9 de Junio 2025

Acercamiento a la Composición de Flavonoides de Hojas Foliares de *Guadua incana* Londoño

Juan Esteban Campos Riaño

juan.camposr@javeriana.edu.co

Pontificia Universidad Javeriana

Química Farmacéutica

3205104844

Geison Modesti Costa

modesticosta.g@javeriana.edu.co

Pontificia Universidad Javeriana

Ph.D Farmacia

Director de Tesis

Abstract

This thesis focused on the qualitative and quantitative characterization of flavonoids present in the leaves of *Guadua incana* Londoño, a bamboo species endemic to Colombia with potential pharmaceutical applications. Samples were collected in Montenegro, Quindío, under controlled conditions, and three extraction methods were applied: percolation with 96% ethanol (P96), and ultrasound-assisted extraction with 96% ethanol (US96) and 50% ethanol (US50). The extracts were analyzed by high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) and the yields were evaluated. P96 showed the highest yield per plant mass, while US50 showed the highest yield per volume (7.20 mg/ml), attributable to the higher polarity of the solvent. Chromatographic analysis revealed glycosylated flavonoids and phenolic acids. Total flavonoid content (TFC) was determined by the colorimetric method with 2% $AlCl_3$, using isoschaftoside as a standard. US96 showed the highest TFC (0.856 mg EQ isoschaftoside/g dry extract), followed by P96 (0.547 mg EQ IS/g) and US50 (0.134 mg EQ IS/g). The US50 extract was selected for its lower content of unwanted apolar compounds and was fractionated by Centrifugal Partition Chromatography (CPC), yielding 60 fractions. Fraction 17 was analyzed by HPTLC and UHPLC-Q-TOF-MS, together with the crude US50 extract, both at a concentration of 1 mg/mL in LC-MS grade methanol. Total Ion Current chromatogram in negative mode and mass spectra in the m/z 100–1000 Da range was obtained. These results contribute to the knowledge of the chemical composition of *G. incana* and support its pharmacological potential, promoting its sustainable use and possible socioeconomic benefits for local communities.

Índice

1 Introducción 8

1.1 Resumen 8

1.2 Planteamiento del problema 9

1.3 Justificación 9

1.4 Pregunta de investigación 10

1.5 Objetivos 10

1.5.1 Objetivo general 10

1.5.2 Objetivos específicos 10

2 Marco teórico 10

3 Metodología 16

3.1 Recolección del material vegetal 16

3.2 Procesos extractivos 16

3.3 Secado 17

3.4 Rendimientos obtenidos 17

3.4.1 Rendimiento en base a volumen 17

3.5 Caracterización de flavonoides 18

3.5.1 Análisis por Cromatografía de Capa Fina de Alta Resolución (HPTLC) 18

3.5.2 Contenido de flavonoides totales (TFC) 18

3.5.3 Enriquecimiento de flavonoides por Cromatografía de Partición Centrífuga (CPC) 19

3.5.4 Cromatografía Líquida de Ultra Alta Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas con Analizador de Tiempo de Vuelo y Cuadrupolo (UHPLC-Q-TOF-MS) 20

4 Resultados y Discusión de resultados 21

4.1 Rendimiento por masa 21

4.2 Rendimiento por volumen 21

4.3 Perfil de flavonoides 22

4.3.1 Análisis por HPTLC 22

4.4 Determinación del contenido de TFC 24
4.4.1 Curva de calibración 24
4.4.2 Cuantificación de los TFC en los extractos obtenidos 25
4.5 Cromatografía de Partición Centrífuga 25
4.5.1 Pruebas preliminares de CPC 25
4.5.2 CPC 28
4.6 UHPLC-Q-TOF-MS 31
5 Conclusiones 35
6 Recomendaciones y Perspectivas. 36
Bibliografía 37

Índice de figuras

Figura 1 Taxonomía de *Guadua incana* Londoño adaptado de (Universidad Nacional, 2011) 11

Tabla 1 Identificación tentativa por UHPLC-QTOF-MS. Adaptado de: (Chitiva et al., 2024). 14

Figura 2 Placa de TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26 revelada con reactivo natural en longitud de onda 366nm con factores de retención. Fuente propia. 22

Figura 3 Placa TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26 revelada con reactivo natural longitud de onda 254nm. Fuente propia. 23

Figura 4 Datos de absorbancias para curva de calibración de isoschaftósido. La concentración se encuentra como miligramos equivalentes de isoschaftósido por mililitro de muestra. Fuente propia. 24

Figura 5 Curva de calibración con estándar isoschaftósido. Fuente propia. 24

Figura 6 Datos de absorbancias obtenidos de los extractos de *G. incana* respectivamente. Fuente propia. 25

Tabla 2 Sistemas de solventes evaluados para prueba de tubo de ensayo CPC. Fuente propia. 26

Figura 7 TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26. Sistemas de solventes a evaluar por CPC revelados con reactivo natural en longitud de onda 366nm. Fuente propia. 28

Figura 8 Fotografía de las fracciones obtenidas mediante CPC. Fuente propia. 29

Figura 9 Cromatograma detector UV 254nm/365nm CPC. Fuente propia. 29

Figura 10 Placa de TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26. En longitud de onda 366nm revelada con reactivo natural, con factores de retención. Fuente propia. 30

Figura 11 Cromatograma UV 350nm. En negro se observa la fracción 17 de CPC. En rosado se observa el extracto crudo de *G.incana*. Fuente propia. 31

Figura 12 Cromatograma de tiempo total de ionización en modo negativo fracción 17 CPC. Fuente propia 31

Figura 13 Espectros de masas de la fracción 17 de CPC. Fuente propia. 33

Figura 14 Comparación del cromatograma UV a 350 nm de este trabajo (A) con el cromatograma MS en modo ESI (–) obtenido por Chitiva (2024) (B). Fuente: propia y adaptado de Chitiva, 2024. . . 34

Tabla 3 Compuestos observados para la fracción CPC17 relacionados a los resultados previos. ⋆Indica que hubo sobreposición de los compuestos bajo un único pico en UV-350nm. NA: No asignado Fuente propia. 35

Agradecimientos

Expreso mis agradecimientos a mi familia cuyo amor, apoyo incondicional y confianza han sido fundamentales para alcanzar esta meta. Gracias a ellos, culmino con orgullo mi formación como Químico Farmacéutico.

A mis compañeros de carrera, gracias por su apoyo constante, por el trabajo colaborativo y por compartir conmigo esta etapa con generosidad y buena disposición.

Agradezco especialmente a mis amigos Sebastián Rojas Gutiérrez, por su valiosa colaboración en el manejo del sistema de composición tipográfica de código abierto Typst, y a María Catalina Rodríguez, por su asistencia y ayuda en múltiples ocasiones en el laboratorio de fitoquímica. A María Fernanda Junca y Nicole García Duque, les agradezco profundamente por su apoyo constante y sus buenos deseos a lo largo de este proceso.

Extiendo mi gratitud a Ned Jaquith Foundation y la American Bamboo Society por el financiamiento de este proyecto. Así mismo, agradezco a la Pontificia Universidad Javeriana, en especial a la Vicerrectoría de Investigación (Proyecto ID 2137), por el respaldo institucional brindado. De igual forma, agradezco a Ximena Londoño y a El Paraíso del Bambú y la Guadua por proveer el material vegetal utilizado en esta investigación.

A mi tutor de tesis, Geison Modesti Costa, le expreso mi más sincero agradecimiento por su guía indispensable, por su compromiso, paciencia y acompañamiento constante durante la realización de este trabajo.

Finalmente, agradezco al Grupo de Investigación en Fitoquímica de la Universidad Javeriana (GIFUJ) por su cálida acogida, por brindarme la oportunidad de crecer profesionalmente y por el valioso entorno de formación que me ofrecieron.

1 Introducción

1.1 Resumen

La guadua es una hierba o pasto gigante, perteneciente a la familia de las gramíneas (Poaceae), reconocida como un bambú leñoso. Existen alrededor de 1.000 especies de bambú en el mundo, de las cuales cerca de 20 se consideran especies prioritarias para su uso y conservación (*Catálogo de Biodiversidad de Colombia*, s. f.). Tradicionalmente, la guadua se ha utilizado en arquitectura, artesanías, confección textil, entre otros sectores. Sin embargo, su relevancia va más allá de sus propiedades estructurales, ya que contiene compuestos fenólicos reconocidos por su actividad biológica (Gagliano et al., 2022).

Este trabajo de grado se enfocó en la caracterización cualitativa y cuantitativa de los flavonoides presentes en hojas de *Guadua incana* Londoño, una especie endémica de Colombia con potencial aplicación farmacéutica. El estudio se orientó a profundizar en el perfil químico de sus metabolitos secundarios, buscando aportar información para futuras investigaciones y fortalecer procesos de aprovechamiento sostenible que generen valor en las comunidades locales.

Las hojas fueron recolectadas en Montenegro, Quindío, bajo condiciones controladas. Se realizaron tres métodos de extracción: percolación con etanol al 96 % (P96), extracción asistida por ultrasonido con etanol al 96 % (US96), y con etanol al 50 % (US50). Los extractos obtenidos fueron analizados mediante cromatografía de capa delgada de alta resolución (HPTLC) y se evaluaron sus rendimientos. P96 mostró el mayor rendimiento por masa vegetal, asociado al uso de 500 mL de disolvente en tres ciclos y un contacto prolongado. No obstante, US50 presentó el mayor rendimiento por volumen (7,20 mg/mL), atribuible a la mayor polaridad del disolvente, lo que favorece la extracción de compuestos polares como flavonoides glicosilados y ácidos fenólicos.

Se determinó el contenido de flavonoides totales (TFC) mediante la técnica colorimétrica con cloruro de aluminio ($AlCl_3$ al 2,0 %) usando un espectrofotómetro UV-Vis a 420 nm. (Lozano-Puentes et al., 2023) Se construyó una curva de calibración con el estándar isoschaftósido (R^2 = 0,9997), evaluando los extractos por triplicado. Los resultados mostraron que el extracto US96 presentó el mayor TFC (0,856 mg equivalentes de isoschaftósido/g de extracto seco), seguido de P96 (0,547 mg EQ IS/g) y US50 (0,134 mg EQ IS/g). El isoschaftósido fue seleccionado como estándar debido a que, en el estudio de Chitiva (2024), este flavonoide se mostró positivamente correlacionado con la citotoxicidad observada en extractos de la misma especie

vegetal. Esta relación respaldó su elección como referente para la cuantificación, considerando su posible implicación en la actividad biológica.

A pesar del menor TFC, el extracto US50 fue seleccionado para la etapa de enriquecimiento de flavonoides por su aparente menor presencia de compuestos apolares no deseados. Este extracto fue entonces sometido a Cromatografía de Partición Centrífuga (CPC), de la cual se obtuvieron 60 fracciones. La fracción 17 fue seleccionada tras análisis por HPTLC y posteriormente evaluada en cromatografía líquida de ultra alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo (UHPLC-Q-TOF-MS), junto con el extracto crudo US50. Ambos se prepararon a una concentración de 1 mg/mL en metanol grado LC-MS. Aunque no se produjo una separación de los flavonoides presentes en el extracto, el análisis CPC demostró ser extremadamente eficaz para enriquecer los flavonoides, lo que la convierte en una estrategia metodológica interesante para posteriores purificaciones y/o estudios de compuestos menores.

Estos hallazgos contribuyen al conocimiento químico de *G. incana*, abren la posibilidad de futuras aplicaciones farmacéuticas, nutracéuticas y/o biotecnológicas de los extractos enriquecidos. Además, pueden promover su aprovechamiento sostenible y podrían generar beneficios socioeconómicos para las comunidades locales que cultivan esta especie nativa.

1.2 Planteamiento del problema

Los bambúes son fuentes valiosas de compuestos bioactivos con gran potencial para actividades farmacológicas inexploradas y prometedoras. Aunque los bambúes son clásicamente reconocidos como material de construcción, estas especies también producen una amplia variedad de compuestos fenólicos, incluidos flavonoides y derivados del ácido cinámico que se consideran biológicamente activos (Gagliano et al., 2022). Si bien la mayoría de los estudios químicos y biológicos se han centrado en especies del continente asiático, existe una necesidad de profundizar la investigación sobre los bambúes neotropicales para identificar usos alternativos y crear valor adicional para estas especies de amplia ocurrencia también en Colombia (Gagliano et al., 2022).

1.3 Justificación

Resultados recientes de nuestro grupo de investigación han demostrado el potencial citotóxico de un extracto obtenido de hojas foliares de *Guadua incana* contra células de cáncer de colon HCT-116, y

utilizando técnicas analíticas modernas y robustas, con enfoques metabolómicos y quimiométricos, se ha indicado que los compuestos relacionados con la actividad citotóxica observada fueron los flavonoides presentes en el extracto activo de esta especie (Chitiva et al., 2024). En este orden de ideas, este proyecto busca abordar la falta de conocimiento sobre *Guadua incana* Londoño la cual es una especie de bambú endémica de Colombia y que ha sido poco estudiada por el momento.

La idea principal es generar algunas estrategias metodológicas y datos que permitan aproximarse a la composición de los flavonoides presentes en esta planta, generando conocimiento importante que aporten tanto a sus posibles aplicaciones terapéuticas como a su utilidad en sectores como la industria farmacéutica, investigaciones futuras y aplicaciones industriales de esta especie y sus compuestos. A nivel socioeconómico, entender mejor esta especie y buscar un aprovechamiento sostenible podría tener un impacto positivo en las regiones donde se cultiva, promoviendo prácticas sostenibles y generando oportunidades económicas a futuro.

1.4 Pregunta de investigación

¿Cómo es la composición de flavonoides de las hojas foliares de *Guadua incana*?

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar la composición de flavonoides en un extracto obtenido a partir de hojas foliares de *Guadua incana*.

1.5.2 Objetivos específicos

- Establecer una comparación cualitativa y cuantitativa de flavonoides de las hojas foliares de *G. incana* entre procesos extractivos de percolación y ultrasonido.
- Implementar una metodología por CPC para el enriquecimiento de flavonoides de las hojas foliares de *G. incana* a partir del extracto seleccionado.

2 Marco teórico

Los bambúes son plantas monocotiledóneas del orden Poales, familia Poaceae, subfamilia Bambusoideae. Existen dos tipos principales de bambúes según su porte: los bambúes leñosos, con tallos lignificados, y los bambúes herbáceos, distribuidos principalmente en América Latina. Los órganos

vegetativos de los bambúes son muy diversos e incluyen raíces, rizomas, tallos, yemas, ramas, profilas, hojas vegetativas y hojas de tallo (Shi et al., 2020).

En este trabajo de grado se trabajó con hojas foliares, entendidas como las hojas verdaderas de la planta que se desarrollan de forma aérea a lo largo del tallo. En el caso de *Guadua incana*, estas se diferencian de las hojas caulinares, las cuales se encuentran únicamente en la base del tallo. Por tanto, las hojas foliares corresponden a las hojas aéreas superiores, distintas de las hojas caulinares basales.

La *Guadua incana* Londoño es una especie de guadua nativa de Colombia, su taxonomía fue determinada por Ximena Londoño el 19 de septiembre de 2010. A continuación, en la Figura 1 se muestran los datos más a detalle.

Taxonomía	
Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Cyperales
Familia	Poaceae
Género	Guadua
Epíteto específico	incana
Autor	Londoño
Determinador	Londoño, X.
Fecha determinación	19 de Septiembre de 2010

Figura 1: Taxonomía de *Guadua incana* Londoño adaptado de (Universidad Nacional, 2011)

La guadua es un tipo de bambú nativo de América Latina, especialmente valorado por su versatilidad y propiedades físicas. Sus usos abarcan desde la construcción y la artesanía hasta aplicaciones en la medicina tradicional y la gestión ambiental. La guadua destaca principalmente como material de construcción sostenible, pero también tiene aplicaciones en salud, cultura y manejo de recursos.

Construcción y arquitectura

En el sector de la construcción, la *Guadua angustifolia* Kunth, especie nativa de Colombia, Ecuador y Venezuela y perteneciente a la familia del bambú, ha sido ampliamente reconocida por sus propiedades físico-mecánicas, como su flexibilidad, resistencia, dureza, comportamiento sismo-resistente

y capacidad de regulación térmica, lo que permite la reducción de costos sin comprometer la eficiencia estructural (Navas Gutiérrez, 2011). Diversas investigaciones han explorado el potencial de esta especie en aplicaciones arquitectónicas sostenibles. Por ejemplo, Navas Gutiérrez (2011) desarrolló una estructura modular multifuncional que aprovecha estas propiedades intrínsecas de la guadua. A nivel tecnológico, se ha demostrado que los tratamientos termo-hidro-mecánicos aplicados a paneles de guadua laminada cruzada mejoran significativamente su desempeño mecánico, lo que facilita su estandarización para aplicaciones constructivas más amplias (Santos & Fabio, 2015). Sin embargo, aunque la construcción con guadua ofrece un alto potencial como alternativa de bajo impacto ambiental para la construcción con bajas emisiones de carbono, aún persisten retos asociados a la biodeterioración, los procesos de manufactura, la integración con sistemas constructivos convencionales y la evaluación de impactos ambientales, que deben resolverse para garantizar su adopción a gran escala (Archila-Santos et al., 2012).

Artesanías

La guadua no solo tiene aplicaciones estructurales en el ámbito de la construcción, sino que también representa una materia prima valiosa para la elaboración de artesanías tradicionales. Su transformación en productos artesanales permite aprovechar sus cualidades físicas, como la ligereza, la facilidad de manipulación y la durabilidad. En varias regiones de América Latina, los tallos maduros de guadua son comúnmente empleados para la fabricación de objetos decorativos y utilitarios, manteniendo prácticas culturales ancestrales (Muriel et al., 2025). En el caso específico de la comuna Olón, en Ecuador, se ha observado que la producción artesanal de guadua genera ingresos tanto para el consumo local como para el comercio nacional e internacional, especialmente en el ámbito turístico. Esta actividad, apoyada por instituciones públicas y privadas, se perfila como una fuente importante de desarrollo económico local (Balón, 2018). Ambos estudios destacan el aprovechamiento integral de la guadua como recurso sostenible en la producción artesanal.

Usos tradicionales, culturales y ambientales

La guadua ha desempeñado un papel fundamental en las prácticas culturales, espirituales y ambientales de diversas comunidades indígenas y tradicionales en América Latina. Más allá de su valor como recurso material, esta especie ha sido integrada en cosmovisiones indígenas como un elemento clave en la gestión del territorio, la conservación de recursos y el equilibrio ecológico. En regiones de la

Amazonía suroccidental, reconocen a la guadua como un componente esencial de sus paisajes culturales, donde cumple funciones simbólicas, ecológicas y prácticas, actuando incluso como marcador de espacios sagrados y protector de la biodiversidad (Virtanen et al., 2022). Además, la evidencia arqueológica revela que la guadua también tuvo un significado ritual en la antigüedad: en el sitio arqueológico de Chinikiha, en Chiapas, México, se ha documentado el uso de esta planta como parte de los ajuares mortuorios en entierros mayas, lo que sugiere su relevancia espiritual y simbólica en contextos funerarios precolombinos (Trabanino & Núñez, 2015). Estos hallazgos subrayan la importancia de la guadua no solo como recurso natural, sino como un símbolo cultural profundamente enraizado en la historia y la identidad de los pueblos de América Latina.

Aplicaciones medicinales

Las investigaciones recientes han comenzado a demostrar el potencial medicinal y bioactivo de diferentes especies del género *Guadua*. En particular, los brotes jóvenes de *Guadua chacoensis* han demostrado ser una fuente significativa de glucuronoarabinoxilanos (65%), un tipo de polisacárido con posibles aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica por sus propiedades funcionales y beneficios para la salud gastrointestinal (Fernández et al., 2019). Por otra parte, los resultados recientes de nuestro grupo de investigación demostraron notable actividad citotóxica frente a líneas celulares de cáncer de colon (HCT-116). Mediante el uso de técnicas metabolómicas y análisis quimiométricos, se identificaron flavonoides como los compuestos potencialmente responsables de esta bioactividad, abriendo nuevas posibilidades para la investigación de compuestos naturales con propiedades antitumorales (Chitiva et al., 2024). Estos hallazgos sugieren que las especies de *Guadua* no solo representan un recurso estructural o artesanal, sino también una prometedora fuente de biomoléculas con aplicaciones en salud humana.

Composición química

La composición química del género *Guadua* incluye compuestos fenólicos, flavonoides, aceites esenciales y metabolitos bioactivos. Entre algunas de las moléculas tentativas identificadas en el trabajo de Chitiva et al. (2024) se encuentran los siguientes compuestos:

Tabla 1: Identificación tentativa por UHPLC-QTOF-MS. Adaptado de: (Chitiva et al., 2024).

Compuesto tentativo	**Clase de compuestos**
Ácido quínico	Ácido orgánico
Ácido O-feruloilquínico	Ácido cinámico y derivados
Ácido dicafeoilquínico	Ácido cinámico y derivados
Ácido O-cumaroilquínico	Ácido cinámico y derivados
Luteolina 6-C-hexósido 8-C-pentósido	Glicósidos de flavona
Ácido clorogénico	Ácido cinámico y derivados
Vicenina-2	Glicósidos de flavona
Apigenina 6,8-digalactósido	Glicósidos de flavona
Ácido cafeico	Ácido cinámico y derivados
Vitexina 2′-orhamnosido	Glicósidos de flavona
Saponarina o isosaponarina	Glicósidos de flavona
Schaftosido o Isoschaftosido	Glicósidos de flavona
Vicenina 1 o vicenina 3	Glicósidos de flavona
Isoscoparina 2′-O-hexósido	Glicósidos de flavona
Espinosina o Isospinosina	Glicósidos de flavona
Ácido p-cumárico	Ácido cinámico y derivados
Violantina o Isoviolantina	Glicósidos de flavona
Kaempferol 3-O-disacárido-7-O-pentósido	Glicósidos de flavona
Kaempferol 7-O-neohesperidosido	Glicósidos de flavona
Kaempferol 3-O-disacárido	Glicósidos de flavonol
Quercetina 3-O-hexósido	Glicósidos de flavonol
Hiperósido	Glicósidos de flavonol
Isorhamnetina 3,4′- hexósido	Glicósidos de flavonol
Apigenina 7-O-disacárido	Glicósidos de flavonol
Hesperidina	Glicósidos de flavanona
Isorhamnetina 3-O-hexósido-6′- disacárido	Glicósidos de flavonol
Apigenina 6-C-hexósido-7-O-hexósido	Glicósidos de flavona
Luteolina	Agliconas de flavona
6-hidroxiflavanona	Agliconas de flavona
Tricina 7-O-glucósido	Glicósidos de flavona
Naringenina-7-O-disacárido	Glicósidos de flavanona
Naringenina-7-O-hexósido	Glicósidos de flavanona
Apigenina	Agliconas de flavona
3,6,2′,3′- Tetrahidroxiflavona	Agliconas de flavona
Kaempferol	Agliconas de flavonol
4′,5,7-trihidroxi-3,6- dimetoxiflavona	Agliconas de flavona
Tricina	Agliconas de flavona

Los compuestos volátiles y subproductos derivados de *Guadua angustifolia* y *G. chacoensis* presentan perfiles químicos destacados por su potencial bioactivo. Los aceites esenciales de ambas especies están compuestos principalmente por terpenos y compuestos relacionados; en *G. angustifolia* predominan la hexahidrofarnesil acetona y el (Z)-fitol, mientras que en *G. chacoensis* se destacan la (E)-β-ionona y ácidos grasos como el hexadecanoico (Oliveira et al., 2025). Por otra parte, el ácido piroleñoso obtenido de los residuos de *G. angustifolia* ha demostrado ser rico en compuestos fenólicos como mequinol, isocreosol y etilfenoles, los cuales le confieren una alta capacidad antioxidante (Gomez et al., 2021). Estos hallazgos refuerzan el interés por el aprovechamiento integral de estas especies, no solo en términos estructurales sino también funcionales.

Los flavonoides son compuestos polifenólicos con una estructura característica de benzo-ɣ-pirano que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, especialmente en plantas vasculares en forma de glicósidos. Desde un punto de vista químico, estos compuestos son de naturaleza fenólica y presentan dos anillos aromáticos bencénicos conectados por un puente de tres átomos de carbono, con una estructura general C6-C3-C6. Además, este tipo de compuestos puede o no contener un tercer anillo (Cartaya & Reynaldo, 2001)

Según Shen et al. (2022), los flavonoides se clasifican en siete subclases principales basadas en la oxidación y sustitución del anillo C:

Flavonas: Doble enlace C2-C3 y grupo oxo en C4. Incluyen apigenina y luteolina.

Flavanoles: (flavan-3-oles): Sin doble enlace entre C2-C3 y con hidroxilo en C3. Pueden formar oligómeros llamados proantocianidinas.

Antocianidinas: Presentes en forma glicosilada (antocianinas), responsables de colores rojo a azul en frutas y flores.

Flavanonas: Anillo C saturado. Incluyen naringina y hesperidina.

Flavonoles: Doble enlace C2-C3, con hidroxilos en posiciones 3, 5 y 7. Ejemplos: quercetina y kaempferol.

Isoflavonas: Estructura basada en 3-fenilcromen-4-ona. Poseen actividad fitoestrogénica.

Chalconas: Estructura abierta con cadena α,β-insaturada, precursoras biosintéticas de otras subclases. (Shen et al., 2022)

3 Metodología

La presente investigación se desarrolla en el marco del proyecto titulado FLAVONOIDS FROM *Guadua incana* Londoño: EXPLORING THE COMPOSITION OF PHARMACOLOGICALLY PROMISING METABOLITES FROM A COLOMBIAN ENDEMIC SPECIES.

3.1 Recolección del material vegetal

El material vegetal consiste en hojas foliares de *Guadua incana*, previamente recolectadas en la región de Montenegro, Quindío, Colombia (coordenadas GPS: 4°31′15′‘ N, 75°48”0′‘ W), con la colaboración de la especialista Ximena Londoño, y depositadas en el Herbario de la Pontificia Universidad Javeriana (HPUJ-30723). El Contrato de Acceso a Recursos Genéticos (Contrato No 212/RGE 0287-6) otorgado por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible a la Pontificia Universidad Javeriana (PUJ) y el Programa Colombia Científica/GAT. El material vegetal fue procesado en el laboratorio de fitoquímica de la PUJ por nuestro mismo grupo de investigación, mediante limpieza externa con hipoclorito de sodio al 0,5%. Posteriormente, las hojas fueron enjuagadas con agua destilada y secadas en estufa con circulación forzada de aire a 35°C durante 96 horas. Una vez secas, las hojas se molieron hasta obtener un material de tamaño de partícula moderadamente pequeño. El material seco y molido se almacenó en un recipiente de plástico sellado, en un ambiente seco y protegido de la luz, hasta el momento de su utilización.

3.2 Procesos extractivos

Buscando ampliar el contenido de flavonoides extraídos de las hojas, y al tiempo, optando por un proceso de extracción verde, con menor consumo de solvente y menor cantidad de tiempo y gasto energético, se procedió a realizar de manera comparativa tres tipos de extractos.

1. **Percolación (proceso que se había empleado previamente en el grupo)** : Se empleó como solvente etanol 96% en una proporción de planta-solvente 1:10. Este proceso se realizó durante 24 horas, con tres repeticiones consecutivas maximizando de esta manera la extracción de compuestos bioactivos.
2. **Extracción asistida por ultrasonido (Etanol 96%)**: En este proceso extractivo se empleó como solvente etanol 96% con proporción planta-solvente 1:10. La mezcla se sonicó a 50°C durante 20 minutos.
3. **Extracción asistida por ultrasonido (Etanol 50%)**: En este proceso extractivo se empleó como solvente etanol 50% con proporción planta-solvente 1:10. La mezcla se sonicó a 50°C durante 20 minutos.

De este modo, se generaron 3 extractos de trabajo, los cuales fueron almacenados en condiciones de refrigeración y cubiertos para su posterior evaluación y comparación en cuanto a términos de rendimiento, perfil de flavonoides por HPTLC y contenido de flavonoides totales (TFC).

3.3 Secado

El secado de los extractos obtenidos se realizó con Rotavapor® R-100 marca Buchi siguiendo las condiciones para la evaporación de etanol, con presión de 174 mbar a una temperatura de 40°C. En el caso de los extractos con etanol al 96% se observó de cerca el momento en el que el solvente se ha evaporado por completo y se almacenó para posteriormente su uso al momento de su análisis. En el caso del extracto asistido con ultrasonido utilizando etanol 50% debido a su gran contenido de agua, se procedió a eliminar el etanol del extracto mediante las mismas condiciones de evaporación descritas anteriormente, y tras observar que se había eliminado por completo el etanol, se procedió a liofilizar con el fin de eliminar el agua contenida en este mismo. Se almacenaron en condiciones de ambiente seco y protegido de la luz directa.

3.4 Rendimientos obtenidos

Para la determinación de los rendimientos, se emplearon cálculos proporcionales basados en la relación entre las cantidades iniciales utilizadas de material vegetal (50g) y el extracto seco obtenido. Se utilizó la fórmula de rendimiento:

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{(\text{cantidad obtenida})}{(\text{cantidad inicial})} * 100$$

Este cálculo se aplicó a cada uno de los extractos obtenidos mediante los métodos: percolación con etanol al 96% (P96), extracción asistida por ultrasonido con etanol al 96% (US96), y con etanol al 50% (US50).

3.4.1 Rendimiento en base a volumen

Para determinar el rendimiento en base a volumen, se tomaron alícuotas de 50 mL de cada extracto y se llevaron a sequedad en rotaevaporador. En el caso del extracto US 50, se empleó butanol como cosolvente para facilitar el proceso de secado en este equipo. Se registró el peso del residuo obtenido según el método de extracción empleado. Finalmente, el rendimiento se expresó en miligramos de extracto seco por mililitros de extracto crudo. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento (mg/mL)} = \frac{(\text{masa de extracto seco (mg)})}{(\text{volumen de extracto crudo (mL)})}$$

3.5 Caracterización de flavonoides

3.5.1 Análisis por Cromatografía de Capa Fina de Alta Resolución (HPTLC)

Se determinó el perfil de flavonoides mediante cromatografía en capa fina de alta eficiencia (HPTLC). La fase estacionaria utilizada fue placa de HPTLC de sílica gel 60 F254 de Merck 10x10cm y 0,1mm de espesor, la fase móvil se utilizó un sistema de solventes que consisten en acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua en proporción (100:11:11:26) en 15mL. (Wagner & Bladt, 1996) Los extractos fueron llevados a una concentración de 10mg/mL en metanol grado HPLC, adicionalmente se utilizó el estándar rutina como marcador de flavonoide glicosilado, y ácido clorogénico como marcador de ácidos hidroxicinámicos. Se tomaron imágenes antes y después de la aplicación del revelador utilizado, que en este caso fue reactivo natural; en longitudes de onda de 254nm y 366nm UV.

3.5.2 Contenido de flavonoides totales (TFC)

En cuanto a contenido de flavonoides totales, se empleó la técnica colorimétrica utilizando cloruro de aluminio (AlCl3) al 2.0%, en un equipo UVVis, a 420nm (Lozano-Puentes et al., 2023). Se realiza una curva de calibración con diferentes concentraciones del estándar de isoschaftósido.

Con este mismo estándar se procedió a realizar una solución stock de 1mg/mL (1000µg/mL) y se realizaron las siguientes concentraciones: 100µg/mL; 50µg/mL, 25µg/mL, 12,5µg/mL, 6,25µg/mL y 3,125µg/mL. Se continuó a añadir 1mL de solución al 2% de $AlCl_3$, 500µL de acetato de potasio 1M, se agitaron y se dejaron 60 minutos en condiciones de oscuridad. Pasado el tiempo de reacción se leyeron en espectrofotómetro medido a 420 nm usando celdas de cuarzo. Este procedimiento se realizó por triplicado.

El mismo procedimiento se realizó por triplicado con los diferentes extractos de *G.incana* (P96, US96 y US50). Las absorbancias se trataron con la ecuación de la recta para la obtención de las concentraciones y adaptando la ecuación de (Lozano-Puentes et al., 2023) expresadas en miligramos equivalentes de isoschaftósido por gramo de extracto seco (mg EQ IS/g).

$$\frac{(\text{mg EQ IS})}{(\text{g DM})} = \frac{(\text{C} * \text{V})}{(\text{g DM})}$$

3.5.3 Enriquecimiento de flavonoides por Cromatografía de Partición Centrífuga (CPC)

3.5.3.1 Pruebas preliminares para CPC

El enriquecimiento de flavonoides del extracto crudo seleccionado, con base en su perfil fitoquímico, se realizó mediante Cromatografía de Partición Centrífuga (CPC), utilizando un equipo Gilson® CPC-PLC 250-2250, que cuenta con rotor de 250 mL, inyector de volumen ajustable, bomba cuaternaria, colector automático y detector UV. Para la selección del sistema de solventes se realizaron pruebas preliminares de distribución en tubos de ensayo, evaluando distintos sistemas que cumplieran unas determinadas condiciones. Entre ellos se consideraron combinaciones con etanol y acetato de metilo, pero finalmente se priorizó el sistema EBuWat, conformado por acetato de etilo, butanol y agua, todos de grado HPLC, validado previamente por el grupo de investigación en estudios relacionados (Chitiva et al., 2024).

Tras la evaluación de la Tabla 2 se seleccionaron los sistemas A, B, C y N debido a que en los tiempos de retención, el tiempo fue menor a 60 segundos en la separación de ambas fases posterior a la prueba de agitación en tubos de ensayo. Las fases superiores (FS) y fases inferiores (FI) de los sistemas seleccionados fueron separadas, evaporadas parcial o completamente, y reconstituidas en 1 mL de metanol HPLC para su análisis comparativo mediante HPTLC como se muestra en la Figura 7. Una vez reducidas en volúmenes equitativos y/o secas, se procedió a añadir 1mL de metanol HPLC a todas las muestras para finalmente pasar por HPTLC.

El sistema de solventes B fue seleccionado para llevar a cabo el proceso de enriquecimiento de flavonoides mediante CPC. Este sistema está conformado por acetato de etilo, butanol y agua en una proporción 3:2:3 (v/v/v).

3.5.3.2 CPC

Para el enriquecimiento de flavonoides, se llenó completamente la columna del equipo (volumen total: 250 mL) con la fase estacionaria. El equilibrio de fases se realizó a un flujo de 5 mL/min durante 20 minutos. Se inyecto 456,6 mg del extracto crudo, previamente disueltos en 10 mL de la fase móvil correspondiente y posteriormente, se procedió con la elución en modo descendente, manteniendo una velocidad de flujo constante de 5 mL/min y una rotación de 1000 rpm durante 120 minutos, recolectando un volumen de 10 mL por tubo. Finalmente, la extrusión de la fase estacionaria se efectuó utilizando etanol 96% a una velocidad de 50 mL/min.

El análisis culminó con la recolección de un total de 60 fracciones. Adicionalmente, durante la etapa de extrusión también se recolectaron las fracciones obtenidas, con el objetivo de verificar si algún residuo del extracto había permanecido retenido en el sistema. Para su análisis posterior, se seleccionaron aquellas fracciones en las que el cromatograma UV (Figura 9) marcaba picos de alta intensidad, además de las fracciones que poseían una coloración especialmente fuerte, lo que podría indicar la presencia de compuestos de interés.

Además, se seleccionaron fracciones específicas (números: 4, 8, 9, 13–17, 18–22, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 70, 75) para ser evaluadas de manera más objetiva mediante TLC, utilizando placas de sílica gel y observación a 366 nm, después de la aplicación de revelador natural.

3.5.4 Cromatografía Líquida de Ultra Alta Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas con Analizador de Tiempo de Vuelo y Cuadrupolo (UHPLC-Q-TOF-MS)

La fracción 17 obtenida por CPC fue seleccionada para análisis comparativo junto al extracto crudo US50 de *G.incana* mediante UHPLC-Q-TOF-MS. Esta fracción corresponde al pico de mayor intensidad detectado por absorbancia UV y muestra una coloración intensa comparado con las demás fracciones. Ambas muestras se analizaron en un equipo Nexera X2 LC-MS-QTOF 9030 Shimadzu utilizando una columna Phenomenex Kinetex® EVO C18 (100 mm x 2,1 mm; 2,6 µm), manteniendo la temperatura a 30°C y detector UV.

Las muestras se inyectaron con un volumen de 5 µL a una concentración de 1 mg/mL, utilizando metanol grado LC-MS, a un flujo de 0,5 mL/min. La separación se llevó a cabo mediante una fase móvil en gradiente, empleando como eluyente A agua con 0,1 % de ácido fórmico, y como eluyente B acetonitrilo con 0,1 % de ácido fórmico. La detección UV se realizó en dos canales, correspondientes a las longitudes de onda de 274 nm y 350 nm. La detección por espectrometría de masas (MS) se efectuó en modo de ionización negativa (ESI–), en un rango de masas de m/z 100–1000 Da. El análisis se llevó a cabo en modo de adquisición dependiente de datos (DDA) y únicamente se analizaron espectros de masas sin aplicar fragmentación (MS/MS), con una velocidad de escaneo de 0,1 s por espectro (Chitiva et al., 2023).

4 Resultados y Discusión de resultados

4.1 Rendimiento por masa

El rendimiento de extracción por masa se calculó como el porcentaje en peso (m/m) del extracto seco obtenido respecto a los 50g de material vegetal seco utilizado, expresado en base seca. Los rendimientos partiendo de los 50g de material vegetal para cada método de extracción fueron los siguientes:

- Rendimiento percolación: 5.51%.
- Rendimiento ultrasonido etanol 96%: 2.61%.
- Rendimiento ultrasonido etanol 50%: 5.15%.

4.2 Rendimiento por volumen

El rendimiento por volumen se expresó como la cantidad de extracto seco obtenida en mg por cada mililitro de extracto crudo evaluado, tras evaporación total del solvente. Los rendimientos en base al volumen para cada método de extracción fueron los siguientes:

- Percolación: 2.76mg/ml.
- Ultrasonido etanol 96%: 3.69mg/ml.
- Ultrasonido etanol 50%: 7.20mg/ml.

En función de los 50 g de material vegetal utilizados, el método de percolación con etanol al 96% (P96) fue el que presentó el mayor rendimiento. Este resultado se podría atribuir al uso de 500 mL de solvente en tres ocasiones, con renovación del etanol en cada ciclo, y a un tiempo de contacto prolongado con la matriz vegetal. Como consecuencia, se logró extraer una mayor cantidad de compuestos, aunque a costa de un mayor consumo de solvente.

El segundo mayor rendimiento se obtuvo con la extracción por ultrasonido utilizando etanol al 50% (US50), lo que podría deberse a la mayor polaridad de este solvente en comparación con el etanol al 96%. Esta característica favorece la extracción de compuestos polares presentes en la planta, además de permitir un mejor equilibrio en la extracción de compuestos polares y apolares, lo que resultó en un rendimiento del 5.15%.

Por otro lado, la extracción por ultrasonido con etanol al 96% (US96) presentó el menor rendimiento. Aunque el ultrasonido facilita la disrupción de las estructuras celulares, el tiempo de contacto con el

solvente es considerablemente menor en comparación con la percolación, lo que puede haber limitado la extracción de ciertos compuestos.

En términos de rendimiento en función del volumen de solvente utilizado, la extracción por ultrasonido con etanol al 50% (US50) presentó el mayor rendimiento. Este resultado sugiere que dicho método optimiza el uso del solvente en comparación con los otros procedimientos, permitiendo una extracción más eficiente y reduciendo el consumo de reactivos sin comprometer la cantidad de compuestos extraídos.

4.3 Perfil de flavonoides

4.3.1 Análisis por HPTLC

A continuación, se presentan las placas obtenidas tras el desarrollo cromatográfico, después del revelado:

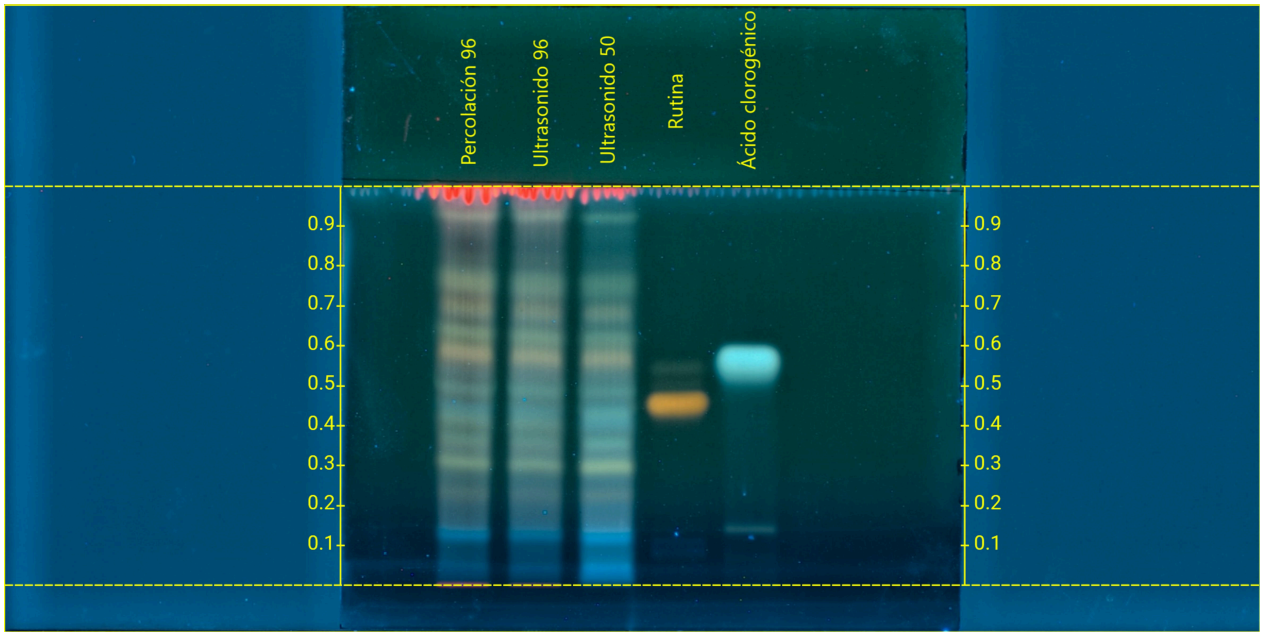


Figura 2: Placa de TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26 revelada con reactivo natural en longitud de onda 366nm con factores de retención. Fuente propia.

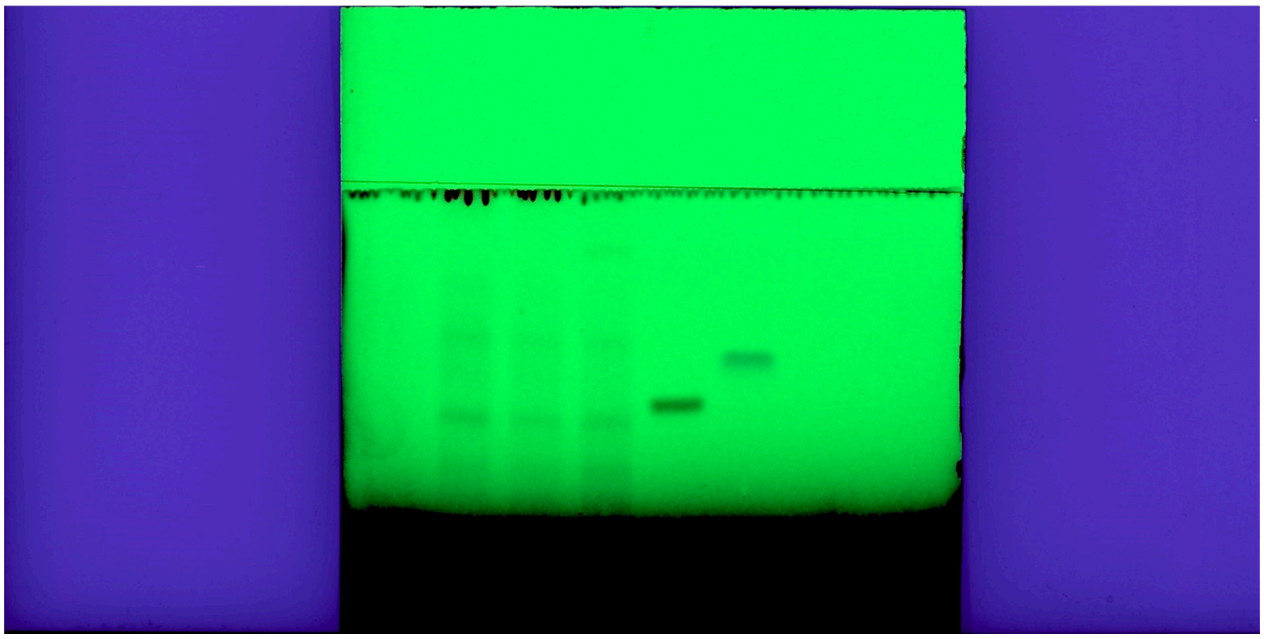


Figura 3: Placa TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26 revelada con reactivo natural longitud de onda 254nm. Fuente propia.

El análisis cromatográfico evidenció múltiples bandas fluorescentes compatibles con flavonoides, observables bajo luz UV a 366 nm luego de aplicar el revelador natural. Su coloración y movilidad sugieren la presencia de flavonoides glicosilados con núcleos tipo apigenina y luteolina, en concordancia con lo descrito por (Wagner & Bladt, 1996).

Asimismo, se observaron zonas con migración y coloración compatibles con ácidos fenólicos como el ácido clorogénico, lo que apoya la presencia de este tipo de metabolitos secundarios en los extractos analizados. La técnica de HPTLC demostró ser adecuada para la detección preliminar de compuestos fenólicos en las hojas de *Guadua incana*.

4.4 Determinación del contenido de TFC

4.4.1 Curva de calibración

Concentración (mg/mL)	Absorbancia				Desvest	CV	CV%
	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Promedio			
100	0,24	0,242	0,244	0,242	0,002	0,008264463	1%
50	0,13	0,124	0,125	0,127	0,00321455	0,025311419	3%
25	0,061	0,067	0,065	0,064	0,00305505	0,047735163	5%
12,5	0,036	0,038	0,037	0,037	0,001	0,027027027	3%
6,25	0,026	0,022	0,021	0,023	0,00264575	0,115032666	12%
3,15	0,012	0,014	0,014	0,013	0,0011547	0,088823118	9%

Figura 4: Datos de absorbancias para curva de calibración de isoschaftósido. La concentración se encuentra como miligramos equivalentes de isoschaftósido por mililitro de muestra. Fuente propia.

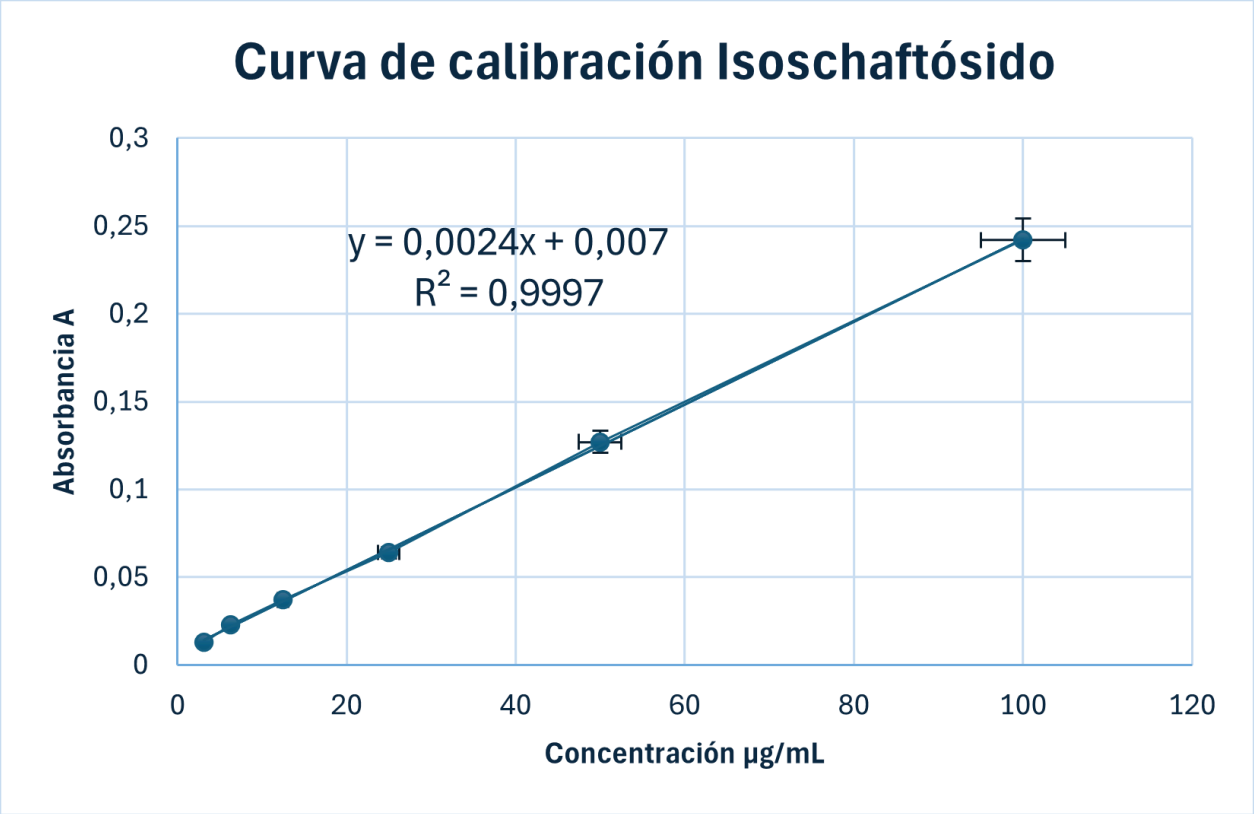


Figura 5: Curva de calibración con estándar isoschaftósido. Fuente propia.

4.4.2 Cuantificación de los TFC en los extractos obtenidos

Concentración	Absorbancia	Promedio	Desvest	CV	CV%
P 96 (1mg/mL)	1,302	1,319	0,01513275	0,01147289	1%
	1,331				
	1,324				
US 96 (1mg/mL)	2,041	2,061	0,01951922	0,00947075	1%
	2,080				
	2,062				
US 50 (1mg/mL)	0,322	0,328	0,00519615	0,01584193	2%
	0,331				
	0,331				

Figura 6: Datos de absorbancias obtenidos de los extractos de *G. incana* respectivamente. Fuente propia.

Los valores obtenidos para el contenido de flavonoides totales fueron:

- US96: 0,856 mg EQ isoschaftósido/g de extracto seco.
- P96: 0,547 mg EQ isoschaftósido/g de extracto seco.
- US50: 0,134 mg EQ isoschaftósido/g de extracto seco.

El extracto obtenido por US96 presentó el mayor contenido de flavonoides totales, lo cual podría relacionarse con la eficiencia del ultrasonido para liberar metabolitos secundarios desde las estructuras celulares. El proceso de ultrasonido favorece la ruptura de paredes celulares, facilitando la liberación de compuestos fenólicos solubles en etanol.

En segundo lugar, se encontró el extracto obtenido por P96, cuyo tiempo de contacto prolongado y recambio de solvente pueden haber favorecido la solubilidad de ciertos flavonoides, aunque sin la acción física del ultrasonido.

Por último, el extracto US50 presentó el menor contenido de flavonoides totales, lo cual puede atribuirse a una menor afinidad del solvente con compuestos menos polares, o a interferencias derivadas del mayor contenido de agua en el proceso de secado.

4.5 Cromatografía de Partición Centrífuga

4.5.1 Pruebas preliminares de CPC

Tabla 2: Sistemas de solventes evaluados para prueba de tubo de ensayo CPC. Fuente propia.

Clasificación del sistema	Sistema de Solventes	volúmenes	Observaciones
A	Acetato de etilo	1,5mL	Tiempo de recuperación < 60s. FI con volumen muy bajo
	Butanol	1,5mL	
	Agua	1,0mL	
B	Acetato de etilo	1,5mL	Tiempo de recuperación < 60s. FS con volumen bajo
	Butanol	1,0mL	
	Agua	1,5mL	
C	Acetato de etilo	1,0mL	Tiempo de recuperación < 60s. FI con volumen bajo, coloración ambas fases transparentes
	Butanol	1,5mL	
	Agua	1,5mL	
D	Acetato de etilo	1,4mL	No hay sistema bifásico
	Etanol	1,3mL	
	Agua	1,3mL	
E	Acetato de metilo	1,4mL	No hay sistema bifásico
	Etanol	1,3mL	
	Agua	1,3mL	
F	Acetato de metilo	1,5mL	Tiempo de recuperación >3min.
	Butanol	1,5mL	
	Agua	1,0mL	
G	Acetato de etilo	1,75mL	Tiempo de recuperación >3min. FS con volumen muy bajo
	Etanol	0,5mL	
	Agua	1,75mL	
H	Acetato de metilo	1,7mL	Tiempo de recuperación >3min. FS con volumen muy bajo
	Butanol	0,6mL	
	Agua	1,7mL	
I	Acetato de metilo	2,2mL	Tiempo de recuperación >3min.
	Butanol	0,6mL	
	Agua	1,2mL	
J	Acetato de etilo	1,4mL	Tiempo de recuperación >3min.
	Etanol	0,6mL	
	Agua	0,6mL	
K	Acetato de metilo	1,0mL	Tiempo de recuperación >3min. FI turbia, FS con bajo volumen y opaca
	Etanol	0,5mL	
	Agua	0,5mL	

L	Acetato de metilo	1,7mL	Tiempo de recuperación >3min. generación de 3 fases; interfase blanca
	Butanol	0,6mL	
	Agua	1,7mL	
M	Acetato de metilo	1,3mL	Tiempo de recuperación 1,35 min. fases con coloración transparente
	Butanol	0,7mL	
	Agua	2,0mL	
N	Acetato de etilo	0,5mL	Tiempo de recuperación < 60s. volúmenes similares en ambas fases, separación veloz.
	Butanol	2,0mL	
	Agua	2,5mL	
O	Acetato de metilo	0,5mL	Tiempo de recuperación >3min. FS con muy bajo volumen
	Butanol	2,0mL	
	Agua	2,5mL	
P	Acetato de etilo	1,5mL	Tiempo de recuperación >3min.
	Butanol	2,0mL	
	Etanol	0,5mL	
	Agua	2,0mL	

En la prueba preliminar, se evaluaron diversos sistemas de solventes y se identificaron aquellos con tiempos de separación de fases inferiores a 60 segundos, indicativo de una posterior retención de fase estacionaria adecuada en CPC. Los sistemas A, B, C y N cumplieron con este criterio.

A partir del análisis por HPTLC como se muestra en la Figura 7, se observó que el sistema B permitió una separación más definida entre las fases superior e inferior, con bandas un poco más nítidas y una mayor resolución cromatográfica en comparación a los demás sistemas de solventes.

La elección del sistema de solventes es crítica para el enriquecimiento de flavonoides por CPC, ya que influye directamente en la partición y separación de los compuestos. El sistema B (3:2:3 de acetato de etilo:butanol:agua) ofreció el mejor desempeño entre los evaluados, logrando un equilibrio adecuado entre las fases, pese a su escasa resolución.

Aunque inicialmente se consideraron otros sistemas con solventes considerados más verdes, estos no proporcionaron una separación efectiva en las pruebas preliminares, lo que justificó su no uso en este trabajo. Aunque la resolución cromatográfica obtenida mediante HPTLC fue limitada y las bandas no se observaron con gran nitidez, esta herramienta permitió comparar de forma general el comportamiento de

los sistemas de solventes. A pesar de la baja definición, el sistema B destacó en mayor medida frente a los demás.

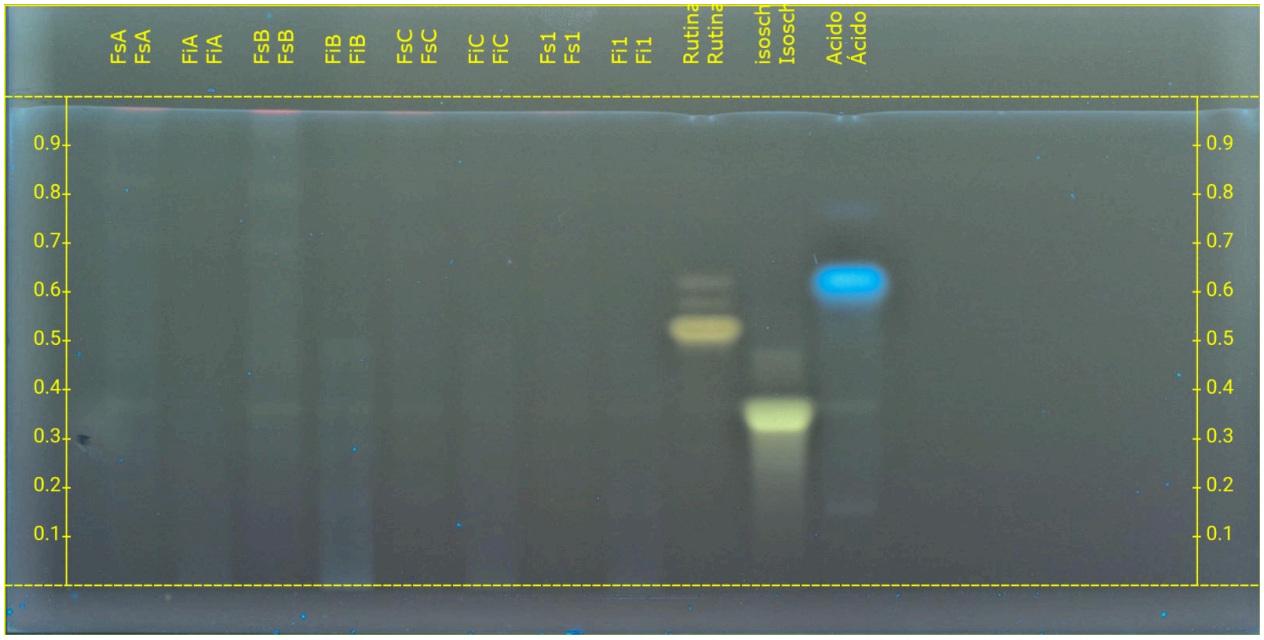


Figura 7: TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26. Sistemas de solventes a evaluar por CPC revelados con reactivo natural en longitud de onda 366nm. Fuente propia.

4.5.2 CPC

Se obtuvo un total de 60 fracciones durante el proceso de CPC, además de 15 fracciones adicionales recolectadas durante la extrusión final. La fracción número 17 mostró el pico de mayor intensidad en el detector UV, tal como se observa en la Figura 9.



Figura 8: Fotografía de las fracciones obtenidas mediante CPC. Fuente propia.

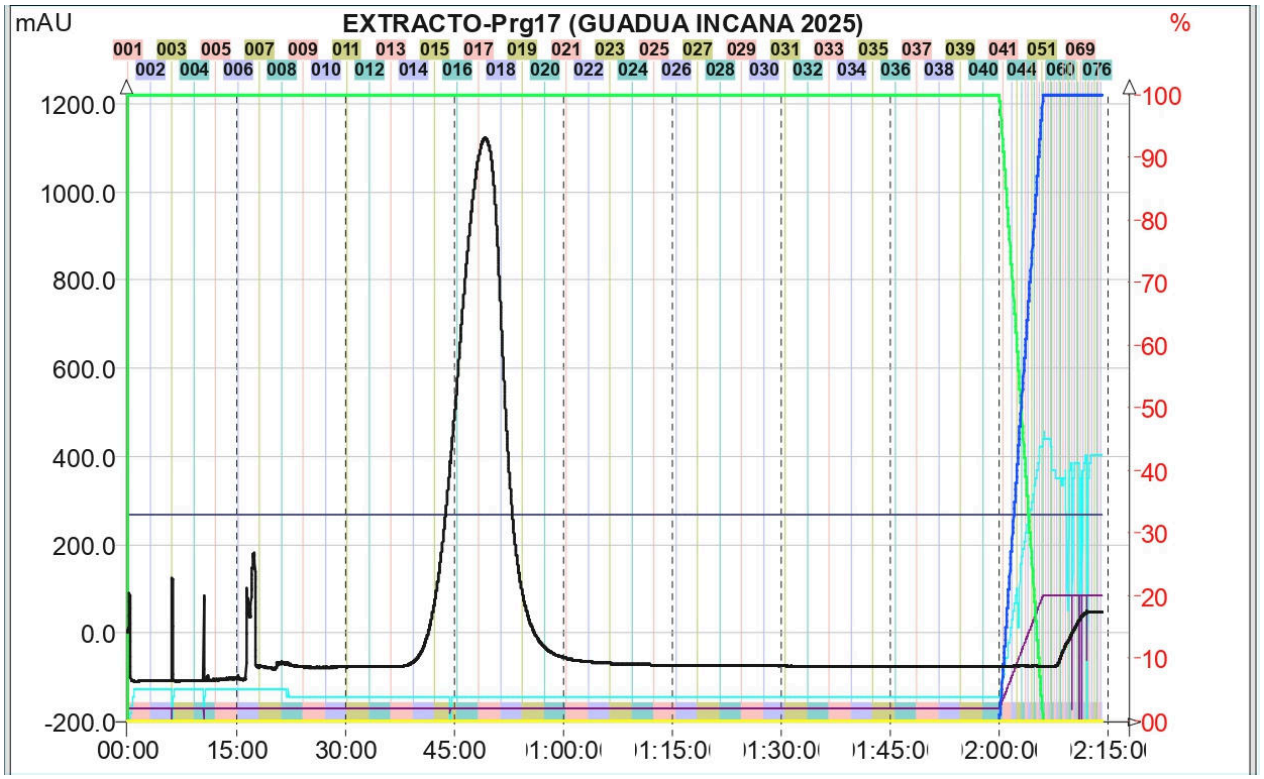


Figura 9: Cromatograma detector UV 254nm/365nm CPC. Fuente propia.

Las placas TLC de las fracciones seleccionadas revelaron bandas fluorescentes de diferentes intensidades. En particular, se observaron bandas de coloración naranja y verdes, las cuales fueron más intensas y definidas en las fracciones 16 y 17. Sin embargo, no se observó fraccionamiento de los flavonoides presentes en la muestra bajo estas condiciones cromatográficas empleadas en el CPC.

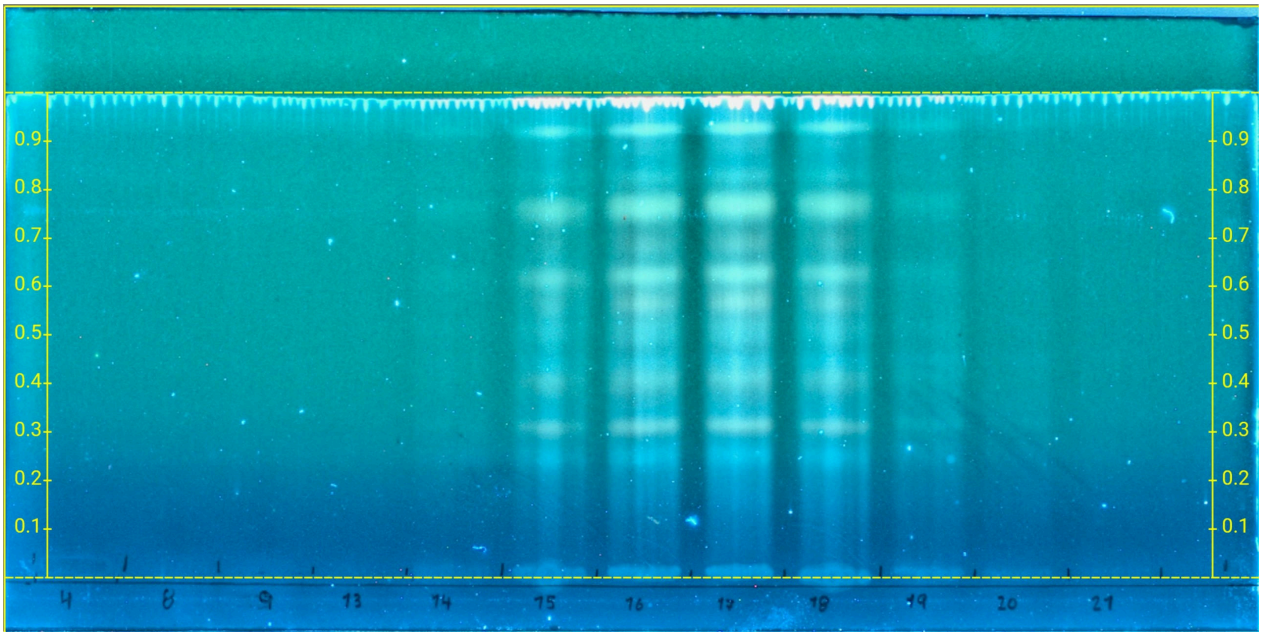


Figura 10: Placa de TLC sílica gel 60 F254, FM acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico, agua 100:11:11:26. En longitud de onda 366nm revelada con reactivo natural, con factores de retención. Fuente propia.

El proceso de enriquecimiento de flavonoides mediante CPC permitió la obtención de múltiples fracciones, pero destacó la fracción número 17 por su intensidad de absorbancia UV. Esto indica una mayor concentración de compuestos de interés en esa región del perfil cromatográfico, lo que justificó su selección para análisis por espectrometría de masas.

La observación visual de las placas TLC evidenció que las fracciones 16 y 17 contenían las bandas más nítidas, especialmente en longitudes de onda UV tras el revelado. Este patrón de distribución sugiere que los metabolitos presentes tienen un rango de elución estrecho, acumulándose alrededor del mismo intervalo de fracciones. La escasa presencia de estas bandas en fracciones adyacentes como la 15 o la 18 refuerza la idea de una concentración de flavonoides efectiva.

Pese a que no se logró una separación adecuada de los compuestos en distintas fracciones, el patrón observado indica que el sistema de solventes utilizado en CPC fue útil para concentrar ciertos metabolitos de interés. Esta concentración facilitó la identificación de fracciones enriquecidas en compuestos potencialmente bioactivos, los cuales podrán ser estudiados con mayor detalle en análisis posteriores.

4.6 UHPLC-Q-TOF-MS

A continuación, se muestra el cromatograma UV comparando la fracción de CPC17 con el extracto crudo de *G.incana*.

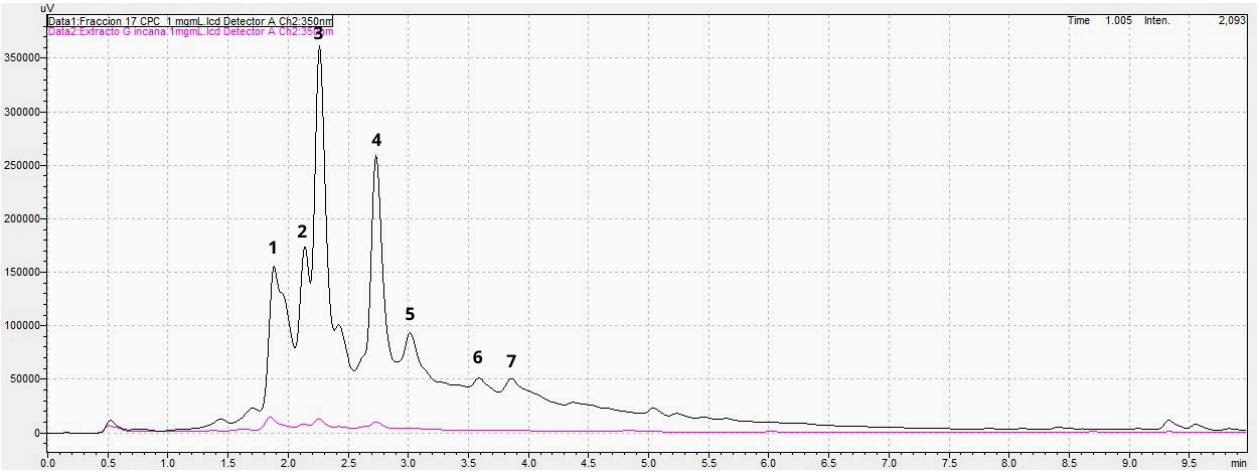


Figura 11: Cromatograma UV 350nm. En negro se observa la fracción 17 de CPC. En rosado se observa el extracto crudo de *G.incana*. Fuente propia.

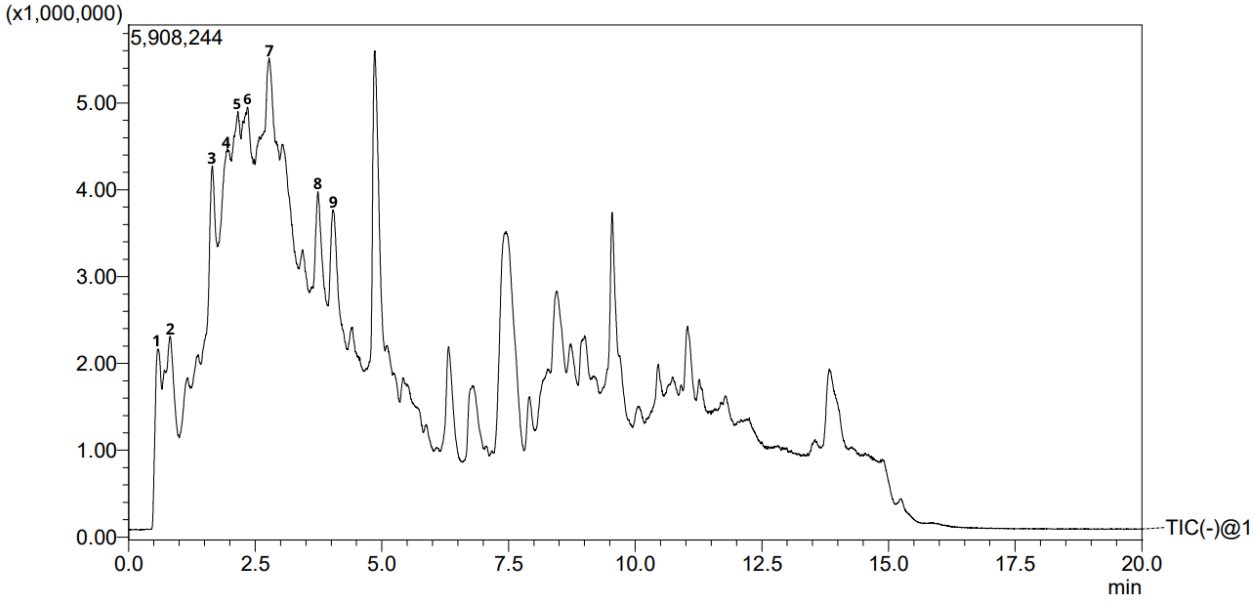
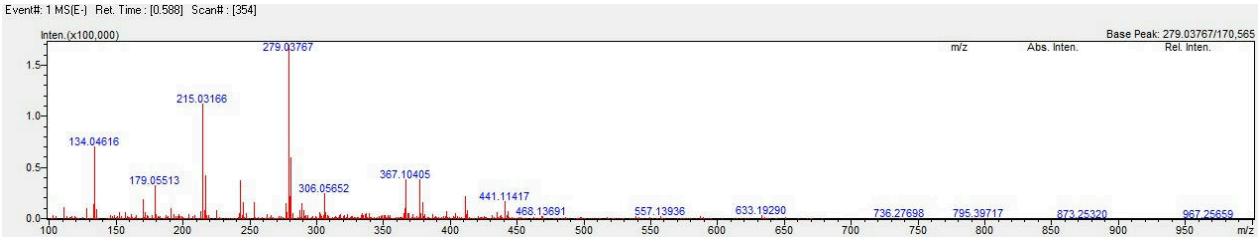


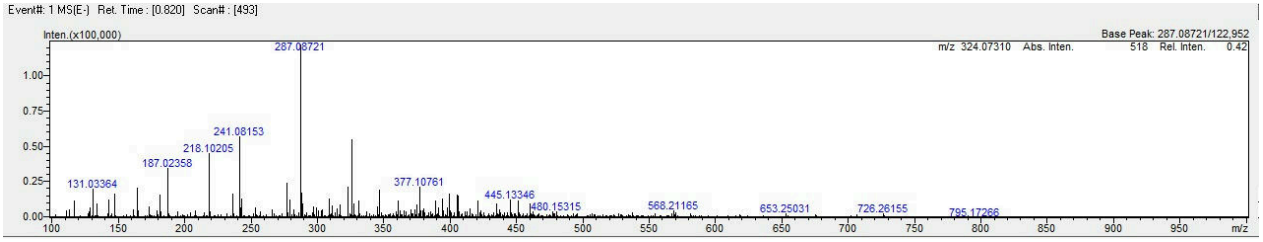
Figura 12: Cromatograma de tiempo total de ionización en modo negativo fracción 17 CPC. Fuente propia

A partir de estos cromatogramas se seleccionaron los primeros picos (< 5min) y se obtuvo el espectro de masas correspondiente para cada uno para la fracción CPC17:

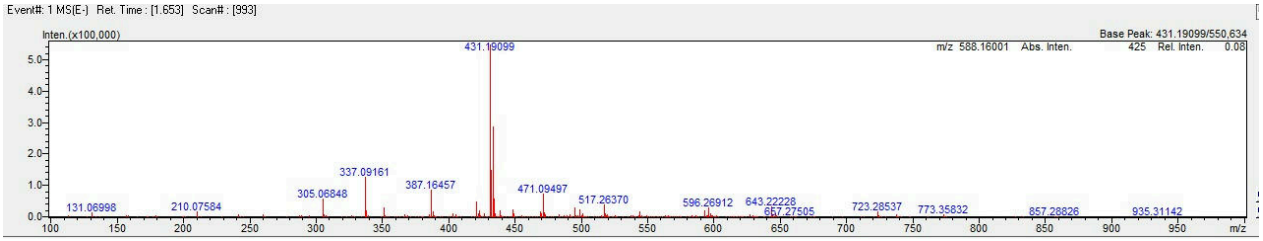
– **Espectro de masas Pico 1**



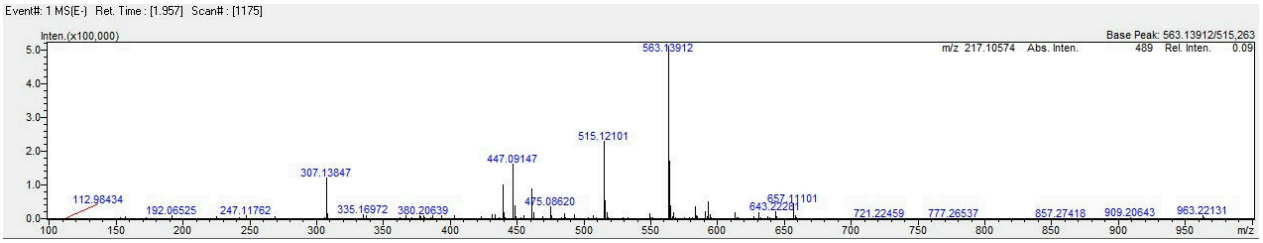
– **Espectro de masas Pico 2**



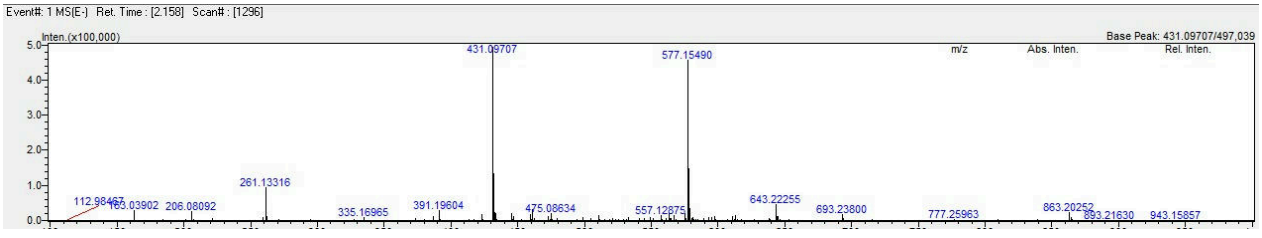
– **Espectro de masas Pico 3**



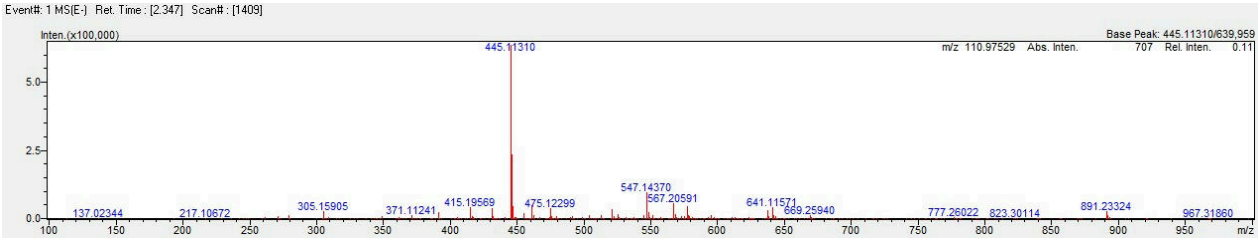
– **Espectro de masas Pico 4**



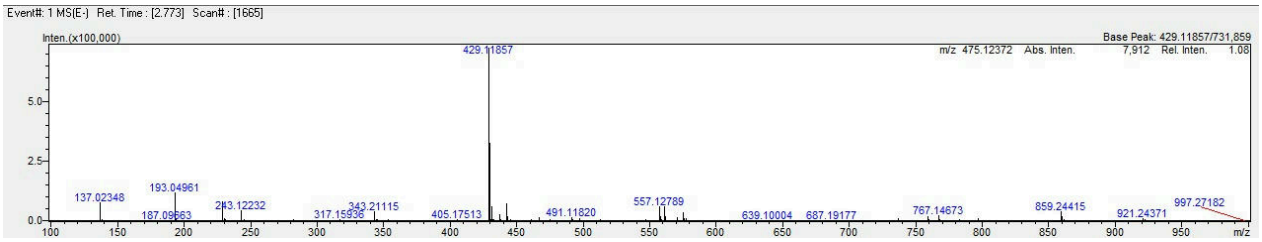
– **Espectro de masas Pico 5**



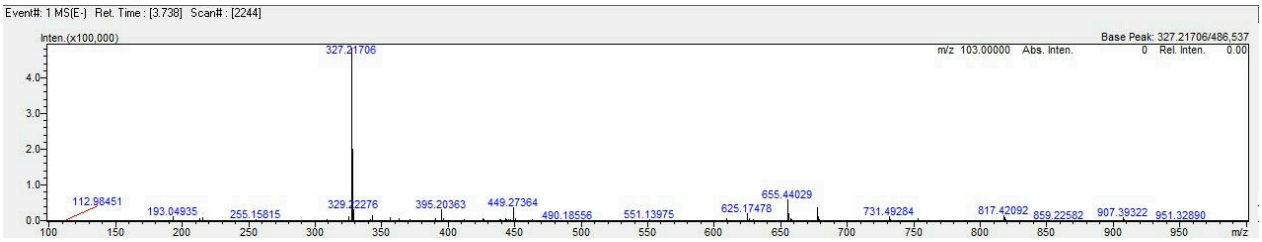
– **Espectro de masas Pico 6**



– **Espectro de masas Pico 7**



– **Espectro de masas Pico 8**



– **Espectro de masas Pico 9**

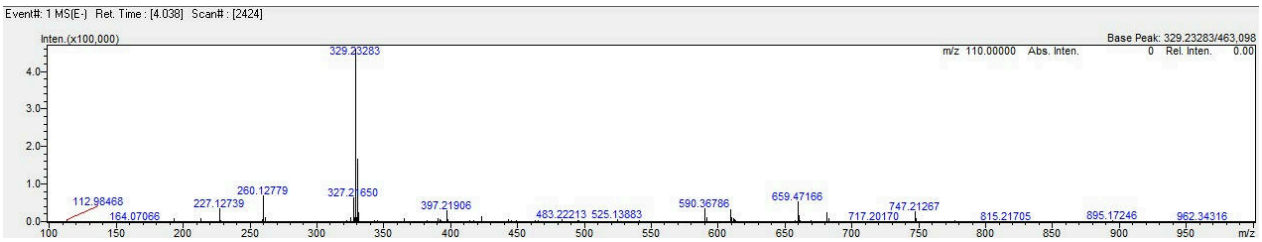


Figura 13: Espectros de masas de la fracción 17 de CPC. Fuente propia.

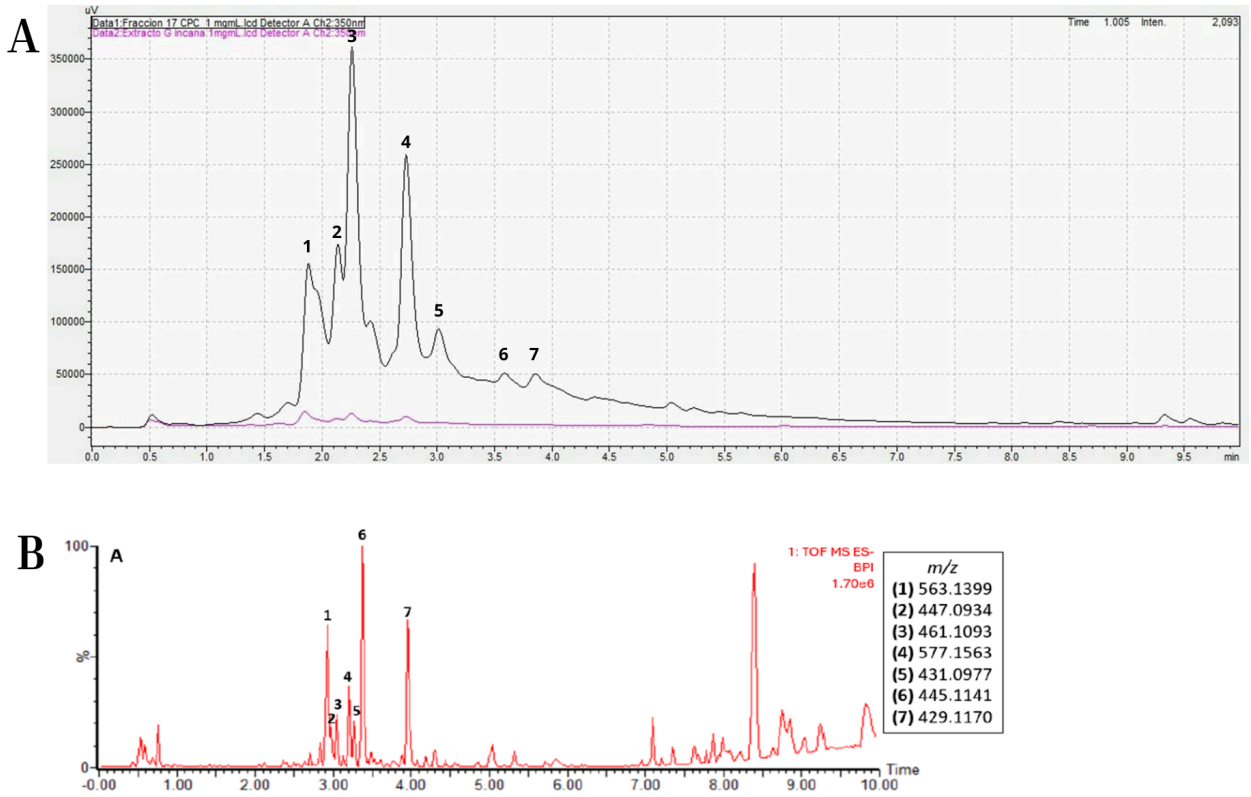


Figura 14: Comparación del cromatograma UV a 350 nm de este trabajo (A) con el cromatograma MS en modo ESI (–) obtenido por Chitiva (2024) (B). Fuente: propia y adaptado de Chitiva, 2024.

La comparación entre el extracto crudo y la fracción CPC17 reveló diferencias claras en la composición de los picos de interés. El cromatograma UV mostró un aumento bastante considerable del perfil de flavonoides para la fracción CPC17, con predominancia de un número reducido de compuestos, lo que sugiere un enriquecimiento selectivo tras la separación por CPC.

Los espectros de masas obtenidos para cada pico permitieron correlacionar la composición de la fracción CPC17, enriquecida en flavonoides, con los trabajos previos del grupo (Figura 14). La asignación de estos picos (Tabla 3) se hizo con base en los datos obtenidos previamente por el grupo, únicamente. Sin embargo, el conjunto de resultados obtenidos en este trabajo, indica que la composición de flavonoides se puede seguir explorando a partir de esta estrategia de enriquecimiento de flavonoides por CPC.

En conjunto, los resultados sugieren que el método de enriquecimiento de flavonoides fue efectivo para concentrar compuestos de interés y reducir interferencias, lo cual facilita el análisis estructural y químico del extracto.

Tabla 3: Compuestos observados para la fracción CPC17 relacionados a los resultados previos. ⋆Indica que hubo sobreposición de los compuestos bajo un único pico en UV-350nm. NA: No asignado Fuente propia.

[M-H]-	Pico observados	Pico observado por Chitiva, 2024.	Asignación
563.1391	Pico 4	Pico 1 (563.1399)	Isochaftósido
447.0914	Pico 4⋆	Pico 2 (447.0934)	NA
577.1549	Pico 5	Pico 4 (577.1563)	Violanthina
431.0970	Pico 5⋆	Pico 5 (431.0977)	NA
445.1131	Pico 6	Pico 6 (445.1141)	Swertisina
429.1185	Pico 7	Pico 7 (429.1170)	NA

5 Conclusiones

- Se evaluó la composición de flavonoides presentes en hojas foliares de *Guadua incana*, encontrando un perfil químico rico en compuestos polifenólicos, especialmente en su composición de flavonoides.
- Los métodos de extracción aplicados mostraron diferencias significativas en cuanto al rendimiento y contenido de flavonoides totales TFC, siendo el método de ultrasonido con etanol al 96 % el que presentó mayor concentración de flavonoides (0,856 mg EQ IS/g), mientras que el método de ultrasonido con etanol al 50 % mostró el mejor rendimiento por volumen (7,20 mg/mL).
- El extracto US50 seleccionado fue enriquecido por Cromatografía de Partición Centrífuga (CPC), obteniéndose una fracción CPC17 enriquecida, la cual fue analizada comparativamente junto al extracto crudo mediante UHPLC-Q-TOF-MS en modo negativo.
- El análisis por UHPLC-Q-TOF-MS reveló la presencia de diversos flavonoides, algunos de los cuales corresponden a flavonoides ya observados por nuestro grupo de investigación y algunos que todavía no han sido identificados.
- Este enfoque metodológico demuestra ser un modelo reproducible para estudios fitoquímicos exploratorios y promueve la bioprospección de compuestos naturales con potencial antioxidante o terapéutico.

6 Recomendaciones y Perspectivas.

- Explorar la posibilidad de ampliar los análisis por LC-MS a partir de la fracción enriquecida CPC17, con el objetivo de identificar y asignar flavonoides previamente reportados en la literatura.
- Realizar la cuantificación del contenido total de flavonoides TFC en la fracción CPC17, para obtener un dato cuantitativo que respalde el enriquecimiento observado.
- Continuar evaluando sistemas de solventes alternativos para optimizar la purificación de flavonoides mediante cromatografía de partición centrífuga CPC.
- Aplicar técnicas complementarias de elucidación estructural y ensayos biológicos funcionales que permitan confirmar la identidad y bioactividad de los compuestos concentrados.

Bibliografía

Archila-Santos, H. F., Ansell, M. P., & Walker, P. (2012). Low Carbon Construction Using Guadua Bamboo in Colombia. *Key Engineering Materials*, *517*, 127-134. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.517.127

Balón, M. J. D. P. (2018). *Caracterización agrosocioeconómica de la producción de la caña guadua Guadua angustifolia K. en la asociacion Noble Guadua - comuna Olón parroquia Mangraralto.* https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/4276

Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001,). *FLAVONOIDES: CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y APLICACIONES.* http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001

Catálogo de Biodiversidad de Colombia. https://catalogo.biodiversidad.co/file/56e785fd83c45700544e40b7/summary

Chitiva, L. C., Lozano-Puentes, H. S., Londoño, X., Leão, T. F., Cala, M. P., Ruiz-Sanchez, E., Díaz-Ariza, L. A., Prieto-Rodríguez, J. A., Castro-Gamboa, I., & Costa, G. M. (2023). Untargeted metabolomics approach and molecular networking analysis reveal changes in chemical composition under the influence of altitudinal variation in bamboo species. *Frontiers in Molecular Biosciences*, *10*. https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1192088

Chitiva, L. C., Rezende-Teixeira, P., Leão, T. F., Lozano-Puentes, H. S., Londoño, X., Díaz-Ariza, L. A., Costa-Lotufo, L. V., Prieto-Rodríguez, J. A., Costa, G. M., & Castro-Gamboa, I. (2024). Metabolomic Profiling of Guadua Species and Its Correlation with Antioxidant and Cytotoxic Activities. *ACS Omega*, *9*(35), 36939-36960. https://doi.org/10.1021/acsomega.3c09114

Fernández, P. V., Zelaya, V. M., Cobello, L., Vega, A. S., & Ciancia, M. (2019). Glucuronoarabinoxylans and other cell wall polysaccharides from shoots of Guadua chacoensis obtained by extraction in different conditions. *Carbohydrate Polymers*, *226*, 115313. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115313

Gagliano, J., Anselmo-Moreira, F., Sala-Carvalho, W. R., & Furlan, C. M. (2022). What is known about the medicinal potential of bamboo?. *Advances in Traditional Medicine*, *22*(3), 467-495. https://doi.org/10.1007/s13596-020-00536-5

Gomez, J. P., Velez, J. P. A., Pinzon, M. A., Arango, J. A. M., & Muriel, A. P. (2021). Chemical Characterization and Antiradical Properties of Pyroligneous Acid from a Preserved Bamboo, Guadua angustifolia Kunth. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *64*. https://doi.org/10.1590/1678-4324-2021190730

Lozano-Puentes, H. S., Sánchez-Matiz, J. J., Ruiz-Sanchez, E., Costa, G. M., & Díaz-Ariza, L. A. (2023). Guadua angustifolia Kunth leaves as a source for bioactive phenolic compounds: Optimization of ultrasound-assisted extraction using response surface methodology and antioxidant activities. *Heliyon*, *9*(12). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22445

Muriel, A. P., Henao, V. D., & Arango, J. A. M. (2025). Morphological and anatomical characterization of mature culms of Guadua angustifolia Kunth as a raw material for transformation processes. *BioResources*, *20*(2), 2628-2642. https://doi.org/10.15376/biores.20.2.2628-2642

Navas Gutiérrez, E. de. (2011). *Aplicaciones estructurales de la guadua (Guadua angustifolia Kunth): Proyecto de estructura modular multifuncional en Colombia*. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:110865085

Oliveira, D. C. de, Nunes, F. A., Bílek, T., Murakami, C., Grombone-Guaratini, M. T., & Moreno, P. R. H. (2025). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils from two Guadua species (Poaceae, Bambusoideae). *Advances in Bamboo Science*, *12*, 100171. https://doi.org/10.1016/j.bamboo.2025.100171

Santos, A., & Fabio, H. (2015). *Thermo-hydro-mechanically modified cross-laminated Guadua-bamboo panels*. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:110865085

Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, *383*, 132531. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531

Shi, J. Y., Zhang, Y. X., Zhou, D. Q., Ma, L. S., & Yao, J. (2020). Morphology of Bamboos. En *Illustrated Flora of Bambusoideae in China* (pp. 1-18). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-8580-2_26-1

Trabanino, F., & Núñez, L. F. (2015). Guadua como elemento mortuorio en sepulturas mayas. *Boletín de Antropología*, *29*(48). https://doi.org/10.17533/udea.boan.v29n48a06

Universidad Nacional, C. (2011,). *COL000177610 - Guadua incana Londoño - Poaceae*. http://www.biovirtual.unal.edu.co/es/colecciones/detail/302831/

Virtanen, P. K., Apurinã, F., Ruokolainen, K., & Manchineri, L. (2022). The Role of Guadua Bamboo in Land Management and Indigenous Perspectives on Bamboo Ecosystems in Southwestern Amazonia. *Human Ecology*, *50*(6), 1077-1088. https://doi.org/10.1007/s10745-022-00376-8

Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas* (2nd ed.). Springer.