



**FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO EN
BUTANOL OBTENIDO DE LA CORTEZA INTERNA DE *Tabebuia rosea*
(Bertol.) DC.**

Presentado por:

XAVIER ANDRES BETANCOURT OROZCO

HUGO FERNANDO TRUJILLO MANCILLA

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGÍA

ESCUELA DE QUÍMICA

GRUPO POLIFENOLES

Pereira, FEBRERO 2016



FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO EN BUTANOL OBTENIDO DE LA CORTEZA INTERNA DE *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC.

TRABAJO DE GRADO

Requisito parcial para optar por el título de Químico Industrial

Presentado por:

XAVIER ANDRES BETANCOURT OROZCO

HUGO FERNANDO TRUJILLO MANCILLA

Directora:

Dra. LUZ ANGELA VELOZA CASTIBLANCO

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA

FACULTAD DE TECNOLOGÍA

ESCUELA DE QUÍMICA

GRUPO POLIFENOLES

Pereira, FEBRERO 2016



NOTA DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE GRADO

FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL EXTRACTO EN BUTANOL OBTENIDO DE LA CORTEZA INTERNA DE *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC.

Presentado por:

XAVIER ANDRES BETANCOURT OROZCO

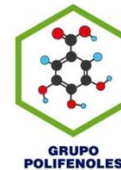
HUGO FERNANDO TRUJILLO MANCILLA

El suscrito director del presente trabajo de grado, una vez revisada la versión escrita, decide otorgar la nota de: _____

Para constancia firmamos en la ciudad de Pereira hoy

La directora: _____

Nombre: Luz Ángela Veloza Castiblanco.



DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo primordialmente a Dios, a nuestras familias por todo su apoyo incondicional y confianza durante nuestra etapa universitaria y el desarrollo de este proyecto.

Xavier Andrés Betancourt Orozco

Hugo Fernando Trujillo Mancilla



AGRADECIMIENTOS

- A nuestras familias por su apoyo incondicional, confianza y paciencia en el transcurso de la etapa universitaria.
- Le agradecemos a la Dra. Luz Ángela Veloza Castiblanco por brindarnos la oportunidad de realizar este proyecto y el apoyo ofrecido en el desarrollo de este trabajo.
- Al magister Francisco Javier Jiménez por sus enseñanzas y apoyo durante el desarrollo de este proyecto.
- Agradecemos a los integrantes del grupo Polifenoles por hacer amena la estadía en el laboratorio durante el transcurso del proyecto.

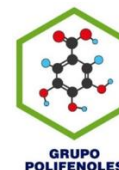
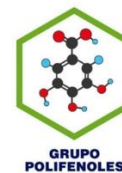


TABLA DE CONTENIDO

1. ANTECEDENTES.....	16
1.1 SURGIMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.3 OBJETIVOS	18
1.3.1 <i>Objetivo general.</i>	18
1.3.2 <i>Objetivos específicos.</i>	18
1.4 JUSTIFICACIÓN	19
2. MARCO TEORICO	20
2.1 FAMILIA <i>BIGNONIACEAE</i>	20
2.2 GENERO <i>TABEBUIA</i>	22
2.3 <i>TABEBUIA ROSEA</i>	25
3. SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	27
3.1 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	27
3.1.1 <i>Material vegetal</i>	27
3.1.2 <i>Equipos</i>	27
3.1.3 <i>Reactivos</i>	27
3.2 FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	28
3.3 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE NÚCLEOS QUÍMICOS DE LAS 14 FRACCIONES DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	29
3.4 ESPECTROMETRÍA UV-VIS DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE <i>TABEBUIA ROSEA</i> Y LAS FRACCIONES F ₁ –F ₁₀	34
3.5 PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA DE ALTA RESOLUCIÓN (CCDAR) PARA LAS FRACCIONES F ₃ , F ₄ Y F ₅	35
3.6 REACCIONES DE DESPLAZAMIENTO POR ESPECTROMETRÍA UV-VIS PARA LAS FRACCIONES F ₃ , F ₄ , F ₅ Y F ₆	35
3.7 FRACCIONAMIENTO DE LA FRACCIÓN F ₃ OBTENIDA A PARTIR DEL EXTRACTO BUTANÓLICO DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	35
3.8 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE NÚCLEOS QUÍMICOS DE LAS FRACCIONES F ₃₋₃ –F ₃₋₈	36
3.9 ESPECTROMETRÍA UV-VIS DE LAS FRACCIONES F ₃₋₃ – F ₃₋₈	36
3.10 FRACCIONAMIENTO DE LA FRACCIÓN F ₃₋₃ OBTENIDA A PARTIR DE LA FRACCIÓN F ₃	36
3.11 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE NÚCLEOS QUÍMICOS DE LAS FRACCIONES F ₃₋₃₋₁ – F ₃₋₃₋₁₁	37



3.12 PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CCDAR PARA LAS FRACCIONES F_{3-3-1} , F_{3-3-3} , F_{3-3-6} Y F_{3-3-7}	37
3.13 PERFILES CROMATOGRÁFICOS POR CG-EM DE DIFERENTES FRACCIONES DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1 RENDIMIENTO DEL FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	40
4.2 PERFILES CROMATOGRÁFICOS POR CG-EM DE LAS FRACCIONES F_{11} , F_{12} , F_{13} Y F_{14} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	40
4.3 MONITOREO DE LAS FRACCIONES F_1 - F_{10} POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.....	43
4.4 PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES F_1 - F_{10} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i> POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA (CCD).	43
4.5 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE NÚCLEOS QUÍMICOS DE LAS FRACCIONES F_1 - F_{10} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	46
4.6 PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES F_3 , F_4 Y F_5 DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i> POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA DE ALTO RENDIMIENTO (CCDAR).....	48
4.7 PERFILES CROMATOGRÁFICOS POR CG-EM DE LAS FRACCIONES F_3 , F_4 Y F_5 DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	49
4.8 PRUEBAS DE DESPLAZAMIENTO DE LAS FRACCIONES F_3 , F_4 , F_5 Y F_6	51
4.9 RENDIMIENTO DEL FRACCIONAMIENTO DE LA FRACCIÓN F_3 DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	55
4.10 MONITOREO DE LAS FRACCIONES F_{3-3} A F_{3-8} POR ESPECTROMETRÍA UV-VIS.....	55
4.11 PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES F_{3-3} A F_{3-8} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i> POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA (CCD).	56
4.12 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE NÚCLEOS QUÍMICOS DE LAS FRACCIONES F_{3-3} A F_{3-8} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	57
4.13 PERFILES CROMATOGRÁFICOS POR CG-EM DE LAS FRACCIONES F_{3-3} A F_{3-8} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	59
4.14 RENDIMIENTO DEL FRACCIONAMIENTO DE LA FRACCIÓN F_{3-3} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	62
4.15 PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES F_{3-3-1} A F_{3-3-11} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i> POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA DELGADA (CCD).....	63
4.16 PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE NÚCLEOS QUÍMICOS DE LAS FRACCIONES F_{3-3-1} A F_{3-3-11} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i>	65



4.17 PERFILES CROMATOGRÁFICOS DE LAS FRACCIONES F_{3-3-1} , F_{3-3-3} , F_{3-3-6} Y F_{3-3-7} DEL EXTRACTO EN BUTANOL DE LA CORTEZA INTERNA DE <i>TABEBUIA ROSEA</i> POR CROMATOGRAFÍA DE CAPA DELGADA DE ALTO RESOLUCIÓN (CCDAR).....	66
5. CONCLUSIONES	68
6. RECOMENDACIONES.....	69
7. BIBLIOGRAFIA	70
8. ANEXOS.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Actividad anti-inflamatoria 1. Inhibición en la producción de PGE₂, 2. Inhibición en la producción de NO, 3. Inhibición en la producción de TNF- α en los extractos obtenidos a partir de la corteza interna de *Tabebuia rosea* (Bertol) DC. 17

Figura 2.1 *Tabebuia chrysantha*21

Figura 2.2 *Arrabidaea chica*22

Figura 2.3 Compuestos aislados del genero *Tabebuia*.....23

Figura 2.4 Compuestos 1 y 2 aislados de *Tabebuia incana* AH Gentry24

Figura 2.5 *Tabebuia rosea*.....25

Figura 2.6 Compuestos aislados de *Tabebuia rosea* (Bertol) DC26

Figura 3.1 Fraccionamiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.28

Figura 3.2 Seguimiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* mediante espectrometría UV.29

Figura 3.3 Espectrómetro UV-Vis Shimadzu-UV-1700 Pharmaspec y barrido espectral extracto.....34

Figura 3.4 Fraccionamiento de la fracción F₃ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.36

Figura 3.5 Fraccionamiento de la fracción F₃₋₃ obtenida a partir de la fracción F₃.37

Figura 4.1 Cromatograma fraccionamiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.39

Figura 4.2 Estructuras generales de los posibles compuestos de las fracciones F₁₁, F₁₂, F₁₃ y F₁₄ del extracto en butanol de corteza interna de *T. rosea*.....43

Figura 4.3 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₁-F₁₀ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm)44

Figura 4.4 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₁-F₁₀ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm).....44

Figura 4.5 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃-F₆ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm)45

Figura 4.6 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃-F₆ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm).....45

Figura 4.7 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃, F₄ y F₅ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda de (366 nm)48

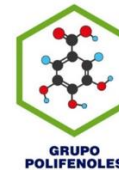
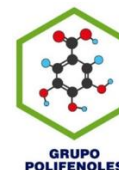


Figura 4.8 Estructura general de los posibles compuestos de las fracciones F ₃ , F ₄ y F ₅ del extracto en butanol de corteza interna de <i>T. rosea</i>	51
Figura 4.9 Posibles compuestos para la prueba de desplazamiento.	53
Figura 4.10 Estructura base de un flavonoide	54
Figura 4.11 Estructura del Cinamoil.....	54
Figura 4.12 Perfiles cromatográficos de las fracciones F ₃₋₃ a F ₃₋₈ del extracto butanol de la corteza interna de <i>Tabebuia rosea</i> en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm).....	56
Figura 4.13 Perfiles cromatográficos de las fracciones F ₃₋₃ a F ₃₋₈ del extracto en butanol de la corteza interna de <i>Tabebuia rosea</i> en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm)	57
Figura 4.14 Estructuras generales de los posibles compuestos de las fracciones F ₃₋₃ a F ₃₋₈ del extracto en butanol de corteza interna de <i>T. rosea</i>	61
Figura 4.15 Perfiles cromatográficos de las fracciones F ₃₋₃₋₁ a F ₃₋₃₋₁₁ del extracto en butanol de la corteza interna de <i>Tabebuia rosea</i> en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm).....	63
Figura 4.16 Perfiles cromatográficos de las fracciones F ₃₋₃₋₁ a F ₃₋₃₋₁₁ del extracto en butanol de la corteza interna de <i>Tabebuia rosea</i> en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm)	64
Figura 4.17 Perfiles cromatográficos de las fracciones F ₃₋₃₋₁ , F ₃₋₃₋₃ , F ₃₋₃₋₆ y F ₃₋₃₋₇ del extracto en butanol de la corteza interna de <i>Tabebuia rosea</i> en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda de (366 nm)	66



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Pruebas de identificación de núcleos químicos.	30
Tabla 4.1 Posibles compuestos de la fracción F ₁₁ por CG-EM.	41
Tabla 4.2 Posibles compuestos de la fracción F ₁₂ por CG-EM.	41
Tabla 4.3 Posibles compuestos de la fracción F ₁₃ por CG-EM.	42
Tabla 4.4 Posibles compuestos de la fracción F ₁₄ por CG-EM.	42
Tabla 4.5 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos.	46
Tabla 4.6 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos.	47
Tabla 4.7 Posibles compuestos de la fracción F ₃ por CG-EM.	49
Tabla 4.8 Posibles compuestos de la fracción F ₄ por CG-EM.	50
Tabla 4.9 Posibles compuestos de la fracción F ₅ por CG-EM.	50
Tabla 4.10 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F ₃	51
Tabla 4.11 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F ₄	52
Tabla 4.12 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F ₅	52
Tabla 4.13 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F ₆	53
Tabla 4.14 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos de las fracciones F ₃₋₃ a F ₃₋₈	58
Tabla 4.15 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₃ por CG-EM.	59
Tabla 4.16 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₄ por CG-EM.	59
Tabla 4.17 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₅ por CG-EM.	60
Tabla 4.18 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₆ por CG-EM.	60
Tabla 4.19 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₇ por CG-EM.	60
Tabla 4.20 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₈ por CG-EM.	61
Tabla 4.21 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos.	65
Tabla 4.22 Posibles compuestos de la fracción F ₃₋₃₋₃ por CG-EM.	67

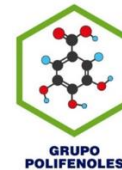


ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 4.1 Porcentajes de rendimiento de las fracciones obtenidas del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.40

Grafica 4.2 Porcentajes de rendimiento del fraccionamiento de la fracción F₃ de extracto en butanol de *T. rosea*.55

Grafica 4.3 Porcentajes de rendimiento del fraccionamiento de la fracciónF₃₋₃ de extracto en butanol de *T. rosea*.62

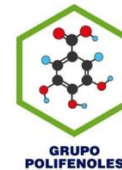


RESUMEN

Tabebuia rosea (Bertol.) DC. es un árbol conocido en Colombia como guayacán morado o flor rosado, nativo de centro y sur América, perteneciente a la familia *Bignoniácea*. De esta especie se han reportado compuestos como naftoquinonas, quinonas, flavonoides, alcanos, aldehídos aromáticos y actividades biológicas como antibacteriana, antifúngica y antiinflamatoria.

El grupo de Polifenoles de la Universidad Tecnológica de Pereira llevo a cabo una investigación de los extractos obtenidos a partir de la corteza interna de *Tabebuia rosea*, evaluando la presencia de los principales grupos de metabolitos secundarios asociados con actividad biológica. Para el extracto en butanol (BuOH) el estudio de actividad antiinflamatoria presentó inhibición de TNF- α y PGE₂.

El extracto en butanol fue sometido a tres fraccionamientos mediante cromatografía en columna (CC), realizando un análisis cromatográfico a las fracciones obtenidas mediante cromatografía en capa delgada (CCD), cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas (CG-EM) y espectrometría UV-VIS. Los perfiles cromatográficos (CG-EM) permitieron caracterizar compuestos como lapachol, naftoquinona reportada para el género *Tabebuia*. Se desarrollaron pruebas de caracterización de núcleos químicos en placa revelando la posible presencia de terpenos, cumarinas, antranas, flavonoides, fenoles, carbohidratos, taninos entre otros.

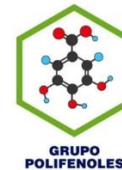


ABSTRAC

Tabebuia rosea (Bertol.) DC. It is a tree known in Colombia as guayacán purple or pink flower, native to Central and South America, belonging to the family *Bignoniácea*. Of this species have been reported as naphthoquinone compounds, quinones, flavonoids, alkanes, aromatic aldehydes and biological activities such as antibacterial, antifungal and anti-inflammatory.

Polyphenols group of the Technological University of Pereira conducted an investigation of the extracts obtained from the inner bark of *Tabebuia rosea*, evaluating the presence of the main groups of secondary metabolites associated with biological activity. To extract in butanol (BuOH) study showed anti-inflammatory activity of TNF- α inhibition and PGE2.

The extract in butanol was subjected to three fractionations by column chromatography (CC), conducting chromatographic analysis of the fractions obtained by thin layer chromatography (TLC), gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC-MS) and spectrophotometry UV-vis. The chromatographic profiles (GC-MS) allowed characterize as lapachol compounds, naphthoquinone reported for the genus *Tabebuia*. chemical characterization tests were developed plaque cores revealed the possible presence of terpenes, coumarins, anthrones, flavonoids, phenols, carbohydrates, tannins and others.



INTRODUCCIÓN

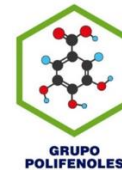
El uso de productos naturales ha jugado un papel fundamental desde los inicios de las primeras civilizaciones, la naturaleza ha sido una fuente importante en la generación de agentes terapéuticos desde hace miles de años, varias especies de plantas se mencionaron como hierbas medicinales en los primeros registros escritos conocidos en tablillas de arcilla de la antigua Mesopotamia, aproximadamente en el 2600 A.C. Las experiencias con las plantas como agentes terapéuticos hicieron que se destacaran en los antiguos sistemas de medicina tradicional chinos, egipcios, hindú los cuales aún se usan para el tratamiento de diferentes enfermedades.

Para el caso de *Tabebuia rosea* el extracto de la corteza interna ha sido utilizado para el tratamiento de úlceras e infecciones, también ha demostrado actividades citotóxica, antibacteriana y antifúngica. A partir de esta especie se han identificado compuestos como flavonoides, lactonas sesquiterpénicas y naftoquinonas.

Las plantas, especialmente las que tienen uso etnomedicinal, han sido las principales fuentes para el descubrimiento de nuevos fármacos, así pues se ha reportado que el 80% de los usos de 122 fármacos derivados de plantas, están relacionados con sus propósitos etnomedicinales originales.

Hoy en día más del 75% de las personas dependen de medicamentos tradicionales a base de plantas en los países subdesarrollados o en vías de desarrollo, según la organización mundial de la salud (OMS). A partir de los productos naturales fueron desarrollados una serie de medicamentos durante el siglo pasado. El 39% de 520 nuevos medicamentos aprobados desde 1983 a 1994 eran provenientes de productos naturales o derivados de estos. En el 2000 cerca del 60% de los medicamentos utilizados en los ensayos clínicos en los diferentes tipos de cáncer provenían de los productos naturales. En 2001 y 2005 fueron introducidos nuevos fármacos para el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas, enfermedades genéticas, cáncer y diabetes. [1]

De esta manera los productos naturales seguirán contribuyendo con la búsqueda de nuevos medicamentos permitiendo avanzar en el desarrollo de tratamientos terapéuticos para individuos con infecciones y enfermedades genéticas entre otras.



1. Antecedentes

1.1 Surgimiento del problema

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) inhiben la enzima cicloxigenasa (COX). Existen dos isoformas de la misma, la COX-1 que es constitutiva y se expresa en gran cantidad de tejidos, en el estómago fabrica sustancias que impiden la aparición de úlceras, hemorragias o perforaciones; en el caso de los riñones reciben suficiente sangre y funcionan normalmente. La COX-2 es inducida por la citoquinas, factores de crecimiento y mitógenos.

Los (AINEs) tradicionales inhiben de manera no selectiva la actividad enzimática de las COX-1 y COX-2, pero al impedir que la COX-1 actúe se producen efectos indeseables a nivel gastrointestinal, renal y de coagulación. [2]

Así que dentro del contexto de los productos naturales antiinflamatorios, la medicina tradicional se ha utilizado para tratar pacientes con patologías que conllevan a procesos inflamatorios. Es necesaria la investigación de moléculas que permita desarrollar medicamentos que actúen como agentes antiinflamatorios y prevenir efectos perjudiciales para el organismo.

El grupo Polifenoles de la Universidad Tecnológica de Pereira llevó a cabo una investigación donde se evaluó la actividad anti-inflamatoria *in vitro* de los extractos en Hexano (Hex), Cloroformo (CHCl₃), Acetato de etilo (AcOEt), Butanol (BuOH) y Acuoso, obtenidos a partir de corteza interna de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (*Bignoniaceae*).

La actividad antiinflamatoria se evaluó en células RAW 264,7 estimuladas con lipopolisacárido (LPS) y se hicieron ensayos inhibitorios en la producción de la prostaglandina E₂ (PGE₂), en la producción de óxido nítrico (NO) y en la producción del factor de necrosis tumoral α (TNF- α), obteniendo los resultados que se muestran en la **figura 1.1**

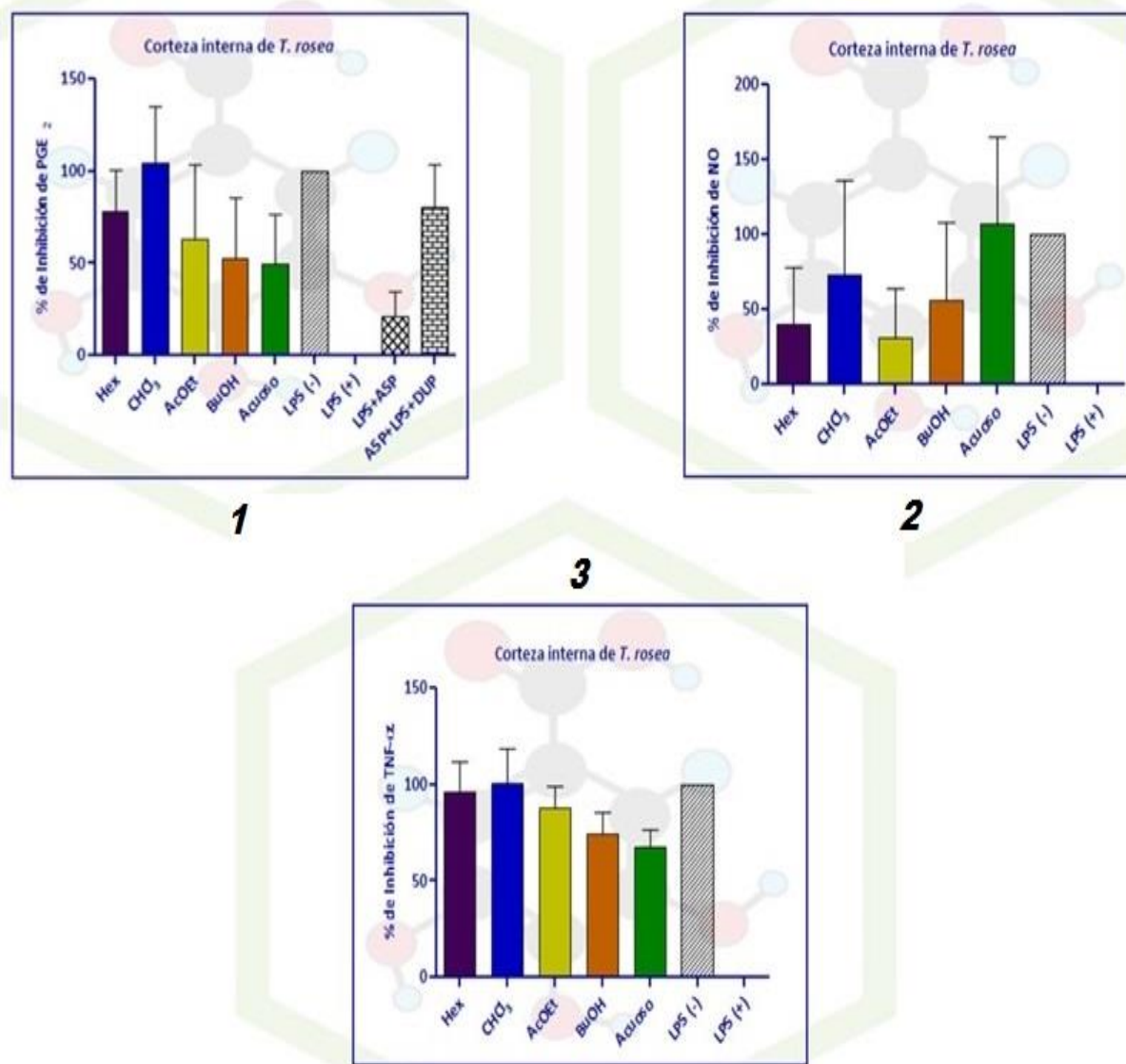
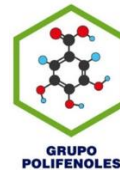


Figura 1.1 Actividad anti-inflamatoria 1. Inhibición en la producción de PGE₂, 2. Inhibición en la producción de NO, 3. Inhibición en la producción de TNF-α en los extractos obtenidos a partir de la corteza interna de *Tabebuia rosea* (Bertol) DC.

Los resultados indican que los extractos de corteza interna de *Tabebuia rosea* tienen un efecto anti-inflamatorio *in vitro*, debido a que se presentó inhibición en la producción de PGE₂, NO y TNF-α. El extracto en BuOH obtenido a partir de la corteza interna de *T. rosea* presentó la cuarta posición de inhibición de TNF-α y PGE₂. Por lo tanto, a partir de los anteriores resultados y los antecedentes que se mencionan, se propone realizar el fraccionamiento de este extracto. [3]



1.2 Formulación del problema.

¿Qué tipo de núcleos químicos están presentes en el extracto butanólico obtenido a partir de la corteza interna de *Tabebuia rosea*?

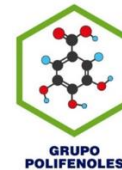
1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general.

Fraccionar y caracterizar mediante pruebas químicas el extracto en BuOH obtenido de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

1.3.2 Objetivos específicos.

- Fraccionar el extracto en BuOH obtenido a partir de la corteza interna de *T. rosea* mediante cromatografía en columna.
- Caracterizar mediante pruebas químicas por cromatografía de capa delgada (CCD) los núcleos en el extracto butanólico de la corteza interna de *T. rosea*.
- Identificar posibles compuestos mediante perfiles cromatográficos por cromatografía de gases acoplada a espectroscopia de masas (CG-EM).



1.4 Justificación

El uso de plantas como agentes terapéuticos se ha destacado en los antiguos sistemas de medicina tradicional, como chinos, egipcios, hindú y americanos. Así estas comunidades establecieron el uso de los productos naturales en sus necesidades básicas obteniendo sustancias tales como antibióticos, tranquilizantes, estimulantes, analgésicos etc. [4]

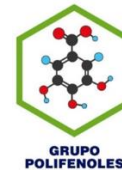
En el mundo solo una pequeña fracción de la biodiversidad se ha explorado para el descubrimiento de fármacos, existen por lo menos 250.000 especies de plantas y solo un pequeño porcentaje ha sido investigado. El número de enfermedades tratadas o prevenidas por los productos naturales ha hecho que estos sigan contribuyendo con la búsqueda de nuevas moléculas con el fin de obtener soluciones a dolencias agudas o crónicas [5].

Ejemplo de algunas plantas medicinales es la *valeriana officinalis* o más conocida como valeriana, utilizada para el tratamiento de desórdenes nerviosos y psicógenos como ansiedad e insomnio [6]. La especie *caléndula officinalis* o caléndula se utiliza para efectos de cicatrización y antiinflamatorios [7].

La familia *Bignoniaceae* comprende cerca 120 géneros y 800 especies que se encuentran en aéreas tropicales con escasa presencia en regiones templadas de climas cálidos. Es una familia generalmente leñosa que incluye algunos géneros de árboles, arbustos y un gran número de lianas. Los más destacados son los géneros *Arrabidaea* y *Tabebuia* [8].

En América tropical se encuentran cerca de 100 especies del genero *Tabebuia*, desde el norte de México hasta el norte de Argentina. En Colombia se encuentran alrededor de 20 especies donde algunas de esta son endémicas. Del genero *Tabebuia* se conocen especies como *Tabebuia impetiginosa* llamado lapacho, *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC conocido como guayacán rosado, los cuales son árboles que se cultiva como ornamental debido a los colores purpuras, rosas de sus flores respectivamente [9].

Especies del genero *Tabebuia* son utilizadas en la medicina tradicional, respaldando la investigación sobre algunas especies del género, logrando identificar compuestos como naftoquinonas, quinonas, iridoides, furanonaftoquinonas [10]. En el caso de *Tabebuia impetiginosa* una de las especies más estudiadas de la cual se ha demostrado actividad antiinflamatoria y antitumoral, también se aisló su principal naftoquinona “lapachol” [11].



Respecto a la especie *Tabebuia rosea* (Bertol) DC, existen pocos estudios fitoquímicos, sin embargo se han identificado metabolitos secundarios tales como taninos, saponinas, flavonoides, azúcares. También se han identificado de su corteza el lapachol, lupenona, β -sitosterol y del duramen del tallo dehidrotectol, sitostenona y sitosterol; además se ha demostrado que dichos compuestos poseen actividad antimalárica [12], antiinflamatoria [3] y antimicrobiana [13].

El presente estudio tiene como objetivo fraccionar y caracterizar el extracto butanólico de *T. rosea*, el cual presentó en estudios realizados por el grupo de investigación polifenoles de la universidad tecnológica de Pereira, inhibición en la producción de PGE₂ y TNF- α , de esta manera identificar núcleos químicos en esta especie [3].

2. MARCO TEORICO

2.1 Familia *bignoniaceae*

Bignoniácea es una gran familia botánica que se compone de lianas, arbustos y árboles representados en 120 géneros y 800 especies mayormente tropicales, siendo América tropical el centro de diversidad de la familia. Las especies restantes se encuentran en Madagascar, África y Asia tropical [14].

Muchas *Bignoniáceas* toman importancia debido a las diferentes especies como ornamentales y otras maderables, ocho países tienen como árbol nacional especies de *Bignoniácea*. Especies como *Jacaranda mimosifolia* D.DON. es uno de los árboles subtropicales más cultivados en el mundo como ornamental para adornar calles y plazas, además proporcionan madera muy fina con múltiples aplicaciones en la carpintería. Su corteza contiene un pigmento heterocíclico llamado jacarandina utilizado para teñir de amarillo lana, seda y cuero. La infusión de sus hojas trituradas se usa como emoliente en caso de amigdalitis [15].

Tabebuia chrysantha (Jacq.) G. Nicholson (Guayacán amarillo) (**Figura 2.1**) es una de las maderas más pesadas y finas de América central, además es utilizada en sistemas silvopastoriles, ampliamente cultivado como ornamental y es excelente para la producción de miel. El extracto de su corteza es utilizada para contrarrestar el paludismo [16].



Figura 2.1 *Tabebuia chrysantha*

<http://www.alextree.com/Tabebuia.html>

Compuestos químicos reconocidos en la familia son del tipo naftoquinonas [17], flavonas, alcaloides, glucósidos, carbohidratos [18], quinonas, taninos [19], cumarinas, esteroides, terpenos [20], flavonoides, saponinas [21], iridoides [22].

En la especie *Arrabidaea chica* (**Figura 2.2**) se han aislado de las hojas compuestos como antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, azúcares reductores, taninos, esteroides y flavonoides a los cuales se les atribuye propiedades antiinflamatorias, se hizo ensayos en la medición de citocinas proinflamatorias como la interleucina-2 (IL-2), IL-4, IL-5, el interferón- γ y niveles de TNF- α , donde el extracto en etanol demostró no alterar los niveles de la citocinas. También posee propiedades anti proliferativa y citotóxica, en los cuales se evaluaron los extractos etanol y acuoso sobre tres líneas celulares de tumores humanos, incluyendo HL-60, Jurkat y células MCF-7. Se mostró que el extracto en etanol presentó actividad anti proliferativa sobre las células MCF-7 capaces de inhibir hasta el 50% de las células y actividad citotóxica contra hL-60 y líneas celulares Jurkat [23].



Figura 2.2 *Arrabidaea chica*

<http://www.kew.org/science/tropamerica/imagedatabase/index.html>

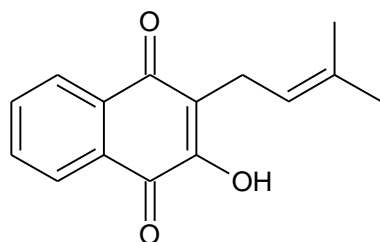
En la especie *Tecomella undulata* se ha reportado la presencia de compuestos como lapachol, ácido veratric, β -sitosterol y dehidrotectol de su corteza. De la raíz se han aislado tectol y dehidrolapachona. En las hojas se han aislado n-alcanos, β -stigmasterol, ácido oleanólico, campesterol. El extracto en cloroformo de la corteza revela la presencia de esteroides, triterpenoides, glucosidos y flavonoides. También se evaluó su efecto antiproliferativo en diferentes líneas celulares de cáncer (K562, COLO-205, MDA-MB231, HepG2) mediante el ensayo MTT. Donde se demostró la inhibición de crecimiento de las células K562 [24].

La especie *Dolichandrone falcata* se ha identificado compuestos como flavonoides, glucósidos, fenoles y carbohidratos de su corteza. De los extractos en acetato de etilo y metanol de la corteza se aisló un compuesto identificado como chrysin el cual ha mostrado efecto ansiolítico y resultados similares al diazepam y fluoxetina [25].

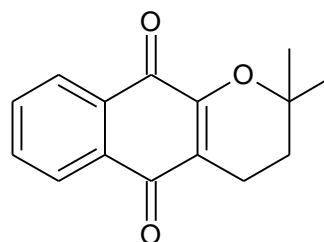
2.2 Genero *Tabebuia*

El género *Tabebuia* posee cerca de 100 especies presentes en América tropical, distribuidas desde el norte de México e indias occidentales hasta el norte de Argentina. Alrededor de 20 especies se encuentran en territorio colombiano y algunas de ellas son endémicas [8].

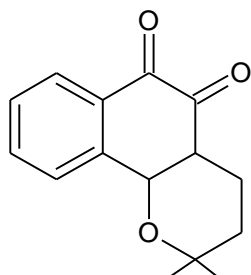
Una variedad de compuestos se han aislado de diferentes especies pertenecientes al género *Tabebuia* entre los que están las quinonas [26], naftoquinonas [27], furanonaftoquinonas [28], flavonoides [29], iridoides, glucósidos [30], taninos [19], ácido benzoico y derivados del benzaldehído [31] asociados todos con diferentes actividades biológicas.



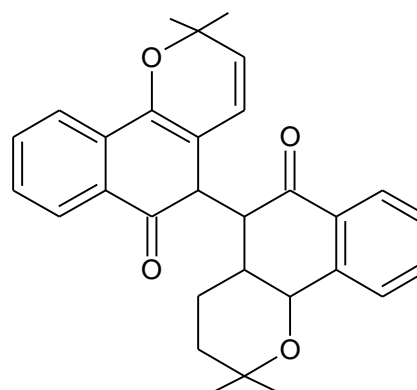
Lapachol



α -Lapachona



β -Lapachona



Dehidrotectol

Figura 2.3 Compuestos aislados del genero *Tabebuia*

De la especie *Tabebuia impetiginosa* (Mart. Ex DC) se ha aislado de su corteza naftoquinonas entre las que se destacan el Lapachol [2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,4-naphthalenedione], Dioxilapachol 2-(3-methylbut-2-enyl) naphthalene-1,4-dione, α y β lapachona (2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2H-benzo[h]chromene-5,6-dione), Dehidro- α -lapchona (2,2-dimethylnaphtaho[2,3-b]-pyran-5,10-dione) (**Figura 2.3**). Esta especie ha sido considerada desde hace años como agente antitumoral, el extracto acuoso de la corteza interna mostró actividad inhibidora del 44% en modelos experimentales de sarcoma Walker-256 [11].

También se han aislado dialdehidos ciclopentenos como el 2-formil-5-(4'-metoxibenzoiloxi)-3-metil-2-ciclopenteno-1-acetaldehido y 2-formil-5-(3',4'-dimetoxibenzoiloxi)-3-metil-2-ciclopenteno-1-acetaldehido en los cuales se mostró actividad anti inflamatoria en células sanguíneas blancas (WBC) humana, utilizando controles como 4-metoxibenzoico y ácido 3,4-dimetoxibenzoico obtenidos de la fracción soluble [32].

Se ha determinado la actividad citotóxica de 2-(1,2-dihidroxi-1-metil-etil)-5-hidroxi-nafto [2,3-b] furan-4,9-diona una naftofuranoquinona aislada del extracto acuoso de la corteza interna de *Tabebuia avellanedae* donde se evaluaron sus efectos sobre el crecimiento celular de A549, MCF-7 y las células SiHa; los resultados mostraron que el compuesto causó disminución dependientes de la dosis en la viabilidad celular en las líneas celulares [33].

El extracto en etanol de la corteza de *Tabebuia incana* AH Gentry proporcionó una mezcla de 5 y 8-hydroxy-2-(1-hydroxyethyl) naphtho [2,3-b] furan-4,9-diones (1 y 2 respectivamente) (**Figura 2.4**)

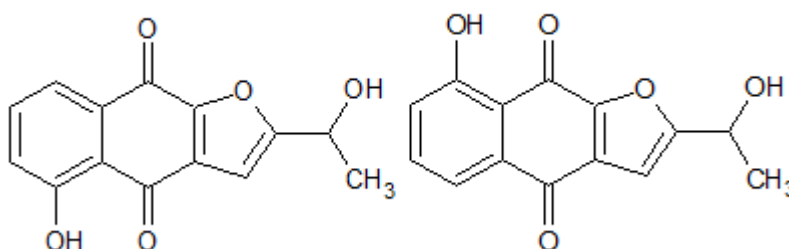


Figura 2.4 Compuestos 1 y 2 aislados de *Tabebuia incana* AH Gentry

El compuesto 1 también ha sido extraído de *T. avellanedae*, presentó actividad contra células tumorales, el compuesto 2 ha sido extraído *T. barbata*, posee actividad citotóxica significativa contra líneas celulares A-549 adenocarcinoma de pulmón humano, MCF-7 de carcinoma de mama y células HT-29 de carcinoma de colon [34].

El ácido betulínico es un triterpeno, ha sido aislado de varias especies de plantas como la *Tabebuia aurea* donde se evaluó su actividad antiinflamatoria frente a un modelo de ratón de shock endotóxico, el óxido nítrico (NO) y las citoquinas se evaluaron mediante el método de Griess y ELISA. El ácido betulínico causó una reducción en la producción de TNF- α inducida por lipopolisacáridos pero no alteró

la producción de IL-6, se observó que los macrófagos obtenidos de los ratones tratados con el ácido betulínico producen menos mediadores pro-inflamatorios [35].

2.3 *Tabebuia rosea*

Tabebuia rosea (Bertol) DC, (**Figura 2.5**) es un árbol el cual se conoce en Colombia como Guayacán morado o flor rosado, es nativo de México, América central y el norte de sur América (Brasil, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela). Se encuentra desde el nivel del mar hasta los 1200 msnm y en Colombia hasta los 1900 msnm. Alcanza alturas de 20 a 30 metros, su corteza es de color gris oscura a negruzca y sus flores son de un llamativo color lila razón por la cual en muchas ciudades se utiliza como ornamental [36].



Figura 2.5 *Tabebuia rosea*

En *T. rosea* se ha confirmado la presencia de compuestos activos en el extracto en etanol de hojas, identificando núcleos químicos como aldehídos aromáticos, alcanos, quinonas, alcoholes, monoterpenoides, azúcares, flavonoides, compuestos fenólicos [37], taninos, saponinas [38]. Así también en el extracto en etanol de las flores se ha encontrado glicósidos cardiotónicos y lactonas sesquiterpénicas [39].

Es así como del duramen de *T. rosea* se aislaron compuestos como lapachol, dehidrotectol, dehidro- α -lapachona, dehidro-iso- α -lapachona, sitostenona (**Figura 2.6**) [40], tecomaquinona III identificado como 6, 10, 15-trihidro-9(2-hidroxi-2-

metilpropil)-6,6-dimetildibenzo [a,i] pirano [2',3'-c] xanten-10,15-quinona [26]. De su extracto en benceno de las raíces se aisló β -sitosterol [41]. También del extracto en diclorometano se aislaron compuestos identificados como 5-hidroxi-2-(1-hidroxietil)-nafto-[2,3-b] furan-4,9-diona, 2-(1'-metil-etil)-5- hidroxinafto [2,3-b] furan-4,9-diona y 5-hidroxi -deshidro-iso- α -lapachona donde se evaluó su actividad citotóxica por el método colorimétrico MTT, utilizando líneas celulares HeLa (carcinoma cervical humano) y KB(carcinoma epidermoide humano), y como referencia adriamicina. El ensayo mostró citotoxicidad significativa en contra de ambas líneas celulares con valores de 0,73 a 1,35 g/ml [42].

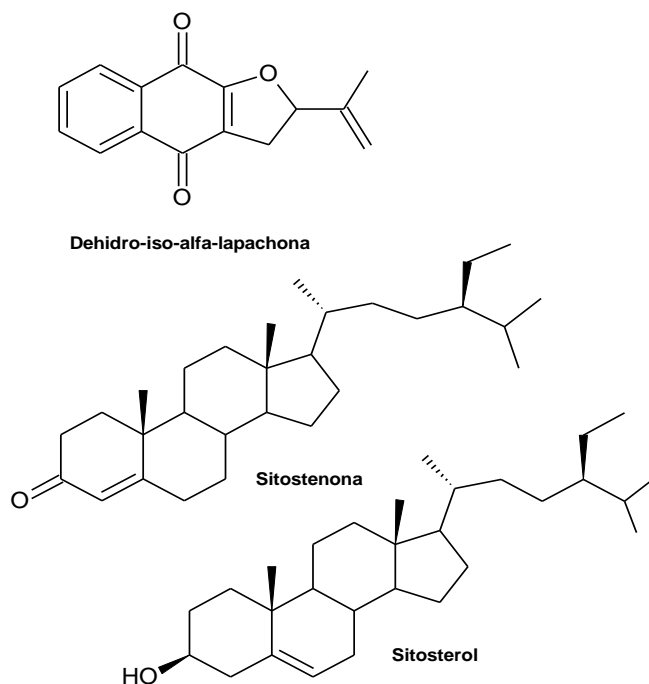
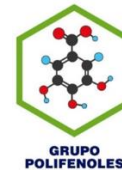


Figura 2.6 Compuestos aislados de *Tabebuia rosea* (Bertol) DC

El extracto en metanol de la corteza de *T. rosea* mostró tener actividad antibacteriana, la cual se evaluó por la técnica de susceptibilidad antimicrobiana o método de difusión en disco frente cepas bacterianas como *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. De igual manera el extracto en hexano de hojas tuvo efecto antibacteriano frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis*[43], [12].



3. SECCIÓN EXPERIMENTAL

3.1 Materiales, equipos y reactivos

3.1.1 Material vegetal

Se utilizó el extracto en Butanol de la corteza interna de la *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC obtenido previamente por el grupo Polifenoles de la Universidad Tecnológica de Pereira en el año 2013, este se conservó a condiciones ambientales evitando estrés por temperatura, humedad e iluminación excesiva.

3.1.2 Equipos

- Rotaevaporador HEIDOLPH- 4003.
- Cámara de revelado ultravioleta CAAMAG.
- Balanza analítica OHAUS Adventurer AR2140.
- Ultrasonido Fisher Scientific SF60H.
- Horno BINDER ED-115.
- Espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu-UV-1700 Pharmaspec
- Cromatógrafo acoplado a un espectrómetro de masas (GCMS-QP2010 Shimadzu) con software MSD Chemstation E.02.02.1431 y equipado con puerto de inyección Split/splitless, un inyector automático (AOC-20iShimadzu), un sistema de datos (Labsolution GC-MS solutionRelease 2.5SU1) y una base de datos (Wiley Access Pak 7N edition).

3.1.3 Reactivos

- Se utilizó Diaion HP-20 (Mitsubishi Chemical Corp.) y Silica gel 60 (Merck) para preparar las muestras para su fraccionamiento por cromatografía de columna.
- Solventes n-hexano, cloroformo, isopropanol, acetona, diclorometano, metanol, acetato de etilo grado analítico marca Merck.

Reactivos empleados para la caracterización de núcleos químicos y pruebas en general: cloruro férrico, hidróxido de sodio, etanol, hidróxido de potasio, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido acético, anhídrido acético, cloruro de aluminio,

formaldehído, vainillina, cristales de yodo, *p*-anisaldehído, metóxido de sodio, acetato de sodio y ácido bórico.

3.2 Fraccionamiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Del extracto en butanol se tomó 8,025 g para el fraccionamiento. Se utilizó 81 g de Diaion HP-20 en una columna de vidrio de 72 cm de largo y 5 cm de diámetro interno. Como eluentes se utilizaron gradientes de agua-isopropanol, isopropanol y isopropanol-*n*-hexano en las proporciones descritas en la (Figura 3.1). Se recolectaron 73 fracciones de 200mL cada una, a las cuales se les hizo seguimiento mediante espectrometría UV a las siguientes longitudes de onda: 260nm, 280nm y 335nm (Figura 3.2), y también mediante sus perfiles cromatográficos por cromatografía en capa delgada (CCD) reuniéndolas según características semejantes y obteniéndose 14 fracciones en total las cuales fueron concentradas bajo condiciones de temperatura y presión reducida.

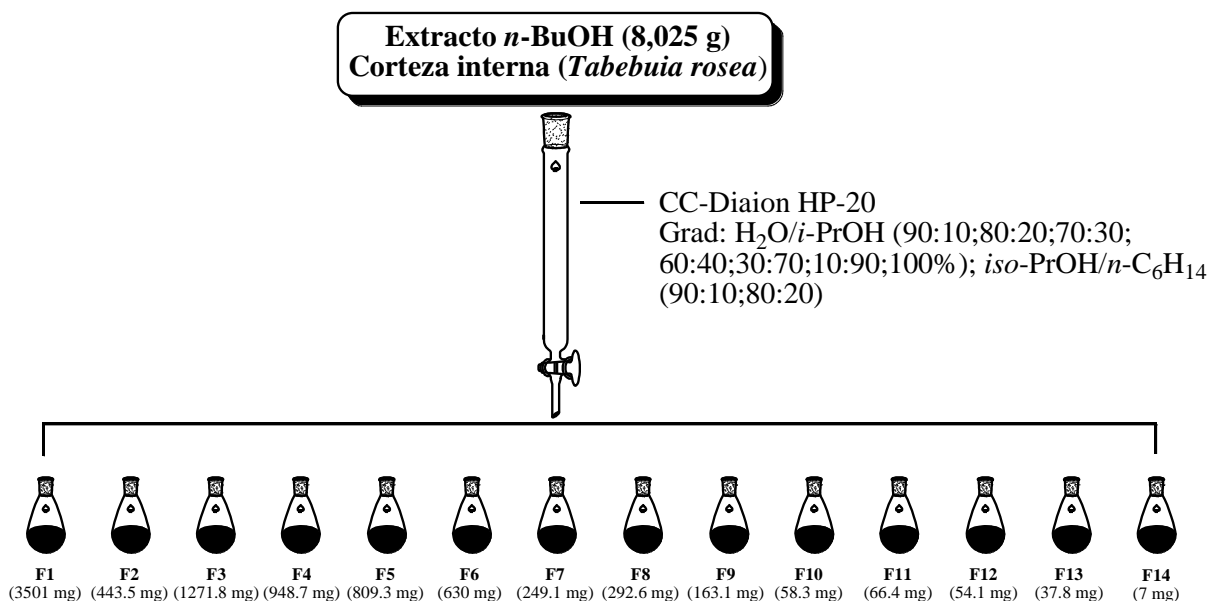


Figura 3.1 Fraccionamiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

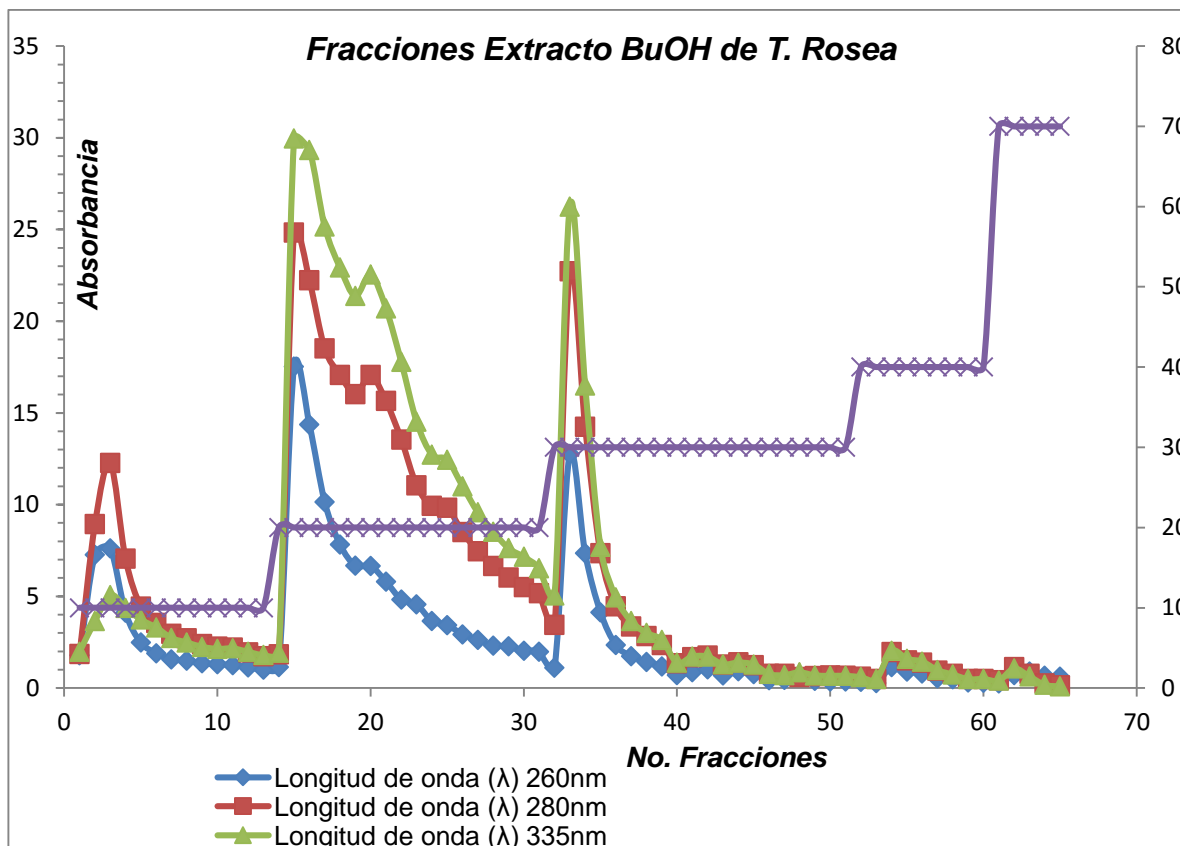


Figura 3.2 Seguimiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* mediante espectrometría UV.

3.3 Pruebas de identificación de núcleos químicos de las 14 fracciones del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se realizaron diversas pruebas de clasificación de núcleos químicos (Tabla 3.1) por cromatografía de capa delgada (CCD), en los sistemas agua–isopropanol (70:30) y cloroformo– metanol (85:15) sobre las fracciones obtenidas para conocer las posibles familias de compuestos presentes en el extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*, siguiendo los procedimientos descritos en la literatura [44], [45].

Tabla 3.1 Pruebas de identificación de núcleos químicos.

Pruebas de caracterización	Núcleo químico
p-anisaldehído/H ₂ SO ₄	Terpenos general
Liebermann-Burchard	Terpenos y Esteroides
Dinitrofenilhidrazina	Aldehídos y Cetonas
AlCl ₃ /EtOH	Flavonoides
Borntrager (KOH/EtOH)	Antraquinonas
	Antronas
	Cumarinas
FeCl ₃	Fenoles
Yodo	Insaturaciones
Óleum	Lactonas sesquiterpénicas
H ₂ SO ₄ /MeOH	Carbohidratos
p-anisaldehído 1:2:100	Triterpenos y Saponinas
p-anisaldehído 0.1:1:2:17	Antronas
Marquís	Alcaloides
Fenilpropanoides	Fenilpropanoides
Vainillina 5% ETOH/HCl	Taninos condensables

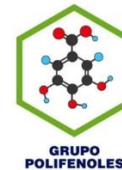
- **Terpenos general**

Reactivo de ácido sulfúrico- p-anisaldehído

0,5 ml anisaldehído se mezcla con 10 ml de ácido acético glacial, seguido por 85 ml de metanol y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado, en ese orden.

Rocía y se calienta a 100 grados durante 5-10 min, entonces se evalúa en VIS o UV-365 nm.

Detección de núcleos químicos tipo terpenoides, saponinas [45].



- **Terpenos y esteroides**

Reactivo de Liberman–Buchard

5 mL de anhídrido acético, 50mL de etanol absoluto mezclado sobre un baño de hielo y adicionar suavemente 5 mL de ácido sulfúrico concentrado, se rocía sobre la placa de CCD.

Presencia positiva para coloraciones violeta (triterpenos) y verde (esteroides) [45].

- **Aldehídos y Cetonas**

Reactivo Dinitrofenilhidrazina

Disolver 0,1 g de 2,4-dinitrofenilhidrazina en 100 ml de metanol, seguido por la adición de 1 ml de ácido clorhídrico al 36%. Rocíe la placa de CCD y evaluar inmediatamente en vis coloración naranja, calefacción puede ser necesaria.

Esto se utiliza para la detección de núcleos químicos tipo cetonas y aldehídos [44].

- **Flavonoides**

Reactivo $\text{AlCl}_3/\text{EtOH}$

Mezcla de Cloruro de aluminio al 1% en etanol, se rocía sobre la placa de CCD y se observa a la luz ultravioleta.

Fluorescencia verde a la luz ultravioleta a 360 nm indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo Flavonoides [46].

- **Antraquinonas, Antronas y Cumarinas**

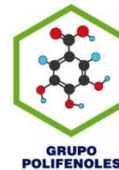
Reactivo KOH/EtOH

10 g de hidróxido de potasio en 10 mL de agua disueltos en 200 mL de etanol al 96%, se rocía sobre la placa de CCD

Prueba positiva para Antraquinonas: Coloración roja al visible.

Prueba positiva para Antronas: Coloración amarilla observada a la luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm.

Prueba positiva para Cumarinas: Fluorescencia azul observada a la luz ultravioleta a una longitud de onda de 366 nm [44].



- **Fenoles**

Reactivo FeCl_3

Solución etanólica al 1% en cloruro férrico, se rocía sobre la placa de CCD.

Coloración verde al visible indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo Fenoles [44].

- **insaturaciones**

Reactivo de yodo

Disponer el yodo sólido en una cámara cerrada y exponer la placa de CCD a los vapores de yodo.

Coloración amarillo-marrón al visible indica presencia de doble enlaces conjugados [44].

- **Lactonas Sesquiterpénicas**

Reactivo de Óleum

Mezcla de ácido sulfúrico concentrado, agua, ácido acético en proporción 1:4:20 respectivamente, se rocía sobre la placa de CCD.

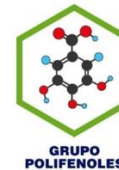
Coloración al visible entre rosado, púrpura o rojo da positivo para núcleos químicos tipo lactonas sesquiterpénicas [44].

- **Carbohidratos**

Solución alcohólica sulfúrica

Solución de ácido sulfúrico al 20% en metanol, se rocía sobre la placa de CCD y posteriormente aplicar calefacción.

Las partes carbonizadas dan presencia positiva para núcleos químicos tipo carbohidrato [44].



- **Triterpenos y saponinas**

Reactivo p-anisaldehído 1:2:100 [45].

Mezcla de p-anisaldehído, ácido sulfúrico concentrado y ácido acético glacial en las proporciones 1:2:100 respectivamente, se rocía la placa de CCD y se aplica calefacción.

Coloración azul – violeta al visible indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo saponinas y triterpenos respectivamente [45].

- **Antronas**

Reactivo P-anisaldehído 0.1:1:2:17

Mezcla de p-anisaldehído, ácido sulfúrico concentrado, ácido acético glacial y metanol en las proporciones 0.1:1:2:17 respectivamente, se rocía la placa de CCD y se aplica calefacción

Coloración azul al visible indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo Antronas [45].

- **Alcaloides**

Reactivo de Marqui's

Diluir 3 mL de formaldehido en 100 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Coloración roja oscura observada al visible indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo Alcaloides [45].

- **Fenilpropanoides**

Reactivo de Fenilpropanoides

Se mezcla la solución de vainillina al 1% en ácido sulfúrico y al 5% en etanol

Coloración amarilla al visible indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo Fenilpropanoide [45].

- **Taninos condensables**

Reactivo Vainillina 5% ETOH/HCl

Solución 1. Se aforó a 100 ml con Etanol 8 ml de ácido clorhídrico concentrado.
 Solución 2. Se adicionó 1 gr de vainillina a un poco de etanol y se aforó a 100 ml con etanol. Se mezclaron volúmenes iguales de ambas soluciones y se obtuvo una solución de HCl 4% y 5 % vainillina.

Coloración roja al visible indica que la prueba es positiva para núcleos químicos tipo taninos condensables.

3.4 Espectrometría UV-Vis del extracto en butanol de *Tabebuia rosea* y las fracciones F₁–F₁₀

Para la toma del barrido espectral UV-Vis en el espectrómetro se toma de cada fracción a evaluar 0.1mg y se le adicionan 4 mL de metanol, después de disolución de la muestra se toma una alícuota de 1 mL y se lleva a 10 mL con Metanol en balones aforados de este mismo volumen, posteriormente se llevan al espectrómetro y se deposita la muestra en la celda de cuarzo, se debe tomar como blanco el solvente que contenga el analito o muestra, en esta caso metanol, el barrido se llevó a cabo desde 200 nm hasta 400nm para evaluar el rango de longitudes de onda 260nm, 280nm y 335nm descritos en la literatura [46].

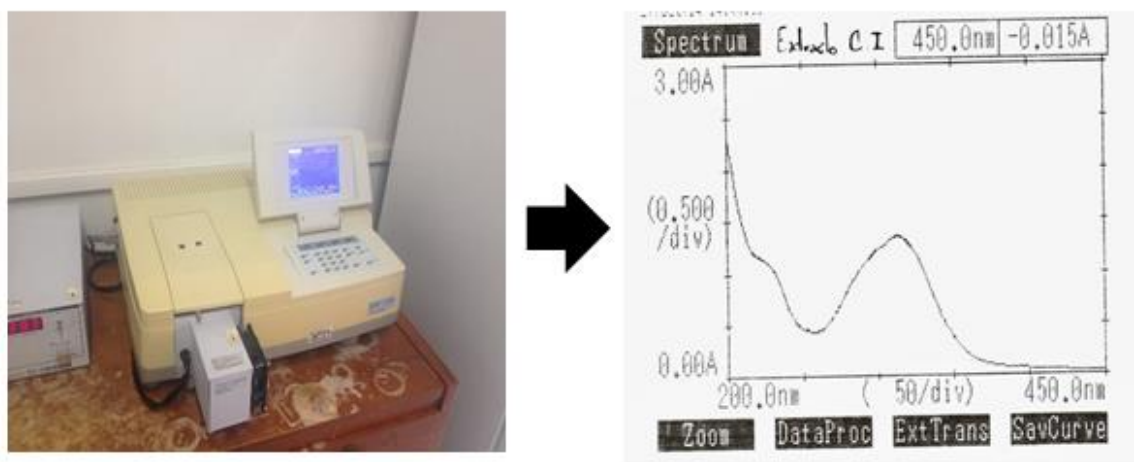


Figura 3.3 Espectrómetro UV-Vis Shimadzu-UV-1700 Pharmaspec y barrido espectral extracto

3.5 Perfil cromatográfico por cromatografía de capa delgada de alta resolución (CCDAR) para las fracciones F₃, F₄ y F₅.

Se toma 1 mg aproximadamente de las fracciones a evaluar y se disuelven en 1 mL de metanol, después de disolución se toma una pequeña alícuota con un capilar de vidrio para posteriormente ser sembradas en las placas CCDAR de sílica gel 60 10x5 cm, se eluyeron con el sistema cloroformo – metanol (85:15) y evaluadas bajo el criterio de longitud de onda de 366 nm [48].

3.6 Reacciones de desplazamiento por espectrometría UV-Vis para las fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆.

Se toma aproximadamente 0.1 mg de la muestra a evaluar se le adicionan 4 mL de metanol, después de disolución de la muestra se toma una alícuota de 1 mL y se lleva a 10 mL con metanol en balones aforados, como blanco se utiliza metanol. Se realizan los espectros de todas las soluciones desde 200 nm hasta 400 nm, posteriormente se dispone a adicionar de 1 a 3 gotas por cada uno de estos reactivos a las soluciones por separado, estos inducen desplazamientos estructurales significativos en los espectros. Estos reactivos específicos son: 1) metóxido de sodio (NaOMe), 2) acetato de sodio (NaOAc), 3) acetato de sodio (NaOAc) / ácido bórico (H₃BO₃), 4) cloruro de aluminio (AlCl₃), 5) cloruro de aluminio (AlCl₃) / ácido clorhídrico (HCl). Se registran las variaciones en el espectro para cada uno de los casos [46].

3.7 Fraccionamiento de la fracción F₃ obtenida a partir del extracto butanólico de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

De la fracción F₃ se tomaron aproximadamente 1 g para su separación, se utilizó 40 g de sílica gel 60 en una columna de vidrio de 60 cm de largo y 4 cm de diámetro interno. Como eluentes se utilizaron gradientes de cloroformo, cloroformo – metanol, metanol y metanol – agua en las proporciones descritas en la (**Figura 3.4**). Se recolectaron 8 fracciones a las cuales se les hizo seguimiento mediante perfiles cromatográficos por cromatografía en capa delgada (CCD) y según gradiente de separación, las cuales fueron concentradas bajo condiciones de temperatura y presión reducida.

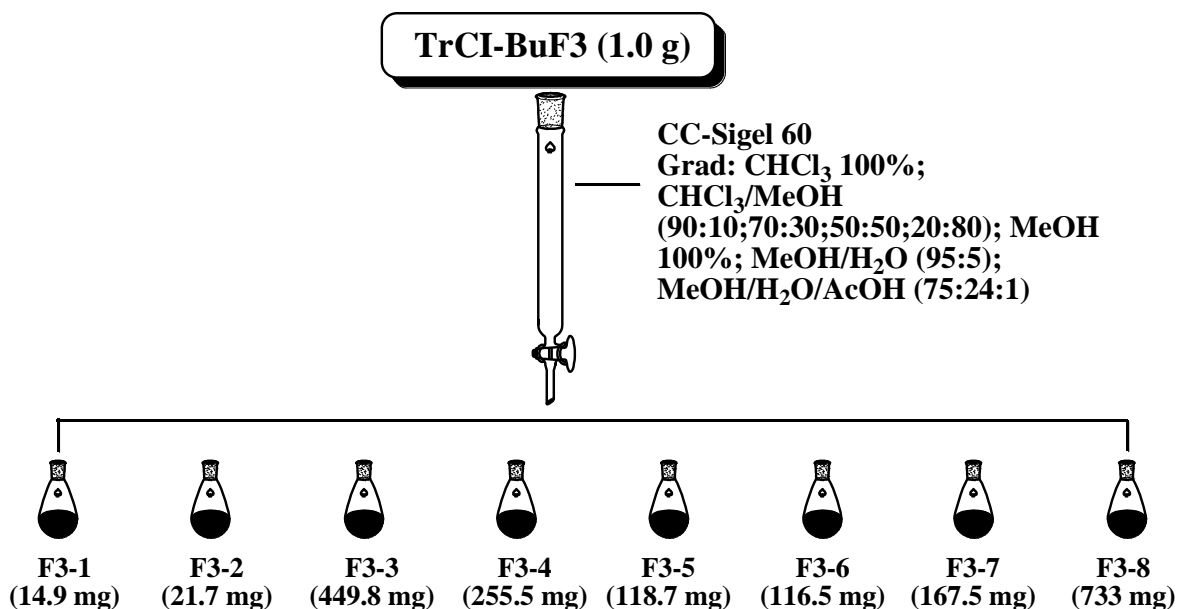


Figura 3.4 Fraccionamiento de la fracción F₃ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

3.8 Pruebas de identificación de núcleos químicos de las fracciones F₃₋₃ – F₃₋₈.

Se repite el procedimiento descrito en el (numeral 3.3) sobre las fracciones F₃₋₃ – F₃₋₈, para conocer previamente las posibles familias de compuestos presentes en las mismas.

3.9 Espectrometría UV-Vis de las fracciones F₃₋₃ – F₃₋₈.

De la misma manera se toma el procedimiento realizado en el (numeral 3.4) sobre las fracciones F₃₋₃ – F₃₋₈, para obtener información acerca de las posibles familias de compuestos presentes en las mismas.

3.10 Fraccionamiento de la fracción F₃₋₃ obtenida a partir de la fracción F₃.

De la fracción F₃₋₃ se tomaron aproximadamente 435 mg para su separación se utilizó 7 g de sílica gel 60 en una columna de vidrio de 30 cm de largo y 2.3 cm de diámetro interno. Como eluentes se utilizaron gradientes de cloroformo, cloroformo – metanol, metanol y metanol – agua en las proporciones descritas en la (Figura 3.5). Se recolectaron 123 fracciones de 10mL cada una, a las cuales se les hizo

seguimiento mediante sus perfiles cromatográficos por CCD evaluadas bajo el criterio de longitud de onda de 254 nm, reuniéndolas según características semejantes y obteniéndose 11 fracciones en total las cuales fueron concentradas bajo condiciones de temperatura y presión reducida.

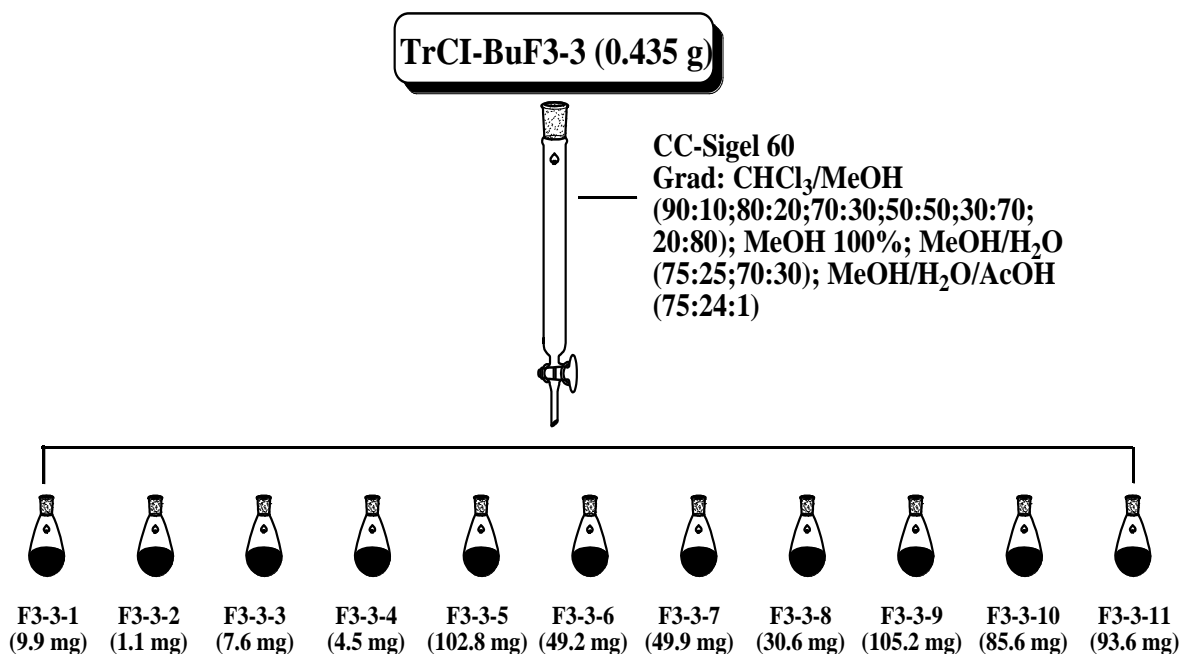


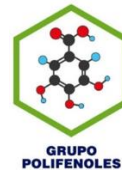
Figura 3.5 Fraccionamiento de la fracción F₃₋₃ obtenida a partir de la fracción F₃.

3.11 Pruebas de identificación de núcleos químicos de las fracciones F₃₋₃₋₁–F₃₋₃₋₁₁.

Se repite el procedimiento descrito en el (numeral 3.3) sobre las fracciones F₃₋₃₋₁–F₃₋₃₋₁₁, para conocer previamente las posibles familias de compuestos presentes en las mismas.

3.12 Perfil cromatográfico por CCDAR para las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₆ y F₃₋₃₋₇

Se repite el procedimiento descrito en el (numeral 3.5) sobre las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₆ y F₃₋₃₋₇, para obtener una mejor separación de los núcleos químicos presentes en las mismas.



3.13 Perfiles cromatográficos por CG-EM de diferentes fracciones del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se obtuvieron los perfiles cromatográficos de las fracciones F_3 a F_5 y de F_{11} a F_{14} en el primer fraccionamiento, para el segundo fraccionamiento se adquirieron los perfiles cromatográficos de F_{3-3} hasta F_{3-8} , y para el tercer fraccionamiento a F_{3-3-1} , F_{3-3-3} , F_{3-3-6} y F_{3-3-7} .

Se utilizó un equipo Agilent Technologies 7890A-5975C con software MSD Chemstation E.02.02.1431 y se emplearon las siguientes condiciones del equipo CG-EM: tiempo de equilibrio 1 minuto, temperatura máxima 325°C, temperaturas en el horno 50°C /min, 25°C/min hasta 170° C durante 0 min luego 10° C / min hasta 300° C durante 12 min. Tiempo de ejecución 30,8 min, volumen de inyección 5 μ L, presión 7.6522 psi y columna: J&W 122-3832: 002.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La elución de la columna cargada con Diaion HP-20 arrojó 73 fracciones, incluyendo lavados de la columna, de un volumen aproximado de 200 ml cada una de ellas. Las fracciones se reunieron de acuerdo al cromatograma de la **figura 4.1**

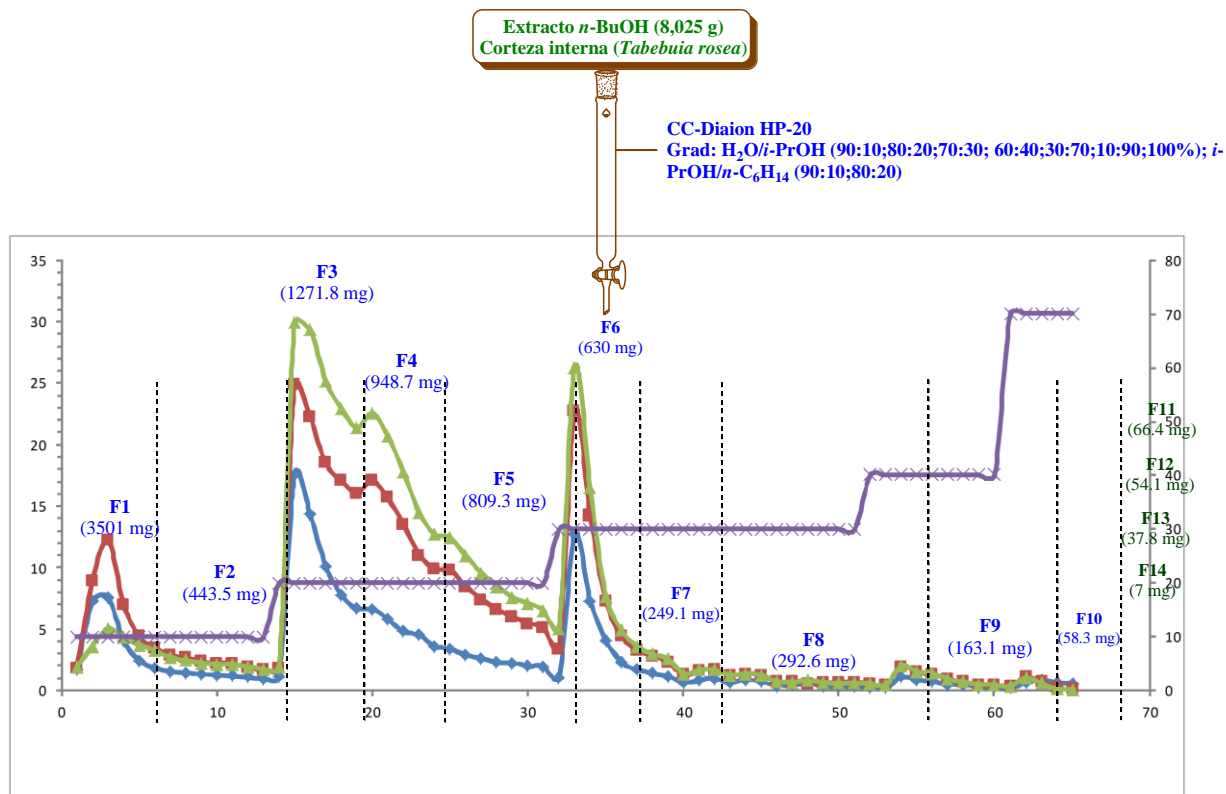
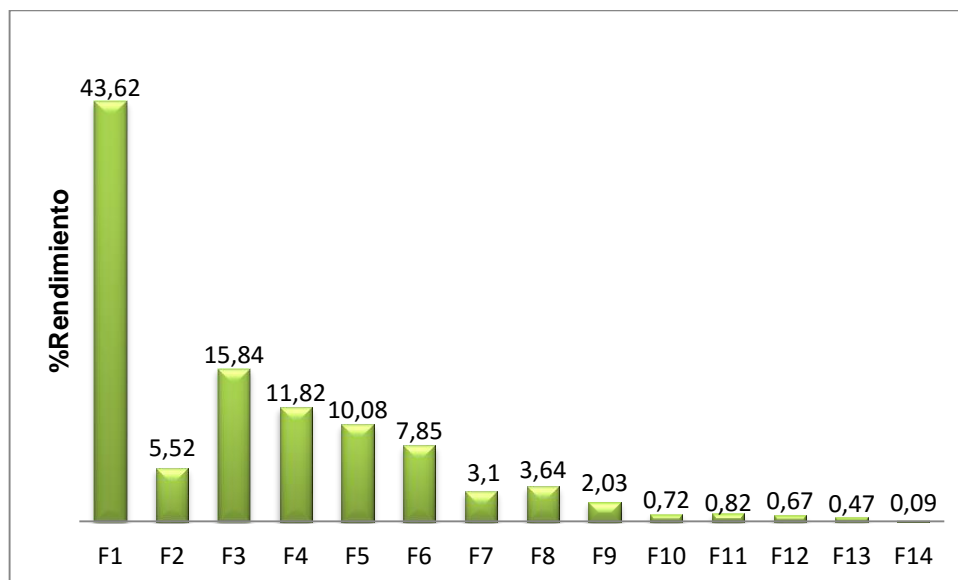


Figura 4.1 Cromatograma fraccionamiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se puede observar en la **figura 4.1** la elución con las diferentes proporciones de agua-isopropanol y la cantidad de compuestos de naturaleza polar, de acuerdo a las fracciones iniciales las cuales presentaron absorbancias de mayor valor. Ya estando las fracciones reunidas y secas, se obtuvo el rendimiento, conociendo la masa del material fraccionado y rendimiento de la columna.

4.1 Rendimiento del fraccionamiento del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se fraccionaron 8.025 g del extracto en butanol del cual se obtuvieron 14 fracciones.



Grafica 4.1 Porcentajes de rendimiento de las fracciones obtenidas del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

El mayor porcentaje de rendimiento se obtuvo de la fracción F₁ con 43.62%, seguida de F₃ con un 15.84%. El porcentaje de rendimiento supera el 100% (106.27%), esto puede ser debido a la alta polaridad del extracto, de modo que la primera fracción se obtuvo con apariencia de melaza, la cual presenta el exceso de humedad.

Las fracciones F₁₁-F₁₄ presentaron una apariencia aceitosa, teniendo en cuenta la poca masa que se obtuvo se decidió llevar las muestras a CG-EM.

4.2 Perfiles cromatográficos por CG-EM de las fracciones F₁₁, F₁₂, F₁₃ y F₁₄ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

El análisis de los perfiles cromatográficos para las fracciones F₁₁, F₁₂, F₁₃ y F₁₄ se realizó teniendo en cuenta los compuestos con picos de mayor intensidad y porcentajes de similaridad mayor o igual a 80%. Cabe aclarar que en todos los perfiles cromatográficos se notó la presencia de ftalatos en los picos de mayor abundancia, producto posiblemente de la manipulación inicial del extracto y

solventes en envase plástico utilizados durante los fraccionamientos. Por este motivo se omitieron de las tablas.

Los resultados de los perfiles cromatográficos mostrados en las siguientes tablas no afirma que los compuestos ilustrados estén presentes en las fracciones, pero dan una idea de los posibles tipos de núcleos fitoquímicos según la comparación de la biblioteca del equipo con el espectro de dicha fracción.

Tabla 4.1 Posibles compuestos de la fracción F₁₁ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
13,235	Ácido hexadecanoico, éster metílico	98
	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	97
	Ácido heneicosanoico, éster metílico	83
	Ácido octadecanoico	80
14,838	Ácido octadecanoico, éster metílico	99

En la **Tabla 4.1** se ilustra los posibles compuestos de la fracción F₁₁, tomando porcentajes de similaridad mayor o igual a 80% y compuestos con picos de mayor intensidad. Se observa la presencia de ácidos grasos y esterés de cadena carbonada larga (**Figura 4.2**), estos últimos con porcentajes de similaridad altos.

Tabla 4.2 Posibles compuestos de la fracción F₁₂ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
14,838	11-Ácido octadecanoico, éster metílico	99
15,047	Ácido heptadecanoico, 16-metil-, éster metílico	98

Para la fracción F₁₂, en la **Tabla 4.2** los posibles compuestos presentes son esterés de cadena carbonada larga.

Tabla 4.3 Posibles compuestos de la fracción F₁₃ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
12,049	1-Octadeceno	95
	1-Nonadeceno	95
	Nonadecanol-1	91
15,703	Eicosano	98
	1-cloro-Octadecano	95

En la **Tabla 4.3** se enlistan los posibles compuestos presentes en la fracción F₁₃, basándose en los picos de mayor intensidad y porcentajes de similaridad mayor o igual a 80%. Al igual que la fracción F₁₁ y F₁₄ se evidencia la presencia de cadenas carbonadas largas.

Tabla 4.4 Posibles compuestos de la fracción F₁₄ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
12,045	Eicosano	91
	Nonadeceno	91
	Tetradeceno	90
15,644	Fenantreno, 2,3,5-trimetil	89

Se observa que los posibles compuestos de la fracción F₁₄, son cadenas carbonadas largas y la aparición de un hidrocarburo policíclico-aromático, el cual es descartado, por la naturaleza del compuesto.

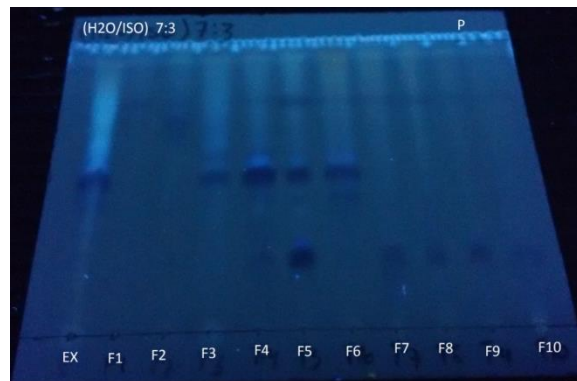


Figura 4.3 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₁-F₁₀ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm)



Figura 4.4 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₁-F₁₀ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm)

En la **Figura 4.3** se observan manchas de color azul oscuro en las fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆ las cuales presentan alta intensidad, En la **Figura 4.4** se observa manchas de color azul tenue en las mismas fracciones, la intensidad de las manchas demuestra mayor concentración de los compuestos contenidos en estas fracciones. De esta manera se decidió hacer el seguimiento por cromatografía en capa delgada (CCD) a las fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆ teniendo en cuenta la masa y los datos de absorbancia por espectrofotometría UV-VIS.

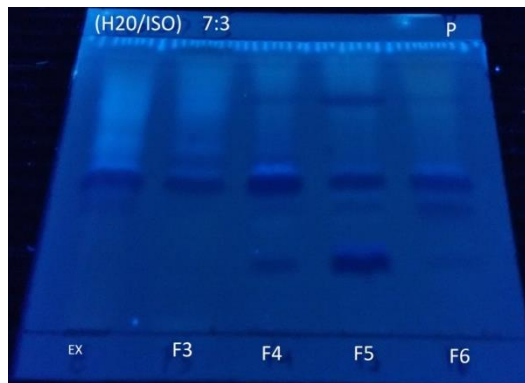


Figura 4.5 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃-F₆ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm)

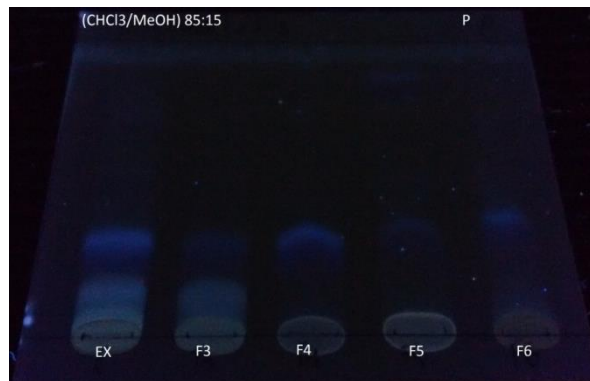


Figura 4.6 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃-F₆ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm)

En la **Figura 4.5** se puede observar claramente las machas azules muy definidas y otras de color azul brillante. En la **Figura 4.6** se aprecia también unas manchas definidas azul oscuro y azul brillante y cercanas entre sí. Teniendo en cuenta la masa de las fracciones y el perfil cromatográficos obtenido a partir de las pruebas de caracterización química se decide hacer placas CCDAR para obtener mejor separación de los posibles compuestos.

4.5 Pruebas de identificación de núcleos químicos de la fracciones F₁-F₁₀ del extracto en butanol de corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se caracterizó mediante pruebas químicas por cromatografía en capa delgada (CCD) los núcleos presentes de las fracciones obtenidas, los resultados se muestran en la siguiente **Tabla 4.5**.

Tabla 4.5 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos.

Pruebas de caracterización	Fracciones									
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀
Terpenos general	++	-	++	++	+++	++	+	+	+	+
Terpenos y Esteroides	-	-	-+	-+	-+	-+	-+	-	-	-
Aldehídos y Cetonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antronas	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
Cumarinas	-	-	+++	++	++	++	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fenoles	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- Negativo
- + incierto
- + positivo baja intensidad
- ++ positivo media intensidad
- +++ positivo alta intensidad

Tabla 4.6 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos.

Pruebas de caracterización	Fracciones			
	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆
Terpenos general	++	++	++	++
Antraquinonas	-+	-	-	-
Antronas	-	-	-	-
Cumarinas	+++	++	++	++
Insaturaciones	++	+++	++	++
Lactonasesquiterpénicas	-	-	-	-
Carbohidratos	+	++	++	+

- Negativo
- + incierto
- + positivo baja intensidad
- ++ positivo media intensidad
- +++ positivo alta intensidad

En la **Tabla 4.5** se observó para el primer fraccionamiento núcleos fitoquímicos como terpenos, antronas, cumarinas, carbohidratos e insaturaciones en las F₃, F₄, F₅ y F₆ con gran intensidad en los positivos. Se realizó para las anteriores fracciones pruebas de núcleos fitoquímicos en CCDAR obteniéndose resultados positivos para terpenos y antronas en F₇ y F₈, y en F₁, F₉ y F₁₀ terpenos en general los cuales posiblemente se encuentran presentes y se describen en la **Tabla 4.6**.

4.6 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃, F₄ y F₅ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* por cromatografía de capa delgada de alto rendimiento (CCDAR)

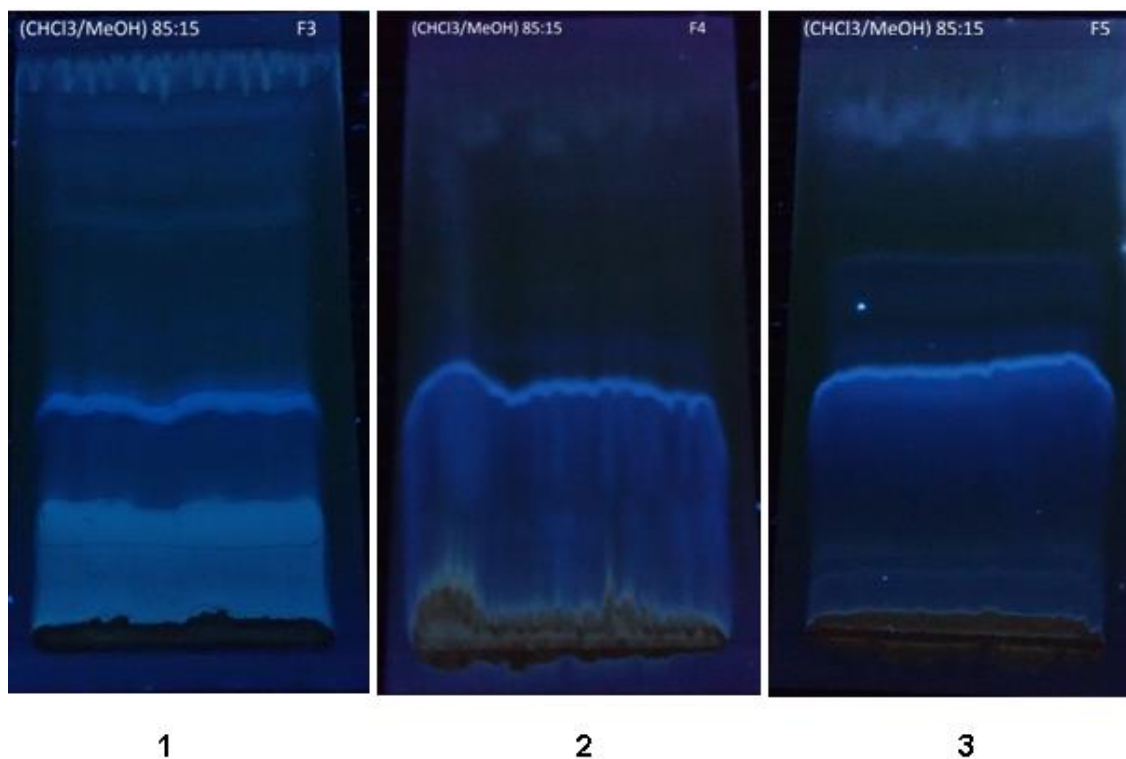


Figura 4.7 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃, F₄ y F₅ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda de (366 nm)

La **figura 4.7** indica la aplicación de CCDAR sobre las fracciones F₃, F₄ y F₅, adicionalmente muestra las coloraciones azul oscuro y azul tenue a la misma altura lo que indica comportamientos similares en las 3 fracciones, adicionalmente permitió obtener información sobre el comportamiento de separación de las mismas fracciones, los compuestos que lograron tener mejor separación se rasparon y posteriormente se recuperaron con metanol para posteriormente analizarlos por CG-EM.

4.7 Perfiles cromatográficos por CG-EM de las fracciones F₃, F₄ y F₅ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

El análisis de los perfiles cromatográficos para las fracciones F₃, F₄ y F₅ se realizó teniendo en cuenta los compuestos con picos de mayor intensidad y porcentajes de similaridad mayor o igual a 80%. Los perfiles obtenidos en todas las fracciones analizadas, bajo la misma metodología en el CG-EM son preliminares y no confirman la presencia de dichos compuestos dentro de la fracciones pero si da claridad sobre el tipo de núcleos químicos que podemos encontrar en las mismas.

Tabla 4.7 Posibles compuestos de la fracción F₃ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
11,711	Metil 4-Hidroxicinamato	95
13,223	Ácido hexadecanoico, éster metílico	98
	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	98
	Ácido tridecanoico, éster metílico	80
14,087	2- (4-Hidroxibencil) Fenol	96
	2,2'-Metilen Difenol	87
18,149	Hexadecano	93
18,922	Eicosano	94
	Nonadecano	90

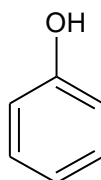
Tabla 4.8 Posibles compuestos de la fracción F₄ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
10,893	4- (2-metil-2-butanilo) fenol	87
13,223	Ácido hexadecanoico, éster metílico	98
	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	96
14,767	9,12- Ácido octadecadienoico, éster metílico	99
15,682	Eicosano	97
	Nonadecano	90
	Tetracosano	90

Tabla 4.9 Posibles compuestos de la fracción F₅ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
8,145	2-metoxi-4-vinilfenol	91
11,669	Metil 4-Hidroxicinamato	96
12,834	1-Hexadecanol	95
13,218	Ácido hexadecanoico, éster metílico	97
	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	97
	Ácido Tridecanoico, éster metílico	81
16,529	Eicosano	95
	Nonadecano	91
17,352	Tetracosano	99

Dentro de los compuestos reportados por CG-EM para las fracciones F₃, F₄ y F₅ compuestos de tipo alcanos de cadena larga como es el hexadecano, fenoles (**Figura 4.8**) como es el 4- (2-metil-2-butanilo) fenol y ácidos grasos de cadena larga como son ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico (**Figura 4.2**), relacionando los resultados obtenidos por CG-EM y las pruebas de caracterización se puede decir que los núcleos más probables son de tipo fenolicos y ácidos insaturados de cadena larga.



Fenol

Figura 4.8 Estructura general de los posibles compuestos de las fracciones F₃, F₄ y F₅ del extracto en butanol de corteza interna de *T. rosea*

4.8 Pruebas de desplazamiento de las fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆

Las pruebas de desplazamiento se llevaron a cabo con pequeñas alícuotas de las fracciones solubilizadas en metanol y la adición de los reactivos necesarios.

Las fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆ fueron seleccionadas debido a los resultados obtenidos en el seguimiento por cromatografía en capa delgada (CCD), su masa y los datos de absorbancia por fotometría UV-VIS. Los resultados de las pruebas de desplazamiento se consignan en las siguientes tablas y su posible hidroxilación de acuerdo a la literatura.

Tabla 4.10 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F₃.

F ₃				
Solvente o reactivo	Banda I	Banda II	Banda III	Desplazamiento Banda I
MeOH	315,5			
NaOMe	363,5	310,5		48 (++)(**)
AlCl ₃	315,5			0
AlCl ₃ /HCl	314	207		1,5 (+)(*)
NaOAc	314,5			1 (+)(*)
NaOAc/H ₃ BO ₃	313,5			2 (+)(*)

(+) Desplazamiento hipsocrómico, (++) desplazamiento batocrómico, (*) desplazamiento hipocrómico, (**) desplazamiento hiperocrómico.

Tabla 4.11 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F₄.

F ₄				
Solvente o reactivo	Banda I	Banda II	Banda III	Desplazamiento Banda I
MeOH	314,6			
NaOMe	360,1	207		45,5 (++)(**)
AlCl ₃	315			0,4 (++)(**)
AlCl ₃ /HCl	316,5			1,9 (++)(**)
NaOAc	313,5			1,1 (+)(*)
NaOAc/H ₃ BO ₃	313			1,6 (+)(*)

(+) Desplazamiento hipsocrómico, (++) desplazamiento batocrómico, (*) desplazamiento hipocrómico, (**) desplazamiento hipercrómico.

Tabla 4.12 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F₅.

F ₅				
Solvente o reactivo	Banda I	Banda II	Banda III	Desplazamiento Banda I
MeOH	313,6			
NaOMe	361	311		47,4 (++)(**)
AlCl ₃	313,5			0,1 (+)(*)
AlCl ₃ /HCl	315,5			1,9 (++)(**)
NaOAc	312,5			1,1 (+)(*)
NaOAc/H ₃ BO ₃	312,5			1,1 (+)(*)

(+) Desplazamiento hipsocrómico, (++) desplazamiento batocrómico, (*) desplazamiento hipocrómico, (**) desplazamiento hipercrómico.

Tabla 4.13 Información pruebas de desplazamiento para la fracción F₆.

F ₆				
Solvente o reactivo	Banda I	Banda II	Banda III	Desplazamiento Banda I
MeOH	313,6			
NaOMe	360	310,5		46,4 (++)(**)
AlCl ₃	314			0,4 (++)(**)
AlCl ₃ /HCl	313,5			0,1 (+)(*)
NaOAc	313			0,6 (+)(*)
NaOAc/H ₃ BO ₃	313,5			0,1 (+)(*)

(+) Desplazamiento hipsocrómico, (++) desplazamiento batocrómico, (*) desplazamiento hipocrómico, (**) desplazamiento hipercrómico.

Ya que la posición de absorción de la banda I proporciona una guía para determinar el tipo de flavonoide y las absorbancias para la banda I de los espectros en metanol son similares y según los datos reportados en la literatura, es posible que moléculas del tipo flavonas estén presentes en estas fracciones, estas absorben en un rango de 304-350 nm, mientras que lo flavonoles absorben en un rango 352-385nm. Posiblemente no oxigenadas ya que flavonas y flavonoles altamente oxigenadas tienden a absorber en longitudes de onda más largas que las que tienen un menor número de sustituyentes de oxígeno.

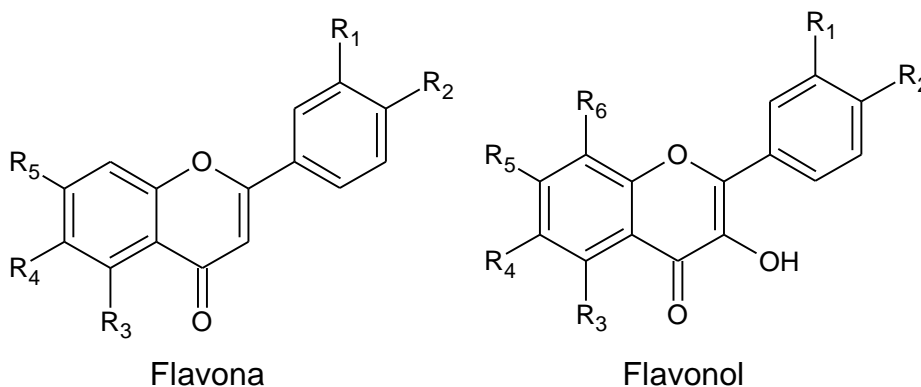


Figura 4.9 Posibles compuestos para la prueba de desplazamiento.

El NaOMe es una base fuerte que ioniza todos los grupos hidroxilo presentes en la molécula, especialmente para la detección de grupos hidroxilo libres en la posiciones 3 y 4'. Un desplazamiento batocrómico de 46,9 nm aproximadamente para la banda I al adicionar el reactivo, puede sugerir la presencia de flavonas 4'-

hidroxiladas o flavonoles 3-O-sustituidos (**Figura 4.9**) donde la intensidad de la banda no decrece [46].

Generalmente los cambios en la substitución del anillo A se reflejan en la banda II y alteraciones en la substitución de los anillos B y C afectan más a la banda I (**Figura 4.10**). Las variaciones dependerán de la presencia de hidroxilos fenólicos en las diferentes posiciones de la molécula. Posiblemente no hubo presencia de grupos OH en el anillo A que permitiera la reacción con los demás reactivos, generando solo desplazamientos en la banda I.

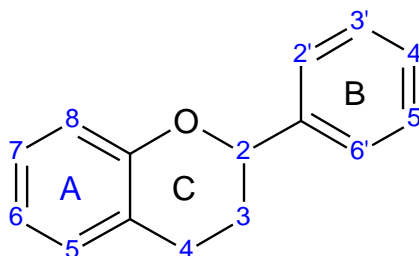


Figura 4.10 Estructura base de un flavonoide

Posiblemente la estructura del flavonoide no es la única que podría dar positivo a la reacción con el NaOMe, tomando el anillo B y la mitad del anillo C donde se encuentra el grupo carbonilo, da la estructura del cinamoil, estructura base de Fenilpropanoides, como el ácido cinámico y sus derivados como se muestra en la **Figura 4.11**.

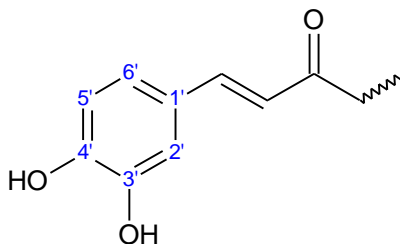
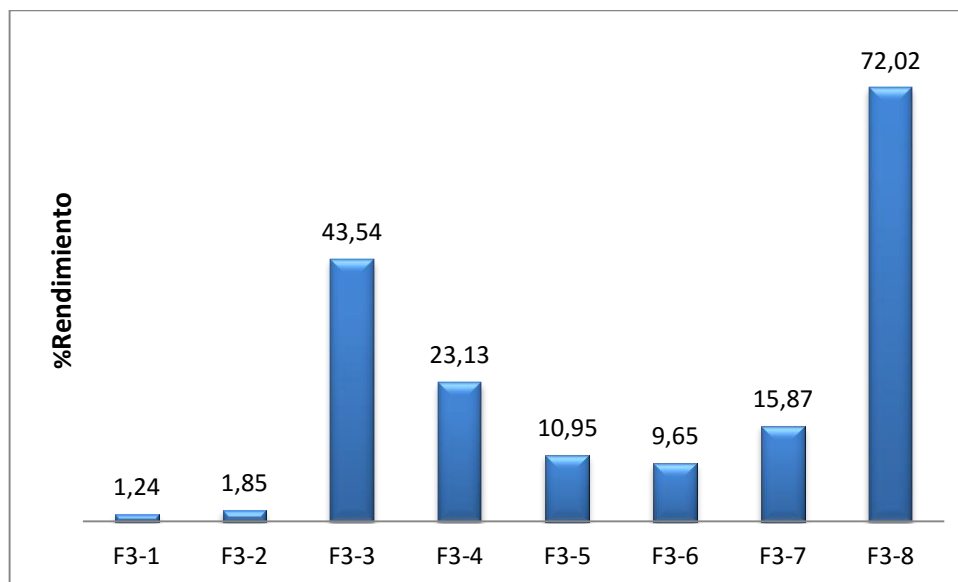


Figura 4.11 Estructura del Cinamoil

4.9 Rendimiento del fraccionamiento de la Fracción F₃ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se fracciono 1 g de la fracción F₃, del cual se obtuvo 8 fracciones.



Grafica 4.2 Porcentajes de rendimiento del fraccionamiento de la fracción F₃ de extracto en butanol de *T. rosea*.

Se observa que las fracciones F₃₋₃ y F₃₋₈ presentan mayores porcentajes de rendimiento (43.54% y 72.02%) respectivamente. El porcentaje de rendimiento supera el 100% (178.2%), esto puede ser ocasionado por la características higroscópicas de las fracciones.

4.10 Monitoreo de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ por espectrometría UV-VIS

Al obtener las fracciones se realiza el mismo procedimiento aplicado anteriormente, en este caso para las fracciones obtenidas a partir de F₃. Los espectros de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ presentan desplazamientos batocrómicos, las fracciones F₃₋₃ y F₃₋₄ presentan valores de absorbancia elevados a una longitud de onda de 313 nm la cual corresponde a núcleos de tipo flavonoides, las fracciones F₃₋₅, F₃₋₆ y F₃₋₈ presentan valores de absorbancia en menor proporción y se encuentran longitudes de onda alrededor de los 279 nm esto indica que podemos encontrar la presencia de núcleos de tipo fenólicos y quinonas y por último la fracción F₃₋₇ presenta un comportamiento distintivo respecto a las otras fracciones, ya que presenta un valor de absorbancia elevado a una longitud de onda de 212 nm y los núcleos que

absorben alrededor de ese valor son de tipo aromáticos complejos como lo son las antraquinonas. La particularidad de los posibles compuestos presentes en las fracciones posee características aromáticas complejas [47].

4.11 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* por cromatografía en capa delgada (CCD).

Se realizó un seguimiento a las fracciones obtenidas por cromatografía en capa delgada en fase reversa y fase normal utilizando como eluyente agua-isopropanol (7:3) en fase reversa y en fase normal cloroformo-metanol (85:15), como se observa en las **Figuras 4.12** y **4.13**.

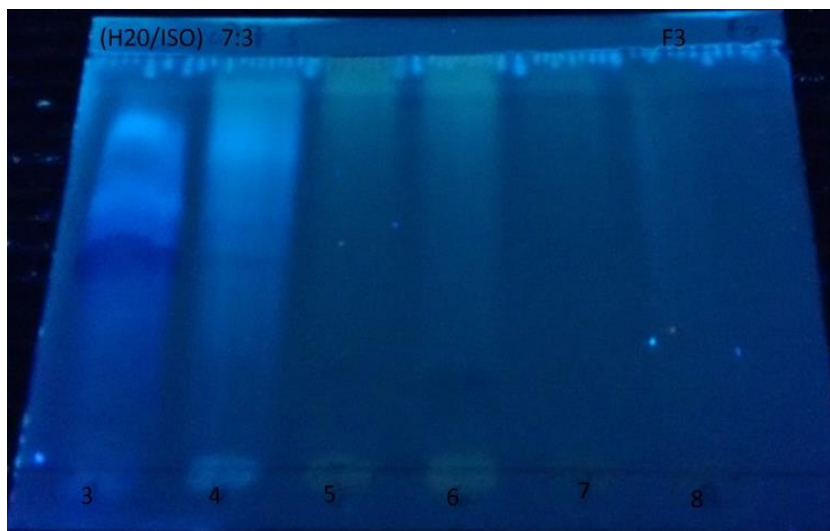


Figura 4.12 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ del extracto butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm)

En la **Figura 4.12** se observan manchas de color azul brillante y un azul oscuro intenso muy definido en F₃₋₃. En las otras fracciones se observan estelas de color azul tenue y verde, sin manchas definidas a diferencia de F₃₋₈ donde no se aprecia un aparente desplazamiento.

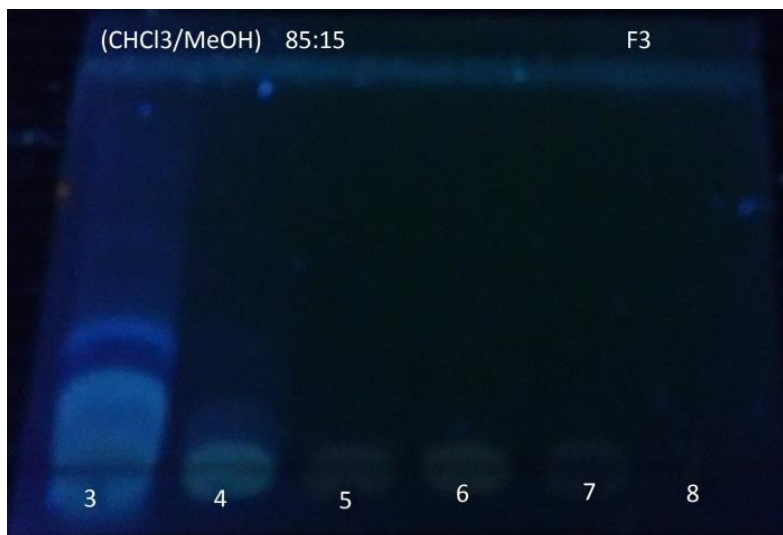


Figura 4.13 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm)

En la **Figura 4.13** se observa la presencia de manchas de color azul brillante y oscuro concentrados en F₃₋₃, la intensidad de las manchas es un indicativo de mayor concentración de dichos compuestos en la fracción. Para las otras fracciones se observa coloración verde y azul tenue en el punto de siembra con excepción de F₃₋₈ donde no se aprecia coloración alguna.

4.12 Pruebas de identificación de núcleos químicos de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ del extracto en butanol de corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se caracterizó mediante pruebas químicas por cromatografía en capa delgada (CCD) los núcleos presentes de las fracciones obtenidas, los resultados se muestran en la siguiente **Tabla 4.14**.

Tabla 4.14 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈.

Pruebas de caracterización	Fracciones					
	F ₃₋₃	F ₃₋₄	F ₃₋₅	F ₃₋₆	F ₃₋₇	F ₃₋₈
Terpenos general	+++	+	++	++	+	-
Terpenos y Esteroides	+	-	-	-	-	-
Aldehídos y Cetonas	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	++	+	+	+	-	-
Antraquinonas	-	++	++	++	+	-+
Antronas	++	+	-	-	-	-
Cumarinas	+++	++	+	+	-	-
Fenoles	++	+	+	+	-	-
Insaturaciones	+++	++	++	++	-	-
Lactonas sesquiterpénicas	-	-	-	-	-	-
Carbohidratos	+++	++	++	+	-	-
Triterpenos y Saponinas	-	-	-	-	-	-
Antronas	-+	-	-	-	-	-
Alcaloides	-+	-+	-+	-+	-	-
Fenilpropanoides	-	+	++	+	-	-

- Negativo
- + incierto
- + positivo baja intensidad
- ++ positivo media intensidad
- +++ positivo alta intensidad

En la **Tabla 4.14** se evidencia la posible presencia de núcleos químicos en las fracciones F₃₋₃, F₃₋₄ y F₃₋₅ tales como terpenos, flavonoides, antronas, cumarinas, fenoles, insaturaciones, carbohidratos y alcaloides. Las antraquinonas se observan en F₃₋₄, F₃₋₅, F₃₋₆ y F₃₋₇. Los Fenilpropanoides se evidencian en F₃₋₅.

4.13 Perfiles cromatográficos por CG-EM de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

El análisis de los perfiles cromatograficos por CG-EM se manejan los mismos criterios descritos para las subfracciones de F₃, F₄ y F₅ previamente depuradas por CCDAR, en este caso se hizo para las fracciones F₃₋₃ hasta la fracción F₃₋₈ y estas presentan los posibles compuestos descritos en las **Tablas 4.15 a 4.20**.

Tabla 4.15 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₃ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
7,393	Dihidrobencofurano	87
8,908	Ácido cinámico	96
8,132	2-metoxi-4-vinilfenol	95
11,622	Coniferol	98
11,935	Ácido p-cumárico	95
15,108	Ácido oleico	96

Tabla 4.16 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₄ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
7,393	Dihidrobencofurano	87
8,132	2-metoxi-4-vinilfenol	93
11,656	4 metil-hidroxicinamato	94
13,489	Ácido palmitico-ácido hexadecanoico	99
	Ácido tetradecanoico	93
	Ácido pentadecanoico	91

Tabla 4.17 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₅ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
7,447	Dihidrobenzofurano	81
13,209	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	95
	Ácido tridecanoico, éster metílico	93
	Palmitato de metilo	93
13,501	Ácido palmítico-ácido hexadecanoico	93
14,336	Lapachol	93

Tabla 4.18 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₆ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
13,209	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	96
	Palmitato de metilo	89

Tabla 4.19 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₇ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
8,144	2-metoxi-4-vinilfenol	94
11,693	4 metil-hidroxicinamato	98
13,493	Ácido palmítico-ácido hexadecanoico	99
15,013	Estearato de metilo- Ácido esteárico, éster metílico	99
	Ácido heptadecanoico, 16-metil-, éster metílico	98

Tabla 4.20 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₈ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
8,148	2-metoxi-4-vinilfenol	94
13,205	Ácido hexadecanoico, metilester	95
	Ácido pentadecanoico, 14-metil éster metílico	95
	Ácido tridecanoico, éster metílico	90
14,754	9,12-octadecadienoico ácido, éster de metilo	93
15,013	Ácido heptadecanoico, 14-metil éster metílico	96
	Ácido esteárico	95

Dentro los posibles compuestos hallados en las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ por CG-EM encontramos ácidos grasos de cadena larga como el ácido oleico o ácido palmítico, esteres de cadena larga como el palmitato de metilo, fenilpropanoides derivados del ácido cinámico y compuestos derivados de la familia de las naftoquinonas (**Figura 4.14**) como el lapachol. Relacionando los resultados de las pruebas de caracterización química y los compuestos obtenidos por CG-EM podemos mencionar que núcleos que posiblemente se encuentren dentro de las fracciones son ácidos grasos, antraquinonas y esteres.

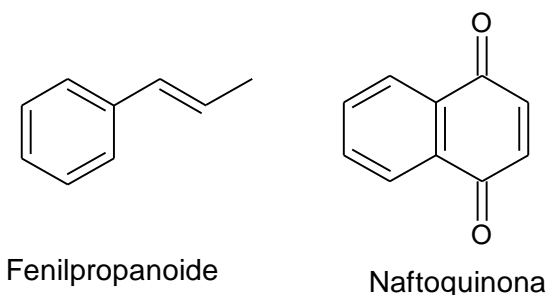
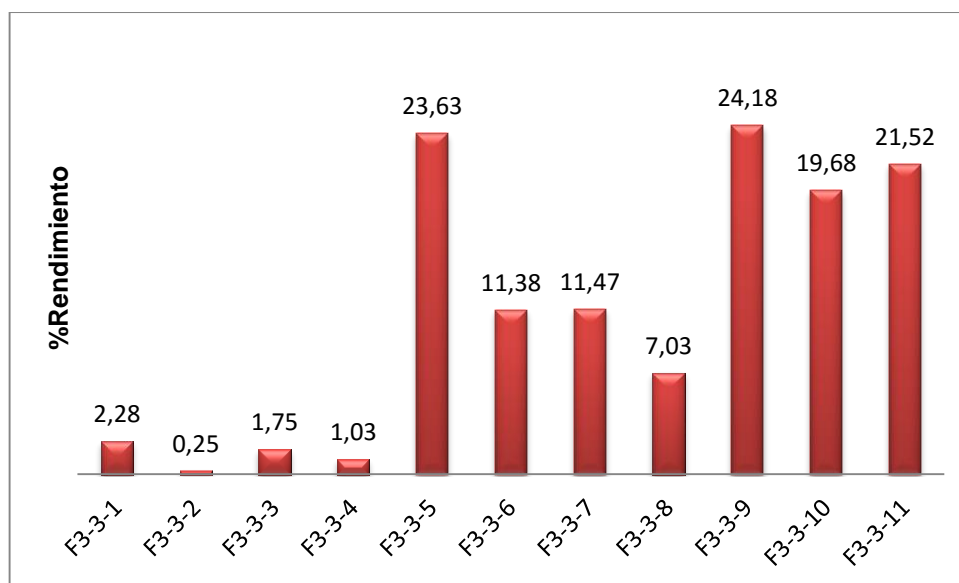


Figura 4.14 Estructuras generales de los posibles compuestos de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈ del extracto en butanol de corteza interna de *T. rosea*

4.14 Rendimiento del fraccionamiento de la Fracción F₃₋₃ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Se realizó el fraccionamiento de la fracción F₃₋₃ con aproximadamente 435 mg, donde se obtuvieron 11 fracciones. Los porcentajes de rendimiento se muestran en la **Grafica 4.3**



Grafica 4.3 Porcentajes de rendimiento del fraccionamiento de la fracción F₃₋₃ de extracto en butanol de *T. rosea*.

Las fracciones F₃₋₃₋₉ y F₃₋₃₋₅ presentaron mayores porcentajes de rendimiento (24.18% y 23.63%) respectivamente. Las últimas fracciones presentaron altos porcentajes, posiblemente debido a que la fracción es polar, por tanto a medida que aumentaba la polaridad del gradiente aumentaba el rendimiento de la columna. El porcentaje de rendimiento supera el 100% (124.2%), lo cual puede ser causado por la humedad de las fracciones.

4.15 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃₋₁ a F₃₋₃₋₁₁ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* por cromatografía en capa delgada (CCD).

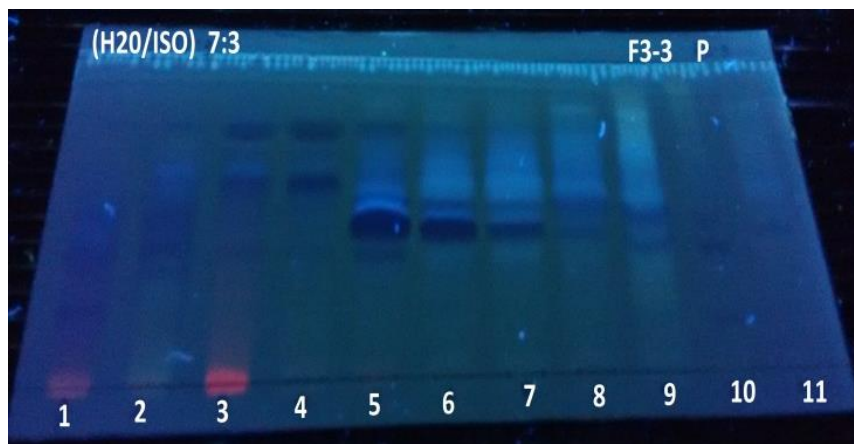


Figura 4.15 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃₋₁ a F₃₋₃₋₁₁ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en agua-isopropanol (7:3) a longitud de onda (366nm)

Los perfiles cromatográficos observados en la **Figura 4.15** presentan para las fracciones F₃₋₃₋₁ y F₃₋₃₋₃ manchas de coloraciones rojizas intensas en la base de la cromatoplaca, las fracciones F₃₋₃₋₃ a la fracción F₃₋₃₋₇ presentan manchas definidas de coloraciones azul oscura, para las fracciones F₃₋₃₋₅ a la fracción F₃₋₃₋₉ se logran ver manchas coloraciones azul claro y otras en forma de estela y por último en las fracciones F₃₋₃₋₈ a la fracción F₃₋₃₋₁₁ se aprecia una mancha de coloración verde en forma de estela.

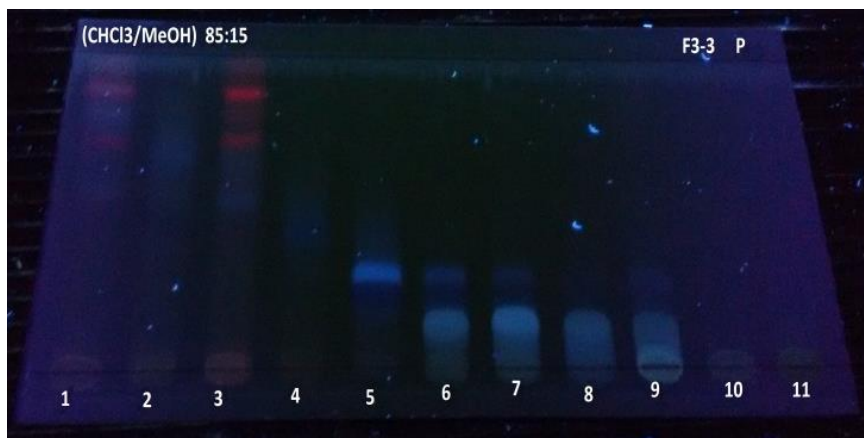
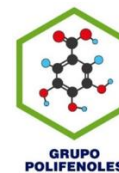


Figura 4.16 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃₋₁ a F₃₋₃₋₁₁ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda (366nm)

Los perfiles cromatograficos observados en la **Figura 4.16** presentan para las fracciones F₃₋₃₋₁ y F₃₋₃₋₃ manchas definidas de coloraciones rojizas intensas, en este caso se logra ver una separación de estos compuestos rojizos en la parte alta de la cromatoplaca, las fracciones F₃₋₃₋₅ a la fracción F₃₋₃₋₉ presentan manchas definidas de coloraciones azul oscura, en las fracciones F₃₋₃₋₅ a las fracción F₃₋₃₋₇ se logra apreciar varias manchas decoloración azul claro y por último en las fracciones F₃₋₃₋₆ a la fracción F₃₋₃₋₉ se aprecia una mancha de coloración verde en la parte baja de la cromatoplaca.



4.16 Pruebas de identificación de núcleos químicos de las fracciones F₃₋₃₋₁ a F₃₋₃₋₁₁ del extracto en butanol de corteza interna de *Tabebuia rosea*.

Tabla 4.21 Resultados de pruebas de identificación de núcleos químicos.

Pruebas de caracterización	Fracciones										
	F ₃₋₃₋₁	F ₃₋₃₋₂	F ₃₋₃₋₃	F ₃₋₃₋₄	F ₃₋₃₋₅	F ₃₋₃₋₆	F ₃₋₃₋₇	F ₃₋₃₋₈	F ₃₋₃₋₉	F ₃₋₃₋₁₀	F ₃₋₃₋₁₁
Terpenos general	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
Terpenos y Esteroides	++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	-
Aldehídos y Cetonas	+	-	-	++	++	++	++	+	+++	-	-
Flavonoides	+	-	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++
Antraquinonas	++	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-
Antronas	-	-	-	-	-	+++	+++	++	+		-+
Cumarinas	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
Fenoles	-	-	-	-	-	++	+++	+	+	-	-
Insaturaciones	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
Lactonasesquiterpénicas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carbohidratos	-	-	-	-	+++	++	++	++	+++	-	-
Triterpenos y Saponinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Antronas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Fenilpropanoides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Taninos condensables	-	-	-	-	++	+	+	+	-	-	-

- Negativo
- + incierto
- + positivo baja intensidad
- ++ positivo media intensidad
- +++ positivo alta intensidad

La Tabla 4.21 evidencia las pruebas de caracterización química a las cuales fueron sometidas las fracciones F₃₋₃₋₁ a la fracción F₃₋₃₋₁₁ y posiblemente puedan contener los siguientes tipos de núcleos químicos, las fracciones F₃₋₃₋₁ a F₃₋₃₋₁₁ núcleos de tipo cumarina y terpenos, las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₅, F₃₋₃₋₆, F₃₋₃₋₇, F₃₋₃₋₈, F₃₋₃₋₉, F₃₋₃₋₁₀ y F₃₋₃₋₁₁ núcleos de tipo flavonoides, las fracciones F₃₋₃₋₁ y F₃₋₃₋₃ núcleos de tipo antraquinona, las fracciones F₃₋₃₋₆, F₃₋₃₋₇, F₃₋₃₋₈, F₃₋₃₋₉ y F₃₋₃₋₁₁ núcleos de tipo antranas, las fracciones F₃₋₃₋₆ a F₃₋₃₋₉ núcleos de tipo fenólicos, carbohidratos y taninos condensables.

4.17 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₆ y F₃₋₃₋₇ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* por cromatografía de capa delgada de alto resolución (CCDAR).

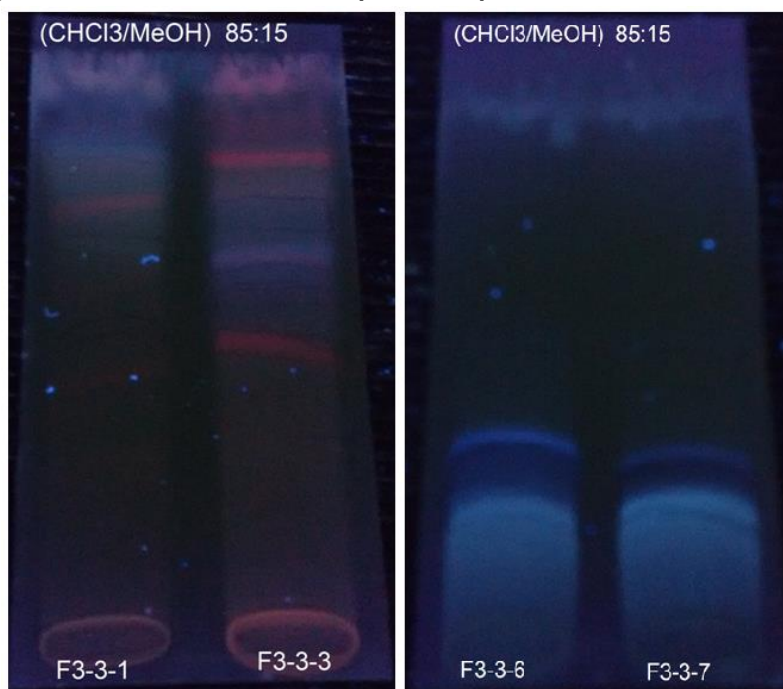


Figura 4.17 Perfiles cromatográficos de las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₆ y F₃₋₃₋₇ del extracto en butanol de la corteza interna de *Tabebuia rosea* en cloroformo-metanol (85:15) a longitud de onda de (366 nm)

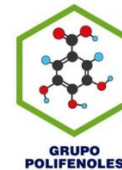
En la **figura 4.17** se muestra la separación de los posibles compuestos obtenidos de las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₆ y F₃₋₃₋₇ mediante la metodología de CCDAR, los compuestos revelados se rasparon y se recuperaron para ser llevados al CG-EM para obtener un perfil preliminar de los posibles núcleos químicos que allí se encuentren.

Tabla 4.22 Posibles compuestos de la fracción F₃₋₃₋₃ por CG-EM.

Tiempo de Retención	Posible Compuesto	% de Similaridad
13,184	Metilpentadecanoato	94
14,733	Ácido octadecanoico, éster metílico	95
	Metil estearato	96
15,647	8-metil heptadecano	93
15,697	Ciclohexadecano	94
	n-Tetracosanol-1	93
	Octadeciletanoato	91
	Docosanol	91
16,495	Heptacosano	87

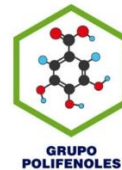
Se analizaron las fracciones F₃₋₃₋₁, F₃₋₃₋₃, F₃₋₃₋₆ y F₃₋₃₋₇ por CG-EM de las cuales solo la fracción F₃₋₃₋₃ presentó compuestos de origen orgánico natural, las demás presentaron compuestos de tipo sintético por esta razón no se presentaron las tablas de los posibles compuestos de estas fracciones.

La **Tabla 4.22** muestra la fracción F₃₋₃₋₃ y los posibles compuestos hallados para la misma, los núcleos son de tipo ácidos grasos como son ácido octadecanoico, ésteres de cadena larga como es el estearato de metilo, alcanos como el heptacosano (**Figura 4.2**) y alcoholes de cadena larga como el docosanol.



5. CONCLUSIONES

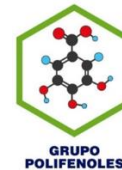
- De acuerdo a los resultados de las pruebas de caracterización de núcleos químicos para las fracciones obtenidas del extracto en butanol, se logró evidenciar la presencia de núcleos químicos de tipo terpenos, antronas, y cumarinas.
- Teniendo en cuenta las características fisicoquímicas del extracto en butanol, se obtuvo en los tres fraccionamientos rendimientos que superan el 100% en masa, lo que puede indicar que las fracciones obtenidas a partir de extractos polares poseen propiedades higroscópicas.
- De acuerdo a los resultados obtenidos en la pruebas de desplazamiento, ejecutadas en la fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆ solo se evidencia una variación en el espectro UV, al adicionar una base fuerte como el NaOMe, lo que puede inferir que no es un núcleo de tipo flavonoide sino puedan ser núcleos de tipo fenol o Fenilpropanoides que pueda reaccionar con el reactivo.
- Los resultados de las pruebas de caracterización de núcleos químicos para las subfracciones obtenidas a partir de la fracción F₃, mostraron la presencia de posibles núcleos de tipo terpenos, esteroides, Flavonoides, antraquinonas, Antronas, cumarinas, fenoles, carbohidratos y Fenilpropanoides.
- En el estudio cromatográfico mediante GC-EM de las subfracciones obtenidas a partir de la fracción F₃, reveló como posible compuesto el lapachol, el cual es una naftoquinona reportada para el género *Tabebuia*. Adicionalmente se reportan como posibles compuestos el ácido cinámico y ácido *p*-cumarico los cuales refuerzan la idea planteada en las pruebas de desplazamiento.
- Para los resultados de las pruebas de caracterización de núcleos químicos para las subfracciones obtenidas a partir de la subfracción F₃₋₃, mostraron la presencia de posibles núcleos de tipo terpenos, esteroides, Flavonoides, antraquinonas, Antronas, cumarinas, fenoles, carbohidratos, alcaloides, taninos condensables y aldehídos y cetonas.



- Los resultados obtenidos mediante GC-EM de los tres fraccionamientos permitió observar la presencia de compuestos de tipo ácidos grasos, ésteres de cadena larga, fenoles, alcoholes de cadena larga y alcanos de cadena larga.

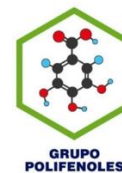
6. RECOMENDACIONES

- Continuar con el estudio de los metabolitos secundarios presentes en los extractos de la corteza interna de *Tabebuia rosea*.
- Para el manejo de los extractos polares utilizar procesos de liofilizado para la eliminación de agua ya que esta por su capacidad de formación de puentes de hidrogeno con los metabolitos secundarios no permite obtener una buena separación a la hora de fraccionar.
- No realizar pruebas de caracterización de núcleos químicos en el primer fraccionamiento de los extractos, ya que se ha evidenciado que no se obtienen resultados relevantes acerca del tipo de compuestos que puedan estar presentes.
- Realizar fraccionamientos finos y asistidos con tecnologías como espectrometría UV-VIS.

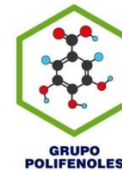


7. BIBLIOGRAFIA

1. Sarker, S.D. and L. Nahar, *Natural Products Isolation*. 2012: Humana Press.
2. Gómez, H.A.G., K.N.; Domingo, J., *Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales*. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2011. 10(3): p. 182-217.
3. Vélez J.M.; Veloza L.A.; Sepúlveda Arias J.C., *Actividad antioxidante y antiinflamatoria de extractos obtenidos de *Tabebuia rosea* (Bertol) DC. (Bignoniaceae)*. Grupo Polifenoles, Escuela de Química, Universidad Tecnológica de Pereira
4. Saénz, D., *Medicamentos, Plantas Medicinales y Productos Naturales*. Farmacos, 2003. 16.
5. Pomilio, A.B., *Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: Vinculación con la Bioquímica*. Acta bioquímica clínica latinoamericana, 2012. 46: p. 73-82.
6. Arévalo, D., et al., *Fracción alcaloidal obtenida de *Valeriana pavonii* Poepp con actividad anticonvulsivante*. Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas, 2006. 35: p. 168-176.
7. Ukiya, M., et al., *Anti-Inflammatory, Anti-Tumor-Promoting, and Cytotoxic Activities of Constituents of Marigold (*Calendula officinalis*) Flowers*. Journal of Natural Products, 2006. 69(12): p. 1692-1696.
8. Mutis, J.C., et al., *Bignoniáceas, Lentibulariáceas, Acantáceas, Plantagináceas, Caprifoliáceas, Valerianáceas*. 1992: Ediciones de Cultura Hispánica.
9. Méndez, J.M., *Manejo de semillas de 100 especies forestales de América Latina*. 2000: CATIE.
10. de Santana CF, d.L.O., d' Albuquerque IL, Lacerda AL, Martins DG, *Antitumoral and toxicological properties of extracts of bark and various wood components of *Pau d'arco* (*Tabebuia avellanedae*)*. Rev Inst Antibiot (Recife), 1968: p. 89-94.
11. Alonso, J.R., *El lapacho*. Revista de Fitoterapia 2000; 1 (2): 107-117, 2000. 1: p. 107-117
12. Vega, V.O., *Etnobotánica de la Amazonia peruana*. 2001: Abya-Yala.
13. Department of Pharmacognosy, C.o.M., University of Ibadan, Nigeria, *Antimicrobial potentials of some plant species of the Bignoniaceae family*. African journal of medicine and medical sciences, 1994.
14. Simpson, M.G., *Plant Systematics*. 2011: Elsevier Science.
15. Cabral, E.L., *Diversidad Vegetal Biotaxonomía de Spermatofitos*. 2010.
16. Cordero, J., et al., *Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas*. 2003: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.
17. Singh, P., et al., *Radermachol and naphthoquinone derivatives from *Tecomella undulata*: Complete ¹H and ¹³C NMR assignments of radermachol with the aid of computational ¹³C shift prediction*. Indian Journal of Chemistry 2008. 47B: p. 1865-1870



18. de Abreu, M.B., et al., *Phenolic glycosides from Tabebuia argentea and Catalpa bignonioides*. *Phytochemistry Letters*, 2014. 7: p. 85-88.
19. Aguilar, J., *Extracción y evaluación de taninos condensados a partir de la corteza de once especies maderables de Costa Rica*, ed. J.C. Jaén Jiménez, et al. 2012.
20. Rahmatullah, M., et al., *An Ethnomedicinal, Pharmacological and Phytochemical Review of Some Bignoniaceae Family Plants and a Description of Bignoniaceae Plants in Folk Medicinal Uses in Bangladesh*. *Advances in Natural & Applied Sciences*, 2010. 4(3).
21. Blatt, C.T.D.S., M.D.; Salatino, A., *Flavonoids of Bignoniaceae from the 'cerrado' and their possible taxonomic significance*. *Plant Systematics and Evolution*, 1998: p. 289-292.
22. Lino von Poser, G., et al., *The distribution of iridoids in Bignoniaceae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2000. 28(4): p. 351-366.
23. Michel, A.F.R.M., et al., *Evaluation of anti-inflammatory, antiangiogenic and antiproliferative activities of Arrabidaea chica crude extracts*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2015. 165: p. 29-38.
24. Ravi, A., et al., *Antiproliferative activity and standardization of Tecomella undulata bark extract on K562 cells*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2011. 137(3): p. 1353-1359.
25. Badgujar, V.B. and S.J. Surana, *Anxiolytic effects of Dolichandrone falcata Seem., Bignoniaceae, stem-bark in elevated plus maze and marble burying test on mice*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2010. 20: p. 773-780.
26. Sharma, P.K., et al., *Tecomaquinone-III: A new quinone from Tabebuia pentaphylla*. *Phytochemistry*, 1988. 27(2): p. 632-633.
27. Manners, G.D. and L. Jurd, *A new naphthaquinone from Tabebuia guayacan*. *Phytochemistry*, 1976. 15(1): p. 225-226.
28. Zani, C.L., A.B. De Oliveira, and G.G. De Oliviera, *Furanonaphthoquinones from Tabebuia ochracea*. *Phytochemistry*, 1991. 30(7): p. 2379-2381.
29. Blatt, C.T.S., A.; Salatino, M., *Flavonoids of Tabebuia caraiba (Bignoniaceae)*. *Biochemical systematics and ecology*, 1996. 24.
30. Warashina, T., Y. Nagatani, and T. Noro, *Constituents from the bark of Tabebuia impetiginosa*. *Phytochemistry*, 2004. 65(13): p. 2003-2011.
31. Wagner, H., Kreher, B., Lotter, H., Hamburger, M. O. and Cordell, G. A., *Structure Determination of New Isomeric Naphtho[2,3-b]furan-4,9-diones from Tabebuia avellanadae by the selective-INEPT technique*. *Helvetica Chimica Acta*, 1989. 72: p. 659-667.
32. Sichaem, J., et al., *Tabebuialdehydes A-C, cyclopentene dialdehyde derivatives from the roots of Tabebuia rosea*. *Fitoterapia*, 2012. 83(8): p. 1456-1459.
33. Zhang, L., et al., *Furanonaphthoquinones from Tabebuia avellanadae induce cell cycle arrest and apoptosis in the human non-small cell lung cancer cell line A549*. *Phytochemistry Letters*, 2015. 11: p. 9-17.
34. Morais, S.K.R.d., et al., *Bioactive dihydroxyfuranonaphthoquinones from the bark of Tabebuia incana A.H. Gentry (Bignoniaceae) and HPLC analysis of*



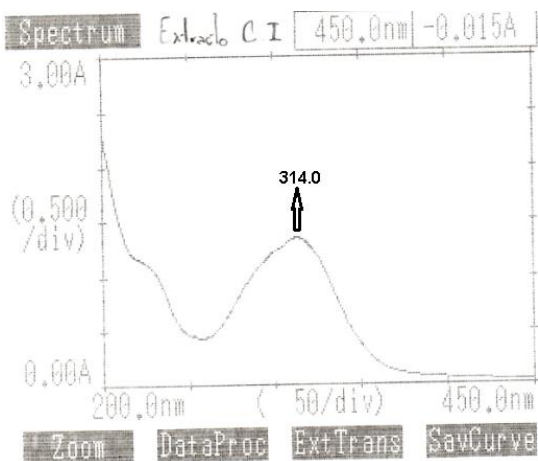
- commercial pau d'arco and certified T.incana bark infusions. Acta Amazonica, 2007. 37: p. 99-102.*
35. Oliveira Costa, J.F., et al., *Potent anti-inflammatory activity of betulinic acid treatment in a model of lethal endotoxemia. International Immunopharmacology, 2014. 23(2): p. 469-474.*
 36. Forero, E.B., J.; Galeano, G.; Aguirre, J., *Flora de Colombia*. Instituto de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 2009.
 37. Ramalakshmi, S.M., K., *Analysis of Bioactive constituents from the Ethanolic leaf extract of Tabebuia rosea (Bertol.) DC by Gas Chromatography - Mass Spectrometry. International Journal of ChemTech Research, 2011. 3(3).*
 38. Sathiya, M.a.M., K., *Studies on Phytochemical Profile and Antibacterial Activity of Ethanolic Leaf Extract of Tabebuia rosea (Bertol.) DC. Ethnobotanical Leaflets 2008. 12.*
 39. Martinez, J.S.S., J.I.; Arrubla, R.C.; Martinez, P.N., *Metabolitos Secundarios en el Guayacán Amarillo y en el Guayacán Rosado. Scientia et Technica 2011.*
 40. Joshi, K.C., L. Prakash, and P. Singh, *Quinones and other constituents from Tabebuia rosea. Phytochemistry, 1973. 12(4): p. 942-943.*
 41. Joshi, K.C., L. Prakash, and R.K. Shah, *Chemical examination of the roots of Tabebuia rosea and heartwood of Oroxylum indicum. Planta Medica, 1977.*
 42. Koyama, J., et al., *Cyclopentene dialdehydes from Tabebuia impetiginosa. Phytochemistry, 2000. 53(8): p. 869-872.*
 43. MALAVER, N.D.V.A., *Evaluación Química y Actividad antibacteriana, antifúngica y tóxica de los extractos hexánicos y metanólicos de Tabebuia rosea (bertol) a-dc., in Universidad de Oriente Núcleo de Sucre escuela de Ciencias Departamento de Bioanálisis. 2008.*
 44. Sherma, J. and B. Fried, *Handbook of Thin-Layer Chromatography. 2003: Taylor & Francis.*
 45. Wagner, H. and S. Bladt, *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas. 1996: Hendrickson Publishers.*
 46. Harborne, J.B., H. Marby, and T.J. Marby, *The Flavonoids. 2013: Springer US.*
 47. Pasto, D.J. and C.R. Johnson, *Determinación de estructuras orgánicas. 1981: Reverté.*
 48. Pino, F.J., *Análisis de Clases de Lípidos por Cromatografía de Capa Fina de Alta Resolución. INVURNUS, 2011. Volumen 6.*

8. ANEXOS

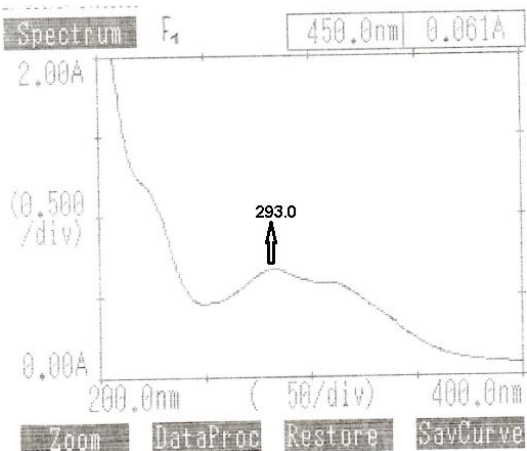
Anexo 1

Espectros UV-VIS de las fracciones F₁-F₁₀

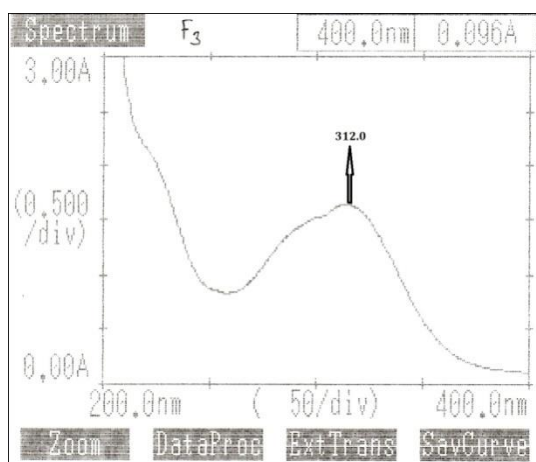
Extracto en butanol de corteza interna de *T. rosea*



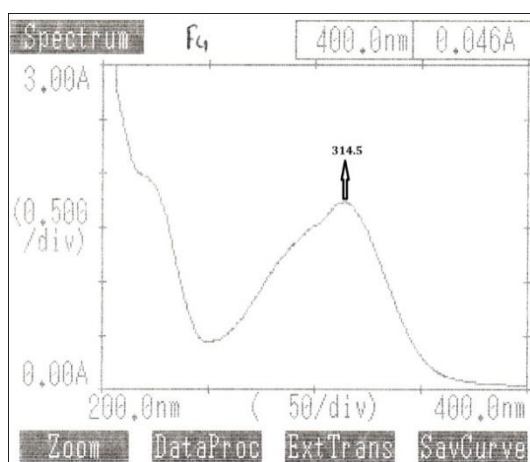
F₁



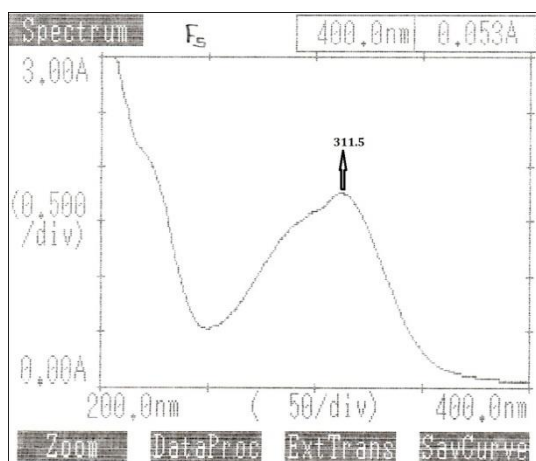
F₃



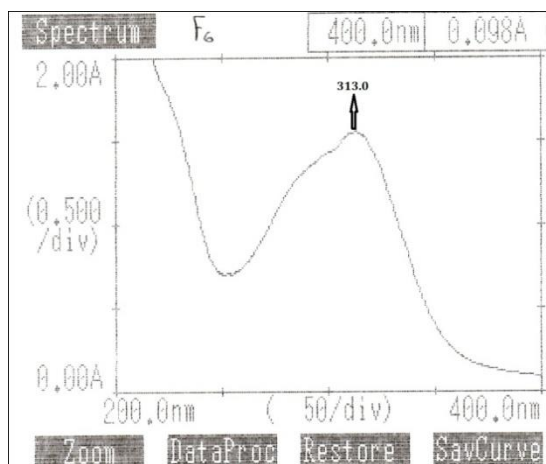
F₄



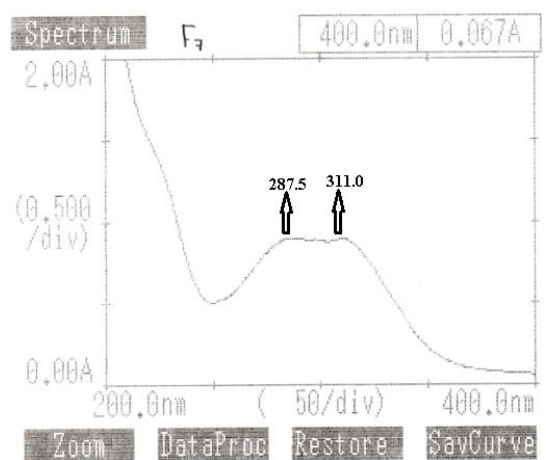
F₅



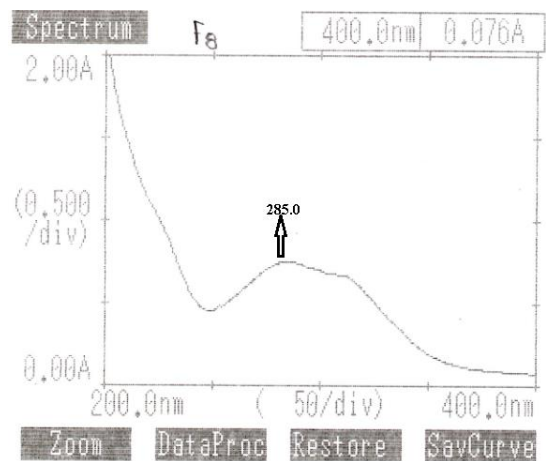
F6



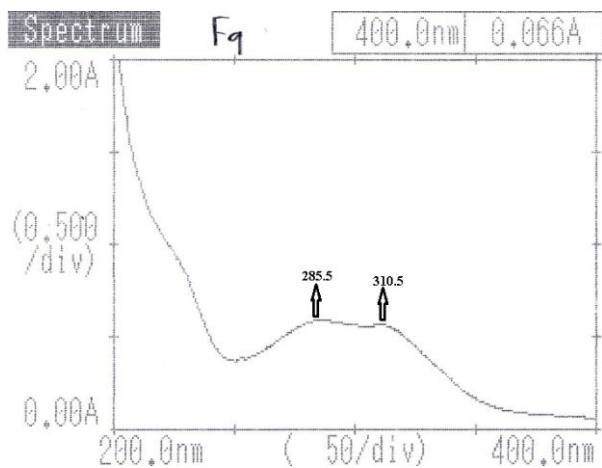
F7



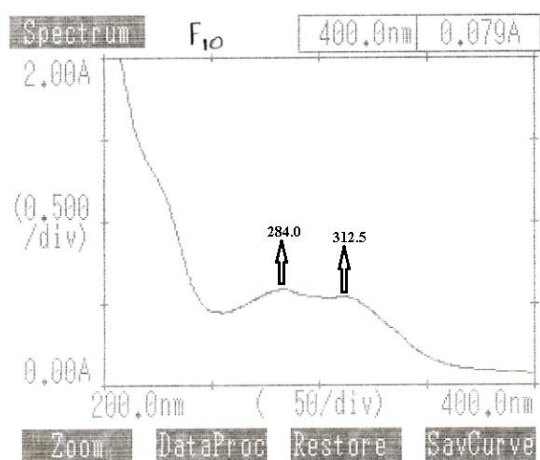
F8



F₉

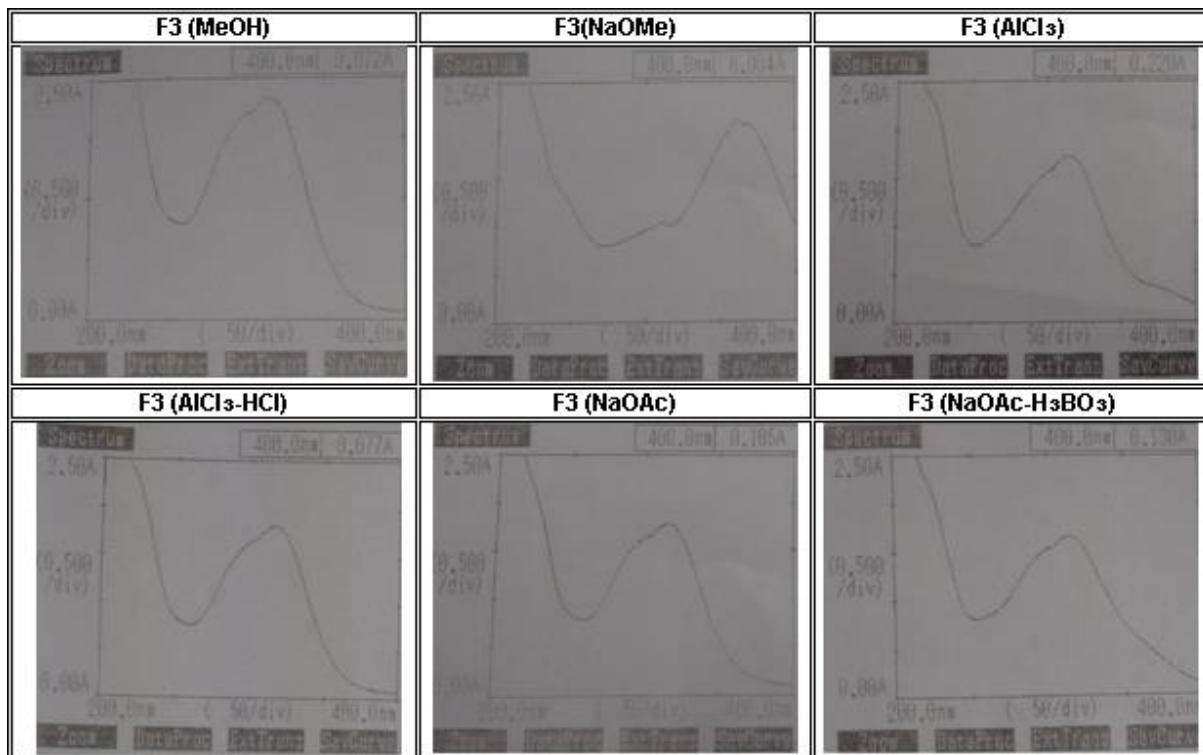


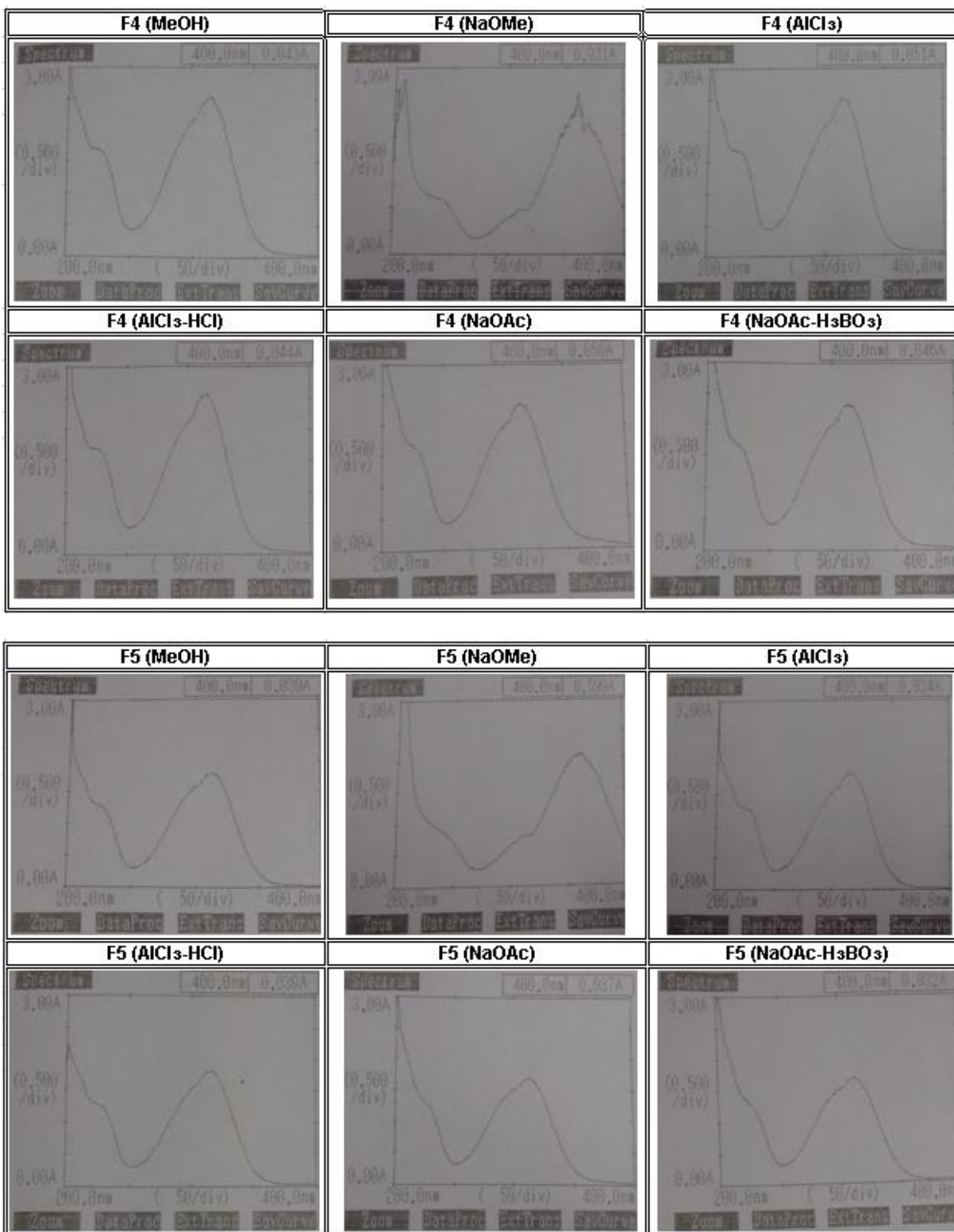
F₁₀

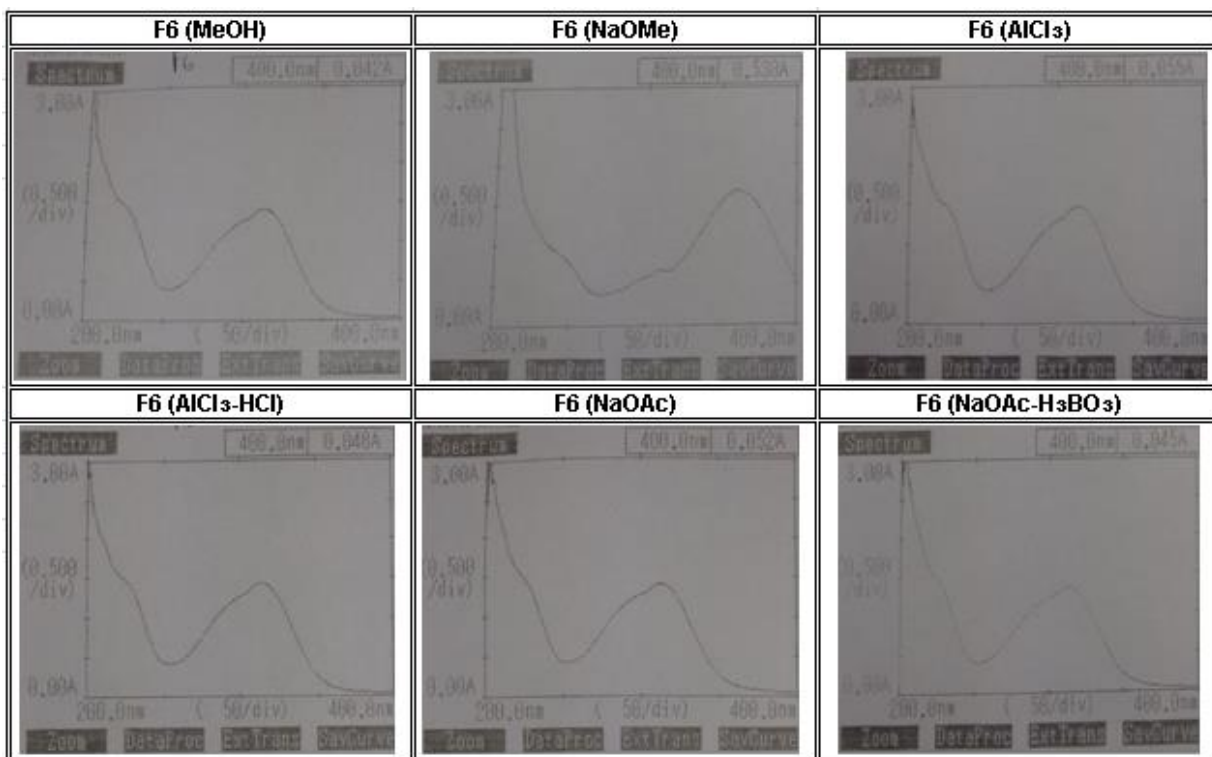


Anexo 2

Pruebas de desplazamiento fracciones F₃, F₄, F₅ y F₆.



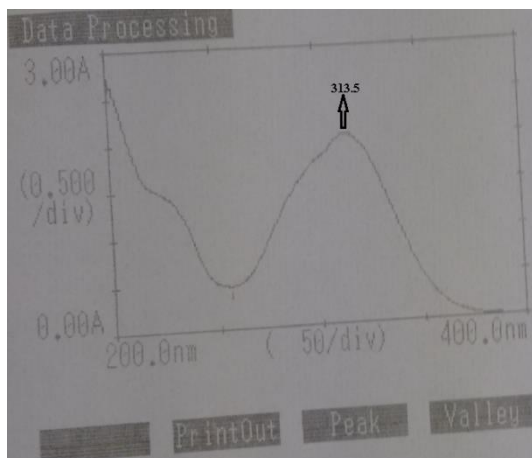




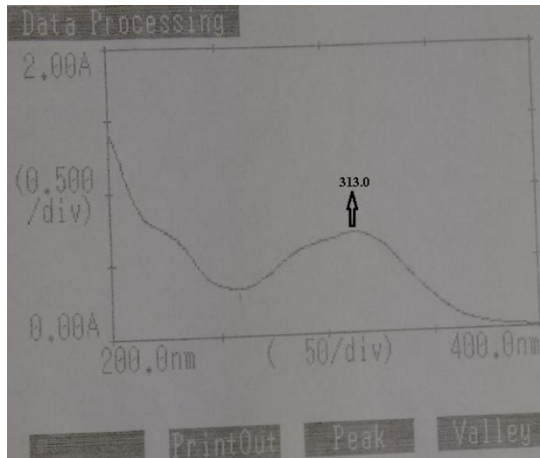
Anexo 3

Espectros UV-VIS de las fracciones F₃₋₃ a F₃₋₈

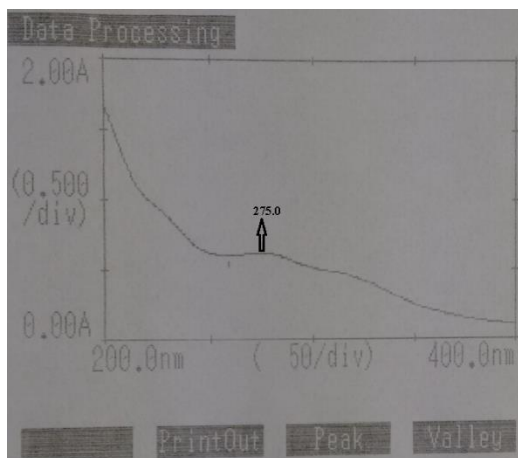
F₃₋₃



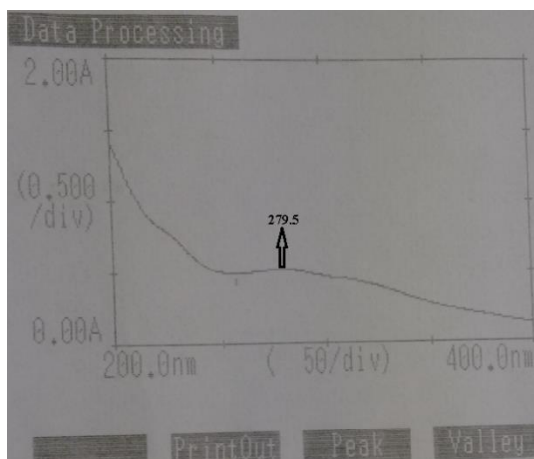
F3-4



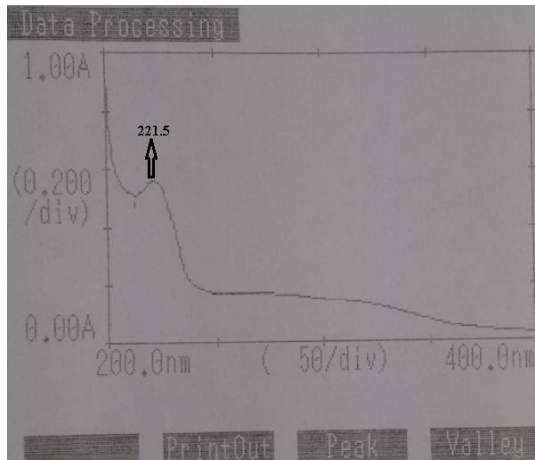
F3-5



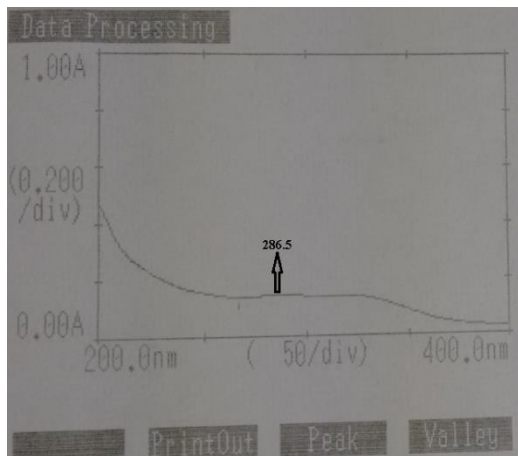
F3-6



F3-7



F3-8

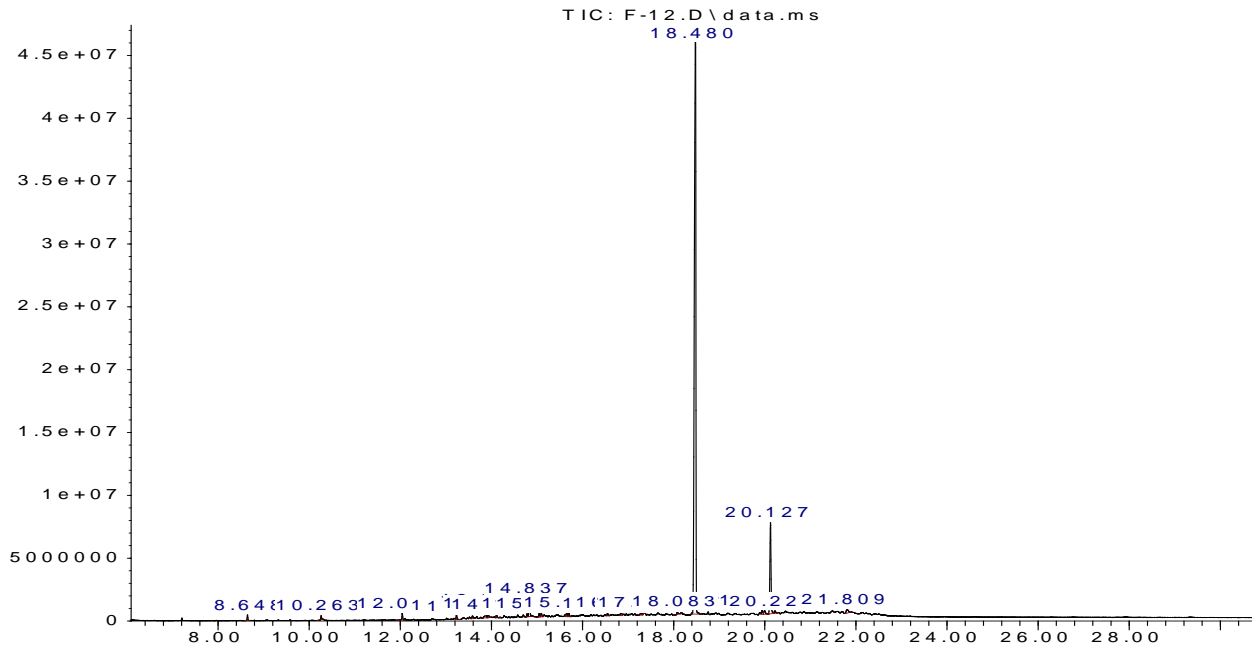




Anexo 4

Cromatograma de la fracción F₁₁ por CG-EM

Abundance

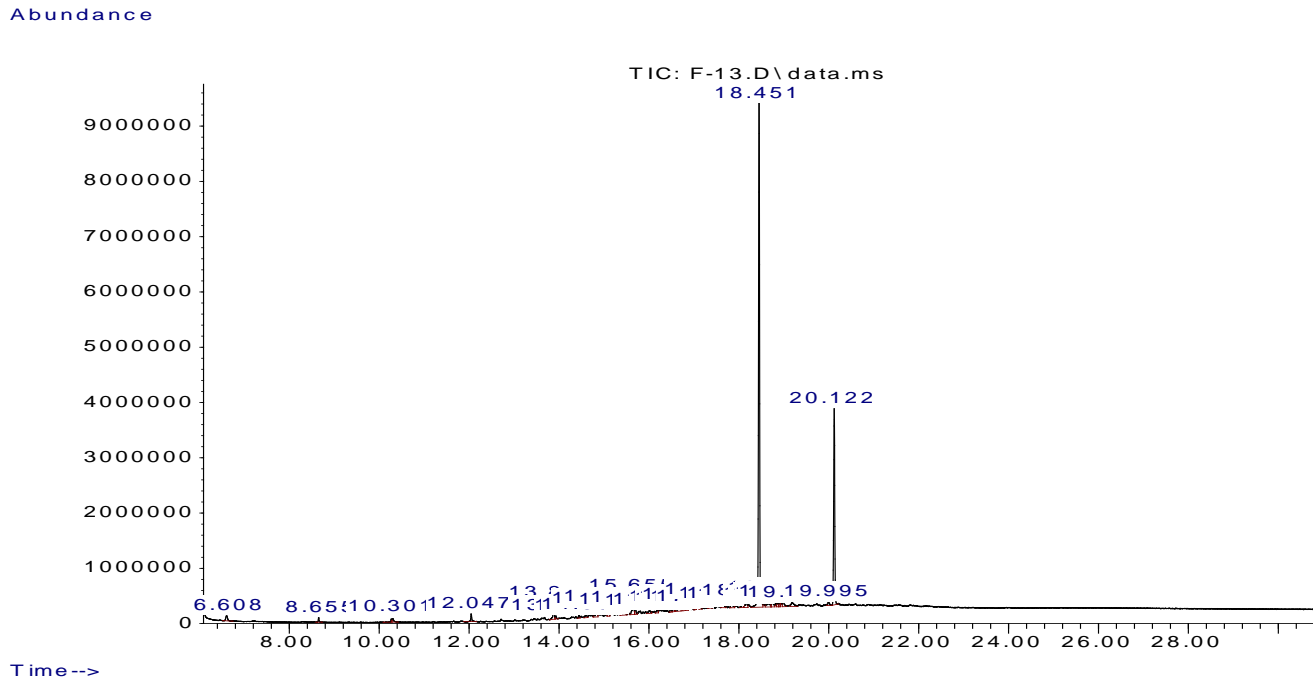


Time -->



Anexo 5

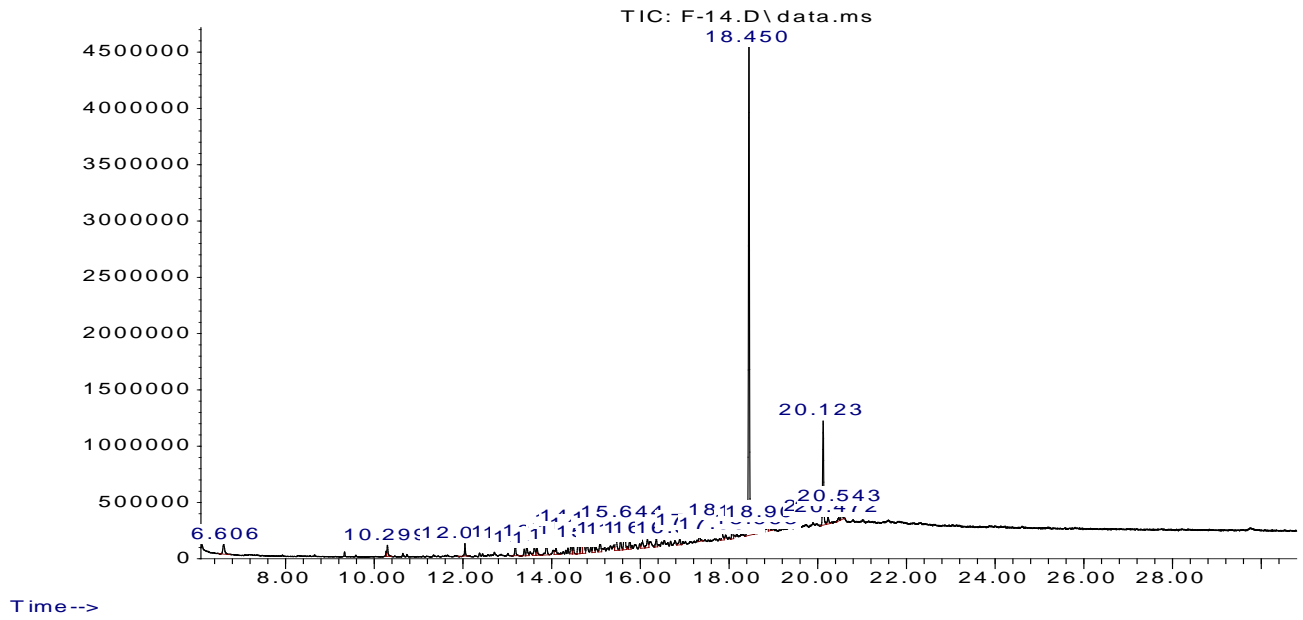
Cromatograma de la fracción F₁₃ por CG-EM



Anexo 6

Cromatograma de la fracción F₁₄ por CG-EM

Abundance



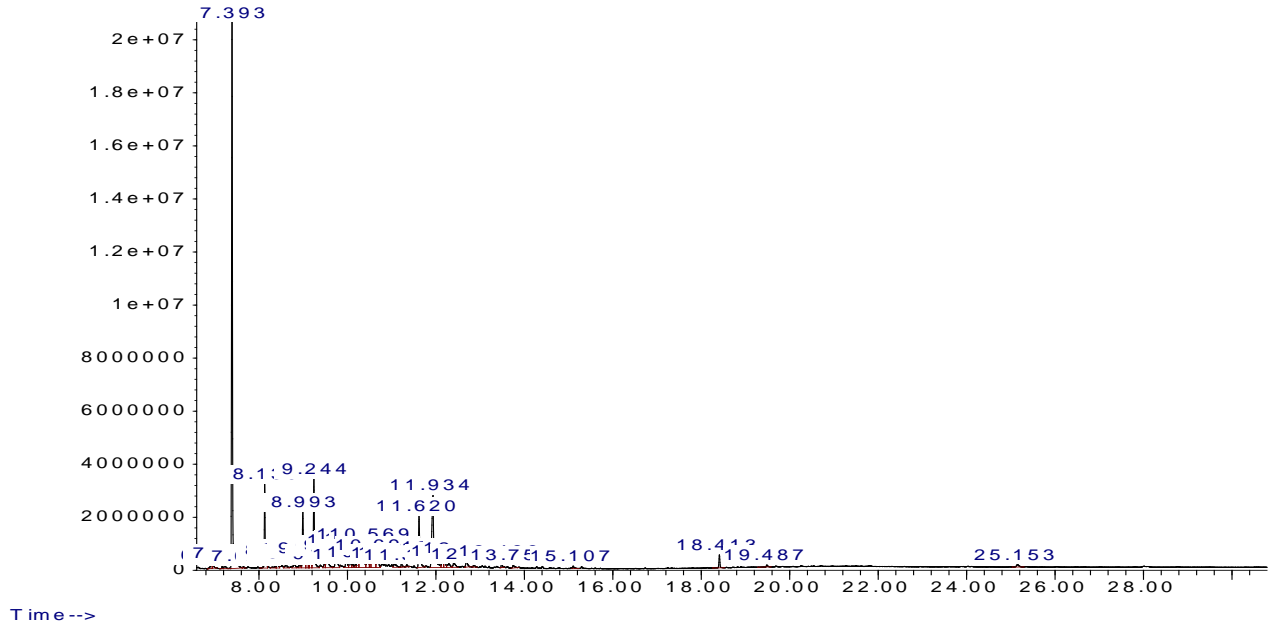


Anexo 7

Cromatograma de la fracción F₃₋₃ por CG-EM

Abundance

TIC: F3-3.D\data.ms



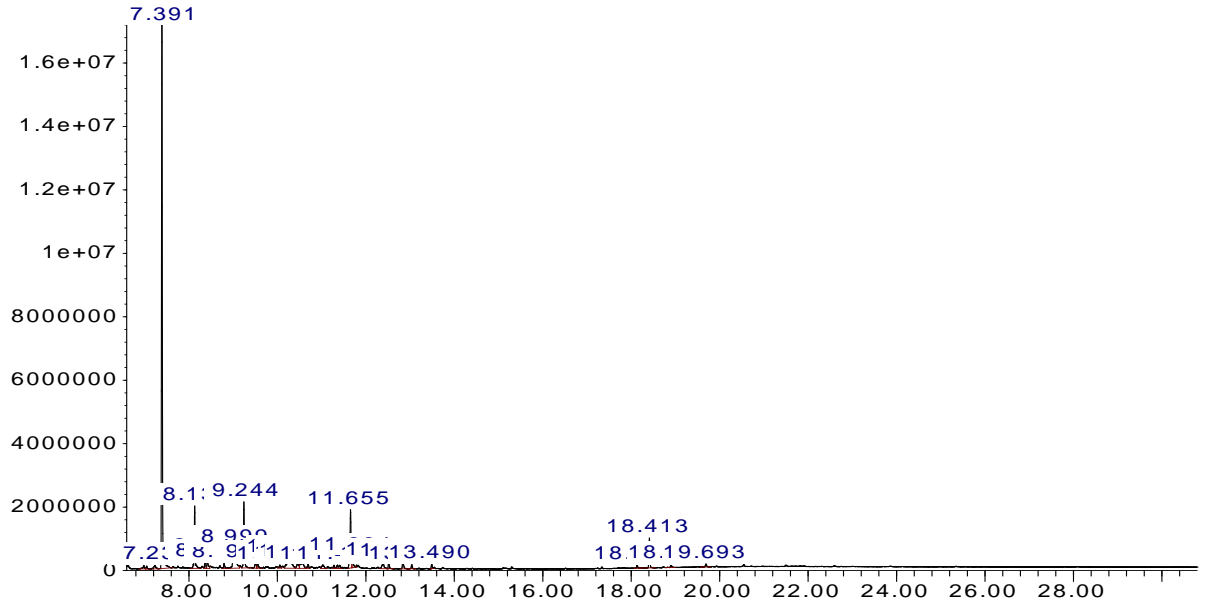


Anexo 8

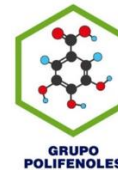
Cromatograma de la fracción F₃₋₄ por CG-EM

Abundance

TIC: F3-4.D\data.ms



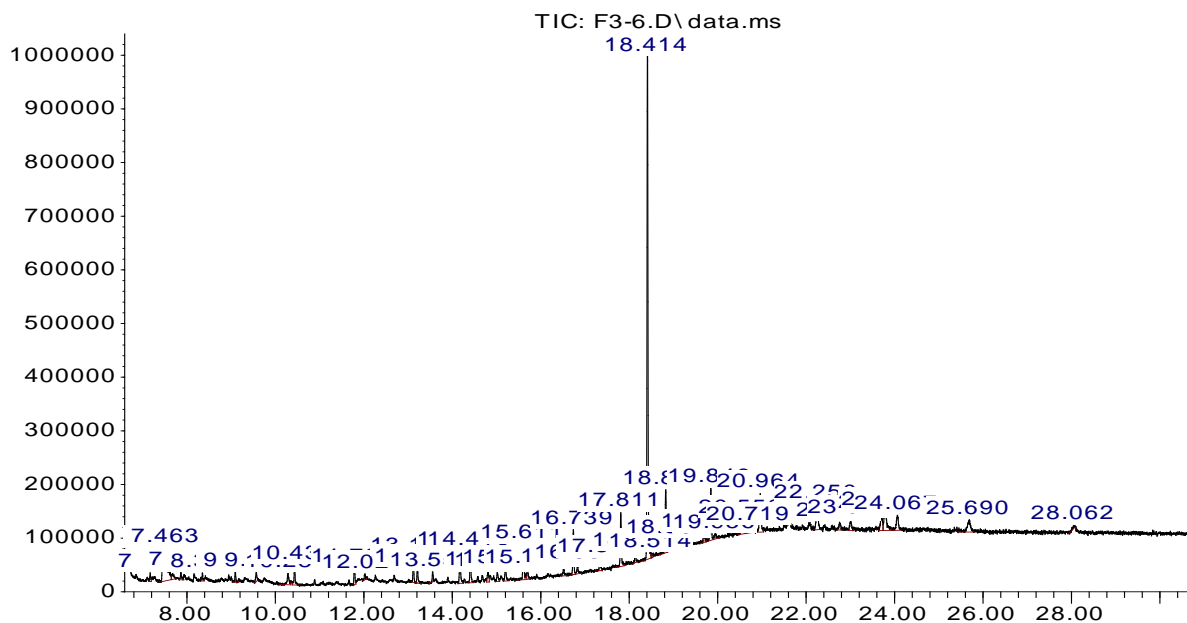
Time-->



Anexo 10

Cromatograma de la fracción F₃₋₆ por CG-EM

Abundance



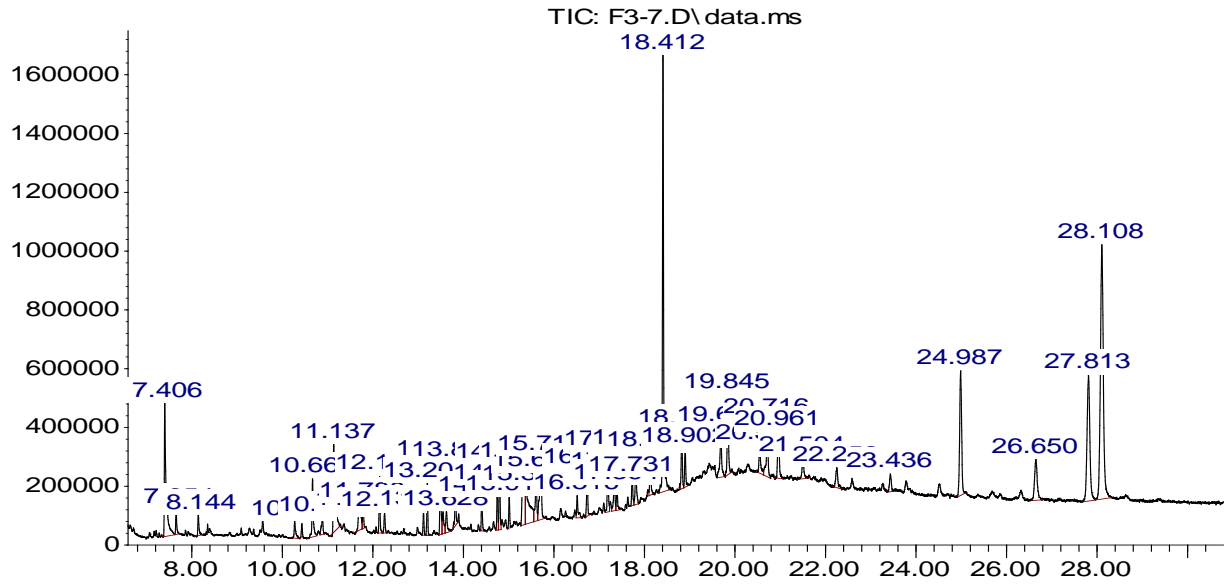
Time-->



Anexo 11

Cromatograma de la fracción F₃₋₇ por CG-EM

Abundance

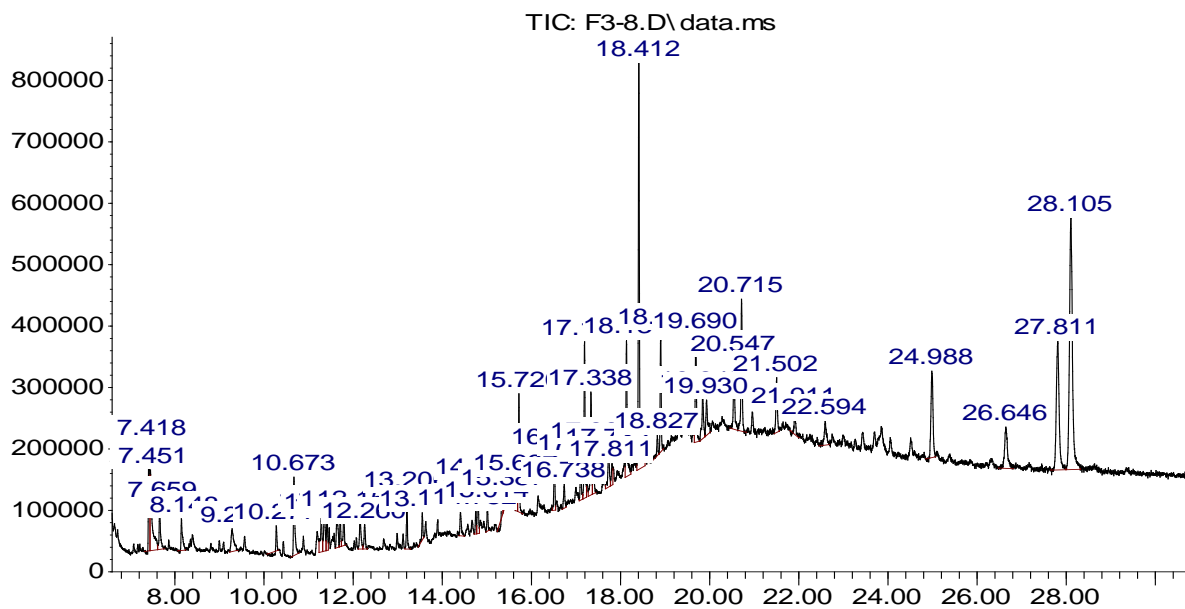


Time-->

Anexo 12

Cromatograma de la fracción F₃₋₈ por CG-EM

Abundance



Time-->



GRUPO POLIFENOLES

