

T  
544.92  
R333 e  
1976  
F. ec. 99

086305

Ej 2

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

---

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

*Estudio Fotoquímico de la Especie  
Tridax Procumbens, sobre la base  
de los Flavonoides.*

TESIS PRESENTADA POR

ANA VIRGINIA R. CUELLAR

PARA OPTAR AL TITULO DE

LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA



JULIO 1976



U N I V E R S I D A D   D E   E L   S A L V A D O R

RECTOR:

DR. CARLOS ALFARO CASTILLO.

SECRETARIO GENERAL:

DR. MANUEL ATILIO HASBUN.

F A C U L T A D   D E   Q U I M I C A   Y   F A R M A C I A

DECANO:

DR. AMILCAR AVENDAÑO Y ORTIZ.

SECRETARIO:

DRA. MARIA GLADIS DE MENA GUERRERO.

UES BIBLIOTECA CENTRAL  
  
INVENTARIO: 10120438

MIEMBROS DEL JURADO

DRA. ROSA MARIA P. DE RIVAS

DR. ROMEO A. ROVELO BATRES

DRA. WANDA GAMEZ DE ROSALES

D E D I C A T O R I A S .

A DIOS TODO PODEROSO

A MIS PADRES: José Cesaréo Regalado.  
Mercedes Cuéllar de Regalado.  
Con eterna gratitud por el fruto  
de sus esfuerzos.-

A MI ESPOSO Y PEQUEÑO HIJO:  
Julio Alberto Ramos Ortiz.  
Julio Alberto Ramos Regalado.  
Con amor.

A MIS PROFESORES Y COMPAÑEROS:  
Con agradecimiento y cariño.

## I N D I C E .

CAPITULO I.	PAGINA.
1. Resumen - - - - -	i
2. Introducción - - - - -	iii
3. Antecedentes - - - - -	5
4. Descripción de la Planta - - - - -	7
CAPITULO II.	
I. Material y Equipo - - - - -	9
II. Métodos y Procedimientos - - - - -	10
1. Recolección del Material - - - - -	10
2. Extracción del Material - - - - -	10
a. Reacciones de Identificación - - - - -	11
3. Técnicas Cromatográficas para Flavonoides - - -	12
4. Técnica de Aislamiento y Purificación de Flav.-	15
5. Aislamiento de Azúcares - - - - -	17
CAPITULO III.	
I. Resultados - - - - -	20
a. Del Ext. de Cloroformo - - - - -	20
b. Del Ext. de Acetato de Etilo - - - - -	21
c. Del Análisis de Azúcares - - - - -	22
II. Datos Obtenidos - - - - -	25
CAPITULO IV.	
1. Conclusiones - - - - -	44
2. Bibliografía - - - - -	45

## R E S U M E N .

La presente investigación consiste en la extracción, separación, aislamiento, purificación e identificación de los Flavonoides presentes en las flores de la especie *Tridax procumbens*.

Se recolectaron flores de dicha planta las cuales fueron puestas a reflujo con etanol, obteniéndose un extracto alcohólico. Este, libre de clorofila, se trató mediante la técnica de separación líquido-líquido, utilizando solventes de diferente polaridad obteniéndose los extractos:

- Eter de Petróleo.
- Cloroformo.
- Acetato de Etilo.

Al aplicarles la prueba de identificación de Flavonoides (Prueba de Shinoda) dieron positiva dicha prueba: El ext. de Cloroformo y el ext. de Acetato de Etilo. Estos fueron analizados por Cromatografía Bidimensional para determinación de  $R_f$ . y posteriormente por Cromatografía en Capa Fina para separar y purificar los compuestos Flavonólicos estudiados. Seguidamente se hicieron los Espectros de cada compuesto.

Con estos datos se procedió a la determinación del núcleo básico e identificación de estructuras, por Com-

paración de datos de Flavonoides conocidos.

Finalmente se realizó la hidrólisis ácida para aislar el azúcar del Glicósido Flavonólico.

El azúcar fue analizado por Cromatografía en Capa Fina, identificandose por comparación del valor de Rf. con el obtenido de Azúcares conocidos.

CAPITULO I  
I N T R O D U C C I O N

Este trabajo tiene como finalidad, continuar con el estudio fitoquímico de especies de la flora salvadoreña, haciendo un estudio químico sobre la base de los Flavonoides en la especie *Tridax procumbens*. Utilizando diferentes técnicas analíticas y métodos espectrofotométricos en la extracción, aislamiento, purificación e identificación de los Flavonoides presentes en las flores de la planta.

Este estudio se ha enfocado hacia la investigación de Flavonoides, tomando en cuenta que: Se encuentran ampliamente distribuidos casi en todo el reino vegetal, conociéndose más de 500 Flavonoides (1) y por el auge que en otras partes del mundo, hombres de ciencia, han dado al estudio farmacológico de dichos principios.

Locket (2) ha fijado su atención en la permeabilidad de los capilares sanguíneos, y ha sugerido que los Flavonoides pueden aumentar la síntesis de colágeno, que se sabe forma parte de la estructura de soporte de la pared

---

(1). Bate-Smith, *Usefulness of Chemistry in Plant Taxonomy as Illustrated by Flavonoid Constituents in Chemical Plant Taxonomy* ed. T. Swin Academy Press-london N. Y. Pág. 129, (1963).



capilar.

El estudio de la vitamina P, presente en ciertos Flavonoides, es de especial interés por su acción farmacológica en los vasos sanguíneos, donde aumenta la resistencia vascular, haciéndose notar que no solamente se incrementa la fuerza tensil de los capilares sanguíneos para reducir su permeabilidad, sino que tiene acción sensibilizante en los esfínteres precapilares.

Algunos Flavonoides tienen efecto constrictor, las Isoflavonas tienen actividad estrogénica. Algunas Cumarinas son conocidas por sus efectos tóxicos en los peces, también las hay inhibidoras de la germinación, que parecen no tener acción en este sentido en el hombre.

Su actividad fitopatológica y bactericida es objeto de constantes revisiones, con el fin de emplearlos como protectores de sustancias alimenticias, para evitar la contaminación microbiana. El empleo de Flavonoides en alimentos, es de indiscutible valor ya que siendo responsables del sabor y su coloración, los hacen más apetesibles.

- 
- (2). T. Swain, Economic Importance of Flavonoid Compounds: Foodstuffs. In: Chemistry and Biochemistry of Plant pigments. ed. Goodwin, Academic Press, London and N.Y. Pág. 546-549, (1965).

El trabajo se divide en cuatro capítulos:

Capítulo I. Resumen, introducción, antecedentes, y descripción de la planta. Capítulo II. Material y equipo, métodos y procedimientos para la investigación de Flavonoides y glicósidos flavonólicos. Capítulo III. Datos y resultados, y espectros de los Flavonoides purificados. Capítulo IV. Conclusiones del trabajo desarrollado.

ANTECEDENTES.- (3).

Cerca de 1958 los profesores R. E. Alston y B. L. Turner. Ambos del Departamento de Botánica de la Universidad de Texas en Austin, iniciaron una investigación sistemática general de las leguminosas del género Baptisia.

Ellos encontraron que los patrones de Flavonoides, revelados por Cromatografía Bidimensional en Papel,, eran válidos para reconocer las especies de Baptisia y para la documentación de sus numerosos híbridos naturales. Ultimamente ellos demostraron que la química de los Flavonoides podría utilizarse para el análisis del flujo genético de sus poblaciones. En ese tiempo no se intento aun parcialmente una identificación de los Flavonoides que eran

---

(3). Mabry, T. J. Markham, K. R. and Thomas, M. B. The Systematic Identification of Flavonoids, N. Y. Heidelberg Berlin, Pág. VII, (1970).

detectados cromatográficamente. Sin embargo pronto se volvió aparente que valores completos de datos químicos para fines sistemáticos requería conocimiento de las estructuras de los Flavonoides.

En 1962 T. J. Mabry en colaboración con los doctores Alston y Turner iniciaron el análisis químico de mas de 60 Flavonoides que habían sido detectados cromatográficamente en 16 especies de Baptisia. En los años siguientes un número de químicos y botánicos, incluyendo los Drs. Baetvke, Brehm, Cranmer, Horbe, Lagan, Kroschewsky, McClure, Rösler y Wallace. Participaron en el desarrollo de técnicas y procedimientos para la rápida identificación de Flavonoides conocidos y en la determinación de la estructura de nuevos Flavonoides. Además la química de los Flavonoides de muchas plantas diferentes del género Baptisia fue investigado.

Los Flavonoides (4). pueden ser aislados e identificados por Cromatografía Bidimensional en Papel o Cromatografía en Capa Fina, complementada con espectroscopía Ultravioleta, lo cual permite tener una recopilación de datos que hace posibles la elucidación de estructuras.

---

(4). Domínguez, X. A. Métodos de Investigación Fitoquímica, 1ª. edición, Ed. Limusa, Mexico, Capítulo VI. Pág. 86, (1973).

DESCRIPCION DE LA PLANTA. (5).

Clasificación Botánica:

- Tipo : Fanerógamas, Endoprotáleas, Espermatofitas.  
 Sub Tipo : Angiospermas o Estigmadas.  
 Clase : Monocotiledóneas.  
 , Sub Clase : Gamopétalas inferovaricas.  
 Orden : Signésidas.  
 Familia : Compuestas.  
 Género : Tridax.  
 Especie : Procumbens.  
 Nombre Vulgar: Hierba del toro, mata gusano,  
 hierba del hígado.

Es una hierba perenne y común de climas cálido y templado. La RAIZ es pivotante, frecuentemente con raíces secundarias que nacen de los nudos del tallo. El TALLO cilíndrico está tendido sobre el suelo o raramente erecto, ramificado, de 15 - 40 cms. de largo y esparcidamente peloso. LAS HOJAS son opuestas, pecioladas, ovadas a lanceoladas, ligera a fuertemente 3-lobuladas o 3-partidas y asperamente pelosas. LA INFLORESCENCIA está com-

---

(5). L. García, J. G. Macbryde, B. R. Molina, A. Macbryde, H. O. Malesas Prevalentes de América Central, Ed. International Plant Protection Center, Oregon State, Pág. 40, (1975).

puesta de cabezas terminales, solitarias con cabillos largos, cada una con 2-3 grupos radiados de brácteas por debajo. La cabeza floral está compuesta de 3-6 florecillas lingüiformes amarillo claras a blanco amarillentas y de muchas florecillas tubulosas amarillas a amarillo claras sobre un receptáculo con bracteolas persistentes. EL FRUTO es una nuececilla cilíndrica angostamente lanceolada invertida, densamente pelosa, negruzca, con una semilla y lleva en la punta un vilano de 20 aristas semejantes a plumas. Se propaga por semillas.

## CAPITULO II

I. MATERIAL Y EQUIPO.-

PAPEL. Se utilizo papel Whatman N<sup>o</sup>. 1 de 20X20 cms. para visualización de los Flavonoides presentes en cada extracto.

CELULOSA. Celulosa microcristalina para cromatografía en Capa Fina. (Merck).

CROMATOPLACAS. Se utilizaron placas de vidrio de 5X20 cms. y de 20X20 cms. para Cromatografía en Capa Fina y Cromatografía Preparativa en Capa Fina.

CAMARAS CROMATOGRAFICAS. Se utilizaron cámaras de vidrio fabricadas en el laboratorio para placas de 20X20 cms. y recipientes cilindricos para las placas de 5X20 cms.

LAMPARA ULTRAVIOLETA. UV. SL-25 de longitud de onda corta y larga. Para la visualización de compuestos con absorción en el ultravioleta.

DESTILADOR A PRESION REDUCIDA. Flash Evaporator 50-60 C. y 115 V.

AGITADOR MAGNETICO. 60 C. y 115 V. modelo 15.

ESPECTROFOTOMETRO ULTRAVIOLETA/. Perkin Elmer, de doble haz, modelo 124 con registro automático.

ATOMIZADOR. Se utilizó atomizador de vidrio PYREX.

MATERIAL DE VIDRIO. de uso rutinario.

## II. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS.

### 1. RECOLECCION DEL MATERIAL.

La especie utilizada en este trabajo, fue recolectada en terrenos de la Universidad Nacional en el mes de noviembre de 1974.

Se seleccionó las flores de la planta y de ellas se utilizó pétalos y tubifloras para el estudio de sus compuestos Flavonoides.

### 2. EXTRACCION DEL MATERIAL.

En un balón de reflujo de 2 lts. se colocó 200 gr. de flores más 1 litro de alcohol puro, esta mezcla se dejó refluja durante 8 h. a 60°C. posteriormente se filtró la solución alcohólica, y se evaporó el alcohol por destilación al vacío. Se obtuvo un extracto alcohólico que se trató con 100 ml. de agua caliente, se agitó y filtró inmediatamente para eliminar residuos de clorofila; el precipitado de clorofila se descartó y la solución acuosa se colocó en un embudo de separación de 500 ml. y se hizo extracciones con éter de petróleo, cloroformo, y acetato de etilo respectivamente.

#### a. Extracciones con Éter de Petróleo.

Con volúmenes de 50 ml. de éter de petróleo se realizaron extracciones que presentaron color amarillo intenso; se continuó con dichas extracciones hasta que se observó

el solvente en su color natural; se unieron las alícuotas de eter de petróleo, se evaporó el solvente por destilación al vacío y se obtuvo el extracto de eter de petróleo.

En un tubo de vidrio se colocó 1 ml. de este extracto, al cual se le aplicó la prueba de Shinoda que dio: NEGATIVA.

b. Extracciones con Cloroformo y Acetato de Etilo.

Se realizó el mismo proceso del solvente anterior. Estos al aplicarles la prueba de Shinoda: se observó cambio de color de amarillo a rojo y azul respectivamente.

Por lo que dieron positiva dicha prueba.

3. REACCIONES DE IDENTIFICACION.

a. REACCION DE SHINODA. (1).

A 1 ml. de extracto a analizar se agregan granallas de magnesio y gotas de ácido clorhídrico concentrado, observandose de inmediato una coloración anaranjada, roja, rojo azulosa o violeta si estan presentes flavonas, flavononas, flavonoles, flavononoles o xantonas.

b. REACCION SOBRE PAPEL.

Se aplica con micropipeta una pequeña porción de la solución en estudio sobre papel filtro. Se observa bajo luz visible y ultravioleta, luego se expone el papel a vapores

---

(1). Ver capítulo I. pág. 7, : Bibliografía N<sup>o</sup>. 4, Pág.84.



de amoníaco y se observa en la misma forma, finalmente se hace bajo luz visible y ultravioleta después de rociarlo con  $AlCl_3$  al 1% en metanol.

#### 4. TECNICAS CROMATOGRAFICAS PARA FLAVONOIDES.

##### a. CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL EN PAPEL/

Esta técnica se basa en la acción de dos sistemas de solventes, y fue usada con fines analíticos.

Con el objeto de visualizar y determinar: el valor de  $R_f$  (2) y la apariencia de la mancha (3) de cada compuesto presente en un extracto.

##### Sistema de Solventes.

1ª. Dirección: TAB: Terbutanol, Acido Acético, Agua:

3, 1, 1. V. V. V.

2ª. Dirección: Acido Acético al 15%.

Se utilizaron láminas de papel Watman N°.1 de 20X20 cms. en las que se marcó el ángulo inferior izquierdo, con un punto de origen a una distancia de 2.5 cms. de la base horizontal y margen vertical.

---

(2). Ver Capítulo I pág.5: Bibliografía N°.3, Pág. 9.

(3). Seikel, M. K., Chromatographic Separation, Isolation and Identification of Phenolic Compounds in Biochemistry of Phenolic Compounds, Ed. J. B. Harbourne, Academic Press, London and N. Y. Pág. 51 - 56, (1964).

Con una micropipeta se aplicaron alícuotas del extracto a analizar, hasta obtener una concentración adecuada, se secó y se colocó dicha lámina en una cámara que contenía el solvente TAB a 1.5 cms. de profundidad. Desarrollado el cromatograma por cromatografía ascendente, se secó y observó bajo luz UV. para medir las distancias del punto de aplicación de la muestra al frente del solvente, y del punto de aplicación al centro de la mancha, obteniéndose el valor de Rf. para cada compuesto del extracto analizado.

Posteriormente dicho cromatograma fue introducido en una cámara que contenía el 2º. solvente, ácido acético al 15%, la lámina fue colocada en dirección perpendicular al primer corrimiento, desarrollado el 2º. cromatograma, se siguió el proceso anterior para obtener el valor de Rf. de cada Flavonoide; también se hizo el análisis de la apariencia de la mancha de los Flavonoides.(3). (Reveladores para Flavonoides).

#### b. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

Preparación de las Placas: se suspendieron 3 gr. de celulosa en 17 ml. de agua, utilizando un agitador magnético se obtuvo una suspensión homogénea; esta se vertió sobre la placa previamente lavada y secada, luego se distribuyó

uniformemente. Dicha placa se dejó secar a temperatura ambiente durante 6-12 h., posteriormente se activó a 115°C. por 5 min.

La suspensión de celulosa se utilizó para una placa de 20X20 cms. o tres placas de 5X20 cms.

#### TECNICA DE APLICACION Y DESARROLLO.(4).

##### 1. APLICACION EN PUNTO.

Esta técnica fue utilizada con el objeto de encontrar: un solvente desarrollador que proporcionara, una mejor resolución en la separación de flavonoides presentes en cada extracto.

#### TECNICA.

En una placa de 5X20 cms. se señaló la línea de origen a 2.5 cms. de la base horizontal.

Utilizando una micropipeta, se aplicó sobre la línea de origen, alícuotas a diferentes concentraciones de la muestra en estudio, dejando un espacio de 2 cms. entre una aplicación y la otra, la placa se colocó en una cámara previamente saturada con vapores del solvente ha utilizar, el cromatograma se desarrolló en forma ascendente.

---

(4). Stahl, E., Thin Layer Chromatography, Springer-Verlag -Berlin-Heidelberg, N. Y., Pág.63, (1969).

ii. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PREPARATIVA.

Una vez encontrado el solvente desarrollador que presentó mejor separación, se procedió a aislar y purificar los Flavonoides presentes en cada extracto, por Cromatografía en Capa Fina Preparativa.

APLICACION EN BANDAS.

En placas de celulosa de 20X20 cms. se señaló la línea de origen a 2.5 cms. de la base horizontal, y con una micropipeta se aplicaron alícuotas del extracto a separar, formando una banda uniforme, se secó a temperatura ambiente y se desarrolló el cromatograma en forma ascendente empleando el solvente desarrollador adecuado.

El cromatograma obtenido se secó y reveló (Reveladores utilizados para Flavonoides). Notandose que los compuestos emigran en forma de bandas.

iii. TECNICA DE AISLAMIENTO Y PURIFICACION.

Las bandas observadas en la cromatoplaça, fueron separadas con una microespátula, la celulosa de cada banda fue tratada con metanol caliente; con el objeto de solubilizar el Flavonoide, aislandose este de la celulosa por filtración.

Los Flavonoides aislados, fueron analizados por Cromatografía en Capa Fina: aplicación en punto, lo que determinó la pureza de los Flavonoides.

Los Flavonoides que se observaron contaminados fueron

purificados por cromatografía en capa fina preparativa. Obtenido el flavonoide puro, se evaporó el metanol de extracción por destilación al vacío hasta que se obtuvo el extracto del flavonoide en solución.

El cual fue utilizado para:

1. Determinar el valor de Rf: por Cromatografía Bidimensional, haciendo uso de los solventes TAB y ácido acético al 15%. Y por Cromatografía Monodimensional con el solvente BAU.
2. Elaborar el espectro visible-ultravioleta del flavonoide y sus derivados.
3. Realizar la hidrólisis ácida, para determinación del azúcar en los glicósidos flavonólicos.

c. SOLVENTES EMPLEADOS EN CROMATOGRAFIA.(5).

- i. TAB: terbutanol, ác. acético,glacial, agua. 3, 1, 1.  
V. V. V.
- ii. BAU: N-butanol, ác. acético glacial, agua. 4,1,5.  
V,V,V. De este solvente se elimina la fase acuosa.
- iii. FORESTAL: ác. acético glacial, ác. clorhídrico,  
agua. 10, 3, 30. V, V, V.
- iv. Acetato de etilo, ác. acético glacial, agua. 3, 1, 3.  
V, V, V. De este solvente se elimina la fase acuosa.
- v. Metanol al 50%.

- vi. Ac. Acético Glacial al 50% .
- vii. Ac. Acético Glacial al 15% .

d. REVELADORES EMPLEADOS EN CROMATOGRAFIA. (5).

Para Flavonoides. Se emplearon los mismos reveladores: en Cromatografía Bidimensional en Papel y en Cromatografía en Capa Fina; es decir que en las tiras de papel o las placas de celulosa, la presencia de los compuestos fue determinada, observando: bajo luz visible y ultravioleta, bajo luz visible y ultravioleta con vapores de amoníaco, finalmente bajo luz visible y ultravioleta después de rociarlos con Tricloruro de Aluminio al 1% en metanol.

5. AISLAMIENTO DE AZUCARES.

a. HIDROLISIS ACIDA. (6). Para el estudio de Azúcares se procedió de la siguiente forma; del extracto Flavonólico a analizar se utilizó 1 ml. disuelto en 2 ml. de solución 2N. de HCl. en etanol, esta mezcla se sometió a reflujo por 2 horas, posteriormente se enfrió a 0°C. durante 2 a 3 horas, luego se separó el aglucon del sobrenadante que contiene el o los azúcares.

---

(5). Ver capítulo I. pág.7: Bibliografía N°4, Pág. 85.

(6). Ver capítulo I. pág.5: Bibliografía N°3, Pág. 24.

b. TECNICA CROMATOGRAFICA PARA AZUCARES.

i. SOLVENTE PARA AZUCARES.

Butanol, Piridina, Agua destilada: 6,4,3. V.V.V.

ii. REVELADOR PARA AZUCARES.

Las placas se rociaron con reactivo de Patridge: que se preparó disolviendo en 48 ml. de butanol, 1.48 gr. de anhídrido ftálico, 0.9 ml. de anilina destilada y 4 ml. de agua destilada, a esta solución se mezclaron 48 ml. de eter etílico.

iii. CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.

APLICACION EN PUNTO.

Esta técnica fue utilizada para determinar el valor del Rf. del azúcar del Glicósido Flavonólico analizado, y de muestras de azúcares conocidos.

Esto se realizó con la finalidad, de identificar los azúcares de los Glicósidos Flavonólicos por comparación del valor del Rf.

TECNICA.

En una placa de 20X20 cms. se señaló la línea de origen a 2.5 cms. de la base horizontal, utilizando una micropipeta, se hicieron aplicaciones en punto sobre la línea de origen. Aplicandose alícuotas del líquido sobrenadante que se obtuvo de la hidrolisis ácida de cada Flavonoide. Dejando un espacio de 2 cms. entre cada muestra, la placa se colocó en una cámara cromatografica previamente saturada con vapores del solvente a utilizar, a 1.5 cms.

de profundidad.

Desarrollado el cromatograma en forma ascendente, se señaló el frente del solvente y se secó a temperatura ambiente. Posteriormente dicha placa se roció con reactivo de Patridge, se secó y luego fue sometida a temperatura de 100 a 120°C. en una estufa, hasta que aparecieron manchas oscuras observables bajo luz visible, después se investigó el valor del Rf. para cada muestra.

$$R_f = \frac{\text{Distancia del Origen al Centro de la Mancha.}}{\text{Distancia del Origen al Frente del Solvente.}}$$



CAPITULO III  
R E S U L T A D O S .

Al aplicar la prueba de SHINODA, se obtuvieron los siguientes resultados:

En el extracto Eter de Petróleo: la Prueba dio NEGATIVA.

En el extracto de Cloroformo: " " POSITIVA.

En el extracto de Acetato de Etilo: " " POSITIVA.

El solvente que dio mejor resolución de bandas flavonólicas, de los extractos anteriores. Por Cromatografía en Capa Fina fue:

Para el extracto de Cloroformo: Acido Acético al 50% .

Para el extracto Acetato de Etilo: Acetato de Etilo, Acido Acético, Agua destilada. 3, 1, 3. V. V. V. de este solvente se elimina la fase acuosa.

RESULTADOS DEL EXTRACTO DE CLOROFORMO.

En la cromatoplaça del extracto de cloroformo, se observaron 5 bandas flavonólicas, que fueron aisladas; obteniéndose las bandas N<sup>o</sup>. 3 y 5 libres de contaminación, por ser bandas anchas, uniformes, color intenso y el valor de R<sub>f</sub>. diferente.

Las bandas N<sup>o</sup>. 1, 2 y 4. se aislaron, pero por presentar bandas en forma de líneas y valores de R<sub>f</sub>. vecinos. No se logró purificarlos.

### RESULTADOS DEL EXTRACTO ACETATO DE ETILO.

En el cromatograma del extracto Acetato de Etilo, se observaron 6 bandas flavonólicas, que fueron aisladas; obteniéndose todas las bandas contaminadas, pero al ser purificadas por Cromatografía en Capa Fina Preparativa utilizando como solvente Acido Acético al 50% . se obtuvo mejor separación de las bandas. Lograndose la purificación de las bandas N<sup>o</sup>. 3, 4 y 5. Lo que no se consiguió con las bandas N<sup>o</sup>. 1, 2 y 6, por tener valores de Rf. vecinos y ser inestables con el tiempo.

Los Compuestos Flavonólicos aislados en ambos extractos; fueron extraídos de la celulosa con metanol caliente grado reactivo, obteniéndose extractos líquidos, los cuales no se llevaron a sequedad por presentar mayor estabilidad y facilidad para realizar el análisis por Cromatografía y Espectroscopía Ultravioleta.

Dichos Compuestos Flavonólicos fueron analizados por sus propiedades físicas y espectroscópicas; que son:(1).

1. Apariencia de la mancha al ser observado bajo luz visible, y luz ultravioleta, bajo luz visible y luz UV.

---

(1). Mabry, T. J., Markham, K. R., and Thomas, M. B., The Systematic Identification of Flavonoids, N. Y. Heidelberg Berlin, Capítulo 5, Pág.41,42,134, (1970).

con vapores de amoníaco, posteriormente con tricloruro de aluminio.

- 2º. El valor del Rf. en los solventes TAB y Ac. Acético.
- 3º. Por comparación de los valores de Longitud de Onda máxima y mínima, en los espectros del Flavonoide estudiado.

#### RESULTADOS DEL ANALISIS DE AZUCARES/

- 1º. Se hizo análisis de azúcares, por Cromatografía en Capa Fina. Utilizandose como:

Soporte: Celulosa.

Solvente: Isopropanol, Acido Acético, Agua destilada. 5, 1, 1. V. V. V.

Revelador: Reactivo de Patridge.

Obteniendose los siguientes valores:

X= Distancia del punto de aplicación al centro de la mancha.

Y= 15 cms. = Distancia del punto de aplicación al frente del solvente.

DONDE: 
$$R_f = \frac{X}{Y}$$

VALORES DE Rf. DE AZUCARES CONOCIDOS.

<u>AZUCARES EST.</u>	<u>T cms.</u>	<u>T cms.</u>	<u>Rf.</u>
Xilosa	6.0	15	0.4
Ramnosa	7.8	15	0.52
D-Arabinosa	5.5	15	0.37
Glucosa	4.7	15	0.31
Sacarosa	- -	--	- -
Galactosa	4.0	15	0.27
Fructuosa	6.0	15	0.40
Sucrosa	- -	--	- -
Lactosa	1.8	15	0.12
Maltosa	2.3	15	0.19

VALORES DE Rf. DE LOS AZUCARES DE LOS FLAVONOIDES ESTUDIADOS.COMPUESTOSVALORES DE Rf. en:

Isopropanol, Ac. Acético, Agua. 5, 1, 1. V.

BAU

Nº. 3 Clorof.	0.62	0.93
Nº. 5 Clorof.	0.40	0.53
Nº. 3 Ac. E.	0.53	0.96
Nº. 4 Ac. E.	0.26	0.90
Nº. 5 Ac. E.	0.20	0.85

Por comparación de los Rf. se ha determinado que:

El Flavonoide:

Nº. 3	Clorof:	Contiene un	Azúcar	no	Identificado.
Nº. 5	Clorof:	"	"		Fructuosa.
Nº. 3	Ac. E:	"	"		Ramposa.
Nº. 4	Ac. E:	"	"		Galactosa.
Nº. 5	Ac. E:	"	"		Maltosa.

DATOS OBTENIDOS.PARA LOS FLAVONOIDES DEL EXTRACTO DE CLOPOFORMO.FLAVONOIDE N° 3.

1º. Apariencia de la Mancha:

Bajo Luz Ultravioleta: PURPURA INTENSO.

Bajo Luz UV. con Amoníaco: AMARILLO.

2º. Valor del Rf.

En el solvente TAB = 0.8

En el solvente HOAc al 15% = 0.1

3º. DATOS ESPECTRALES AL ULTRAVIOLETA.

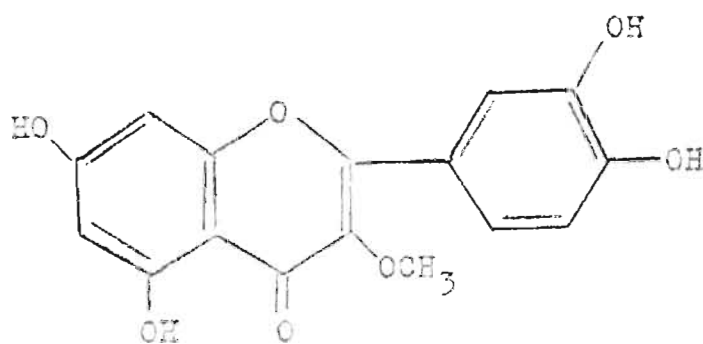
<u>SOLVENTES</u>	$\lambda$ máx	$\lambda$ min.
CH <sub>3</sub> -OH	257, 358 mu.	269, 294 mu.
CH <sub>3</sub> -ONa	272, 407	329
AlCl <sub>3</sub>	277, 443	303, 336
HCl	268, 277 402	299, 360
NaOAc	273, 383	323
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	262, 378	298

Los datos obtenidos de este compuesto mediante Cromatografía y Espectroscopía Visible-Ultravioleta, después de ser analizados y comprobados posteriormente con datos reportados por Mabry (2): nos llevó a

---

(2). Ver Bibliografía N° 1, Pág. 21 .

la conclusión de que la estructura correspondiente a este compuesto es la de: QUERCETIN 3-METHYL ETHER. Que presenta como núcleo básico, el de un FLAVONOL, cuya estructura es la siguiente:



FLAVONOIDE N<sup>o</sup>. 5.

## 1. Apariencia de la mancha:

Bajo luz ultravioleta: PURPURA INTENSO.

Bajo luz UV. con Amoníaco: AMARILLO.

## 2. Valor del Rf.

En el solvente TAB = 0.77

En el solvente HOAc al 15% = 0.08

3. DATOS ESPECTRALES AL ULTRAVIOLETA.

<u>SOLVENTES</u>	$\lambda$ máx.	$\lambda$ min.
CH <sub>3</sub> -OH	253, 348 mu.	268, 290 mu.
CH <sub>3</sub> -ONa	260, 403	274, 328
AlCl <sub>3</sub>	272, 415	302
HCl	275, 354	297, 397
NaOAc	268, 375	327
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	260, 372	—

De este Flavonoide no se pudo determinar su estructura, pero por el color de la mancha podría tratarse de una FLAVONA.

Cuyo azúcar corresponde a la FRUCTUOSA.



FLAVONOIDES DEL EXTRACTO ACETATO DE ETILO.

FLAVONOIDE N.º 3.

1.º. Apariencia de la mancha:

Bajo luz ultravioleta: PURPURA INTENSO.

Bajo luz UV. con Amoníaco: AMARILLO.

2.º. Valor del Rf.

En el solvente TAB = 0.7

En el solvente HOAc al 15% = 0.27

3.º. DATOS ESPECTRALES AL ULTRAVIOLETA.

<u>SOLVENTES</u>	$\lambda$ máx.	$\lambda$ min.
CH <sub>3</sub> -OH	268, 347 mu.	254, 288 mu.
CH <sub>3</sub> -ONa	271, 382	304
AlCl <sub>3</sub>	277, 346	300, 394
HCl	277, 346	300, 394
NaOAc	273	370
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	302	370

No se pudo determinar su estructura, pero por el color de la mancha, podría tratarse de un FLAVONOL.

Cuyo azúcar corresponde a la RAMNOSA.

FLAVONOIDE N° 4.

1º. Apariencia de la mancha:

Bajo luz ultravioleta: PURPURA INTENSO.

Bajo luz UV. con Amoníaco: AMARILLO.

2º. Valor del Rf.

En el solvente TAB = 0.64

En el solvente HOAc al 15% = 0.15

3º. DATOS ESPECTRALES AL ULTRAVIOLETA.

<u>SOLVENTES</u>	$\lambda$ máx.	$\lambda$ min.
CH <sub>3</sub> -OH	334 mu.	288 mu.
CH <sub>3</sub> -ONa	377	303
AlCl <sub>3</sub>	279, 343	294, 386
HCl	278, 342	294, 392
NaOAc	276	360
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	---	---

No se pudo determinar su estructura, pero por el color de la mancha, podría tratarse de un FLAVONOL.

Cuyo azúcar corresponde a la GALACTOSA.

FLAVONOIDE N.º. 5.

1º. Apariencia de la mancha:

Bajo luz ultravioleta: AMARILLO.

Bajo luz UV. con Anoníaco: ANARANJADO.

2º. Valor del Rf.

En el solvente TAB = 0.46

En el solvente HOAc al 15% = 0.07

3º. DAIOS ESPECTRALES AL ULTRAVIOLETA.

<u>SOLVENTES</u>	$\lambda$ máx.	$\lambda$ min.
CH <sub>3</sub> -OH	262, 346 mu.	290 mu.
CH <sub>3</sub> -ONa	394	294
AlCl <sub>3</sub>	273, 418	310
HCl	272, 350	295, 394
NaOAc	275	414
H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	275	---

No se pudo determinar su estructura, pero por el color de la mancha, podría tratarse de una AURONA.

Cuyo azúcar corresponde a la MALTOSA.

TABLA N.º. 1

APARIENCIA DE LA MANCHA DE LOS FLAVONOIDES

FLAVONOIDES.	Luz Visible	Luz UV.	Visible con NH <sub>3</sub>	UV. con NH <sub>3</sub>	Luz Visible con AlCl <sub>3</sub>	Luz UV. con AlCl <sub>3</sub>
N.º. 3 Clorof.	Amarillo	Purpura Intenso	Amarillo	Amarillo Brillante	Amarillo	Amarillo
N.º. 5 Clorof.	Amarillo	Purpura Intenso	Amarillo	Purpura Intenso	Amarillo Pálido	Amarillo
N.º. 3 Ac. E.	Amarillo Pálido	Purpura Intenso	Amarillo	Amarillo Brillante	Amarillo Pálido	Amarillo
N.º. 4 Ac. E.	Amarillo Pálido	Purpura Intenso	Amarillo	Amarillo Brillante	Amarillo Pálido	Amarillo Amarillo
N.º. 5 Ac. E.	Amarillo Brillante	Anaranjado Brillante	Anaranjado	Amarillo Anaranjado	Amarillo Pálido	Verde Amarillo

TABLA N<sup>o</sup>. 2. VALORES DE Rf. DE LOS FLAVONOIDES ESTUDIADOS.

<u>FLAVONOIDES</u>	<u>SOLVENTES</u>		
	TAB	CH <sub>3</sub> -COOH al 15%.	BAU
N <sup>o</sup> . 3 Clorof.	0.85	0.14	0.91
N <sup>o</sup> . 5 Clorof/	0.75	0.07	0.82
N <sup>o</sup> . 3 Ac. E.	0.70	0.27	0.63
N <sup>o</sup> . 4 Ac. E.	0.64	0.15	0.55
N <sup>o</sup> . 5 Ac. E.	0.46	0.07	0.45

REACTIVOS PARA ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA.(3).

- 1º. Metanol Grado Reactivo, purísimo. (Merck).
- 2º. Metóxido de Sodio: (NaOMe): Sodio metálico recién cortado 2.5 gr., se agregó cuidadosamente en pequeñas porciones a 100 ml. de metanol espectroscópico seco. La solución se almacena en un frasco de vidrio con tapon plástico.
- 3º. Cloruro de Aluminio: ( $AlCl_3$ ): 5 gr. de cloruro de aluminio anhidro grado reactivo, se agregó cuidadosamente a 100 ml. de metanol espectroscópico seco.
- 4º. Acido Clorhídrico Concentrado, grado reactivo, 50 ml. se agregó a 100 ml. de agua destilada.
- 5º. Acetato de Sodio: (NaOAc): Solución saturada de Acetato de sodio anhidro, grado reactivo, pulverizado.
- 6º. Acido Bórico: ( $H_3BO_3$ ): Solución de ácido bórico pulverizado, grado reactivo, anhidro.

---

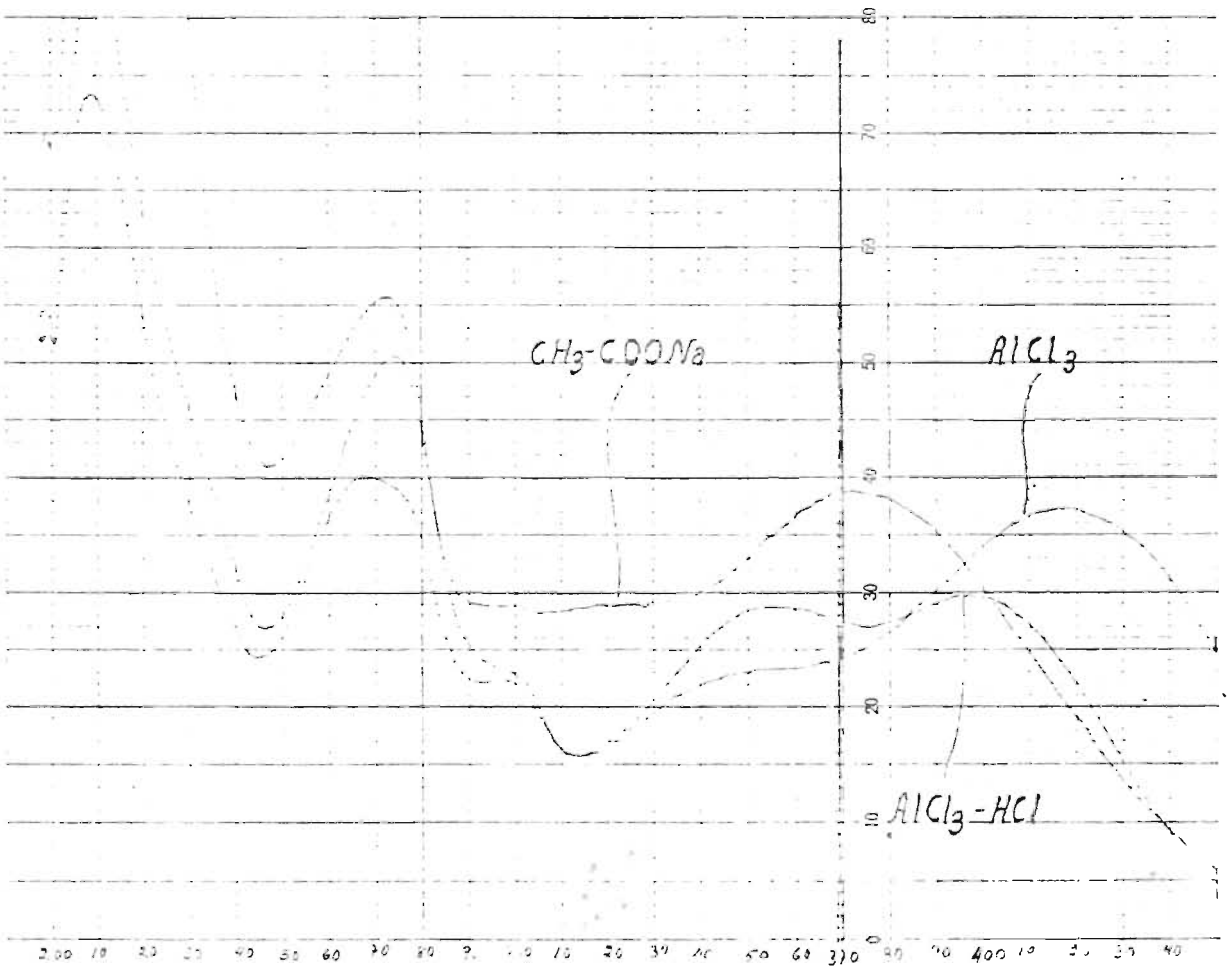
(3). Ver Bibliografía N°. 1 , pág. 21. En Pág. 35.

ESPECTROS

DE

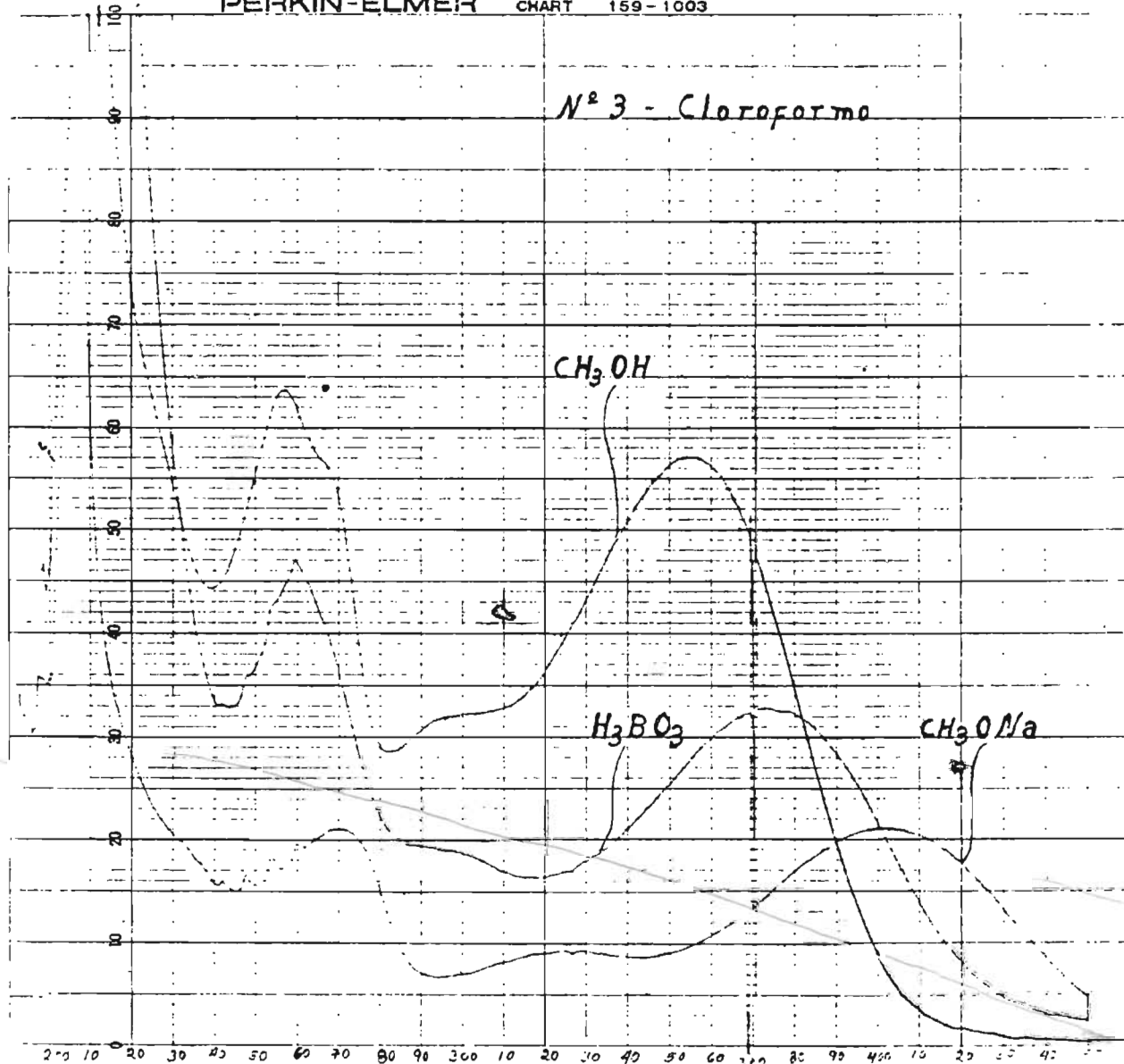
LOS FLAVONOIDES ESTUDIADOS .

N<sup>o</sup> 3 - Clorofar.m<sup>o</sup>





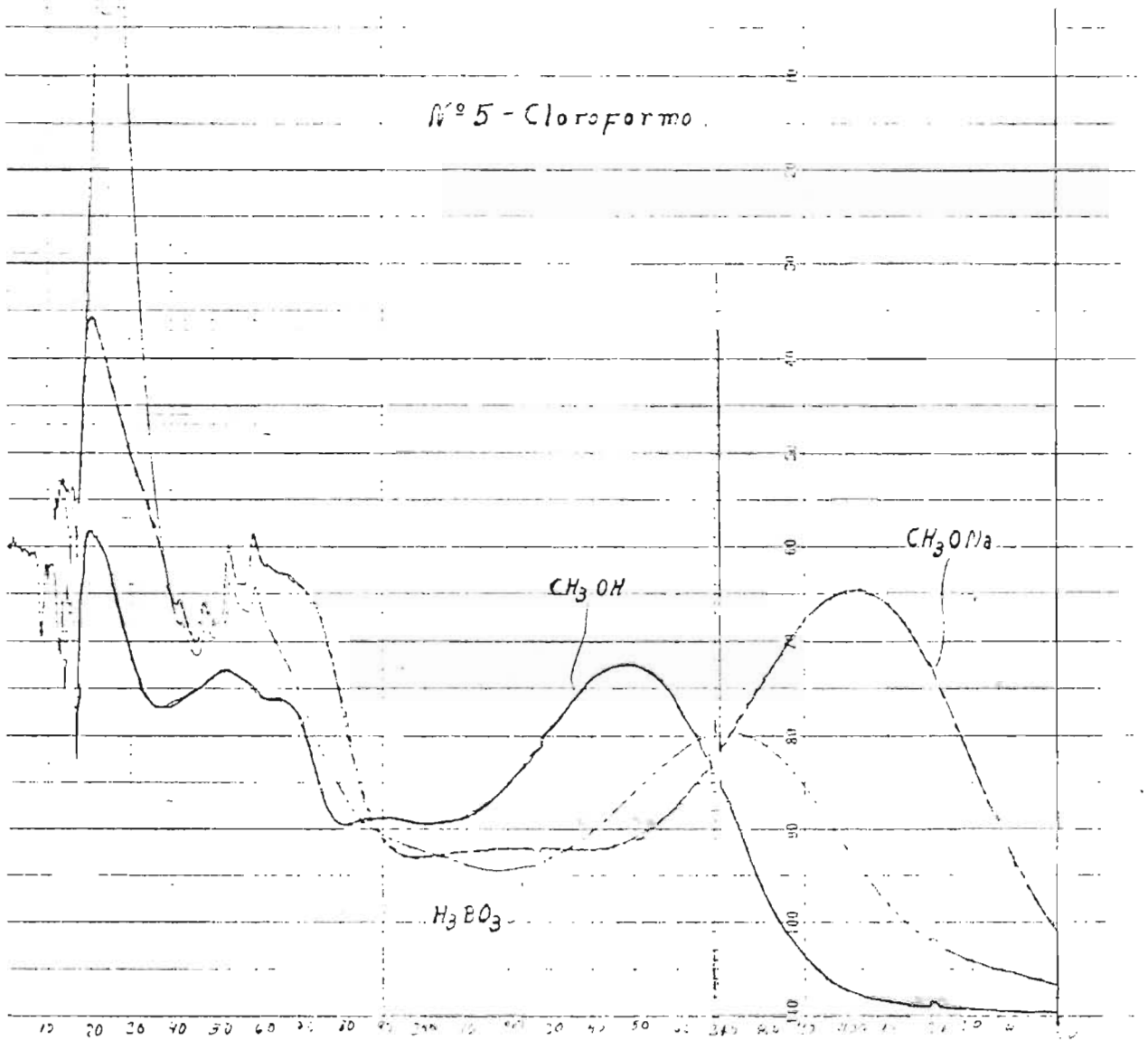
N<sup>o</sup> 3 - Слогоролто



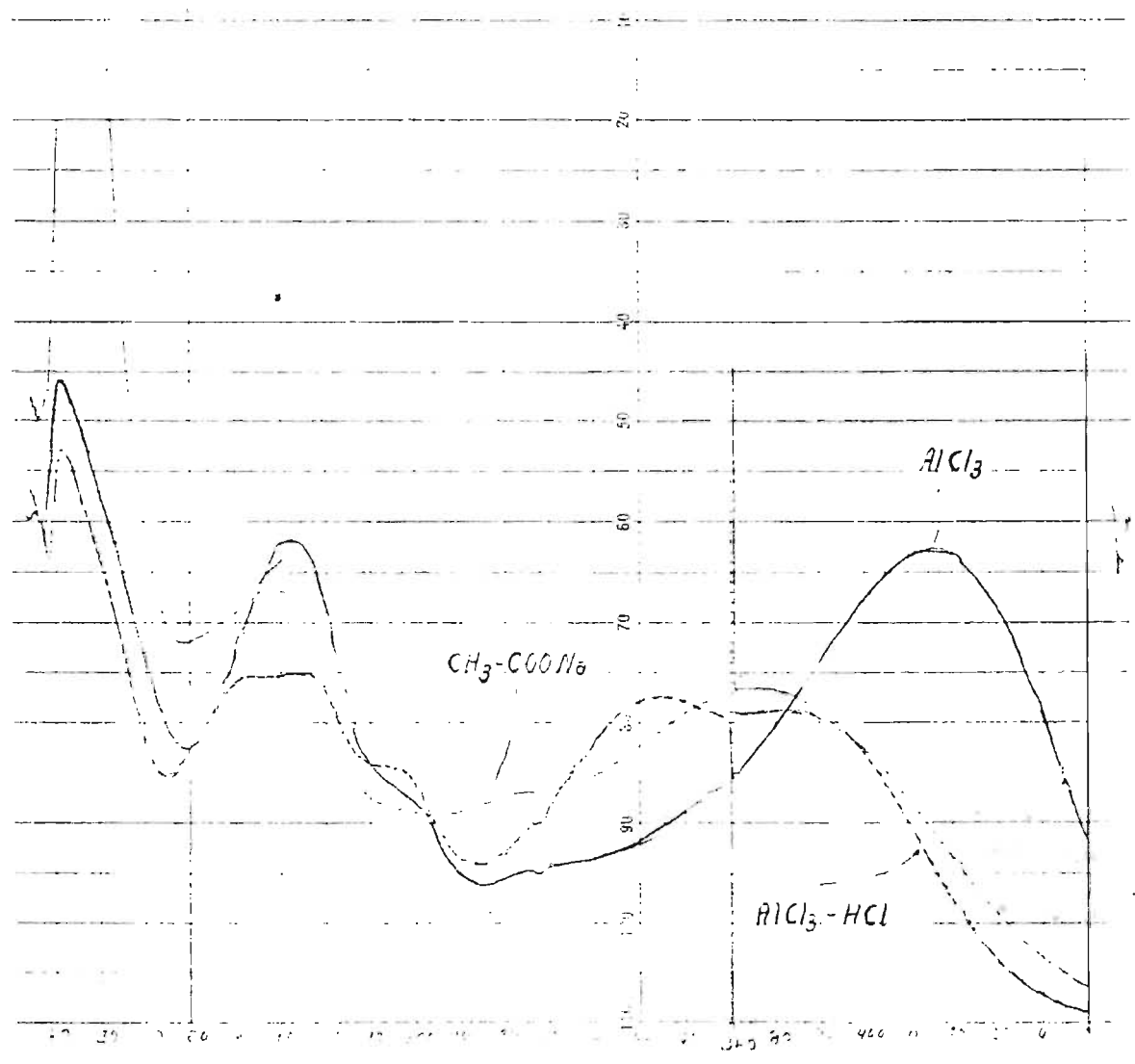
159-224

OF KINLELA

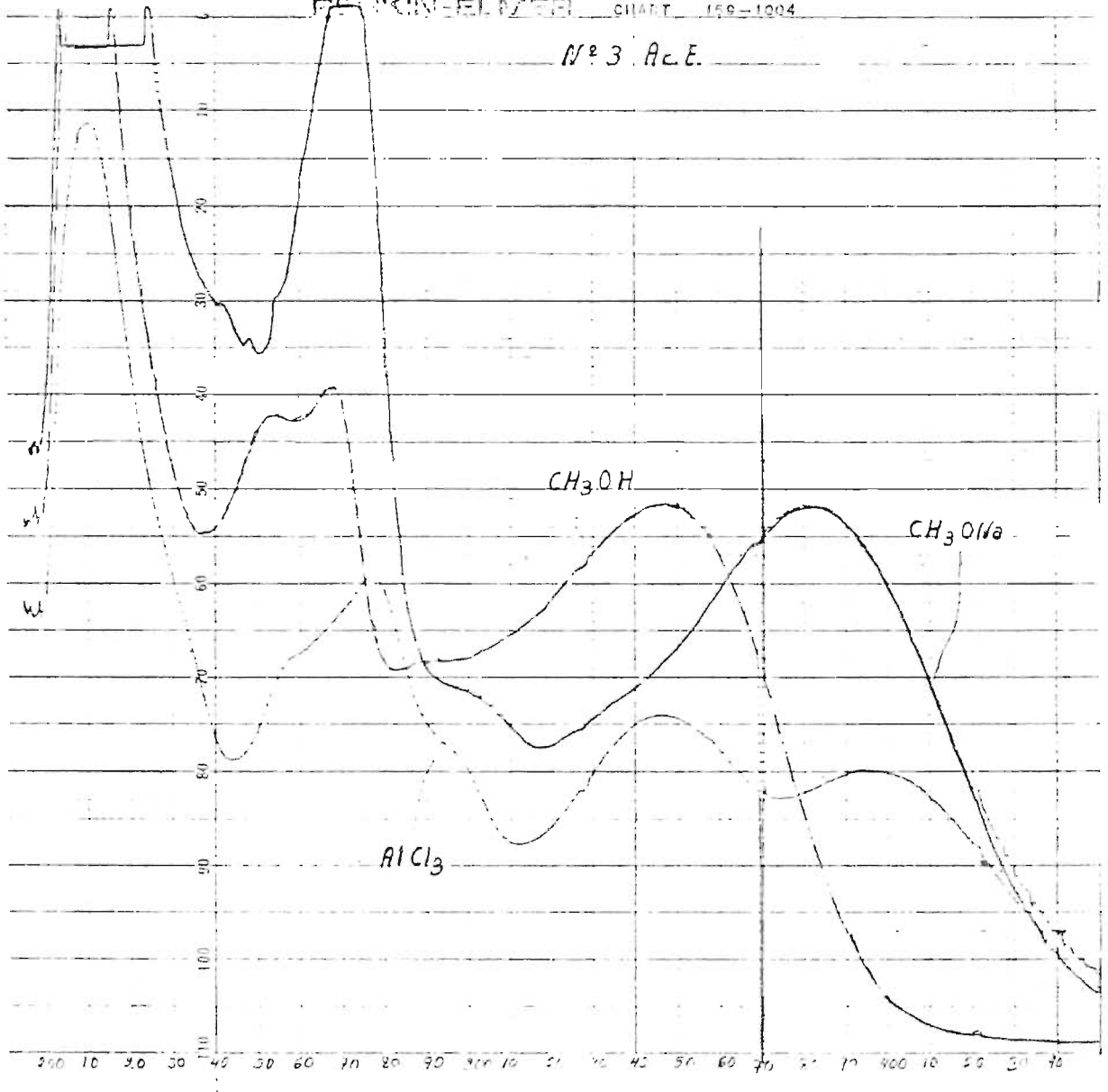
Nº 5 - Cloroformo.



N° 5 - Cloroformo

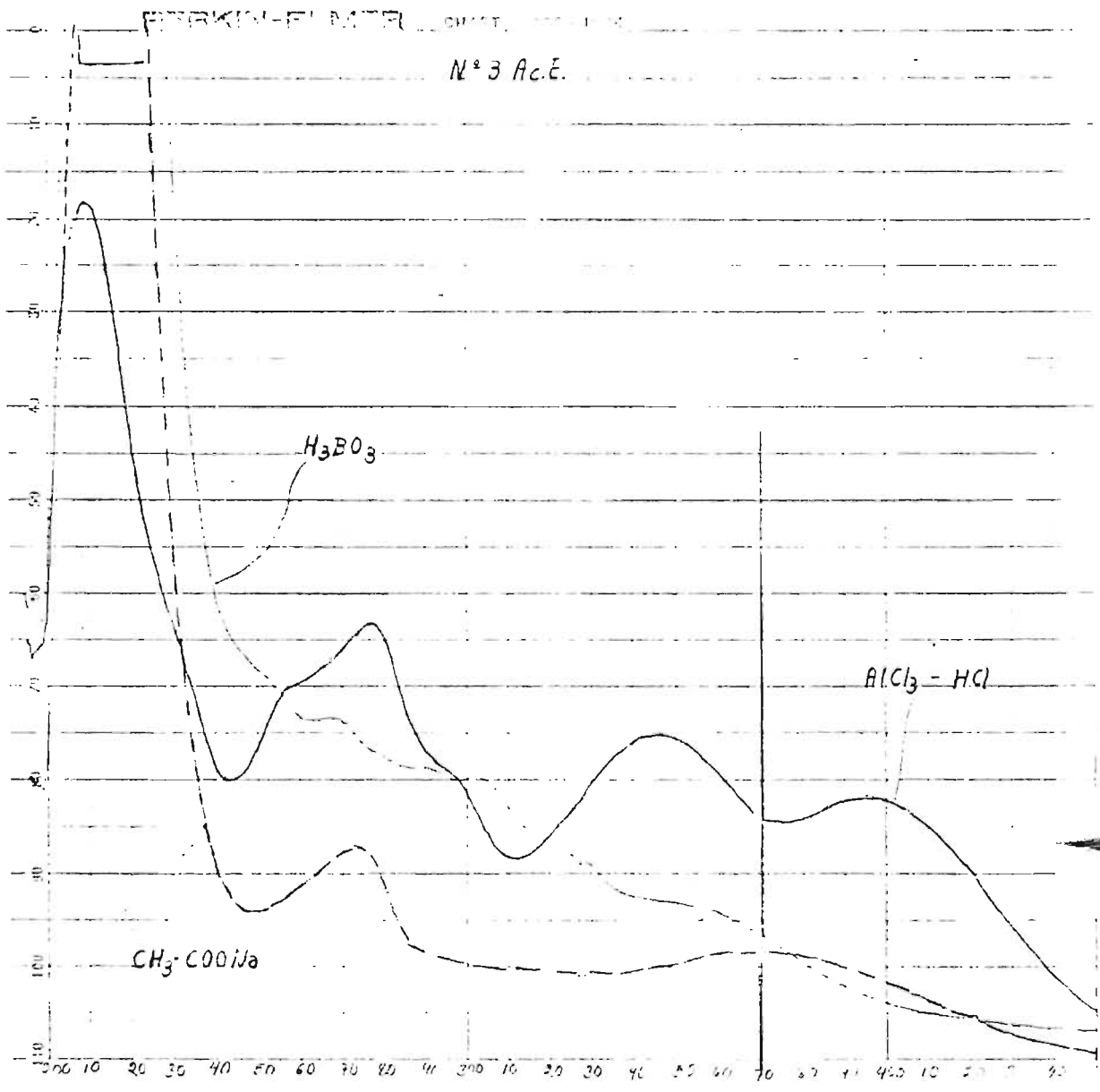


Nº 3 A.C.E.

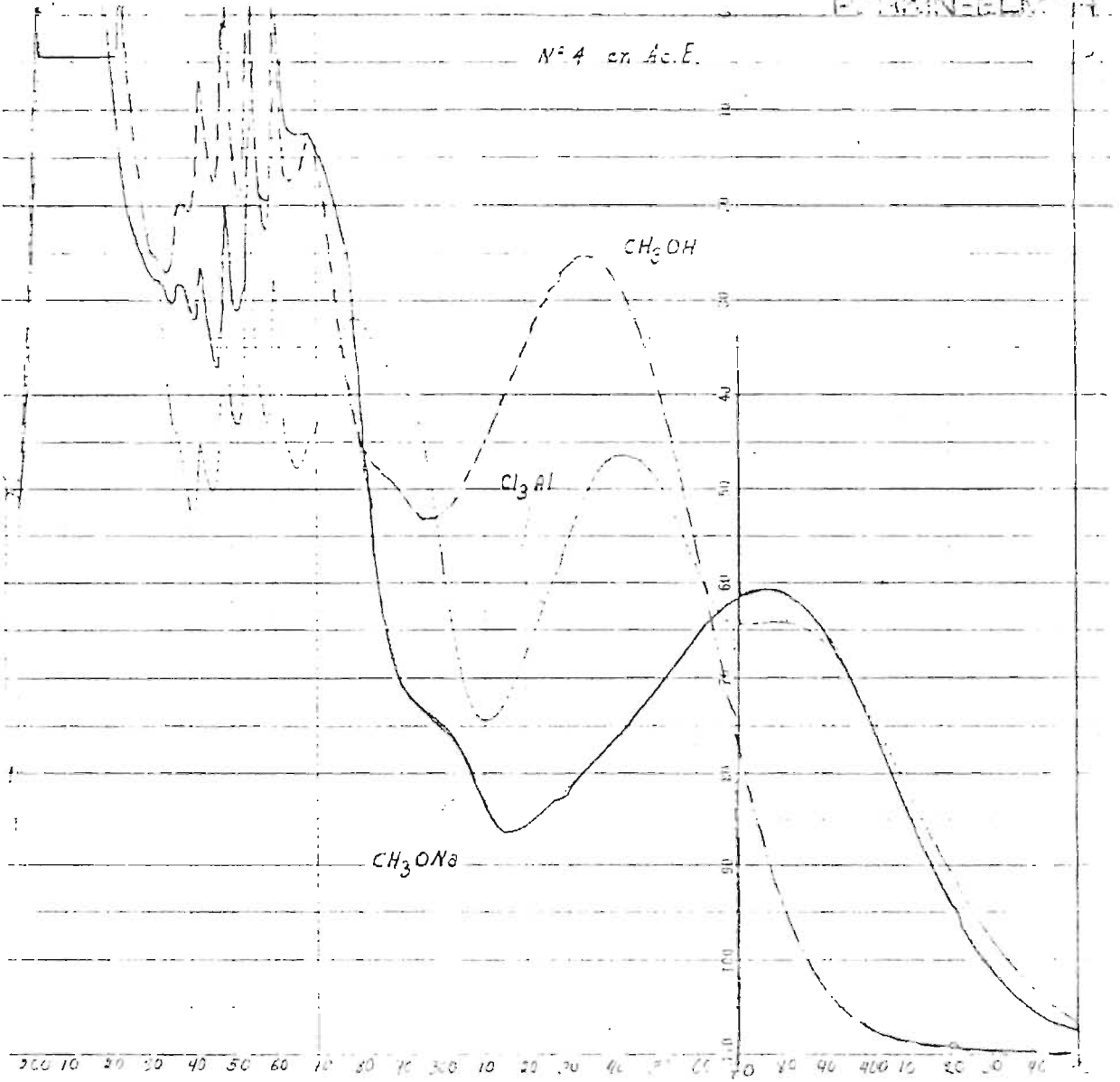


FTIR KBr - FTIR SPECTRUM

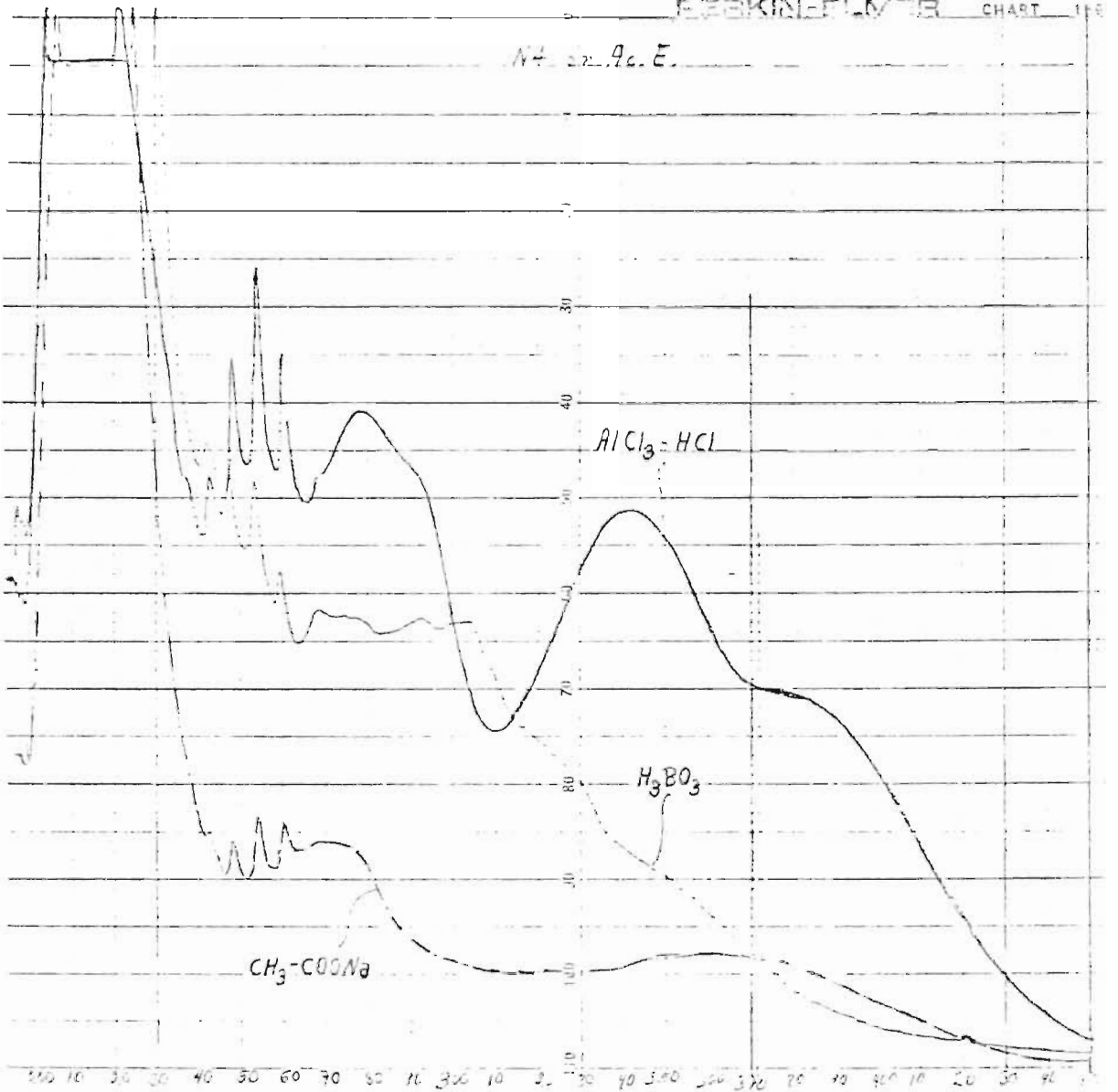
N° 3 Ac.E.



Nº 4 en Ac.E.

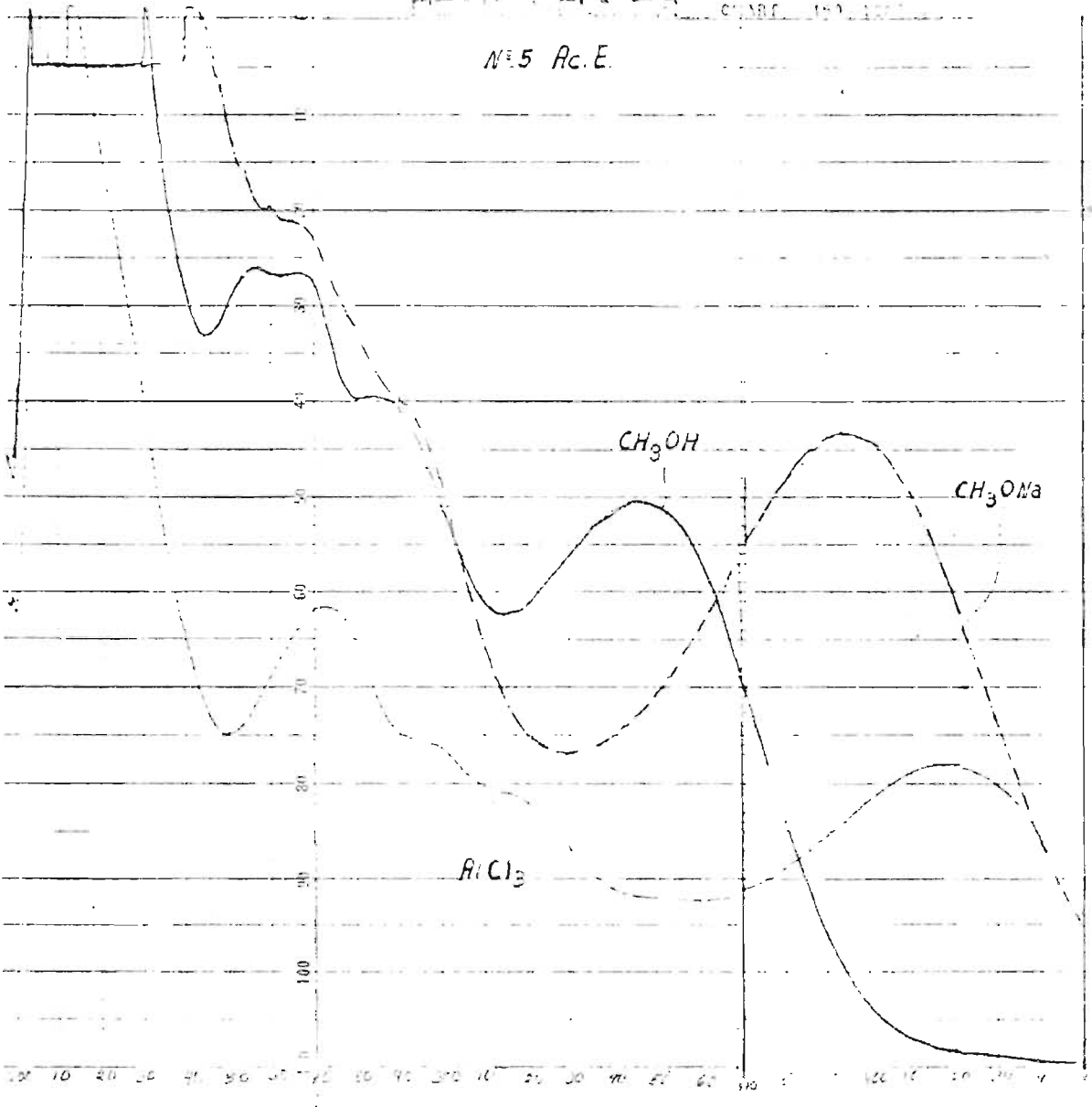


N<sup>o</sup> 22.96.E.



RECIBO DE LA BIBLIOTECA CENTRAL UNIVERSIDAD DEL SALVADOR

Nº 5 R.C.E.



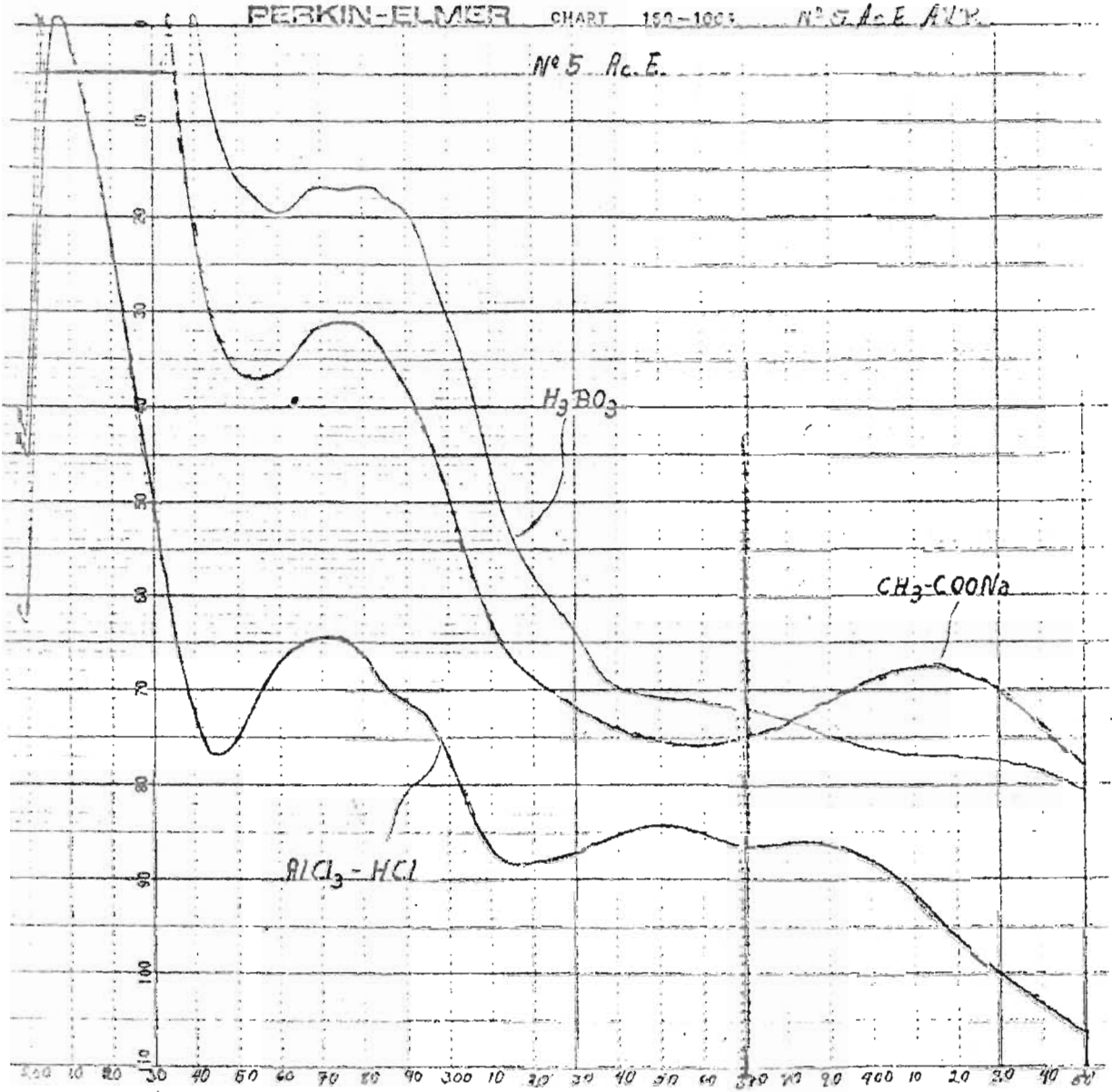


PERKIN-ELMER

CHART 150-1003

Nº 5 Ac.E. ALV.

Nº 5 Ac.E.



CAPITULO IV  
C O N C L U S I O N E S .

1. La especie TRIDAX PROCUMBENS contiene compuestos FLAVONOLICOS de variada polaridad, en los extractos de Cloroformo y Acetato de Etilo.
2. Las FLORES de dicha especie contienen QUERCETINA 3 - METIL ETHER, que presenta como núcleo básico un FLAVONOL .
3. El mejor método para la separación, aislamiento y purificación de FLAVONOIDES fue el de CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PREPARATIVA.
4. La determinación del NUCLEO BASICO de cada FLAVONOIDE se logró con los datos Cromatográficos obtenidos sobre Apariencia de la mancha y Valores de Rf.
5. El Flavonoide QUERCETIN 3 - METIL ETHER se IDENTIFICO por medio de COMPARACION de los resultados obtenidos de la muestra, con los datos Cromatográficos y espectrofotométricos de FLAVONOIDES CONOCIDOS.

## B I B L I O G R A F I A .

1. Bate Smith. Usefulness of Chemistry in Plant Taxonomy as Illustrated by Flavonoid Constituents in Chemical Plant-Taxonomy Ed. T. Swain Academy Press London N. Y. Pág. 129, (1963).
2. Swain, T. Economic Importance of Flavonoid Compounds: Foodstuffs. In Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Ed. T.W. Goodwin, Academic Press London and N. Y. Pág. 546, - 549, (1965).
3. Mabry, T. J.,  
Markham, K. R.,  
and Thomas, M. B. The Systematic Identification of Flavonoids, N. Y., Heidelberg Berlin, Pág. 13, 41, 42, 134, (1970).
4. Dominguez, X. A., Métodos de Investigación Fitoquímica, 1ª edición, Ed. Limusa, Mexico, Pág. 86, (1973).
5. L. García, J. G.,  
Macbryde, B., R., Molina,  
A. Macbryde, H. O., Malesas Prevalentes de América Central, Ed. International Plant Protection Center, Oregon State Pág. 40, (1975).
6. Seikel, M. E., Chromatographic Separation Isolation and Identification of Phenolic Compounds, Ed. J. E. Harbourne, Academic Press London and N. Y. Pág. 51, 56 (1964).
7. Stahl, E., Thin Layer Chromatography, Springer-Verlag-Berlin-Heidelberg, N. Y., Pág. 63, (1969).

8. Roveló Batres, R. A. ,      Comunicación Personal.
9. Lagos, J. A. ,              Compendio de Botánica Sistemática, Ed. Casa Impresora Martínez, San Salv. El Salv. Pág. 244, (1973).
10. Claus, E. P. y  
    Tyler, V. E. ,              Farmacognosia, 5ª edición, Ed. El Ateneo, Argentina, Pág. 124, (1968).