

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



ANALISIS DE PRODUCTOS HERBALES POR CCF
COMO PARTE DEL PROCESO DE CONTROL
DE CALIDAD

Por

Q.B.P. LUCIA CENICEROS ALMAGUER

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría en Ciencias con Especialidad en
Química Biomédica

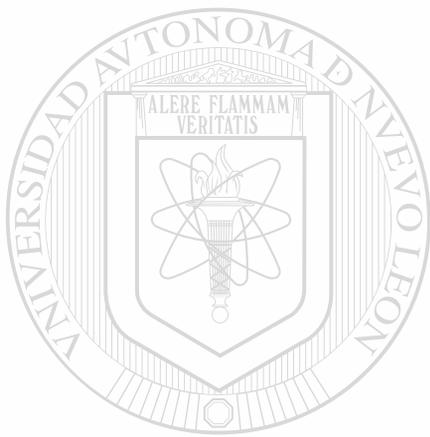
Febrero, 2006

TM
RS164
.C4
2006
c.1

Q.B.P. LUCIA CERNICHEROS ALMAGUER



1080128425



UANL

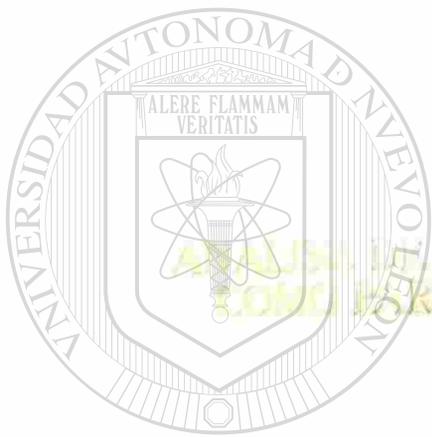
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ANEXO II. PRODUCTOS HERVALES PARA CÉ

COMO PARTE DEL PROCESO DE CONTROL DE CALIDAD



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

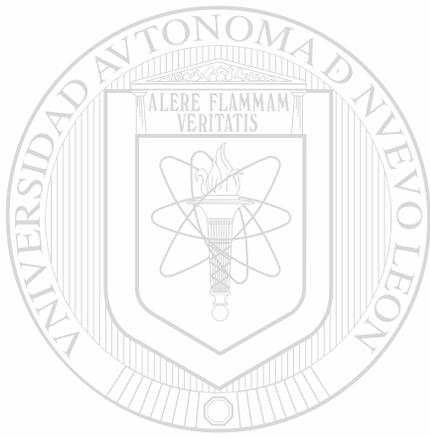
Por

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría en Ciencias con Especialidad en
Química Biomédica

2023

RS 164
C4
2 06



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

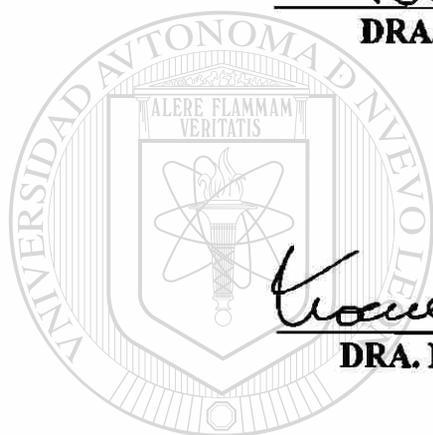
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

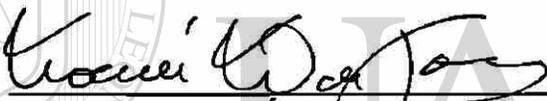


**ANÁLISIS DE PRODUCTOS HERBALES POR CCF COMO PARTE DEL
PROCESO DE CONTROL DE CALIDAD**

Aprobación de Tesis:

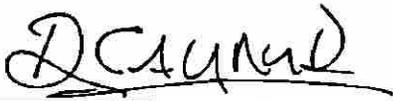

DRA. ROSALBA RAMÍREZ DURÓN
Directora de Tesis




DRA. NOEMÍ WAKSMAN DE TORRES
Co-Directora de Tesis

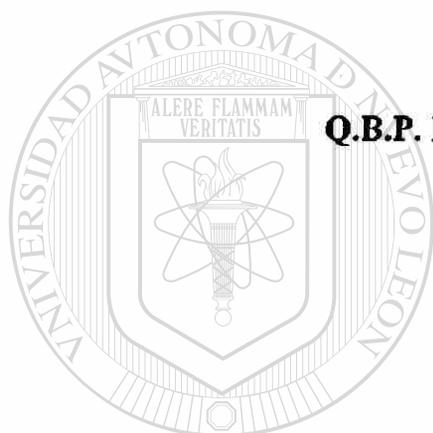
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS


DR. RICARDO SALAZAR ARANDA
Co-Director de Tesis


DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO
Subdirector de Estudios de Posgrado

**ANÁLISIS DE PRODUCTOS HERBALES POR CCF COMO PARTE DEL
PROCESO DE CONTROL DE CALIDAD**

Presentado por:



Q.B.P. LUCÍA CENICEROS ALMAGUER

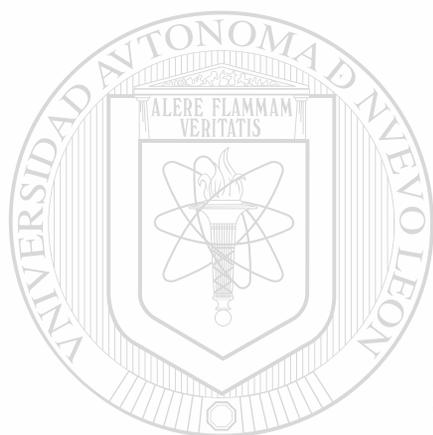
UANL

El presente trabajo se realizó en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección de la Dra. Rosalba Ramírez Durón y la Co-dirección de la Dra Noemí Waksman de Torres y del Dr. Ricardo Salazar Aranda.

**Dra. Rosalba Ramírez Durón
Directora de Tesis**

DEDICATORIA

Dedico esta tesis con todo mi amor y agradecimiento



A mis Padres

**Pascual Ceniceros Hernández y
Ma. Isabel Almaguer Guanajuato**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN[®]
y
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

A mi hija

Yazmín Mendoza Ceniceros

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por no dejarme desistir de este deseo de superación y por llevarme de su mano en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis Padres Pascual Ceniceros Hernández y Ma. Isabel Almaguer Guanajuato por todo el apoyo brindado a lo largo de mi vida, pero sobre todo en estos últimos años que me han dado su amor incondicional, gracias por su paciencia e infinito amor los amo.

A mis hermanos que siempre me han apoyado en las buenas y en las malas, gracias por estar conmigo.

A mi hija Yazmín Mendoza Ceniceros que ha sido lo más hermoso que Dios me ha dado, eres para mí todo en la vida, no tengo manera de agradecerte todo tu amor, tu paciencia, que ha sido mucha a lo largo de mis estudios, te amo mi muñeca hermosa.

A la Dra. Noemí Waksman de Torres por ser un importante guía en este proyecto, por apoyarme en mis estudios de posgrado y además por apoyarme en los momentos más importantes de mi vida.

A la Dra. Rosalba Ramírez Durón primero que nada por su infinita paciencia y por su excelente asesoría en la revisión de la escritura de este trabajo, pero sobre todo por no dejar de ser mi amiga en todo momento, mil gracias por todo.

Al Dr. Ricardo Salazar Aranda por su valioso tiempo dedicado a la revisión de este trabajo.

A la Dra. Ma. de la Luz Salazar por todo su apoyo incondicional brindado a lo largo de esta Maestría, por su paciencia y sobre todo por su amistad.

A la Dra. Verónica Mayela Rivas Galindo, Al Dr. Adolfo Caballero, Quintero, a la M.C. Aurora Garza Juárez, por su amistad que ha perdurado a través del tiempo y por el apoyo brindado en la realización de este proyecto.

A mis maestros de Posgrado por los conocimientos transmitidos en estos años de preparación, por su paciencia y comprensión, gracias.

Al M.C. Mauricio González Ferrara por su asesoría en lo que se refiere a las plantas, gracias por compartir sus conocimientos y experiencia al respecto.

A la T.L.C. Ivonne Carrera Rodríguez por su amistad incondicional y por su apoyo durante el desarrollo de esta tesis en el laboratorio de extracción del Depto. de Química Analítica.

A la Dra. Yareli Colunga González y al Dr. Alejandro Pérez por su amistad y su compañía durante todo el estudio de posgrado.

A las estudiantes de Químico Clínico Biólogo Yael C. de la Torre Rodríguez y Martha Rebeca Cavazos Rodríguez por su apoyo durante el desarrollo de este trabajo.

A todos los alumnos de pregrado y posgrado que estuvieron durante mi estancia en el laboratorio de extracción haciéndola más agradable.

A mis queridos compañeros de comida (el grupo de los 7 fantásticos) por hacer tan agradable esos momentos que nutren mis días, gracias por su amistad.

A mis compañeros de laboratorio de servicio analítico T.L.C. Cuahutémoc Murillo y T.L.C. Agustín Nambo por apoyarme siempre.

A la T.L.C. Graciela Peña por su apoyo en el almacén y en muchas otras cosas; a las secretarías del Depto. de Química Analítica: Gloria Martínez, Martha García y Verónica Camarillo por su apoyo en la realización de papelería y compra de materiales.

A la secretaria de Posgrado la incansable Normita Sánchez por su atención en este tiempo de estudio, por siempre tener una sonrisa amable hacia mí.

A mis compañeros de oficina M.C. Ricardo Lucio y a la Q.C.B. Anabel Torres por su apoyo y compañía.

Al CONACYT por la beca de manutención con registro No. 171996 otorgado para la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias con especialidad en Química Biomédica.

Por el apoyo en

Proyecto SSA/IMSS/ISSSTE CONACYT 2002 Clave Salud 2002-CO1-7274

Proyecto SA1013-04 “La Medicina Herbolaria. Rastreo sistemático de la calidad de los productos más utilizados por la población del Noreste de México”.

CONACYT Proyecto 2002-CO1-7274 “La Medicina Herbolaria Rastreo sistemático de la calidad de los productos más utilizados por la población del Noreste de México” (Parte II)

RESUMEN

Q.B.P. Lucía Ceniceros Almaguer

Fecha de graduación: Febrero, 2006

**Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina**

Título del estudio:

**ANÁLISIS DE PRODUCTOS HERBALES POR
CCF COMO PARTE DEL PROCESO DE
CONTROL DE CALIDAD**

Número de páginas: 84

**Candidato para el grado de Maestría en
Ciencias con especialidad en Química
Biomédica**

Área de estudio:

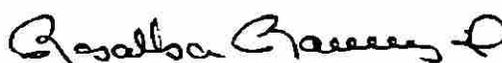
Química Analítica

Propósito y Método del Estudio: En México, la medicina tradicional herbolaria ha sido ampliamente utilizada por la población como una alternativa económica para el cuidado de la salud. Su popularidad se ha extendido en las últimas décadas, sin embargo en nuestro país, aún no es oficialmente aceptada. Uno de los principales problemas es la falta de control de calidad de los productos herbolarios, ya que en nuestro país no se exige a los expendedores que el producto se someta a metodologías adecuadas que garanticen su eficacia y seguridad.

En el presente trabajo, se desarrollaron y validaron métodos, para evaluar la calidad de productos herbolarios, cuyo único contenido fuera alguna de las plantas que más se consumen en nuestra región, como son: castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora, tila, árnica, azahar, boldo, cola de caballo, ginkgo, eucalipto, menta, sábila, salvia y sen. En todos los casos se usó CCF. Para la validación se utilizaron extractos estandarizados en los casos del castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora y tila, y para el resto de plantas se utilizaron marcadores o principios activos. Para la obtención de los extractos de los productos comerciales, se probaron los métodos que describe la literatura así como la extracción etanol:agua, 90:10; posteriormente se aplicó el método validado para evaluar la calidad cromatográfica de 58 productos.

Contribuciones y Conclusiones: Los métodos desarrollados por CCF resultaron útiles para el análisis de los productos herbales considerados. La extracción con etanol:agua 90:10 resultó la más adecuada para todos los productos herbales. De los 58 productos analizados, sólo 6 de ellos (10%) cumplieron con los criterios de calidad cromatográfica cualitativos y semicuantitativos. El 19 % de los productos sólo cumplió el criterio cualitativo y el restante 71 % no cumplió ninguno de los dos criterios.

FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS



Dra. Rosalba Ramírez Durón

ÍNDICE

Capítulo	Página
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Historia de la herbolaria	1
1.2 Perspectiva global de la herbolaria	3
1.3 Métodos de análisis para productos herbolarios	6
1.3.1 Cromatografía	7
1.3.2 Cromatografía en capa fina	7
1.4 Antecedentes	9
1.5 Justificación	13
1.6 Objetivo General	13
1.7 Objetivos Específicos	13
2 MATERIAL Y MÉTODOS	14
2.1 Material	14
2.1.1 Material en general	14
2.1.2 Sustancias de referencia, reactivos y productos comerciales	15
2.1.3 Equipo	16
2.2 Métodos	16
2.2.1 Selección de 15 plantas, de las más utilizadas por la población del Noreste de México y revisión bibliográfica de los métodos generales de análisis de las mismas.	16
2.2.2 Desarrollo y validación de un método por CCF para extractos estandarizados	17

2.2.2.1	Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados	17
2.2.2.2.1	Optimización del método cromatográfico para extractos estandarizados	18
2.2.2.2	Validación del método analítico para extractos estandarizados	18
2.2.2.2.1	Límite de detección	19
2.2.2.2.2	Precisión	19
2.2.2.2.3	Robustez	20
2.2.3	Desarrollo y validación de un método por CCF para marcadores	21
2.2.3.1	Condiciones cromatográficas para marcadores	21
2.2.3.1.1	Optimización del método cromatográfico para marcadores	22
2.2.3.2	Validación del método analítico para marcadores	23
2.2.3.2.1	Límite de detección	23
2.2.3.2.2	Precisión	24
2.2.3.2.3	Robustez	24
2.2.4	Obtención de los extractos de los productos comerciales que contienen las plantas seleccionadas	25
2.2.4.1	Selección de los productos comerciales	25
2.2.4.2	Extracción de los productos comerciales	25
2.2.5	Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales	27
3	RESULTADOS	28
3.1	Selección de 15 plantas, de las más utilizadas por la población del Noreste de México y revisión bibliográfica de los métodos generales de análisis de las mismas.	28

3.2	Desarrollo y validación de un método por CCF para extractos estandarizados.	30
3.2.1	Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados	30
3.2.1.1	Optimización del método cromatográfico para extractos estandarizados	31
3.2.2	Validación del método analítico para extractos estandarizados	32
3.2.2.1	Límite de detección	32
3.2.2.2	Precisión	32
3.2.2.3	Robustez	33
3.2.3	Desarrollar y validar un método por CCF para marcadores	34
3.2.3.1	Condiciones cromatográficas para los marcadores	34
3.2.3.1.1	Optimización del método cromatográfico para marcadores	35
3.2.3.2	Validación de un método analítico para marcadores	36
3.2.3.2.1	Límite de detección	36
3.2.3.2.2	Precisión	36
3.2.3.2.3	Robustez	37
3.2.4	Obtención de los extractos de los productos comerciales que contienen las plantas seleccionadas	37
3.2.4.1	Selección de los productos comerciales	37
3.2.4.2	Extracción de los productos comerciales	38
3.2.5	Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales	39
3.2.5.1	Castaño de indias	40
3.2.5.2	Damiana	41
3.2.5.3	Manzanilla	43

3.2.5.4	Pasiflora	44
3.2.5.5	Tila	45
3.2.5.6	Árnica	46
3.2.5.7	Azahar	47
3.2.5.8	Boldo	48
3.2.5.9	Cola de caballo	49
3.2.5.10	Eucalipto	50
3.2.5.11	Ginkgo	51
3.2.5.12	Menta	52
3.2.5.13	Sábila	53
3.2.5.14	Salvia	54
3.2.5.15	Sen	55
4	DISCUSIÓN	57
4.1	Validación del método analítico	59
4.2	Obtención de extractos de productos comerciales	61
4.3	Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales	62
4.3.1	Castaño de indias	63
4.3.2	Damiana	64
4.3.3	Manzanilla	65
4.3.4	Pasiflora	66
4.3.5	Tila	67
4.3.6	Árnica	68
4.3.7	Azahar	68

4.3.8	Boldo	69
4.3.9	Cola de caballo	69
4.3.10	Eucalipto	70
4.3.11	Ginkgo	71
4.3.12	Menta	72
4.3.13	Sábila	73
4.3.14	Salvia	74
4.3.15	Sen	74

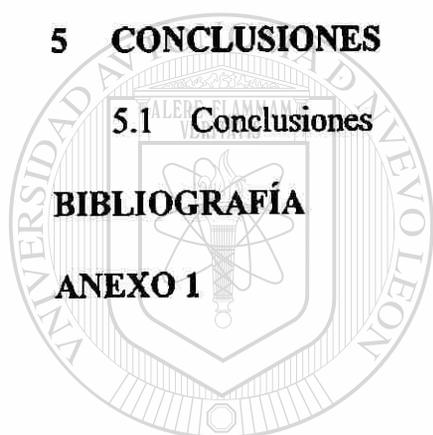
5 CONCLUSIONES

5.1 Conclusiones

BIBLIOGRAFÍA

ANEXO 1

75
75
76
79



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ÍNDICE DE TABLAS

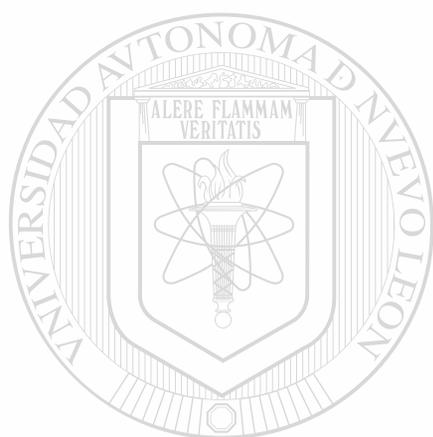
Tabla		Página
1.	Parámetros para determinar el control de calidad en productos herbales	5
2.	Productos herbales más consumidos por la población de Nuevo León	11
3.	Componentes de los 40 productos herbales más consumidos en Nuevo León	11
4.	Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados	17
5.	Condiciones cromatográficas para marcadores	21
6.	Modificaciones realizadas en la composición del eluente para evaluar la robustez en marcadores	25
7.	Condiciones de extracción para productos herbales	26
8.	Lista de plantas seleccionadas	28
9.	Análisis por CCF, para las 15 plantas seleccionadas. Literaturas utilizadas.	29
10.	Análisis por CCF de las plantas seleccionadas. Uso de extractos estandarizados y/o marcadores.	30
11.	Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados	31
12.	Condiciones cromatográficas finales para extractos estandarizados	31
13.	Valores promedio de R_F en los extractos estandarizados	32
14.	Precisión de la distancia recorrida para extractos estandarizados	32
15.	Valores promedio de distancia (d), ancho de mancha (W) y resolución (R) de los extractos estandarizados	33
16.	Precisión de la resolución para los extractos estandarizados	33
17.	Determinación de robustez para extractos estandarizados	33
17a	Determinación de Robustez para extractos estandarizados, modificando el volumen de inyección	33

17b	Determinación de Robustez para extractos estandarizados, modificando la distancia recorrida por el eluente.	34
17c	Determinación de Robustez para extractos estandarizados, modificando la composición del eluente	34
18.	Condiciones cromatográficas para marcadores	35
19.	Condiciones cromatográficas finales para marcadores	35
20.	Límite de detección obtenido para los marcadores	36
21.	Precisión de la distancia recorrida para cada marcador	36
22.	Productos comerciales	37
23	Porcentajes de recuperación de extractos etanol:agua (90:10)	39
24	Perfil cromatográfico observado del extracto estandarizado de Castaño de indias	40
25	Productos analizados. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Castaño de indias	40
26	Bandas de intensidad no presentes en el extracto estandarizado de Castaño de indias	41
<hr/>		
27	Perfil cromatográfico del extracto estandarizado de Damiana	41
28	Productos analizados. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Damiana	41
29	Productos analizados. Bandas que no se observan en el extracto estandarizado de Damiana.	42
30	Perfil cromatográfico observado del extracto estandarizado de Manzanilla	43
31	Productos 3a1 y 3a2. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Manzanilla	43
32	Producto 3a2. Bandas que no se observan en el extracto estandarizado de Manzanilla	43

33	Productos 3b1 y 3b2. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Manzanilla	43
34	Perfil cromatográfico del extracto estandarizado de Pasiflora	44
35	Productos 4a1 y 4a2. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Pasiflora	44
36	Productos 4a1 y 4a2. Bandas que no se observan en el extracto estandarizado de Pasiflora	44
37	Productos 4b1 y 4b2. Bandas que no se observan en el extracto de Pasiflora	44
38	Perfil cromatográfico observado del extracto estandarizado de Tila	45
39	Productos 5a1, 5a2, 5b1 y 5b2. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Tila	45
40	Productos 5b1 y 5b2. Bandas que no se observan en el extracto de Tila	45
41	Sustancias de referencia para el análisis de Árnica	46
42	Patrón cromatográfico del producto 6a1 con Árnica	46
43	Patrón cromatográfico del producto 6a2 con Arnica	46
<hr/>		
44	Sustancias de referencia para el análisis de Azahar	47
45	Patrón cromatográfico de los productos 7a1 y 7a2 con Azahar	47
46	Patrón cromatográfico de los productos de Azahar 7b1 y 7b2	47
47	Sustancia de referencia para el análisis del Boldo	48
48	Patrón cromatográfico del los productos 8a1 y 8a2 de Boldo	48
49	Patrón cromatográfico de los productos 8b1 y 8b2 de Boldo	48
50	Sustancias de referencia para el análisis de Cola de caballo	49
51	Patrón cromatográfico de los productos 9a1 y 9a2 de Cola de caballo	49
52	Patrón cromatográfico de los productos 9a2 de Cola de caballo	49

53	Patrón cromatográfico de los productos 9b1 y 9b2 de Cola de caballo	49
54	Sustancia de referencia para el análisis de Eucalipto	50
55	Sustancia de referencia para el análisis de Eucalipto	50
56	Patrón cromatográfico de los productos 10a2 de Eucalipto	50
57	Patrón cromatográfico de los productos 10b1 de Eucalipto	50
58	Patrón cromatográfico de los productos 10b2 de Eucalipto	50
59	Sustancia de referencia para el análisis de Ginkgo	51
60	Patrón cromatográfico en los productos 11a1 y 11a2 de Ginkgo	51
61	Patrón cromatográfico en los productos 11b1 y 11b2 de Ginkgo	51
62	Sustancias de referencia para el análisis de Menta	52
63	Patrón cromatográfico en el producto 12a1 de Menta	52
64	Patrón cromatográfico en el producto 12a2 de Menta	52
65	Patrón cromatográfico en el producto 12b1 de Menta	52
66	Patrón cromatográfico en el producto 12b2 de Menta	52
<hr/>		
67	Sustancias de referencia para el análisis de Sábila	53
68	Patrón cromatográfico observado en los productos 13a1 y 13a2 de Sábila	53
69	Patrón cromatográfico observado en productos 13b1 de Sábila	53
70	Patrón cromatográfico observado en productos 13b2 de Sábila	54
71	Sustancias de referencia para el análisis de Salvia	54
72	Perfil cromatográfico observado en los productos 14a1 y 14a2 de Salvia	55
73	Perfil cromatográfico observado en los productos 14b1 y 14b2 de Salvia	55
74	Sustancia de referencia de Sen	55

75	Perfil cromatográfico obtenido en los productos 15a1, 15a2, 15b1 y 15b2 de Sen	55
76	Análisis de control de calidad para productos analizados a través de extractos estandarizados.	56
77	Análisis de control de calidad para productos analizados a través de marcadores.	56



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

ÍNDICE DE FIGURAS

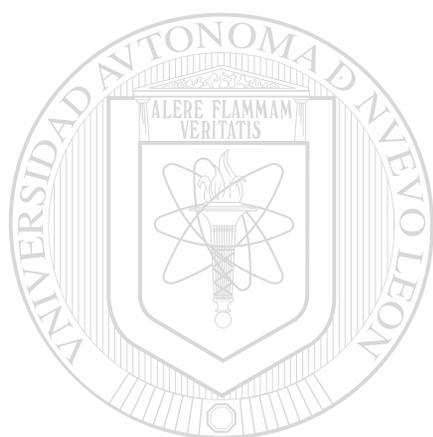
Anexo 1

Figura		Página
1.	Cromatograma 1. Castaño de Indias	79
2.	Cromatograma 2. Damiana	79
3.	Cromatograma 3. Manzanilla	79
4.	Cromatograma 4. Pasiflora	80
5.	Cromatograma 5. Tila	80
6.	Cromatograma 6. Arnica	80
7.	Cromatograma 7a. Azahar	81
8.	Cromatograma 7b. Azahar	81
9.	Cromatograma 8. Boldo	81
10.	Cromatograma 9. Cola de caballo	82
11.	Cromatograma 10. Eucalipto	82
12.	Cromatograma 11. Ginkgo	82
13.	Cromatograma 12a. Menta	83
14.	Cromatograma 12b. Menta	83
15.	Cromatograma 13. Sábila	83
16.	Cromatograma 14a. Salvia	84
17.	Cromatograma 14b. Salvia	84
18.	Cromatograma 15. Sen	84

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

a.C	Antes de Cristo
ác.	Ácido
CCF	Cromatografía en Capa Fina
cm	Centímetros
Fig.	Figura
F ₂₅₄	Fluorescencia a 254 nanómetros
F ₃₆₆	Fluorescencia a 366 nanómetros
g	Gramos
HPLC	High Performance Liquid Cromatography
HPTLC	High Performance Thin Layer Cromatography
mg	Miligramos
mL	Mililitro
M.C.	Maestro en Ciencias
min	Minuto
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
N.L	Nuevo León
No.	Número
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
R _f	Factor de Retención
UV-Vis	Ultravioleta-Visible

μL	Microlitro
$\%$	Por ciento
$^{\circ}\text{C}$	Grados Centígrados



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

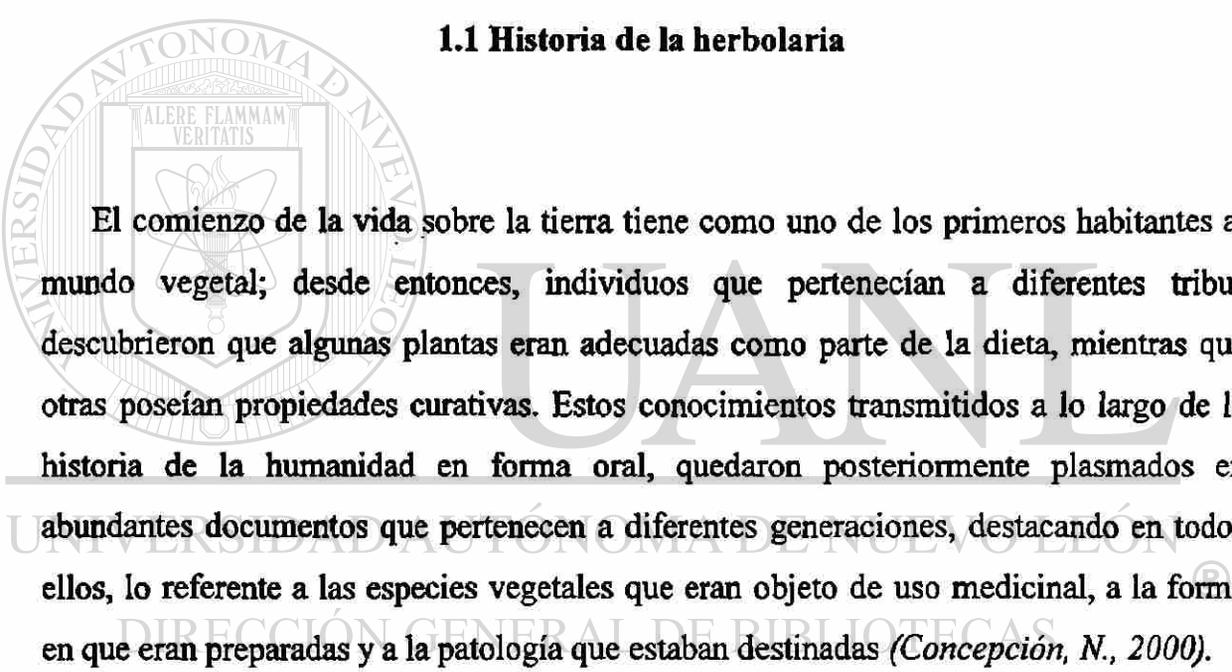


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Historia de la herbolaria



El comienzo de la vida sobre la tierra tiene como uno de los primeros habitantes al mundo vegetal; desde entonces, individuos que pertenecían a diferentes tribus descubrieron que algunas plantas eran adecuadas como parte de la dieta, mientras que otras poseían propiedades curativas. Estos conocimientos transmitidos a lo largo de la historia de la humanidad en forma oral, quedaron posteriormente plasmados en abundantes documentos que pertenecen a diferentes generaciones, destacando en todos ellos, lo referente a las especies vegetales que eran objeto de uso medicinal, a la forma en que eran preparadas y a la patología que estaban destinadas (*Concepción, N., 2000*).

Esta información se reveló en diferentes documentos como el papiro de Ebers, de 20 m de longitud descubierto en 1873 por el egiptólogo alemán Georg Ebers; éste se considera el primer documento escrito (1,700 años a.C) sobre fitoterapia (tratamiento de las enfermedades a través de las plantas); otro ejemplo son las tablillas babilónicas, que describen más de 250 especies de plantas con virtudes curativas. Se conservan además, aportaciones realizadas por las civilizaciones griega y romana, en las que destaca la efectuada por Dioscórides (a quien se le conoce como el padre de la fitoterapia, por sus contribuciones al desarrollo de ésta), en cuya obra "*De Materia Médica*", describe

alrededor de 600 especies vegetales, así como las enfermedades en las que estaba indicado su uso. Los griegos supieron aprovechar su herencia y dieron un sentido científico al uso de las plantas medicinales: a cada enfermedad le aplicaban un remedio herbal, y siempre era el mismo. Hipócrates, quien vivió en el siglo V a. C., siguió aplicando el mismo método, describiendo las plantas curativas, uso y dosis de administración; hoy es considerado el padre de la medicina (*Encarta, 2003; Forés, R., 1997*).

Sin embargo, a pesar del uso de las plantas o de partes de las mismas con fines curativos, hasta mediados del siglo XIX se contó con los medios y conocimientos necesarios para que su uso estuviera dotado de base científica, gracias al aislamiento e identificación de los principios activos de especies como la digital, belladona y la quina. Además, se estableció la relación causa-efecto, es decir, se investigó el efecto que ocasiona sobre un animal, una determinada sustancia extraída de una planta. Después de esto, la industria química y farmacéutica sintetizó en el laboratorio muchas sustancias extraídas de los vegetales, para producir medicamentos que sustituyeran a los tradicionales tratamientos con hierbas (*Concepción, N., 2000*).

En las últimas décadas del siglo XX, parte de la población se rebela ante la industria que llena el mercado de productos sintéticos, algunos de ellos nocivos para la salud o para el medio ambiente, y busca el vivir de la forma más natural posible, en la que no pueden faltar las hierbas en el tratamiento de las enfermedades (*Forés, R., 1997*).

En México, se ha contado desde tiempos prehispánicos con una gran tradición de métodos curativos, información que se transmite de manera oral, de generación en generación. Se considera que el Códice Badiano fue el primer tratado de herbolaria mexicana, escrito en lengua Náhuatl por el Xochimilca Martín de la Cruz en el siglo XVI; tiempo después en 1552, Juan Badiano lo tradujo al latín, de ahí el nombre "Códice Badiano" (*Adame, M., 2000*).

1.2. Perspectiva global de la herbolaria

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define a la medicina tradicional como “prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir enfermedades” (OMS, 2002).

En países donde predomina la medicina alopática, o donde la medicina tradicional no se ha incorporado en el sistema sanitario nacional, ésta se clasifica a menudo como medicina “complementaria”, “alternativa” o “no convencional”. El uso de la medicina tradicional predomina en los países en vías de desarrollo ya que está firmemente arraigada en los sistemas de creencias; sin embargo, en los países desarrollados el uso de la medicina tradicional va en aumento (OMS, 2002).

De acuerdo a la OMS, el 80% de los habitantes del planeta dependen principalmente de la medicina tradicional para el cuidado de salud primario (Eloff, J., 1998), en donde las plantas constituyen el principal componente de este tipo de medicina, por lo que dada la popularidad mundial de las medicinas a base de hierbas, es urgente disponer de los medios apropiados y eficaces para valorarlas (OMS, 2002; Rojas, G., 2001; Agosta, W., 1997).

En Asia y en Latinoamérica, las poblaciones la siguen utilizando como resultado de circunstancias históricas y creencias culturales y en China, la medicina tradicional ocupa alrededor de un 40% de la atención a la salud. En muchos países desarrollados, la medicina complementaria o alternativa se está haciendo cada vez más popular. El porcentaje de población que la ha utilizado al menos una vez, es de un 48% en Australia, un 70% en Canadá, un 42% en Estados Unidos, un 38% en Bélgica y un 75% en Francia; se estima que en el mercado mundial se gastan alrededor de 60 millones de dólares en medicinas elaboradas con hierbas, basadas en el conocimiento tradicional.

Entre los productos herbolarios más populares se incluyen al ginseng, ginkgo, ajo, echinacea y la hierba de San Juan (*OMS, 2002*).

Científicamente se ha reconocido la eficacia de muchos productos herbolarios; algunos extractos de plantas han demostrado tener una variedad de efectos farmacológicos, entre los que se incluyen efectos antiinflamatorios, vasodilatadores, antimicrobianos, anticonvulsivantes, sedantes, antipiréticos, entre otros (*Zollman, C., 1999*).

Los gobiernos de diversos países están respondiendo ante el creciente uso de la medicina tradicional y junto con la OMS, se están enfocando en regular la medicina herbolaria. El número de Estados miembros de la OMS para esta regulación aumentó de 52 en 1994 a 64 en 2000, sumándose en ese año, Australia, Canadá, Madagascar, Nigeria y Estados Unidos (*OMS, 2002*).

En algunos países en vías de desarrollo es cada vez mayor el número de institutos de investigación nacionales sobre medicina tradicional, esto también es un signo de su creciente importancia. De hecho, en algunos de estos países la medicina tradicional está más disponible que la medicina alopática, pero hay que tener presente que las plantas medicinales no son inocuas, además de el efecto terapéutico pueden tener efectos secundarios, contraindicaciones o interacción con medicamentos convencionales lo cual implica riesgos (*Farmacopea Mexicana, 2001*).

En países desarrollados, donde los productos herbales son considerados como medicamentos, se realiza un estricto control de calidad que incluye la determinación de una serie de parámetros, para garantizar calidad y seguridad del producto herbal (Tabla 1).

Para el uso de plantas con fines terapéuticos, debe tenerse muy claramente establecido que al igual que en los fármacos es preciso que se exija calidad, seguridad y

eficacia, por lo que es importante recopilar información suficiente sobre su identidad y pureza (*Concepción, N., 2000*).

Si se contara con productos de calidad asegurada, se podría contribuir a reducir el riesgo asociado a los productos de la medicina tradicional a base de hierbas. Sin embargo, la legislación y el registro de las medicinas herbales no están muy bien desarrollados en muchos países, en los cuales se corre el riesgo de la libre venta de productos contaminados de baja calidad y dudosa seguridad (*Berthold, H., 1998*).

Tabla. 1 Parámetros para determinar el control de calidad en productos herbales

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

Blumenthal, M., 1998

La mayoría de los productos herbales que existen en el mercado, no tienen escrito en la etiqueta alguna información sobre su control de calidad, muchos de ellos se venden como suplementos alimenticios, con muy poca información sobre su uso. Los consumidores no están conscientes de los posibles efectos adversos, y sobre cómo y cuándo se pueden consumir las medicinas herbales de forma segura; es posible que no comprendan por qué deben buscar productos sólo con proveedores adecuadamente calificados, ni por qué deben tener cuidado cuando se utilizan productos de la medicina tradicional. No se entiende por ejemplo, que se pueden producir efectos colaterales tras

la interacción entre las medicinas herbales y los fármacos sintéticos; por ejemplo, el ginseng por sí sólo tiene escasos efectos adversos graves, pero está documentado que si se combina con la warfarina, sus riesgos de actividad antiplaquetaria pueden provocar hipercoagulación (Kleijnen, J., 1989). Sin tener conocimientos sobre la posibilidad de que se produzcan dichas interacciones, los pacientes pueden no informar a sus médicos alopáticos sobre los productos de medicina tradicional que están utilizando, a la vez que los médicos alopáticos pueden no preguntarles (Eisenberg, D., 1998). Invertir esta situación necesitará un control mucho más estricto de los productos de la medicina herbolaria y mayores esfuerzos para educar al público en esta área (Berthold, H., 1998).

1.3 Métodos de Análisis para productos herbolarios

La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos tiene como objetivo establecer los métodos de análisis y especificaciones técnicas que deberán cumplir las plantas y los derivados de ellas que se utilicen en la elaboración de medicamentos y remedios herbolarios, con el propósito de contribuir al mejoramiento de la calidad de este tipo de productos y su uso adecuado. La identificación plena de las drogas vegetales es una de las pruebas más importantes dentro del control de los medicamentos herbolarios (Farmacopea Mexicana, 2001).

La OMS en su publicación *Quality control methods for medicinal plant materials* reporta que el análisis de plantas medicinales no está restringido a métodos comúnmente utilizados para las drogas sintéticas, como por ejemplo: métodos volumétricos, análisis gravimétrico, cromatografía de gases, cromatografía de líquidos y métodos espectroscópicos, etc., sino que existen otros métodos que incluyen a la cromatografía en capa fina; técnica recomendada ampliamente en esta publicación para el análisis de productos herbales (OMS, 1998; OMS, 2000). La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, también incluye a la cromatografía en capa fina como una importante herramienta analítica en el control de calidad de plantas medicinales. Esta técnica resulta particularmente valiosa en la determinación cualitativa, semicuantitativa o cuantitativa para este tipo de productos (Farmacopea Mexicana, 2001).

1.3.1 Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación y/o purificación en donde los componentes a separar se distribuyen entre dos fases: una fase móvil que migra a través de la fase estacionaria. Si a este sistema se le introduce una mezcla de sustancias afines a la fase estacionaria, éstas avanzarán por la misma empujadas por la fase móvil; si las sustancias que componen la mezcla interaccionan en distinta magnitud con la fase estacionaria, avanzarán por el sistema con distinta velocidad, pudiéndose producir la separación de las mismas.

La cromatografía se puede clasificar de acuerdo a diferentes parámetros: al estado físico de sus fases, al mecanismo de separación, a la naturaleza de la fase móvil o de la fase estacionaria, o bien según la disposición de la fase estacionaria (forma en que las dos fases entran en contacto), esta última se clasifica en cromatografía en columna y plana. En la cromatografía en columna la fase estacionaria se distribuye de manera compacta en el interior de un tubo cilíndrico y a través del mismo se hace percolar la fase móvil. En la cromatografía plana, la fase estacionaria se coloca sobre una superficie plana, a través de la cual migra por capilaridad la fase móvil, es un tipo de separación muy útil y difundida, en donde se incluyen a la cromatografía en papel, en capa fina y la cromatografía en capa fina de alta resolución, HPTLC en lengua inglesa (High Performance Thin Layer Chromatography) (Orid, V., 2000).

1.3.2 Cromatografía en Capa Fina

Es considerada la más simple de todas las técnicas cromatográficas. Actualmente, la cromatografía en capa fina tiene gran diversidad de áreas de aplicación, se ha convertido en una importante herramienta en la industria, así como en laboratorios clínicos, bioquímicos y de investigación en productos naturales, entre otros. Una de las grandes ventajas que tiene esta técnica es que se puede realizar el análisis simultáneo de muestras y estándares.

La separación se produce por la distribución de sustancias de la muestra, entre la fase estacionaria y la fase móvil. Esta afinidad relativa en capa fina se expresa por el valor del factor de retención o (R_F), que expresa la relación entre la distancia recorrida por la sustancia y la recorrida por la fase móvil. Es decir:

$$R_F = \frac{\text{distancia recorrida por la sustancia}}{\text{distancia recorrida por la fase móvil}}$$

El valor de R_F está condicionado por numerosos factores, tales como las variaciones en la composición de la fase móvil, la temperatura (que modifica el coeficiente de partición), la viscosidad del eluyente, las características del adsorbente como: grosor y tamaño de poro (que modifican la velocidad del flujo del líquido), etc. Por ello, para dar el valor de R_F como una característica propia de cada sustancia, hay que especificar muy claramente las condiciones en que se ha realizado la medición, ya que es una constante en determinado sistema cromatográfico (*Orid, V., 2000*).

Hasta hace relativamente poco, era considerada una técnica cualitativa simple y rápida, para separar mezclas no complejas, resultando una pobre alternativa frente a otras técnicas cromatográficas como el HPLC (High Performance Layer Chromatography). Sin embargo, debido al desarrollo tecnológico, se han introducido cambios en esta técnica, en lo referente a calidad de fases estacionarias, equipos para la aplicación de muestras y sistemas de detección y documentación entre otros, lo que ha hecho renacer el interés, siendo actualmente considerada una técnica útil para separar y determinar cualitativa y cuantitativamente mezclas complejas a nivel de trazas.

Entre las innovaciones tecnológicas se encuentran los equipos automatizados para la aplicación de la muestra, la cual puede ser en punto o en banda. Esto permite disminuir el error de aplicación, y además con la aplicación en banda, se puede mejorar la resolución y la reproducibilidad del desarrollo cromatográfico.

Para la documentación y análisis del cromatograma existen equipos que con lámparas, a tres longitudes de onda, (254 nm, 366 nm y visible), que permiten ver el cromatograma sin interferencias de la luz externa y además, para la documentación y posterior procesamiento del cromatograma se pueden utilizar equipos de fotografía digital, cámaras de video, o bien un espectrofotómetro para capa fina, lo cual facilita el procesamiento y análisis de los resultados.

La cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), incluye los principales avances de la cromatografía plana como son: mejor calidad del material adsorbente que forma la fase estacionaria lo que ocasiona una mejor eficacia separativa (mayor número de platos reales y menor altura equivalente de plato), la existencia de varias posibilidades de desarrollo cromatográfico, la aplicación automatizada de las muestras (ya sea en punto o en banda), entre otros.

1.4 Antecedentes

Se podría decir que México es una farmacia natural pues cuenta con una extensa y muy variada flora medicinal en todo su territorio. Se considera que el número de plantas reconocidas por sus propiedades curativas es de alrededor de tres mil; sin embargo, existen muchas que aún no han sido descubiertas o estudiadas científicamente, razón por la cual han quedado “relegadas” al uso exclusivo de comunidades serranas e indígenas (Adame, M., 2000).

La cultura indígena mexicana posee una rica herencia de curación con plantas medicinales. Una encuesta nacional llevada a cabo de 1983 a 1985 en 2,242 comunidades rurales en México, mostró que 78% de 148 plantas medicinales más frecuentemente usadas por la población, son empleadas para prevenir o curar enfermedades gastrointestinales, respiratorias y de la piel; sin embargo, la investigación científica para determinar el potencial terapéutico de estas plantas es limitada (Rojas, G., 2001).

En nuestro país, las plantas medicinales se pueden adquirir en los mercados públicos, farmacias, centros naturistas, supermercados entre otros. La atracción en ascenso por el uso de las plantas medicinales, y también su creciente promoción mercantil, no son privativas de México, si no comunes en diversas regiones del mundo, en un momento en el cual ciertos núcleos de la población de diferentes estratos sociales expresan la necesidad de alternativas naturales para el tratamiento médico (*Farmacopea Mexicana, 2001*). Hoy en día, el rechazo hacia los medicamentos alopáticos provocado por diversos motivos, se asocia al deseo de gran parte de la población por recuperar o mantener la propia salud a través de “medios naturales”, por consiguiente farmacéuticos y médicos están viviendo el fenómeno de la “onda verde” también en el campo del medicamento (*Cañigüeral, S., 1998*).

En Nuevo León en el 2003, existían 2,620 establecimientos registrados ante la Secretaría de Salud como expendedores de productos herbales, considerados éstos como suplementos alimenticios, por lo cual su venta se realiza libremente, sin exigir que el producto se someta a algún tipo de análisis que como mínimo aseguren la autenticidad de la planta (*Salazar, R., 2004*).

Debido a esta problemática y al hecho inminente de que en México la herbolaria es una práctica médica muy difundida, surgió el interés en nuestro grupo de trabajo, de investigar cuales son los productos herbolarios que se consumen más en nuestra región y desarrollar procedimientos analíticos para evaluar su calidad. Este proyecto se desarrolla en el Departamento de Química Analítica, de la Facultad de Medicina, de la U.A.N.L., y lleva por nombre “La medicina herbolaria. Rastreo sistemático de la calidad de los productos más utilizados por la población del Noreste de México”. El primer objetivo de este proyecto fue determinar cuales eran los 40 productos más consumidos en nuestra región, lo cual se realizó mediante la aplicación de encuestas a la población y visitas a establecimientos que comercializan productos herbales, registrados ante la Secretaría de Salud en el Estado. La Tabla 2 muestra como resultado de esta etapa, los 40 productos comerciales, los cuales contenían entre todos 103 plantas, enlistadas en la Tabla 3 (*Salazar, R., 2004*).

Tabla 2. Productos herbales más consumidos por la población de Nuevo León

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

Tabla 3. Componentes de los 40 productos herbales más consumidos en Nuevo León.

	Nombre común	Nombre científico		Nombre común	Nombre científico
1	Alcanfor	<i>Cinnamomum comphora</i>	53	Malabar	<i>Solanum verbascifolium</i>
2	Ajenjo	<i>Artemisa absinthium</i>	54	Manita	<i>Chirathodendron pentadacty</i>
3	Ajo	<i>Allium sativum</i>	55	Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i>
4	Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>	56	Marrubio	<i>Marrubium vulgare</i>
5	Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	57	Melisa	<i>Melissa officinalis</i>
6	Algas marinas	Varias especies	58	Menta	<i>Mentha piperita</i>
7	Aloe de barbados	<i>Aloe barbadensis</i>	59	Mentol	Compuesto puro
8	Anacahuite	<i>Cordia boissieri</i>	60	Miel de abeja	Producto natural
9	Apio	<i>Apium graveolens</i>	61	Mirotón	Producto natural
10	Arnica	<i>Heterotheca inuloides</i>	62	Mirra	<i>Commiphora molmol</i>
11	Azahar	<i>Citrus aurantium</i>	63	Muérdago	<i>Viscum album</i>
12	Boldo	<i>Peumus boldus</i>	64	Naranja	<i>Citrus sinensis</i>
13	Borracha	<i>Borago officinalis</i>	65	Nopal	<i>Opuntia microdasys</i>
14	Bugambilia	<i>Bougainvillea spectabilis</i>	66	Orozuz	<i>Glychiriza glabra</i>
15	Camelia	<i>Camelia japonica</i>	67	Palo amarillo	<i>Chlorophora tinctoria</i>
16	Cancerina	<i>Hypocritea excelsa</i>	68	Palo azul	<i>Erysenhadtia polystachia</i>
17	Cañafistula	<i>Cassia fistula</i>	69	Palo de arco	<i>Tacoma stans</i>
18	Cardo santo	<i>Cnicus benedictus</i>	70	Paprika	<i>Capsicum frutescens</i>
19	Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	71	Pasiflora	<i>Passiflora incarnata</i>
20	Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	72	Pasto de trigo	<i>Agropyron sp.</i>
21	Castaño de Indias	<i>Aesculus hippocastanum</i>	73	Pelo de elote	<i>Zea mays</i>
22	Centzo	<i>Leucophyllum texanum</i>	74	Perejil	<i>Petroselinum sativum</i>
23	Cera de abeja	Producto natural	75	Prodigiosa	<i>Coleosanthus squarrosus</i>
24	Cidra	<i>Sechum edule</i>	76	Propóleo	Producto natural
25	Cilantro	<i>Coriandrum sativum</i>	77	Psyllium	<i>Plantago psyllium</i>
26	Cítricos	Varias especies	78	Rosa silvestre	<i>Rosa canina</i>
27	Cola de caballo	<i>Equisetum arvense</i>	79	Rutina	Compuesto puro
28	Cuachalate	<i>Amphyterigium adstringens</i>	80	Salvadora	<i>Solanum diversifolium</i>
29	Damiana	<i>Turnera difussa</i>	81	Salvia	<i>Salvia officinalis</i>
30	Diente de León	<i>Taraxacum officinalis</i>	82	Sauce	<i>Salix fragilis</i>
31	Espino blanco	<i>Crataegus laevigata</i>	83	Sauce blanco	<i>Salix humboldtiana</i>
32	Estafiate	<i>Artemisa ludoviciana</i>	84	Sauco	<i>Sambucus mexicanus</i>
33	Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	85	Sen	<i>Cassia senna</i>
34	Penogreco	<i>Trigonella feonumgraecum</i>	86	Soya	<i>Glicine hispida</i>
35	Flor de manzanilla ron	<i>Anthemis nobilis</i>	87	Tamarindo	<i>Tamarindus indica</i>
36	Fosfatidilcolina	Compuesto puro	88	Tepezcohuite	<i>Mimosa tenuiflora</i>
37	Fumaria	<i>Fumaria officinalis</i>	89	Tepozan	<i>Buddleja cordata</i>
38	Gingko biloba	<i>Ginkgo biloba</i>	90	Tila	<i>Tilia occidentalis</i>
39	Gobernadora	<i>Larrea tridentata</i>	91	Tolú	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
40	Gordolobo	<i>Gnaphalium semiamplexicaule</i>	92	Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>
41	Gorongoro	Producto natural	93	Toronjil	<i>Agastache mexicana</i>
42	Guaje cirial	<i>Crescentia alata</i>	94	Trementina	Compuesto puro
43	Hierba chironiac	<i>Centaurium erythrae</i>	95	Tronadora	<i>Tecota stans</i>
44	Hierba de San Juan	<i>Hypericum perforatum</i>	96	Tumba vaquero	<i>Ipomoea stans</i>
45	Hierbanis	<i>Tapetes lucida</i>	97	Uña de gato	<i>Mimosa biuncifera</i>
46	Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i>	98	Uva	<i>Vitis vinifera</i>
47	Hojasé	<i>Flourescencia cernua</i>	99	Valeriana	<i>Valeriana officinalis</i>
48	Lecitina de soya	<i>Glicine hispida</i>	100	Vinagre de manzana	<i>Malus domestica</i>
49	Lima	<i>Citrus limetta</i>	101	Wereke	<i>Maximowisda</i>
50	Limón	<i>Citrus limonium</i>	102	Zábila	<i>Aloe vera</i>
51	Lúpulo	<i>Humulus lupulus</i>	103	Zapote blanco	<i>Cassimiroa edulis</i>
52	Magnolia	<i>Magnolia officinalis</i>			

La mayoría de estas plantas no se encuentran incluidas en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, a pesar de la diversidad de la flora presente en México. Cabe resaltar, que algunas plantas son de origen extranjero, y sus productos comerciales son importados.

Aún y cuando la Secretaría de Salud, cuenta con la “Ley General de Salud” que regula la venta, uso y comercio de productos herbarios en México, se consideran a los productos herbales como suplementos alimenticios, de libre venta al público, sin ningún análisis que avale su calidad.

El Artículo 215 de la “Ley General de Salud” cita lo siguiente:

“Los suplementos alimenticios son productos a base de hierbas, extractos vegetales, alimentos tradicionales, deshidratados o concentrados de frutas adicionados o no con vitaminas o minerales, que se pueden presentar en forma farmacéutica y cuya finalidad de uso sea incrementar la ingesta dietética total, complementaria o suplir alguno de sus componentes”

El problema se agrava más ya que este tipo de productos tienen como principales canales de distribución establecimientos que en su mayoría no cuentan con un experto en herbolaria, con lo cual la venta no viene acompañada del adecuado consejo en cuanto a utilización, dosis, posible aparición de efectos secundarios, contraindicaciones e interacciones con otros medicamentos. Es importante considerar que las plantas medicinales, aún considerando la baja toxicidad que representan los principios activos de muchas de ellas, pueden dar origen a problemas de salud, debido a contaminación microbiológica, restos de pesticidas y herbicidas, restos de metales pesados, entre otros. (Concepción, N., 2000).

Lo anterior hace patente la necesidad de aplicar metodologías analíticas estrictas, apoyadas en la información científica actual, que garanticen los tres parámetros: calidad, seguridad y eficacia. Con el propósito de aportar información al respecto, y como parte

del proyecto Medicina Herbolaria (antes citado), surge el presente trabajo, cuya justificación es:

Justificación

En México los productos herbolarios son comercializados como suplementos alimenticios y no son sometidos a un control de calidad, por lo cual consideramos importante desarrollar procedimientos analíticos para evaluar la calidad cromatográfica en estos productos.

Objetivo General

Analizar por CCF, productos comerciales cuyo componente único sea una de las 15 plantas de las más utilizadas por la población del Noreste de México, como parte del control de calidad en productos herbales.

Objetivos Específicos

1. Selección de 15 plantas de las más utilizadas por la población del Noreste de México y revisión bibliográfica de los métodos generales de análisis de las mismas.
2. Desarrollo y validación de un método por CCF para extractos estandarizados.
3. Desarrollo y validación de un método por CCF para marcadores.
4. Obtención de los extractos de los productos comerciales que contienen las plantas seleccionadas
5. Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales seleccionados en el objetivo anterior.

CAPÍTULO 2

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1 Material en general

- Embudos de filtración rápida. Pyrex 5 X 11 cm
 - Matraz Erlenmeyer Pyrex de 250 y 500 mL
 - Papel filtro Whatman No. 40
 - Pipetas automáticas Wilson® de 50, 100 y 1000 µL
 - Pipetas Pasteur
-
- Pomaderas de vidrio oscuras
 - Probetas de 100, 250 y 500 mL
 - Soporte de madera para embudo de filtración rápida
 - Tubos de ensaye 13 X 100 y 18 X 150 mm
 - Tubos de ensaye con tapón de rosca 13 X 100 mm
 - Tubos de ensaye con tapón de rosca 18 X 150 mm
 - Tubos eppendorf de 2 mL
 - Vasos de precipitado de 250, 500 y 1000 mL
 - Tamiz. No. 10 malla 2 mm de apertura. Fisher scientific
 - Capilares de 5 y 10 µL. Drummon Wiretrol
 - Aspensor SIGMA Chemical Company

- Cámara de desarrollo cromatográfico para placas de 20 X 10 cm y 20 X 20 cm DESAGA
- Cromatoplasacas de Aluminio, Merck Gel 60 F₂₅₄ 20 X 20 cm
- AGA: nitrógeno gaseoso 99% de pureza

2.1.2 Sustancias de referencia, reactivos y productos comerciales.

- Mentona, linalol, acetato de linalilo; ácido clorogénico, anisaldehído, α y β tuyaona, NP (aminoetildifeniletilester) y PEG (polietilenglicol) de Fluka.
- Cineol, rutina, kaempferol, mentol y geraniol de Aldrich.
- Aloína, vainillina y ácido cafeico de SIGMA.
- Ginkólido B de Bio-chemika.
- Extractos estandarizados de castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora y tila de Bioextracto, S.A. de C.V.
- Senósido b y boldina de Roth Karlsruhe.
- Acetato de etilo, acetona, ácido fórmico, ácido acético, ácido nítrico Ácido sulfúrico, anhídrido acético, butanol, cloroformo, dietilamina, etanol, eter etílico, hexano, metanol, propanol, tolueno, hidróxido de potasio y acetato de sodio, grado analítico de Fermont.
- Agua destilada
- Productos comerciales: castaño de indias sin marca de Hierbería Xóchitl, damiana de California sin marca de Hierbería La Salud, damiana de California marca Anáhuac de Benavides, manzanilla sin marca de Hierbería La Salud, manzanilla marca Malabar de HEB, pasiflora sin marca de Hierbería La Salud, pasiflora marca passiflorine de HEB, tila sin marca de Hierbería La Salud, tila marca Lagg's de HEB, árnica sin marca de Hierbería La Salud, árnica marca Azteca de HEB, azahar sin marca de Hierbería La Salud, azahar marca Lagg's de HEB, Boldo sin marca de Hierbería La Salud, boldo marca Azteca de Hierbería La Salud, cola de caballo sin marca de Hierbería La Salud, cola de caballo marca Anáhuac de Hierbería Xóchitl, eucalipto sin marca de Hierbería La Salud,

eucalipto marca Malabar Florasol de Hierbería La Salud, Ginkgo biloba sin marca de Hierbería La Salud, Ginkgo biloba marca gelcaps de HEB, menta sin marca de Hierbería La Salud, menta marca malabar de HEB, sábila sin marca de Hierbería Xóchitl, sábila marca Malabar Florasol de Hierbería Xóchitl, salvia sin marca de Hierbería Xóchitl, salvia marca malabar de Hierbería Xóchitl, sen sin marca de Hierbería La Salud, sen marca farmasa de Benavides.

2.1.3 Equipo

- Balanza granataria, Scout Ohaus®
- Balanza analítica Sartorius Basic. Sensibilidad de 0.0001 mg
- Campana de Extracción, Lumistell.
- Estufa, Shel Lab Sheldon Manufacturin
- Lámpara de Luz Ultravioleta. 254 nm y 366 nm Spectroline® Longlife™ Filter
- Licuadora, Man 7 velocidades
- Mini Vórtex, VNR Scientific Products
- Placa de calentamiento, Thermolyne nuova
- Rotavapor BÜCHI® modelo 461 con baño de agua BÜCHI RE 121
- Refrigerador Daewoo
- Aplicador semi-automático de muestras. Linomat 5 de Camag®
- Reprostar 3. Sistema de Documentación para CCF, con cámara digital (Canon) y lámparas para iluminación ultravioleta a 254 nm, 366 nm y luz visible. Camag

2.2 Métodos

2.2.1 Selección de 15 plantas, de las más utilizadas por la población del Noreste de México y revisión bibliográfica de los métodos generales de análisis de las mismas.

La Selección de las 15 plantas se realizó en base a la información generada en la estadística del proyecto de Medicina herbolaria sobre los 40 productos comerciales más

principales componentes de estos productos se eligieron 15 con la consideración de que estuvieran como único componente dentro de estos productos. Se realizó una búsqueda de información bibliográfica de las 15 plantas seleccionadas basándonos principalmente en los métodos de extracción y los métodos generales de análisis por cromatografía en capa fina; el enfoque básico fue en el desarrollo del control de calidad usando extractos estandarizados y/o marcadores (*Adame, M., 2000; Blumenthal, M., 1998; Cañigüeral, S., 1998; Farmacopea Mexicana, 2001; Wagner, H., 1984; Forés, R., 1997 y Camag*).

2.2.2 Desarrollo y validación de un método por CCF para extractos estandarizados.

2.2.2.1 Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados

Se desarrollaron las condiciones cromatográficas descritas en la literatura para los extractos estandarizados de castaño de indias, damiana, manzanilla, tila y pasiflora (Tabla 4). En todos los casos la distancia recorrida por el eluyente fue de 10 cm y el tiempo de saturación de la cámara de desarrollo cromatográfico fue de una hora.

Tabla 4. Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados

Planta	Fuente de Información	Fase móvil	Fase estacionaria	Revelador	Detección
Manzanilla	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Clorofórmico	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Anisaldehído SP	Visible
	Plant Drug Analysis	Tolueno:acetato de etilo 93:7	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Vainillina sulfúrica	Visible
Damiana	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366nm
Pasiflora	Cañigüeral	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 80:8:12	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366nm
Tila	Cañigüeral	Acetato de etilo:etil metil cetona:ácido fórmico:agua 50:30:10:10	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm
	Plant Drug Analysis	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm
Castaño de Indias	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Clorofórmico	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Anisaldehído SP	Visible
	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	Visible
	Plant Drug Analysis	Tolueno:acetato de etilo 93:7	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Vainillina sulfúrica	Visible
	Cañigüeral	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 80.8.12	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366nm

2.2.2.1.1 Optimización del método cromatográfico para extractos estandarizados.

Para cada extracto estandarizado se seleccionó el sistema cromatográfico en el que se observó la mejor resolución. Se optimizaron los siguientes parámetros: cantidad de muestra aplicada, el volumen de aplicación, composición del eluente, distancia recorrida por el eluente y tiempo de saturación.

- a) Cantidad de muestra aplicada: se prepararon soluciones de 1, 5, 10, 15, 20 y 25 mg de cada extracto estandarizado por separado, y se disolvieron en 1 mL de una mezcla etanol:agua 50:50. Se aplicaron 0.075 mg (10 μ L), 0.150 mg (15 μ L) y 0.300 mg (20 μ L) de cada una de estas soluciones por separado.
- b) Volumen de aplicación: se prepararon soluciones de 15 mg/mL de una mezcla etanol:agua 50:50 de cada extracto por separado y se inyectaron diferentes volúmenes de aplicación 10, 15, 20 y 25 μ L, en la placa cromatográfica.
- c) Composición del eluente: se realizaron variaciones de la fase móvil, respecto al solvente que está en mayor proporción en la mezcla utilizada. De la mezcla acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético:agua 100:11:11:27, se aumentó el volumen de acetato de etilo a 150 mL, además se realizó otra prueba disminuyendo el volumen de acetato de etilo a 50 mL.
- d) Distancia recorrida por eluente: se desarrolló el cromatograma, variando la distancia recorrida por el eluente de 10 cm a 5, 15 y 20 cm.
- e) Tiempo de saturación: se varió el tiempo de saturación de la cámara de desarrollo cromatográfico de 60 min. a 30 y 45 min.

2.2.2.2 Validación del método analítico para extractos estandarizados

Con el método optimizado se procedió a la validación del mismo.

2.2.2.2.1 Límite de detección:

Se utilizaron soluciones de 15 mg/mL de cada extracto estandarizado disuelto en una solución etanol:agua 50:50. Se aplicaron 0.015 mg (1 μ L), 0.030 mg (2 μ L), 0.075 mg (5 μ L), 0.150 mg (10 μ L), 0.225 mg (15 μ L), 0.300 mg (20 μ L) y 0.375 mg (25 μ L) en una cromatoplaça diferente para cada extracto. La aplicación de las soluciones se realizó con el equipo Linomat 5; el cromatograma se obtuvo con las condiciones cromatográficas del método optimizado. La cromatografía se realizó por triplicado y se determinó la menor concentración a la cual son detectados los principales componentes de cada extracto, observando el cromatograma a luz visible y a 366 nm.

2.2.2.2.2 Precisión

Se determinó a partir de soluciones de 15 mg/mL de cada extracto estandarizado disuelto en una solución etanol:agua 50:50. Se aplicaron 0.300 mg (20 μ L) de cada extracto por separado, cinco veces en una placa cromatográfica (la aplicación de la solución se realizó en el equipo Linomat 5; el cromatograma se obtuvo con las condiciones cromatográficas del método optimizado. Esta operación se realizó por triplicado). En estas placas se evaluó: precisión de la distancia recorrida y precisión de la resolución.

Para evaluar la precisión de la distancia recorrida (R_F) se eligieron tres manchas: una a R_F alto, otra a R_F medio y otra a R_F bajo. Se determinó el R_F a estos tres niveles por separado y se calculó el promedio de los valores en las tres placas cromatográficas, así como la desviación estándar y el coeficiente de variación con el programa estadístico de Excel. Se utilizaron las siguientes fórmulas:

Coeficiente de variación:
$$C.V. = \frac{s}{x} \times 100\%$$

C.V.= coeficiente de variación
s= desviación estándar
x= promedio

La precisión de la resolución se determinó eligiendo 3 pares de manchas de R_F adyacente: R_F alto, R_F medio y R_F bajo. Se determinó el R_F a estos tres niveles y se calculó el promedio de los valores en las tres placas cromatográficas. Para cada par de manchas se calculó la resolución y se determinó el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación.

Para el cálculo de la Resolución

$$R = \frac{(d_1 - d_2)}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)}$$

R = Resolución

d_1 = distancia recorrida por la mancha más alta

d_2 = distancia recorrida por la mancha menos alta

W_1 = ancho de la mancha más alta

W_2 = ancho de la mancha menos alta

2.2.2.2.3 Robustez

Para todos los parámetros a evaluar se determinó el valor promedio de R_F (de tres pares de manchas de R_F adyacente, R_F alto, R_F medio y R_F bajo) en tres cromatogramas para cada parámetro a evaluar y se determinó la resolución se consideró que el método soporta variaciones cuando el valor de resolución está dentro de dos desviaciones estándar del método optimizado.

Los parámetros que se evaluaron fueron los siguientes:

- a) Cantidad de muestra: a partir de una solución de 15 mg/mL de cada extracto estandarizado disuelto en una solución de etanol:agua 50:50, se aplicaron 0.225 mg (15 μ L) de la muestra en la placa cromatográfica, se aplicó tres veces la misma cantidad y se realizaron tres placas diferentes; esto mismo se realizó aplicando 0.375 mg (25 μ L) de la muestra.
- b) Composición del eluente: a partir de una solución de 15 mg/mL de cada extracto estandarizado disuelto en una solución de etanol:agua 50:50, se aplicaron 0.300 mg (20 μ L) de la muestra en una placa, y se desarrolló el cromatograma por triplicado; para esto se hicieron variaciones del solvente

principal del eluente de referencia (acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético:agua 100:11:11:27), probando las siguientes variaciones en el eluente: 95:11:11:27 y 105:11:11:27 (acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético:agua).

- c) Distancia recorrida por eluente: a partir de una solución de 15 mg/mL de cada extracto estandarizado disuelto en una solución de etanol:agua 50:50, se aplicaron 0.300 mg (20 μ L) de la muestra en una placa por triplicado y se desarrolló el cromatograma también por triplicado; se hicieron variaciones respecto del método optimizado (10 cm), dejando correr el solvente 9 y 11 cm.

2.2.3 Desarrollo y validación de un método por CCF para marcadores.

2.2.3.1 Condiciones cromatográficas para marcadores

Se desarrollaron las condiciones cromatográficas descritas en la literatura para cada uno de los marcadores (Tabla 5). En todos los casos la evaluación de los resultados se llevó a cabo seleccionando las condiciones en las que se obtuvieron valores óptimos de R_f para cada marcador (0.3-0.7). La distancia recorrida por el eluente fue de 10 cm y el tiempo de saturación fue de una hora.

Tabla 5. Condiciones cromatográficas para marcadores

Marcadores	Fuente de Información	Fase móvil	Fase estacionaria	Revelador	Detección
Mentol, cineol, mentona, geraniol, tuyona	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Tolueno:acetato de etilo 95:5	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Vainillina sulfúrica	Visible
	Plant Drug Analysis	Tolueno:acetato de etilo 93:7	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Anisaldehído SP	Visible
Acetato de linalilo, linalol	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:etil metil cetona ácido fórmico 50:30:10:10	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm
	Plant Drug Analysis	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Anisaldehído SP	Visible
	Plant Drug Analysis	Tolueno:acetato de etilo 93:7	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Anisaldehído SP	Visible
Aloina	Plant Drug Analysis	Acetato de etilo:metanol:agua 100:13,5:10	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm

	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:metanol:agua 100:17:10	Silica gel 60 F ₂₅₄	KOH al 10%	UV 366 nm
Boldina	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Cloroformo:alcohol: amoníaco 95:5:1	Silica gel 60 F ₂₅₄	Yodoplatinato SP	UV 366 nm
	Cañigüeral	Tolueno:metanol: dietilamina 10:1:1	Silica gel 60 F ₂₅₄	Yodo y yoduro potásico	Visible
Ginkólido B	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 67,5:17,5:7,5:7,5	Silica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm
	Camag	Tolueno:acetato de etilo:acetona:metanol 20:10:10:1.2	Silica gel 60 F ₂₅₄	Anhídrido acético	UV 254nm UV 366nm
Senósido B	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:propanol:agua:ácido acético 40:40:30:1	Silica gel 60 F ₂₅₄	HNO ₃ al 20% KOH al 10% en Etanol	Visible UV 366 nm
	Plant Drug Analysis	Acetato de etilo: propanol: agua:ácido acético 40:40:30	Silica gel 60 F ₂₅₄	HNO ₃ al 20% KOH al 10% en Etanol	Visible UV 366 nm
Acido clorogénico, rutina, kaempferol, ácido cafeico	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:metanol:agua 100:17:10	Silica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm
	Plant Drug Analysis	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Silica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366 nm

2.2.3.1.1 Optimización del método cromatográfico para marcadores

Para cada marcador se seleccionó el sistema cromatográfico en el que se observaron valores entre 0.3 y 0.7 de R_f. Del sistema cromatográfico seleccionado, los parámetros a optimizar fueron: la cantidad de muestra aplicada, el volumen de aplicación, composición del eluente, distancia recorrida por eluente y el tiempo de saturación.

Además se optimizó el método cromatográfico en base a la selectividad, para ver si el marcador bajo esas condiciones era fácilmente detectado en los extractos de los productos comerciales. Para realizar esto, se pesó 1 g del producto (previamente molido y tamizado) y se realizó una extracción con 5 mL de una mezcla etanol:agua 90:10, se desarrolló una placa cromatográfica con el sistema cromatográfico seleccionado, aplicando 0.300 mg (20 µL) del extracto del producto y 0.002 mg (2 µL) del marcador o marcadores

Parámetros que se evaluaron:

- a) Cantidad de muestra aplicada: se prepararon soluciones de 1 mg de cada marcador en 1 mL de metanol. Se aplicó por triplicado 0.002 mg (2 μ L) del marcador en la cromatopla. Lo anterior se realizó por triplicado.
- b) Volumen de aplicación: se prepararon soluciones de 1 mg de cada marcador en 1 mL de metanol. Se aplicó por triplicado 1 μ L del marcador en la cromatopla y se realizó por triplicado. También se probó esto mismo aplicando 3 μ L.
- c) Composición del eluente: Se aplicó en una cromatopla 0.002 mg (2 μ L) del marcador junto con 0.300 mg (20 μ L) del extracto hidroalcohólico obtenido del producto comercial; se realizaron variaciones de la fase móvil, respecto al solvente que está en mayor proporción. En el caso de los marcadores mentol, cineol, mentona, geraniol y tuyona se utilizó como fase móvil tolueno:acetato de etilo 93:7, se aumentó la proporción de tolueno a 150 mL y también se disminuyó el volumen a 50 mL. Para los demás marcadores se realizaron las variaciones de la fase móvil de la misma manera.
- d) Distancia recorrida por eluente: se desarrolló el cromatograma, haciendo variaciones en la distancia recorrida por el eluente a 5, 15 y 20 cm.
- e) Tiempo de saturación: se varió el tiempo de saturación de la cámara de desarrollo cromatográfico de 1 hora a 30 y 45 minutos.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

2.2.3.2 Validación del método analítico para marcadores

Para cada uno de los parámetros a validar, se utilizaron las condiciones cromatográficas del método optimizado para cada marcador.

2.2.3.2.1 Límite de detección:

Se determinó utilizando soluciones de 1 mg de cada marcador sólido disuelto en 1 mL metanol y para los marcadores líquidos se utilizaron soluciones de 20 μ L/mL en metanol. De estas soluciones se tomaron diferentes cantidades de los marcadores: 0.0005

mg (0.5 μ L), 0.001 mg (1 μ L), 0.002 mg (2 μ L), 0.005 mg (5 μ L), 0.010 mg (10 μ L), 0.015 mg (15 μ L), 0.020 mg (20 μ L). Se desarrolló el cromatograma por triplicado y se determinó la menor concentración a la cual es detectable cada marcador, observando el cromatograma a luz visible y a 366 nm.

2.2.3.2.2 Precisión

Se determinó a partir de soluciones de 1 mg/mL en metanol de los marcadores sólidos y 20 μ L/mL en metanol de los marcadores líquidos. Se utilizó una concentración de 0.002 mg (2 μ L) de cada uno de los marcadores la cual se aplicó cinco veces en una placa cromatográfica; el cromatograma se obtuvo con las condiciones del método optimizado realizándolo por triplicado. La evaluación se realizó en base a la precisión de la distancia recorrida (R_F) y con los datos obtenidos se calculó el coeficiente de variación con el programa Excel.

2.2.3.3.3 Robustez

Para cada uno de los siguientes parámetros a evaluar, se utilizó 0.002 mg (2 μ L) del marcador junto a 0.300 mg (20 μ L) del extracto etanol:agua (90:10) del producto comercial que contiene la planta específica para el marcador. Cada uno de los parámetros se evaluó por triplicado, utilizando cromatoplasmas diferentes.

Los parámetros que se evaluaron fueron los siguientes:

- a) Cantidad de muestra: se prepararon soluciones de 1 mg/mL de los marcadores sólidos y de 20 μ L/mL en metanol y se aplicó 1 μ L (0.001 mg) de la solución de cada marcador en la placa cromatográfica. Esto mismo se realizó aplicando 3 μ L (0.003 mg).
- b) Composición del eluyente: se utilizaron soluciones de 1 mg/mL de los marcadores sólidos y de los marcadores líquidos 20 μ L/mL en metanol. Se

aplicaron por triplicado 2 μ L (0.002 mg) de la solución en la cromatopla y se desarrolló el cromatograma. Para esto se hicieron variaciones del solvente principal en la mezcla utilizada para la separación de cada marcador, como se muestra en la Tabla 6.

- c) Distancia recorrida por eluente: a partir de una solución de 1 mg/mL de los marcadores sólidos y de los marcadores líquidos de 20 μ L/mL en metanol. Se aplicó a la cromatopla 2 μ L (0.002 mg) de la solución de cada marcador. Se hicieron variaciones en la distancia recorrida por el eluente respecto del método optimizado (10 cm) a 9 cm y 11 cm.

Tabla 6. Modificaciones realizadas en la composición del eluente para evaluar la robustez en marcadores.

Marcadores	Valores menores al Método optimizado	Valores mayores al Método optimizado
Senósido b	Acetato de etilo: ac. fórmico: ac. acético: agua 95:11:11:27	Acetato de etilo: ac. fórmico: ac. acético: agua 105:11:11:27
Ginkólido b	Tolueno:acetato de etilo: acetona: metanol 15:10:10:1.2	Tolueno:acetato de etilo: acetona:metanol 25:10:10:1.2
Mentol, cineol, mentona, geraniol, tujona, acetato de linalilo, linalol	Tolueno:acetato de etilo 88:7	Tolueno:acetato de etilo 98:7
Aloina, boldina, kaempferol, ácido clorogénico, rutina, ácido cafeico	Acetato de etilo:metanol:agua 95:17:13	Acetato de etilo:Metanol:agua 105:17:13

2.2.4 Obtención de los extractos de los productos comerciales que contienen las plantas seleccionadas.

2.2.4.1 Selección de los productos comerciales

De cada una de las 15 plantas seleccionadas se adquirieron 4 productos comerciales (unicomponente); dos de los productos contenían información sobre su contenido y los otros dos no tenían información o bien ésta era mínima; los productos eran todos de diferente lote. A cada producto se le asignó una clave para facilitar su identificación.

2.2.4.2 Extracción de los productos comerciales

Se probaron los métodos de extracción que la literatura recomienda para cada una de las plantas, la Tabla 7 muestra el tipo de extracción realizada así como la fuente de donde se obtuvo la información. Además, se realizó para todos los productos una extracción con etanol:agua (90:10).

Cada producto se molió en licuadora (en caso necesario) y se tamizó a través de una criba de 2 mm de apertura. Posteriormente se realizaron las diferentes extracciones con 1 g del producto molido, Tabla 7.

Para los extractos hidroalcohólicos se realizó el procedimiento sugerido por Orozco, M.; 2004; se pesó 1 g de producto ya cribado, se extrajo dos veces con 3 mL de solución etanol:agua (90:10), agitando durante 5 minutos y se filtró. Los extractos se evaporaron a sequedad en rotavapor a temperatura menor de 37 °C. Todas las muestras se conservaron en refrigeración a 6 °C y protegidas de la luz.

Tabla 7. Condiciones de extracción para productos herbales

Planta	Fuente	Extracción recomendada por literatura
Manzanilla	Farmacopea herbolaria Mexicana	Percolado con dos porciones de 10 mL cada una de cloruro de metileno
Damiana	Farmacopea herbolaria Mexicana	Baño de Agua . Extracción con 10 mL de Metanol 10-15 minutos. Enfriar y filtrar
Pasiflora	Cañigüeral	Hervir con 10 mL de Agua 5-10 minutos
Tila	Cañigüeral	Hervir con 10 mL de Agua 5-10 minutos
Castaño de Indias	Cañigüeral	Hervir con 10 mL de Agua 5-10 minutos
Arnica	Farmacopea herbolaria Mexicana	Baño de Agua .Extracción con Metanol 10-15 minutos Enfriar y filtrar
Azahar	Farmacopea herbolaria Mexicana	Baño de Agua . Extracción con 10 mL de Metanol 10-15 minutos. Enfriar y filtrar
Boldo	Farmacopea herbolaria Mexicana	Extraer con 10 mL de Acetato de etilo
Cola de Caballo	Farmacopea herbolaria Mexicana	Reflujo 10 minutos en 10 mL de Metanol
Eucalipto	Farmacopea herbolaria Mexicana	Extracción con 10 mL de Tolueno
Ginkgo biloba	Farmacopea herbolaria Mexicana	Baño de Agua . Extracción con 10 mL de Metanol 10-15 minutos. Enfriar y filtrar
Scn	Farmacopea herbolaria Mexicana	Calentar en 10 mL de Etanol 1:1 Centrifugar
Menta	Farmacopea herbolaria Mexicana	Extracción con 10 mL de Cloruro de metileno
Sábila	Farmacopea herbolaria Mexicana	Calentar en 10 mL de Metanol a ebullición
Salvia	Cañigüeral	Hervir con 10 mL de Agua 5-10 minutos

2.2.5 Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales

Utilizando el extracto óptimo para cada producto comercial, se procedió a aplicar el método validado por CCF, empleando para su análisis extracto estandarizado y/o marcador.

Para el caso de productos analizados a través de extracto estandarizado se utilizaron 0.300 y 0.375 mg del extracto del producto junto con diferentes cantidades de los extractos estandarizados: 0.015 mg (1 μ L), 0.030 mg (2 μ L), 0.075 mg (5 μ L), 0.150 mg (10 μ L), 0.225 mg (15 μ L), 0.300 mg (20 μ L), y 0.375 mg (25 μ L). Se determinó el perfil cromatográfico de cada muestra analizada (producto y referencia), determinando el R_F de las principales manchas, así como la fluorescencia a 366 nm.

En el caso de los productos analizados a través de marcadores; se aplicaron 0.001 mg (1 μ L), 0.002 mg (2 μ L), 0.005 mg (5 μ L), 0.010 mg (10 μ L), 0.015 mg (15 μ L), 0.020 mg (20 μ L), y 0.025 mg (25 μ L) del marcador con el respectivo extracto del producto comercial. Se determinó el R_F y fluorescencia del marcador, así como el perfil cromatográfico del producto.

Se determinó la calidad cromatográfica de cada producto comercial, de acuerdo a los siguientes criterios:

Calidad cualitativa:

Para los extractos estandarizados se seleccionaron las bandas principales considerando que los productos analizados deberán tener un 80% o más de semejanza respecto a la referencia.

Para los marcadores se buscó la presencia del marcador(es) en el extracto del producto.

Calidad semicuantitativa:

Para los extractos estandarizados, las bandas principales de la referencia deberán observarse en el producto a concentración semejante.

Para los marcadores se deberá cumplir con la concentración que la literatura señale.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS

3.1 Selección de 15 plantas, de las más utilizadas por la población del Noreste de México y revisión bibliográfica de los métodos generales de análisis de las mismas.

Se eligieron para este trabajo 15 plantas que se encuentran como único componente de los productos herbolarios que más se consumen en nuestra región (Tabla 8).

Tabla 8. Lista de plantas seleccionadas

No.	Nombre común	Nombre científico
1	Castaño de Indias	<i>Aesculus hippocastanum</i>
2	Damiana	<i>Turnera diffusa</i>
3	Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i>
4	Pasiflora	<i>Passiflora incarnata</i>
5	Tila	<i>Tilia occidentalis</i>
6	Árnica	<i>Heteroteca inuloides</i>
7	Azahar	<i>Citrus aurantium</i>
8	Boldo	<i>Peumus boldus</i>
9	Cola de caballo	<i>Equisetum arvense</i>
10	Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>
11	Ginkgo biloba	<i>Ginkgo biloba</i>
12	Menta	<i>Mentha piperita</i>
13	Sábila	<i>Aloe vera</i>
14	Salvia	<i>Salvia officinalis</i>
15	Sen	<i>Cassia senna</i>

Se llevó a cabo la revisión bibliográfica sobre los métodos generales de análisis de las 15 plantas, haciendo énfasis en los métodos por cromatografía en capa fina, buscando información principalmente en revistas y libros especializados en el tema. Como resultado de la consulta se obtuvo la información que se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Análisis por CCF, para las 15 plantas seleccionadas. Literaturas utilizadas.

Nombre común	Nombre científico	Principios activos	Referencia y/o Marcadores
1.- Castaño de Indias	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Escina	-
2.- Damiana	<i>Turnera diffusa</i>	Rutina	H. Mexicana EXTRACTO ESTANDARIZADO
3.- Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i> ó <i>Matricaria chamomilla</i>	Apigenina borneol, bornilo, matricina, guayazuleno, α -bisabolol	Wagner: EXTRACTO ESTANDARIZADO
4.- Pasiflora	<i>Passiflora incarnata</i>	-	H. Mexicana EXTRACTO ESTANDARIZADO
5.- Tila	<i>Tilia occidentalis</i>	Tilirósido, rutina	Wagner: EXTRACTO ESTANDARIZADO
6.- Arnica	<i>Heterotelea inuloides</i>	-	Wagner: ác. clorogénico, kaempferol, ácido cafeico
7.- Azahar	<i>Citrus aurantium</i>	Acetato de linalilo, linalol, α -pineno, limoneno, nerol, geraniol	Wagner: (1) acetato de linalilo, linalol. (2) farnesol, limoneno, jasmone
8.- Boldo	<i>Peumus boldus</i>	boldina	Wagner: boldina
9.- Cola de caballo	<i>Equisetum arvense</i>	Ácido silícico, quercetina, kaempferol	H. Mexicana Isoquercetina, kaempferol Camag rutina, ác. clorogénico, ác. cafeico
10.- Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Cineol	Wagner: cineol
11.- Ginkgo biloba	<i>Ginkgo biloba</i>	Rutina, ácido clorogénico, quercetina, kaempferol isorhamnetina, bilobalide ginkgolidos A, B y C	H. Mexicana rutina, ác. clorogénico Camag ginkólidos A, B, C, y bilobalide
12.- Menta	<i>Mentha piperita</i>	Mentofurano, mentol, cineol, timol, acetato de mentilo, mentona	H. Mexicana y Wagner mentol, mentona, acetato de mentilo, cineol, timol
13.- Sábila	<i>Aloe vera</i>	Aloína	Wagner: aloína
14.- Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Rutósido, hiperósido, ácido rosmarinico, tuyona, β -D- glucósidos del tuyol, mentol y timol.	H. Mexicana rutósido, hiperósido Wagner tuyona, cineol, camfor, ácido rosmarinico, borneol.
15.- Sen	<i>Cassia senna</i>	Senósidos, mucilagos	H. Mexicana EXTRACTO ESTANDARIZADO Wagner Farmacopea Europea: senósido B, rutina

De los datos obtenidos en la Tabla 9, surgió la información sobre el análisis por CCF para evaluar la calidad en productos herbolarios, el cual puede realizarse usando como referencia extractos estandarizados o marcadores.

La Tabla 10 muestra el listado de plantas que fueron analizadas usando los dos tipos de referencias (extracto estandarizado y marcador).

Tabla 10. Análisis por CCF de las 15 plantas seleccionadas. Uso de extractos estandarizados y/o marcadores.

No.	Nombre común	Nombre científico	Referencia utilizada
1	Castaño de Indias	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Extracto estandarizado
2	Damiana	<i>Turnera diffusa</i>	Extracto estandarizado
3	Manzanilla	<i>Matricaria recutita</i>	Extracto estandarizado
4	Pasiflora	<i>Pasiflora incarnata</i>	Extracto estandarizado
5	Tila	<i>Tilia occidentalis</i>	Extracto estandarizado
6	Arnica	<i>Heterotecca inuloides</i>	Acido clorogénico, kaempferol y ácido cafeico
7	Azahar	<i>Citrus aurantium</i>	Acetato de linalilo, linalol. y geraniol
8	Boldo	<i>Peumus boldus</i>	Boldina
9	Cola de caballo	<i>Equisetum arvense</i>	Rutina, ác. clorogénico, kaempferol y ác. cafeico
10	Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Cineol
11	Ginkgo biloba	<i>Ginkgo biloba</i>	Ginkólido B
12	Menta	<i>Mentha piperita</i>	Mentol, mentona y cineol
13	Sábila	<i>Aloe vera</i>	Aloína
14	Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Tuyona y cineol
15	Sen	<i>Cassia senna</i>	Senósido B

3.2. Desarrollo y validación de un método por CCF para extractos estandarizados.

3.2.1 Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados

Se probaron las condiciones cromatográficas reportadas en la literatura, para el análisis de las cinco plantas a través de extractos estandarizados (Tabla 4).

Las condiciones cromatográficas recomendadas para la damiana y para la tila fueron las únicas que funcionaron adecuadamente en la separación de las bandas de estos extractos.

Para los extractos de manzanilla, pasiflora y castaño de indias se probó el sistema cromatográfico que funcionó para la damiana y la tila, obteniéndose buena resolución. La Tabla 11 muestra las condiciones cromatográficas finales utilizadas para todos los extractos.

Tabla 11 Condiciones cromatográficas para extractos estandarizados

Planta	Fase móvil	Fase estacionaria	Revelador	Detección
Castaño de indias, tila, damiana manzanilla, pasiflora	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Sílica gel 60 F ₂₅₄	Natural Products/PEG	UV 366nm

3.2.1.1 Optimización del método cromatográfico para extractos estandarizados.

La Tabla 12 muestra las condiciones finales del método cromatográfico para el análisis de los extractos estandarizados de manzanilla, tila, pasiflora, castaño de indias y damiana.

Tabla. 12 Condiciones cromatográficas finales para extractos estandarizados

Cantidad de muestra sembrada	0.3 mg
Volumen aplicado	20 µL
Fase móvil	Acetato de etilo:ác.fórmico:ác acético: agua 100:11:11:27
Fase estacionaria	Sílica gel GF ₂₅₄
Distancia recorrida por el eluente	10 cm
Tiempo de saturación	1 hora
Forma de aplicación de la muestra	banda
Revelador	Natural Products/PEG
Detección	366 nm
Documentación de resultado	Cámara digital

3.2.2 Validación del método analítico para extractos estandarizados

3.2.2.1 Límite de detección:

La menor concentración a la cual son detectados los principales componentes de cada extracto resultó ser la misma para todos los extractos estandarizados (castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora y tila). Se determinó como límite de detección la cantidad de 0.075 mg para todos los extractos.

3.2.2.2 Precisión

Para la precisión de la distancia recorrida (R_F) y precisión de la resolución como se describió anteriormente, se calculó el R_F y se obtuvo un promedio de las tres placas (Tabla 13), en seguida se calculó el coeficiente de variación con los promedios de R_F obtenidos (Tabla 14).

Tabla 13. Valores promedio de R_F en los extractos estandarizados.

Extractos estandarizados	R_F alto	Desviación estándar	R_F medio	Desviación estándar	R_F bajo	Desviación estándar
Castaño de indias	0.52	0.004	0.24	0.005	0.15	0.005
Damiana	0.80	0.010	0.50	0.010	0.28	0.005
Manzanilla	0.79	0.008	0.56	0.005	0.31	0.005
Pasiflora	0.86	0.004	0.48	0.006	0.32	0.006
Tila	0.78	0.007	0.52	0.019	0.28	0.013

Tabla 14. Precisión de la distancia recorrida para extractos estandarizados

Extracto estandarizado	% Coeficiente de Variación		
	R_F alto	R_F medio	R_F bajo
Castaño de indias	0.675	2.111	3.182
Damiana	1.215	1.939	1.764
Manzanilla	0.957	0.192	1.557
Pasiflora	0.439	1.279	1.859
Tila	0.940	3.614	4.729

Para la precisión de la resolución se utilizó el valor promedio de resolución con el promedio de R_F de cada par de manchas (Tabla 15) y con esos datos se calculó el coeficiente de variación de la resolución (Tabla 16).

Tabla 15. Valores promedio de distancia (d), ancho de mancha (W) y resolución (R) de los extractos estandarizados.

Extractos estandarizados	Promedio a nivel alto			Desviación estándar	Promedio a nivel medio			Desviación estándar	Promedio a nivel bajo			Desviación estándar
	d	W	R		d	W	R		d	W	R	
Castaño de indias	5.70	0.41	1.110	0.037	2.94	0.37	1.293	0.117	1.53	0.3	1.00	0.000
	5.20	0.51			2.20	0.51			1.23	0.3		
Damiana	8.03	0.50	1.589	0.099	5.43	0.33	1.128	0.072	2.79	0.40	1.286	0.1586
	7.37	0.43			5.03	0.37			2.32	0.34		
Manzanilla	8.50	0.53	1.156	0.055	5.50	0.62	0.817	0.003	3.51	0.35	1.100	0.1495
	7.90	0.51			5.00	0.60			3.11	0.39		
Pasiflora	8.91	0.48	0.58	0.1035	4.83	0.60	0.291	0.070	3.90	0.50	1.427	0.0704
	8.60	0.60			4.51	0.50			3.19	0.50		
Tila	7.84	0.61	1.230	0.1723	5.07	0.49	1.810	0.1451	3.73	0.43	2.150	0.2761
	7.22	0.40			4.17	0.49			2.78	0.47		

Tabla 16. Precisión de la resolución para los extractos estandarizados

Extracto estandarizado	% Coeficiente de Variación		
	R _F alto	R _F medio	R _F bajo
Castaño de indias	3.42	9.11	1.00
Damiana	6.26	6.38	12.33
Manzanilla	4.78	0.39	13.65
Pasiflora	17.80	24.20	4.93
Tila	13.96	7.99	12.82

3.2.2.3 Robustez

Para ello se utilizaron los datos de R_F obtenidos y se evaluó la resolución en cada parámetro modificado. En la Tabla 17a se presentan los resultados al modificar el volumen de inyección, en la Tabla 17b la distancia recorrida por el eluyente y en la Tabla 17c la composición del eluyente.

Tabla 17a. Determinación de robustez para extractos estandarizados, modificando el volumen de inyección

Extractos estandarizados	Método Optimizado Volumen de Inyección 20 µL						Parámetro modificado	
	Nivel	R	Desviación estándar	Coefficiente de variación	R ± 2DS	Rango	R Variación Volumen de Inyección 15 µ L	R Variación Volumen de Inyección 25 µ L
Castaño de indias	Alto	0.900	0.1968	21.8455	0.900±0.3936	0.506-1.293	1.035	0.9688
	Medio	1.119	0.0843	7.5376	1.119±0.1686	0.950-1.287	1.131	1.085
	Bajo	0.941	0.1089	11.2805	0.941±0.2178	0.723-1.158	0.965	0.888
Damiana	Alto	0.764	0.1314	17.2105	0.764±0.2628	0.501-1.027	0.826	0.875
	Medio	0.985	0.1947	19.7785	0.985±0.3894	0.596-1.374	1.002	0.986
	Bajo	1.531	0.1694	11.0419	1.531±0.3388	1.192-1.869	1.559	1.597
Manzanilla	Alto	1.719	0.2500	15.7556	1.719±0.5000	1.219-2.219	1.862	1.8280
	Medio	0.860	0.1310	16.547	0.860±0.2620	0.598-1.122	0.818	0.8110
	Bajo	1.019	0.2100	22.261	1.019±0.4200	0.599-1.423	0.965	0.9070
Pasiflora	Alto	0.573	0.1115	19.4718	0.573±0.2230	0.350-0.796	0.470	0.5300
	Medio	1.095	0.1153	19.4718	1.095±0.2306	0.864-1.325	1.010	1.1090
	Bajo	1.721	0.0987	5.7374	1.721±0.1974	1.523-1.918	1.699	1.7230
Tila	Alto	1.110	0.1222	10.9705	1.110±0.2440	0.866-1.354	1.120	1.1500
	Medio	2.400	0.3222	13.4049	2.400±0.6444	1.755-3.044	2.540	2.3500
	Bajo	0.850	0.1885	22.2735	0.850±0.3770	0.473-1.227	0.980	0.8900

Tabla 17b. Determinación de robustez para extractos estandarizados, modificando la distancia recorrida por el eluyente

Extractos estandarizados	Método Optimizado Distancia recorrida por el eluyente 10 cm						Parámetro modificado	
	Nivel	R	Desviación estándar	Coefficiente de variación	R ± 2DS	Rango	Distancia recorrida por el eluyente 9 cm	Distancia recorrida por el eluyente 11 cm
Castaño de indias	Alto	0.900	0.1968	21.8455	0.900±0.3936	0.506-1.293	1.075	0.958
	Medio	1.119	0.0843	7.5376	1.119±0.1686	0.950-1.287	1.066	1.313
	Bajo	0.941	0.1089	11.2805	0.941±0.2178	0.723-1.158	1.107	1.449
Damiana	Alto	0.764	0.1314	17.2105	0.764±0.2628	0.501-1.026	1.012	1.310
	Medio	0.985	0.1947	19.7785	0.985±0.3894	0.595-1.374	1.074	1.320
	Bajo	1.531	0.1694	11.0419	1.531±0.3388	1.192-1.869	-	-
Manzanilla	Alto	1.719	0.2500	15.7556	1.719±0.5000	1.219-2.219	1.447	0.550
	Medio	0.860	0.1310	16.547	0.860±0.2620	0.598-1.122	1.023	0.916
	Bajo	1.019	0.2100	22.261	1.019±0.4200	0.599-1.423	2.662	2.030
Pasiflora	Alto	0.573	0.1115	19.4718	0.573±0.2230	0.350-0.796	1.269	0.793
	Medio	1.095	0.1153	19.4718	1.095±0.2306	0.864-1.325	1.295	0.870
	Bajo	1.721	0.0987	5.7374	1.721±0.1974	1.523-1.918	1.452	1.600
Tila	Alto	1.110	0.1222	10.9705	1.110±0.2440	0.866-1.354	1.260	1.020
	Medio	2.400	0.3222	13.4049	2.400±0.6444	1.755-3.044	1.010	1.060
	Bajo	0.850	0.1885	22.2735	0.850±0.3770	0.473-1.227	1.370	1.070

Tabla 17c. Determinación de robustez para extractos estandarizados, modificando la composición del eluyente

Extractos estandarizados	Método Optimizado Composición del eluyente 50 mL						Parámetro modificado	
	Nivel	R	Desviación estándar	Coefficiente de variación	R ± 2DS	Rango	Composición del eluyente 45 mL	Composición del eluyente 55 mL
Castaño de indias	Alto	0.900	0.1968	21.8455	0.900±0.3936	0.506-1.293	1.244	1.2260
	Medio	1.119	0.0843	7.5376	1.119±0.1686	0.950-1.287	1.123	1.1450
	Bajo	0.941	0.1089	11.2805	0.941±0.2178	0.723-1.158	1.150	0.873
Damiana	Alto	0.764	0.1314	17.2105	0.764±0.2628	0.501-1.026	1.222	1.192
	Medio	0.985	0.1947	19.7785	0.985±0.3894	0.595-1.374	2.240	1.870
	Bajo	1.531	0.1694	11.0419	1.531±0.3388	1.192-1.869	-	-
Manzanilla	Alto	1.719	0.2500	15.7556	1.719±0.5000	1.219-2.219	0.989	1.333
	Medio	0.860	0.1310	16.547	0.860±0.2620	0.598-1.122	1.980	3.133
	Bajo	1.019	0.2100	22.261	1.019±0.4200	0.599-1.423	-	-
Pasiflora	Alto	0.573	0.1115	19.4718	0.573±0.2230	0.350-0.796	1.222	-
	Medio	1.095	0.1153	19.4718	1.095±0.2306	0.864-1.325	1.236	1.991
	Bajo	1.721	0.0987	5.7374	1.721±0.1974	1.523-1.918	1.462	6.748
Tila	Alto	1.110	0.1222	10.9705	1.110±0.2440	0.866-1.354	1.370	-
	Medio	2.400	0.3222	13.4049	2.400±0.6444	1.755-3.044	1.010	1.060
	Bajo	0.850	0.1885	22.2735	0.850±0.3770	0.473-1.227	1.020	0.960

3.2.3 Desarrollar y validar un método por CCF para marcadores.

3.2.3.1 Condiciones cromatográficas para los marcadores

Se probaron las condiciones cromatográficas descritas en la literatura, para el análisis de las 10 plantas, utilizando marcadores (Tabla 5). La Tabla 18 muestra las condiciones finales seleccionadas para el desarrollo posterior.

Tabla 18. Condiciones cromatográficas para marcadores.

Marcadores	Fuente	Fase móvil	Revelador	Detección
Mentol, cineol, mentona, geraniol, tuyona	Plant Drug Analysis	Tolueno:acetato de etilo 93:7	Anisaldehído SP	Visible
Acetato de linalilo, linalol	Plant Drug Analysis	Tolueno:acetato de etilo 93:7	Anisaldehído SP	Visible
Aloina, boldina	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:metanol:agua 100:17:10	KOH al 10%	UV 366 nm
Ginkólido B	Camag	Tolueno:acetato de etilo:acetona:metanol 20:10:10:1.2	Anhidrido acético	UV 254nm UV 366nm
Acido clorogénico, rutina, kaempferol, ácido cafeico	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:metanol:agua 100:17:10	Natural Products/PEG	UV 366 nm
Senósido B	Farmacopea Herbolaria Mexicana	Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27	Natural Products/PEG	UV 366 nm

3.2.3.1.1 Optimización del método cromatográfico para marcadores

La Tabla 19, muestra las condiciones finales del método cromatográfico para el análisis de las plantas a través de marcadores.

Tabla. 19 Condiciones cromatográficas finales para marcadores.

Cantidad de muestra	0.001mg
Volumen de aplicación	1 µL
Marcadores/Fase móvil	Aloina, boldina, ác. clorogénico, rutina, kaempferol, ácido cafeico, quercetina Acetato de etilo:metanol:agua 100:17:10
	Mentol, cineol, mentona, tuyona, geraniol, acetato de linalilo, linalol Tolueno:acetato de etilo 93:7
	Ginkólido B Tolueno:acetato de etilo:acetona:metanol 20:10:10:1.2
	Senósido B Acetato de etilo:ácido fórmico:ácido acético: agua 100:11:11:27
Fase estacionaria	Silica gel GF ₂₅₄
Distancia recorrida por el eluente	10 cm
Tiempo de saturación	1 hora
Forma de aplicación de la muestra	Banda
Revelador	Natural products/PEG Anisaldehído sulfúrico Anhidrido acético
Detección	Luz visible 366 nm
Documentación de resultado	Cámara digital

3.2.3.2 Validación de un método analítico para marcadores

3.2.3.2.1 Límite de detección:

Se determinó la menor concentración a la cual es detectable cada marcador, la Tabla 20 muestra los resultados.

Tabla 20. Límite de detección (mg) obtenido para los marcadores

Marcador	mg
Linalol	0.0172
Acetato de linalilo	0.0181
Geraniol	0.0178
Cineol	0.0185
Mentona	0.0179
Mentol	0.0060
Tuyona	0.0182
Rutina, ác. clorogénico, senósido B, aloína, ác. cafeico, boldina, kaempferol, ginkólido B	0.0010

3.2.3.2.2 Precisión

Para cada marcador, se evaluó la precisión de la distancia recorrida (R_f) y se calculó el coeficiente de variación, la Tabla 21 muestra los resultados.

Tabla 21. Precisión de la distancia recorrida para cada marcador

Marcador	Valor Promedio de R_f	% Coeficiente de Variación
Linalol	0.30	0.178
Acetato de linalilo	0.60	0.588
Geraniol	0.16	1.607
Cineol	0.40	0.877
Mentona	0.53	0.666
Mentol	0.25	1.415
Tuyona	0.50	1.400
Rutina	0.30	1.512
Aloína	0.52	0.885
Ac. cafeico	0.66	0.773
Boldina	0.42	1.219
Kaempferol	0.84	0.418
Ginkólido B	0.47	1.070
Ac clorogénico	0.11	2.362
Senósido B	0.08	5.770

3.2.3.2.3. Robustez

Los resultados fueron los mismos para todos los marcadores, se observó que los cambios realizados en cantidad de muestra, composición del eluente y la distancia recorrida por el eluente, no afectan la selectividad, es decir la visualización del marcador en el producto.

3.2.4 Obtención de los extractos de los productos comerciales que contienen las plantas seleccionadas.

3.2.4.1 Selección de los productos comerciales

La Tabla 16 muestra los 58 productos comerciales que se adquirieron, los cuales tienen como único componente alguna de las plantas seleccionadas. Para cada planta se adquirieron 4 productos, dos con la mínima información sobre su contenido (productos cuya clave de identificación incluye la letra “a”) y dos con información suficiente sobre su contenido (cuya clave incluye la letra “b”)

Tabla 22 Productos comerciales

	Planta	Clave	Contenido	Marca	Establecimiento comercial
1.	Castaño de Indias	1a1	Planta en trozos de Castaño de Indias.	-	Hierbería Xóchitl
	Castaño de Indias	1a2	Planta en trozos de Castaño de Indias.	-	Hierbería Xóchitl
	Castaño de Indias	1b1			
	Castaño de Indias	1b2			
2.	Damiana	2a1	Planta seca de Damiana	-	Hierbería la salud
	Damiana	2a2	Planta seca de Damiana	-	Hierbería la salud
	Damiana	2b1	Comprimidos de Damiana de California. <i>Turnera diffusa</i>	Anáhuac	Benavides
	Damiana	2b2	Comprimidos de Damiana	Anáhuac	Benavides
3.	Manzanilla	3a1	Planta seca de Manzanilla	-	Hierbería la salud
	Manzanilla	3a2	Planta seca de Manzanilla	-	Hierbería la salud
	Manzanilla	3b1	Sobres de Té. Manzanilla <i>Matricaria chamomilla</i>	Malabar	HEB
	Manzanilla	3b2	Sobres de Té. Manzanilla <i>Matricaria chamomilla</i>	Malabar	HEB
4.	Pasiflora	4a1	Planta seca de Pasiflora	-	Hierbería la salud
	Pasiflora	4a2	Planta seca de Pasiflora	-	Hierbería la salud
	Pasiflora	4b1	Pastillas de 25.0 mg de <i>Pasiflora incarnata</i>	Passiflorine	HEB
	Pasiflora	4b2	Pastillas de 25.0 mg de <i>Pasiflora incarnata</i>	Passiflorine	HEB
5.	Tila	5a1	Flores de tila	-	Hierbería la salud
	Tila	5a2	Flores de tila	-	Hierbería la salud
	Tila	5b1	Sobres de Té. Flores de Tila	Lagg's	HEB
	Tila	5b2	Sobres de Té. Flores de Tila	Lagg's	HEB
6.	Arnica	6a1	Planta seca de arnica	-	Hierbería la salud
	Arnica	6a2	Planta seca de arnica	-	Hierbería la salud
	Arnica	6b1	Comprimidos de Arnica <i>Heteroteuca muloides</i>	Azteca	Hierbería la salud

	Arnica	6b2	Comprimidos de Arnica <i>Heteroteca inuloides</i>	Azteca	Hierberia la salud
7.	Azahar	7a1	Flor de azahar	-	Hierberia la salud
	Azahar	7a2	Flor de azahar	-	Hierberia la salud
	Azahar	7b1	Sobres de Té. Azahar. Flor de Azahar	Lagg's	HEB
	Azahar	7b2	Sobres de Té. Azahar. Flor de Azahar	Lagg's	HEB
8.	Boldo	8a1	Hojas secas de Boldo	-	Hierberia la salud
	Boldo	8a2	Hojas secas de Boldo	-	Hierberia la salud
	Boldo	8b1	Cápsulas de Boldo. <i>Peumus boldus</i>	Azteca	Hierberia la salud
	Boldo	8b2	Cápsulas de Boldo <i>Peumus boldus</i>	Azteca	Hierberia la salud
9.	Cola de caballo	9a1	Planta seca	-	Hierberia la salud
	Cola de caballo	9a2	Planta seca	-	Hierberia la salud
	Cola de caballo	9b1	Sobres de Té de Cola de caballo. <i>Equisetum robustum</i>	Anáhuac	Herb. Xóchitl
	Cola de caballo	9b2	Sobres de Té de Cola de caballo. <i>Equisetum robustum</i>	Anáhuac	Herb. Xóchitl
10.	Eucalipto	10a1	Hojas de Eucalipto	-	Hierberia la salud
	Eucalipto	10a2	Hojas de Eucalipto	-	Hierberia la salud
	Eucalipto	10b1	Sobres de Té de Eucalipto. <i>Eucalyptus globulus</i>	Malabar Florasol	Hierberia la salud
	Eucalipto	10b2	Sobres de Té de Eucalipto. <i>Eucalyptus globulus</i>	Malabar Florasol	Hierberia la salud
11	Ginkgo biloba	11a1	Hojas de <i>Ginkgo biloba</i>	-	Hierberia la salud
	Ginkgo biloba	11a2	Hojas de <i>Ginkgo biloba</i>	-	Hierberia la salud
	Ginkgo biloba	11b1	Pastillas de gelatina blanda: Kobil. 40 mg de extracto de <i>Ginkgo biloba</i>	gelcaps	HEB
	Ginkgo biloba	11b2	Pastillas de gelatina blanda: Kobil. 40 mg de extracto de <i>Ginkgo biloba</i>	gelcaps	HEB
12	Menta	12a1	Hojas de menta	-	Hierberia la salud
	Menta	12a2	Hojas de menta	-	Hierberia la salud
	Menta	12b1	Té de Menta: Gripte. <i>Mentha pipéríta</i>	Malabar	HEB
	Menta	12b2	Té de Menta: Gripte. <i>Mentha pipéríta</i>	Malabar	HEB
13	Sábila	13a1	Planta seca	-	Herberia Xóchitl
	Sábila	13a2	Planta seca	-	Herberia Xóchitl
	Sábila	13b1	Cápsulas de Zábila. <i>Aloe barbadensis</i>	Malabar Florasol	Herberia Xóchitl
	Sábila	13b2	Cápsulas de Zábila <i>Aloe barbadensis</i>	Malabar Florasol	Herberia Xóchitl
14	Salvia	14a1	Planta seca	-	Herberia Xóchitl
	Salvia	14a2	Planta seca	-	Herberia Xóchitl
	Salvia	14b1	Té de Salvia <i>Salvia officinalis</i>	Malabar	Herberia Xóchitl
	Salvia	14b2	Té de Salvia <i>Salvia officinalis</i>	Malabar	Herberia Xóchitl
15	Sen	15a1	Planta seca	-	Hierberia la salud
	Sen	15a2	Planta seca	-	Hierberia la salud
	Sen	15b1	Hojas de Sen, Bekumis	farmasa	Benavides
	Sen	15b2	Hojas de Sen, Bekumis	farmasa	Benavides

3.2.4.2 Extracción de los productos comerciales

La Tabla 23 muestra el porcentaje de recuperación que se obtuvo con los extractos hidro-alcohólicos de cada producto comercial.

Tabla 23. Porcentajes de recuperación de extractos etanol:agua (90:10).

Planta	Productos sin información sobre su contenido % de recuperación		Productos con información sobre su contenido % de recuperación	
1.- Castaño de Indias	1a1 1.5	1a2 1.6	1b1	1b2
2.- Damiana	2a1 4.0	2a2 3.5	2b1 3.5	2b2 3.8
3.- Manzanilla	3a1 0.37	3a2 1.8	3b1 1.2	3b2 1.5
4.- Pasiflora	4a1 2.0	4a2 1.8	4b1 1.9	4b2 2.0
5.- Tila	5a1 1.8	5a2 1.6	5b1 3.7	5b2 5.1
6.- Árnica	6a1 4.0	6a2 4.5	6b1 4.7	6b2 4.0
7.- Azahar	7a1 4.6	7a2 1.1	7b1 1.7	7b2 6.1
8.- Boldo	8a1 3.5	8a2 3.0	8b1 3.7	8b2 4.0
9.- Cola de Caballo	9a1 1.5	9a2 2.0	9b1 2.0	9b2 2.0
10.- Eucalipto	10a1 2.1	10a2 3.8	10b1 3.7	10b2 4.2
11.- Ginkgo biloba	11a1 6.4	11a2 11.1	11b1 25.2	11b2 27.2
12.- Menta	12a1 5.3	12a2 0.5	12b1 5.0	12b2 6.0
13.- Sábila	13a1 4.5	13a2 4.0	13b1 4.8	13b2 4.5
14.- Salvia	14a1 4.3	14a2 2.6	14b1 1.9	14b2 1.4
15.- Sen	15a1 3.5	15a2 2.9	15b1 2.2	15b2 3.5

3.2.5 Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales.

Para una fácil comprensión de este punto, se elaboraron fichas que presentan los resultados del análisis de los productos comerciales que contienen alguna de las 15 plantas seleccionadas. Se presenta para cada planta el cromatograma obtenido, así como los carriles que describen el orden de aplicación de las muestras (Anexo I); en tablas, se presenta el perfil cromatográfico observado en los productos comerciales, así mismo la descripción de la referencia utilizada, ya sea el perfil cromatográfico en el caso de extractos estandarizados y el R_F y fluorescencia para el caso de los marcadores. Al final de cada ficha se describen los resultados de la interpretación del cromatograma.

Los resultados se presentan de acuerdo al siguiente orden:

I. Productos analizados a través de extractos estandarizados

- 1.- Castaño de Indias
- 2.- Damiana
- 3.- Manzanilla
- 4.- Pasiflora
- 5.- Tila

II. Productos analizados a través de marcadores.

- 6.- Árnica
- 7.- Azahar
- 8.- Boldo
- 9.- Cola de Caballo
- 10.- Eucalipto
- 11.- Ginkgo
- 12.- Menta
- 13.- Sábila
- 14.- Salvia
- 15.- Sen



UANL

3.2.5.1 Castaño de Indias

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Descripción del cromatograma 1: (Ver anexo pag. 79)

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Tabla 24. Perfil cromatográfico observado del extracto estandarizado de Castaño de Indias (carriles 1-7)

# Bandas/R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.65	Amarillo
0.39	Amarillo
0.30	Amarillo naranja
0.20	Verde fluorescente
0.16	Amarillo
0.12	Verde amarillento

Tabla 25. Productos analizados. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Castaño de Indias (carriles 8-11).

Producto	Bandas observadas/ R _F	Fluorescencia 366 nm
1a1	0.39	Amarillo
	0.30	Amarillo naranja
	0.20	Verde fluorescente
	0.16	Amarillo
	0.12	Verde amarillento
1a2	0.20	Verde fluorescente
	0.16	Amarillo
	0.12	Verde amarillento

Tabla 26. Bandas de intensidad no presentes en el extracto estandarizado de Castaño de Indias (carriles 8-11).	
#Bandas/R_F	Fluorescencia a UV 366 nm
0.75	Amarillo
0.65	Amarillo naranja
0.57	Amarillo
0.47	Azul

Interpretación del cromatograma:

1.- En el producto de 1a1 se identificaron 5 de las 6 bandas del extracto de referencia. La concentración de las bandas principales se detectaron semejantes a la concentración del extracto de referencia de 0.300 mg.

2.- En el producto 1a2 se observan sólo 3 bandas semejantes a la referencia (poco intensas). Además aparecen bandas de intensidad importante, que no se presentan en el extracto de referencia (Tabla 26).

3.2.5.2 Damiana

Descripción del cromatograma 2: (Ver anexo pag. 79)

Tabla 27. Perfil cromatográfico del extracto estandarizado de Damiana (carriles 1-7).	
#Bandas/R_F	Fluorescencia UV 366 nm
0.58	Naranja
0.55	Amarillo
0.41	Amarillo
0.35	Amarillo naranja

Tabla 28.-Productos analizados. Bandas semejantes al extracto estandarizado de Damiana (carriles 8-15).		
Producto	Bandas observadas/ R_F	Fluorescencia UV 366 nm
2a1	0.55	Amarillo
	0.41	Amarillo
	0.35	Amarillo
2a2	0.55	Amarillo
2b1 y 2b2	0.55	Amarillo
	0.41	Amarillo

Tabla 29. Productos analizados. Bandas que no se observan en el extracto estandarizado de Damiana (carriles 8-15).	
Los productos de 2a1, 2b1 y 2b2 presentan las siguientes bandas adicionales	
#Bandas/R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.80	Amarillo
0.69	Amarillo
0.50	Amarillo (muy intensa)
0.35	Amarillo claro
0.18	Amarillo claro
El Producto 2a2 presenta las siguientes bandas adicionales	
0.25	Amarillo claro
0.20	Amarillo claro

Interpretación del cromatograma:

1.- En el producto 2a1 se observaron 3 de las 4 manchas presentes en el extracto de referencia. Además la intensidad de color de la banda de R_F 0.55 es mucho mayor que en el extracto de referencia y aparecen bandas adicionales (Tabla 29) siendo la de R_F de 0.50 muy intensa.

2.- En el producto 2a2 sólo se observa 1 de las 4 bandas de la referencia y aparecen bandas adicionales (Tabla 29) siendo la de R_F de 0.50 una de las de mayor intensidad.

3.- Los productos 2b1 y 2b2 presentan 3 de las 4 bandas características de la referencia. Además la intensidad de color de la banda de R_F 0.55 es mucho mayor en estos productos que en el extracto de referencia y aparecen una serie de bandas adicionales importantes por su intensidad (Tabla 29).

3.2.5.3 Manzanilla

Descripción del cromatograma 3: (Ver anexo pag. 79)

# Bandas/ R_F	Flourescencia UV 366 nm
0.70 (Apigenina)	Amarillo verdoso
0.60	Amarillo naranja
0.44	Azul
0.40	Amarillo (naranja oscuro)

Producto	Bandas observadas/ R_F	Flourescencia UV 366 nm
3a1	0.70*	Amarillo verdoso
	0.60	Amarillo naranja
	0.44	Azul
	0.40	Amarillo (naranja oscuro)
3a2	0.70*	Amarillo verdoso
	0.44	Azul

*Banda correspondiente a Apigenina.

#Bandas/ R_F	Fluorescencia UV 366 nm
0.86	Fluorescencia verde
0.40	Fluorescencia verde

Producto	Bandas observadas/ R_F	Flourescencia UV 366 nm
3b1 y 3b2	0.70*	Amarillo verdoso
	0.60	Amarillo naranja
	0.44	Azul
	0.40	Amarillo (naranja oscuro)

*Banda correspondiente a Apigenina.

Interpretación del cromatograma

- 1.- En el producto 3a1 se observan 4 de las 4 bandas del extracto de referencia y la concentración de Apigenina es semejante a la observada en el estándar de concentración entre 0.150 y 0.225 mg (carriles 4 y 5 cromatograma 3).
- 2.- En el producto 3a2 se observan 2 de las 4 bandas del extracto de referencia. La concentración de Apigenina observada se encuentra por debajo del estándar de 0.030 mg.

3.- En los productos 3b1 y 3b2 se observan 4 de las 4 bandas del extracto de referencia.

4.- En el producto 3b1, la concentración de Apigenina es semejante a la observada en el estándar de 0.225 mg.

5.- En el producto 3b2, la concentración de Apigenina es semejante a la observada en el estándar de 0.030 mg.

3.2.5.4 Pasiflora

Descripción del cromatograma 4: (Ver anexo pag. 80)

#Bandas/R _F	Fluorescencia UV 366 nm
1- 0.92	Amarillo verdoso
2-0.39	Amarillo claro
3-0.34	Amarillo claro
4- 0.29	Amarillo claro
5- 0.10	Azul

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
4a1	0.29	Amarillo
4a2	0.39	Amarillo claro
	0.29	Amarillo claro

#Bandas/R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.80	Amarillo
0.73	Amarillo
0.65	Amarillo
0.55	Amarillo
0.45	Amarillo naranja
0.40	Amarillo
0.22	Amarillo naranja

Producto	Bandas observadas/R _F	Flourescencia UV 366 nm
4b1 y 4b2	0.90	Azul
	0.12	Amarillo

Interpretación del cromatograma:

1.- En el producto 4a1 se observa 1 banda semejante al extracto de referencia (Tabla 35). Además aparecen una serie de bandas que no se presentan en el extracto de Pasiflora tomado como referencia (Tabla 36).

2.- El producto 4a2 se observan 2 bandas semejantes al extracto de referencia (Tabla 35) y en la Tabla 36 se enlistan las que no corresponden con la referencia.

3.- En los productos 4b1 y 4b2 prácticamente no se observa nada, salvo dos compuestos (Tabla 37).

3.2.5.5 Tila

Descripción del cromatograma 5: (Ver anexo pag. 80)

#Bandas/R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.90	Amarillo
0.82	Amarillo
0.75	Amarillo naranja
0.40	Amarillo verdoso

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
5a1, 5a2 5b1, 5b2	0.75	Amarillo naranja
	0.35	Amarillo naranja
Poca intensidad	0.11	Café

#Bandas/R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.85	Lila
0.70	Amarillo
0.65	Amarillo claro
0.54	Amarillo claro
0.45	Amarillo claro
0.40	Amarillo naranja
0.35	Lila
0.30	Amarillo claro
0.27	Amarillo claro
0.22	Amarillo naranja

Interpretación del cromatograma:

Todos los productos analizados tanto los 5a1 y 5a2 (sin etiqueta) así como los productos comerciales bien etiquetados 5b1 y 5b2 presentan el mismo patrón

cromatográfico entre sí, y este no coincide con ninguna de las bandas del extracto de referencia. En todos ellos se observan más de 10 bandas que no aparecen en la referencia (Tabla 40).

3.2.5.6 Árnica

Descripción del cromatograma 6: (Ver anexo pag. 80)

Marcadores	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
1- Ac. Clorogénico	0.15	Azul verdosa
2- Ac. Cafeico	0.63	Azul aqua
3- Kaempferol	0.75	Verde fosforescente

R _F	Fluorescencia
0.90	Roja
0.85	Roja
0.75	Amarillo verdoso
0.70	Roja
0.60	Roja
0.65	Amarillo (poca intensidad)
0.54	Naranja
0.50	Amarillo
0.47	Amarillo
0.25	Verde amarillo
0.17	Naranja
0.12	Amarillo
0.05	Amarillo verdoso

R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.90	Roja
0.75*	Verde amarillo
0.70	Verde amarillo
0.67	Rojo (poco intenso)
0.52	Amarillo
0.46	Amarillo naranja
0.42	Amarillo naranja
0.37	Naranja
0.37	Amarillo
0.30	Amarillo Naranja
0.25	Amarillo verde
0.15	Naranja
0.10	Amarillo

*Banda correspondiente al kaempferol

Interpretación del cromatograma:

1.- En el producto 6a1 se observó la presencia de kaempferol en una concentración similar al estándar de 0.001 mg. En este producto no se observó la presencia de los marcadores ác. clorogénico, ni de ác. cafeico.

2.- En el producto 6a2 se observó la presencia de kaempferol en una concentración similar al estándar de 0.002 mg. En este producto no se observó la presencia de los marcadores ác. clorogénico, ni de ác. cafeico.

3.- En los productos 6b1 y 6b2 no se detectó la presencia de ninguno de estos marcadores.

3.2.5.7 Azahar

Descripción del cromatograma 7a y b: (Ver anexo pag. 81)

Marcadores	R _F	Visible
1- Geraniol (cromatograma a)	0.16	Verdosa
3- Linalol (cromatograma b)	0.26	Verdosa
4- Acetato de linalilo (cromatograma b)	0.50	Verdosa

Producto	R _F	Visible
7b1	0.80	Azul oscuro
	0.65	Azul (menor intensidad)
	0.57	Morado
	0.50	Morado
	0.45	Rosa
	0.30	Morado
	0.23	Morado (poca intensidad)
	0.17	Morado
7b2	0.13	Verde
	0.80	Azul oscuro
	0.65	Azul (menor intensidad)
	0.57	Morado
	0.50	Morado
	0.45	Rosa
	0.30	Morado
	0.23	Morado (poca intensidad)
0.17	Morado	
	0.13	Verde

Producto	R _F	Visible
7a1	0.80	Azul oscuro
	0.65	Azul (menor intensidad)
	0.57	Morado
	0.50	Morado
	0.45	Rosa
	0.30	Morado
	0.23	Morado (poca intensidad)
	0.17	Morado
7a2	0.13	Verde
	0.80	Azul oscuro
	0.65	Azul (menor intensidad)
	0.57	Morado
	0.50	Morado
	0.45	Rosa
	0.30	Morado
	0.23	Morado (poca intensidad)
0.17	Morado	
	0.13	Verde

Interpretación del cromatograma:

1.- En todos los productos analizados se observa el mismo perfil cromatográfico (Tabla 44), sólo presentan diferencia en la concentración. En ninguno de los productos se observó la presencia de los marcadores.

3.2.5.8 Boldo

Descripción del cromatograma 8: (Ver anexo pag. 81)

Marcador	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
1- Boldina	0.3	Violeta

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
8b1 y 8b2	0.9	Roja
	0.75	Roja
	0.69	Roja
	0.53	Verde
	0.47	Naranja
	0.4	Naranja
	0.35	Naranja
	0.3	Naranja
	0.25	Naranja
	0.22	Violeta
	0.18	Amarilla
	0.15	Naranja
	0.10	Naranja

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
8a1 y 8a2	0.90	Roja
	0.74	Roja
	0.68	Roja
	0.62	Verde claro
	0.55	Verde claro
	0.50	Verde claro
	0.43	Verde claro
	0.40	Amarilla
	0.36	Amarilla
	0.33	Amarilla
	0.29	Amarillo naranja
	0.24	Amarillo
	0.20	Amarillo
	0.15	Amarillo
	0.50	Azul verdoso

Interpretación del cromatograma

1.- Los productos de hierbería analizados 8a1 y 8a2, presentan el mismo patrón cromatográfico (Tabla 48), y en ninguno se detecta la presencia del marcador.

2.- Los productos etiquetados 8b1 y 8b2, presentan un patrón cromatográfico muy similar entre sí (Tabla 49), pero diferente respecto a la presencia de algunos compuestos a los productos de hierbería 8a1 y 8a2 . En ninguno se detecta la presencia del marcador.

3.2.5.9 Cola de caballo

Descripción del cromatograma 9: (Ver anexo pag. 82)

Marcadores	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
1- Ac. Clorogénico	0.12	Azul verdosa
2- Rutina	0.25	Naranja
3- Ac. Cafeico	0.6	Azul agua
4- Kaempferol	0.77	Verde fosforescente

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
9a1	0.89	Rojo
	0.82	Rojo
	0.75	Violeta
	0.65	Rojo
	0.55	Rojo
	0.42	Rosa
	0.32	Rosa
	0.25	Amarillo
	0.05	Amarillo

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
9a2	0.89	Roja
	0.82	Rojo
	0.75	Violeta
	0.70	Violeta
	0.65	Rojo
	0.25	Amarillo
	0.20	Amarillo
	0.08	Amarillo
	0.05	Amarillo

Producto	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
Producto 9b1 y 9b2	0.89	Rojo
	0.84	Rojo
	0.75	Violeta
	0.65	Rojo
	0.57	Rojo
	0.54	Rojo
	0.47	Amarillo
	0.33	Amarillo
	0.25	Amarillo
	0.08	Amarillo

Interpretación del cromatograma:

1.- Las Tablas 51, 52 y 53 muestran el perfil cromatográfico para cada producto analizado, siendo muy parecido en todos. En ninguno de los productos analizados se detecta la presencia del ácido clorogénico o del kaempferol.

3.2.5.10 Eucalipto

Descripción del cromatograma 10: (Ver anexo pag. 82)

Tabla 54. Sustancia de referencia para el análisis de Eucalipto (carriles 9-15).		
Marcadores	R _F	Visible
1- Cineol	0.39	Café

Tabla 55. Patrón cromatográfico de los productos 10a1 de Eucalipto (carriles 1-2).	
R _F	Visible
0.78	Café
0.50	Azul (poca cantidad)
0.45	Rosa
0.35	Verde
0.29	Verde
0.25	Café oscuro
0.23	Café oscuro
0.20	Azul
0.18	Rosa
0.14	Verde
0.10	Café vino
0.05	Café-oscuro

Tabla 56. Patrón cromatográfico de los productos 10a2 de Eucalipto (carriles 2-4).	
R _F	Visible
0.78	Café
0.50	Café
0.45	Rosa
0.37	Café-oscuro (cineol)
0.29	Café-oscuro
0.27	Vino
0.24	Café-oscuro
0.19	Azul
0.18	Café
0.10	Café
0.05	Café

Tabla 57 Patrón cromatográfico de los productos 10b1 de Eucalipto (carriles 5-6).	
R _F	Visible
0.78	café
0.50	Azul
0.45	Rosa (poco intensidad)
0.39	Café (cineol)
0.29	Café
0.25	rojiza
0.22	café
0.19	Azul
0.18	Rojiza
0.10	Café
0.05	Café

Tabla 58 Patrón cromatográfico de los productos 10b2 de Eucalipto (carriles 7-8).	
R _F	Visible
0.78	café
0.50	Azul
0.45	Rosa (poco intenso)
0.38	Café (cineol)
0.36	Café
0.30	Café
0.28	Café
0.23	Café
0.18	Café
0.10	Café
0.05	Café

Interpretación del cromatograma:

1.- En el producto 10a1. no se observó la presencia del cineol.

2.- En el producto 10a2, se observó la presencia del cineol a una concentración similar al estándar de 0.001 mg.

3.- En los productos 10b1, y 10b2 se observó la presencia del cineol, a una concentración inferior al estándar de 0.001 mg.

3.2.5.11 *Ginkgo biloba*

Descripción del cromatograma 11: (Ver anexo pag. 82)

Tabla 59. Sustancia de referencia para el análisis de <i>Ginkgo biloba</i> (carriles 9-15).		
Marcadores	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
I- Ginkólido B	0.5	Amarillo

Tabla 60. Patrón cromatográfico en los productos 11a1 y 11a2 de <i>Ginkgo biloba</i> (carriles 1-4)	
R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.82	Naranja (+ intensa)
0.62	Naranja
0.56	Naranja (poco intensa)
0.53	Naranja
0.4	Naranja
0.22	Naranja

Tabla 61. Patrón cromatográfico en los productos 11b1 y 11b2 de <i>Ginkgo biloba</i> (carriles 5-8)	
R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.55*	Amarillo verdoso
0.50	Amarillo verdoso
0.40	Amarillo Azulado
0.13	Azul
0.03	Amarillo verdosa

*Banda que corresponde al marcador, ginkólido B.

Interpretación del cromatograma:

1.- En los productos 11a1 y 11a2, no se detectó la presencia del marcador.

2.- En los productos 11b1 y 11b2, se detectó la presencia del marcador a una concentración intermedia entre los estándares de 0.005 y 0.010 mg.

3.2.5.12 Menta

Descripción del cromatograma 12a y b: (Ver anexo pag. 83)

Tabla 62. Sustancias de referencia para el análisis de Menta (carriles 9-15).		
Marcadores	R_F	Visible
1- Mentol (cromatograma 12b)	0.20	Verdosa-aqua
2- Cineol (cromatograma 12a)	0.35	Café-rojizo
3- Mentona (cromatograma 12a)	0.47	Azul - aqua

Tabla 63. Patrón cromatográfico en el producto 12a1 de Menta (carriles 1-2).	
R_F	Visible
0.78	Morado
0.57	Azul
0.45	Café
0.39	Café
0.29	Verde
0.25	Morado
0.15	Morado
0.09	Azul-morado
0.04	Azul

Tabla 64. Patrón cromatográfico en el producto 12a2 de Menta (carriles 3-4).	
R_F	Visible
0.78	Morado
0.38	Rosa
0.29	Verde
0.25	Morado
0.15	Morado
0.07	Morado
0.04	Morado

Tabla 65. Patrón cromatográfico en el producto 12b1 de Menta (carriles 5-6).	
R_F	Visible
0.78	Morado
0.72	Azul
0.55	Morado(poco intenso)
0.45	Verde
0.40	Verde
0.30	Café
0.20	Verdosa
0.16	Morado
0.09	Morado
0.05	Morado

Tabla 66. Patrón cromatográfico en el producto 12b2 de Menta (carriles 7-8).	
R_F	Visible
0.78	Morado
0.72	Azul
0.55	Morado(pocoint)
0.45	Verde
0.40	Verde
0.30	Café
0.20	Verdosa
0.16	Morado
0.09	Morado
0.05	Morado

Interpretación del cromatograma

- 1.- En los productos 12a1 y 12a2, no se observan los marcadores.
- 2.- En el producto 12b1 se observa el mentol en una concentración semejante al estándar de 0.010 mg.
- 3.- En el producto 12b2 se observa el mismo patrón cromatográfico que el anterior sólo que a menor intensidad, detectando la concentración de mentol semejante al estándar de 0.001 mg.
- 4.- En las Tablas 63, 64, 65 y 66 se describe el perfil cromatográfico para cada producto.

3.2.5.13 Sábila

Descripción del cromatograma 13: (Ver anexo pag. 83)

Marcadores	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
1- Aloína	0.38	Amarillo verdosa

R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.72	Amarilla Verdosa
0.42	Amarillo verdosa
0.25	Amarillo verdosa
0.20	Amarillo verdosa
0.90	Roja
0.82	Violeta

Tabla 68. Patrón cromatográfico observado en los productos 13a1 y 13a2 de Sábila (carriles 1-4).

R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.80	Roja
0.79	Amarilla
0.66	Violeta
0.63	Roja
0.54	Amarilla
0.45	Amarillo naranja
0.40	Amarillo naranja
0.39*	Amarillo
0.37	Amarillo naranja
0.35	Amarillo naranja
0.29	Amarillo naranja
0.25	Amarillo naranja
0.20	Amarillo
0.10	Amarillo

Tabla 70. Patrón cromatográfico observado en productos 13b2 de Sábila (carriles 7-8).

R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.77	Naranja
0.73	Verde
0.66	Roja
0.42	Amarillo
0.44	Amarillo
0.42	Naranja
0.38*	Amarillo
0.34	Amarillo naranja
0.27	Naranja
0.24	Amarillo
0.18	Naranja
0.12	Amarillo

Interpretación del cromatograma

1.- En los productos 13a1 y 13a2 se observa la presencia del marcador en una concentración semejante al estándar de 0.005 mg.

2.- En el producto 13b1 no se observa la aloína.

3.- En el producto 13b2 se observa la presencia del marcador en una concentración intermedia a los estándares de 0.015-0.020 mg. En las Tablas 68, 69 y 70 se describe el perfil cromatográfico para cada producto.

3.2.5.14 Salvia

Descripción del cromatograma de 14 a y b: (Ver anexo pag. 84)

Tabla 71. Sustancias de referencia para el análisis de Salvia (carriles 9-15).

Marcadores	R _F	Visible
1- Tuyone (cromatograma 14a)	0.50	Morado
2- Cineol (cromatograma 14b)	0.40	Café

Tabla 72. Perfil cromatográfico observado en los productos 14a1 y 14a2 de Salvia (carriles 1-4).

R _F	Visible
0.80	Café
0.45	Rosa
0.32	Verde
0.27	Verde
0.17	Verde azulado
0.10	Verde

Tabla 73. Perfil cromatográfico observado en los productos 14b1 y 14b2 de Salvia (carriles 5-8).

R _F	Visible
0.80	Café (poca concentración)
0.40	Rosa
0.27	Verde
0.15	Verde
0.10	Verde

Interpretación del cromatograma:

En ninguno de los productos analizados se detectó la presencia de los marcadores (tuyona y cineol). En las Tablas 72 y 73 se presenta el perfil cromatográfico de los productos.

3.2.5.15 Sen

Descripción del cromatograma 15: (Ver anexo pag. 84)

Tabla 74. Sustancia de referencia de Sen (carriles 9-15).

Marcadores	R _F	Fluorescencia UV 366 nm
1- Senósido B	0.15	Amarillo-naranja

Tabla 75. Perfil cromatográfico obtenido en los productos 15a1, 15a2, 15b1 y 15b2 de Sen (carriles 1-8).

R _F	Fluorescencia UV 366 nm
0.87	Verde Menta
0.65	Amarillo
0.59	Naranja
0.55	Verde menta
0.49	Amarillo
0.42	Amarillo
0.37	Amarillo
0.32	Amarillo
0.20	Amarillo fuerte
0.16	Amarillo naranja
0.09	Amarillo verdoso

Interpretación del cromatograma

En ninguno de los productos analizados se detectó la presencia del senósido B usado como marcador.

A continuación se presentan en tablas los resultados del análisis de calidad para todos los productos.

Se señala si cumplieron o no con los criterios de calidad cromatográfica. En la Tabla 76 se resume los resultados obtenidos en el análisis de productos herbales a través de extractos estandarizados y en la Tabla 77 el análisis de productos herbales analizados a través de marcadores.

Tabla 76. Análisis de control de calidad para productos analizados a través de extractos estandarizados.

Nombre	Hierbería (mal etiquetados)		Comerciales (bien etiquetados)	
Castaño de Indias	1a1 SI	1a2 NO	1b1 -	1b2 -
Damiana	2a1 Parcialmente	2a2 NO	2b1 Parcialmente	2b2 Parcialmente
Manzanilla	3a1 SI	3a2 NO	3b1 SI	3b2 Parcialmente
Pasiflora	4a1 NO	4a2 NO	4b1 NO	4b2 NO
Tila	5a1 NO	5a2 NO	5b1 NO	5b2 NO

Tabla 77. Análisis de control de calidad para productos analizados a través de marcadores.

Nombre	Hierbería (mal etiquetados)		Comerciales (bien etiquetados)	
Arnica	6a1 NO	6a2 NO	6b1 NO	6b2 NO
Azahar	7a1 NO	7a2 NO	7b1 NO	7b2 NO
Boldo	8a1 NO	8a2 NO	8b1 NO	8b2 NO
Cola de Caballo	9a1 NO	9a2 NO	9b1 NO	9b2 NO
Eucalipto	10a1 NO	10a2 Parcialmente	10b1 Parcialmente	10b2 Parcialmente
Ginkgo biloba	11a1 NO	11a2 NO	11b1 SI	11b2 SI
Menta	12a1 NO	12a2 NO	12b1 Parcialmente	12b2 Parcialmente
Sábila	13a1 Parcialmente	13a2 Parcialmente	13b1 NO	13b2 SI
Salvia	14a1 NO	14a2 NO	14b1 NO	14b2 NO
Sen	15a1 NO	15a2 NO	15b1 NO	15b2 NO

CAPÍTULO 4

DISCUSIÓN

La Selección de las 15 plantas para este estudio, se realizó en base a la información generada en la estadística del proyecto de Medicina herbolaria, sobre los 40 productos comerciales más consumidos en nuestra región (*Salazar, R., 2004*). Las plantas seleccionadas fueron: castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora, tila, árnica, azahar, boldo, cola de caballo, eucalipto, ginkgo, menta, sábila, salvia y sen.

Para realizar la revisión bibliográfica sobre los métodos generales de análisis de las 15 plantas, se revisó la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, en donde se describen diferentes tipos de extracciones, dependiendo de la planta, pero no se encontró material suficiente sobre el control de calidad cromatográfico. Cabe señalar que en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos sólo se incluyeron plantas empleadas en México con fines medicinales, que contasen con información sobre seguridad en su uso, métodos de análisis validados o bien referencias farmacopéicas de otros países, dejando fuera de contexto la mayoría de las especies autóctonas que son utilizadas en la herbolaria mexicana, ya que la gran mayoría carecen de sustento científico que avale su uso. Este es el caso de la mayoría de las plantas incluidas en el presente estudio.

Otras farmacopeas revisadas fueron la Alemana, la Japonesa y la de Estados Unidos, en donde se encontró información sobre la efectividad, toxicidad y uso de algunas plantas. Otras fuentes de información útiles para el presente trabajo fueron los libros “Plantas Medicinales y Drogas Vegetales para Infusión y Tisana” de Cañigüeral,

S., 1988 y "Plant Drug Análisis" de Wagner, S., 1984, además de la página web de Camag, en donde se encontró información sobre el uso, así como la descripción de métodos de análisis por cromatografía plana para el control de calidad.

Con la información obtenida de las fuentes anteriores, principalmente la descrita por Wagner y en la Farmacopea Mexicana, se logró obtener datos suficientes sobre los métodos generales de análisis para el control de calidad de las plantas seleccionadas, a excepción de castaño de indias, del cual no se encontró ningún método descrito (Tabla 9). Se encontró que el método de elección para el análisis de productos herbales es la cromatografía en capa fina, técnica también recomendada por la OMS, (OMS, 1988) en la que se utilizan sustancias de referencia como marcadores o principios activos específicos de la planta o bien, extractos estandarizados.

En base a lo anterior se estableció estudiar cinco de las plantas a través de extractos estandarizados: castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora y tila y diez de ellas a través de marcadores: árnica, azahar, boldo, cola de caballo, eucalipto, ginkgo, menta, sábila, salvia y sen.

Los extractos estandarizados se adquirieron comercialmente; los mismos cuentan con un certificado de análisis de control de calidad, en el que se indican parámetros como: descripción de la planta y especie de la cual se obtuvo el extracto, grado, parámetros fisicoquímicos como: pH, sustancias activas, cenizas totales, etc., y parámetros microbiológicos como: cuenta total de mesofílicos aerobios, cuenta total de hongos, levaduras y microorganismos patógenos.

Los marcadores también se adquirieron comercialmente buscando que fueran sustancias específicas de la planta o bien sustancias utilizadas como referencia para la identificación de determinado compuesto característico de la planta.

Después de desarrollar las condiciones cromatográficas descritas en la literatura tanto para extractos estandarizados como para marcadores, se observó que muchas de ellas no funcionaban adecuadamente. Para el caso de extractos estandarizados, sólo se observó buena resolución cromatográfica con el método recomendado para los extractos de damiana y tila (Tabla 4). En el caso de castaño de indias, no se encontró en la literatura información sobre métodos por CCF para evaluar su calidad. Para la manzanilla y la pasiflora no se obtuvo buena resolución con las condiciones cromatográficas descritas en la literatura. Por lo anterior, se probaron para el castaño de indias, manzanilla y pasiflora las condiciones utilizadas para la damiana y la tila, obteniéndose adecuada resolución; en la Tabla 12 se muestran las condiciones finales.

Para los marcadores se probaron las condiciones cromatográficas descritas en la literatura para cada uno de ellos, (Tabla 5). Para el boldo, no se detectó el marcador que es la boldina; para el senósido B (marcador para el sen) se obtuvo un R_F muy pequeño y no se apreciaba bien la fluorescencia de la mancha, razón por la cual se decidió probar otros sistemas de eluentes hasta obtener resultados adecuados que son los que se presentan en la Tabla 19. Para la optimización se realizaron ajustes en el sistema cromatográfico hasta obtener valores adecuados de R_F y observar sin interferencias el marcador dentro del producto.

4.1. Validación del método analítico

Una vez optimizados los métodos tanto para extractos estandarizados como para marcadores, se procedió a la validación de los mismos. El primer parámetro a validar fue el límite de detección, que para el caso de todos los extractos estandarizados resultó ser de 0.075 mg (muestra aplicada) que representa la mínima cantidad detectable de los componentes característicos de cada extracto. Para el caso de los marcadores, se determinó la cantidad mínima detectable de ellos (Tabla 20), los valores obtenidos estuvieron en el rango de 0.001 a 0.018 mg.

El segundo parámetro a validar fue la precisión. En el caso de los extractos estandarizados se evaluó la precisión de la distancia recorrida (R_F) y la precisión de la resolución; se obtuvieron bajos coeficientes de variación a los diferentes valores de R_F (alto, medio y bajo) que estuvieron en un rango de 0.439 % (pasiflora) a 4.729 % (tila), como se observa en la Tabla 14. Para la precisión de la resolución se consideraron 3 pares de manchas de R_F adyacente: un par a R_F alto, otro a R_F medio y otro a R_F bajo y con cada par se calculó la resolución y el coeficiente de variación de la resolución. Se obtuvieron valores que van desde 0.39 % (manzanilla) hasta 24.20 % (pasiflora), Tabla 16.

Cabe señalar que a excepción de la pasiflora, en el resto de extractos los coeficientes de variación fueron menores al 15%. Estos valores resultan adecuados si se considera que el método utilizado no es totalmente automatizado. Si bien la aplicación automática de las muestras disminuye en mucho el error experimental, los siguientes pasos como son la elución y análisis del cromatograma, están sujetos a la destreza y evaluación del analista. Dadas estas circunstancias, las condiciones experimentales óptimas para llevar a cabo la separación, son difíciles de controlar experimentalmente. Además en este tipo de cromatografía existen múltiples equilibrios involucrados: la fase móvil y la fase estacionaria se encuentran en un estado dinámico (equilibrio) con la fase de vapor que rodea al sistema cromatográfico; a su vez la muestra está en equilibrio dinámico con la fase estacionaria y la fase móvil.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Para los marcadores, se evaluó la precisión solamente en base a la distancia recorrida (R_F); se encontraron valores de coeficiente de variación muy bajos y aceptables en el rango de 0.178 % a 5.770 %.

El último parámetro a validar fue la robustez, para lo cual se realizaron cambios a niveles altos y bajos de parámetros del método optimizado como: volumen de inyección, distancia recorrida por el eluyente y composición del eluyente. Para el caso de los extractos estandarizados, se evaluaron los resultados en base a la resolución obtenida en el cromatograma; respecto del valor de resolución obtenido con el método optimizado (Tablas 17a, b y c). Se consideró que el método soporta variaciones cuando el valor de

resolución está dentro de dos desviaciones estándar respecto al método optimizado. Se observó que al variar el volumen de inyección de la muestra, no se ve afectada la resolución del método, pero al variar la distancia recorrida por el eluyente si se afecta la resolución en todos los extractos. Las variaciones en composición de la fase móvil, sólo afectan los resultados en la manzanilla, (al aumentar la composición del eluyente principal a nivel medio) y en la pasiflora (a nivel medio y alto). Los resultados anteriores sugieren que el método soporta variaciones en el volumen de inyección de la muestra, no así en la distancia recorrida por el eluyente y en la composición de la fase móvil, por lo que estas variables deben ser cuidadosamente controladas para que la resolución del método no se modifique.

Para los marcadores la evaluación de los resultados después de cada cambio realizado (Tabla 6), fue en base a la selectividad. Se analizaron simultáneamente cada marcador y el extracto del producto que lo contiene y se observó que los cambios no afectaron la selectividad, es decir la visualización del marcador en el producto, lo cual demuestra la robustez del método.

4.2 Obtención de extractos de productos comerciales

Para seleccionar el método de extracción para cada planta, primero se realizó la extracción recomendada en la literatura (Tabla 7). Se observó que en la mayoría de los casos la extracción no funcionó correctamente, ya que no se observaba recuperación del extracto, o bien se observaba la degradación del mismo, razón por lo cual estos métodos se descartaron.

Como segunda opción se decidió realizar una extracción hidroalcohólica (etanol:agua, 90:10), ya que es una de las formas más comunes para la obtención de extractos y tinturas de productos naturales, y además es la forma en la que se obtienen los extractos estandarizados comerciales que se utilizaron en este trabajo. Con esta extracción, se obtuvieron porcentajes de recuperación adecuados (Tabla 23) y no se

observó degradación del extracto; además los solventes que se utilizaron no son tóxicos y son baratos, razón por la cual se consideró como la extracción idónea para estos casos.

4.3 Evaluación de la calidad cromatográfica de los productos comerciales

Para evaluar la calidad cromatográfica de los productos, se establecieron dos criterios a evaluar. Cabe señalar que no se encontró un criterio de aceptación en la literatura para la evaluación con los extractos estandarizados como referencia, por lo que tuvimos que establecer los nuestros.

Para la evaluación cualitativa se estableció para el caso de los productos analizados a través de extracto estandarizado, que el perfil cromatográfico del producto comercial debería de tener un 80% o más de semejanza respecto del perfil cromatográfico del extracto de referencia, el cual establecimos con las manchas de mayor intensidad observadas en el cromatograma. Al cumplir con este criterio, sugerimos que el producto analizado contiene la planta en cuestión. En el caso de productos analizados a través de marcadores se determinó que se cumpliría con el criterio cualitativo si se observaba la presencia del marcador en el producto.

Para la evaluación semicuantitativa se estableció para el caso de los productos analizados a través de extracto estandarizado, que las bandas principales del extracto de referencia y las del extracto del producto se deberían observar a concentraciones semejantes. En el caso de productos analizados a través de marcadores se determinó que se cumpliría con el criterio semicuantitativo si se observaba la presencia del marcador en el producto a la concentración que la literatura señale, si es que se contaba con esa información.

A continuación, se discuten en forma individual los resultados del análisis de los productos comerciales. Cabe mencionar que de los 58 productos comerciales analizados,

solamente 6 cumplieron con los dos criterios de calidad cromatográfica establecidos en este trabajo.

En los productos en donde no se cumplieron los criterios de calidad, se observaron alguna(s) de las siguientes situaciones:

- a) El patrón cromatográfico en los productos comerciales, no corresponde con el del extracto estandarizado de la planta en cuestión.
- b) No se observó el compuesto marcador específico de la planta en el producto comercial.
- c) Se detectó la presencia de adulterantes.

Los casos anteriores sugieren que el producto comercial no contiene la planta que dice contener en su etiqueta o bien, en el caso de productos en donde sólo se contó con la información proporcionada por el vendedor, se demuestra que es frecuente el engaño o la falta de conocimiento del vendedor para reconocer la especie correcta. Además, no se descarta la posibilidad de que los productos analizados fueran muy viejos o su almacenamiento inadecuado, lo cual puede provocar la degradación del producto.

En otros casos se llegó a detectar la presencia de plantas de especie diferente a la terapéutica, observándose cierta similitud en el patrón cromatográfico y para hacerla similar a la especie correcta fue evidente la presencia de compuestos agregados externamente.

4.3.1 Castaño de Indias

Como se mencionó anteriormente, no se encontró en la literatura algún reporte del perfil cromatográfico del castaño de indias (*Aesculus hippocastanum*) para tomarlo

como referencia. La Tabla 24 muestra el R_F y la fluorescencia de las bandas principales que se consideraron como las más importantes del extracto estandarizado tomando en este caso como la referencia.

El producto **1a1**, presentó un 83 % de semejanza con el perfil cromatográfico del extracto de referencia (se detectan 5 de 6 bandas) y la concentración detectada es semejante a la correspondiente concentración que se observa en el extracto de referencia de 0.300 mg (comparar carriles 6 y 8 del cromatograma 1). Por lo anterior se puede concluir que el producto **SI cumple** con los criterios de calidad cromatográficos establecidos.

En el producto **1a2** sólo presenta un 50 % de semejanza con respecto a la referencia (3 de 6 bandas); sin embargo, las bandas detectadas están en muy baja concentración, aproximadamente diez veces menor que en el extracto de referencia, (semejantes al estándar de 0.030 mg). Las bandas que se detectan a mayor concentración en este producto, no corresponden al perfil cromatográfico de la referencia; una de ellas, la de R_F 0.42, es la más intensa del extracto siendo que en la referencia es casi imperceptible. En este caso, al ser un producto de hierberia, puede ser que no sea castaño de indias o bien puede ser un producto muy viejo cuyas bandas principales casi desaparezcan y se haya degradado formando nuevos compuestos que no están presentes en la referencia. Con lo anterior concluimos que el producto **1a2**, **NO cumple** con los parámetros de calidad cromatográfica cualitativa y semicuantitativa.

4.3.2 Damiana

En el cromatograma 2 se puede observar que el producto **2a1** presenta un 75 % de semejanza, con el extracto estandarizado y la banda de R_F de 0.55 está presente en una concentración mayor que el estándar más alto del extracto de referencia (0.375 mg); además aparece una banda intensa a R_F de 0.50 que no aparece en la referencia. El

producto 2a2 solamente muestra un 25 % de semejanza, (1 de 4 bandas), además aparecen bandas adicionales a baja concentración no presentes en la referencia. Este producto **NO cumple** con los criterios de calidad cromatográfica.

Los productos comerciales 2b1 y 2b2 presentan 75 % de semejanza con el perfil cromatográfico del extracto estandarizado de damiana, (perfil cromatográfico casi idéntico al producto 2a1); se observa que la banda de R_F 0.55 está presente a concentración mayor que el estándar más alto de 0.375 mg; sin embargo en los dos productos aparecen una serie de bandas importantes por su intensidad que no corresponden al extracto de referencia, (entre ellas la banda de 0.50). El perfil cromatográfico de ambos productos es muy similar al producto de hierbería 2a1, por lo que se tomaron en cuenta las mismas consideraciones; por esta razón no se pueden descartar por completo ambos productos. En conclusión consideramos que ambos productos **cumplen parcialmente** con los criterios de calidad cromatográfica.

4.3.3 Manzanilla

El producto 3a1 tiene un 100 % de semejanza con respecto al perfil cromatográfico del extracto estandarizado. En este producto la concentración de Apigenina (marcador específico de la manzanilla) es semejante a la del estándar de 0.150 mg; esto constituye casi la mitad de la concentración esperada (comparar carriles 6 y 8 del cromatograma 3). Sin embargo, al ser un producto de hierbería (la planta en sí) y considerando que el patrón cromatográfico es prácticamente idéntico a nuestra referencia, y que además la literatura contempla variación en la concentración de los constituyentes, se puede concluir que este producto **SI cumple** con los criterios de calidad establecidos.

El producto de 3a2 presenta sólo un 50 % de semejanza con respecto al perfil cromatográfico del extracto de referencia (no se detectan dos de las bandas más importantes de la referencia). Además, la concentración de Apigenina observada es

semejante al estándar de 0.030, aproximadamente diez veces menor que la concentración esperada, (comparar carriles 6 y 10 del cromatograma 3). Debido a que es un producto de hierbería debe contemplarse que sea un producto muy viejo cuyas bandas principales casi no se vean, o bien, que se haya recolectado en diferente época del año, ya que respecto a su identidad sólo se contó con la información proporcionada por el vendedor. Por lo anterior y que además la Apigenina es uno de sus principios activos y en este producto es casi imperceptible, se considera que el producto **NO cumple** con la calidad cromatográfica.

En el producto **3b1**, observamos un 100 % de semejanza con el perfil cromatográfico del extracto de referencia. Además, la concentración de Apigenina es semejante al estándar correspondiente de 0.300 mg (comparar carriles 6 y 12 del cromatograma 3). Se puede sugerir que el producto si contiene manzanilla y **SI cumple** con los criterios de calidad.

En el producto **3b2**, observamos un 100% de semejanza con el perfil cromatográfico del extracto de referencia, lo cual nos indica que el producto sí contiene manzanilla. Sin embargo, la concentración de Apigenina es casi imperceptible, mientras que el resto de bandas se observan bien, a la misma concentración que en el producto **3b1** (misma marca, diferente lote). En este caso se puede concluir que el producto cumple desde el punto de vista cualitativo, pero en cuanto a la cantidad de Apigenina, **cumple parcialmente** con la calidad.

4.3.4 Pasiflora

El producto **4a1** tiene un 20 % de semejanza respecto del extracto de referencia. (1 de 5 bandas) y las bandas de mayor intensidad no corresponden a las tomadas como patrón de referencia (Tabla 37). En este caso al ser un producto de hierbería (la planta en sí), puede ser que las diferencias encontradas sean porque el producto sea muy viejo cuyas bandas principales casi desaparezcan y se hayan degradado formando nuevos

compuestos o incrementando la concentración de otros, o bien que no se trate de *Passiflora incarnata*, si no de alguna especie diferente. Dadas las diferencias cualitativas y cuantitativas, se puede concluir que el producto **NO cumple** con los criterios de calidad cromatográficos.

El producto 4a2 presenta un 40 % de semejanza con respecto al extracto de referencia (2 de 5 bandas) presentando un patrón cromatográfico parecido al producto anterior. Tomando en cuenta las mismas consideraciones que en el producto anterior, concluimos que **NO cumple** con los criterios de calidad cromatográficos.

Los productos 4b1 y 4b2 son productos en cuya etiqueta se señala la presencia de pasiflora, sin embargo en este análisis no presentan ninguna banda correspondiente al extracto de referencia, prácticamente no se observa nada, sólo tres bandas a R_F menor a 0.4 y en muy baja concentración. Por lo anterior concluimos que **NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.5 Tila

El patrón cromatográfico del extracto estandarizado que utilizamos en el ensayo, se comparó con lo que describe la literatura, y se encontró que aparecen más bandas que las descritas, siendo la rutina a R_F de 0.4 casi imperceptible, y bajo ella aparece una banda adicional de intensidad importante y fluorescencia naranja. Estas últimas dos condiciones son características de *Tila argentea*, la cual se describe como el principal adulterante de estos productos. Sin embargo, no es posible afirmar que nuestro extracto estandarizado no sea la *Tila silvestres*, ya que sería necesario hacer la comparación cromatográfica con el extracto de ambas especies.

Es importante señalar que algunos de los productos indican como contenido *Tila occidentales*, especie diferente a la de nuestro extracto de referencia, aún así, ninguno de los productos muestra alguna de las bandas que señala la literatura. Por lo que

concluimos que los productos analizados 5a1, 5a2, 5b1, 5b2, NO cumplen con los criterios de calidad establecidos.

4.3.6 Árnica

Para el análisis cromatográfico de productos con árnica, se utilizaron como marcadores el kaempferol, ácido clorogénico y ácido cafeico.

En los productos 6a1 y 6a2 se observa la presencia de uno solo de los marcadores, el kaempferol; en el producto 6a1 aparece a una concentración de 0.010 %, y en el producto 6a2, se detecta una concentración 0.020 % (la literatura no refiere la concentración de los marcadores en la planta). Entre ambos productos el patrón cromatográfico es diferente y no se detectan el ác. clorogénico y el ác. cafeico, que de acuerdo a la literatura son componentes de la planta (*Wagner, H., 1984*). Por lo anterior consideramos que los productos NO cumplen con los criterios de calidad cromatográficos.

En los productos 6b1 y 6b2, no se detecta la presencia de ninguno de los marcadores con el método utilizado en este estudio; sólo se observa una serie de manchas con fluorescencia blanca, en el punto de aplicación de la muestra, por lo que concluimos que los productos NO cumplen con los criterios de calidad.

4.3.7 Azahar

Se utilizaron como marcadores el geraniol, linalol y al acetato de linalilo componentes específicos del aceite esencial presente en la flor de azahar, considerado como el principio activo de la planta (*Cañigüeral, 1998*).

Ningún marcador se pudo detectar en los productos analizados y en todos se observó el mismo perfil cromatográfico.

Dado que éste es un remedio muy difundido en el mercado, consideramos que los productos analizados no contienen el aceite esencial presente en la flor, posiblemente fueron elaborados con el pericarpio o la cáscara de la naranja o bien con las hojas o en definitiva con nada relacionado a la flor de azahar.

Por lo anterior concluimos que ninguno de los productos 7a1, 7a2, 7b1 y el 7b2, cumplen con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.8 Boldo

Se utilizó como marcador a la boldina, ya que la literatura lo refiere como el principio activo de la planta (*Farmacopea Herbolaria Mexicana, 2001*). La literatura señala que según la forma de preparación de los remedios con boldo, puede ocurrir que una parte de boldina se pierda, reportando hasta un 80 % de pérdida, por lo cual se recomienda utilizar sólo preparados estandarizados (*Cañigüeral, S.; 1998*).

Dado que no se detectó la presencia de boldina en los productos analizados, se decidió probar otro sistema de eluyente para mejorar la resolución en la zona en donde aparece la boldina, pero aún así no se llegó a detectar el marcador.

Por lo anterior concluimos que ninguno de los productos analizados 8a1, 8a2, 8b1, 8b2, cumplen con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.9 Cola de caballo

Se utilizaron como marcadores rutina, ácido clorogénico, ácido cafeico y el kaempferol, los cuales se utilizan para diferenciar entre las especies *E. arvense* y *E. palustre*, siendo el ác. clorogénico común en las dos y el kaempferol ausente en la especie *E. arvense*. De acuerdo a la literatura el adulterante más frecuente de *E. arvense*

es la especie *E. palustre* la cual se caracteriza por su contenido en alcaloides tóxicos. Por ello resultó importante utilizar como marcador al ác. clorogénico que debe estar presente en las especies *E. arvense* y *E. palustre*, y al kaempferol que debe estar ausente en la especie *E. arvense*, aunque también se señala que el patrón de flavonoides en *E. arvense* puede variar mucho, según la procedencia de la planta, debido a la existencia de razas geográficas; sin embargo el ácido clorogénico debe presentarse.

En ninguno de los productos se observó la presencia de los marcadores. Por lo anterior concluimos que los productos **9a1, 9a2, 9b1, 9a2, NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.10 Eucalipto

Se utilizó como marcador al cineol, ya que la literatura lo refiere como el principio activo de la planta (*Farmacopea Herbolaria Mexicana, 2001*).

De acuerdo a la literatura, la composición del eucalipto es del 1.5 a 3.5 % de aceite esencial, cuyo componente principal es el 1,8-cineol en una proporción del 70 al 95 %, por lo cual se consideró que para cumplir con los criterios de calidad, se debería detectar al cineol en un rango de concentración de 1.05 al 3.32 % en los productos comerciales.

Mediante el análisis de los productos, encontramos que en el producto **10a1**, no se observó la presencia del cineol por lo cual concluimos que **NO** cumple con los criterios de calidad cromatográficos.

En el producto **10a2** se observó la presencia del cineol a una concentración muy baja de 0.009 %. Cabe señalar que el perfil cromatográfico de los productos **10a1** y **10a2** es muy similar, la principal diferencia radica en la presencia del cineol. De acuerdo a los

criterios establecidos concluimos que el producto cumple en el aspecto cualitativo, pero no en el semicuantitativo, por lo que **cumple parcialmente** con los criterios de calidad cromatográficos.

En los productos 10b1, y 10b2 se observó la presencia del cineol, a una concentración inferior a 0.009 %, todavía más baja que en el producto anterior. De acuerdo a los criterios establecidos concluimos que los productos cumplen en el aspecto cualitativo, al igual que el caso anterior, pero no en el semicuantitativo, por lo que se considera que **cumple parcialmente** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.11 Ginkgo

Se utilizó como marcador al ginkólido B, ya que la literatura lo refiere como uno de los principios activos de la planta *Ginkgo biloba* (*Farmacopea Herbalaria Mexicana, 2001*).

En los productos 11a1 y 11a2 no se detectó la presencia del marcador; considerando que la información sobre su autenticidad proviene únicamente del vendedor, puede ser que NO se trata de *Ginkgo biloba*, o bien, al igual que en otros casos considerados en este estudio, podría ser que se tratara de una especie diferente o bien un producto muy viejo o recolectado en una época en donde la concentración del marcador es nula. Tomando en cuenta que no es una planta de la región y que además su uso esta muy difundido entre la población, lo cual ocasiona un incremento en su precio, consideramos que es frecuente el engaño, y que en las hierberías se vendan otras plantas similares pero no la correcta. Por lo que concluimos que estos productos **NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

Los productos 11b1 y 11b2 señalan en su etiqueta que poseen 24 % de extracto seco de ginkgo. En ambos productos se detectó la presencia del marcador a una concentración entre 0.336 a 0.365 %; considerando que la literatura reporta sólo la

concentración de la mezcla de ginkgólidos A, B y C, entre 0.14 a 0.17 % en la planta, consideramos que ambos productos **SI cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.12 Menta

Se utilizó como marcadores al mentol, mentona y cineol ya que la literatura los refiere como principios activos de la *Mentha piperita* (*Farmacopea Herbolaria Mexicana, 2001; Cañigüeral, S., 1998; Wagner, H. 1984*).

En los productos **12a1** y **12a2**, no se detectó la presencia de los marcadores; considerando que la información sobre su autenticidad proviene únicamente del vendedor, puede ser que ninguno de ellos sea menta, o bien que se trate de un producto viejo cuyo contenido de mentol, cineol y mentona (marcadores) ha desaparecido. Por lo anterior concluimos que estos productos **NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

En el producto **12b1** se observa el mentol a una concentración de 0.013 %. Sin embargo, aún y cuando no se observen los otros marcadores, consideramos la presencia del mentol como característica importante en el producto, ya que de acuerdo a la literatura el aceite esencial debe encontrarse entre el 0.4 al 0.5 % en la planta y en éste el mentol constituye de un 50 al 78 %, lo que representa que se deben encontrar cantidades de mentol de 0.25 a 0.312 % en la menta. Aunque el mentol está presente, no podemos asegurar que los productos sean menta. Sin embargo al presentar menor concentración de mentol que la señalada en la literatura, concluimos que el producto cumple desde el punto de vista cualitativo, pero en el semicuantitativo no. Por consiguiente consideramos que el producto **cumple parcialmente** con los criterios de calidad cromatográficos.

En el producto **12b2** se observa el mentol a una concentración inferior a 0.010 mg, menor que en el producto 12b1, por lo cual haciendo las mismas consideraciones que en el producto anterior, concluimos que el producto **cumple parcialmente** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.13 Sábila

Se utilizó como marcador la aloína que es un compuesto característico de la planta. La literatura señala que la mezcla de aloínas A y B deben encontrarse a concentración entre el 25 al 40% en la planta (*Wagner, H. 1984, Cañigüeral, S., 1998*).

En los productos **13a1** y **13a2**, se observa el marcador aloína, a una concentración de 0.060 %, menor a lo reportado en la literatura; esto puede explicarse si el tiempo en anaquel es muy largo y hace que disminuya el principio activo por descomposición. Considerando que su presencia es característica de la planta, consideramos que los productos cumplen en el aspecto cualitativo y no en el semicuantitativo. Por lo que concluimos que ambos productos **cumplen parcialmente** con los criterios de calidad cromatográficos.

En el producto **13b1** cuya etiqueta refiere contener sábila, no se detecta la presencia del marcador; cabe mencionar que el contenido de las cápsulas era un polvo color blanco, mientras que el producto 13b2 era café oscuro, sin embargo ambos corresponden a productos de la misma marca, pero de diferente lote. Este hecho resulta interesante ya que pareciera que el producto tuviera cualquier otra cosa menos lo que refiere contener. Por lo anterior concluimos que el producto **NO cumple** con los criterios de calidad cromatográficos.

En el producto **13b2** se detecta el marcador como el principal componente del producto, a una concentración entre 0.192 a 0.256 %, y presenta un patrón

cromatográfico muy diferente al producto 13b1, (Tablas 3 y 4). En este caso concluimos que el producto 13b2, **SI cumple** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.14 Salvia

Como marcadores se utilizaron la tuyona y el cineol, ya que de acuerdo a la literatura son los principales componentes del aceite esencial de la Salvia, el cual debe encontrarse entre el 1 a 2.5 % en la planta y está constituido por 35-60% de tuyona y 20 % o más de otros monoterpenos, entre ellos el cineol y el alcanfor (*Cañigüeral, S., 1998. Wagner, H.*).

En ninguno de los productos (14a1, 14a2, 14b1 y 14b2) se detectó la presencia de los marcadores, por lo que concluimos que **NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

4.3.15 Sen

Para el análisis cromatográfico del sen, se utilizó como marcador el senósido B, ya que es el principal componente de la planta (*Cañigüeral 1998*).

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Dado que los productos 15a1 y 15a2 fueron adquiridos en hierberías, la información sobre su identidad fue la señalada por el vendedor. Ambos presentaron patrones cromatográficos completamente diferentes, y en ninguno se detectó la presencia del marcador, por lo que concluimos que los productos **NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

Los productos 15b1 y 15b2, ambos de la misma marca pero de diferente lote, presentaron un patrón cromatográfico muy similar a los productos de hierbería y en ninguno de ellos se detectó el marcador. Por lo anterior concluimos que **NO cumplen** con los criterios de calidad cromatográficos.

Capítulo 5

5.1 Conclusiones

1.- La extracción etanol:agua, 90:10 a temperatura ambiente, resultó adecuada para la obtención de extractos de productos herbales.

2.- Se desarrolló y validó un método por CCF para el análisis de productos herbales, utilizando extractos estandarizados. El método desarrollado fue útil para evaluar la calidad cromatográfica de productos comerciales unicomponentes de: castaño de indias, damiana, manzanilla, pasiflora y tila.

3.- Se desarrolló y validó un método por CCF para el análisis de productos herbales, utilizando marcadores. El método desarrollado fue útil para evaluar la calidad cromatográfica de productos comerciales unicomponentes de: árnica, azahar, boldo, cola de caballo, eucalipto, ginkgo, menta, sábila, salvia y sen.

4.- De los 58 productos comerciales analizados, sólo 6 de ellos (10%) cumplieron con los criterios de calidad cromatográfica establecidos (cualitativos y semicuantitativos). El 19 % de los productos sólo cumplió el criterio cualitativo y el restante 71 % no cumplió ninguno de los dos criterios.

BIBLIOGRAFÍA

Adame, M. J., Adame, M.H. **Plantas curativas del Noreste Mexicano**. 1ª edición. Editorial Castillo. (2000).

Agosta, W. C. **Medicines and drugs from plants**. *J. Chem. Educ.* (1997), 74 (7):857-860.

Berthold, H. K., Sudhop, M.D. y Bergmann K. **Effect of a garlic oil preparation on serum lipoproteins and cholesterol metabolism**. *Journal of American Medical Association*. (1998), 279:1900-1902.

Blumenthal, M., Busse, W., Goldberg, A. **The Complete German Commission E Monographs. Therapeutic Guide to Herbal Medicines**. 1ª edición. Ed American Botanical Council. United States of America, (1998).

Camag, página web: <http://www.camag.com>

Cañigueral, S., Vila, R. y Wichtl, M. **Plantas Medicinales y Drogas Vegetales para Infusión y Tisana**. 1ª edición. Ed. OEMF internacional srl. Barcelona. (1998).

Concepción, N. **Uso racional de las plantas medicinales**. Pharmaceutical Care España. (2000), (2):9-19.

Díaz, J. L. **Uso de las plantas medicinales de México**. Monografías científicas II. Instituto mexicano para el estudio de las plantas medicinales. A. C. (1976).

Eisenberg, D. M. **Trends in alternative medicine use in the United States, 1990-1997: results of a follow-up national survey**. *Journal of the American Medical Association*. (1998). 280 (18):1569-75.

Encarta biblioteca de consulta en línea 2003.

Eloff, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants. *J Ethnopharmacol.* (1998). 60: 1-8.

Forés, R. Atlas de las Plantas Medicinales y Curativas. La salud a través de las plantas. Editorial Cultural. España, (1997). pp. 8-11.

Kleijnen, J. A review of the evidence from human experiments with emphasis on commercially available preparations. *British Journal of Clinical Pharmacology.* (1989), (28):535-544.

Nigenda, G. La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. *Salud Pública. México*, 2001; (43):41-51.

Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005. Ginebra, (2002).

Organización Mundial de la Salud. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Geneva, (2000).

Organización Mundial de la Salud. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva. (1998), 1-114.

Organización Mundial de la Salud. Regulatory Situation of Herbal Medicines. A Worldwide Review. Ginebra. (1998), (280):1569-1576.

Organización Mundial de la Salud. Safety of Herbal Medicinal Products. (2002).

Orozco, M. Elección de las condiciones más adecuadas para la obtención de extractos de plantas superiores con actividad sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente. Tesis de Maestría, U.A.N.L. (2004).

Orid, V. **Técnicas Instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud**. Edición Mexicana. Colegio Nacional de Química Farmacéutica Biólogos. México, (2000), pp. 519, 567-578.

Rojas, G., Lévaro, J., Tortoriello, J., Navarro, V. **Antimicrobial evaluation of certain plants used in mexican traditional medicine for the treatment of respiratory diseases**. *J. Ethnopharmacol.* (2001), 74 (1): 97-101.

Salazar, R., Ramírez, D., Waksman, N., Rivas, V., Caballero, A., Salazar, M., Garza, A., Cenicerros, L., Alcorta, E. **El consumo de productos herbolarios en Nuevo León**. *Revista Medicina Universitaria.* (2004), 6 (25): 248-254.

Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. **Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos**. México, (2001).

Wagner, H. **Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas**. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York. Printed in Germany. (1984).

Wren, R. C. **Nueva enciclopedia de medicina herbolaria y propiedades botánicas**. Editorial Grijalbo S.A de C.V. (1994).

Zollman C., Vickers AJ. **ABC of Complementary Medicine**. BMJ Books Londres, 2000 (reimpreso de una serie de artículos publicados en el British Medical Journal durante 1999).

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Q.B.P. Lucía Ceniceros Almaguer

**Candidata para el Grado de Maestría en Ciencias con
Especialidad en Química Biomédica**

**Título de la Tesis: ANÁLISIS DE PRODUCTOS HERBALES POR CCF
COMO PARTE DEL PROCESO DE CONTROL DE
CALIDAD**

Biografía:

Datos Personales: Lugar y Fecha de Nacimiento: 31 de Diciembre de 1970 en Monterrey, Nuevo León, hija de Pascual Ceniceros Hernández y Ma. Isabel Almaguer Guanajuato.

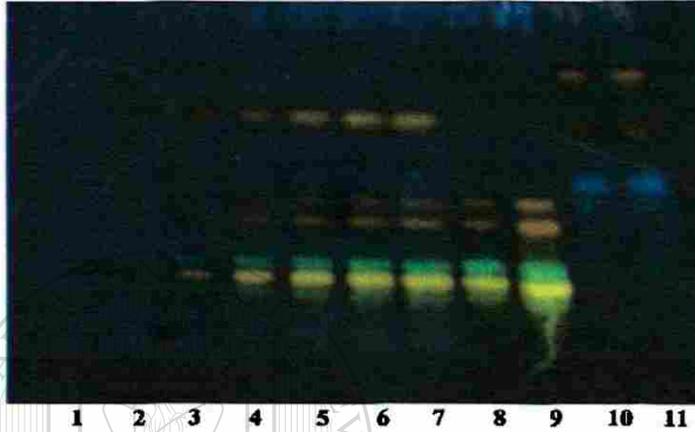
Escolaridad: Egresada de la Facultad de Biología de la U.A.N.L. con título de Químico Bacteriólogo Parasitólogo en Diciembre del 2001.

Experiencia Profesional: Personal profesional no docente en el Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. desde Junio de 2002. Maestro de Laboratorio de la materia de Análisis de Alimentos y Químico Analista en el laboratorio de Servicio del Departamento de Química Analítica de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. (LASEQA). Técnico Laboratorista en el Departamento de Farmacología y Toxicología de la Facultad de Medicina de la U.A.N.L. desde 18 de Agosto de 1989. Maestro en la carrera de Técnico Laboratorista Clínico en la Preparatoria Técnica Médica de la U.A.N.L. en Agosto de 1988-1989.

Anexo 1

Evaluación de la calidad cromatográfica en productos comerciales. Cromatogramas obtenidos.

Cromatograma 1 Castaño de Indias



Carriles	Extracto estandarizado de Castaño de Indias
1-7	
1-	0.015 mg
2-	0.030 mg
3-	0.075 mg
4-	0.150 mg
5-	0.225 mg
6-	0.300 mg
7-	0.375 mg
Carriles	Extractos de productos adquiridos
8-11	
8-	0.300 mg Producto 1a1
9-	0.375 mg Producto 1a1
10-	0.300 mg Producto 1a2
11-	0.375 mg Producto 1a2

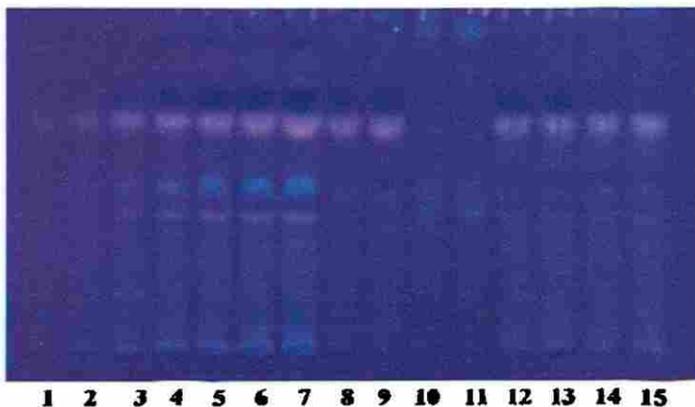
Cromatograma 2 Damiana



Carriles	Extracto estandarizado de Damiana
1-7	
1-	0.015 mg
2-	0.030 mg
3-	0.075 mg
4-	0.150 mg
5-	0.225 mg
6-	0.300 mg
7-	0.375 mg
Carriles	Extractos de productos adquiridos
8-15	
8-	0.300 mg Producto 2a1
9-	0.375 mg Producto 2a1
10-	0.300 mg Producto 2a2
11-	0.375 mg Producto 2a2
12-	0.300 mg Producto 2b1*
13-	0.375 mg Producto 2b1*
14-	0.300 mg Producto 2b2*
15-	0.375 mg Producto 2b2*

*Comprimidos de Damiana: Marca Anítrac

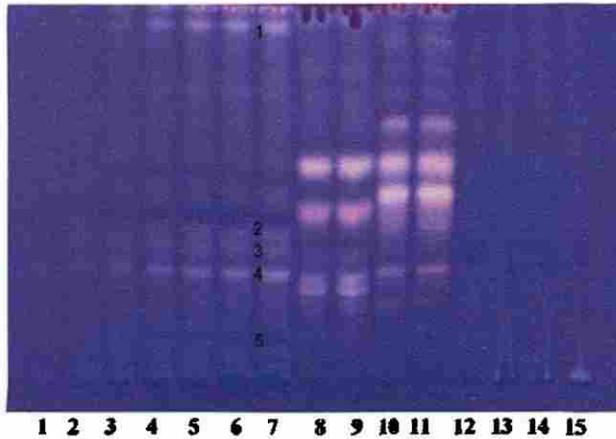
Cromatograma 3. Manzanilla



Carriles	Extracto estandarizado de Manzanilla
1-7	
1-	0.015 mg
2-	0.030 mg
3-	0.075 mg
4-	0.150 mg
5-	0.225 mg
6-	0.300 mg
7-	0.375 mg
Carriles	Extractos de productos adquiridos
8-15	
8-	0.300 mg Producto 3a1
9-	0.375 mg Producto 3a1
10-	0.300 mg Producto 3a2
11-	0.375 mg Producto 3a2
12-	0.300 mg Producto 3b1*
13-	0.375 mg Producto 3b1*
14-	0.300 mg Producto 3b2*
15-	0.375 mg Producto 3b2*

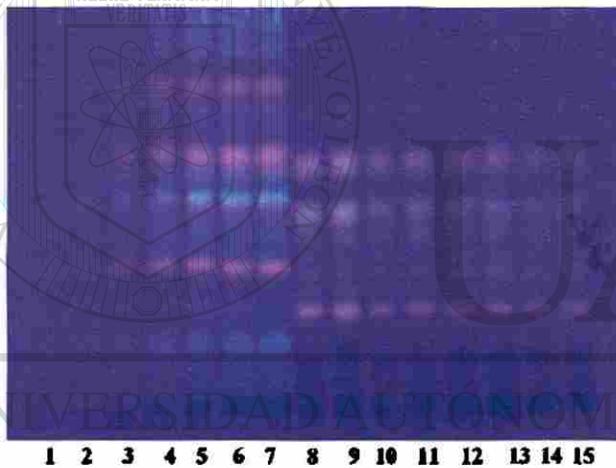
*Té de Manzanilla. Marca Malabar.

Cromatograma 4. Pasiflora



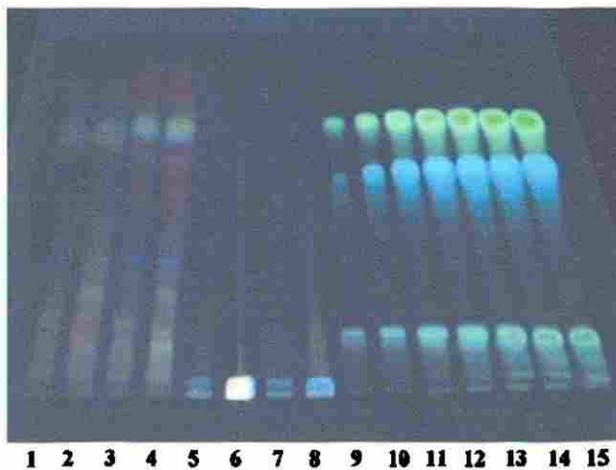
Carriles	
1-7	Extracto estandarizado de Pasiflora
1-	0.015 mg
2-	0.030 mg
3-	0.075 mg
4-	0.150 mg
5-	0.225 mg
6-	0.300 mg
7-	0.375 mg
8-15	Extractos de productos adquiridos
8-	0.300 mg Producto 4a1
9-	0.375 mg Producto 4a1
10-	0.300 mg Producto 4a2
11-	0.375 mg Producto 4a2
12-	0.300 mg Producto 4b1*
13-	0.375 mg Producto 4b1*
14-	0.300 mg Producto 4b2*
15-	0.375 mg Producto 4b2*
* Pastillas, Pasaiflorina	

Cromatograma 5 Tila



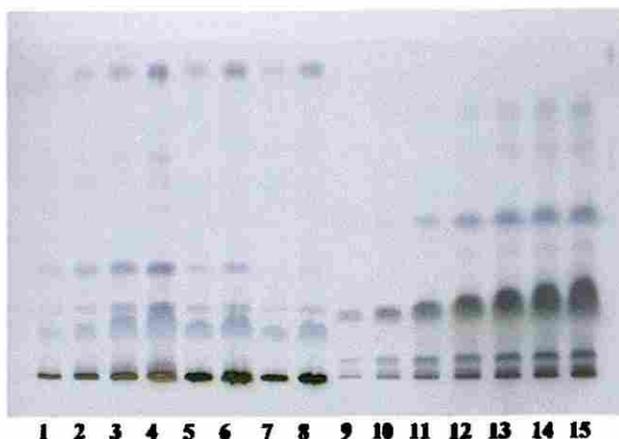
Carriles	
1-7	Extracto estandarizado de Tila
1-	0.015 mg
2-	0.030 mg
3-	0.075 mg
4-	0.150 mg
5-	0.225 mg
6-	0.300 mg
7-	0.375 mg
8-15	Extractos de productos adquiridos
8-	0.300 mg Producto 5a1
9-	0.375 mg Producto 5a1
10-	0.300 mg Producto 5a2
11-	0.375 mg Producto 5a2
12-	0.300 mg Producto 5b1*
13-	0.375 mg Producto 5b1*
14-	0.300 mg Producto 5b2*
15-	0.375 mg Producto 5b2*
* Té de Tila: Marca Lagg s.	

Cromatograma 6 Árnica



Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 6a1
2-	0.375 mg Producto 6a1
3-	0.300 mg Producto 6a2
4-	0.375 mg Producto 6a2
5-	0.300 mg Producto 6b1*
6-	0.375 mg Producto 6b1*
7-	0.300 mg Producto 6b2*
8-	0.375 mg Producto 6b2*
* Compuestos de Arnica: Marca Azteca	
9-15	Sustancias de referencia
Kaempferol, Ac. Cafeico, Ac. Chlorogénico .	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 7a Azahar



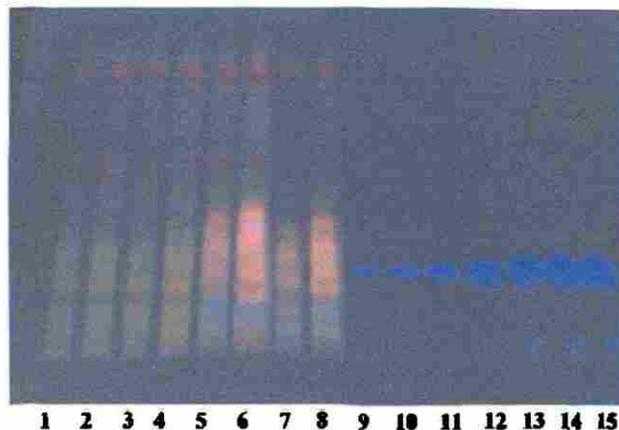
Carriles	
1-8 Extractos de productos adquiridos	
1-	0.300 mg Producto 7a1
2-	0.375 mg Producto 7a1
3-	0.300 mg Producto 7a2
4-	0.375 mg Producto 7a2
5-	0.300 mg Producto 7b1*
6-	0.375 mg Producto 7b1*
7-	0.300 mg Producto 7b2*
8-	0.375 mg Producto 7b2*
* Té de Azahar: Marca Lagg's	
9-15 Sustancia de referencia: Geraniol	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 7b Azahar



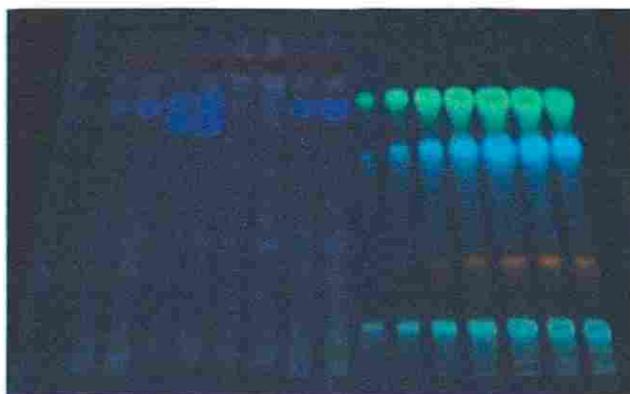
Carriles	
1-8 Extractos de productos adquiridos	
1	0.300 mg Producto 7a1
2	0.375 mg Producto 7a1
3	0.300 mg Producto 7a2
4	0.375 mg Producto 7a2
5	0.300 mg Producto 7b1*
6	0.375 mg Producto 7b1*
7	0.300 mg Producto 7b2*
8	0.375 mg Producto 7b2*
* Té de Azahar: Marca Lagg's	
9-15 Sustancia de referencia: Acetato de Etilo y Etilo	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 8 Boldo



Carriles	
1-8 Extractos de productos adquiridos	
1-	0.300 mg Producto 8a1
2-	0.375 mg Producto 8a1
3-	0.300 mg Producto 8a2
4-	0.375 mg Producto 8a2
5-	0.300 mg Producto 8b1*
6-	0.375 mg Producto 8b1*
7-	0.300 mg Producto 8b2*
8-	0.375 mg Producto 8b2*
* Cápsulas de Boldo: Marca Asteca	
9-15 Sustancia de referencia: Boldina	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 9 Cola de caballo



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

Carriles	Extractos de productos adquiridos
1-8	
1-	0.300 mg Producto 9a1
2-	0.375 mg Producto 9a1
3-	0.300 mg Producto 9a2
4-	0.375 mg Producto 9a2
5-	0.300 mg Producto 9b1*
6-	0.375 mg Producto 9b1*
7-	0.300 mg Producto 9b2*
8-	0.375 mg Producto 9b2*

* Té de Cola de Caballo: Marca Anilmar

Carriles	Sustancias de referencia. Kampferol, Ac. Chlorogénico
9-15	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 10. Eucalipto



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

Carriles	Extractos de productos adquiridos
1-8	
1-	0.300 mg Producto 10a1
2-	0.375 mg Producto 10a1
3-	0.300 mg Producto 10a2
4-	0.375 mg Producto 10a2
5-	0.300 mg Producto 10b1*
6-	0.375 mg Producto 10b1*
7-	0.300 mg Producto 10b2*
8-	0.375 mg Producto 10b2*

* Té de Eucalipto: Marca Malabar Floral

Carriles	Sustancia de referencia. Cineol
9-15	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 11 Ginkgo biloba



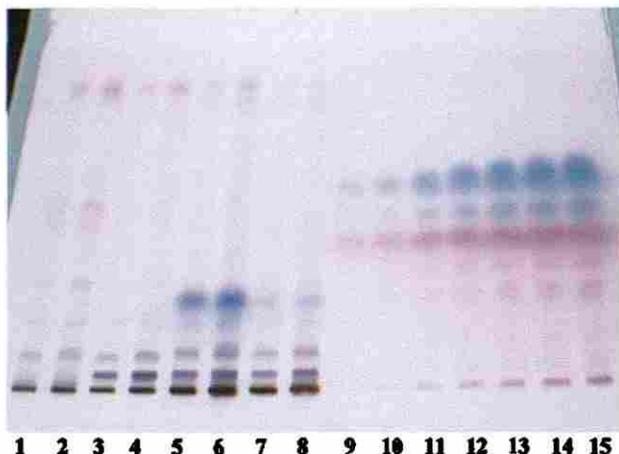
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

Carriles	Extractos de productos adquiridos
1-8	
1-	0.300 mg Producto 11a1
2-	0.375 mg Producto 11a1
3-	0.300 mg Producto 11a2
4-	0.375 mg Producto 11a2
5-	0.300 mg Producto 11b1*
6-	0.375 mg Producto 11b1*
7-	0.300 mg Producto 11b2*
8-	0.375 mg Producto 11b2*

* Pastillas de gel: Kobil: Marca gelcaps.

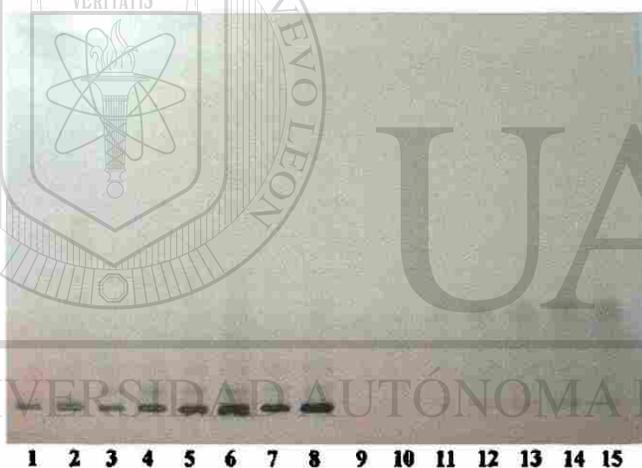
Carriles	Sustancia de referencia. Ginkgólido B
9-15	
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 12a- Menta



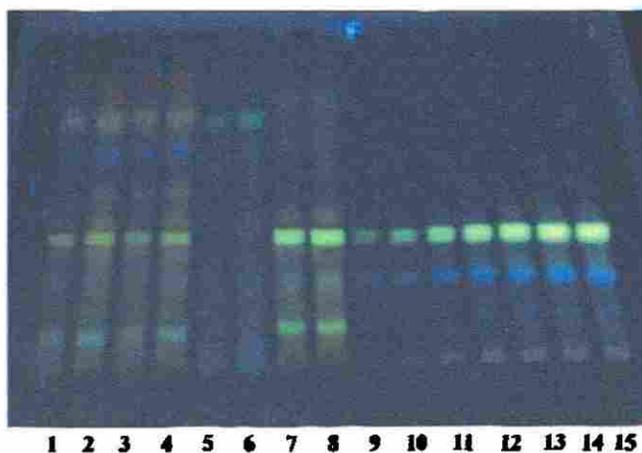
Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 12a1
2-	0.375 mg Producto 12a1
3-	0.300 mg Producto 12a2
4-	0.375 mg Producto 12a2
5-	0.300 mg Producto 12b1*
6-	0.375 mg Producto 12b1*
7-	0.300 mg Producto 12b2*
8-	0.375 mg Producto 12b2*
*Té de Menta: Gripe. Marca Malabar.	
9-15	Sustancias de referencia, Cineol y Mentana
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 12b Menta



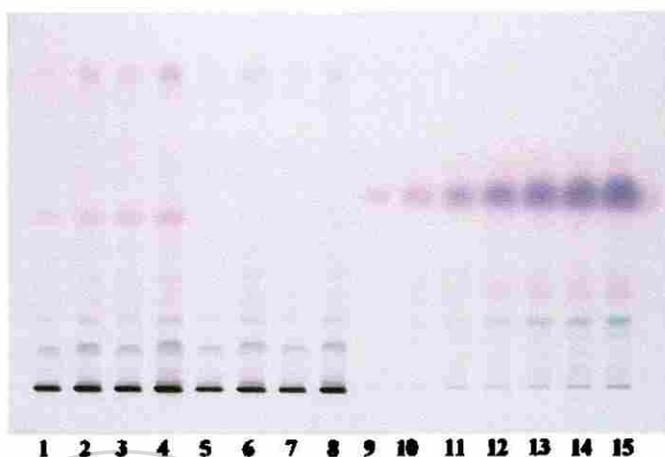
Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 12a1
2-	0.375 mg Producto 12a1
3-	0.300 mg Producto 12a2
4-	0.375 mg Producto 12a2
5-	0.300 mg Producto 12b1*
6-	0.375 mg Producto 12b1*
7-	0.300 mg Producto 12b2*
8-	0.375 mg Producto 12b2*
*Té de Menta: Gripe. Marca Malabar.	
9-15	Sustancia de referencia, Mentol
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma obtenido13.- Sábila



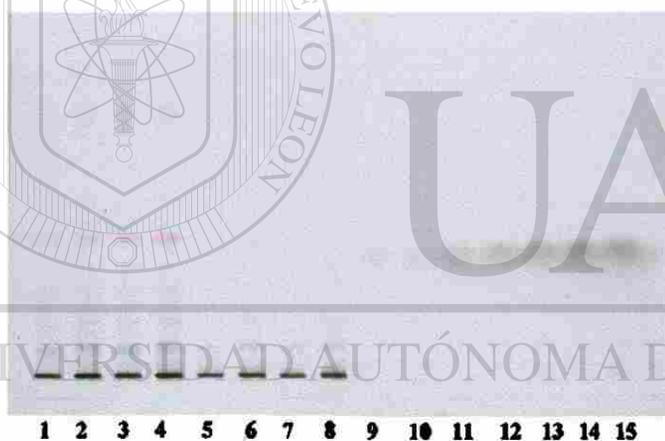
Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 13a1
2-	0.375 mg Producto 13a1
3-	0.300 mg Producto 13a2
4-	0.375 mg Producto 13a2
5-	0.300 mg Producto 13b1*
6-	0.375 mg Producto 13b1*
7-	0.300 mg Producto 13b2*
8-	0.375 mg Producto 13b2*
* Cápsulas de Sábila: Marca Malabar Floresal.	
9-15	Sustancia de referencia, Alfalfa
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 14a Salvia



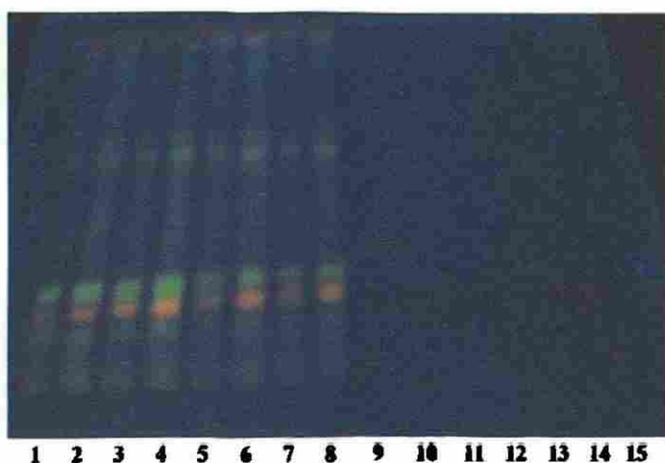
Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 14a1
2-	0.375 mg Producto 14a1
3-	0.300 mg Producto 14a2
4-	0.375 mg Producto 14a2
5-	0.300 mg Producto 14b1*
6-	0.375 mg Producto 14b1*
7-	0.300 mg Producto 14b2*
8-	0.375 mg Producto 14b2*
	* Té de Salvia: Marca Malabar
9-15	Sustancia de referencia: Tuyosa
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 14b Salvia

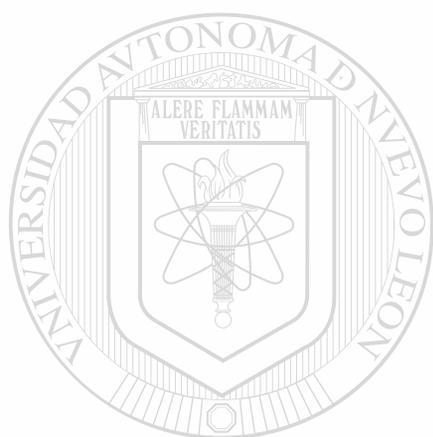


Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 14a1
2-	0.375 mg Producto 14a1
3-	0.300 mg Producto 14a2
4-	0.375 mg Producto 14a2
5-	0.300 mg Producto 14b1*
6-	0.375 mg Producto 14b1*
7-	0.300 mg Producto 14b2*
8-	0.375 mg Producto 14b2*
	* Té de Salvia: Marca Malabar
9-15	Sustancia de referencia: Cineol
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador

Cromatograma 15 Sen



Carriles	
1-8	Extractos de productos adquiridos
1-	0.300 mg Producto 15a1
2-	0.375 mg Producto 15a1
3-	0.300 mg Producto 15a2
4-	0.375 mg Producto 15a2
5-	0.300 mg Producto 15b1*
6-	0.375 mg Producto 15b1*
7-	0.300 mg Producto 15b2*
8-	0.375 mg Producto 15b2*
	* Hojas de Sen, Elicam: Marca firmosa
9-15	Sustancia de referencia: Senfido B
9-	0.001 mg de cada marcador
10-	0.002 mg de cada marcador
11-	0.005 mg de cada marcador
12-	0.010 mg de cada marcador
13-	0.015 mg de cada marcador
14-	0.020 mg de cada marcador
15-	0.025 mg de cada marcador



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



