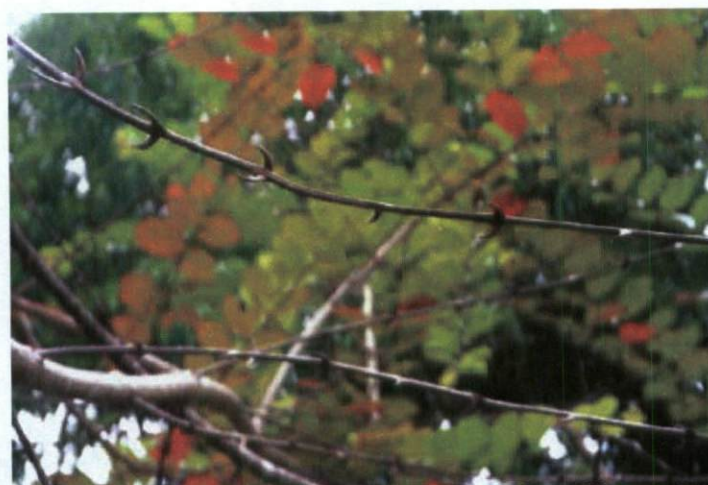




UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE NICARAGUA. UNAN LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
ESCUELA DE FARMACIA

Tesis para optar al título de Licenciado en Química y  
Farmacia



Estudio comparativo de  
*Uncaria tomentosa* (Willd.)  
nicaragüense tomando  
como referencia *Uncaria  
tomentosa* (Willd.) peruana

Autores:  
Diana Aráuz Tórrez  
Edwin Moisés Castillo Martínez  
César Benito Martínez Huete

Tutor:  
Dr. Francisco Beteta G.

Asesora:  
Lic. María Rosa Herrera



León, Nicaragua; Marzo 2002



181. 171

C-1



W  
42  
A663e  
2008

SCDS  
90

## Opinión del Catedrático Guía

El uso cada vez mayor de plantas que curan, ha llamado la atención de los científicos y han comenzado a darle una mayor importancia para conocer su síntesis, su metabolismo, sus precursores y metabolitos secundarios y así dar origen a moléculas nuevas que van a paliar las enfermedades.

Una gran cantidad de plantas están siendo utilizadas para enfermedades que no pueden ser curadas por la medicina convencional. Por ello se está buscando aún la actividad apropiada.

Este trabajo viene a reforzar el proceso de investigación en lo que respecta al estudio comparativo del comportamiento de las plantas, como son la *Uncaria tomentosa* (Willd.) conocida en el Perú como Uña de Gato y la *Uncaria tomentosa* (Willd.) conocida en Nicaragua como Rangayo.

Se ha apreciado mucho el esfuerzo de estos jóvenes que tuvieron alto espíritu investigativo, para ellos ha sido una buena experienci, además de acumular más conocimientos.

Dr. Francisco Beteta González  
Jefe del Programa de Control de  
Calidad de Medicamentos

## AGRADECIMIENTO

Con la certeza de ser siempre mejores y con la convicción de la gracia de Dios en nuestros corazones, deseamos mostrar con eterna sinceridad nuestro agradecimiento a:

Lic. María Rosa Herrera, quien con esfuerzo, sacrificio y perseverancia nos ayudó incondicionalmente para que seamos cada día mejores.

A nuestro tutor Dr. Francisco Beteta González, por brindarnos la oportunidad de realizar lo que ahora concluimos, por la confianza depositada en nosotros, entusiasmándonos para que nuestro trabajo fuese, no solamente un trabajo monográfico más, sino un aporte científico para las futuras generaciones.

Lic. Yader Francisco Sánchez, por ser parte de nuestra formación como profesionales, demostrando ser, además de un Docente, un verdadero amigo.

En fin, a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron para la realización de este trabajo.

## DEDICATORIA

### A Dios

Porque con su luz y amor ha estado conmigo en cada momento de mi vida, me ha dado el conocimiento de mi propia existencia y ha sido el único y verdadero autor de este trabajo, el cual ha significado sacrificios y dedicación.

### A la Virgen María

Quien me llenó de bendiciones y me sostuvo en los momentos más difíciles a lo largo de mis estudios.

### A mi querida Madre

Por ser parte de mi inspiración, apoyo fundamental para poder cumplir mis metas. Gracias por haberme dado los mejores consejos y el más sincero amor.

### A la memoria de mi Padre

Quien llenó de ternura mi niñez y cultivó en mí sus más grandes valores.

### A mis apreciados hermanos

Por ser el complemento perfecto para mi formación, por su amor, comprensión y apoyo económico.

Gracias a todas aquellas personas que contribuyeron de una u otra manera en la culminación de una de mis metas, en especial a la MSc. Azucena Montenegro.

Diana Aráuz Tórrez

## DEDICATORIA

A Dios Padre, Dios Hijo y Dios Espíritu Santo, porque me ha consolado, me ha dado fuerzas cuando fui débil, por darme siempre su protección ante cualquier adversidad, por estar siempre conmigo en las tristezas y alegrías, por ser el sendero de mi caminar.

A mis padres: Martha Martínez y Pedro Castillo, porque sus sabios consejos fueron corona a mi cabeza y por el gran esfuerzo realizado para que yo fuera algo más en la vida.

A mis hermanos: Rodrigo y Claudia Castillo Martínez, ya que fueron símbolo de inspiración en mi desenvolvimiento profesional.

Meu caro tio: José de la Cruz Martínez por ser um bom tio e um bom amigo. Agradeço muito a sua amizade.

“Fíate de Jehová de todo corazón y no te apoyes en tu propia prudencia.  
Reconócelo en todos tus caminos y él enderezará tus veredas”.

*Proverbios 3-6,7*

Edwin Moisés Castillo Martínez

## DEDICATORIA

A ti Padre todopoderoso, digno de alabar, ser supremo que estás sobre todas las cosas. Gracias te doy por la sabiduría que me brindastes, por ser mi inspiración para poder terminar mis estudios.

A mi Madre Elisa Huete, a esa mujer que con mucho sacrificio contribuyó a que tuviera esta formación. Creo que no hay una persona como tú, lo único que me queda es pedir a Dios derrame todas sus bendiciones sobre tí.

A mi Padrino Felix Pedro Centeno Soto, (qepd) por ser como un padre, gracias por habernos ayudado a mí y a mis hermanos en los momentos más difíciles de nuestras vidas. Ojalá que Dios te tenga en un lugar digno.

A mi abuelita Carmen Huete, por ser una persona que me ha aconsejado mucho, gracias viejita.

A mis hermanos Roberto, Tania y en especial a Damaris Martínez, por haber compartido todos esos momentos hermosos que influyeron en mi formación, gracias por su apoyo.

A todos mis amigos de estudios por todos los ratos felices que pasamos.

César Benito Martínez Huete

## Índice general

TEMA .....	2
I- RESUMEN .....	3
II- INTRODUCCIÓN .....	4
III- OBJETIVOS .....	5
1-General .....	5
2-Específicos .....	5
IV- MARCO TEÓRICO .....	6
1- Aspecto general .....	6
2- Clasificación Taxonómica .....	8
3- Manejo de la Uña de Gato .....	9
4- Propagación .....	11
5- Conservación .....	14
6- Propiedades de la <i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.) .....	14
7- Contenido Químico .....	15
8- Indicações .....	15
9- Contraindicaciones .....	16
10- Efectos secundarios .....	16
11- Aplicaciones y presentación de la Uña de Gato .....	19
12- Formas de preparación .....	20
13- Aprovechamiento y comercialización .....	21
V- METODOS Y MATERIALES .....	24
1- Cromatografía de Capa Fina .....	25
2- Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) .....	27
3- Valoración en Medio No Acuoso. ....	28
VI- REACTIVOS Y EQUIPOS .....	32
1- Reactivos .....	32
2- Equipos .....	36
VII- PROCEDIMIENTO ANALITICO .....	37
1- Identificación de diversos componentes por cromatografía en capa fina .....	37
2- Determinación de alcaloides totales por el método de HPLC .....	37
3- Valoración en Medio No Acuoso .....	37
4- Reacciones colorimétricas .....	38
VIII- RESULTADOS .....	40
1- Cromatografía en capa fina .....	40
2- Cromatografía líquida de alta presión (HPLC) .....	41
3- Volumetría en medio no acuoso .....	42
IX- ANALISIS DE RESULTADOS .....	44
X- CONCLUSION .....	45
XI- RECOMENDACIONES .....	46
XII- BIBLIOGRAFIA .....	47
ANEXOS .....	48

## TEMA

Estudio comparativo de *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense tomando como referencia *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana.

## I- RESUMEN

En los países en vías de desarrollo como el nuestro, la fitoterapia es una alternativa accesible, ventajosa y natural, tanto para la prevención de enfermedades como para la terapia de diversas patologías, además posee menores riesgos de toxicidad. De esta manera daremos una alternativa y un aporte más a la investigación de plantas medicinales en la medicina moderna.

La confirmación científica de los componentes activos de la *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana ha dado evidencias de que esta planta posee propiedades curativas de tipo inmunoestimulante, antiinflamatorio, antioxidante, antimutágeno y antiviral.

El presente estudio es de tipo experimental, realizando una comparación de *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense, conocida en nuestro medio como Rangayo o Uña de Gato, tomando como referencia *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana.

La corteza de Uña de Gato peruana fue suministrada por el Instituto de Fitoterapia Americano, a través de la Licenciada María Rosa Herrera y la corteza de Uña de Gato nicaragüense por el señor Marcelino Aguirre Fonseca, originario de la comarca Santa Isabel, Municipio de San Carlos, Departamenteo de Río San Juan, la cual fue identificada taxonómicamente en el herbario de la UNAN-León por el Doctor Ricardo Rueda, en Marzo 2001.

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Control de Calidad del Departamento de Análisis de Drogas, Medicamentos y Tóxicos, en la Facultad de Ciencias Químicas de la UNAN - León.

Para la identificación y cuantificación se utilizaron métodos instrumentales como CCF (Cromatografía en Capa Fina), HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Presión), Volumetría en medio no acuoso y Reacciones Colorimétricas.

Los resultados encontrados demuestran que las dos plantas guardan bastantes semejanzas, apeandose a la realidad, de tal manera la especie Rangayo encontrada en Nicaragua contiene los mismos componentes activos que la muestra peruana.

## II- INTRODUCCIÓN

La *Uncaria tomentosa* (Willd.), Rangayo o Uña de Gato, era una planta desconocida como medicinal, no fue hasta 1974 - 1975 que Phillipson y Hemingway en Inglaterra examinaron las muestras de hojas y tallos de *Uncaria tomentosa* (Willd.) dentro de un plan de screening en cromatografía de capa delgada, identificando alcaloides.

1985 fue un año muy importante en el estudio de *Uncaria tomentosa* (Willd.), pues se presentaron en Europa interesantes investigaciones acerca de sus características químicas y comportamiento farmacológico.

La confirmación científica de los componentes activos de la *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana ha dado evidencias de que esta planta posee propiedades curativas de tipo inmunoestimulante, antiinflamatorio, antioxidante, antimutágeno y antiviral.

Debido a estas razones hemos orientado nuestro estudio a realizar una comparación de la *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense con respecto a la *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana, con el fin de comprobar la existencia de principios activos como alcaloides.

### III- OBJETIVOS

#### 1- General

Realizar un estudio comparativo de *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense tomando como referencia *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana, usando métodos analíticos para su identificación y cuantificación.

#### 2- Específicos

- 2.1 Describir taxonómicamente *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense.
- 2.2 Comparar la muestra en estudio con la muestra de referencia, mediante Cromatografía en Capa Fina y Cromatografía Líquida de Alta Presión.
- 2.3 Cuantificar alcaloides totales por Volumetría en medio no acuoso.
- 2.4 Determinar mediante pruebas de coloración la presencia de alcaloides, saponinas, terpenos, flavonoides y esteroides.
- 2.5 Generar información de laboratorio que permita tener un conocimiento más amplio de la *Uncaria tomentosa* (Willd.) existente en nuestro país, capaz de entrar al mercado nacional e internacional.

## IV- MARCO TEÓRICO

### 1- Aspecto general

La Uña de Gato o Rangayo es un bejuco perenne formado por entrenudos de 7 a 8 cm de largo, en donde emite o segrega un par de espinas similares a la uña del gato. Esta planta se ubica solamente en el trópico húmedo lluvioso cerca de las zonas bajas, muy húmedas, de suelos fértiles y asociada con arboles de los cuales necesita para subir y establecerse.

Se le puede identificar sobre los *charrales*, pues sobresale como una palma abierta, mostrando a primera vista el color de sus hojas senescentes y las espinas aguzadas en forma de garras.

#### La raíz

La raíz es leñosa y gran parte de ella no profundiza.

#### El tallo

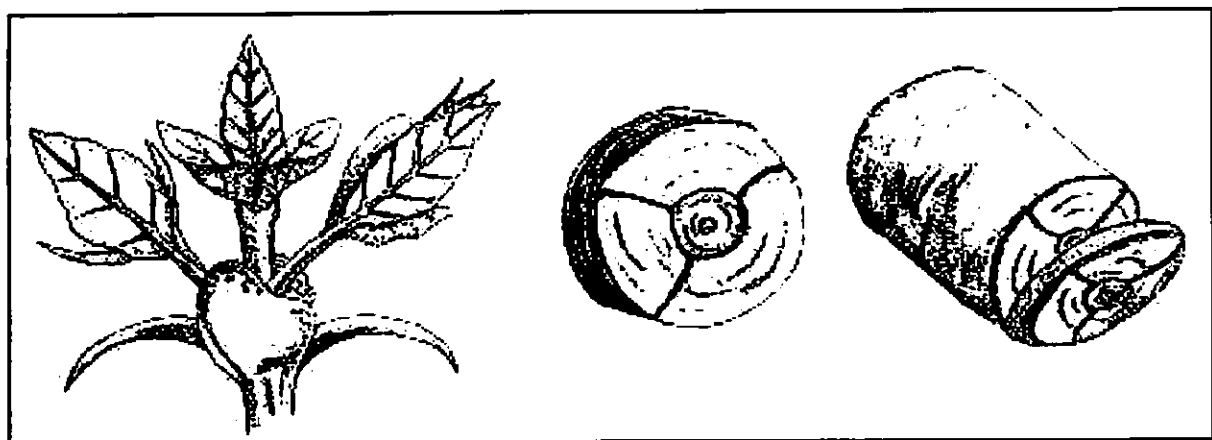
El tallo también es leñoso y se encuentra sobre la superficie del suelo. Puede alcanzar de 20 a 40 centímetros de diámetro.

#### Corteza

Es de color marrón, fisurado. La parte interna fibrosa con un polvo característico de color marrón - rojizo cuando está seca.

#### Secreción

Presenta secreciones acuosas de consistencia fluida y sabor ligeramente amargo.

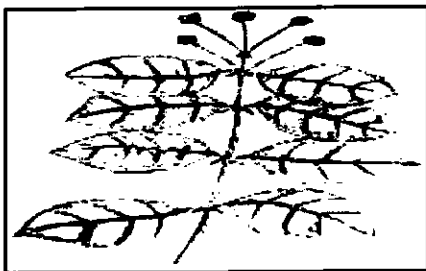
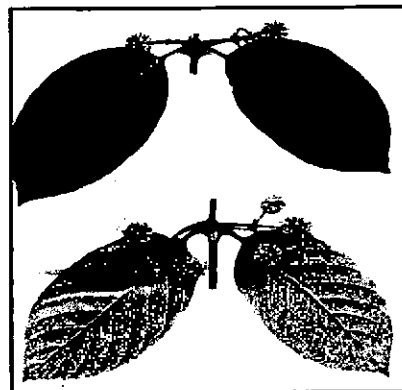


### Ramas terminales

Las ramas terminales presentan sección cuadrangular, con médula interior color verde - amarillento, con pelos y hojitas en forma de lanza. Las ramas más adultas tienen un par de espinas curvo - rectas, no retorcidas y puntiagudas, de consistencia leñosa.

### Hojas

Las hojas son simples y opuestas, por lo general orientadas en un mismo plano; borde en general entero; la punta aguda, raramente se prolonga; base redonda y/o en forma de corazón; consistencia membranosa; de color verde opaco por el revés y verde pálido por el envés, en esta zona se observa la presencia de pequeñísimos y finos vellos, llamados *tomentos*, que se disponen densamente en toda su extensión y se cruzan o se entremezclan entre si, otras veces aparecen sólo en las venas o nervaduras de abajo. De esta característica proviene el nombre científico de la especie: *Uncaria tomentosa* (Willd.). Presenta unas hojitas muy pequeñas en forma de delta entre los tallitos que sostienen a la hoja (pecíolos), llamadas estípulas.



### Inflorescencia

Las flores se presentan en inflorescencias que tienen forma de cabezuela, cada cabezuela presenta un diámetro de 1.5 a 2.8 centímetros. La inflorescencia puede llegar a medir desde 7 hasta 18 centímetros de largo.

### Flor

Las flores son pequeñas, hermafroditas, en forma de tubo, de color cremoso o amarillo, con pelos pequeños densamente poblados. Presenta una estructura tubular que se prolonga desde la base de la flor, donde coinciden el cáliz y la corola. Los estambres se encuentran soldados en la corola.



### Fruto

El fruto es seco formado por 2 valvas, dehiscente, con muchas semillas, generalmente de forma elipsoide, de 5 a 9 milímetros de longitud y 2 a 6 milímetros de diámetro, con el cáliz persistente y acrescente. En las valvas secas se puede observar los pelos persistentes de color blanco. Su fructificación en nuestra zona se realiza durante los meses de Enero y Abril.

### Semillas

Las semillas son fusiformes, con alas de consistencia membranosa, un extremo es lineal y el otro profundamente partido, miden de 2.5 a 4 milímetros de longitud y de 0.5 a 0.8 milímetros de ancho.

## 2- Clasificación Taxonómica

Nombre científico:	<i>Uncaria tomentosa</i> (Willd.).
Nombres comunes:	Nicaragua: Uña de Gato, Rangayo. Perú: Uña de Gato, tua juncara (Chocó) bejuco de agua. Ecuador: Deixa, garabato, garabato amarillo, garabato colorado, garra gavián, jipotatsa, kung kukjaqui, micho-mentis, paotati-mosha, samento, toroñ, tsachik, uncucha, unganangi, Uña de Gato, uña de gato de altura. Panamá: Rangayo (Valle de Changuinola) Colombia: Uña de Gato. Bolivia: Uña de Gato.
Familia:	Rubiáceas
División:	Angiospermas.
Clase:	Dicotiledóneas.
Subclase:	Sympetalae.
Orden:	Gentianales.
Tipo:	Trepador.
Altura:	Hasta de 20 metros.
Nº de especies:	60
Parte utilizada:	La corteza principalmente y en menor medida la raíz y las hojas.

### Hábitat natural

El Rangayo por ser una liana (bejuco) del bosque húmedo tropical, prefiere hábitat tales como: ribera de ríos, suelos limosos, francos y fértiles con abundante materia orgánica, bien drenado y con una pendiente mínima que provoque la escorrentía.

La Uña de Gato se encuentra en forma natural en el bosque húmedo tropical del continente americano como en: Panamá (Bocas del Toro, valle del río Gatún), Nicaragua, Guyanas, Trinidad, Surinam, Costa Rica, Belice, Guatemala, Honduras, Venezuela, Colombia (departamentos de Chocó y Amazonas), Ecuador y en Perú (Loreto, desembocadura del río Santiago; San Martín: Mariscal Cáceres; Junín: Chanchamayo, La Merced; Pasto: Oxapampa, Pozuzo; Madre de Dios: Manú,

Tahuamanú; Cusco: La Convención, Paucartambo).

Es una liana pionera, el simple contacto con el suelo provoca enraizamientos rápidos y es prolífica en número de hijos enraizados y rebrotados.

En Nicaragua esta especie la podemos encontrar en ecosistemas ribereños y lacustrinos, en bosques primarios y secundarios que van desde 0 a 600 metros sobre el nivel del mar.

Es típica de bosques vírgenes o ligeramente intervenidos, donde se encuentran árboles muy desarrollados y con grandes diámetros, posiblemente muy viejos, donde sólo hubo extracción selectiva de sus especies maderables comerciales, muerte natural u otras causas, que únicamente permiten una escasa entrada de rayos solares hasta la superficie del suelo, circunstancia que es aprovechada por las semillas para germinar, siendo esta planta heliófila durable.

#### Especies vegetales que conviven con la Uña de Gato

La Uña de Gato naturalmente se encuentra asociada con los siguientes árboles: Huayruro (*Ormosia sp.*), marupá (*Simarouba amara*), lupuna (*Chorisia sp.*), shihuahuaco (*Dypteris alata*), tacho (*Terminalia oblonga*), cumala amarilla (*Iryanthera sp.*), banderilla roja (*Jacaranda sp.*), cedro (*Cedrela odorata*), caoba (*Swietenia macrophylla*), roble amarillo (*Terminalia tarapotensis*), tomillo (*Cedrelinga cateniformis*), capirona (*Calycophyllum spruceanum*), balata (*Pouteria sp.*) y zapotillo blanco (*Quararibea sp.*), entre las más importantes.

### 3- Manejo de la Uña de Gato

El manejo de la Uña de Gato depende del trabajo en la regeneración natural del bosque o con plántones propagados en viveros.

#### 3.1- Manejo en bosques

Es posible trabajar con la regeneración natural de la Uña de Gato, se puede inducir y hacer germinar un aceptable número de plantas si se aprovecha eficientemente la capacidad dehisciente de los frutos y la facilidad del transporte de las semillas por el viento. Cuando la planta madre entra en fase de dehiscencia de los frutos, se debe realizar la limpieza periférica y circular a 20 metros del pie del bejuco o árbol sostén.

En dicha área se abren fajas de 1 metro de ancho por 5 metros de largo, cada faja separada por 4 metros una de la otra a manera de satélite. Todo rastrojo verde producto del roce y tumba, se

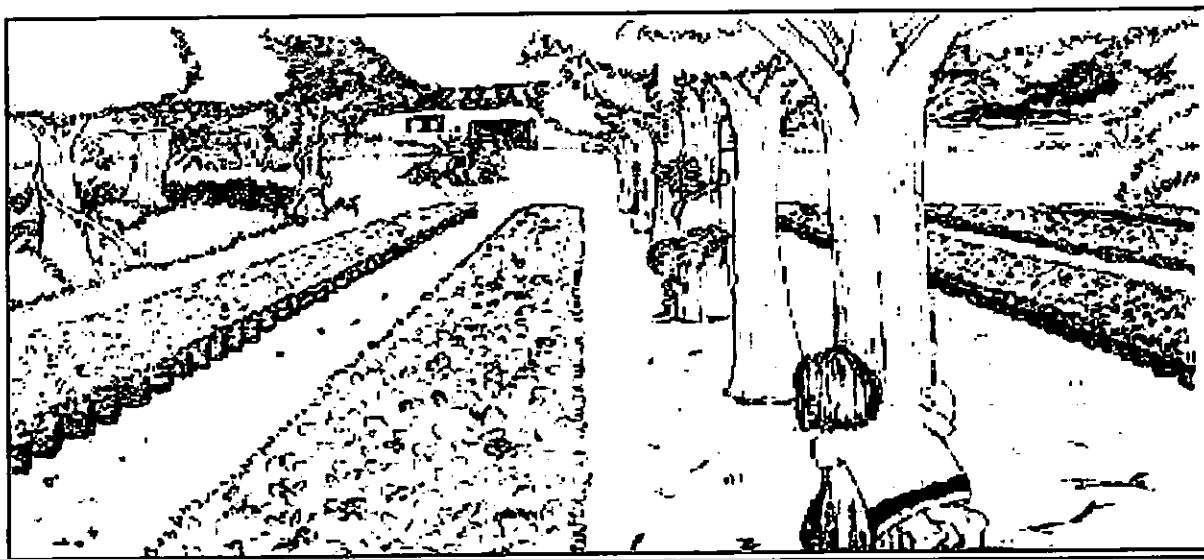
retira de las áreas abiertas dejando únicamente la materia orgánica descompuesta, sustrato de germinación de las semillas. Al cabo de 30 días se debe realizar una limpieza manual de la maleza en el área principal y las áreas satélites para identificar la regeneración natural. La regeneración se identifica por cuatro hojitas de un tamaño de 2 a 4 milímetros de altura a 30 días de germinadas, verdes y con pelitos menudos llamados tomentos. La Uña de Gato presenta cuatro hojitas ligeramente aovadas y con la haz opaco. Cuando las plantas tengan una altura de 5 a 10 centímetros debe procederse a repicar en bolsas de vivero.

La cosecha del bejuco se debe realizar efectuando un corte a 30 centímetros de altura de la base, es decir, dejando un tocón que permita a la planta rebrotar. Es importante que el aprovechamiento de la corteza se realice después de la época de fructificación para que exista mayor probabilidad de obtener plantas de regeneración natural. El corte del tocón debe ser en forma biselada y debe cubrirse con materia orgánica natural y tierra común para disminuir la pérdida de fluidos del tallo - tocón. Los esquejes o estacas se preparan de las ramas y se siembran al pie de árboles para repoblar la especie aprovechada. Esta acción debe ser una norma para los extractores, técnicos y extensionistas si se pretende seguir aprovechando este recurso en forma permanente y sostenible.

El manejo del bosque en general, estará en función del manejo de los rebrotes, propagación de estacas o manejo de la regeneración natural, así como la aplicación de algunas actividades culturales que permitan el incremento de su densidad.

### 3.2- Manejo en plantaciones

Como la Uña de Gato requiere cierto grado de sombra para crecer, se recomienda hacer plantaciones en fajas de enriquecimiento dentro de bosques secundarios, con excelentes resultados en comparación con plantaciones a campos abiertos.



## 4- Propagación

La Uña de Gato puede reproducirse de tres formas: semillas, estacas y micropropagación.

### 4.1- Por semillas

Por el tamaño y la forma alada de las semillas, que dificulta las labores de recolección, es necesario prevenir con tiempo la época de cosecha de frutos que generalmente debe ser cuando éstos presentan una coloración marrón oscuro. Los frutos tienen una apertura violenta de las valvas, por lo que es preferible envolverlas para evitar que se abran y las semillas se pierdan.

La cosecha debe realizarse en días sombríos y se realiza trepando los árboles o arbustos que sostienen a la liana, para facilitar el trabajo a veces se utilizan tijeras telescópicas.

Las semillas pueden ser almacenadas envueltas en papeles periódicos y colocadas en bolsas de plástico o cajas de cartón, en lugares secos y oscuros, a temperaturas menores de 25 grados centígrados, logrando mantener la viabilidad de acuerdo con la siguiente información:

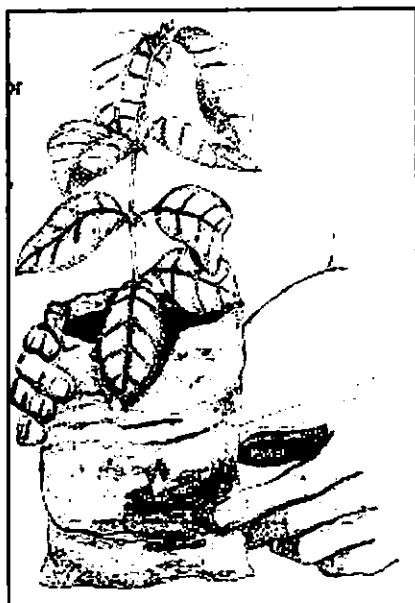
- A 10 días 65 - 84 %.
- A 30 días 63 - 83 %.
- A 60 días 61 - 73 %.
- A 90 días 58 - 67 %.
- A 120 días 47- 58 %.

Antes de iniciar el almácigo, las semillas de Uña de Gato deben ser sometidas a un tratamiento pregerminativo de remojo con una solución de agua mezclada con CUPRAVIT o TECTO 60 (0.1 gramos de TECTO 60 en un litro de agua), a temperatura ambiente. En esa solución se introducen las semillas a una equivalencia de 5.000 - 7.000 semillas por litro (1 gramo de semillas por un litro de solución), alcanzándose de 65 a 85 % de germinación en el lapso de 10 a 25 días de aplicado el tratamiento.

La remoción de las semillas de la solución debe realizarse cuando éstas queden liberadas de la cubierta seminal. Las plantas con cotiledones y radícula liberada deben ser trasplantadas cuidadosamente a las camas de almácigo. Las camas de almácigo deben tener un sustrato conformado por una mezcla 1:1 de arena gruesa con la tierra agrícola.

En general las plantas empiezan a erguirse a partir del cuarto al quinto día, sin embargo, deben permanecer allí durante 2 meses hasta tener un promedio de 2 a 3 centímetros de longitud (de 3 a 4 pares de hojitas), luego se les traslada a camas de repique. En la cama de repique los

plantones deberán permanecer por espacio de tres meses hasta alcanzar una altura promedio de 25 a 30 centímetros de altura, edad en la cual están aptos para llevarlos a campo definitivo.



#### 4.2- Por estacas

Para la propagación de la Uña de Gato por estaca se deben considerar los siguientes factores: material por propagar, tipo de corte, diámetro de corte, longitud de la estaca, época de recolección, tipo de sustrato que favorezca el enraizamiento, entre otros.

Se seleccionan las ramas de donde se obtendrán las estacas, procurando que tengan una corteza bien lignificada, con un diámetro mínimo de 2.5 centímetros, de 25 a 30 centímetros de longitud, con dos yemas como mínimo.

Una vez que se obtienen las estacas se les lleva a un microambiente saturado de humedad, donde el sustrato deberá estar compuesto por 100 % de humus natural, condiciones que favorecen el enraizamiento y el brote de la planta de Uña de Gato. En ese ambiente deberán permanecer de dos a tres meses, aunque la brotación foliar y el enraizamiento empezarán entre los 15 y 20 días. Por lo general se obtiene encima del 72 % de prendimiento.

Para realizar la propagación vegetativa de la Uña de Gato se deben tomar en cuenta las siguientes recomendaciones.

- Medio ambiente controlado
- Temperatura del aire permanentemente fresca
- Humedad saturada en el aire y sustrato
- Luz suficiente para el proceso fotosintético de las primeras hojitas
- Sustrato estéril con buen drenaje y de pH neutro
- Tipo de corte: El corte debe ser exacto, evitando heridas y rasgaduras en la corteza que dificulten la formación de callo de donde se originan las raíces. Con una sierra se obtienen mejores cortes.
- Época de obtención de estacas: La mejor época de obtención de estacas en Nicaragua puede ser exactamente al finalizar el invierno, ya que en la primavera la Uña de Gato se desarrolla más rápido.
- Tamaño de la estaca: El mejor tamaño de las estacas está en función del número de yemas, las que deben ser de dos como mínimo, en el caso de la Uña de Gato debe ser de 25 a 30 centímetros.

### 4.3- Micropropagación

La micropropagación es un método que requiere condiciones especiales de laboratorio para multiplicar las partes vegetativas, sin embargo, se pueden obtener enormes cantidades de plantones para campañas masivas de cultivo de la especie.



La micropropagación consiste en cultivar órganos vegetales o fragmentos de tejidos en un medio sólido o líquido que contienen una solución de sales minerales, azúcar, vitaminas y hormonas vegetales. El cultivo se desarrolla en condiciones rigurosas de asepsia para evitar la proliferación de poblaciones de hongos o bacterias. Existen tres tipos de micropropagación: cultivos de órganos, cultivos de tejidos y cultivo de células.

Actualmente la micropropagación sólo se realiza a nivel de investigación. Algunos investigadores como Domínguez (1997), han logrado desarrollar un medio de cultivo adecuado que permite obtener plantas completas y vigorosas que, a su vez, pueden tener dos destinos: La multiplicación masiva a través de subcultivos y la aclimatación para su instalación y desarrollo en el campo.

Para plantar la Uña de Gato se realizará la limpieza del terreno con la finalidad de obtener las condiciones favorables, evitando competidores por luz, agua y sustrato, para su normal desarrollo.

Luego de la limpieza se definen los puntos donde se abrirán los hoyos, que tendrán un distanciamiento de 5 X 5 metros, tanto en campo abierto como dentro del bosque. Los hoyos se hacen con la finalidad de preparar el suelo para que las raíces de la planta de Uña de Gato puedan penetrarlos sin dificultad, así como facilitar la infiltración del agua de lluvia. Por lo general se usa el mismo suelo para rellenar el hoyo, no obstante, se puede incorporar 10 % de materia orgánica para mejorar las características del sustrato.

Los hoyos tendrán un tamaño de 30 x 30 x 30 centímetros, para lo cual se utilizará pico, barra y palas rectas.

En caso de que la plantación se realice dentro del bosque se procurará hacerlo al lado del tallo de un árbol para que pueda trepar.

## 5- Conservación

Para su conservación debemos hacer estudios de distribución y abundancia en las áreas protegidas, y solamente realizar un extratavismo responsable de los materiales útiles para propagar en ambiente donde ya no existe y/o fue extraído en su totalidad.

## 6- Propiedades de la *Uncaria tomentosa* (Willd.)

### 6.1- Inmunoestimulante

Se debe a los alcaloides isometrafilina y pteropodina. Aumenta la actividad fagocítica de los granulocitos, neutrófilos y macrófago, y estimula la producción de linfoquinas. Aumenta también el número de monolitos en fases activas en la circulación periférica, hasta de un 50%, al menos al cabo de una semana de tratamiento. Los granulocitos incrementan en un 60% su poder fagocitario en presencia de extractos al 0.01%. No existe alteración en la proliferación de los linfocitos "T" en condiciones normales, pero que hay un aumento en presencia de antígeno. Es útil en cáncer, SIDA, *candidiasis* sistémica, *herpes* varios y *sarcoma de kaposi*.

### 6.2- Antiinflamatoria

Gracias a los glucósidos quinóvicos. Un 15% superior a la indometacina. Útil en artritis reumatoide, artritis diversas, bursitis, reumas, lupus y fibromialgias.

### 6.3- Antirradicales libres

Eficaz en procesos inflamatorios, cancerosos, estados febriles y en exposición a radiaciones ionizantes.

### 6.4- Antimutágena y citostática

Acción debida a la isorincofilina. Inhibe las ADN polimerasas alfa. Las mitosis de las células "H", "L" se reducen mientras que las de los fibroblastos normales no se alteran. Útil en el cáncer, in vivo, evitando las metástasis.

### 6.5- Antiviral

Especialmente contra los ARN-virus encapsulados. Útil contra el virus del SIDA, herpes genital y herpes zoster, resfriados, sinusitis, otitis, virus de la estomatitis vesicular, conjuntivitis.

## 6.6- Desintoxicante y resolutive del tracto digestivo

Es muy útil cuando fallan los tratamientos convencionales en la enfermedad de Crohn, diverticulitis, colitis, hemorroides, fistulas, gastritis, úlceras, parásitos intestinales, alteraciones de la flora intestinal, goteo anal.

## 6.7- Antialérgica

Util en neurobronquitis, lupus.

## 6.8- Desintoxicantes de toxinas ambientales

Eficaz en fatiga crónica, depresión orgánica, acné.

## 6.9- Afrodisíaca para los varones

Es útil en prostatitis, sin embargo, la tintura de uncaria es afrodisíaca por no sufrir la maceración a una temperatura elevada, como es el caso de otros preparados. Las decocciones tienen un efecto contrario, es decir, anafrodisíaco.

## 6.10- Antiagregante plaquetario

Debido a la rincofilina. Previene apoplejía, ataques cardíacos, hipertensión, arteriosclerosis, trombosis, tromboflebitis.

## 7- Contenido Químico

Acido quinóvico, Acido glycosídico, Pro-Antocianidinas, Polifenoles, Triterpenos, Isomitrafalina, Acido oleoico, Speciofilina, Rincofilina, Isopteropodina, Uncarina F, Alcaloide Hexa-Oxindol, Pteropodina, Mitrrophylina, hormonas Beta-Sitosterol, Stigmasterol y Campesterol.

El Lic. Mariano Barrios, nicaragüense y profesor de Química de la Universidad Nacional de Heredia, en sus últimos trabajos con muestras maderables ha encontrado tres nuevas sustancias, entre las que se destacan: cumarinas, flavonoides y otra aun no identificada.

## 8- Indicaciones

El Rangayo es recomendado para el tratamiento de las enfermedades y padecimientos más comunes: Alergias, artritis, asma, cáncer, colitis, debilidad por convalecencia, depresión orgánica, desordenes intestinales, desordenes menstruales, diabetes, disentería, diverticulitis, enfermedades venéreas (gonorrea), fatiga crónica, fistulas, gastritis, hemorroides, herpes genital, incontinencia,

infecciones virales, inflamación del tracto urinario, inmunodeficiencia, limpieza del tracto digestivo, enfermedades de Crohn, parásitos, desbalance de la flora intestinal, próstata, removedor de toxina, SIDA, tumores y úlcera.

## 9- Contraindicaciones

No se han reportado intoxicaciones, sin embargo, se recomienda que se debe continuar investigando el grado de toxinas a fin de esclarecer con exactitud la dosificación a recomendarse en humanos, sus indicaciones precisas, contraindicaciones y efectos secundarios.

## 10- Efectos secundarios

No existen de forma grabada, pero existe la creencia de no usar en mujeres embarazadas, ya que posee propiedades anticonceptivas.

### 10.1- Alcaloides de la *Uncaria tomentosa* (Willd.)

Los alcaloides son metabolitos secundarios, muchos de ellos extraídos de plantas medicinales, si bien no existe una definición exacta del concepto de alcaloide, generalmente se consideran en las sustancias que contienen uno o más átomos de nitrógeno conformando un sistema cíclico, por ello se consideran sustancias orgánicas nitrogenadas. El nitrógeno puede formar parte de una amina primaria, secundaria o terciaria. Muy rara vez se puede hallar formando parte de una amina cuaternaria.

En su gran mayoría los alcaloides se encuentran en la forma de sales de ácidos orgánicos, también asociado a ellos puede haber un ácido especial, pueden encontrarse en forma de glicósidos de ácidos orgánicos o de ésteres. Se consideran como poco solubles en agua, pero al reaccionar con los ácidos forman sales que pueden ser muy solubles en este líquido. Los alcaloides en la naturaleza se encuentran principalmente en las raíces, cortezas, hojas y semillas de las plantas, los cuales juegan un rol gravitante en la acción fitoterapéutica reconocida de muchas plantas medicinales.

Es muy importante conocer la clasificación taxonómica de la planta a estudiar, ya que teniendo los datos de la familia y el género de la especie, se simplificará la labor de la identificación de alcaloides para el investigador, pues se consigue clasificar como componente de un determinado grupo característico a determinada taxonomía. Después de combinar las reacciones químicas específicas de coloración con las respectivas pruebas de cromatografía en capa delgada se conseguirá la ubicación de un alcaloide previamente estudiado. Para el estudio estereoquímico se utilizan los

espectros ultravioleta e infrarrojo así como medidas de dispersión rotatoria óptica, rotación específica y dicroísmo circular para fines de complementación y comprobación.

Algunos autores informan que existen aproximadamente 5500 alcaloides identificados. Se afirma que de éstos alrededor de 150 proceden de la familia rubiácea, a la cual, como hemos afirmado pertenece nuestra planta nativa *Uncaria tomentosa* (Willd.).

Phillipson y Hemingway en Inglaterra identificaron en capa delgada alcaloides oxindólicos como rincofilina e isorincofilina (oxindol tetracíclico), se ubicaron como alcaloides secundarios mitrafilina (un alcaloides propio de la familia de las rubiáceas descubierto en el género *mitragina*) además isomitrafilina y dos nuevos alcaloides denominados n-oxidodihidrocorinantéina y n-oxidoirsuteína.

En Munich, H Wagner, B. Kreutzkamp y K. Jurcic, estudian su actividad inmunoestimulantes. Ellos consideraron que el grupo de sustancias activas eran los oxindol alcaloides, observando efectos de multiplicación sobre los fagocitos. Al respecto en Austria, ya se realizaban estudios acerca de las acciones biológicas de *Uncaria tomentosa* (Willd.).

El Doctor Wagner y sus colaboradores investigaron los extractos de etilacetato luego de su alcalinización, extractos de etanol así como sus fracciones y macerados acuosos de las raíces de *Uncaria tomentosa* (Willd.), identificando a la fracción alcaloide como el grupo de sustancia activa de esta parte de la planta peruana; la obtención del grupo alcaloidal fue realizado en base a un método modificado de Phillipson.

Esta fracción alcaloide fue sometida luego a cromatografía de gel de sílice y cromatografía de capa gruesa la cual llevó a la identificación de 6 oxindol alcaloides, de tipo de tetracíclicos y pentacíclico: isopteropodina, pteropodina, mitrafilina, isomitrafilina, rincofilina e isorincofilina. Fue notoria la observación de las diferencias cualitativas y cuantitativas en el contenido alcaloide de cada una de las tres variedades de la *Uncaria tomentosa* (Willd.), que algunos autores distinguen por el color del liber con las siguientes denominaciones: gris blanquecino, marrón amarillento y rojo oscuro. Así, los oxindol alcaloides tetracíclicos isorincofilina y rincofilina se encontraban en la muestras analizadas de *Uncaria tomentosa* (Willd.) considerándoseles como los alcaloides principales, en la variedad marrón, el oxindol alcaloide isopteropodina se hallaba en la más alta concentración.

Según análisis precedentes de otros autores como S. R. Hemingway, J. D. Phillipson, al encontrar oxindol alcaloides también se hallan indol alcaloides, en este trabajo sólo se encontraron los primeros, Wagner y sus colaboradores asumieron que los tiempos de cosecha o la presencia de modificaciones químicas podrían ser una de las causales para estas variaciones. Por cromatografía

par iónica sobre HPLC los autores elaboraron un análisis que serviría para diferenciar entre varias especies de uncaria.

Es preciso mencionar que hasta 1985, fecha de publicación del estudio que estamos describiendo, sólo se conocían acciones farmacológicas de algunos alcaloides, extraídos por separado, del género *Uncaria*, hallándose entre ellas que hirsutina e isorincofilina tenían un efecto ganglio bloqueador, hirsutina inhibía la contracción de la musculatura estriada y producía aumento de la transmisión parasimpática, rincofilina producía estimulación del útero, se comportaba como antipirético además de hipotensivo; en un estudio, mitrafilina tuvo una acción diurética. Farmacológicamente, hasta que se realizó este trabajo, *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC como droga total, no había sido aun analizada.

En esta investigación los científicos alemanes mencionados, dirigidos por el Doctor Wagner, se abocaron a realizar pruebas con los alcaloides por separado y en conjunto, a fin de dilucidar el efecto de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. en la actividad fagocítica de los leucocitos in Vitro (estudio de la actividad inmunoestimulante) así, por medio del test de granulocitos, técnica inventada por Brandt en el año 1967 que sirve para medir la actividad defensiva de los glóbulos blancos, observaron que los extractos de etilacetato de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC luego de su alcalinización, tenían una mejor acción fagocítica que aquellos extractos de etanol sin previo tratamiento (entre 20% y 35 % de incremento). En esta prueba Isopteropodina- tuvo el más alto índice de efectividad respecto a los otros alcaloides puros aislados.

Por otro lado, aplicaron a esta investigación la técnica de luminiscencia química (chemolumin) que es utilizada también para determinar el grado de fagocitosis de los leucocitos por medio de multiplicadores de luz, sometieron los alcaloides puros a esta prueba y observaron al igual que en el test anterior que isopteropodina HCL poseía la más alta efectividad fagocítica, los alcaloides mitrafilina y rincofilina no demostraron poseer esta propiedad en los bioensayos aplicados.

Como se podrá observar estos investigadores alemanes encontraron diferencias sustanciales en la actividad de cada alcaloide por separado, en cada una de las pruebas utilizadas, lo cual ha servido para conclusiones posteriores respecto a *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.

Otra de las pruebas aplicadas en este estudio por los investigadores germanos, fue el test de carbón -clearance o prueba de aclaramiento del carbón (de acuerdo a Biozzi), realizada en ratas, ésta es utilizada para determinar la velocidad (comparada con respectivos controles) con que el sistema retículo - endotelial (RES) reacciona frente a determinadas sustancias extrañas al organismo.

Sobre la base de todos los resultados detallados hasta aquí, en esta interesante investigación efectuada por H. Wagner, R. Kreutzkamp y K. Jurcic en Munich, Alemania, estos estudiosos concluyen definiendo que la eficiencia del extracto de nuestra especie vegetal *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. depende decisivamente de la coexistencia de tres factores importantes:

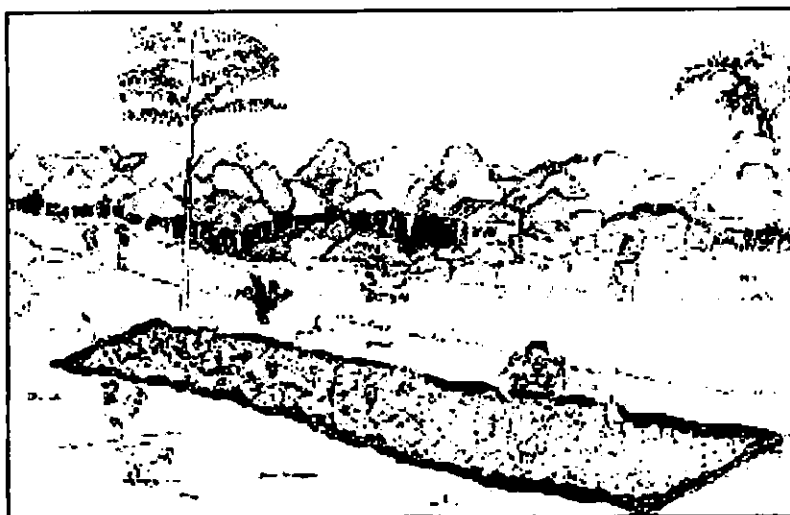
- Concentración del alcaloide
- Compuestos de alcaloides
- Presencia de sustancias adicionales

Estas conclusiones podrían explicar en parte la utilización que de la planta completa se realiza dentro de los usos y costumbres de la medicina tradicional.

El 4 de Julio de 1989 fue registrada la patente internacional: "Oxindole alkaloids having properties stimulating the immunologic system", por el Sr. Klaus Keplinger, Dr. Hildebert Wagner y Dra. Barbara Kreutzkamp en base a sus estudios con especímenes peruanos de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.

## 11- Aplicaciones y presentación de la Uña de Gato

La aplicación más popular de la Uña de Gato ha sido el cocimiento de la corteza, aunque las dosificaciones varían de acuerdo con la enfermedad y las características fisiológicas de las personas que se someten al tratamiento.



Otra forma de uso de la corteza de la Uña de Gato es a través de los extractos alcohólicos, usados por lo general para contrarrestar procesos inflamatorios, en este caso tendría una mayor concentración de principios activos que los extractos acuosos.

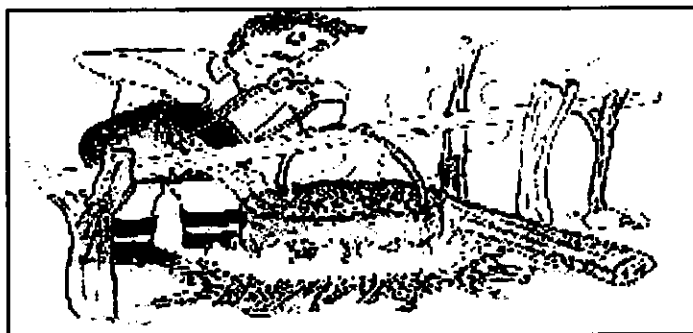
Actualmente se usan cápsulas y grageas, cuyo uso se ha generalizado en el mercado. Las cápsulas contienen un producto atomizado por lo que se debe tener cuidado de que no estén adulteradas. Las pastillas o grageas en general corresponden a concentraciones de productos atomizados o liofilizados.

## 12- Formas de preparación

### 12.1- Cocimiento

Se usan aproximadamente de 20 a 30 gramos de corteza cortada en pequeños fragmentos, los mismos que son hervidos en un litro de agua durante 20 a 30 minutos (bajo fuego), este líquido se enfría al medio ambiente. En algunas zonas se prefiere la maceración alcohólica de los trozos de corteza, previa al hervido (aproximadamente 2 horas antes).

El líquido obtenido se bebe tres veces al día, aproximadamente cada 8 horas y alejado de las horas de comida (un litro al día).



### 12.2- Infusión

Se emplean 10 gramos de hojas aproximadamente en un recipiente, se agregan 200 mililitros de agua hirviendo, se cubre y se deja reposar por 10 minutos, luego este líquido es ingerido tres veces al día (total 600 mililitros). Este preparado es usado con menor frecuencia.



### 12.3- Tintura

Se prepara en alcohol de 70 grados al 10 % o más, combinado frecuentemente con otras plantas. Asimismo el macerado en aguardiente de caña o pisco presenta alcoholes de 40 grados, que pueden ser consumidos puros o con saborizantes. Se recomienda consumir la solución a la semana, cuando empieza a pintar el líquido.

### 12.4- Cápsulas

Algunos laboratorios o empresas agroindustriales han elaborado este tipo de producto que contiene de 250 a 280 mg de corteza pulverizada, la dosis varía según la marca del producto.

### 12.5- Pastillas o grageas

Se han encontrados productos que contienen de 90 a 150 mg del producto atomizado o liofilizado, también la dosis varía de acuerdo con la marca del producto.

### 12.6- Otros productos

En el mercado existen otros productos donde la Uña de Gato se ha usado como componente

principal, por ejemplo: pomadas, caramelos, galletas, etc.

### 13- Aprovechamiento y comercialización

El aprovechamiento de la corteza del tallo de la Uña de Gato debe realizarse en forma racional cuando la planta haya adquirido su madurez, siendo el ciclo silvicultural de tres años, cuando proviene de estacas, y de seis años cuando la propagación es de semillas. La forma correcta de cosechar la planta es cortar el tallo o tronco a 30 centímetros de la base. Luego se hala el resto de la planta para poder aprovechar toda su longitud que cuelga de los árboles. Cuando se corta el tallo de la Uña de Gato se



debe halar la liana hasta descolgarla totalmente. Por ningún motivo se debe cortar por debajo de los 30 centímetros de longitud, y menos sacar la raíz, porque provocaría la muerte de la planta.

Para facilitar el aprovechamiento de la corteza, el embalaje y su carga dentro del bosque, el tallo se debe cortar en segmentos de 1 metro.



La época de cosecha en general es desde la segunda quincena de abril hasta la primera quincena del mes de diciembre. En el tiempo de lluvia, las plantas por lo general están creciendo y no deben ser aprovechadas, además resultaría más difícil el secado y el transporte.

La técnica más práctica para extraer la corteza consiste en golpear el extremo de un segmento con el extremo de otro hasta lograr que la corteza de ambos se desprenda, en dichas condiciones se levantan tiras de corteza hacia arriba cuidando que la corteza se desprenda longitudinalmente en el segmento. Previa a esta operación es necesario limpiar la corteza externa normalmente acompañada con musgos de color negro, para ello se

utiliza un cuchillo. La corteza limpia debe ser secada bajo sombra con ventilación artificial, secadores solares y en ambientes abiertos bajo techo. No se recomienda el secado al sol ni con estufas u hornos por la posibilidad que se volatilicen algunos componentes químicos.

Después del secado se realiza una limpieza de las tiras de corteza donde se eliminan los residuos, fibras y hongos que pudiera presentar la cubierta externa.

Luego se realiza el picado, que es una actividad opcional, consiste en cortar la corteza en longitudes variables de 10 a 20 centímetros. La corteza completamente seca y picada de Uña de Gato, sin restos externos ni hongos, se empaqueta para su comercialización en bolsas plásticas. Esta forma de embalaje previene que la corteza adquiera humedad durante el transporte y proliferen hongos.

Para su comercialización al exterior se recomienda moler la corteza, esto facilita la manipulación y transporte dándole un mayor valor agregado.

El productor de Uña de Gato puede vender la corteza a acopladores de empresas farmacológicas o agroindustriales, casas naturistas, herboristerías, farmacias, autoservicios, bodegas o directamente al público.

Los precios a que se ha llegado a comercializar en Managua es de C\$ 100.00 (Cien córdobas netos) por cada libra de producto seco.

La venta al público practicada por los centros naturistas tiendas macrobióticas es de:

- |  |           |
|--|-----------|
| a- Bolsita de 5 onzas de corteza (cáscara) o madera estrujada              | C\$ 20.00 |
| b- Bolsita de 8 onzas o ½ libra de corteza (cáscara) o madera estrujada    | C\$ 40.00 |
| c- Bolsa de una libra de corteza (cáscara) o madera estrujada              | C\$ 80.00 |
| d- Bolsita de 25 cápsulas de corteza y madera molida sin aditivos químicos | C\$ 25.00 |



## 14- Importancia de la Uña de Gato en Nicaragua

La Uña de Gato es una alternativa económica en nuestro país, con las consecuencias que ello implica. Es una de las actividades más rentables para nuestros campesinos, su aprovechamiento racional y controlado contribuirá al desarrollo sostenible de las comunidades de la zona de Río San Juan. Esta actividad extractiva se encuentra en función del incremento de la demanda de corteza y de los productos farmacéuticos e industriales.

Todo esto permite una nueva alternativa para el aprovechamiento de los recursos forestales del bosque que permitan un mejor uso de la tierra y de las especies existentes allí. La importancia de la Uña de Gato en el mercado es una opción productiva para el agricultor.

Se incorporan recursos fitogenéticos rentables a sistemas de manejo en bosques primarios y secundarios o áreas cultivadas, con lo que se incrementan las oportunidades de desarrollar cultivos múltiples o sustitutos de cultivos tradicionales.

## V- METODOS Y MATERIALES

### Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo experimental, comparando la *Uncaria tomentosa* nicaragüense (Rangayo) con respecto a la *Uncaria tomentosa* peruana.

### Área de estudio

Este estudio fue realizado en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Análisis de Drogas, Medicamentos y Tóxicos de la UNAN-León.

### Universo

Especies encontradas en el Departamento de Río San Juan, Municipio de San Carlos y Papaturro.

### Muestra

Especie Rangayo, recolectada en la Comarca de Santa Isabel, Municipio de San Carlos, Departamento de Río San Juan, suministrada por el Sr. Marcelino Aguirre Fonseca en marzo del 2001.

### Procedimientos

Para la ejecución de este estudio monográfico se realizaron revisiones bibliográficas en libros, revistas y en diferentes sitios del Internet, además de consultas a docentes especialistas en la materia.

### Preparación de la muestra

Una vez recibida la muestra en el laboratorio se trató con etanol, procediendo al secado a temperatura ambiente y luego a la molienda de la corteza.

Para la identificación y cuantificación se utilizaron métodos instrumentales como CCF (Cromatografía en Capa Fina), HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Presión), Volumetría en medio no acuoso y Reacciones Colorimétricas.

## 1- Cromatografía de Capa Fina

### 1.1- Historia

El botánico ruso Mikhail Tswett estableció las ventajas de la cromatografía y fue el primero en utilizar este término. Es recordado como el Padre de la Cromatografía.

Ismailov y Sraiber utilizaron láminas de vidrio para colocar capas muy delgadas de alúmina y luego aplicaron extractos vegetales, dando así la primera forma de Cromatografía de Capa Fina. Egon Stahl (1956) dio el nombre de Cromatografía de Capa Fina. Estandarizó los procedimientos, equipos y adsorbentes dando un auge a la técnica simple, a bajo costo y eficiente.

### 1.2- Proceso de Adsorción

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

### 1.3- Adsorbentes

Los adsorbentes más utilizados en la Cromatografía de Capa Fina son:

- Sílica gel (se utiliza en el 80% de las separaciones)
- Óxido de Aluminio o Alúmina (ácida, neutra o básica)
- Tierra Silíceo o Kieselguhr
- Celulosa (Nativa o micro-cristalina)
- Poliamidas.

Estos adsorbentes deber tener las siguientes características:

- Tamaño de partícula
- Volumen de poro
- Diámetro de poro
- Área superficial
- Homogeneidad
- Pureza.

### 1.4- Preparación de la Placa Cromatográfica

Se usan como soporte del adsorbente láminas de vidrio, plástico o metálicos (ej: aluminio).

Los tamaños de la placa para TLC convencional son: 20 cm x 20 cm, 10 cm x 20 cm y 5 cm x 2 cm. Hay placas que contienen un indicador de fluorescencia F254 ó F366. El número que aparece

CS  
CS  
CS  
CS



como subíndice nos indica la longitud de onda de excitación del indicador utilizado.

### 1.5- Aplicación de la muestra

La muestra se aplica en la placa según el objetivo analítico o preparativa en:

- Banda
- Punto o Mancha

### 1.6- Desarrollo de la Placa

Es un proceso mediante el cual son transportados a través de la fase estacionaria por la fase móvil.

### 1.7- Elección del Disolvente

El disolvente se elige según sea la separación: reparto, adsorción o de intercambio iónico; la naturaleza de las sustancias a separar, la naturaleza del material de relleno.

Los disolventes empleados en la cromatografía de reparto son similares a los que se usan en la cromatografía en papel. Para las separaciones por adsorción es fundamental que los disolventes sean puros, porque de lo contrario las impurezas podrán alterar el curso completo del desarrollo.

Si el adsorbente es de tipo gel de sílice o alumina hay que considerar que entre más polar es la sustancia más intensa es la adsorción. Se comienza trabajando con los solventes de baja polaridad y se va incrementando si es necesario. Las separaciones basadas en el intercambio iónico, se realizan normalmente pasando la muestra en solución acuosa por una columna que contiene una resina de intercambio iónico.

En este tipo de cromatografía, los componentes se adsorben por fuerzas electrostáticas. El disolvente está contenido por soluciones acuosas con buffer en las que se puede variar el pH o la concentración salina para conseguir una adsorción selectiva.

### 1.8- Cámaras para Desarrollo

Existen varios tipos de cámaras:

- Normal
- Doble compartimiento
- Sandwich
- Horizontal
- Vario KS

### 1.9- Detección o Visualización

Si la muestra (mancha) no es coloreada se requiere de métodos que nos permitan visualizar el (los) componente(s) presente (s). También se conoce este procedimiento como revelado.

Estos métodos son:

- Químicos (por inmersión o rociado). Se obtienen derivados coloreados o fluorescentes
- Físicos (ópticos). Generalmente se utiliza radiación UV

### 1.10- Evaluación de un Cromatograma de Capa Fina

#### Análisis Cualitativo

- Medida de R<sub>f</sub> (distancia recorrida por la sustancia entre la distancia recorrida por el solvente)
- Comparación Visual de Color/Intensidad
- Propiedades UV/IR/MS/NMR

#### Análisis Cuantitativo

- Semi-cuantitativo: Comparación visual del diámetro y la intensidad del color de la mancha contra una serie de manchas patrones de concentración conocida
- Cuantitativo: Indirecta y directa (densitometría y espectrofotometría)

## 2- Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)

Desde los años setentas, la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) se ha desarrollado rápidamente, y por su amplia potencia el día de hoy es uno de los métodos analíticos más importantes y utilizados.

La Cromatografía Líquida de Alta Presión utiliza la partición entre una fase móvil y una fase estacionaria para obtener una separación entre los componentes de la muestra, siendo ésta especial por la manera de usar una bomba para producir un flujo en las columnas delgadas empaquetadas con perlas pequeñas de fases estacionarias y el uso de un detector sensible con celdas pequeñas para producir y detectar una separación superior. Para obtener un tiempo corto en la separación se usa un flujo relativamente rápido, este produce una alta presión en el sistema, la cual es una limitación del sistema y no la causa para la buena separación.

## 2.1- Razones por las cuales se utiliza HPLC

- Gran variabilidad de configuración aparativa
- Gran cantidad de diferentes sistemas de fases estacionarias
- Gran número de fases móviles y modificaciones de ellas
- Amplio campo de uso

## 2.2- Aplicaciones de HPLC

- Para sustancias solubles en un solvente o una mezcla de solventes
- Sustancias no solubles
- Sustancias muy polares y/o iónicas
- Sustancias de alto peso molecular
- Sustancias termolábiles

## 2.3- Limitaciones

- Solubilidad de las sustancias (sustancia poco o no soluble)
- Detectabilidad de las sustancias

## 2.4- Campos de uso del HPLC

- Control de purezas y calidad de producto
- Análisis de medicamento
- Análisis de sustancias efectivas de matrices biológicas
- Análisis de residuos de plaguicidas
- Análisis de sustancias tóxicas para el medio ambiente
- Análisis de polímeros sintéticos
- Separación y limpieza de biopolímeros
- Aislamiento de productos sensibles

## 2.5- Funciones de la fase móvil

- La muestra debe ser soluble en la fase móvil
- Inmiscibilidad con la fase estacionaria
- Debe existir un equilibrio de distribución entre las dos fases
- Se debe de facilitar la salida de la muestra de la fase estacionaria

## 3- Valoración en Medio No Acuoso.

### 3.1- Principio General

En un análisis tritrimétrico se miden las cantidades de los reactivos a menudo llamados valorantes

o titulantes, esto requiere de una reacción química completa con el analito. Una reacción química genérica para análisis tritrimétricos en donde X moles de analito A contenidos en la muestra reacciona con Y moles de valorante, T es la solución valorante.

La reacción generalmente es transportada a un recipiente que contiene el líquido o muestra disuelta. La valoración se completa cuando suficiente valorante es añadido a la reacción con todo el analito. Este es llamado punto de equivalencia.

Un indicador es a menudo añadido a la reacción en el matraz en el momento cuando todo el analito ha reaccionado. El volumen del valorante donde la señal es generada es llamado punto final. El punto final y el de equivalencia son raramente los mismos.

### 3.2- Volumetría

Hay que tener presente que en realidad actualmente la tendencia general de las farmacopeas es la valoración volumétrica de los alcaloides en lugar de la gravimetría. Así, la F. E., IX, valora por volumetría los alcaloides de opio, acónito, ipecacuana, granado, etc.

#### Alcalimetría

El conocimiento de la naturaleza básica de los alcaloides hizo posible la utilización de esta propiedad para la dosificación por los ácidos valorados.

Los métodos volumétricos se prefieren a los gravimétricos por ser más rápidos y simples. Consisten en aislar los alcaloides, y después de purificados se dosifican directamente por medio de ácido, o por diferencia, titulando el exceso de ácido adicionado.

Para que el método sea asequible, se necesita conocer, por lo menos, el peso molecular del alcaloide principal y su basicidad. En general, son monobásicos, menos veces bibásicos, como revelan las respectivas constantes de disociación.

La neutralización de los alcaloides puede apreciarse en las valoraciones volumétricas por medios diversos.

#### a- Indicadores coloreados

La reacción del indicador para la dosificación de cada alcaloide está condicionada al conocimiento de las constantes de disociación de las respectivas sales.

El pH de las soluciones de las sales de los alcaloides se acerca al punto neutro (7.07), en virtud de ser siempre más o menos disociables.

Estos valores del exponente hidrogeniónico de la molécula de las sales correspondientes a pH de neutralización de los alcaloides, se designan con el nombre de "exponentes de titulación" y se representan por el símbolo pT.

Para efectuar una determinación es indispensable utilizar para cada alcaloide un indicador cuya zona de viraje incluya su coeficiente de titulación, y el indicador óptimo será aquel que vire bruscamente al alcanzar este valor de pH.

El indicador más interesante en el análisis de los alcaloides contenidos en las drogas vegetales es el rojo de metilo; es muy sensible y puede apreciarse en soluciones diluidas y un poco coloreadas. La "iodesina" facilita buenos resultados con la atropina, emetina, conicina, etc. Un número muy elevado de sales de los alcaloides puede ser dosificado con el anaranjado de metilo. La mezcla de rojo de metil y azul de metileno constituye un indicador de gran sensibilidad, con un viraje muy nítido, del verde (alcalino) al violeta (ácido).

#### b- Indicadores fluorescentes

En medios coloreados, el viraje de los indicadores es muy difícil de apreciar, máxime cuando la apreciación exacta de la neutralización se encuentra sujeta a contingencias de error personal. En tales casos, el empleo de un indicador fluorescente, o sea de una sustancia cuya fluorescencia aparece, desaparece o modifica sus tonalidades para cierto pH, puede prestar buenos servicios.

La propia quinina posee una fluorescencia intensa y dosificable directamente a la luz de Wood, la intensidad de la fluorescencia disminuye poco a poco, hasta que para el valor de  $\text{pH}=9$  desaparece bruscamente.

Entre los indicadores fluorescentes más utilizados están los siguientes: fluoresceína, acridina, umbeliferona y quinina.

#### c- Acido - yodimetría

En el método de dosificación por diferencia, cuando las soluciones de los residuos alcaloideos en los ácidos de título conocido fueran muy coloreados, puede utilizarse una técnica recomendable cuando no se observa con exactitud el viraje de los indicadores.

La acidez del medio se valora por ácido-yodimetría. En este método se dosifica el exceso de ácido por adición de un mezcla de yoduro y yodato potásico. Se libera yodo en cantidad proporcional al exceso, dosificándose finalmente el yodo por el hiposulfito, o por el anhídrido arsenioso. Por diferencia entre el número de centímetros cúbicos de ácido adicionado y del hiposulfito del mismo título se obtienen la cantidad exacta de ácido necesaria para la neutralización de los alcaloides.

En los procesos alcalimétricos hay que tener en cuenta que existe un conjunto de causas por error que deberán eliminarse en las técnicas de extracción y purificación de alcaloides, causa cuya eliminación no podemos prescribir de una manera general, ya que en cada caso aconsejará su técnica correspondiente.

La dificultad mayor en estos métodos volumétricos estriba en que no existe en el material generalmente un alcaloide sólo, sino una mezcla de varios de ellos, aunque relacionados en su composición.

Si la composición química del alcaloide está por establecer o si se desconoce su basicidad y el peso molecular, es imposible establecer su respectiva ecuación química y, por lo tanto, deducir su porcentaje. Por ello en estas circunstancias el método alcalimétrico no se puede utilizar.

La existencia de varios alcaloides en un mismo fármaco determina una causa de error, los resultados tienen que ser expresados en aquel que se encuentra en mayor proporción y no al de mayor importancia desde el punto de vista farmacognóstico.

## VI- REACTIVOS Y EQUIPOS

### 1- Reactivos

#### Acetonitrilo

(Acetonitrile, cianuro metílico)  $\text{CH}_3\text{C}^\circ\text{N}$ .

Propiedades: Líquido límpido, incoloro, olor aromático, P. eb  $82^\circ\text{C}$ ; P. f.  $41^\circ\text{C}$ ; P. de inflamación  $5.5^\circ\text{C}$ . Soluble en agua y alcohol. Constante dieléctrica elevada, gran polaridad, fuertemente reactivo.

Usos: Disolvente en los procesos de extracción de hidrocarburos especialmente para el butadieno, disolvente especial, producto intermedio, separación de los ácidos grasos a partir de los aceites vegetales.

#### Acetato de Etilo

(ethyl acetate). (Éter acético; Ester acético; nafta de vinagre).  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ .

Propiedades: Líquido incoloro de olor fragante, soluble en cloroformo, alcohol y éter, ligeramente soluble en agua, p. eb  $77^\circ\text{C}$ , presión de vapor  $20^\circ\text{C}$ , densidad  $0.8945\text{ g/ml}$  ( $25^\circ\text{C}$ ), punto de inflamación  $4.5^\circ\text{C}$ , límites de exposición al aire 2.2-11.5% en volumen.

Usos: Disolventes de lacas y plásticos, disolvente general, síntesis orgánicas, farmacia.

#### Acido acético

(Acido etanólico, ácido del vinagre, ácido metanocarboxílico)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ .

Propiedades: Líquido claro e incoloro, olor muy picante Pf,  $16.68^\circ\text{C}$ , Peb,  $118^\circ\text{C}$  (765mm),  $80^\circ\text{C}$  (202mm), p.e 1.0492 ( $20/4^\circ\text{C}$ ), viscosidad ( $20^\circ\text{C}$ ) 1.22 cps, P inflamación (vaso abierto)  $43.3^\circ\text{C}$ , índice de refracción 1.3715 ( $20^\circ\text{C}$ ) miscibles con agua, glicerina y alcohol éter, insoluble en sulfuro de carbono, temperatura de auto ignición  $426^\circ\text{C}$ .

Usos: Elaboración de anhídrido acético, acetato de celulosa y monomero de acetato de vinilo, esteres acéticos, ácido cloroacetico, producción de plásticos, productos farmacéuticos, colorantes, insecticidas, productos químicos para fotografía, aditivo de los alimentos (en forma de vinagre), coagulante del látex natural, acidificador de pozos de petróleo, estampado de telas.

Ácido clorhídrico: (ácido muriático), cloruro de hidrogeno en solución acuosa.

Propiedades: Líquido incoloro o ligeramente amarillo, fumante, picante. Pf  $115^\circ\text{C}$ ; Peb  $85^\circ\text{C}$ ; P. inflamación ninguno. El ácido clorhídrico es un ácido fuerte y muy corrosivo. El "concentrado" comercial o ácido fumante contiene un 38% de cloruro de hidrogeno, soluble en agua, alcohol y benceno. No combustible.

Usos: Producto intermedio químico, acidificante industrial.

**Acido Nítrico:** (Agua fuerte, ácido de grabadores, ácido de azoico).

**Propiedades:** Líquido transparente, incoloro o amarillento, sofocante cáustico y corrosivo. Puede atacar casi todos los metales. El color amarillo se debe al desprendimiento del dióxido de carbono al exponerlo a la luz. Miscible con agua, se descompone en alcohol;  $P_{eb}$  (descompone)  $86^{\circ}C$ .;  $P_{fus}$   $41.59^{\circ}C$ .;  $P_e$  1.504 ( $25/4^{\circ}C$ .); presión de vapor 62 mm a  $25^{\circ}C$ .; índice de refracción 1.3970 ( $n_{24/D}$ .); viscosidad 0.761 cps a  $25^{\circ}C$ .

**Usos:** Fabricación de nitratos de amonio para fertilizante y explosivos; síntesis orgánica (colorantes, drogas, explosivos, nitrato de celulosas, sales de nitrato).

#### Acido Perclorico

**Propiedades:** Líquido incoloro, higroscópico. Inestable en forma concentrada.  $P_e$  1.764;  $P_f$   $-18^{\circ}C$ ;  $P_{eb}$   $203^{\circ}C$ . Soluble en agua y alcohol; forma una mezcla de  $P_{eb}$  máximo que contiene 71.6 % de ácido. Es bastante estable cuando no existen otros productos.

**Usos:** Medicina, química analítica, catalizador, manufactura de varios ésteres, ingrediente de baño electrolítico en la deposición de plomo, electropulimentador, explosivo.

#### Ácido sulfúrico

(sulfato de hidrogeno, aceite de vitriolo, ácido de batería).  $H_2SO_4$ .

**Propiedades:** Líquido aceitoso, denso, fuertemente corrosivo; de incoloro a pardo oscuro, depende de su pureza. Miscible con agua en todas proporciones. Muy reactivo, disuelve la mayoría de metales; el ácido concentrado oxida, deshidrata o sulfota la mayoría de compuestos orgánicos, a menudo causa carbonización.  $P_f$   $10.4^{\circ}C$ .  $P_{eb}$ , varía entre  $315-338^{\circ}C$  debido a la pérdida del trióxido de azufre durante el calentamiento a  $300^{\circ}C$  o mayor temperatura.

**Usos:** Fertilizantes, productos químicos, pigmentos inorgánicos, refinado de petróleo, grabado, catalizador de alquilación, reactivo de laboratorio.

#### Anhídrido acético

(óxido de acetilo, óxido acético)  $(CH_3CO)_2O$

**Propiedades:** Líquido incoloro, móvil, fuertemente refringente, olor penetrante,  $p_e$  1.83 ( $20/20^{\circ}C$ );  $P_{eb}$   $139.9^{\circ}C$ ;  $P_c$   $-73.1^{\circ}C$ ;  $P$  Inflamación  $49.4^{\circ}C$  (vaso cerrado). Temperatura de autoignición  $388.8^{\circ}C$ . Miscible con alcohol, éter y ácido acético.

**Usos:** Fibra y plástico de acetato de celulosa, acetato venílico, agente acetilante y deshidratante en la elaboración de productos farmacéuticos, colorantes, perfumes, explosivos.

#### Cloroformo

(Triclorometano).

**Propiedades:** Líquido volátil, transparente, incoloro, muy refringente, olor característico, sabor dulce. Protegerlo de la luz. Miscible con alcohol, éter, benceno, disolventes de la nafta; aceites

fijos y volátiles; ligeramente soluble en agua; Pe 1.485 (20/20° C); Peb. 61.2° C, P. Congelación - 63.5° C, Índice de refracción 1.4422 (25° C); no inflamable pero puede arder expuesto prolongadamente al fuego a altas temperaturas.

Peligros: Muy tóxico por inhalación, narcótico. Su prolongada inhalación o ingestión puede ser fatal.

#### **Cristal Violeta**

(Violeta cristal, Violeta de genciana, Cloruro de metil orosanilina)

Es un colorante de tipo trifenilo metano.

Usos: En medicina (Como antialérgico y bactericida), indicador ácido base, desnaturalizante para alcohol, colorante para textiles.

#### **Diclorometano**

(Bicloruro de metileno, Diclorometano) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Propiedades: Líquido volátil, incoloro, olor penetrante a éter. Soluble en alcohol y éter, ligeramente soluble en agua, p.e. 1.335 (15/4° C); Pf. -97° C, Peb. 40.1° C; índice de refracción 1.4244, viscosidad a 20° C es de 0.430 cps. No inflamable ni explosivo en el aire. Temperatura de auto ignición 622° C.

Usos: Desengrasante, mezclas de disolventes para esteres y éteres de celulosa; química (síntesis orgánica), extracción farmacéutica.

#### **Etanol**

Propiedades: Índice de referencia 1.351 (15° C), tensión superficial 22.8 dinas/cm (20° C), viscosidad 0.014 poises (20° C), presión de vapor 43 mm (20° C), calor específico 14° C, p.e 0.816 (15.56° C), Peb 78° C, p.c -114° C, temperatura de autoignición 422.7° C.

Usos: Síntesis orgánica, solvente

#### **Hidróxido de Amonio**

(Agua Amoniaca, Hidrato Amónico, Amoniaco Acuoso) NH<sub>4</sub>OH.

Propiedades: Líquido incoloro de olor muy fuerte, las concentraciones de las soluciones llegan hasta un 30% de amoniaco.

Usos: Industrias textil, fertilizante, refrigeración, producto farmacéutico, fabricación de tintas, explosivos, cerámicas, saponificación de grasas.

#### **Magnesio**

Propiedades: Metal moderadamente duro, argénteo. Es el más ligero de los metales estructurales. Fuerte agente oxidante. Conductividad eléctrica similar a la del aluminio; Pe 1.74; p.f 65° C; Peb

1,107° C. Soluble en ácidos, insoluble en agua. Poco tóxico.

Peligro: Combustible a 65° C; inflamable, riesgo peligroso de incendio.

Usos: Aleaciones para piezas estructurales de aeronave, misiles y vehículos espaciales; polvo para pirotecnia y lámpara relámpago (flash) fotográficas; producción de hierro, níquel, zinc, compuesto magnesico, protección catódica, agente reductor.

#### Metanol

(methyl alcohol) (alcohol de madera)

Propiedades: Líquido muy polar, móvil, incoloro, claro. Miscible con agua, alcohol y éter, pf. - 97.8° C, p.eb. 64.5° C.

Usos: Síntesis química, disolvente.

#### Nitrato de Bismuto

(Subnitrato de Bismuto; oxinitrato de bismuto)  $4\text{BiNO}_2(\text{OH})_2\text{BiO}(\text{OH})$ .

Propiedades: Polvo blanco y pesado, ligeramente higroscópico; soluble en ácidos, insolubles en agua y alcohol. P.e. 4.928, P.Fus. descompone a 260° C.

Usos: Compuesto de bismuto, medicina, cosmético, esmaltado, fundido y barnizado de cerámica.

#### Vainillina

(vainillin). (3 metoxi-4-hidroxibenzaldehido; aldehído vainillinico).  $(\text{CH}_3\text{O})(\text{OH})\text{C}_6\text{H}_3\text{CHO}$ . éter metílico del aldehído protocatequico.

Propiedades: Agujas cristalinas, blancas; olor agradable; p. f 81-83° C; Peb 285° C; solubles en 125 partes de agua, en 20 partes de glicerina y en 2 partes de alcohol del 95%; soluble en cloroformo y éter. Combustible poco tóxico.

Usos: Perfumes, condimentos, productos farmacéuticos, reactivo, fuente de L-dopa.

#### Yoduro de Potasio

Propiedades: Cristales, granulos o polvo blanco, fuerte sabor salino amargo. Soluble en agua, alcohol, acetona y gliserol. Peb. 1330° C, p.f. 686° C. Poco tóxico.

Usos: Medicina, reactivo para química analítica.

## 2- Equipos

- Agitador magnético (Thermolyne Type 7200 STIR-LIGHT, Modelo No.: SL-7225, Serie No.: 275)
- Balanza analítica (Electronic Balance, Serie No.: 4704233)
- Cámara cromatográfica (Ultra-Violet. Products, Inc. Cromato-vue<sup>R</sup> Cobenet. Modelo No.: CC-20)
- Capilares de 5  $\mu$ l.
- Cápsulas de porcelana.
- Cocinas.
- Cristalería.
- Cromatofolio de silica gel 60f<sub>254</sub>
- Equipo HPLC.(Serie No.: 025768. LCD / Milton Roy)
- Hornos
- UV a 254 nm (Stabel-Therm. Modelo No.: OV-510A-2. Serie No.: OV3-17823)
- Panas para baño maría
- Papel filtro de 0.5 mm
- Soporte universal
- Termómetro.
- Campana Extractora (Catálogo No.: 70190. Serie No.: 69411)
- Molino (Modelo No.: 4)

## VII- PROCEDIMIENTO ANALITICO

### 1- Identificación de diversos componentes por cromatografía en capa fina

#### Extracto metanólico

1g de muestra seca y pulverizada se calentó en baño maría con 5 ml de metanol, se filtró y se aplicó 10  $\mu$ l del filtrado en la placa cromatográfica.

Fase estacionaria: cromatofolio de sílica gel 60F254

Corrida: 13 cm

Fase móvil: acetato de etilo: metanol: agua (100:13.5:10)

Revelador: vainillina al 1 % en ácido sulfurico al 5 %.

### 2- Determinación de alcaloides totales por el método de HPLC

Sistema: HPLC.

Columna: Rp 18; 5  $\mu$ l; 150 x 4.6 mm

Fase móvil: Acetonitrilo: buffer de fosfato a pH 7.4 (35: 65)

Flujo 0.9 ml/min.

Longitud de onda 280 nm

#### Preparación de la muestra

Se pesó 1 g de corteza y se le agregó 20 ml de la mezcla de extracción. Se mantiene en agitación constante durante 1 hora a temperatura ambiente; el extracto se decanta y filtra (este procedimiento se repitió por cuatro veces).

Se mezclaron los extractos y se diluyeron a 100 ml con la mezcla de extracción, se tomó una parte alícuota del extracto y se diluye con el buffer fosfato acuoso se filtró la muestra y se inyectó.

#### Mezcla de extracción

Metanol: agua: ácido clorhídrico 1.2 M (50:50:1).

### 3- Valoración en Medio No Acuoso

La muestra previamente extraída y/o purificada (ver método práctico), se disuelve con ácido acético glacial.

Titular con el ácido perclórico estandarizado el que se debe colocar en una microbureta, (si no hay, utilizar una bureta chica, o una solución de ácido perclórico de menor normalidad).

El indicador a utilizar es cristal violeta, el mismo que debe virar de violeta a verde esmeralda. Apuntar el gasto y la normalidad del ácido perclórico empleado.

Aplicar la formula:

% Alcaloides totales =  $G \times N \times 0.368 / W \times 100$  (expresado como mitrafilina).

W= Peso de la muestra en gramos.

G=gasto del ácido perclórico en ml.

N=normalidad real del ácido perclórico.

#### Método práctico

Pesar 5 g de corteza molida en un vaso de 600 ml y agregar 400ml de ácido sulfúrico al 2% calentar a ebullición por media hora, filtrar en caliente y enfriar.

Alcalinizar la solución hasta pH=11. Colocar la solución alcalinizada en una pera de separación y extraer 15 veces con 10 ml de diclorometano. Concentrar el extracto orgánico hasta sequedad, pesar. Agregar 5 ml de ácido acético glacial al extracto orgánico seco, calentar por 5 minutos y adicionar 3 gotas de indicador. Valorar con ácido perclórico 0.1 M.

## 4- Reacciones colorimétricas

### Prueba de alcaloides

Reactivo: Dragendorff.

Mezclar 21.3 ml de ácido nítrico con suficiente agua destilada para hacer 62 ml, luego se le agregan 5 g de Nitrato de bismuto.

Se disuelve 31.2 g de Yoduro de potasio en 69 ml de agua destilada.

Hay presencia de alcaloides si da un color rojo intenso.

### Prueba para terpenos

Reactivo: Ácido sulfúrico 10%

Hay presencia de terpenos si da un color rosa o púrpura.

### Prueba para saponinas

Prueba de la espuma.

El material se tiene en solución acuosa al 1% y se agita por 60 segundos, si hay espuma por más de 30 min. Hay saponinas.

### Prueba para derivados esteroidales

Reactivo de liberman Burchard.

Se toma una pizca de la muestra a la que se agrega 0.5 ml de cloroformo luego 0.4 ml de anhídrido acético posteriormente se le agrega por las paredes del tubo de ensayo unas gotas de

ácido sulfúrico.

Si aparece un anillo azul violeta hay presencia de esteroides.

#### Prueba para flavonoides

Reactivo de Shinoda:

Al extracto etanólico se le agregan unos trozos de magnesio, luego se le agrega ácido clorhídrico.

Si aparece un color amarillo hay presencia de isoflavona.

## VIII- RESULTADOS

### 1- Cromatografía en capa fina

TABLA 1

<b>Uña de Gato nicaragüense</b>		
	Valores de Rf	Color de la mancha
Mancha 1	0.48	Rojo Oscuro
Mancha 2	0.62	Rojo-Violáceo (Magenta)
Mancha 3	0.77	Violeta

<b>Uña de Gato peruana</b>		
	Valores de Rf	Color de la mancha
Mancha 1	0.48	Rojo Oscuro
Mancha 2	0.62	Rojo-Violáceo (Magenta)
Mancha 3	0.77	Violeta

*Ver Anexo No. 7*

## 2- Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)

Tabla 2

	UG NICARAGUA	UG PERUANA
Sensibilidad	0.2	0.2
Flujo	0.9 ml/min	0.9 ml/min
Tiempo de retención (pico 1)	1.903	1.936
Tiempo de retención (pico 2)	2.951	3.029
Area (pico 1)	194117	178990
Area (pico 2)	140516	112286
Area total	334633	291276

*Ver Anexo No. 8*

### 3- Volumetría en medio no acuoso

$$\% \text{ de alcaloides totales} = \frac{G \times N \times 0.368}{W} \times 100$$

Donde:

W= Peso de la muestra en gramos.

G= Gasto del ácido perclórico en ml.

N= Normalidad real del ácido perclórico.

#### Uña de Gato peruana

$$\% \text{ de alcaloides} = \frac{1.3 \text{ ml} \times 0.092244 \text{ N} \times 0.368}{2.3958 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ de alcaloides} = 1.8419 \%$$

#### Uña de Gato nicaragüense

$$\% \text{ de alcaloides} = \frac{1.0 \text{ ml} \times 0.092244 \text{ N} \times 0.368}{2.4082 \text{ g}} \times 100$$

$$\% \text{ de alcaloides} = 1.4095 \%$$

*Ver Anexo No. 9*

#### 4- Métodos colorimétricos

TABLA 3

REACTIVOS	PRUEBAS	UG NICARAGUA	UG PERUANA
Dragendorff	Alcaloides	+	+
Acido sulfúrico 10 %	Terpenos	-	-
Agua destilada	Saponinas	+	+
Liberman-Burchard	Esteroides	-	-
Shinoda	Flavonoides	+	+

## IX- ANALISIS DE RESULTADOS

Hemos determinado la semejanza de la *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense con respecto a la *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana a través de diferentes técnicas analíticas para su identificación y cuantificación, tal es el caso de la cromatografía en capa fina en la que aparecen muy bien marcadas una serie de manchas color rojo oscuro, marrón y violáceo a la misma intensidad y relación frontal.

Podemos asegurar la presencia de alcaloides y afirmar de esta manera la semejanza de los resultados en ambas muestras.

En cuanto a los resultados obtenidos en cromatografía Líquida de Alta Presión podemos observar la diferencia del 0.078 min. en los tiempos de retención a favor de la muestra peruana.

Pensamos que la variación en los tiempos de retención sean producto del aire atrapado en la bomba debido a gases disueltos en la fase móvil; de manera que la solución que damos al problema encontrado sería desgaseificar la fase móvil adecuadamente.

Ahora bien, para la cuantificación de alcaloides totales, por el método de volumetría en medio no acuoso, se encontró una diferencia del 0.4324% entre ambas plantas obteniendo así en mayor porcentaje en la *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana.

Consideramos que nuestros resultados se apegan a la realidad debido a la gran diferencia que existe en el clima, tipo de suelo, mano de obra encargada de recoger la planta, en fin todos los factores ambientales en general de Perú con respecto a Nicaragua.

## X- CONCLUSION

Sobre la base de la investigación realizada, hemos encontrado evidencias de la semejanza entre *Uncaria tomentosa* (Willd.) nicaragüense con respecto a la *Uncaria tomentosa* (Willd.) peruana. Así lo demuestran las relaciones frontales y la intensidad de las manchas en Cromatografía en Capa Fina, de igual manera notamos la similitud de los picos en Cromatografía Líquida de Alta Presión, y los porcentajes de alcaloides totales en Volumetría en medio no acuoso.

De tal manera podemos concluir que la especie *Uncaria* del género tomentosa (Rangayo ), contiene los mismos componentes activos que la muestra de referencia (Uña de Gato peruana). Por tal razón, concluimos que en el Departamento de Río san Juan, específicamente en la zona de Santa Isabel, Municipio de San Carlos, se encuentra la hierba milagrosa que los indios Ashaninka utilizaban hace muchos siglos en la selva amazónica del Perú.

## **XI- RECOMENDACIONES**

Considerando el estudio químico realizado en nuestro trabajo recomendamos:

- 1- Realizar el aislamiento y purificación de los compuestos activos encontrados en la planta como alcaloides, saponinas y flavonoides.
- 2- Realizar ensayos más específicos para la identificación de esteroides y terpenos, apoyandonos en un sin número de pruebas que permitan dar un resultado más certero.
- 3- Realizar estudios encaminados a identificar y cuantificar vitaminas.
- 4- Realizar estudios comparativos en Uña de Gato distribuida en diferentes zonas del departamento de Río San Juan.

## XII- BIBLIOGRAFIA

Alvarez C. Doroteo. H., Lock, O. (1998)  
HPLC, *Libro de resúmenes VII Congreso Latinoamericano de Cromatografía*, Brasil.

Lock, O. , Doroteo. M. Cabello. I (1998)  
*Informe técnico. Método LOPUC 001-93PUCP.*

Obregón Vilches, Lida  
*Uña de Gato "Cat's Claw"*, Instituto Americano de Fitoterapia.  
3ra. Edición. Lima-Perú.  
Pag:82, 83, 87- 93.

San Martín Casamada, R. Dr.  
*Tratado de Farmacognosia*, Editorial Científico-Medicina  
1977 Barceloner  
Capítulo XLVI, Grupo XIV Pág. 622-625

*Diccionario de Química y de productos químicos.*  
Traducida por Dr. Luis García Ramos.  
Profesor de química del Instituto Químico de Sarria, Barcelona.  
Ediciones Omega S.A, 1985.  
Pag: 9, 14,31, 65, 72, 126, 208, 215, 374, 535, 565, 614, 659,710,797,870,883.

Campos S. Jorge L.  
*"Aspectos agronómicos del Rangayo. Fichas de comercialización y Fichas farmacológicas"*  
1998-1999.

Lombardi Indacochea, Ignacio, Zevallos Pollito,Percy  
*Guía para el cultivo, Aprovechamiento y Conservación de la Uña de Gato.*  
[www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/paginas/culprom/ugato/u-gato.htm](http://www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/paginas/culprom/ugato/u-gato.htm).

Uña de Gato (*Uncaria tomentosa* (Willd.).  
[www.Ecoaldea.com/Members.Fortunecity.es/natura2001/PLMD/uncaria.html](http://www.Ecoaldea.com/Members.Fortunecity.es/natura2001/PLMD/uncaria.html).

*Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.*  
[www.HPLC.htm](http://www.HPLC.htm).

Cromatografía de capa fina.  
[www.Cromatografía.de.Capa.Fina.htm](http://www.Cromatografía.de.Capa.Fina.htm).

# Anexos

Anexo 1:

*Uncaria tomentosa* (Willd.) Peruana



Anexo 2:

*Uncaria tomentosa* (Willd.) Nicaragüense



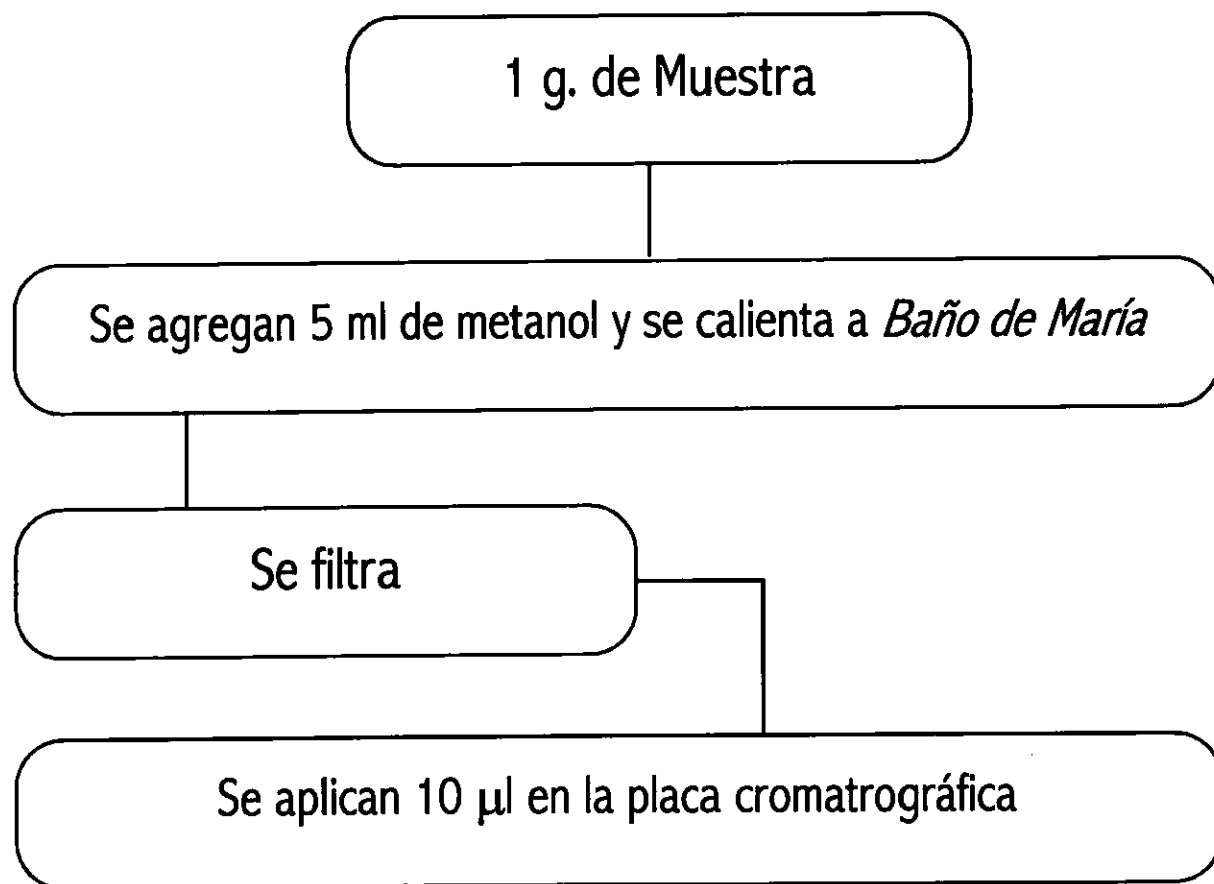
Anexo 3:

*Uncaria tomentosa* (Willd.)

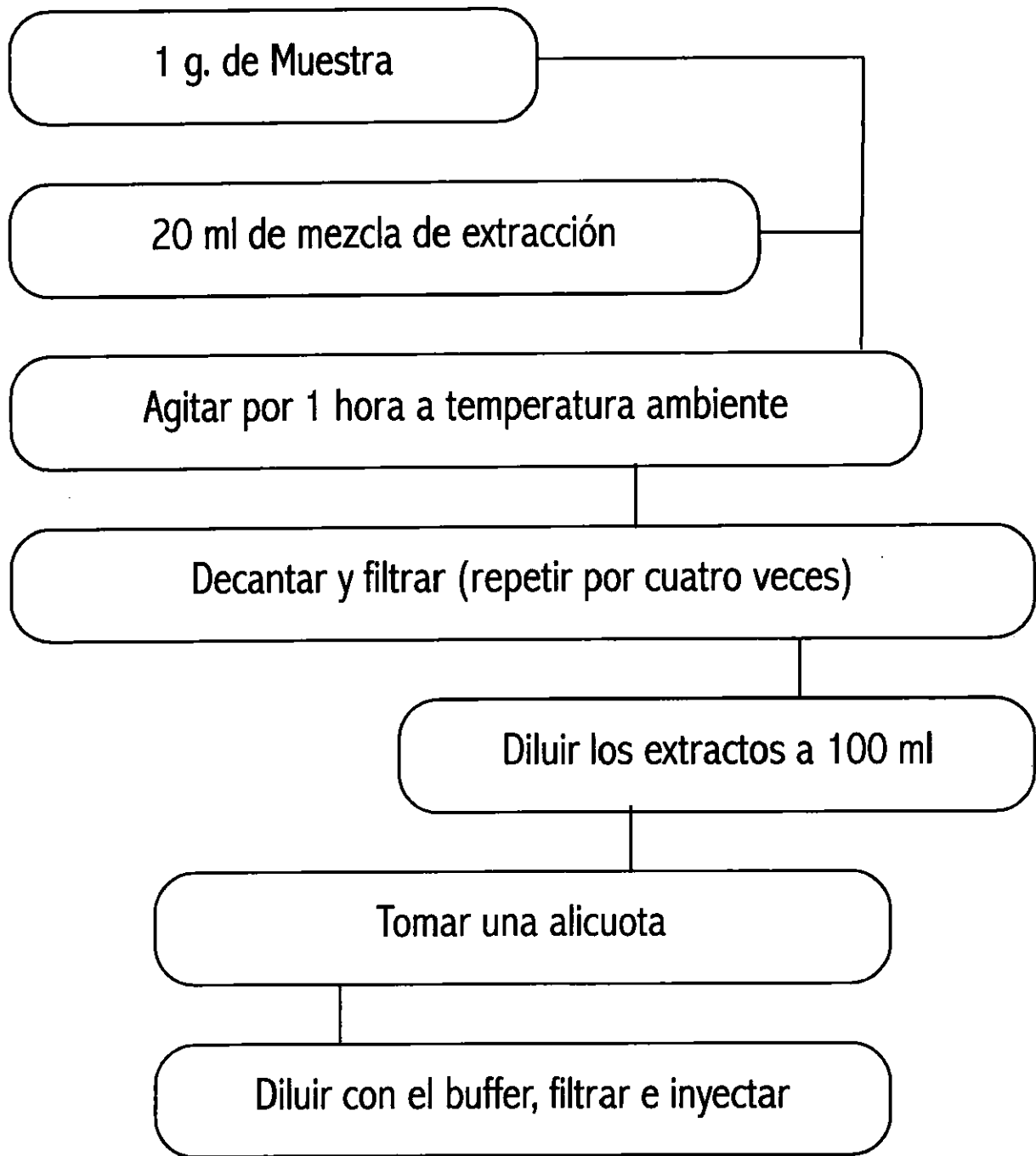


*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Espinas secas. Están dirigidas hacia abajo, no recurvadas, miden hasta 2 cm. de longitud, por 0.4 a 0.6 cm de ancho proximal.

Anexo 4:  
Esquema Método por CCF

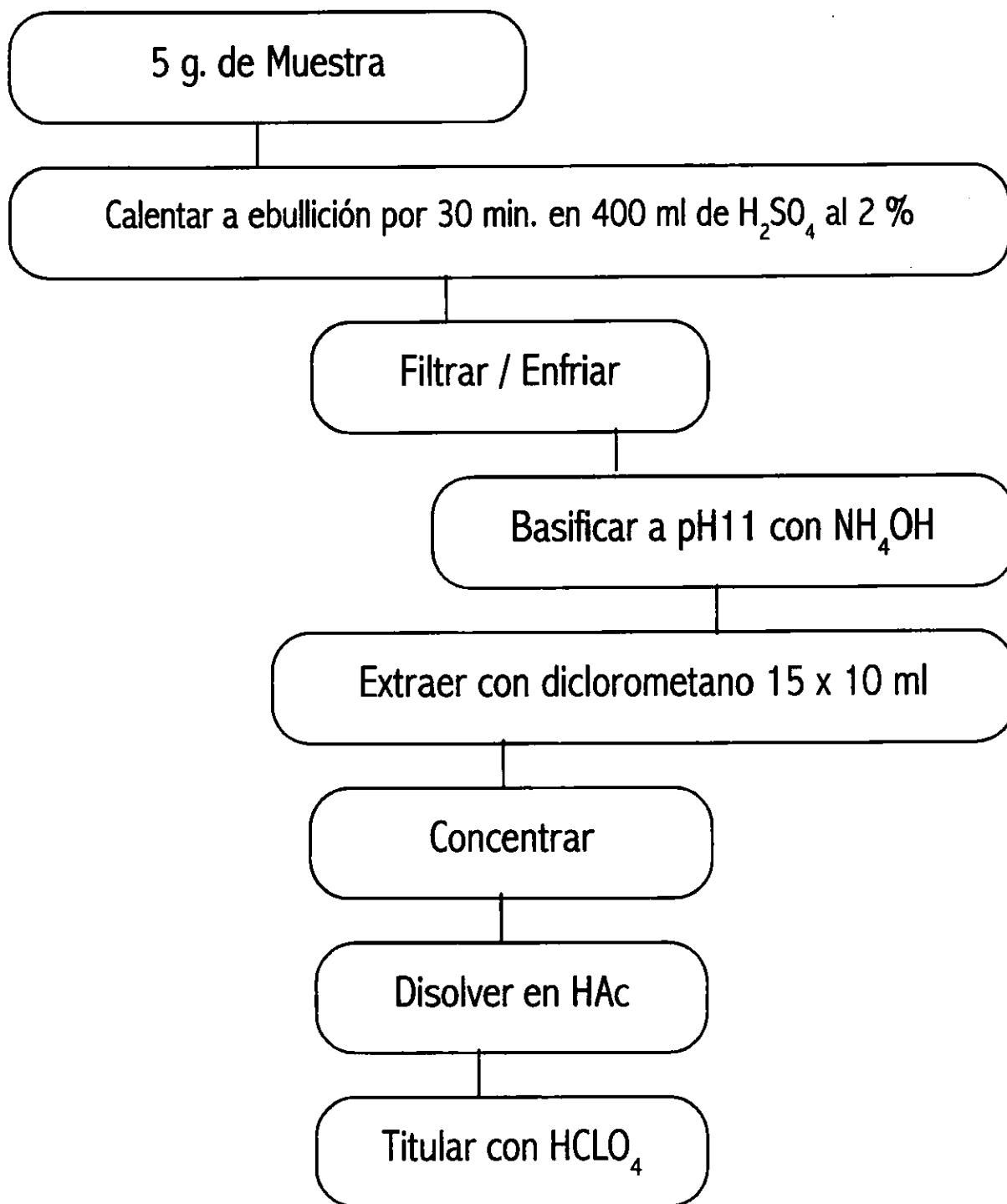


Anexo 5:  
Esquema Método por HPLC

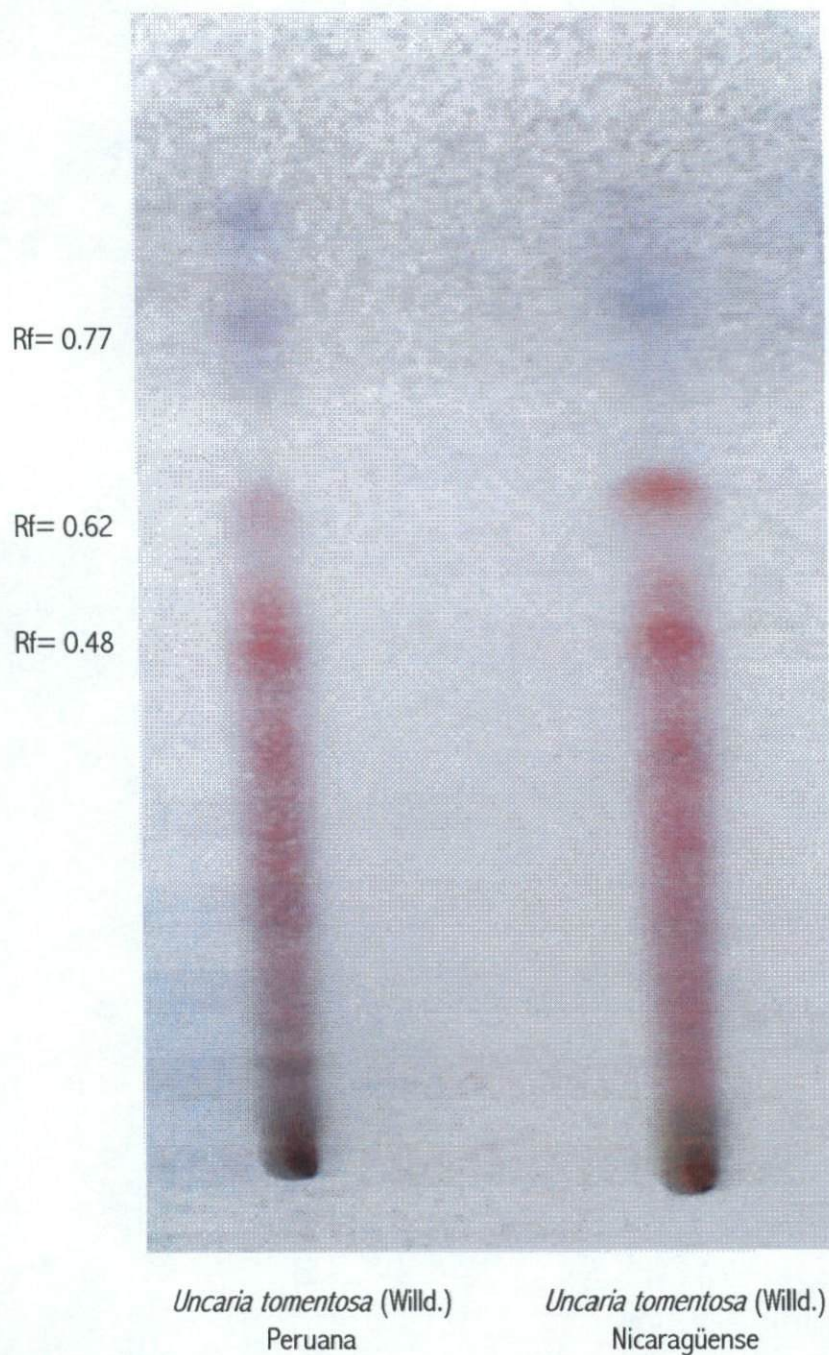


Anexo 6:

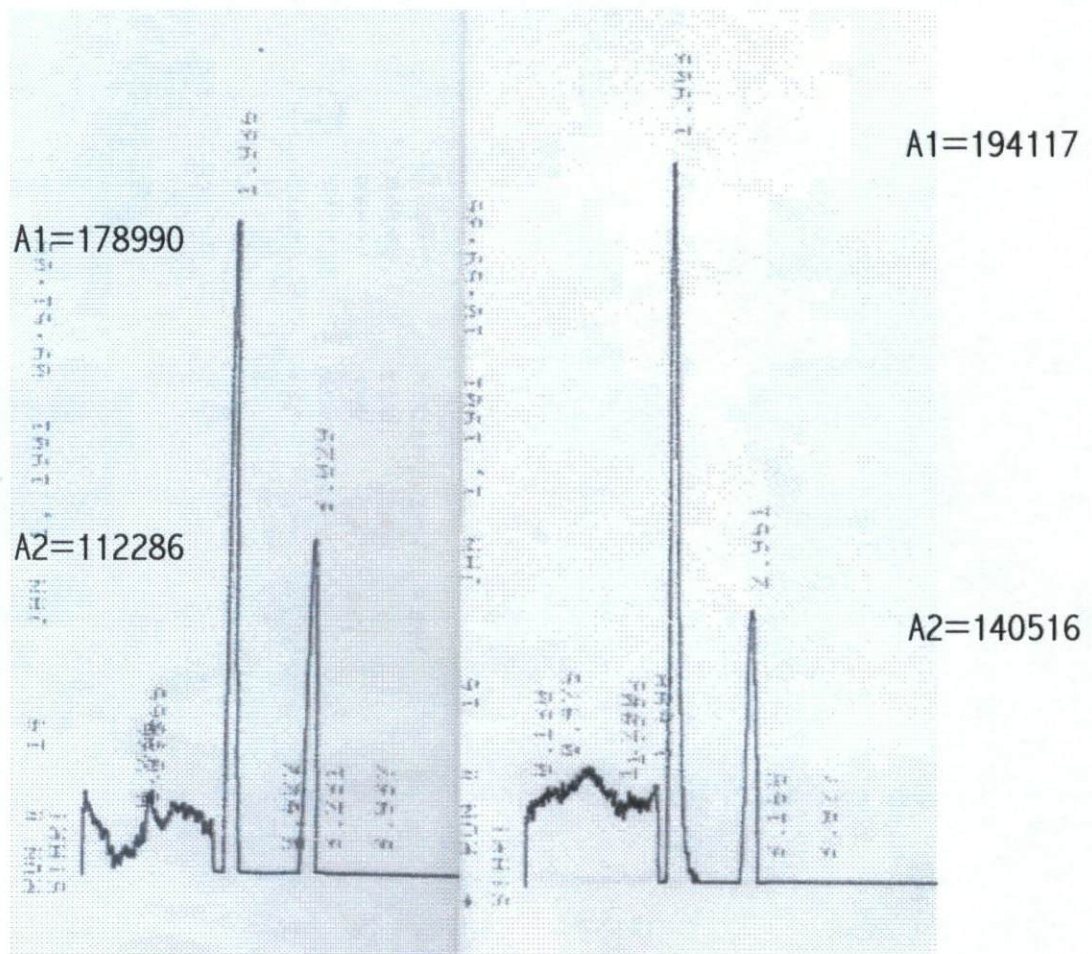
Valoración en Medio No Acuoso



Anexo 7:  
Cromatografía en Capa Fina (CCF)



Anexo 8:  
Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC)



*Uncaria tomentosa* (Willd.)  
Peruana

*Uncaria tomentosa* (Willd.)  
Nicaragüense

Anexo 9:  
Comparación porcentual de Alcaloides Totales.

