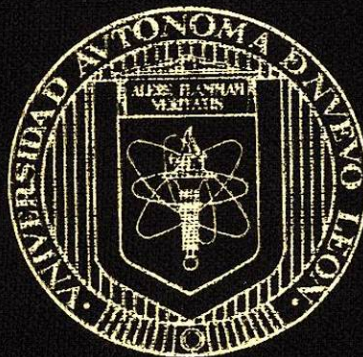


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE MEDICINA



CONTROL DE CALIDAD DE 6 PRINCIPALES  
PRODUCTOS HERBOLARIOS EN NUEVO LEON  
POR CROMATOGRAFIA CAPA FINA

Por

Est Q.C.B. YAEL C. DE LA TORRE RODRIGUEZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TITULO DE  
LICENCIATURA DE QUIMICO CLINICO BIOLOGO

SEPTIEMBRE, 2005

TL  
OK99  
.N84  
T677  
2005  
c.1

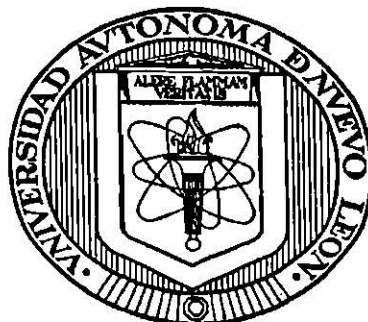
ESTABLISHED IN 1871  
FOR THE PROMOTION OF  
SCIENTIFIC RESEARCH



1080170738

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**Control de calidad de 6 principales productos herbolarios en Nuevo León por cromatografía capa fina**

**Por**

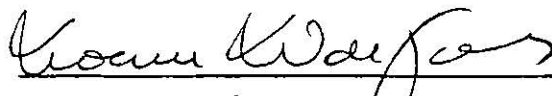
**Est Q.C.B YAEL C. DE LA TORRE RODRIGUEZ**

**Como requisito parcial para obtener el título de Licenciatura de Químico Clínico Biólogo.**

**Septiembre, 2005**

**Control de calidad de 6 principales productos herbolarios en Nuevo León por cromatografía capa fina**

**Aprobación de tesis:**



**DRA. NOEMÍ WAKSMAN DE TORRES**



**DR RICARDO SALAZAR ARANDA**

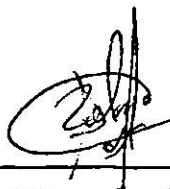


**DRA ROSALBA RAMÍREZ DURÓN**

**Control de calidad de 6 principales productos herbolarios en Nuevo León por cromatografía capa fina**

**Presentado por Est QCB Yael C. De la Torre Rodríguez**

**Este trabajo fue realizado en el departamento de Química Analítica de la facultad de Medicina de la U.A.N.L. bajo la asesoría del Dr. Ricardo Salazar Aranda y la coasesoría de la Dra Noemí Waksman de Torres y la Dra. Rosalba Ramírez Durón**



---

**Dr Ricardo Salazar Aranda**



**Dra. Noemí Waksman de Torres**



**Dra Rosalba Ramírez Durón**

## **AGRADEZCO**

**A Dios por encargarse de que hoy exista.**

**A las mujeres más admirables que existen, mamá y abuelita por todos sus cuidados, amor, consejos, apoyo y con quienes sé cuento de por vida.**

**A mis dos hermanitos José y Servando que me cuidan y me apoyan en todo**

**A mi familia completa que aunque en número pequeña, tiene una grandeza de amor y comprensión infinita.**

**A ti que abarcas mis pensamientos, gran parte de mi corazón, que escuchas, me cuidas, y te preocupas por mí, sé lo que significa esto para ti Miguel**

**A mis amigos: Eloy, Emigdio, Sol, Less, Danny, Esthela, Nuria, Lupis, Ernesto, Ceci, Pao, gracias por todo, no hay mejor equipo que ustedes, cada uno sabe lo que para mí significa, y me enorgullezco de decir ser su amiga.**

**A Lucy e Ivonne por toda paciencia y amabilidad, Animo!**

**A mi comisión de tesis por darme parte de su tiempo**

**A la Dra Noemí Waksman por su orientación brindada**

**A todo el personal de Química Analítica por que me sentí siempre acompañada y apoyada.**

**Al Dr Ricardo Salazar por todo su tiempo invertido, consejos, esmero y dedicación en que todo saliera bien, su gran apoyo y el pastel de cumpleaños y despedida.**

**Gracias...**

## TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
<b>1 INTRODUCCION</b>	
1.1 Herbolaria	.1
1.2 Control de Calidad de productos herbolarios	.6
1.3 Cromatografía	.8
1.3.1 Cromatografía capa fina	8
1.3.2 Desarrollo del control de calidad cromatográfico	10
<b>2 MATERIAL Y METODOS</b>	
<b>2.1 Material</b>	<b>.12</b>
2.1.1 Reactivos	.12
2.1.2 Productos herbolarios	.12
2.1.3 Equipo.	.13
2.1.4 Material de laboratorio	.14
<b>2.2 Métodos</b>	
2.2.1 Revisión bibliográfica	.14
2.2.2 Condiciones cromatográficas para los marcadores.	.14
2.2.3 Extracción de los productos herbolarios	.15
2.2.4 Perfil cromatográfico	.16
<b>3 RESULTADOS</b>	
3.1 Revisión bibliográfica	.18
3.2 Selección de condiciones	.18
3.3 Obtención de extractos	.20
3.4 Perfil cromatográfico de cada producto	.21
<b>4 DISCUSION</b>	<b>.30</b>
<b>5 CONCLUSIONES.</b>	<b>.35</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>.36</b>
<b>APENDICE</b>	<b>.38</b>



## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
<b>I</b>	Productos más vendidos en establecimientos de Nuevo León.	3
<b>II</b>	Parámetros para el control de calidad de productos herbales	7
<b>III</b>	Productos adquiridos comercialmente	13
<b>IV</b>	Condiciones Cromatográficas para los marcadores	15
<b>V</b>	Condiciones de extracción de los productos	17
<b>VI</b>	Concentraciones de Productos analizados	17
<b>VII</b>	Curva de Calibración de Marcadores	17
<b>VIII</b>	Resultados de la búsqueda	19
<b>IX</b>	Condiciones utilizadas	20
<b>X</b>	Porcentajes de extracción para cada producto	21
<b>XI</b>	Análisis semicuantitativo	22
<b>XII</b>	Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Ajo	23
<b>XIII</b>	Patrón cromatográfico observado en todos los productos analizados de Azahar	25
<b>XIV</b>	Patrón cromatográfico observado en todos los productos analizados de Cáscara Sagrada	26

<b>XV</b>	<b>Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Toronjil</b>	<b>27</b>
<b>XVI</b>	<b>Patrón cromatográfico observado en todos los productos no etiquetados analizados de Sauco</b>	<b>28</b>
<b>XVII</b>	<b>Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Ginseng</b>	<b>29</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Cromatograma de prueba de marcadores.	20
<b>2</b>		
<b>A</b>	Ajo Visible . . . . .	23
<b>B</b>	Ajo 254nm . . . . .	24
<b>C</b>	Ajo 366nm . . . . .	24
<b>3</b>	Azahar Visible . . . . .	25
<b>4</b>	Cascara sagrada Visible . . . . .	26
<b>5</b>	Toronjil 366nm . . . . .	27
<b>6</b>	Sauco Visible . . . . .	28
<b>7</b>	Ginseng Visible . . . . .	29

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Ac.	Acido
min	minutos
mL	mililitros
g	gramos
nm	nanómetros
etc	etcétera
Rf	Proporción de la distancia recorrida por un compuesto dado y la distancia recorrida por el frente del disolvente
UV	Ultravioleta
pH	potencial hidrógeno
mm	milímetros
cm	centímetros
mg	miligramos
μL	microlitros
%	por ciento
°C	grados centígrados

## CAPITULO I

### INTRODUCCION

#### 1.1. Herbolaria

Hasta hace muy pocos años, el mundo vegetal ha sido la mayor fuente de remedios para revertir la enfermedad y el dolor humano. Desde Dioscórides, pasando por Arnaldo de Vilanova, las plantas medicinales se han unido inseparablemente al progreso de la medicina y al ejercicio de la profesión médica y farmacéutica. El descubrimiento del Nuevo Mundo supuso una verdadera explosión de nuevas posibilidades terapéuticas que hicieron de España el centro del desarrollo de la fitoterapia en el siglo XVI, tomando después el relevo otros países europeos al conseguir obtener principios activos puros. Sin embargo, en los comienzos del siglo XX se produce el actual e imparable desarrollo de la química sintética y la desvalorización de la fitoterapia por distintas causas. Actualmente se observa un retorno de muchos remedios naturales a la terapéutica. Los países en desarrollo se ven obligados a utilizar los productos naturales, por carecer de otros y no poder acceder económicamente a la terapéutica Occidental. Los industrializados, en lo que se puede considerar un periodo postindustrial, vuelven en gran medida a la terapéutica natural, tal vez por la creencia, de que todo lo natural es bueno y poco tóxico. En la búsqueda del equilibrio estará el futuro y la racional utilización de esta terapéutica.<sup>1</sup>

A nivel mundial se ha reportado que más del 80% de la población utiliza preparaciones botánicas como medicina. En 1996, Alemania fue el mayor consumidor de estos productos. En 1997, Estados Unidos de Norteamérica vendió 441.5 millones de dólares de productos medicinales extraídos de plantas.<sup>2</sup>

Por otra parte, la riqueza florística de México, la abundancia y la diversidad de su flora medicinal, fueron reconocidas desde la época precortesiana. Las plantas medicinales de México fueron objeto de comercio hasta Europa en aquella época, y han motivado desde entonces numerosas y diversas investigaciones en varias facetas. Sin embargo, su aplicación empírica ya llevaba implícita desde antes de la conquista un profundo saber, resultado de una investigación sistemática desde la perspectiva de las ciencias autóctonas.<sup>3</sup>

El uso de los productos herbales es una costumbre muy arraigada en la sociedad mexicana; la información de las propiedades medicinales de las plantas se transmite de generación en generación; sin embargo, en muchas ocasiones no se tiene una base científica para su administración.<sup>2</sup> Actualmente en México se comercializa indiscriminadamente una gran cantidad de productos herbolarios, con y sin autorización de la Secretaría de Salud. Según la OMS, el 60% de la población mexicana consume plantas medicinales.<sup>2, 4</sup>

Particularmente en Nuevo León, existen 2 620 establecimientos registrados ante la Secretaría de Salud que se dedican a vender productos herbales, ya sea como medicina o suplementos de la dieta.<sup>2</sup>

Actualmente, en el Departamento de Química Analítica, de la Facultad de Medicina, UANL, se desarrolla el proyecto "La medicina herbolaria. Rastreo Sistemático de la calidad de los productos más utilizados por la población del Noreste de México". El primer objetivo de este proyecto fue establecer los 40 productos mas vendidos (consumidos) en la población del Noreste. Con este

propósito se realizaron encuestas en diversos establecimientos como herberías, farmacias, almacenes de medicamentos, laboratorios de herbolarios, expendios de productos naturales y tiendas de autoservicios, además de aplicar una encuesta a la población en general. Los resultados de este estudio preeliminar se muestran en la Tabla I.

Tabla I. Productos más vendidos en establecimientos de Nuevo León.<sup>2</sup>

1 Broncolin	11 Witgrass	21 4-LI Laxante suave	31 Bekunis
2 Manzanilla	12 Cola de caballo	22 7 flores	32 Gripte
3 Arnica	13 8HS Insomnio	23 Gordolobo	33 Gingko Biloba
4 Damiana	14 Boldo	24 Abango	34 Pasiflora
5 Metamucil	15 G3 T Acidez	25 Gobernadora	35 Estafiate
6 Naturetti	16 Nopal	26 Menta	36 Azahar
7 Verisan	17 Tamarine	27 Palo azul	37 Uña de gato
8 Lecitina de soya	18 Wereke	28 Zábila	38 Pelo de elote
9 Tila	19 Ivel	29 Fybogel	39 Ajo
10 Bronco día	20 Kobil	30 Salvia	40 Bronotol

La Secretaria de Salud emite Normas Oficiales Mexicanas a las que deben sujetarse los procesos y las especificaciones de los productos herbolarios, estos medicamentos herbolarios están normados por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos e incluyen los productos elaborados con material vegetal o algún derivado de éste, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extractos y tinturas, así como jugos, resinas, aceites grasos y esenciales, presentados en forma farmacéutica, cuya eficacia terapéutica y seguridad ha sido confirmada científicamente en la literatura nacional o internacional.<sup>5</sup>

A pesar de la considerable diversidad biológica y la presencia de la flora como recurso de atención popular, en México una gran cantidad de plantas no se encuentran incluidas en su Farmacopea Herbolaria.<sup>3</sup>

El uso de la medicina tradicional sigue estando muy extendido en países en vías de desarrollo, mientras que el uso de la medicina complementaria y alternativa está aumentando rápidamente en los países desarrollados. En

muchos lugares del mundo, los responsables de las políticas, los profesionales sanitarios y el público se debate con preguntas sobre la seguridad, eficacia, calidad, disponibilidad, preservación y con el desarrollo de este tipo de atención sanitaria.<sup>4</sup>

Debido al aumento del uso de la Medicina Tradicional, también está aumentando la demanda para producir evidencias para la seguridad, eficacia y la calidad de los productos y sus prácticas. Son pocos los países que han desarrollado una política sobre este tipo de medicina, solo el 13 % de los estados miembros de la OMS.<sup>4</sup>

El aumento del consumo de estos productos se debe a la modificación de reformas regulatorias, que promueven la aceptación de los productos herbales y las fitomedicinas y que se integren a la práctica médica normal. Sin embargo, una gran desventaja del empleo de productos herbales en varios países es la carencia de inspección por parte de organismos reguladores. Algunos grupos de investigadores han encontrado que muchas preparaciones herbales no contienen lo que se anuncia en la etiqueta. Otras desventajas incluyen las interacciones con fármacos desconocidos (que a veces ocasionan resultados catastróficos) y la falta de registro de efectos colaterales.<sup>2</sup>

Muchos países desarrollados se están dando cuenta que los temas sobre Medicina Tradicional relacionados con la seguridad y calidad, licencias de proveedores y pautas de formación, y prioridades para la investigación, pueden afrontarse mejor dentro de un marco de trabajo de política nacional, incluso cuando gran parte de su población depende de ella para su salud.<sup>4</sup>

La valoración de los productos de la Medicina Tradicional es asimismo un tema problemático. Especialmente en el caso de las medicinas herbales, donde la eficacia y la calidad de las mismas puede verse influenciada por numerosos factores.



El uso correcto de productos sometidos a un control de calidad tiene gran importancia a la hora de reducir los riesgos asociados con los productos herbales. Sin embargo, las normativas y el registro de este tipo de medicinas no están bien desarrollados en la mayoría de los países y por lo general, la calidad de los productos de hierbas que se comercializan no está garantizada.<sup>4</sup>

Los consumidores deberían adquirir sus productos sólo con proveedores adecuadamente calificados y formados ya que pueden sufrir efectos colaterales que pueden producirse al mezclar fármacos químicos con medicinas con base de hierbas.<sup>4</sup>

La OMS (China, 1980) definió como Planta medicinal “todo vegetal que contiene en uno o más de sus órganos, sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores de hemisíntesis quimicofarmacéutica”.<sup>1</sup>

En la misma reunión se acordó definir como droga vegetal “la parte de la planta medicinal utilizada con los fines citados anteriormente”. Se incluyen también en el concepto de droga los productos procedentes de vegetales obtenidos por métodos sencillos: látex, aceites, esencias, gomas, etcétera (que reciben la denominación de drogas no organizadas o drogas producto), por ejemplo, los bálsamos del Perú y Tolú que proceden de especies del género Myroxylon.<sup>1</sup>

Planta oficial es aquella planta medicinal que esta descrita en un código oficial, por ejemplo la Farmacopea Europea.<sup>1</sup>

La Farmacognosia es la Ciencia Farmacológica cuya finalidad es el estudio desde todos los puntos de vista de la droga, por lo que está íntimamente ligada a la Fitoterapia o más bien la Fitoterapia sería una aplicación de la Farmacognosia.<sup>1</sup>

Universalmente se conoce a la Fitoterapia como la Ciencia que estudia “el tratamiento de las enfermedades por medio de las plantas” o bien “el empleo de especies vegetales, sus derivados y formulaciones para el tratamiento de las enfermedades”.<sup>1</sup>

La OMS define también a la medicina tradicional como prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir enfermedades.<sup>4</sup>

## **1.2. Control de Calidad de productos herbolarios**

El control de calidad de un producto se refiere al cumplimiento de parámetros establecidos o normados para que todos los artículos producidos sean y contengan lo mismo. Particularmente, cuando se habla de productos herbolarios el control de calidad se refiere a que los productos siempre contengan lo que se anuncia en su etiqueta. Esto se puede evaluar utilizando estándares o marcadores, ya sea de las plantas contenidas en los productos, o bien, de la materia prima utilizada para elaborarlos.

Generalmente las plantas se presentan desecadas y su utilización con finalidad terapéutica puede realizarse de diversas formas: puede ser la materia prima para el aislamiento y purificación de alguno de sus componentes, puede emplearse para obtención de extractos o bien, puede utilizarse directamente en forma de polvo o para la preparación de tisanas.<sup>6</sup>

La OMS introdujo guías para valorar la seguridad y eficacia de los productos herbales y los participantes adoptaron una propuesta sobre los

requerimientos comunes del registro de productos con base de hierbas. Tabla II  
4

Además, la OMS ha respondido a los consumidores elaborando documentos de referencia tales como Métodos de Control de Calidad para Materiales Elaborados con Plantas Medicinales, para no sólo facilitar el trabajo técnico de las autoridades encargadas de regular los fármacos, sino también para alentar a los países a llevar a cabo controles de calidad de las medicinas con base de hierbas, estos proporcionan información científica sobre seguridad eficacia, control de calidad de las plantas medicinales más usadas, características botánicas de las plantas, principales integrantes químicos de las plantas e instrucciones sobre como asegurar el control de calidad de los productos con base de hierbas derivados de las plantas.<sup>4</sup>

Tabla II. Parámetros para el control de calidad de productos herbales

<b>1.- Definición clara y científica</b>
<b>2.- Identidad</b> Características macro y microscópicas Características organolépticas Perfil cromatográfico ("huella dactilar") Reacciones de identificación
<b>3.- Pureza</b> Humedad Cenizas Constantes físicas Materia extraña Metales pesados Contaminación microbiana Aflatoxinas Residuos pesticidas Adulteraciones Radioactividad
<b>4.- Valoración</b> Contenido en principios activos o marcadores

### **1.3. Cromatografía**

Es de gran importancia el empleo de la cromatografía para establecer el control de calidad de productos herbales, en la elaboración del perfil cromatográfico, y para evaluar el contenido en principios activos o marcadores (Tabla II). Las técnicas cromatográficas además se emplean para separar los componentes individuales de una mezcla, determinar grado de pureza de un compuesto, comparar muestras, realizar el seguimiento de una reacción, controlar el contenido de las fracciones obtenidas en una cromatografía de columna, y en ciertos casos, para identificar un compuesto comparando su comportamiento cromatográfico con el de sustancias conocidas empleadas como patrón como en este caso.

Esta técnica se basa en la distribución de un determinado soluto entre dos fases, experimentando una serie de procesos (adsorción en fase sólida, solubilización en cada fase, arrastre por la fase móvil, etc.) que, en último extremo, llevan a que el soluto se reparta entre ambas fases.<sup>7</sup>

#### **1.3.1. Cromatografía en Capa Fina (CCF)**

Una de las técnicas cromatográficas más sencillas es la que se realiza en capa fina, llamada así porque la fase estacionaria es una capa fina de un material poroso (gel de sílice, alúmina, etc.) extendida para su manejo mecánico sobre un soporte inerte. La fase móvil es una mezcla de disolventes en diferentes proporciones, que emigra por la fase estacionaria debido, a la capilaridad. En su movimiento, arrastra más o menos a los componentes de una mezcla en función de sus mayores o menores coeficientes de reparto.

El coeficiente de reparto es poco empleado en la práctica. En su lugar, y relacionado con él, se emplea el término  $R_f$ , característico de cada sustancia, definido como la relación entre la distancia que recorre dicha sustancia y la que

recorre la fase móvil. Los analitos más insolubles en el disolvente empleado, tendrán un  $R_f$  próximo a cero, mientras las más solubles se acercarán a uno.<sup>7</sup>

La muestra aplicada en la capa es adsorbida en la superficie del material por la acción de fuerzas electrostáticas (fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, efectos inductivos, etc). Luego, cuando la capa es expuesta a un flujo por acción capilar, se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente.<sup>8</sup>

Los adsorbentes más utilizados en la cromatografía de capa fina son: gel de sílice (en 80% de las separaciones), óxido de aluminio ó alúmina (ácida, neutra ó básica), tierra silícea ó Kieselguhr celulosa (nativa o micro-cristalina) y poliamidas. Las características de los adsorbentes son: tamaño de partícula (volumen de poro, diámetro de poro, área superficial), homogeneidad y pureza.

Se usan como soporte del adsorbente láminas de: vidrio, plástico ó metálicos (ej: aluminio) Los tamaños de la placa para cromatografía capa fina convencional son: 20 x 20; 10 x 20 y 5 x 2 (cm). En el mercado se encuentran placas que contienen un indicador de fluorescencia: F<sub>254</sub> ó F<sub>366</sub>. El número que aparece como subíndice, indica la longitud de onda de excitación del indicador utilizado. La muestra se aplica en la placa según el objetivo ya sea analítico o preparativo, en banda o punto.

Existen varios tipos de cámaras (cubas) para el desarrollo cromatográfico, como son: normal, de doble compartimiento, sándwich, horizontal.

Si la mancha no es coloreada se requiere de métodos que permitan visualizar el o los componentes presentes. Este procedimiento se conoce como revelado, y se han descrito procedimientos químicos (por inmersión o rociado), en los que se obtienen derivados coloreados o fluorescentes y físicos (ópticos) en los que generalmente se utiliza radiación UV.

El análisis en CCF puede ser cualitativo y semi-cuantitativo. El primero consiste en determinar la medida de Rf, la comparación visual de color/Intensidad. Mientras que el segundo, corresponde a la comparación visual del diámetro y la intensidad del color de la mancha comparada con una serie de manchas de patrones de concentración conocida.<sup>8</sup>

### **1.3.2. Desarrollo del Control de Calidad Cromatográfico**

Esta técnica es fácil de realizar, es efectiva y requiere de equipo poco costoso, por lo que es utilizado frecuentemente para la evaluación de plantas medicinales y de sus preparaciones.

Los parámetros que deben cuidarse en el análisis de plantas ya sea en base a las monografías descritas en farmacopeas o bien, establecidas experimentalmente en el análisis de material vegetal individual, son:

- 1.- El tipo de adsorbente y método de activación; si no se menciona, se debe calentar a 110°C durante 30min.
- 2.- El método de preparación y concentración de la solución de prueba y solución de referencia.
- 3.- El volumen de la solución que se aplica en la placa.
- 4.- La fase móvil y distancia de migración.
- 5.- Las condiciones de secado, temperatura y método de detección.

## **JUSTIFICACION**

En nuestra región se comercializan indiscriminadamente diversos productos herbolarios que son consumidos por nuestra población, estos productos herbolarios pueden tener problemas en su control de calidad, ya que en nuestro País no contamos con una reglamentación para este propósito. Debido a esto nos parece muy importante evaluar la calidad cromatográfica de seis productos herbolarios que están dentro de los más consumidos en Nuevo León.

## **OBJETIVO GENERAL**

Realizar el control cromatográfico de seis productos herbolarios consumidos en Nuevo León.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- 1.-Realizar una revisión bibliográfica de las plantas contenidas en los productos herbolarios que se evaluarán.
- 2.-Seleccionar las condiciones cromatográficas para evaluar los compuestos marcadores presentes en cada planta.
- 3.-Obtener extractos de cada producto.
- 4.- Realizar el perfil cromatográfico de cada producto.

## **CAPITULO II**

### **MATERIAL Y METODOS**

#### **2.1. Material**

##### **2.1.1. Reactivos**

Se utilizaron productos químicos obtenidos comercialmente de diversas compañías. Fluka: mentona, linalol, acetato de linalilo, ácido clorogénico, anisaldehído, NP y PEG. Aldrich: cineol, rutina 95%. Fermont: ácido acético glacial, acetato de etilo, etanol, ácido fórmico, metanol, tolueno. Merck: ácido sulfúrico. Fisher Scientific: butanol. ROTH: arbutina, aliína. SIGMA: aloína. TCI: quercetina. AGA: nitrógeno gaseoso 99% pureza.

##### **2.1.2. Productos herbolarios**

A partir del conocimiento de los 40 productos de origen herbolario mas consumidos en Nuevo León<sup>2</sup> se seleccionaron seis productos que contenían solamente una planta como único componente para someterlos a evaluación cromatográfica. De cada producto herbolario seleccionado se adquirieron comercialmente productos bien etiquetados y sin etiqueta. Además, de cada uno de ellos se consiguieron productos de diferente número de lote de la misma marca y presentación, con excepción del ajo y la flor de sauco de los cuales solo se logró conseguir un solo producto (Tabla III).



Tabla III. Productos adquiridos comercialmente

	Nombre del producto y/o Planta	Nombre científico	Composición	Fecha caducidad	Lote	Marca	Adquirido
1	Ginseng granulado.	<i>Panax ginseng</i>	3 mg ginsenósidos	2006.10.29	200611	Dai Wang Tegin	GNC Galerías Monterey
2	Té instantáneo	<i>Panax ginseng</i>	por sobre	2007.4.15	4413		
3	Ginseng Siberiano	-	-	-	-	-	¥
4	Ginseng raíz	-	-	-	-	-	
5	Cáscara Sagrada	<i>Rhamnus purshiana</i>	350 mg por Cápsula	27-Jun-08	27VER 03	Malabar	GNC Galerías Monterey
6				04-Ago-09	04 MOR 04		
7	Cáscara Sagrada	-	-	-	-	-	¥
8	Cáscara Sagrada	-	-	-	-	-	
9	Ary Vita Ajo Suplem.	<i>Allium ursinum</i>	de 300mg/Cápsulas	Oct-07	102003	Mexinatura	HEB Plaza Real
10	Extracto de Ajo	-	Ajo, alcohol, agua	06-Jun	73	Villi Mer	¥
11	Toronjil hierbas para infusión	<i>Agastache mexicana</i>	1g de toronjil por sobre	Ago-08	40804	Therbal	¥
12					50804		
13	Toronjil	-	-	-	-	-	¥
14	Toronjil	-	-	-	-	-	
15	Flor de azahar	<i>Citrus aurantium</i>	1g de Orange blossom/sobre	Jul-08	240704A	Therbal	¥
16	hierbas de infusión			Ene-09	250105B		
17	Flor de azahar	-	-	-	-	-	¥
18	Flor de azahar	-	-	-	-	-	
19	Flor de Sauco	-	-	-	-	-	¥
20	Flor de Sauco	-	-	-	-	-	

- Sin información en la etiqueta

¥ Herbario Miscelánea Xóchitl. Simón Bolívar, col. Mitras Centro Mty. N. L.

### 2.1.3. Equipo

Mini Vortex, VNR Scientific Products (speed 6)

Balanza granataria, OHAUS scout pro

Balanza analítica, CTR scientific May

HPTLC, CAMAG Linomat 5

Lámpara UV, CAMAG Reprstar 3 (Visible, 254nm, 366nm)

Cámara fotográfica, Canon

Cubas de vidrio de 22x22cm SAGA

Estufa, Shel Lab Sheldom Manufacturin

Placas de aluminio, MERCK con gel de sílice 60 F<sub>254</sub> 20x20cm

Placa de calentamiento, Thermolyne nuova

Licuada, Man 7 velocidades

Pipeta automática de 1000 $\mu$ L Gilson France

Pipeta automática 10-100 $\mu$ L HTL

Aspersores para revelar SIGMA Chemical Company

#### **2.1.4. Material de laboratorio**

Probetas PYREX DE 100mL

Embudos PYREX 5cmx11cm

Soporte de madera para embudos

Tubos de ensaye PYREX con taparroca

Tubos de ensaye PYREX 12cm

Matraz Erlenmeyer 250mL PYREX

Placas de porcelana COORS

Tubos ependorff de 1mL

## **2.2. Métodos**

### **2.2.1. Revisión Bibliográfica**

Se realizó la búsqueda bibliográfica de las plantas: Ajo, Azahar, Cáscara Sagrada, Ginseng, Sauco y Toronjil, con énfasis en su extracción, sus principios activos, sus marcadores cromatográficos y las condiciones cromatográficas para cada uno de ellos respecto a su fase móvil, R<sub>f</sub> y revelador a utilizar. Esta revisión se efectuó en diferentes libros especializados en el tema<sup>10, 13, 11, 6, 3, 12</sup>

### **2.2.2. Condiciones cromatográficas para los marcadores.**

Para cada uno de los compuestos marcadores de las plantas se desarrolló la CCF utilizando las diferentes condiciones cromatográficas

reportadas en la bibliografía (Tabla IV). En todos los casos se utilizó como fase estacionaria (silica gel 60 F<sub>254</sub>), la distancia recorrida por la fase móvil fue de 10 cm y el tiempo de saturación de la cuba fue de 1 hora.

TABLA IV. Condiciones cromatográficas para los marcadores

Marcador	Fase Móvil	Revelador	Detec.	Ref.
Aliína	Butanol:Agua:Ac. Acético :Ac. fórmico (28:8:9:2)	Ninhidrina	Vis	12
Aloína	Agua:Metanol:Acetato de etilo (13:17:100)	NP/PEG	Vis	11
Arbutina	Acetato de etilo :Agua :Butanol (5:10:20)	Anisaldehído	Vis	6
Ácido clorogénico	Acetato Etilo:Ac. Fórmico:Agua (9:1:1)	NP/PEG	Vis	-
Cineol	Tolueno: acetato de etilo (93:7)	Anisaldehído	Vis 366	11
Linalol	Tolueno:acetato de etilo (97:3)	Anisaldehído	Vis 366	6
Acetato de linalilo	Tolueno:acetato de etilo (97:3)	Anisaldehído	Vis 366	6
Mentona	Tolueno: acetato de etilo (93:7)	Anisaldehído	Vis 366	11
Quercetina	Acetato Etilo:Ac. Fórmico:Agua (9:1:1)	NP/PEG	Vis	-
Rutina	Acetato Etilo:Ac. Fórmico:Agua (9:1:1)	NP/PEG	Vis	-

### 2.2.3. Extracción de los productos herbolarios

Los productos herbolarios adquiridos se encontraron en diferentes presentaciones como son tabletas, bolsas de té, flores, tallos, corteza, raíces y cápsulas. Las raíces de Ginseng y corteza de Cáscara sagrada se molieron con la ayuda de una licuadora y el resto de los productos, en mortero. Todos los productos molidos se pasaron a través de una criba de 2 mm, tal como se recomienda en la Farmacopea Herbolaria Mexicana<sup>3</sup>. Posteriormente se realizaron los diferentes tipos de extracciones recomendadas en los libros

especializados en el tema para cada uno de los productos (Tabla V), con excepción del Ajo del cual no se especifica el solvente a utilizar.

Además se obtuvieron extractos hidroalcohólicos de los productos siguiendo el procedimiento descrito por Orozco<sup>9</sup>. Brevemente, 1g de producto se extrajo con 3 mL de la solución etanol:agua (90:10). Después de agitar durante 5 minutos, se filtró el sobrenadante y se repitió la extracción una vez más. El solvente se evaporó en rotavapor a temperatura menor de 37 °C. Todas las muestras se conservaron en refrigeración 6 °C y protegidas de la luz.

#### **2.2.4. Perfil cromatográfico**

En placas de gel de sílice 60 F<sub>254</sub> se sembraron diferentes concentraciones tanto de productos como de sus correspondientes marcadores utilizando un equipo de HPTLC (Tablas VI y VII). La siembra se realizó al menos a 15 mm del extremo de la placa y con una separación de por lo menos 15 mm entre una y otra muestra. La cuba se dejó saturar con la fase móvil durante una hora. Se colocó la placa de forma vertical dentro de la cuba cuidando que los puntos de aplicación quedaran por encima de la superficie líquida. La cromatografía se desarrolló hasta alcanzar 10 cm de frente de solvente y se retiró de la cuba. Se dejó evaporar el solvente a temperatura ambiente y se observaron las manchas producidas al visible y luz UV a 254nm y 366nm. Posteriormente se roció la placa con el revelador específico (Tabla IV) y se dejó secar. Se marcó el centro de cada mancha, se midió y registró la distancia del centro de cada mancha al punto de aplicación. Finalmente se compararon las manchas (respecto al R<sub>f</sub> y color) de los productos con las de los marcadores y se determinó la concentración del marcador en cada producto analizado.

Tabla V. Condiciones de extracción de los productos

Producto	Nombre científico	Producto (g)	Solvente	Tipo de extracción	Ref.
Ajo	<i>Allium ursinum</i>		No se indica	Arrastre con vapor	6
Azahar	<i>Citrus aurantium</i>	1-2 g	Agua destilada	Hervir por 5 min, enfriar y filtrar.	6
Cáscara sagrada	<i>Rhamnus purshiana</i>	0.5 g	5 mL Etanol (70%)	Hervir, enfriar y centrifugar.	3
Ginseng	<i>Panax Ginseng</i>	1g	10 mL Metanol (70%)	Reflujo por 15 min, enfriar, filtrar y diluir con 10mL Metanol	3
Sauco	<i>Sambucus nigra</i>	3 g de flor	Agua destilada	Hervir de 5-10 min, enfriar y filtrar	6,3
Toronjil	<i>Agastache mexicana</i>	0.75 g	150 mL Agua destilada	Reflujo 30 min, enfriar, filtrar	3

Tabla VI. Concentraciones de Productos analizados

Producto	Rango de concentraciones (mg)	
Ajo	0.075	0.125
Azahar	0.05	0.2
Cáscara sagrada	0.05	0.15
Ginseng	0.05	0.15
Sauco	0.05	0.15
Toronjil	0.05	0.2

Tabla VII. Curva de Calibración de Marcadores

Marcador	Rango de concentraciones (mg)	
Alíina	0.001	0.028
Aloína	0.002	0.06
Arbutina	0.02	0.04
Ácido clorogénico	0.002	0.04
Cineol	0.009	0.184
Linalol	0.0025	0.258
Acetato de linalilo	0.002	0.27
Mentona	0.008	0.179
Quercetina	0.002	0.04
Rutina	0.002	0.04

## **CAPITULO III**

### **RESULTADOS**

#### **3.1 Revisión Bibliográfica**

Se realizó la revisión bibliográfica consultando diversas revistas y libros especializados en el tema<sup>3,6,7,10,11,13</sup>. Como resultado de la consulta se obtuvieron, entre otros, los datos que se muestran en la Tabla VIII.

Es importante mencionar que la mayor parte de estos datos se encuentran descritos en la Farmacopea Herbolaria Mexicana exceptuando el control de calidad.

#### **3.2 Selección de condiciones**

Se reprodujeron las condiciones cromatográficas descritas en la literatura utilizando los marcadores puros y se determinó el valor de Rf y color de las manchas. En todos los casos los valores de Rf estuvieron comprendidos entre 0.3 y 0.7; estos valores se tomaron como óptimos y fueron muy similares a los reportados para cada marcador (Tabla IX, Figura 1).

Tabla VIII resultados de la búsqueda

Planta	Forma de extracción	Marcadores	Eluyente recomendado	Revelador	RF	Color	Concentración de literatura
Ajo	Arastre con vapor	Alina	Butanol:Agua:Acido Acético:Acido Fórmico 28:8:9:2 <sup>12</sup>	Ninhidrina	0.38	Café	No se indica
Azúcar	1-2g de la droga, hervir por 5 min, enfriar y filtrar.	Linalol, limoneno, nerol, geraniol, Acetato de linalilo	Tolueno:Acetato Etilo 97:3 <sup>5</sup> Acetato etilo: Acido Fórmico:Acido Acético:Agua 100:11:11:27 <sup>11</sup> Cloroformo:Acetona: Acido Fórmico 75:16.5:8.5 <sup>11</sup>	Vainillina sulfúrica Anisaldehído NP/PEG NP/PEG	Linalol 0.25 Acetato de linalilo <sup>11</sup> 0.6	Gris-azul <sup>11</sup>	Del 0.2 al 0.5% de aceite esencial constituido especialmente por monoterpenos: acetato de linalilo, linalol, alfa pineno, limoneno, nerol, geraniol, etc. Y junto a ellos antracenos de metilo como componente característico. Contiene sustancias amargas y flavonoides. <sup>6</sup> Contiene no menos de 90% de limoneno <sup>3</sup>
Cáscara Sagrada	Calentar a ebullición 0.5g de polvo con 5mL Etanol al 70%, enfriar y centrifugar	Barbaloina, cascariosidos	Agua:Metanol:Acetato de etilo 13:17:100 <sup>3,11</sup>	NP/PEG KOH Azul de nitrotetrazoilo	Aloina 0.5	Parda-rojiza	Contiene un mínimo de 8% de heterósidos hidroxiantracénicos, donde el 60% como mínimo está constituido por los cascariosidos <sup>3</sup> 70-90% aloinas, cascariosidos A, B, C y D. Se exige un contenido mínimo del 8% de heterósidos hidroxiantracénicos, de los cuales por lo menos el 60% debe estar constituido por cascariosidos <sup>6</sup>
Ginseng	1g de polvo en condensador reflujo con 10mL Metanol al 70% 15min Enfriar, filtrar y diluir con 10mL Metanol	Aescina, Arbutina Ginsenosidos Rg <sub>1</sub> Re, Rb <sub>1</sub> , Rc Amigdalina	Acetato Etilo:Agua:Butanol 5:10:20 (Fase superior) Hasta 6cm dejar correr la fase móvil <sup>6</sup>	Anisaldehído	Arbutina 0.8	Café-marrón	Un 2-3% de ginsenósidos (saponinas triterpénicas) debe contener no menos del 1.5% calculados como ginsenósidos Rg <sub>1</sub> Alrededor de 0.05% de aceite esencial con limoneno, terpineol, citral y poliacetilenos. <sup>6</sup>
Saúco	Tisana Hervir en agua.	Acido Palmítico, Quercetina, Isoquercetina, Rutina, Acido clorogénico Acido cumárico, caféico	No existía para todos los marcadores juntos	-	-	-	Un 0.03% a 0.14% de aceite esencial, con elevado porcentaje de ácidos grasos (66% ácido palmítico como mayoritario) No menos de 0.8% calculado como quercetina, rutina hasta 1.92%. Alrededor de un 3% de ácido clorogénico; ácido cumarínico, ácidos caféico y ferúlico. <sup>6</sup>
Toronjil	0.75g polvo mas 150mL agua destilada reflujo 30min, enfriar, filtrar	Citral,nerol, geraniol, Limoneno, cineol, mentona, ácido rosmarínico, caféico y clorogénico	Tolueno: Acetato Etilo 93:7 <sup>11</sup>	NP/PEG	Cineol 0.4 Mentona 0.7	Azul Azul-Verde	No se indica

Tabla IX Condiciones utilizadas

Marcador	Fase móvil
Aliína	Butanol:Agua:Acido Acético : AcidoFórmico 28:8:9:2
Linalol, acetato de linalilo	Tolueno: Acetato Etilo 97:3
Aloína	Agua:Metanol:Acetato de etilo 13:17:100
Arbutina	Acetato Etilo: Agua :Butanol 5:10:20 (Fase superior) Hasta 10cm eluente
Quercetina, rutina, Ac. clorogénico	Acetato Etilo:Ac. Fórmico:Agua 9:1:1
Cineol, mentona	Tolueno: Acetato Etilo 97:3

Figura 1. Cromatograma de prueba de marcadores

Fase móvil usada: Tolueno: Acetato de Etilo (97:3)  
Revelador: Anisaldehído  
Lectura a 366 nm

Carril 1.- Linalol  
Carril 2.- Acetato de linalilo  
Carril 3.- Cineol  
Carril 4.- Mentona

1 2 3 4

### 3.3 Obtención de Extractos

Se realizaron los diferentes tipos de extracciones recomendados en las farmacopeas (Tabla V) y se desarrollaron las condiciones cromatográficas seleccionadas para los diferentes marcadores. En la mayoría de los casos, los extractos no fueron útiles debido a diferentes causas como el tipo de solvente usado en la extracción o la separación cromatográfica obtenida. Se decidió utilizar extracciones hidroalcohólicas ya que es la forma como se comercializan algunos productos. Esta forma de extracción produjo resultados adecuados, obteniendo porcentajes de recuperación entre 0.7 y 13 % (Tabla X).



**Tabla X Porcentajes de extracción para cada producto**

<b>Producto</b>	<b>Etiqueta/ Lote</b>	<b>Porcentaje de recuperación</b>
Ajo	102003	5.7%
Ajo	73	4.3%
Azahar	240704A	4%
Azahar	250105B	5%
Azahar (1)	No	3%
Azahar (2)	No	3.2%
Cáscara Sagrada	27VER 03	11%
Cáscara Sagrada	04 MOR 04	13%
Cáscara Sagrada (1)	No	6.4%
Cáscara Sagrada (2)	No	7.3%
Ginseng	200611	2.7%
Ginseng	4413	3.2%
Ginseng Siberiano	No	2%
Ginseng raíz	No	1.4%
Sauco (1)	No	0.7%
Sauco (2)	No	0.9%
Toronjil	040804	9.2%
Toronjil	050804	8.1%
Toronjil (1)	No	6%
Toronjil (2)	No	4.5%

Cada extracto se comparó con su(s) marcador(es), a diferentes concentraciones; se encontraron todos presentes en los correspondientes productos. En el caso de Ginseng se utilizó la arbutina como marcador de referencia del Ginseng para ubicar los ginsenósidos que son los marcadores de la planta.

### **3.4 Perfil cromatográfico de cada producto**

Se obtuvieron los resultados tanto para los productos etiquetados como para los no etiquetados adquiridos en diferentes fechas. Los resultados muestran una diferencia notoria entre los productos sin etiqueta y aquellos que la tienen, pues los no etiquetados poseen menos concentración del marcador, por otro lado entre los dos productos de diferente lote (etiquetados o no) no hubo variación en la concentración (Tabla XI, Figura 2-7)

Tabla XI Análisis semi-cuantitativo

Planta	Marcador,	Rf	Color	No.	Concentración obtenida del marcador en cada producto	
					Etiquetado	No etiquetado
Ajo	Aliína	0.28	Roja parda	1	1.09 - 1.27 %	0.27 - 0.83 %
				2	No se realizó	No se realizó
Azahar	Linalol	0.22	Verde	1	0.229 - 0.453%	0.086 - 0.172%
				2	0.286 - 0.566%	0.091 - 0.183%
	Acetato de linalilo	0.51	Café claro	1	0.24% - 0.48%	0.09%-0.18%
				2	0.3% - 0.6%	0.096 - 0.192%
Cáscara Sagrada	Aloína	0.55	Amarilla	1	0.88 - 1.32 %	0.38 - 0.51 %
				2	1.04 - 1.56 %	0.44 - 0.58 %
Ginseng	Arbutina (Ref)	0.68	Café	1	No se realizó el análisis semicuantitativo	
				2		
	Ginsenósidos	0.46, 0.52	Ambos Lilas	1		
				2		
Sauco	Quercetina	0.87	Naranja	1	No se encontró el producto	0.093 - 0.019 %
				2		0.012 - 0.024 %
	Rutina	0.13	Naranja	1	No se encontró el producto	0.093 - 0.019 %
				2		0.012 - 0.024 %
	Acido clorogénico	0.3	Café-verde	1	No se encontró el producto	0.093 - 0.019 %
				2		0.012 - 0.024 %
Toronjil	Cineol	0.41	Verde	1	1.99 - 2.65 %	0.44 - 0.86 %
				2	1.75 - 2.33 %	0.33 - 0.65 %
	Mentona	0.64	café	1	1.25 - 1.91 %	0.21 - 0.30 %
				2	1.10 - 1.68 %	0.16 - 0.22 %

No. = Número de compra

En los siguientes cromatogramas se muestra a la izquierda el o los marcadores a diferentes concentraciones; y en los últimos 4 carriles (extremo derecho) se sembraron los productos. En los productos se observa la presencia de los marcadores; y por comparación visual se pueden obtener las concentraciones aproximadas de cada uno de los marcadores en los productos correspondientes. Todas las cromatografías fueron observadas y fotografiadas en las diferentes regiones: visible, UV a 254 y 366 nm.

## Figura 2. Ajo

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

### A) Visible

#### Carriles 1-9: Aliína

- 1- 0.001 mg
- 2- 0.002 mg
- 3- 0.004 mg
- 4- 0.006 mg
- 5- 0.008 mg
- 6- 0.012 mg
- 7- 0.016 mg
- 8- 0.024 mg
- 9- 0.028 mg

#### Carriles 10-13 Extractos de Productos adquiridos

- 10- 0.075 mg Producto etiquetado 1
- 11- 0.075 mg Producto de Hierbería 1\*
- 12- 0.125 mg Producto etiquetado 1
- 13- 0.125 mg Producto de Hierbería 1\*

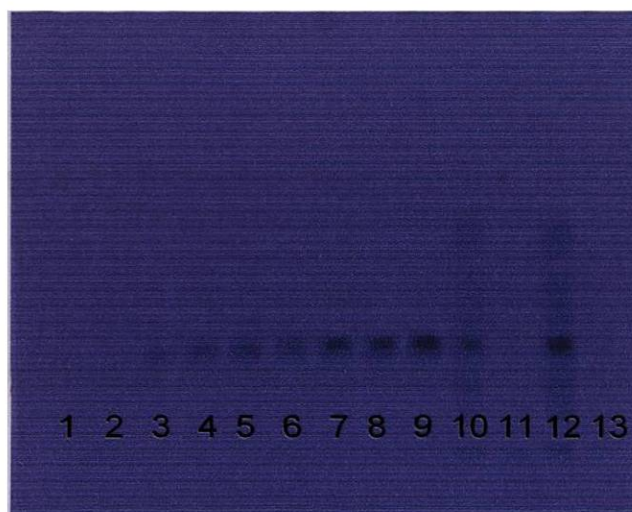
\* Extracto de ajo adquirido en Hierbería

Tabla XII Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Ajo		
Producto	Rf	Color de la banda en Visible
No etiquetado	0.06	Naranja
	0.19	Naranja
	0.20	Rosa
	0.22	Rosa pálido
	0.28	Rosa Fuerte
	0.35	Rosa
	0.43	Rosa
	0.52	Rosa

Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Ajo		
Producto	Rf	Color de la banda en Visible
Etiquetado	0.06	Naranja
	0.16	Naranja
	0.21	Naranja-Rosa
	0.23	Rosa
	0.28	Rojo-pardo
	0.36	Rosa
	0.43	Rosa
	0.52	Rosa



B) 254nm



C) 366nm

### Figura 3. Azahar

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11  
Visible

Carriles 1-7 marcadores:

	<u>Linalol</u>	<u>Acetato linalilo</u>
1-	0.0043 mg	0.0045mg
2-	0.0086 mg	0.009 mg
3-	0.017 mg	0.018 mg
4-	0.025 mg	0.027 mg
5-	0.034 mg	0.036 mg
6-	0.043 mg	0.045 mg
7-	0.051 mg	0.054 mg

Carriles 8-11 Extractos de productos

8- 0.15 mg Producto etiquetado 1

9- 0.15 mg Producto no etiquetado 1\*

10- 0.15 mg Producto etiquetado 2

11- 0.15 mg Producto no etiquetado 2\*

\* Parte aérea de Azahar adquirido en Hierbería

Productos	Rf	Color de la banda en Visible
	0.07	Verde
	0.12	Verde-azul
	0.2	Verde lila
	0.35	Café
	0.48	Café-verde claro
	0.81	Verde azul

**Figura 4) Cáscara Sagrada**

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14  
Visible

**Carriles 1-10 Aloína**

- 1- 0.001 mg
- 2- 0.002 mg
- 3- 0.004 mg
- 4- 0.006 mg
- 5- 0.008 mg
- 6- 0.012 mg
- 7- 0.016 mg
- 8- 0.020 mg
- 9- 0.024 mg
- 10-0.028 mg

**Carriles 11-14 Extractos de Productos**

- 11- 0.1 mg Producto etiquetado 1
- 12- 0.1mg Producto etiquetado 2
- 13- 0.1 mg Producto no etiquetado 1 \*
- 14- 0.1 mg Producto no etiquetado 2 \*

\* Corteza de Cáscara sagrada adquirido en Hierbería

<b>Tabla XIV Patrón cromatográfico observado en todos los productos analizados de Cáscara Sagrada</b>		
<b>Producto</b>	<b>Rf</b>	<b>Color de la banda en Visible</b>
	0.14	Amarillo-naranja
	0.28	Amarillo
	0.35	Amarillo
	0.46	Amarillo
	0.51	Naranja
	0.55	Amarillo oscuro

## Figura 5) Toronjil

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Visible

### Carriles 1-9

	<u>Cineol</u>	<u>Mentona</u>
1	0.0018 mg	0.0017 mg
2	0.0046 mg	0.0044 mg
3	0.0064 mg	0.0062 mg
4	0.0092 mg	0.0089 mg
5	0.018 mg	0.017 mg
6	0.027 mg	0.026 mg
7	0.036 mg	0.035 mg
8	0.055 mg	0.053 mg
9	0.073 mg	0.071 mg

### Carriles 10-15 Extractos de productos

- 10- 0.125 mg Producto etiquetado 1
- 11- 0.125 mg Producto no etiquetado 1\*
- 12- 0.125 mg Producto etiquetado 2
- 13- 0.125 mg Producto no etiquetado 2\*
- 14- 0.2 mg Producto etiquetado 1
- 15- 0.2 mg Producto no etiquetado 1\*

\* Parte aérea de Toronjil adquirido en Hierbería

**Tabla XV Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Toronjil**

Producto	Rf	Color de la banda en el visible
No etiquetados	0.03	Verde oscuro
	0.07	Verde
	0.11	Lila
	0.18	Lila-verde
	0.25	Café verdoso
	0.42	Lila verde
	0.68	Café verdoso
	0.78	Lila azul
Producto	Rf	Color de la banda en Visible
Etiquetados	0.03	Verde oscuro
	0.07	Verde
	0.11	Lila
	0.14	Café verdoso
	0.19	Lila verde
	0.26	Café verdoso
	0.41	Lila verde
	0.52	Verde claro
	0.68	Café verdoso
	0.78	Lila azul

**Figura 6) Sauco**

1      2                      3      4                      5      6                      7      8                      9

Visible

**Carriles 1-5: Mezcla de marcadores**

- 1- 0.001 mg de cada uno
- 2- 0.002 mg de cada uno
- 3- 0.004 mg de cada uno
- 4- 0.006 mg de cada uno
- 5- 0.008 mg de cada uno

**Carriles 6-9 Extractos de Productos**

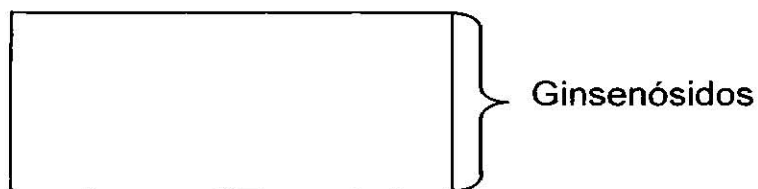
- 6- 0.10 mg Producto no etiquetado 1
  - 7- 0.10 mg Producto no etiquetado 1
  - 8- 0.15 mg Producto no etiquetado 2
  - 9- 0.15 mg Producto no etiquetado 2
- Parte analizada: Flor de Sauco

<b>Tabla XVI Patrón cromatográfico observado en todos los productos no etiquetados analizados de Sauco</b>		
<b>Producto</b>	<b>Rf</b>	<b>Color de la banda en el visible</b>
No etiquetados	0.12	Amarillo naranja
	0.26	Amarillo claro
	0.30	Amarillo verdoso
	0.35	Amarillo verdoso
	0.88	Amarillo naranja
	0.91	Amarillo



**Figura 7) Ginseng**

1      2      3      4      5      6



Visible

**Carriles 1-2: Arbutina**

1- 0.006 mg

2- 0.007 mg

**Carriles 3-6 Extractos de Productos**

3- 0.10 mg Producto etiquetado 1

4- 0.10 mg Producto no etiquetado 1

5- 0.10 mg Producto etiquetado 2

6- 0.10 mg Producto no etiquetado 2

Parte analizada: Raíz de Ginseng

**Tabla XVII Patrón cromatográfico observado en los productos analizados de Ginseng**

Producto	Rf	Color de la banda en el visible
No etiquetados	0.02	Verde claro
	0.08	Verde oscuro
	0.12	Morado
	0.18	Verde
	0.23	Lila azul
	0.33	Lila azul
	0.42	Café
	0.56	Lila café
	0.75	Lila
	0.91	Morado
Producto	Rf	Color de la banda en Visible
Etiquetados	0.05	Verde
	0.09	Verde oscuro
	0.13	Morado azul
	0.22	Lila azul
	0.33	Lila azul
	0.42	Café
	0.56	Lila café

## CAPITULO IV

### DISCUSION

Se ha reconocido la riqueza de México en flora desde la época precortesiana, desde nuestros ancestros se nos ha inculcado la cultura de emplear la medicina herbolaria en nuestra vida diaria<sup>3</sup>. Sin embargo la mayoría de las ocasiones no se tiene una base científica para su empleo. Diversas razones se han enunciado para su uso, como son las creencias que por ser natural no afectará el organismo, o que es más barata que comprar medicamento con receta, o bien, que se consume solo el ingrediente activo y no hay conservadores ni “cosas que afecten la salud”. La OMS ha reconocido que el 60% de los mexicanos emplean remedios a base de hierbas, además se sabe que se comercializan indiscriminadamente una gran cantidad de productos herbolarios, con y sin autorización de la Secretaría de Salud<sup>2,4</sup>. Si a todo esto se le suma que en México una gran cantidad de plantas no se encuentran incluidas en su Farmacopea Herbolaria, se debe reconocer que se requiere un control más exhaustivo en cuanto a la venta pero sobre todo al control de calidad de estos productos.<sup>3</sup>

La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos tiene como objetivo establecer los métodos de análisis y especificaciones técnicas que deberán cumplir las plantas y los derivados de ellas que se utilicen en la elaboración de medicamentos y remedios herbolarios, con el propósito de

contribuir al mejoramiento de la calidad de este tipo de productos y su uso adecuado.<sup>3</sup>

La OMS reportó que el 80% de la población mundial utiliza preparaciones botánicas como medicina, y en efecto actualmente se observa el empleo de la terapéutica natural en los países industrializados, y los países en desarrollo en muchas ocasiones se usan por necesidad.<sup>1,2</sup>

En la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos no se encontró material suficiente para realizar el control de calidad cromatográfico de plantas comercializadas y consumidas por la población del Noreste de México. Por tal motivo se revisaron las Farmacopeas Alemana y Japonesa en las cuales además de otras especies de plantas se localizaron referencias del control de calidad analítico la efectividad, toxicidad caracterización e identificación de metabolitos.

Particularmente entre las plantas analizadas en este trabajo se encuentra el Sauco (flor) del cual no se encontró información para realizar el perfil cromatográfico, es decir su control de calidad analítico.

La información contenida en las farmacopeas fue suficiente para realizar el perfil cromatográfico del resto de las plantas que se analizaron. Sin embargo las extracciones recomendadas en todos los casos no funcionaron ya que involucraban la extracción con agua (tisanas), y esto ocasionó que el gel de sílice (fijado a las placas de aluminio), se levantara y en algunas ocasiones se desprendiera desde el momento de la siembra de las placas. Por esta razón se decidió trabajar con extracciones hidroalcohólicas las cuales han mostrado buenos resultados en estudios previos, además de que es la forma en que se comercializan algunos productos.

La adquisición de los productos se realizó en tiendas comerciales como HEB sucursal Gonzalitos, GNC sucursal Galerías Monterrey, y Herbario Miscelánea Xóchitl ubicado en la calle Simón Bolívar en la colonia Mitras Centro Monterrey, N. L., durante los meses de febrero y abril del 2005, y buscando diferentes números de lotes del mismo producto. Productos etiquetados con Sauco como único componente, no se encontraron a la venta, por lo que se adquirieron dos productos no etiquetado de diferente fecha. De manera similar, los productos Ary Vita Ajo y Extracto de Ajo Villi- Mer no cambiaron de número de lote durante el tiempo de evaluación, debido a esto solo se analizaron dos productos de ajo, un etiquetado y otro que no.

Después de realizar la extracción se evaporó el solvente y se calculó el porcentaje de recuperación de cada uno de los productos que estuvieron entre 1 y 13%. Estos resultados son congruentes con lo reportado por Orozco Hayek<sup>9</sup>, de acuerdo a su recomendación es el mejor tipo de extracción para este tipo de productos.

Se reprodujeron las condiciones cromatográficas descritas en la literatura para cada uno de los marcadores funcionando casi todas con excepción de la flor de Sauco ya que no se obtuvieron valores de Rf entre 0.3 a 0.7. Por este motivo se utilizaron condiciones cromatográficas optimizadas por Ceniceros Almaguer<sup>14</sup> las cuales funcionaron adecuadamente.

Cada experimento se realizó por lo menos dos veces ya que los resultados pueden variar dependiendo de las condiciones de saturación en la cámara cromatográfica, la actividad de la capa adsorbente y la composición de la fase móvil<sup>6</sup>. Debido a esto la cuba con la fase móvil se dejó una hora para su saturación, tal como lo indica la Farmacopea Mexicana. Además se utilizaron placas cromatográficas de la misma marca y lote, y la fase móvil se preparó de la misma forma siempre.

En el perfil cromatográfico todos y cada uno de los marcadores se encontraron presentes en sus correspondientes productos, pero la intensidad del color en las bandas fue diferente comparado con los compuestos puros (Figura 2-7). Por esta razón se puede asegurar que los productos que se comercializan contienen los compuestos que las Farmacopeas recomiendan. Sin embargo, hasta aquí permanece la duda de si las cantidades son adecuadas

Debido a esto se realizó en el presente trabajo un análisis semi-cuantitativo: primero se elaboró una curva de calibración de los marcadores sembrando desde 0.001mg – 0.27mg y por comparación se determinó la cantidad de este compuesto en cada uno de los productos (tanto etiquetados como no etiquetados).

Los resultados obtenidos demuestran que los productos no etiquetados contienen en general menor cantidad de sus marcadores que los productos etiquetados (Tabla XI). Estos pueden deberse a que en los productos etiquetados se concentra el principio de interés, ya que estos contienen solo una parte específica de la planta, que puede contener al marcador en mayor proporción, en cambio en los no etiquetados la planta se encuentra de forma completa, y en algunas ocasiones quizá diluida pues no se describe la cantidad que contiene. Además en este mismo trabajo se analizaron productos etiquetados con diferente número de lote o bien, productos no etiquetados adquiridos en diferentes fechas. Al comparar los resultados obtenidos se determinó que no presentaron diferencia en cuanto a la cantidad de cada marcador que contienen.

En este trabajo no se pudo concluir si los productos con Ajo, Cáscara Sagrada y Toronjil, cumplen con el porcentaje del marcador, recomendado por la literatura, debido a que no se reporta específicamente el porcentaje de sus marcadores (Tabla VIII). Por otro lado, los productos con Azahar se encuentran

dentro de los límites recomendados por Cañigüeral (0.2% al 0.5% de aceite esencial). Mientras que los productos con Sauco no cumplen con la cantidad de quercetina recomendada por Cañigüeral, pero él mismo menciona que deben tener hasta 1.92 % de rutina, en este trabajo se determinaron concentraciones muy bajas, pero no sobrepasan el 1.92 %; además el ácido clorogénico debe estar presente en aproximadamente 3%, en el caso particular se obtuvieron concentraciones muy por debajo de este valor. Por lo anterior se puede concluir que no cumple con las concentraciones recomendadas de los marcadores analizados, puede deberse a que quizá en la literatura se empleo otro tipo de extracción para reportar esta composición pero no se indica.

Particularmente, al producto que contiene Ginseng no se le realizó el análisis semicuantitativo debido a que no se logró adquirir alguno de los ginsenósidos, que son los marcadores recomendados por la literatura. Para el desarrollo del trabajo se utilizó la arbutina, un compuesto de referencia que se recomienda también por la Farmacopea para ubicar los ginsenósidos<sup>3, 6</sup>. Los resultados de los perfiles cromatográficos de los productos de ginseng (etiquetado y no etiquetados) mostraron las dos bandas de ginsenósidos a valores de Rf de 0.42 y 0.56 y de un color lila (Figura 7). Por otra parte, en los perfiles de los productos no etiquetados se observaron además 3 manchas a valores de Rf entre 0.1 a 0.3 (Figura 7). Esto sugiere que las plantas de los productos analizados podrían pertenecer a dos especies diferentes.

Los resultados del presente trabajo hacen pensar en lo adecuado de contar con un documento que contenga los criterios para realizar el control de calidad de productos herbolarios y establecer normas y regulaciones para que se cumpla dicho control de calidad, ya que estos productos son consumidos por la población, quienes pueden estar expuestos a un riesgo por un mal manejo de las plantas.

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES

La Farmacopea Herbolaria Mexicana describe el procedimiento total, para realizar el control de calidad de solo dos de las plantas analizadas en este trabajo.

Las condiciones cromatográficas descritas en la literatura para el control de calidad de las plantas evaluadas son adecuadas.

Los procedimientos de extracción recomendados en las Farmacopeas no funcionaron bajo nuestras condiciones.

La mejor forma de extracción de los productos analizados fue con mezcla etanol:agua (90:10)

Todos los productos comerciales analizados cumplen con el análisis cualitativo del control de calidad.

Los productos de azahar cumplen con la recomendación de la literatura.

Los productos con Ajo, Toronjil o Cáscara sagrada no se pudieron comparar con la Farmacopea.

Los productos con Sauco contienen concentraciones de sus marcadores muy por debajo de la recomendación.

## **CAPITULO VI**

### **BIBLIOGRAFIA**

- 1.- Revista Schironia Revista científica del colegio oficial de farmacéuticos de Madrid N° 1 Noviembre del 2002
- 2.- Revista medicina universitaria volumen 6 número 25 Octubre- Diciembre del 2004
- 3.- Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (Ed) Secretaría de Salud México DF 2001
- 4- Organización Mundial de la salud Estrategia de la OMS sobre Medicina tradicional 2002-2005
- 5.- Ley General de Salud
- 6 Plantas medicinales y drogas vegetales para infusión y Tisana. Un manual de base científica para farmacéutica y médicos. Salvador Cañigueral, Roser Vila, Maxwichtl Basada en la segunda edición del manual Teedrogen de Maxwichtl OEMF Internacional.
- 7.- Universidad de Madrid [www.um.es](http://www.um.es)



8.- <http://www.chem.cinvestav.mx/RLQ/tutoriales/cromatografia/thin.html>

9.- Elección de las condiciones más adecuadas para la obtención de extractos de plantas superiores con actividad sobre una cepa de *S. aureus* resistente. Marcela del Carmen Orozco Hayek.

10.- Plantas curativas Noreste mexicano Nuevo León, Tamaulipas y altiplano potosino. Jorge y Homero, Adame Martínez.

11.- Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas. Wagner S. Blatt, EM Zgainski

12.- Instrumental thin layer chromatography – support- application notes-herbal application notes-Garlic (*Allium sativum*):Allin en [www.camag.com](http://www.camag.com)

13.- Plantas Medicinales y curativas. La salud a través de las plantas. Ramón Flores.

14.- Ceniceros Almaguer Lucía Ceniceros. Comunicación personal

## APENDICE

### Preparación de reveladores <sup>11</sup>

#### Anisaldehído

Mezclar 0.5mL de anisaldehído con 10mL de ácido acético glacial, después agregar 85mL de metanol y 5mL de ácido sulfúrico concentrado en ese orden (es estable hasta que cambia a color rojo-violeta)

La placa, una vez seca es rociada, con el aspersor y se calienta a 100°C de 5-10 minutos y se evalúa en UV365nm o visible.

#### Hidróxido de potasio

5% o 10% con hidróxido de potasio con etanol, rociar la placa y evaluar en visible o UV 365nm con o sin calentamiento.

#### Natural Products- Polyethyleneglycol reagent (NP/PEG)

La placa es rociar con NP al 1% con metanol, seguido de PEG 4000 al 5% con etanol. Después de 15 minutos ver en UV-365nm.

#### Ninhidrina

30mg de ninhidrina se disuelve en 10mL de butanol, seguido por 0.3mL de ácido acético al 98%. Rociar y calentar de 5 a 10 minutos, evaluar en visible.

