
Práctica de laboratorio para las carreras de Química y Farmacia

A laboratory practice for Química's and Farmacia's racings

José González Yaque*

<jgyaque@ifal.uh.cu>

Armando Cuéllar Cuéllar**

<acuellar@ifal.uh.cu>

* y ** Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana (IFAL-UH); Cuba.

RESUMEN

El objetivo del artículo es proponer una práctica de laboratorio para las carreras de Química y Farmacia de la Universidad de La Habana, Cuba. Este material aborda un resumen de algunos métodos empleados para la extracción, aislamiento, identificación y caracterización estructural de la gossypitrina, que hasta el presente es el componente mayoritario de los pétalos de las flores de la majagua, y debe constituir para los estudiantes una guía o material auxiliar en el desarrollo de las actividades prácticas de asignaturas como la Química Orgánica o Farmacognosia y Química de los Productos Naturales.

Palabras clave: flavonoides, gossypitrina, actividades prácticas.

ABSTRACT

The article's objective is to propose a laboratory practice for Química's and Farmacia's racings of Havana's, Cuba's university. This material, summary some methods employed to extract, isolate, identify and characterize structurally the gossypitrin, who is even now the majoritarian chemical component from the petal of the flowers of majagua, and must be for the students a guide or auxiliary material to developing practical activities in subject like Organic Chemistry or Pharmacognosy and Natural Products Chemistry.

Keywords: flavonoids, gossypitrin; practical activities.

INTRODUCCIÓN

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de

suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana⁽¹⁾.

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C₂ (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C)⁽²⁾. Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950.

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante^(3,4). Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer^(5, 6).

Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica⁽⁷⁾ y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-prostanoide y anti-inflamatoria), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos) y de proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación (prevención de la placa de ateroma)^(5, 8-10).

Además de sus conocidos efectos antioxidantes, los flavonoides presentan otras propiedades que incluyen la estimulación de las comunicaciones a través de las uniones en hendidura, el impacto sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de detoxificación tales como las monooxigenasas dependientes de citocromo P-450, entre otras⁽¹¹⁾.

Talipariti elatum (S.w) Fryxell (Malvaceae) es un árbol con una amplia distribución en Cuba y Jamaica que crece en todo tipo de suelos, particularmente en los cenagosos, con un amplio rango de propiedades medicinales reportadas tales como aperitiva, emoliente, sudorífico, antiasmática y un excelente expectorante. Alcanza alrededor de 25 metros de altura y sus hojas tienen forma acorazonada en la base y son pecioladas^(12, 13).

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino y cerveza. Se han identificado más de 5 000 flavonoides diferentes. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo, el valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo la quercetina el predominante con un valor medio de 16 mg/día. En un principio, fueron consideradas sustancias sin acción beneficiosa para la salud humana, pero más tarde se demostraron múltiples efectos positivos debido a su acción antioxidante y eliminadora de radicales libres. En Cuba crece una planta maderable conocida popularmente como Majagua, cuyo nombre científico es *Talipariti elatum* S.w, la cual es utilizada en la medicina natural tradicional como expectorante y antiasmática, pero sin que hasta el momento se hayan comprobado sus posibles aplicaciones terapéuticas y mucho menos los componentes químicos responsables de los efectos farmacológicos que a la misma se les atribuyen. El objetivo del artículo es proponer una práctica de laboratorio para las carreras de Química y Farmacia de la Universidad de La Habana, Cuba.

DESARROLLO

En las flores de la especie se ha encontrado la presencia de más de 40 componentes químicos de naturaleza diversa tales como, gossypitrina, β -sitosterol, γ -sitosterol, antocianina roja, rutina y quercetina^(14, 15). La actividad antiasmática y antioxidante de la gossypitrina se ve incrementada por la formación de complejos con metales de transición^(16, 17). Recientemente se han encontrado dos nuevos compuestos de tipo flavonoide: la gossypetina como aglicón y la gossypetina-3'-O-glucósido, esta última, con una masa molecular igual a la gossypitrina, pero con la molécula de glucosa unida al aglicón en la posición 3' del anillo B de su estructura⁽¹⁸⁾.

La gossypitrina (7-glucosil-3, 5, 3', 4'-pentahidroxi-flavonol), es un glucósido de color amarillo cristalino ($C_{21}H_{20}O_{13}$) que está presente también en las flores del algodón y otras especies de Hibiscus^(19,20,21). El objetivo de este trabajo es proponer una serie de métodos de trabajo en el laboratorio que le permita a los estudiantes de las carreras de Química y Farmacia adquirir habilidades prácticas para poder realizar la extracción, aislamiento, purificación e identificación del glucósido flavonoide gossypitrina a partir de los pétalos de las flores de majagua.

Para el desarrollo de las actividades prácticas los estudiantes deben revisar los siguientes aspectos:

1. Núcleos estructurales de los flavonoides y propiedades de los mismos.
2. Métodos de separación (extracción).
3. Ensayos para su reconocimiento.
4. Interés farmacéutico.

Parte experimental

Material vegetal

Las muestras se recolectan en el periodo de floración de las plantas y se utilizan para ello, flores que caen espontáneamente de las plantas después de su maduración. Las mismas se someten a un proceso de secado que consiste en secado en estufa a 40 °C, durante cinco días, o una muestra secada a la sombra a temperatura ambiente durante una semana.

Elaboración de los extractos

Procedimiento # 1:

60 g de pétalos de *Talipariti elatum* S.w., secos y molidos, se colocan en un cartucho de un equipo Soxhlet y se extraen durante 20 h con 675 mL (en el balón del equipo) de etanol al 95 %. Se filtra en caliente. Los líquidos orgánicos de extracción se concentran por destilación en evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 200 mL, a 120 rpm, con una temperatura de 70 °C y una presión de 500 mbar. El extracto concentrado se refrigera hasta la aparición de un sólido amarillo-naranja abundante que se recupera por filtración en frita de vidrio poroso # 3 ⁽²²⁾.

Procedimiento # 2:

60 g de pétalos de *Talipariti elatum* S.w., secos y molidos, se colocan en un cartucho de un equipo Soxhlet y se extraen durante 20 h con 675 mL (en el balón del equipo) de 1,2-dimetoxietano. Se filtró

en caliente. Los líquidos orgánicos de extracción se concentran por destilación en evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 200 mL, a 120 rpm, con una temperatura de 70 °C y una presión de 500 mbar. El extracto concentrado se refrigera hasta la aparición de un sólido amarillo-naranja abundante que se recupera por filtración en frita de vidrio poroso # 3.

Procedimiento # 3:

60 g de pétalos de *Talipariti elatum* S.w., secos y molidos, se colocan en un percolador con 300 mL de etanol al 95 %, según la metodología planteada por Miranda y Cuéllar en el 2000⁽²³⁾. Se filtra a temperatura ambiente. Los líquidos orgánicos de extracción se concentran por destilación en evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 200 mL, a 120 rpm, con una temperatura de 70 °C y una presión de 500 mbar. El extracto concentrado se refrigera hasta la aparición de un sólido amarillo-naranja abundante que se recupera por filtración en frita de vidrio poroso # 3.

Procedimiento # 4:

60 g de pétalos de *Talipariti elatum* S.w., secos y molidos, se humectan previamente durante 20 horas con 80 mL de etanol al 95 % y posteriormente se colocan en un baño ultrasónico con 160 mL de etanol al 95 % durante 3 horas. Los líquidos orgánicos de extracción se concentran por destilación en evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 80 mL, a 120 rpm, con una temperatura de 70 °C y una presión de 500 mbar. El extracto concentrado se refrigera hasta la aparición de un sólido amarillo-naranja abundante que se recupera por filtración en frita de vidrio poroso # 3.

Procedimiento # 5:

60 g de pétalos de *Talipariti elatum* S.w., secos y molidos, se colocan en un cartucho de un equipo Soxhlet y se extrajeron durante 20 h con 675 mL (en el balón del equipo) de 1,2-dimetoxietano. Se filtra en caliente. Los líquidos orgánicos de extracción se concentran por destilación en evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 200 mL, a 120 rpm, con una temperatura de 70 °C y una presión de 500 mbar. El extracto concentrado se refrigera hasta la aparición de un sólido amarillo-naranja abundante que se recuperó por filtración en frita de vidrio poroso # 3.

Análisis por CCD, UV e IR

La cromatografía de capa delgada (CCD) se realiza con placas pre-elaboradas sobre soporte de papel de aluminio con gel de sílice G.60 F-254 de la Merck, utilizando como disolvente de elución una mezcla (v/v/v) de n-butanol: ácido acético: agua 4:1:5, donde se corre el sólido recuperado (cristalizado).

La espectrometría UV se realiza en metanol con un espectrofotómetro UV-VIS, utilizando para la determinación un rango de escaneo de 200 a 500 nm de longitud de onda y una absorbancia de 0.000-3.000, todos en cubetas de cuarzo, con una banda espectral de 1.5 nm y una resolución espectral de 0.1 nm.

El registro de los espectros IR se realiza en un equipo con un rango de escaneo entre 7500-360 cm^{-1} , sobre tabletas de bromuro de potasio (KBr), resolución de 2 cm^{-1} , con un diodo laser 850 nm (Laser Clase 1).

Nota: El modelo de equipo UV o IR puede variar de acuerdo a las posibilidades de cada centro. No es necesario cumplir con este requisito por razones obvias, pero si es imprescindible que se cumplan los parámetros que se relacionan para cada tipo de corrida.

Análisis por CLAR-UV-EM/EM

Procedimiento # 1:

La separación cromatográfica por CLAR/EM se realiza en un espectrómetro de masas, con detector UV a 280 nm. El método utilizado para la corrida de las muestras debe ser el de CLAR-IEE-EM/EM, con un modo de escaneo positivo (ion modo positivo), un flujo de 1 mL/min, el voltaje del capilar de 60 volts y de la aguja 5000 volts, y la muestra se correrá entre 0 y 2000 m/z. Para la fragmentación en ion modo positivo (ESI), el rango de energía de colisión (DCI) utilizado será de -5 V a -35 V. El programa utilizado estará en dependencia del tipo o marca de equipo a utilizar y una columna cromatográfica de tipo C-18. Se realiza el análisis cromatográfico por CLAR/EM utilizando como eluyente A metanol y como eluyente B agua con un gradiente de 15-85% de B durante 30 minutos a 1mL/min seguido por mantenimiento del gradiente, incrementando hasta 50 % A durante 10 minutos sostenidos, revirtiendo hasta 0 % de B durante 5 min, y reequilibrando durante 5 minutos.

Procedimiento # 2:

La separación cromatográfica por CLAR/EM se realiza en un espectrómetro de masas, con detector UV a 280 nm. Puede variarse el análisis cromatográfico utilizando para ello como eluyente A agua (0.1%) y B acetonitrilo (ACN) (0.1%), con un gradiente de A = 90.0% y B = 10.0% durante 3 min, seguido por sostenimiento del gradiente durante 37 min, cambiando el gradiente de A = 0,0% y B = 100.0% durante 5 min and revirtiendo a A = 90.0% y B = 10.0% durante 5 min. Si el equipo tiene acoplado un detector con arreglo de diodo el análisis UV puede registrarse entre 190 y 400 nm (DAD). El análisis de masas puede realizarse en ambos modos de escaneo (positive o negativo) utilizando ionización por electrospray (ESI) con un rango entre m/z 50 y 1500. La temperatura del capilar de ($^{\circ}\text{C}$): 275, 00, el flujo del gas Gas (ua): 50, 00, el gas auxiliar limpiador: 10, 00. POLARIDAD POSITIVA: Voltaje de la fuente (kV): 4,50, Voltaje del capilar (V): 37,00, Tube Lens Offset (V): 30,00, Multipole RF Amplifier (Vp-p): 400,00, Multipole 1 Offset (V): -4,00, Multipole 2 Offset (V): -6,00, InterMultipole Lens Voltage (V): -30, 00. POLARIDAD NEGATIVA: Voltaje de la fuente (kV): 4,50, Voltaje del capilar (V): -10,00, Tube Lens Offset (V): -50,00, Multipole RF Amplifier (Vp-p): 400,00, Multipole 1 Offset (V): 3,00, Multipole 2 Offset (V): 7,00, InterMultipole Lens Voltage (V): 16,00. Los espectros de masa MS^2 se registran entre 130,0 y 650,0 m/z en ion modo negativo.

Composición de las muestras (CCD)

El análisis por cromatografía de capa delgada, bajo las condiciones descritas anteriormente, muestra la presencia de tres manchas de color amarillo, típicas de compuestos tipo flavonoides^(24, 25), que varían en cuanto a tamaño y forma. Todas cambian de color cuando se exponen bajo la luz UV a 254 nm, tomando una coloración verde amarillenta y carmelita cuando se revelan con H₂SO₄ y calor (Fig. 1). Los valores de RF calculados deben estar comprendidos en el rango de entre 0,808; 0,807 y 0,780, respectivamente. Nunca se aceptarán que sean superiores a estos valores.

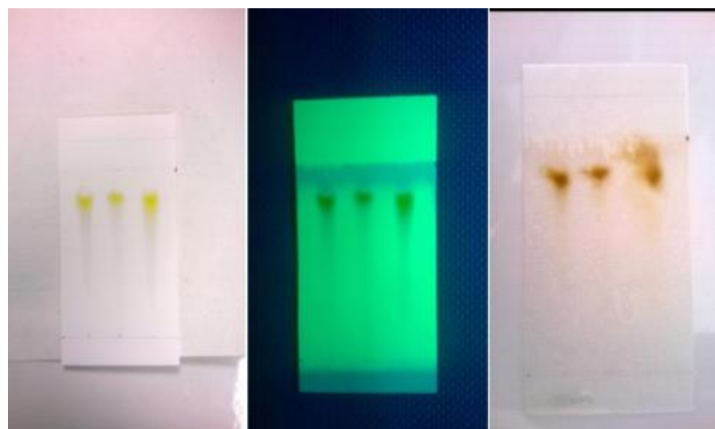


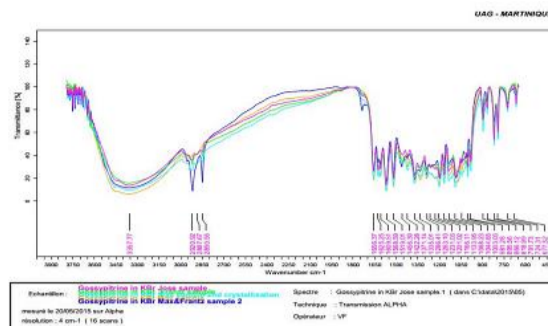
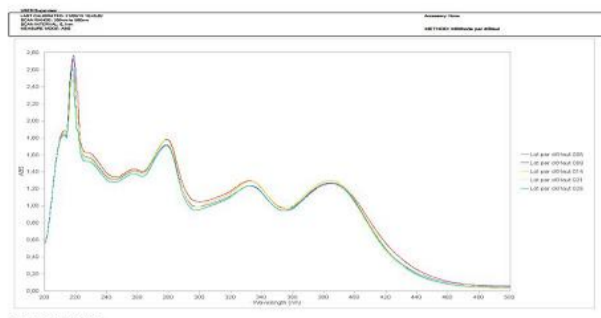
Figura 1. Cromatografía de capa delgada de las muestras 1, 2 y 3 en MeOH (de izquierda a derecha), bajo la luz UV a 254 nm y reveladas con H₂SO₄ al 50 %

Análisis por espectrometría UV e IR

Las muestras analizadas en el experimento deben presentar bandas características de flavonoides que consisten típicamente en dos máximos de absorción en los rangos de 240-285 nm (Banda II) y de 300-550 nm (Banda I). Para el caso específico de los flavonoles que presenten grupos 3-OH libres, este rango se reduce a valores de absorción de 250-280 para la Banda II y de 350-385 para la Banda I.

Los resultados experimentales obtenidos sugieren que las muestras analizadas se encuentran perfectamente vinculadas con este subgrupo de compuestos aunque con pequeñas variaciones en los valores de λ máxima (nm) y de absorbancia, y que de acuerdo con lo planteado por Cuéllar y González, 2010, y Márquez y col., 1999, el producto es un flavonol que presenta el grupo hidroxilo en 3 libre; esto lo apoya la existencia de una banda por encima de 350 nm en el espectro de la solución metanólica (382-383 nm), presenta grupos catecólicos en el anillo B (preferentemente sustitución 3',4'), por la existencia de la banda a 277-278 nm y de una inflexión a 256-257 nm en el espectro de la solución metanólica, y tres posiciones oxigenadas sobre el anillo A, por la existencia de la banda a 277 nm en el espectro de solución metanólica.

El análisis del espectro IR debe mostrar la existencia de grupos hidroxilos, grupos alquílicos, grupo carbonilo y anillos aromáticos por la presencia de bandas a 3375, 3000-2980, 1656, 1610, 1600, 1569 y 1519 cm⁻¹. Este espectro presenta bandas características de flavonoides^(24,25) y permite detectar la presencia de un azúcar en la estructura al existir bandas correspondientes a grupos alquílicos. En las figuras 2 y 3, se observan los resultados de los espectros UV e IR de todas las muestras cristalizadas.



Figuras 2 y 3. Espectros UV e IR de las muestras cristalizadas a partir de los extractos obtenidos de los pétalos de las flores de *T. elatum*.

Análisis por CLAR-EM/EM

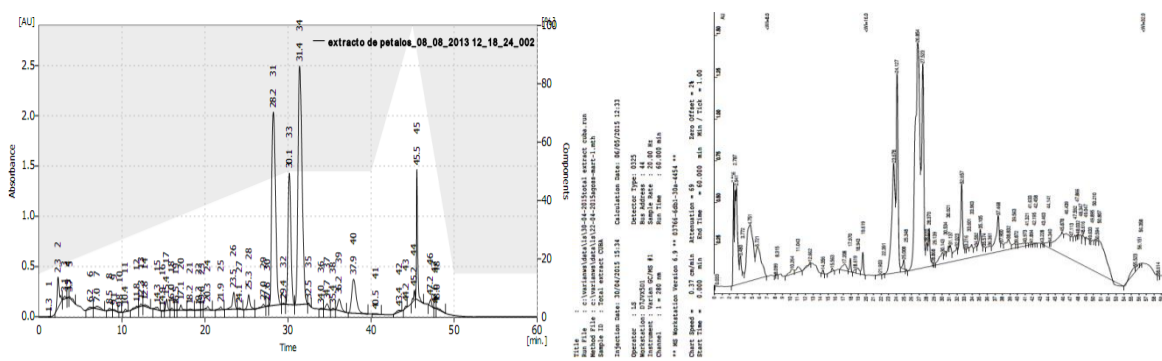
El análisis por CLAR-EM/EM permitirá definir que estos compuestos tienen una masa molecular de m/z 481 que corresponde a un flavonoide hexahidroilado, que soporta una molécula de una hexosa, con un pico base de 319 unidades. Se observan algunos picos de fragmentaciones típicas de flavonoides muy hidroxilados, como es la zona de 152–154 unidades de masas, que pueden corresponder indistintamente a los fragmentos que soportan el anillo A o B del esqueleto y en especial el pico 302 que sugiere tres sustituyentes oxigenados en el anillo A^(24, 25).

Cuando se analiza cada muestra por separado y se realiza el filtrado del ion molecular con m/z 481, se observará que en todos los casos existen dos o tres compuestos que presentan la misma masa molecular en el pico base (m/z 319). Esto es posible si la resolución de las señales es buena y existe una buena separación entre las mismas, donde debe considerarse como primera señal la que corresponde a la gossypetina como aglicón (alrededor de 18 minutos) por presentar una masa molecular menor (m/z 319) y continuándole la de la gossypetina-3'-O-glucosido por encontrarse la misma en menores proporciones que la gossypitrina que aparecerá como última señal en el cromatograma.

Las fragmentaciones que deben observarse en MS² para la gossypitrina serán las siguientes: ion molecular con 480 u.m.a (479 en ion modo negativo y 481 en ion modo positivo); pico base con 318 u.m.a (317 en ion modo negativo y 319 en ion modo positivo) por pérdida de la molécula de hexosa (-162 u.m.a) que corresponde a la glucosa que se encuentra en la posición 7 de la estructura del flavonoide.

Las diferencias entre los tiempos de retención que presentan los mismos para cada una de las muestras analizadas dependerán del tipo de equipo utilizado y puede encontrarse entre los 26 y los 40 minutos, pero nunca se considerarán como válidos valores inferiores o superiores a estos.

En la figuras 4 y 5 se muestran los resultados de las corridas cromatográficas utilizando como eluente A metanol y como eluente B agua. En el primer caso se utilizó un cromatógrafo líquido de alta resolución marca KNAUER de fabricación alemana con una columna cromatográfica C-18 marca Eurospher y en el segundo caso un cromatógrafo líquido de alta resolución marca VARIAN de fabricación norteamericana y una columna cromatográfica C-18 marca Pinnacle.



Figuras 4 y 5. Cromatogramas de un extracto total elaborado con etanol de los pétalos de las flores de *T. elatum*

Nótese las diferencias en cuanto a cantidad de componentes químicos registrados (48 y 78, respectivamente) según el tipo de equipo CLAR utilizado. Este resultado se considerará como válido y no deben encontrarse valores inferiores o superiores a los mismos para informar que el extracto elaborado contiene la cantidad de compuestos químicos adecuada.

CONCLUSIONES

La utilización de varios métodos de extracción entre los que se encuentran la extracción con Soxhlet, la percolación y el baño ultrasónico, utilizando para ello diferentes disolventes permite obtener muestras cristalizadas de compuestos químicos presentes en los extractos de los pétalos de las flores de *T. elatum* donde se evidencia la posible presencia de tres estructuras relacionadas con los flavonoides. Estos productos que han sido reportados en la bibliografía especializada como gossypetina aglicona, gossypitrina y gossypetina-3'-Oglucósido pudieran ser los principales responsables de la actividad antiasmática y expectorante que se le atribuyen a las flores de la especie tanto en Cuba como en el resto de los países del área del Caribe donde la planta se desarrolla. Debido a la alta sensibilidad del método, otros constituyentes minoritarios pudieran ser también identificados. Se hace necesaria la utilización de nuevos estudios tales como CLAR-UV-ESI-MS/MS con un gradiente y eluentes diferentes y RMN para la detección y caracterización estructural de estos y de otros compuestos minoritarios aún sin definir su elucidación estructural.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aherne SA y O'Brien NM. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 2002; 18:75-81.
2. Singleton VL. Flavonoids. En: Childester CO, Mrak EM, Stewart Gf (eds.). *Advances in Food Research*. New York: Academic Press 1981; 149-242.
3. Havsteen B: Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 1983; 32:1141-8.
4. Peres W. *Radicais Livres em níveis biológicos*. Ed. Universidade Católica de Pelotas, Brasil, 1994.
5. Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G y Goldberg DM. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta* 1995; 235:207-219.
6. Jang M, Cai L, Udeani GO y cols. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 1997, 275:218-221.

7. Jovanovic SV, Steenken S, Simic MG y Hara Y. Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals. En: Rice Evans C, Parker L (eds.): Flavonoids in health and disease. Marcel Dekker, Nueva York, 1998.
8. Yang K, Lamprecht SA, Liu Y y cols. Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. *Carcinogenesis*, 2000, 21:1655-1660.
9. Igura K, Ohta T, Kuroda Y y Kaji K. Resveratrol and quercetin inhibit angiogenesis in vitro. *Cancer Letts*, 2001, 171:11-16.
10. Geleijnse JM, Launer LJ, Van der Kuip DA, Hofman A y Witteman JC. Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. *Am J Clin Nutr* 2002; 75:880-886.
11. Stahl W, Ale-Agha N y Polidori MC. Non-antioxidant properties of carotenoids. *Biol Chem* 2002; 383:553-558.
12. Roig, J. T. *Plantas Medicinales Aromáticas y Venenosas de Cuba*. La Habana: Editorial Científico Técnica, 1974.
13. Acosta de la Luz LL, Rodríguez Ferradá CA. *Plantas medicinales. Bases para una producción sostenible*. Agrinfor, Impresiones MINAG; 2006.
14. Cuéllar A; González Yaque J. Phytochemistry analysis of the different parts of the flowers of *Hibiscus elatus* S.W. *Cuban Magazine of Pharmacy* 2001; 35: 68-70. Special supplement.
15. González Yaque J, Cuéllar A. Phytochemical study of *Talipariti elatum* S.W. (*Fryxell*). Malvaceae. *Cuban Magazine of Chemistry* 2004; 16(3):1055-1084.
16. Cuéllar A, González J. Biological activities of Gossypitrin isolated from the flowers of *Talipariti elatum* S.W. *MBARARA University Medical Journal*. Mbarara, Uganda. January 2009. Volume 15. pp. 14-17.
17. González, J.; Cuéllar, A., Biological activities of Gossypitrin isolated from the flowers of *Talipariti elatum* S.W. *NCSI Magazine. Biological Sciences* 2010; Volume 41(Special Edition)
18. González Yaque J, Cuéllar A, Massi L, Monan M, Nossin E, François-Haugrin F. Isolation and Characterization of flavonols by HPLC-UV-ESI-MS/MS from *Talipariti elatum* S.w. *American Journal of Plant Science*. En prensa.
19. Nair A, Subramanian GR, Nayara-Swamym S. Glycosides from flowers of *Hibiscus tiliaceus*. *J. Sci. Ind. Research* 1961; 20:553-54.
20. Ren-Tong Ch, Sheng-ding F. On the chemical constituents of Cotton rose (*Hibiscus mutabilis*). *Chinese traditional and herbal drug*. 1993. 42(5): 222-29.
21. Sankara SS, Narayama MS. Pigments on the flowers of *Hibiscus tiliaceus*. *J. Sci. Ind. Research*. 1961; 20 B:133-34.
22. Cuéllar A, González Yaque J. Obtención del glucósido flavonoide gossypitrina de los pétalos de las flores de *Talipariti elatum* S.w. y evaluación de su posible efecto antioxidante. *Rev. Colombiana Cienc. Anim.* 2010. 2 (2): 338-48.
23. Miranda M, Cuéllar A. *Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Productos Naturales*. Universidad de La Habana; 2000.
24. Márquez I. Estudio fitoquímico de la especie *Hibiscus elatus* S.w. *Revista Cubana de Farmacia* 1999; 33(2):127-131.
25. González Yaque J y Cuéllar A. Estudio Fitoquímico de *Talipariti elatum* S.w. (*Fryxell*). Malvaceae. *Revista Cubana de Química* 2004; 16(3):1055-84.

BIBLIOGRAFÍA

González Yaque J. Componentes químicos presentes en el extracto etanólico del Cáliz de las flores de *Talipariti Elatum* S.W. (*Fryxell*) (En Internert). *Pedagogía Profesional*. 2007; 4(2)

<http://www.pedagogiaprofesional.rimed.cu> consultado: 14 de junio 2012

Mabry TJ. The sistematic identification of flavonoids. Springer-Verlag, New York; 1970.

Markhan KR. Flavones, flavonols and their glicosides. Academic Press, London; 1989.

Recibido: 6 de mayo de 2016

Aceptado con recomendaciones: 4 de junio de 2016

Aceptado: 29 de junio de 2016