



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES



“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro”

Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson

Trabajo presentado ante la Ilustre Universidad de Los Andes para optar al título de
Licenciada en Bioanálisis

Autor: Gutiérrez Osmary
C.I: 18.578.509
Tutor: Prof. Pérez, C. Alida, A.

Mérida, Diciembre 2019

DEDICATORIA

Este gran paso de mi vida y mi carrera es dedicado A Dios todo poderoso y a la Virgen rosa mística. Por haberme permitido llegar hasta este punto de mi vida y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi compañía durante todo el periodo de mi estudio.

Osmary Gutiérrez

www.bdigital.ula.ve

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a mis padres, Betty Uzcategui y Oscar Gutiérrez, por su apoyo incondicional, por sus palabras de aliento sus consejos, su amor por haberme formado como una mujer de bien y porque siempre serán mi ejemplo a seguir.

A mi esposo Javier Gutiérrez, por regalarme lo más grande que tengo en mi vida, mis hijos. Por su sacrificios y esfuerzos, por creer en mi capacidad, por su amor incondicional, su apoyo y comprensión. Te amo

A Mis hijos Santiago y Orlando porque son el mejor regalo que haya podido recibir de parte de Dios, son mi mayor tesoro y también la fuente más pura de mi inspiración, Gracias a mis hijos por entender que mediante este proceso de estudio, fue necesario realizar sacrificios como momentos a su lado, y otras situaciones que demandaban tiempo, tiempo del cual los dueños eran ellos.

A mi hermana Osbelh Gutiérrez, por sus consejos para que me esforzara en lograr esta meta tan importante en mi vida, agradezco porque a pesar de la distancia siempre me apoyo y ayudo a terminar la tesis gracias hermanita te amo.

Gracias de corazón a mi Tutora Alida Perez, por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento. Ha hecho fácil lo difícil. Ha sido un privilegio poder contar con su guía y ayuda.

A mis amigas Lilibeth, Ysamar, Zurima, por siempre estar en la buena y malas, son excelente compañeras, dios las bendiga y permita que alcancen todos sus propósitos.

A la ilustre Universidad De Los Andes, al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” y a todos sus profesores, por permitirme formarme en mi carrera impartiendo sus conocimientos y apoyándome en etapas claves.

Tabla de Contenido

	Pág.
Índice de Tablas.....	I
Índice de Figuras.....	II
Índice de Gráficos.....	III
Resumen.....	IX
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	
Planteamiento del Problema.....	4
Justificación e Importancia de la Investigación.....	6
Objetivos de la Investigación.....	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos.....	8
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	9
Alcances de la Investigación.....	9
Limitaciones de la Investigación.....	9
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
Trabajos Previos.....	10
Antecedentes Históricos.....	12
Bases Teóricas.....	13
Familia Bignoniacea.....	13
Género <i>Tabebuia</i>	15
<i>Tabebuia serratifolia</i> (Vahl) G. Nicholson.....	24
Productos Naturales.....	31
Extractos Vegetales.....	36
Análisis Fitoquímico.....	38
Antioxidantes.....	44
Estrés oxidativo.....	47

Actividad antioxidante.....	48
Definición Operacional de Términos.....	53
Operacionalización de Variables.....	54
Hipótesis.....	56
CAPÍTULO III. MARCO METODOLOGICO	
Tipo de Investigación.....	57
Diseño de Investigación.....	58
Población y Muestra.....	58
Unidad de Investigación.....	58
Selección del Tamaño de la Muestra.....	58
Operacionalización de Variables.....	59
Instrumento de Recolección de Datos.....	59
Procedimientos de la Investigación.....	59
Recolección y Preparación del Material Vegetal.....	59
Obtención de los Extractos.....	61
Análisis Fitoquímico Preliminar.....	61
Determinación de la Actividad Antioxidante.....	64
Concentración Inhibitoria Media (CI ₅₀).....	65
CAPÍTULO IV. Resultados y Discusión	
Estudio Fitoquímico.....	66
Actividad Antioxidante.....	69
CAPÍTULO V. Conclusiones y Recomendaciones	
Conclusiones.....	75
Recomendaciones.....	76
BIBLIOHEMEROGRAFÍA.....	77

Índice de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Actividades farmacológicas y metabolitos secundarios bioactivos del género <i>Tabebuia</i>	18
Tabla 2. Variable dependiente. Actividad antioxidante de los extractos de acetona y etanol de la corteza de <i>Tabebuia serratifolia</i>	54
Tabla 3. Variable independiente. Caracterización fotoquímica de los extractos de la corteza de <i>Tabebuia serratifolia</i>	55
Tabla 4. Resultados de la caracterización fitoquímica de la corteza de <i>Tabebuia serratifolia</i>	67
Tabla 5. Resultados obtenidos de la actividad antioxidante <i>in vitro</i> por el método de secuestro del radical 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH).....	70
Tabla 6. Datos para Curva de Calibración con Ácido Ascórbico.....	71
Tabla 7. Valores de Concentración Inhibitoria Media (CI ₅₀) de los extractos de la corteza de <i>Tabebuia serratifolia</i>	72

Índice de Figuras

	Pág.
Figura 1. Compuestos aislados de la familia Bignonaceae.....	15
Figura 2. Compuestos bioactivos aislados del género <i>Tabebuia</i>	24
Figura 3. Naftoquinonas con actividad citotóxica aisladas de <i>T. avellanadae</i>	27
Figura 4. <i>T. serratifolia</i>	28
Figura 5. Compuestos químicos identificados para la especie <i>T. serratifolia</i> .	31
Figura 6. Fundamento químico de la reacción de Lieberman-Bourchard.....	39
Figura 7. Fundamento químico de la reacción de Shinoda.....	40
Figura 8. Fundamento químico de la reacción de Erlich.....	42
Figura 9. Fundamento químico de la reacción de Borntrager.....	42
Figura 10. Fundamento químico de la Reacción con FeCl ₃	43
Figura 11. Procesos degenerativos y enfermedades.	47
Figura 12. Mecanismo de acción del radical (DPPH).....	51
Figura 13. Corteza de <i>Tabebuia serratifolia</i>	60
Figura 14. Ubicación geográfica de la ciudad de Upata.....	61
Figura 15. Caracterización fitoquímica de los extractos de la corteza de <i>Tabebuia serratifolia</i>	68

Índice de Gráficos

	Pág.
Grafico 1. Actividad antioxidante de los extractos de <i>Tabebuia serratifolia</i> y el ácido ascórbico.....	70
Grafico 2. Curva de calibración de Ácido Ascórbico.....	72

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES FACULTAD DE
FARMACIA Y BIOANÁLISIS ESCUELA DE
BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usabillaga Del Hierro”



Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G.

Nicholson

Autor: Gutiérrez Osmary

C.I: 18.578.509

Tutor: Prof. Pérez C. Alida A.

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinó la composición química y actividad antioxidante de los extractos de hexano, acetona y etanol de la corteza de *Tabebuia serratifolia*. Se efectuaron una serie de pruebas químicas cualitativas que permitieron establecer la presencia de esteroides en el extracto de hexano, asimismo, se evidenció que los extractos de acetona y etanol contenían alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y quinonas. Se realizó un barrido inicial para determinar la actividad antioxidante, se usaron los extractos de acetona y etanol de la corteza de *T. serratifolia* a una concentración de 1000 $\mu\text{g/mL}$ y se comparó con el ácido ascórbico, obteniendo que el porcentaje de inhibición frente al radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]) resultó de 94,89 % para el extracto de acetona y 94,83 % para el extracto de etanol, mientras que para el ácido ascórbico fue de 95,83 %. Posteriormente se determinó la concentración inhibitoria media (CI₅₀), siendo de 80,91 $\mu\text{g/mL}$ y 84,25 $\mu\text{g/mL}$ para el extracto de acetona y etanol, respectivamente. En tal sentido, se concluye que los extractos de la corteza de *T. serratifolia* poseen metabolitos secundarios con actividad antioxidante. Este es el primer reporte de esta actividad sobre la especie estudiada, por lo cual esta investigación contribuye al conocimiento de la fitoquímica y actividad biológica de *T. serratifolia*.

Palabras claves: Bignonaceae, *Tabebuia serratifolia*, actividad antioxidante, DPPH.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los antioxidantes naturales provenientes de plantas han sido frecuentemente usados en diferentes campos de la industria farmacéutica como preservantes en alimentos y en medicina. Muchos de estos compuestos como la quercetina, α -tocoferol y el β -caroteno, entre otros, son antioxidantes naturales, que presentan una actividad comparable con antioxidantes sintéticos de mayor uso como el 2-terbutil-hidroxitolueno (BHT) y el 2-terbutil-hidroxianisol (BHA); los cuales presentan la desventaja de ser tóxicos (Mesa, Gaviria, Cardona, Sáez, Trujillo, Rojano 2010). Los antioxidantes protegen el organismo de los radicales libres desactivándolos y minimizando el daño que producen las especies reactivas de oxígeno (ERO) que pueden ocasionar deterioro a nivel celular, aumentando el riesgo al desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, estrés oxidativo y otras enfermedades degenerativas, todo esto ha contribuido al aumento de sustancias de origen natural con propiedades antioxidantes (Padilla, Rincón, Rached, 2008).

Por otra parte, el estrés oxidativo surge de sistemas biológicos después de una prolongada exposición a oxidantes, o a una disminución de la capacidad antioxidante del sistema, o a ambas; y está frecuentemente asociado con la generación de radicales libres como las especies reactivas de oxígeno, las cuales están fuertemente implicadas en la patología de enfermedades como el cáncer, enfermedades cardíacas, arterosclerosis; enfermedades cerebrales y el envejecimiento prematuro, entre

otras. Cuando un exceso de radicales libres se forma, puede causar la inhibición de enzimas como la superóxido dismutasa, catalasas y peroxidasas. Esto genera efectos letales en las células por la oxidación de lípidos, proteínas, ADN y enzimas; ocasionando reacciones en cadena que perpetúan la producción de más radicales libres y aumenta el daño de tejidos. Sin embargo, los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de inhibir o interrumpir las reacciones de transformación que causan daños a las mencionadas biomoléculas (Mesa y col, 2010).

Por lo tanto, los antioxidantes naturales están obteniendo más atención en términos de uso práctico como compuestos bioactivos seguros y potentes. Se ha informado que las propiedades de eliminación de especies reactivas de oxígeno, se deben principalmente a la presencia de flavonoides, polifenoles y carotenoides. Por tal motivo las plantas medicinales enriquecidas con antioxidantes, pueden contribuir a la protección contra diversas enfermedades (Mahbubur, Sakhawat, Golam, Ali, Mosaddik y Khurshid, 2019)

La situación económica actual, el deterioro del poder adquisitivo de las clases más desposeídas, la crisis de los servicios de atención a la salud y una medicina cada día más costosa, han hecho que se incremente el uso de las plantas como una alternativa válida para enfrentar el proceso salud-enfermedad; práctica que se ve reforzada por el hecho de ser medicamentos de eficacia comprobada. En relación con el uso de las plantas existe un gran desconocimiento sobre como emplearlos, sus

principios tóxicos y su dosificación para lograr efectos terapéuticos (Fonnegra y Jimenez, 2007).

En Venezuela, han sido pocos los estudios sobre el género *Tabebuia*, por ello la finalidad de esta investigación es determinar la actividad antioxidante de *Tabebuia serratifolia*, con el fin de caracterizar el potencial reductor de esta plantas y poder ampliar su uso en diferentes enfermedades donde los procesos oxidativos sean relevantes (Acosta, 2008).

En relación a lo expuesto anteriormente, el presente trabajo de investigación se ha estructurado de la siguiente manera: *Capítulo I*, denominado El Problema, contiene los siguientes elementos: Planteamiento del Problema, Justificación, Objetivos, Alcances y Limitaciones de la Investigación. *Capítulo II*, llamado Marco Teórico abarca: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Operacionalización de Variables e Hipótesis. *Capítulo III*, titulado Marco Metodológico comprende los siguientes puntos: Tipo y Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Instrumento de Recolección de Datos y Procedimientos de la Investigación. *Capítulo IV*, denominado Resultados y Discusión. *Capítulo V*, llamado Conclusiones y Recomendaciones.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

En el organismo del ser humano se producen procesos oxidativos que dan lugar a radicales libres, estas moléculas pueden lesionar las células y aceleran el envejecimiento celular. Los organismos de las personas están expuestos a agentes externos e internos que producen dichos radicales libres, como el metabolismo de los alimentos, la respiración y los ejercicios, así como elementos externos provocados por la evolución industrial, tabaco, radiación, alimentos aditivos químicos en los alimentos procesados y pesticidas (Sánchez y Méndez, 2013).

El estrés oxidativo que genera radicales libres en el organismo tiene efectos negativos sobre las células del cuerpo estos efectos son particularmente visibles en la piel. La naturaleza es sabia, el cuerpo se protege de la oxidación de las células produciendo moléculas capaces de eliminar los radicales libres, limitar su proliferación y reparar ciertos ataques celulares (Sánchez y Méndez, 2013).

El estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un

incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno (Venereo, 2002).

De Gálvez (2010), señala la preocupación del mundo científico al daño generado por el estrés oxidativo en todos los ámbitos de la salud y especialmente en la piel, lo cual ha incrementado la búsqueda permanente de sustancias antioxidantes que actúen tanto por vía tópica como sistémica. Es por ello que los extractos de plantas con propiedades antioxidantes son de gran interés en el campo de la fitocosmética porque presentan moléculas que inactivan las ERO restaurando la homeostasis de la piel (Reis, Guimaraes y Cerqueira, 2016).

Lo expuesto anteriormente resalta la importancia de ésta investigación porque aprovecha la extraordinaria variedad de recursos naturales de nuestro país, desarrollando productos con valor agregado, los cuales brinden efectos curativos y/o preventivos frente a enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Por lo descrito anteriormente, en la presente investigación se derivan las siguientes interrogantes:

¿Cuál es la composición química de la corteza de *Tabebuia serratifolia*?

¿Los extractos obtenidos de *T. serratifolia* tendrán actividad antioxidante?

Justificación de la Investigación

El cuerpo humano mediante su funcionamiento metabólico normal genera especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales al encontrarse en exceso pueden causar daños a macromoléculas biológicas como ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas (Gómez, Prieto y Heinrich, 2009). Estos daños se han asociado al desarrollo de padecimientos como cáncer, estrés oxidativo, enfermedades cardiovasculares, visuales y desordenes inmune y neurodegenerativos (Sánchez y Méndez, 2013).

Los antioxidantes previenen la formación de ERO en cantidades perjudiciales para el organismo humano, estimula los mecanismos de reparación endógenos al daño causado por el ataque de ERO o suministra entidades químicas que aumentan la capacidad endógena de secuestro de radicales libres formados en exceso en el organismo (Sánchez y Méndez, 2013).

A raíz de la exposición crónica a las radiaciones ultravioleta (UV), agentes químicos e industriales, la piel reacciona presentando mecanismos de defensa antioxidantes que podría verse afectado por las ERO, cuando los mecanismos de defensa están desequilibrados generando así estrés oxidativo que daña las membranas celulares, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos promoviendo su oxidación (Reis y col, 2016).

Estudios previos reportan el efecto de la radiación ultravioleta (UV) en la producción de ciertos metabolitos secundarios en diferentes especies botánicas, concluyendo que los compuestos fenólicos son unas de las sustancias que contribuyen

a la resistencia y protección de las plantas frente a la radiación UV (Eichholz, Rohn y Gamm, 2012).

Adicionalmente, resaltan las propiedades antioxidantes que se le atribuyen a los flavonoides, ya que capturan las ERO, protegiendo las plantas de la oxidación generada por la radiación UV, esto debido a la conformación estructural que presentan dichos compuestos, donde los grupos hidroxilos fenólicos pueden actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno, desactivadores de oxígeno, eliminadores de radicales superóxido e incluso como quelantes metálicos (Eichholz, Rohn y Gamm 2012).

La demanda de extractos ricos en derivados fenólicos se ha convertido en un paso importante para el descubrimiento de nuevas moléculas antioxidantes. En cuanto a lo mencionado se ha propuesto el estudio de los efectos de *Tabebuia serratifolia* en la búsqueda de nuevas fuentes de sustancias con propiedades antioxidantes y de este modo hacer un aporte al conocimiento químico y farmacológico del género *Tabebuia* (Bignoniaceae).

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Confirmar la composición química y la actividad antioxidante de los extractos de la corteza de *Tabebuia serratifolia*.

Objetivos Específicos

- Obtener los extractos de *T. serratifolia* mediante maceración utilizando solventes en orden de polaridad creciente (hexano, acetona, etanol).
- Identificar mediante pruebas químicas cualitativas los metabolitos secundarios presentes en los extractos mencionados anteriormente.
- Evaluar la actividad antioxidante de *T. serratifolia* a través del método de actividad secuestrante del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH[•]).
- Determinar la concentración inhibitoria media (CI₅₀) de los extractos que resulten activos.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

El logro de esta investigación está relacionado con la actividad antioxidante que poseen los extractos de *T. serratifolia* para proponer una alternativa terapéutica natural y de bajo costo para ser utilizada como tratamiento preventivo de los efectos producidos por agentes oxidantes.

Limitaciones de la Investigación

Las limitaciones estuvieron constituidas por factores externos al equipo de investigadores, convirtiéndose en obstáculos que se presentaron durante el desarrollo de la investigación; estas limitaciones se reflejaron en los elevados costos de los reactivos, fallas de electricidad, internet, agua y transporte.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Villarreal y col (2017), investigaron la actividad antibacteriana y antioxidante de especies pertenecientes a la familia Bignoniaceae, entre las cuales destacan *Spathodea campanulata* Beauv, *Podranea ricasoliana* (Tanfani) Sprague, *Tecoma stans* (Linn.) y *Jacaranda mimosifolia* D, presentes en el estado Mérida–Venezuela. Con respecto a la actividad antioxidante se determinó mediante el test cuantitativo de DPPH, dando como resultado que el extracto de diclorometano de las flores de la *S. campanulata* presentó una concentración inhibitoria media (CI₅₀) de 940 µg/mL. Se evidenció una actividad dependiente de la concentración hasta 1500 µg/mL, con un % de Inhibición de 92 % ± 1 comparado con un 97 % ± 0,09 obtenido para el ácido ascórbico a una concentración de 176 µg/mL utilizado como control positivo. Sobre este fundamento se puede decir que el extracto de diclorometano de las flores de la especie *S. campanulata* tiene una gran actividad antioxidante.

Mahbubur, Badrul, Biswasa y Khurshid (2015), analizaron las propiedades antioxidantes de los extractos metanólicos *Tabebuia pallida*, utilizaron los tallos (TPSB), raíz (TPRB), hojas (TPL) y flores (TPF). Por el método basado en DPPH y

Antecedentes Históricos

Los seres humanos necesitan oxígeno (O_2) para la producción de energía. Sin embargo, el exceso de O_2 en las células es nocivo debido a la formación de especies reactivas generadas durante su oxidación. En el año 1954, Denham Harman, según cita Dröge, (2002), sugirió que los radicales libres eran agentes tóxicos y generadores de patologías crónicas de gran prevalencia como las enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares, el cáncer y la diabetes (Dröge, 2002). Estas enfermedades se caracterizan por un elevado nivel de estrés oxidativo, que puede ser debido bien a una sobreproducción de especies reactivas o a una disminución de las defensas antioxidantes (Halliwell, 2001).

El impacto que tienen los radicales libres y su neutralización en la salud, quedó evidenciado en 1992 cuando se llevó a cabo un estudio en el que se evaluó la incidencia de enfermedades coronarias en la población francesa, una población con una dieta rica en grasas saturadas. Los resultados indicaron una baja incidencia de esta enfermedad y lo atribuyeron al consumo moderado de. Desde entonces se han realizado otros estudios en el que se asocia el consumo moderado de vino con un menor riesgo de mortalidad por enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. Todos estos análisis suponen una evidencia epidemiológica sobre la acción de compuestos antioxidantes que actúan previniendo estas enfermedades, sin embargo no existe consenso en cuanto al mecanismo de acción vino (Renaud, Guergen, Siest y Salomon 1999).

En tal sentido, es entonces razonable pensar que los compuestos antioxidantes, a los que muchos autores se refieren como “radical scavengers” puedan ser una herramienta terapéutica útil para promover la salud (Gronback, Deis, Soresen, Becjer, Schnohr y Jensen 1995).

Bases Teóricas

Familia Bignoniaceae

La familia Bignoniaceae está ubicada en el orden Lamiales (Stevens, 2001), se estima que divergió de Verbenaceae y que probablemente es Neotropical, está representada por unos 110 géneros y más de 800 especies (Gentry, 1982, 1992). En Venezuela conforman un grupo importante de la flora, ya que sus géneros son 29 y unas 157 especies, incluyendo 2 endémicas (Garcez, 2005), de las cuales, muchas son utilizadas como plantas ornamentales, principalmente en parques, jardines y plazas del país, debido a su hábito trepador y arbóreo, además de los vistoso de sus flores (Gentry 1992). Taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera (León y Williams 2007):

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ Filo: Tracheophyta
- ✓ Subfilo: Angiospermae
- ✓ Clase: Magnoliopsida
- ✓ Orden: Lamiales
- ✓ Familia: Bignoniaceae

Esta familia se encuentra ampliamente distribuida desde Trinidad y Tobago, Granada, México, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, El Salvador, Guyana, Brasil, Bolivia, Perú hasta Paraguay. En Colombia se halla en la ribera del Río Cauca, Magdalena medio, La Amazonía, Vaupés, la zona de Urabá, Serranía de los Motilones y los montes de Oca en la Guajira. En Venezuela: Amazonas, Anzoátegui, Apure, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Delta Amacuro, Miranda, Sucre, Táchira y Trujillo (Hokche, Berry y Huber 2008).

Aspectos químicos y farmacológicos de la familia Bignonaceae

Algunos autores señalan que las especies de la familia Bignonaceae representan una valiosa fuente de compuestos químicos como naftoquinonas del tipo lapachol, iridoides, alcaloides, flavonas, triterpenos, polifenoles, glucósidos fenilpropanoides antraquinonas y taninos que poseen actividades farmacológicas como: antiinflamatoria, antimicrobiana, antifúngica, antiviral, antiparasitaria y anticancerígena (Mukche, Paul y Berry, 2008).

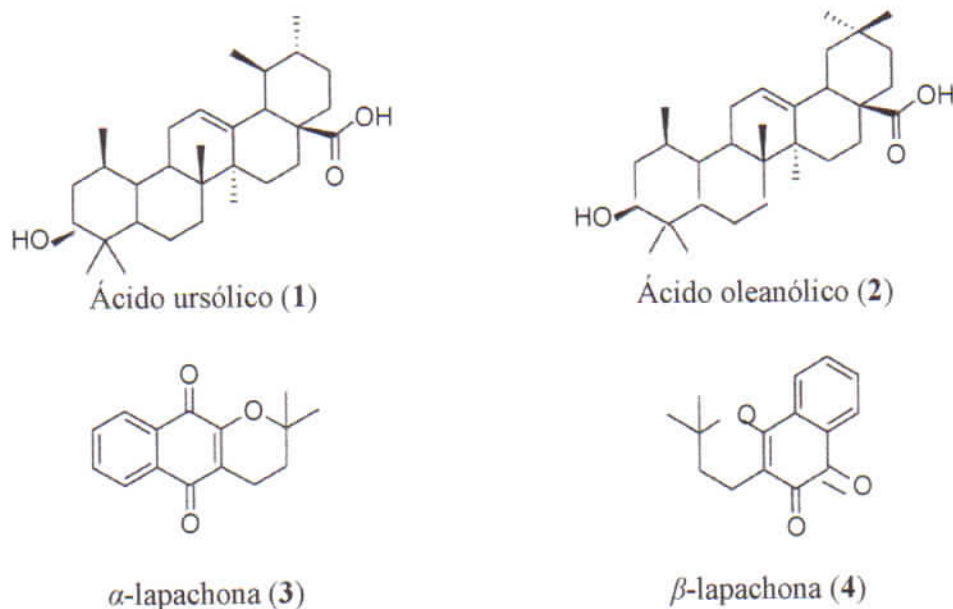
Se han reportado un número notable de sustancias bioactivas de las plantas de la familia Bignoniaceae. Según se informa, estos compuestos poseen una serie de actividades importantes, que son beneficiosas para la salud, entre las cuales se pueden mencionar, la actividad molusquicida, tripanocida, larvicida, antioxidante, antidiabética, antiplasmódica, antiinflamatoria, inmunoestimulante, antimicrobiana, antidepresiva, actividades anticancerígenas, antinociceptivas y neurotróficas. Entre

los diversos componentes reportados se encuentran el ácido ursólico (1), ácido oleanólico (2), α - y β -lapachona (3-4), lapachol (5), lupeol (6), quercitrina (7) y apigenina (8) (Figura 1) (Rahmatullah y col, 2010).

El lapachol ha sido aislado a partir de un gran número de especies pertenecientes a esta familia, siendo muy poco probable su presencia en otras plantas. Estudios realizados por el Centro Nacional para la Quimioterapia del Cáncer (CCNS) de los Estados Unidos en 1968 demostraron una actividad significativa de este compuesto contra el carcinosarcoma, lo evaluaron en 256 ratas cuando se administró por vía subcutánea, intraperitoneal, intramuscular y oral, presentando esta última la mayor actividad (Castillo, Gómez, Estrada, Rodríguez y Domingo, 1996).

www.bdigital.ula.ve

Figura 1. Algunos compuestos aislados de la familia Bignonaceae.

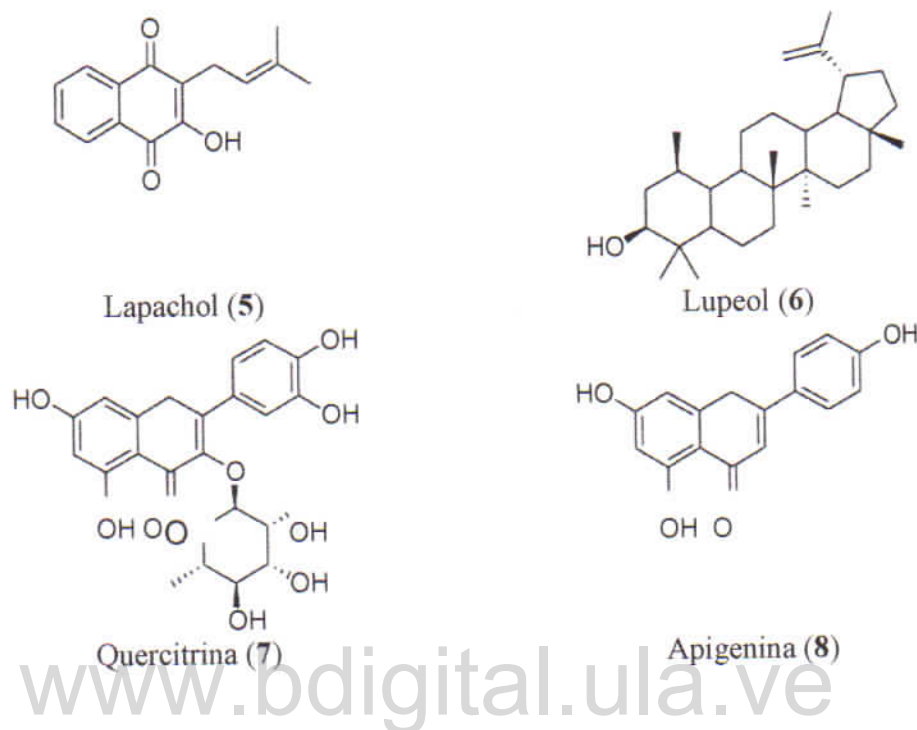


la actividad de eliminación de radicales hidroxilo, el TPL mostro una fuerte actividad de eliminación ($91,05 \pm 1,10$ y $62,00 \pm 0,57$) con una CI_{50} de $9,20 \pm 0,28$ y $46,00 \pm 2,48$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. En este estudio se concluyó que el extracto TPL mostró la capacidad antioxidante más alta, seguida de TPRB, TPF y TPSB.

Lobato, Tapajos y Da Silva (2014), realizaron un estudio que tuvo como objetivo llevar a cabo el análisis fitoquímico de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Bignoniaceae), para evaluar la presencia de los principales grupos de metabolitos secundarios extracto etanólico. En el análisis cualitativo de *T. serratifolia*, permitió establecer la presencia de alcaloides, depsidos y depsidonas, saponinas, fenoles y taninos y la ausencia de antraquinonas, catequinas y purinas.

Govindappa, Channabasava, Sunil y Pushpalatha (2013), evaluaron la actividad antioxidante *in vitro* y determinaron los metabolitos secundarios producidos por extractos de endófitos crudos de *Tabebuia argentea*. Se aislaron diferentes hongos endófitos de diferentes partes de la planta y sus extractos fueron evaluados para determinar sus propiedades antioxidantes y composición química. El análisis fitoquímico de los extractos metanólicos de los endófitos reveló la presencia de saponinas, compuestos fenólicos, antraquinonas, flavonoides, esteroides, glicósidos cardíacos y taninos. La actividad antioxidante se evaluó mediante varios métodos. La máxima actividad de los extractos de endofitos a 1000 $\mu\text{g/mL}$ fue de $96,48$ % (*A. niger*), $83,84$ % (*Penicillium sp.*) y $80,97$ % (*Trichoderma sp.*).

Figura 1. Algunos compuestos aislados de la familia Bignonaceae (Continuación)



Género *Tabebuia*

Tabebuia spp (Bignoniaceae) es un género que se encuentra distribuido en América Central y del Sur. Ha sido utilizado en la medicina popular para tratar la diabetes, úlceras y sífilis (*Tabebuia impetiginosa*) (Hernández y Gally, 1981).

Desde el punto de vista botánico este género se caracteriza por especies predominantemente leñosas, de hojas opuestas simples o compuestas. Es un árbol que alcanza una altura de 45 m y un diámetro hasta de 1,20 m. Tronco recto y cilíndrico; su corteza externa es de color grisáceo o parduzca clara, delgada y de apariencia algo escamosa y agrietada, la corteza interna es de color castaño rojiza. Se ha encontrado que sus flores son de color amarillo, blanco y de rosado a violeta y rojo; son pocos los

estudios citogenéticos realizados a este género, posiblemente se deba al pequeño tamaño de sus cromosomas o al ennegrecimiento que sufren las raíces cuando son fijadas, *Tabebuia* presenta un número básico de 20 cromosomas (Hokche y col, 2008).

Tabebuia contiene algunas de las especies más distintivas de árboles neotropicales. Las especies más fáciles de reconocer son los árboles altos con inflorescencias grandes y llamativas que florecen cuando los árboles han dejado caer todas sus hojas. Sin embargo, *Tabebuia* es uno de los géneros más inescrutables y taxonómicamente complejo de Bignoniaceae (aprox. 100 especies), se ha clasificado históricamente en la tribu Tecomeae, un conjunto parafilético definido por tener frutos biloculares que se deshacen perpendicularmente (Grase y Olmstead, 2007).

Aspectos químicos y farmacológicos del género Tabebuia

El estudio fitoquímico realizado a diversas especies de *Tabebuia* revela la presencia de taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides, fenoles y proteínas de diferentes extractos. Se han aislado e identificado naftoquinonas del tipo de lapachol (5), además de furanonaftoquinonas, antraquinonas, glucósidos, iridoides, triterpenos, polifenoles, cumarinas, derivados de ácido benzoico y derivados de benzaldehído (Figura 2) (Suo, Ohta, Takano y Jin, 2013).

Diversas especies del género *Tabebuia* han sido utilizadas como antiinflamatorio, anticancerígeno y como agentes antimicrobianos en zonas rurales de Colombia, Bolivia, Brasil y otros países latinoamericanos, en tal sentido, este género

es comúnmente reconocido como una alternativa terapéutica por poblaciones rurales o remotas. A continuación en la Tabla 1, se presentan algunas actividades farmacológicas y algunos metabolitos secundarios reportados para el género *Tabebuia* (Jiménez, Veloza y Sepulveda, 2013):

Tabla 1. Actividades farmacológicas y metabolitos secundarios bioactivos del género *Tabebuia* (Jiménez, Veloza y Sepulveda, 2013).

Especie	Parte	Extracto	Compuestos	Actividad
<i>T. flavescens</i> <i>T. guayacan</i> <i>T. avellanadae</i> <i>T. serratifolia</i> <i>T. rosea</i> <i>T. bata</i>	Corteza	Metanólico	α -lapachona (3) β -lapachona (4) Lapachol (5)	Antitumoral Antimicrobiana Antifúngica Atiproliferativa Antimalárica
<i>T. avellanadae</i>	Corteza Hojas	Metanólico Etanólico	(-)-5-hidroxi-2-(1'-hidroxietil) nafto [2,3-b] furan-4,9-diona (-)-8-hidroxi-2-(1'-hidroxietil) nafto [2,3-b] furan-4,9-diona β -lapachona	Antiproliferativo Antifúngico Antitumoral Inductor de apoptosis celular Antimicrobiano Antiinflamatorio
<i>T. argentea</i>	Hojas	Metanólico	Kaempferol-3-O- β -D-glucopiranosido Kaempferol-3-O-rutinosido Quercetin-3-O-sambubiosido Quercetin-3-O-robinobiosido	Antitumoral
<i>T. billbergii</i>	Corteza	Diclorometano	Naftofurandionas	Antimalárica
<i>T. impetiginosa</i>	Corteza	Etanólico	Antraquinonas	Antibacteriana Antiparasitaria
<i>T. incana</i>	Corteza	Etanólico	Naftofurandionas	Antitumoral Antimalárica

Dentro de la familia Bignoniaceae, el género *Tabebuia* ha sido uno de los más estudiados, tal vez por su rica fuente de compuestos 1,4-naftoquinónicos sustituidos y antraquinonas con propiedades anticancerígenas demostradas clínicamente (Raggio y Moro, 2004).

Estudios realizados en 1945 por Hanh y col., reportaron la obtención de un pigmento amarillo de la madera dura de *T. capitata* y *T. pallida*, el cual fue aislado posteriormente por Dugand en 1956, a partir de la madera dura de *T. impetiginosa*, e identificado como lapachol (**5**). Seguidamente, de la especie *T. flavescens* estudiada por Orth y col., lograron aislar compuestos del tipo naftoquinónico, lapachol y lapachona. Posteriormente Burnett y Thompson, obtuvieron siete naftoquinonas y nueve antraquinonas; dentro de las primeras se encuentran lapachol (**5**), α -lapachona (**3**) y dihidro- α -lapachona (Castillo y col, 1996). A continuación se presentan algunas actividades biológicas reportadas para los compuestos aislados del género *Tabebuia*:

Actividad antibacteriana

Se han realizado diversos estudios sobre la actividad antibacteriana de extractos obtenidos de especies del género *Tabebuia*, por ejemplo, el extracto de acetato de etilo obtenido de la corteza de *T. ochracea* y *T. rosea* inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* con una concentración entre 1,25 a 10 $\mu\text{g/mL}$, pero no fueron activos frente a las cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Jiménez, Veloza y Sepúlveda, 2013).

Por otra parte, el extracto de hexano de *Tabebuia avellanedae* exhibió actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, presentando una concentración inhibitoria mínima (CIM) de 62,5 µg/mL, este efecto inhibitor es atribuido a las naftoquinonas como la α -lapachona (3) y α -xiloidona (9). Adicionalmente, hay reportes de otros derivados como el lapachol (5), β -lapachona (4) y 3-hidroxi- β -N-lapachona (10) (Figura 2), que presentan actividad frente a *Staphylococcus aureus* con una CIM de 8 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

Asimismo, el extracto etanólico de las hojas de *T. rosea* también fue evaluado a concentraciones entre 50 y 300 mg/mL, inhibiendo el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* (Sathiya y Muthuchelia, 2010). Esta actividad antibacteriana se puede asociar con la presencia de varios principios activos o fitoconstituyentes tales como compuestos fenólicos, quinoides y flavonoides presentes en dicho extracto.

De igual modo, el extracto metanólico de las hojas de *T. chrysantha* inhibió el crecimiento de *Staphylococcus aureus* a una concentración de 125 mg/mL. Este extracto fue más activo que los de cloroformo y éter utilizados a la misma concentración. Estos resultados sugieren que los compuestos polares encontrados en el extracto metanólico podrían ser responsables de esta actividad; sin embargo, la actividad antibacteriana encontrada fue baja. Además, los autores señalan que ninguno de los extractos obtenidos de *Tabebuia chrysantha* inhibió el crecimiento de *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *Pseudomona aeruginosa* (Ospina, Aragón, Vergel, Isaza y Pérez, 2011).

Actividad antifúngica

En un centro de investigación en Campinas en Brasil, se seleccionaron seis plantas para evaluar su potencial actividad contra diez especies de *Candida sp.* Los resultados revelaron que el extracto de metanol de *Tabebuia avellanedae* ejerce una actividad inhibitoria contra *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. utilis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. glabrata* y *C. rugosa*, con valores de CIM en el rango de 60 a 0,1 µg/mL., sin embargo, el extracto de diclorometano tuvo actividad inhibitoria solo contra *Candida krusei*, con un valor de CIM de 60 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

De igual modo, el extracto etanólico de *Tabebuia caraiba*, inhibió el crecimiento de *Candida albicans* a una concentración de 20000 µg/mL, mientras que los extractos de hexano y diclorometano inhibieron el crecimiento de *Trichophyton rubrum* a concentraciones entre 170,39 a 23,23 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

Adicionalmente, hay reportes sobre la amplia actividad antifúngica de los extractos de la corteza de *Tabebuia avellanedae*, en diclorometano fue activo contra *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium gypseum*, *Penicillium purpurogenum*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Trichophyton mentagrophytes*, mientras que los extractos acuoso y metanólico mostraron actividad frente a *Cryptococcus neoformans*, *Microsporium Gypseum*, *Penicillium purpurogenum* y *Trichophyton mentagrophytes*. De este modo, se ha comprobado que algunas especies del género *Tabebuia* constituyen una alternativa terapéutica como potenciales antifúngicos (Jiménez y col, 2013).

Actividad antiviral

Existen pocos reportes sobre la actividad antiviral de extractos de especies de Bignoniaceae, sin embargo caben destacar la evaluación de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Tabebuia cassinoides* que fueron ensayados contra los virus de la encefalomiocarditis (EMCV), virus del herpes 1 (HHV-1) y virus vaccinia (Western Cepa de reserva, [VACV-WR]), siendo inactivos. Esta falta de actividad probablemente fue causada por la alta citotoxicidad de naftoquinonas presentes en los extractos. Un segundo estudio evaluó la actividad antiviral de los extractos etanólicos de hojas y tallos de *Tabebuia impetiginosa*, *Tabebuia serratifolia* y *Tabebuia stenocalyx* contra los virus EMCV, HHV-1 y VACV-WR. Los resultados demostraron que solo los extractos de *Tabebuia impetiginosa* tuvieron actividad contra HHV-1, con una media concentración efectiva máxima (CE₅₀) de 166,6 µg/mL (Jiménez y col, 2013).

Actividad antiparasitaria

El estudio de *Tabebuia billbergii* permitió el aislamiento e identificación de dos compuestos del tipo naftofurandionas la 2-(1-hidroxietil)-4H,9H-nafto-[2,3-b]-furan-4,9-diona (**11**) y 2-acetil-nafto-[2,3b]-furan-4,9-diona (**12**) (Figura 2) que presentaron actividad antipalúdica significativa *in vitro* contra *Plasmodium berghei*; en particular, 2-(1-hidroxietil)-4H,9H-nafto-[2,3-b]-furan-4,9-diona (**11**), con una CI₅₀ de 0,002 µM, superando la cloroquina (CI₅₀ 0,110 µM) (Jiménez y col, 2013).

Varios análisis han revelado la actividad tripanocida de las naftoquinonas aisladas del género *Tabebuia* y sus derivados heterocíclicos, como el naftoimidazol β -lapachona, estos estudios han probado la actividad de 38 compuestos contra *Trypanosoma cruzi* y sugieren que las modificaciones químicas de las naftoquinonas, especialmente sus anillo de imidazol, podrían producir compuestos con alta actividad tripanocida (Jiménez y col, 2013).

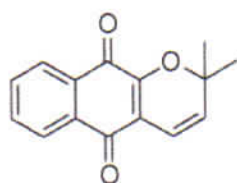
Los extractos de hexano, cloroformo y etanol obtenidos de la corteza de *Tabebuia serratifolia*, un planta utilizada en la medicina tradicional peruana para tratamiento de la leishmaniasis cutánea, fueron recientemente evaluados por su tripanocida y antileishmania. El extracto de cloroformo fue el más efectivo contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania infantum*, con porcentajes de inhibición mayores de 96 % y concentraciones de extracto entre 400 y 800 $\mu\text{g/mL}$. Del extracto etanólico, se logró aislar una naftoquinona (11), este compuesto fue activo frente a *Leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi*, con una concentración de inhibición del crecimiento (CI_{50}) de 0,01 $\mu\text{g/mL}$. Este valor fue menor que el Nifurtimox y similar al de Anfotericina B. Esta naftoquinona fue previamente aislada de *T. cassinoides*, *T. billbergii* y *T. ochracea* (Jiménez y col, 2013).

Actividad antioxidante

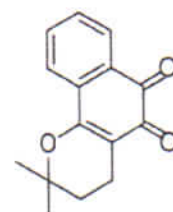
Del extracto acuoso de *Tabebuia avellanedae* se aislaron tres nuevos glucósidos de fenilpropanoide (14, 17, 18), junto con tres glucósidos fenilpropanoides conocidos (13, 15, 16) (Figura 2). Todos los compuestos presentaron fuerte actividad

antioxidante en el ensayo DPPH, y el compuesto **17** fue el más activo, con una CI_{50} de 0,12 μ M (Suo y col, 2013).

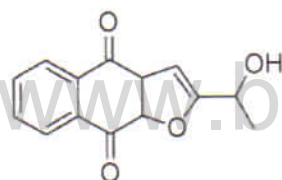
Figura 2. Algunos compuestos bioactivos aislados del género *Tabebuia*.



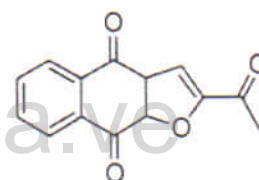
α -xiloidona (**9**)



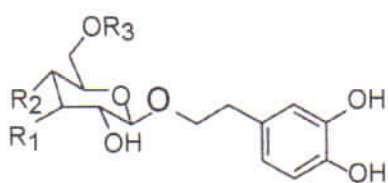
3-hidroxi- β -N-lapachona
(**10**)



2-(1-hidroxi-etil)-4H,9H-nafto-[2,3-b]-furano-4,9-dione (**11**)



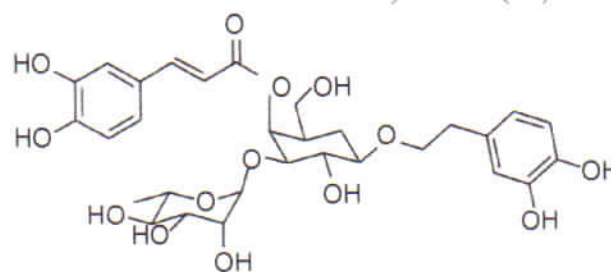
2-acetil-nafto-[2,3b]-furan-4,9-diona (**12**)



(**13**) R_1 =Rha R_2 =Cafeoil R_3 =H

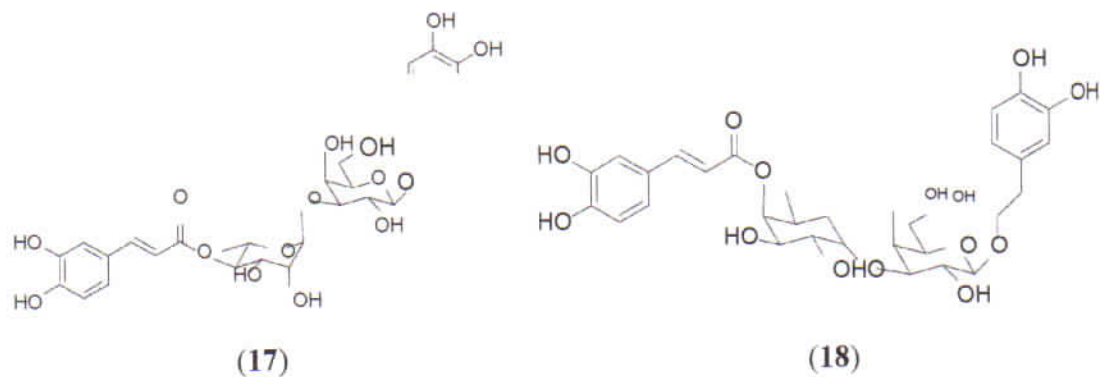
(**14**) R_1 =Fuc R_2 =Cafeoil R_3 =H

(**15**) R_1 =Rha R_2 =H R_3 =Cafeoil



(**16**)

Figura 2. Algunos compuestos bioactivos aislados del género *Tabebuia* (Continuación).



Diversos estudios reportan la actividad antioxidante *in vitro* frente a los radicales hidroxilo, peroxilo y superóxido de los extractos de *T. chrysantha*, *T. pallida* y *T. argentea* indicando que son una fuente potencial de antioxidantes, por lo que podrían ser útiles en la industria farmacéutica para tratar a base de plantas varias enfermedades causadas por radicales libres (Ospina y col, 2011; Govindappa, y col, 2013; Rahman, Islam, Biswas y Alam, 2015).

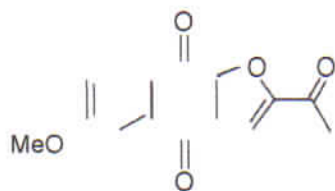
El género *Tabebuia* está enriquecido con una diversidad de metabolitos secundarios, responsables de la actividad biológica de las especies de este género, los compuestos fenólicos son los responsables del poder antioxidante, efecto citotóxico y las actividades anticancerígenas reportadas para este género (Rhaman y col, 2019).

Actividad citotóxica

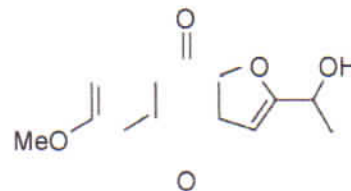
Las especies del género *Tabebuia* han sido utilizadas para el tratamiento del cáncer en la medicina popular, en 1982, fueron aisladas de *Tabebuia cassinoides* dos naftoquinonas (Figura 3): 2-(1-hidroxiethyl)-nafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**19**) y 2-acetilnafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**20**), ambos compuestos fueron activos contra células KB que producen carcinoma epidermoide oral. Posteriormente, se investigó el compuesto **20** como agente anticancerígeno *in vitro*, y se descubrió que esta quinona muestra citotoxicidad moderada contra varios líneas celulares de cáncer, incluido el carcinoma escamoso oral humano, carcinoma de próstata humano (DU-145), melanoma humano (C8161), adenocarcinoma de pulmón humano (A549) y carcinoma epitelial humano células (HeLa3-6) (Inagaki, Ninomiya, Kaori, Kunitomo y Mamoru, 2013).

Otros estudios sobre el lapachol (**5**) y β -lapachanona (**6**), compuestos comunes en las especies de *Tabebuia*, reveló que poseen actividad significativa contra un rango de líneas celulares tumorales, incluyendo mama, leucemia y próstata, así como varias líneas celulares resistentes a diversos fármacos. La actividad biológica de la quinonas está relacionada con la capacidad del resto quinona para aceptar electrones para formar aniones radicales o especies de dianiones, y estimular así la producción intracelular de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (Gómez, Prieto y Heinrich, 2009).

Figura 3. Naftoquinonas con actividad citotóxica aislados de *T. avellaneda*



2-(1-hidroxietyl)-nafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**19**)



2-acetilnafto-[2,3-*b*]-furan-4,9-diona (**20**)

***Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson**

T. serratifolia (Figura 4) es una especie arbórea que está ampliamente distribuida en América del Sur (Brasil, Guyana, Guyana Francesa, Surinam, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia) (Lobato, Tapajos y Moreira, 2014). Este árbol puede alcanzar una altura hasta de 45 m y un diámetro hasta de 1,20 m. Se caracteriza por presentar un tronco recto y cilíndrico. La corteza externa es de color grisáceo o parduzca clara, delgada y de apariencia algo escamosa o agrietada. La corteza interna es de color castaño rojiza. Las hojas son opuestas, digitadas, con folíolos de borde aserrado, que al secarse se tornan verdosas. Flores de color amarillo, dispuestas en racimos terminales axilares. Fruto capsular alargado, dehiscente y que contiene numerosas semillas aisladas. *Tabebuia serratifolia* se diferencia de otras *Tabebuia* por presentar los bordes de las hojas marcadamente aserrados (Colmeiro, 1871).

Figura 4. *Tabebuia serratifolia*



Tomada de Colmeiro (1871)

La madera es apreciada ya que destaca por su extrema dureza y resistencia al fuego y a las plagas. A veces se comercializa como un “palo de hierro”, o simplemente como “ipe” (todo el género *Tabebuia*), o como el lapacho (correctamente para la especie de *Tabebuia serratifolia*) (Hokche y col, 2008).

Otros sinónimos para esta especie son *Handroanthus serratifolius*; *Tecoma serratifolia* y *Bignonia serratifolia*, por otra parte, los nombres comunes son Roble amarillo, Coralibe, Alumbre, Cañahuate, Buecporie, Poliarco amarillo, Palo de arco, Chicala, Polvillo, Curarire, Guayacán, Roble (Col.) Acapro, Alcapro, Araguaney, Echahumo, Canadá Pui, Puy, Flor amarillo, Curaire, Lapacho (León y Williams, 2007). Taxonómicamente se clasifica de la siguiente manera (Vásquez, 1997):

- ✓ Reino: Plantae
- ✓ Filo: Tracheophyta

- ✓ Subfilo: Angiospermae
- ✓ Clase: Magnoliopsida
- ✓ Orden: Lamiales
- ✓ Familia: Bignoniaceae
- ✓ Género: *Tabebuia*
- ✓ Especie: *serratifolia*
- ✓ Nombre científico: *Tabebuia serratifolia* (M Vahl) Nicholson

Usos en Medicina Tradicional

Según Rengifo y Mejía (2000), el cocimiento de las flores es mezclado con miel de abejas silvestres para obtener un jarabe y es usado como antigripal y antitusígeno, la infusión de la corteza es utilizada para tratar la Leishmaniasis, con este preparado se lava la parte afectada y se aplican emplastos hasta la cicatrización de las úlceras, el cocimiento de la corteza interna en un se usa para la diabetes y hepatitis, las hojas para combatir la flatulencia.

Aspectos químicos y farmacológicos de T. serratifolia

Tabebuia serratifolia es usada para el tratamiento de la diabetes, fiebre, leishmaniasis, infecciones del tracto urinario, diarrea, gonorrea, alergias, artritis, cáncer, anemia, entre otros. La presencia de naftoquinonas ha sido reportada en muchas especies de *Tabebuia* y se conoce que las naftoquinonas son activas biológicamente frente a diversos patógenos (Pacheco y Lock, 1994)

El extracto etanólico de la madera de *T. serratifolia* mostró actividad frente a *Gloeophyllum trabeum* y *Trametes versicolor* (hongos responsables de la pudrición de la madera), el lapachol (**5**) resultó ser el compuesto mayoritario del extracto y presentó actividad fungicida a una concentración de 60 µg/mL y fungistática entre 30 y 50 µg/mL (Velásquez y col, 2004).

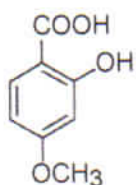
Por otra parte, Grandez y col (2009), en investigaciones realizadas determinaron la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de la corteza de *Tabebuia serratifolia* (Tahuari), y en un análisis fitoquímico establecieron la presencia de compuestos del tipo alcaloides, flavanoides, taninos, triterpenos y/o esteroides, este extracto resultó ser inocuo a dosis límites de 2000 mg/Kg y a dosis repetida. www.bdigital.ula.ve

La mayoría de investigaciones en especies de *Tabebuia* se orientaban a la madera, pues se asumía que los componentes de la corteza y la madera eran los mismos; sin embargo, Girard y col (1988) compararon las naftoquinonas presentes en la corteza y madera de la *Tabebuia rosea*, encontrando que los componentes de ambas partes eran diferentes.

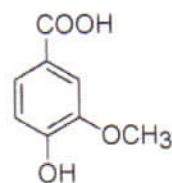
En tal sentido, Pacheco y Lock (1994) lograron aislar de la corteza y madera de *T. serratifolia* el ácido 4-metoxisalicílico (**21**), ácido vainílico (**22**), β-sitosterol (**23**), lapachol (**5**) y dehidrolapachona (**24**) (Figura 5). Asimismo, Romagnoli y col, (2011), identificaron en la madera de *T. serratifolia* la presencia de lapachol y dehidrolapachona como compuestos mayoritarios, y derivados antraquinónicos como

la 1-hidroxi-4-metilantraquinona; 2,3-dimetil-1,4-naftalenediona-2-(fenilmetileno) y 2-metoxi-9H-xanten-9-ona-ciclohexanona entre los componentes minoritarios.

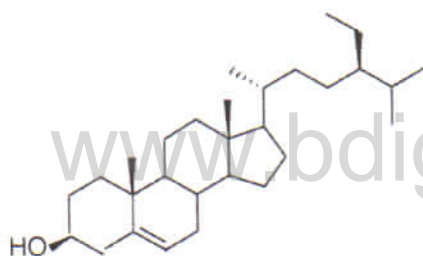
Figura 5. Compuestos químicos identificados para la especie *T. serratifolia*



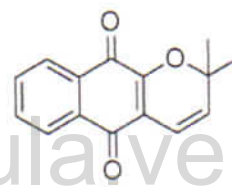
ácido 4-metoxisalicílico (21)



ácido vainílico (22)



β -sitosterol (23)



dehidrolapachona (24)

Productos Naturales

Los seres vivos son capaces de sintetizar una gran variedad de compuestos que se definen “Productos Naturales” o “Metabolitos Secundarios”, que se le conoce también como producto químico y en la mayoría de los casos no tiene utilidad aparente para el ser que lo sintetiza, a diferencia de los metabolitos primarios o productos bioquímicos que presentan una utilidad definida y que son comunes en

todos los seres vivos, como son: Carbohidratos, Lípidos y Proteínas (Marcano y Hasegawa 2002).

En general, se distinguen dos grandes grupos de productos naturales; los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios, los primarios que se refieren a los procesos químicos que la planta debe realizar para sobrevivir y reproducir su actuación, como son: La fotosíntesis que da lugar a los ácidos carboxílicos del ciclo de Krebs. Estos metabolitos primarios se caracterizan por (De Ugaz, 1994):

- Tener una función metabólica directa.
- Ser compuestos esenciales intermedios en las vías catabólica y anabólica.
- Encontrarse en todas las plantas.
- Tratarse de carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos o clorofilas.
- Son precursores de los metabolitos secundarios

Por otra parte, los metabolitos secundarios son en principio no esenciales para la vida pero contribuyen en la adaptación y supervivencia de las especies. La química que conduce a la formación de un producto natural se caracteriza por ser más común en un grupo biológico en particular, tal como una familia o un género. Estos metabolitos poseen otras características como son (De Ugaz, 1994):

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

La clasificación de los metabolitos secundarios puede hacerse de acuerdo a sus estructuras, biosíntesis, fuente de producción o a su acción biológica. En estos casos es inevitable la superposición. Por ejemplo, por ser moléculas generalmente polifuncionales es difícil ubicarlas en un determinado grupo químico, debido a que dos compuestos totalmente diferentes tienen la misma acción, o la misma fuente de producción puede originar simultáneamente compuestos muy distintos. Aparentemente el criterio más acertado es aquel que usa la biosíntesis como denominador común, la cual, en su esquema básico engloba la formación de los metabolitos primarios y secundarios (Marcano y Hasegawa, 2002).

Biosíntesis de productos naturales

Los metabolitos secundarios se forman por distintas vías biogénicas, la formación de los productos naturales comienza con la fotosíntesis que tiene lugar en las plantas superiores, algas y algunas bacterias. Es un proceso endotérmico que requiere de luz solar: aquellos organismos incapaces de absorber la luz, obtienen su energía de la degradación de carbohidratos. Tales compuestos pueden en realidad, ser resultados de sistemas enzimáticos particulares de una dada clase de organismos, que incluyen variedades y/o mutantes que cambian su metabolismo de acuerdo a las condiciones ambientales (Marcano y Hasegawa, 2002).

Se sabe que la concentración de ciertos metabolitos aumenta cuando el vegetal se encuentra en estado de estrés. Las condiciones biomiméticas: condiciones de laboratorio que tratan de imitar a las producidas por el sistema enzimático, pueden

representar ese estado de estrés en el organismo vivo y generar ciertos esqueletos no abundantes y a veces específicos, para la especie bajo estudio. La formación de metabolitos primarios y secundarios en la biosíntesis ocurre a través de reacciones enzimáticas. Las plantas sintetizan cientos de compuestos, encontrándose en estos los metabolitos secundarios, dentro de los cuales se pueden mencionar los siguientes (Marcano y Hasegawa, 2002):

- **Alcaloides:** Se conoce con el nombre de alcaloides a las sustancias que actúan como metabolitos secundarios de las plantas que han sido sintetizados partiendo de aminoácidos. Derivan de aminoácidos los alcaloides verdaderos, siendo por lo tanto nitrogenados.
- **Taninos:** Sustancias astringentes que se encuentran en algunos tejidos vegetales, como la corteza de los árboles y el hollejo de la uva.
- **Saponinas:** Las saponinas (del latín "sapo", "jabón") son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a 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 se las agita en agua. Las saponinas son tóxicas, y se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides, por lo que podrían interferir en la asimilación de estos por el sistema digestivo, o romper las membranas de las células tras ser absorbidas hacia la corriente sanguínea.

- **Flavonoides:** 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 moléculas 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 agua.
- **Terpenos:** Hidrocarburos que se encuentra en los aceites volátiles obteniéndose de las plantas y principalmente de las coníferas y de los frutos cítricos.
- **Triterpenos:** Son los terpenos de 30 carbonos. Son por lo general generados por la unión cabeza-cabeza de dos cadenas de 15 carbonos, cada una de ellas formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola.
- **Esteroides:** Sustancias de estructura policíclica de la que derivan compuestos de gran importancia biológica, tales como los ácidos biliares y algunas hormonas.
- **Fenoles:** Alcoholes derivados del benceno, obtenidos por la destilación de los aceites de alquitrán que se usa como antiséptico en medicina.
- **Antraquinonas:** Son quinonas tricíclicas derivadas del antraceno que a menudo contienen uno o más grupos hidroxilo: Si poseen dos grupos OH en posiciones 1 y 2 tienen propiedades colorantes y si se encuentran en las posiciones 1 y 8 el efecto es laxante.

Extractos Vegetales

El término extracción se refiere, a la separación de sustancias biológicamente activas de los materiales inertes o inactivos de una planta mediante la utilización de un disolvente seleccionado y de un proceso de extracción adecuado, donde generalmente se obtienen dos componentes; el extracto (solución extraída de un disolvente) y el residuo o bagazo. A continuación se mencionan algunas técnicas de extracción (Valcarcel y Gómez, 1988):

➤ **Mecánicas:**

- Por Expresión: La planta se introduce en una prensa hidráulica y se exprime hasta obtener su jugo, es un método usado para obtener los zumos de cítricos, aceites y otros.

- Por Incisiones: Con el fin de obtener exudados del material vegetal, pueden ser gomas, resinas, mieles y otros productos que se producen en gran cantidad al realizarle inclusiones o cortes a la planta viva.

➤ **Destilación:**

- Por Arrastre de Vapor: Es el proceso de extracción mediante el cual se obtienen aceites esenciales, los cuales son productos grasos constituidos por un número muy grande de compuestos químicos aromáticos, muy volátiles de estructura y composición muy compleja. La mayoría son terpenos de bajo peso molecular.



Extracción discontinua:

- Maceración: La planta seca y molida se pone en contacto con el disolvente a temperatura ambiente, dejando la mezcla en reposo (aproximadamente de 3 a 10 días). Transcurrido el tiempo de maceración, se decanta el extracto y se elimina el residuo vegetal, es recomendable hacer una segunda extracción.

- Infusión: El disolvente se hierve y posteriormente se introduce la planta a extraer, dejándose enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente. El extracto recibe el nombre de infusión o té.

- Decocción o cocimiento: La planta es cubierta con el disolvente (agua), y se lleva a ebullición por 15 a 30 minutos posteriormente se enfría y se filtra.



www.bdigital.ula.ve

Extracción Continua:

- Percolación: El material vegetal se coloca en una columna y está en contacto permanente con el disolvente que gotea por la parte inferior. Constantemente es necesario agregar disolvente puro por la parte superior de la columna, y así lograr compensar la cantidad de disolvente que sale por la parte inferior.

- Soxhlet: El material vegetal seco es sometido a una extracción continua. El aparato (Soxhlet) asegura en todo momento la provisión del disolvente puro, que pasa por el material arrastrando los principios activos. El extracto obtenido suele concentrarse eliminando total o parcialmente el disolvente.

Análisis Fitoquímico

La Fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal, estos metabolitos secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos de ellos presentan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diversos usos y aplicaciones como: Medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes, cremas, entre otros (Marcano y Hasegawa, 2002).

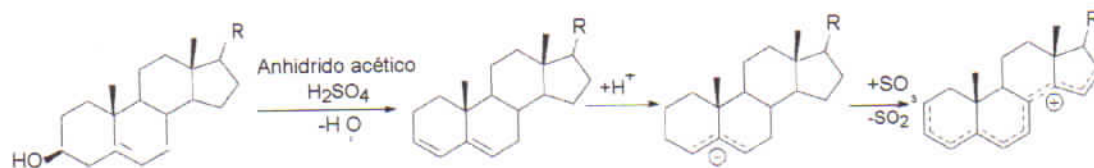
El análisis fitoquímico es un proceso que comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal y la metodología que se sigue depende de los objetivos de tales estudios. Sin embargo existen etapas comunes, que no necesariamente ocurren al mismo tiempo, las cuales se resumen a continuación (Marcano y Hasegawa, 2002).

- Selección del Material.
- Prueba de Actividad Biológica.
- Examen Químico de las Muestras.
 - Pruebas Químicas de Campo.
 - Pruebas Químicas de Laboratorio.
 - Que partes del Material se Analiza.
- Métodos de Extracción y Fraccionamiento.
- Cromatografía.

Para determinar la presencia de ciertos grupos químicos en una planta se efectúan una serie de pruebas, que dependiendo de las características estructurales y solubilidad pueden realizarse la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

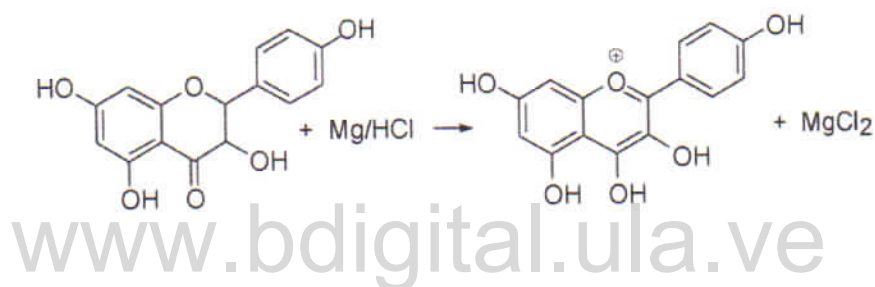
- **Ensayo de Lieberman-Bouchard (Triterpenos y/o esteroides):** Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por poseer ambos un núcleo de androstano, generalmente insaturado en el anillo β y en la posición 5-6. Esta prueba colorimétrica utiliza una mezcla compuesta ácido sulfúrico y anhídrido acético que producen sustancias cromóforas con el ciclopentano perhidrofenantreno, por el incremento de los dos dobles enlaces conjugados formados por la deshidratación e isomerizaciones en los terpenos y esteroides (Figura 6) (Domínguez, 1979). Se considera positiva la prueba cuando aparecen coloraciones roja, verde o azul (Martínez, Valencia y Jiménez, 2004).

Figura 6. Fundamento químico de la reacción de Lieberman-Bouchard



- **Ensayo de Shinoda (flavonoides):** el magnesio en polvo reacciona con ácido clorhídrico concentrado. El hidrógeno generado produce por reducción el ión flavilio (Figura 7) de color rojo escarlata (Varia desde rosa muy débil hasta el rojo escarlata). Todos los flavonoides, excepto chalconas, auronas e isoflavonas dan positiva esta reacción (Dominguez, 1979).

Figura 7. Fundamento químico de la reacción de Shinoda



- **Ensayo de Dragendorff, Wagner y Mayer (alcaloides):** Se basa generalmente en la combinación de los alcaloides con metales pesados. Se llevan a cabo en solución acuosa ácida. Los reactivos más utilizados para la precipitación de los alcaloides son ácidos de elevado peso molecular. Como el reactivo yodado de Dragendorff (yodo bismutato pótasio, precipitado rojo-naranja); el reactivo de Mayer (mercurio tetrayodado pótasio, precipitado blanco-amarillento) y el reactivo Wagner (yoduro de potasio, precipitado marrón) (Dominguez, 1979). En el análisis fitoquímico preliminar las técnicas de reconocimiento son basadas en la capacidad que tienen los alcaloides en estado de sal (extractos ácidos), de combinarse con el yodo y metales pesados

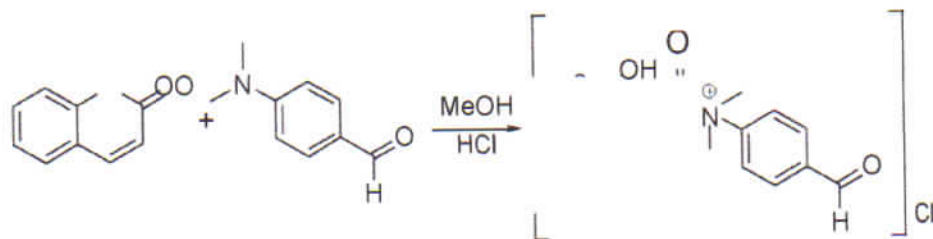
formando precipitados con reactivos como el mercuriyoduro de potasio (Mayer) y yoduro de bismuto (Dragendorff), estas reacciones se basan en los siguientes comportamientos (Coy, Parra y Cuca, 2014):

El yoduro de potásico cuando reacciona con cloruro mercúrico, forma un precipitado rojo de yoduro mercúrico: $[\text{HgCl}_2 + 2\text{I}^- \longrightarrow 2\text{Cl}^- + \text{HgI}_2]$ soluble en exceso de iones de yoduro con formación de un anión complejo incoloro: $[\text{HgI}_2 + \text{I}^- \longrightarrow \text{HgI}_4^{2-}]$. La solución alcalina de este complejo sirve para descubrir indicios de amoníaco. En esta reacción se forma el compuesto de color pardo oxyoduro mercuri amoníaco, que es soluble en exceso de complejo $[\text{HgI}_4^{2-}]$, generando intenso color amarillo.

Los alcaloides por su carácter nitrogenado pueden comportarse de forma similar al amoníaco, ante estos reactivos (Reactivo de Mayer); muchos alcaloides presentes en un material vegetal forman con el bismuto, yoduros dobles insolubles (Reactivo de Draggendorf) (Coy y col, 2014).

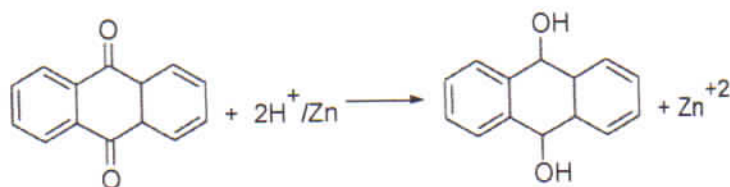
➤ **Ensayo de Hidróxido de Amonio (cumarinas):** se basa en la apertura y solubilización en medio básico. Las cumarinas se caracterizan por su intensa absorción de la región UV del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presenta coloración exaltada en presencia de amoníaco (Tamayo y col, 2011). A continuación en la (Figura 8) se presenta el fundamento químico de la determinación de cumarinas utilizando el reactivo de Erlich.

Figura 8. Fundamento químico de la reacción de Erlich



- **Ensayo de Borntrager (quinonas):** La naftoquinonas y antraquinonas libres al ser tratadas con la solución de hidróxido amónico forman complejos de color rojo cereza. Esta reacción es utilizada para la detección directa de quinonas en los extractos vegetales (Figura 9) (Tamayo, Verdecia y Mojera 2011).

Figura 9. Fundamento químico de la reacción de Borntrager

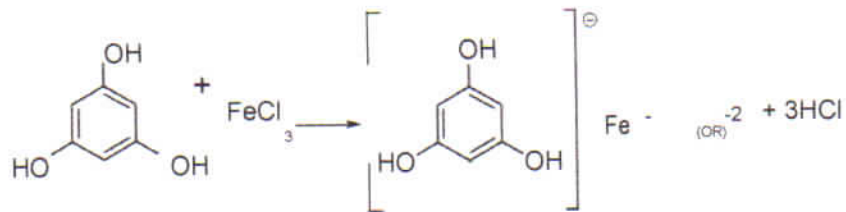


- **Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5% (quinonas):** Las quinonas α - y β -hidroxiladas con las solución de hidróxido de sodio al 5% dan soluciones coloreadas, que van del amarillo pasando por el rojo al violeta con máximos de absorción en la región de 450 a 668 nm. Esta reacción puede servir para conocer si un determinado extracto vegetal contiene pigmentos

quinónicos; la solución de hidróxido de sodio también se emplea como reactivo para detectar pigmentos quinónicos por cromatografía sobre papel (Thompson, 1958).

- **Prueba de triclорuro férrico (compuestos fenólicos y taninos):** Químicamente los taninos son polímeros de polifenoles con 1 a 2 % de hidróxidos fenólicos libres, los flavonoides son compuestos polifenólicos que se encuentran ampliamente distribuidos en plantas. Estas sustancias precipitan en presencia de cloruro férrico. Esta respuesta se debe al ataque producido por el ion cloruro al hidrógeno del grupo hidroxilo provocando una ruptura de enlace y la unión del grupo fenóxido al hierro (Figura 10) (Coy y col, 2014; Domínguez, 1979).

Figura 10. Fundamento químico de la Reacción con FeCl₃



- **Prueba de la espuma (saponinas):** el extracto disuelto en agua se agita, vigorosamente, la aparición de espuma es indicio de la presencia de saponinas (Marcano y Hasegawa, 2002).

Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que actúan protegiendo al organismo de la acción de los radicales libres, retrasando el proceso de envejecimiento y combatiendo la degeneración y muerte de las células que provocan los mismos. Existen alimentos que contienen una gran variedad de fitonutrimientos, muchos de los cuales tienen propiedades antioxidantes, además de las bien conocidas, vitaminas C, E y los carotenoides. Existen otros compuestos como los flavonoides (incluyendo flavonas, isoflavonas, flavononas, saponinas y catequinas) que son fuertes antioxidantes y contribuyen a la capacidad antioxidante total (Hokche y col, 2008).

En relación a lo anteriormente expuesto, los radicales libres son definidos como moléculas desequilibradas con átomos que tienen un electrón con capacidad de aparearse por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren el organismo intentando captar un electrón de las moléculas estables, con el fin de lograr su estabilidad electroquímica y con potenciales reacciones en cadenas destructoras de las células del cuerpo (Gutiérrez, Ledesma, García y Grajales 2007).

Una situación importante que acecha a las células que conforman los tejidos de los seres vivos son los radicales libres, que pueden ser de origen endógeno y exógeno; estos radicales son capaces de inducir un amplio espectro de reacciones muy nocivas para el organismo animal y en especial para los humanos. Para evitar estas situaciones se estudia el posible desarrollo de métodos químicos y naturales que sirvan como protectores, y que en conjunto con las moléculas ricas en electrones, que el propio organismo produce para contrarrestar estos efectos dañinos, las cuales

donaran parte de esos electrones presentes en su estructura para producir un efecto antioxidante estabilizando a los radicales libres (Bello, 2005). En tal sentido, los antioxidantes pueden clasificarse de la siguiente manera (Herrerías, Díaz y Jiménez, 1996):

- **Antioxidantes Enzimáticos:** Las células de los tejidos biológicos poseen sistemas enzimáticos que actúan como protectores de la oxidación por medio de la inactivación de sustancias potencialmente oxidativas como las especies reactivas de oxígeno (ERO) dentro de las que se incluyen el O_2 , el H_2O y el OH ; e inactivando el estado de oxidación de los metales de transición, que son potencialmente catalizados de la oxidación.
- **Antioxidantes No Enzimáticos:** Como un complemento de los enzimáticos que son intracelulares, los antioxidantes no enzimáticos se encargan de compensar a los radicales libres que son liberados o que pertenecen al espacio intercelular; en este grupo se incluye a la vitamina E que puede bloquear a los radicales libres y a las moléculas inestables de oxígeno, la vitamina C que regenera la forma reducida de la vitamina E, el beta caroteno o precursor de la vitamina A y también de la vitamina B que forma parte de la enzima glutatión reductasa que genera al glutatión (Herrerías, Díaz y Jiménez 1996).

Antioxidantes en la Naturaleza

Con la intención de controlar el proceso de destrucción producido por los radicales libres la naturaleza creó muchos antioxidantes que son los que protegen las

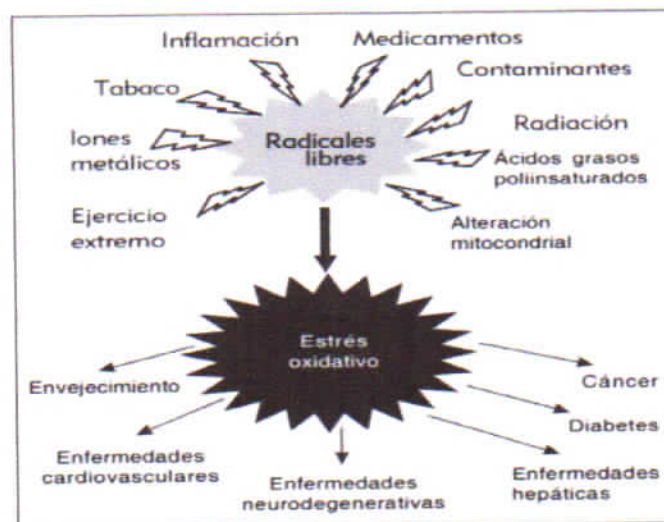
grasas, lípidos y el ADN al interponerse en el secuestro de electrones que hacen los radicales libres a las células sanas del cuerpo, ellos entregan sus propios electrones, aunque el cuerpo produce sus propios antioxidantes, diversos estudios han demostrado que los antioxidantes contenidos en los alimentos ofrecen una mejor protección. Las frutas y verduras cuentan fitonutrientes que confieren protección del organismo frente a agentes oxidantes (Yeager, 2001). A continuación se mencionan algunos antioxidantes presentes en la naturaleza:

- **Ácido Ascórbico (Vitamina C):** Es un derivado de azúcar de seis carbonos considerado un regenerador de antioxidantes porque participa en reacciones que le permiten reducir compuestos libres que se encuentran inestables por falta de un electrón (Cubero, Monferre y Villalba 2002).
- **Vitamina E:** Es una molécula que posee su sitio activo en el grupo 6-hidroxilo de anillo cromanol de su estructura, es un elemento capaz de inhibir la síntesis de creatin quinasa y la xantina oxidasa lo que ayuda a proteger varias enzimas de la membrana celular de la oxidación producida por metales como el mercurio, el cadmio o el plomo (Gil, 2010).
- **Carotenoides:** Son muy valiosos para proteger las grasas, ya que actúan inhibiendo la reacción del oxígeno con los lípidos (Gil, 2010).
- **Polifenoles:** Son los antioxidantes más abundantes de las dietas, que limitan los procesos oxidativos debido a su capacidad de combinarse con metales de transición, además es capaz de neutralizar a las moléculas que se producen durante la activación del oxígeno (Flanzy, 2003).

Estrés oxidativo

La generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y otros radicales libres son un proceso normal durante el metabolismo celular, el cual está compensado por un complejo sistema antioxidante. Sin embargo, la exposición a contaminantes, medio ambiente, estilo de vida y situaciones patológicas, pueden generar exceso y acumulación de radicales, resultando en el establecimiento de estrés oxidativo (EO). El estrés oxidativo se ha relacionado con el envejecimiento y enfermedades crónicas, promoviendo un alto índice de mortalidad en los últimos años (Figura 11) (Sánchez y Méndez, 2013).

Figura 11: Procesos degenerativos y enfermedades producidas por EO (Sánchez y Méndez, 2013).



Estas enfermedades pueden clasificarse en las generadas por pro-oxidantes que modifican el estado redox y alteran la tolerancia a la glucosa, favoreciendo el EO mitocondrial en enfermedades como el cáncer y la diabetes mellitus; el segundo grupo incluye EO de tipo inflamatorio y una mayor actividad de la enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato-oxidasa (NADPH-ox) que conducen a la aterosclerosis e inflamación crónica; y el tercer grupo deriva del sistema xantina-oxidasa, generando ERO implicados en la lesión isquémica por reperfusión. Por otra parte, el proceso de envejecimiento está ligado al efecto dañino de los radicales libres a través de la oxidación de biomoléculas como lípidos, ADN y proteínas, repercutiendo directamente en el proceso de envejecimiento (Sánchez y Méndez, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante se define como la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa. Varios mecanismos creen que su principal modo de acción está relacionado con la alta reactividad hacia radicales libres. Sin embargo, debe distinguirse entre capacidad antioxidante y reactividad. Mientras que la capacidad antioxidante da información acerca de la duración del efecto antioxidante, la reactividad caracteriza solo la dinámica de inicio del efecto antioxidante a una concentración fija de compuesto. La actividad antioxidante está determinada por (Londoño, 2004):

- Reactividad química del antioxidante.
- Capacidad del antioxidante para acceder hasta el sitio de reacción.
- Estabilidad de los productos formados después del proceso de estabilización de radicales libres.

Métodos para la determinación de la actividad antioxidante

Los métodos para la determinación de la actividad antioxidante en general se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra. Por otra parte, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo. Los distintos métodos difieren en el agente oxidante, en el sustrato empleado, en la medida del punto final, en la técnica instrumental utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción (Coba, Mayuca y Vidari, 2010).

Existen varias aproximaciones para la clasificación de métodos para medir actividad antioxidante. Una de ellas se basa en clasificar los métodos como directos e indirectos, mientras que otra los clasifica de acuerdo con el mecanismo mediante el cual sucede el proceso antioxidante (Londoño, 2004).

En los métodos indirectos, la presencia de radicales libres produce la pérdida o aparición de un reactivo, y por tanto, en presencia de un antioxidante se provoca el aumento o disminución de la señal (Rivas y García, 2016).

Por otra parte, en los métodos directos el radical se emplea como un factor de cuantificación (produce una señal analítica). La adición del antioxidante, antes o después de la generación del radical, provoca una disminución de la señal. En el ensayo de post-adición se forma el radical en ausencia de la muestra y así, cuando se añade la sustancia antioxidante se produce un descenso en la señal debido a la disminución de la concentración del radical. En ensayos de inhibición, la muestra se añade a los sustratos de oxidación antes que sea generado el radical, la reacción comienza con la adición del oxidante. Dentro de los métodos directos destacan los siguientes (Rivas y García, 2016):

- **Ensayo de decoloración del catión radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH):** Para cuantificar la capacidad captadora de radicales libres de los extractos se determina el grado de decoloración que provocan sus componentes a una solución metanólica de DPPH mediante el método de Brand-Williams (1995), con algunas modificaciones.

El fundamento del método, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante (Figura 12); la absorbancia es

La ventaja de este ensayo es que puede realizarse tanto en muestras hidrosolubles como liposolubles, eligiendo el disolvente apropiado en cada caso y que proporciona rápidamente los resultados más reproducibles empleando un equipo de laboratorio relativamente común como es el espectrofotómetro, ampliamente utilizado. Además, como la longitud de onda a la que se realizan las medidas de absorbancia no es común en los alimentos, hace que este método sea particularmente interesante para el estudio de extractos vegetales ya que elimina la posibilidad de interferencias de color (Re, Pellegrini, Proteggente, Yang y Rice 1999).

➤ **Ensayo FRAP (Reducción del hierro férrico a ferroso):** Este método evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe^{+3}) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}), que tuvo un máximo de absorbancia a una longitud de onda entre 590-595 nm (Mesa, Gaviria, Cardona, Sáez, Trujillo y Rojano 2010).

Este ensayo proporciona resultados reproducibles de forma rápida y su única desventaja es que debe realizarse en una matriz acuosa, debiendo por tanto usar como antioxidante de referencia, uno que sea hidrosoluble, como el ácido ascórbico o el Trolox (Benzi y Strain, 1996).

Definición Operacional de Términos

- **Células:** Es la unidad morfológica y funcional de todo ser vivo. De hecho, la célula es el elemento de menor tamaño que puede considerarse vivo.
- **Dehiscente:** Dicho de un fruto que se abre naturalmente para que salga la semilla.
- **Endofitos:** Son organismos no patogénicos, los cuales durante algún momento de su ciclo de vida colonizan o no los tejidos internos de la planta sin causar ningún tipo de síntoma.
- **Farmacognosia:** Estudio del origen, estructura y propiedades físicas y químicas de los medicamentos.
- **Fitonutrientes:** No son vitaminas ni minerales, son las sustancias químicas que dan color y sabor a las plantas y además las protegen contra los rayos ultravioletas, y contra infecciones bacterianas, virales y sicóticas. Y que contribuyen a la superación de las condiciones adversas del entorno (depredadores, sequías, insectos, etc).
- **Foliáceas:** Pertenciente o relativo a las hojas de las plantas.
- **Folíolo:** Cada una de las hojuelas de una hoja compuesta.
- **Mutágeno:** Agente capaz de producir mutaciones.
- **Metabolismo:** es el conjunto de reacciones bioquímicas y procesos fisicoquímicos que ocurren en una célula y en el organismo.
- **Oxidación:** La oxidación es una reacción química donde un elemento cede electrones, y por lo tanto aumenta su estado de oxidación.

Operacionalización de Variables

Las variables se operacionalizan con la finalidad de transformar los conceptos abstractos en empíricos, en consecuencia se podrán medir a través de los indicadores respectivos. En tal sentido, se operacionalizó la variable dependiente como la actividad antioxidante (Tabla 2) y la variable independiente (Tabla 3) como la composición química de los extractos de *Tabebuia serratifolia*.

Tabla 2. Variable Dependiente. Actividad antioxidante de los extractos de la corteza de *T. serratifolia*.

Variable	Tipo	Definición conceptual
Actividad antioxidante de los extractos de <i>T. serratifolia</i>	Dependiente y cuantitativa	Capacidad de una sustancia de inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas inhabilitando la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres (Pastene, 2009)
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	Metabolitos secundarios captadores de radicales libres	% de DPPH Inhibido Mayor a 50 %

Fuente: Gutiérrez y Pérez, 2019

Tabla 3. Variable independiente. Composición química de los extractos de la corteza de *T. serratifolia*.

Variable	Tipo	Definición conceptual
Composición química de los extractos de la corteza de <i>T. serratifolia</i>	Independiente y cualitativa	Metabolitos secundarios presentes en un extracto (Marcano y Hasewaga, 2000)
Definición operacional	Dimensiones	Indicador
Pruebas químicas preliminares cualitativas de coloración y/o precipitación	<ul style="list-style-type: none"> • Alcaloides • Fenoles • Flavonoides • Triterpenos/Esteroles 	<ul style="list-style-type: none"> • Aparición de turbidez y un precipitado. • Formación de una coloración que varía de verde azul. • Coloración naranja o violeta se considera prueba positiva. • Coloración roja o verde se considera prueba positiva.

Fuente: Gutiérrez y Pérez, 2019

Hipótesis

Investigaciones previas han demostrado que especies del género *Tabebuia* biosintetizan metabolitos secundarios que poseen actividad biológica; por lo cual, es de esperar que los extractos de la corteza de *Tabebuia serratifolia* posean compuestos estructuralmente relacionados y con actividad antioxidante.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

Este capítulo tiene la finalidad de dar a conocer las técnicas de observación utilizadas y los procedimientos de análisis empleados para que sea posible a otros investigadores y no sólo para repetirla sino también para verificar la adecuación de dichas técnicas y procedimientos al objeto de la investigación, así mismo se desarrollaron cada una de las pautas que permitieron reconocer la presente investigación.

Tipo de Investigación

Según Hurtado (2010), los tipos de investigación pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. Particularmente, la investigación de tipo confirmatoria se lleva a cabo cuando ya existen investigaciones previas de carácter exploratorio, descriptivo y explicativo, y a la vez, se puede predecir el efecto a partir de la causa o inferir la causa a partir del efecto. Por lo tanto esta investigación es de tipo confirmatorio, ya que se estableció la relación de causa-efecto entre los componentes químicos de los extractos de *Tabebuia serratifolia* y su actividad antioxidante.

Diseño de Investigación

Según Hurtado (2010), el diseño de la investigación se refiere a las estrategias que se implementarán para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. En ese sentido, el diseño de la presente investigación es de tipo experimental, porque la especie vegetal fue sometida a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos, para observar los efectos o reacciones que se producían en la variable dependiente. El diseño de investigación experimental es netamente explicativo, por cuanto su propósito es demostrar que los cambios en la variable dependiente fueron causados por la variable independiente. Es decir, se pretende establecer con precisión una relación causa-efecto; este estudio se realizó en un lapso de tiempo determinado, por lo tanto es un tipo de diseño de investigación transversal, porque los datos se recolectan en un solo momento y en un tiempo único (Hernández, Fernández y Baptista, 2010)

Población y Muestra

Unidad de Investigación

Estuvo representada por la especie vegetal *Tabebuia serratifolia* (Bignonaceae) recolectada Ciudad de Upata, al nor-este del Edo. Bolívar.

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra estuvo integrada por la recolección de 3000 gramos de corteza fresca de la especie vegetal *Tabebuia serratifolia*.

Sistema de Variables

Mediante el proceso de Operacionalización de las Variables, se visualizan las propiedades del objeto que no son cuantificables directamente, son llevadas a expresiones más concretas y directamente medibles. Según su función las variables estudiadas en la presente investigación se clasifican en:

- ✓ **Variable Dependiente:** Actividad antioxidante de los extractos de *T. serratifolia* (Tabla 2).
- ✓ **Variable Independiente:** Composición Química de los extracto de la corteza de *T. serratifolia* (Tabla 3).

Instrumento de Recolección de Datos

Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas donde se registraron los resultados de la composición química y actividad antioxidante de los extractos estudiados.

Procedimiento de la Investigación

Recolección y preparación del material vegetal

Las muestras de la corteza de *T. serratifolia* (Figura 13) fueron colectadas y donadas por el Prof. Jesús Velásquez (Laboratorio de Anatomía de la Madera, Universidad Nacional Experimente de Guayana, UNEG) en los alrededores de la Ciudad de Upata, al nor-este del Edo. Bolívar (7° 96' N y 62° 31' O), a una altura

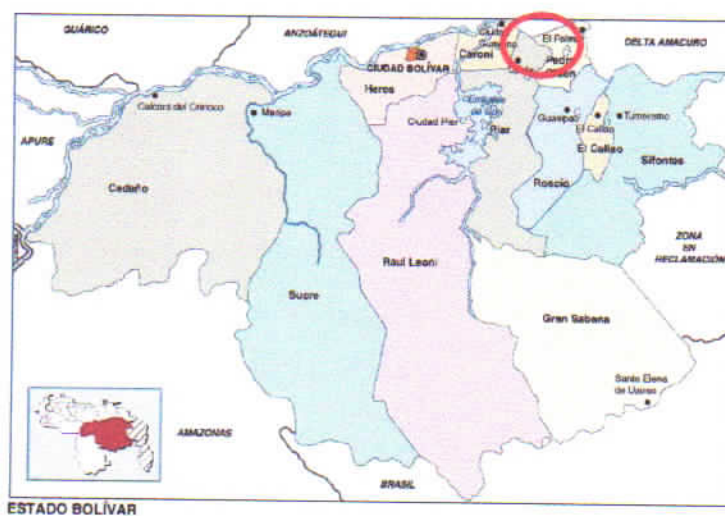
promedio de 350 m.s.n.m. (Figura 14). La corteza se retiró en la base del árbol a una altura no mayor de 1 m sobre el nivel del suelo. Posteriormente se colocó en la estufa a 40 °C hasta completa sequedad (2500 g).

Figura 13. Corteza de *T. serratifolia*



Fuente: Prof. Jesús Velásquez. Laboratorio de Anatomía de la Madera. Laboratorio de Biotecnología de la Madera. Universidad Nacional Experimental de Guayana, UNEG.

Figura 14: Ubicación geográfica de la Ciudad de Upata (Berroterán, 2003)



Obtención de los extractos

El material vegetal seco (2500 g), fue molido utilizando un equipo especial de carpintería, luego se tomaron 200 g y se realizó un proceso de extracción (maceración) usando como solventes hexano, acetona y etanol, en cada caso, se filtró y el solvente fue evaporado hasta completa sequedad en un rotavapor, obteniendo 1,81g del extracto de hexano, 1,48 g del extracto de acetona y 1,98 g del extracto etanólico.

Análisis fitoquímico preliminar

Para determinar la presencia de metabolitos secundarios en los extractos de la corteza de *Tabebuia serratifolia* se efectuó una serie de pruebas químicas cualitativas para lograr la identificación de los mismos. Entre estas pruebas se encuentran:

- **Ensayo de Liebermann-Burchard (Terpenos y/o Esteroides):** para el desarrollo de esta prueba en dos tubos de ensayos limpios, secos y debidamente identificados, se tomaron pequeñas cantidades de los extractos previamente llevados a sequedad, y se adicionó 0,5 mL de solución clorofórmica anhidra, luego se añadió 0,5 mL de anhídrido acético y cuidadosamente por la pared del tubo una gota de ácido sulfúrico concentrado. Se consideró positiva la prueba cuando aparecieron coloraciones rojas, verdes o azuladas (Martínez, Valencia y Jiménez, 2004).
- **Ensayo de Shinoda (Flavonoides):** Tomar 1,0 mL del extracto, añadir algunas limaduras de Mg, sujetar el tubo con una pinza. Adicionar cuidadosamente por la pared del tubo unas gotas de HCl concentrado. La aparición de coloraciones naranja o violeta, se considera prueba positiva (Martínez, Valencia y Jiménez, 2004).
- **Ensayo de Dragendorff, Mayer y Wagner (Alcaloides):** Si la alícuota del extracto y/o tintura está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en un baño de agua y el residuo redisolverse en 1,0 mL de HCl al 1% en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade una gota de HCl concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, se divide en tres tubos y luego se añaden 0,5 mL del reactivo correspondiente (Dragendorff, Mayer, Wagner); el resultado es positivo si hay precipitado naranja (Martínez, 2005).

- **Ensayo de FeCl_3 (Compuestos fenólicos):** la muestra se disolvió en agua y se agregó unas gotas de solución de cloruro de hierro (III) diluido. La formación de una coloración roja, azul, verde, o púrpura indica la presencia de fenoles (Martínez, 2005).
- **Ensayo de Gelatina al 1 % (Taninos):** disolver la muestra en agua y adicionar 2 gotas de reactivo de gelatina. La formación de un precipitado blanco indica presencia de taninos (Domínguez, 1990).
- **Ensayo con Hidróxido de Amonio Concentrado (Cumarias):** Se concentra una porción del extracto y se le adicionan 0,5 mL de etanol y dos gotas de hidróxido de amonio concentrado. Se considera positiva la prueba se presenta una fluorescencia azul-violeta (Domínguez, 1990).
- **Solubilidad en solución de hidróxido de sodio al 5 % (Quinonas):** En un tubo de ensayo se introducen 10mg de la sustancia problema, 0,2 mL de etanol y 0,4 mL de una solución acuosa de hidróxido de sodio al 5 %. Se observa si hay formación de color y se registra su espectro ultravioleta (Thompson, 1958).
- **Prueba de Altura y Estabilidad de Espuma (Saponinas):** En cada tubo de ensayo colocar 1,0 mL de cada extracto, agitar vigorosamente y observar la altura de la espuma. Se considera positivo si la espuma alcanza una altura de 8 a 10 mm y se mantiene por 30 minutos (Domínguez, 1990).

Determinación de la Actividad Antioxidante

Se han propuesto diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, en general se basan en la capacidad de los antioxidantes para captar radicales libres, sin embargo el modelo de captura del radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH), es uno de los más usados, por lo cual se seleccionó para llevar a cabo esta investigación.

Actividad inhibitoria del DPPH

El efecto de los extractos sobre el radical DPPH•, fue estimado usando el método experimental descrito por Díaz y col (2011); en tal sentido, se tomó 3 mL de solución metanólica de DPPH• a 6×10^{-2} mM se mezcló con 1 mL de la muestra a ensayar (1000 $\mu\text{g/mL}$). Esta solución se dejó reposar en la oscuridad por 30 min a temperatura ambiente. Luego se realizaron las lecturas de las absorbancias en un espectrofotómetro UV-visible (Spectronic Genesystm 10 Bio) a 517 nm. Una solución de 3 mL de DPPH• a 6×10^{-2} mM y 1 mL de metanol fue usada como control negativo, mientras que el control positivo fue ácido ascórbico a la concentración de 1 mM. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición (% In) lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH• neutralizado por el extracto a una determinada concentración y se calculó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ In} = \frac{A \text{ DPPH} - A \text{ M}}{A \text{ DPPH}} \times 100$$

ADPPH: absorbancia del DPPH

AM: absorbancia de la muestra

Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀)

Aquellas muestras que alcanzaron un % In \geq al 50% se les determinó la concentración inhibitoria media (CI₅₀), que indica la mínima concentración necesaria de un antioxidante capaz de reducir en un 50 % la cantidad de radicales libres presentes en el medio (Goupy y col, 1999). Para ello, se preparó una curva de calibración con ácido ascórbico (12,5 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$; 50 $\mu\text{g/mL}$; 75 $\mu\text{g/mL}$; 100 $\mu\text{g/mL}$) y una serie de diluciones de las muestras (500 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 125 $\mu\text{g/mL}$; 62,5 $\mu\text{g/mL}$ y 32,25 $\mu\text{g/mL}$), con las absorbancias obtenidas y la concentración de cada solución ensayada, se obtuvo por regresión lineal una ecuación que nos permitió obtener el CI₅₀.

Por ejemplo, $y = a \cdot x + b$; $y=50$, $x=CI_{50}$ expresado en $\mu\text{g/mL}$.

De esta forma se compara la capacidad antioxidante entre el ácido ascórbico y el extracto de la especie vegetal. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudio fitoquímico

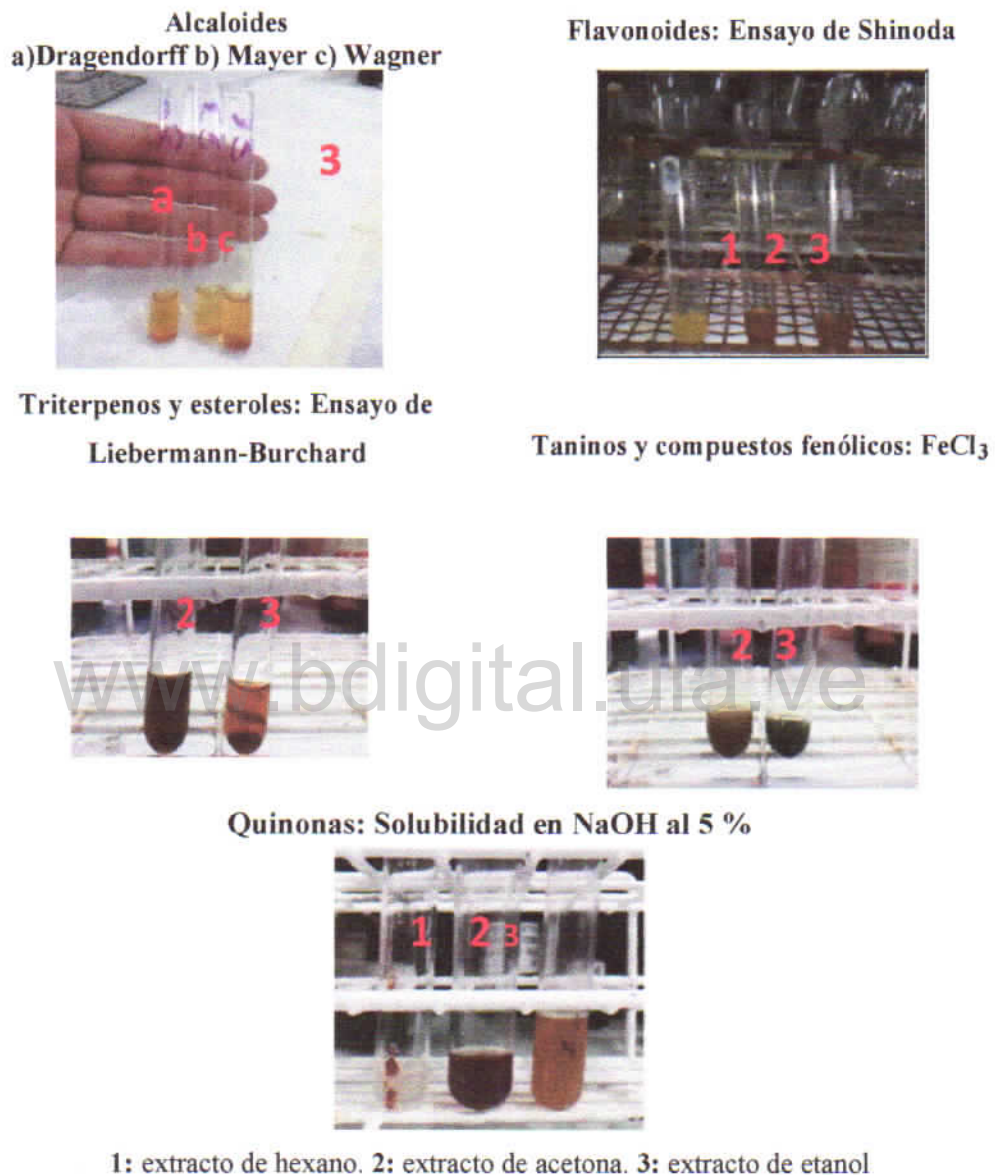
El análisis fitoquímico de los extractos obtenidos de la corteza de *Tabebuia serratifolia* se realizó cualitativamente mediante pruebas químicas. Los mismos se colocaron en contacto con diversos reactivos químicos y se observaron las reacciones de coloración o precipitación que determinaron la presencia de ciertos metabolitos secundarios.

A través de pruebas químicas de coloración y/o precipitación se comprobó la presencia de alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y quinonas en los extractos de acetona y etanol de la corteza *T. serratifolia*; por otra parte, en el extracto de hexano solo se encontró la presencia de esteroides. Sin embargo, es necesario resaltar, que el extracto de acetona presenta mayor proporción de compuestos fenólicos y quinonas (Tabla 4; Figura 15).

Tabla 4: Resultados de la caracterización fitoquímica de los extractos obtenidos de la corteza de *Tabebuia serratifolia*

Metabolitos	Ensayo	Resultados	EH	EA	EE
Alcaloides	Dragendorff Mayer Wagner	Formación de precipitado	ND	ND	+ + +
Flavonoides	Shinoda	Aparición de coloración a rojiza	-	++	+
Cumarinas	Hidróxido de amonio concentrado	No hubo fluorescencia bajo la luz UV	-	-	-
Taninos y Compuestos Fenólicos	FeCl ₃ al 3 %	Coloraciones verdes	ND	++	+
Taninos	Gelatina 1 %	No se formó precipitado	ND	-	-
Tripertenos y Esteroles	Liebermann-Burchard	Cambio a verde (hexano, acetona) Cambio a rojizo (etanol)	+	+	+
Saponinas	Espuma	Formación de espuma que desaparece rápidamente	ND	-	-
Quinonas	Hidróxido de sodio al 5 %	Formación de color rojo	-	++	+
<p>EH: Extracto de Hexano. EA: Extracto de Acetona. EE: Extracto de Etanol. (+): Presencia. (++): Abundante. (-): Ausencia. ND: No determinado</p>					

Figura 15. Caracterización fitoquímica de los extractos de la corteza de *Tabebuia* sp



Estos resultados se relacionan con estudios similares realizados en investigaciones previas donde se reportan que de los extractos de *Tabebuia* se han podido aislar diferentes moléculas, como: naftoquinonas, furanonaftoquinonas, lapachol, glucosidoirridioides, dialdehidos ciclopentanos, derivados del ácido

benzoico y flavonoides (Kreher, Lotter, Cordell y Wagner, 1988; Ueda y col, 1994; Koyama, Morita, Tagahara y Hirai, 2000). Como se puede apreciar, en los estudios fitoquímicos del género *Tabebuia*, los componentes principales son derivados fenólicos y quinonas, y en la presente investigación esos fueron los compuestos detectados en los extractos analizados.

Por otra parte, llama la atención que en los extractos de acetona y etanol dio positivo para alcaloides por lo que se podría presumir un falso positivo debido a la presencia de sistemas lactónicos en algunos de los compuestos fenólicos obtenidos de este género (Figura 2) que pueden generar interferencias por la aparición de precipitados (Miranda y Cuellar, 2012). Según la revisión realizada se han detectado alcaloides en tamizajes fitoquímicos realizados en extractos de *T. rosea* (Sathiya y Muthuchelian, 2010), *T. serratifolia* (Lobato y col, 2014) y *T. hypoleuca* (Regalado, Sánchez y Mancebo, 2015) pero no se ha logrado el aislamiento de los mismos. En tal sentido, se recomienda realizar una extracción específica para compuestos alcaloidales para poder confirmar la presencia de estas sustancias en dichos extractos.

Actividad Antioxidante

Actividad inhibitoria del DPPH

Se realizó un barrido inicial con los extractos de acetona y etanol de la corteza de *Tabebuia serratifolia* a una concentración de 1000 µg/mL, para determinar si poseían actividad antioxidante y se comparó con el ácido ascórbico (sustancia

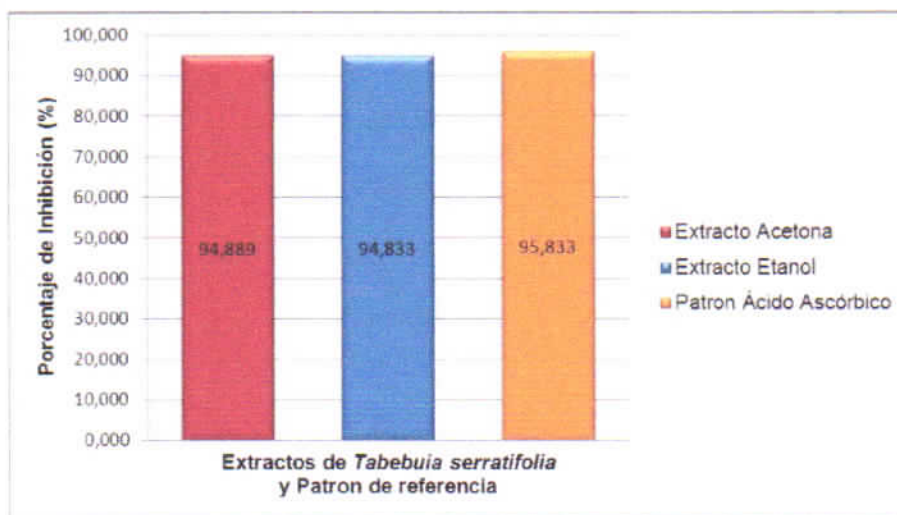
antioxidante utilizada como referencia a una concentración de 176,0 $\mu\text{g/mL}$, Tabla 5, Grafico 1) obteniendo como resultado que porcentaje de inhibición frente al radical DPPH resultó de 94,89 % para el extracto de acetona y 94,83 % para el extracto de etanol, mientras que para el ácido ascórbico fue de 95,83 %, observándose que los extractos analizados presentan una actividad antioxidante elevada y similar al patrón de comparación.

Tabla 5. Resultados obtenidos de la actividad antioxidante *in vitro* por el método de secuestro del radical 2,2-difenil-1-picril-hidracilo (DPPH).

Extractos de <i>Tabebuia serratifolia</i>	Concentración extractos patrón referencia ($\mu\text{g/mL}$)	% In \pm DE
Acetona	1000	94,89 \pm 0,079
Etanol	1000	94,83 \pm 0,000
Ácido ascórbico (Patrón)	176	95,83 \pm 0,000

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Porcentaje de Inhibición (% In) \pm Desviación Estándar (DE) de los extractos etanólicos ensayados.

Grafico 1: Actividad antioxidante de los extractos de *Tabebuia serratifolia* y el ácido ascórbico



Concentración inhibitoria media (IC₅₀)

Se procedió a determinar la concentración inhibitoria media (CI₅₀) a ambos extractos (acetona y etanol) debido a que en el barrido inicial dieron % In \geq al 50 %. Para ello, se preparó una curva de calibración con ácido ascórbico (12,5 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$; 50 $\mu\text{g/mL}$; 75 $\mu\text{g/mL}$; 100 $\mu\text{g/mL}$) cuyos resultados analíticos se reflejan en la Tabla 6 y Grafico 2. Adicionalmente se prepararon una serie de diluciones de los extractos (100 $\mu\text{g/mL}$; 50 $\mu\text{g/mL}$; 25 $\mu\text{g/mL}$ y 12,5 $\mu\text{g/mL}$) para determinar la CI₅₀ (Tabla 7).

Tabla 6: Datos para Curva de Calibración con Ácido Ascórbico

Muestras	Concentración	Absorbancias Promedio	% Inhibición Promedio	Desviación Estándar
Ácido Ascórbico ($\mu\text{g/mL}$)	12,5	0,552	20,678	0,473
	25	0,438	37,098	0,430
	50	0,216	69,028	0,187
	75	0,025	96,362	0,264
	100	0,020	97,080	0,078
Patrón DPPH (mM)	0,06	0,696	0,000	0,000

Grafico 2: Curva de calibración de Ácido Ascórbico

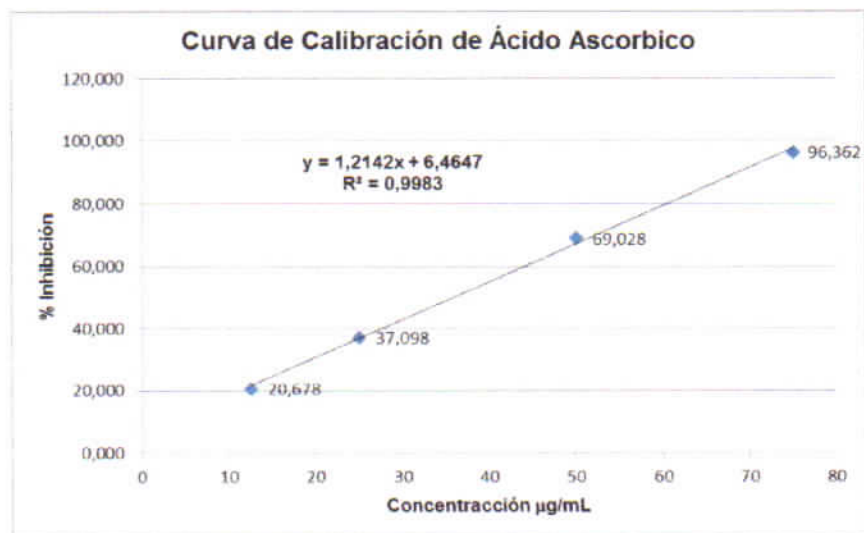


Tabla 7. Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀) de los extractos de *Tabebuia serratifolia*.

Extractos analizados	Concentraciones (µg/mL)	% In ± DE	CI ₅₀ (µg/mL)
Acetona	12,5	33,389 ± 0,079	80,91 ± 1,354
	25	36,333 ± 0,272	
	50	41,778 ± 0,208	
	100	54,833 ± 0,593	
Etanol	12,5	32,889 ± 0,079	84,25 ± 1,594
	25	34,944 ± 0,208	
	50	39,000 ± 0,000	
	100	54,833 ± 0,593	

Los resultados son el promedio de tres mediciones por separado del Porcentaje de Inhibición (% In) ± Desviación Estándar (DE) y Concentración Inhibitoria Media (CI₅₀ expresada en µg/mL).

Los resultados obtenidos muestran que el extracto de acetona posee una concentración inhibitoria media de 80,91 µg/mL y el de etanol de 84,25 µg/mL. Esta

información se correlaciona con el análisis fitoquímico, que indica que el extracto de acetona posee mayor concentración de compuestos fenólicos y quinonas, por lo cual la CI_{50} es menor que la del extracto de etanol, es decir, que se necesita menor cantidad del extracto de acetona para inhibir el 50 % de radicales libres presentes en la solución estudiada ya que posee mayor concentración de metabolitos secundarios que neutralizan o desactivan los radicales DPPH.

Asimismo, estudios anteriores realizados en el género *Tabebuia* reportan el aislamiento de fenilpropanoides glicosidados obtenidos de la corteza de *Tabebuia avellanedae* que presentan fuerte actividad antioxidante mediante el método de DPPH con concentraciones inhibitorias medias que varían entre 0,12 a 2,33 μ M (Suo y col, 2013). Asimismo, la actividad antioxidante de los extractos acuoso (TA) y metanólico (TM) de *Tabebuia chrysanta* fue evaluada *in vitro* mediante varios métodos, presentando un porcentaje de inhibición de radicales hidroxilo de 83 % (TA) y 80 % (TM), 33 (TA) % y 63 (TM) % de radicales peroxilo y 59 (TA) % y 71 (TM) % de radicales superóxido (Ospina y col, 2011). De igual modo, el extracto metanólico de las hojas de *T. pallida* es considerado como una fuente importante de antioxidantes, presentando un % de inhibición de radicales de DPPH de 91,05 % y una concentración inhibitoria media de 9,20 μ g/mL (Rahman y col, 2015).

En tal sentido, se presume que la actividad antioxidante de los extractos de acetona y etanol de *T. serratifolia* se debe a la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides que fueron detectados en el tamizaje fitoquímico (Tabla 7), estos compuestos son activos debido a la combinación de sus propiedades quelantes de

hierro y secuestradoras de radicales libres, gracias a su capacidad de donar electrones, generando radicales fenoxilo estables. La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos es de interés tecnológico y nutricional, debido a su procedencia de origen vegetal ya que podría contribuir a la disminución del uso de antioxidantes sintéticos que podrían traer consecuencias a futuro; además estas sustancias juegan un papel preventivo en diversas enfermedades crónicas no transmisibles como las enfermedades cardio-vasculares, cáncer entre otras patologías, así como en el proceso normal y patológico de envejecimiento (Gonzales, Muñiz y Valls, 2009). Los resultados obtenidos proporcionan un aporte a la fitoquímica y actividad biológica de *T. serratifolia*.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El análisis fitoquímico preliminar de la corteza de *Tabebuia serratifolia* permitió comprobar la presencia de flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y quinonas en los extractos de acetona y etanol, siendo el extracto de acetona el que presenta mayor proporción de compuestos fenólicos y quinonas. Adicionalmente se determinó la presencia de esteroides en el extracto de hexano.

La actividad antioxidante del extracto de acetona presentó un % de inhibición de radicales DPPH[•] de 94,89 %, mientras que en el extracto de etanol fue de 94,83 %, ambos evaluados a una concentración de 1000 µg/mL. La concentración inhibitoria media (CI₅₀) fue de 80,91 µg/mL y 84,25 µg/mL para el extracto de acetona y etanol, respectivamente.

Estos resultados sugieren que la corteza de *T. serratifolia* es una fuente de metabolitos secundarios con actividad antioxidante, que pudieran ser utilizados para tratar diversas afecciones producidas por los radicales libres.

Recomendaciones

Realizar una marcha fitoquímica para el aislamiento de alcaloides y verificar que realmente están presentes en los extractos de la corteza de *T. serratifolia*.

Efectuar la cuantificación de compuestos fenólicos, para correlacionar la proporción con la actividad antioxidante.

Evaluar otras actividades biológicas como antibacteriana, antifúngica, citotóxica, entre otras, ya que varias especies del género son activas.

Determinar la toxicidad de los extractos de la corteza de *T. serratifolia* para determinar su inocuidad en un tratamiento a largo plazo.

Concientizar a la comunidad, en la conservación y uso de la especie *T. serratifolia*, ya que produce sustancias que podrían considerarse como una alternativa medicinal para tratar diversas afecciones.

BIBLIOHEMEROGRAFIA

- Acosta P. (2008). *Botánica General. Guía didáctica*. Técnica particular de Loja. Escuela de Ciencias de la Educación. Ecuador. Editorial Universal.
- Benzie I, Strain J. (1996). Simultaneous automated measurement of total 'antioxidant' (reducing) capacity and ascorbic acid concentration. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. 3(4):233-2238.
- Bello J. (2005). Calidad de Vida, Alimentos y Salud Humana: Fundamentos Científicos. Ediciones Díaz de Santos. España. 6 (2): 304-305.
- Berroterán J. (2003). Ordenamiento territorial de la reserva forestal Imataca y sus áreas adyacentes (Bases del Plan de Ordenamiento). Ministerio del ambiente y de los recursos naturales, dirección general de planificación y ordenación del ambiente dirección general del recurso forestal. Editores de la biblioteca de Ayacucho-Venezuela.
- Castillo F, Gómez H, Estrada E, Rodríguez R, Domingo J. (1996). Estudio químico preliminar del extracto con diclorometano de la corteza del tallo de *Tabebuia billbergii*. Revista Colombiana de Química. 25(2):342-456.
- Coba P, Mayacu L, Vidari G. (2010). Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*. La Granja. 11(1): 22-30.
- Colmeiro M. (1871). Diccionario de los diversos nombres vulgares de muchas plantas usuales o notables del antiguo y nuevo mundo, Madrid.

- Coy C, Parra J, Cuca L. (2014). Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (Rutaceae). *Revista Elementos*. 4(8): 31-39.
- Cubero N. Monferre, A. Villalba, J. (2002). *Aditivos Alimentarios*. Mundi Prensa Libros, S.A. 86-87. Madrid España.
- Denham H. (1954-2009). Origin and evolution of the free radical theory of aging: a brief personal history. *US National Library of Medicine National Institutes of Health Search database*. 10(6):773-81.
- De Ugaz O. (1994). *Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales*. Perú. Editorial pontificia de la Universidad Católica del Perú. 2da Edición.
- De Gálvez M. (2010). Antioxidantes en fotoprotección ¿realmente funcionan? *Actas de Dermo- sifiliográficas*. 101:(3) 197-200.
- Díaz L, de Monjito S, Medina A, Meléndez P, Laurence V, Marti-Mestres G. (2011). Activity of ethanolic extracts leaves of *Machaerium floribundum* against acne-inducing bacteria, and their cytoprotective and antioxidant effects on fibroblast, *Rev. Per. Biol.*, Vol. 18, No 2, pp. 153–158.
- Domínguez X. (1979). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. México. Editorial Limusa. 69-76.
- Domínguez A. (1990). *Phytochemistry Methods Frontiers*. *Revista Latinoamericana de Química*. First Special Supplement. Departamento de Química. 3(6):1-15.

- Duarte J, Tapajós L, Da Silva S. (2014). Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). Macapá. 4(1):33-43.
- Dröge, (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. US National Library of Medicine National Institutes of Health Search database. 82(1):47-95.
- Eichholz I, Rohn S, Gamm A. (2012). *Síntesis de flavonoides*. México. Editorial interamericana.
- Fonnegra R, Jiménez S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Antioquia-Colombia. Editorial Universidad de Antioquia.
- Flanzy C. 2003. Enología. Fundamentos Científicos y Tecnológicos. Ediciones Mundi Prensa. 209-210. Madrid España.
- GarcezL. (2005). Bignoniaceae. Un nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Caracas-Venezuela. Editorial Quirón.
- Gentry A. (1982). Flora de Venezuela: Bignoniaceae. Ediciones fundación educación ambiental. Caracas-Venezuela.
- Gentry A. (1992). A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 79(1):53-64.
- Girard, M. Kindack, D. Dawson, B. A. Ethier, J. C. Awans, D (1988). Naphtoquinone constituents of *Tabebuia spp.* *Journal Natural Products*. 51(1):952-1023.
- Gil A. (2010). Tratado de Nutrición. Editorial Médica Panamericana. Tomo 4. Pag 756.

- Gonzales M, Muñiz P, Valls V. (2009). Actividad antioxidante de la cerveza: estudios *in vitro* e *in vivo*. Centro de información: Cerveza y Salud. Departamento de Biotecnología y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Burgos
Departamento de Pediatría, Ginecología y Obstetricia. Universidad de Valencia. 1(8): 1-53.
- Gómez J, Prieto J, Heinrich M. (2009) Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*) A global ethnopharmacological commodity. *Journal of Ethnopharmacology*. 121. 1–13.
- Goupy P, Hugues P, Boivin J, Amiot A. (1999). Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79 (12):1625-1634.
- Govindappa M, Channabasava R, Sunil K, Pushpalatha K. (2013). Antioxidant activity and phytochemical screening of crude endophytes extracts of *Tabebuia argentea*. *American Journal of Plant Sciences*. 4 (6):1641-1652.
- Gutiérrez A, Ledesma L, García I, Grajales O. (2007). Capacidad Antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*. 33(1): 1-8.
- Grandez M, Rivadeneyra N, Suarez J, Souza R, Rios F, Carrasco D, Utia P. (2009). Actividad hipoglucemiante de la corteza de *Tabebuia serratifolia* (Tahuari) y evaluación fitoquímica en Iquitos. Informe final proyecto de investigación

2008-2009, Presentado al Instituto de Investigación de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

Grandez M. García N. (2004-2005). Identificación del extracto responsable de la actividad hipoglucemiante de *Tabebuia serratifolia*. Informe final proyecto de investigación. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.

Grase S, Olmstead G. (2007). Evolución de un caldo carismático neotropical: filogenia molecular de *Tabebuia crescentiae* y géneros aliados (Bignoniaceae). Tesis de pregrado. Departamento de Biología. Universidad de Washington.

Gronback M, Deis A, Soresen T, Becjer U, Schnohr P y Jensen G. (1995). Mortality associated with moderate intake of wine, beer or spirit, National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. 6; 310(6988):1165-9.

Halliwell B. (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. US National Library of Medicine National Institutes of Health Search database. 2(1):67-74. Publicaciones. Universidad de Sevilla. España. 182.

Hernández R, Gally M. (1981). *Plantas medicinales*. Colombia. Editorial, S.A. 26(4):23-45.

Hernández R, Fernández C, Baptista P. (2010). *Metodología de la Investigación*. México. Quinta edición. Editorial McGraw Hill.

Hokche O, Berry P, Huber O. (2008). *Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico de Venezuela.

- Hurtado J. (2010). *El Proyecto de la Investigación. Compresión holística de la Metodología y la investigación*. Caracas-Venezuela. Sexta Edición. Editorial Quirón.
- Inagaki R, Ninomiya M, Kaori T, Kunitomo W, Mamoru K. (2013). Synthesis and cytotoxicity on human leukemia cells of furonaphthoquinones isolated from *Tabebuia* plants chem. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 61(6): 670–673.
- Jiménez F, Veloza A, Sepúlveda J. (2013). Anti-infectious activity in plants of the genus *Tabebuia*. Universitas scientiarum. 18(3): 257-267.
- Koyama J, Morita I, Tagahara K, Hirai K. (2000). Cyclopentene dialdehydes from *Tabebuia impetiginosa*. *Phytochemistry*. 53(8):869–72. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10820794>
- Kreher B, Lotter H, Cordell G, Wagner H. (1988). New furanonaphthoquinones and other constituents of *Tabebuia avellanae* and their immunomodulating activities *in vitro*. *Planta Medica*. 54(7): 562–563.
- Mahbubur R, Sakhawat H, Golam M, Mosaddik A, Khurshid A. (2019). Evaluación de anti-ROS y anticancerígeno propiedades de *Tabebuia pallida* L.hojas. *Clinical Phytoscience*. 5 (2): 17-29.
- Mahbubur R, Badrul I, Biswasa B, Khurshid A. (2015). *In vitro* antioxidant and free radical scavenging activity of different parts of *Tabebuia pallida* growing in Bangladesh. *BMC Research Notes*. 8(4):6-21.

- Martínez A, Valencia G, Jiménez M. (2004). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica*. Departamento de Farmacia. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia.
- Marcano D, Hasegawa H. (2002). *Fitoquímica Orgánica*. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Caracas – Venezuela.
- Martínez A. (2005). Flavonoides. Tesis para optar al título de Doctor en Química Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquía, Medellín. Colombia.
- Mesa A, Gaviria C, Cardona F, Sáez J, Trujillo S, Rojano B. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista cubana de plantas medicinales*. 15(2): 1-18.
- Miranda M, Cuéllar A. (2012). *Farmacognosia y productos naturales*. 2da edición. Editorial Félix Varela. La Habana. 135-158.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology*. 26(2):211-232.
- Mukche O, Paul E, Berry O. (2008). *Nuevo catálogo de la flora de Venezuela*. Fundación Instituto Botánico de Venezuela. “Dr. Tobias Lasser”. Caracas Venezuela. Editorial Quirón.
- León H, Williams J. (2007). Anatomía del xilema secundario de diez especies de la familia Bignoniaceae de Venezuela. *Acta Botánica de Venezuela*. 30 (2):361-384.

- Lobato D, Tapajós M, Silva A, (2014). Análise fitoquímica das folhas de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nicholson (Ipê Amarelo). *Estação Científica (UNIFAP)*. 4(1): 33-43
- Londoño, J. 2004. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Corporacion Universitaria Lasallista*. 9(2): 129-162.
- López V. (2004). *Revista Internacional de Botánica Experimental*. Instituto para Investigaciones Científicas y Tecnológicas (Argentina). 76(2):8-36.
- Ospina L, Aragón D, Vergel N, Isaza G, Pérez J. (2011). Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Phenax rugosus* (poir.) wedd and *Tabebuia chrysantha* G. Nicholson. *Vitae, Revista de la facultad de química farmacéutica*. 18(1): 1-33.
- Orduña M, Enrique L, Martín M, Alberto A, Juan M.; Delgado E. (2016). *La revolución Google Scholar: destapando la caja de Pandora académica*. UNE y Universidad de Granada. ISBN 9788433859419. OCLC 974669693.
- Pacheco M, Lock de Ugaz O. (1994). Metabolitos secundarios de la *Tabebuia serratifolia*. *Revista de Química*. 8(1): 5-12.
- Padilla F, Rincón A, Bou-Rached L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Revista de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*. 58(3): 223-243.

- Raggio M, Moro N. (2004). Estudio botánico, fotoquímico y antimicrobiano de *Tabebuia aurea*. Revista Internacional de Botánica Experimental. 4(2): 221-228.
- Rahmatullah M, Samarrai W, Jahan R, Rahman S, Sharmin N, Ullah E, Majeedul H, Chowdhury A, Sazzadul B, Farhana J, Anwarul B, Shamima A. (2010). An ethnomedicinal, pharmacological and phytochemical review of some Bignoniaceae family plants and a description of Bignoniaceae plants in folk medicinal uses in Bangladesh. Advances in Natural and Applied Sciences. 4(3): 236-253.
- Rahman M, Hossain S, Mostofa G, Ali Khan M, Rezwana A, Mosaddik A, Golam S, Alam K. (2019). Evaluation of anti-ROS and anticancer properties of *Tabebuia pallida* L. Leaves. Clinical Phytoscience. 5 (17): 126-151
- Reis M, Guimaraes S, Cerqueira C. (2016). *In vitro* e *in vivo*. Evaluación de la eficacia y seguridad de las formulaciones fotoprotectoras que contiene extractos antioxidantes Brasil. Revista de farmacognosia. 3 (26): 251-258.
- Rengifo E, Mejía K. (2000). Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana Agencia Española de Cooperación Internacional. Segunda edición. Lima. p. 286.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Yang M, Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine. 3 (5) 1231-1237.

- Regalado A, Sánchez L, Mancebo B. (2015). Actividad anti-inflamatoria de los extractos metanólicos de hojas y de tallos de *Tabebuia hypoleuca*. *Journal of Pharmacy y Pharmacognosy Research*, 3(5): 109-117.
- Renaud C, Guergen R, Siest G, Salomon R, (1999). Wine beer and mortality in middle aged men from eastern France. *Arch Intern Med*. 159 (16):1865-70.
- Rivas L y García C. (2016). Actividad Antioxidante y toxicidad. En Rivas-Morales C, Oranday-Cardenas, M.A., Verde-Star, M.J. (Eds.). *Investigación en plantas de importancia médica*. Barcelona, España: Omnia Science. 41-76.
- Sánchez, V y Méndez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Departamento de Investigación Biomédica, Fundación Clínica Médica Sur. 20(3): 161-168.
- Sathiya M, Muthuchelian K. (2010). Antitumor potential of total alkaloid extract from *Tabebuia rosea*. Leaves on MOLT-4 Cells *in vitro*. *Nature and Science*. 8(9): 77-85.
- Suo M, Ohta T, Takano F, Jin S. (2013). Glucósidos fenilpropanoides bioactivos de *Tabebuia avellanedae*. Tesis de posgrado. Departamento de farmacognosia y química de productos naturales. Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Kanazawa. China.
- Stevens, P. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008 [and more or less continuously updated since]. (11 de julio de 2010). <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

- Tamayo R, Verdecia A, Mojera I. (2011). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreo y acuosos de las hojas y tallo de la *Isocarpha cubana* B. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. 15(3): 322-347.
- Thompson M. (1958). *Naturally occurring quinones*. Academic press, Nueva York. 6 (2): 1-32.
- Ueda S, Umemura T, Dohguchi K, Matsuzaki T, Tokuda H, Nishino H, Iwashima A. (1994). Production of anti-tumour promoting furanonaphthoquinones in *Tabebuia avellanedae* cell cultures. *Phytochemistry*. 6 (36): 323–325.
- Valcarcel M, Gómez A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. Barcelona. 1era Edición. Editorial Reverte.
- Vásquez R. 1997. Florura de las Reservas Biológicas de Iquitos. Perú. Missouri Botanical Garden, Saint Louis, Missouri – USA. p. 1946.
- Velásquez, J. Rojas, A. (2004). *Botánica General Venezolana*. Facultad de Ciencias. Maracaibo, Venezuela. 2da Edición. Editorial Quirón.
- Venereo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista cubana de plantas medicinales*. 31(2):126-133.
- Villarreal S, Moreno S, Jaimez D, Rojas L, Lucena M, Díaz L, Díaz T, Carmona J. (2017). Actividad antibacteriana y antioxidante de extractos crudos de plantas pertenecientes a la familia Bignoniaceae. *Acta-Bio clínica*. 7(14): 205-222.
- Yeager, S. (2001). *La Guía Medica de remedios Alimenticios*. Estados Unidos de América Rodale. Inc. 3.