujo por espacio de una hora a 45°C , posteriormente se procedió a evaporar el solvente en un sistema rota vapor a 50⁰C , 150 RPM (revoluciones por minuto) hasta obtener un extracto fluido.

Tabla N^o 6 Resultados de preparación de extractos

Parámetro	M1	M2	M3	M4
Ensayados				
(1)Características organolépticas olor , color , aspecto	Olor ligeramente aromático, color verde musgo	No aromático , olor seco, característico herbaceo, color café oscuro	olor aromático,	Olor aromático , color verde musgo
(2) pH				
(3) Índice de espumas	índice de espuma aprox 3 cm , posterior a los 20 min	índice de espuma aprox 1 cm, posterior a los 20 min	índice de espuma de aprox 1.6 cm , posterior a los 20 min	índice de espuma de aprox 2.6 cm , posterior a los 20 min
Fracción clorofórmica	Muestra en las paredes del embudo separador residuos de grasa , color verde oscuro	No muestra en las paredes del embudo separador residuos de grasa, color verde claro	Muestra en las paredes del embudo separador residuos de grasa	Muestra en las paredes del embudo separador residuos de grasa , color verde oscuro
Fracción acetato de etilo	Color café claro	Color Ligeramente verde	Color café-verdoso	Color verdoso
Fracción Hexánica	Color verde oscuro	Color verde claro intenso	Color café-verdoso	Color verdoso

M1: Managua, M2: Estelí M3: León M4: muestra de referencia de *psidium gujaba*



A la Libertad por la Universidad

La muestra 1 evidencio la presencia de aceites esenciales por su carácter aromático, la muestra 2 evidencia el olor característico a hierbas por su contenido de clorofila, No muestra correspondencia en el carácter aromático conforme a la muestra 1 , la muestra 3 evidencia la presencia de carácter aromático sin embargo su quimiotipo difiere de las muestras 1 y 4 por lo cual no existe correspondencia en los quimiotipos de trazas de aceite esenciales contenidas en 1,3 y 4 , la muestra 4 se corresponde con la muestra 1 en cuanto al carácter aromático lo anterior en base a que el aceite esencial contenido en la especie de *P.guajaba* es rica en monoterpenos de los cuales resalta en contenido el cariofileno que caracteriza el olor de la especie.

El contenido de saponina en las muestras 1 y 4 ensayadas muestran valores similares posterior a los 20 min de ensayo , corroborando el parámetro organoléptico para el cual el encapsulado contenido en la muestra 1 se corresponde con 4, para la especie *P.guajaba*

El fraccionamiento con cloroformo para las muestras 1 y 4 evidenciaron residuos de grasa en las paredes del embudo separador lo anterior soporta la evidencia de la separación de los componentes terpénicos contenidos en el aceite esencial de *P.guajaba*



PRUEBAS CROMATICAS (VER TABLA 7)

Para la identificación de alcaloides se aplicaron las principales reacciones de coloración que permitieron señalar los compuestos como la reacción de dragendorff que demostró la presencia de alcaloides obteniéndose un precipitado de color rojo naranja, en la reacción de Mayer se obtuvo un precipitado de color blanco a crema, en la reacción de Wagner se dio la formación de un precipitado color marrón, en la reacción de borntrager se obtuvo una coloración roja, todas estas reacciones demostraron ser positivas, Se evidencia según resultados obtenidos que únicamente M2 resulto positivo para alcaloides según la bibliografía revisada para las especies descritas *betula alba linne* y *bidens pilosa*, para el caso de pruebas positivas con los iguales reactivos M1 y M3 No evidencian igual comportamiento en cuanto a coloración obtenida o formación de compuestos (precipitados).

En el caso de la valoración M1 y M3 *betula alba linne* y *bidens pilosa* resultaron ser positivas en la identificación de glicosidos tipo flavonoides mediante las reacciones de borntrager la cual es una prueba específica para la cual se obtuvo una coloración roja, para el caso de solución de cloruro férrico cuya prueba es de carácter general se obtuvo una coloración azul-verde-negro característica compuestos tánicos de y no de glicosidos flavonoides, a su vez la prueba de gelatina que genero formación de precipitado confirma la presencia de taninos que preliminarmente indica la solución de cloruro férrico Por lo cual únicamente M1 y M3 corresponden entre sí para pruebas de glicosidos

Se identifico la presencia de taninos por medio de la coloración grisácea que género la reacción en el test gelatina-sal,

Para la valoración de furfural e hidroximetilfurfural se aplicaron diferentes ensayos los cuales resultaron ser positivos test de molish obteniéndose derivados de color purpura, ensayo de bial coloración azul y ensayo de Seliwanoff derivados de color rosa-rojo.

La identificación de carbohidratos resulto ser positiva utilizando el reactivo de Fehling el cual presento una coloración rojo-ladrillo característico de este tipo de reacción para azucares reductores. Esto puede ponerse de manifiesto por medio de una reacción redox llevada a cabo entre ellos y el sulfato de cobre (II).



Las soluciones de sulfato de cobre son de color azul. Cuando reaccionan con el glúcido reductor se forma óxido de cobre (I), de color rojo. El cambio de coloración evidencia, por tanto, la presencia de glúcidos reductores

Para el caso de Aceites esenciales los colorantes para grasas son más solubles en las propias grasas que en el medio en el que van disueltos. Así, al bañar la grasa con la solución del colorante, éste tiende a disolverse en la grasa que se va cargando del colorante el cual es un tinte diazo del tipo lisocromo (tinte soluble en grasa, o aceites esenciales) usado para manchar de triglicéridos en secciones congeladas, y algunos lípidos. Las muestras presentadas en la Fig. 40. De izquierda a derecha la M1 y M3 correspondientes a las muestras que declaran contener según el marbete del producto analizado las especies *betula alba linne* y *bidens pilosa* las que declaran contenidos de aceites esenciales y que resultaron positivas



Fig. 40



Fig. 41



PRUEBAS CROMÁTICAS OBTENIDAS PARA EXTRACTOS Y SUS FRACCIONES

Tabla N° 7

Muestras ensayadas	Alcaloides			Flavonoides			Azucares	Furfural	Furfural
	Dragendorff	Wagner	Mayer	FeCl ₃	Borntrager	Gelatina	Fehling	α- naftol	Resorcinol
M1	-	-	-	+	+	+	+	-	+
M2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M3	-	-	-	+	+	+	+	-	+
M4	-	-	-	+	+	+	+	-	+
Hexano M1	-	-	-	+	+	+	+		+
HexanoM2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HexanoM3									
HexanoM4									
Cloroformo M1	-	-	-	+	+	+	+		+
Cloroformo M2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cloroformo M3									
Cloroformo M4									
Acetato etilo M1	-	-	-	+	+	+	+		+
Acetato etilo M2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetato etilo M3									
Acetato etilo M4									

M1: muestra 1 capsulas procedentes de león

M2: muestra 2 capsulas procedentes de Estelí

M3: muestra 3 capsulas procedentes de Managua

Res F1

Res F2

Hexano M1

HexanoM2

Cloroformo M1

Cloroformo M2

Acetato etilo M1

Acetato etilo M2



ENSAYO EN TLC DE MARCADORES

Se ensayo T.L.C (Thin Layer Chromatographic) para las diferentes muestras M1, M2, M3, y M4 para lo cual se evidencia La M1 no se corresponde con M3 y M4 pero si se corresponde con M2 y M5 (fracción Hexánica de referencia) para al menos una mancha. Para el caso de las muestras M2 y M5 (fracción hexánica de referencia) muestran al menos dos manchas que se corresponden entre sí para sus correspondientes valores de Rf de los cuales M2 proviene de una fracción hidroalcoholica a diferencia de M5 que proviene de una fracción orgánica (Hexano). Los Valores de los Rf para las muestras M2 y M5 (fracción hexánica de referencia) es aproximadamente para M2 0.45, y M5 0.46 las manchas correspondientes a las M1, M2, M5 muestra valores Rf aproximados M1 0.33, M2 0.34, M3 0.33 Ensayadas en para una fase estacionaria Acetato de etilo-Hexano 85:15 ,(Tomado como referencia de *Eupatoriummorifolium*Mill. (Asteraceae)

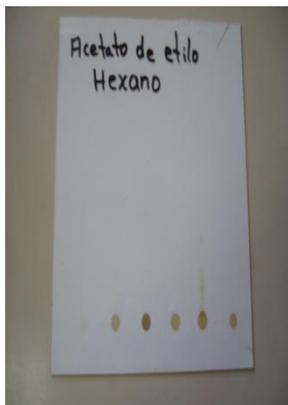


Fig. 37



Fig. 38

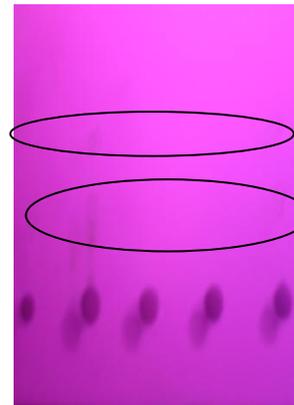
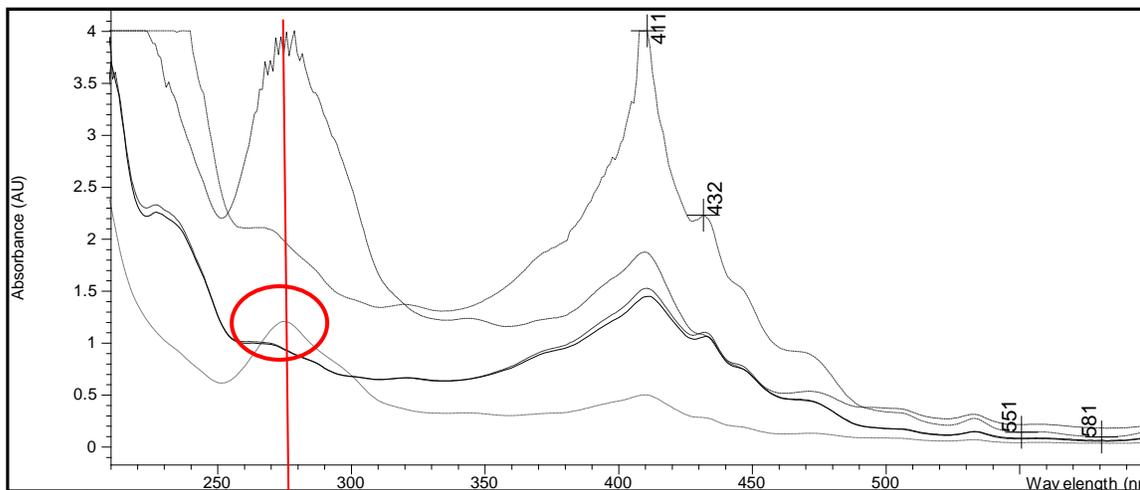


Fig. 39



ENSAYO ESPECTROFOMETRICO

La bibliografía refiere que los compuestos poli acetilénicos en fracción hexánica deben presentar picos entre 243, 273 y 324 nm así mismo picos característicos entre 200-300 nm .Los resultados de las fracciones hexánicas fueron:



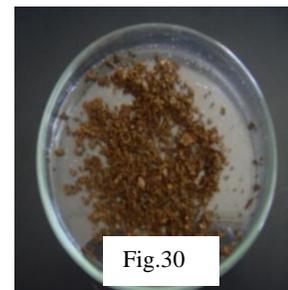
#	Name	Peaks (nm)	Abs (AU)	Valleys (nm)	Abs (AU)
1	Muestra 1	410.0	1.86940	584.0	0.17431
1		344.0	1.23010	550.0	0.20773
2	Muestra 2	275.0	1.20040	584.0	2.7686E-2
2		410.0	0.49429	549.0	3.4561E-2
3	Muestra 3	210.0	3.70620	583.0	5.8777E-2
3		227.0	2.26040	578.0	6.3424E-2
4	Muestra 4 SRF	273	4.00000	581.0	8.8625E-2
4		432.0	2.22280	551.0	0.13512

Los espectros evidencian que la muestra 2 es la única que presenta picos característicos para compuestos acetilénicos en el rango reportado según bibliografía Tomado como referencia de *Eupatorium morifolium mill. (Asteraceae)*, lo anterior se corrobora con el hecho ser la única muestra y fracción que evidencian igualmente positivo para el caso de determinación de alcaloides según la composición química de Alcaloides, y compuestos poliacetilenicos, contenidos en *Bidens pilosa linne*



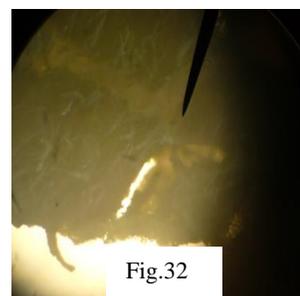
ANÁLISIS MICROSCÓPICO DE DROGA VEGETAL

La valoración microscópica, organoléptica y sensorial contenido en las capsulas de las muestras analizadas 1, 2, y 3, permitió establecer según características en comparación con material vegetal fresco de Guayaba



(Muestra 4 Fig. 29 *Psidium guajaba*) su correspondencia entre muestra 1(fig 29) y muestra 4 (Fig. 30)

El ensayo de el polvo contenido en las capsulas de la muestra 1, evidencio la presencia de abundantes tricomas (Fig. 31) en todo el material de acuerdo a la referencia bibliográfica que establece para el polvo fragmentos de



parénquima en empalizada con cavidades secretoras; epidermis adaxial con pelos simples a pelos unicelulares sueltos (Fig 32). En comparación a el material vegetal fresco de la especie *Psidium guajaba* (Fig.32) que muestra igual cantidad de estructuras histológicas y que previamente se identifico por características organolépticas y nota sensorial descrita anteriormente.

Lo anterior se logro evidenciar microscópicamente en un trozo de material vegetal de la muestra 1 que mostraba abundantes puntos glandulosos transparentes (Fig. 33) en la lámina correspondiente a estructuras secretoras que contienen aceite Esencial que se ratificaron corresponden a la especie *Psidium guajaba* (fig. 33) en el material vegetal fresco.



Fig.33

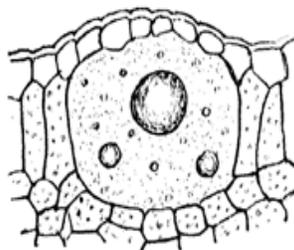


Fig.33



Fig.33



CONCLUSIONES

Se concluye que en la verificación de la calidad de un producto fitoterapéutico en capsulas de acuerdo a la composición química de las plantas contenidas en su marbete comercializado en los departamentos del país , el contenido fitoquímico entre las muestras difieren entre sí y no son correspondiente a la composición química documentada y que fueron objeto de valoración mediante pruebas cromáticas de confirmación , concluyendo que las muestras analizadas no cumplen el parámetro de identificación de compuestos activos establecidos en el Reglamento Técnico Centroamericano (R.T.C.A) 11.03.56.09, y en pruebas complementarias como análisis microscópico sensorial y organolépticas olor y color de las muestras evidencian de igual manera que los productos muestran ser claras falsificaciones de su producto original

Las pruebas cromatográficas realizadas en TLC para determinar la presencia cualitativa de marcadores poliacetilenicos presentes de acuerdo a la composición química de las especies declaradas en el marbete ratifican que 3 de las muestras ensayadas muestran ser claras imposturas de su producto original ya que no se corresponden entre sí en los valores de Rf sin embargo al menos 1 de las muestras evidencia correlación con dicha muestra de referencia no obstante esto no ratifica su contenido a razón del número de pruebas negativas que dicha muestra dio en el ensayo cromático por lo cual bien pudiera deberse a especie que en su contenido vegetal similar son utilizadas para las adulteración de dicha muestra.

Se concluye por igual que los resultados microbiológicos son una clara muestra de la mala calidad del producto, por la contaminación de bacterias aerobias Mesófilas las cuales como adulteraciones o falsificaciones son elaboradas con falta de buenas prácticas higiénicas sanitarias, ante la falta de escrúpulos de personas que buscando beneficio económico omiten el bienestar seguridad y calidad en la salud del consumidor.



A la Libertad por la Universidad

Las pruebas espectrofotométricas evidenciaron el contenido de compuestos acetilénicos únicamente en una de las muestras ensayadas por lo cual se discierne que las muestras restantes pertenecen a adulteraciones, sin embargo con todo lo anteriormente mencionado no son concluyentes para comprobar que el análisis de la composición química de las especies se corresponden a las especies declaradas en su marbete para dicha muestra que evidencia compuestos acetilénicos en fracción hexánica lo cual bien pudiera deberse a especie que en su contenido vegetal similar son utilizadas para las adulteración de dicha muestra

La falta de correlación en sus características de marbete de igual manera confirma lo anteriormente dicho comprobando que los productos analizados no cumplen con el Reglamento Técnico Centroamericano de etiquetado para productos naturales 11.04.41.06 , ya que existe diferencia en cuanto a diseño de marbetes, falta de legibilidad en su escritura y falta de homogeneidad en su diseño. Las muestras evidencian de igual manera que los productos son claras falsificaciones de su producto original.



RECOMENDACIONES

1. Identificar demográficamente a nivel nacional los principales locales de fabricación y centros de comercialización (farmacias botánicas o naturistas), de productos Fitoterápicos con la finalidad de tener un mayor control de dichos establecimientos así como de los Fitoterápicos que se distribuyen y comercializan entre la población posterior a su elaboración.
2. Facilitar a los establecimientos que se reporten como no registrados ante el ministerio el poder hacerlo siempre y cuando cumplan las normativas y reglamentos pertinentes exigidos por el ministerio de salud con la finalidad que una vez estos regulados puedan ofrecer a la población seguridad y calidad en los productos que adquieren.
3. Crear nuevos reglamentos para la inscripción, fabricación, distribución, comercialización y publicidad de los productos naturales tomando como referencia los que ya están establecidos con el fin de certificar y mejorar la calidad de los productos que afectan la salud del paciente tomando como referencia la ley 292 de medicamentos y farmacias para la inclusión de establecimientos naturistas o centros botánicos para que estos puedan apearse a las exigencias que la ley contempla
4. Elaborar nuevas Normativas reglamentarias estratégicas que permitan hacer uso de procesos como inspecciones, decomisado, o cierres de establecimientos, de acuerdo a la gravedad, para reducir la corrupción y la actividad fraudulenta, promoviendo así la cooperación intersectorial entre los organismos de reglamentación, ministerio de salud, policía nacional, servicios aduaneros y sistema judicial, para un control eficaz del mercado de productos Fitoterápicos y la aplicación de la reglamentación pertinente.
5. Realizar inspecciones estratégicas de productos Fitoterápicos al azar comercializados y con índice de demanda en el mercado el fin de que cumplan con el reglamento de etiquetado de productos naturales garantizando así una comercialización segura y de calidad evitando riesgos en la salud del consumidor final.



6. Promover en medios de comunicación el derecho ciudadano de Informar a las autoridades correspondientes cuando un producto Fitoterápico no cuente con el registro sanitario establecido conforme lo estipula la ley de medicamentos y farmacia, con el objetivo de garantizar la calidad y la autenticidad de los productos naturales que la población consume.
7. Promover en la población campañas de información haciendo uso de los diferentes medios de comunicación sobre las falsificaciones de productos Fitoterápicos y de cómo identificarlos haciendo énfasis en los riesgos que estos tienen al ser administrados para cualquier fin terapéutico.
8. Crear un comité que involucre a las industrias del sector, ministerio de salud y profesionales en el área de farmacognosia y ciencias afines a la terapia de productos de origen natural para crear conciencia en los criterios existentes en relación a la materia creando de esta manera un proyecto de normas que permitan garantizar la calidad, eficacia e inocuidad de los productos Fitoterápicos.



BIBLIOGRAFIA

1. RTCA 11.03.56:09. Productos farmacéuticos, productos naturales para uso humano. Verificación de la calidad. www.reglatec.go.cr/consulta/rtc-11-03-56-09.pdf.
2. Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fitoterapia y Plantas Medicinales. 2ª edición. España. Editorial Acribia, S.A. p. 74-81
3. Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. 1ª edición. Bogotá Colombia
4. Cataneo, A Química. Obtención. Productos. Usos: aceites esenciales extraído de (<http://html.rincondelvago.com/aceites-esenciales.html>).
5. Van Ginkel, A. (2003). Apuntes del Máster y Diplomatura de posgrado de la UAB “Plantas Medicinales y Fitoterapia. Módulo 2. Cultivo de plantas medicinales. Tecnología y Producción.” <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>
6. NAHUM.2009.Reaccion de identificación para los carbohidratos. Extraído de : <http://es.scribd.com/doc/23351531/Reacciones-de-Identificacion-Para-Los-Carbohidratos>.
7. Glucósido. 2011. wikipedia la enciclopedia libre [versión electrónica]. <http://es.wikipedia.org/wiki/Gluc%C3%B3sido>
8. Saponina. 2011. wikipedía la enciclopedia libre [versión electrónica]. <http://es.wikipedia.org/wiki/Saponina>
9. Gonzales M. (2010).curso de biomoleculas: glucósidos. Universidad del país vasco. Extraído de :<http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c3.htm>
10. Gonzales M. (2010).curso de biomoleculas: glucósidos. Universidad del país vasco. Extraído de: <http://www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c4.htm#to>.
11. NAHUM.2009.Reaccion de identificación para los carbohidratos. Extraído de : <http://es.scribd.com/doc/23351531/Reacciones-de-Identificacion-Para-Los-Carbohidratos>.



12. Poliacetilenos. 2011. wikipedía la enciclopedia libre [versión electrónica].
<http://es.wikipedia.org/wiki/Poliacetileno>.
13. http://personal.us.es/arche/temas/farmacognosia/tema_13.pdf
14. Abedul.2009.Espiritugaia enciclopedia [versión electrónica].
<http://www.espiritugaia.com/Abed.htm>.
15. Lic. Humberto A. Lastra Valdés y Lic. Heidy Ponce de León Rego2
Lastra H & ponce de león H. (2001) BIDENS PILOSA LINNE REV CUBANA
PLANT MED, 1, 28-33 PLA0701.PDF.
16. Juglans Nigra. 2011. wikipedia la enciclopedia libre [versión electrónica].
http://es.wikipedia.org/wiki/Juglans_nigra.
17. Pharmacopea (2007). 565 Botanical extracts. USP 30.
18. López, O. Muñoz, A.; Carmona, R.; Torres, L.; González, M. L.; Varela, A.E.;
García, J.M. y Suárez, E. (2007). Obtención y escalado del extracto seco de *C. officinalis* L. Rev. Cub. de Química. XIX (1) p. 71-73.
19. Álvarez, A.; González, J. A.; Urquiola, A.; García, M. y Monteagudo, R. (2007).
Influencia del método de secado y el tiempo de almacenamiento en estante de las
hojas de *E. minutifolium* Griseb sobre la actividad citotóxica y antiherpética tipo 1.
Re. Cub. De Química. XIX (1): 33-35.
20. Carmona, R.; López, O.; González, M. L. y Muñoz, A. (2006). Optimización del
proceso de obtención del extracto acuoso de *C. officinalis*. Rev.Cub. Plant Med.11
(3-4).
21. López, O. Muñoz, A.; Carmona, R.; Torres, L. y González, M. L. (2006). Influencia
del uso de aditivos sobre el rendimiento del proceso de secado por aspersión del
extracto acuoso de *C. officinalis* L. Rev. Cub. Plant Med. 11 (1).
22. García, J. (1993). La filtración y la centrifugación en la industria químico-
farmacéutica. *Primer Curso Internacional*. Segunda Parte, pp. 82-6, Ciudad Habana,
Cuba.
23. Cromatografía en capa fina.2007.textos científicos [versión electrónica].
<http://www.textoscientificos.com/quimica/cromatografia/capa-fina>
24. Gattuso, M. y Gattuso, S. (1999). Manual de procedimientos para el análisis de
drogas en polvo 1ª editorial de la universidad nacional del rosario.