



UTPL

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y
NATURALES**

CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**Aislamiento y caracterización de metabolitos
secundarios del extracto etanólico de raíces de
Cacosmia rugosa Kunth.**

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de:

INGENIERA QUÍMICA

Autora: Castillo Gallardo, Angie Gabriela

Director: Romero Benavides, Juan Carlos

LOJA
2025



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

2025

Aprobación del director del trabajo de titulación

Loja, 17 de marzo de 2025

Magister

Natalí Elizabeth Solano Cueva

Directora de la carrera de Ingeniería química

Loja. -

De mi consideración:

Me permito comunicar que, en calidad de director del presente Trabajo de Integración Curricular denominado: Aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios del extracto etanólico de raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth realizado por Angie Gabriela Castillo Gallardo ha sido orientado y *revisado* durante su ejecución, así mismo ha sido verificado a través de la herramienta de similitud académica institucional, y cuenta con un porcentaje de coincidencia aceptable. En virtud de ello, y por considerar que el mismo cumple con todos los parámetros establecidos por la Universidad, doy mi aprobación a fin de continuar con el proceso académico correspondiente.

Particular que comunico para los fines pertinentes.

Atentamente,

Director: Juan Carlos Romero Benavides

C.I.:1103018477

Correo electrónico: jcromerob@utpl.edu.ec

Declaración de autoría y cesión de derechos

Yo, Angie Gabriela Castillo Gallardo declaro y acepto en forma expresa lo siguiente:

Ser autora del Trabajo de Integración Curricular denominado: Aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios del extracto etanólico de raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth, de la carrera de Ingeniería Química, específicamente de los contenidos comprendidos en: Capítulo uno Marco teórico, Capítulo dos Diseño metodológico, Capítulo tres Análisis e interpretación de resultados, siendo Juan Carlos Romero Benavides, director del presente trabajo; también declaro que la presente investigación no vulnera derechos de terceros ni utiliza fraudulentamente obras preexistentes. Además, ratifico que las ideas, criterios, opiniones, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad. Eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones judiciales o administrativas, en relación a la propiedad intelectual de este trabajo.

Que la presente obra, producto de mis actividades académicas y de investigación, forma parte del patrimonio de la Universidad Técnica Particular de Loja, de conformidad con el artículo 20, literal j), de la Ley Orgánica de Educación Superior; y, artículo 91 del Estatuto Orgánico de la UTPL, que establece: "Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad", en tal virtud, cedo a favor de la Universidad Técnica Particular de Loja la titularidad de los derechos patrimoniales que me corresponden en calidad de autor/a, de forma incondicional, completa, exclusiva y por todo el tiempo de su vigencia.

La Universidad Técnica Particular de Loja queda facultada para ingresar el presente trabajo al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública, en cumplimiento del artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma:

Autor: Castillo Gallardo Angie Gabriela

C.I.: 1104660814

Dedicatoria

Dedico este trabajo principalmente a mi familia, que ha sido mi pilar y mi mayor fortaleza. En especial a mi mamá María Gallardo y a mi papá Edgar Castillo, por su amor infinito, por creer en mí incluso cuando yo dudaba, y por enseñarme que los sueños se alcanzan con esfuerzo y pasión. Sus sacrificios y palabras de aliento fueron el motor de este logro. Dedico también este trabajo a mi querido perrito Spooky, quien con su compañía fiel fue mi consuelo en los momentos de desánimo. Sus travesuras y su cariño me recordaban que siempre había razones para sonreír y seguir adelante.

A mis queridos abuelitos Blanca, José y María, por su sabiduría, amor y constancia. Sus abrazos y consejos fueron siempre un refugio de paz y motivación para seguir adelante.

Agradecimiento

Al finalizar esta importante etapa de mi vida, deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todos aquellos que hicieron posible este logro.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento al PhD. Juan Carlos Romero, mi tutor de tesis, por su paciencia infinita, orientación y dedicación constante. Gracias por compartir su conocimiento, responder cada una de mis dudas y motivarme a dar siempre lo mejor de mí. Su compromiso fue fundamental para alcanzar este logro.

A Anita Ortega, quien fue mucho más que una amiga. Gracias por brindarme una oportunidad de trabajo en un momento crucial de mi vida y por ser ese apoyo incondicional que nunca dejó de creer en mí. Su generosidad y confianza hicieron posible que este sueño se materializara.

A José Espinosa, por su valiosa ayuda en la realización de este trabajo. Tu disposición y esfuerzo marcaron una gran diferencia en este proceso, y siempre estaré agradecida por tu apoyo.

A mis tías María y Luz, por estar siempre pendientes y brindarme su apoyo incondicional. Su cariño, consejos y constante preocupación fueron un bálsamo en los momentos difíciles y una fuente de fortaleza para seguir adelante.

A mis amigas del colegio, por ser mi refugio en los días grises, mis cómplices en la alegría y mi recordatorio de que juntas somos invencibles. Sus risas y apoyo fueron el respiro que mi corazón necesitaba en esta travesía.

Gracias a todos ustedes por ser luz en mi camino y parte fundamental de este logro.

Esta tesis es tanto mía como suya.

Índice de contenido

Carátula.....	I
Aprobación del director del trabajo de titulación	II
Declaración de autoría y cesión de derechos.....	III
Dedicatoria	V
Agradecimiento.....	VI
Índice de contenido	VII
Carátula.....	IVII
Índice de tablas.....	IX
Índice de Figuras	X
Resumen	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Capítulo Uno.....	5
Marco Teórico	5
1.1 Clasificación taxonómica de la planta.....	5
1.2 Composición química del extracto etanólico.....	6
1.3 Tamizaje Fitoquímico	7
1.4 Metabolitos secundarios	8
1.4.1 <i>Taninos</i>	8
1.4.2 <i>Triterpenos y esteroides</i>	8
1.4.3 <i>Alcaloides</i>	8
1.5 Cromatografía en capa fina	9
1.6 Espectroscopía infrarroja	9
1.7 Cromatografía flash	9
1.8 Resonancia magnética nuclear	10
Capítulo Dos.....	11
Metodología	11
2.1 Recolección de la especie <i>Cacosmia rugosa</i> Kunth	11
2.2 Lavado, secado y pesaje de las raíces de la especie	12
2.3 Maceración de las raíces en etanol.....	12
2.4 Tamizaje fitoquímico	12
2.4.1 <i>Metabolitos Primarios:</i>	12
2.4.2 <i>Metabolitos Secundarios:</i>	13
2.5 Aislamiento: Cromatografía de capa fina y cromatografía flash	14
2.5.1 <i>Cromatografía de capa fina</i>	14
2.5.2 <i>Cromatografía flash</i>	14
2.6 Caracterización de metabolitos secundarios.....	14
2.6.1 <i>Espectroscopia infrarroja</i>	15

2.6.2 Cromatografía flash	15
2.6.3 Resonancia magnética nuclear	16
Capítulo Tres	17
Resultados	17
Conclusiones	27
Recomendaciones	28
Referencias	29

Índice de tablas

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la planta.....	5
Tabla 2 Estructuras químicas del estudio de Bohlmann.....	14
Tabla 3 Perfil fitoquímico del extracto etanólico.....	18
Tabla 4 Resultados de los fraccionamientos.	20
Tabla 5 Comparación de la molecula de la fraccion 18 con los desplazamientos más parecidos obtenidos de la molecula de referencia.....	25

Índice de Figuras

Figura 1 Distribución de Cacoscia rugosa Kunth.....	6
Figura 2 Diagrama de flujo de los métodos empleados en el TIC.	11
Figura 3 Espectro de infrarrojos de extracto etanolico.....	18
Figura 4 Resultados de perfiles cromatográficos Cacoscia rugosa Kunth	19
Figura 5 Espectro de cromatografía flash del extracto etanólico.....	20
Figura 6 Resultados obtenidos del RMN de ¹H de las fracciones 13,16,18.....	22
Figura 7 Espectro de RMN ¹H de la fracción 18.....	23
Figura 8 Espectro de IR de la Fracción 18.	23
Figura 9 Estructura química de las molécula de referencia.....	26

Resumen

En el presente trabajo de integración curricular trato acerca de la caracterización y aislamiento de metabolitos secundarios contenidos en el extracto etanólico de *Cacosmia rugosa Kunth*. A partir de 2 kg de raíces recolectadas, se obtuvo un extracto etanólico con un rendimiento del 1%. El análisis fitoquímico reveló la presencia de taninos condensados, terpenos, alcaloides, y esteroides, siendo los tres primeros los más abundantes. Por cromatografía flash se obtuvo 47 fracciones, la cual la fracción 18 fue la escogida para la caracterización. Se emplearon técnicas como espectroscopía infrarroja (IR) y resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H , lo que permitió identificar una molécula de tipo sesquiterpeno lactónico.

Palabras clave: Cromatografía, Espectroscopía, Resonancia, Tamizaje, Sesquiterpeno lactónico.

Abstract

In this curricular integration work I deal with the characterization and isolation of secondary metabolites contained in the ethanolic extract of *Cacosmia rugosa* Kunth. From 2 kg of collected roots, an ethanolic extract with a yield of 1% was obtained. The phytochemical analysis revealed the presence of condensed tannins, terpenes, alkaloids, and steroids, the first three being the most abundant. Flash chromatography obtained 47 fractions, of which fraction 18 was chosen for characterization. Techniques such as infrared spectroscopy (IR) and ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) were used, which allowed the identification of a lactone sesquiterpene-type molecule

.Keywords: Chromatography, Spectroscopy, Resonance, Screening, Lactone sesquiterpene.

Introducción

El estudio de metabolitos secundarios extraídos de plantas medicinales ha despertado un gran interés en distintos campos, como agricultura, medicina e industria farmacéutica (Robert, Reyes, & Loyola, 1984). La especie *Cacosmia rugosa* Kunth es una de estas, destaca por su amplia distribución en regiones montañosas de América del Sur, estudios como los de (F. Bohlmann, 1985) han mostrado que hay compuestos bioactivos en las raíces de la planta. Asimismo, investigaciones en Saraguro por (M Ríos, 2007) ha evidenciado que la planta *Cacosmia rugosa* Kunth posee propiedades benéficas para la salud, particularmente en el tratamiento de la diarrea en animales.

Sin embargo, a pesar de su reconocido valor medicinal, persiste una notable falta de información sobre la identificación y caracterización de los metabolitos secundarios de la *Cacosmia rugosa* Kunth. A pesar de que se han reconocido compuestos como terpenos acetilénicos conjugados, triterpenos lupanos y sesquiterpenos lactónicos guianólidos (Ferdinand Bohlmann a, 2001), todavía hay pocos estudios específicos sobre esta planta. Por lo tanto, es importante poseer investigaciones detalladas que ayuden a identificar los metabolitos presentes en el extracto etanólico de las raíces, lo que aportaría al conocimiento científico sobre esta especie. Para lograr esto se propuso como objetivos obtener el extracto etanólico de las raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth, realizar ensayos de tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las raíces y por último aislar y caracterizar los metabolitos secundarios contenidos en el extracto etanolico usando métodos cromatográficos y espectroscópicos. El trabajo de integración curricular se divide en tres capítulos: marco teórico, metodología y análisis de resultados.

El marco teórico ofrece la información desde la familia de la especie hasta investigaciones previas sobre los compuestos aislados de las raíces de la especie. La metodología posee el procedimiento experimental, incluye el tamizaje fitoquímico, espectroscopía infrarroja, cromatografía en capa fina, cromatografía flash y

resonancia magnética nuclear. En el análisis de resultados, se presentan los resultados experimentales como el tamizaje fitoquímico de la detección de los metabolitos primarios y secundarios, el análisis de perfiles cromatográficos, espectros de infrarrojos y resonancia magnética nuclear y por último la identificación de grupos funcionales y la propuesta de una posible estructura de la molécula aislada.

Capítulo Uno

Marco Teórico

1.1 Clasificación taxonómica de la planta.

Dentro de la amplia familia *Asteraceae*, se halla la subfamilia Vernonioideae Lindl., que abarca la tribu Liabeae Rydb., la cual se compone de 4 subtribus, 18 géneros y cerca de 163 especies (Alfonso Susanna, 2020). La relación filogenética del género *Cacosmia* Kunth dentro de la tribu Liabeae Rydb. es debatida y varía según el tipo de análisis de datos realizados. El análisis de parsimonia posiciona a este género como un grupo hermano de todos los integrantes de la tribu. Por otro lado, los análisis de máxima probabilidad y Bayesianos lo sitúan dentro de la subtribu Liabinae Cass. ex Dumort, como un grupo hermano del clado que abarca los demás géneros (Diego G. Gutiérrez, 2020).

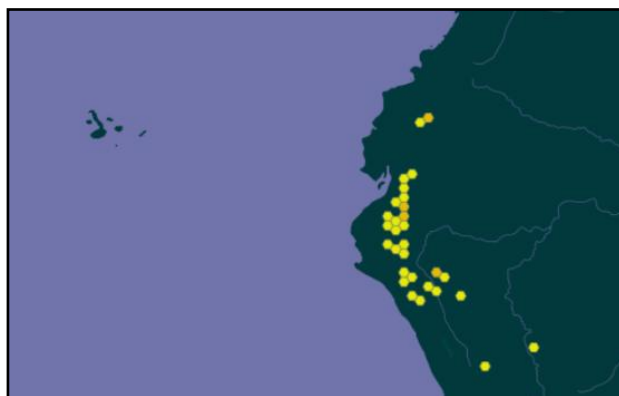
Tabla 1

Clasificación taxonómica de la planta

TAXONOMÍA DE CACOSMIA	
Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Cichorioideae
Tribu	Liabeae
Genero	<i>Cacosmia</i> Kunth

Nota: Adaptado de Nova genera et species plantarum, Volúmenes 1-2.

Cacosmia rugosa Kunth es la especie con la mayor distribución dentro de su género, encontrándose en las provincias ecuatorianas de Azuay, Cañar, Chimborazo, Imbabura, Loja, Pichincha y en el norte de Perú (Dillon et al., 2009). Según el Libro Rojo de las Plantas Endémicas del Ecuador, *Cacosmia hieronymi* H. Rob. está catalogada como vulnerable y se distribuye en las provincias de Azuay, Cañar y el norte de Loja, mientras que *Cacosmia harlingii* B. Nord. también es considerada vulnerable y se encuentra en Azuay, Cañar y Loja (León-Yáñez et al, 2019).

Figura 1*Distribución de Cacosmia rugosa Kunth*

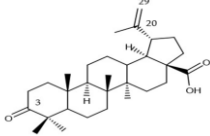
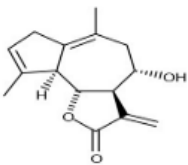
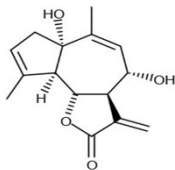
Nota: Adaptado de: *Cacosmia rugosa* Kunth in GBIF Secretariat (2022).

1.2 Composición química del extracto etanólico

El extracto etanólico de las raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth contiene una variedad de compuestos. Entre ellos se destacan los terpenos acetilénicos conjugados, como tridec-1,11-dieno-3,5,7,9-tetraeno y heptadeceno-1,7,9,15-tetraeno-11,13-diino; los triterpenos lupanos, tales como lupeol acetato y ácido betulónico; y los sesquiterpenos lactónicos guianólicos, como desacetil-zuurbergenina y rupicolin A. Estos resultados han sido determinados en estudios realizados por (F. Bohlmann, 1985). En la Tabla 2 se muestra las estructuras de los compuestos mencionados anteriormente.

Tabla 2*Estructuras químicas de los compuestos del estudio de Bohlmann*

Terpenos Acetilénicos Conjugados	tridec-1,11-dieno-3,5,7,9-tetraeno	
	heptadeceno-1,7,9,15-tetraeno-11,13-diino	
Triterpenos Lupanos	acetato de lupeol	

	ácido betulónico	
Sesquiterpenos Lactónicos Guianólicos	desacetil- zuurbergenin a	
	rupicolin A	

Nota: Compuestos presentes en el extracto etanólico de raíces de *Cacosmia rugosa*
Kunth Adaptado de: Neue guainolide aus *Cacosmia rugosa* (F. Bohlmann, 1985).

1.3 Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico es una herramienta importante para identificar metabolitos tipo primarios y metabolitos de tipo secundarios en muestras de especies vegetales, nos ayuda a tener una idea de su composición química. Estas técnicas permiten detectar metabolitos primarios importantes como lo son los carbohidratos, los lípidos y las proteínas, igualmente con metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides y terpenoides.

El tamizaje fitoquímico ha sido un foco de atención en la investigación farmacéutica y biológica (Sharapin, 2000) y mediante técnicas como la cromatografía y la espectroscopía, es posible separar y analizar los diferentes compuestos que mediante estas técnicas muestren que se encuentren presentes en los extractos vegetales (Sgariglia, Sober, Sampietro, & Vattuone, 2010).

En las técnicas de tamizaje, los errores más frecuentes son los falsos positivos y negativos. Por esta razón, es necesario purificar algunos extractos de manera rápida y sencilla para evitar interferencias y garantizar la precisión y reproducibilidad de los resultados del ensayo empleado (Miranda Martínez, 2012).

1.4 Metabolitos secundarios

La extracción que se realiza con solventes orgánicos permite obtener una amplia variedad de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, fenoles y terpenoides entre otros (Adolfo Ávalos García, 2009). Aproximadamente el 50% de los medicamentos que han sido estudiados en los últimos 30 años provienen directa o indirectamente de productos naturales por lo que destaca la gran necesidad de estudiar los metabolitos secundarios como fuente de estructuras activas innovadoras (Newman & Cragg, 2012). Estos metabolitos han demostrado poseer una amplia gama de actividades farmacológicas que incluyen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y anticancerígenas (Conrado Camacho-Campos, Yunel Pérez-Hernández, Aymara Valdivia-Ávila, Héctor L Ramírez-Pérez, Leissy Gómez-Brisuela, 2019).

1.4.1 Taninos

Los taninos son polímeros polifenólicos que las plantas producen como compuestos secundarios. Tienen la capacidad de formar complejos con proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas, desempeñando un papel defensivo en las plantas contra los insectos. (Surco Bellido, 2018).

1.4.2 Triterpenos y esteroides

Los triterpenos son compuestos orgánicos de la familia de los terpenoides que se componen de seis unidades de isopreno por lo que poseen una estructura de 30 átomos de carbono. (Huang, Wang, Wang, & Wang, 2024) Por otro lado los esteroides son un tipo de triterpenos que se distinguen de los demás por su estructura tetracíclica de anillos fusionados (Stark, Piotrowski, & Miller, 2023).

1.4.3 Alcaloides

Los alcaloides tienen estructuras químicas complejas que tienen al menos una molécula de nitrógeno y producen efectos fisiológicos en el cuerpo humano. Además, todos los alcaloides pueden reaccionar con ácidos para formar sales (Lasky, 2023).

1.5 Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina es una técnica analítica que facilita la separación rápida y sencilla de los componentes de una muestra. Se basa en la migración diferencial de los componentes a través de una capa delgada de adsorbente que generalmente está adherida a una superficie plana e inerte, esta técnica se fundamenta en el principio de adsorción entre dos fases donde la separación se realiza según los coeficientes de reparto de las moléculas que estén presentes en la muestra. (Corzo, 2019). La cromatografía en capa fina o TLC es una técnica que nos permite evaluar que tan puro está un compuesto, identificar y comparar los analitos de los compuestos. Así que esta técnica se convierte en una herramienta muy utilizada al momento del estudio fitoquímico por su sencillez y practicidad que facilitan su comprensión y aplicación, permitiendo realizar separaciones de manera rápida, versátil y económica. (Cazes, 2009)

1.6 Espectroscopía infrarroja

La espectroscopía infrarroja (IR) se encuentra entre la región visible y la región de microondas del espectro electromagnético, y promueve transiciones en una molécula entre niveles de rotación y vibración del estado fundamental de energía electrónica. Las unidades utilizadas para medir las posiciones de las bandas en la espectroscopia IR son el número de onda expresado en centímetros recíprocos, la longitud de onda medida en micrómetros y la frecuencia dada en segundos recíprocos. Los químicos orgánicos y analíticos están mayormente interesados en la porción muy limitada de la radiación IR, generalmente conocida como la región IR medio, que se encuentra entre 4000 y 650 cm^{-1} . (Alpert, Keiser, & Szymanski, 2012).

1.7 Cromatografía flash

La cromatografía flash se emplea para purificar y separar rápidamente compuestos químicos presentes en una muestra. En este procedimiento, la mezcla de compuestos se introduce en una columna cromatográfica y se desplaza a través de ella mediante un solvente a presión elevada. La separación de los compuestos se produce

debido a sus diferentes interacciones con la fase estacionaria (habitualmente sílice gel) y la fase móvil (solvente). (Michael , Boris , & Vitkuske, 2005). Los sistemas de cromatografía flash posibilitan la purificación ágil y sencilla de compuestos de interés. (Weber, Hamburger , Schafroth , & Potterat , 2011).

1.8 Resonancia magnética nuclear

La resonancia magnética nuclear (RMN) se destaca como una de las herramientas más eficaces disponibles en la actualidad para revelar las estructuras moleculares de compuestos orgánicos de ^1H . Esta técnica aprovecha las propiedades magnéticas inherentes de los núcleos, como su nombre sugiere (Laurella, 2017). Es un método de espectroscopia que examina cómo interactúa la materia con la energía, independientemente de su fuente de origen (Saucedo Yáñez & Waksman Minsky, 2019).

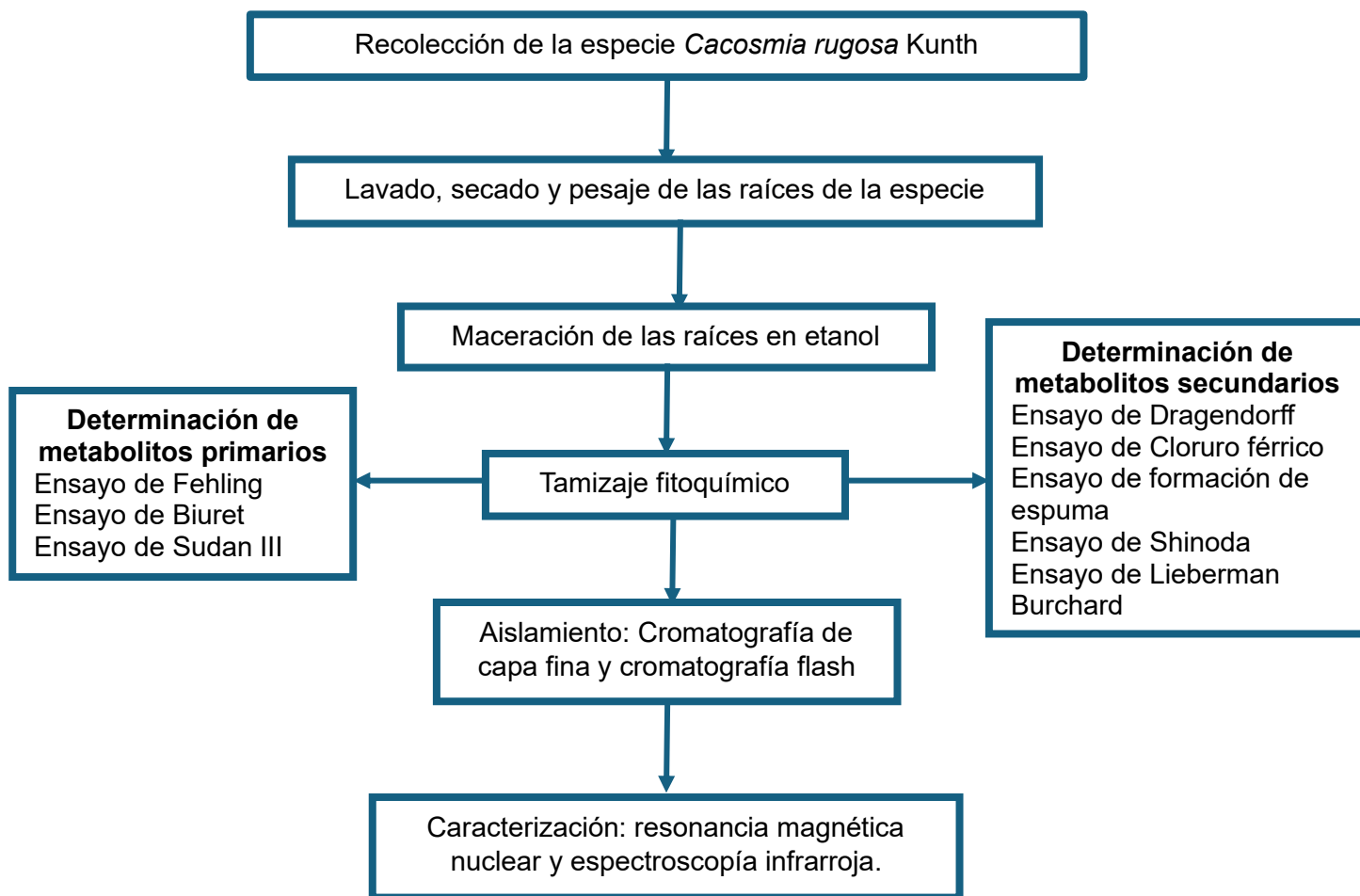
Capítulo Dos

Metodología

Para representar la metodología que se siguió en este trabajo de integración curricular en la Figura 2 se presenta su diagrama de flujo.

Figura 2

Diagrama de flujo de los métodos empleados en el TIC



2.1 Recolección de la especie *Cacosmia rugosa* Kunth

Se recolectaron 2 Kg de raíces de la especie *Cacosmia rugosa* Kunth en el sector Villonaco, aproximadamente a 2 km de la ciudad de Loja. La recolección se realizó a una altitud de 2100 m.s.n.m. Se utilizaron coordenadas obtenidas con un GPS Garmin Edge 530 (Taipei, Taiwán), que registró las siguientes coordenadas: 4°0'23.1"S, 79°15'24.8"W.

2.2 Lavado, secado y pesaje de las raíces de la especie

Las raíces recolectadas se lavaron para eliminar cualquier suciedad, luego se secaron en un secador de bandejas Lassele DY-330H (Shenzhen, China) para eliminar la humedad, y finalmente se trituraron y se pesaron para obtener su rendimiento inicial.

2.3 Maceración de las raíces en etanol

Los 1.2 kg de raíces trituradas obtenidas fueron sometidos a un proceso de maceración estática en etanol al 96% de pureza durante un período de 2 semanas. Este proceso se repitió tres veces, utilizando 7.8 L de etanol en cada ocasión, hasta que se observó que la maceración ya no extraía color. Posteriormente, el extracto fue filtrado al vacío mediante un embudo Büchner. Finalmente, con la ayuda de un rotaevaporador, modelo ROTAVAPOR® R II de BUCHI (Flawil, Suiza) se concentró este extracto.

2.4 Tamizaje fitoquímico

Se realizó el estudio fitoquímico del extracto de *Cacosmia rugosa* Kunth con el objetivo de determinar la presencia o ausencia de metabolitos primarios y secundarios, se siguió la metodología de (Mandal, Mandal, & Das, 2015); (Miranda & Cuéllar, 2001). Utilizando los procesos estándar señalados por dichos autores. Se disolvió 80 mg de extracto etanólico de raíces en 8 mL de metanol para obtener una muestra líquida del extracto. Los metabolitos primarios se evaluaron mediante los ensayos de Fehling, Biuret y Sudan III, mientras que los metabolitos secundarios se analizaron utilizando los ensayos de Dragendorff, Cloruro Férrico, Formación de Espuma, Shinoda y Lieberman Burchard. Para la identificación de estos metabolitos, se empleó un sistema de cruces, donde (+++) indica alta presencia, (++) media presencia, (+) baja presencia y (-) nula presencia.

2.4.1 Metabolitos Primarios:

Proteínas: Ensayo de Biuret. - Se mezcló 1 mL de la muestra con 1 mL de una solución de sulfato cúprico e hidróxido de sodio. Como control positivo se utilizó albúmina de huevo. Con la presencia de un color entre azul y violeta se consideraría un indicador de un resultado positivo.

Grasas: Ensayo de Sudan III. - Se mezcló 1 mL de la muestra con 1 mL de la solución de Sudan III, agitando vigorosamente. Se utilizó aceite vegetal como control positivo. La formación de una capa roja en la interfaz de la solución indicaría un resultado positivo en el control.

2.4.2 Metabolitos Secundarios:

Alcaloides: Ensayo de Dragendorff. - Se preparó una solución de 1mL de Dragendorff y se agregó a 1mL de la muestra, donde la aparición de manchas de color naranja a café indicaría un resultado positivo. Además, como control positivo se usó el alcaloide *Huperzia crassa*.

Taninos: Ensayo de Cloruro Férrico. - Se añadió 1 mL de solución de cloruro férrico a 1 mL de la muestra. Como control positivo, se utilizó vanilina. La formación de un precipitado azul-negro indicaría un resultado positivo.

Saponinas: Ensayo de Formación de Espuma. - Se mezcló 1 mL de la muestra con 1 mL de agua y se agitó vigorosamente durante 5 minutos. Como control positivo se utilizó papa pelada. La formación de espuma persistente se consideró un indicador de un control positivo.

Flavonoides: Ensayo de Shinoda. - Se añadió 1 mL de solución de cloruro de aluminio a 1 mL de la muestra. La aparición de un precipitado rojo, naranja o amarillo indicaría un resultado positivo. Como control positivo se utilizó Hesperidina de la marca Daflon 1000 mg.

Terpenos-Esteroides: Ensayo de Lieberman Burchard. - Se disolvieron 10 mg de extracto etanólico seco en 1 mL de cloroformo en un tubo de ensayo. Posteriormente, se añadió 1 mL de anhídrido acético y se homogenizó bien la mezcla. Después de enfriar la solución, se añadieron con cuidado, sin agitar, de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado a lo largo de la pared del tubo de ensayo. Se utilizó Argentatina B como control positivo. La prueba se considera positiva si se observan colores rosa, verde, azul o naranja.

2.5 Aislamiento: Cromatografía de capa fina y cromatografía flash

2.5.1 Cromatografía de capa fina

Se comenzó determinando la polaridad del extracto etanólico de *Cacosmia rugosa* Kunth, empleando placas de TLC en fases directa e inversa. Este extracto se demostró polar, ya que en la placa directa la fase estática se movilizó, mientras que en la fase inversa no se obtuvo ningún resultado.

Una vez establecida la polaridad del extracto etanólico, se realizaron diversas pruebas utilizando distintas fases móviles para identificar la más adecuada. Para esto, se cortaron placas de TLC de tipo directa con dimensiones de 5 cm x 1 cm. Utilizando un lápiz 2B, se marcaron los límites a 1 cm de la parte inferior y 0.5 cm de la parte superior. Además, se señaló un punto en el centro de la parte inferior de la placa, donde se depositaría el extracto etanólico utilizando un capilar.

El extracto etanólico de raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth se preparó disolviendo 50 mg del material en 5 ml de metanol en un vial. Se aplicaron tres alícuotas del extracto etanólico en el punto marcado previamente en la placa de TLC. Las placas se evaluaron en diferentes fases móviles hasta obtener un resultado visible bajo la lámpara UV, donde se observó la separación de los compuestos, caracterizada por la presencia de esferas semisimétricas.

2.5.2 Cromatografía flash

Después de identificar los posibles metabolitos presentes en las raíces, se llevó a cabo una cromatografía flash utilizando una serie de solventes con diversas polaridades. Se probaron varios solventes hasta que se seleccionaron finalmente hexano, acetato de etilo y metanol, en los cuales se pudo observar el arrastre de los compuestos de interés.

2.6 Caracterización de metabolitos secundarios

Para la caracterización de los metabolitos secundarios se emplearon técnicas como: espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR) de ^1H y espectroscopía infrarroja.

2.6.1 Espectroscopia infrarroja

Para analizar el extracto de raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth, se utilizó el Espectrómetro FT-IR Nicolet™ iS™ 10 (Massachusetts, Estados Unidos). Primero, se precalentó el equipo durante 20 minutos y se realizó una prueba en blanco para evitar interferencias.

Para analizar la muestra, se colocaron 2 mg del extracto etanólico sobre la lente del espectrómetro, asegurándose de que toda el área estuviera cubierta. Tras el análisis infrarrojo de la muestra, se retiró el extracto, se limpió la lente y guardaron los datos. Estos datos se analizaron posteriormente con el software Spectragryph 1.2 - Spectroscopy para comparar los picos obtenidos con los datos registrados en el software.

2.6.2 Cromatografía flash

Para el ensayo de cromatografía flash se utilizó el equipo Reveris Automated Prep de la marca Büchi (Flawil, Suiza). Se pesaron 15 g del extracto etanólico de raíces, los cuales fueron disueltos en 10 ml de metanol y mezclados con 15 g de sílica gel 60 de la marca Merck KGaA, (Darmstadt, Germany) de fase directa, con un tamaño de partícula de 0,015-0,40 mm. Para que exista una mejor separación en la cromatografía flash se usó una columna de 120 cm de altura. Una vez establecido el método con las siguientes condiciones: flujo de 10 mL/min y detección a longitudes de onda de 254 nm, 300 nm y 365 nm, el gradiente de elución fue el siguiente: se comenzó con un 100% de hexano por 3 minutos. Luego de 93 minutos se alcanzó un 40 % de hexano y 60% de acetato de etilo, en 54 minutos más, se llegó al 100% de acetato de etilo. A los 72 minutos, se alcanzó un 20% de acetato de etilo y 80% de metanol, y después de 30 minutos, se llegó al 100% de metanol que se mantuvo por 45 minutos.

Se procedió a la recolección y análisis de cada separación obtenida. Los resultados fueron evaluados para determinar la polaridad de cada una de las muestras la cual se realizó cromatografía en capa fina para identificar el perfil cromatográfico de

cada separación. Luego de analizar los resultados de las separaciones con características similares se procedió a combinarlos. Este proceso de unificación se basó en la comparación visual de las migraciones de los compuestos, asegurando que las fracciones reunidas tuvieran una composición comparable. Finalmente, las fracciones obtenidas se almacenaron en viales para su posterior análisis.

2.6.3 Resonancia magnética nuclear

Se utilizó el equipo Magnet System 500'54 Ascend ULH, serie MSC 10201 de BRUKER (Faellanden, Suiza), equipado con un campo magnético de 500 MHz, para realizar la lectura de las señales emitidas por los protones presentes en las fracciones aisladas de raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth. Debido a la limitada cantidad de muestra disponible, solo se realizó el análisis de resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN). Las muestras se disolvieron en CD_3OD , en un volumen entre 0,7 y 1 ml. Tras obtener los resultados de este análisis, los datos fueron procesados mediante el software Topspin 4.4.1 de Bruker BioSpin (Rheinstetten, Alemania).

Capítulo Tres

Resultados

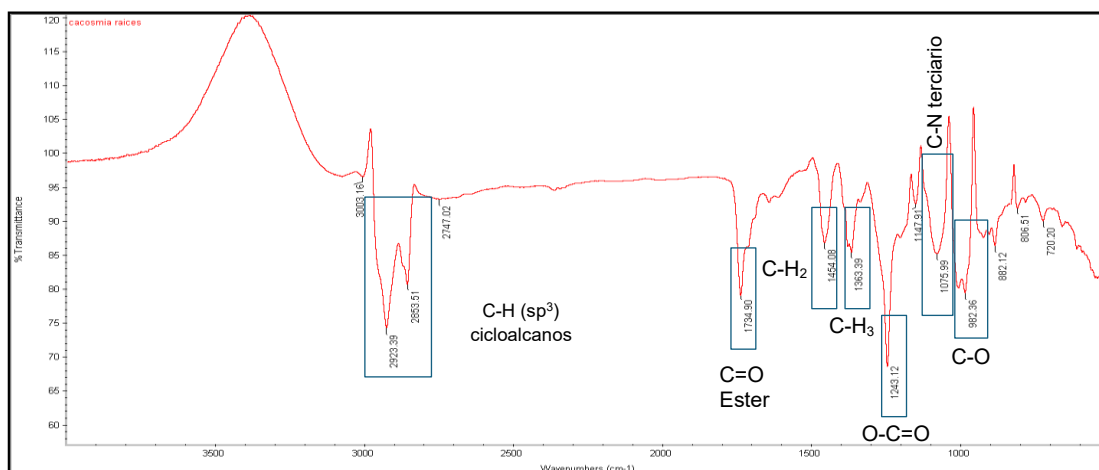
Partiendo del objetivo de aislar y caracterizar al menos un metabolito secundario presentes en el extracto etanólico de raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth y siguiendo la metodología antes mencionada se presentan a continuación los resultados obtenidos.

A partir de los 2 kg de raíces recolectadas, se determinó un rendimiento del 1% en la extracción etanólica, un valor considerablemente más bajo en comparación con el 22.6% reportado para la planta *Microliabum polymnioides* que pertenece a la tribu Liabeae al igual que *Cacosmia rugosa* Kunth (Oscar J. Díaz, Roberto Gil, Lázaro J. Novara, Virginia E. Sosa, Juana R. de la Fuente, 2004), la cual utilizaron la misma cantidad de material vegetal, el mismo solvente para macerar y el medio de maceración no tuvo agitación. A pesar de esto, la diferencia en los rendimientos podría atribuirse a la variabilidad entre las especies vegetales.

El extracto fue caracterizado mediante espectroscopía infrarroja IR para identificar los grupos funcionales predominantes. Como se puede observar en la Figura 3, el espectro muestra bandas características correspondientes a grupos funcionales como esterres, alquilos y aminas, de las bandas características de los esterres hay la tensión del oxígeno con el carbono carbonílico O-C=O que se dio a una señal de 1238.12 cm^{-1} y la banda de tensión del oxígeno con el otro carbono C-O se dio a una señal de 982.26 cm^{-1} , de los alquilos hubo 3 tipos de bandas, primero la tensión de los enlaces C-H sp^3 se dio en un rango de numero de onda de 2923.39 cm^{-1} a 2853.51 cm^{-1} , la banda es ancha la cual muestra que los enlaces C-H son de cicloalcanos, la flexión de los enlaces C-H₂ de metilenos dio aparición la señal en 1454.08 cm^{-1} y los enlaces C-H₃ de metilos su señal de flexión simétrica se dio por los 1363.39 cm^{-1} , por último la tensión del enlace C-N de una amina terciaria debido a la ausencia de la banda H-N se dio a un numero de onda de 1075.99 cm^{-1} .

Figura 3

Espectro de infrarrojos de extracto etanólico de Cacosmia rugosa Kunth



Nota: Se pueden identificar varios grupos funcionales, lo que concuerda con el tamizaje fitoquímico.

Los resultados obtenidos en el infrarrojo se pueden corroborar junto con los resultados del tamizaje fitoquímico como se muestra en la tabla 3, la cual sirvió para la detección de metabolitos secundario. El grupo funcional ester son característicos de los taninos y de carbohidratos. Además, en el IR se observaron bandas asociadas con CH, CH₂, CH₃ que aparecen en anillos como terpenos y esteroides. También se detectó una banda correspondiente a C-N de tipo terciario que son típicos en los alcaloides.

Tabla 3

Perfil fitoquímico del extracto etanólico

Grupo Fitoquímico Determinado	Resultado
Metabolitos Primarios	
Grasas	-
Proteínas	-
Carbohidratos	+++
Metabolitos Secundarios	
Saponinas	-
Flavonoides	-
Taninos condensados	++
Terpenos esteroides	+
Alcaloides	+

Nota: alta presencia: +++; media presencia: ++; baja presencia:

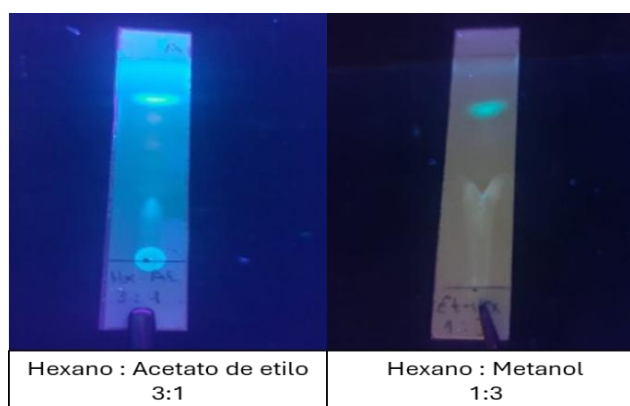
+; nula presencia: -.

El tamizaje fitoquímico de los metabolitos primarios reveló una alta presencia de carbohidratos, la cual puede provenir de compuestos glicosilados, mientras que no se detectó presencia de grasas ni proteínas. En cuanto a los metabolitos secundarios, no se detectó la presencia de saponinas y flavonoides, mientras que se observó una moderada presencia de triterpenos, esteroides y alcaloides, por último, se evidenció una abundante presencia de taninos condensados.

En las pruebas preliminares realizadas con cromatografía en capa fina, se observó la separación de los compuestos presentes en el extracto, utilizando distintos solventes como hexano, acetato de etilo y metanol. Estas separaciones iniciales permitieron establecer perfiles cromatográficos diferenciados. indicados en la figura 4 que sirvieron como base para determinar las polaridades de los compuestos presentes.

Figura 4

Resultados de perfiles cromatográficos Cacosmia rugosa Kunth

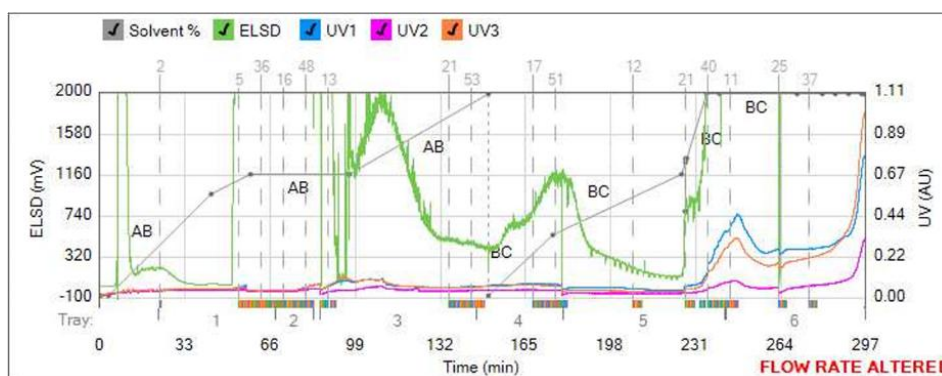


Nota: Se usaron placas directas para identificación de estas polaridades.

Para la separación del extracto, se utilizó el equipo Reveleris X2 Automated Prep Büchi (Flawil, Suiza), empleando los mismos solventes previamente seleccionados en la Tabla 4. lo cual los solventes fueron previamente purificados mediante destilación para minimizar cualquier interferencia en las lecturas. Este proceso permitió obtener un total de 347 separaciones, las cuales fueron recolectadas de manera separada según las señales detectadas por el equipo como se puede ver en la Figura 5.

Figura 5

Espectro de cromatografía flash del extracto etanólico de Cacosmia rugosa Kunth



Nota: Las líneas representan la absorción UV-Vis de los compuestos detectados, indicando su concentración relativa y el tiempo de elución.

De estas separaciones, las cuales fueron cuidadosamente analizadas mediante cromatografía en capa fina para identificar similitudes entre las separaciones y proceder a su agrupamiento. La unión de las separaciones permitió obtener 47 fracciones, lo que facilitó su caracterización posterior. En la Tabla 4, se observan las fracciones seleccionadas y su correspondiente apariencia.

Tabla 4

Resultados de los fraccionamientos

Fracciones			
Nro. de separaciones	Fracción	Peso (mg)	Apariencia
5 - 11	1	66.2	Goma viscosa amarillo brillante
12 - 16	2	54.0	Sólido granulado poco viscoso amarillento
17 - 26	3	176.2	Goma viscosa verdosa amarillenta
27 - 29	4	83.1	Goma viscosa verde oscuro
30 - 44	5	915.7	Goma granulada muy viscosa verde oscuro
45 - 84	6	968.6	Goma granulada muy viscosa verde oscuro
85 - 105	7	263.8	Sólido granulado verde opaco
106 - 110	8	69.2	Sólido granulado verde amarillento
111 - 114	9	30.4	Sólido seco amarillento opaco
115 - 119	10	81.2	Sólido seco granulado amarillento opaco
120	11	32.5	Sólido seco granulado amarillento opaco
121 - 127	12	75.5	Sólido seco granulado blanco amarillento opaco
128	13	3.5	Sólido seco granulado amarillo pálido
129	14	16.9	Sólido seco marrón pálido
130	15	8.5	Sólido seco amarillo pálido
131	16	8.2	Sólido seco blanco - marrón (cristalino)
132	17	4.5	Sólido seco blanco (cristalino)

133	18	2.9	Sólido seco blanco - marrón (cristalino)
134	19	0.5	Sólido seco blanco - marrón (cristalino)
135	20	12.9	Sólido granulado seco blanco amarillento opaco
136	21	17.2	Sólido granulado seco blanco amarillento opaco
137	22	6.0	Sólido granulado seco blanco - marrón
138	23	4.6	Sólido granulado seco blanco - marrón
139	24	16.0	Sólido seco amarillo pálido
140	25	1.1	Sin apariencia visible
141	26	5.4	Sólido seco blanco - marrón
142	27	0.9	Sólido seco granulado amarillo opaco
143	28	1.2	Sólido seco amarillo
144	29	1.0	Sólido seco amarillo brillante
145 - 155	30	79.8	Sólido viscoso amarillo dorado
156 - 166	31	81.2	Sólido viscoso amarillo dorado
167 - 187	32	33.3	Sólido viscoso marrón dorado
188 - 197	33	7.6	Sólido viscoso marrón dorado
198 - 224	34	43.9	Sólido viscoso marrón dorado
225 - 239	35	17.3	Sólido viscoso marrón dorado
240 - 250	36	9.1	Sólido viscoso verde amarillento
251	37	0.1	Sólido viscoso marrón dorado
252 - 261	38	3.2	Goma ligera amarilla
262- 271	39	6.4	Sólido fino amarillo pálido
272	40	0.1	Sólido fino blanco
273 - 278	41	5.7	Sólido fino amarillo claro
279	42	0.6	Sólido fino blanco
280 - 292	43	47.2	Sólido granulado café amarillento
293 - 325	44	301.6	Sólido pastoso café anaranjado
326	45	12.9	Sólido viscoso amarillo y café
327 - 338	46	75.4	Goma viscosa amarillo café
339 - 347	47	198.3	Goma viscosa amarillo café

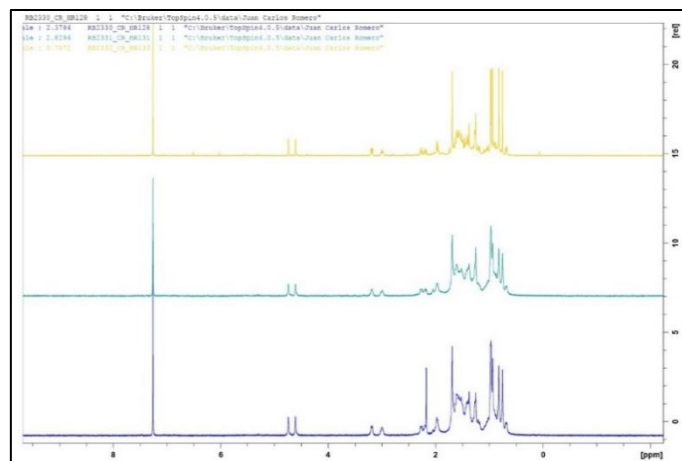
Nota: Las separaciones fueron unidas tras observar similitudes en los resultados obtenidos mediante cromatografía en capa fina. Las fracciones en negrita son las fracciones estudiadas.

Se prestó especial atención a las fracciones entre la 13 y la 29, ya que se observó la presencia de cristales. Se tomaron tres de estas fracciones, las que tenían más presencia de cristal de ese grupo de fracciones y se tomó la parte cristalina cuidadosamente para posteriormente hacer análisis de protón ^1H mediante resonancia magnética nuclear. Las fracciones tomadas fueron las fracciones 13, 16 y 18. El objetivo era determinar si correspondían al mismo compuesto. En la Figura 6 se presentan los espectros obtenidos en el análisis y en la Tabla 6 se muestra las integrales y desplazamientos de cada pico de las tres fracciones.

Figura 6

Resultados obtenidos del RMN de ^1H de las fracciones

18, 16 y 13



Nota: Se representan las fracciones 18, 16 y 13 respectivamente. El espectro de color amarillo de la fracción 18 es el más puro de los otros espectros.

Tabla 5

Resultados de los desplazamientos

Fracción	δ [ppm]	\int	Multiplicidad	J [Hz]
Fracción 13	4.74	1.33	s	-
	4.61	1.37	s	-
	3.19	1.54	d	10.08
	3	0.98	s	-
	2.27	1.75	d	12.6
	2.2	0.88	s	-
	2.17	2.24	s	-
	1.97	2.08	s	-
	1.69	6.92	s	-
	1.4	9.86	d	22.38
	1.26	5.14	d	7.14
	1.19	2.99	d	13.46
0.96	16.05	m	-	
Fracción 16	4.74	1.3	s	-
	4.61	1.36	s	-
	3.19	1.19	s	-
	3	0.96	s	-
	2.27	1.86	d	12.06
	2.18	1.86	d	12.97
	1.97	2.22	s	-

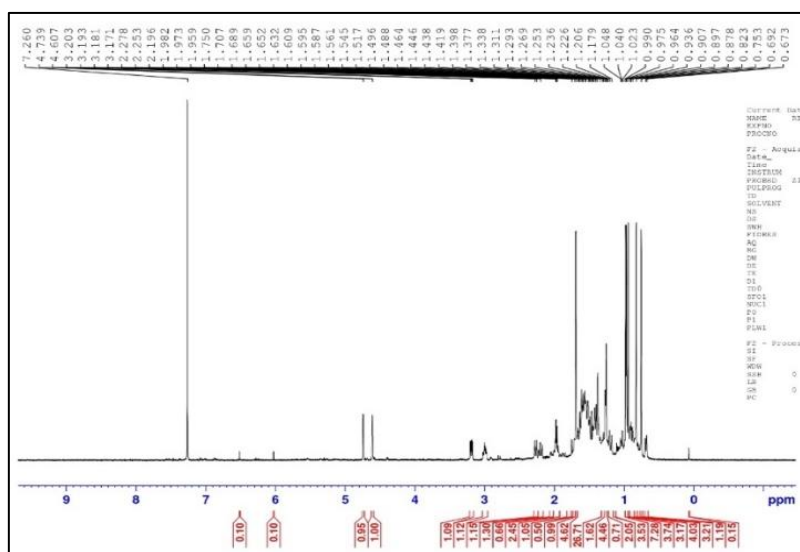
	1.39	8.19	m	-
	1.25	5.77	s	-
	0.95	16.79	d	16.96
	0.82	5.83	s	-
	0.75	4.95	s	-
	0.68	1.74	s	-
	4.74	0.86	d	2.22
	4.61	0.88	s	-
	3.19	0.97	dd	4.87. 11.43
	2.27	0.97	d	12.84
Fracción 18	2.2	1.2	td	3.36. 12.15. 12.36
	1.98	2.26	m	-
	1.65	11.75	d	40.1
	1.43	14.22	m	-
	1.26	5.88	d	7.95
	1.19	1.37	d	13.66
	1.04	1.67	m	-
	0.95	12.78	m	-

Nota: Son los desplazamientos químicos. integrales. la clase de pico y las constantes de acoplamiento de cada fracción. singlete: s; doblete: d; triplete: t; multiplete: m

Los espectros de RMN mostraron que se trata de los mismos compuestos. Sin embargo, debido a que en el análisis anterior no se realizó una purificación adecuada, los compuestos aparecieron con ciertas diferencias. En la Figura 7 se presenta el espectro de la fracción 18, la más pura obtenida para su análisis detallado.

Figura 7

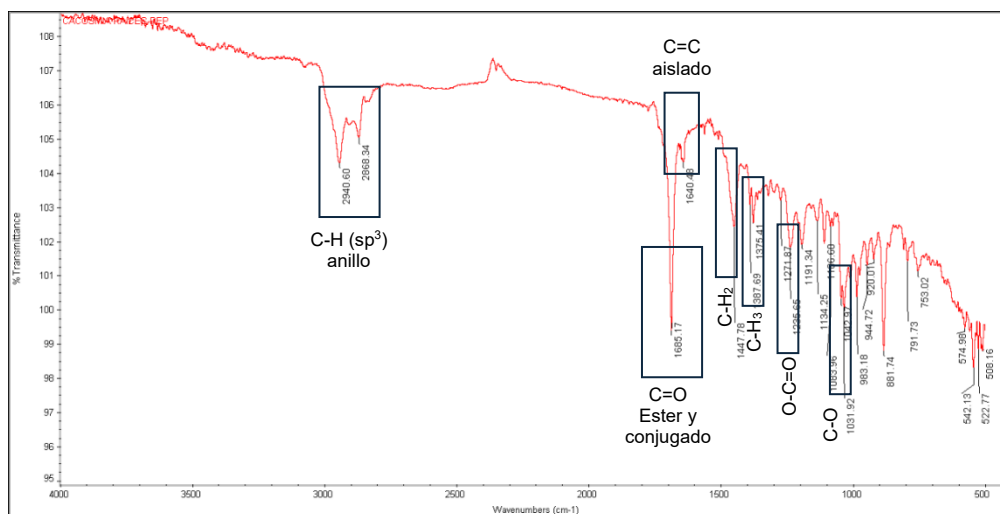
Espectro de RMN ¹H de la fracción 18.



Nota: La fracción fue disuelta en CD₃OD.

Figura 8

Espectro de IR de la Fracción 18.



Nota: El análisis se realizó con la fracción en seco.

El espectro de IR de la fracción 18 se muestra en la Figura 8. se puede ver la presencia de grupo carbonilo perteneciente a un ester y también presenta conjugación ya que para ambos casos aparece a una señal de tensión a los 1685.17 cm⁻¹. la señal del enlace O-C=O se da a 1271.87 cm⁻¹. la señal de la vibración C-O se da a los 1031.92 cm⁻¹. también se observa la presencia de enlaces C-H₂ a una señal de 1447.78 cm⁻¹ y de enlaces C-H₃ de metilos a una señal de 1387.69 cm⁻¹. enlaces C=C de tipo aislado sale a una señal de 1640.68 cm⁻¹ y esta tetrasustituido por la cual no salen señales C=C-H y los enlaces C-H enlazados a carbonos de tipo sp³ presentados en la señal de 2940.6 cm⁻¹.

En el espectro de RMN de ¹H mostrado en la figura 7. la señal a un desplazamiento químico de 7.26 ppm es corresponde al solvente usado CD₃OD. 6.51ppm y 6.02 ppm son señales de impurezas mínimas. De 4.76 a 4.61 ppm se muestra protones de esteres -O-C-H₂. en el rango de desplazamiento químico de 3 a 3.19 ppm se registran señales que indican la posible presencia de protones enlazados a un grupo metoxilo. de 2.27 a 2.2 ppm se observa señales de protones alfa con respecto al carbonilo. del rango de 1.98 a 1.43 ppm se registran señales que indican protones alilicos. en el en rango de 1.26 ppm a 1.19 ppm se da presencia hidrógenos del enlace

C-H₂ y por último en el rango de 1.04 ppm a 0.95 ppm hay señales de hidrógenos de grupo metilo.

En la siguiente Tabla 7 se muestra los resultados de los desplazamientos químicos y multiplicidades de las señales registradas para la molécula identificada como (3aR.8aS.9aR)-5.8a-dimetil-3-metilen-3a.8a.9.9a-tetrahidronafto[2.3-b]furan-2.6(3H.4H)-diona (Jakupovic, J., Schuster, A., Bohlmann, F., & Dillon, M. O., 1988) el espectro muestra señales parecidas a los compuestos tipo sesquiterpenos lactónicos. la cual se puede tener una idea que lo aislado puede tener una estructura de 2 anillos ciclohexano unido y un ciclopentano la cual tiene el grupo lactona. la cual muestra las señales de cómo se solapan los protones unos con otros.

Tabla 6

Comparación de la molécula de la fracción 18 con los desplazamientos más parecidos obtenidos de la molécula de referencia.

δ (ppm)	m	δ (ppm) referencia	m
4.74	s	-	-
4.61	s	4.51	d
3.19	dd	2.81	dd
3	td	2.50	m
2.27	d	2.49	dd
2.2	td	2.07	dd
1.98	m	1.96	dd
1.65	d	1.60	dd
1.43	m	1.33	s
1.26	d	1.32	d
1.19	d	1.02	s
1.04	m	0.94	ddd
0.95	m	0.81	ddd

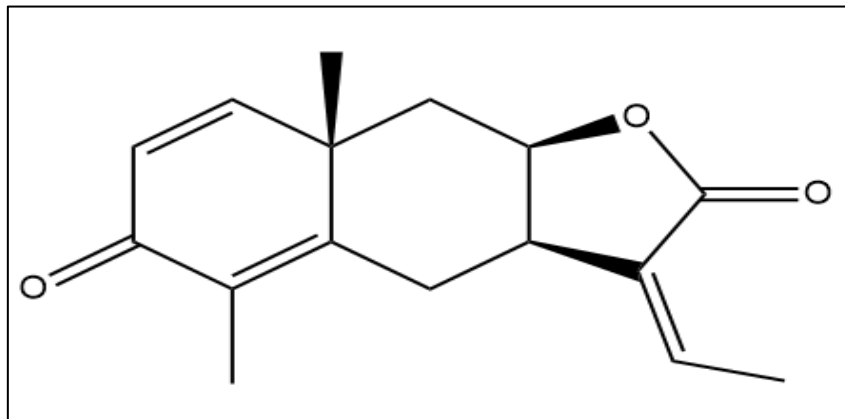
Nota: Se analizo los desplazamientos más cercanos a la molécula referencia (3aR.8aS.9aR)-5.8a-dimetil-3-metilen-3a.8a.9.9a-tetrahidronafto [2.3-b] furan-2.6(3H.4H)-diona.

La molécula tomada de referencia (3aR.8aS.9aR)-5.8a-dimetil-3-metilen-3a.8a.9.9a-tetrahidronafto[2.3-b]furan-2.6(3H.4H)-diona como se muestra en la Figura 9 es la que más se acerca a los desplazamientos químicos obtenidos

experimentalmente. la cual la estructura de la molécula asilada seria del grupo de los sesquiterpenos lactónicos.

Figura 9

Estructura química de la molécula de referencia utilizada en el estudio



Nota: La molécula referencia corresponde a (3aR,8aS,9aR)-5,8a-dimetil-3-metilen-3a,8a,9,9a-tetrahidronafto[2.3-b]furan-2,6(3H,4H)-diona fue tomado de (Jakupovic, J., Schuster, A., Bohlmann, F., & Dillon, M. O., 1988).

Conclusiones

De los 2Kg de las raíces de *Cacosmia rugosa* Kunth que se obtuvo 20 gramos de extracto etanólico de mediante maceración estática. Sin embargo, el rendimiento fue bajo ya que se obtuvo solo un 1%. lo cual se puede atribuir a la especie y la cantidad de material vegetal que se recolectó.

El tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de las raíces mostró una presencia alta en taninos condensados, terpenos y alcaloides, y una menor cantidad de terpenos y esteroides.

Para el aislamiento de metabolitos secundarios se realizaron separaciones cromatográficas. Primero con la cromatografía en capa fina se permitió identificar que la separación se da mejor con los solventes de hexano, acetato de etilo y metanol. Mientras que en la cromatografía flash se obtuvieron 347 separaciones, tras su análisis individual por cromatografía en capa fina se obtuvo 47 fracciones, de las cuales se le prestó mayor atención a 3 las fracciones 13, 16 y 18 por su notable presencia de cristales.

Por último, para la caracterización de metabolitos secundarios se realizó el análisis de resonancia magnética nuclear (RMN ^1H) estas tres fracciones mostraron cristales, se identificó el mismo compuesto en las tres, siendo la fracción 18 la más pura. Se realizó el análisis de IR de esta fracción la cual reveló la presencia de grupos funcionales característicos de ésteres, enlaces CH_2 , CH_3 y $\text{C}=\text{C}$.

La comparación del espectro de RMN con la molécula de referencia (3aR,8aS,9aR)-5,8a-dimetil-3-metilen-3a,8a,9,9a-tetrahidronafto[2,3b]furan-2,6(3H,4H)-diona, sugiere que el compuesto aislado pertenece al grupo de los sesquiterpenos lactónicos con una posible estructura de dos anillos ciclohexano unidos y un ciclopentano con un grupo lactona, aunque se requieren estudios adicionales para confirmar la estructura completa.

Recomendaciones

Para identificar completamente la estructura de los compuestos aislados que puedan ser identificados, incluyendo el sesquiterpeno lactónico identificado, se aconseja realizar análisis avanzados de espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de carbono-13 (^{13}C RMN). Para esto se recomienda aumentar la cantidad de material vegetal (raíces) recolectado para obtener una mayor cantidad del extracto.

Referencias

- Adolfo Ávalos García, E. P.-U. (2009). *Metabolismo secundario de plantas* (2 ed., Vol. 2). (F. d. Complutense, Ed.) Madrid, España: revistareduca. Recuperado el 5 de abril de 2024, de Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid:
<https://www.revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798/814>
- Alfonso Susanna, B. G.-J. (16 de Julio de 2020). The classification of the Compositae: A tribute to Vicki Ann Funk (1947–2019). *Taxon*, 69(4), 807-814.
 doi:<https://doi.org/10.1002/tax.12235>
- Alpert, N., Keiser, W., & Szymanski, H. (2012). *IR: Theory and Practice of Infrared Spectroscopy*. Springer Science & Business Media. Obtenido de
https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=DJXuBwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=IR-Theory+and+Practice+of+Infrared+Spectroscopy&ots=NVQWUt4J_U&sig=3pNxnEUbOegCOW8E23T2mp45eZA#v=onepage&q=IR-Theory%20and%20Practice%20of%20Infrared%20Spectroscopy&f=false
- Cazes, J. (2009). *Encyclopedia of chromatography*. CRC Press. Obtenido de
https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=KWG1DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=P1&dq=related:4DRsGvZNeh8J:scholar.google.com/&ots=1pWloZ3RIX&sig=Aff_RRQwJ6Hsnz67BadBEWIZCt9s#v=onepage&q&f=false
- Conrado Camacho-Campos, Yunel Pérez-Hernández, Aymara Valdivia-Ávila, Héctor L. Ramírez-Pérez, Leissy Gómez-Brisuela. (13 de enero de 2019). Propiedades fitoquímicas y antibacterianas de extractos de *Tagetes erecta* L. (Asteraceae). *Revista Cubana de Química*, 31(1), 53-64. Obtenido de
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000100053&lng=es&tlng=es.
- Corzo, A. (2019). *Técnicas de análisis en química orgánica: cromatografía*. Universidad Nacional de Santiago del Estero UNSE. Obtenido de

<https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>

Diego G. Gutiérrez, N. G.-J. (17 de Febrero de 2020). Morphological and molecular analyses of South American *Microliabum* (Compositae, Liabeae, Paranepheliinae) and reinstatement of *Austroliabum*. (M. v. Balthazar, Ed.) *Taxon*, 68(6), 1219-1257. doi: <https://doi.org/10.1002/tax.12182>

F. Bohlmann, C. Z. (1985). *Thiophene and Its Derivatives, Volume 44, Part 1* (Vol. 44). (S. Gronowitz, Ed.) Lund, Suecia: Library of congress. Recuperado el 5 de abril de 2024, de <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=XNdxQI1tTD8C&oi=fnd&pg=PA261&dq=Naturally+Occurring+Thiophenes+F.+Bohlmann,+C.+Zdero&ots=qJHMT h- byn&sig=qC2m21UGDRISSTiLzoHbWiohckKw#v=onepage&q=Naturally%20Occurring%20Thiophenes%20F.%20Bohlmann%2C%20C.%20Zdero&>

Ferdinand Bohlmann a, K.-H. K. (11 de Mayo de 2001). Neue guaianolide aus *Cacosmia rugosa*. (K.-H. K. Ferdinand Bohlmann a, Ed.) *Phytochemistry*, 19(4), 599-602. doi:[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)87023-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)87023-3)

Huang, L., Wang, Z., Wang, F., & Wang, S. (05 de Abril de 2024). Triterpenoids from the Leaves of *Diospyros digyna* and Their PTP1B Inhibitory Activity. *Molecules*. Recuperado el 19 de Mayo de 2024, de <https://research.ebsco.com/c/5x7ctu/viewer/html/32hi2d4o35>

Jakupovic, J., Schuster, A., Bohlmann, F., & Dillon, M. O. (1988). Lumiyomogin, ferreyrantholide, fruticolide and other sesquiterpene lactones from *Ferreyranthus fruticosus*. *Phytochemistry*, 1113-1120. doi:[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80285-1](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80285-1)

Lasky, J. (2023). Alkaloid. *Salem Press Encyclopedia of Science*. Obtenido de <https://research.ebsco.com/c/5x7ctu/viewer/html/a77ja6awvb>

- Laurella, S. L. (2017). *Resonancia magnética nuclear*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Obtenido de https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/62803/Documento_completo_._.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- M Ríos, M. K. (2007). *Plantas útiles del Ecuador: aplicaciones, retos y perspectivas/Useful plants of Ecuador: Applications, challenges, and perspectives. [version PDF]* (1 ed., Vol. 1). (M. K. M Ríos, Ed.) Quito, Ecuador: Abya-Yala. Recuperado el 5 de abril de 2024, de <https://www.plantasutilesdeltropico.com/wp-content/uploads/2015/09/USEFUL-PLANTS-OF-ECUADOR1.pdf>
- Mandal, S., Mandal, V., & Das, A. K. (2015). *Essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications*. Academic press. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/book/9780128023259/essentials-of-botanical-extraction#book-description>
- Michael , Y., Boris , P., & Vitkuske, D. (2005). Aplicación de cromatografía "flash" para la purificación de compuestos sintéticos. *Reporter*, 10-11. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3116021>
- Miranda , M., & Cuéllar, A. (2001). *Farmacognosia y productos naturales* (Vol. 141). Félix Varela.
- Miranda Martínez, M. (2012). *Farmacognosia y productos naturales*. Editorial Félix Varela. Recuperado el 19 de Mayo de 2024
- Newman, D., & Cragg, G. (2012). Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of natural products*. doi:<https://doi.org/10.1021/np200906s>
- Oscar J. Díaz, Roberto Gil, Lázaro J. Novara, Virginia E. Sosa, Juana R. de la Fuente. (Septiembre de 2004). Terpenoids from *Microliabum polymnioides* .

Phytochemistry, Vol. 15 Núm. 1 (2019), 2557-2560.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.08.009>

- Robert, M. L., Reyes, J., & Loyola, V. (1984). *Biosíntesis y bioconversión de metabolitos secundarios por células in vitro*, Cap 9 [version pdf] (1 ed., Vol. 1). (CONACYT, Ed.) Yucatan, Mexico: CONACYT. Recuperado el 5 de abril de 2024, de https://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Cultivo%20de%20Tejidos%20en%20la%20Agricultura/capitulo9_parte1.pdf
- Saucedo Yáñez, A., & Waksman Minsky, N. (2019). Breve historia de la Resonancia Magnética Nuclear: desde el descubrimiento hasta la aplicación en imagenología. 10. doi:<https://doi.org/10.22201/fq.18708404e.2019.2.68418>
- Sgariglia, M. A., Sober, J. R., Sampietro, D. A., & Vattuone, M. A. (1 de Mayo de 2010). Cromatografía: Conceptos y aplicaciones. (U. N. Tucumán, Ed.) *Arakuku*, 1(1), 46 - 48. doi:<http://dx.doi.org/www.csnat.unt.edu.ar/academica/publicaciones/revista%E2%80%9090arakuku>
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos* (1 ed., Vol. 1). (R. Pinzon, Ed.) Bogota: Convenio Andres Bello. Recuperado el 5 de abril de 2024, de https://books.google.com.ec/books?id=XH2HzSIJPywC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Stark, S., Piotrowski, N., & Miller, R. (2023). Steroids. *Salem Press Encyclopedia of Science*. Obtenido de <https://research.ebsco.com/c/5x7ctu/viewer/html/k2qc64ojiv>
- Surco Bellido, H. (2018). *Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Pernettya prostrata(Cav.) DC. "macha macha", Ayacucho 2018*. (U. N. Huamanga, Ed.) Recuperado el 19 de Mayo de 2024, de

<https://repositorio.unsch.edu.pe>:

<http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4210>

Weber, P., Hamburger , M., Schafroth , N., & Potterat , O. (2011). Flash chromatography on cartridges for the separation of plant extracts: Rules for the selection of chromatographic conditions and comparison with medium pressure liquid chromatography. *82*(2), 93-292.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.08.013>