

FARMACOGNOSIA

Trabajos Prácticos

Profesora Coordinadora Dra. Carla Delporte V.

2010

Tabla de contenidos

Calendario y Evaluación.....	3
Introducción a la Farmacognosia.....	4
Introducción a los heterósidos.....	4
Cromatografía en capa fina.....	9
Clasificación de productos en base a plantas comercializados en Chile.....	12
Trabajo práctico 1.....	18
Heterósidos antracénicos.....	19
Trabajo práctico 2.....	24
Heterósidos flavónicos.....	26
Trabajo práctico 3.....	28
Taninos y saponinas.....	31
Taninos.....	31
Trabajo práctico 4. Parte I: Taninos.....	35
Saponinas.....	36
Trabajo práctico 4. Parte II: Saponinas1.....	39
Alcaloides.....	41
Trabajo práctico 5.....	53
Resinas y esencias.....	55
Resinas.....	55
Trabajo práctico 6. Parte I: Resinas.....	58
Esencias.....	59
Trabajo práctico 6. Parte II: Esencias.....	62
Trabajo de Investigación.....	64

Calendario y Evaluación

Calendario

Las actividades en laboratorio de Farmacognosia constan de siete sesiones de trabajos prácticos (TP) que se han programado de la siguiente manera:

	Semana	Tema	Responsable / Ayudante alumno
TP 1	3	Introducción a la Farmacognosia	M.C.Aguirre / M.Peña
TP 2	4	Antraquinónicos	M.C.Aguirre / P.Zapata
TP 3	6	Flavonoides	M.C.Aguirre / M.J.Queupil
TP 4	7	Taninos y saponinas	M.C.Aguirre / M.Peña
TP 5	10	Alcaloides	M.C.Aguirre / P.Zapata
TP 6	12	Resinas y esencias	M.C.Aguirre / M.J.Queupil
TP 7	14	Defensa de posters del trabajo de investigación	C.Delporte / MCA;MP; PZ; MJQ

Los grupos de trabajos prácticos / semana son 4.

Evaluación

I. Ponderación de OE:	30%
• controles:	60%
• informes de TP:	40%
II. Trabajo de investigación:	10% (defensa 50% y escrito 50%)
III. Ponderación del teórico:	
PRUEBA A-1	25%
PRUEBA A-2	35%

Introducción a la Farmacognosia

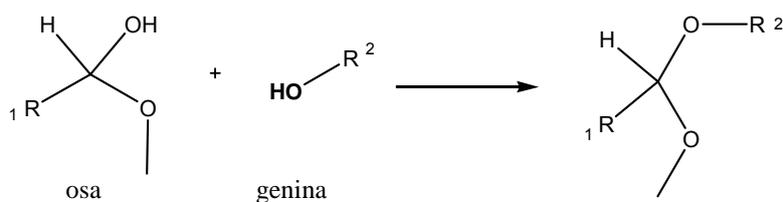
Introducción a los heterósidos

Los heterósidos o glicósidos constituyen uno de los grupos más grandes de principios activos que se encuentran en el reino vegetal. Se forman por combinación del grupo reductor de una osa (glicón) con una sustancia no glucídica llamada aglicona o **genina** y con eliminación de una molécula de agua.

La unión entre la genina y la sustancia glucídica puede ocurrir a través de distintas funciones:

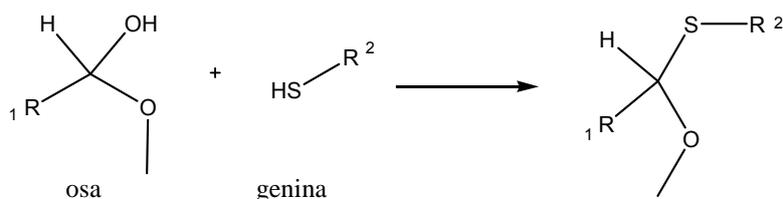
O-heterósidos

Entre la función reductora de una osa y el grupo hidroxilo (alcohol o fenol) de la aglicona.



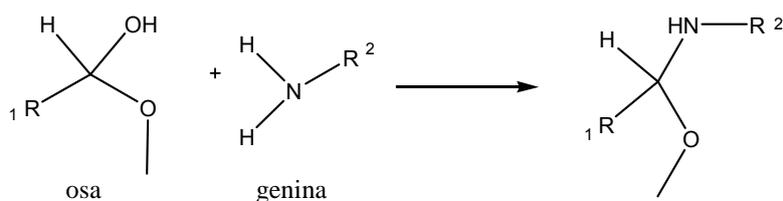
S-heterósidos

Entre la función reductora de una osa y el grupo tiol



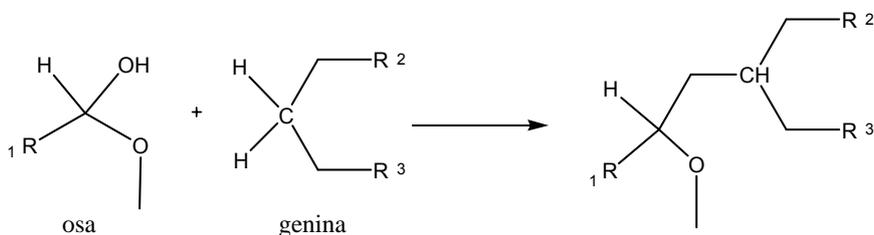
N-heterósidos

Entre la función reductora de una osa y el grupo amino de una aglicona.



C-heterósidos

Formados por la unión de una osa y una genina a través de los átomos de carbono. Los C-heterósidos se caracterizan por ser sustancias **difícilmente hidrolizables**, a diferencia de los tres primeros que se pueden hidrolizar por calentamiento en medio ácido, el enlace C-C sólo se rompe después de una **hidrólisis oxidativa**.

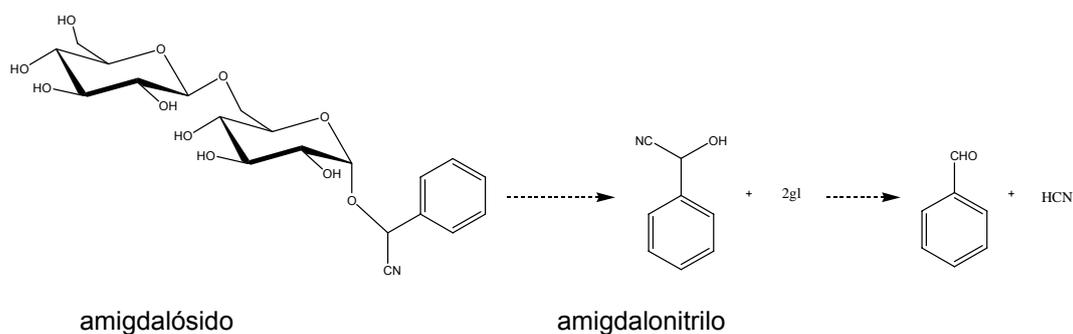


Ejemplos

O-heterósidos

1.- Heterósidos de alcoholes simples

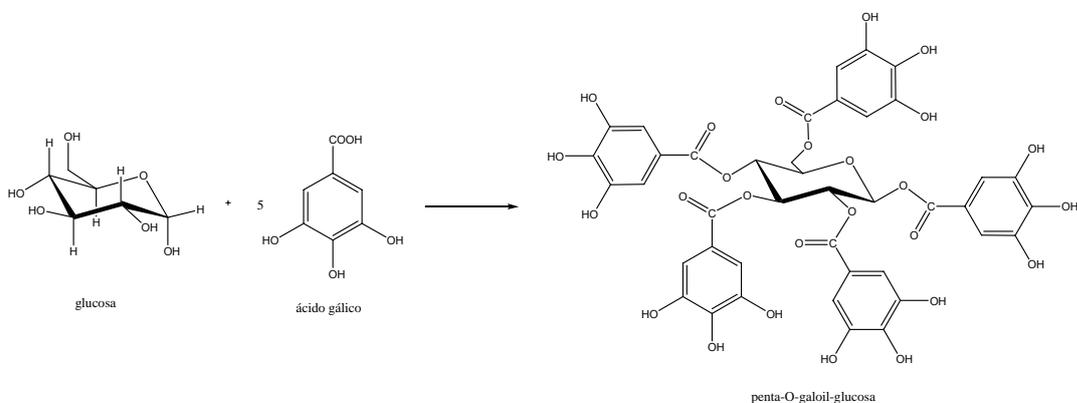
Heterósidos cianogénéticos: Son heterósidos de nitronilo alcoholes



Este heterósido "amigdalósido" se encuentra en las almendras amargas *Prunus amygdalus*, Rosaceae.

2.- Heterósidos de fenoles simples

Este grupo se forma por la unión de ácidos fenólicos como el ácido gálico y un azúcar constituyendo un éster, la unión se hace por el grupo carboxilo del ácido y la función reductora del azúcar.



Este compuesto se encuentran en la nuez de agalla, droga constituida por una **excrecencia** provocada por la picadura de un insecto *Cynips tinctoria* sobre el árbol *Quercus infectoria*, Fagaceae.

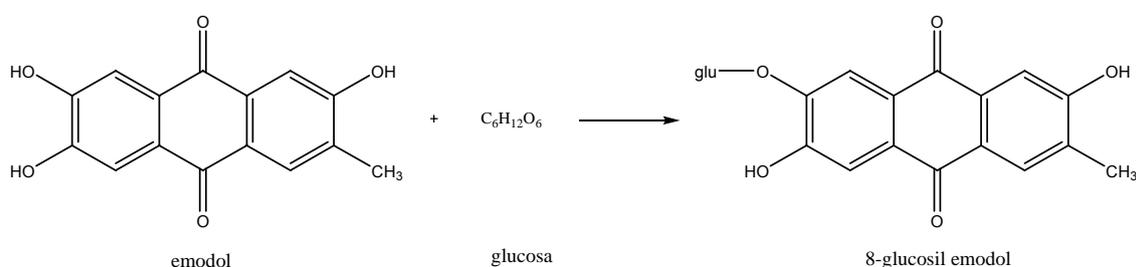
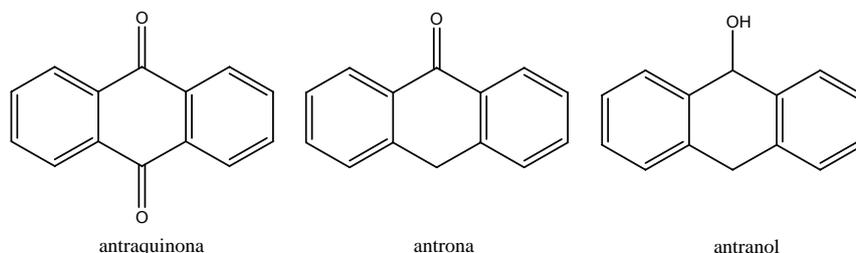
3.- Heterósidos esteroídicos

a) **Heterósidos cardiotónicos**: son los heterósidos que se encuentran en la *Digitalis purpurea*, Escrofulariaceae. Uno de ellos es el glucósido purpúreo A (cardenólido), que está constituido por: digitoxigenina + 3 mol digitoxosa + 1 mol glucosa (digitoxosa es una desoxiazúcar).

b) **Saponósidos** : son heterósidos que se caracterizan por sus propiedades tensioactivas que se manifiestan como buenos emulsificantes. Las geninas pueden ser: esteroides y triterpenoides.

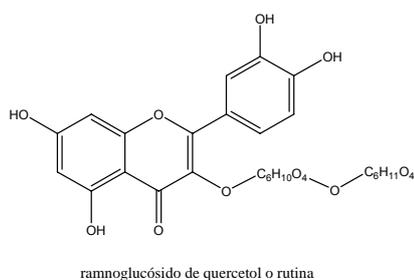
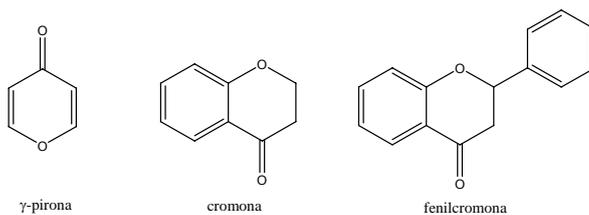
4.- Heterósidos antraquinónicos

Las hidroximetil antraquinonas son constituyentes de numerosos laxantes. También se encuentran en la naturaleza en las formas reducidas como antrona y antranol que son inestables y al estado libre se transforman rápidamente en antraquinonas.



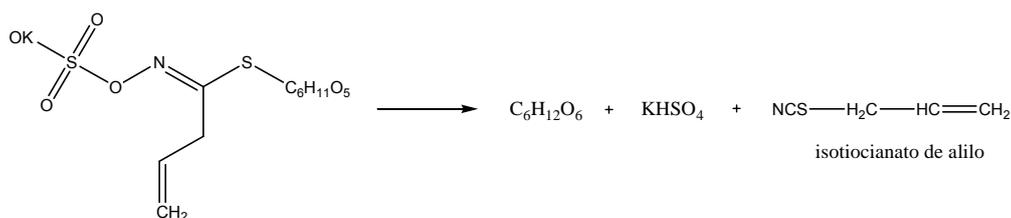
5.- Heterósidos cuyas geninas tienen núcleo heterocíclico

Heterósidos flavónicos: son heterósidos muy abundantes en la naturaleza, responsables de la coloración amarilla y que poseen variada acción farmacológica. Son derivados de la fenil cromona.



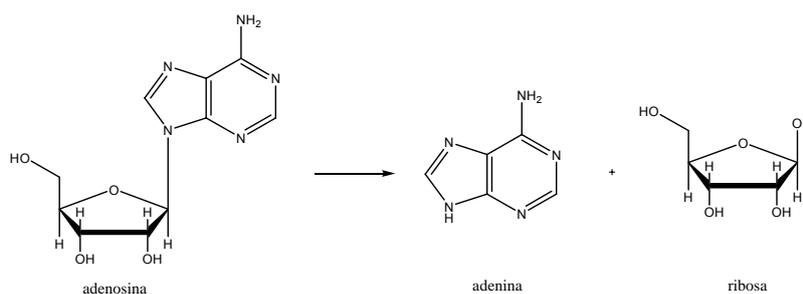
S-heterósidos

Se encuentran en la familia de las Cruciferae, dentro de las cuales tenemos: *Brassica nigra* o *Sinapis nigra* L. cuyo nombre vulgar es mostaza negra, con su glucósido el alil-sevenol o sinigrina.



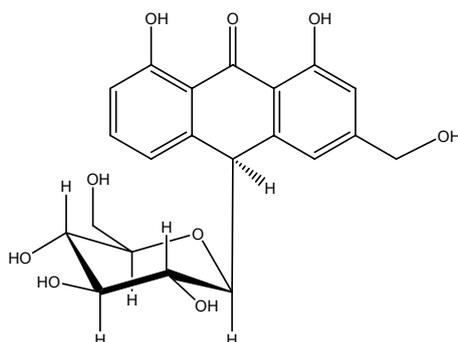
N-heterósidos

Se encuentran en la levadura de cerveza, extracto de té, remolacha, hongos, páncreas, hígado, etc. Un buen ejemplo lo tenemos en los nucleósidos que son heterósidos de la ribosa con adenina.



C-heterósido

Aquí encontramos a la aloína (heterósido antraquinónico) y C- Heterósidos flavónicos.



aloína o barbaloina

Las geninas pueden tener las estructuras más variadas: alcoholes, nitriloalcoholes, fenoles, esteroides, lactonas, tioles, bases nitrogenadas, etc.

Las osas que constituyen los heterósidos pueden ser glucosa, fructosa, galactosa, manosa, ramnosa, etc. En los heterósidos cardiotónicos, existen las desoxiazúcares en las cuales el grupo hidroxilo es reemplazado por un átomo de H, como la **digitoxosa** que es la 2-desoximetilpentosa. A la genina se pueden unir varios azúcares, ya sea en un mismo o en diferentes puntos, así tenemos biósidos, triósidos, etc., habiéndose encontrado heterósidos hasta con 7 moléculas de azúcar (saponósidos). Muchas veces la osa está constituida por un ácido urónico (glucurónico, galacturónico).

Además de la hidrólisis ácida que es específica pueden también sufrir hidrólisis enzimática. A menudo es necesaria la acción de varias enzimas en forma sucesiva para obtener la genina.

En la mayor parte de los casos, el producto de hidrólisis es menos activo que el heterósido inicial, de ahí la necesidad de destruir las enzimas, es decir, estabilizar las drogas. No existen métodos de extracción generales, si no específicos para cada grupo. Para investigar los heterósidos se utilizan, casi siempre, las reacciones debidas a las geninas.

Cromatografía en capa fina

La cromatografía es un método de análisis en el cual una fase móvil pasa a través de una fase estacionaria de tal forma que una mezcla se separa en sus distintos componentes. El término "cromatografía en capa fina" (c.c.f.) implica que una mezcla se separa cromatográficamente a través de una fase estacionaria que consiste en una fina capa de un sustrato sólido o "soporte".

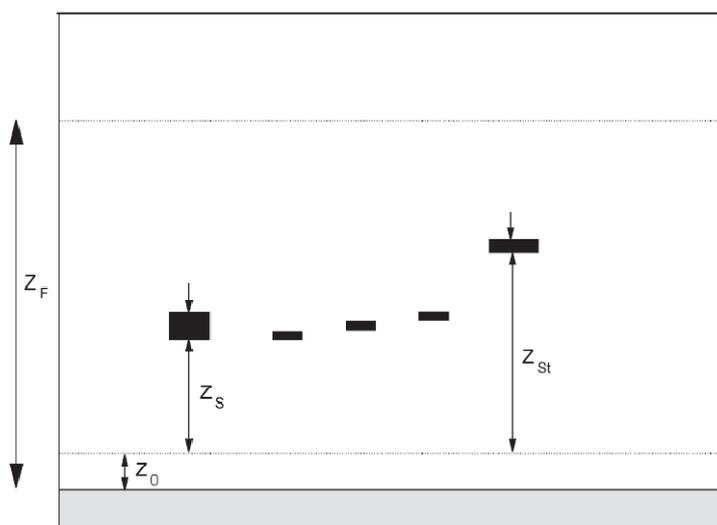
Factor de retardo (Retardation factor): R_f

Indica la posición de la zona de la sustancia (mancha) en una placa cromatográfica. Se define como el cociente obtenido dividiendo la distancia entre la mancha y la línea de origen con la distancia entre el frente de solvente y la línea de origen.

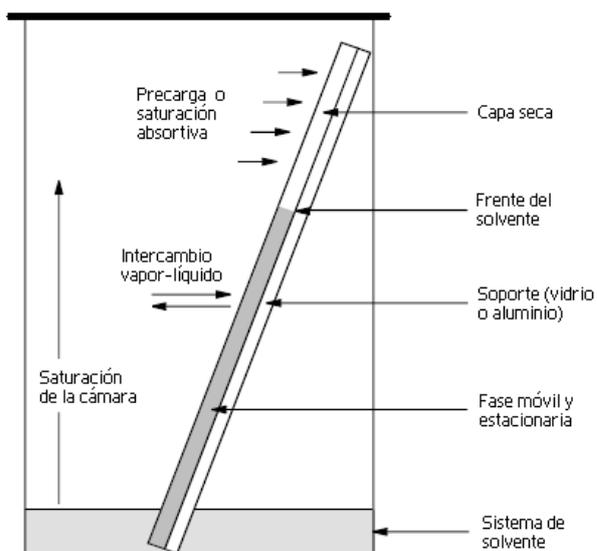
$$R_f = \frac{Z_s}{Z_f - Z_0}$$

- R_f : Factor de retardo
- Z_s : Distancia entre la zona de la sustancia y la línea de origen [mm]
- Z_f : Distancia entre la zona de frente del solvente y la línea de origen [mm]
- Z_0 : Distancia entre el nivel del solvente y la línea de origen [mm]

El valor de R_f será siempre ≤ 1 el cual puede ser amplificado por 100, obteniendo como número entero lo que en literatura se puede encontrar como hR_f para describir cualitativamente las placas de c.c.f.



Al contar con estándares y/o literatura de referencia podemos con c.c.f. realizar identificaciones preliminares confirmando la presencia de compuestos en la muestra o también observar que o cuantos compuestos existen.



Dependiendo de los tipos de compuestos en estudio, las placas pueden ser reveladas con reactivos reveladores u observadas bajo luz ultravioleta (compuestos resonantes).

Precauciones importantes:

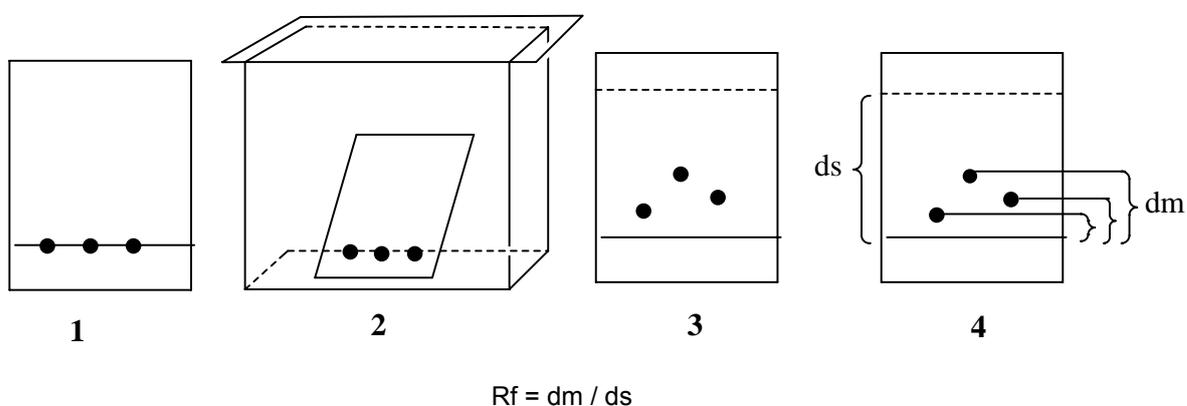
- Siempre la atmósfera interna de la cámara donde se hará correr la fase móvil debe estar saturada del solvente.
- La línea de origen siempre debe estar por sobre el nivel del solvente.

...Evitar el “arte abstracto”



Etapas de la c.c.f

1. Sembrar la muestra en la fase estacionaria (placa de gel de sílice F₄₅₄) a 1 cm de la base.
2. Colocar la placa en la cámara cromatográfica que contiene la fase móvil.
3. Una vez que la fase móvil (disolvente o mezcla de ellos) haya avanzado hasta quedar 0,5 cm del tope de la placa, retirarla y marcar con lápiz grafito hasta donde avanzó el disolvente. Luego secar y revelar.
4. Medir las distancias recorridas por el soluto y por el solvente en la placa y calcular el Rf.



Ejemplo:

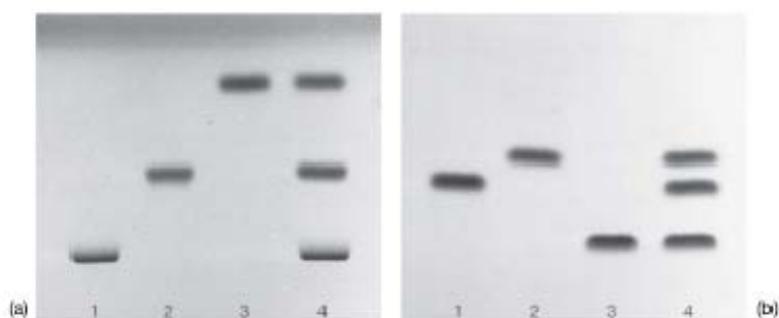


Figure 54. Identification of theophylline, theobromine and caffeine (shots taken in 254-nm UV light)
 (a) Chromatography on TLC silica gel 60 F₂₅₄ using CHC-containing SS according to the DAB
 (b) Reverse-phase chromatography on RP-18 TLC foil with CHC-free SS
 Lane 1 10 µg theophylline, lane 2 10 µg theobromine, lane 3 10 µg caffeine, lane 4 10 µg each of theophylline, theobromine and caffeine

Elke Hahn-Deinstrop, 2006

Clasificación de Productos en base a plantas comercializados en Chile

La Farmacognosia es el estudio de las materias primas de origen biológico, principalmente plantas, destinadas en su mayoría, al descubrimiento de nuevas alternativas terapéuticas y la preparación de medicamentos.

Hasta el día de hoy, se mantiene un alto uso de las plantas (llegando incluso a ser aceptados por la OMS como alternativa terapéutica de algunas enfermedades), debido en parte, a su bajo costo económico y la sensación de inocuidad que estas otorgan al ser de origen natural, un grueso error que comete la gente, la cual debe ser advertida e informada por un profesional competente en el tema, como lo es el Químico Farmacéutico.

CADA DROGA VEGETAL DEBE SER ESTUDIADA CIENTIFICAMENTE, PARA OBTENER INFORMACIÓN SOBRE SU ACTIVIDAD Y SU TOXICIDAD.

Debido a lo señalado anteriormente, los productos naturales en Chile, deben cumplir con el reglamento establecido por el ISP o en el correspondiente SEREMI. Por lo que se hace importante para esta reglamentación, la clasificación que cada producto obtiene antes de salir al mercado.

Desde este punto de vista, los productos se clasifican en:

a) Fitofármacos: Son productos farmacéuticos terminados y etiquetados, cuyos principios activos son exclusivamente drogas vegetales o preparaciones vegetales (Art.26°-D.S.286/01). Se encuentran regulados por el Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos del MINSAL y su registro se realiza en el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP).

De esta manera, para que un fitofármaco sea registrado como tal, debe cumplir las siguientes exigencias:

- Fórmula completa, cualitativa y cuantitativamente expresada en unidades de peso o volumen del sistema métrico decimal o en unidades convencionales reconocidas internacionalmente.
- Proyecto de etiqueta o rótulo, en idioma castellano, cumpliendo las disposiciones de envase y rotulación contenidas en el presente reglamento.
- Muestras suficientes del producto, que correspondan exactamente a la fórmula declarada, a su forma farmacéutica y estén contenidas y rotuladas en envases similares a los definitivos.
- Monografía que permita justificar la fórmula declarada y las propiedades de la misma, en esta se debe detallar:
 - a) Descripción botánica.
 - b) Descripción farmacognósica de la parte utilizada.
 - c) Descripción fitoquímica de los principios activos posibles de encontrar.

En caso de no encontrarse la monografía correspondiente, esta debe ser elaborada en forma semejante a la Farmacopea aceptada por el ISP.

- Metodología analítica que permita identificar los principios activos y valorarlos, cuando proceda, acompañado de las especificaciones de las materias primas y del producto

Clasificación de productos en base a plantas comercializados en Chile

terminado. Cuando no es posible la separación y valoración de un principio activo específico se acepta una técnica que permita cuantificar el grupo químico al cual pertenecen.

- Información científica u otras disponibles que demuestren la finalidad terapéutica, eficacia e inocuidad del producto.
- Cualquier otro antecedente que el ISP, en forma fundamentada, considere conveniente para la evaluación del producto.
- Forma farmacéutica, dosis unitaria por forma farmacéutica y vía de administración.
- Proposición de periodo de eficacia avalado por el estudio de estabilidad correspondiente.
- Folleto de información al profesional y folleto de información al paciente, ambos en duplicado, avalados por la información científica pertinente.
- Documentos legales correspondientes.
- Comprobante de pago del arancel correspondiente.

Ya con el producto terminado, este debe cumplir las mismas especificaciones en el control de calidad que un medicamento normal cumpliría. De esta manera, se deben cumplir con ensayos físicos (caracteres organolépticos, dimensiones, control de peso, dureza, friabilidad, ensayo de desintegración, pH, humedad, etc.), ensayos químicos (identidad del principio activo, identidad del colorante, valoración del principio activo, sustancias relacionadas, uniformidad de dosis unitaria, ensayo de disolución, etc.) y por último, los ensayos microbiológicos (ensayo de esterilidad, ensayo de límite microbiano, ensayo de pirógeno, potencia o actividad, por nombrar algunos).

Ejemplo:



Cada cápsula contiene: **Extracto Seco Estandarizado** de *Hypericum perforatum* L. 300 mg (equivalente a no menos de 900 mcg de Hipericina). Excipientes c.s.

b) Fármacos: Corresponden a los componentes aislados y definidos químicamente, los cuales pueden provenir de una droga vegetal o no, y no constituyen bajo ningún caso una preparación vegetal o un fitofármaco. Ejemplos pueden ser la Atropina (alcaloide químicamente aislado de la *Atropa belladonna*) o la Digoxina (Cardiotónico de margen terapéutico estrecho aislado desde la *Digitalis*).



c) Medicamento Herbario Tradicional: Son las plantas o partes de plantas, frescas o desecadas, enteras o trituradas, envasadas y etiquetadas artesanalmente y rotuladas con la denominación utilizada por la costumbre popular en el ámbito de las tradiciones culturales chilenas. Estarán autorizados para su venta y distribución cuando la SEREMI de Salud correspondiente haya autorizado el establecimiento en que se almacenan, fraccionan, envasan o realizan otras operaciones propias de su procesamiento y estén en un listado aprobado por resolución del Ministerio de Salud. Además deben estar envasados artesanalmente como especies vegetales aisladas y no en mezclas.

Las Resoluciones 522/07 y 190/08 exenta aprueban el listado de medicamentos herbarios tradicionales. Este listado contiene 104 medicamentos herbarios tradicionales, y para cada uno de ellos señala:

- Nombre popular, nombre científico, parte utilizada.
- Describe las propiedades
 - Usos tradicionales, forma de preparación del extracto y dosis de acuerdo a los usos tradicionales
 - Efectos
 - Precauciones
- Otros antecedentes

Ejemplos pueden ser una bolsita con hojas de Ruda o de Menta.



d) Suplementos Alimenticios: Corresponden a productos elaborados o preparados para suplementar la dieta con fines saludables y, de esta manera, contribuir a mantener o proteger los estados fisiológicos característicos tales como adolescencia, embarazo, lactancia, climaterio y vejez.

Pueden corresponder a un nutriente, mezcla de nutrientes u otros componentes presentes naturalmente en los alimentos, como lo son las vitaminas, minerales, aminoácidos, lípidos, fibras dietéticas o sus fracciones.

Clasificación de productos en base a plantas comercializados en Chile

Los suplementos alimentarios son una clase particular de alimentos y, como tales, se encuentran regulados por las disposiciones del Reglamento Sanitario de los Alimentos, D.S. N° 977 de 1996, del Ministerio de Salud, no siendo de competencia del ISP.

Las SEREMIS de Salud, a lo largo de todo el país, son los entes encargados de fiscalizar los alimentos.

Su pueden extender en diversas formas farmacéuticas (Art.534-D.S.287/01) y deben ser considerados algunos aspectos importantes:

- i) **Calidad:** Los ingredientes dietarios para suplementos alimenticios deben cumplir con la identidad y pureza indicada en las especificaciones de calidad e inocuidad. (Art.535-D.S.287/01).
- ii) **Declaración de propiedades:** Toda la declaración de propiedades saludables, así como la información nutricional complementaria contenida en los envases de los productos, debe ceñirse a las normas establecidas para estos fines en el reglamento, siendo prohibido promocionar su consumo para fines de diagnóstico, prevención o tratamiento de enfermedades. La declaración de nutrientes será obligatoria. (Art.536-D.S.287/01)
- iii) **Publicidad:** La publicidad, así como la rotulación de los suplementos alimenticios, deben adecuarse estrictamente a las normas del reglamento, además, deben señalar, de forma clara y visible, su clasificación de “suplemento alimenticio”. Bajo esta rotulación, se debe indicar la reseña “Su uso no es recomendable para consumo por menores de 8 años, embarazadas, nodrizas, salvo indicación profesional competente y no reemplaza a una alimentación balanceada”. (Art.535-D.S.287/01)
- iv) **Rangos establecidos:** Los niveles máximos y mínimos de vitaminas, minerales y demás componentes al que alude el artículo 534, se rigen por la resolución exenta N°394 (publicada el 20 de Febrero del 2002 por el MINSAL). (Art.538-D.S.287/01)

e) Alimentos para deportistas: Son aquellos productos formulados para satisfacer requerimientos de individuos sanos, en especial de aquellos que realicen ejercicios físicos pesados y prolongados. (Art.539/DS977)

Se encuentran constituidos por un ingrediente alimentario o una mezcla de éstos. Se podrán adicionar uno o más nutrientes, como hidratos de carbono, proteínas, vitaminas, minerales y otros componentes presentes naturalmente en los alimentos, tales como cafeína o aquellos expresamente autorizados en el reglamento.

No se pueden adicionar, solos ni en asociación, hormonas o compuesto con efecto anabolizante, sustancias con acción a nivel de sistema nervioso, salvo aquellas expresamente autorizadas en el reglamento.

En el caso de agregar cafeína, esta sólo podrá ser incorporada en forma pura o por adición de uno o más ingredientes alimenticios que la contengan, de los cuales sólo se podrán utilizar café (*Coffea spp.*), té verde o té negro (*Camelia sinensis* o *Thea sinensis*), cacao (*Thepbroma cacao*),

Clasificación de productos en base a plantas comercializados en Chile

yerba mate (*Ilex brasiliensis* e *Ilex paraguariensis*), nuez de cola (*Kola spp.*) y guaraná (*Paullinia cupana*), como tales so en forma de extractos.

Las siguientes hierbas también pueden ser incorporadas, como tal o en su forma de extracto en las cantidades máximas por porción de consumo habitual que se establecen:

Ingrediente alimenticio	Cantidad máxima por día
Raíz de <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer (Ginseng Coreano, Ginseng Asiático o Ginseng Oriental)	1,0 g de raíz
Fruto de <i>Schizandra chinensis</i> (Turcz.) Baill. (Chisandra)	1,5 g de fruto
Raíz y rizoma de <i>Eleuterococcus senticosus</i> Rupr. Et Maxim. (Ginseng Siberiano)	2,0 g de raíz y rizoma

EN SU ELABORACIÓN SE DEBEN CUMPLIR LAS NORMAS DE LAS BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA.

f) Hierbas Aromáticas y Especies (condimentos): La legislación permite la comercialización de algunas hierbas aromáticas y especias como alimento (D.S.977 y 855).

Las **hierbas aromáticas** comprenden ciertas plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contiene sustancias aromáticas y que por sus sabores característicos, se destinan a la preparación de infusiones de agrado (Art.459 D.S.977/97). Las hierbas aromáticas pueden expendirse enteras o molidas, solas o en mezclas con otras especies del mismo listado (Art.462 D.S.977/97).

En el reglamento de alimentos se nombran especies consideradas aromáticas, aún cuando, muchas de las nombradas en la lista, tienen una acción farmacológica comprobada. Así entonces, algunos “té de hierbas” de plantas con efectos farmacológicos se comercializan con registro alimenticio.

Clasificación de productos en base a plantas comercializados en Chile

NOMBRE VULGAR	NOMBRE CIENTIFICO	PARTE USADA
Anís estrella	<i>Illicium verum</i>	Fruto
Anís verde	<i>Pimpinella anisum</i>	Fruto
Boldo	<i>Peumus boldus</i>	Hoja
Cedrón	<i>Aloysia triphylla</i>	Hoja
Eucalipto	<i>Eucaliptus globulus</i>	Hoja
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i>	Fruto
Manzanilla	<i>Chamomilla recutita</i>	Flor con 20% de tallo
Matico	<i>Buddleja globosa</i>	Hoja
Melisa o Toronjil dulce	<i>Melisa officinalis</i>	Parte aérea
Menta	<i>Mentha piperita</i>	Hoja con 5% de tallo
Menta verde	<i>Mentha viridis</i>	Hoja con 5% de tallo
Menta poleo	<i>Mentha pulegium</i>	Hoja
Menta bergamota	<i>Mentha citrata</i>	Hoja
Paico	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Parte aérea
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Parte aérea
Rosa mosqueta	<i>Rosa moschata B.canina</i>	Fruto
Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Hoja
Sauco	<i>Sambucus nigra</i>	Flor
Tilo	<i>Tilia platyphyllos</i>	Flor y brácteas
Tomillo	<i>Tymus vulgaris</i>	Parte aérea

Las **especias** comprenden a plantas o partes de ellas (raíces, rizomas, bulbos, hojas, cortezas, flores, frutos y semillas) que contienen sustancias aromáticas, sápidas o excitantes, o sus principios activos suspendidos en un soporte alimenticio adecuado, empleadas para condimentar alimentos y bebidas (Art.430 D.S.977/97).

Se incluyen en esta denominación: anís, azafrán, canela, cardamomo, clavo de olor, jengibre, mostaza, pimienta, vainilla, entre otras.

g) Productos Cosméticos: Corresponde a cualquier preparado (a partir de algún extracto de plantas o no) que se destine para ser aplicado externamente al cuerpo humano con fines de embellecimiento, modificación de su aspecto físico o conservación de las condiciones físico químicas normales de la piel y su anexos, comprendiendo en ellos las uñas, sistema piloso, membranas mucosas de la cavidad oral, dientes y órganos genitales externos.

Clasificación de productos en base a plantas comercializados en Chile

Todo producto cosmético debe encontrarse registrado en el ISP, el cual es encargado de autorizar y fiscalizar debidamente la producción de estos productos, además de ser el encargado de que se cumpla el control de calidad de estos, con el fin de cumplir el Reglamento del sistema nacional de control de cosméticos.



Referencias de fuentes legales y reglamentarias

- Código Sanitario, D.F.L. N° 725/68
- Reglamento del Sistema Nacional de Control de Productos Farmacéuticos, Alimentos de Uso Médico y Cosméticos, D.S. 1876/95. Modificado por D.S. 855/98, D.S. 286/01 y D.S.245/03
- Reglamento De Farmacias, Droguerías, Almacenes Farmacéuticos, Botiquines y Depósitos Autorizados, D.S. 486/84. Modificado por D.S. 286/01.
- Reglamento Sanitario de los Alimentos, D.S. 977/96. Modificado por D.475/00, D.S. 287/01 y D253/03.
- Resolución 522 del Ministerio de Salud: Aprueba el listado de medicamentos herbarios tradicionales. Publicado 31/08/2007.
- Resolución 190 Ex del Ministerio de Salud: Complementa la resolución N° 522/07 que aprueba listado de medicamentos herbarios tradicionales. Publicado 15 abril 2008.

Trabajo práctico 1

Actividad 1

1. Formar grupos de 5 personas, cada grupo recibirá en sus manos dos productos de origen vegetal comercializados en Chile. En base a sus conocimientos sobre reglamentación, analice completamente el envase.
2. Cada grupo recibirá además, una hoja informativa sobre su producto, en base a esto describa a la droga vegetal o a su principio activo, su actividad farmacológica y comente cualquier anomalía que presenten los productos.
3. Cada grupo deberá entregar un informe escrito y además realizar una exposición de sus resultados al finalizar el práctico.

Actividad 2 (Conteste brevemente)

Usted ha sido escogido como nuevo encargado de la sección "Control de calidad" de una prestigiosa industria de productos naturales, y como tal, ha recibido 15 Kg de un polvo etiquetado como "Hoja de *Peumus boldus*" para crear un comprimido con acción colagoga. Sin embargo, la empresa nunca ha confeccionado un método cualitativo de reconocimiento para esta droga vegetal, y sólo ha confiado en la certificación del proveedor. Bajo esta premisa, ¿qué técnica o método ocuparía usted para reconocer la droga vegetal?

Si en vez de la hoja molida, usted recibe los extractos directamente ¿cómo podría saber si su extracto posee los compuestos de su interés?.

Actividad 3 (Conteste brevemente)

Ud. es parte un laboratorio chileno encargado de la investigación y el desarrollo de bebidas y alimentos. ¿Es posible añadir vitaminas y extractos de plantas a una bebida y como se debería etiquetar, cómo bebida de fantasía o cómo suplemento alimentario con vitaminas y cafeína?.

Heterósidos antracénicos

Heterósidos antracénicos

Desde tiempo muy antiguo se conocían distintas especies vegetales, como por ejemplo: sen, cáscara sagrada, frángula, ruibarbo, áloe, caña fístula, que presentan constituyentes con acción farmacológica muy definida, como es la de **laxante o purgante**.

Al investigar su composición química se estableció, en todos ellos, la presencia de compuestos de naturaleza antracénica. Como los heterósidos (denominados antracénosidos), por lo general, se hidrolizan fácilmente, los primeros investigadores obtenían los productos de hidrólisis más que los heterósidos primarios.

Estructura de las geninas

Las geninas de estos heterósidos, según su estructura química se pueden clasificar en:

a) Antraquinonas: Los derivados antraquinónicos presentes en las drogas purgantes pueden ser:

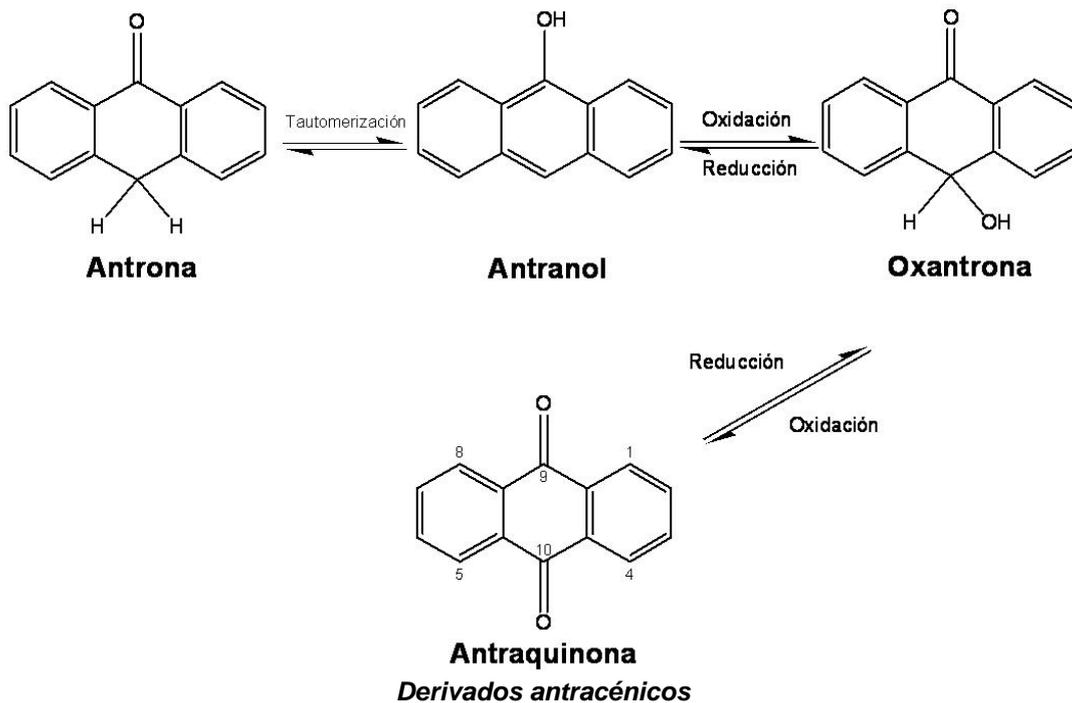
- Dihidroxifenoles como el crisofanol
- Trihidroxifenoles como la emodina

A menudo se encuentran presentes otros grupos como el metilo en el crisofanol, el hidroximetilo en la aloemodina y el carboxilo en la reína. Cuando estas sustancias se encuentran al estado de heterósidos, el azúcar puede estar unido a cualquier grupo hidroxilo originando **O-heterósidos**, siendo más frecuente la unión al grupo hidroxilo del **C-3, 6 y 8**. También existen los **C-heterósidos**, al unirse el C-1 de la glucosa al **C-10 de la genina**, como es el caso de la **aloína** en el áloe y los **cascarósidos** en la cáscara sagrada. Los C-heterósidos son fuertemente resistentes a la hidrólisis ácida normal, por lo que en estos casos es necesario someter estos compuestos a **una hidrólisis oxidativa con cloruro férrico** (ver figuras página 21)).

b) Antranoles y antronas: Existen tanto libres como combinados en estado de heterósidos. Se trata de derivados antraquinónicos reducidos. Existen en estado de isómeros y en solución pueden pasar en parte unos a otros. La antrona es un producto amarillo pálido no fluorescente, insoluble en álcali; su isómero antranol es amarillo parduzco y da lugar a una fuerte fluorescencia en solución alcalina.

c) Oxantronas: Se trata de un producto intermedio entre las antraquinonas y los antranoles. Dan antraquinonas por oxidación con peróxido de hidrógeno y se han encontrado entre los constituyentes de la cáscara sagrada.

d) Diantronas: Son compuestos derivados de dos moléculas de antrona, que pueden ser idénticas o diferentes entre sí. Son geninas importantes en especies del género *Cassia*, *Rheum* y *Rhamnus*. Unas de las más conocidas son los senósidos, derivado de dos moléculas de reinantrona unida a dos moléculas de glucosa.



Estructura de las osas

Dentro de los azúcares que más frecuentemente se encuentran unidas a estas geninas, cabe destacar la **glucosa** (en la cáscara sagrada y en el sen), la **ramnosa** (en el áloe y en la frángula) y la **apiosa**, una pentosa ramificada (en la frángula) (ver figuras páginas 22, 23 y 24).

Propiedades fisicoquímicas

Son sólidos cristalizables, coloreados de amarillo, anaranjado o rojo. Con los álcalis se disuelven dando coloraciones que van desde el anaranjado al rojo vivo o violáceo, que sirve para caracterizarlo y además valorarlos.

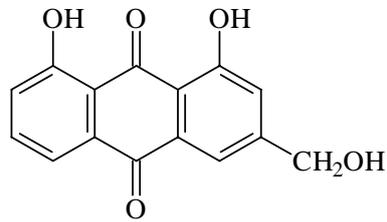
Las geninas son solubles en disolventes orgánicos apolares como por ejemplo éter, diclorometano, cloroformo; mientras que los heterósidos son medianamente solubles en agua y solubles en alcohol y mezclas hidroalcohólicas.

Reacción de identificación. Reacción de Bornträger

La reacción de Bornträger se utiliza frecuentemente para investigar la presencia de principios antraquinónicos en vegetales. Esta reacción consiste en agregar un reactivo alcalino como amoníaco, solución de hidróxido de sodio o de potasio directamente a la droga en polvo o a un extracto y se basa en la coloración roja que dan los derivados antraquinónicos en medio alcalino; la aparición de una coloración anaranjada o roja indicará la presencia de **agliconas libres oxidadas** y la intensidad del color será proporcional a la concentración de principios activos.

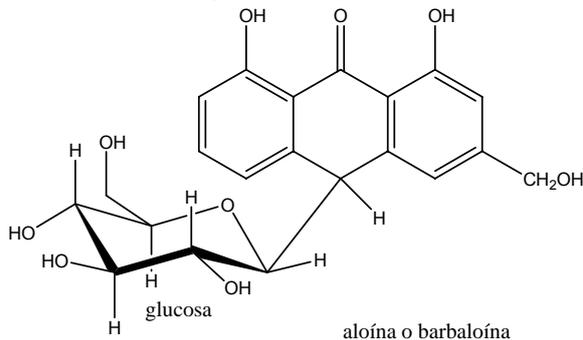
Aloe ferox Mill., *Aloe vera* L., Liliaceae, n.v. aloe, acíbar

1.- Formas libres

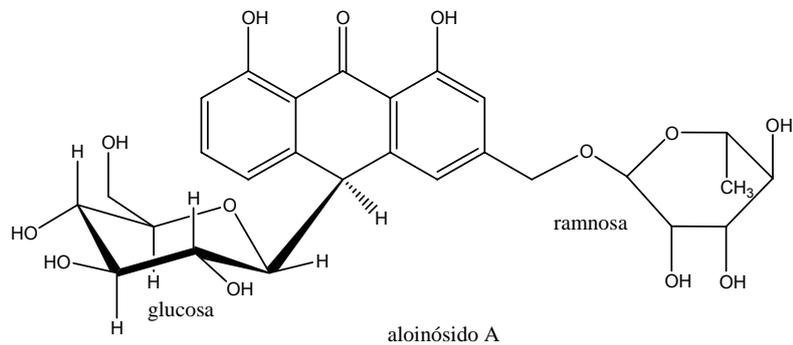


aloë-emodol

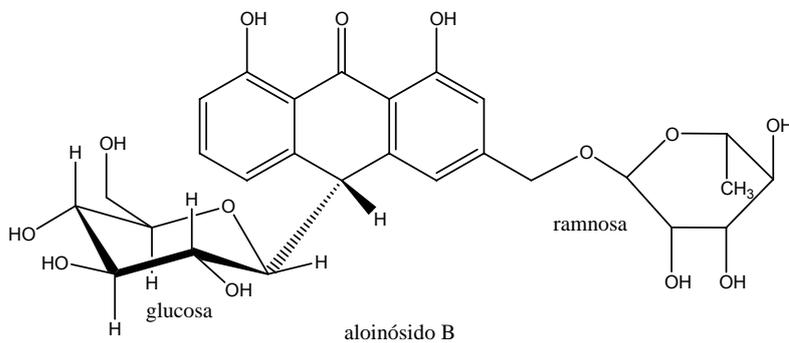
2.- Heterósidos: C-heterósidos



aloína o barbaloína



aloínosido A



aloínosido B

CORTEZA DE CASCARA SAGRADA

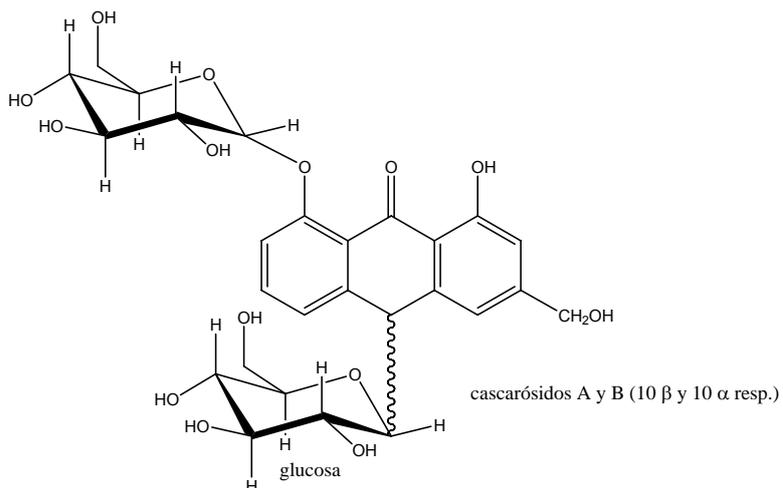
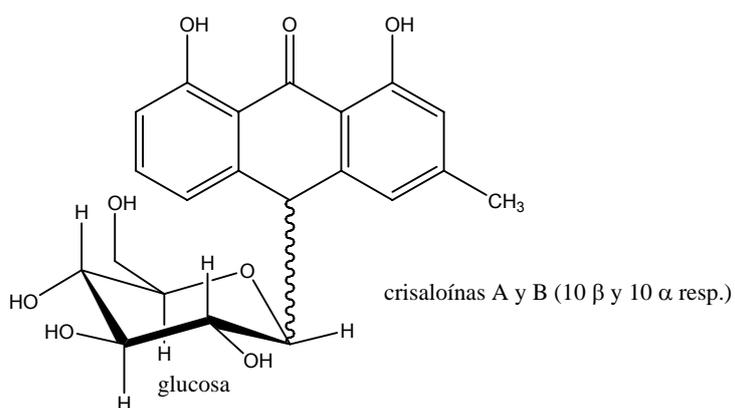
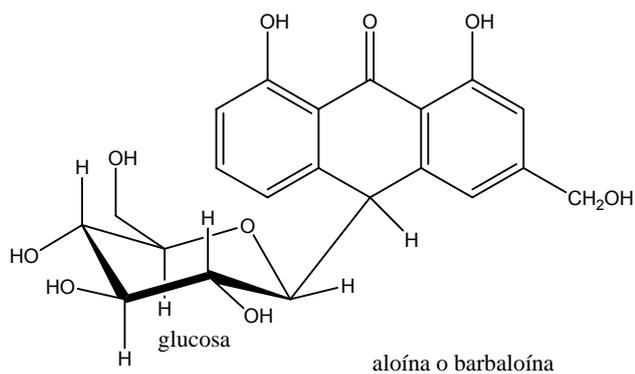
Rhamnus purshiana D.C., Rhamnaceae

1. Formas libres.

2. Heterósidos.

O-Heterósidos: heterósidos de las formas libres.

C-Heterósidos



Trabajo práctico 2

1. Extracción de heterósidos antracénicos

Se realizará con folíolos de sen, corteza de cáscara sagrada y corteza de frángula.

- Coloque 0,3 g de cada una de las drogas vegetales en un vaso de precipitado.
- Agregue 15 mL de metanol a cada vaso, macere a temperatura ambiente y filtre a través de papel filtro.

2. Extracción de compuestos antraquinónicos oxidados totales provenientes de heterósidos. Hidrólisis ácida y extracción con disolvente orgánico.

Se realizará con corteza de cáscara sagrada.

- Coloque 0,3 g de cáscara sagrada en un balón de fondo redondo de 250 mL. Agregue 30 mL de H₂SO₄ al 20 % y 60 mL de diclorometano (CH₂Cl₂).
- Caliente a reflujo durante 30 minutos.
- Filtre a través de lana de vidrio a un embudo de decantación de 250 mL. Lave la lana de vidrio con 3 porciones de 10 mL de CH₂Cl₂.
- Agite cuidadosamente la solución bifásica contenida en el embudo para extraer los compuestos de interés desde la fase acuosa hacia la fase orgánica.
- Separe la fase orgánica recibéndola en un vaso de precipitado.

3. Extracción de derivados antraquinónicos ácidos y residuos procedentes de O-heterósidos. Hidrólisis ácida, hidrólisis oxidativa y extracción con disolvente orgánico.

Se realizará con folíolos de sen.

- Coloque 0,3 g de folíolos y/o frutos de sen en un balón de balón redondo de 250 mL y agregue 30 mL de agua destilada, agite enérgicamente.
- Ajuste a pH 7-8 con una solución de bicarbonato de sodio al 5% y agite.
- Agregue 20 mL de cloruro férrico al 10% (FeCl₃). Agite y caliente a reflujo por 15 min.
- Transcurridos los 15 minutos, enfríe y agregue lentamente por la parte superior del refrigerante 10 mL de solución de HCl al 10% y 50 mL de CH₂Cl₂.
- Caliente a reflujo por 20 min y luego enfríe.
- Filtre a través de lana de vidrio a un embudo de decantación de 250 mL. Lave la lana de vidrio con 3 porciones de 10 mL de CH₂Cl₂.

- Agite cuidadosamente la solución bifásica contenida en el embudo para extraer los compuestos de interés desde la fase acuosa hacia la fase orgánica.
- Separe la fase orgánica recibéndola en un vaso de precipitado.

4. Análisis cromatográfico

- Realice una c.c.f. utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil acetato de etilo: metanol: agua = 100: 13,5: 10.
- Siembre los extractos globales obtenidos en la etapa 1, y los extractos hidrolizados obtenidos en las etapas 2 y 3
- Observe a la luz UV y revele con KOH 10% en etanol. Marque con un lápiz grafito las manchas correspondientes a derivados antraquinónicos.
- Calcule los Rf.

Observación: anote las coloraciones observadas antes y después de revelar.

Con KOH las antraquinonas presentan coloración roja al visible y al UV-365 nm. Las antronas y antranoles presentan coloración amarilla al visible y amarillo brillante al UV-365. Las diantronas no reaccionan.

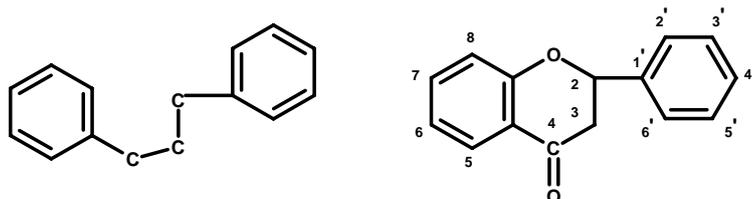
5. Muestra problema

- Usted recibe una muestra farmacéutica (comprimido, cápsula, etc.) que declara contener derivados antraquinónicos en forma de geninas libres.
- Realice una experiencia que le permita aceptar o rechazar su muestra. Detalle en su informe el procedimiento realizado, los resultados obtenidos, discusión de sus resultados y conclusiones.
- Si le solicitaran además un análisis cuantitativo, ¿cómo lo realizaría?. Describa brevemente la metodología: procedimiento de extracción, método analítico, reacción desarrollada, patrón o compuesto de referencia, cálculo de los resultados obtenidos. Fundamente su respuesta considerando las propiedades fisicoquímicas de los derivados antraquinónicos.

Heterósidos flavónicos

Los flavonoides son sustancias de naturaleza fenólica muy difundidos en el reino vegetal, que contribuyen a dar color a los frutos, flores y hojas.

Poseen un esqueleto de quince átomos de carbono, repartidos según la frecuencia $C_6-C_3-C_6$, en la cual los anillos bencénicos A y B están unidos por un elemento de tres átomos de carbono.

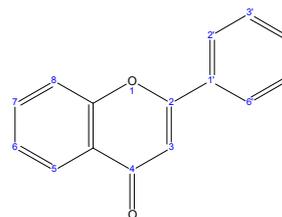


Secuencia de flavonoides

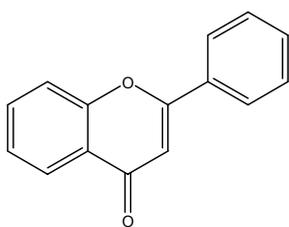
$C_6-C_3-C_6$ (2 anillos bencénicos unidos por elemento de 3 C)

Estructura de las geninas

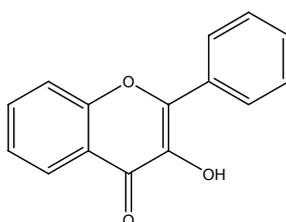
Las geninas de los heterósidos flavónicos derivan del núcleo fenilcromona sobre el cual se fijan varios grupos hidroxilo fenólicos. Si el grupo fenilo se fija en el C-2 de la cromona tenemos las flavonas y si se encuentra fijo en el C-3 tenemos las isoflavonas. Las flavonas que poseen un grupo OH en el C-3 constituyen los flavonoles y aquellas geninas con la ausencia del doble enlace en 2,3 se denominan flavanonas.



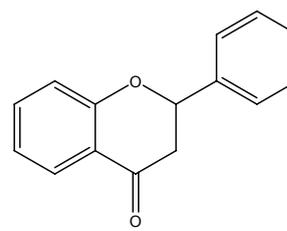
Fenilcromona



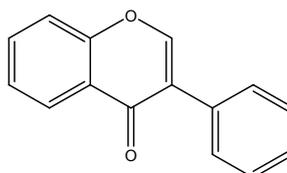
Flavonas



Flavonoles



Flavanonas



Isoflavonas

Estructura de las osas

La parte osídica puede ser muy sencilla, reducida a una osa común como la glucosa, ramnosa, xilosa, o a un oligosacárido como un disacárido en el caso de la rutina (α -L-ramnosil(1->6) β -D-glucosa). Los O-heterósidos son los más frecuentes, donde la unión entre la genina y la parte osídica se realiza preferentemente por intermedio del hidroxilo unido al C-7 en las flavonas y por el hidroxilo unido al C-3 en los flavonoles, lo que no excluye otras posibilidades. La mayor diversidad estructural de los heterósidos, se presenta en los flavonoles: se conocen más de cien heterósidos cuya genina es el quercetol, y lo mismo ocurre para el canferol. También se pueden encontrar C-heterósidos en los que la unión se establece entre el carbono anomérico de la osa y el carbono 8 o 6 de la genina, la cual la mayoría de las veces es una flavona.

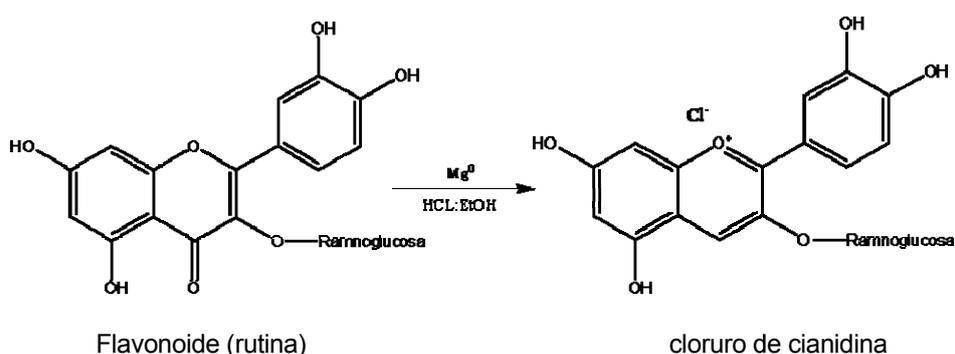
Propiedades físico-químicas:

Si bien, por regla general, los heterósidos son hidrosolubles y solubles en los alcoholes, hay algunos que tienen una solubilidad poco marcada en agua. Las geninas en cambio son solubles en solventes orgánicos medianamente polares.

Los flavonoides por **presentar grupos cromóforos** en su molécula, pueden absorber la energía luminosa emitida por la luz ultravioleta (UV $\lambda=200-400$ nm), presentando una fluorescencia característica que puede cambiar de coloración después de la exposición a vapores de amoníaco o a otros reactivos tales como $AlCl_3$, KOH , etc.

Análisis cualitativo y cuantitativo de flavonoides

La Reacción de Shivata o Reacción de la Cianidina permite el reconocimiento de flavonoides. Esta reacción se fundamenta en que, al poner en contacto ácido clorhídrico con magnesio metálico se genera hidrógeno, este último reduce al flavonoide desarrollando coloraciones que van del rojo anaranjado al violeta. En el caso de los flavonoles, el color obtenido es rojo cereza.



La valoración de los derivados flavónicos, con excepción de las chalconas e isoflavonas, se realiza colorimétricamente, en base a esta reacción. El desarrollo máximo de color está estrictamente relacionado con la concentración de flavonoides en solución y la estabilidad del compuesto formado es de 2 horas, por lo que debe efectuarse la lectura durante ese período de tiempo.

Para la curva de calibración, se prepara una solución madre de quercetina de 1 mg/mL en etanol de 60°, y en una serie de matraces aforados de 10 mL se ponen 1; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0 mL de dicha solución respectivamente. Luego, a cada matraz se agregan 5 mL de reactivo de Shivata

HCl: Etanol = 50:50 y se completa el volumen a 10 mL con etanol. A continuación se agregan 75 mg de la cinta de Mg a los matraces, se esperan 10 min para desarrollo del color y se lee la absorbancia a 530 nm.

Trabajo práctico 3

1. Preparación de un extracto de ruda estabilizado y purificado

Ruta graveolens (ruda) es un arbusto bajo, de hojas carnosas y de flores amarillas en cimas terminales. Tiene un intenso olor desagradable, sabor amargo y acre. Las hojas poseen glándulas que contienen una esencia irritante, y la manipulación de ellas estando frescas producen ampollas en la piel.

Las hojas contienen:

1 % de aceite esencial: metil nonil cetona
metil heptil cetona
metil octil cetona

1- 2 % de rutósido = rutina (ramnoglucósido del quercetol)

La ruda se usa como antiespasmódico por su contenido de aceite esencial. Se ha observado que a concentraciones mayores (0,05 – 0,10 g) es emenagoga. Se conoce además, de muy antiguo como abortiva. La toxicidad se le atribuye a la metil nonil cetona.

La rutina o rutósido es en cambio muy poco tóxica. Es un flavonoide que también se encuentra en: cáscara de naranjas, trigo sarraceno (hojas), grosellas negras y otras, y en la *Sophora japonica*.

Para la preparación del extracto, las hojas frescas son estabilizadas por la acción del metanol hirviendo que solubiliza al mismo tiempo los heterósidos. El extracto concentrado es disuelto en agua. Esta purificación permite eliminar, en especial, la clorofila, cuya intensa coloración enmascara ciertas reacciones de caracterización.

- Pese aproximadamente 30 g de hojas de ruda y tritúrelas en un mortero.
- Agregue aproximadamente 100 mL de metanol hirviendo sobre las hojas trituradas.
- Caliente a reflujo durante 30 min.
- Filtre a través de lana de vidrio y transfiera a un balón. Concentre el extracto en un evaporador rotatorio.
- Disuelva el residuo seco en 20 mL de agua y filtre a través de filtro mojado para eliminar la clorofila.

2. Reconocimiento de flavonoides

2.1. Reacción de Shivata o Reacción de la cianidina.

- Coloque en un tubo de ensayo 3 mL del extracto de ruda (preparado de acuerdo al punto 1) y en otro tubo de ensayo, 3 mL de rutina patrón al 1%.

- A cada tubo de ensayo, agregue 5 mL de alcohol-clorhídrico y un trozo de cinta de magnesio (realizar bajo campana). Observe la coloración anaranjada-rojiza que se desarrolla lentamente.
- Compare la coloración desarrollada por el extracto y compárela con la reacción desarrollada por el patrón.

2.2. Observación a la luz UV y revelado con AlCl_3 y vapores de amoníaco

- Siembre el extracto de ruda en un **papel Whatman Nº 1**, junto con rutina patrón y quercetina patrón. Hacerlo en triplicado:
Papel 1: observe la fluorescencia a la luz U.V. a 254 y 366 nm.
Papel 2: revele con vapores de amoníaco, observe la coloración al visible y cambios de fluorescencia a la luz UV, compare con los patrones.

Los álcalis colorean de amarillo vivo a la mayor parte de los flavonoides. Observar la coloración amarilla viva de la muestra y compararla con la de un testigo no tratado.

Papel 3: revele con AlCl_3 al 3%. Después de pulverizar, observe la coloración al visible y la fluorescencia a la luz U.V.

En presencia de AlCl_3 , los flavonoles presentan bajo la luz UV 366 nm una intensa fluorescencia verde, oponiéndose al color café del testigo no tratado.

2.3 Reacción de coloración con FeCl_3 al 1%

La naturaleza polifenólica de los flavonoides lleva a la formación de coloraciones variadas en presencia de FeCl_3 .

- Coloque en un tubo de ensayo 1 mL del extracto de ruda preparado.
- Agregue gota a gota FeCl_3 al 1%.
- Observe la coloración desarrollada.

3. Análisis de "Tés comerciales" de:

Tilia cordata, *Tilaceae*, "tilo"

Chamomilla recutita, *Asteraceae*, "manzanilla"

Haplopappus baylahuen, *Asteraceae*, "bailahuén"

3.1. Extracción

- Coloque 3 bolsas del té respectivo (sin romper las bolsas) en un vaso de precipitado de 250 mL.
- Agregue 50 mL de agua destilada y lleve a ebullición por 10 min. Transcurrido el tiempo, retire las bolsas de té y deje enfriar.
- Transfiera el decocto a un embudo de decantación, filtrando a través de lana de vidrio sólo si es necesario.
- Agregue 20 mL de acetato de etilo y agite suavemente para evitar emulsiones. Separe la fase orgánica.

3.2. Reacción de Shivata

- Transfiera 3 mL del extracto obtenido anteriormente (fase orgánica) a un tubo de ensayo.
- Agregue 5 mL de alcohol-clorhídrico y un trozo de cinta de magnesio (realizar bajo campana). Observe la coloración que se desarrolla.

3.3. Análisis cromatográfico

- Realice una cromatografía en placa fina utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como fase móvil una mezcla de acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial : agua = 100:11:11:27.
- Siembre el extracto (fase orgánica) del correspondiente té y los patrones de rutina y quercetina.
- Observe a la luz UV y revele con reactivo NP/PEG (natural product/polietilenglicol). Marque con un lápiz de mina las manchas correspondientes a la muestra y a los patrones.

Precaución: el reactivo NP/PEG produce gran irritación de las mucosas, rocíe la placa bajo campana.

- Calcule los R_f de la muestra y los patrones.

De acuerdo a los resultados de los puntos 3.2 y 3.3 indique la presencia de flavonoides en la muestra, e identifique rutina y quercetina si hubiera.

4. Muestra problema

- Usted recibe una muestra que declara contener *Gingo biloba* con un alto contenido de flavonoides.
- Realice al menos 1 procedimiento que le permita determinar si su muestra corresponde a lo que declara. Acepte o rechace su muestra en base al análisis realizado.

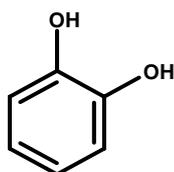
Detalle en su informe cada uno de los pasos realizados para obtener sus resultados y conclusiones.

- Si le solicitaran además un análisis cuantitativo, ¿cómo lo realizaría?. Describa brevemente la metodología: procedimiento de extracción, método analítico, reacción desarrollada, patrón o compuesto de referencia, cálculo de los resultados obtenidos. Fundamente su respuesta.

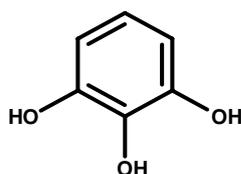
Taninos y Saponinas

Taninos

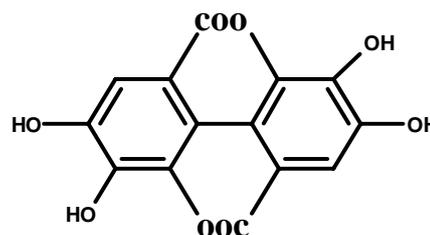
Los taninos son compuestos químicos de carácter fenólico de alto peso molecular, no cristalizables, que forman con el agua soluciones coloidales de reacción ácida y de sabor muy astringente. Aunque su constitución química sea diferente entre un tipo de tanino y otro, poseen propiedades semejantes, por la presencia de grupos fenólicos en todos ellos.



catecol o pirocatequina



pirogalol

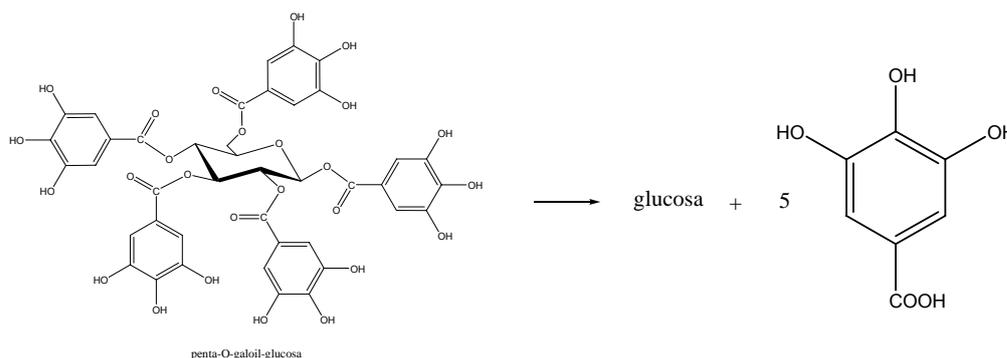


ácido ellágico

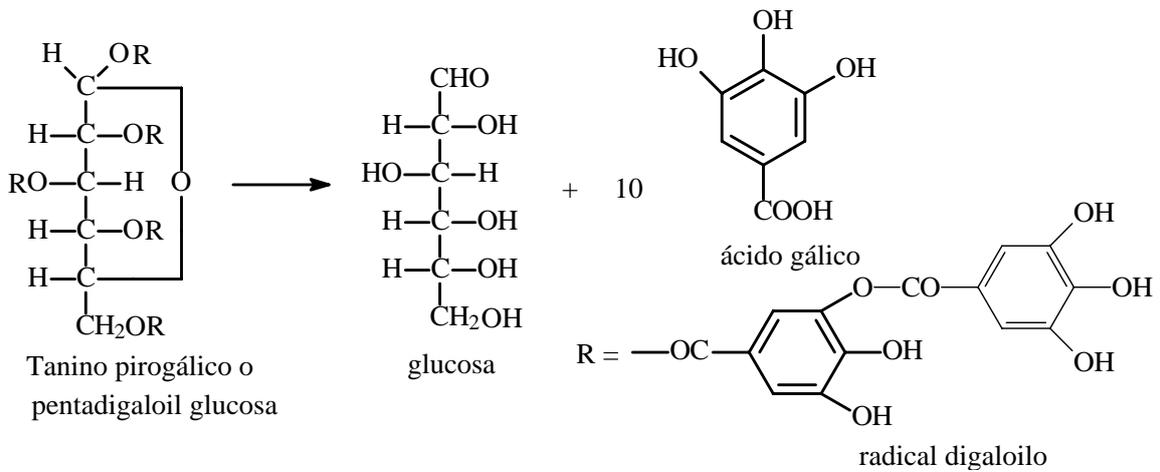
Se distinguen clásicamente dos grupos de taninos que difieren por su estructura y por su origen biogénico:

a) Taninos hidrolizables: la hidrólisis se puede realizar por medio de ácido diluido y caliente, o por la acción de una diastasa especial producida por el *Aspergillus niger* llamada tanasa. Según los productos que se obtengan en la hidrólisis, este grupo de taninos se divide en 2 subgrupos:

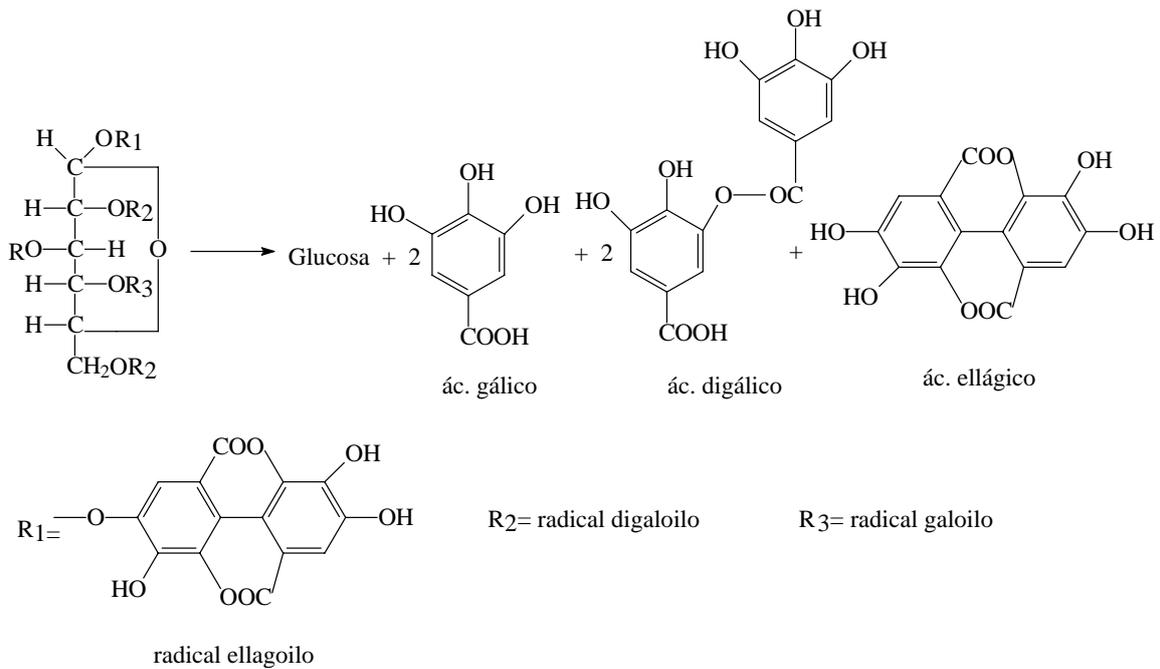
a.1.) Aquellos que producen azúcares (generalmente glucosa) y ácidos fenólicos. Pueden ser heterósidos o ésteres, de la glucosa con los ácidos fenólicos o con sus dépsidos. Ej: taninos pirogálicos de las agallas de Alepo o Nuez de agalla. En este caso se trata de un éster formado por el radical galoil con la glucosa, en una penta galoil glucosa (se usa para curtir cueros):



Un segundo ejemplo de este tipo de compuesto, lo constituyen los taninos pirogálicos de las agallas de china que también se usan para curtido. Por hidrólisis este tanino se descompone en un mol de glucosa y 10 moles de ácido gálico (5 radicales: digaloilo):



Un tercer ejemplo, lo constituye otro tipo de tanino hidrolizable que se encuentra en la "nuez de agalla", este producto al ser hidrolizado produce glucosa, ácido gálico, ácido digálico y ácido elágico (también se usa para curtir cueros):



a.2.) Taninos hidrolizables en ácidos fenólicos o dépsi-taninos:

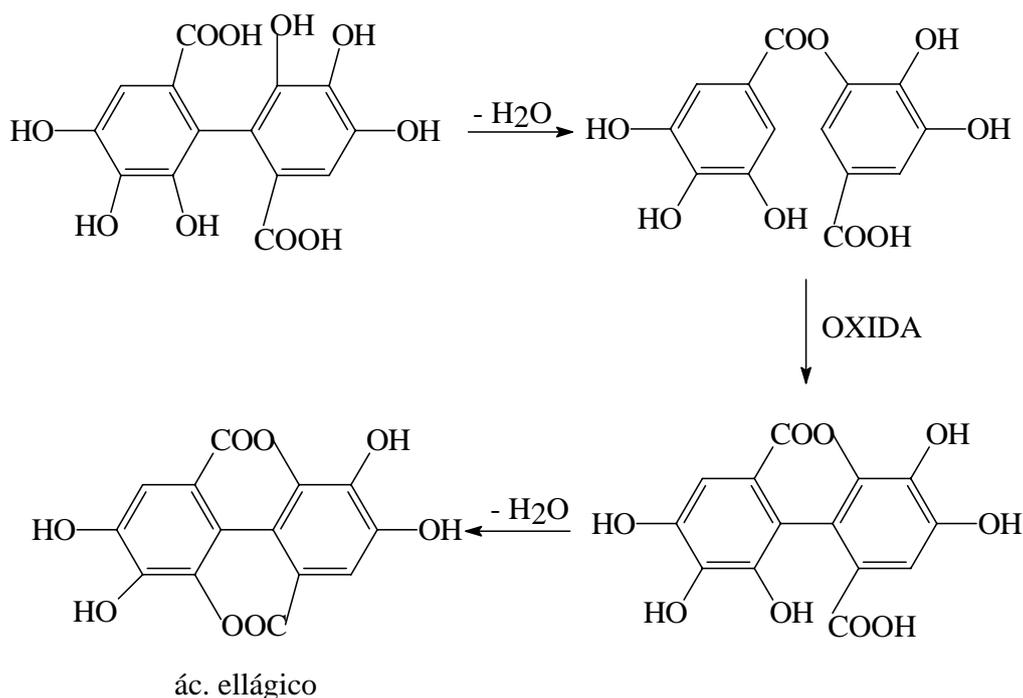
Los dépsi-taninos se diferencian de los taninos glicosídicos en que por desdoblamiento hidrolítico no producen azúcares, sino únicamente ácidos fenólicos o sus dépsidos.

Este tipo de taninos cumplen en general con las propiedades de estos compuestos: son reductores, se colorean de verde con FeCl_3 , precipitan con acetato de Pb o con los alcaloides. En

cambio la propiedad de coagular la gelatina o de curtir la piel sólo aparece cuando la molécula del dépsido es tan grande que produce soluciones coloidales.

Los depsi-taninos más importantes son los ellagi-taninos. Se encuentran en las "agallas de Hungría" (que son excrecencias producidas por la picadura de un insecto del género *Cynips* sobre la encina o el roble) acompañado de taninos gálicos. También se encuentran en la corteza del roble, madera del castaño y vainas de la algarrobilla.

Generalmente los taninos ellágicos se hallan acompañados por taninos gálicos, lo cual se explica debido a que el ácido ellágico se forma por condensación y oxidación del ácido gálico o mejor dicho de su dépsido, el ácido metadigálico, pasando por el ácido luteico:



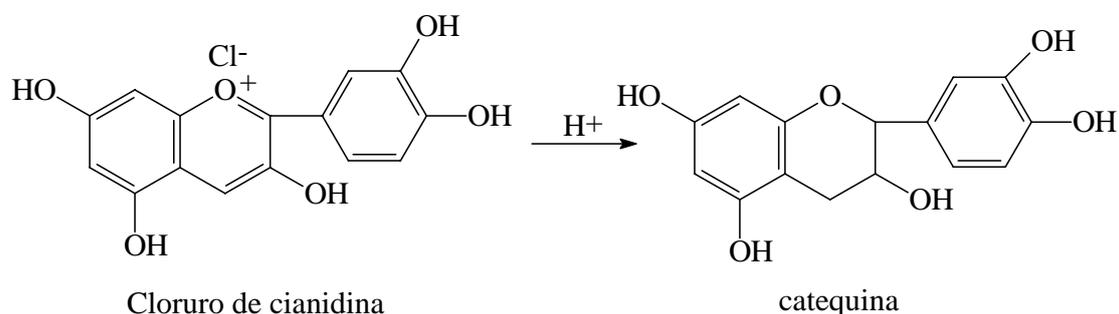
b) Tanino no hidrolizables o condensados o catéquicos: Se trata de principios curtientes que no se pueden hidrolizar porque contienen un esqueleto carbonado continuo. Fundidos con álcalis generan pirocatequinas. Con ácidos a ebullición no se hidrolizan, sino que producen un precipitado rojo llamado **flobáfeno o tanino rojo insoluble**.

Se encuentran en la madera de encina y roble, en el quebracho colorado, en la corteza de quina, hojas de té, etc. Sintéticamente se obtienen por reducción del cloruro de cianidina con hidrógeno nascente, obteniéndose la **catequina** que luego se condensa para dar el tanino.

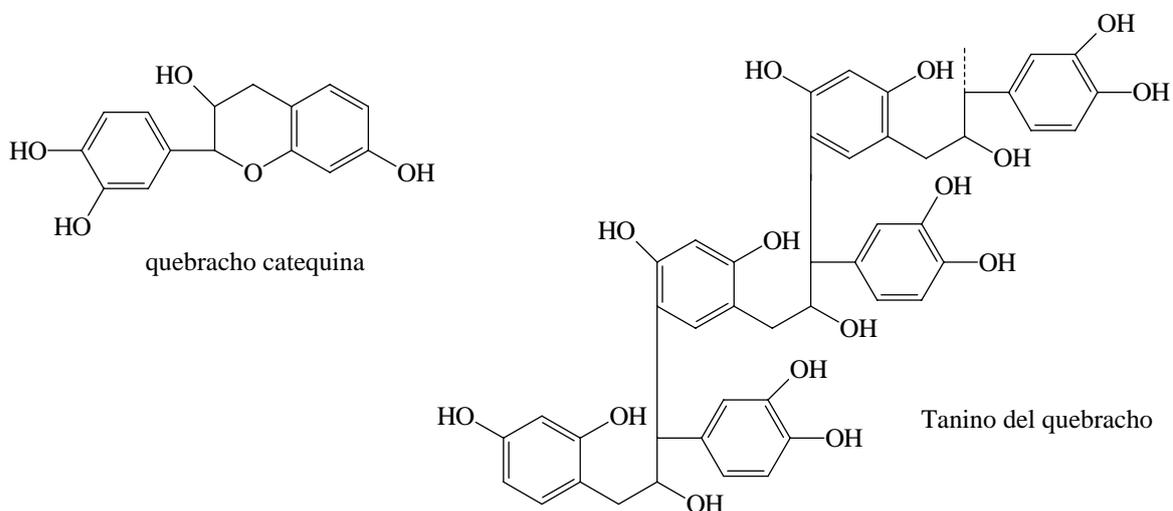
La catequina no tiene propiedades curtientes y no precipita la solución de gelatina pero haciéndole hervir largo tiempo en solución acuosa, van apareciendo las propiedades tanantes y las de coagular la gelatina. Se produce la condensación gradual de la catequina formando una macromolécula de carácter coloidal que es la poseedora de las propiedades curtientes. Cuando la condensación llega al máximo, se producen los **flobáfenos o taninos rojos insolubles**.

El "quebracho" es una droga que posee la quebracho catequina condensada. A continuación se muestra su obtención:

a) Obtención de la catequina



b) Quebracho catequina obtenido del quebracho



Reconocimiento de taninos: el ensayo con cloruro férrico permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos. Si el extracto de la planta se realiza con etanol el ensayo determina tanto fenoles como taninos; a una alícuota del extracto etanólico se le adicionan 3 gotas de una solución de cloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos; a una alícuota del mismo se le añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de la solución reactiva. Un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo –vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

Trabajo práctico 4

Parte I: Taninos

1. Reacciones coloreadas de reconocimiento de taninos

Con dos extractos acuosos al 2%, uno obtenido desde la corteza de hamamelis (taninos gálicos) y el otro obtenido desde las hojas de murtila (taninos gálicos y catéquicos), realice los siguientes ensayos para diferenciar el tipo de tanino presente en cada uno de los extractos.

1.1. Reacción con solución de FeCl_3 al 1%

- Coloque 3 mL de extracto de murtila en un tubo de ensayo y 3 mL de extracto de hamamelis en otro tubo.
- Agregue 1 gota de solución de FeCl_3 1% a cada tubo.
- Observe el cambio de color. Se observará una coloración o un precipitado que varía del verde al azul, según la naturaleza química del tanino.

1.2. Reacción de Stiasny

- Coloque 5 mL de extracto de murtila en un tubo de ensayo y 5 mL de extracto de hamamelis en otro tubo.
- Agregue 2 mL de una mezcla de 5 mL de HCl concentrado y 10 mL de formol al 37 % a cada tubo.
- Caliente a ebullición durante 15 min a baño maría.

Nota: Tenga precaución cuando caliente los tubos ya que la solución puede proyectarse. Los taninos catéquicos precipitan en caliente pudiendo variar el color del precipitado.

- Observe la formación de un precipitado que indica la presencia de taninos catéquicos.
- Filtre cada una de las muestras a un nuevo tubo de ensayo.
- A 5 mL del filtrado, agregue 1 mL de una solución de alumbre férrico 1% y 3 g de acetato de sodio (CH_3COONa).
- Observe la aparición de una coloración azul-violeta que indica la presencia de taninos gálicos.

1.3. Reacción de oxidación

Los taninos catéquicos se oxidan a flobáfenos rojos por calentamiento en medio clorhídrico.

- Coloque 5 mL de extracto de murtila en un tubo de ensayo y 5 mL de extracto de hamamelis en otro tubo.
- Agregue 1 mL de HCl concentrado a cada tubo y caliente a ebullición con precaución.
- Observe la aparición de una coloración roja debida a la formación de flobáfeno o rojo catéquico.

Saponinas

Las saponinas son heterósidos cuyas geninas pueden ser esteroidales (o neutras) o triterpenoides (o ácidas); son sustancias amorfas aunque algunas se han obtenido al estado cristalizado. Se presentan generalmente como polvos blancos amarillentos o pardos, de reacción neutra o ácida. Son inodoras, higroscópicas y de sabor variado desde amargo hasta dulce. Las saponinas presentan poder detergente debido a la característica de bajar la tensión superficial, formando con el agua soluciones coloidales que producen espuma persistente por agitación, como si fueran soluciones de jabón (del latín *sapo*=jabón), propiedad que ha dado el nombre a las saponinas. Tienen un sabor amargo y acre. Las drogas que las contienen generalmente producen estornudos e irritación de las mucosas.

Para su estudio se dividen en:

- 1. Saponinas esteroidales o neutras:** derivan del ciclopentanoperhidrofenantreno y se encuentran en las monocotiledóneas.
- 2. Saponinas triterpénicas o ácidas:** derivan del isopreno y se encuentran en las dicotiledóneas.

Se pueden valorar las saponinas mediante los siguientes ensayos, algunos de los cuales se reportan en las Farmacopeas internacionales.

Determinación del índice hemolítico

Las saponinas destruyen los glóbulos rojos por hemólisis y son especialmente tóxicas para los animales de sangre fría. La capacidad que poseen los saponósidos de provocar la ruptura de la membrana de los eritrocitos, es utilizada para detectarlos y valorarlos mediante la detección del índice hemolítico.

Ensayo de Espuma

Permite reconocer la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénicas. De modo que si la alícuota se encuentra en etanol, se diluye en 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 min. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de espesor o altura y persiste por más de 15 min.

Reacciones coloreadas: Ensayo de Liebermann- Burchard

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides. Un ensayo positivo se tiene por un cambio de coloración. Las estructuras esteroidales producen coloraciones azul a azul verdoso, mientras que para las triterpénicas se observan colores rosado, rojo o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos y xantofilas que pudiesen estar presentes en la muestra.

Observación: Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción, pues ésta con el ácido sulfúrico puede reaccionar de forma violenta.

Caracterización por métodos cromatográficos

La c.c.f. se usa en el control de calidad de drogas vegetales que contienen saponinas. Un ejemplo de disolvente de desarrollo puede ser cloroformo:metanol:agua = 65:35:10 y como mezcla reveladora se pueden utilizar las reacciones coloreadas antes mencionadas.

También puede utilizarse como reactivo revelador el p-anisaldehído en ácido sulfúrico o vainillina-sulfúrico, especialmente para las saponinas triterpénicas.

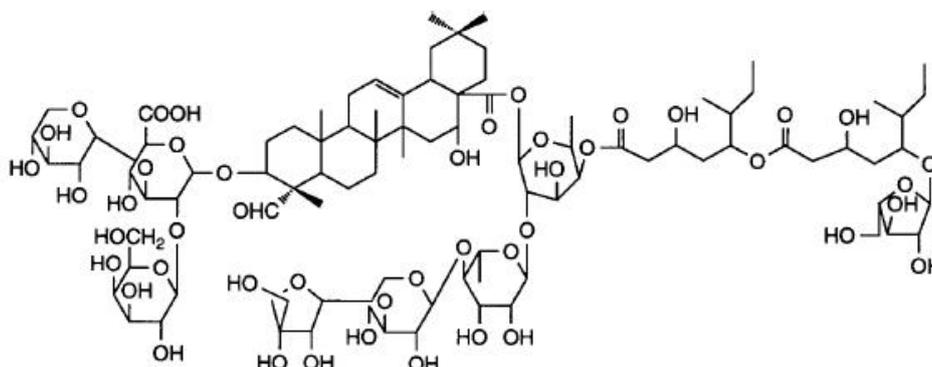
Como ejemplo de drogas vegetales ricas en saponinas podemos señalar:

A) Corteza de *Quillaja saponaria* Mol., Rosaceae, n.v. quillay

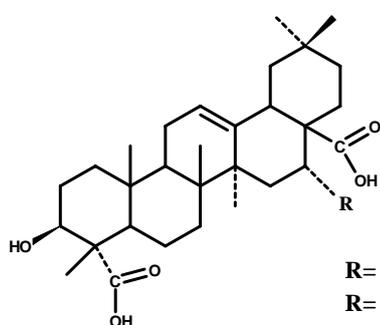
Distribución y Hábitat: el quillay es endémico de Chile y crece desde Coquimbo a Malleco (IV a IX región). Habita en ambientes secos y suelos pobres, llegando hasta los 2000 m s.n.m. Especie frecuente en los bosques esclerófilos junto al maitén y litre entre otros.

Descripción: pequeño árbol siempre verde, de hasta 15 m de altura y 1 m de diámetro. Corteza de color gris-cenicienta, rica en saponina. Hojas alternas, casi sésiles, glabras, de forma elíptica a aovada, ápice agudo, base obtusa, de color verde lustroso claro, bordes casi enteros, con 4-8 dientes. Lámina de 2-5 x 1-3 cm. Flores verde blanquecinas, hermafroditas, pentámeras, de forma estrellada, de 1-1,4cm de diámetro, reunidas en corimbos. Cáliz compuesto por 5 sépalos, corola compuesta de 5 pétalos alternos a los sépalos. Androceo compuesto por 10 estambres; Gineceo compuesto por 5 ovarios, cada uno con un estilo filiforme y un estigma. El fruto una cápsula de forma estrellada, en su interior se pueden observar muchas semillas aladas.

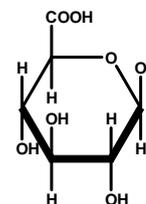
Usos: la corteza es utilizada desde antaño como detergente, debido a la gran cantidad de saponinas que contiene. Además esta especie es utilizada ampliamente como ornamental.



Principal saponina de la corteza de quillay



R= H gipsogenina
R= OH ácido quillágico



B) Raíz de *Panax ginseng* C.A. Meyer, Araliaceae, n.v.ginseng

Se usaba en China desde el año 2.000 A. de C. y sólo en los últimos años se ha estudiado su composición química.

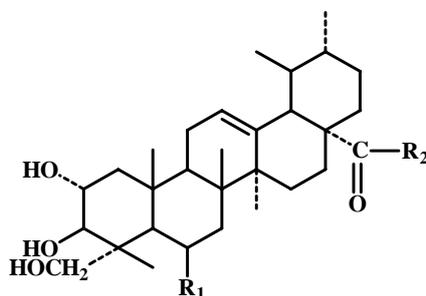
Descripción: sus constituyentes principales son una compleja mezcla de derivados del damarano, llamados ginsenósidos, a los que se les atribuyen propiedades estimulantes y tónicas.

C) Parte aérea de *Centella asiatica* (L.) Urban = *Hydrocotyle asiatica* L., Umbelliferae

Descripción: se trata de una planta herbácea pequeña, con hojas acorazonadas enteras, de limbo redondeado arriñonado. Es de origen asiático, hoy se cultiva en el sur-este de África, Madagascar, en la India y en Indonesia. Se le atribuyen propiedades cicatrizantes, útil en el tratamiento de heridas y de quemaduras.

Composición química: sus principios activos son derivados triterpénicos (30 átomos de carbono) pentacíclicos, derivados del ácido ursólico. La cantidad de principios activos en la planta seca fluctúa entre 1,9-3,4 %. En el comercio se utiliza un extracto de centella asiática rico en la fracción triterpénica, cuya composición está estandarizada, y corresponde a:

- 40 % de asiaticósido (a)
- 30 % de ácido asiático (b)
- 30 % de ácido madecásico (c)



a) $R_1 = H$, $R_2 = O\text{-gl-gl-ramnosa}$

b) $R_1 = H$, $R_2 = OH$

c) $R_1 = OH$, $R_2 = OH$

Trabajo práctico 4

Parte II: Saponinas

1. Solubilidad y capacidad de producir espuma

1.1. Solubilidad

- Coloque una cantidad equivalente a una punta de espátula de un extracto seco estandarizado rico en saponinas obtenido desde la corteza de quillay en tres tubos de ensayo.
- Agregue 3 mL de agua al primer tubo, 3 mL de etanol diluido (al 24%) al segundo tubo y 3 mL de diclorometano al tercer tubo.
- Informe la solubilidad del extracto en cada uno de los disolventes.
- Realice la misma experiencia con un extracto de sapogeninas obtenidas desde la corteza de quillay.

A diferencia de las saponinas, las sapogeninas son solubles en alcohol absoluto, acetona e insolubles en agua, de ésta última precipitan al efectuar la hidrólisis.

1.2. Formación de Espuma

- Coloque en un tubo de ensayo una cantidad equivalente a una punta de espátula de un extracto seco estandarizado rico en saponinas obtenido desde la corteza de quillay, y en otro tubo de ensayo, una cantidad equivalente a una punta de espátula de un extracto de sapogeninas.
- Agregue 2 mL de agua a cada uno de los extractos y agite durante 15 segundos a razón de 2 agitaciones por segundo
- Observe la espuma generada, esta debe presentarse en forma de panal y persistir a lo menos por 15 minutos.

2. Análisis cromatográfico

2.1. Quillay

- Realice una c.c.f. comparativa de saponinas del quillay, sapogeninas y patrón de ácido quillaico (todos disueltos en metanol) utilizando como fase estacionaria gel de sílice y como medio de desarrollo DCM:AcOEt = 1:1.
- Revele con p-anisaldehído en sulfúrico.
- Compare los R_f de ambas muestras y el patrón y compare los colores que presentan después de revelar.

2.2. Ginsen

Preparación del extracto metanólico de ginsen: tratar 1 g de droga vegetal pulverizada con 5 mL de metanol. Calentar a baño maría o a reflujo durante 15 min. Evaporar el metanol hasta obtener un volumen final de 1 mL.

- Realice una c.c.f. de un extracto metanólico al 2% de ginsen para la identificación de ginsenósidos. Utilice como fase estacionaria gel de sílice y como medio de desarrollo n-butanol: acetato de etilo: agua = 100:25:50 (usando la fase superior).
- Revele con el reactivo de Liebermann-Burchard.
- Calcule los Rf y compare el cromatograma con el disponible en la literatura (Plant Drug Analysis*).

2.3. Centella

Preparación del extracto: triturar en un mortero 2 comprimidos de un fitofármaco que contiene un extracto estandarizado de *Centella asiatica*. Disolver en 20 mL de metanol y filtrar a través de papel filtro plegado.

- Realice un análisis cromatográfico de un fitofármaco que contenga un extracto de *Centella asiática* y siembre además un patrón de ácido asiático y un extracto metanólico de murtila. Utilice como fase estacionaria gel de sílice y como medio de desarrollo iso-butanol: acetato de etilo: amoníaco: agua = 6: 4: 0,5: 1.
- Revele con p-anisaldehído sulfúrico y observe la coloración que presentan los distintos componentes.
- Determine los Rf y compare con la siguiente información del patrón.

patrón	coloración	Rf
ácido asiático	morado	0,28

3. Muestra problema

Ud. es Jefe de Control de Calidad de un Laboratorio y le piden un análisis cromatográfico de los siguientes productos:

- Comprimido de *Hedera helix L.*
- Comprimido de *Aesculus hippocastanum L.*

Para dicho análisis Ud. sólo dispone de dos comprimidos y de las c.c.f. del Plant Drugs Analysis*.

1. ¿Cómo obtendría el extracto para dicho análisis?.
2. ¿Qué sistema de disolvente usaría, en que proporciones?.
3. ¿Qué sistema revelador utilizaría y por qué?.
4. ¿Qué compuesto de referencia utilizaría?.
5. ¿A qué se debe la diferencia entre comprimidos de distintos laboratorios?.
6. Si le pidieran un análisis cuantitativo, ¿que análisis realizaría y por qué?.
7. Conclusiones.
8. En su informe adjunte su placa cromatográfica problema y las referencias utilizadas para dicho análisis.

* Wagner, H; Bladt, S; Zgainski, EM. (2001). Plant Drug Analysis. A thin layer chromatography atlas. Springer-Verlag. Berlín.

Alcaloides

El término alcaloide comúnmente se aplica a compuestos nitrogenados básicos de origen vegetal, que son fisiológicamente activos. Realmente no existe una definición sencilla de alcaloides, ya que en ella es difícil tener en cuenta las diferencias en cuanto a las estructuras y propiedades de cerca de 12.000 compuestos descritos en este grupo. Contienen generalmente un átomo de nitrógeno que forma parte de un heterociclo, aunque se pueden encontrar compuestos hasta con cinco átomos. Biogénicamente proceden de aminoácidos.

El nitrógeno puede formar parte de una amina primaria (RNH_2), de una amina secundaria (R_2NH), o de una amina terciaria (R_3N). Todos estos compuestos son básicos, pero el grado de basicidad varía mucho según la estructura de la molécula, y según la presencia y ubicación de otros grupos funcionales. Los compuestos de amonio cuaternario como la tubocurarina se consideran como alcaloides debido a sus importantes propiedades farmacológicas aunque posee propiedades físico-químicas diferentes (son bases solubles en agua).

Propiedades físicas y químicas

A pesar de lo difícil que es precisar las características de los alcaloides, éstos muestran un número sorprendente de propiedades físicas y químicas que les son comunes. Sus solubilidades en diferentes solventes varían en función del pH, es decir, si se encuentran al estado de bases o al estado de sales. Así al estado de bases son solubles en solventes orgánicos no polares como benceno, cloroformo, cloruro de metileno, éter etílico e insolubles en agua. En medio ácido, los alcaloides forman sales, siendo éstas solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos apolares.

Aunque algunas bases no oxigenadas (nicotina, esparteína) son líquidas a temperatura ambiente, los alcaloides bases son normalmente sólidos cristalizables, raramente coloreados.

Estado natural y distribución

La mayoría de los alcaloides oxigenados son sólidos cristalinos aunque existen algunos amorfos. Otros que carecen de oxígeno en su molécula son líquidos. En el vegetal, los alcaloides se encuentran formando combinaciones solubles al estado de sales: citratos, maleatos, tartratos, isobutiratos, benzoatos, etcétera.

Los alcaloides se encuentran distribuidos en todo el reino vegetal, abundan especialmente en plantas de regiones cálidas. Algunos ejemplos de fuentes de alcaloides en los distintos taxa son:

- en los hongos: cornezuelo del centeno en monocotilas: en las familias Liliaceae y Amarilidaceae,
- en dicotilas: en las familias Papaveraceae, Rutaceae, Solanaceae, Apocinaceae, Rubiaceae, Leguminosae.

Se habla de plantas alcaloideas cuando tiene este principio en proporción mayor a 0,01 %. La mayoría contiene entre 0,1 a 2-3 % (peso seco). En general se encuentran en baja proporción, ubicándose en cualquier órgano de la planta: raíces, hojas, cortezas, frutos, entre otras.

Importancia farmacológica

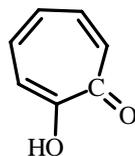
Las drogas ricas en alcaloides tienen una importancia considerable en terapéutica. Sus acciones fisiológicas son muy variadas, y sus efectos a dosis terapéutica y a dosis tóxica son a menudo muy diferentes.

Muchos alcaloides actúan como depresores del S.N.C.: estricnina, lobelina. Otros actúan sobre el S.N. Autónomo como excitantes del sistema simpático (simpaticomiméticos) por ej.: efedrina. Otros actúan como depresores de este sistema (simpaticolíticos) por ej.: ergotamina. Así también encontramos alcaloides excitantes del sistema parasimpático, por ej.: pilocarpina; y otros depresores del mismo como la nicotina.

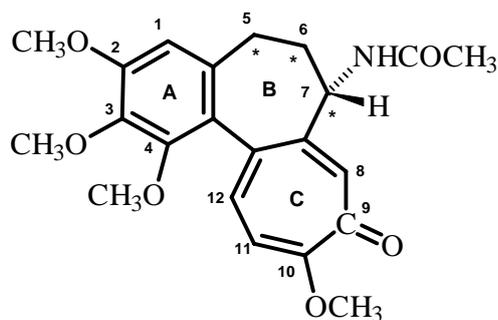
CLASIFICACIÓN QUÍMICA DE ALCALOIDES

I. Alcaloides no heterocíclicos

1. Derivados del núcleo de la tropolona cuyo N se encuentra en una cadena acetamida lateral.

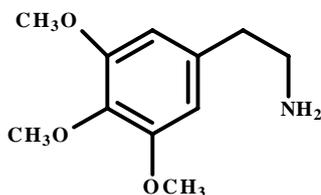


tropolona

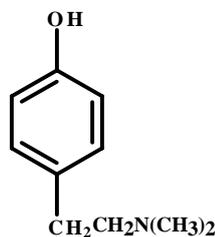


Ej: colcichina del cólchico

2. Aminas alcaloideas: protoalcaloides



Ej : mescalina del peyote



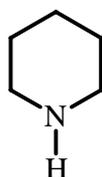
Ej : hordenina de la cebada

II. Alcaloides heterocíclicos

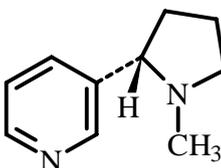
1. Derivados del núcleo de la piridina y piperidina



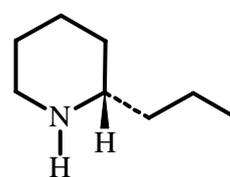
Piridina



piperidina



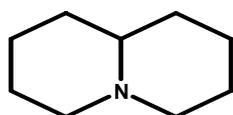
nicotina del tabaco



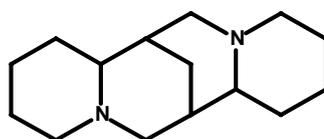
cicutina de la cicuta

A este núcleo también se le pueden relacionar los derivados de :

a) La quinolizidina = nor - lupinano (octahidropiridocolina)

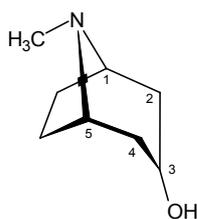


quinolizidina

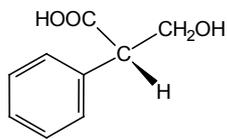


Ej : esparteína de la retama negra

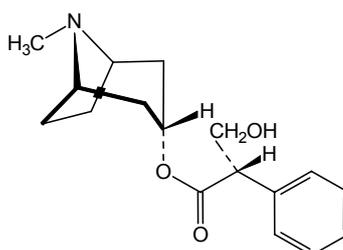
b) Del tropano = N - metil pirrolidina + N - metil piperidina



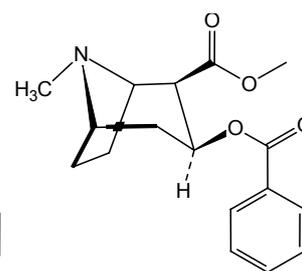
Tropina



(-) Acido

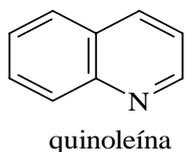


(-)-hiosciamina de la belladona

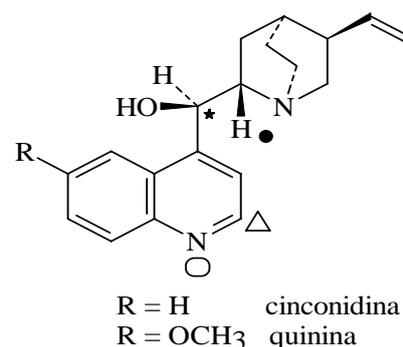


cocaína de la coca

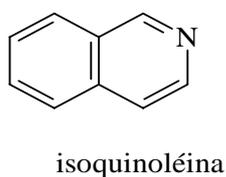
c) de la quinoleína



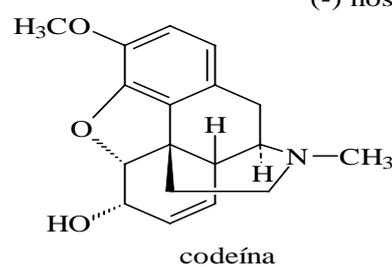
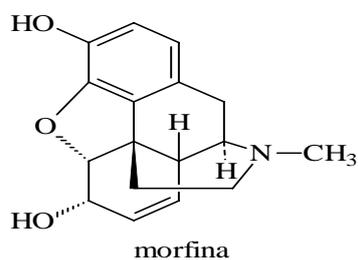
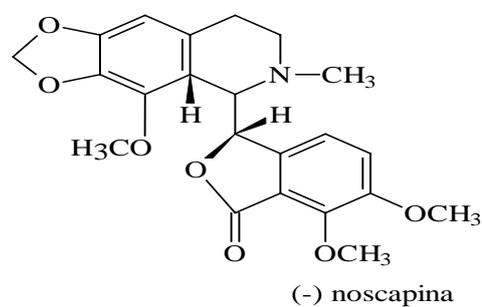
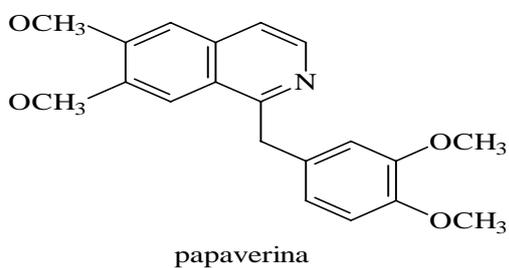
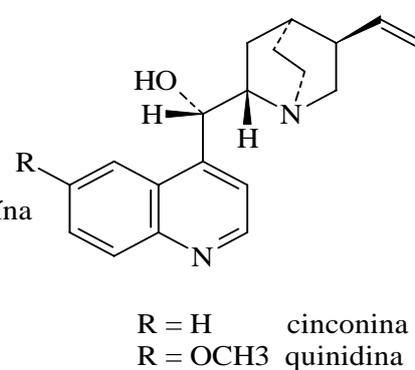
Ej : alcaloides de la quina :
quinina y quinidina



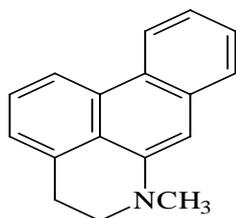
d) de la isoquinoleína



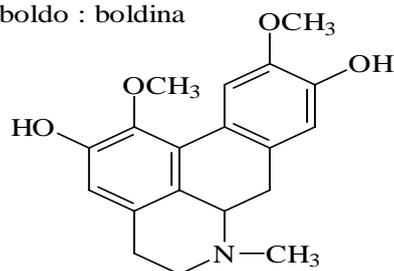
Ej : alcaloides del opio :
papaverina, noscapina, morfina, codeína



e) de la aporfina :

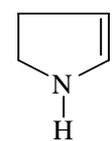


Ej : alcaloide del boldo : boldina

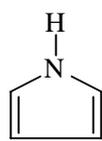


2. Derivados del núcleo del pirrol, pirrolina y pirrolidina

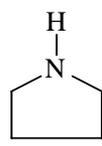
Ej : higrina, de la coca



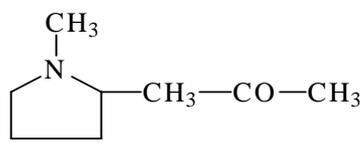
pyrroline



pyrrole



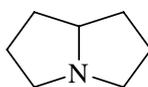
pyrrolidine



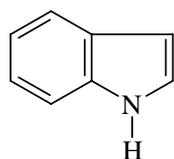
hygrine (coca)

que se encuentran relacionados con derivados de :

a) la pirrolizidina

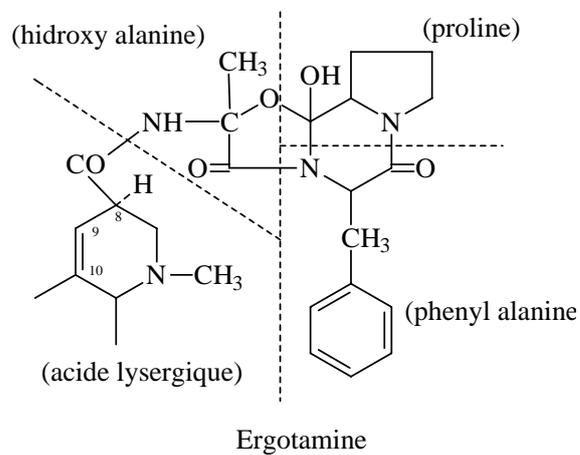


b) indol o benzopirrol



indole

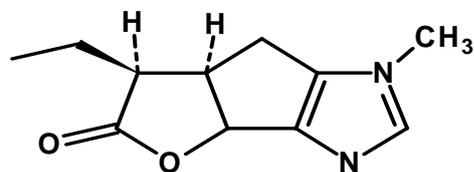
Ej : ergotamina del ergot
o cornezuelo de centeno



Ergotamine

III.- Alcaloides heterocíclicos con dos átomos de Nitrógeno.

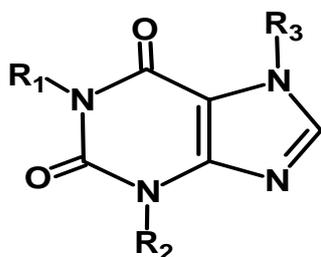
a) Derivados del núcleo imidazol



Ej. pilocarpina del jaborandi

b) de la pirimidina.

c) de la purina = imidazol + pirimidina

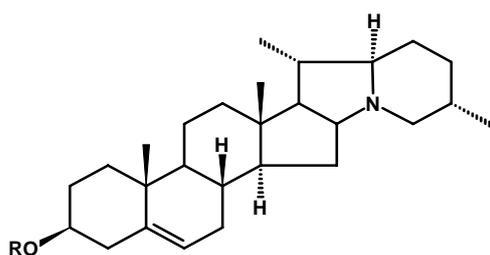


purina

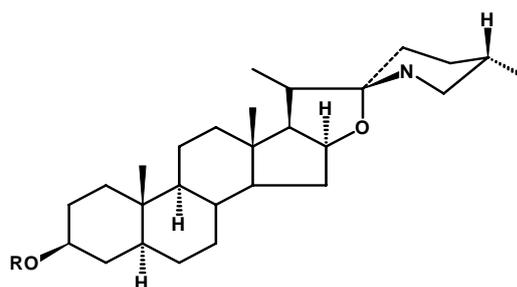
	R ₁	R ₂	R ₃
cafeína	CH ₃	CH ₃	CH ₃
teofilina	CH ₃	CH ₃	H
teobromina	H	CH ₃	CH ₃

IV. Alcaloides con estructura esteroidea.

a) derivados del ciclopentanoperhidrofenantreno



R = H : solanidina
 R = Rham-glu-gal : α-solanina



R = H : tomatidina
 R = β-licotetraosa : tomatina

Reacciones de reconocimiento

Los alcaloides como otras aminas, forman sales dobles de mercurio, oro, platino y otros metales pesados. Estas sales suelen obtenerse como precipitado. Entre las reacciones de reconocimiento de estas sustancias podemos nombrar:

a) Reacciones de precipitación:

R. de yodo iodurado (Bouchardat) → pp. pardo

R. de yoduro doble de Hg y K (Mayer) → pp. blanco-amarillento

R. de yoduro doble de Bi y K (Dragendorff) → pp. anaranjado

b) Reacciones de coloración: generalmente son reacciones a base de ácidos concentrados, dando coloración característica con ciertos alcaloides, por ej.: nitrosulfúrico.

Extracción de alcaloides

Las técnicas de extracción se basan en las siguientes propiedades generales:

a) En las plantas los alcaloides se encuentran al estado de sales de ácidos minerales u orgánicos y a veces en forma de combinaciones con otros productos como por ej.: taninos. Por lo tanto será necesario pulverizar la droga para hacerla permeable al líquido extractor.

b) Los alcaloides bases son generalmente (aunque existen excepciones) insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos poco polares.

c) Las sales de alcaloides son por el contrario solubles en agua, alcoholes, mezclas hidroalcohólicas e insolubles en solventes poco polares.

Basado en estas propiedades se han propuesto los dos métodos siguientes:

Extracción por solvente en medio alcalino

1) La droga pulverizada se humedece con solución acuosa alcalina, cuya naturaleza depende del grado de basicidad del alcaloide que se desee obtener. La solución amoniacal es de uso bastante generalizado. Para compuestos débilmente básicos se usan soluciones de carbonatos alcalinos. Para desplazar bases fuertes especialmente de combinaciones tánicas, se usan las soluciones de hidróxido de sodio o de calcio. Los alcaloides que en su molécula poseen funciones fenólicas, en medio alcalino forman fenolatos solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos, esta propiedad se utiliza por ejemplo para la obtención de morfina a partir de opio.

2) El polvo así alcalinizado se trata con un solvente orgánico que disuelve las bases desplazadas. Se emplea frecuentemente benceno, cloroformo, cloruro de metileno, éter etílico o mezclas de solventes. Esta extracción se puede hacer en frío por percolación o en caliente mediante el uso de un aparato Soxhlet.

3) El solvente orgánico es separado y concentrado por destilación a presión reducida. Este concentrado es entonces extraído en forma sucesiva por varias porciones de una solución acuosa diluida (1-2 %) de un ácido (clorhídrico, sulfúrico, tártrico, acético o fórmico) que disuelve los alcaloides y deja en solución las grasas, esteroides, pigmentos, etc. Este proceso se puede hacer en el laboratorio por simple agitación en un embudo de decantación o en un extractor líquido-líquido.

4) Las soluciones acuosas de las sales de alcaloides, decantadas y reunidas, son alcalinizadas hasta pH 8 a 13 según la naturaleza de la base y extraídas por un solvente orgánico no miscible, que disuelve las bases libres. Esto se hace en el aparataje semejante al punto 3).

5) El solvente separado, es desecado sobre sulfato de sodio anhidro y concentrado a presión reducida. Se obtiene así un residuo de alcaloides brutos.

Extracción por alcohol ácido

La droga pulverizada es extraída por una mezcla hidroalcohólica (50: 50 ó 70:30) acidificada con ácido tártrico al 5 %, o ácido sulfúrico al 1 %, que disuelve los alcaloides al estado de sal. Se concentra a presión reducida para eliminar el alcohol. La solución acuosa se lava en frío con éter de petróleo, en medio ácido este solvente no disuelve generalmente los alcaloides, pero si permite eliminar diversos compuestos que le acompañan.

Después de separar el éter, se alcaliniza el licor acuoso y se extrae igual que antes con un solvente orgánico no miscible. Este método aplicado a análisis toxicológico se conoce con el nombre de Stas-Otto.

En el curso de la extracción, los reactivos de precipitación de alcaloides sirven para verificar si la extracción es suficiente.

Estos métodos generales dan buenos resultados con la mayoría de los alcaloides. Existen sí excepciones, es el caso de las bases demasiado solubles en agua como la efedrina y colchicina; o cuyas sales son pocos solubles en agua como la berberina; o son solubles en solventes orgánicos como las bases reserpínicas de la *Rauwolfia serpentina*.

Para la obtención de alcaloides volátiles (cicutina, esparteína, nicotina) se somete a destilación con arrastre de vapor de agua la droga suspendida en una solución acuosa alcalina, recogiendo el destilado en una solución ácida, desde la cual se puede obtener el alcaloide.

Valoración volumétrica de alcaloides

En un Soxhlet colocar exactamente pesado 100 g de material seco, del cual se quiere conocer su contenido en alcaloides, agregar etanol de 95° en cantidad suficiente para humectar completamente la droga y 50 mL de ácido acético 0,2 N filtrar.

El extracto etanólico se lleva a sequedad y se disuelve el residuo en agua (50 mL). Lavar con éter de petróleo varias veces, hasta que éste salga incoloro (investigar la presencia de alcaloides en este extracto con R. de Dragendorff). Extraer la fase acuosa con cloroformo hasta que de negativo. Se obtiene el extracto (A) alcaloideo cloroformo ácido. Al extracto acuoso se le agrega NaHCO_3 hasta pH 8 y se extrae con cloroformo, hasta reacción negativa con R. de Dragendorff. Se obtiene el extracto (B) clorofórmico neutro. El extracto acuoso remanente se alcaliniza con NaOH hasta pH 12 y se extrae con cloroformo, hasta reacción negativa con R. de Dragendorff. Se obtiene el extracto (C) clorofórmico alcalino.

Se lleva a sequedad los extractos A, B, C por separado y cada residuo se suspende en 10 mL de agua. Agregar cantidad exactamente medida de HCl 0,1 N ó 0,01 N (deberá buscarse cual es el más adecuado para cada muestra), luego titular el exceso de ácido con NaOH 0.1 N usando como indicador rojo de metilo.

Reacciones específicas de las drogas alcaloideas más importantes.

Grupo derivado del indol. Alcaloides del cornezuelo del centeno

Es una droga de origen patológico, que se origina por la infección del hongo **Claviceps purpurea**, Hypocreaceae, sobre el **Secale cereale**, Gramineae. La droga corresponde al esclerocio desecado resultante de la acción parasitaria.

La droga es rica en glúcidos, lípidos, materias minerales, proteínas y aminoácidos.

Los principios activos son alcaloides derivados del indol, y su concentración no debe ser inferior al 0,15%, expresados como ergotoxina y 0,01% de alcaloides solubles en agua como la ergonovina. Sus principios activos se dividen en dos grupos:

1.- Alcaloides **polipeptídicos insolubles en agua**

ergotamina: formado por dos pares de alcaloides

- ergotamina – ergotaminina
- ergosina - ergosinina

ergotoxina: formado por tres pares de alcaloides

- ergocornina - ergocorninina
- ergocristina - ergocristinina
- ergocriptina - ergocriptinina

2.- Alcaloides **no polipeptídicos solubles en agua**

ergometrina o ergonovina o ergobasina

Usos: los del primer grupo se usan preferentemente en el tratamiento de jaquecas, especialmente los derivados hidrogenados en C₉-C₁₀, como la **dihidroergotamina**. Estos disminuyen el flujo de sangre extracraneano disminuyendo así el dolor de cabeza o jaqueca.

La ergometrina en cambio tiene una acción oxitócica selectiva, aumenta el ritmo y la fuerza de las contracciones uterinas. La hipertonia uterina reduce el calibre de los vasos sanguíneos, derivando en un efecto antihemorrágico. Se usa para prevenir hemorragias postparto.

1) **Reacciones de identificación:** por caracterización de los pigmentos quinónicos. Los pigmentos extraídos con éter en medio ácido comunican a éste una coloración rosa virando a violeta por alcalinización.

- Colocar en un tubo de ensayo alrededor de 0,5 g de polvo de cornezuelo.
- Humedecer con gotas de ác. sulfúrico al 10 %.
- Agregar 3 mL de acetato de etilo. Dejar en contacto 10' agitando de vez en cuando.
- Decantar en un tubo de ensayo el acetato de etilo coloreado de rosa y agregar solución de Na₂CO₃ al 10 % en el fondo del tubo, cuidando de formar dos capas.
- Observar el anillo violeta formado en la zona de contacto.

2) **Caracterización del polvo de cornezuelo de centeno:** después de desengrasar el polvo con éter de petróleo, los alcaloides se extraen con éter amoniacal y se purifican por pasaje a medio acuoso al estado de tartratos. Sobre la solución tártrica se practica la reacción de Van Urk, coloración azulviolácea por adición de p-dimetil aminobenzaldehído sulfúrico. Este método es utilizado para el dosaje de los alcaloides.

1.- En un tubo de ensayo colocar 0,5 g de polvo.

2.- Agregar 3 mL de éter de petróleo. Dejar en contacto 5' agitando. Decantar.

- 3.- Sobre el residuo del polvo agregar 4 mL de éter y 3 gotas de solución oficial de amoníaco, tapar, agitar, dejar en contacto 1 hora agitando de tiempo en tiempo.
- 4.- Poner en evidencia los alcaloides extraídos colocando gotas sobre papel para cromatografía. Revelar por pulverización con el reactivo de Dragendorff.
- 5.- Observar la coloración roja poco intensa para los alcaloides de este grupo.
- 6.- Colocar 2 mL de licor etéreo en un tubo de ensayo que contenga 2 mL de una solución acuosa de ácido tártrico al 5 %. Agitar y dejar reposar.
- 7.- Con ayuda de una pipeta tomar 1 mL de la capa acuosa inferior y colocarla en otro tubo.
- 8.- Agregar 1 mL de reactivo p-dimetil aminobenzaldehido sulfúrico.
- 9.- Observar la coloración azul violácea estable que se desarrolla lentamente.

Grupo del tropano

Belladona

La droga está constituida por las hojas de *Atropa belladonna*, Solanaceae

Características macroscópicas: polvo de color verde, fino y suave al tacto.

Reacción de Vitali: el residuo de alcaloide (sulfato de atropina), se trata por 2 veces seguidas con gotas de HNO₃ fumante, evaporando cada vez a sequedad a baño maría. Se enfría, se agregan 5 mL de acetona y gotas de solución de KOH en alcohol metílico. Observar coloración violeta intenso.

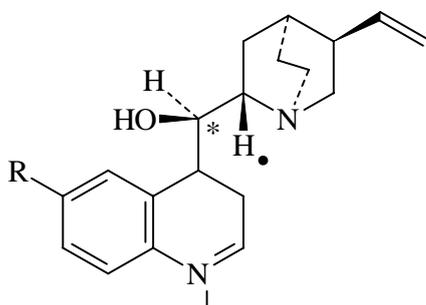
Grupo de la quinolina

Quina

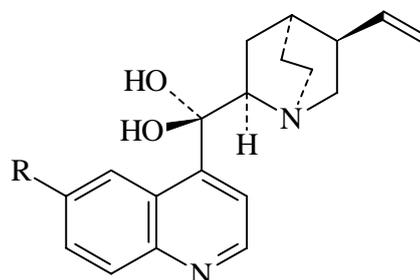
La droga está constituida por la corteza tanto del tronco como de la raíz de diversas especies del género *Cinchona*, Rubiaceae. Las cortezas son ricas en taninos catéquicos (3-5%) que se oxidan fácilmente a flobafenos: rojo de quina. Sus principios activos son los alcaloides que pueden estar presentes hasta en un 15% dependiendo de la especie. Una de las especies conocidas es la *C. succirubra*, que contiene entre un 3-8% de alcaloides. Los principales alcaloides forman dos pares de estereoisómeros: quinina y quinidina por una parte y cinchonina y cinconidina por otra. La quinina y la cinconidina son levógiros, mientras que la quinidina y la cinchonina son dextrógiros.

Algunos alcaloides de la quina.

Cinchona succirubra L. Rubiaceae



R = H cinchonidina
R = OCH₃ quinina



R = H cinconina
R = OCH₃ quinidina

Propiedades farmacológicas

La **quinina** es un tóxico celular que actúa sobre los protozoos: su toxicidad hacia los *Plasmodium* explica sus propiedades antimaláricas. Sus efectos cardíacos son idénticos a la de la quinidina, pero se manifiestan débilmente a las dosis antipalúdicas. Por deprimir los centros de la termogénesis, tiene efecto antipirético en sujetos febriles. A dosis elevadas es depresor del sistema nervioso central, lo que explica que las manifestaciones de la intoxicación sean irritabilidad y confusión, trastornos de la percepción visual y fotofobia, vértigos y zumbidos.

La **quinidina** es un antiarrítmico. Reduce la entrada de sodio a la célula, disminuye la velocidad de despolarización celular y prolonga la duración del potencial de acción. Disminuye la excitabilidad, deprime la conducción y disminuye la frecuencia cardíaca. Es relativamente tóxica, pudiendo dar lugar no frecuentemente a algunas manifestaciones inmunoalérgicas. Puede también producir trastornos visuales, del equilibrio e intolerancia gástrica.

La **droga** completa es antimalárica, antipirética, tónica y astringente. Además de los usos farmacéuticos, las quinas y las sales de quinina tiene aplicación en licoristería y en la preparación de bebidas "tónicas".

Caracterización de los alcaloides (sulfato de quinina): las soluciones de sales oxidadas de los principales alcaloides de la quina (en especial la quinina) presentan, aún a muy baja concentración, una fluorescencia azul a la luz U.V. Esta fluorescencia desaparece por adición de HCl.

- En un tubo de ensayo colocar 0.2 g de droga. Agregar 10 mL de H₂SO₄ al 1 %.
- Agitar, dejar reposar y filtrar.
- Colocar 1 mL de filtrado en otro tubo de ensayo. Agregar 9 mL de agua. Agitar.
- Colocar el tubo bajo la luz U.V y observar la fluorescencia azul intensa de la solución.
- Agregar unas gotas de HCl puro, agitar y observar la extinción de la fluorescencia.

Reacción de la Talioquina: en 5 mL de una solución ligeramente sulfúrica de quinina, se agrega agua de cloro o bromo (en cantidad de 3 gotas) evitando un exceso (alrededor de 1/10 de su volumen), luego NH₃ al 0.5 % en razón de 1 gota por mL de solución inicial. Se desarrolla una coloración verde intensa. La coloración verde pasa a rojo sangre por adición de H₂SO₄ diluido.

Reacción de Eritroquina: a 2 mL de solución de sulfato de quinina al 1/1000 se agrega agua de bromo hasta que el precipitado formado no aumente más (alrededor de un volumen igual al de la solución inicial), luego una solución saturada de ferrocianuro de K en cantidad suficiente para disolver el precipitado bromado. Luego se agrega NH_3 en exceso produciendo coloración roja que pasa poco a poco a verde.

Reacción de Grahe: es específica para quina. Calentar alrededor de 0.5 g de polvo de quina en el fondo de un tubo seco; se producen vapores rojo púrpura o rojo carmín, los que se condensan en forma de gotitas del mismo color en las paredes del tubo. Esta reacción se utiliza para el reconocimiento rápido de la corteza de quina.

Grupo de la aporfina

Boldo

Nombre científico: *Peumus boldus* Mol., Familia : Monimiaceae

Composición química: La droga seca contiene un 1 a 3% de aceite esencial compuesto de monoterpenoides (incluyendo hidrocarbonados [limoneno, β - pineno, *p*-cimeno], linalol, cineol, canfor, ascaridol). También se advierte la presencia de glicósidos de flavonoles comunes (ramnetina, isoramnetina, y derivados del canferol).

Los alcaloides (0,2 - 0,5 %) son aporfinoideos, e incluyen a la boldina (constituyente principal), isoboldina, isocoridina, norisocoridina, laurotetanina, y laurolitsina.

Ensayo: El análisis de cromatografía en capa fina del total de alcaloides muestra la presencia de boldina y de los principales alcaloides presentes en la droga. La Farmacopea Francesa exige dos cuantificaciones. La primera es del aceite esencial (no menos de 2%), y la segunda es del total de alcaloides: se hace una extracción con acetato de etilo en condiciones alcalinas, se purifica mediante la formación de sulfatos, se restituye la base, y se cuantifica más tarde por acidimetría indirecta; la hoja de boldo debe contener no menos de 0,2 % del total de alcaloides, expresados como boldina, y calculados en relación al material seco.

Actividad farmacológica: Si bien en investigaciones llevadas a cabo en 1977 se estableció que altas dosis de boldina, del total de alcaloides, o el extracto etanólico purificado de boldo aumentan transitoriamente la secreción biliar en ratas anestesiadas, experimentos más recientes en los mismos animales mostraron una actividad colerética no detectable. Por otro lado, el más reciente trabajo mostró que altas dosis del extracto hidroalcohólico inhibe la peroxidación de lípidos (en cultivos de hepatocitos de rata) y protege al hígado frente a los efectos tóxicos del tetracloruro de carbono (en ratón). La boldina es responsable de estas actividades y su habilidad para proteger *in vitro* a sistemas biológicos frente a la acción peroxidante de los radicales libres fue confirmada por otros autores en homogenizado de cerebro de rata. Además, la boldina ejerce, *in vitro*, un efecto relajante en el músculo liso (en íleon de rata), por interferir directamente con el mecanismo colinérgico involucrado en la contracción.

Usos: Los extractos de boldo, y la boldina extraída de hojas y corteza del árbol, son ingredientes de los medicamentos usados en el tratamiento de la dispepsia (hinchazón epigástrica, eructación, flatulencia). En este tipo de preparados farmacéuticos, el boldo es generalmente combinado con otras drogas con reputación de colagogos, tales como la alcachofa o especies del género *Combretum*. Otras combinaciones (con sen, espino cerval, cáscara sagrada, escamonea) son indicadas para el tratamiento sintomático de la constipación.

Basados en los conocimientos fitofarmacéuticos las hojas de boldo pueden tener dos indicaciones: tradicionalmente usado para aumentar las funciones de eliminación renal y digestiva; y como colerético y colagogo.

Trabajo práctico 5

1. Análisis por c.c.f. de un extracto obtenido desde hojas de boldo

- Extraiga 1 un gramo de droga pulverizada (hoja de boldo) con 5 mL diclorometano.
- Agregue 6 gotas de amoníaco diluido al 0,5% para asegurar el medio alcalino (comprobar con papel pH = 8-9) y macere durante 5 min.
- Siembre el extracto (siembre al menos 10 veces) y el patrón de boldina (siembre 2 veces) en un cromatofolio:
 - Fase estacionaria: Gel de sílice
 - Fase móvil: acetato de etilo: metanol = 1: 1
 - Reactivo revelador: Dragendorff

La boldina presenta un Rf de 0,5; presenta fluorescencia a la luz U.V. a 365 nm y presenta un color café al revelar con reactivo de Dragendorff.

2. Extracción de alcaloides

a) Extracción en medio alcalino

Se practicará en polvo de hoja de *Atropa belladonna*, Solanaceae.

- Coloque 1 g de droga vegetal en un matraz Erlenmeyer de 50 mL.
- Humedezca con 10 mL de amoníaco diluido (0,5%) hasta pH= 8 a 9 (compruebe con papel pH).
- Agregue 8 mL de diclorometano y deje reposar 30 min agitando de vez en cuando.
- Filtre y lleve el filtrado a un embudo de decantación.
- Agregue 4 mL de solución de HCl 0,1 N y agite.
- Retire la fase superior acuosa y filtre a través de papel filtro plegado y mojado recogiendo el filtrado en un tubo de ensayo (**solución A**).

b) Extracción en medio ácido (no se realizará este ensayo en este práctico)

Se practicará en polvo de corteza de *Cinchona succirubra*, Rubiaceae.

- Coloque 2 g de polvo de quina en un matraz Erlenmeyer de 50 mL.
- Agregue 10 mL de HCl 1 N. Agite y deje por 30 min.
- Filtre, recogiendo el filtrado en un embudo de decantación.
- Agregue 10 mL de hexano y tantas gotas de solución de NaOH como sean necesarias para obtener una franca alcalinización (controlar con papel tornasol) y agite.
- Deje reposar y separe la fase etérea (solución B).
- Con una micropipeta coloque gotas de esta solución sobre un trozo de papel filtro.

3. Reacciones de identificación

3.1. Reacciones de precipitación

Las soluciones acuosas ácidas de alcaloides dan con muchos reactivos yodados precipitados coloreados característicos:

Con el R. de Bouchardat (sol. de yodo yodurado) da precipitado café.

Con el R. de Dragendorff (sol. ácida de yodobismutato de K) da precipitado anaranjado.

Con el R. de Mayer (sol. ácida de yoduro de mercurio y potasio) da precipitado blanco crema.

- Reparta la solución A en 3 tubos de ensayo.
- Agregue al primero 2 gotas de R. Bouchardat, al segundo 2 gotas de R. Dragendorff y al tercero 2 gotas de R. Mayer.
- Observe los precipitados.

3.2. Reacciones de coloración en papel

Los alcaloides a partir de soluciones orgánicas en soportes inertes (papel filtro y adsorbentes) pueden ser revelados gracias a las coloraciones que ellos dan con ciertos reactivos. Este método permite revelarlos después de cromatografiar. Así, con el reactivo de Dragendorff convenientemente diluido se obtienen coloraciones que varían desde el rojo anaranjado al violeta, según la naturaleza del alcaloide. Con el reactivo de yodoplatinato de potasio las coloraciones van desde café a gris azulado.

- Revele con el reactivo de Dragendorff diluido, las manchas de la solución B que había colocado en el papel filtro.

Resinas y Esencias

Resinas

Las resinas son productos de constitución compleja, que se forman en el aparato secretor, sea estos conductos o cavidades esquizógenas o esquizolisígenas. Representan productos finales del metabolismo vegetal. En su mayoría son sustancias amorfas, duras a temperatura ambiente de aspecto transparente o traslúcidas, que por calentamiento se ablandan y funden. No son arrastrables por vapor de agua. Son insolubles en agua, aunque algunos de sus componentes, pueden serlo. Generalmente son insolubles en éter de petróleo, solubles en alcohol y más o menos solubles en diferentes solventes orgánicos (cloroformo, éter etílico, acetona). Se cree que muchas resultan de la oxidación de los terpenos. Generalmente son mezclas más o menos complejas de ácidos y alcoholes resínicos, resinotanoles, ésteres y resenos.

Clasificación Química

Ácidos resínicos: contienen una gran porción de oxiácidos y muchas veces poseen las propiedades de los carboxílicos y de los fenoles. Se presentan al estado de libre o esterificados, por ejemplo: el ácido abiético de la colofonia.

Alcoholes resínicos: son alcoholes complejos de alto peso molecular que se conocen como resinotanoles, son los que dan la reacción del tanino con las sales de hierro, mientras que los que no dan reacción se denominan resinoles. Pueden ser alcoholes aromáticos, triterpénicos, etc.

Resenos: son sustancias neutras complejas que no poseen propiedades químicas características. No forman sales ni ésteres, son insolubles en álcali y resisten la hidrólisis alcalina, son derivados de los terpenos.

Resinas: son mezclas complejas que dan por hidrólisis azúcares y ácidos resínicos complejos. Se dividen en:

- resinas propiamente dichas
- gomoresinas
- oleoresinas
- bálsamos
- glicoresinas

Drogas vegetales que contienen resina:

A) Resina de guayaco: se obtiene a partir del leño del guayaco, *Guaiacum officinale* L., donde se encuentra en porción de 20-25 %.

La resina está constituida por un 70 % de ácido guayacónico y ácido guayarético.

Existen dos técnicas de extracción:

- 1) por calentamiento del leño desde el cual exuda con facilidad.
- 2) tratamiento de virutas con alcohol y precipitación por agua del alcohol concentrado.

Uso: reactivo clásico para la búsqueda de oxidasas, por colorearse de azul en presencia de oxidantes. Es un antioxidante.

Reacción de identificación. Tintura de guayaco: macerar 5 g de droga en acetona. Filtrar y agregar al filtrado una solución de acetato de cobre al 10 %. Se produce un precipitado de color verde esmeralda.

B) Droga vegetal marihuana

La droga está constituida por las sumidades floridas y no fecundadas desecadas ricas en resina, de la planta femenina de *Cannabis sativa* L. variedad *indica*, (Cannabaceae). La inflorescencia de color pardo tiene propiedades estupefacientes que existen en menor grado en la variedad textil (*Cannabis sativa* variedad *vulgaris*).

La marihuana es una planta herbácea, alta, anual, dioica, áspera que se da bien en terrenos abonados y suelos cultivados. El tallo puede alcanzar 1 a 2 m de alto y lleva numerosas hojas alternas, compuestas y palmeadas. Las flores de la planta masculina se encuentran agrupadas en panojas y las inflorescencias femeninas son espigas cortas, compactas mezcladas con brácteas foliáceas. El fruto es un aquenio. Las condiciones de cultivo modifican mucho el aspecto de la planta. En la variedad *indica*, la inflorescencia es poco elevada, compacta y resinosa.

Fue utilizada antiguamente en la medicina china como analgésico y anestésico, entre otros usos. Posteriormente se expandió al Oeste y fue utilizada en Europa, donde se utilizó como medicamento para el tratamiento de la migraña y neuralgias. Actualmente su uso terapéutico está prohibido, siendo objeto de un tráfico ilícito considerable.

a) Caracteres macroscópicos de la droga: sumidades floridas que llevan restos de tejidos fibrosos de sección acanalada, fragmentos de hojas de bordes dentados, inflorescencias con brácteas espesas y velludas, aquenios de aspecto nacarado.

b) Caracteres anatómicos: el tallo de estructura normal de dicotiledónea se caracteriza por sus fibras celulósicas de paredes espesas y lumen angosto. La hoja lleva sobre la epidermis de ambas caras, tricomas unicelulares curvos, los cuales poseen en su base un cistolito de carbonato de calcio. Existen también tricomas secretores de base y cabezuela multicelular.

c) Caracteres microscópicos: polvo de color verde parduzco donde se observan fragmentos de epidermis, pelos unicelulares aovados algo ensanchados en la base conteniendo masas resinosa, otros mucho más cortos y más ensanchados en la base que contienen un cistolito de carbonato de calcio, drusas muy pequeñas, parénquima verde.

d) Composición química de las inflorescencias:

Se han aislado e identificado numerosos compuestos: aceite esencial, flavonoides, osas, ácidos grasos, compuestos nitrogenados (aminas, amonios, alcaloides derivados de la espermidina).

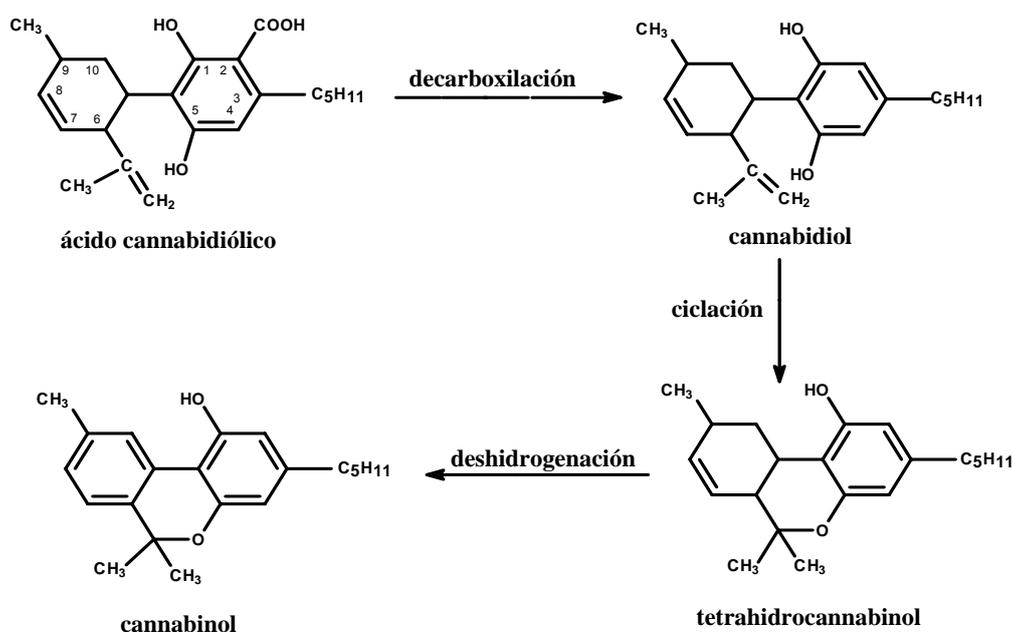
El **principio activo** es una **resina**, la cual se encuentra en proporciones muy variables según su origen geográfico. La droga de la India posee 10-20 %, mientras que la de Europa posee menos de 5 %.

La resina es soluble en alcohol absoluto, éter etílico, cloroformo y excepcionalmente éter de petróleo. Se han aislado varios constituyentes, siendo todos de naturaleza fenólica.

En 1900 se aisló **canabinol** como un aceite, posteriormente se le obtuvo cristalizado al estado de acetato. Su constitución fue confirmada por síntesis, posee un núcleo amilo resorcinol y un núcleo p-cimeno. Otro compuesto difenólico es el **canabidiol**, obtenido al estado de

dinitrobenzoato cristalizado. Estas dos sustancias **no** poseen las propiedades estupefacientes de la resina.

Durante los ensayos de síntesis del cannabinol se obtuvo el **tetrahidrocannabinol**, que tiene las propiedades características del **haschich**. Existen muchos isómeros de este compuesto que se diferencian en su poder rotatorio y la posición del doble enlace en el núcleo p-cimeno. Una mezcla de estos isómeros fisiológicamente activos deben existir en la resina natural:



Composición de la resina y biogénesis de sus constituyentes

En 1958 se aisló un nuevo compuesto del cañamo de Europa Central, se trata del ácido cannabiniólico, obtenido a baja temperatura y presión reducida. Este compuesto es fácilmente descarboxilado dando cannabidiol.

Esta droga tiene diferentes nombres según las regiones: en **India**, el **Bhang** es una mezcla de inflorescencias tanto femeninas como masculinas, fumadas tal cual o mezcladas con tabaco u opio. Es poco activo como estupefaciente. En este mismo país se encuentra el **Ganjah** constituido por las inflorescencias femeninas ricas en resinas, se presenta en masas aplastadas, es muy activo y es fumado en pipas especiales.

Otro producto originario de la **India** es el **Chara** que está constituido por la resina recolectada en las plantaciones. Se obtiene frotando las sumidades floridas entre las manos, restregando la materia resinosa sobre una estera o sobre un lienzo, de donde se recoge.

- en **Arabia** y **Egipto** se tiene el **Haschich**, producto análogo al ganjah, adicionado de miel e ingredientes aromáticos de las Solanáceas.
- en **Sudamérica**, **México** y **Estados Unidos** se fuma marihuana (inflorescencias) mezclada con tabaco.
- en **Tunes** se utiliza el **Tkrouri** que consiste en sumidades picadas, tamizadas y repartidas en paquetes. El **Kif** es un producto fraudulento introducido en **Argelia**.

- en **Turquía** se prepara el extracto acuoso adicionado de plantas aromáticas y afrodisíacas, recibe el nombre de **Hafioum**.

El espectro UV: el extracto alcohólico de la resina de *C. sativa* variedad *indica* presenta máxima absorción a 256 y 283 nm, y un mínimo a 246 y 250 nm.

Trabajo práctico 6

Parte I: Resinas

Reacciones de coloración

Se practicarán en extractos de hexano, obtenidos por maceración en frío durante algunas horas de las flores femeninas de marihuana.

1. Reacción de Ghamravy:

Lleve a sequedad 1 mL del extracto.

Al residuo de evaporación, agregue 1 mL del reactivo **p-dimetil amino benzaldehido sulfúrico**.

Caliente algunos minutos a baño maría y observe la coloración roja intensa.

2. Reacción de Duquenois

- Lleve a sequedad 1 mL del extracto.
- Al residuo de evaporación, agregue 1 mL del reactivo de **Duquenois** (1 g de vainillina y 10 mL de aldehído acético en alcohol de 95°)
 - Adicione 2 mL de HCl conc.
- Luego de 10 minutos observe la aparición de una coloración azulada intenso. Esta reacción es sensible y específica.

3. Reacción de Identificación Fast Blue

3.1. En material vegetal de cannabis: mediante Test de sal de azul sólido B

Reactivos: sal de azul sólido B (Fast blue B salt) y sulfato de sodio anhidro, preparado pesando 1 g de sal de azul sólido B, y diluyéndolo con 100 g de sulfato de sodio anhidro.

Tratamiento de la muestra:

- Pliegue dos círculos de papel filtro en 4 partes y ábralos formando dos embudos concéntricos.
- Coloque una pequeña cantidad de muestra pulverizada (hierba, resina o aceite de ***Cannabis sativa*** L.) en el centro del primer filtro.
- Agregue gotas de éter de petróleo sobre la muestra hasta humectar el segundo filtro. Deseche el primero y deje secar el segundo filtro.
 - Deposite una pequeña cantidad de reactivo preparado anteriormente, en el centro de este segundo filtro.
- Agregue dos gotas de agua al centro del filtro, sobre el reactivo y expanda la mezcla sobre el papel con la espátula.

La aparición de mancha color rojo-violácea indica reacción positiva para cannabinoles. Si no da la reacción con agua agregue además dos gotitas de hidróxido de sodio al 1%.

3.2. En extracto hexánico de cannabis: mediante c.c.f. empleando sal de sólido B como revelador

- Realice una cromatografía en capa fina empleando como:
 - Adsorbente: gel de sílice G
 - Solvente: hexano y dietil éter (80:20)
 - Revelador: sal de fast blue seguido de NaOH 0,1 M, observe a la luz visible.
- Observe las zonas de color rojo violáceo a rojo anaranjado.
- Observe también en las c.c.f. del Plant Drug Analysis el Rf del THC y la c.c.f. patrón que se encuentran en la web de la asignatura y a su disposición en el laboratorio.

Esencias

Las esencias, aceites esenciales o aceites volátiles son los principios con aroma que existen en diversas partes de las plantas. Debido a que se evaporan por exposición al aire a temperatura ambiente, se denominan aceites volátiles, aceites etéreos, aceites esenciales o esencias. Químicamente, son mezclas complejas formadas por compuestos de diversos tipos. Generalmente están constituidos por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos. Los terpenos más comunes son el limoneno y el pineno, el primero de ellos es uno de los terpenos monocíclicos más ampliamente distribuidos en la naturaleza. La oxigenación de los terpenos puede producirse naturalmente, como lo demuestra la presencia de alcoholes, aldehídos, cetonas, fenoles, ésteres fenólicos, ésteres y óxidos en las esencias. Estos compuestos oxigenados son los responsables de los olores, sabores y propiedades terapéuticas que caracterizan a estos compuestos.

Si bien a veces los terpenos no oxigenados constituyen un gran porcentaje de la porción líquida de la esencia (recibe el nombre de eleopteno), en realidad el principal componente está constituido por los terpenos oxidados (estearopteno) que es o son los responsables de las propiedades físicas, químicas y farmacológicas del producto volátil.

Los estearoptenos suelen ser líquidos o sólidos. El mentol, el timol y el anetol son estearoptenos sólidos; el eucaliptol, el eugenol y el salicilato de metilo son hidrocarburos oxigenados líquidos.

Descripción de drogas ricas en esencia

A. Eucaliptus: la droga está constituida por las hojas de *Eucalyptus globulus*, Myrtaceae. El eucaliptus es un árbol procedente de Australia y Tasmania. Se cultiva en Europa, donde el principal productor es el Sur de Francia y España (Andalucía). También se cultiva en EEUU, especialmente California y en Chile. Las hojas son de dos tipos: a) ramas jóvenes o renuevos de árboles antiguos, que llevan hojas opuestas, sésiles con limbo horizontal ovalado, delgado de color verde plumizo recubierto de una capa cerosa. b) ramas antiguas con hojas alternas, cortamente pecioladas, limbo falciforme, vertical, recibiendo por consecuencia la luz en ambos lados.

Se usan las hojas falciformes por ser más aromáticas.

Composición química:

5-10 % agua

5-10 % materias minerales

Algo de taninos, resina, principio amargo

Flavonoides: rutina, eucaliptina (5-hidroxi- 7,4'-dimetoxi-6,8-dimetilflavona)

1-3% de esencia: 70- 80 % de 1,8-cineol o eucaliptol (éter- óxido terpénico)

Además posee:

- hidrocarburos terpénicos: 8 % α -pineno
- pequeña cantidad de alcoholes alifáticos o sesquiterpenos (endosmol)
- aldehídos (butírico, valeriánico, caproico, citronelal (de cadena larga)
- cetonas

La esencia se obtiene por destilación en corriente de vapor de agua, de las hojas frescas. Esta se rectifica para eliminar aldehídos que le dan el mal olor. Es un líquido incoloro o amarillo pálido con olor característico, ligeramente alcanforado. Sabor purgante y refrescante.

No debe contener menos de 70 % de cineol. Una esencia de buena calidad puede llegar a un 85 %. El cineol se obtiene de la esencia, por destilación fraccionada y posterior congelamiento del destilado.

- Punto de ebullición cineol: 176- 177°C
- Punto de congelamiento: no más bajo de 0°C

Uso: Tiene propiedades antisépticas, balsámicas y expectorantes. Se utiliza al 10% en infusos e inhalaciones, como antiséptico del aparato respiratorio. También en la fabricación de pastillas, gomas y pastas dentífricas.

B. Manzanilla

La droga está constituida por los capítulos florales de ***Matricaria chamomilla*** L.= ***Chamomilla recutita*** (L.) St. Rauschert., Asteraceae.

Esta droga está descrita en las farmacopeas: europea, alemana, francesa, norteamericana y chilena.

Las flores deben ser recolectadas poco después de la floración y secadas inmediatamente. Deben guardarse protegidas de la luz y humedad, ya que pierden rápidamente el aceite esencial, el que se reduce en un 50 % después de un año de almacenamiento.

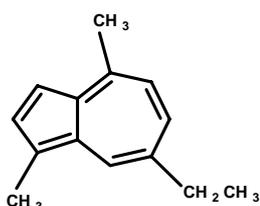
El contenido de trozos de paja (restos de tallo y hojas) de la droga no debe ser superior al 20 %. La porción de paja debe separarse con tamiz.

Tiene olor aromático agradable característico, sabor aromático y levemente amargo.

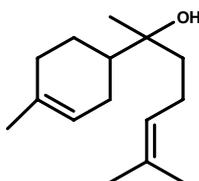
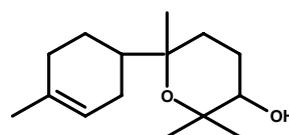
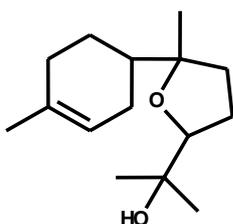
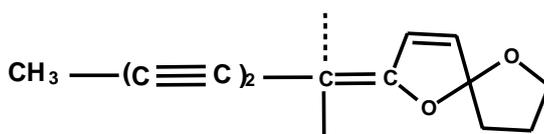
Principios activos:**a) Aceites esenciales: 0,5 % - 1,5 %**

La Farmacopea Europea especifica no menos de 0,4%. El aceite esencial viscoso de color azul o azul verdoso es el principal componente activo. Se encuentra principalmente en las flores tubulares, las que lo contienen aproximadamente en un 65 %, el receptáculo posee un 25 % y las flores liguladas sólo 10%.

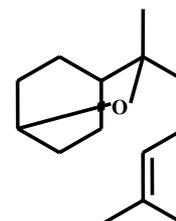
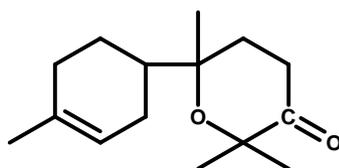
Los componentes activos pertenecen a la clase de los sesquiterpenos cíclicos: chamazuleno (1- 15%), bisabolol (10- 25%), óxidos de bisabolol A y B (10- 25%), un éter cíclico poliino (cis-trans-en-in-dicicloéter) (1- 40%) y diversos hidrocarburos.



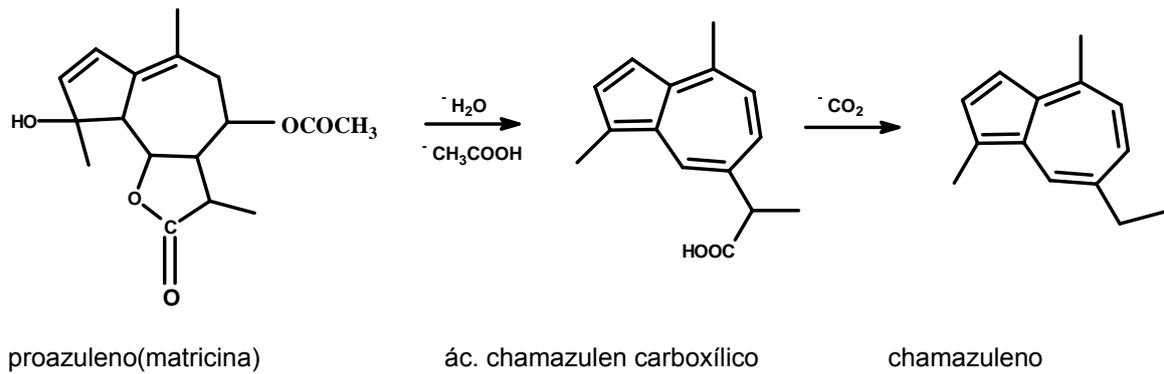
Chamazuleno

(-) - α - Bisabolol(-) - α - óxido de Bisabolol A(-) - α - óxido de Bisabolol B

cis (trans) - en - in - dicicloéter

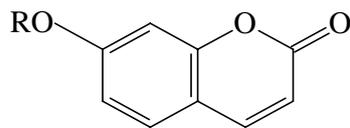
(-) - α - óxido de Bisabolol C(-) - α - óxido de Bisabolona A

El **chamazuleno** no se encuentra como tal en la planta, se forma recién en la destilación o en el procesamiento de la droga a partir de pro-chamazuleno o **matricina** incolora.



b) Principios activos fijos o no volátiles:

- cumarinas: umbeliferona y su éster metílico, la herniarina, que son débilmente espasmolíticas.
- flavonoides: 0,5- 3 % apigenina y su 7- O-glucósido.
- polifenoles: ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico.



R = H umbeliferona

R = CH₃ herniarina

Trabajo práctico 6

Parte II: Esencias

1. Valoración de esencias de eucaliptus

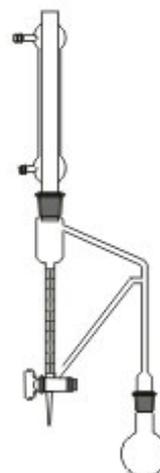
En el práctico se trabajará con hojas de eucaliptus, donde el método consiste en la obtención de la esencia en pequeña escala y medición directa del volumen obtenido por arrastre con vapor de agua. Conocida la densidad de la esencia fácilmente se calculará el peso de dicho volumen.

- Pese 50 g de droga cuando su contenido esencial es de 1-2 %, si es más rica se pesa menos cantidad (10-20 g) y si es pobre 100 g.
- Introduzca la droga fresca, pesada y picada en el momento, en el recipiente de doble pared, adaptando a éste un aparato de condensación, llamado Clevenger, que consta de las siguientes partes, comunicadas entre sí para formar un circuito cerrado:

- un tubo vertical
- un refrigerante de bolas
- un tubo graduado
- un tubo que cierra el circuito

En la salida del refrigerante hay un pequeño tubo lateral, donde se coloca un corcho con un tubo capilar, como tubo de seguridad. El tubo graduado se comunica al exterior por medio de una llave. El tubo que cierra el circuito permite al agua saturada de esencia volver al balón o recipiente de doble pared.

Funcionamiento: Instalado el sistema, los vapores que arrastran la esencia se condensan en el refrigerante, depositándose el agua y esencia en el tubo graduado. Si la esencia es menos densa que el agua, se irá a la superficie de ésta, pudiéndose medir su volumen directamente en el tubo. Se lee directamente y se hacen los cálculos correspondientes.



2. Cromatografía en capa fina de aceite esencial de manzanilla

- Extraiga 1 g de manzanilla triturada con 5 mL de diclorometano, agite durante 10 minutos.
- Filtre el extracto.
- Realice una cromatografía en capa fina orientada a la detección de sesquiterpenos, empleando como adsorbente gel de sílice G y como fase móvil tolueno: acetato de etilo = 93:7.
- Revele la placa con vainillina/ácido sulfúrico. Para ello, (i) rocíe la placa con el reactivo de vainillina etanólica al 1% e inmediatamente rocíe con ácido sulfúrico etanólico al 10%.
- Seque el cromatofolio y caliente a 110°C hasta ver coloración.
- Resultados esperados: los componentes activos de la esencia pertenecen a la clase de los sesquiterpenos cíclicos: chamazuleno (1-15 %) (-). α -bisabolol (10 – 25%), óxidos de bisabolol A

y B (10 – 25%), polinos (cis-trans-en-in-dicicloéter (1 – 40 %). Compare sembrando su muestra con un extracto patrón de manzanilla y las c.c.f. del Plant Drug Analysis.

3. Análisis de una Muestra problema

Una empresa farmacéutica dedicada al campo de aromaterapia le ha encargado maquilar una esencia de manzanilla, entregándole sólo la droga vegetal. Usted sospecha que la materia prima puede estar contaminada con otra droga vegetal. Determine si su droga vegetal corresponde a manzanilla y si se encuentra contaminada. Justifique su respuesta.

Trabajo de Investigación

Indicaciones generales para la presentación del trabajo de investigación

El trabajo de investigación deberá contener:

- Introducción: Descripción de la patología. Especies empleadas para tratar la patología. Fundamento de la especie que decidió estudiar más a fondo.
- Para la especie seleccionada: nombre científico, familia, descripción botánica de droga vegetal, principio(s) activo(s), técnica de valoración del (de los) principio(s) activo(s), actividad farmacológica, potenciales efectos tóxicos, contraindicaciones.
- Cualquier otro comentario que considere de interés en el área Química-Farmacéutica.

EL TRABAJO DEDERÁ ESTAR ESCRITO EN HOJA TAMAÑO CARTA, LETRA ARIAL 10 E INTERLINEADO 1,5. LA EXTENSIÓN MÁXIMA SERÁ DE 10 PÁGINAS.

Pautas generales para las Referencias

- Incluir en el texto los llamados a cita.
- Las referencias deberán estar escritas según el documento “Guía para la Redacción de Referencias Bibliográficas” publicado en la página www.u-cursos.cl
- La información deberá provenir de fuentes científicas actualizadas. Si incluye páginas web estas deberán ser páginas científicas.
- Se deberán considerar, como mínimo 3 artículos científicos (papers, reviews) que expliquen los siguientes ámbitos:
 - Actividad Farmacológica comprobada de la planta, que explique su uso en la patología designada.
 - Características químicas de los distintos componentes de la planta.

Pautas generales para la presentación de poster

- El poster deberá estar escrito en computador e impreso en pliego o en varias hojas tamaño carta (no se aceptarán poster en manuscrito).
- Dimensiones: 90 cm de ancho por 100 cm de altura.
- El poster deberá ser legible a una distancia de 1 metro.
- El poster deberá contener:
 - Título que refleje el contenido del trabajo de investigación
 - Autores
 - Contenido resumido del trabajo
 - Referencias bibliográficas
- El título y nombre de los autores deberá estar impreso en la parte superior del póster.

Temas Trabajo de Investigación

1. Patologías Oculares
 - a. Conjuntivitis
2. Patologías del Sistema Nervioso Central
 - a. Stress
 - b. Insomnio
 - c. Ansiedad
 - d. Migraña
 - e. Depresión
 - f. Epilepsia
 - g. Alzheimer
 - h. Parkinson
 - i. Déficit Atencional
3. Patologías de la garganta, nariz y oídos
 - a. Amigdalitis
 - b. Epistaxis (Hemorragia Nasal)
 - c. Sinusitis
4. Patologías Vasculares
 - a. Arteriosclerosis
 - b. Hipercolesterolemia
 - c. Hipertensión Arterial
 - d. Hipotensión Arterial
 - e. Flebitis
5. Patologías de la sangre
 - a. Anemia
 - b. Hematomas
 - c. Trombosis
6. Patologías respiratorias
 - a. Tos
 - b. Neumonía
7. Patologías Digestivas
 - a. Anorexia
 - b. Úlcera Gástrica
 - c. Vómitos
 - d. Colitis
 - e. Cólico intestinal
 - f. Colón Irritable
 - g. Parásitos Intestinales
 - h. Hemorroides
8. Patologías del hígado y vesícula biliar
 - a. Colelitiasis
 - b. Cirrosis
 - c. Deficiencia pancreática
9. Patologías del tracto urinario
 - a. Litiasis urinaria
 - b. Cistitis

Continuación Temas Trabajo de Investigación

- c. Edema
- d. Infección urinaria
- 10. Patologías del sistema reproductor masculino
 - a. Hiperplasia Prostática
 - b. Disfunción Sexual
- 11. Patologías del sistema reproductor femenino
 - a. Menopausia
 - b. Dismenorrea
- 12. Patologías del metabolismo
 - a. Gota
 - b. Diabetes
 - c. Hipertiroidismo
 - d. Hipotiroidismo
 - e. Obesidad
- 13. Patologías del Sistema Locomotor
 - a. Artritis reumatoide
 - b. Osteoporosis
- 14. Patologías de la piel
 - a. Acné
 - b. Alopecia
 - c. Eccema cutáneo
 - d. Psoriasis
 - e. Herpes labial
 - f. Micosis
 - g. Alergias Cutáneas
 - h. Tratamientos de quemaduras
 - i. Pediculosis
- 15. Patologías Infecciosas
 - a. Fiebre
 - b. Influenza
 - c. Sífilis
- 16. Otras Patologías
 - a. Cáncer
 - b. SIDA