

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA
RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO
FACULTAD DE CIENCIAS e INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA y FARMACIA
PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIATURA EN QUÍMICA
FARMACÉUTICA



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de laurelillo [*Cordia inermis* (Mill.) I. M. Johnst.]. Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos. UNAN-León. Agosto – Octubre 2010.

AUTORAS:

Bra. Francisca Teresa Salazar Cabrera

Bra. Mirna Virginia Jaime López

TUTOR:

MSc. Fernando Baca Escoto

MANAGUA, NICARAGUA 2011.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Dedicatoria

A DIOS

Mi madre

Teresa Cabrera C.

Mis hijos

Siby Nicole Blanco S.

Y Joshua Marcelo Blanco S.

Francisca Salazar Cabrera



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Agradecimientos:

Mi Familia:

Por apoyarme en este camino incierto lleno de obstáculos y barreras, por no dejarme rendirme y por demostrarme que las cosas se pueden hacer siempre y cuando uno las quiera hacer.

A MSc. Fernando Baca,

Por el apoyo incondicional durante todos estos años siendo un excelente amigo y profesor brindando sus conocimientos y dedicación.

A Mirna Jaime

Por ser una excelente amiga y compañera de investigación.

Francisca Salazar Cabrera



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Dedicatoria

A Dios: Porque gracias a tú poder has hecho que esto sea posible. Mil, gracias de todo corazón por tu amor y tu verdad.

A mi madre: Virginia López,

Por darme la vida. Por estar a mi lado llenando mi vida de amor y buenos consejos. Por su apoyo incondicional y por impulsarme a seguir adelante.

A mi hijo: Roberto Jaime,

Por ser la razón de mi vida. Por todos los sacrificios que han sido necesarios

A mi hermano: Roberto Jaime

Mirna Jaime López



Agradecimientos

A mi abuela:

Ana María Álvarez

Por brindarme consejos y su apoyo incondicional que sirvieron para llegar a la meta.

A mis tíos:

Mirna Barquero Jaime

Petrona López

David López

Quienes como mi madre, han estado a mi lado brindándome su apoyo incondicional en cada uno de mis pasos y estudios, alentándome a seguir adelante.

A mis primos:

Por su apoyo, comprensión, cariño y entrega a lo largo de mi vida. Gracias por compartir conmigo los momentos más importantes de mi vida.

Al profesor José Suazo:

Por transmitirme sus conocimientos y experiencias profesionales, por su confianza, amistad y respaldo brindado estos años de estudio.

Y a todas aquellas personas... que de alguna forma intervinieron y me ayudaron a que la meta que hoy estoy alcanzando sea posible.

¡Que Dios los bendiga!

Mirna Jaime López



INDICE DE CONTENIDO

I apartado: Aspecto generales

1. Introducción	2
2. Objetivos	4
II Apartado: Marco teórico	
2.1 Clasificación Taxonómica de la Especie Vegetal	5
2.1.1 Descripción Botánica	5
2.2 Tamizaje Fitoquímico	6
2.3 Métodos de Estudio	6
2.4 Método de Ciulei 1982	7
2.4 Metabolitos Frecuentes en las Plantas	14
2.4.1 Metabolitos Primarios de interés Farmacológico	15
2.4.1.1 Polisacáridos	16
2.4.1.2 Almidón	16
2.4.1.3 Mucílagos	17
2.4.1.4 Ácidos Grasos	17
2.4.2 Metabolitos Secundarios de interés Farmacológico	18
2.4.2.1 Aceites Esenciales	19
2.4.2.1.1 Clasificación	20
2.4.2.1.2 Biosíntesis	21
2.4.2.1.3 Aplicaciones Farmacológicas	22
2.4.2.1.4 Aislamiento	22
2.4.2.1.5 Técnica de Obtención	22
2.4.2.2 Flavonoides	23
2.4.2.2.1 Clasificación	23
2.4.2.2.2 Biosíntesis	24
2.4.2.2.3 Aplicaciones Farmacológicas	24



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



2.4.2.2.4 Aislamiento	25
2.4.2.2.5 Técnica de Obtención	25
2.4.2.3 Alcaloides	26
2.4.2.3.1 Clasificación	27
2.4.2.3.2 Aplicaciones Farmacológicas	27
2.4.2.3.3 Aislamiento	28
2.4.2.3.4 Técnica de Obtención	28
2.4.2.4 Cumarinas	29
2.4.2.4.1 Clasificación	30
2.4.2.4.2 Biosíntesis	30
2.4.2.4.3 Aplicaciones Farmacológicas	31
2.4.2.4.4 Aislamiento	31
2.4.2.4.5 Técnica de Obtención	32
2.4.2.5 Taninos	32
2.4.2.5.1 Clasificación	33
2.4.2.5.2 Aplicaciones Farmacológicas	33
2.4.2.5 Carotenoides	33
2.4.2.5.1 Clasificación	34
2.4.2.5.2 Biosíntesis	34
2.4.2.5.3 Aplicaciones Farmacológicas	35
2.4.2.5.4 Aislamiento	35
2.4.2.5.5 Técnica de Obtención	35
2.4.2.6 Saponinas	36
2.4.2.6.1 Biosíntesis	36
2.4.2.6.2 Aplicaciones Farmacológicas	37
2.4.2.6.3 Aislamiento	38
2.4.2.6.4 Técnica de Obtención	38
2.4.2.7 Quinonas	39



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



2.4.2.7.1 Clasificación	39
2.4.2.7.2 Biosíntesis	39
2.4.2.7.3 Aplicaciones Farmacológicas	41
2.4.2.7.4 Aislamiento	41
2.4.2.7.5 Técnica de Obtención	42
2.5 Métodos de extracción y separación	42
2.5.1 Extracción	42
2.5.1.1 variables del proceso de extracción	43
2.5.1.2 Preparación de los extractos	44
2.5.2 Extracción por Soxhlet	45
2.5.2.1 Factores que influyen en la extracción	46
2.5.4 Extracción por reflujo	46
III Apartado Hipótesis	
3.1 Hipótesis	47
IV Apartado Materiales y Método	
4.1 Diseño Metodológico	48
4.2 Equipo utilizado y Cristalería	49
4.3 Método Cuilei	52
V Apartado: Análisis de los Resultados	
5.1 Discusión de los Resultados	58
VI Apartado: Conclusiones	
6.1 Conclusiones	61
VII Apartado: Recomendaciones	
7.1 Recomendaciones	62
VIII Apartado: Bibliografía	
8.1 Bibliografía	
IX Apartado: Anexos	



INDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1	Obtención de extractos en el Tamizaje Fitoquímico	8
Esquema 2	Identificación de compuestos en la fracción alcohólica del extracto etéreo	9
Esquema 3	Identificación de metabolitos en la fracción A del extracto etéreo	10
Esquema 4	Identificación de metabolitos en la fracción B del extracto etéreo	11
Esquema 5	Identificación de metabolitos en el extracto alcohólico	11
Esquema 6	Identificación de metabolitos en la fracción E1 del extracto alcohólico	12
Esquema 7	Identificación de metabolitos en la fracción E2 del extracto alcohólico	13
Esquema 8	Identificación de metabolitos en el extracto acuoso	14

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1	Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas	15
Fig. 2	Estructura del almidón	16
Fig. 3	Origen de algunos metabolitos secundarios (Alcaloides, Cumarinas, Antraquinonas y Triterpenos) en el metabolismo primario	19
Fig. 4	Biosíntesis de Triterpenos a partir del ácido mevalónico	21
Fig. 5	La estructura base de los Flavonoides	23
Fig. 6	Biosíntesis de Flavonoides a partir del ácido shikímico	24
Fig. 7	Psoraleno	29
Fig. 8	Biosíntesis de Cumarinas a partir del ácido shikímico	31
Fig. 9	Biosíntesis de Carotenoides a partir del ácido mevalónico	34
Fig. 10	Origen biogénico de las saponinas y saponinas esteroides	37
Fig. 11	Biogénesis de compuesto antracénicos vías malonilCoA	40
Fig. 12	Biogénesis de compuestos antracénicos vías ácido shikímico y acetil-CoA	41





I. INTRODUCCIÓN

La medicina alternativa se ha practicado desde los albores de la humanidad a través de tentativas y desaciertos, que comprenden la suma de todos los conocimientos y prácticas que pueden ser explicados o no, empleadas en la prevención, diagnóstico y eliminación de desbalances físicos, mentales o sociales, obtenidas exclusivamente sobre la experiencia práctica y observación transmitida de generación en generación, de forma oral o escrita.

La Fitoquímica se encarga del estudio de los componentes orgánicos que son sintetizados y acumulados por las plantas, así como de sus estructuras químicas, su biosíntesis, metabolismo, distribución y función biológica. Con la realización del *Tamizaje Fitoquímico* puede conocerse que tipo de metabolitos están presentes. Esto permite hacer referencia sobre posibles efectos fisiológicos que pudieran manifestarse a largo plazo por el consumo de una planta, y como consecuencia, su utilidad potencial ya sea en la medicina o la industria farmacéutica. Tomando en cuenta que no existen estudios fitoquímicos precedentes en esta especie, pero si en las especies del género *Cordia*, se investigará la presencia de los metabolitos presentes en las hojas frescas de ***Cordia inermis***².

La especie vegetal *Cordia inermis* seleccionada, se evaluó previamente con el ensayo de antioxidante realizado en el Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos de la UNAN –León en el año 2009; comprobando que la especie vegetal posee actividad antioxidante, mediante el método del radical libre DPPH, con un porcentaje de 53.96%.³

Es por ello que siguiendo las recomendaciones del bioensayo de Antioxidante, se determinaran los constituyentes químicos presentes en las hojas frescas de *Cordia inermis* mediante la aplicación del tamizaje fitoquímico, siendo la segunda especie a la que se le aplica este tipo de análisis a nivel nacional.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



En Nicaragua los medicamentos de origen vegetal, animal y mineral, forman parte del arsenal terapéutico del país. El uso de la medicina tradicional y terapias alternativas están siendo cada vez más aceptado en países pobres y ricos. En el caso de Nicaragua, según las encuestas realizadas por la OMS en el 2003, el 60% de la población hace uso de la medicina tradicional, cuyo uso se ha incrementado debido a los bajos costos que esta representa.

En la actualidad la industria farmacéutica mundial tiene su origen en las plantas, de las cuales se aísla, deriva o sintetiza en base a los precursores (principios activos originales); dentro de esto medicamentos los más recetados son aquellos que poseen alcaloides que van desde tranquilizantes hasta aquellos que tienen actividad antitumoral y anticarcinogénica; esteroides con actividad antiinflamatoria, antirreumática y anticonceptiva, por señalar las aplicaciones más comunes, extendidas a nivel mundial.

Este hecho indica la necesidad de desarrollar investigaciones fitoquímicas que a la postre permitiría una movilización y transformación adecuada de los recursos de nuestra flora.



IV OBJETIVOS

General

- Determinar los constituyentes químicos en las hojas frescas de *Cordia inermis*, por medio de un Tamizaje fitoquímico.

Específicos

- Identificar en las fracciones y subfracciones metabolitos secundarios mediante reacciones de coloración y precipitación.
- Evaluar de acuerdo a los resultados el potencial terapéutico de la especie.





2.1 Clasificación taxonómica de la especie vegetal

Reino	Vegetal
Clase	Equisetopsida C.Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Fakht
Orden	Boraginales Juss. Ex Bercht, S. J. Presl
Familia	Boraginaceae Juss.
Genero	<i>Cordia</i> L.
Especie	<i>Cordia inermis</i> (Mill.) I. M. Jhonst.
Grupo	Dicotiledóneas



Ilustración 1. Foto de la especie *Cordia inermis*

2.1.1 Descripción Botánica

Arbusto hasta 2 m de alto, ramitas puberulentas a estrigulosas; plantas dioicas. Hojas deciduas, elíptico – ovadas a angostamente elípticas o elíptico – lanceoladas, (2.1 -) 3.4 – 9.8 (-13.8) cm de largo y (0.7 -) 1.2 – 3.5 (- 6.8) cm de ancho, ápice acuminado a agudo, base atenuada, márgenes cerrados, estrigulosas a estrigosas en la haz; pecíolos (2 -) 4 -12 (-22) mm de largo, estrigulosos a puberulentos. Inflorescencias capítulos pequeños, globosos e internodales, (3 -) 4 – 7 (- 10) mm de ancho, pedúnculo (0.7 -) 1- 5.2 (-9) cm de largo, estriguloso a puberulento; cáliz campanulado, 1.8 – 3 mm de largo, 5 – lobado, los lobos deltados; corola (2.5 -) 2.7 – 3.5 (- 3.8) mm de largo, blanca; estambres 5, filamentos pulberulentos en el punto de inserción, anteras oblongas a elipsoides. Fruto drupáceo, 1/3 – 2/3 envuelto por el cáliz y fruto rojo brillante al madurarse; hueso (3 -) 4 – 5.5 (- 6.5) mm de largo¹⁷.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Común en sitios alterados en las zonas pacífica y norcentral; 0 – 1100 m; floración y fructificación may – jun; Miller 1308, Moreno 4514; Nayarit a Panama. Esta es una de las especies rurales más comunes en Nicaragua. Es similar a la *Varronia linnaei* de la cual se diferencia por tener inflorescencias axilares.

2.2 Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje Fitoquímico o “Screening” Fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación Fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.

El tamizaje Fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación. Debe permitir la evaluación rápida con reacciones sensibles reproducibles y de bajo costo. Los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados de un screening farmacológico. Así cuando una planta revela presencia de alcaloides en el tamizaje Fitoquímico y acción sobre el sistema nervioso central durante el tamizaje farmacológico es bastante probable, que la acción farmacológica se deba a la fracción alcaloidal; de la misma manera el hecho de evidenciarse la presencia de flavonoides en el Tamizaje Fitoquímico y una acción antiinflamatoria en el Tamizaje farmacológico esta última puede asociarse a la fracción de flavonoide, esta fracción puede ser aislada y sometida a pruebas más específicas.

Diversos métodos de tamizaje fitoquímico están descritos en la literatura algunos evalúan pocos grupos de sustancias en compensación otros evalúan la presencia de compuestos de poco interés como ácidos grasos, azúcares reductores, polisacáridos y mucilagos, la cantidad de material vegetal necesario para hacer las pruebas varía de 5g a 200 g. La comparación de 5 métodos de



tamizaje demostró que el método descrito por Ciulei (1982), y adaptada en el laboratorio de Fitoquímica de la Universidad Estatal de Campinas – UNICAM, ofrece mayor reproducibilidad, siendo de fácil ejecución, este permite la evaluación rápida, con reacciones sensibles y de bajo costo.

2.3 Métodos de estudios

Según la bibliografía revisada se pueden utilizar muestras de 1 a 1000 g y orientarse a localizar cualitativamente y cuantitativamente uno y varios principios activos.

Los métodos pueden ser:

- **Histológicos:** observación del comportamiento de corte de tejidos frente a ciertos reactivos que formen colores o den precipitados, etc.
- **Químicos:** tratamiento de extractos con agentes cromógenos, sustancias que forman precipitados,
- **Fisicoquímicos:** uso de cromatografía, localización de ciertas bandas de absorción en el infrarrojo,
- **Biológico:** ver el efecto de los extractos sobre cultivos de microorganismos, grupo de ratones, embriones, órganos aislados, tejidos, etc.

2.4 Método de Ciulei (1982)

El método de Ciulei consiste en realizar una serie de marchas fitoquímicas preliminares que permiten determinar una amplia variedad de metabolitos presentes en las especies vegetales con interés farmacológico.

Se extrae la droga fresca y molida con éter, utilizando un soxhlet. El residuo se seca y se extrae, en el soxhlet, con alcohol. Finalmente, la droga se extrae con agua, bajo reflujo. Los extractos etéreo, alcohólico y acuoso se someten a una secuencia de pruebas químicas.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)

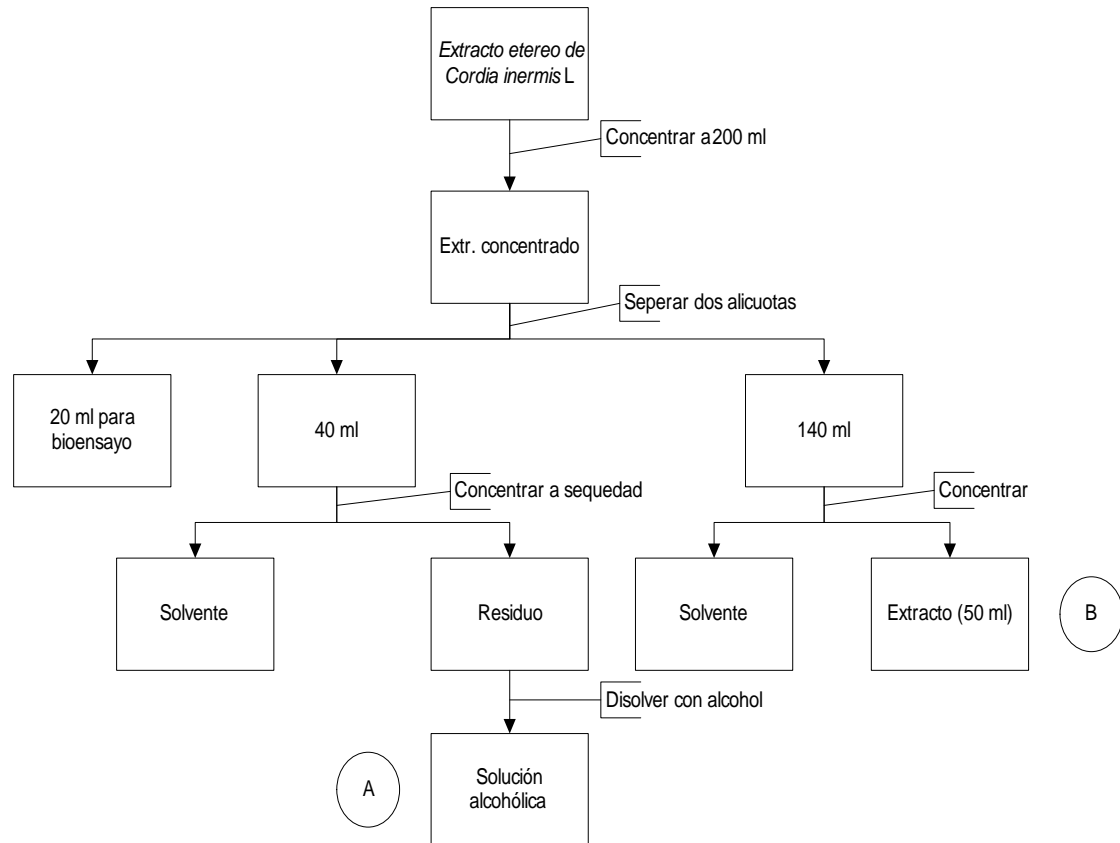


Este método se basa en los siguientes esquemas:

Esquema 1. Obtención de Extractos en el Tamizaje Fitoquímico



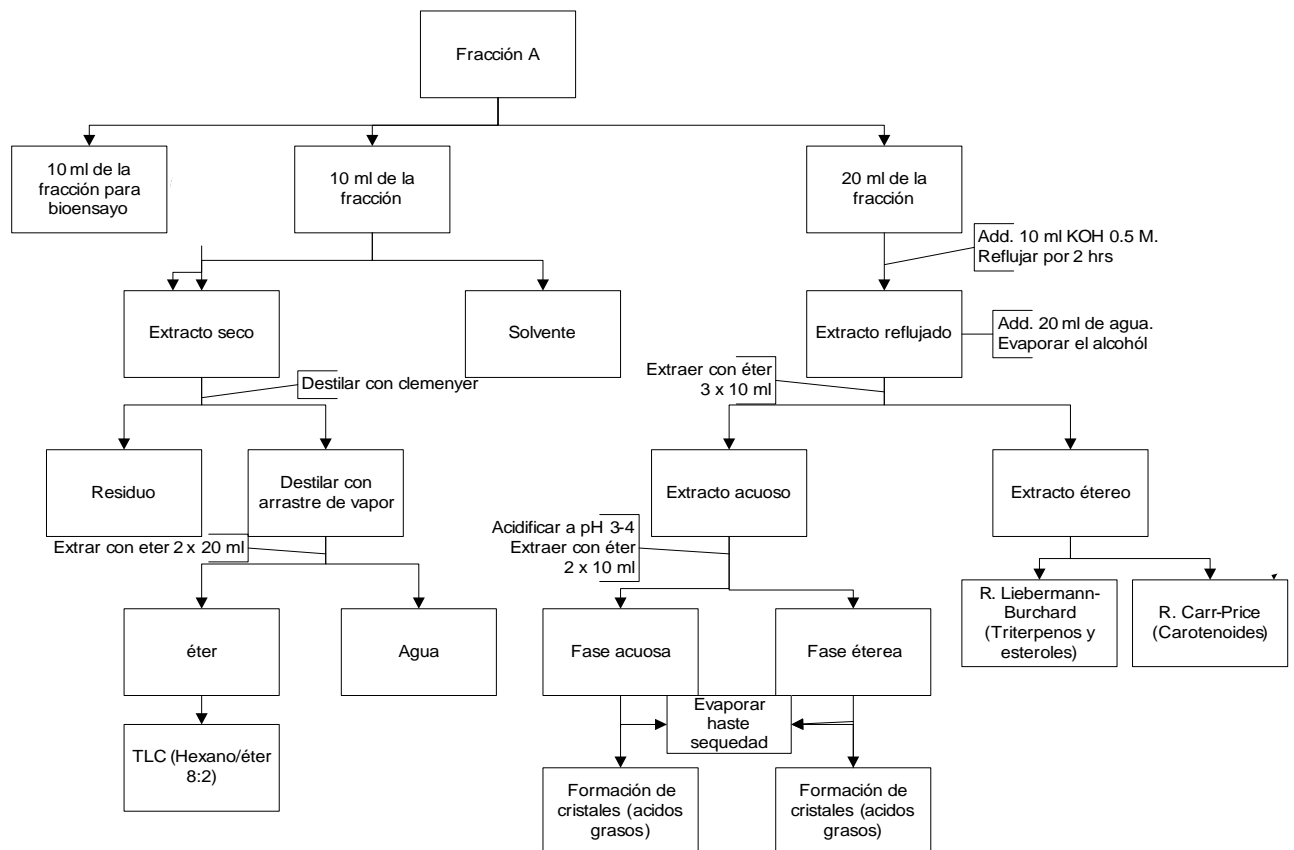
Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Esquema 2. Identificación de compuesto en la fracción alcohólica del extracto etéreo



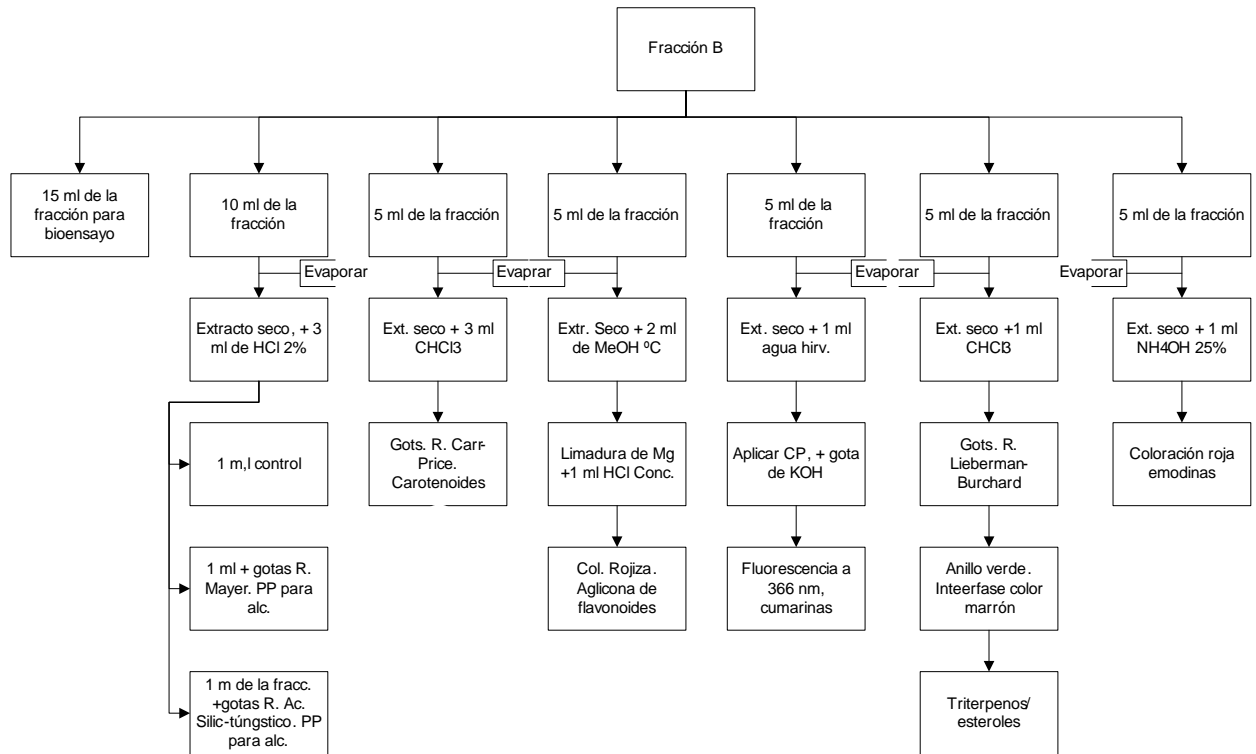
Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



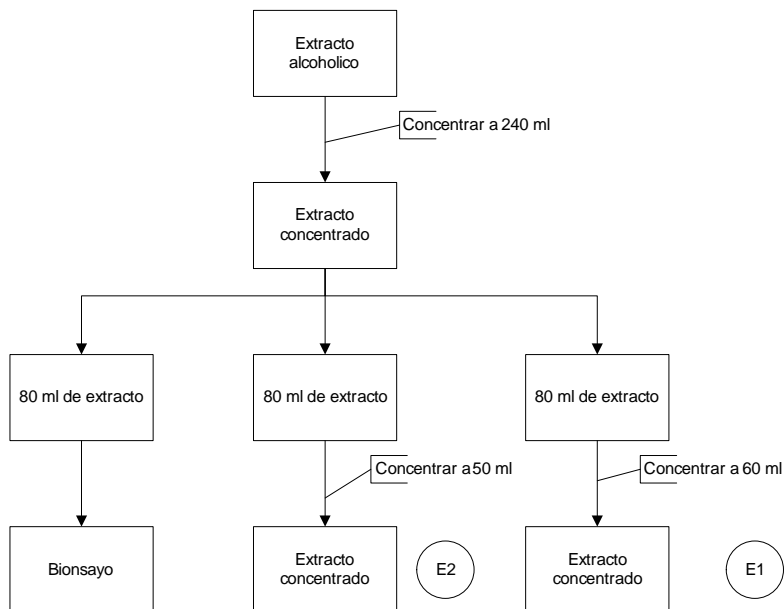
Esquema 3. Identificación de metabolitos en la Fracción A del extracto etéreo



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



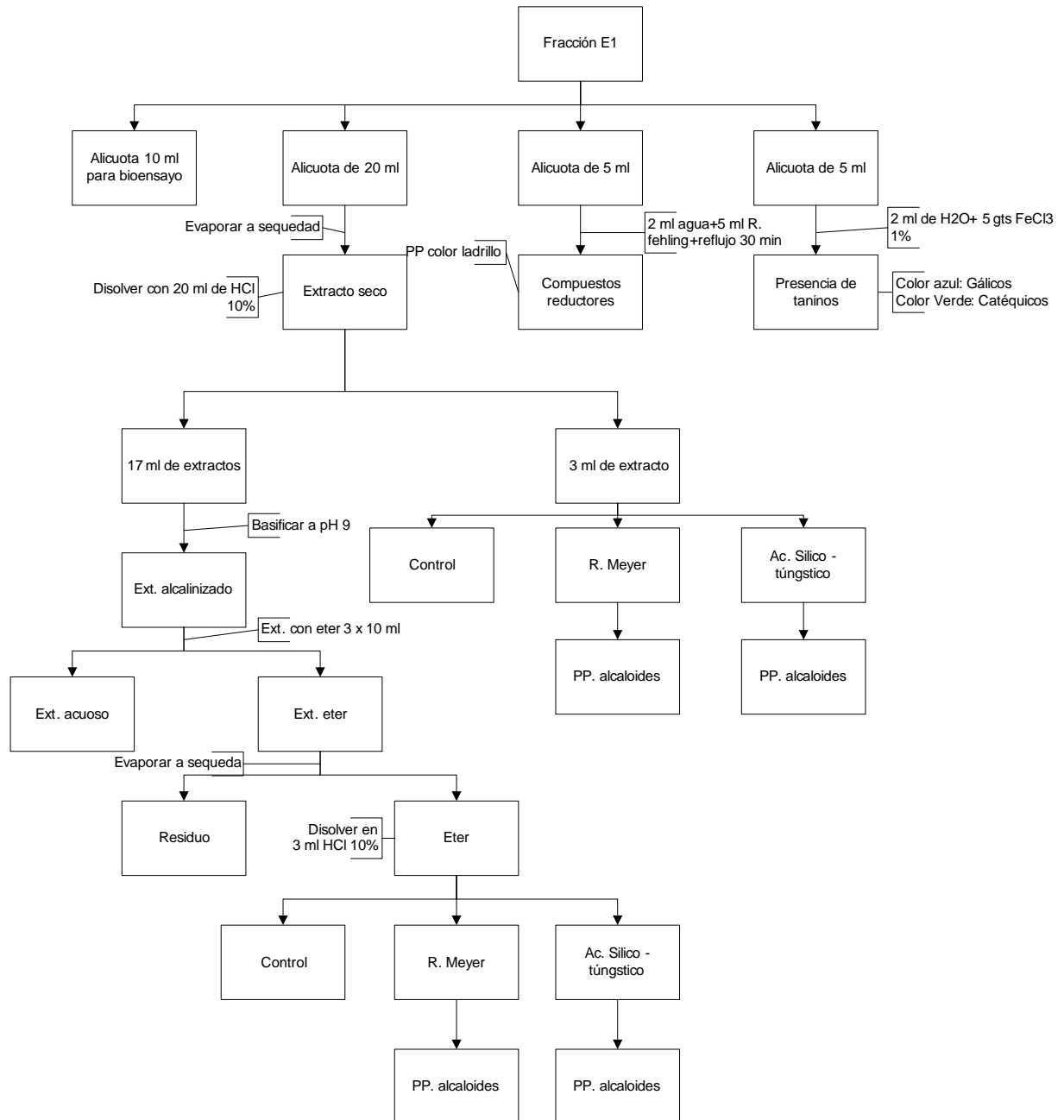
Esquema 4. Identificación de metabolitos en la Fracción B del extracto etéreo



Esquema 5. Identificación de metabolitos en el extracto Alcohólico



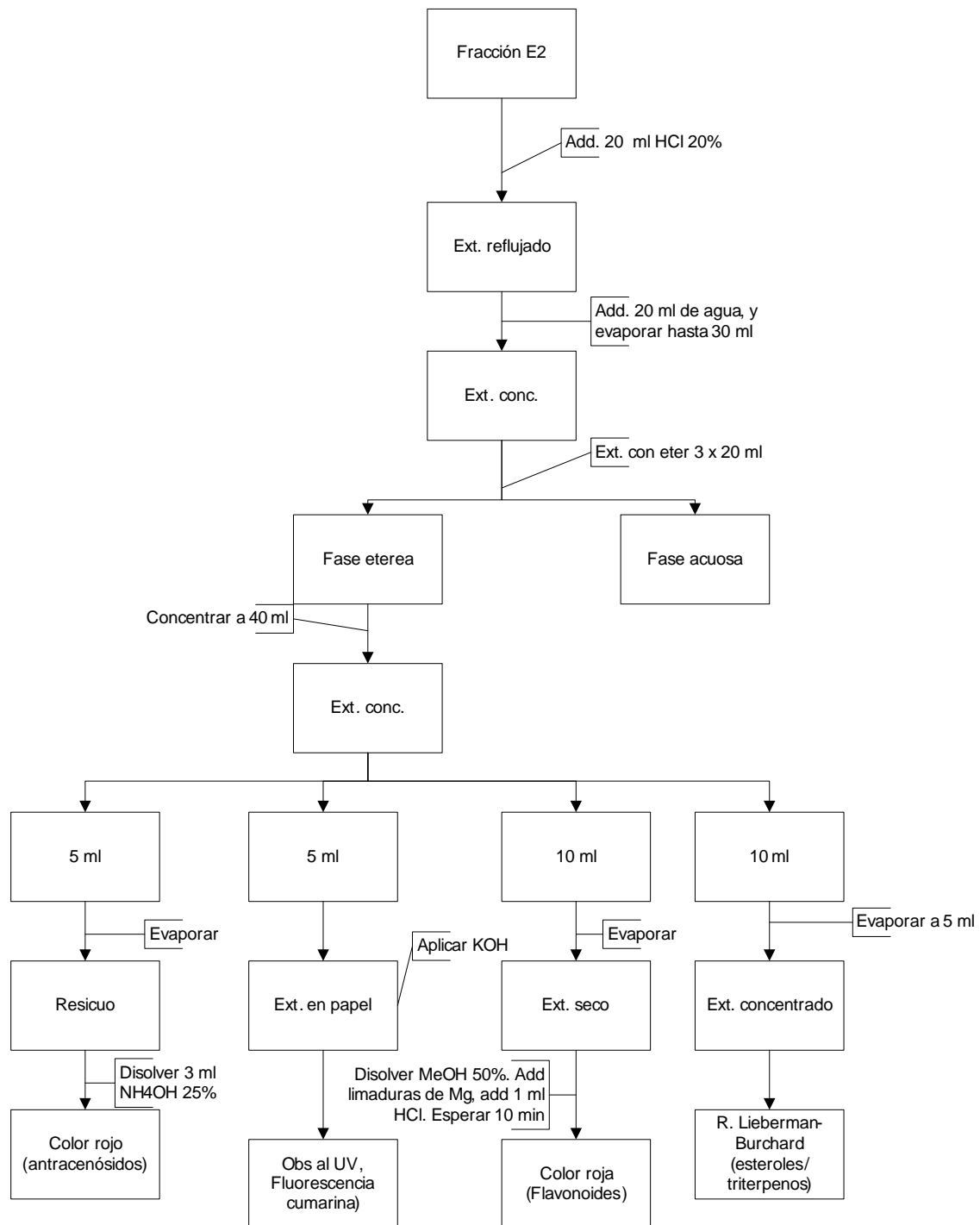
Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Esquema 6. Identificación de metabolitos en la Fracción E1 del Extracto Alcohólico



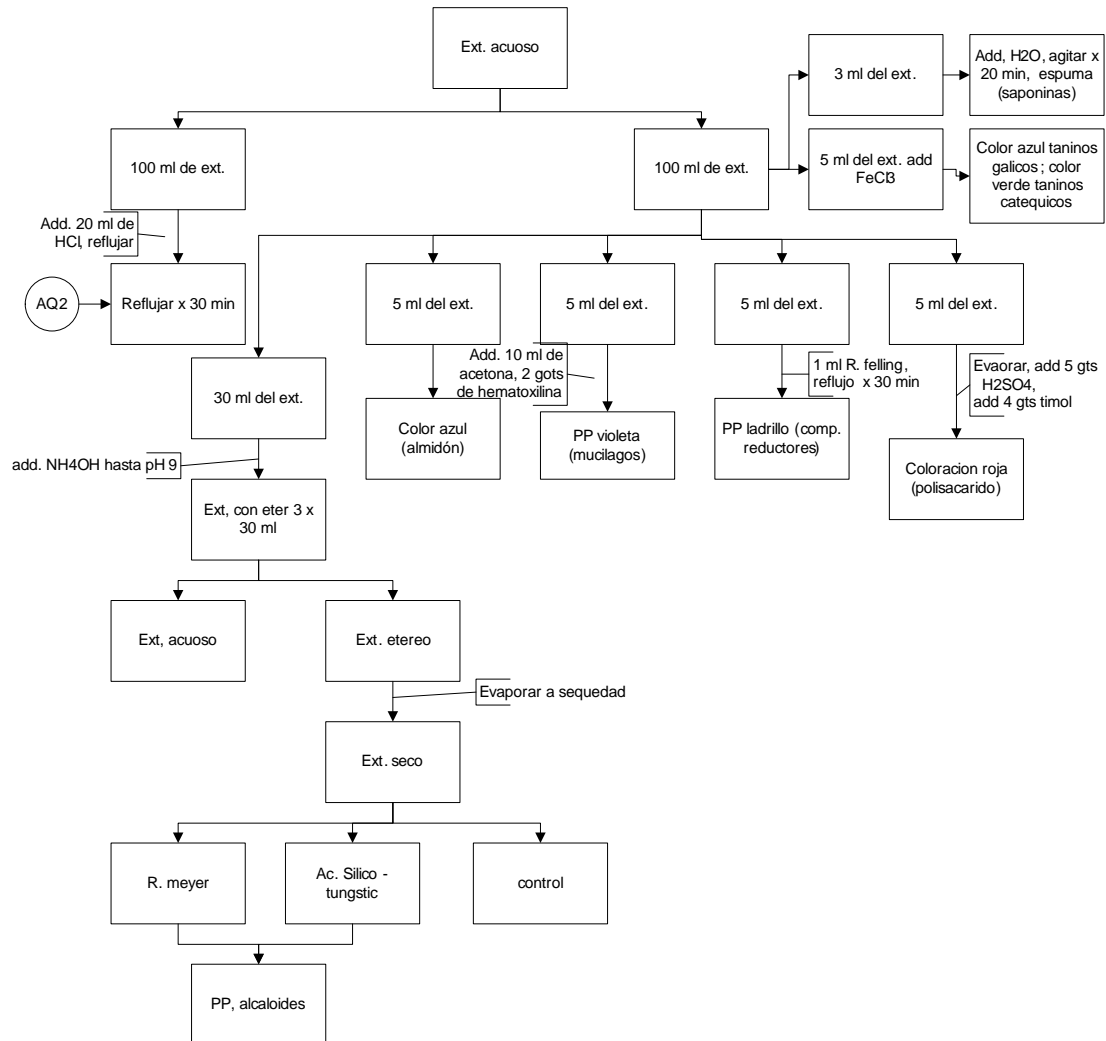
Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Esquema 7. Identificación de metabolitos en la Fracción E2 del Extracto Alcohólico



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Esquema 8. Identificación de metabolitos en el Extracto Acuoso

2.5 Metabolitos Frecuentes en las Plantas

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que le permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan



propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes.

2.5.1 Metabolitos primarios de interés farmacológico

El conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y desempeñando las mismas funciones. (Fig. 1)

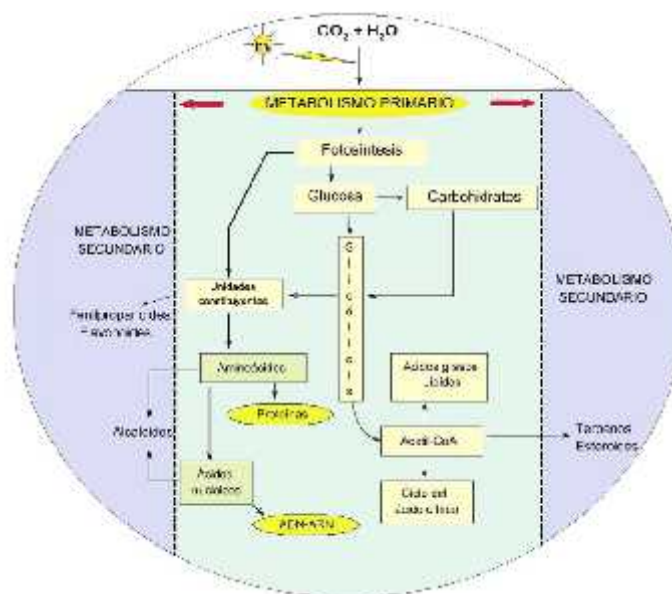


Figura 1. Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas.

Los metabolitos primarios se caracterizan por:

- Tener una actividad metabólica directa.
- Ser compuestos esenciales intermedios en las vías catabólicas y anabólicas.



- Encontrarse en todas las plantas.
- Tratarse de Carbohidratos, Lípidos, Proteínas, Ácidos Nucleicos o Clorofilas.

2.5.1.1 Polisacárido

Los polisacáridos o poliósidos o glicanos tienen una distribución casi universal en los seres vivos, responsables de la rigidez de la pared celular de los vegetales superiores, protegen los tejidos contra la deshidratación debido a su carácter hidrófilo. Muchos de los polisacáridos se caracterizan por su propiedad gelificante, es decir, pueden formar redes tridimensionales.

2.5.1.2 Almidón

Los polisacáridos pueden ser homogéneos o heterogéneos, entre los homopolisacáridos el más importante es el almidón que es la principal forma de reserva glucídica de los vegetales, se encuentran en todos los vegetales y en todos sus órganos; su presencia se evidencia fácilmente dando una coloración azul con agua yodada. La estructura del almidón comprende la asociación de dos poliholósidos homogéneos la amilosa y amilopectina

- La amilosa molécula lineal de 250 a 300 unidades de α -D-Glucopiranosas unidas 1-4

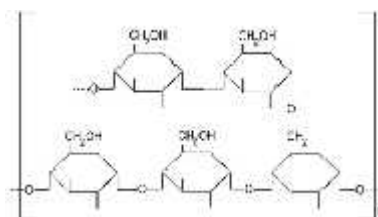


Figura 2. Estructura del almidón

- Amilopectina es el principal constituyente de la mayoría de los almidones (>80%), es una molécula muy ramificada constituida de 1000 a 3000 unidades de glucosa comprende numerosas cadenas cortas de



aproximadamente 20 unidades de α -D-Glucosa unidas $1 \rightarrow 4$ fijándose sobre otras cadenas de α -D-Glucosa con uniones $1 \rightarrow 6$. La amilopectina debido al peso molecular más elevado que la amilosa y su estructura ramificada es menos soluble en agua que la amilosa.

2.5.1.3 Mucílago

El mucílago es una sustancia vegetal viscosa, coagulable al alcohol. También es una solución acuosa espesa de una goma o dextrina utilizada para suspender sustancias insolubles y para aumentar la viscosidad.

Los mucílagos son análogos, por su composición y sus propiedades, a las gomas, dan con el agua disoluciones viscosas o se hinchan en ellas para formar una pseudodisolución gelatinosa. Proceden de las degradaciones de la celulosa, calosa, lignina y de las materias pécticas.

En las formas farmacéuticas líquidas son utilizados en las emulsiones y suspensiones como vehículo o sustancia añadida o excipiente, que son sustancias inactivas, química y farmacológicamente, cuya función es actuar de vehículo de los fármacos encargados de constituir un medicamento. Su objetivo es conseguir un fármaco estable y fácilmente administrable. Es decir, se utilizan para vehicular, cohesionar, y conseguir la biodisponibilidad adecuada del principio activo de un medicamento. Determinan la consistencia, la forma o el volumen de las preparaciones farmacéuticas¹³.

Por oxidación dan ácido múcico y, por hidrólisis, pentosas y hexosas.

2.5.1.4 Ácido graso

Los ácidos grasos son moléculas anfipáticas, es decir, tienen una región apolar hidrófoba (la cadena hidrocarbonada) que repele el agua y una región polar hidrófila (el extremo carboxílico) que interactúa con el agua. Los ácidos grasos de cadena corta son más solubles que los ácidos grasos de cadena larga porque la región hidrófoba es más corta.



Si se colocan ácidos grasos en agua o en otro disolvente polar forman una capa superficial debido a su baja densidad; formarán una película con sus colas (la parte no polar) orientadas hacia arriba, fuera del agua, de manera que no quedan en contacto con la misma y la cabeza polar dentro del agua. Si se agita, las colas tienden a relacionarse entre sí mediante interacciones hidrofóbicas creando ambientes donde no hay agua, como es el caso de una micela ya sea monocapa o bicapa.

2.5.2 Metabolitos Secundarios con interés Farmacológico

Las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de soluto o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos se denominan metabolitos secundarios.

Los metabolitos secundarios además de no presentar una función definida en los procesos mencionados, difieren también de los metabolitos primarios en que ciertos grupos presentan una distribución restringida en el reino vegetal, es decir, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies. **(Fig. 3)**

Los metabolitos secundarios poseen otras características:

- No tener funciones metabólicas directas aparentes.
- Ser importantes para la supervivencia e interacción con el entorno
- Presentar diferente distribución en el reino vegetal.

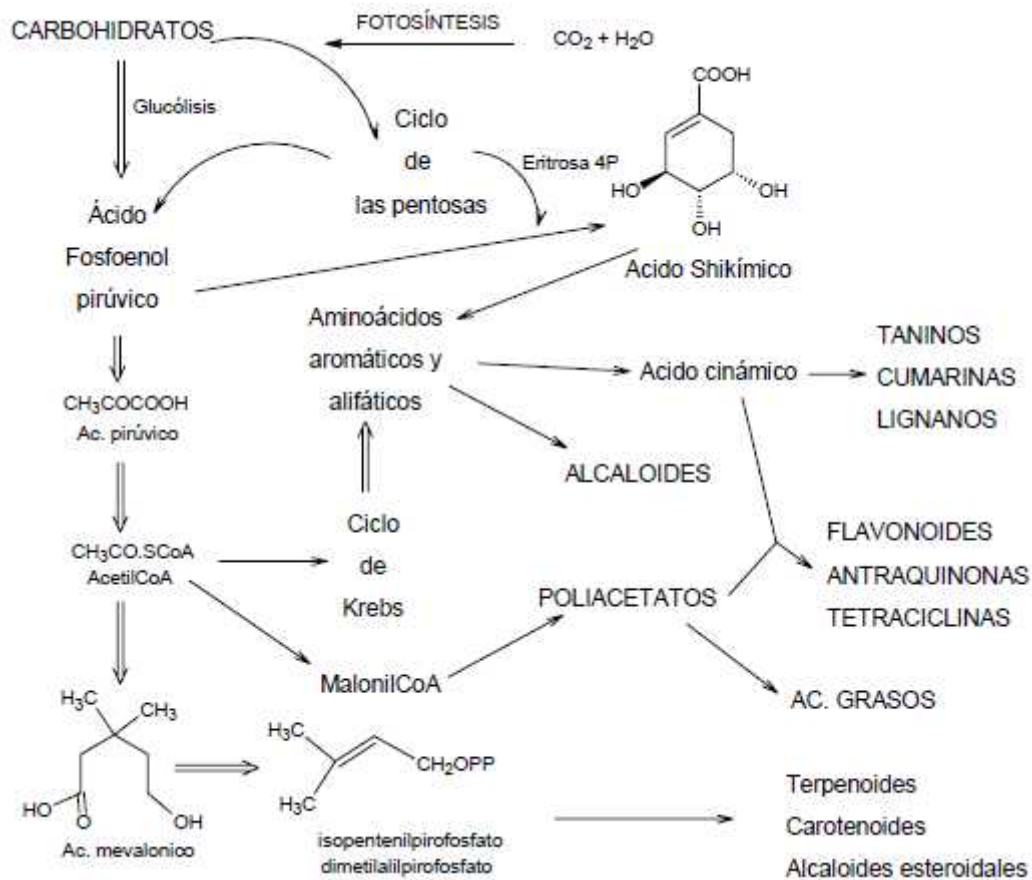


Figura 3. Origen de algunos metabolitos secundarios (alcaloides, cumarinas, antraquinonas y terpenos) en el metabolismo primario.

2.5.2.1 Aceites esenciales o esencias vegetales¹

Los aceites esenciales o esencias vegetales son mezclas de un número variable de sustancias orgánicas olorosas. Por lo general se obtienen por arrastre con vapor. Hay algunos que se extraen con grasas, con otros disolventes orgánicos o por expresión. En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, etc., sustancias azufradas y nitrogenadas.



2.5.2.1.1 Clasificación de Aceites Esenciales

Los terpenos pueden ser considerados como terpenos modificados donde grupos metilo han sido reacomodados o removidos, o a los que se les han añadido átomos de oxígeno. Se los clasifica en¹⁹:

- **Hemiterpenos.**
- **Monoterpenos.**
- **Sesquiterpenos.**
- **Diterpenos.**
- **Triterpenos.**
- **Tetraterpenos.**
- **Politerpenos.**
- **Meroterpenos.**
- **Esteroides.**



2.5.2.1.2 Biosíntesis

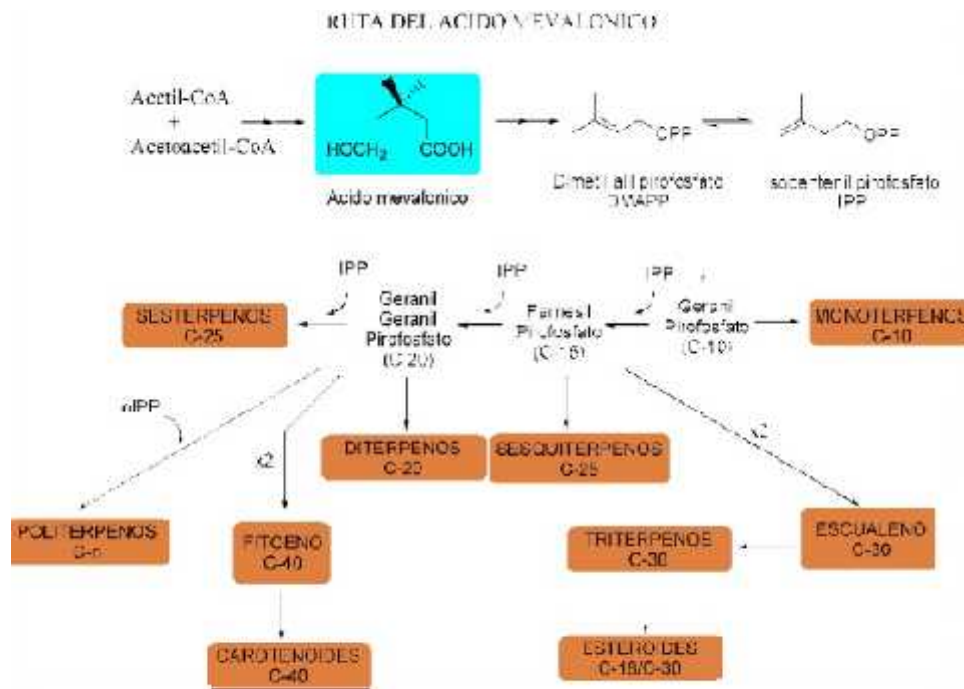


Figura 4. Biosíntesis de Triterpenos a partir del ácido mevalónico

Si bien sus funciones son muy diversas, los terpenos tienen en su origen biosintético común. La biosíntesis de todos los terpenos a partir de metabolitos primarios puede simplificarse a 4 pasos¹⁹:

1. Síntesis del precursor fundamental, el isopentenil pirofosfato (IPP).
2. Adiciones repetitivas del IPP hasta formar una serie de homólogos del isoprenil difosfato, que sirve de precursor inmediato de muchas clases de terpenos.
3. Elaboración de estos "allylic" prenil difosfatos por sintasa específicas de terpeno para dar con el esqueleto del terpeno, y
4. Modificaciones enzimáticas secundarias a los esqueletos (en general reacciones redox), para dar con las propiedades y la gran diversidad química de esta familia.



2.5.2.1.3 Aplicaciones Farmacológicas

- Antiséptica
- Antiespasmódica
- Expectorante
- Carminativa
- Eupéptica
- Propiedades abortivas.

2.5.2.1.4 Aislamiento¹: el más antiguo y sencillo método para obtener aceites esenciales es la destilación por arrastre con vapor, a partir del material vegetal, lo más fresco posible. En ocasiones puede extraerse la planta con éter de petróleo y después arrastre con vapor.

2.5.2.1.5 Técnicas de obtención¹:

- Punto de congelación
- Separación de componentes
- Separación de hidrocarburos y compuestos oxigenados
- Separación en columna de alúmina
- Reacciones coloridas
- Cromatografía en papel, capa delgada y fase gaseosa
- Espectros de absorción
- Actividad óptica



2.5.2.2 Flavonoides

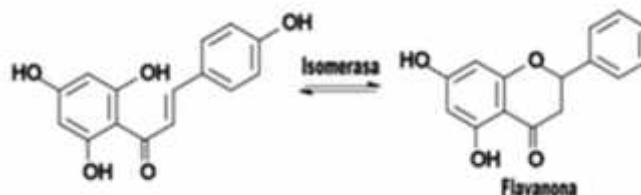


Figura 5. La estructura base de los flavonoides tiene el esqueleto de una chalcona, y la acción de la enzima isomerasa la convierte en una flavanona.

Flavonoide (del latín *flavus*, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua²⁰.

2.5.2.2.1 Clasificación de los flavonoides

1. Las **chalconas**
2. Las **flavonas**
3. Los **flavonoles**
4. **flavandioles**
5. Las **antocianinas**
6. Los **taninos condensados**
7. Las **auronas**
8. Las **flavanonas**



9. Los dihidroflavonoles

2.5.2.2.2 Biosíntesis²⁰

La **vía biosintética de los flavonoides** comienza cuando la fenilalanina, por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) se transforma en ácido cinámico, que luego es transformado en ácido p-cumarínico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel de anillo aromático, y la acción de una CoA ligasa lo transforma en cumaril-SCoA produciendo las flavononas.

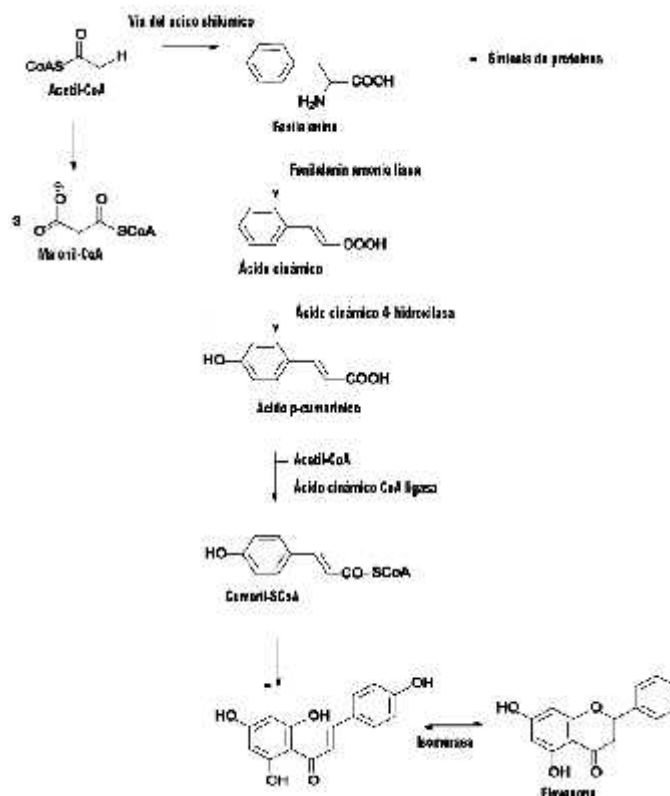


Figura 6. Biosíntesis de Flavonoides a partir del ácido shikímico

2.5.2.2.3 Aplicaciones Farmacológicas

- Propiedades anticancerosas
- Propiedades cardiotónicas
- Propiedades antitrombóticas



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



- Disminución del colesterol
- Protección del hígado
- Protección del estómago
- Antiinflamatorios y analgésicos,
- Antimicrobianos
- Propiedades antioxidantes

2.5.2.2.4 Aislamiento¹: los poliglicósidos son muy solubles en agua y escasamente solubles en la mayoría de los disolventes orgánicos. La posición ocupada por la porción de azúcar influye en la solubilidad de la molécula y su capacidad para formar lacas insolubles con los metales.

Las antocianinas solo son estables como sales y únicamente conviene trabajarlas en medio ácido y aislarlas como cloruro.

2.5.2.2.5 Técnicas de Obtención¹:

- **Extracción con metanol y cromatografía**
- **Extracción con etanol y separación con Bórax.**
- **Extracción y separación con sales de plomo.**
- **Extracción con etanol**
- **Reacciones coloridas:** los diferentes tipos de flavonoides se pueden identificar mediante reacciones coloridas y propiedades de solubilidad. Cuando no hay interferencias de pigmentos no flavonoides, el material vegetal se puede ensayar directamente. Los extractos acuosos de pigmentos también muestran variaciones en color cuando se les adiciona un álcali.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Los extractos alcohólicos incoloros o ligeramente amarillos de un vegetal, se tratan con un trocito de magnesio y unas pocas gotas de ácido clorhídrico concentrado observando coloración anaranjada, roja, roja azulosa o violeta dependiendo del tipo de flavonoide presente en la especie.

- **Cromatografía en papel y capa delgada.**
- **Espectros de absorción:** en el ultravioleta los flavonoides presentan absorciones características, que están sujetas a desplazamientos pronosticables cuando se les añade soluciones de ácido bórico, tricloruro de aluminio, acetato sódico, etc., lo cual ayuda a dilucidar su estructura.

2.5.2.3 ALCALOIDES

Desde el punto de vista químico, todos los alcaloides son compuestos nitrogenados, estando en la mayoría de los casos el nitrógeno formando parte de un heterociclo y en algunas ocasiones formando parte de una cadena abierta. Están constituidos además por carbono e hidrógeno, muchos llevan oxígeno, lo que les confiere una serie de propiedades físicas (sólidos, cristalizables), y raramente suelen contener azufre²¹.

Generalmente en las plantas no se encuentran como bases libres sino en forma de sales unidos a ácidos orgánicos banales como el ácido cítrico, málico, succínico, etc. Normalmente se trata de bases débiles, pero algunos son bases fuertes o también compuestos neutros o anfóteros, es decir que pueden actuar a la vez como bases y como ácidos.

La presencia de oxígeno en la estructura determina que sea un sólido blanco, da sabor amargo cristalizables. La ausencia de oxígeno en la estructura del alcaloide hace que este sea aceitoso, volátil u odorante. La mayoría de los alcaloides son solubles en agua, pero se disuelven bien en alcohol, éter, cloroformo u otros solventes orgánicos.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Se combinan con ácidos para dar sales, comportándose entonces como bases. Las sales son bastantes solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos. En la diferencia de la solubilidad de la base alcaloidea y de sus sales en agua y en solventes orgánicos se basa el método general de extracción. Todos los alcaloides son activos a la luz polarizada. Presentan una característica baja a la luz UV o IR, dando lugar a espectros característicos.

2.5.2.3.1 Clasificación:

I.- Alcaloides derivados de ornitina y lisina: tropánicos, pirrolizidínicos, piperidínicos y quinolizidínicos.

II.- Alcaloides derivados del ácido nicotínico.

III.-Alcaloides derivados de fenilalanina y tirosina: feniletilamínicos e isoquinoleínicos.

IV.- Alcaloides derivados del triptófano: indólicos y quinoleínicos.

V.- Alcaloides derivados de la histidina: imidazólicos

VI.- Alcaloides derivados del ácido antranílico.

VII.-Alcaloides derivados del metabolismo terpénico: diterpénicos y esteroidícos.

VIII.- Otros alcaloides: bases xánticas.

2.5.2.3.2 Aplicaciones Farmacológica:

La acción farmacológica de los alcaloides es sumamente amplia²²

- Analgésico
- Antiespasmódico
- Antigotoso



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



- Estimulante del SNC
- Anestésico general
- Relajador muscular
- Antiarrítmico
- Estimulante uterino
- Antihipertensivo
- Antimalarico
- Antiamebiano
- Antitusivo

2.5.2.3.3 Aislamiento¹: la propiedad química más característica de los alcaloides es su basicidad, por lo que los métodos para aislarlos, purificarlos e identificarlos por lo general se aprovechan su basicidad. Aunque muchos alcaloides pueden extraerse con disolventes neutros, como alcoholes y cloroformo, es frecuente extraerlos con soluciones de ácidos en agua, con lo cual se separan los alcaloides y sus sales.

2.5.2.3.4 Técnicas de obtención¹:

- **Extracción con ácido tartárico**
- **Tratamiento con hidróxido de calcio**
- **Separación selectiva**
- **Extracción etanólica**
- **Extracción ácida**
- **Reacciones coloridas:** las soluciones de varios ácidos de metales pesados, como el ácido silico-túngstico, forma precipitados con la



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



mayoría de los alcaloides, por la gran heterogeneidad de los alcaloides aparecen numerosas pruebas coloridas o de precipitación que solo son positivas con ciertos grupos de alcaloides, por lo que se han propuesto para clasificaciones parciales; aunque no son suficientes para una identificación definitiva.

- Reactivos generales de alcaloides (Reactivo Mayer), la solución no debe de contener ácido acético o etanol
 - Reactivo de Dragendorff, se usa sobre soluciones aciduladas
 - Reactivo de ácido Silico-Túngstico
 - Reactivo de Sonnenschein.
- **Cromatografía en papel en capa delgada y fase gaseosa.**
 - **Espectros de absorción**
 - **Actividad óptica:** la mayoría de los alcaloides tienen uno o varios centros quirales o la molecula es asimétrica, por lo que tienen actividad óptica, por lo general son levógiros.

2.5.2.4 Cumarina

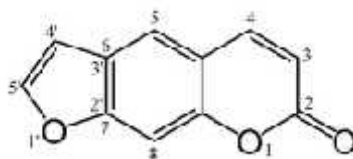


Figura 7. psoraleno.

Las cumarinas se consideran todo un grupo de metabolitos secundarios de las plantas fenólicas, que comparten la misma vía biosintética y esqueleto químico⁶.



La mejor propiedad conocida de las cumarinas indirectamente demuestra su rol en la defensa de las plantas. La ingesta de cumarinas de plantas como el trébol puede causar hemorragias internas en mamíferos. Este descubrimiento llevó al desarrollo del raticida Warfarin (R) y el uso de compuestos relacionados para tratar y prevenir la apoplejía⁶.

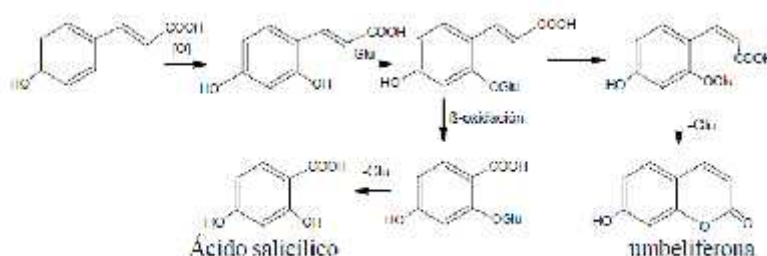
2.5.2.4.1 Clasificación

Se clasifican en:

- **Cumarinas simples:** Cumarina, Umbeliferona, Herniarina, Esculetina, Hidrangetina, Escopoletina y Fraxetina
- **Cumarinas complejas:** Furanocumarinas y Piranocumarinas
- **Cumarinas diversas:** Dicumarol, Warfarina, Acenocumarol, Cumestrol, Novobiosina y Anflatoxina B.

2.5.2.4.2 Biosíntesis

La biogénesis de las cumarinas simples presentes en gramíneas y algunas plantas superiores, se derivan biogénicamente del ácido Shikímico, vía ácido cinámico, la especificidad del proceso consiste en la hidroxilación del carbono 2, produciendo un rompimiento (β - oxidación) o una isomerización de la cadena y posterior lactonización, generando la umbeliferona, se explica en el esquema siguiente:





Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



En general la formación de cumarinas en plantas superiores, ocurre en forma radicalaria, por acción de la enzima del tipo peroxidasa, como se muestra en la figura:

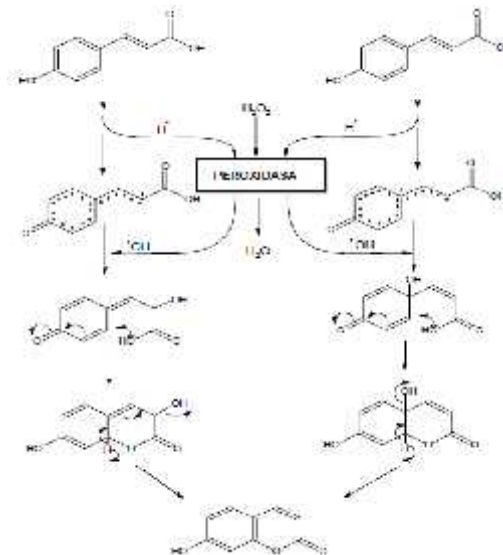


Figura 8. Biosíntesis de Cumarinas a partir del ácido Shikímico.

2.5.2.4.3 Aplicaciones Farmacológicas:

- Anticoagulante
- Adyuvante Farmacéuticos
- Indicadores y reactivos
- Agentes neoplásico

2.5.2.4.4 Aislamiento¹: el empleo sucesivo de disolventes de polaridad creciente ha dado buenos resultados. Así, el éter de petróleo o el éter etílico extraen aceites que ayudan a solubilizar las cumarinas, por lo que frecuentemente cristalizan durante las extracciones en Soxhlet o al concentrar la solución etérea.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Los ácidos se pueden separar de las cumarinas mediante soluciones de bicarbonato de sodio que los solubilizan. Las cumarinas son solubles en soluciones acuosas o alcohólicas de hidróxido de sodio.

Los glicósidos cumarínicos se pueden extraer con metanol o etanol, particularmente después de la extracción con éter de petróleo, pudiendo cristalizar durante la concentración o después de tratamientos especiales como el de las sales de plomo. Los glicósidos se pueden hidrolizar por tratamientos con ácidos o enzimas, y recuperarse después de la aglicona, al identificar los azúcares mediante cromatografía en papel y formación de derivados.

Además, deberá intentarse aislar e identificar el glicósido, aprovechando su polaridad y la fluorescencia de las cumarinas vistas con luz ultravioleta.

2.5.2.4.5 Técnicas de Obtención¹:

- **Extracción con etanol.**
- **Extracción con éter de petróleo**
- **Extracción con éter etílico**
- **Extracción con acetona**
- **Reacciones coloridas:** la mayoría de las cumarinas tienen fluorescencia azul cuando se les expone a luz ultravioleta, las que tienen oxígeno en la posición 7 pueden exhibir fluorescencia hasta con luz visible, particularmente cuando se tratan con H_2SO_4 .

Como las cumarinas son lactonas, se pueden disolver en soluciones alcalinas acuosas o alcohólicas con aparición de una coloración amarilla, la cual desaparece al acidular.

- **Cromatografía en papel y en capa delgada.**
- **Espectros de absorción.**



2.5.2.5 Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos, mas o menos complejos, de origen vegetal, masa molecular relativamente elevada, sabor astringente, conocidos y empleados desde hace muchos siglos por su propiedad de ser capaces de convertir la piel en cuero, es decir de curtir las pieles. Esto se debe a su capacidad para unirse a macromoléculas como hidratos de carbono y proteínas. Precipitan con sales de metales pesados, proteínas y alcaloides⁹.

2.5.2.5.1 Clasificación⁸:

- **Taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos).** En estos se distinguen los taninos gálicos.
- **Taninos condensados:** no hidrosolubles, tienen una estructura similar a la de los flavonoides y carecen de osas en su molécula.

Los taninos son sustancias amorfas solubles en agua, que forman soluciones coloidales, en alcohol y en acetona. Son insolubles en solventes apolares. Precipitan con numerosos reactivos (sales de hierro, plomo, cobre), alcaloides y proteínas.

2.5.2.5.2 Aplicaciones Farmacológicas:

- Astringentes y por tanto antidiarreicos y vasoconstrictores
- Vulnerarios.
- Antimicrobianos y antifúngicos.
- Inhibidores enzimáticos.
- Antídotos de alcaloides y metales pesados.

2.5.2.6 Carotenoides



Los **carotenoides** son pigmentos orgánicos que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos como algas, algunas clases de hongos y bacterias. Se conoce la existencia de más de 700 compuestos pertenecientes a este grupo¹⁵.

2.5.2.6.1 Clasificación.

Los carotenoides se clasifican en dos grupos:

- Carotenos solo contienen carbono e hidrógeno
- Xantofila, contienen además oxígeno²³.

2.5.2.6.2 Biosíntesis

Los carotenoides son tetraterpenoides (terpenoides con 40 átomos de carbono) que derivan biosintéticamente del ácido mevalónico a través de dos unidades C₂₀ de geranil-geranilpirofosfato (GGPP)²³.

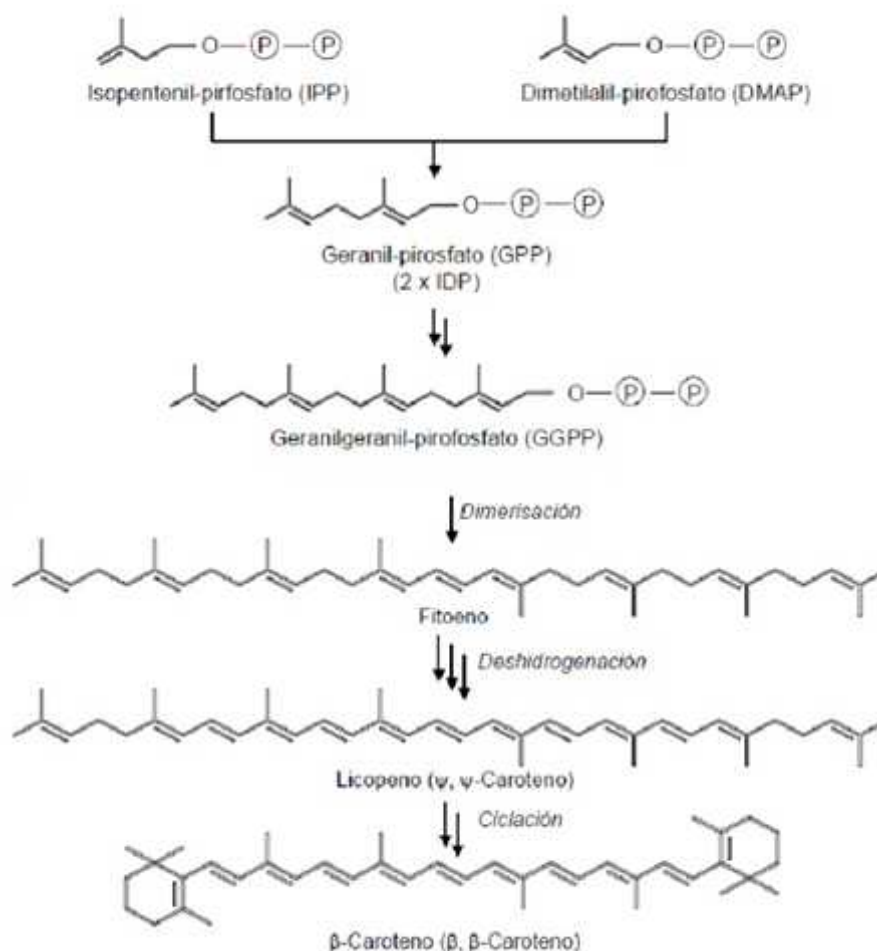


Figura 9. Biosíntesis de carotenoides a partir del ácido mevalónico

2.5.2.6.3 Aplicaciones Farmacológicas

- Producción de vitamina A.

2.5.2.6.4 Aislamiento.

Los carotenoides debido a la alta conjugación de enlaces dobles presentes en sus moléculas se descomponen por efecto de la luz, la temperatura y el aire. La luz favorece reacciones fotoquímicas que cambian la estructura original del carotenoide (por ejemplo isomerismo cis y trans). El calor también favorece reacciones térmicas de degradación. El aire debido al oxígeno favorece la



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



oxigenación de los enlaces dobles a funciones epóxido, hidroxilos y peróxidos, entre otros.

Por estas razones la extracción de carotenoides se debe preferiblemente realizar en condiciones de ausencia de luz, a temperatura ambiente o menor, y en ausencia de oxígeno.

Debido a que los carotenoides en su mayoría son solubles en solventes apolares como éter etílico, benceno, cloroformo, acetona, acetato de etilo, entre otros; y a que se deben extraer de tejidos frescos, los cuales presentan un alto contenido de agua la cual dificulta una extracción eficiente, es conveniente eliminar dicha agua.

2.5.2.6.5 Técnicas de obtención

Los carotenoides toman coloraciones azulosas. Debido a la presencia de varios enlaces dobles $C=C$ conjugados, reaccionan también con el reactivo de Liebermann-Burchard, usado para el reconocimiento de esteroides y/o triterpenoides, por lo tanto debe tenerse en cuenta que los carotenoides son falsos positivos para esteroides y/o triterpenoides, sin embargo la presencia de los carotenoides en una muestra vegetal se reconoce por sus colores característicos (amarillo-naranja-rojo).

El espectro visible de los carotenoides es bastante característico en el rango de 400 a 500 nm. Se observa un máximo alrededor de 450 nm y generalmente se aprecian dos máximos u hombros a cada lado.



2.5.2.7 Saponina

Las saponinas son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades como las del jabón: cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar), y forman una espuma cuando son agitadas en agua.

Las saponinas son tóxicas, se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides: Las saponinas podrían interferir en la asimilación de esteroides por el sistema digestivo, o romper las membranas de las células luego de ser absorbidas hacia la corriente sanguínea.

2.5.2.7.1 Biosíntesis

La porción esteroide de las saponinas esteroides, se origina por la ruta de la acetil-Coenzima vía ácido mevalónico y escualeno. Una vez formado un precursor esteroide con 27 átomos de carbono (p.ej. colesterol), este es deshidrogenado para originar 3-colestanona. La colestano es hidroxilada en los carbonos 16, 22 y 27. Este intermedio altamente hidroxilado en la cadena lateral puede sufrir una deshidratación entre los hidroxilos 16 y 22, lo que origina 3-furostanona; o puede sufrir además otra deshidratación entre los hidroxilos 22 y 27 restantes, lo que da lugar al anillo espirostanano propiamente dicho. La 3- espirostanona puede ser reducida a 3-espirostanol, el cual puede sufrir procesos enzimáticos de glicosilación para originar las saponinas esteroides.

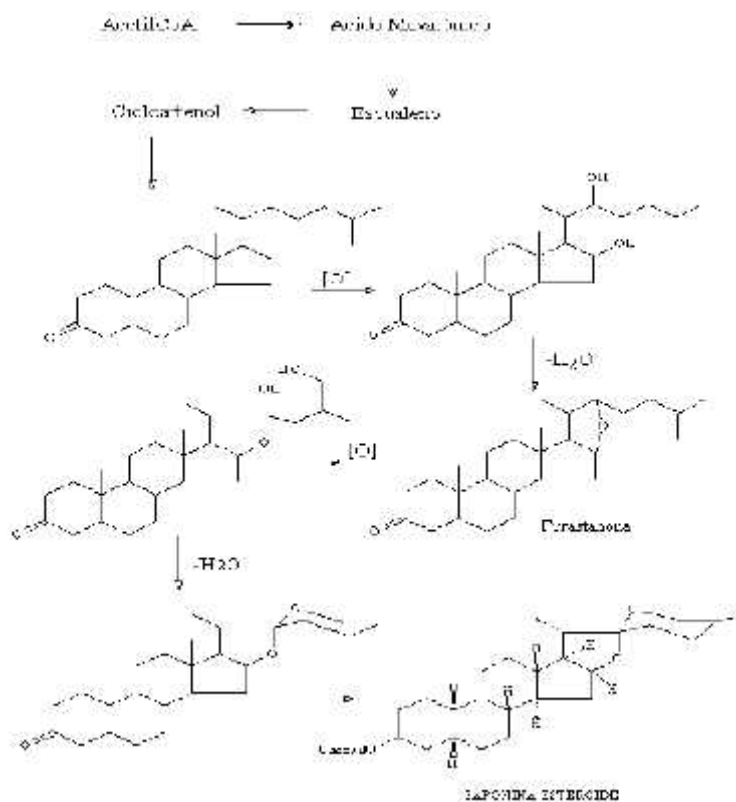


Figura 10. Origen biogénico de saponinas y saponinas esteroides.

2.5.2.7.2 Aplicaciones Farmacológicas

- Antimicrobiana
- Citotóxica
- Antitumoral
- Insecticida
- Hemolítica
- Antihelmíntica
- Expectorante
- Diurética
- Cardiovascular



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



- Antiinflamatoria
- Anti-ulceras
- Antimicótica
- Espermicidas
- Analgésica
- Antipirética
- Sedante
- Anti-infertilidad
- Antihepatotóxica

2.5.2.7.3 Aislamiento¹: las saponinas son sustancias muy polares, y es posible extraerlas en caliente o en frío, con agua o alcoholes de bajo peso molecular. Los materiales lipoides presentes en estos extractos se separan con benceno. Al concentrar la solución alcohólica se separan las saponinas y después se cristalizan en mezclas alcohol – agua.

2.5.2.7.4 Técnicas de Obtención¹:

- **Extracción con etanol**
- **Obtención de la Kamogenina**
- **Extracción con agua**
- **Reacciones coloridas**
- **Cromatografía en papel y capa delgada.**
- **Espectros de absorción**
- **Actividad óptica**



2.5.2.8 Quinonas¹

Las quinonas son dicetonas insaturadas, que por reducción, se convierten en polifenoles los que fácilmente las regeneran por oxidación. Se han aislado unas 300 quinonas. Por sus colores, amarillo violeta, contribuyen a la pigmentación de numerosos vegetales y de algunos animales. Intervienen en los fenómenos respiratorios, transportando electrones, por lo que se les encuentra en todos los seres vivos.

2.5.2.8.1 Clasificación¹: alrededor de la mitad de las conocidas se han encontrado en las angiospermas, otras tantas en hongos, y vegetales unicelulares; pero casi no se han localizado quinonas en las monocotiledóneas. Por el sistema aromático que dan al reducirse, se les puede dividir en:

- Benzoquinonas
- Naftaquinonas
- Antraquinonas
- Fenantraquinonas.

Si los grupos cetónicos están constituidos se les llama *orto* y si están separados por un grupo vinilo *para*.

2.5.2.8.2 Biosíntesis

Las antraquinonas y demás compuestos antracénicos, son biosintetizados por la ruta de la malonilCoenzima A en el caso de los hongos, líquenes y plantas superiores de las familias Ramnáceas, Poligonáceas y Leguminosas; mientras que en las Rubiáceas, las Gesneriáceas, las Escrofulariáceas, las Verbenáceas y las Bignoniáceas, se biosintetizan a partir de ácido shikímico y ácido mevalónico.



a. Biogénesis vía MalonilCoA

En este proceso, una molécula de AcetilCoA se condensa sucesivamente con 7 moléculas de MalonilCoA para producir una cadena policetídica de 16 carbonos u octacétido. Luego, el octacétido se pliega de la manera mostrada en la figura 4, y se cicliza por condensaciones entre los grupos metilenos y sus vecinos carbonilos para dar el triciclo cetónico. Este intermedio enoliza para generar el núcleo de las antronas. El núcleo de las antronas puede dimerizarse enzimáticamente para producir diantronas, o puede oxidarse para dar antranoles y/o antraquinonas.

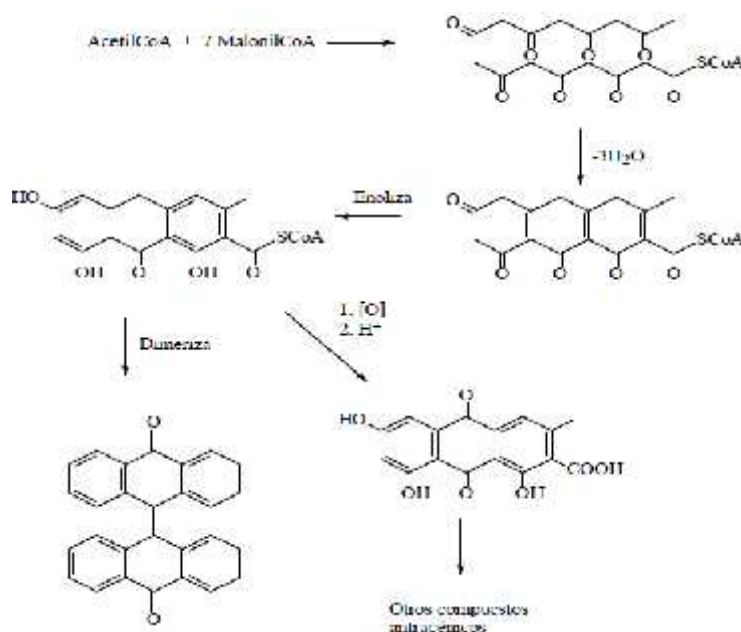


Figura 11. Biogénesis de compuestos antracénicos vía MalonilCoA

b. Biogénesis vía ácido shikímico + ácido mevalónico

La Figura 12. Esquematiza el proceso de biogénesis de antraquinonas por combinación de las rutas del ácido shikímico y la AcetilCoA (a través de su derivado ácido mevalónico). Inicialmente, una molécula de ácido shikímico se condensa con una molécula de ácido α -cetoglutarico (proveniente del ciclo de los ácidos cítricos). Posteriormente, el anillo del ácido shikímico es



deshidratado y aromatizado. Luego, ocurre una condensación intramolecular entre el carbonilo proveniente del ácido shikímico y el metileno α al grupo carbonilo proveniente del ácido α -cetoglutarico, para formar el bicyclo. Después, al bicyclo se une una cadena de 5 carbonos denominada isopentenilo (proveniente de AcetilCoA vía ácido mevalónico). Esta cadena se cicliza al anterior anillo formado, y luego de procesos de oxidación y aromatización se llega a las antraquinonas

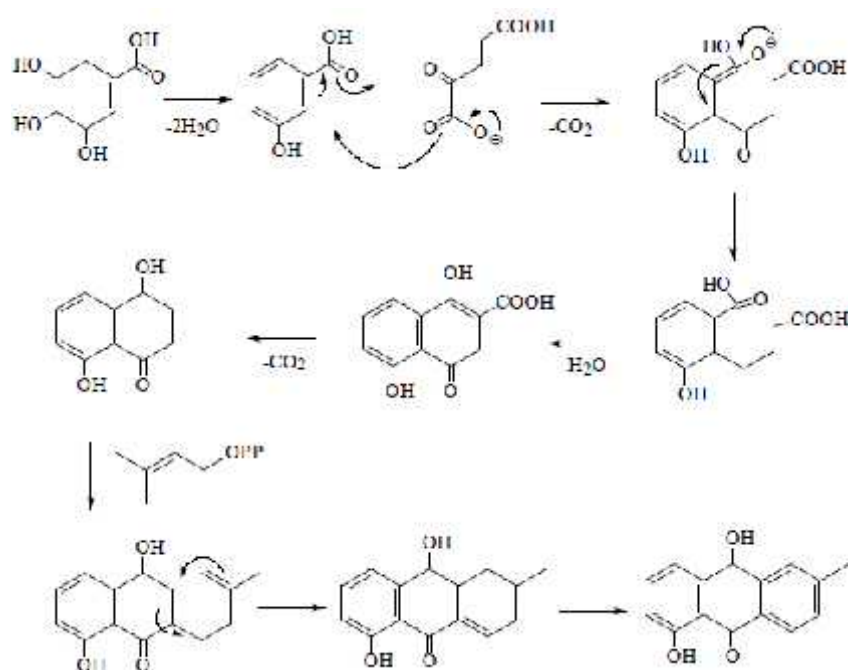


Figura 12. Biogénesis de compuestos antracénicos vía ácido shikímico y AcetilCoA

2.5.2.8.3 Aplicaciones Farmacológicas

- Laxantes o purgantes
- Agentes anticancerígenos
- Antidepresivos
- Acción antimicótica



2.5.2.8.4 Aislamiento¹: Las *para* – benzoquinonas no hidroxiladas y algunas naftaquinonas parecidas pueden arrastrarse con vapor o extraerse con éter, benceno o disolventes no polares. Las bases fuertes pueden extraerse con soluciones acuosas de bicarbonato o carbonato de sodio. Las bases fuertes en presencia de aire favorecen su descomposición oxidativa. Las *orto*-benzoquinonas no son arrastables con vapor. Las antraquinonas pueden extraerse con disolventes no polares, pero cuando están como glicósidos se extraen con agua, etanol o mezclas de ambos.

2.5.2.8.5 Técnicas de Obtención¹:

- **Extracción con éter de petróleo, benceno, hexano.**
- **Reacciones coloridas:** tienden a dar colores rojos o purpuras con álcalis concentrados y con ácido sulfúrico, lo que puede usarse para identificarlas.
- **Cromatografía en papel y en capa delgada**
- **Espectros de absorción:** la diversidad de las quinonas naturales se refleja en sus espectros de absorción en el ultravioleta.

2.5 Métodos de Extracción y Separación

2.6.1 Extracción⁴:

La extracción es una de las operaciones más básicas del laboratorio. Se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra dejando el resto lo más íntegro posible. Se pueden realizar desde los tres estados de la materia de la siguiente manera:

- 1) Extracción sólido – líquido
- 2) Extracción Líquido – líquido
- 3) Extracción Gas – líquido.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



La primera es la más utilizada para la obtención de principios activos de los tejidos vegetales. La segunda tiene uso especialmente en química analítica cuando se extrae el producto de una reacción efectuada en fase líquida con un solvente específico para separar uno o algunos de los componentes. Por último el tercero gas – líquido que ordinariamente se llama “lavado de gases” es el burbujeo por una fase líquida de un gas que se quiere lavar o purificar.

En el primer caso, normalmente se usa un solvente de naturaleza general, de alta polaridad como alcohol etílico o el metanol. En el segundo caso se emplea un solvente selectivo, de menor polaridad, como el hexano que solo extrae de las plantas las grasas vegetales y otros componente apolares. La escogencia del solvente de extracción, así como la permanencia de la composición química de la materia vegetal, representan dos aspectos de suma importancia en cualquier proceso de fabricación, bien sea de productos fitoterapéuticos o bien de sustancias naturales aisladas.

2.6.1.1 Variables del proceso de extracción⁵:

- **Estado de división de la droga:** la eficiencia del proceso extractivo sería mayor cuanto menor sea el tamaño de la partícula, ya que así se obtiene una mayor área de contacto con el solvente.
- **Agitación:** la eficiencia del proceso extractivo es función del equilibrio de saturación del solvente. La agitación hace que nuevas cantidades de solventes, pobres en las sustancias extraíbles, entren en contacto con el sólido y un nuevo punto de equilibrio de saturación es alcanzado.
- **Temperatura:** la disolución de las sustancias extraíbles es facilitado por el aumento de la temperatura, la temperatura contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación y la eficiencia del proceso. Sin embargo, muchos principios activos son termolábiles y pueden ser destruidos, total o parcialmente a temperatura elevada.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



- **pH:** influye en la solubilidad de diversos compuestos ya que permite la posibilidad de formación de sales.
- **Naturaleza del solvente:** dependiendo de la finalidad deseada, el solvente utilizado extrae, selectivamente o no, cierta clase de compuestos. Entre los solventes generales, los más utilizados son alcoholes alifáticos de hasta 3C o mezclas de estos con el agua.
- **Tiempo de extracción:** este se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo utilizado.

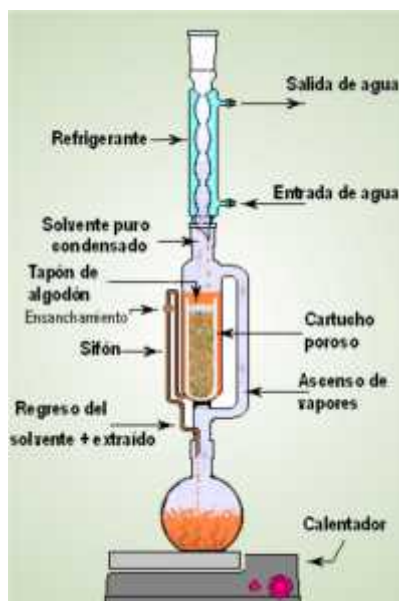
2.6.1.2 Preparación de extractos

Los extractos de drogas, animales o vegetales, pertenecen a las formas farmacéuticas más antiguas. La extracción propiamente dicha envuelve la separación de porciones biológicamente activa de los componentes inertes y o inactivos, a partir de la utilización de un solvente seleccionado y de un proceso de extracción adecuado.

En cada extracción se obtiene un complejo sistema de sustancias activas que pueden contener sustancias lastres de diferentes procedencias, por lo que son líquidos, semisólidos o polvos, relativamente impuros. Dependiendo del proceso utilizado y del grado de concentración de los extractivos, se encuentran preparaciones conocidas como: decocciones, infusiones, extractos fluidos, tinturas, extractos semisólidos y extractos en polvo.



2.6.2 Extracción por Soxhlet



Lo que hace el extractor soxhlet es realizar un sinfín de extracciones de manera automática con el mismo solvente que se evapora y condensa llegando siempre de manera pura al material.

La extracción soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

- Colocación del solvente en un balón.
- Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
- El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
- Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón.
- Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesarias para que la muestra quede agotada.



2.6.2.1 Factores que influyen en la extracción:

- Temperatura del secado del material.
- Tiempo de extracción, presenta disminución del rendimiento.
- Presión del vapor; si la presión de vapor es muy alta se presenta hidrólisis disminuyendo su rendimiento y calidad.
- Factor de empaquetamiento.
- Distribución interior del vapor
- Eficiencia del condensador.
- Condensación interior.

2.6.3 Extracción por reflujo

Es una técnica para extraer y preservar los compuestos esenciales en los extractos de especies vegetales; está formado por un condensador que es usado para condensar y retener los componentes volátiles. Durante el reflujo la vaporización de la mezcla que se hierve es seguida por la condensación de estos vapores sobre las paredes interiores de un condensador, este se refrigera con el agua que fluye por una camisa envolvente a su alrededor.

Esta técnica nos permite retener los compuestos volátiles aromáticos como los aceites esenciales. Algunas veces el reflujo no puede ayudar con la desnaturalización de ciertos compuestos sensibles al calor y al recalentamiento.





III Hipótesis

**EXISTEN METABOLITOS SECUNDARIO DE INTERES FARMACOLÒGICO
EN LA HOJA DE *Cordia inermis***



IV Apartado: Diseño Metodológico



4.1 Diseño Metodológico

Tipo de estudio: Experimental de corte transversal

Universo: Planta de la especie *Cordia inermis*

Muestra: 200 gr hojas de la especie vegetal

Unidad de análisis: hojas de la especie.

Criterios de selección:

- Se tomo esta muestra, ya que la especie vegetal *Cordia inermis* tienen pocos estudios y por tener un alto uso etnomédico por parte de la población en la Comunidad de Balgüe, Isla de Ometepe.
- Como unidad de análisis se tomaron las hojas frescas, para determinar los compuestos químicos de la especie.

Variables

Variable	Definición	Medición	Indicador
Extracto etéreo	Preparación en éter de petróleo de la sustancia de una planta que contiene la porción biológica activa sin el residuo celular	Presencia de principios activos	Coloración y precipitación característica
Extracto alcohólico	Preparación en alcohol de la sustancia de una planta que contiene la porción biológica activa sin el residuo celular	Presencia de principios activos	Coloración y precipitación característica
Extracto acuoso	Preparación en agua de la sustancia de una planta que contiene la porción biológica activa sin el residuo celular	Presencia de principios activos	Coloración y precipitación característica



4. 2 Equipo utilizado:

- Sistema de extracción Soxhlet
- Sistema de extracción por reflujo
- Horno
- Balanza analítica
- Rota evaporador
- Cocina de plato
- Bomba de vacío

Cristalería.

- Tubo de ensayo de vidrio Pyrex
- Balones de 50 ml y 100 ml Pyrex
- Embudo separador de 250 ml y 500 ml Pyrex
- Beakers de 100 ml, 250 ml y 1000 ml Pyrex
- Probeta de 50 ml y 100 ml Pyrex
- Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml Pyrex
- Espátula y agitador de vidrio.
- Termómetro



REACTIVOS Y SOLVENTE			
FORMULA	NOMBRE	GRADO	MARCA
$(\text{CH}_3)_3\text{COCH}_3$	Éter de petróleo	Grado reactivo	Fisher scientific
C_6H_{14}	Hexano	Grado reactivo	Merck
KOH	Hidróxido de potasio	Grado reactivo	Merck
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Etanol	Grado reactivo	Merck
CHCl_3	Cloroformo	Grado reactivo	Fisher scientific
$(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$	Anhídrido acético	Grado reactivo	Merck
H_2SO_4	Ácido sulfúrico	Grado reactivo	J.T.Baker
SbCl_3	Tricloruro de antimonio	Grado reactivo	Merck
HCl	Ácido clorhídrico	Grado reactivo	Fisher scientific
$\text{H}_4 [\text{Si}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4] \cdot \text{XH}_2\text{O}$	Ácido Silico-tungstico	Grado reactivo	Merck
CH_3OH	Metanol	Grado reactivo	J.T.Baker
Mg	Limaduras de magnesio	Grado reactivo	Merck
NH_4OH	Hidróxido de amonio	Grado reactivo	Merck
HgCl_2	Cloruro mercúrico	Grado reactivo	Merck
FeCl_3	Cloruro ferrico	Grado reactivo	Merck



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



IK	Yoduro de potasio	Grado reactivo	Merck
C ₁₀ H ₁₄ O	Timol	Grado reactivo	Merck
H ₂ O	Agua	Grado reactivo	
CuSO ₄	Sulfato cúprico	Grado reactivo	Merck
C ₆ H ₅ COONa	Bitartrato de sodio y potasio	Grado reactivo	Fisher scientific
I ₂	Yodo	Grado reactivo	Merck
CH ₃ (CO)CH ₃	Acetona	Grado reactivo	Merck
C ₁₆ H ₁₄ O ₆	hematoxilina	Grado reactivo	J.T.Baker

Reactivos reveladores:

- **Reactivo de Carr –price:** solución saturada de tricloruro de antimonio III en cloroformo.
- **Reactivo de Mayer:** Disolver 1.35 g de Cloruro mercúrico en 60 ml de agua, disolver 7 g de yoduro de potasio en 20 ml de agua, mezclar, agitar y filtrar.
- **Acido Silico-tungstico:** solución al 20% p/v en agua.
- **Reactivo Liebermann –Burchard:** mezclar un 1 ml de cloroformo y 1 ml de anhídrido acético y 3-4 gotas de ácido sulfúrico concentrado.
- **Reactivo de Lugol:** mezclar 1 g de yodo con 2 g de yoduro de potasio, disolver en 300 ml de agua y guardar en botella oscura.
- **Reactivo Timol:** 0.1 g de Timol en 100 ml de alcohol.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



- **Reactivo de Fehling:** solución A, disolver 34.65 g de cloruro mercúrico en 500 ml de agua. Solución B, disolver una mezcla de 173 g de bitartrato sodio y potasio y 125 g de hidróxido de potasio en 500 ml de agua. Mezclar cantidades iguales antes de usar.

4.3 MÉTODO CIULEI

1. Recolección e identificación de la especie en estudio.

La especie vegetal *Cordia inermis*, fue recolectada el 29 de agosto 2010, en los jardines de la Hacienda Magdalena en la Comunidad de Balgüe, Isla de Ometepe, Departamento de Rivas, Nicaragua.

2. Screening Fitoquímico.

1. **Extracto etéreo:** Se realiza una extracción con éter en el equipo Soxhlet y se concentra con un rotaevaporador hasta un volumen de 200 ml, se divide en dos fracciones A y B, de 40 ml y 160 ml respectivamente, realizándose a cada una de ellas las siguientes pruebas.

Fracción A: los 40 ml se concentran a sequedad con el rotaevaporador y se disuelve el residuo en 20 ml de alcohol absoluto, dividiéndose en dos fracciones A₁ y A₂ de volúmenes iguales.

Fracción A₁: 10 ml, se evaporan a sequedad destilando luego con arrastre de vapor y extrayendo con éter, (2 ml de extracto y 20 ml de éter), aplicando luego cromatografía de capa delgada, usando como fase móvil Hexano/Éter (8:2) y fase estacionaria Silica gel; evaluándose según la corrida, el tipo de mancha y el R_f.

Fracción A₂: 20 ml, se adicionan 10 ml de Hidróxido de potasio 0.5 M y 20 ml de agua, calentando para evaporar el etanol y extraer con éter (3 ml de extracto



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



en 10 ml de éter), separando el éter de los demás componentes y dividiéndolo en tubos de ensayo en volúmenes iguales, evaluándose de la siguiente manera:

Tubo 1: adicionar 5 ml de reactivo de Liebermann-Burchard. Resultado esperado: coloración verde oscura, indica la presencia de **Triterpenos y esteroides**.

Tubo 2: adicionar reactivo de Carr –Price. Resultado esperado: coloración verde oscura, indica la presencia de **Carotenoides**.

La fase acuosa sobrante se acidifico hasta un pH 3-4 y se extrajo con éter (2:10), evaporando hasta sequedad. Resultado esperado: formación de residuos con cristales, indica la presencia de **Ácidos grasos**.

Fracción B: 140 ml se concentra hasta un volumen de 50 ml y se divide en seis fracciones.

Fracción B₁: 10 ml, se evaporan hasta sequedad y disolver en 3 ml de ácido clorhídrico al 2%, dividiéndose en volúmenes iguales en tres tubos de ensayos.

Tubo 1: Control

Tubo 2: R. de Mayer.

Tubo 3: Ácido sílico - túngstico.

Resultado esperado: Formación de precipitado en los tubos 2 y 3 indicando la presencia de **Alcaloides**.

Fracción B₂: 5 ml, se evaporan hasta sequedad y se adiciona 1 ml de cloroformo y gotas del reactivo de Carr–Price. Resultado esperado: Coloración verde oscura indica la presencia de **Carotenoides**.

Fracción B₃: 5 ml, evaporar hasta sequedad y se disuelve en 2 ml de metanol caliente, adicionando luego limaduras de magnesio y 1 ml de ácido clorhídrico concentrado. Resultado esperado: después de 10 minutos se presenta una coloración rojiza, indicando la presencia de **Agliconas de Flavonoides**.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Fracción B₄: 5 ml, se evaporan a sequedad y se disuelve en 1 ml de agua hirviendo y se aplica con un capilar dos manchas en papel filtro, aplicando en una de las manchas una gota de hidróxido de potasio 0.5 M. Resultado esperado: fluorescencia a 366 nm, indica la presencia de **Cumarinas**.

Fracción B₅: 5 ml, se evaporan hasta sequedad y se disuelve 1 ml de cloroformo, adicionando el reactivo de Liebermann-Burchard. Resultado esperado: formación de un anillo verde con una interface color marrón indica la presencia de **Triterpenos y esteroides**.

Fracción B₆: 5 ml, se evaporan hasta sequedad y se disuelve 1 ml de hidróxido de amonio al 25%. Resultado esperado: coloración roja, determina la presencia de **Emodinas**.

- 2. Extracto Alcohólico:** Una vez hechas las pruebas de la fracción A y B, se procede a realizar una re-extracción en Soxhlet con alcohol, donde el volumen obtenido se concentra hasta 240 ml y se divide en dos fracciones E1 y E2 de 80 ml cada una.

Fracción E₁: se concentra hasta 60 ml y se divide en tres fracciones.

Fracción E_{1,1}: 5 ml, se adiciona 2 ml de agua y 5 gotas de solución de cloruro férrico al 1%. Resultado esperado: coloración azul indica la presencia de **Taninos gálicos** y una coloración verde indica la presencia de **Taninos catéquicos**.

Fracción E_{1,2}: 5 ml, se adiciona 2 ml de agua y 5 ml de reactivo de Fehling al 1%, dejando en reflujo por 30 minutos. Resultado esperado: precipitación color ladrillo, indica la presencia de **Compuestos reductores**.

Fracción E_{1,3}: 20 ml, se evaporan hasta sequedad y se disuelve en 20 ml de ácido clorhídrico al 10%, retirando 3 ml.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



- **Muestra 1:** se alcaliniza los 17 ml restantes hasta un pH 9 y se extrae con éter (3 ml de extracto en 10 ml de éter), evaporando la fracción etérea y se disuelve en 3 ml de ácido clorhídrico al 10%.
- **Muestra 2:** Dividir las muestras 1 y 2 en tres tubos de ensayo:

Tubo 1: Control

Tubo 2: R. de Mayer.

Tubo 3: Ácido sílico-túngstico.

Resultado esperado: precipitación en los tubos 2 y 3 indicando la presencia de **Alcaloides**.

Fracción E₂: se concentra hasta un volumen de 50 ml, adicionándole 20 ml de ácido clorhídrico al 20% y se coloca en reflujo por 30 minutos; luego se adicionan 20 ml de agua y se evapora hasta un volumen de 30 ml. Se extrae con éter (3 ml de extracto en 20 ml de éter) separando la fase etérea de la fase acuosa, la fase etérea se concentra a un volumen de 30 ml.

Fracción E_{2,1}: 5 ml, se concentra hasta 1 ml y se aplican dos manchas en papel filtro, aplicando sobre una de las manchas una gota de hidróxido de potasio 0.5 M. resultado esperado: fluorescencia de 366 nm, indica la presencia de **Cumarinas**.

Fracción E_{2,2}: 5 ml, se evapora hasta sequedad y se disuelve en 1 ml de hidróxido de amonio. Resultado esperado: coloración roja, determina la presencia de **Antracenósidos**.

Fracción E_{2,3}: 10 ml, se evaporan hasta sequedad y se disuelve en metanol al 50%, se adiciona limaduras de magnesio y 1 ml de ácido clorhídrico. Resultado esperado: después de 10 minutos aparece una coloración roja, indicando la presencia de **Flavonoides**.

Fracción E_{2,4}: 10 ml, se evapora hasta sequedad y se adiciona el reactivo de Liebermann-burchard. Resultado esperado: coloración verde oscura, indica la presencia de **Triterpenos y esteroides**.



Fracción E': la fase acuosa acida presenta coloración rojiza, por lo que se eleva el pH a 9-10. Resultado esperado: coloración verde-castaño o azul indica la presencia de **Antocianinas**.

3. Extracto Acuoso: Una vez hechos los ensayos de los extractos anteriores se procede a realizar una extracción por reflujo con agua, donde el volumen obtenido se concentra a 200 ml y se divide en dos fracciones AQ₁ y AQ₂, de 100 ml cada una.

Fracción AQ₁: se divide en siete fracciones.

Fracción AQ_{1,1}: 5 ml, se adicionan 3 ml de agua y dos gotas de reactivo de Lugol. Resultado esperado: coloración azul, indica la presencia de **Almidón**.

Fracción AQ_{1,2}: 5 ml, se evapora hasta sequedad y se adicionan 5 gotas de ácido sulfúrico y 3-4 gotas de Timol. Resultado esperado: coloración rojiza, indica la presencia de **Polisacáridos**.

Fracción AQ_{1,3}: 5 ml, se adiciona 10 ml de acetona y 2 gotas de hematoxilina, se agita y se filtra. Resultado esperado: precipitado color violeta indica la presencia de **Mucilagos**.

Fracción AQ_{1,4}: 5 ml, se adicionan 45 ml de agua y se agita por 10 minutos. Resultado esperado: espuma persistente por 20 minutos indica la presencia de **Saponinas**.

Fracción AQ_{1,5}: 5 ml, se adiciona 1 ml de reactivo de Fehling y se deja en reflujo por 30 minutos. Resultado esperado: precipitado color ladrillo, indica la presencia de **Compuestos reductores**.

Fracción AQ_{1,6}: 3 ml, se adiciona 2 ml de agua y 3-4 gotas de cloruro ferrico. Resultados esperados: coloración azul indica la presencia de **Taninos galicos** y una coloración verde indica la presencia de **Taninos catequicos**.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



Fracción AQ_{1,7}: 30 ml, se adiciona hidróxido de amonio hasta pH 9, se extrae con éter (3 ml de extracto en 30 ml de éter) y se evapora hasta sequedad. Se disuelve el residuo en 10 ml de ácido clorhídrico al 10%, dividiendo en tres tubos de ensayo.

Tubo 1: Control

Tubo 2: R. de Mayer.

Tubo 3: Ácido sílico-túngstico.

Resultado esperado: precipitación en los tubos 2 y 3 indicando la presencia de **Alcaloides**.

Fracción AQ₂: en esta fracción se realizan las mismas pruebas descritas para la fracción A.





Discusión de los resultados

El tamizaje fitoquímico constituye una de las etapas que nos permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en la plantas. Este se realizó a partir de tres diferentes extractos (Etéreo, Alcohólico y acuoso), a los cuales se les realizaron diferentes reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas frescas de la especie en estudio.

Los resultados fueron agrupados según su extracto (etéreo, alcohólico y acuoso), obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 1. Resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de las hojas frescas de *Cordia inermis*.

Metabolito/Ensayo	Indicadores	Tipo de Extracto		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Triterpenos/Esteroles				
Reactivo Liebermann- Burchard	Coloración	(+ +)	(+ +)	
Ácidos Grasos	Precipitación	(- -)		
Alcaloides				
Reactivo Mayer	Precipitación		(- -)	(- -)
Reactivo Ácido Silico-tungstico	Precipitación		(- -)	(- -)
Aglicona Flavonoide				
Prueba Shinoda	Coloración	(+ +)	(- -)	
Taninos Gálicos/ Catéquicos				
Cloruro férrico	Coloración		(- -)	(+ +)
Compuestos Reductores				
Prueba Fehling	Precipitación		(+ +)	(+ +)
Emodinas				
Reactivo Bortranger	Coloración	(- -)		
Antracénósidos				
Hidróxido de amonio	Coloración		(- -)	
Antocianinas	Coloración		(- -)	
Cumarinas				
Hidróxido de potasio	Fluorescencia	(- -)	(- -)	
Almidón				
Prueba Lugol	Coloración			(- -)
Mucílago				
Prueba hematoxilina	Precipitación			(- -)
Saponina				
Prueba Espuma	Espuma			(+ +)

(+ +) = positivo, (- -) = Negativo



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



El material vegetal que se utilizó en esta investigación, demostró en estudios anteriores que posee actividad antioxidante, mediante el método de Brand-Williams. Según la metodología de Ciulei se prepara un mínimo de 3 extractos con diferentes solventes.

Después de realizar el tamizaje se observó para los 3 extractos una incidencia de los grupos de interés (Triterpenos y esteroides) en las hojas frescas de la especie vegetal, en cuanto al resto de metabolitos se observaron resultados negativos y positivos.

1. **Triterpenos y esteroides:** la presencia de estos compuestos se identificó en las fracciones A₁, B₅, E_{2,4}, por la aparición de un anillo color verde en la parte superior con una interfase color marrón al entrar en contacto con el reactivo de Liebermann-Burchard.

Esta prueba se realiza mezclando 1 ml de CHCl₃ + 1 ml de anhídrido acético y unas gotas de H₂SO₄. Una porción de este reactivo se pone en contacto con la sustancia o solución clorofórmica. Si hay formación de color verde la prueba es positiva.

2. **Agliconas de flavonoides:** se identificaron en la fracción B₃, por presentar una coloración rojiza al adicionarle limaduras de magnesio y 1 ml de ácido clorhídrico.

3. **Compuestos reductores:** se identificó estos constituyentes en la fracción E_{1,2} y en la AQ_{1,5} debido a la formación de un precipitado de color rojo ladrillo frente al reactivo de fehling.

Reactivo de Fehling: solución A, disolver 34.65 g de cloruro mercúrico en 500 ml de agua. Solución B, disolver una mezcla de 173 g de bitartrato sodio y potasio y 125 g de hidróxido de potasio en 500 ml de agua. Mezclar cantidades iguales antes de usar.



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



4. **Saponinas:** se identificó este constituyente en la fracción AQ_{1,4} debido a la formación de espuma persistente por más de 20 minutos.

Se disuelven en agua y disminuyen la tensión superficial de esta por lo tanto al sacudir sus soluciones se forma una espuma abundante y relativamente estable.

5. **Taninos Gálicos,** se identificó en la fracción AQ_{1,6} por presentar una coloración verde.
6. En la identificación de estos metabolitos como son Triterpenos y esteroides, Saponinas, Agliconas de Flavonoides, Compuestos reductores y Taninos Gálicos en la especie *Cordia inermis* nos revela el potencial terapéutico que ella posee, demostrando su posible uso en la elaboración de fármacos o fitofármacos al contener estos metabolitos que le confieren propiedades tales como Antiséptica, Antiespasmódica, Diurética, Antitumoral, Cardiovascular, Anticancerosas, Astringentes y por tanto anti diarreicos y vaso constrictores. Haciendo una referencia sobre sus aplicaciones en determinadas patologías.



VI Apartado: Conclusiones



6.1 Conclusiones

En base a los resultados obtenidos de la aplicación del Tamizaje Fitoquímico en el extracto etéreo, extracto alcohólico y extracto acuoso de las hojas frescas de la especie vegetal *Cordia inermis*, mediante el uso de reacciones de coloración y precipitación, se puede concluir, lo siguiente:

- En el extracto etéreo de las hojas frescas se logró determinar por análisis fitoquímico la presencia de triterpenos y esteroides, agliconas de flavonoides. En el extracto alcohólico se logró determinar la presencia de compuestos reductores, triterpenos y esteroides. En el extracto acuoso se determinó la presencia de saponina, compuestos reductores y taninos gálicos.
- Se comprobó que algunas fracciones contienen metabolitos secundarios de familias de compuestos identificados en la investigación que poseen actividad terapéutica.



VII Apartado: Recomendaciones



7.1 Recomendaciones:

En base a los resultados obtenidos se recomienda para nuevos estudios:

- Este estudio representa el primer reporte de las hojas frescas de la especie vegetal con análisis de la composición química preliminar sentando bases para realizar investigaciones más profundas enfocadas hacia el análisis de la actividad farmacológica de cada compuesto.
- Realizar un Screening Farmacológico de las hojas frescas, para determinar si presenta actividad biológica.
- Identificar los compuestos cabezas series a través de resonancia magnética nuclear (RNM) y espectroscopia de masas
- Hacer comparaciones entre los extractos de muestras secas y frescas.



VIII Apartado: Bibliografía



Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



1. Métodos de investigación Fitoquímica Xorge A .Domínguez
2. http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_1903.pdf
3. Evaluación de la actividad antioxidante en los extractos metanólicos de 7 especies vegetales. Laboratorio control de calidad de medicamento, UNAN- león. Mayo-Julio 2009.
4. Tesis: Determinar los constituyentes químicos en la hoja de la *Cissus verticillata* L. Por medio de un Screening Fitoquímico. 2000
5. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Nikolai Sharapin.
6. "Secondary Metabolites and Plant Defense". En: Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger. *Plant Physiology, Fourth Edition*. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13.
7. R. Croteau, T. M. Kutchan, N. G. Lewis. "Natural Products (Secondary Metabolites)". En: Buchanan, Grissem, Jones (editores). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. Rockville, Maryland, Estados Unidos. 2000. Capítulo 24.
8. Dewick, P.M. "Medicinal Natural Products –A Biosynthetic Approach–", 2a ed. Ed. John Wiley & Sons Ltd. England, 2002.
9. Bruneton, J. "Pharmacognosie -Phytochimie Plantes Médicinales-" 2e Ed. Technique et Documentation –Lavoisier Paris 1993
10. <http://www.hierbitas.com/principiosactivos/Taninos.htm>
11. [http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/0/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/\\$File/web_fenolicos.htm](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/0/4DE2A2030B26B6F0C1256A790048D68C/$File/web_fenolicos.htm)
12. <http://es.wikipedia.org/wiki/Muc%C3%ADlago>
13. <http://www.mobot.org./MOBOT/research/nicaragua/breve.shtml>
14. <http://www.cenunez.com.ar/Documentos%20lab.%20qu%C3ADm/Extrac%20ci%C3%B3n%20con%20equipo%20Soxhlet.pdf>
15. <http://es.wikipedia.org/wiki/Terpeno>
16. <http://es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide>



17. [http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/vo Documentos/4DE2A2030B26BF0C1256A790048D68C/\\$File/web_fenolicos.htm](http://www.portalfarma.com/pfarma/taxonomia/general/gp000011.nsf/vo Documentos/4DE2A2030B26BF0C1256A790048D68C/$File/web_fenolicos.htm)
18. <http://www.scribd.com/Alcaloides/d/8972707>
19. <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/carotenoides2001.pdf>
20. <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip58s/whozip58s.pdf>
21. Botany online: The Secondary Metabolism of Plants
<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e20/20.htm>
22. Hostettman, K., Marston, A.; "Chemistry and Pharmacology of Natural Products. Saponins", Cambridge University Press, New York, NY, 1995, 548 pp, ISBN 0-521-32970-1.
23. Wallen, G. R. y Yamazuki, K., editores; En: "Advances in Experimental Medicine and Biology", Vol. 404, Plenum Press, N. Y. 1996 (ISBN 0-306-45393-2).
24. Schripsema, J., y col., PHYTOCHEMISTRY 51 (1) 55-60 (1999).
25. Nakanishi K., "Natural products chemistry", Vol. II, 1975, Academic Press, Tokyo, pp. 179.
26. Leboeuf P., Notas del curso de Farmacognosia, 1982-3.
27. Trease, Evans, "Tratado de Farmacognosia".
28. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/carot/car1t7.html>
29. IARC handbooks of cancer prevention (1998). *Carotenoids: Vol. 2*. IARC Scientific Publications. ISBN 9283230027, 9789283230021.
30. <http://www.botanical-online.com/col/manapuya17.htm>
31. Paris, M. et M. Hurabielle "Abrégé de Matière Médicale - Pharmacognosie", tome 1, et 2. Ed. Masson. París, 1981
32. W. C. Evans "Trease y Evans Farmacognosia" 13^a ed. , Ed. Interamericana-McGraw- Hill, 1991.
33. Robinson T. "The organic constituents of Higher Plants" Editorial Cordus press, North Amherst, 1983.
34. Mercano, D y M. Hasegawa " Fitoquímica Orgánica" Ed.. Universidad Central de Venezuela, Caracas 1991.



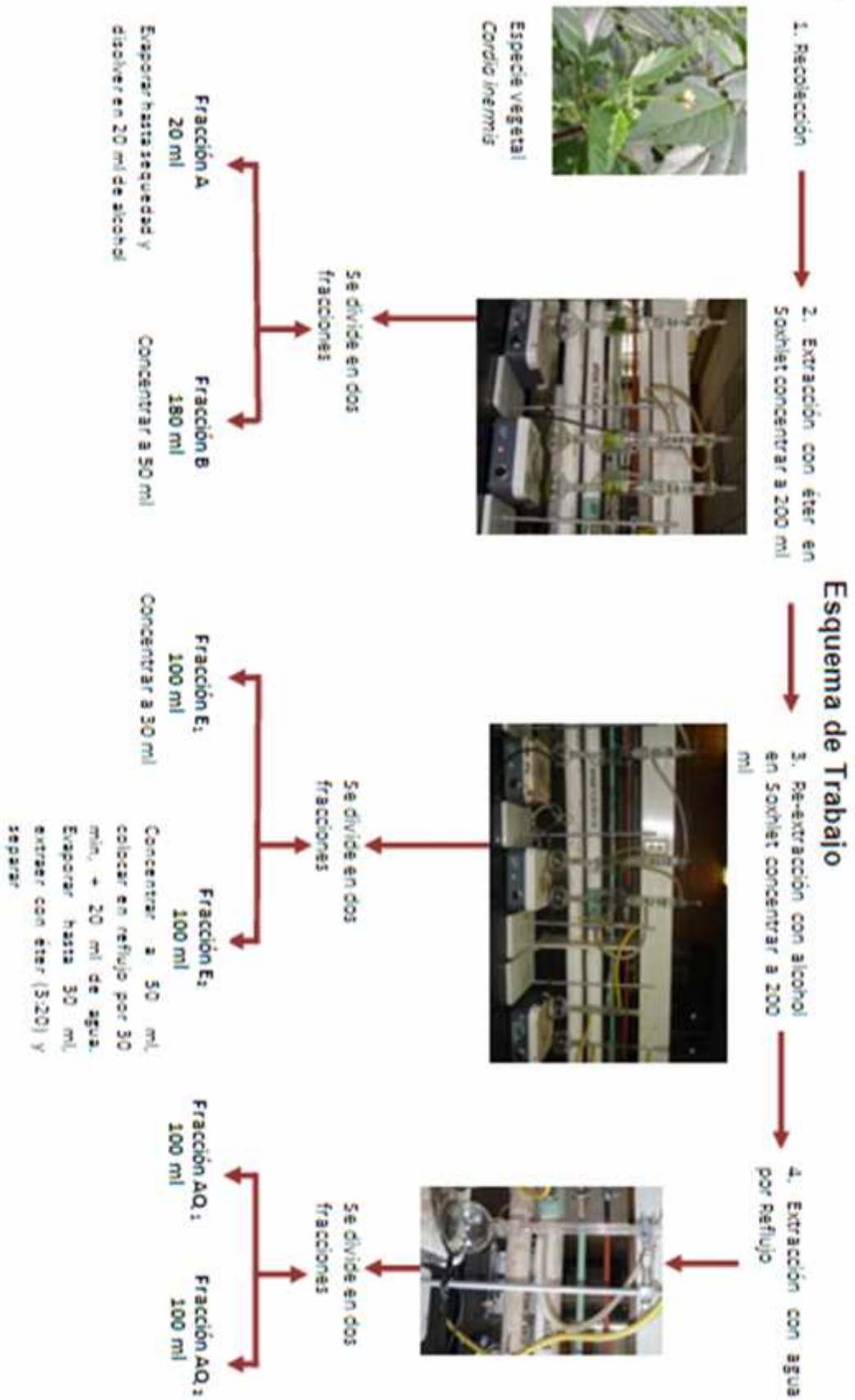
Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)



35. Bruneton, J. "Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie" Ed. Technique et Documentation (Lavoisier), 1987.
36. Idem, "Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes Medicinales, 2^a édition, Ed. Technique et Documentation (Lavoisier). 1993.
37. Hu, K., Kobayashi, H., Dong, A., Jing, Y., Iwasaki, S., Yao, X., "Antineoplastic Agents III: Steroidal glycosides from *Solanum nigrum*", *Planta medica* 65, 35-38 (1999).
38. Abdel-Gawad, M. M., y col., *FITOTERAPIA* 70 (4) 371-381 (1999).
39. Takechi, M. y col., *PLANTA MED.* 64 (2) 179 (1998).
40. Hostettmann, K., Marston, A.; "Chemistry and Pharmacology of Natural Products: Saponins", Cambridge University Press, New York, NY , 1995, ISBN 0-521-32970-1.
41. Desgagné, M. et al.; *CAN. PHARM. J.* 122 (8) 403 (1989).

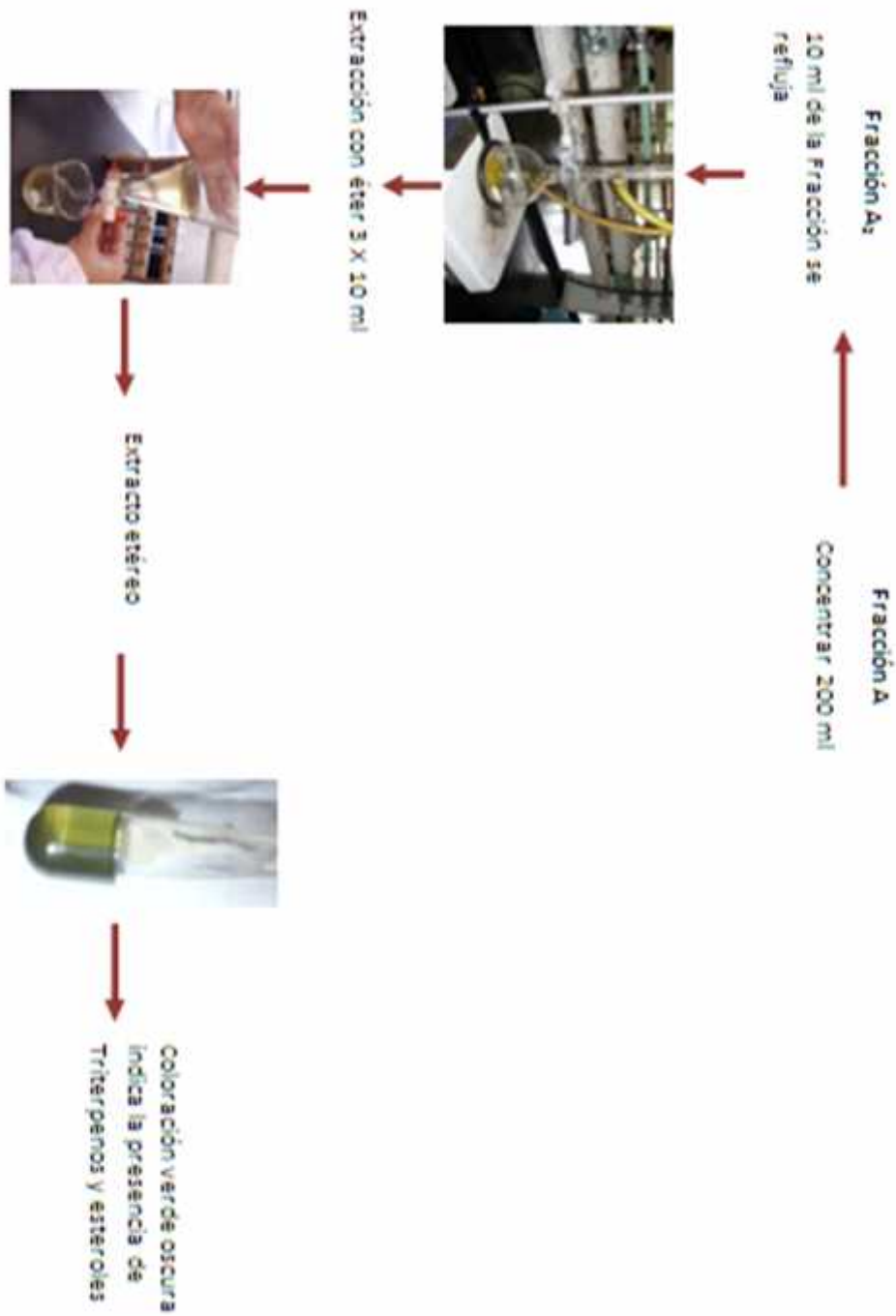


IX Apartado: Anexos



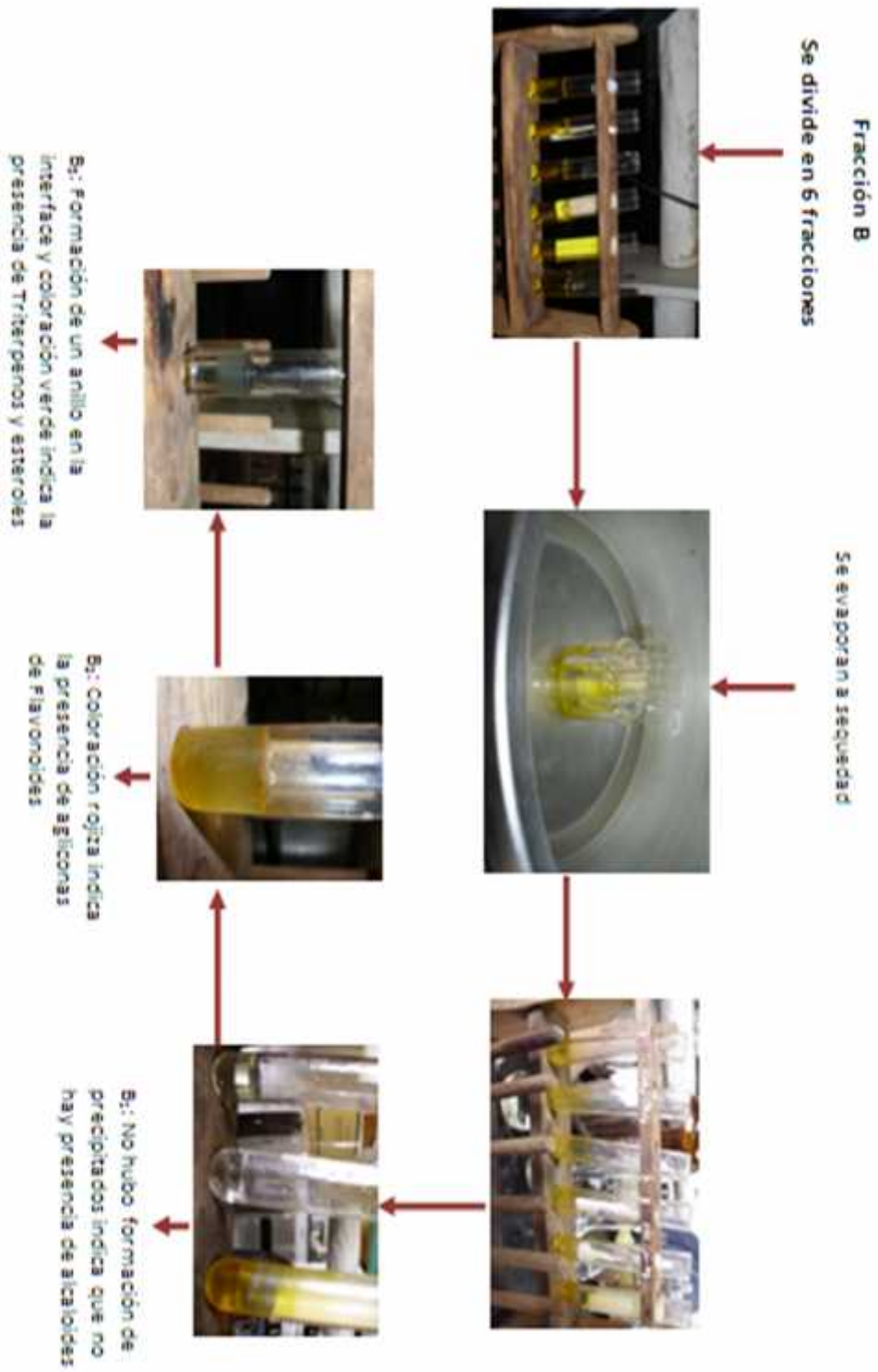


Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)





Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)





Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de *Cordia inermis* (Mill.)

