

## Pruebas de identidad de *Amphiptherygium adstringens*

### 1.1 Objetivo general

Proporcionar al alumno el conocimiento práctico para la identificación de los principios bioactivos y/o compuestos marcadores de la droga cruda y preparados herbolarios obtenidos a partir de una planta de amplio uso en la medicina popular de México.

### 1.2 Objetivo particular

1. Establecer la identidad de los compuestos mayoritarios (ácidos masticadienónico y 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico) presentes en los extractos obtenidos por reflujo de la droga cruda y preparados herbolarios, mediante la comparación de sus propiedades cromatográficas con aquellas de muestras auténticas.

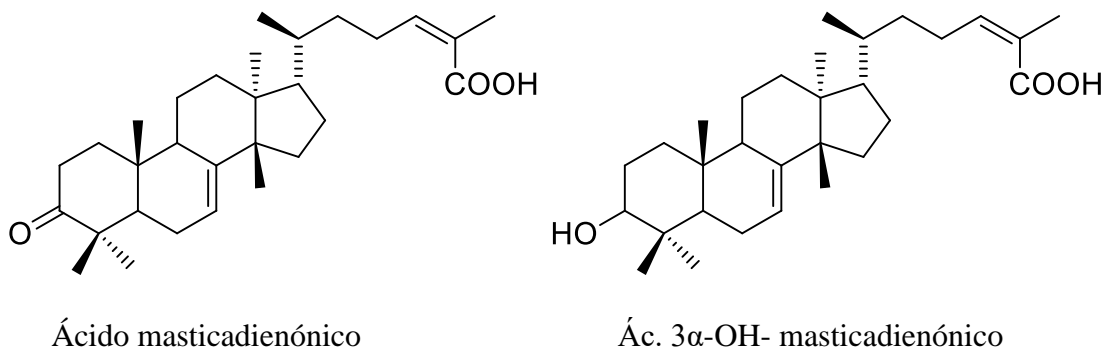
### 1.3 Antecedentes

El cuachalalate, *Amphiptherygium adstringens* Schiede ex Schlech. (Julianaceae), es un árbol de aproximadamente seis metros de altura; su corteza es gris marrón. Sus hojas están compuestas por cinco hojuelas sésiles, aserradas, con dienteillos redondeados, abovedadas, verde opaco en el anverso y verde grisáceo en el reverso. Sus frutos son nueces alargadas, abultadas, aladas de 2.5 a 5 cm de largo y verde pálido (**Figura 1**). La especie es originaria de la selva baja caducifolia de los estados de Michoacán, Guerrero, Puebla y Oaxaca y es utilizado ampliamente en las prácticas médicas populares de México y otras regiones del mundo, como desintoxicante sanguíneo por sus propiedades astringentes. La infusión de la corteza se utiliza como enjuague bucal para el tratamiento de úlceras bucales, dolor de muelas y estomatitis, y junto con el árnica y otras hierbas, es utilizada para curar la inflamación del estómago, gastritis crónica y úlcera gástrica. Finalmente, es bien conocido el uso de la corteza como agente antiinflamatorio, cicatrizante, analgésico e hipoglucemiante.

La corteza de cuachalalate está constituida principalmente por triterpenoides de tipo tirucalano; los más abundantes son el ácido masticadienónico y el ácido 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico (**Figura 2**). Estudios farmacológicos realizados *in vivo* han permitido establecer la actividad hipocolesterolemia, antitumoral, inhibitoria de las secreciones gástricas y antiinflamatoria del extracto de la planta y sus productos mayoritarios (Navarrete *et al.*, 1998; Olivera *et al.*, 1999).



**Figura 1.** *Amphiptherygium adstringens* Schiede ex Schlech. (Julianaceae).



**Figura 2.** Estructuras de los principales triterpenoides presentes en el cuachalalate.

## 1.4 Procedimiento experimental

### 1.4.1 Extracción y ensayo de identidad

Se pesan 50 g de material vegetal en un matraz bola de 500 mL y se adicionan 250 mL de hexano para someterlo a un proceso de reflujo durante 90 minutos. Al término de la extracción, el extracto resultante se deja enfriar, se filtra y se concentra a presión reducida hasta sequedad. Este mismo procedimiento se sigue para la preparación de los extractos orgánicos a partir de los preparados herbolarios objeto de análisis.

### 1.4.2 Análisis cromatográfico

Se realiza un análisis por cromatografía en capa delgada de los extractos de hexano obtenidos en el inciso 1.4.1. Como referencia se emplean los ácidos masticadienónico y 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico (**Figura 2**).

*Soporte:* Gel de sílice F254 Merck.

*Fase móvil:* CHCl<sub>3</sub>-MeOH (9:1).

*Preparación de la muestra:* Se disuelve 1 mg de la muestra en 0.5 mL de hexano.

*Preparación de la muestra de referencia:* Se disuelve 1 mg de los ácidos masticadienónico y 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico por separado, en 0.5 mL de CHCl<sub>3</sub>.

*Revelador:* Solución cromógena de sulfato cérico amoniacal.

*Procedimiento:* (1) Se aplica sobre la superficie de la placa las muestras a analizar y referencias de los ácidos masticadienónico y 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico en forma de puntos con la ayuda de un capilar, en carriles independientes y aproximadamente a un cm del extremo inferior del cromatofolio. Deberá existir una separación de por lo menos 15 mm entre cada aplicación. (2) Se realiza el proceso de elución cromatográfica con la fase móvil indicada. Al término, se seca la cromatoplaque bajo una corriente de aire y se examina bajo una lámpara de luz UV a 254 y 365 nm. Se marcan en el cromatograma las zonas de fluorescencia. (3) Enseguida, se rocía la cromatoplaque con la solución reveladora y se calienta hasta la aparición de manchas coloridas. Las bandas correspondientes a las muestras y referencias deben de coincidir en su posición (Rf) y coloración.

## 1.5 Resultados

**1.5.1** Analice los resultados del cromatograma obtenido a lo largo del procedimiento experimental. Calcule los factores de retención (Rf) de los ácidos masticadienónico y 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico. Compare los valores observados para las muestras de referencia e indique si los preparados comerciales analizados contienen en su formulación corteza de cuachalalate como ingrediente activo.

## 1.6 Bibliografía

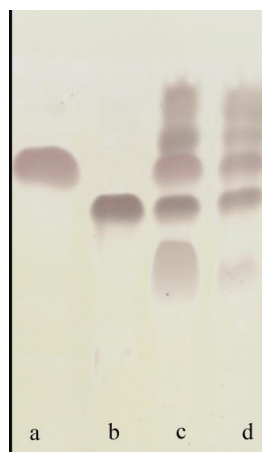
*Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM)*. 2da Edición, Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, **2013**.

Argueta, A. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana I*. 1ra Edición, Instituto Nacional Indigenista, México D.F., **1994**, pp 542–543.

Navarrete, A.; Martínez, U.; Reyes, B. *Phytother. Res.* **1998**, *12*, 1–4.

Olivera, G.; Soto, M.; Martínez, M. *J. Ethnopharmacol.* **1999**, *68*, 109–113.

Rivero Cruz, I., Pereda Miranda, R., Figueroa Saldívar M. A., Madariaga Mazón, A., Aguilar Laurents, M. I., Fragoso Serrano, M., Mata Essayag, R. *Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia*. 1ª. Ed. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. **2014**.



**Figura 2.** Cromatograma en capa delgada de los extractos de hexano de la droga cruda y de los preparados herbolarios del cuachalalate: **a)** referencia del ácido masticadienónico; **b)** referencia del ácido 3 $\alpha$ -hidroxi masticadienónico; **c)** extracto de hexano de la corteza; **d)** extracto de hexano del preparado herbolario.

## 1.7 Material y equipo

Número de sesiones: 1

### Sesión 1

#### Material

1	rotaevaporador	1 embudo de filtración rápida
2	matraces bola de 500 mL	placas cromatográficas de aluminio de 20 × 20 cm
2	refrigerantes rectos con mangueras	bomba de aspersión
1	parrilla de calentamiento	aspersor
2	anillos metálicos	lámpara de luz UV
4	pinzas de tres dedos con nuez	capilares
1	probeta graduada de 100 mL	algodón
2	vasos de precipitados de 250 mL	papel aluminio
1	vidrio de reloj	piedras de ebullición
3	pipetas Pasteur con bulbo	material vegetal (corteza cuachalalate)
1	espátula cromo-níquel	preparados fitofarmacéuticos (corteza cuachalalate)

#### Reactivos

Cloroformo (CHCl<sub>3</sub>)

Hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>)

Metanol anhidro (MeOH)

Sulfato cérico amoniacal (NH<sub>4</sub>)<sub>4</sub>Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O