



# Métodos extractivos y aislamiento de ácido aristolóquico a partir de matrices naturales.

María Cumandá Toral Tello <sup>1</sup>, Lorena Viviana Mora Bravo <sup>2</sup>

1. Carrera de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad De Cuenca, Cuenca-Ecuador.

## Resumen

**Recibido:** Diciembre 30, 2023.

**Aceptado:** Enero 23, 2024.

**Publicado:** Febrero 20, 2024.

**Editor:** Dr. Salvador Magaña Mercado.


### Como citar:

Toral M, Mora L. Métodos extractivos y aislamiento de ácido aristolóquico a partir de matrices naturales. REV SEN 2024;12(1):32-40.

DOI: <http://doi.org/10.56867/70>

Sociedad Ecuatoriana de Nefrología, Diálisis y Trasplantes.

ISSN-L: 2953-6448

 Copyright 2024, María Toral, Lorena Mora. This article is distributed under the [Creative Commons CC BY-NC-SA 4.0 Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/), which allows the use and redistribution citing the source and the original author for non-commercial purposes.

**Introducción:** Las plantas pertenecientes al género *Aristolochia* contienen niveles significativos de ácidos aristolóquicos, tanto del tipo I como del tipo II, los cuales están asociados con el desarrollo de nefropatía y cáncer uroendotelial y vesical. Este estudio se enfoca en la determinación de métodos extractivos y de aislamiento de ácido aristolóquico a partir de matrices naturales de *Aristolochia*, con el objetivo de obtener un extracto estandarizado de la planta.

**Métodos:** Para llevar a cabo la investigación, se seleccionaron muestras del bejuco de Zaragoza (*Aristolochia*) provenientes de las ciudades de Puyo y Macas-Ecuador. Se emplearon técnicas de extracción con fluidos supercríticos y extracción asistida con ultrasonido, utilizando metanol como solvente. Posteriormente, se identificaron los metabolitos obtenidos mediante cromatografía en capa fina (TLC) para verificar la presencia de ácido aristolóquico en las muestras analizadas.

**Resultados:** Los resultados obtenidos indicaron que el ácido aristolóquico presenta un factor de retención en rangos de R<sub>f</sub> 0.61-0.77. Estos resultados fueron visibles a través de bandas de coloración amarilla bajo luz blanca, oscura o gris bajo luz UV de 254 nm, y coloración negra con un halo amarillo bajo luz UV de 366 nm. Estas características permitieron evidenciar de manera concluyente la presencia de ácido aristolóquico en las muestras analizadas.

**Conclusión:** Este estudio ha proporcionado métodos efectivos para la extracción y aislamiento de ácido aristolóquico de plantas del género *Aristolochia*. Los resultados obtenidos mediante cromatografía en capa fina han confirmado la presencia de este compuesto en las muestras analizadas, lo cual respalda la preocupación por la toxicidad de estas plantas medicinales. Estos hallazgos subrayan la importancia de la estandarización de extractos de *Aristolochia* y resaltan los riesgos asociados con su uso en la salud humana.

## Palabras clave:

Ácido Aristolóquico, Maceración, *Aristolochia*, Fluidos Supercríticos, Ultrasonido, Cromatografía en Capa Fina.

\* Autor de correspondencia



# Methods for extracting and isolating aristolochic acid from natural matrices.

## Abstract

**Introduction:** Medicinal plants from the *Aristolochia* genus have traditionally been employed to treat various pathologies. However, these plants are known to contain substantial quantities of aristolochic acids, both type I and II, which have been linked to the development of nephropathies and high-risk cancers due to their inherent toxicity. Thus, using these plants is considered a severe health risk for individuals.

**Methods:** This study aimed to identify effective extraction and isolation methods for aristolochic acid-desired natural matrices to obtain a standardized extract of the *Aristolochia* plant, *Zaragoza liana* (*Aristolochia*) from Puyo and Macas, Ecuador, was selected for analysis. The extraction methods employed included supercritical fluids and ultrasound-assisted extraction, with methanol as the solvent. Subsequently, the metabolites were analyzed using thin-layer chromatography (TLC) to confirm the presence of aristolochic acid.

**Results:** The results revealed that aristolochic acid exhibited a retention factor within Rf 0.61-0.77. These results were observable through yellow-colored bands under white light, which appeared dark or gray under UV light at 254 nm, and that the products displayed black coloration with a yellow halo under UV light at 366 nm. These distinctive characteristics provided conclusive evidence of the presence of aristolochic acid in the analyzed samples.

**Conclusion:** This study established effective methods for extracting and isolating aristolochic acid from *Aristolochia* plants. The results obtained through thin-layer chromatography confirmed the presence of this compound in the analyzed samples, underscoring the concern regarding the toxicity associated with medicinal plants. These findings emphasize the importance of standardizing *Aristolochia* extracts and highlight the potential risks linked to their consumption for human health.

## Keywords:

**MESH:** Aristolochic Acid, Maceration, *Aristolochia*, Supercritical Fluids, Ultrasound, Thin Layer Chromatography.

Las enfermedades renales se han convertido en un problema de salud muy serio, siendo la nefrotoxicidad una de sus causas más recurrentes en los ingresos hospitalarios. Asociados comúnmente al uso tanto de fármacos como de medicina tradicional a base de hierbas, debido a que el órgano principal que actúa en la detoxificación del organismo es el riñón [1].

De manera tradicional algunas especies han sido identificadas como medicinales siendo utilizadas sin el conocimiento de los metabolitos, lo que pueden dar lugar a una posible enfermedad renal tubulointersticial [2].

El ácido aristolóquico es un compuesto natural que se encuentran en plantas herbáceas del género *Aristolochia* que contiene diferentes componentes tóxicos como son ácido aristolóquico tipo I (

AA-I) y ácido aristolóquico tipo II (AA-II). Este género es muy empleado en la medicina tradicional, con el fin de tratar distintas enfermedades por sus beneficios conocidos como agente anti-inflamatorio, analgésico, expectorante, antibacteriano, entre otros. Sin embargo, se ha logrado determinar que además de sus propiedades farmacológicas este puede ser causante de nefrotoxicidad y carcinogénesis, debido principalmente a la administración a largo plazo [3, 4].

Mediante estudios se conocen varios métodos de extracción e identificación aplicados sobre la fuente natural de ácido aristolóquico en diferentes países como China, Sudán, Brasil, Chile, Rusia, etc., sin embargo en ninguno se determina cual es el método de extracción adecuado para obtener el ácido aristolóquico de manera eficaz, es por

esto que en este trabajo se busca comparar dos de los métodos más mencionados en la literatura, para conocer con cual de estos métodos de extracción se obtiene una mejor concentración de metabolitos, dentro de ellos el ácido aristolóquico.

## Materiales y métodos

### Diseño del estudio

Este proyecto está basado en un diseño práctico que tiene como fin extraer y aislar el ácido aristolóquico de matrices naturales del género *Aristolochia* por métodos comunes como maceración, además de emplear métodos de extracción más avanzados y amigables con el medio ambiente como son: maceración asistida por ultrasonido y fluidos supercríticos. Buscando determinar que método me servirá para obtener mayor cantidad de ácido aristolóquico.

### Reactivos y Equipos

**Tabla 1.** Equipo y reactivos utilizados.

Reactivos	Equipos
Metanol	Baño de ultrasonido Branson 8893, Estados Unidos
Cloroformo	Rotavapor marca Laborota 4000 Efficient de Heidolph ® (Schwabach, Alemania)
Ácido acético	Biofreezer Fisher Scientific ® R134A (Massachusetts, Estados Unidos)
Ácido clorhídrico	Liofilizador, FreeZone 2.5 de LABCONCO ®, (Kansas, Estados Unidos)
Cloruro de estaño Dihidratado.	Equipo de fluido supercrítico, marca Waters ®, modelo MV10 (Milford, Estados Unidos)
Agua tipo 2	Horno utility, modelo 61305 VWR,
Nitrógeno gaseoso grado 3	CAMAG ® TLC Visualizador.
Dióxido de carbono, marca Linde (Alemania).	
Reactivo de Dragendorff	

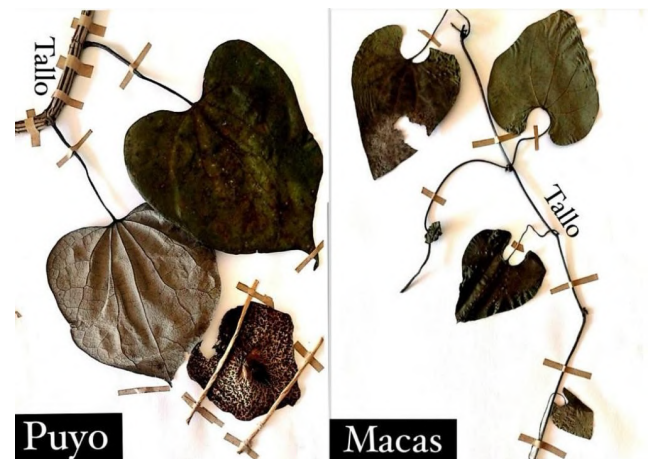
### Recolección de materia vegetal

Las muestras vegetales a estudiar se tratan de la especie *Aristolochia* sp, conocida como bejuco de la Zaragoza, las mismas fueron recolectadas en las provincias de Pastaza (Puyo) y Morona Santiago (Macas) en la zona oriental del Ecuador.

Las muestras de bejuco se encontraron como enredaderas cultivadas de manera doméstica. En el muestreo se recolectó la parte aérea (tallos y hojas) de dos diferentes muestras de bejuco de Zaragoza. Para el análisis se recolectó aproximadamente 150 g de muestra fresca, tomando en cuenta que las plantas que se encuentren entre la edad joven y madura, presenten mejores características como color, tamaño, sin signos de deterioro (quemazón foliar, manchas foliar), entre otros. Se logró observar que las muestras presentaban

diferencias en cuanto al grosor del tallo y en tamaño de las hojas siendo más grueso el tallo y más grande las hojas de la planta recolectada en Puyo (Figura 1).

**Figura 1.** Hojas y tallo de las muestras de Puyo y Macas.



### Preparación de la muestra vegetal

La muestra fresca se llevó al laboratorio de Plantas Medicinales y Productos Naturales del departamento de Biociencias de la Universidad de Cuenca para realizar la selección y secado de las partes que se analizarán. Inicialmente se pesó cada una de las muestras para proceder a escoger las partes sin deterioro. Luego se inició con el lavado de las plantas con agua potable y se escurrió esto por 3 veces y por último se colocó por 10 minutos en agua destilada y se escurrió nuevamente. Después de esto se colocó sobre la malla cubierta con papel absorbente para quitar el exceso de agua y por último en las mallas del secador eléctrico cubiertas con papel periódico de manera esparcida y separada para que haya un adecuado flujo de aire y el secado sea uniforme a una temperatura de 48°C. Se revisó a las 48 horas para verificar el estado del secado de las muestras y a las 72 horas se procedió a sacar las muestras del secador eléctrico.

### Trituración de la muestra

Para comenzar con la trituración, se pesó cada una de las muestras secas y se procedió a realizar la trituración en una licuadora de marca Oster. El proceso consiste en colocar una parte de la materia seca en la licuadora por 10 segundos y se apaga se espera un momento y se repite el procedimiento tres veces. Posterior se pasó por un cernidor de luz de malla pequeña y se almacena en una bolsa plástica hermética, este proceso se realiza hasta que esté triturada y tamizada toda la muestra. En el caso de los tallos estos se trocea hasta dejarlos en un tamaño aproximado de 1 a 3 mm. Una vez triturada y tamizada las dos muestras por completo se pesó nuevamente cada una obteniendo un peso seco final para la muestra de Puyo y Macas, que se les denominará T01 y T02 respectivamente. Se almacenó en congelación a -80°C.



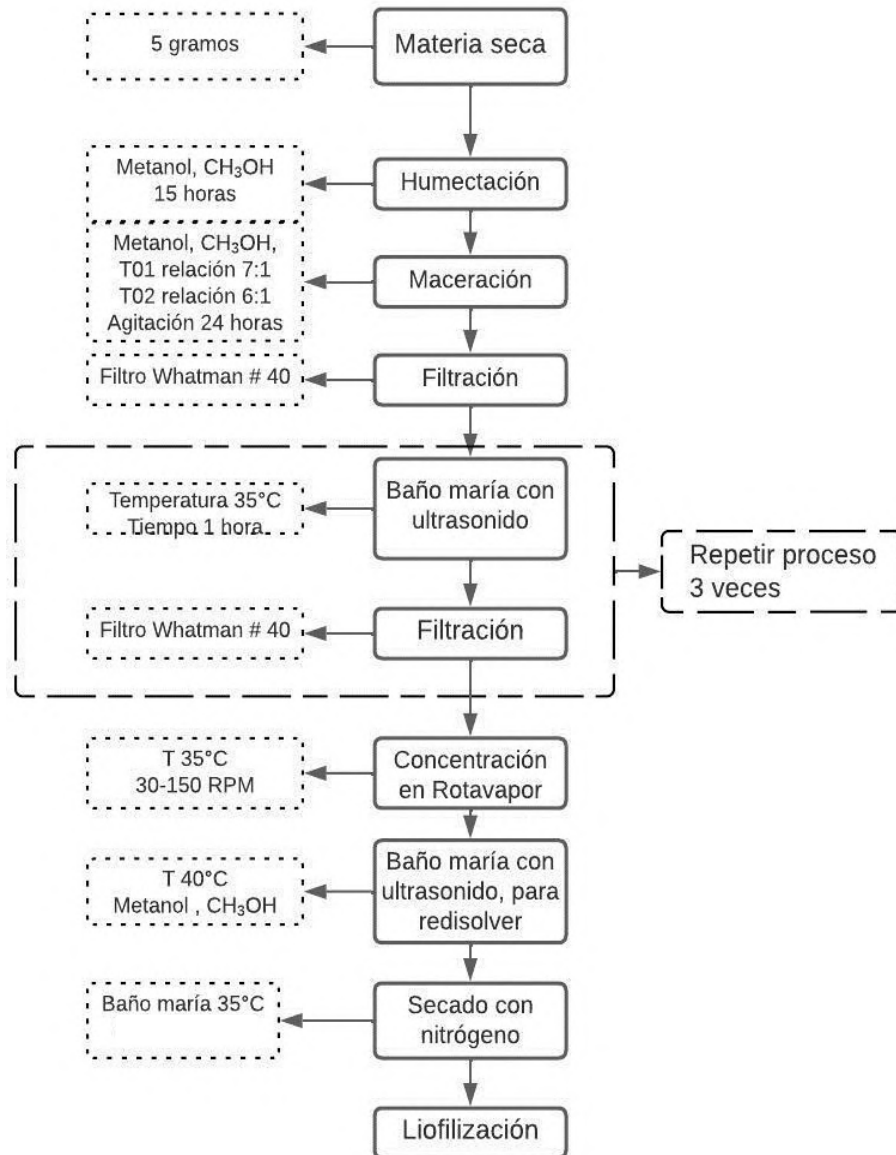
### Proceso de extracción

Este proceso constó de tres fases para obtener el concentrado final de metabolitos, una fase de extracción, la segunda de concentración, y por último la fase liofilización que ayudará a la conservación de la muestra.

En la primera fase se empleó dos técnicas que consiste en una maceración asistida por ultrasonido con una previa humectación de la muestra. La maceración se realiza con agitación para aumentar la

adecuada superficie de contacto, esto sirve para remover los metabolitos presentes en las plantas, la sonicación se emplea para aumentar el contacto del solvente con los componentes y por ende aumentar la cantidad de metabolitos.

La segunda fase consiste en la concentración de metabolitos evaporando el solvente por medio de una destilación para luego condensarla, y la tercera fase consiste en realizar un proceso de liofilización que va a deshidratar la muestra y ayuda en su



extracción de metabolitos, utilizando un solvente polar que es el metanol de tipo análisis en cantidad suficiente que permita una

conservación para su posterior almacenaje (Figura 2).

**Figura 2.** Diagrama de proceso de extracción y concentración de metabolitos



### Proceso de liofilizado

El tubo para liofilizar que contiene el extracto con agua se llevó a congelar en el biofreezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Se inicia colocándolo en forma horizontal por 5 min, luego de este tiempo se giró el tubo y se lo dejó por 3 min, se giró nuevamente por 3 o 2 min y se repitió el proceso, pero disminuyendo el tiempo entre giro y giro hasta que se haya congelado completamente en forma circular pegado a las paredes del tubo. Se dejó durante 2 horas en congelación, y por último se llevó los tubos al equipo liofilizador, empleado las condiciones de liofilización que fueron a una presión de 0.090 mBar y una temperatura de  $-52^{\circ}\text{C}$ .

### Extracción con fluidos supercríticos

Para la extracción se utilizó el equipo de fluidos super críticos siguiendo el Procedimiento Normalizado de Trabajo establecido en el Laboratorio de Fitoquímica del grupo de Plantas Medicinales de la Universidad de Cuenca, que emplea como solvente no polar dióxido de carbono, con una pureza de 99.99%. En un inicio se pesó 2,3 g de cada muestra que se colocó en las celdas, se acomodó la celda en el portamuestra conectado con los puertos. Para la extracción se empleó un método automático, donde el co-solvente polar fue metanol grado HPLC con un flujo de 0.5ml/min que representa el 10% del flujo, y el  $\text{CO}_2$  tuvo un flujo de 4.5ml/min; a una temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$ , con una presión de 200 bar. La extracción se dió en modo dinámico por 20 min, estático por 30 min y nuevamente dinámico por 10 min, por dos ciclos, obteniendo como tiempo de extracción de 120 min. Se recolectó la muestra en tubos tapa rosca, para posteriormente concentrar con nitrógeno hasta dejar aproximadamente 4 ml de muestra, y se almacenó en refrigeración.

### Identificación de ácido aristolóquico

#### Cromatografía en capa fina

Para identificar la presencia de ácido aristolóquico de los extractos obtenidos de los bejuco de la Zaragoza se empleó un proceso del Laboratorio de Fitoquímica de la Universidad de Cuenca, basado en la metodología de para TLC de [5], la cual se modificó con el fin de poder observar de mejor manera la presencia del ácido aristolóquico. Se prepararon placas de gel de sílice 60 F254 de longitud de 5 x 10 cm con respaldo de vidrio y de plástico, se las activó en el Horno Utility a una temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$  por 1 hora. Se preparó dos fases móviles, la primera fue de cloroformo:metanol (6:1) y la segunda fase fue cloroformo:metanol:ácido acético (90:8:2), las cuales acondicionaron por 30 min antes, dentro de la cámara, además se usó como reveladores el reactivo de Dragendorff y reactivo de cloruro de estaño ( $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Después de revelado con  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  se lo colocó en la estufa a  $100^{\circ}\text{C}$  de 10 a 15min. Se observa a luz blanca, a 254 nm y 366 nm utilizando el equipo CAMAG® TLC Visualizador.

### Análisis de datos

Cabe recordar que las condiciones en las que se identificó principalmente la presencia de ácido aristolóquico son la coloración amarilla bajo luz blanca, una coloración oscura gris o negra bajo luz UV a 254 nm y una coloración negra con un halo amarillo a 366 nm que conducen a un rango de Rf entre 0.53 - 0.80 [5-9].

## Resultados

### Datos de recolección

La especie de bejuco de Zaragoza se recolectaron en lugares distintos para realizar una comparación de la presencia de ácido aristolóquico, por lo que se le llamará T01 a la muestra de Puyo y T02 a la muestra de Macas (Tabla 2).

Tabla 2. Datos geográficos del lugar de recolección.

	T01	T02
Sector	Siguín, víaMacas	Barrio la florida
Longitud	-77.907296	-78.122302
Latitud	-1.545143	-2.287472
Elevación	983.3 m.s.n.m	1063.7 m.s.n.m.
Temperatura	$25^{\circ}\text{C}$	$23^{\circ}\text{C}$
Fecha de recolección	02-03-2023	02-03- 2023

### Secado de las muestras de bejuco de la Zaragoza

Las muestras frescas inicialmente pesaron 176.34 g para T01 y 156.57 g para T02 que después del proceso de secado dio como resultado un peso seco de 72.25 y 39.26 g para T01 y T02 respectivamente. Esto pudo deberse a que el porcentaje de humedad que presentó cada muestra tuvo una notable variación del 15%. Siendo mayor el contenido de humedad en la muestra obtenida en la ciudad de Macas con 75% de humedad que de la muestra de Puyo con 60% de humedad, pudiendo deberse a la madurez de las plantas que se definió por las características como son las flores, el grosor del tallo y tamaño de las hojas. En general, el rango de humedad observado concuerda con un estudio realizado por [10], donde menciona que en hojas y tallos jóvenes y tomados al azar presentan un contenido de humedad entre 60-80%, conteniendo mayor humedad las hojas y tallos jóvenes.

### Rendimiento de extracción de bejuco de Zaragoza obtenida por maceración asistida con ultrasonido frente a rendimiento de extracción por fluidos supercríticos

El rendimiento de extracto obtenido por maceración asistida con ultrasonido de la muestra T02 tuvo mayor porcentaje que la muestra T01, ya que de 10 g de muestra seca se obtuvo 11.9% y 7.1% g de extracto liofilizado, respectivamente. De la misma manera, se observa que el rendimiento obtenido después de la extracción por fluidos supercríticos de 2,3 g resulta 10% y 15.2 % para los extractos de T01 y T02, según corresponda, luego de reducir con nitrógeno gaseoso la muestra. Con estos resultados se puede mencionar que la extracción con fluidos supercríticos muestra un mejor rendimiento en comparación con la maceración asistida por ultrasonido. Por lo tanto,



la extracción por fluidos supercríticos es más eficiente que la maceración asistida por ultrasonido.

### Identificación por Cromatografía en capa fina

Se determinó la presencia de ácido aristolóquico mediante la coloración que mostró este metabolito, un color amarillo a luz visible, oscura o gris a luz UV de 254 nm y negra con un halo amarillo a luz UV de 366 nm, misma que se observa en las imágenes, esta coloración fue comparada con la literatura de estudios aplicados a diferentes especies de *Aristolochia*.

Al emplear la mezcla de cloroformo:metanol:ácido acético como fase móvil, a partir de los extractos obtenidos por fluidos supercríticos, se observó la presencia de una coloración oscura con un halo amarillo a una longitud de onda de 366 nm que puede significar la presencia de ácido aristolóquico, con un Rf de 0.63 y 0.66 para los extractos T02 y T01, respectivamente, que fueron revelados con cloruro de estaño dihidratado (Figura 3). Estos valores fueron similares para la placa revelada con el reactivo de dragendorff se obtuvo un Rf de 0.61 para T02 y Rf de 0.63 para T01. Sin embargo, cabe mencionar que la intensidad de color se observa más aumentada en el extracto T02 que en el extracto T01. Por otro lado, para los extractos obtenidos por maceración asistida por ultrasonido no se observó la presencia de bandas que representen ácido aristolóquico (Figura 4).

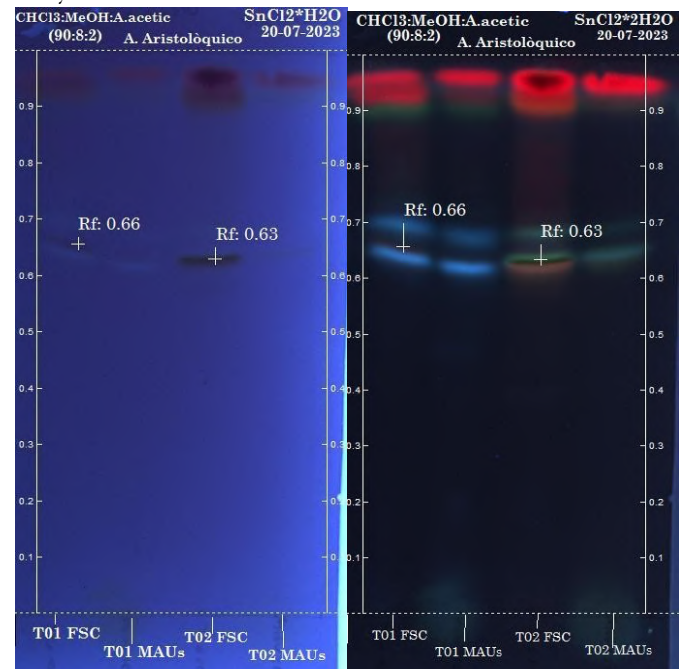
Para la segunda mezcla de fase móvil de cloroformo:metanol se presentó de igual manera la coloración oscura con halo amarillo. Sin embargo, a diferencia del anterior solo muestra un Rf 0.63 y 0.77 para el extracto T02 obtenido por fluido supercríticos revelada con cloruro de estaño dihidratado (Figura 5). Estos valores y la coloración fueron similares en la placa revelada con el reactivo de dragendorff con un Rf de 0.68 y 0.77 en el extracto T02 (Figura 6). En ambas placas se puede notar una coloración más intensa en el Rf de 0.77. De igual manera no se presentaron bandas en la extracción por maceración asistida con ultrasonido que indiquen la presencia de ácido aristolóquico.

## Discusión

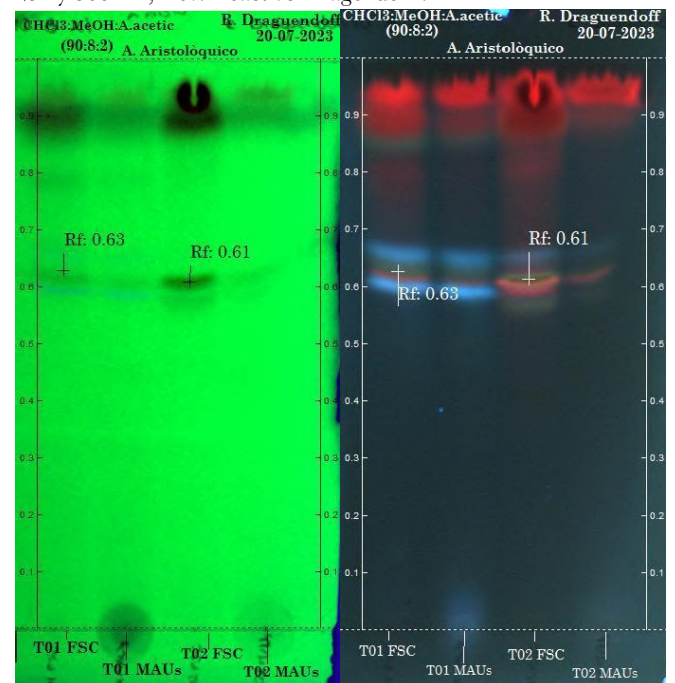
Este estudio tuvo por objetivo determinar el método de extracción e identificación adecuados para la obtención del ácido aristolóquico, a partir de la especie bejuco de Zaragoza. Se evaluó los métodos de maceración asistida por ultrasonido y fluidos supercríticos determinando el más óptimo por medio de la identificación del ácido aristolóquico por cromatografía en capa fina, utilizando dos mezclas de fases móviles diferentes.

En este proyecto se usa dos reveladores, el primero se trata del reactivo de dragendorff, el cual permitió la visualizar la presencia del metabolito. Sin embargo, la intensidad de la coloración fue menor que la del revelador de reactivo de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  que muestra una coloración más intensa, permitiendo una identificación más clara, demostrando así que el  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  permite una mejor visualización de las muestras.

**Figura 3.** TLC con fase móvil cloroformo:metanol:ácido acético a 254 y 366 nm. Rev.  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .



**Figura 4.** TLC con fase móvil cloroformo:metanol:ácido acético a 254 y 366 nm, Rev. Reactivo Dragendorff.



En cuanto al factor de retención resultó en un rango de Rf entre 0.61-0.77 que, al comparar con investigaciones de Dey, Blatter & Reich, Sudhakaran, Ioset, Abdelgadir, basadas en similares metodologías donde se concluye un rango de Rf entre 0.53 - 0.80.



En este estudio se observó que la muestra T02 obtenida por fluido supercrítico presenta en las dos fases móviles las condiciones que pueden indicar la presencia de ácido aristolóquico. Por otro lado, en la muestra T01 solamente se observa estas condiciones en la fase móvil cloroformo:metanol:ácido acético. Esto quiere decir que la presencia de bandas que indiquen el hallazgo del metabolito depende de varios factores como pueden ser el método de extracción, la naturaleza del compuesto, concentración del compuesto, así como su afinidad por la fase estacionaria y fase móvil [11].

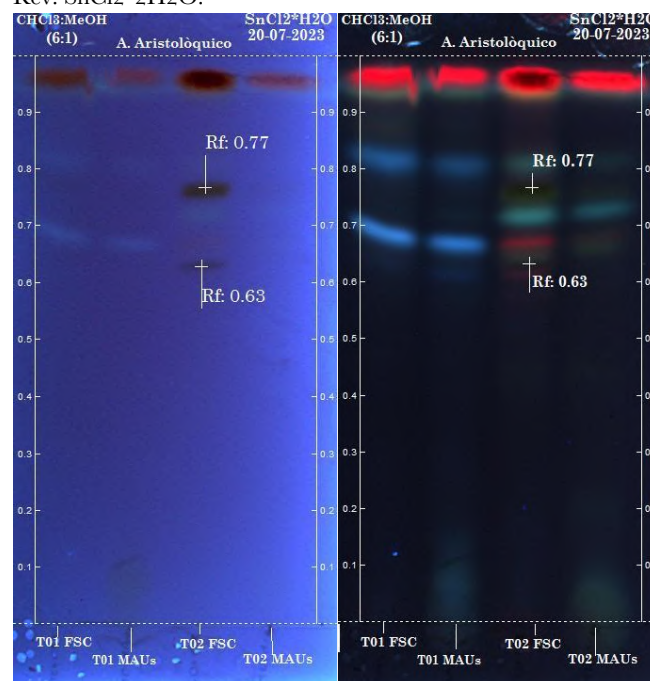
Es importante mencionar que la concentración de metabolitos varía dependiendo de la eficiencia del método de extracción. Puesto que, un método de extracción eficiente permite recuperar la mayor cantidad de metabolitos posibles de la muestra. Si la extracción es incompleta, los metabolitos pueden quedar atrás en la matriz de muestra y no se detectarán en concentraciones significativas [12].

Al realizar la extracción, solamente con fluidos supercríticos se pudo observar la presencia del metabolito en las placas de cromatografía de capa fina. Esto puede deberse a los parámetros que se emplea en este método, puesto que para la extracción se emplea un solvente apolar que es el dióxido de carbono CO<sub>2</sub>, que tiene una temperatura crítica de 31°C y una presión de 74 bar. Que al superar los puntos críticos de la presión y temperatura se logra obtener el fluido supercrítico, que presenta una densidad y viscosidad que permiten una mayor difusión del solvente por las membranas, produciendo un aumento en la penetración a los poros lo que conlleva de esta manera a obtener un gran rendimiento del extracto final. Además, se emplea un co-solvente que confiere cierta polaridad al fluido supercrítico, aumentando su capacidad como disolvente [13].

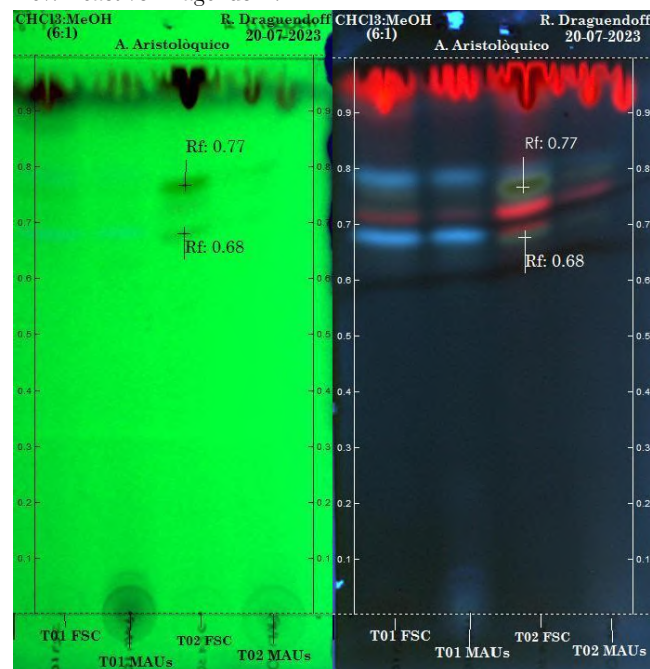
Por otro lado, la extracción por maceración asistida con ultrasonido emplea sonidos de alta frecuencia y potencia que van hasta 100 kHz, buscando desprender los compuestos de interés [12]. Para esto se debe tener en cuenta la temperatura, el tiempo de extracción, así como de la duración del ciclo de sonicación que se aplica, ya que esto es muy importante obtener mayor concentración de metabolitos, tomando en cuenta la sustancia que se desea extraer. Mismos que fueron tomados en cuenta en este estudio empleando tres ciclos de una hora a 40°C. Sin embargo, no se pudo evidenciar la presencia del metabolito de interés.

De acuerdo con los resultados obtenidos la ausencia de metabolitos en las placas de cromatografía en capa fina puede deberse principalmente al método de extracción, ya que un adecuado método de extracción puede purificar la muestra y eliminar compuestos no deseados. Así como, puede concentrar la muestra al eliminar solventes o diluyentes no deseados. Una muestra más concentrada puede producir bandas más intensas en la cromatografía [11].

**Figura 5.** TLC con fase móvil cloroformo:metanol a 254 y 366 nm. Rev. SnCl<sub>2</sub>\*2H<sub>2</sub>O.



**Figura 6.** TLC con fase móvil cloroformo:metanol a 254 y 366 nm, Rev. Reactivo Dragendoff.



Además, se menciona que la fase móvil en cromatografía influye significativamente en la presencia de bandas en una cromatografía en capa fina [11]. Ya que, debe ser capaz de disolver las sustancias esperadas. Si una sustancia es poco soluble en la fase móvil, puede no moverse adecuadamente a través de la placa y puede dar lugar a una



banda débil o ausente. Comparativamente con los resultados que se obtuvo en la fase móvil cloroformo:metanol, la ausencia de banda en la placa puede deberse a la concentración de metabolito, así como la afinidad que esta muestra tuvo con esta fase.

## Conclusión

En base al ensayo realizado se concluye que el método de extracción óptimo es el método de fluidos supercríticos, por las condiciones que se presentaron en las placas de cromatografía, haciendo sospechar de la presencia de ácido aristolóquico. Además, la fase móvil que muestra mejor afinidad fue la mezcla de cloroformo:metanol:ácido acético, junto con el revelador de cloruro de estaño dihidratado que permitió una mejor visualización de las bandas. Sin embargo, no se puede concluir el método de identificación idóneo debido a que para comprobar la presencia de ácido aristolóquico, además de las condiciones aplicadas, se requiere de un patrón de referencia.

### Abreviaturas

No aplica.

### Información suplementaria

Materiales suplementarios no han sido declarados.

### Agradecimientos

No aplica.

### Contribuciones de los autores

María Cumandá Toral Tello: Curación de datos, Análisis formal, Adquisición de fondos, Investigación, Metodología, Administración de proyecto, Recursos, Software, Escritura – borrador original.

Lorena Viviana Mora Bravo: Conceptualización, Supervisión, Validación, Visualización, Redacción: revisión y edición.

Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

### Financiamiento

El estudio fue financiado por la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

### Disponibilidad de datos o materiales

Los conjuntos de datos generados y analizados durante el estudio actual no están disponibles públicamente, pero pueden ser compartidos con una solicitud académica.

## Declaraciones

### Aprobación del comité de ética y consentimiento para participar

No aplica.

### Consentimiento para publicación

No se requiere para estudios que no publican fotografías de pacientes, tomografías, estudios de radiografías.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

### Información de los autores

No aplica.

## Referencias

1. Yang B, Xie Y, Guo M, Rosner MH, Yang H, Ronco C. Nephrotoxicity and Chinese Herbal Medicine. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018 Oct 8;13(10):1605-1611. doi: [10.2215/CJN.11571017](https://doi.org/10.2215/CJN.11571017). Epub 2018 Apr 3. PMID: 29615394; PMCID: PMC6218812.
2. Zhang Q, Luo P, Chen J, Yang C, Xia F, Zhang J, Tang H, Liu D, Gu L, Shi Q, He X, Yang T, Wang J. Dissection of Targeting Molecular Mechanisms of Aristolochic Acid-induced Nephrotoxicity via a Combined Deconvolution Strategy of Chemoproteomics and Metabolomics. *Int J Biol Sci*. 2022 Feb 21;18(5):2003-2017. doi: [10.7150/ijbs.69618](https://doi.org/10.7150/ijbs.69618). PMID: 35342337; PMCID: PMC8935225.
3. Fang L, Tian M, Row KH, Yan X, Xiao W. Isolation of aristolochic acid I from herbal plant using molecular imprinted polymer composited ionic liquid-based zeolitic imidazolate framework-67. *J Sep Sci*. 2019 Oct;42(19):3047-3053. doi: [10.1002/jssc.201900554](https://doi.org/10.1002/jssc.201900554). Epub 2019 Jul 31. PMID: 31313494.
4. Zhang M, Liu H, Han Y, Bai L, Yan H. A review on the pharmacological properties, toxicological characteristics, pathogenic mechanism and analytical methods of aristolochic acids. *Toxin Reviews* 2021;40(4):606-615. doi: [10.1080/15569543.2020.1811344](https://doi.org/10.1080/15569543.2020.1811344).
5. Abdelgadir AA, Ahmed EM, Eltohami MS. Isolation, Characterization and Quantity Determination of Aristolochic Acids, Toxic Compounds in *Aristolochia bracteolata* L. *Environ Health Insights*. 2011 Feb 27;5:1-8. doi: [10.4137/EHL.S6292](https://doi.org/10.4137/EHL.S6292). PMID: 21487531; PMCID: PMC3072213.
6. Dey A, Nongdam P, Nandy S, Mukherjee S, Mukherjee A, Tikendra L, Hazra K, Pandey D. Polyamine elicited aristolochic acid production in in vitro clonally fidel



- Aristolochia indica L.: An ISSR and RAPD markers and HPTLC based study. South African Journal of Botany 2021;140:326-335. doi: [10.1016/j.sajb.2020.06.018](https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.06.018).
7. Blatter A, Reich E. High Performance Thin-Layer Chromatographic Analysis of Aristolochic Acids in Chinese Drugs. JPC – Journal of Planar Chromatography – Modern TLC 2004;17(5):355-359. doi: [10.1556/JPC.17.2004.5.6](https://doi.org/10.1556/JPC.17.2004.5.6)
  8. Sudhakaran M. Pharmacognostic and HPTLC Fingerprint Profile of the Root of Aristolochia indica Linn. And Quantification of the Marker Compound. European Journal of Medicinal Plants. 2014;4(5):1113-1124. doi: [10.9734/EJMP/2014/9570](https://doi.org/10.9734/EJMP/2014/9570).
  9. Ioset J, Raelison G, Hostettmann K. Detection of aristolochic acid in Chinese phytomedicines and dietary supplements used as slimming regimens. Food and Chemical Toxicology, 2003;41(1):29-36. doi: [10.1016/S0278-6915\(02\)00219-3](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00219-3).
  10. Claro R, Ruiz N. Aceptación de una dieta artificial por larvas de la mariposa Battus polydamas polydamas (LEPIDOPTERA: PAPILIONIDAE). Acta Biol. Colomb 2010;15(1):47-62. Scielo: [v15n1a4](https://doi.org/v15n1a4)
  11. Miller J. Chromatography: Concepts and Contrasts, 2nd Edition 2009, ISBN: 978-0-470-53025-2.
  12. Azuola R, Vargas P. Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). Tecnología en marcha. 2007;20(4):30-40. [dialnet.unirioja.es/4835781](http://dialnet.unirioja.es/4835781)
  13. Páez M, Narváez C, Bermúdez L, Muñoz L, Gómez D, Carvalho C, Rico J. (2016). Guía de extracción por fluidos supercríticos: fundamentos y aplicaciones. ISBN: [978-958-15-0229-5](https://doi.org/978-958-15-0229-5).

**DOI:** Digital Object Identifier. **PMID:** PubMed Identifier.

---

## Nota del Editor

REV SEN se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales sobre mapas publicados y afiliaciones institucionales.

---