



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

“Estudio de la Composición Química del Tónico Amargo de la  
Corteza de Quina Roja (*Cinchona pubescens*)”

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO**

**PRESENTADO POR**

**CARMEN MARCELA CIFUENTES MENDEZ**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2013**

## DEDICATORIA

*Esta tesis es una parte de mi vida y comienzo de otras etapas por esto y más, la dedico a Dios, a mi hijo por ser mi fuerza y templanza, a mi madre por su comprensión y ayuda en momentos difíciles. Quien me ha enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento; quien me ha dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio por todo esto le digo Gracias.*

## AGRADECIMIENTO

*Primero y antes que nada, doy gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.*

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.*

*A la Dra. Cumandá Játiva por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la tesis y al miembro del Tribunal Msc. Simón Moreano.*

*A mi familia por sus diversas formas de apoyo.*

*Y a todas las demás personas que colaboraron en la culminación de esta investigación.*

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL TÓNICO AMARGO DE LA CORTEZA DE QUINA ROJA (*Cinchona pubescens*)”, de responsabilidad de la señorita egresada Carmen Marcela Cifuentes Méndez, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DECANO**

Dr. Iván Ramos

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTOR DE ESCUELA**

Dra. Cumandá Játiva

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTORA DE TESIS**

M.Sc. Simón Moreano

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Sr. Carlos Rodríguez

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTOR DEL CENTRO DE  
DOCUMENTACIÓN**

**NOTA DE TESIS ESCRITA**

\_\_\_\_\_

Yo Carmen Marcela Cifuentes Méndez, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados, expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la tesis de grado pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

CARMEN MARCELA CIFUENTES MENDEZ

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Abs	Absorbancia
H.Ac	Ácido acético glacial
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
NH <sub>3</sub>	Amoníaco
B1	Banda 1
B2	Banda 2
B3	Banda 3
BuOH	Butanol
cm	Centímetros
CHCl <sub>3</sub>	Cloroformo
TLC	Cromatografía en capa fina
EtOH	Etanol
g	Gramos
$\lambda$	Longitud de onda
min	Minutos
mg	Miligramos
ml	Mililitros
nm	Nanómetros
%	Porcentaje
Solv	Solvente
UV	Ultravioleta

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

INTRODUCCIÓN

<b>1.</b>	<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	1
1.1	Quina Roja ( <i>Cinchona pubescens</i> ).....	1
1.1.1	Origen e Historia.....	1
1.1.2	Descripción Botánica.....	2
1.1.3	Clasificación Científica.....	3
1.1.4	Ciclo del Cultivo.....	3
1.1.4.1	Cosecha.....	3
1.1.5	Secado.....	4
1.1.6	Variedades.....	5
1.1.7	Usos.....	6
1.2	PROPIEDADES.....	6
1.2.1	Composición Química.....	7
1.2.2	Biosíntesis.....	9
1.2.3	Muestreo, Transporte y Conservación del Material Vegetal.....	9
1.2.3.1	Muestreo.....	9
1.2.3.2	Transporte y Conservación.....	10
1.2.3.3	Limpieza y descontaminación.....	10
1.3	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	10
1.3.1	Ensayo de Dragendorff.....	11
1.3.2	Ensayo de Wagner.....	12
1.3.3	Ensayo de Mayer.....	12

1.3.4	Ensayo de Lieberman-Buchard.....	12
1.3.5	Ensayo de Borntrager.....	13
1.3.6	Ensayo de Catequinas.....	13
1.3.8	Ensayo de Benedict.....	14
1.3.9	Ensayo de Shinoda.....	14
1.4	MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.....	15
1.4.1	Decocción.....	16
1.4.2	Maceración.....	16
1.5	CATEQUINAS.....	16
1.6	CROMATOLOGRAFÍA DE CAPA FINA.....	17
1.6.1	Definición de Cromatografía.....	17
1.6.2	Concepto de Rf.....	17
1.6.3	Cromatografía en Capa Fina de Alcaloides de Quina.....	18
1.6.4	Cromatografía en Capa Fina de Flavonoides.....	19
1.7	ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO.....	20
1.7.1	Espectrometría.....	20
1.7.2	Espectrometría Ultravioleta-Visible.....	20
1.7.3	Aplicaciones.....	20
1.7.4	Características del sistema.....	21
1.7.5	Reglas de Woodward-Fieser.....	22
1.7.5.1	Tablas de Woodward-Fieser.....	23
1.7.5.2	Aplicación de las Reglas de Woodward-Fieser.....	24
1.7.5.3	Determinación del Ultravioleta en Alcaloides y Flavonoides.....	25
<b>2</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>32</b>
2.1	LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	32
2.2	OBTENCIÓN DEL VEGETAL.....	32
2.2.1	Equipos.....	32
2.2.2	Materiales de Laboratorio.....	33
2.2.3	Reactivos.....	34
2.3	FACTORES DE ESTUDIO.....	35
2.4	METODOLOGÍA DE LA PREPARACIÓN DE MUESTRA SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS.....	35
2.4.1	Obtención del Extracto.....	35
2.4.2	Preparación de Subextractos.....	36

2.4.2.1	Subextracto Clorofórmico.....	36
2.4.2.2	Subextracto Butanólico.....	36
2.4.2.3	Subextracto Básico.....	36
2.5	TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA SOLUCIÓN TÓNICA.....	37
2.5.1	Ensayo de Dragendorff (Alcaloides).....	37
2.5.2	Ensayo de Wagner (Alcaloides).....	37
2.5.3	Ensayo de Mayer (Alcaloides).....	38
2.5.4	Ensayo de Lieberman-Buchard (Esteroles y/o esteroides).....	38
2.5.5	Ensayo de Borntrager.....	39
2.5.6	Ensayo de Catequinas.....	39
2.5.7	Ensayo de Espuma.....	39
2.5.8	Ensayo de Benedict.....	40
2.5.9	Ensayo de Shinoda (Flavonoides).....	40
2.6	Cuantificación de Catequinas.....	40
2.6.1	Método de Permanganato de Potasio.....	40
2.7	MÉTODOS FÍSICOS-QUÍMICOS APLICADOS AL ANÁLISIS DE EXTRACTOS.....	41
2.7.1	Determinación de los Requisitos Organolépticos.....	41
2.7.2	Determinación de la Densidad Relativa.....	41
2.7.3	Determinación del Índice de Refracción.....	42
2.7.4	Determinación del pH.....	44
2.8	ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DEL EXTRACTO Y SUBEXTRACTOS.....	47
2.8.1	Fraccionamiento del Subextracto Clorofórmico (I).....	48
2.8.1.3	Placa Preparativa del Sub- subextracto etéreo (I.3.1).....	52
2.8.1.4	Placa cromatográfica del sub-subextracto acetato de etilo (I.4.1).....	57
2.8.2	Subextracto Clorofórmico Alcaloidal II.....	57
2.8.3	Purificación del Subextracto Etanólico III.....	59
2.8.4	Tratamiento del Subextracto Butanólico (IV).....	61
2.8.4.1	Verificación de compuestos en las bandas de la placa preparativa # 20 del subextracto etanólico (IV.1).....	63
<b>3</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>84</b>
3.1	CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA.....	85
3.2	TAMIZAJE FITOQUÍMICO.....	85
3.3	ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL EXTRACTO DE LA CORTEZA DE QUINA ROJA.....	86

3.4	CUANTIFICACIÓN DE CATEQUINAS.....	87
3.5	DISCUSIÓN DE RESULTADOS DE LAS CROMATOGRAFÍAS DEL EXTRACTO Y SUBEXTRACTOS DE LA CORTEZA DE QUINA ROJA.....	88
4	<b>CONCLUSIONES.....</b>	90
5	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	92
6	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	95
7	<b>RESUMEN.....</b>	98

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Valores de Absorción para las Bandas BI y BII de los diferentes tipos de Flavonoides.....	22
TABLA No. 2	Reglas para la Absorción de dienos.....	23
TABLA No. 3	Reglas del cálculo de la banda principal de los derivados del benceno.....	24
TABLA No. 4	Reglas para carbonilos ( $\alpha,\beta$ -insaturados).....	25
TABLA No. 5	Longitudes de onda calculadas para la quinina aplicando las reglas de Woodward y Fieser.....	26
TABLA No. 6	Longitudes de onda calculadas para la cinconidina aplicando las reglas de Woodward y Fieser.....	27
TABLA No. 7	Longitudes de onda calculadas para la quercetina aplicando las reglas de Woodward y Fieser.....	28
TABLA No. 8	Longitudes de onda calculadas para el kaempferol aplicando las reglas de Woodward y Fieser.....	29
TABLA No. 9	Longitudes de onda calculadas para la apigenina aplicando las reglas de Woodward y Fieser.....	30
TABLA No.10	Longitudes de onda calculadas para la catequina aplicando las reglas de Woodward y Fieser.....	31
TABLA No.11	Determinación de las Propiedades Físicas del Extracto de la Corteza de Quina Roja ( <i>Cinchona pubescens</i> ).....	45
TABLA No.12	Tamizaje Fitoquímico del extracto de la corteza de Quina Roja ( <i>Cinchona pubescens</i> ).....	67
TABLA No.13	Cuantificación de catequinas en el extracto etanólico de Quina Roja.....	68

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	Cromatografía en capa fina para alcaloides de la corteza de Quina Roja ( <i>Cinchona pubescens</i> ).....	18
GRÁFICO No. 2	Cromatografía en capa fina para flavonoides.....	19
GRÁFICO No. 3	Preparación del Extracto Etanólico y subextractos de la corteza de Quina Roja ( <i>Cinchona pubescens</i> ).....	46
GRÁFICO No. 4	Cromatografía para Alcaloides de la <i>Cinchona</i> .....	69
GRÁFICO No. 5	Cromatograma Obtenido del Subextracto Etéreo (I.3) y Subextracto Clorofórmico Alcaloidal (II).....	70
GRÁFICO No. 6	Cromatografía para Flavonoides.....	71
GRÁFICO No. 7	Cromatograma Obtenido del Subextracto Etanólico (III)....	72
GRÁFICO No. 8	Cromatograma Obtenido del Subextracto de Acetato de Etilo (IV).....	73

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Principales alcaloides presentes en la Corteza de Quina Roja	7
FIGURA No. 2	Principales flavonoides presentes en la Corteza de Quina Roja	8
FIGURA No. 3	Biosíntesis de los Alcaloides de la Quina	9

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Corteza de Quina Roja ( <i>Cinchona pubescens</i> ).....	1
------------------	--	---

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde épocas primitivas en el tratamiento de enfermedades, ya que la mayoría de éstas, presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a la presencia de más de un metabolito secundario con actividad biológica.

En la actualidad, la corteza de quina se usa en el tratamiento de la malaria, hemorroides, calambres en los pies, anestésico analgésico, antiséptico, astringente, febrífugo. Además se usa en la industria farmacéutica para la extracción de diversas drogas; en la elaboración de bebidas tónicas y esto se debe a que la quina tiene infinidad de beneficios digestivos y depurativos en el organismo, que evitan la retención de líquidos y demás sustancias de desecho, algo que nos ayuda a evitar los problemas derivados de un exceso de toxinas. Así pues, existen productos a base de quina como la tintura, como el vino de quina (tónico aperitivo), tónico para el cabello.

Las clases de árboles de quina según su contenido en alcaloides se clasifican en Quina amarilla o *C. calisaya*; Quina roja o *C. succirubra* actualmente *C. Pubescens* Vahl; Quina gris o *C. officinalis* L existentes en el país.

La *Cinchona pubescens* se distribuye en ambas vertientes de la Cordillera de los Andes, desde Colombia, Ecuador, Perú, hasta Bolivia; se localizan en altitudes comprendidas entre los 1.000 y los 3.000 metros snm, y principalmente en zonas muy lluviosas, de intensa humedad y temperatura media constante.

Las soluciones tónicas son preparaciones concentradas de consistencia líquida, sólida o intermedia, obtenida normalmente a partir de materia vegetal. Para algunas preparaciones, la materia a extraer puede requerir un tratamiento previo, como por ejemplo, inactivación de enzimas, trituración o desengrasado. Los extractos se preparan por maceración, percolación

o por otros métodos validados que utilizan etanol u otro disolvente adecuado. Después de la extracción, si es necesario, se eliminan las sustancias no deseadas.

Las soluciones tónicas amargas a base de corteza de quina roja o *C. pubescens* deben tener una forma de preparación que asegure el contenido de los metabolitos secundarios, los mismos que puedan ser valorados sean por métodos físicos, químicos o espectroscópicos para que siempre tengan la misma actividad, y que se pretende lograr con el estudio de la composición química de la solución tónica sin conservantes.

Generalmente se prepara un tónico amargo tradicional por ebullición de la corteza en alcohol y luego se realiza un tamizaje fitoquímico, que es la base para determinar los grupos fitoquímicos presentes.

Por lo expuesto se ponen los siguientes objetivos: estudiar la Composición Química del Tónico Amargo de la Corteza de Quina Roja (*Cinchona pubescens*), preparar el extracto alcohólico de la corteza de la quina roja, realizar el tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico de la quina roja, realizar la separación de los metabolitos por métodos físicos, químicos de los extractos obtenidos, purificar los metabolitos y determinar su posible estructura por métodos físicos y espectroscópicos.

Fue posible separar los metabolitos por fraccionamiento, mediante la extracción con solventes orgánicos, separando cromatográficamente en capa fina, a continuación se pudo verificar la pureza y determinar su estructura mediante la espectroscopia ultravioleta de los metabolitos puros.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1 QUINA ROJA (*Cinchona pubescens* o *Cinchona succirubra*)



FOTOGRAFÍA No.1 CORTEZA DE QUINA ROJA, *Cinchona pubescens*

##### 1.1.1 ORIGEN E HISTORIA

Es un árbol originario de los Andes (principalmente Colombia, Perú, Bolivia, Ecuador, Guatemala), y se desarrollan en alturas de 900 a 3.400 m. sobre el nivel del mar. La *Cinchona pubescens* es de origen Lojano. La *Cinchona calisaya* de Bolivia y sur del Perú, la *Cinchona officinalis* del norte de Colombia hasta Perú y la *Cinchona ledgeriana* de Bolivia. Además hay varios híbridos. Actualmente se cultivan en diversos países con clima tropical de Asia (Java, India), Sudamérica y África. La más usada con fines terapéuticos es la quina roja, estando casi en uso la quina gris. Las partes utilizadas de la Quina Roja son la corteza del tronco y ramas. (1)

La quina o cascarilla es la planta medicinal americana más celebrada y su introducción desde Loja, Ecuador, a Europa en las primeras décadas del siglo XVII produjo una auténtica

revolución en la medicina, ya que por primera vez una droga en el sentido farmacoterapéutico era capaz de curar la malaria y paludismo, los químicos aislaron los principios activos de la quina, denominados quinina y cinchonina. (1)

Esto cambió radicalmente las formas farmacéuticas en uso, al introducirse las sales que reemplazaron a los polvos o extractos de quina. A partir de la Segunda Guerra Mundial, con el desarrollo de los medicamentos, el empleo de las sales de quinina disminuyó drásticamente. En los últimos años, se ha renovado el interés por la quinina. En la actualidad crecen en forma silvestre numerosas especies de *Cinchona* productoras de quinina y con valor comercial, destacando: La *Cinchona officinalis*, *Cinchona pubescens Vahl*, *Cinchona henleana* Karst, *Cinchona grandiflora*, y la *Cinchona calisaya*. (24)

Su historia se remonta a la época de la conquista cuando el conde de Chinchón Luis Jerónimo Fernández de Carrera virrey del Perú en 1632 debió dejar el nuevo mundo debido a las constantes fiebres sufridas por su esposa la condesa Ana Osorio y cuando entonces un indígena le recomendó tomar un brebaje de quina que era una planta de la región gracias al cual sus fiebres fueron curadas y entonces se introdujo por primera vez en Europa una planta medicinal la corteza de quina. (24)

### 1.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La corteza externa es de color marrón oscuro, ligeramente fisurada y desprende pequeñas placas en forma irregular. Las hojas varían en forma desde casi orbiculares o lanceoladas; algunas son pubescentes; otras son lisas. Todas tienen una vena media bien desarrollada con venas laterales más o menos prominentes. Son simples, opuestas y recusadas, de forma elíptico-ovalada; hojas de 8 a 27 cm de largo y 7 a 18 cm de ancho. (OLGA LOOK, 1978) (CANAVOS, 1978).

Las flores se encuentran en panículas terminales de 20 a 25 cm de longitud, son hermafroditas, actinomorfas; la corola es blanca-roja. Los frutos son cápsulas de color marrón oscuro, de forma elipsoide, dehiscente. Las semillas son fusiformes, redondeada por un ala membranosa, son de 7-10 mm de largo, 2-3 mm de ancho y son ligeras para su

tamaño, puesto que un gramo puede contener más o menos 9,000. El desarrollo, particularmente en los primeros años, es rápido: los árboles de 6 a 8 años de edad pueden alcanzar 12 m de altura. Las ramas principales parten del tronco a una altura de más o menos 6 m, puesto que las ramas bajas son desechadas continuamente. (16)

### 1.1.3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Observamos la taxonomía y morfología de la quina roja (*Cinchona pubescens*).

**Nombre común:** Quina Roja

**Nombre Científico:** *Cinchona pubescens*

**Familia:** Rubiaceae

**Género:** Cinchona

**Especie:** *C. pubescens*

**Clase:** Magnoliopsida

### 1.1.4 CICLO DEL CULTIVO

El árbol de la quina requiere de climas cálidos, húmedos, con precipitaciones abundantes y persistentes y nubosidad de casi todo el año. Las especies del género *Chinchona* se pueden encontrar asociadas con especies vegetales como: romerillo, cedro de altura, nogal, guayacán, zarzamora. (19)

#### 1.1.4.1 Cosecha

El sistema original para cosechar la corteza de quina cultivada consistía en pelarla o rasparla de los árboles. Se tomaban considerables cuidados para no dañar las capas para que se pudiera obtener más de una cosecha. Las dificultades eran muchas, los costos de cosecha eran elevados, la corteza no se desprendía fácilmente en ciertas temporadas del año y las heridas hacían a los árboles extremadamente susceptibles a varias enfermedades.

El método actual para cosechar se basa en el aclareo selectivo. Empezando más o menos al tercer o cuarto año después del trasplante, una o dos veces al año se eliminan los árboles enfermos o enfermizos, así como aquellos que han empezado a aglomerarse. El propósito de esto es, permitir que el resto desarrolle lo más vigorosamente que sea posible, puesto que entonces ellos pueden dar rendimientos más grandes. El aclareo se debe llevar a cabo hasta que la población se ha vuelto demasiado irregular o se haya alcanzado una densidad predeterminada, antes de que se haga la cosecha final. (5)

La corteza de la quina se cosecha de dos maneras, dependiendo para que se le vaya a beneficiar, convirtiéndola a quinina comercial o preparaciones farmacéuticas. En la primera, el primer paso consiste en eliminar las ramas; después los tallos se cortan en forma diagonal cerca de la base. Los tocones se sacan con todas las raíces posibles. Las ramas, troncos, tocones y raíces se cortan en trozos cortos, se lavan muy bien para eliminar las partículas de suelo u otras basuras y se golpea con mazas para quitar la corteza. Las partes del árbol se mantienen separadas, lo mismo que la corteza de los clones o plantas de semilla con diferencias conocidas en el contenido de quinina para mantener un producto de relativa uniformidad. (14)

Los árboles se talan a ras de suelo y se descortezan. Las cortezas se estiran y se dejan secar aplanadas. En las plantaciones de Java, los árboles se arrancan para aprovechar también la corteza de las raíces.

#### 1.1.5 SECADO

La corteza de la quina tiene un contenido de humedad de alrededor de 70%, según la estación en que se le cosecha. El método original de secado, usado aún por muchos pequeños beneficiadores consiste en extender capas delgadas de corteza en artesas en el suelo. Este método es lento y costoso y se debe tener gran cuidado para evitar la fermentación o el sobrecalentamiento local.

Durante el tiempo húmedo o nublado, El secado al sol no es factible, por lo que se emplean pequeños hornos basándose en aire caliente, regulado a más o menos 70° C. Se pueden usar secadoras de café del tipo horizontal.

El producto final contiene más o menos 10% de humedad. Después de la clasificación, la corteza seca se muele y se empaca para su embarque. (14)

#### 1.1.6 VARIEDADES

Se designan con el nombre de quininos, a varias especies de árboles del genero *Cinchona*, de la familia de las Rubiáceas. Se conoce unas 18 especies, pero las más cultivadas y utilizadas son las siguientes.(2)

- Quina amarilla o *Cinchona calisaya* Weddel, la más rica en quinina, originaria de Bolivia y el sur de Perú, cultivada además en Java. El contenido en alcaloides totales era del 3-7% de los que más de un 50% era quinina.
- Quina roja o *Cinchona succirubra* Pavón, actualmente *Cinchona Pubescens* Vahl. Es la que tiene mayor área de distribución geográfica. Especie muy robusta que se utilizaba como patrón de injerto. El contenido en alcaloides totales era del 3,8%, de ellos menos de 50% de quinina.
- Quina roja o *Cinchona calisaya* variedad ledgeriana. Considerada un híbrido, originaria de Bolivia e implantada en las Indias holandesas. Con un contenido en alcaloides totales de hasta un 15% y entre un 80-90% de quinina.
- Quina gris o *Cinchona officinalis* L. Primera especie descrita. Sólo crece en los montes próximos a Loja (Ecuador). Utilizada poco con fines farmacéuticos.(25)

### 1.1.7 Usos

**Maceración:** Se deja macerar 20 – 30 g de corteza de quino en un litro de agua durante una hora y se administra una taza de cada una de las tres comidas diarias. (6)

**Infusión:** con media cucharadita de café de corteza de quina machacada o pulverizada por cada taza de agua; se toma una taza antes de cada comida, sin sobrepasar al cuatro tazas al día.

### Uso Externo

**Compresas:** con una decocción de 30-40g de corteza por litro de agua. Hervir durante diez minutos. Con el líquido resultante, se empapan compresas que se colocan sobre la piel o el cuero cabelludo, unos diez minutos, tres veces al día. (9)

**Gargarismos y enjuagues bucales** con esta misma decocción.

## 1.2 PROPIEDADES

La quina, nombre que recibe la corteza del quino machacada o pulverizada, contiene más de 20 alcaloides distintos, entre los que destacan los dos pares de isómeros quinina-quinidina y cinchonina- cinconidina.

Estos alcaloides le confieren propiedades febrífugas, antipalúdicas y tonificantes de sabor amargo. Posee asimismo taninos catequicos, que la hacen fuertemente astringente; así como esencias y principios amargos.(28)

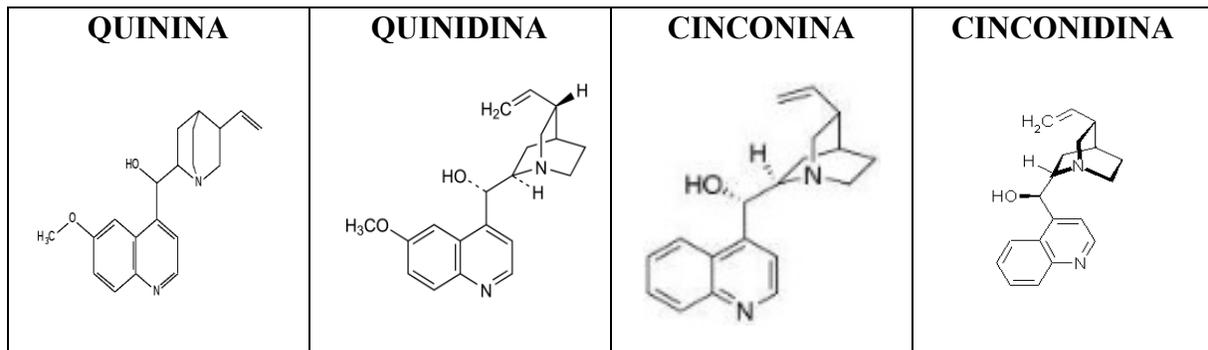
El polvo de quina estimula el apetito y facilita la digestión. Pero la importancia de la quina se debe a los alcaloides (la quinina y otras sustancias similares), de acción estimulante sobre

el sistema nervioso, activadores de la respiración, aunque a dosis elevadas ejercen el efecto contrario, debilitando hasta detener totalmente los movimientos respiratorios. (5)

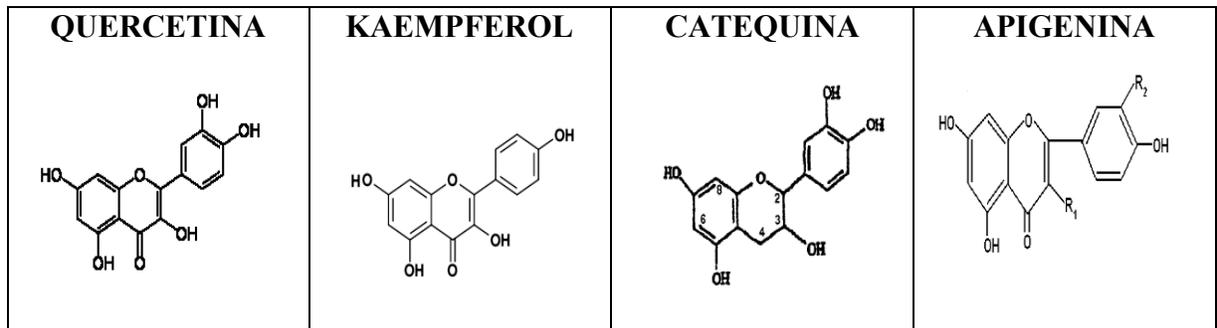
### 1.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Los principales alcaloides aislados de la corteza de quina roja que proviene de la familia *Rubiáceas* del género *Cinchona pubescens* contiene alcaloides los más importantes son el par de diastereoisómeros como quinina, quinidina, y sus análogos 6-demetoxi como cinconina, cinconidina.

Existen otros alcaloides de la quina que contiene un grupo OH en lugar del grupo metoxi como la cupreína; epiquinina, también se han detectado los flavonoides (+)- catequina, kaempferol, apigenina, y glicósidos así como marcador quercetina, triterpenos: ácidos monoglicosidos amargos, como ácido quinóvico (ácido 3 $\beta$ -hidroxiurs-droxibenzoico), también contiene taninos catéquicos (3-5) y saponinas, resina, trazas de aceite esenciales.(18)



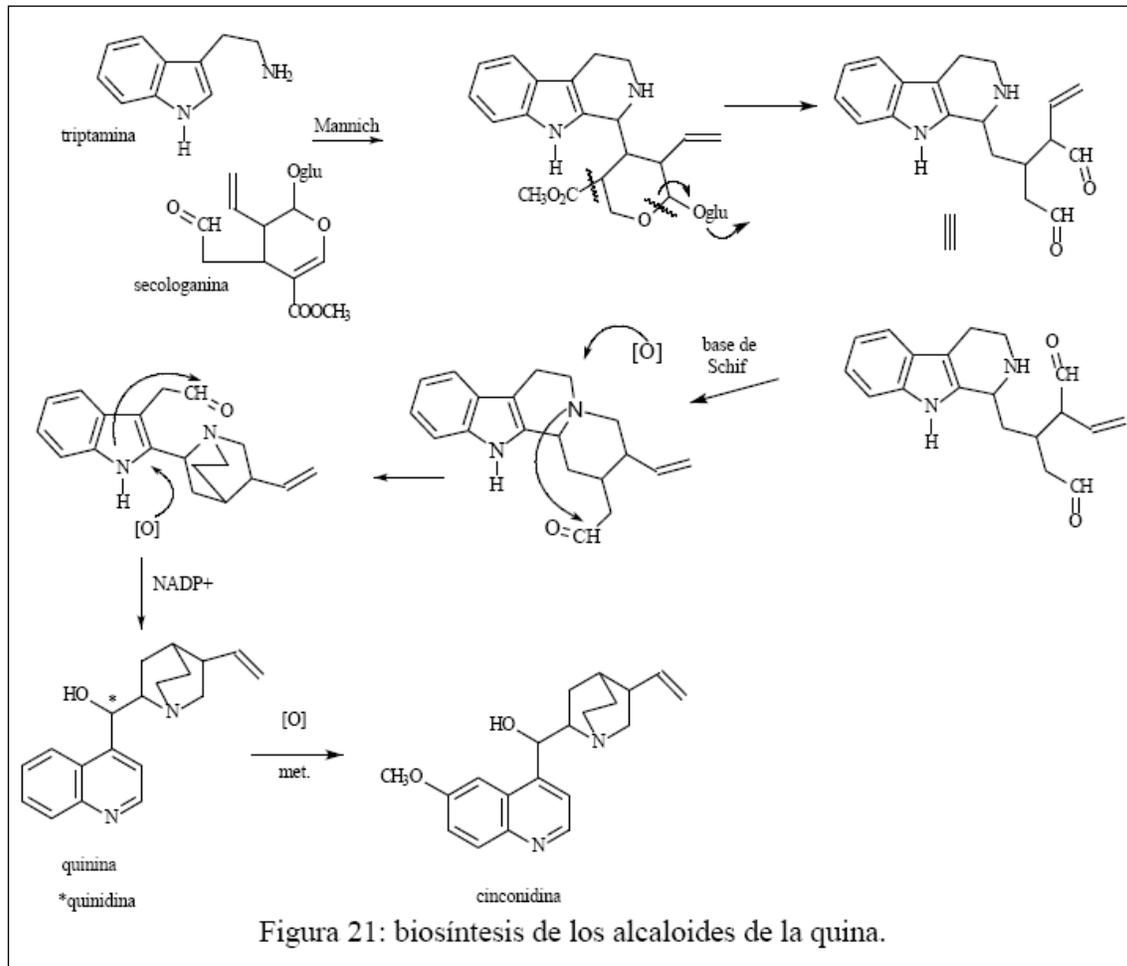
**FIGURA: No.1 PRINCIPALES ALCALOIDES PRESENTES EN LA CORTEZA DE QUINA ROJA**



**FIGURA: No. 2 PRINCIPALES FLAVONOIDES PRESENTES EN LA CORTEZA DE QUINA ROJA**

### 1.2.2 BIOSINTESIS

La biogénesis es a partir de triptófano y secologanina que se unen por una condensación de tipo Mannich (genera enlaces C-C-N), es decir es una condensación entre un carbanión (orto o para de grupo fenólico), un aldehído o cetona y una amina primaria o secundaria. La formación de bases de Schiff (genera enlaces C=N); como se muestra en la figura No 3. (8)



FUENTE: [www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n1/a08v75n1.pdf](http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v75n1/a08v75n1.pdf)

### FIGURA: No.3 BIOSÍNTESIS DE LOS ALCALOIDES DE LA QUINA ROJA

#### 1.2.3 MUESTREO, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

##### 1.2.3.1 Muestreo

El objetivo es obtener una muestra representativa del total, para realizar el análisis y determinar los niveles de los diversos componentes de la materia vegetal, como minerales, macro y micronutrientes, o residuos de plaguicidas remanentes en los vegetales. (8)

Para el muestreo se emplean los equipos usados normalmente en los trabajos forestales y agrícolas. Como norma general, no deben recogerse las plantas con el tiempo húmedo. Los

instrumentos que se utilizan para la toma de muestras deben estar libres de contaminantes de plaguicidas.

Se deben utilizar envases nuevos y en perfecto estado de limpieza.

### **1.2.3.2 Transporte y conservación**

Para el transporte y almacén, la muestra se mantendrá en las condiciones más parecidas a las de campo. Pueden ser refrigeradas, conservadas en bolsas de papel o de plástico, pero en estas el tiempo de permanencia ha de ser el mínimo posible, ya que las reacciones enzimáticas pueden llevar a cambios en la estructura química.(22)

### **1.2.3.3 Limpieza y descontaminación**

La descontaminación es necesaria para eliminar sustancias no nativas si se determina que el tejido foliar está cubierto de polvo o de materiales de fumigación. Se debe enjuagar las muestras suavemente para quitar las partículas de la superficie de la planta.

No se deben lavar demasiado, pues algunos nutrientes solubles podrían perderse. Las muestras se deben secar suavemente con una tela o papel.

## **1.3 TAMIZAJE FITOQUIMICO**

El cribado o tamizaje fitoquímico tiene como objetivo general la determinación cualitativa de los principales grupos fitoquímicos presente en un extracto vegetal.

La extracción de los metabolitos secundarios del vegetal se lo realiza con un solvente que solubilice al mayor número de componentes, a este extracto se lo somete a reacciones sensibles (de coloración), reproducibles y de bajo costo.

Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados de las pruebas, ya que en ocasiones la actividad biológica está dada por el fitocomplejo y en otras por un determinado compuesto conocido como marcador.(12)

Este método permite determinar la presencia de los principales grupos de compuestos químicos, tanto libres, como en forma de glicósidos.

Comprende los siguientes ensayos:

### 1.3.1 ENSAYO DE DRAGENDORFF

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides se debe tomar en cuenta que si el extracto está disuelto en solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de HCl al 1% en agua.

Si se trata de un extracto acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de HCl concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

Para el ensayo, a la solución acuosa ácida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se observa:

Opalescencia:	(+)
Turbidez definida:	(++)
Precipitado:	(+++)

### 1.3.2 ENSAYO DE WAGNER

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se le adiciona 2 o 3 gotas de reactivo Wagner y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior. (8)

### 1.3.3 ENSAYO DE MAYER

Se parte de la solución ácida, de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución, se le adiciona 2 ò 3 gotas del reactivo de Mayer y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

### 1.3.4 ENSAYO DE LIEBERMAN-BUCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroide, ambos tipos de productos deben poseer un núcleo de androstrano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. (11)

Para ello, si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien.

Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

- Rosado - azul muy rápido
- Verde intenso - visible aunque rápido
- Verde oscuro – negro – final de la reacción

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

Para realizar este ensayo no debe haber agua en el medio de reacción pues está con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura.

Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes. (11)

### 1.3.5 ENSAYO DE BORNTTRAGER

Es útil para detectar la presencia de quinonas.

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua.

Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.(17)

El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) , o rojo para lo cual se reporta (+++).

### 1.3.6 ENSAYO DE CATEQUINAS

Para ello, tomar de la solución alcohólica obtenida, una gota con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. (11)

La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica positiva la prueba.

### 1.3.7 ENSAYO DE ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y es persistente por más de 2 minutos.

#### 1.3.8 ENSAYO DE BENEDICT

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos de un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua).

Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se le añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general. (6)

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos

#### 1.3.9 ENSAYO DE SHINODA

Permite reconocer la presencia de flavonoides en el extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de HCl concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.(6)

#### **1.4 METODOS DE EXTRACCIÓN**

Los principales activos contenidos en las plantas pueden ser extraídos diversas técnicas extractivas o bien pueden ser administrados como tales, tal y como se encuentran en la planta desecada o en la planta fresca. (9)

A lo largo de la historia la fitoterapia ha desarrollado diversos métodos de extracción para el mejor aprovechamiento de las virtudes terapéuticas de las plantas tratadas.

El método de extracción utilizado depende del tipo de planta a emplear (caracteres organolépticos), de la concentración de principios activos y de sus propiedades farmacológicas.

El agua tiene un poder extractivo relativamente pequeño, comparada con otros disolventes también empleados. Uno de ellos y el más usado es el Alcohol en diversas graduaciones.

Muchas de las preparaciones extractivas (extractos) se realizan con este disolvente.

Los métodos y técnicas operatorias a seleccionar para realizar la extracción y/o aislamiento de principios activos de un material vegetal dependen de varios factores como son: (10)

- La cantidad de agua: Cuanto mayor sea la cantidad de agua, más elevado será el agotamiento de los principios activos dentro de la planta.
- Las influencias que entre unos y otros principios activos pueden ocurrir, una vez en solución den lugar a una mayor solubilidad o menor en otros casos.
- La temperatura: La infusión o el cocimiento a una temperatura cercana a los 100°C favorece la extracción. No obstante a veces conviene hacer la extracción con agua

fría, ya que puede interesar no extraer determinados principios activos que solamente pasarían al agua con la ayuda del calor.

- El tiempo: La duración del contacto de la planta con el agua.
- El sistema empleado para la extracción.
- El grado de pulverización de la planta: Aumenta la extracción cuanto más troceada este la planta, pero hasta ciertos límites a partir de los cuales pueden originarse una serie de procesos físicos que dificulten el proceso

Según la textura o los componentes de la planta, existen varios procedimientos:

1.4.1 DECOCCIÓN: Consiste en echar la planta en agua hirviendo y dejarla hervir durante 5 ó 20 minutos, a una temperatura superior al punto de ebullición, en un recipiente cerrado para evitar la evaporación. Se utiliza para raíces, tallos fuertes y cortezas. (12)

1.4.2 MACERACIÓN: Es un proceso de extracción sólido – líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son las que se pretende extraer.

## 1.5 CATEQUINAS

La catequina y la epicatequina son los flavonoles más comunes y suelen ser denominados genéricamente como catequinas. Éstas constituyen la base de los principales grupos de taninos condensados. Tradicionalmente, estos compuestos han sido considerados como antinutrientes, debido al efecto adverso de uno de sus componentes mayoritarios (los taninos) sobre la digestibilidad de la proteína. Sin embargo, en la actualidad han despertado un gran interés debido a sus propiedades antioxidantes y sus posibles implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio. (8)

## 1.6 CROMATOGRÀFIA DE CAPA FINA

### 1.6.1 DEFINICIÓN DE CROMATOGRÀFIA

La I.U.P.A.C define la a la cromatografía de forma más amplia como:

“Método usado principalmente para la separación de los componentes de una muestra, en el cual los componentes son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido soportado en un sólido o en un gel (matriz). La fase estacionaria puede ser empaquetada en una columna, extendida en una capa, distribuida como una película etc. (20)

### 1.6.2 CONCEPTO DE R<sub>F</sub>

R<sub>f</sub> = es el registro y se define como la distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación / distancia que recorre el disolvente hasta el frente del eluyente.

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida desde el origen por el compuesto (Y)}}{\text{Distancia recorrida desde el origen por el compuesto de referencia (X)}}$$

El valor de R<sub>f</sub> depende de las condiciones en las cuales se corre la muestra (tipo de absorbente, eluyente, así como las condiciones de la placa, temperatura, vapor de saturación, etc.). Tiene una reproducibilidad de +/- 20%, por lo que es mejor correr duplicados de la misma placa. (21)

## 1.6.3 CROMATOGRÀFIA EN CAPA FINA DE ALCALOIDES DE QUINA

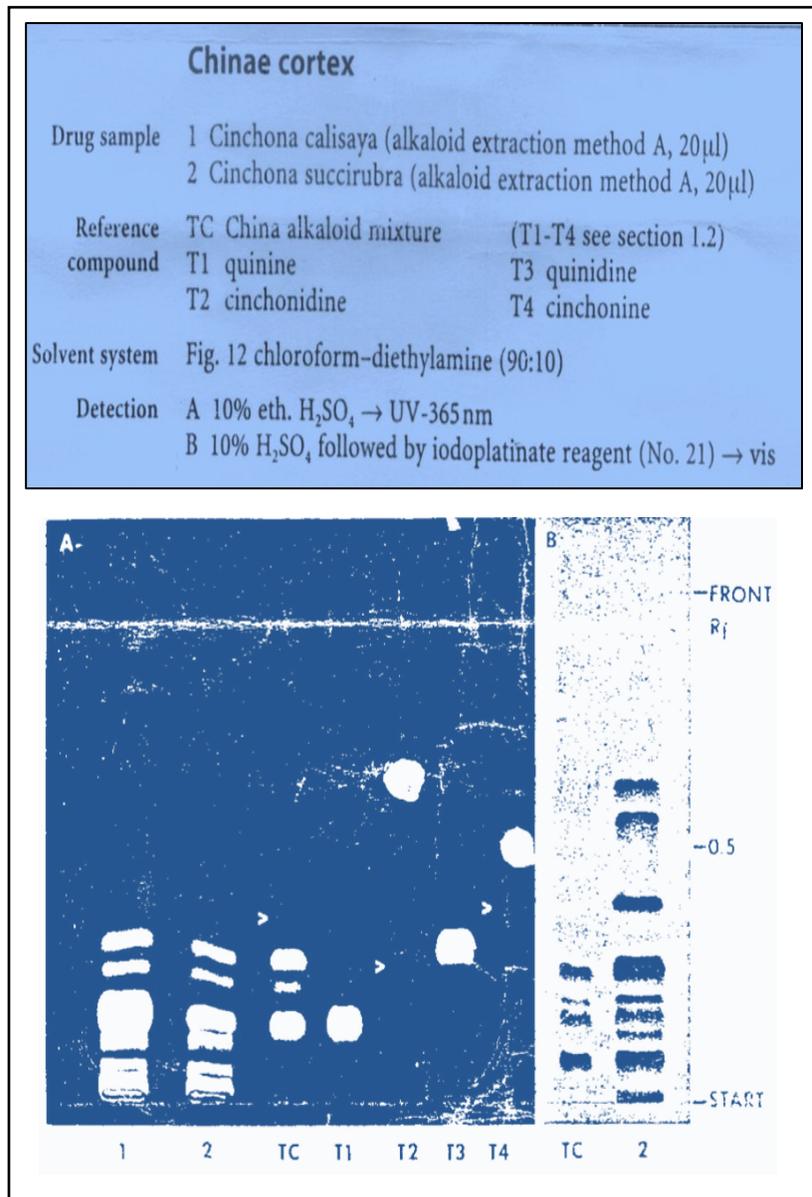
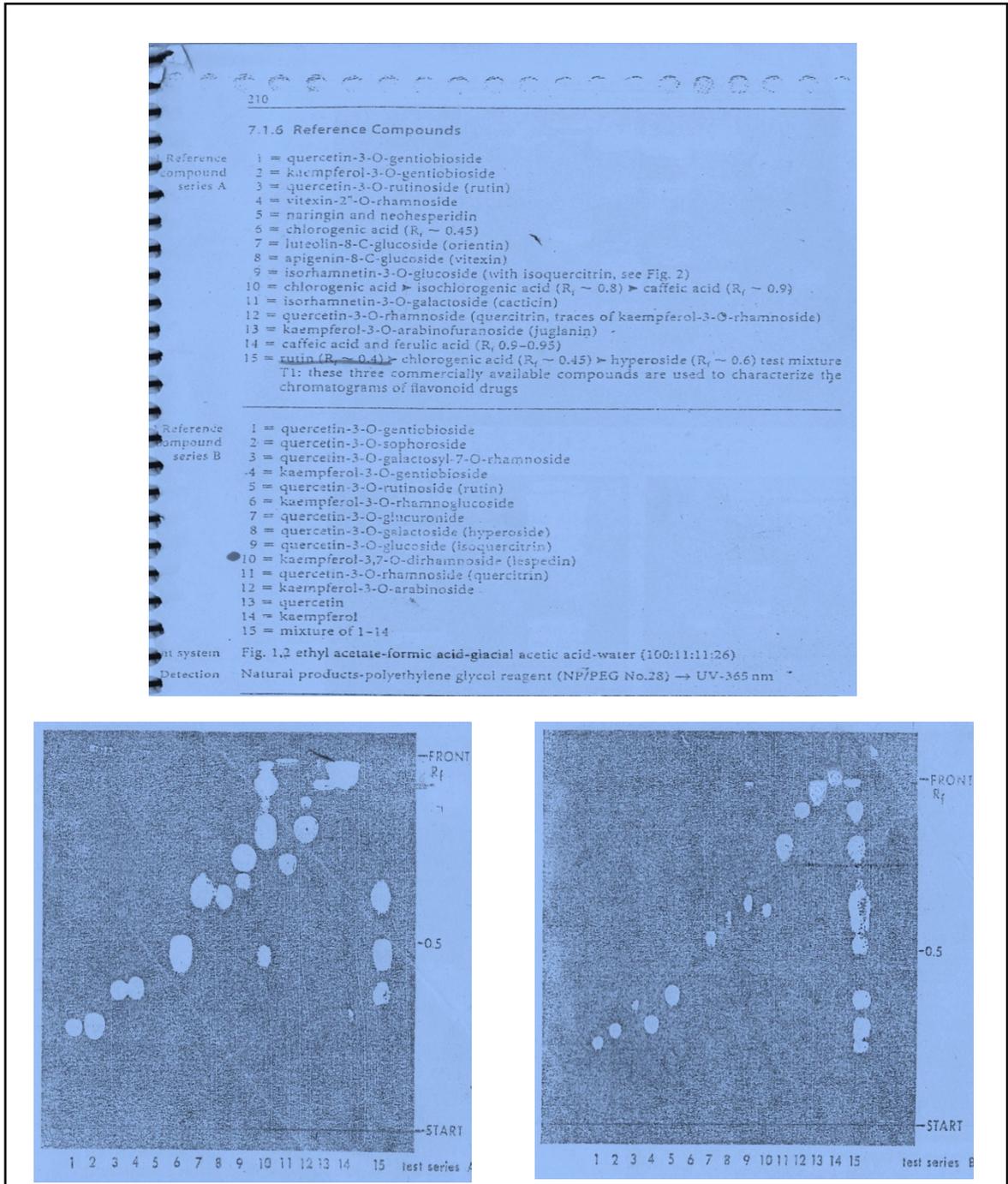


GRÁFICO No. 1. CROMATOGRÀFIA EN CAPA FINA DE ALCALOIDES DE LA CORTEZA DE CINCHONA

## 1.6.4 CROMATOGRÀFIA EN CAPA FINA DE FLAVONOIDES



FUENTE: HILDEBERT WAGNER.1996. PLANT DRUG ANALYSIS

GRÁFICO No. 2. CROMATOGRÀFIA EN CAPA FINA PARA FLAVONOIDES

## 1.7 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO

### 1.7.1 ESPECTROMETRÍA

La espectrometría surgió con el estudio de la interacción entre la radiación y la materia como función de la longitud de onda ( $\lambda$ ). (17)

La espectrometría es la técnica espectroscópica para tasar la concentración o la cantidad de especies determinadas. En estos casos, el instrumento que realiza tales medidas es un espectrómetro o espectrógrafo.

La espectrometría a menudo se usa en física y química analítica para la identificación de sustancias mediante el espectro emitido o absorbido por las mismas.

### 1.7.2 ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA – VISIBLE

La espectrometría ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-VIS implica la espectroscopia de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible. Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano.(18)

En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas. Esta técnica es complementaria de la espectrometría de fluorescencia, que trata con transiciones desde el estado basal al estado excitado.

### 1.7.3 APLICACIONES

La espectrometría UV/Vis se utiliza habitualmente en la determinación de compuestos orgánicos dienos conjugados.

Compuestos orgánicos: Los compuestos orgánicos, especialmente aquellos con un alto grado de conjugación, también absorben luz en las regiones del espectro electromagnético visible o ultravioleta. Los disolventes para estas determinaciones son a menudo el agua para los compuestos solubles en agua, o el etanol para compuestos orgánicos solubles. Los

disolventes orgánicos pueden tener una significativa absorción de UV, por lo que no todos los disolventes son adecuados para su uso en espectrometría UV. El etanol absorbe muy débilmente en la mayoría de longitudes de onda. La polaridad y el pH del disolvente pueden afectar la absorción del espectro de un compuesto orgánico. (3)

Aunque los complejos de transferencia de carga también dan lugar a colores, éstos son a menudo demasiado intensos para ser usados en mediciones cuantitativas.

La ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de la solución. Por tanto, la espectrometría UV/VIS puede usarse para determinar la concentración de una solución.

#### 1.7.4 CARACTERÍSTICAS DEL SISTEMA

Las muestras en solución se ponen en una pequeña celda de cuarzo o vidrio.

Se utilizan dos lámparas: una de H o deuterio para la región UV, y una de W/ halógeno para la región visible. (18)

Se utiliza también una celda de referencia que contiene solo solvente.

La luz (radiación) pasa simultáneamente por la celda de muestra y la celda de referencia.

El espectrómetro compara la luz que pasa por la muestra con la que pasa por la celda de referencia.

La radiación transmitida es detectada y el espectrómetro obtiene el espectro de absorción al barrer la longitud de onda de la luz que pasa por las celdas.

La máxima absorción se debe a la presencia de cromóforos en una molécula.

Este tipo de espectroscopia sirve principalmente para el análisis de compuestos aromáticos y ácidos carboxílicos ( $\alpha$  y  $\beta$ ) insaturados.

Los espectros de los flavonoides son determinados usualmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos de 240-285 nm (Banda II) y 300 – 550 nm (Banda I). Podría indicarse como características de dihidroflavonas, dihidroflavonoles e isoflavononas. (12)

**TABLA No 1. VALORES DE ABSORCIÓN PARA LAS BI Y BII DE LOS DIFERENTES TIPOS DE FLAVONOIDES**

<b>BANDA II, nm</b>	<b>BANDA I, nm</b>	<b>TIPO DE FLAVONOIDE</b>
250-280	310-350	Flavonas
250-280	330-360	Flavonoles (3OH Substituido)
250-280	350-385	Isoflavonas (5-deoxi-6,7-dioxo)
275-295	300-330	Isoflavonas, dihidroflavonoles
230-270 (baja intensidad)	340-390	Chalconas
230-270 baja intensidad)	380-430	Auronas
270-280	465-560	Antocianidinas, antocianinas

FUENTE: OLGA LOOCK-1998. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

### 1.7.5 REGLAS DE WOODWARD – FIESER

Las reglas de Woodward – Fieser son un conjunto de observaciones empíricas que pueden utilizarse para predecir la longitud de onda de la absorción ( $\lambda$  max) UV-Visible, para compuestos orgánicos conjugados como dienos y cetonas.(15)

Las longitudes de onda de los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlace en una determinada molécula, y son valiosos para determinar los grupos funcionales dentro de la molécula. La absorción UV-Visible no es, sin embargo, una prueba específica para ningún determinado, la naturaleza del disolvente, el pH de la solución, la temperatura,

la concentración de electrolitos y la presencia de sustancias interferentes pueden influir en los espectros de absorción de los compuestos así como las variaciones en anchura de la hendidura (ancho de banda efectivo) en el espectrofotómetro.

### 1.7.5.1 Tablas De Woodward-Fieser

Tabla No 2. REGLAS PARA LA ABSORCIÓN DE DIENOS

Valores	$\lambda_{\text{max}}$ (nm)
Valor base para el dieno heteroanular	214
Valor base para el dieno homoanular	253
Incrementos por	
Doble enlace que extiende la conjugación	+ 30
Sustituyente alquilo o residuo anular	+ 5
Doble enlace exocíclico	+ 5
Agrupamientos polares:	
OAc	+ 0
OAlq	+ 6
SAlq	+ 30
Cl, Br	+ 5
N(Alq) <sub>2</sub>	+ 60
Corrección por solvente	+ 0
	$\lambda_{\text{calc}} = \text{total}$

FUENTE: [www2.uah.es/quimica\\_organica/docencia/.../uv-visible.pdf](http://www2.uah.es/quimica_organica/docencia/.../uv-visible.pdf)

Tabla N° 3 CÁLCULO DE LA BANDA PRINCIPAL DE LOS DERIVADOS DEL BENCENO

ArCOR/ArCHO/ArCO <sub>2</sub> H/ArCO <sub>2</sub> R		$\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ (nm)
Cromóforo padre Ar = $\phi$		
G = alquilo o residuo anular (por ejemplo ArCOR)		246
G = H, (ArCHOO)		250
G = OH, OAlq, (ArCO <sub>2</sub> H, ArCO <sub>2</sub> R)		230
Incremento por cada sustituyente en Ar:		
Alquilo o residuo anular,	$\sigma, m$	+3
	p	+10
OH, - OMe, - OAlq	$\sigma, m$	+7
	p	+25
-O- (oxianión)	o	+11
	m	+20
	p	+78
-Cl	$\sigma, m$	+0
	p	+10
-Br	$\sigma, m$	+2
	p	+15
-NH <sub>2</sub>	$\sigma, m$	

FUENTE: [www2.uah.es/quimica\\_organica/docencia/.../uv-visible.pdf](http://www2.uah.es/quimica_organica/docencia/.../uv-visible.pdf)



quercetina, triterpenos: ácidos monoglicosidos amargos, como ácido quinóico (ácido 3 $\beta$ -hidroxiurs-hidroxibenzoico), también contiene taninos catequico y saponinas, resina, trazas de aceite esenciales.

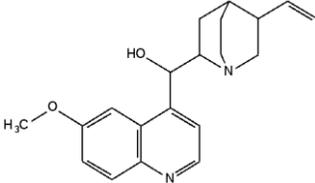
Aplicación de las Reglas de Woodward y Fieser en las estructuras químicas de los alcaloides y flavonoides reportados para Quina Roja.

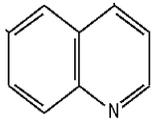
### 1.7.5.3 Determinación del Ultravioleta en alcaloides y flavonoides.

TABLA No 5. LONGITUDES DE ONDA CALCULADAS PARA LA QUININA APLICANDO LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER

---

QUININA(330 nm)









---

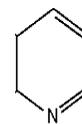
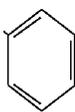
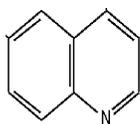
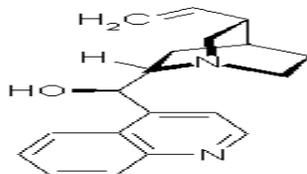
Quinólico	315nm	Benceno	204nm	Piridina	270nm
OCH3(m)	$\frac{14nm}{340nm}$	OH(p)	25nm	OH( $\beta$ )	30nm
		OCH3(m)	14nm	OCH3 (p)	25nm
		C=C exocíclico	$\frac{5nm}{248nm}$	C=C exocíclico	$\frac{5nm}{319nm}$

---

FUENTE: [www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/.../a682322-es.htm](http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/.../a682322-es.htm)

**TABLA No 6. LONGITUDES DE ONDA CALCULADAS PARA LA CINCONIDINA APLICANDO LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER**

**CINCONIDINA (320 nm)**

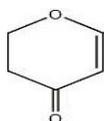
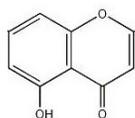
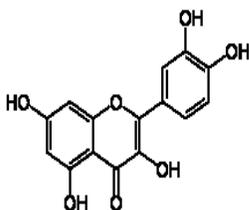


Quinólico	270 nm	Benceno	204nm	Piridina	257 nm
C=C exocíclico	5 nm	OH (p)	25nm	C(p)	10 nm
OH (β)	30 nm	OH (p)	25nm	C(o)	3 nm
OH (o)	$\frac{7 \text{ nm}}{312 \text{ nm}}$	C-sust (β)	12nm	C(m)	$\frac{3 \text{ nm}}{273 \text{ nm}}$
		C=C exocíclico	$\frac{5 \text{ nm}}{246 \text{ nm}}$		

FUENTE: [bibliodar.mppeu.gob.ve/?q=doc\\_categoria/cinconidina.html](http://bibliodar.mppeu.gob.ve/?q=doc_categoria/cinconidina.html)

**TABLA No 7. LONGITUDES DE ONDA CALCULADAS PARA LA QUERCETINA APLICANDO LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER**

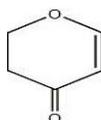
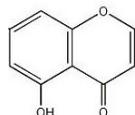
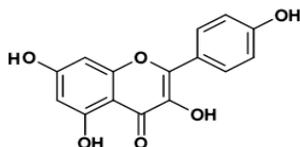
**QUERCETINA** (255, 270, 295, 369 nm)



Benzo $\gamma$ pirona	246nm	Pirona	315 nm	Anillo base	214 nm
OH (p)	25nm	OH(p)	25 nm	OH( $\alpha$ )	10 nm
OR (o)	7nm	OH(o)	7 nm	O( $\beta$ )	12 nm
	<u>278 nm</u>	C=C exocíclico	<u>30 nm</u>	C ( $\beta$ )	10 nm
			377 nm	Extension	<u>5 nm</u>
					251 nm

**TABLA No 8. LONGITUDES DE ONDA CALCULADAS PARA EL KAEMPFEROL APLICANDO LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER**

**KAEMPFEROL**(250, 266, 295, 320 nm)

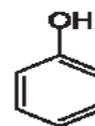
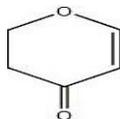
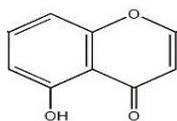
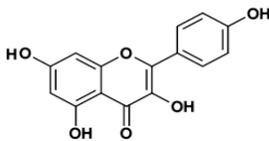


Benzo $\gamma$ pirona	246nm	Pirona	315 nm	Benceno	204 nm
OH (p)	25 nm	OH(p)	25 nm	OH( $\beta$ )	30 nm
OR (o)	<u>7 nm</u>	OH(o)	7 nm	C-sust ( $\beta$ )	12 nm
	278 nm	C=C exocíclico	<u>30 nm</u> 377 nm	Residuo	<u>3 nm</u> 249 nm

FUENTE: [www.enzyme-database.org/.../Kkaempferol.html](http://www.enzyme-database.org/.../Kkaempferol.html)

**TABLA No 9. LONGITUDES DE ONDA CALCULADAS PARA LA APIGENINA APLICANDO LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER**

**APIGENINA(267, 295, 335nm)**

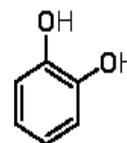
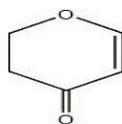
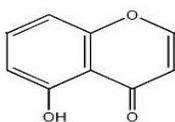
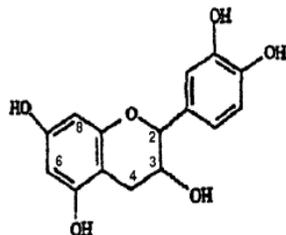


Benzo $\gamma$ pirona	246nm	Pirona	315 nm	Fenol	214 nm
OH (p)	25nm	OH(p)	25 nm	OH( $\alpha$ )	10 nm
OR (o)	<u>7nm</u>	OH(o)	7 nm	O( $\beta$ )	12 nm
	278 nm	C=C exocíclico	<u>30 nm</u>	C ( $\beta$ )	10 nm
			377 nm	Extension	<u>5 nm</u>
					251nm

FUENTE: [www.etatpur.es/index.php/apigenina-ficha-produce.html](http://www.etatpur.es/index.php/apigenina-ficha-produce.html)

**TABLA No 10. LONGITUDES DE ONDA CALCULADAS PARA LA CATEQUINA APLICANDO LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER**

(+) CATEQUINA(280, 370 nm)



Benzo $\gamma$ pirona	246 nm	Pirona	315 nm	Pirocatecol	214 nm
OH (p)	25 nm	OH(p)	25 nm	OH( $\beta$ )	30 nm
OR (o)	7 nm	OH(o)	7 nm	C-sust ( $\beta$ )	12 nm
	<u>278 nm</u>	C=C exocíclico	<u>30 nm</u>	Residuo	<u>3 nm</u>
			<u>377 nm</u>		<u>259 nm</u>

## CAPITULO II

### 2 PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Fitoquímica de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2 OBTENCIÓN DEL VEGETAL

La adquisición de la corteza de quina roja fue enviada desde Colombia.

##### 2.2.1 EQUIPOS

- Estufa de circulación de aire Memmert
- Balanza analítica Boeco Germany
- Rotavapor Buchí R 110
- Desecador
- Peachimetro
- Reverbero
- Bomba de vacío Vacum Pressure Pump 115 VAC -60 Hz
- Centrifuga Dynac CA
- Refrigerador
- Sorbona
- Cámara digital

- Computadora
- Espectrofotómetro UV 1603 Shimadzu
- Atomizador (Equipo de revelado cromatográfico)

## 2.2.2 MATERIALES DE LABORATORIO

- Balón aforado 100 ml
- Balón aforado 50 ml
- Balón esmerilado sin base de 250 ml
- Balón esmerilado sin base de 100 ml
- Capilares
- Cartilla de colores
- Cronómetro
- Cuaderno de apuntes
- Cuba de vidrio
- Émbolo de succión
- Embudo de filtración
- Embudo de separación de 250 ml
- Envase de vidrio transparente de 500 ml
- Estilete
- Frasco de vidrio
- Botellas oscuras
- Gradillas para tubos de ensayo
- Guantes descartables
- Mangueras
- Erlenmeyer de 250 ml
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Papel toalla
- Pera de succión
- Pipetas varias

- Piseta
- Placas cromatográficas 10\*20 cm
- Placas cromatográficas 10\*40 cm
- Probeta de 100ml
- Probeta 10ml
- Reverbero electrónico
- Termómetro
- Tijeras

### 2.2.3 REACTIVOS

- Acetato de etilo
- Cloroformo
- Butanol
- Metanol
- Etanol
- Ácido Acético
- Ácido clorhídrico
- Ácido fórmico
- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Cloruro férrico
- Ácido sulfúrico vainillina
- Reactivo de Wagner
- Alcohol

### 2.3 FACTORES DE ESTUDIO

**Los factores de estudio de esta investigación fueron:**

- Preparación de la decocción alcohólica de corteza de quina.
- Fraccionamiento del extracto (total) en subextractos (Clorofórmico, clorofórmico básico y butanol) basados en información bibliográfica y tamizaje Fitoquímico.
- Condiciones de separación de los metabolitos secundarios presentes en la solución alcohólica de la corteza de quina roja.
- Análisis espectrofotométrico de los metabolitos presentes en los subextractos.

## **2.4 METODOLOGIA DE LA PREPARACIÓN DE MUESTRA SEPARACIÓN Y PURIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS**

### **2.4.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO**

La corteza de quina roja fue obtenida por el método de maceración.

#### **Procedimiento:**

- Identificar física y químicamente la corteza de quina roja.
- Moler la corteza de quina roja (polvo).
- Pesar una cantidad de la muestra de quina roja (polvo) en un recipiente de vidrio.
- Adicionar alcohol etanólico sobre la muestra hasta cubrir la muestra, dejar en reposo 72 h.
- Filtrar y determinar las propiedades físicas.
- Evaluar el contenido de catequinas.
- Este filtrado se recoge en un recipiente pesado para determinar el volumen y peso.

### **2.4.2 PREPARACIÓN DE SUBEXTRACTOS**

La maceración contiene numerosos compuestos de difícil purificación, razón fundamental para preparar subextractos por extracción con solventes inmiscibles, después de basificar la solución y liberar los alcaloides de sus sales.

#### **2.4.2.1 Subextracto Clorofórmico**

- A la solución alcohólica concentrar, pasar a un embudo de separación.
- Añadir un volumen igual de cloroformo agitar por varios minutos dejar en reposo.
- Separar la solución alcohólica (fase superior) de la solución clorofórmica (fase inferior) repetir el proceso hasta tener incolora la fase clorofórmica repetir cuantas veces sean necesarias.
- A la solución clorofórmica recoger en un balón esmerilado pesado y llevar a sequedad a presión reducida, pesar.

#### **2.4.2.2 Subextracto Butanólico**

- A la fase superior alcohólica agregar un volumen de butanol y llevar al embudo de separación
- Agitar levemente sin que se produzca emulsión para luego dejar en reposo.
- Separar la solución alcohólica (fase inferior) de la solución butanólica (fase superior) repetir cuantas veces sean necesarias hasta tener incolora la fase butanólica.
- Las fases butanólicas recoger en un balón esmerilado pesado y llevar a concentración a sequedad por destilación directa.

#### **2.4.2.3 Subextracto Básico**

- A la fase alcohólica anterior basificar con  $\text{NH}_3$  hasta ph 8.
- Agregar cloroformo, agitar, dejar en reposo y separar la fase clorofórmica repetir el proceso cuantas veces sean necesarias.
- A la solución llevar a sequedad en un balón previamente limpio, seco, pesado y concentrar hasta sequedad. Pesar

## 2.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LA SOLUCIÓN TÓNICA

Es la etapa primordial para determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en la corteza de Quina Roja y a partir de allí realizar la extracción para el aislamiento de los grupos de mayor interés, utilizando los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración.

### 2.5.1 ENSAYO DE DRAGENDORFF (ALCALOIDES)

Para el ensayo, a la solución se le añade 3 gotas de reactivo de Dragendorff y se observa:

Opalescencia (+)

Precipitado (++)

Turbidez definida (+++)

### 2.5.2 ENSAYO DE WAGNER (ALCALOIDES)

Adicionar dos o tres gotas del reactivo de Wagner y se reporta los resultados de igual forma

Opalescencia (+)

Turbidez definida (++)

Precipitado (+++)

### 2.5.3 ENSAYO DE MAYER (ALCALOIDES)

Adicionar dos o tres gotas del reactivo de Mayer y se reportan los resultados.

Opalescencia (+)

Turbidez definida (++)

Precipitado (+++)

#### 2.5.4 ENSAYO DE LIEBERMAN-BUCHARD (ESTEROLES Y/O ESTEROIDES)

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración.

Rosado-azul muy rápido.

Verde intenso-visible aunque rápido

Verde oscuro-negro-final de la reacción

Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes

#### 2.5.5 ENSAYO DE BORNTTRAGER

Para detectar la presencia de quinonas

Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo.

Se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.

Ensayo positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++); o rojo para lo cual se reporta (+++).

#### 2.5.6 ENSAYO DE CATEQUINAS

Para ello, tomar de la solución alcohólica obtenida, una gota con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de Carbonato de Sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica positiva la prueba.

#### 2.5.7 ENSAYO DE ESPUMA

Colocar 1 ml del extracto. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye su volumen cinco veces en agua y se agita la mezcla fuertemente la formación de espuma sobre la fase acuosa que perdura tres minutos es positiva.

#### 2.5.8 ENSAYO DE BENEDICT

Este ensayo permite reconocer en un extracto la presencia de taninos y compuestos fenólicos. En un tubo de ensayo se colocó una alícuota de extracto y se adicionó 2-3 gotas de  $\text{FeCl}_3$ .

Se considera positiva cuando hay coloración:

- Rojo vino para compuestos fenólicos libres.
- Verde intenso para taninos pirocatéquicos
- Azul para taninos pirogalotánicos.

### 2.5.9 ENSAYO DE SHINODA (FLAVONOIDES)

Permite determinar la presencia de flavonoides. En un tubo de ensayo se coloca una alícuota de extracto, con la ayuda de una paleta se agrega una pequeña cantidad de limaduras de Mg y unas gotas de HCl concentrado.

La reacción se considera positiva cuando se presenta coloración amarilla, naranja, carmelita, rosada o rojo guinda; intensos en todos los casos.

## 2.6 CUANTIFICACIÓN DE CATEQUINAS

### 2.6.1 MÉTODO DE PERMANGANATO DE POTASIO

#### **Procedimiento:**

- Tomar 50 ml de la solución alcohólica.
- Calentar la preparación hasta reflujo. Luego entibiar la muestra.
- Filtrar la muestra.
- Tomar 25 ml de la solución líquida y adicionar 20 ml de indicador (índigo de carmín), y 750 ml de agua destilada.
- Titular con permanganato de potasio (0.01N) hasta obtener color amarillo.
- Preparar un blanco con agua, adicionada de los reactivos en las mismas cantidades.

## 2.7 MÉTODOS FÍSICOS-QUÍMICOS APLICADOS AL ANÁLISIS DE EXTRACTOS.

Permite establecer la cantidad de los extractos obtenidos a partir de drogas crudas: así como controlar su estabilidad.

### 2.7.1 DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

**Determinación de olor:** Se introdujo un extremo de una tira de papel filtro de 1 x10 cm en el extracto, se percibió y determino el olor que éste poseía.

**Determinación del color:** En tubo de ensayo se colocó extracto hasta cubrir la base del mismo y se observó el color.

**Determinación del aspecto:** En un tubo de ensayo se colocó una alícuota de extracto y a contra luz se determinó el aspecto del mismo, su transparencia y la presencia de partículas o de fases.

### 2.7.2 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se entiende por densidad relativa a la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua la misma temperatura. Este término equivale a peso específico.

Materiales y reactivos:

Picnómetro de al menos 10 ml de capacidad.

Balanza analítica y D 0.1 mg LSP 200g.

Procedimiento:

- Pese el picnómetro vacío y seco a 2 °C y llénese con la porción de ensayo, manténgalo a la temperatura de 25 °C (+ 1 °C) durante 15min, y ajústese el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso y secar exteriormente el picnómetro

- Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpiar el picnómetro.

Expresión de los resultados.

La densidad relativa a 25 °C se calcula por la siguiente fórmula:

$$m/V = \frac{M_1 - M}{V}$$

Dónde:

$M_1$  = peso de picnómetro con la muestra (g)

$M$  = peso del picnómetro vacío (g)

$V$  = volumen del picnómetro.

Los resultados se aproximan hasta la tercera cifra.

### 2.7.3 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$\frac{\sin i}{\sin r} = n$$

Así los refractómetros utilizan como principio de medición; la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente.

Materiales y reactivos:

Refractómetro

Varilla de vidrio

Solución mezcla de alcohol etílico-éter di etílico (1:1) para la limpieza del equipo.

Procedimiento

- Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.
- Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra sobre el prisma de medición, se cierra el termo prisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

Expresión de resultados

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002.

Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$n_d^{25} = n_d + 0.00044 (t-25)$$

Dónde:  $N_d^{25}$  = índice de refracción

$N_d^t$  = valor leído en la escala del aparato a la temperatura t.

t = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C)

0.00044 = factor de corrección por grado Celsius. Los valores se aproximan hasta las milésimas.

#### 2.7.4 DETERMINACIÓN DEL pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación.

$$\text{pH} = -\log a [\text{H}^+]$$

$a [\text{H}^+]$  = actividad de los iones hidrógeno

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico.

Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Tabla No 11 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICAS DEL EXTRACTO

<b>PARÁMETROS</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>MÉTODO</b>
Aspecto	Presencia de partículas y de	Visual
Color	Pardo rojizo	Visual
Olor	Característico	Olfato
Sabor	Amargo	Gusto
Densidad	1.0261	Picnómetro
Índice de Refracción	1.267	Refractómetro
pH	5.02	pHmetro
% Rendimiento Subextracto	7.84	Gravimétrico
Clorofórmico	4.88%	Gravimétrico
Clorofórmico basicado	43.96%	Gravimétrico
Butanol	5.56%	Gravimétrico

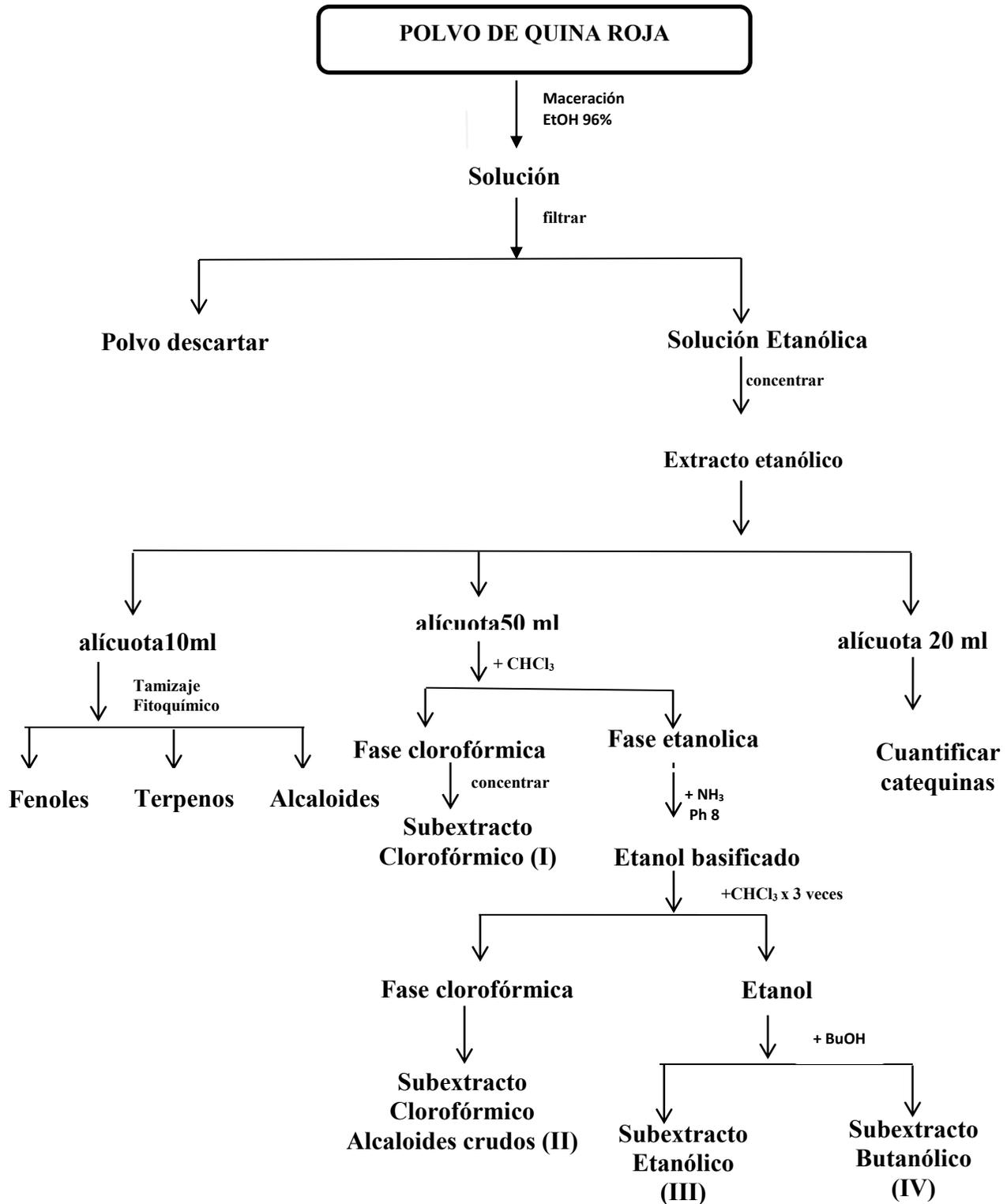


Gráfico N°3. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO Y SUBEXTRACTOS DE LA QUINA ROJA (*Cinchona pubescens*)

## 2.8 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS DEL EXTRACTO Y SUBEXTRACTOS

Los extractos alcohólico, clorofórmico, clorofórmico básico y butanólico con los resultados del tamizaje Fitoquímico se procede a comprobar la presencia de compuestos en placas de silicagel  $G_{F254}$  con solvente de corrido propuestas en bibliografía para cada grupo fitoquímico, revelando con soluciones características como Rosenthaler para Terpenos, Sulfato de Cerio para flavonoides, Dragendorff para Alcaloides, buscando los parámetros cromatográficos eficiencia, eficacia y resolución para separar los metabolitos secundarios en cromatografía de capa fina, purificar cada metabolito e inclusive se puede cuantificar.

### Identificación del Extracto etanólico y subextractos clorofórmico, clorofórmico alcaloidal y butanólico.

Se prepara una cromatografía en capa fina del extracto y subextractos para verificar la presencia de los metabolitos secundarios determinados en el tamizaje fitoquímico.

#### PLACA # 1:



#### Placa de Silicagel $G_{F254}$

##### Muestras:

1. Extracto etanólico
2. Subextracto Clorofórmico
3. Subextracto Clorofórmico alcaloidal
4. Subextracto Butanólico

**Solvente de recorrido:** Acetato de etilo: Tolueno (9:1)

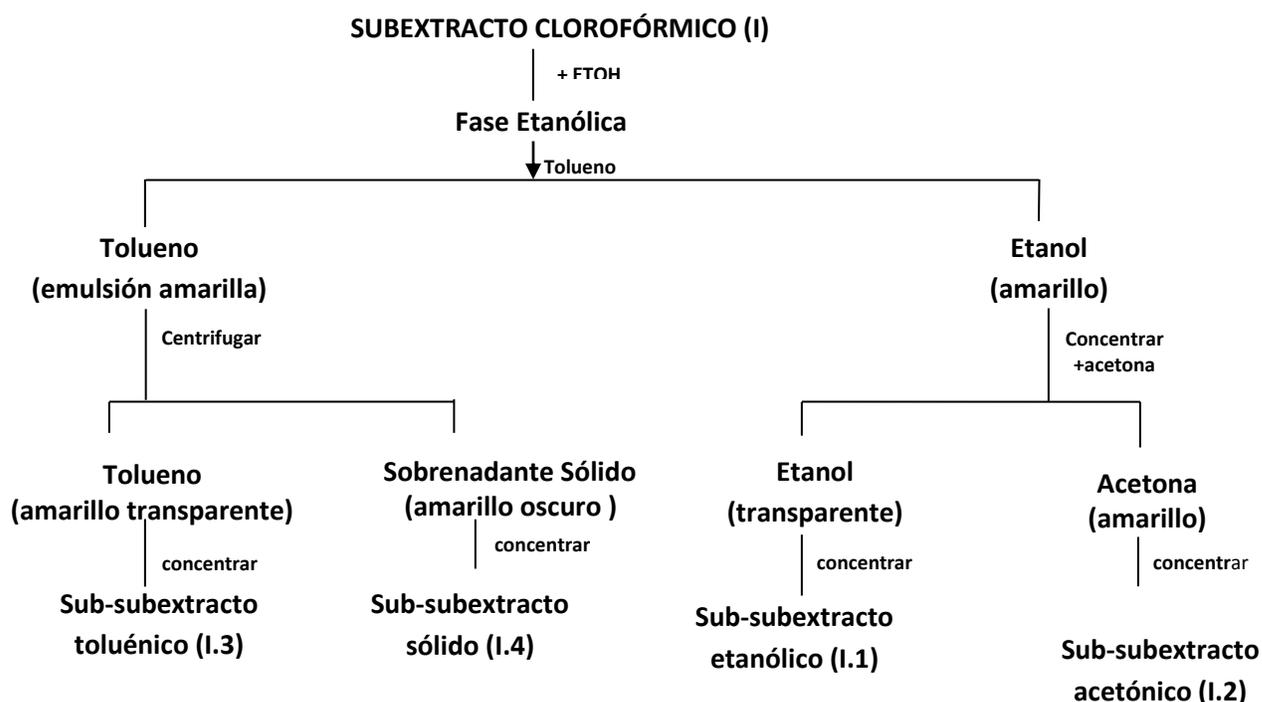
**Revelador:** Vainillina $H_2SO_4$

Este solvente es adecuado para el subextracto clorofórmico ya que en capa fina da varias manchas por lo cual se considera que son complejos que necesitan fraccionarse.

Para el subextracto clorofórmico básico y butanólico se busca otros solventes para la separación de los compuestos.

### 2.8.1 FRACCIONAMIENTO DEL SUBEXTRACTO CLOROFORMICO (I)

En el subextracto clorofórmico al presentar varios compuestos que no están bien definidos en su forma redondeada y para facilitar la separación se realiza un fraccionamiento, disolviendo en etanol y posteriormente adicionar tolueno observándose la separación en dos fases; la fase de etanol o superior en un recipiente y la de tolueno en otra. La presencia de sólidos en emulsión permite centrifugar y obtener un sólido amarillo.



Buscar pruebas cromatografías en TLC para establecer el sistema de solventes que ofrezca una adecuada separación de cada uno de los sub-subextractos.

**PLACA # 2:**

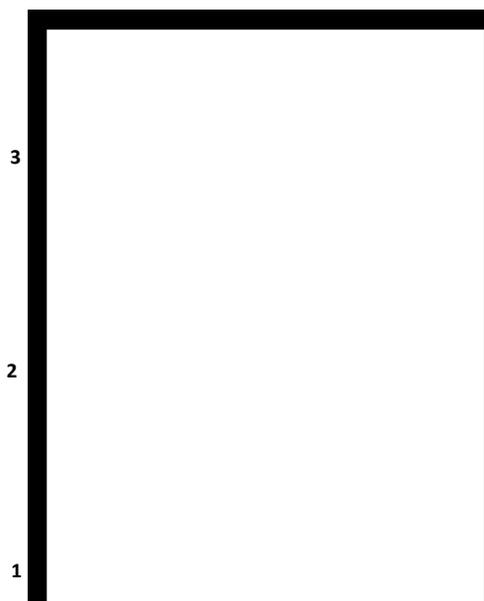
I.1      I.2      I.3      I.4

**Placa de Oxido de Aluminio****Muestras:** Sub-subextractos**I.1.** Sub-subextracto etanólico**I.2.** Sub-subextracto acetónico**I.3.** Sub-subextracto toluénico**I.4.** Sub-subextracto sólido**Solvente de recorrido:** Tolueno: Acetato de etilo (9:1)**Revelador:** Vainillina  $H_2SO_4$ 

Al sub-subextracto etanólico (I.1), sub-subextracto acetónico (I.2), sub-subextracto tolueno (I.3) y sub-subextracto sólido (I.4) se cromatografían con solvente de recorrido: Acetato de etilo: Tolueno (9:1) y el cromatograma permite unir el sub-subextracto etanólico y sub-subextracto acetónico ya que sus manchas son semejantes.

El sub-subextracto toluenico (I.3) no se separan los componentes por lo cual es necesario cambiar el solvente recorrido buscando eficacia, eficiencia y resolución.

El sub-subextracto sólido (I.4) obtenido por centrifugación contiene flavonoides no detectables al revelarse con Vainillina  $H_2SO_4$  pero se visualiza con sulfato de cerio.

**PLACA # 3****Placa de silicagel GF254**

**Sub-subextractos:** etanólico (I.1) y acetónico (I.2)

**Solvente de recorrido:** Tolueno: Acetato de etilo (9:1).

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

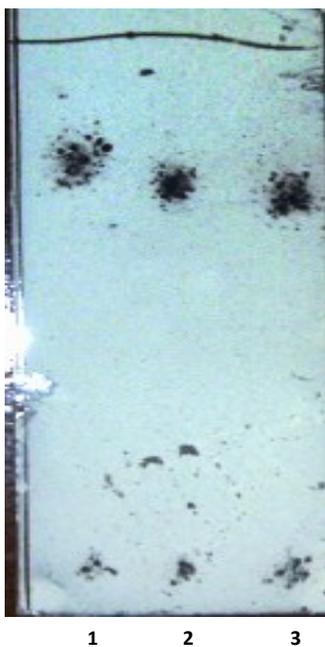
**Bandas:**

Banda #1 = Rf= 0

Banda #2 = Rf= 0.46

Banda #3 =Rf= 0.91

Se corta cada una de las bandas y recuperar los metabolitos por extracción con etanol, concentrar y tenemos soluciones de color amarillo. La verificación de la pureza se corren en las mismas condiciones de separación.

**PLACA # 4: Purificación del Sub-subextracto etanólico y acetónico.****Placa de silicagel G<sub>F254</sub>**

**Sub-subextracto:** etanólico (I.1) y acetónico (I.2)

**Solvente de Recorrido:** Tolueno: Acetato de etilo (9:1)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

El sub-subextracto etanólico (I.1) y sub-subextracto acetónico (I.2) podemos observar que las manchas son claras y redondas, esto demuestra que los compuestos tienen pureza cromatográfica lo que indica que la polaridad del solvente de recorrido es apropiado.

### 2.8.1.1 Tratamiento del Sub-subextracto Toluénico (I.3)

El sub-subextracto toluénico (I.3) al presentar varias manchas desde la mitad de la placa hasta el frente del solvente, se añadió etanol y tratar con éter etílico para extraer la fase menos polar que da un sub-subextracto etéreo de color amarillo (I.3.1) y un sub-subextracto etanólico de color anaranjado (I.3.2) se concentran y se cromatografían en la placa # 5.

### 2.8.1.2 Análisis cromatográfico del Sub- subextracto etéreo (I.3.1)

#### PLACA # 5:



**Placa de silicagel G<sub>F254</sub>**

**Muestra:** Fase etérea (I.3.1)

**Solvente de recorrido:** Cloroformo:  
Dietilamina (90:10)

**Revelador:** Dragendorff

R<sub>f</sub>= 0.20

R<sub>f</sub>= 0.43

R<sub>f</sub>= 0.64

Aquí se encuentran dos alcaloides por la presencia de dos manchas por lo cual nos permite aplicar a la placa preparativa para la separación de las bandas y purificación.

### 2.8.1.3 Placa Preparativa del Sub- subextracto etéreo (I.3.1)

#### PLACA # 6:



#### Placa de silicagel G<sub>F254</sub>

**Muestra:** Sub-subextracto etéreo  
(I.3.1)

**Solvente de recorrido:** Cloroformo:  
Dietilamina (90:10).

**Revelador:** Dragendorff

Banda 3.1.1  $Rf_1 = 0$

Banda 3.1.2  $Rf_2 = 0.45$

Banda 3.1.3  $Rf_3 = 0.81$

La recuperación de los compuestos se realiza por corte de bandas, recuperación con etanol eliminado el solvente se presenta como sólidos amorfos amarillos y aplicando a la placa # 8 presentó de cada franja una mancha redondeada por lo cual se determina en el UV.

**PLACA # 7:**

1

2

**Placa de silicagel GF254****Bandas 3.1.2 y 3.1.3****Solvente de recorrido:** Cloroformo: Dietilamina  
(90:10)**Revelador:** Dragendorff

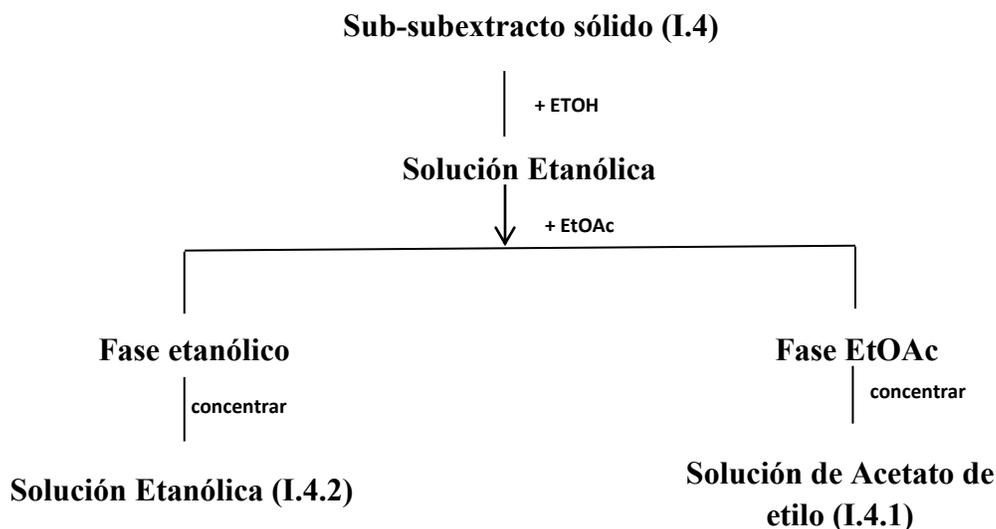
La presencia de una sola mancha redondeada en cada banda confirma que hay un solo compuesto puro, que se verifica al revelar con Dragendorff da manchas de color anaranjado.

**PLACA # 8:****Placa de silicagel GF254****Muestra:** Fase etanolica (I.3.2)**Solvente de recorrido:** Cloroformo: ácido acético:  
metanol: agua (60:32:12:8)**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La presencia de una sola mancha redondeada confirma que hay un solo compuesto que se verifica al revelar con Vainillina  $H_2SO_4$  da una mancha de color pardo podemos asumir que se trata de un terpeno por que se revelo con el reactivo de Rosenthaler.

#### 2.8.1.4 Análisis cromatográfico del Sub-subextracto sólido (I.4) sobrenadante de la centrifugación corrida en diferentes solventes.

Al realizar placas cromatográficas de la fracción solida (I.4) observamos el desplazamiento del solvente corrido no presente eficacia, eficiencia y resolución es por eso que procedemos a realizar una semisubextracción.



Buscar pruebas cromatográficas en TLC para establecer el sistema de solventes que ofrezca una adecuada separación de cada solución.

**PLACA # 9**

**Placa de silicagel G<sub>F254</sub>**

**Muestra:** Solución etanólica (I.4.2)

**Solvente de recorrido:** Tolueno:  
Butanol (65:35)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Por existir manchas redondeadas separadas y distribuidas desde el punto de aplicación hasta el frente del solvente se realiza una placa preparativa # 10, y se verifica las bandas.

**PLACA # 10**

**Placa de óxido de aluminio**

**Muestra:** Solución etanólica (I.4.2)

**Solvente de recorrido:** Tolueno: Butanol  
(65:35)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La recuperación de los compuestos se realiza por corte de bandas, extracción con metanol y se concentra, la verificación de los compuestos se aplica en la placa # 11 con las condiciones de corrido anterior.

### PLACA # 11



**Placa de óxido de aluminio**

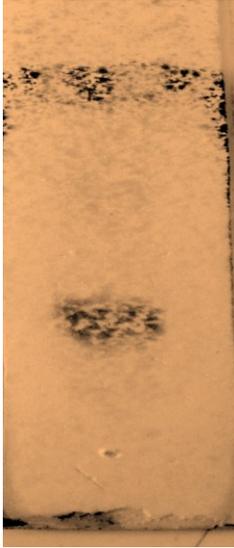
**Muestra:** Solución etanólica I.4.2.1;  
I.4.2.2 y I.4.2.3

**Solvente de recorrido:** Tolueno: butanol  
(65:35)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La presencia de una sola mancha redondeada en cada banda confirma que hay un solo compuesto que se verifica al revelar con el reactivo de Rosenthaler; cada una de las bandas presenta un color verdoso.

#### 2.8.1.5 Placa cromatográfica de la solución de acetato de etilo (I.4.1)

**PLACA # 12**

**Placa de silicagel GF<sub>254</sub>**

**Muestra:** solución de acetato de etilo (I.4.1)

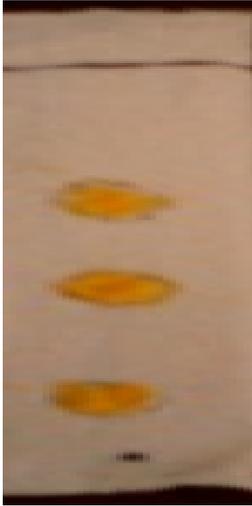
**Solvente de recorrido:** Acetato de etilo: metanol (9:1)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

En la solución de acetato de etilo se observa a simple a vista la presencia de una sola mancha redondeada al revelar con Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> da un color pardo oscuro.

### **2.8.2 SUBEXTRACTO CLOROFORMICO ALCALOIDAL II**

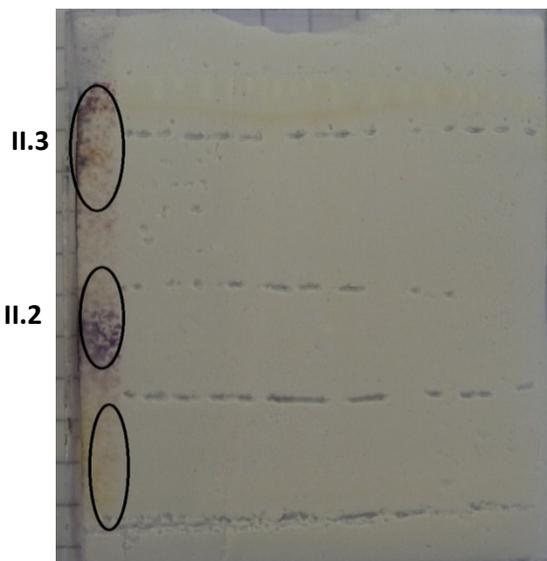
En el subextracto clorofórmico básico II puede contener alcaloides para lo cual se analiza los solventes de corrido para alcaloides de la quina y verificar la presencia de los mismos.

**PLACA # 13****Placa de Oxido de Aluminio****Muestra:** Subextracto alcaloidal (II)**Solvente de recorrido:** Cloroformo:

Dietilamina (90:10)

**Revelador:** Dragendorff

La presencia de manchas redondas, separadas permite aplicar a la placa preparativa para la separación y purificación en la placa # 14.

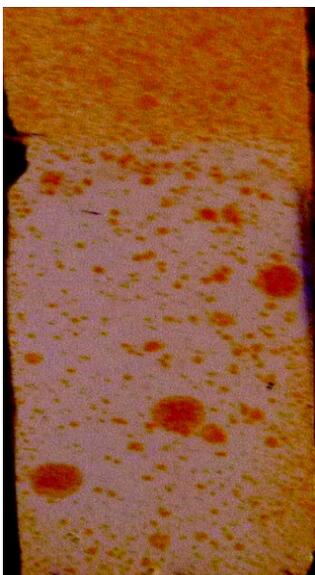
**PLACA # 14****Placa de Oxido de Aluminio****Muestra:** Subextracto alcaloidal (II)**Solvente de recorrido:**

Cloroformo: Dietilamina (90:10)

**Revelador:** Dragendorff

La recuperación de los compuestos se realiza por cortes de bandas, elución en metanol, eliminar el metanol obteniendo sólidos, la comprobación demuestra en la placa # 15 que están puras.

### PLACA # 15



#### Placa de Oxido de Aluminio

**Muestra:** Subextracto alcaloidal II

**Solvente de recorrido:** Cloroformo: Dietilamina  
(90:10)

**Revelador:** Dragendorff

La presencia de una sola mancha redondeada en cada banda confirma que hay un solo compuesto puro que se verifica al revelar con Dragendorff da manchas de color anaranjado

### 2.8.3 PURIFICACIÓN DEL SUBEXTRACTO ETANÓLICO III

Realizar placas cromatográficas del subextracto etanólico y buscar solventes adecuados para así lograr una buena eficacia, eficiencia y resolución.

**PLACA # 16**

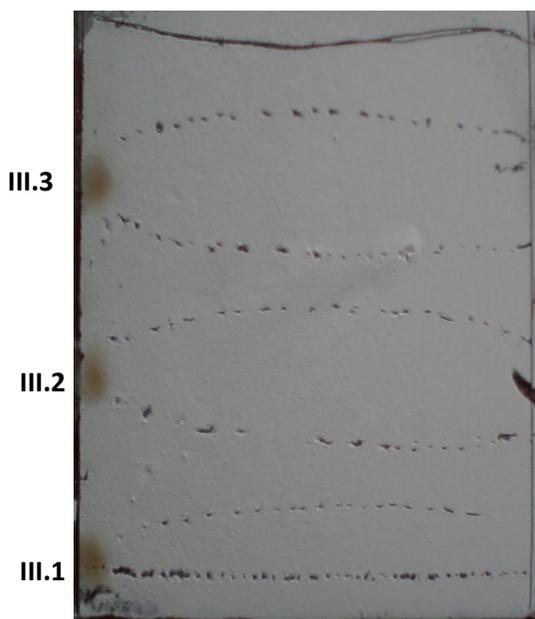
**Placa de silicagel G<sub>F254</sub>**

**Muestra:** subextracto etanólico III

**Solvente de recorrido:** acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La presencia de manchas redondas, separadas permite aplicar a la placa preparativa para la separación y purificación en la placa # 17.

**PLACA # 17**

**Placa de silicagel G<sub>F2</sub>**

**Muestra:** subextracto etanólico III

**Solvente de recorrido:** acetato de etilo:  
Ácido fórmico: ácido acético glacial:  
agua (100:11:11:26)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

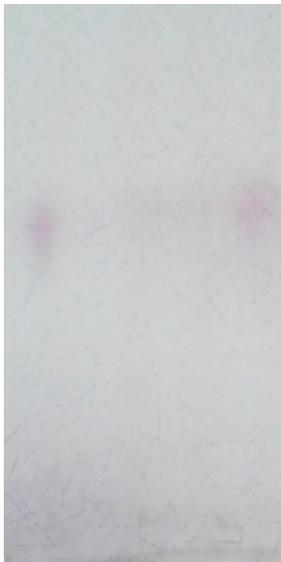
Banda III.1 R<sub>f</sub>=0

Banda III.2 R<sub>f</sub>= 0.40

Banda III.3 R<sub>f</sub>= 0.54

La recuperación de los compuestos se realiza por corte de bandas, elución con etanol eliminar el alcohol obteniendo la solución para la verificación de los metabolitos en placa # 18.

### **PLACA # 18**



**Placa de silicagel GF<sub>254</sub>**

**Muestra:** subextracto etanólico III

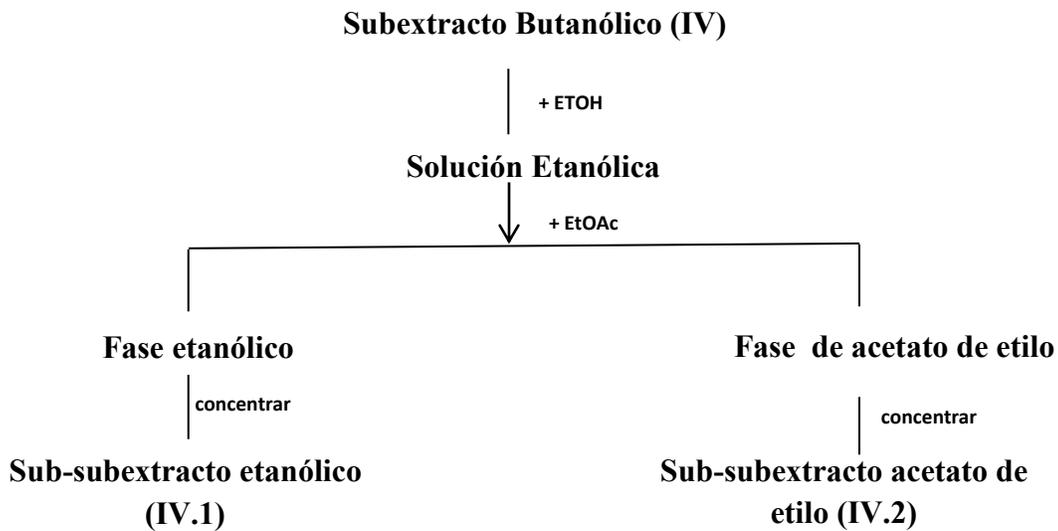
**Solvente de recorrido:** acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La cromatografía de las bandas recuperadas al revelar con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> presenta cada una manchas de color violeta.

#### **2.8.4 Tratamiento del subextracto butanólico (IV)**

El subextracto butanólico (IV) pastoso pardo que cromatografiado no separa en manchas redondas y son múltiples en los siguientes solventes como cloroformo: metanol: agua (65:35:15) revelado con vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y con acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) revelado con CeSO<sub>4</sub>. Fraccionar al subextracto butanólico (IV) disolviendo en etanol y posteriormente adicionando acetato de etilo y aplicar los solventes de corrido que dio mediana separación anteriormente.

**PLACA # 19**

**Placa de silicagel GF254**

**Muestra:** Sub-subextracto etanólico (IV.1)

**Solvente recorrido:** Cloroformo: metanol: agua  
(65:35:15)

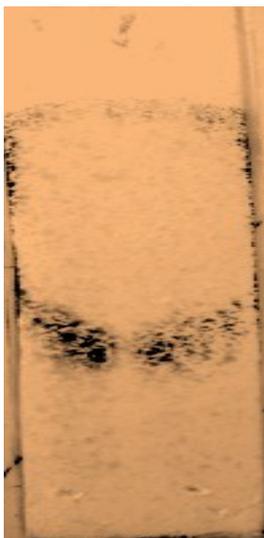
**Revelador:** Vainillina  $\text{H}_2\text{SO}_4$

**Banda # 1** Rf= 0.33

**Banda # 2** Rf= 0.59

### 2.8.4.1 Verificación de compuestos en las bandas de la placa preparativa # 20 del subextracto etanólico (IV.1)

#### PLACA #20



**Placa de silicagel G<sub>F254</sub>**

**Muestra:** sub-subextracto etanólico (IV.1)

**Solvente de recorrido:** Cloroformo: metanol: agua (65:35:15)

**Revelador:** Vainillina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

La presencia de una sola mancha redondeada en cada banda confirma que hay un solo compuesto que se verifica al revelar con el reactivo de Rosenthaler; cada una de las bandas presenta un color.

**PLACA# 21**

**Placa silicagel G<sub>F254</sub>**

**Muestra:** Sub-subextracto de acetato de Etilo (IV.2)

**Solvente de recorrido:** acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26)

**Revelador:** CeSO<sub>4</sub>

**Rf de la solución de acetato de etilo**

$$Rf_1 = 0.32$$

$$Rf_2 = 0.57$$

$$Rf_3 = 0.76$$

La presencia de manchas redondas, separadas permite aplicar a la placa preparativa con bandas de Rf 0.32; 0.47 y 0.78 cortadas las bandas, extraídas con metanol, concentradas y comprobadas en capa fina dan manchas únicas y redondas; Verificación de compuestos en las bandas de la placa preparativa de la solución de acetato de etilo (IV.2)

**PLACA # 22**

1

2

3

**Placa de silicagel G<sub>F254</sub>****Muestra:** Sub-subextracto de acetato de etilo (IV.2)**Solvente de recorrido:** acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26)**Revelador:** CeSO<sub>4</sub>

La cromatografía de las bandas recuperadas al revelar con sulfato de cerio presenta cada uno manchas de color pardo rojizo.

## CAPITULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA

Para el análisis de control de calidad se utilizó la corteza de quina roja (*Cinchona pubescens*) a la cual se extrajo con etanol al 96%. El hinchamiento de la droga es importante porque aumenta la permeabilidad de la pared celular y difusión del alcohol.

Los subextractos preparados con la corteza de quina tiene un rendimiento de clorofórmico 4.88 %, butanólico 5.56%; es así que el subextracto clorofórmico alcaloidal con 43.96 %, presenta mayor cantidad obtenida y el extracto metanólico con 7.84%.

El tamizaje fitoquímico determina la presencia de alcaloides por las reacciones positivas de Dragendorff, Wagner, Mayer, contiene terpenos por reacción positiva para, Rosentaler, Lieberman Buchard, Baljet y espuma a lo cual se procede a realizar Cromatografías en capa fina

#### 3.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Los resultados obtenidos en el extracto de la corteza de quina roja (*Cinchona pubescens*) se aprecian en la siguiente tabla. Con respecto a las reacciones de coloración o aparición de precipitados, aplicadas según las técnicas de tamizaje fitoquímico.

**TABLA N°12. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE LA CORTEZA DE QUINA ROJA (*Cinchona pubescens*)**

TIPO DE COMPUESTO	PRUEBAS	EXTRACTO DE CORTEZA DE QUINA ROJA ( <i>Cinchona pubescens</i> )
Alcaloides	Dragendorff	(+++)
	Mayer	(++)
	Wagner	(+++)
Triterpenos y Esteroides	Lieberman Buchard	(+)
Quinonas	Börntrager	(+)
Catequinas	Catequinas	(+)
Saponinas	Espuma	(+)
Taninos	Cloruro Férrico	(+)
Flavonoides	Shinoda	(+++)

(+++)  
(+) ó (++) cuando la presencia del metabolito secundario es abundante.

(+) ó (++) cuando la presencia del metabolito secundario es poco o escaso.

En el análisis del tamizaje fitoquímico se puede apreciar mediante el cuadro N° 4 la alta existencia de alcaloides; también existe una presencia considerable de flavonoides, triterpenos y/o esteroides, sesquiterpenos, saponinas, compuestos fenólicos y/o taninos en una proporción representativa vista en el vegetal.

### 3.3 ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DEL EXTRACTO DE LA CORTEZA DE QUINA ROJA

Las pruebas fueron aplicadas al extracto metanólico de la corteza de quina roja que fue obtenido e inmediatamente se realizaron los ensayos.

Mediante los requisitos organolépticos se establecieron la densidad relativa es 1.026 superior al agua obtenida al realizarse una comparación entre la densidad del agua;

El índice de refracción de 1.265 menor al agua.

El pH es del extracto fue 5.02 es ligeramente acida.

### 3.4 CUANTIFICACIÓN DE CATEQUINAS.

**TABLA N°13. CUANTIFICACIÓN DE CATEQUINAS EN EL EXTRACTO METANÓLICO DE QUINA ROJA  
LABORATORIO DE FITOQUÍMICA, FACULTAD DE CIENCIAS**

DETERMINACION	EXTRACTO METANÓLICO DE QUINA ROJA
PORCENTAJE DE CATEQUINA	0.084

En la tabla No 13, se encuentra la determinación de catequinas polifenólicas cuantificadas por el método del permanganato de potasio en un porcentaje de 0.084 que es relativamente bajo.

### 3.5 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA A PARTIR DEL SUB-SUBEXTRACTO ETEREO Y SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICO ALCALOIDAL

Para determinar los compuestos presentes en cada una de las bandas separadas del sub-subextracto etéreo y subextracto alcaloidal se realizó una cromatografía de capa fina con solventes de recorrido, absorbentes determinados y los R<sub>f</sub>s de marcadores reportados en bibliografía con los cuales se compara los resultados.

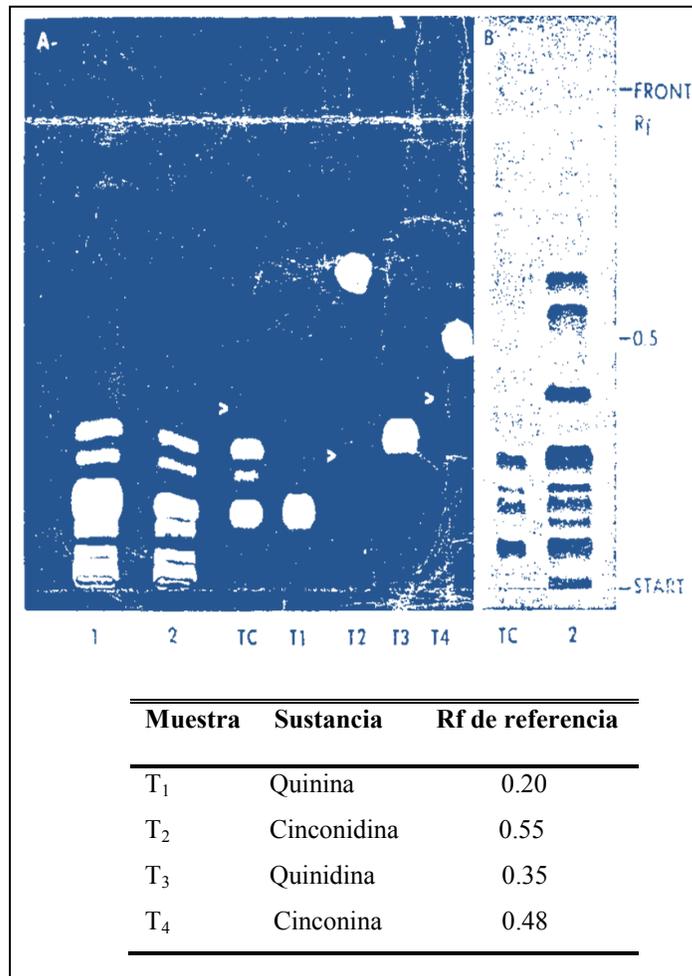
Cromatografía en capa fina para alcaloides de la corteza de Cinchona de acuerdo a la bibliografía de (WAGNER H, BLADT.S.1996.Pp.32)

**Placa silicagel**G<sub>F254</sub>

**Muestras:** T1 (quinina), T2 (cinconidina), T3 (quinidina), T4 (cinconina)

**Solvente recorrido:** Cloroformo: Dietilamina (90:10)

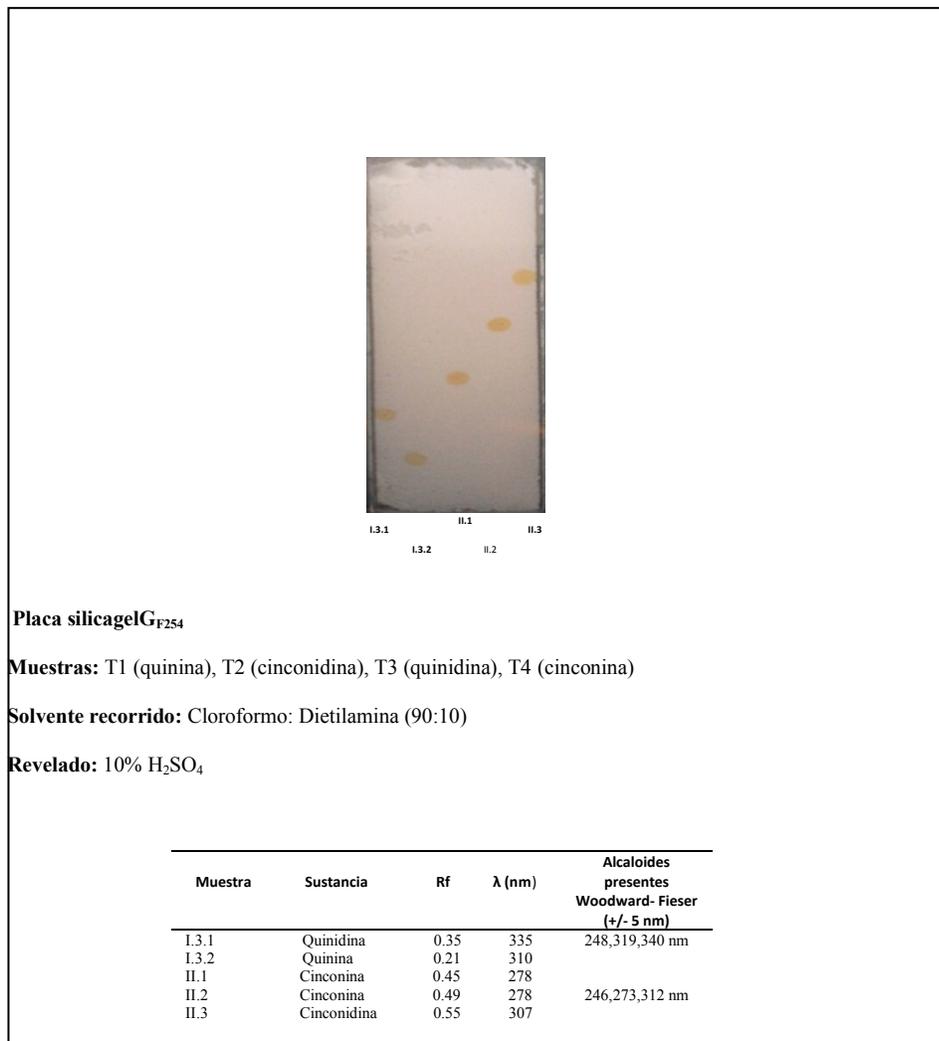
**Revelado:** 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



FUENTE: WAGNER HILDEBERT.1996. PLANT DRUG ANALYSIS

**GRÁFICO No 4 CROMATOGRAFÍA PARA ALCALOIDES DE LA CINCHONA**

Se realizó una cromatografía en capa delgada para identificar que alcaloides se encuentran presentes en cada una de las bandas separadas del sub-subextracto etéreo (I.3.1) y del subextracto clorofórmico alcaloidal (II) de acuerdo a las siguientes condiciones reportadas anteriormente.



**GRÁFICO No 5 CROMATOGRAMA OBTENIDO DEL SUB-SUBEXTRACTO ETÉREO (I.3) Y DEL SUBEXTRACTO CLOROFÓRMICO ALCALOIDAL (II)**

En el sub-subextracto etéreo (I.3.1) se logró determinar que compuestos se encuentran presentes en el mismo, por lo cual se realizó una cromatografía con las condiciones reportadas para alcaloides (Ver gráfico # 4) corrida en cloroformo: dietilamina (90:10) revelada con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% presentó Rf<sub>1</sub>=0.20 con  $\lambda_{\max}$ = 335 nm y un Rf<sub>2</sub>= 0.35 con una  $\lambda_{\max}$ = 325 nm ; comparamos los valores de longitud de onda calculados y los Rfs de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de dos alcaloides como es la quinina

y quinidina. Mientras que en el subextracto clorofórmico alcaloidal (II) se comprobó la presencia de dos compuestos alcaloidales como es la cinconidina.

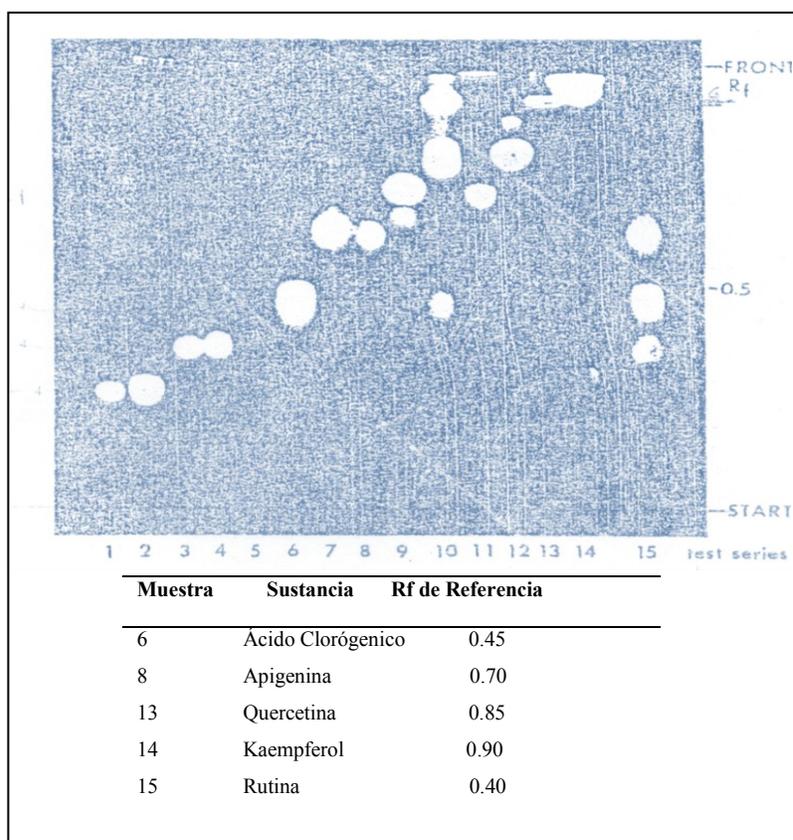
### 2.8.6 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES POR CROMATOGRAFÍA

Cromatografía en capa fina para flavonoides de acuerdo a la bibliografía de (WAGNER H, BLADT.S.1996.Pp.210), de acuerdo a las siguientes condiciones reportadas.

**Placa silicagel G<sub>F254</sub>**

**Solvente recorrido:** acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26)

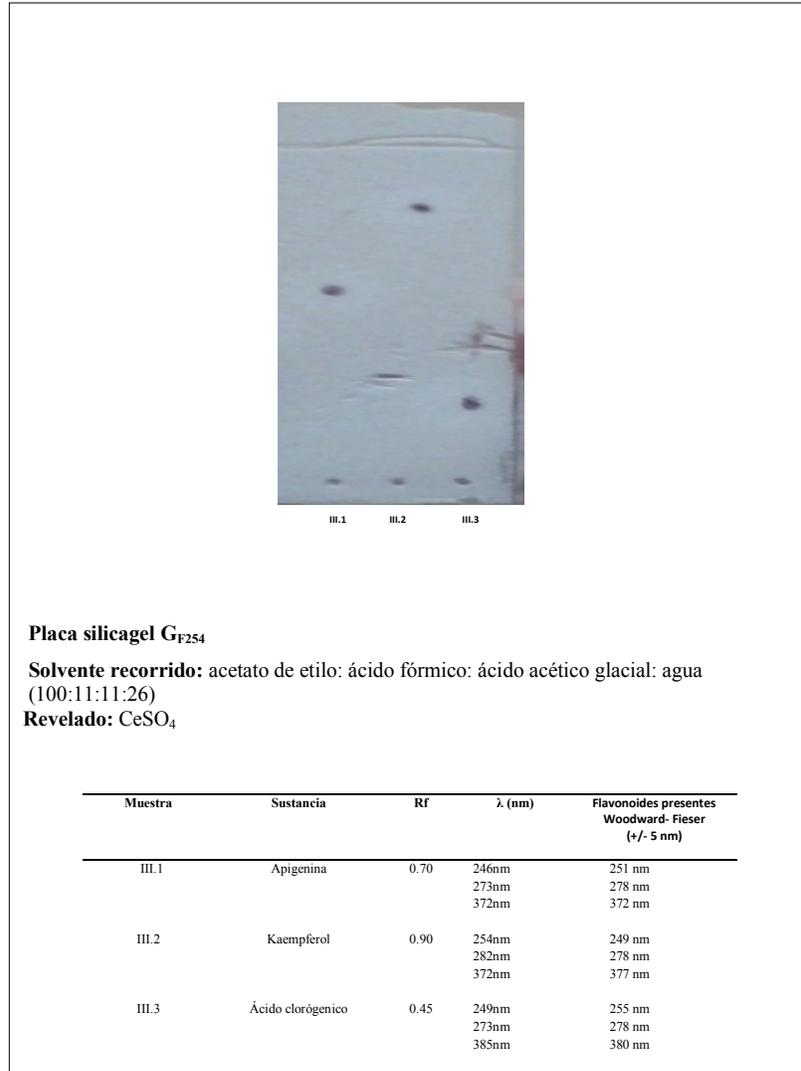
**Revelado:** CeSO<sub>4</sub>



FUENTE:WAGNER HILDEBERT.1996. PLANT DRUG ANALYSIS

**GRÁFICO No 6 CROMATOGRAFÍA PARA FLAVONOIDES**

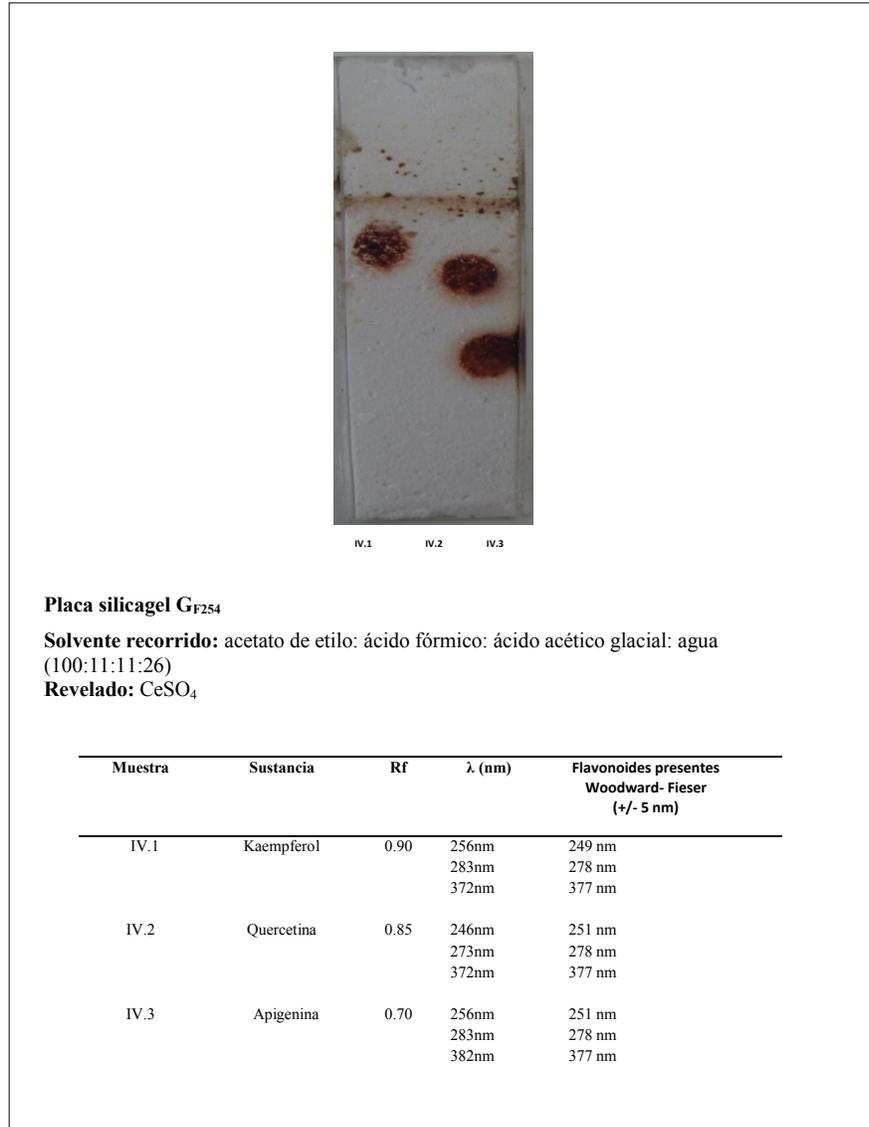
Se realizó una cromatografía en capa delgada para identificar que flavonoides se encuentran presentes en cada una de las bandas separadas del sub-subextracto etanólico (III) de acuerdo a las siguientes condiciones reportadas anteriormente.



**GRÁFICO No 7 CROMATOGRAMA OBTENIDO DEL SUBEXTRACTO ETANÓLICO (III)**

En el subextracto etanólico (III), se logró determinar que compuestos se encuentran presentes en el mismo, por lo cual se realizó una cromatografía con las condiciones reportadas para flavonoides (Ver gráfico # 6) corrida en acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) y revelado sulfato de cerio presentó  $R_{f1}=0.45$  con

$\lambda_{\max} = 249, 273, 385 \text{ nm}$  ;  $Rf_2 = 0.69$  con una  $\lambda_{\max} = 246, 273, 372 \text{ nm}$  ;  $Rf_3 = 0.90$  con  $\lambda_{\max} = 254, 282, 372 \text{ nm}$  comparamos los valores de longitud onda calculados y los Rfs de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de dos flavonoides como es la Apigenina y Kaempferol.



**GRÁFICO No 8 CROMATOGRAMA OBTENIDO DEL SUBEXTRACTO DE ACETATO DE ETILO (IV)**

En el sub- subextracto de acetato de etilo (IV), se logró determinar que compuestos se encuentran presentes en el mismo, por lo cual se realizó una cromatografía con las condiciones reportadas para flavonoides (Ver gráfico # 6) corrida en acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) y revelado sulfato de cerio presentó  $Rf_1=0.90$   $\lambda_{max} = 256, 283, 372$  nm ;  $Rf_2= 0.85$  con una  $\lambda_{max}= 246,273,372$  nm ;  $Rf_3= 0.70$  con  $\lambda_{max} = 256,283,382$  nm, comparamos los valores de longitud de onda y los Rfs de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de tres flavonoides como es el Kaempferol. Quercetina y la Apigenina.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES

1. La corteza de quina roja *Cinchona pubescens* en el tónico amargo contiene flavonoides como quercetina con  $\lambda_{\max/\text{Et(OH)}}$  254,270,370 nm; apigenina con  $\lambda_{\max/\text{Et(OH)}}$  267,295,335 nm; kaempferol con  $\lambda_{\max/\text{Et(OH)}}$  250,266,295,320 nm; contiene alcaloides como quinina, quinidina con  $\lambda_{\max}$  330 nm, cinconina y cinconidina  $\lambda_{\max}$  320 nm siendo la hipótesis positiva.
2. El extracto etanólico preparado por maceración es de color pardo rojizo con densidad 1.026; índice de refracción 1.267 y pH 5. Contiene derivados fenólicos catequinas con cloruro férrico; flavonoides con shinoda y alcaloides con Dragendorff y Ácido sulfúrico al 10 %.
3. El rendimiento del subextracto clorofórmico es 4.88%, butanólico 5.56%; etanólico 7.84%, clorofórmico alcaloidal 43.96% presenta mayor cantidad.
4. Al subextracto clorofórmico (I) se disolvió en etanol (I.1) luego se extrajo con tolueno y acetona (I.2); la solución toluénica centrifugada da un sub-subextracto toluénico (I.3) y un sub-subextracto sólido (I.4). El sub-subextracto toluénico (I.3) se

extrae con etanol y éter dando fase etérea (I.3.1) y una fase etanólica (I.3.2). A la fase etérea (I.3.1) corrida con cloroformo: dietilamina (90:10) fue revelada con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% presentó un R<sub>f1</sub>=0.20 con una  $\lambda_{\text{max}}$ = 335 nm y un R<sub>f2</sub>= 0.35 con una  $\lambda_{\text{max}}$ = 325 nm, al comparar los valores de longitud de onda calculados y los R<sub>f</sub>s de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de alcaloides como es la quinina y quinidina, según gráfico No.5.

5. El análisis cromatográfico de capa fina del subextracto clorofórmico alcaloidal (II) corrido con cloroformo: dietilamina (90:10) y revelado con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% presentó R<sub>f1</sub>=0.39 con  $\lambda_{\text{max}}$ = 244 nm ; R<sub>f2</sub>= 0.48 con una  $\lambda_{\text{max}}$ = 278 nm ; al comparar los valores de longitud de onda calculados y los R<sub>f</sub>s de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de dos alcaloides como es la cinconina y cinconidina, según el gráfico No 5.
  
6. El subextracto etanólico separado en capa fina con solvente recorrido: acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) y revelado con sulfato de cerio presentó R<sub>f1</sub>=0.45 y  $\lambda_{\text{max}}$  = 249, 273, 385 nm ; R<sub>f2</sub>= 0.69 con una  $\lambda_{\text{max}}$ = 246,273,372 nm ; R<sub>f3</sub>= 0.90 con  $\lambda_{\text{max}}$  = 254,282,372 nm, al comparar los valores de longitud de onda calculados y los R<sub>f</sub>s de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de la Apigenina y Kaempferol, según el gráfico No 7.

7. Al subextracto butanólico (IV) tratado con acetato de etilo (I.V.2) y cromatografiado con: acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) revelado con sulfato de cerio dio  $Rf_1=0.90$  y  $\lambda_{max}=256, 283, 372$  nm ;  $Rf_2=0.85$  con una  $\lambda_{max}=246,273,372$  nm ;  $Rf_3=0.70$  con  $\lambda_{max}=256,283,382$  nm ; al comparar los valores de longitud de onda calculados y los Rfs de referencia bibliográfica se pudo determinar la presencia de flavonoides como es: Kaempferol. Quercetina y la Apigenina, según el gráfico No 8.

## CAPITULO V

### RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar nuevas investigaciones que permitan profundizar más aún los beneficios que pueden infundir las diversas moléculas provenientes de la corteza de quina roja.
2. Como se identificó la presencia de alcaloides y flavonoides, se recomienda realizar una investigación sobre la toxicidad de la corteza de quina roja y así poder utilizarlos en la industria farmacéutica, alimenticia y cosmética dándoles la aplicabilidad del caso.
3. Se recomienda continuar con el estudio de plantas medicinales en búsqueda de productos funcionales y efectivos.

## RESUMEN

El estudio de la composición química del Tónico Amargó de Quina Roja (*Cinchona pubescens*), se realizó en el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Se utilizó como metodología experimental el aislamiento de alcaloides y flavonoides a partir de la preparación del extracto etanólico por maceración y fraccionamiento en subextractos clorofórmico, butanólico y clorofórmico basificado, mediante cromatografías en capa fina, se tamizó fitoquímicamente dando flavonoides y alcaloides.

Como resultado se determinó que en el subextracto clorofórmico (I) tratado con éter (I.3.1) corrido con cloroformo: dietilamina (90:10) y revelado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% determinamos la presencia de Quinidina y Quinina.

El subextracto clorofórmico alcaloidal II corrido en placas silicagel  $\text{G}_{\text{F}254}$  con cloroformo: dietilamina (90:10) y revelado  $\text{H}_2\text{SO}_4$  10% determinamos la presencia de Cinconina y Cinconidina.

El subextracto etanólico (III) corrido con acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) y revelado  $\text{CeSO}_4$  determinamos la presencia de Apigenina y Kaempferol.

El subextracto butanólico (I.V) tratado con acetato de etilo (IV.2) corrido con acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua (100:11:11:26) y revelado  $\text{CeSO}_4$  determinamos la presencia de Kaempferol; Quercetina y Apigenina.

Se concluye que el proceso es válido para verificar en su composición alcaloides y flavonoides los mismos que tienen efectos terapéuticos. Se recomienda se realicen nuevas investigaciones que permitan profundizar más aun los beneficios que pueden infundir las diversas moléculas provenientes de la quina roja.

## ABSTRACT

This work conducted the study chemical composition of Tonic Bitter Red Quina (*Cinchona pubescens*), in Laboratory of Phyto-chemistry, Faculty of Sciences of Polytechnic School of Chimborazo.

Experimental methodology was used as the isolation of flavonoids and alkaloids from ethanolic extract preparation and fractionation by maceration sub-extracts chloroform, butanol and chloroform basified by thin layer chromatography, giving phyto-chemically sieved flavonoids and alkaloids.

This study determined in sub-extract chloroformate (I) treated with ether (I.3.1) run with chloroform: diethylamine (90:10) and 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> determine revealed the presence of Quinidine and Quinine.

The chloroformic sub-extract alkaloidal II G<sub>F254</sub> silica gel plates run in chloroform: diethylamine (90:10) and 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> determine revealed the presence of cinchonine and cinchonidine.

The ethanolic sub-extract (III) run with ethyl acetate: formic acid: glacial acetic acid: water (100:11:11:26) and revealed the presence of CeSO<sub>4</sub> determine Apigenin and Kaempferol.

The sub-extract butanol (IV) treated with ethyl acetate (IV.2) run with ethyl acetate: formic acid: glacial acetic acid: water (100:11:11:26) and revealed the presence of CeSO<sub>4</sub> determine Kaempferol, Quercetin and Apigenin.

This study concluded that process is valid for check in composition alkaloids and flavonoids that have the same therapeutic effects and recommended further research to deepen even more the benefits that can be generated from various molecules Red Quina.

**CAPITULO VII****6. BIBLIOGRAFÍAS**

1. **ALONSO, J.**, Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos., 1<sup>a</sup>.ed., Buenos Aires-Argentina., 2004., Pp 1037–1042.
2. **BARCELO, J.**, Diccionario Terminológico de Química., 2a.ed., Barcelona-España., 1979., Pp 289.
3. **BLADT, W.**, Plant Drug Analysis., 2a.ed.; Berlín-Alemania., Springer Verlag., 1996., Pp 25–32.
4. **BRUNETON, J.**, Farmacognosia Fitoquímica Plantas Medicinales., 2a.ed.; Zaragoza-España., Editorial Acribia., 2001., Pp 1092.
5. **CÁCERES, A.**, Plantas de Uso Medicinal., 2a ed., Bogotá-Colombia., Editorial Secap., .1997.,. Pp 28 -33.
6. **COSSIO, J.**, Farmacognosia., 2a ed.; Barcelona-España., Editorial Salvat., 2000., Pp 197–200.

7. **DOMINGUEZ, A.**, Cromatografía en Papel y en Capa Delgada., 2a ed., México-México., Editorial México., 1975., Pp 62–64.
8. **DOMINGUEZ, X.**, Métodos de Investigación Fitoquímica., 3a .d México D.F- México., .Editorial Limusa., 1999., Pp 215.
9. **FLORES, R.**, Atlas de las Plantas Medicinales y Curativas., 2a.ed.; Washington-EEUU.,. 1998.,. Pp 90 – 95.
10. **GROS, E.**, Introducción al estudio de los Productos Naturales., Washington –EEUU., 1985., Pp 78 – 94.
11. **JÁTIVA, C.**, Texto Básico de Farmacognosia y Productos Naturales., 1a.ed., Riobamba-Ecuador., Centro de Reproducción de Documentos de ESPOCH., 2000., Pp 56 - 60.
12. **LOCK, O.**, Investigación Fitoquímica., 2a.ed.; Lima-Perú., Editorial Universidad Católica del Perú., 1994., Pp 189 – 213.
13. **NOLLER, C.**, Química Orgánica., 3<sup>a</sup>.ed.; México-México., Editorial Interamericana, 1968., Pp 455.

- 14. PAMPLONA, R.,** Enciclopedia de las Plantas Medicinales.,  
4<sup>a</sup>.ed., Argentina-Buenos Aires., Editorial Mc.Graw., 1968.,  
Pp 752.
- 15. SILVERSTEIN, R.,** y otros., Identificación Espectrométrica de  
Compuestos Orgánicos., 2<sup>a</sup>.ed., México-México., Editorial  
Diana.,1980., Pp 253- 268.

### **Bibliografía de Internet**

**16. ALCALOIDES**

<http://www.información-farmacología/wiki/alcaloides>

2012/06/03

**17. CLASIFICACIÓN BOTÁNICA DE LA QUINA ROJA**

**(*Cinchona pubescens*)**

[http://www.worldabotánica.org/treedb2/AFTPDFS/Cinchona\\_pubescens.pdf](http://www.worldabotánica.org/treedb2/AFTPDFS/Cinchona_pubescens.pdf)

2012/07/24

**18. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

[www.textoscientificos.com](http://www.textoscientificos.com)

20012/01/23

**19. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE (*Cinchona pubescens*)**

<http://www.monografias.com/trabajos-pdf/diversidad-familia-rubiaceae/diversidad-familia-rubiaceae.pdf>

2012/10/01

**20. CULTIVO DE LA QUINA**

<http://hist.library.paho.org/Spanish/BOL/v11n6p578.pdf>

2012/10/01

**21. EL MUNDO DE LAS PLANTAS**

<http://www.botanical-online.com/medicinales/flavonoides.htm>

2012/07/14

**22. ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA**

[http://www.espectrometria.com/espectrometria\\_ultravioleta-visible](http://www.espectrometria.com/espectrometria_ultravioleta-visible)

2012/05/15

**23. FITOFARMACOS, PODER CURATIVOS DE LOS  
FITOFARMACOS**

<http://www.bienestarpersonal.com/cel-poder-farmacos>

2002/06/19

**24. FLAVONOIDES**

<http://www.nutricion-farmacologia.com/wiki/Flavonoides>

2011/09/17

**25. GALLEGOS., O., Plantas Medicinales**

[http://www.quina/sitios/patrimoni/museos/plantas.ht\\_cuba](http://www.quina/sitios/patrimoni/museos/plantas.ht_cuba)

2012/06/19

**26. MEDICINA ANCESTRAL**

[http://www.hierbitas.com/nombrecomun/QUINA\\_ROJA.htm](http://www.hierbitas.com/nombrecomun/QUINA_ROJA.htm)

2012/09/10

**27. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE  
PLANTAS MEDICINALES**

[www.biblioteca.idic.villaclara..cu/UserFiles/File/.../5.pdf](http://www.biblioteca.idic.villaclara..cu/UserFiles/File/.../5.pdf)

2012/03/20

**28. TAMIZAJE FITOQUÍMICO**

<http://.laseguridad.ws/consejo/html/memorias/>

[Memorias\\_Complementarias/archivos](http://.laseguridad.ws/consejo/html/memorias/Memorias_Complementarias/archivos)

20012/30/02

**29. ORIGEN E HISTORIA DE LA QUINA ROJA**

<http://es.scribd.com/doc/696934167/historia-de-la-quina>

2012/10/05

**30. QUINA ROJA**

<http://www..sobre la quina .com/doc/archivos>

2012/08/05