

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE FARMACIA
LABORATORIO DE FARMACOGNOSIA Y MEDICAMENTOS HERBARIOS
PRIMER CICLO

Grupo N°: _____

Equipo de Laboratorio N°: _____

Nombre y Apellido: _____

IDENTIFICACION DE DROGAS VEGETALES



CONTENIDO

Introducción	3
Objetivos	3
Normas y medidas de seguridad	4
Materiales que debe traer el estudiante	6
Programación de las actividades	7
Asignación de las muestras y preparación de reactivos por equipo	7
Método de extracción	8
Cromatografía	9
Cromatografía de capa fina	9
Procedimiento	10
Identificación de Alcaloides	13
Identificación de Flavonoides	15
Identificación de Cumarinas	17
Identificación de Antraquinonas	19
Identificación de Aceites Esenciales	21
Identificación de Taninos	23
Reactivos de Detección y Precipitación	25
Bibliografía	26

INTRODUCCIÓN

La mayoría de las plantas utilizadas con fines medicinales pueden ser identificadas en función a sus componentes característicos garantizando así su pureza y posible falsificación

En la actualidad el objetivo del análisis de identificación de drogas vegetales, luego del reconocimiento botánico (macros- y microscópico), consiste en identificar los compuestos característicos, obtenidos por procesos sencillos de extracción, que luego son separados sobre una placa de capa delgada de gel de sílice, con sistemas de solventes adecuados, detectados por reactivos específicos de coloración y comparando sus valores de Rf con los de las sustancias de referencia. También se emplean, pero en menor grado, las reacciones de coloración o precipitación para caracterizar los componentes de las drogas vegetales.

OBJETIVOS GENERALES

1. Identificar drogas vegetales utilizando los métodos físico-químicos cualitativo: cromatografía de capa fina y reacciones de coloración y precipitación.
2. Establecer criterios sobre la pureza y posible falsificación de una droga vegetal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Preparar extractos vegetales por el método de reflujo.
2. Aplicar la técnica de cromatografía de capa fina para identificar metabolitos secundarios.
3. Interpretar los cromatogramas de las drogas vegetales.
4. Reconocer los metabolitos secundarios mediante reacciones de coloración y precipitación.
5. Formular los mecanismos de las reacciones de coloración o precipitación.

NORMAS DE TRABAJO Y MEDIDAS DE SEGURIDAD

A continuación se señala una lista de normas de trabajo y medidas de seguridad en el laboratorio:

1. Puntual asistencia al laboratorio.
2. Usar obligatoriamente bata larga, lentes de seguridad, pantalones y zapatos cerrados.
3. El cabello largo debe estar recogido.
4. Prohibido fumar e ingerir bebidas o comidas.
5. Realizar las prácticas en el sitio asignado.
6. Chequear el material de vidrio entregado. Las roturas aunque sean pequeñas deben reportarse al profesor antes de la práctica.
7. Marcar con su número el material de vidrio, del cual serán responsables.
8. Trabajar sin prisa durante las prácticas.
9. Durante la práctica el alumno debe dedicarse únicamente a la realización de sus trabajos prácticos. Si surgen dudas debe consultar al profesor y no a los compañeros.
10. El vidrio debe manejarse con cuidado. Para calentarlo, recuerde que los recipientes PYREX son los adecuados, pero no se deben someter a cambio brusco de temperatura, sino progresivamente. Se debe evitar golpearlos. Las fracturas microscópicas pueden manifestarse en roturas violentas cuando se calientan.
11. Si se quema o le salpica algo sobre la piel, lave la parte afectada en seguida con mucho agua.
12. Cuando determine el olor de una sustancia, coloque el recipiente a una distancia prudencial (40cm de la nariz). Mueva la mano sobre ella para agitar el aire y percibir su aroma sin peligro.
13. Los productos químicos no deben tocarse nunca con las manos. Todo el manejo debe realizarse con pinzas, espátulas, pipetas, recipientes de vidrio, etc.
14. No pipetee con la boca. Use pera de succión (propipeta)
15. Si se derrama un reactivo o mezcla, llamar al profesor.
16. No realice experimentos que no sean autorizados por el profesor.
17. Al preparar una disolución acuosa de un ácido, siempre vierta el ácido sobre el agua y no el agua sobre el ácido
18. Cuando se ha sacado de un frasco cierta cantidad de un producto químico, no se debe restituir el sobrante al frasco.
19. No introduzca pipetas directamente en los frascos de los reactivos. Vierta una cantidad suficiente en un beaker y tome de allí la cantidad necesaria.
20. Tenga cuidado al usar ácidos y álcalis concentrados. Si se derrama un reactivo debe absorberse con toallas de papel. Los ácidos se neutralizan previamente con carbonato de sodio. Los álcalis, con ácido acético diluido.
21. Las quemaduras por ácido se tratan con una solución diluida de bicarbonato de sodio. Las quemaduras por fuego, con una pomada de ácido pícrico.
22. Todos los frascos de solventes y reactivos deben cerrarse inmediatamente después de ser utilizados.
23. Utilice un baño de agua o de vapor al calentar disolventes volátiles o inflamables. No aplique una llama directa. Si se inflama, tápelos con una placa de madera o vidrio de reloj.

24. Si llega a prenderse la ropa, coloque a la persona bajo la ducha. Coloque compresas en la parte afectada y solicite atención médica.
25. Los ensayos con reactivos tóxicos (ácido fumantes, cianuro, benceno, cloroformo, etc.) deben efectuarse bajo campana de succión.
26. No almacenar reactivos incompatibles cercanos unos de otros.
27. Todos los laboratorios de química deben estar dotados de los siguientes equipos de seguridad: extintores, campana, ducha de seguridad, etc.
28. Todo docente y estudiante debe conocer la ubicación y el uso de todos los equipos de seguridad.
29. Revisar frecuentemente los equipos de seguridad (extintores, duchas, sistema de ventilación, etc.)
30. El alumno debe reponer el material que deteriore o rompa y para ello dispone de cinco días.
31. Al terminar la práctica, los alumnos responden por la limpieza del equipo, los mesones, los canales de los mesones, las balanzas, las campanas, etc. Todo esto influirá en la puntuación.

32. DESECHOS DE SOLVENTES Y REACTIVOS QUÍMICOS

Los desechos de solventes, en especial los halogenados, ácidos fuertes poco diluidos o sustancias tóxicas **no deben ser descartados en los lavaderos**. Estos desechos deben colocarse separadamente en los frascos rotulados señalados a continuación:

- a. Solventes que contienen halógenos: Diclorometano, Cloroformo, Tetracloruro de carbono
- b. Solventes orgánicos que no contienen halógenos e insolubles en agua: Tolueno, Xilol, Acetato de etilo
- c. Solventes orgánicos que no contienen halógenos y solubles en agua: Acetona, Metanol, Etanol
- d. Mezcla de solventes con metales pesados: Acetato de plomo, Nitrato de bismuto básico (reactivo de Dragendorff), etc.

NOTA: Se entregará al estudiante un equipo de trabajo, una vez revisado el material, el o los alumnos firmarán la carpeta y **se comprometen a dejar el equipo al final del ciclo, en el mismo estado en que lo encontraron**. Sin embargo, el material roto será repuesto por los responsables del equipo en donde se encontró el material dañado.

Es muy importante que el alumno se responsabilice en todo momento del material que recibe ha a de mantenerlo limpio y en perfecto estado a lo largo de todas las prácticas.

MATERIALES QUE DEBE TRAER EL ESTUDIANTE

Bata de laboratorio

Lentes de seguridad

Guía de laboratorio

Cuaderno de laboratorio

Lápiz

Creyones (amarillo, azul, rojo, anaranjado, verde, violeta, marrón,
morado, gris)

Regla

Tijera

Tirro (uno por equipo)

Servilletas

Toalla de manos

Frasco de compota sin tapa

Propipeta

Pinza pequeña (Saca cejas)

Atomizador pequeño (limpio y seco)



PROGRAMACIÓN DE LAS ACTIVIDADES

1^{er} Día (Lunes)

1. Prueba corta
2. Alcaloides: extracción e identificación por CCF
3. Flavonoides: extracción e identificación por CCF

2^{do} Día (Martes)

1. Cumarinas: extracción e identificación por CCF
2. Antraquinonas: extracción e identificación por CCF

3^{er} Día (Jueves)

1. Aceites esenciales: identificación por CCF
2. Taninos: identificación por reacciones de precipitación y coloración

4^{to} Día (Viernes)

1. Taninos: diferenciación entre taninos hidrolizables y condensados por reacciones de precipitación y coloración
2. Prueba corta

ASIGNACIÓN DE LAS MUESTRAS Y PREPARACIÓN DE REACTIVOS POR EQUIPO

EQUIPOS	MUESTRAS					
	LUNES		MARTES		JUEVES Y VIERNES	
	<i>Alcaloides</i>	<i>Flavonoides</i>	<i>Cumarinas</i>	<i>Antraquinonas</i>	<i>Esencias</i>	<i>Taninos</i>
1,4,7	Belladona	Naranja	Sarrapia/ Ruda	Aloe	Menta	Hamamelis
2,5	Quina	Toronja	Sarrapia/ Ruda	Cáscara	Tomillo	Ratania
3,6	Berberis	Ruda	Sarrapia/ Ruda	Aloe	Clavo	Hamamelis

PREPARACIÓN DE REACTIVOS				
EQUIPOS	LUNES	MARTES	JUEVES	VIERNES
1	Dragendorff			Cloruro férrico
2	Naturstoff			Acetato de plomo
3	Sol. amoniaco	r		
4		Bornträger		
5			Vainillina	
6			Ácido sulfúrico	
7			Gelatina	

METODO DE EXTRACCIÓN

La identificación de drogas vegetales por cromatografía de capa fina y reacciones de coloración o precipitación consiste en caracterizar compuestos específicos derivados de metabolismo secundario conocidos como alcaloides, flavonoides, cumarinas, antraquinonas, aceites esenciales, taninos, etc. Esta identificación puede ser realizada utilizando la droga vegetal entera, pulverizada o el extracto obtenido de la planta.

Los métodos de extracción generales para la obtención de extractos son: maceración, reflujo, percolación y soxhlet. Estos métodos se clasifican en procesos continuos o discontinuos de extracción porque permiten el agotamiento de la muestra o no respectivamente. Estos métodos presentan además diferentes ventajas y desventajas, las cuales deben ser consideradas en el momento de su selección (revisar clase teórica).

En este ciclo de laboratorio se identificarán drogas vegetales a partir del extracto obtenido por el método de reflujo. Este método consiste en una maceración a altas temperaturas que oscilan entre 40 y 50°C, donde se establece rápidamente un equilibrio de concentración y se obtiene un extracto con elevado rendimiento, debido a una mayor solubilidad de los componentes por la presencia de calor. Adicionalmente, es un método sencillo y rápido de realizar.

EQUIPO DE REFLUJO



CROMATOGRAFÍA

La cromatografía fue inventada y denominada por el botánico ruso *Mijaíl Tsuet* a principios del siglo XX. Él utilizó la técnica para separar diferentes pigmentos vegetales como las clorofilas y xantofilas pasando una solución que contenía estos compuestos a través de una columna de vidrio empacada con carbonato de calcio finamente dividido. Los compuestos separados aparecían como bandas coloreadas sobre la columna, lo que explica el nombre de este procedimiento.

La cromatografía es un método que permiten separar, aislar e identificar compuestos de una mezcla. Se emplean una *fase estacionaria*, que permanece fija, y una *fase móvil*. Los componentes de una mezcla se transportan a través de la fase estacionaria por medio de la fase móvil que fluye; las separaciones se basan en las diferencias de velocidades de migración entre los componentes de la muestra, los cuales presentan diferencias de afinidad o distribución por las fases.

Existen distintas clasificaciones para los métodos cromatográficos: según el proceso de separación encontramos la cromatografía de adsorción, partición, intercambio iónico, exclusión y afinidad; según la naturaleza de las fases móvil y estacionaria: cromatografía líquida-sólida, líquida-líquida y gas-líquida; según el soporte de la fase estacionaria se hallan dos tipos: la cromatografía en columna y plana; etc.

CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

La cromatografía capa fina (CCF) es una técnica cromatográfica cuya fase estacionaria es una capa un sólido finamente dividido y la fase móvil es líquida. La separación se fundamenta en un proceso de adsorción en mayor o menor grado de los componentes de una mezcla sobre la superficie del sólido adsorbente o fase estacionaria.

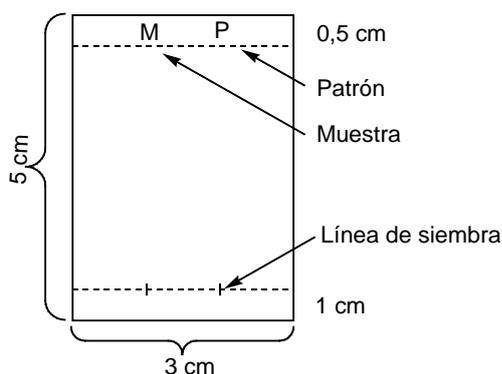
La CCF presenta una serie de ventajas frente a otras técnicas cromatográficas lo que hace que sea una técnica adecuada para fines analíticos. El tiempo que se necesita para conseguir la separación es generalmente menor y la separación generalmente mejor. Pueden usarse reveladores corrosivos. La técnica es simple, los resultados son fácilmente reproducibles.

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (CCF) PROCEDIMIENTO

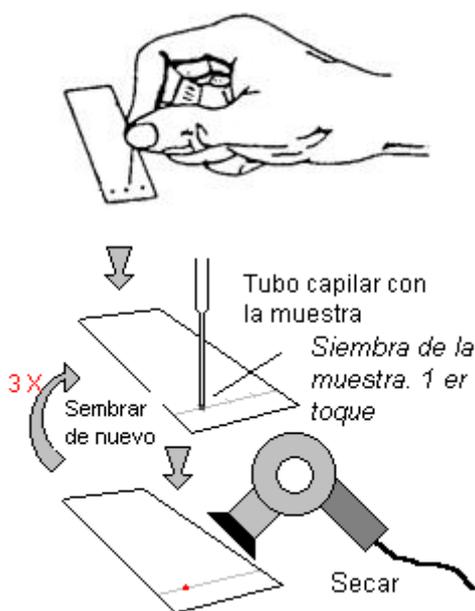
1) Preparación de las Placa cromatográficas o cromatoplacas

La cromatografía de capa fina se realizara sobre placas cromatográficas comerciales (cromatofolios) rectangulares (3x5cm) con un adsorbente (fase estacionaria) de un espesor de 0,25mm colocado sobre un soporte de plástico. El adsorbente es el gel de sílice cuyo tamaño de partícula es de 60 mesh y contiene un indicador fluorescente llamado fluoresceína, que a una longitud de onda de 254 nm se excita y fluórese.

Dibujar cuidadosamente, con un lápiz, una línea base a 1 cm del borde inferior de la placa y otra línea a 0,5 cm del borde superior. Marcar un número de pequeñas puntos sobre la línea, a distancias iguales (0,5 cm), tantas como muestras y patrones se desean aplicar y se identifica cada muestra y patrón en la parte superior de la placa.



2) Aplicación o siembra de la muestra

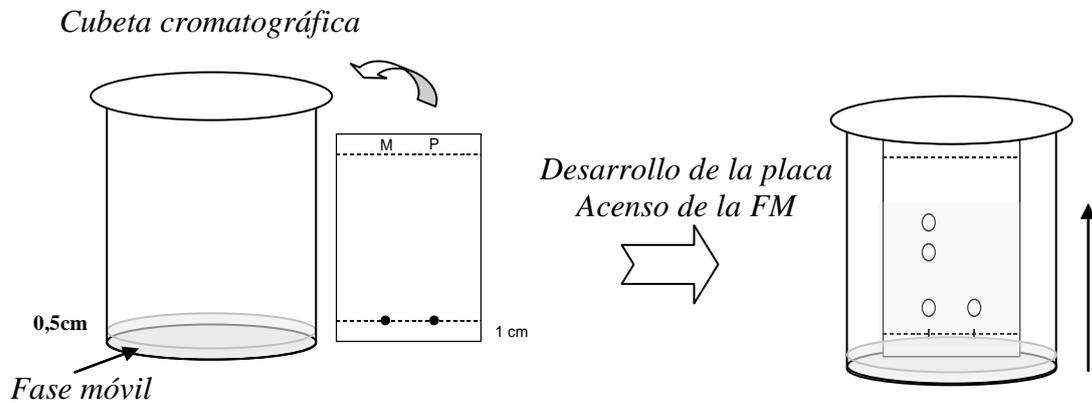


Aplicar la muestra sobre la placa mediante un tubo capilar, apoyando el capilar, en posición perpendicular, al punto marcado. Realizar una aplicación o toque en la placa, sin dañar la placa y procurando obtener manchas de tamaño pequeño (máx. 5mm) ya que si son mayores conducen a malas separaciones. Secar después del toque para evaporar el solvente de forma que en la placa solo quedará la muestra a analizar. Repetir este procedimiento dos veces más solo para las muestras. Una vez se han secado las manchas, la placa está lista para el desarrollo.

3) Elusión o desarrollo

Colocar la fase móvil en la cubeta cromatográfica en cantidad suficiente para que ocupe 0,5 cm de altura de la placa (el nivel de la FM debe estar por debajo de la línea base marcada en la placa cromatográfica que contiene las muestras, de lo

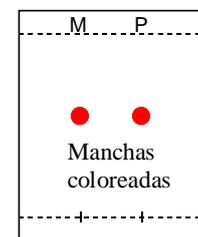
contrario éstas se disolverán en la fase móvil). La placa sembrada se introduce en la cubeta cromatográfica que contiene la fase móvil. Se espera que la fase móvil ascienda por capilaridad hasta unos 0,5 cm del borde superior (nunca debe llegar a tocar el borde de la placa). La fase móvil arrastra la muestra a su paso separando sus componentes, los cuales tienen distintas afinidades, por lo que se mueven a diferentes velocidades y alcanzan diferentes alturas en la placa.



4) Detección o localización de las sustancias

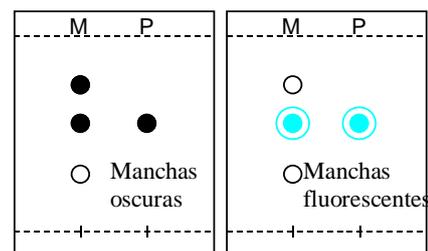
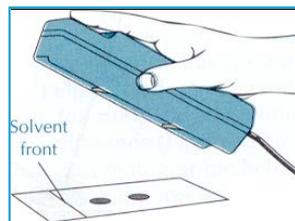
Sacar la placa de la cubeta cromatográfica y dejar secar la placa. Una vez seca la placa ya está lista para evaluar el cromatograma obtenido de la muestra a través de la detección o localización de los compuestos.

Los compuestos separados de la muestra pueden ser coloreados y visibles inmediatamente. Pero hay otros compuestos que son incoloros y que deben hacerse visibles. Por lo tanto, para evaluar el cromatograma de una muestra se hace uso de varios métodos que permiten detectar o localizar los compuestos separados. Estos métodos son los siguientes:



Luz visible (VIS)

a. Métodos físicos. Para ello se añade un indicador fluorescente a la fase estacionaria (Fluoresceína o F_{254}), de tal forma que al colocar la placa bajo una lámpara ultravioleta, dependiendo del indicador y de la longitud de onda de excitación empleada, aparece toda la placa fluorescente excepto donde están las sustancias ya que absorben la luz ultravioleta o en otros casos aparecen manchas fluorescentes en las zonas donde hay sustancias.

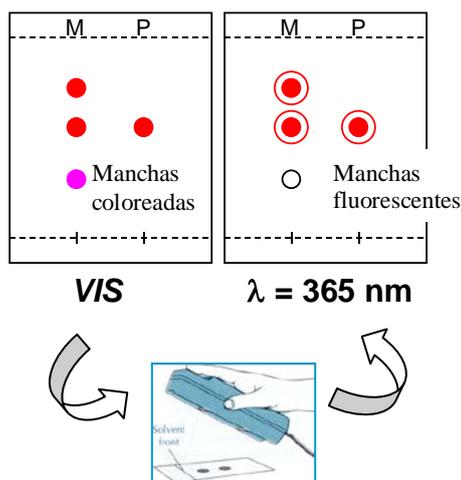
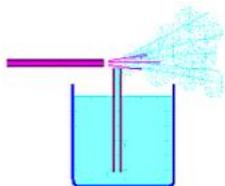


$\lambda = 254 \text{ nm}$

$\lambda = 365 \text{ nm}$

Lámpara ultravioleta con:
Longitud de onda corta (254 nm)
Longitud de onda larga (365 nm)

b. Métodos químicos Estos consisten en realizar una reacción química entre el reactivo revelador y las sustancias separadas. Para ello se atomiza o pulveriza la placa con los reactivos reveladores con la ayuda de un atomizador. Es preferible atomizar con la placa en posición horizontal, poco a poco y en la campana de extracción ya que muchos de los reactivos son peligrosos y corrosivos.



NOTAS IMPORTANTES

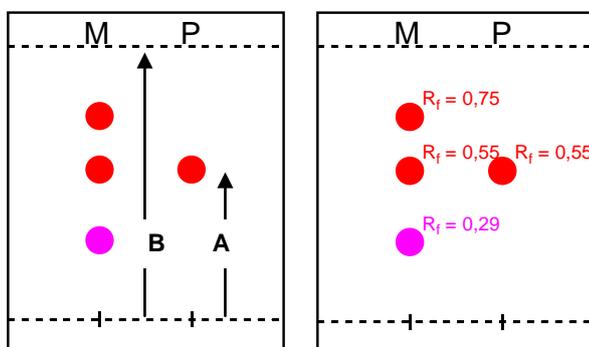
- Manipular las placas con la pinza y no directamente con los dedos.
- Nunca mire directamente la luz ultravioleta, ésta puede causar daños severos a los ojos.
- Una vez revelada la placa se marca ligeramente con un lápiz el contorno de las manchas para mejor ubicación de las mismas.

5) Constante R_f (Factor de retardo)

Medir la distancia recorrida por las sustancias, generalmente hasta el centro de la mancha. Calcular la constante R_f, la cual expresa la posición de una sustancia sobre la placa (como una fracción decimal) y mide la retención de la sustancia. La constante R_f se define como:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la muestra desde el origen (A)}}{\text{distancia recorrida por la fase móvil desde el origen (B)}}$$

El valor de R_f depende de las condiciones en las cuales se desarrolla la muestra (tipo de adsorbente, FM, condiciones de la placa, temperatura, vapor de saturación, etc.). Tiene una reproducibilidad de $\pm 20\%$, por lo que es mejor desarrollar duplicados de la misma placa.



ALCALOIDES

1. Introducción

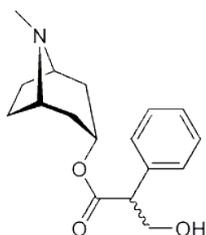
Los alcaloides son metabolitos secundarios nitrogenados. Forman un grupo de compuesto muy numeroso (± 20.000 conocidos). Muchos alcaloides son heterocíclicos. Derivan biosintéticamente de aminoácidos. Se encuentran fundamentalmente en las plantas. Forman sales complejas con iodo y metales pesados (Hg, Bi, Pt). Muchos tienen actividad farmacológica. Se clasifican de acuerdo al anillo heterocíclico o según su origen biogénico. Los alcaloides más importantes derivan de los aminoácidos: lisina, ornitina, triptófano, tirosina fenilalanina, arginina e histidina.

2. Drogas vegetales que contienen alcaloides

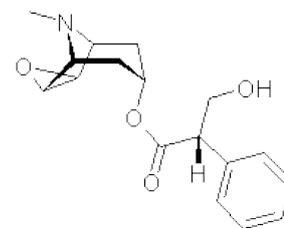
Droga vegetal	Alcaloides principales	Contenido
Hojas de belladona (<i>Atropa belladonna</i>)	(-)-Hiosciamina/Atropina, Escopolamina	0,2-0,5% AT
Corteza de quina (<i>Cinchona pubescens</i>)	Quinina/Cinchona, Quinidina /Cinchonina	4-12% AT
Corteza de berberis (<i>Berberis vulgaris</i>)	Berberina	1-8% AT

AT = Alcaloides totales

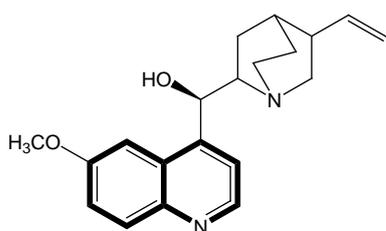
3. Estructuras de algunos alcaloides



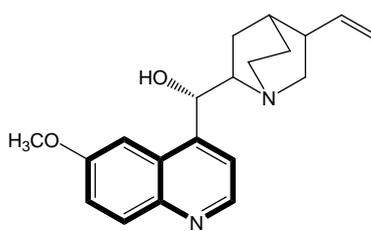
Atropina (D,L hiosciamina)



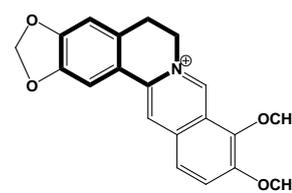
Escopolamina



L-Quinina



D-Quinidina



Berberina

4. ANÁLISIS POR CCF DE HOJAS DE BELLADONA, CORTEZA DE QUINA y CORTEZA DE BERBERIS

4.1. **Preparación del extracto de la droga vegetal:** Pesar 1 g de la droga vegetal pulverizada, humedecer con 2 mL de una solución de amoníaco al 10%, agregar 10 mL de etanol y reflujar por 5 min. Luego dejar enfriar y filtrar. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.2. **Preparación de la(s) sustancia(s) de referencia(s):**

- **Hojas de belladona:** Pesar 10 mg de atropina y disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.
- **Corteza de quina:** Pesar 10 mg de quinina y quinidina disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.
- **Corteza de berberis:** pesar 10 mg de berberina y disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.3. **Fase móvil (FM)**

- **Hojas de belladona y corteza de quina:** Tolueno - acetato de etilo - dietilamina (70:20:10).
 - **Preparación de la FM:** Mezclar 7 mL de tolueno con 2 mL de acetato de etilo y 1 mL de dietilamina. La mezcla debe quedar transparente. Medir 5 mL de la FM y colocarla en la cubeta cromatográfica.
- **Corteza de berberis:** n-propanol - ácido fórmico - agua (90:1:9).
 - **Preparación de la FM:** Mezclar 9 mL de n-propanol con 0,1 mL de ácido fórmico y 0,9 mL de agua. La mezcla debe quedar transparente. Medir 5 mL de la FM y colocarla en la cubeta cromatográfica.

4.4. **Detección y evaluación del cromatograma:** Seque bien la placa (secador o estufa 100°C). El cromatograma se evalúa primeramente en VIS, luego bajo la luz UV 254 nm (onda corta), después a 365 nm (onda larga), y por último en VIS luego de atomizar la placa con el reactivo revelador de *Dragendorff*.

4.5. **DOCUMENTACIÓN**

- a) Anote y explique sus resultados.
- b) Formule la reacción de coloración del reactivo de *Dragendorff*.

FLAVONOIDES

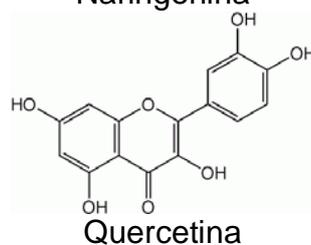
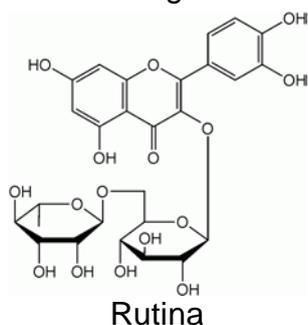
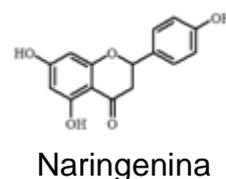
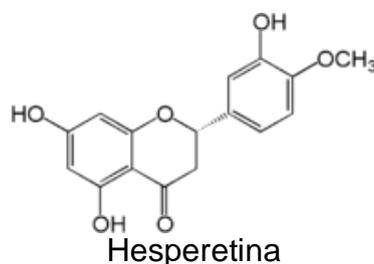
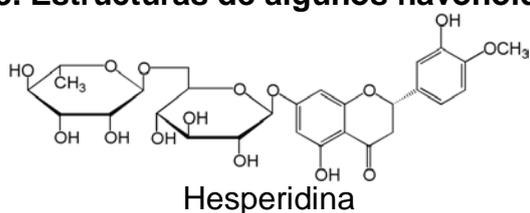
1. Introducción

Los flavonoides son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en las plantas superiores. La estructura general comprende un anillo A derivado de la ruta acetato polimalonato (policétido), un anillo B y tres átomos de carbono que unen los anillos A y B, correspondientes a la parte alquílica del fenilpropano, derivado de la ruta del ácido siquímico. Forman quelatos coloreados con Al, Fe y Pb. El núcleo básico es denominado flavano (C6C3C6), el cual por lo general se encuentra hidroxilado, en forma libre o como glicósido. Muchos flavonoides tienen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, fungicidas, etc.

2. Drogas vegetales que contienen Flavonoides

Droga vegetal	Flavonoides
Pericarpio de la concha de Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Hesperidina
Pericarpio de la concha de Toronja (<i>Citrus aurantium</i>)	Naringina
Hierba Ruda (<i>Ruta graveolens</i>)	Rutina

3. Estructuras de algunos flavonoides



4. ANÁLISIS POR CCF DEL EXTRACTO DE PERICARPIO DE CONCHA DE NARANJA, PERICARPIO DE CONCHA DE TORONJA Y HIERBA RUDA

4.1. **Preparación del extracto de la droga vegetal:** Pesar 1 g de la droga vegetal pulverizada, agregar 10 mL de etanol, reflujar por 5 min, luego enfriar y filtrar (filtrar en caliente el extracto de pericarpio de la concha de naranja). Sembrar directamente el extracto obtenido.

4.2. **Preparación de las sustancias de referencias:**

- **Pericarpio de concha de naranja** Pesar 10 mg de hesperidina y hesperitina y disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.
- **Pericarpio de concha de toronja:** Pesar 10 mg de naringina y naringenina y disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.
- **Hierba ruda:** Pesar 10 mg de rutina y quercetina y disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.3. **Fase móvil (FM):** Acetato de etilo - ácido acético - ácido fórmico - agua (100:11:11:25)

- **Preparación de la FM:** Mezclar 10 mL de acetato de etilo, 1,1 mL de ácido acético, 1,1 mL de ácido fórmico y 2,5 mL de agua. La mezcla debe quedar transparente. Medir 5 mL de la FM y colocarla en la cubeta cromatográfica.

4.4. **Detección y evaluación del cromatograma:** El cromatograma se evalúa primeramente en VIS, luego bajo la luz UV 254 nm (onda corta) y 365 nm (onda larga), y por último en VIS y UV 365nm luego de atomizar la placa con el reactivo revelador de *Naturstoff* (Productos Naturales).

4.5. **DOCUMENTACIÓN**

- a) Anote y explique sus resultados.
- b) Formule la reacción de coloración del reactivo *Naturstoff*.

CUMARINAS

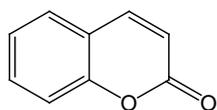
1. Introducción

Las cumarinas son α -pironas que se generan por la lactonización del ácido o-cumárico. Están ampliamente distribuidas en el reino vegetal. La más sencilla es la cumarina misma. Las cumarinas se encuentran en su mayoría oxigenadas en C-7, presentan a menudo, una o varias unidades de isopreno, los cuales dan origen a las furano- y piranocumarinas. Las cumarinas bajo luz UV muestran fluorescencia (azul, amarilla, verde), la cual es exaltada en presencia de hidróxido de potasio, amoníaco. Muchas son anticoagulantes, fotosensibilizantes, antibióticas, etc.

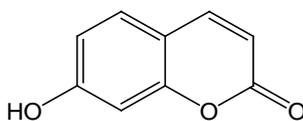
2. Drogas vegetales que contienen cumarinas

Droga vegetal	Cumarinas presentes
Semillas de Sarrapia (<i>Dypteris odorata</i>)	Cumarina
Hierba Ruda (<i>Ruta graveolens</i>)	Escopoletina, umbeliferona, bergapteno, psoraleno, xantotoxina, rutaculina, rutamarina, dafnoretina

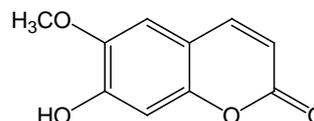
3. Estructuras de algunas cumarinas



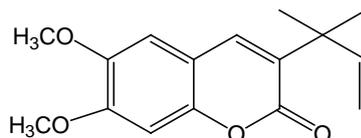
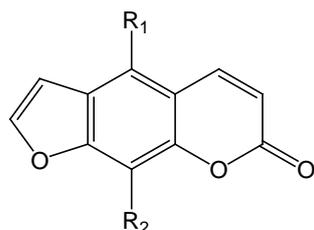
Cumarina



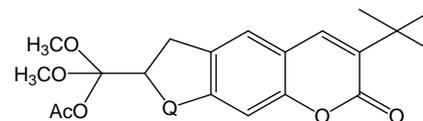
Umbeliferona



Escopoletina



Rutaculina

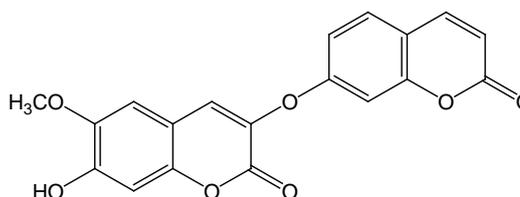


Rutamarina

Psoralen:
(R1, R2 = H)

Bergapteno:
(R1 = OCH₃, R2 = H)

Xantoxina:
(R1 = H; R2 = OCH₃)



Dafnoretina

4. ANÁLISIS POR CCF DEL EXTRACTO DE SEMILLAS DE SARRAPIA Y HIERBA RUDA

4.1. Preparación del extracto de la droga vegetal:

- **Semillas de sarrapia:** Colocar en el balón fondo redondo una semilla, agregar 10 mL de etanol, refluja por 5 min. Luego enfriar y filtrar. Sembrar directamente el extracto obtenido.
- **Hierba ruda:** Pesar 1 g de la droga vegetal pulverizada, agregar 10 mL de etanol, refluja por 5 min. Luego enfriar y filtrar. Sembrar directamente el extracto obtenido.

4.2. Preparación de la sustancia de referencia: Pesar 10 mg de cumarina y disolver con 5 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.3. Fase móvil (FM): Hexano - acetato de etilo (72:28)

- **Preparación de la FM:** Mezclar 7,2 mL de hexano con 2,8 mL de acetato de etilo. La mezcla debe quedar transparente. Medir 5 mL de la FM y colocarla en la cubeta cromatográfica.

4.4. Detección y evaluación del cromatograma: El cromatograma se evalúa primero en VIS, luego bajo la luz UV 254 nm (onda corta) y 365 nm (onda larga), por último en UV 365 nm luego de atomizar la placa con el reactivo revelador de *Bornträger*.

4.5. DOCUMENTACIÓN

- a) Anote y explique sus resultados.
- b) Formule la reacción de coloración del reactivo de *Bornträger*.

ANTRAQUINONAS

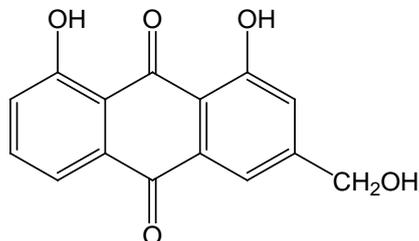
1. Introducción

Las antraquinonas constituyen el grupo más numeroso de quinonas. Son compuestos aromáticos polihidroxiados más o menos metoxilados, los sustituyentes más comunes son: $-CH_3$, $-CH_2OH$, $-CHO$ y $-COOH$. Las antraquinonas en la naturaleza se hallan generalmente en forma glicosídicas. Muestran coloración roja con soluciones alcalinas o acetato de magnesio. Biosintéticamente derivan de la ruta del acetato polimalonato. Las propiedades tintóreas y laxantes de muchas plantas superiores están relacionadas con su contenido de antraquinonas. En general, las antraquinonas con grupos hidroxilos en C-1 y C-8 tienen efecto laxante.

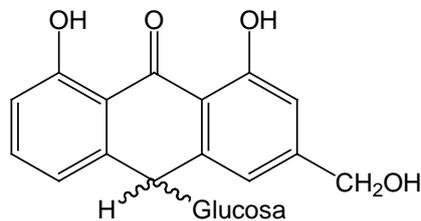
2. Drogas vegetales que contienen antraquinonas

Droga vegetal	Contenido de antraquinonas
Resina de Aloe (Sábila) (<i>Aloe barbadensis</i>)	≥ 28% derivados hidroxiantracénicos calculado como aloina
Corteza de Cascara sagrada (<i>Rhamni purshiani</i>)	≥ 8% derivados hidroxiantracénicos calculado como cascarosido A

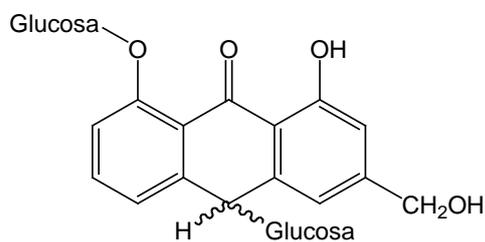
3. Estructuras de algunas antraquinonas



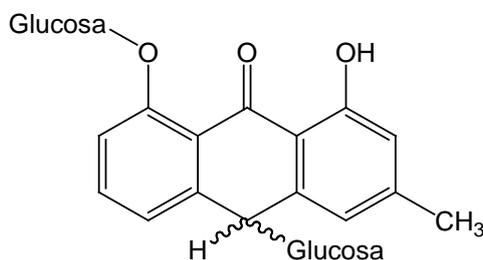
Aloe-emodina



Aloina (A, B)



Cascarósido (A, B)



Cascarósido (C, D)

4. ANÁLISIS POR CCF DEL EXTRACTO DE ALCIBAR Y CASCARA SAGRADA

4.1. **Preparación del extracto de droga vegetal:** Pesar 1,0 g de la droga vegetal pulverizada, agregar 10,0 mL de etanol, reflujar por 5 min. Luego enfriar y filtrar. Sembrar directamente el extracto obtenido.

4.2. **Preparación de la sustancia de referencia:** Pesar 10,0 mg de aloemodina y aloina y disolver con 5,0 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.3. **Fase móvil (FM):** Acetato de etilo – metanol - agua (100:13,5:10).

- **Preparación de la FM:** Mezclar 10,0 mL de acetato de etilo, 1,35 mL de metanol, 1,0 mL de agua. La mezcla debe quedar transparente. Medir 5,0 mL de la FM y colocarla en la cubeta cromatográfica.

4.4. **Detección y evaluación del cromatograma:** El cromatograma se evalúa primero en VIS, luego bajo la luz UV 254 nm (onda corta) y 365 nm (onda larga), por último en UV 365 nm luego de atomizar la placa con el reactivo revelador de *Bornträger*.

4.5. DOCUMENTACIÓN

- a) Anote y explique sus resultados.
- b) Formule la reacción de coloración del reactivo de *Bornträger*.

ACEITES ESENCIALES

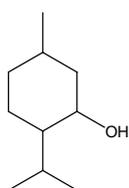
1. Introducción

Los aceites esenciales son líquidos volátiles, contienen las sustancias responsables de los aromas de las plantas e importantes para la industria cosmética, de alimento y farmacéutica. Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos en su mayoría mono-, sesquiterpenos y fenilpropanos. Los terpenos se originan biosintéticamente por la ruta del ácido mevalónico y los fenilpropanos por la ruta del ácido siquímico. Los aceites esenciales se pueden extraer de las drogas vegetales mediante varios métodos como son: expresión, destilación con vapor de agua, extracción con solventes volátiles, enflorado y con fluidos supercríticos.

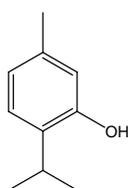
2. Drogas vegetales que contienen aceites esenciales

Droga vegetal	Contenido de aceites esenciales y compuestos principales
Hojas de Menta (<i>Mentha piperita</i>)	1,3-2,1% (mentol: 50-78%; mentona: 10-30%)
Hojas de Tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>)	0,75-6,3% (timol/carvacol: 20-60%)
Clavo Especia (flores) (<i>Syzygium aromaticum</i>)	14-20% (eugenol: 72-90%; acetoeugenol: 10-15%)

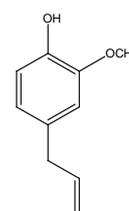
3. Estructuras de constituyentes de aceites esenciales



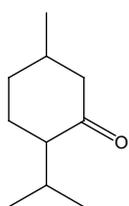
Mentol



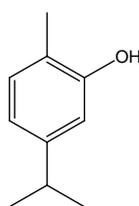
Timol



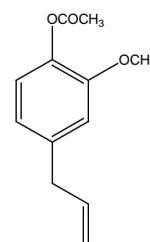
Eugenol



Mentona



Carvacol



Eugenolacetato

4. ANÁLISIS POR CCF DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE MENTA Y DE TOMILLO

4.1. **Preparación de la muestra para el análisis:** Mezclar 0,1 mL de la esencia y 5,0 mL etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.2. **Preparación de la(s) sustancia(s) de referencia(s):**

- **Esencia de menta:** Pesar 10,0 mg de mentol y disolver con 5,0 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.
- **Esencia de tomillo:** Pesar 10,0 mg de timol y disolver con 5,0 mL de etanol. Sembrar directamente la solución obtenida.

4.3. **Fase móvil (FM):** Tolueno - acetato de etilo (93:7).

- **Preparación de la FM:** Mezclar 9,3 ml de tolueno con 0,7 mL de acetato de etilo. La mezcla debe quedar transparente. Medir 5,0 mL de la FM y colocarla en la cubeta cromatográfica.

4.4. **Detección y evaluación del cromatograma:** El cromatograma se evalúa primero en VIS, luego bajo la luz UV 254 nm (onda corta) y 365 nm (onda larga), por último en VIS luego de atomizar la placa con el reactivo revelador de *vainillina-ácido sulfúrico*.

4.5. DOCUMENTACIÓN

- a) Anote y explique sus observaciones.
- b) Formule la reacción de coloración del reactivo de *vainillina/ácido sulfúrico*.

TANINOS

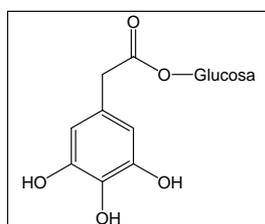
1. Introducción

El término “tanino” determina ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con proteínas de la piel animal evitando así su putrefacción y convirtiendo la piel en cuero. Se clasifican en: taninos hidrolizables y taninos condensados. Los hidrolizables están formados por varias moléculas de ácidos fenólicos, los cuales se encuentran unidos a un azúcar a través de un enlace éster y son hidrolizados por ácidos o enzimas. Los condensados están constituidos por unidades de catequinas y sus isómeros, unidas entre sí por enlaces C-C. Los taninos precipitan con proteínas, metales pesados y alcaloides. Forman complejos coloreados con cloruro férrico. Los condensados producen un precipitado rojo en presencia de ácido clorhídrico y formaldehído. En la Industria farmacéutica y cosmética se emplean como astringente y antidiarreico, mientras que en la industria textil para curtir el cuero.

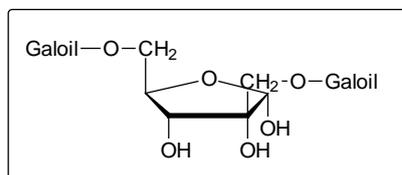
2. Drogas vegetales que contienen taninos

Droga vegetal	Contenido de taninos
Hojas de Hamamelis (<i>Hamamelis virginia</i>)	≥ 5,5 %
Raíz de Ratania (<i>Krameria argentea</i>)	≥ 10%

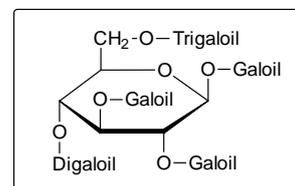
3. Estructuras de algunos taninos



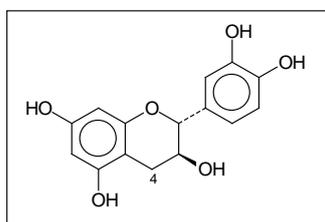
Glucogalina



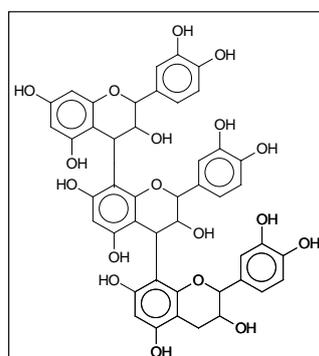
Hamamelosa



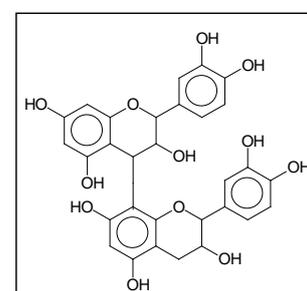
Octa-galoilglucosa



Catequina



Trímero de Catequinas



Dímero de Catequinas

4. IDENTIFICACIÓN DE TANINOS EN HOJAS DE HAMAMELIS Y RAÍZ DE RATANIA POR REACCIONES DE PRECIPITACIÓN

4.1. Preparación del extracto de la droga vegetal: Pesar 1 g de la droga vegetal pulverizada, mezclar con 20 mL de agua, calentar en un baño de agua a 50°C por 20 min y filtrar.

4.2. Identificación de taninos:

- a) Colocar 3 mL del extracto en un tubo de ensayo y agregar gotas de una solución de *acetato de plomo* al 10%.
- b) Colocar 3 mL del extracto en un tubo de ensayo y agregar gotas de una solución de *gelatina*

4.3. Identificación de taninos hidrolizables y condensados

- a) Colocar 3 mL del extracto en un balón fondo redondo, agregar 0,5 mL de HCl concentrado y 1 mL de formaldehído, refluja por 10 min. Luego enfriar y filtrar. La formación de un precipitado rojo indica la presencia de taninos condensados.
- b) Colocar el filtrado en un tubo de ensayo, agregar 0,5 mL de solución de *cloruro férrico*. La formación de una coloración azul indica la presencia de taninos hidrolizables y una coloración verde identifica a los taninos condensados.

4.4 DOCUMENTACIÓN

- a) Anote y explique sus observaciones
- b) Formule la reacción de coloración y precipitación con los reactivos utilizados

REACTIVOS DE COLORACION Y PRECIPITACIÓN

PREPARACIÓN Y FORMA DE UTILIZACIÓN

1. Dragendorff

Pesar 0,85 g de nitrato de bismuto básico y disolver en 40 mL de agua y 10 mL de ácido acético, luego adicionar 8,0 g de yoduro de potasio disuelto en 20 mL de agua.

2. Naturstoff (Productos naturales) (éster del ácido 2-aminoetil-difenilbórico)

Pesar 1 g de naturstoff, disolver y llevar a 100 mL con metanol.

3. Bornträger (KOH en metanol)

Pesar 10 g de hidróxido de potasio, disolver y llevar a 100 mL con metanol.

4. Vainillina-Ácido sulfúrico (H₂SO₄)

Pesar 1 g de vainillina, disolver y llevar a 100 mL con etanol (Solución II). Medir 5 mL de ácido sulfúrico y diluir a 100 mL con etanol (Solución I). Atomizar la placa primeramente con la solución I y luego con la solución II. Calentar la placa en la estufa a una temperatura entre 100-105 °C por 10 min.

5. Tricloruro férrico (FeCl₃)

Pesar 10 g de tricloruro férrico, disolver y llevar a 100 mL con agua.

6. Solución de gelatina:

Pesar 2 g de gelatina agregar 17 ml de una solución de NaCl al 10% y dejar en reposo por 30 min. Luego calentar en un baño de agua a 80 °C con agitación hasta que la solución esté clara y enfriar a temperatura ambiente.

7. Solución de acetato de plomo [Pb(CH₃COO)₂]:

Pesar 2,5 g de acetato de plomo y disolver en agua hasta 25 mL.

BIBLIOGRAFÍA

1. Farmacopea Británica, 2012.
<http://bp2012.infostar.com.cn/Bp2012.aspx?a=query&pid=5188>
2. Plant Drug Analisis, H. Wagner, S. Bladt, E. Zgainski, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, 1984.
3. Thin-Layer Chromatography, E. Stahl, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1969