

HAMAMELIS, hoja
Hamamelidis folium

La droga vegetal está constituida por las hojas secas, enteras o fragmentadas de *Hamamelis virginiana* L., conteniendo, como mínimo, 3% de taninos, expresados como pirogalol (C₆H₆O₃; 126,11).

IDENTIFICACIÓN

Descripción macroscópica

La hoja es cortamente peciolada, con pecíolo de 1 a 1,5 cm de longitud. La lámina foliar es rugosa, presenta coloración pardo-verdusca a pardo-acastañada en la cara adaxial y verde clara en la cara abaxial, mide 7 a 15 cm de longitud y 6 a 10 cm de ancho, es ovalada u ovalado-romboidal, con base asimétricamente cordada, ápice agudo, algunas veces obtuso y margen sinuoso, groseramente crenada a dentada. La nerviación es penninervia, con nervadura principal prominente en la cara abaxial, nervaduras secundarias alternas y rectilíneas, terminando en los dientes de las márgenes sin unirse, nervaduras terciarias y cuaternarias más finas y anastomosadas, confiriendo aspecto reticulado al limbo. Hojas jóvenes con tricomas estrellados, visibles con lente de aumento.

Descripción microscópica

La lámina foliar es hipoestomática y de simetría dorsiventral. La epidermis, en vista superficial, en ambas caras, presenta células con paredes periclinales sinuosas, estomas paracíticos y tricomas estrellados, de paredes espesas. En sección transversal, la epidermis es uniestratificada en ambas caras y los estomas se encuentran en el mismo nivel de las demás células epidérmicas; la cutícula es delgada. El mesófilo está formado por una capa de células en empalizada, hacia la cara adaxial, seguida por 4 a 6 capas de células de parénquima esponjoso. Astroesclereidas atraviesan el mesófilo, que pueden llegar de una epidermis a otra. Los haces vasculares de menor calibre y de la nervadura principal se presentan rodeados por una vaina con cristales prismáticos y, generalmente, presentan fibras esclerenquimáticas o esclereidas asociadas a los tejidos vasculares.

Descripción microscópica del polvo

El polvo cumple con todas las exigencias establecidas para la especie, menos los caracteres macroscópicos. Son características: coloración verde-acastañada; tricomas con paredes espesas y lumen visible, agrupados por la base formando un mechón (tricomas estrellados); fragmentos de la cara adaxial de la epidermis en vista superficial con células de paredes espesas y contorno ondulado a sinuoso; fragmentos de la cara abaxial de la epidermis en vista superficial con células de paredes espesas de contorno recto a ondulado y estomas de tipo paracítico, principalmente; grupos de fibras esclerenquimáticas septadas, con paredes levemente espesadas y rodeadas por una vaina de idioblastos con cristales prismáticos de oxalato de calcio y esclereidas; vasos xilemáticos del tipo anular o reticulado asociados a fibras lignificadas, vaina de idioblastos con cristales prismáticos y esclereidas o cristales prismáticos y esclereidas aislados; cristales prismáticos de formas variadas; células parenquimáticas con cloroplastos aislados; fragmentos mayores verde-acastañados, en vista superficial, mostrando la región de las nervaduras con cristales prismáticos y el parénquima esponjoso con células de forma irregular y grandes espacios intercelulares.

Cromatografía

Proceder conforme lo descrito en *Cromatografía en capa fina* en *Métodos generales*.

Fase estacionaria: sílica gel GF₂₅₄ (0,25 mm)

Fase móvil: acetato de etilo:tolueno:ácido fórmico:agua (6:2:2:1,5).

Solución muestra: pesar 1,0 g de la droga vegetal, adicionar 10 mL de metanol y llevar a baño maría durante 10 minutos. Filtrar, secar el extracto en baño maría a sequedad. Resuspender el residuo en 1 mL de metanol y proceder al análisis cromatográfico.

Solución referencia 1: disolver una cantidad suficiente, exactamente pesada, de ácido gálico en metanol, para obtener una concentración de 1 mg/mL.

Solución referencia 2: disolver una cantidad exactamente pesada de hamamelitanino en metanol, para obtener una concentración de 1 mg/mL.

Revelador: solución de cloruro férrico (1g/100 mL de etanol).

Procedimiento: aplicar en la placa, separadamente, en forma de banda, 10 µL de la *Solución muestra*, 10 µL de la *Solución referencia 1* y 10 µL de la *Solución referencia 2*, y desarrollar el cromatograma. Remover la placa, dejar secar al aire. Nebulizar con *Revelador* hasta la aparición de zonas de coloración azul grisácea.

Resultado: la secuencia de zonas obtenidas con la *Solución referencia 1*, *Solución referencia 2* y la *Solución muestra* debe coincidir con el esquema que se encuentra a continuación. Ocasionalmente pueden aparecer otras zonas.

Parte superior de la placa		
Ácido gálico: zona de coloración azul-grisácea		Zona de coloración azul-grisácea
	Hamamelitanino: zona de coloración azul-grisácea	Zona de coloración verde Zona de coloración azul-grisácea
Solución referencia 1	Solución referencia 2	Solución muestra

ENSAYOS DE PUREZA

Materia extraña: Límite máximo 7%.

Pérdida por desecación: Límite máximo 14%.

Cenizas totales: Límite máximo 7%.

Cenizas insolubles en ácido: Límite máximo 2%.

ENSAYOS DE CONTAMINANTES

Residuos de Agrotóxicos/Agroquímicos: debe cumplir con los requisitos.

Metales tóxicos y arsénico: debe cumplir con los requisitos.

ENSAYO MICROBIOLÓGICO

Microorganismos: debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Taninos totales

Proceder según Espectrofotometría de absorción UV/Vis conforme a lo descrito en *Métodos Generales*.

Nota: Efectuar todas las operaciones de extracción y dilución al abrigo de la luz. Utilizar agua destilada libre de dióxido de carbono en todas las operaciones.

Solución muestra (SM): pesar exactamente alrededor de 0,750 g de la droga vegetal pulverizada y transferir a un erlenmeyer de 250 mL. Adicionar 150 mL de agua destilada hirviendo. Llevar a baño maría por 30 minutos. Enfriar en agua corriente y transferir a un balón volumétrico de 250 mL. Los residuos de la muestra deben ser lavados y transferidos al balón volumétrico. Posteriormente, diluir la solución a 250 mL con agua destilada, dejar en reposo para que los sólidos precipiten. Filtrar en papel de filtro 125 mm de diámetro. Descartar los primeros 50 mL del filtrado.

Solución para polifenoles totales: transferir 5,0 mL de la solución muestra SM a un matraz aforado de 25,0 mL y llevar a volumen con agua destilada. Transferir 2,0 mL de esta solución, 1,0 mL de reactivo fosfomolibdotúngstico, 10,0 mL de agua destilada a un matraz de 25,0 mL y llevar a volumen con una solución 10,6% de carbonato de sodio anhidro R. Después de 30 minutos, medir la absorbancia a 760 nm (A_1), usando agua destilada como blanco.

Solución para polifenoles no adsorbidos por polvo de piel: a 10,0 mL de la solución muestra SM, agregar 0,10 g de polvo de piel y agitar vigorosamente por 60 minutos. Filtrar con papel de filtro de 125 mm de diámetro. Transferir 5,0 mL del filtrado a un matraz de 25,0 mL y llevar a volumen con

agua destilada. Transferir 2,0 mL de esta solución, 1,0 mL de reactivo fosfomolibdotúngstico, 10,0 mL de agua destilada a un matraz de 25,0 mL y llevar a volumen con una solución 10,6% de carbonato de sodio anhidro R. Después de 30 minutos, medir la absorbancia a 760 nm (A_2), usando agua destilada como blanco.

Solución patrón: pesar 50,0 mg de pirogalol y transferir inmediatamente a un matraz de 100,0 mL, disolver y llevar a volumen con agua destilada. Transferir 5,0 mL de la solución a un matraz de 100,0 mL y llevar a volumen con agua destilada. Transferir 2,0 mL de esta solución, 1,0 mL de reactivo fosfomolibdotúngstico, 10,0 mL de agua destilada a un matraz de 25,0 mL y llevar a volumen con una solución 10,6% de carbonato de sodio anhidro R. Después de 30 minutos, medir la absorbancia a 760 nm (A_3), usando agua destilada como blanco.

Calcular el porcentaje de taninos, expresados en pirogalol, utilizando la siguiente fórmula:

$$TT (\%) = \frac{62,5 \times (A_1 - A_2) \times m_2}{A_3 \times m_1}$$

donde:

TT = taninos totales expresados como pirogalol % (p/p);

A_1 = absorbancia de la *Solución para polifenoles totales*;

A_2 = absorbancia de la *Solución para polifenoles no adsorbidos en polvo de piel*;

A_3 = absorbancia de la *Solución patrón*;

m_1 = masa (g) de la muestra, considerando la pérdida de agua;

m_2 = masa de pirogalol, en gramos.

ACONDICIONAMIENTO Y ALMACENAMIENTO

En recipiente herméticamente cerrado, protegido de la luz y del calor.

ROTULADO

De acuerdo a la legislación vigente.

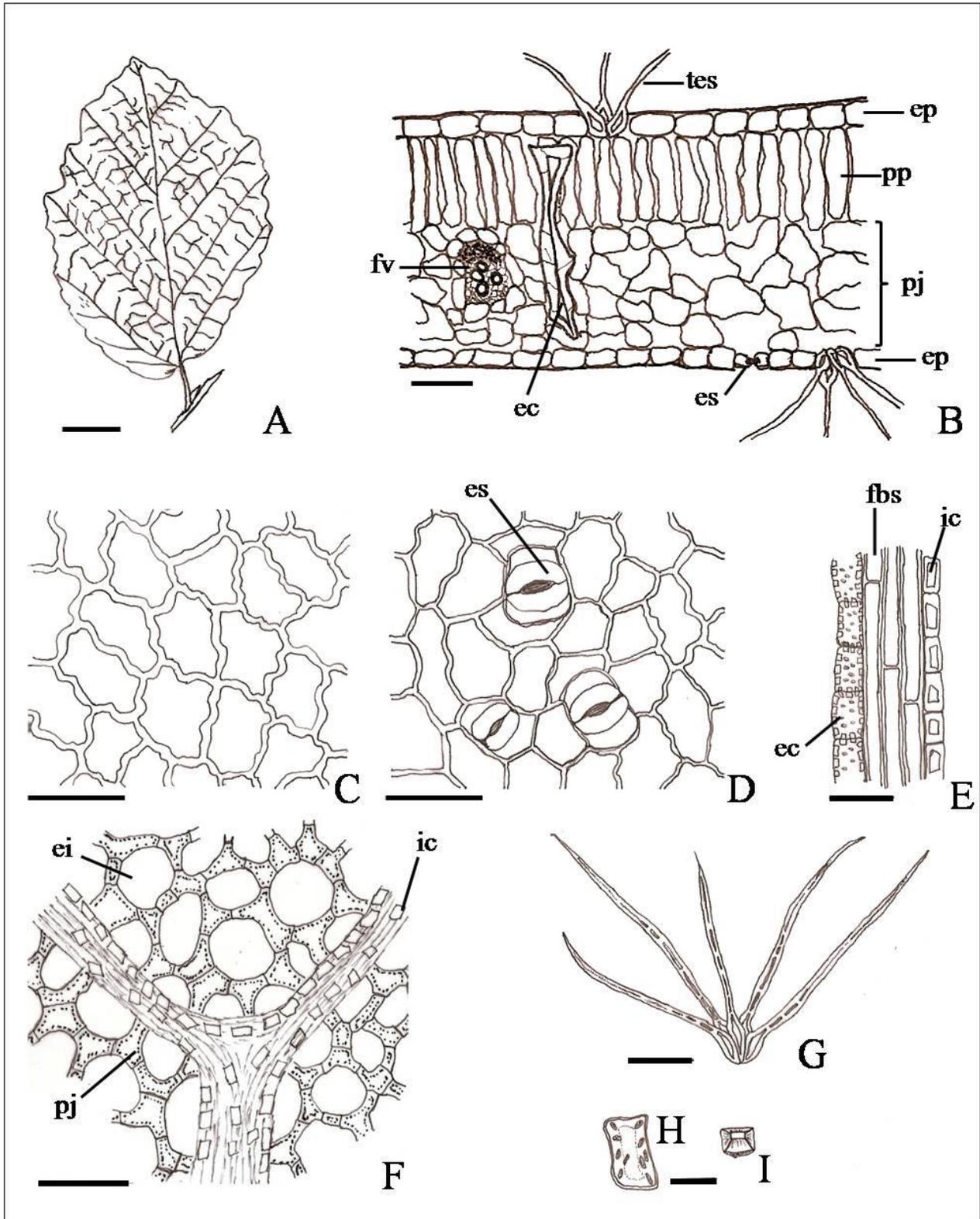


Figura 1. Aspectos macroscópicos, microscópicos y microscópicos del polvo en *Hamamelis virginiana* L.

Complemento de la legenda de la **Figura 1**. Las escalas corresponden en **A** a 1 cm; **B** y **E** a 100 μm ; **C, D, F y G** a 50 μm ; **H-I** a 20 μm .

A - aspecto general de la hoja en vista frontal. **B** - detalle de la porción de la lámina foliar en sección transversal: epidermis (ep); estoma (es); esclereida (ec); haz vascular (fv); parénquima palizádico (pp); parénquima esponjoso (pj); tricomas estrellados (tes). **C** - vista parcial frontal de la epidermis de la cara adaxial con células de paredes espesas y sinuosas. **D** - detalle de la porción de la epidermis volteada para la cara abaxial con células de paredes rectas a sinuosas y mas delgadas que las de la cara adaxial; estoma paracítico (es). **E** - fragmento del haz de fibras septadas (fbs) con idioblastos cristalíferos (ic) y esclereidas (ec). **F** - vista frontal del fragmento de la hoja mostrando una nervación con idioblastos cristalíferos (ic) y parénquima esponjoso (pj) con espacios intercelulares (ei). **G** - tricoma estrellado de paredes espesadas. **H** - célula del parénquima palizádico con cloroplastos. **I** - cristal prismático aislado.