Universidad de los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Laboratorio de Productos Naturales

"ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA CORTEZA DE *POLYLEPIS SERICEA* WEDD. (ROSACEAE: SANGUISORBEAE)"

www.bdigital.ula.ve

Trabajo Especial de Grado de la Licenciatura en Química.

Br. Dannys Robert Contreras Paredes.
Tutor: Dr. Carmelo Rosquete Porcar.

MÉRIDA – VENEZUELA
NOVIEMBRE, 2022

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

AGRADECIMIENTOS.

- A mi madre Soraida Paredes por su paciencia y apoyo incondicional brindado durante todos estos años de mi vida, este logro te lo dedico.

- A mi padre Usmairo Contreras y a mis hermanos Sujhei, Shely, Segundo y Carlos por su apoyo durante todo este tiempo este logro se los dedico a ustedes.

- A mi esposa Andrea Rojas por su apoyo incondicional durante estos años.

- A mis abuelos que con su ayuda en muchos sentidos siempre estuvieron ahí, en todo momento, preocupados siempre por mi bienestar a pesar de todo motivándome a seguir adelante.

- De manera especial al Dr. Carmelo Rosquete Porcar quien aceptó ser mi tutor y compartir sus conocimientos durante la supervisión del trabajo.

www.bdigital.ula.ve

- Al Laboratorio de Productos Naturales de la facultad de Ciencias de la Universidad de Los Andes, por prestar sus instalaciones para la realización de este trabajo.

- A mi Alma Mater, la ilustre Universidad de Los Andes y los profesores que me impartieron el conocimiento necesario para avanzar en la carrera y realizar este trabajo.

- A mis profesores jurados el Dr. Francisco López y el Dr. Carlos Rondón por supervisar este trabajo.

- Al personal de los diferentes Laboratorios en especial a la técnico Iris Santos por siempre estar ahí, apoyándome.

Gracias.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

RESUMEN.

En este Trabajo Especial de Grado se plasma una revisión bibliográfica exhaustiva del género *Polylepis*, enfatizando en la especie *Polylepis sericea* Wedd. Esta revisión fue enfocada en lo referente a la Botánica, Fitoquímica, Etnomedicina y Farmacología. En la parte experimental se describe el estudio fitoquímico del extracto de metanol de la corteza de *P. serícea*, señalando las diferentes técnicas que permitieron la separación y purificación de los compuestos. De las partes aéreas de *P. sericea* fueron aislados el ácido 3-acetilursólico (CRDC-03) y ácido ursólico (CRDC-01). Las estructuras de los compuestos mencionados fueron establecidas por el análisis detallado de estudios espectroscópicos, incluyendo experimentos uni- y bi-dimensionales de RMN, lo cual permitió la asignación completa e inequívoca de los desplazamientos químicos de las señales de protones (^{1}H) y carbonos (^{13}C) en los espectros de los compuestos.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

ABSTRACT.

One comprehensive literature review of the genus *Polylepis* and the specie *Polylepis sericea* Wedd. are reflected in this monography focused in relation to botanic, phytochemical, ethnomedical, and pharmacological aspects. The experimental section describes the phytochemical study of *P. sericea* Wedd. Of the methanolic extract of Cortex, pointing the techniques that allowed the separation and purification of compounds. From aereal part of *P. sericea* Wedd. have been isolated the 3-acetyl-ursolic acid (CRDC-03) and ursolic acid (CRDC-01). The structures of these compounds were established by the detailed analysis of spectroscopic data, including 1D- and 2D-NMR experiments, which allowed the complete and unambiguous chemicals shifts assignments for both, hydrogen (^{1}H) and carbons (^{13}C) signals, in the NMR spectra of these compounds.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

ÍNDICE GENERAL.

	Página
Acta.	ii
Agradecimientos.	iii
Resumen.	iv
Abstract.	v
Índice general.	vi
Índice de figuras.	ix
Índice de tablas.	xi
1. Introducción.	1
2. Marco teórico.	4
2.1. Antecedentes.	4
2.1.1. Familia Rosaceae.	4
2.1.1.1. Distribución geográfica mundial de la familia Rosaceae.	4
2.1.1.2. Subdivisión de la familia Rosaceae.	5
2.1.2. Género *Polylepis*.	7
2.1.2.1. Distribución geográfica mundial del género *Polylepis*.	8
2.1.3. *Polylepis sericea* Wedd.	10
2.1.3.1. Clasificación taxonómica de *Polylepis sericea* Wedd.	10
2.1.3.2. Descripción botánica de *Polylepis sericea* Wedd.	11
2.1.3.3. Distribución geográfica mundial de *Polylepis sericea* Wedd.	12
2.1.3.4. Distribución geográfica en Venezuela de *Polylepis sericea* Wedd.	13
2.1.4. Etnomedicina y usos tradicionales de especies del género *Polylepis*.	14
2.1.5. Farmacología del género *Polylepis*.	16
2.1.6. Fitoquímica del género *Polylepis*.	17
2.2. Metabolitos secundarios. Generalidades.	31
2.2.1. Fenilpropanoides.	31
2.2.1.1. Flavonoides.	32
2.2.1.2. Taninos.	34
2.2.2. Terpenoides.	35
2.2.2.1. Triterpenos.	36
2.2.2.2. Esteroides.	36
2.2.2.2.1. Glicósidos cardiotónicos.	37
2.2.3. Alcaloides.	38
2.2.4. Quinonas.	38
2.3. Técnicas de extracción.	39
2.3.1. Extracción sólido−líquido.	39
2.3.1.1. Extracción sólido-líquido continua (soxhlet).	40

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.3.1.2. Extracción sólido-líquido en reposo (macerado). 41
2.3.1.3. Extracción sólido-líquido breve (percolado). 41
2.3.2. Extracción líquido−líquido (ELL). 41
2.4. Técnicas cromatográficas para la separación de compuestos. 43
2.4.1. Clasificación de los procesos cromatográficos. 43
2.4.1.1. Cromatografía de adsorción. 44
2.4.1.1.1. Cromatografía de adsorción en columna. 45
2.4.1.1.2. Cromatografía en capa fina (CCF). 46
2.4.1.1.3. Cromatografía en capa fina bidimensional (CCF-2D). 47
2.4.1.1.4. Cromatografía en capa fina preparativa (CCFP). 48
2.4.1.1.5. Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). 48
2.4.1.1.6. Cromatografía gas-sólido (CGS). 49
2.4.1.2. Cromatografía de partición o reparto. 49
2.4.1.2.1. Cromatografía líquido-líquido (CLL). 50
2.4.1.2.2. Cromatografía gas-líquido (CGL). 50
2.4.1.2.3. Cromatografía en papel. 51
2.4.1.3. Cromatografía de intercambio iónico. 52
2.4.1.4. Cromatografía de exclusión molecular. 52
2.5. Caracterización de los compuestos. 53
2.5.1. Determinación de las propiedades físicas. 53
2.5.2. Análisis espectroscópicos. 53
2.5.2.1. Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR). 54
2.5.2.2. Espectrometría de masas (EM). 55
2.5.2.3. Espectroscopia de absorción molecular ultravioleta/visible (UV−Vis). 56
2.5.2.4. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN). 56
2.5.2.4.1. Resonancia magnética nuclear protónica (RMN-^{1}H). 56
2.5.2.4.2. Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN-^{13}C). 57
2.5.2.4.3. Resonancia magnética nuclear bidimensional (RMN-2D). 57
2.5.2.4.3.1. ^{1}H-^{1}H COSY (COrrelation SpectroscopY). 58
2.5.2.4.3.2. HMQC *(Heteronuclear Multiple Quantum Coherence)*. 58
2.5.2.4.3.3. HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation). 59
2.5.2.4.3.4. NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement SpectroscopY). 59
3. Justificación. 60
4. Hipótesis. 60
5. Objetivos. 60
5.1. Objetivo general. 60
5.2 Objetivos específicos. 60
6. Procedimiento experimental. 61
6.1. Estudio bibliográfico de antecedentes. 61
6.2. Separación de los productos. Materiales y métodos. 61

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

6.2.1. Cromatografía de columna. 61
6.2.2. Cromatografía de capa fina y capa fina preparativa. 61
6.3. Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas. Instrumentación. 61
6.3.1. Punto de fusión. 61
6.3.2. Espectros infrarrojos. 62
6.3.3. Espectros de resonancia magnética nuclear uni- y bi- dimensionales. 62
6.4. Recolección de la planta. 62
6.5. Tratamiento del material vegetal. 62
6.6. Obtención del extracto metanólico. 62
6.7. Experimental. 62
7. Resultados y discusión. 70
7.1. Ácido 3-acetilursólico. 70
7.2. Ácido ursólico. 85
8. Conclusiones. 89
9. Recomendaciones. 90
10. Referencias bibliográficas. 91
11. Glosario. 98

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

ÍNDICE DE FIGURAS.

		Página
Figura 1.	Distribución geográfica mundial de la familia Rosaceae.	4
Figura 2.	Subfamilia Maloideae: *Malus domestica.*	5
Figura 3.	Subfamilia Prunoideae: *Prunus avium.*	5
Figura 4.	Subfamilia Rosoideae: *Fragaria chiloensis.*	6
Figura 5.	Subfamilia Spiroideae: *Spiraea cantoniensis.*	6
Figura 6.	Detalles del tallo y hojas de *Polylepis.*	8
Figura 7.	Bosque de *Polylepis* sp. Quebrada Llana−Ancash.	8
Figura 8.	Distribución puntual del género *Polylepis* a lo largo de Los Andes y en las Sierras Grandes de Córdoba (Argentina).	9
Figura 9.	(A) Bosque de coloradito en laderas de la Sierra Nevada de Mérida. (B) Individuo de *Polylepis sericea.* (C) Ilustración botánica de *P. sericea* donde se observan algunas características taxonómicas anteriormente mencionadas. (D) Hojas de *P. sericea* conservadas.	12
Figura 10.	Distribución geográfica mundial de *Polylepis sericea* Wedd.	13
Figura 11.	Mapa de los Bosques de *Polylepis sericea* ubicados en las cercanías del Sistema Teleférico Mukumbarí ubicados en el Parque Nacional Sierra Nevada del estado Mérida, Venezuela, Zona UTM: 19 N. Los polígonos azules representan el perímetro de los bosques.	13
Figura 12.	Metabolitos secundarios identificados de especies del género *Polylepis.*	29
Figura 13.	Ejemplos de fenilpropanoides: ácido caféico y naringenina.	32
Figura 14.	Esqueletos principales de los flavonoides.	33
Figura 15.	Ejemplos de taninos.	35
Figura 16.	Ejemplos de triterpenoides.	36
Figura 17.	Estructura del colesterol.	37
Figura 18.	Estructura general de un glicósido cardiotónico.	37
Figura 19.	Ejemplos de alcaloides.	38
Figura 20.	Equipo de extracción sólido-líquido (soxhlet) utilizado para la extracción.	40
Figura 21.	Representación del sistema cromatográfico.	43
Figura 22.	Representación del sistema de cromatografía de adsorción en columna.	45
Figura 23.	Cromatatograma.	47
Figura 24.	Representación de la cromatografía en capa fina bidimensional.	48
Figura 25.	Representación de la cromatografía en papel.	51

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Figura 26. Modos vibracionales de una molécula. 54
Figura 27. Procedimiento empleado para el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios mayoritarios de la corteza de *Polylepis sericea* Wedd. 69
Figura 28. Espectro infrarrojo del ácido 3-acetilursólico. 70
Figura 29. Espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 71
Figura 30. 1ra ampliación del espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 72
Figura 31. 2da ampliación del espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 72
Figura 32. Espectro de RMN-^{13}C ($CDCl_3$, 125 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 74
Figura 33. Espectro de HSQC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 75
Figura 34. Ampliaciones del espectro de HSQC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 76
Figura 35. Espectro de HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 79
Figura 36. 1ra ampliación del espectro de HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 80
Figura 37. 2da ampliación del espectro de HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 81
Figura 38. Espectro ^{1}H, ^{1}H-COSY ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 81
Figura 39. Ampliación del espectro ^{1}H, ^{1}H-COSY ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico. 82
Figura 40. Ácido 3-acetilursólico. 85
Figura 41. Espectro infrarrojo del ácido ursólico. 86
Figura 42. Espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) del ácido ursólico. 87
Figura 43. Ampliación del espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) del ácido ursólico. 87
Figura 44. Ácido ursólico. 88

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

ÍNDICE DE TABLAS.

		Página
Tabla 1.	Especies reportadas para el género *Polylepis.*	9
Tabla 2.	Clasificación taxonómica de *Polylepis sericea* Wedd.	11
Tabla 3.	Etnomedicina y usos tradicionales del género *Polylepis.*	14
Tabla 4.	Estudios farmacológicos realizados a especies del género *Polylepis*.	16
Tabla 5.	Composición porcentual del aceite esencial de *Polylepis besseri* Hieron. ssp. *besseri*.	24
Tabla 6.	Contenido de ácido oleanólico (mg/g) en plantas bolivianas de tierras altas.	26
Tabla 7.	Principales clases de terpenoides en las plantas.	35
Tabla 8.	Clasificación de las quinonas según el sistema cíclico.	39
Tabla 9.	Fracciones obtenidas de la CC plástica del extracto metanólico (32,073 g).	63
Tabla 10.	Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de las fracciones 20, 21, 22 y 23 (4 g).	64
Tabla 11.	Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la reunión B (1604 mg).	65
Tabla 12	Franjas obtenidas de la CCFP de la reunión D (376,4 mg) y la franja D_1 (365,1 mg).	65
Tabla 13.	Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la franja $D_{1.4}$ (130 mg).	66
Tabla 14.	Franjas obtenidas de la CCFP de la reunión F (596 mg).	67
Tabla 15.	Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la franja F_5 (527,9 mg).	67
Tabla 16.	Franjas obtenidas de la CCFP de la reunión M (157,4 mg) y la reunión O (50,8 mg).	68
Tabla 17.	Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la reunión P (250 mg).	68
Tabla 18.	Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la reunión C (692 mg).	68
Tabla 19.	Bandas de adsorción relevante en el espectro infrarrojo del ácido 3-acetilursólico.	71
Tabla 20.	Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido 3 acetilursólico. Parte 1.	72
Tabla 21.	Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido 3-acetilursólico. Parte 2.	72
Tabla 22.	Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido 3-acetilursólico. Parte 3.	73
Tabla 23.	Desplazamientos químicos en RMN-^{1}H; ^{13}C ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.	77
Tabla 24.	Interacciones esperadas del espectro HMBC del ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.	83
Tabla 25.	Interacciones esperadas del espectro ^{1}H,^{1}H-COSY ($CDCl_3$, 500 MHz)	84

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

del ácido 3-acetilursólico.
Tabla 26. Bandas de adsorción relevante en el espectro infrarrojo del ácido ursólico. 86
Tabla 27. Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido ursólico. 87
Tabla 28. Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido ursólico. Parte 2. 88

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

1. INTRODUCCIÓN.

Desde su aparición sobre la Tierra, los seres humanos han recurrido a La Naturaleza como fuente de conocimiento y recursos (López, 2018). Con el paso de los milenios, los hombres primitivos aprendieron a tallar las piedras, dándoles un borde cortante o una forma que permitiera asirlas fácilmente. El siguiente paso consistió en unir la piedra a un astil de madera tallado para este propósito; Pero, de todas formas, sus piedras talladas seguían siendo piedras y su madera tallada seguía siendo madera. Sin embargo, había ocasiones en que la naturaleza de las cosas sí cambiaba. Un rayo podía incendiar un bosque y reducirlo a un montón de cenizas y restos pulverizados, que en nada recordaban a los árboles que había antes en el mismo lugar; la carne conseguida mediante la caza podía estropearse y oler mal y el jugo de las frutas podía agriarse con el tiempo, o convertirse en una bebida extrañamente estimulante. Este tipo de alteraciones en la naturaleza de las sustancias (acompañadas, como a veces descubrían los hombres, de cambios fundamentales en su estructura) constituyen el objeto de la ciencia que hemos dado en llamar Química (Asimov, 2003).

www.bdigital.ula.ve

Una de las principales ramas de la química es la química orgánica, llamada la química del carbono, pues en todas las combinaciones que pertenecen a ella, figura como constituyente el elemento carbono. Los compuestos orgánicos según su origen se clasifican en naturales y sintéticos; los de origen natural, a su vez, pueden ser: productos orgánicos extraídos de plantas y animales o productos orgánicos naturales de yacimientos geológicos (Mayer, 1987). Desde la prehistoria se conocen plantas cuyos extractos han sido usados en pócimas o en curaciones y aún las plantas sin tratamiento se han empleado para los mismos fines. El conocimiento que la humanidad ha tenido ha sido transmitido de padre a hijo, brujo, médico, sacerdote a los aprendices, principalmente de manera verbal (Marcano y Hasegawa, 2018). Las plantas despiertan gran interés porque han sido históricamente de mayor utilidad para el hombre, y tal utilidad viene de su abundancia y disponibilidad al estar fijas y de la variedad de formas, químicos, frutos, etc. que ellas producen, para sobrevivir, alimentarse y reproducirse (Prieto, 2004).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

No hay que olvidar que la información sobre usos populares proviene frecuentemente de fuentes dudosas y puede resultar no del todo cierta, puesto que a veces es guardada como secreto y/o es posible que se confunda la clasificación botánica del vegetal, es por ello que nace la Etnobotánica que trata de recopilar esos conocimientos de manera precisa (Marcano y Hasegawa, 2018). La Etnobotánica, parte de la ciencia de la Botánica, se ocupa de las plantas que fueron usadas por el hombre antiguo tanto en su alimentación, como en todas sus manifestaciones culturales, domesticación, variabilidad y dispersión de las mismas (Fernández y Rodríguez, 2007).

Las plantas mediante el proceso de la fotosíntesis producen las sustancias necesarias para todos los ciclos vitales de La Naturaleza. Pero además de producir sustancias como los carbohidratos, las proteínas y las grasas, que los investigadores han denominado *metabolitos primarios*, dado que se encuentran en prácticamente todas las formas de vida y cumplen funciones básicas para la misma, existen otras que no se encuentran tan distribuidas y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias a los cuales se les denomina *metabolitos secundarios*. (Martínez, 2005). Dentro de este último grupo podemos encontrar los flavonoides, alcaloides, saponinas, esteroides y terpenoides, entre otros (Castillo y Martínez, 2007). La disciplina que tiene como principal objetivo el estudio de los constituyentes químicos de las plantas es la Fitoquímica. El estudio de tales compuestos abarca: sus estructuras químicas, metabolitos (biosíntesis y degradación), distribución natural, función biológica, extracción, evaluación cuali-cuantitativa, asimismo, presenta aplicaciones importantes en relación a las Ciencias Farmacéuticas y la Biotecnología vegetal (Ringuelet y Viña, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Por otro lado, entre las plantas llamadas "superiores'', la familia de plantas Rosaceae es la tercera familia de plantas económicamente más importante en las regiones templadas; consta de más de 100 géneros y 3.000 especies que incluyen muchos cultivos importantes de frutas, nueces, ornamentales y madera. Los miembros de esta familia proporcionan alimentos nutricionales de alto valor y aportan productos estéticos e industriales deseables. Las frutas de las rosáceas también son una fuente importante de fitoquímicos en la dieta humana, como los flavonoides y otros compuestos fenólicos, glucósidos cianogénicos y fenoles que podrían generar ventajas para la salud y la lucha contra las enfermedades. Los

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

estudios *in vitro* e *in vivo* con modelos animales proporcionan evidencia de que los extractos de frutas y hojas de muchas especies de Rosaceae, inhiben algunos tipos de cáncer o tienen fuertes actividades antioxidantes (Shulaev y Schuyler, 2008).

El género *Polylepis*, perteneciente a la familia Rosaceae, está formado por bosques y arbustales. El término *Polylepis* tiene un origen griego "Poly" y "lepis" lo cual hace referencia a las capas que presenta su corteza. Según los diversos tratamientos taxonómicos, el número de especies de este género oscila entre 28 y 33, entre árboles y arbustos; por lo general, los árboles miden hasta 25 m de altura y algunos arbustos de 5 m hasta 10 m. Sin embargo, hasta el momento no se pudieron delimitar claramente las especies de este género, es difícil definir sus orígenes evolutivos y conocer los procesos de especiación (Cubas *et al.*, 2018). Cada vez más vulnerables, los bosques de *Polylepis* son un ecosistema andino importante para la protección de la biodiversidad y la mitigación de los efectos del cambio climático local. Sin embargo, estos bosques contienen una variedad de especies endémicas y en peligro de extinción y cumplen funciones importantes hidrológicas en intercepción de neblina (Zutta *et al.*, 2012).

www.bdigital.ula.ve

En este trabajo se plantea el estudio fitoquímico del extracto metanólico de la corteza de *Polylepis sericea* Webb. (Rosaceae). Tomando en consideración que es una planta sin estudios fitoquímicos realizados, parte el interés de realizar la investigación, teniendo en cuenta los antecedentes de estudios realizados del género en los cuales se han encontrado metabolitos secundarios como fenilpropanoides, flavonoides, triterpenoides, quinonas, taninos, esteroides, alcaloides, glucósidos, entre otros, con utilidad farmacológica.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2. MARCO TEÓRICO.

2.1. ANTECEDENTES.

2.1.1. FAMILIA ROSACEAE.

La familia Rosaceae se sitúa dentro del orden Rosales, incluye desde hierbas y arbustos hasta árboles de tallas medianas y grandes. Estípulas: usualmente presentes. Hojas: simples a compuestas, alternas o basales, con estípulas frecuentemente unidas a la base del pecíolo. Flores: terminales, en racimos o cimas, usualmente perfectas, actinomorfas, usualmente bisexuales. Fruto: seco o carnoso; siendo importante para la división en subfamilias. Semillas: sin endosperma o escaso, raro abundante (Hummer y Janick, 2009). Muchos géneros de la familia tienen importancia como frutales, ornamentales y como recurso maderable (Paz *et al.*, 2008).

2.1.1.1. Distribución geográfica mundial de la familia Rosaceae.

El área primaria de diversidad de la familia son las regiones templadas a subtropicales del hemisferio Norte. Algunos géneros como *Acaena y Polylepis* están centrados en el hemisferio Sur. Varios de los géneros centrados en Norte América se extienden a los neotrópicos sólo en México, al norte de Centroamérica algunos géneros como *Lyonothamus*, tienen distribución muy restringida (Hummer y Janick, 2009).

www.bdigital.ula.ve

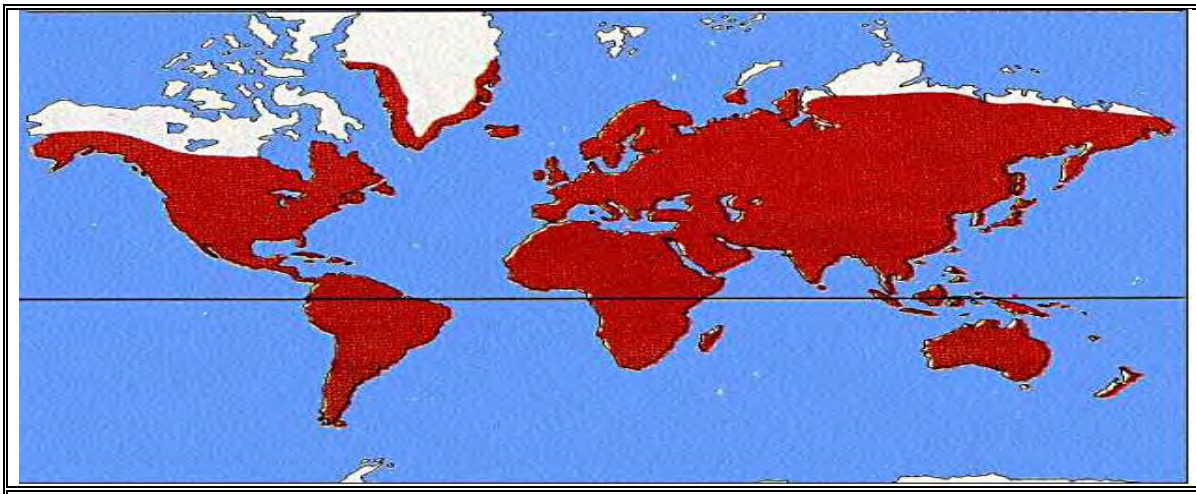


Figura 1. Distribución geográfica mundial de la familia Rosaceae (García, 2003).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.1.1.2. Subdivisión de la familia Rosaceae.

La familia Rosaceae se ha dividido tradicionalmente en cuatro subfamilias agrupadas por tipo de fruta, estos incluyen: Maloideae (*Malus*, *Pyrus* y *Cotoneaster*; fruta y pepita), Prunoideae (*Prunus*; fruta, drupa), Rosoideae (*Rosa*, *Fragaria*, *Potentilla* y *Rubus*; fruta, aquenio) y Spiraeoideae (*Spirea*; fruto, folículo o cápsula) (Shulaev y Schuyler, 2008).

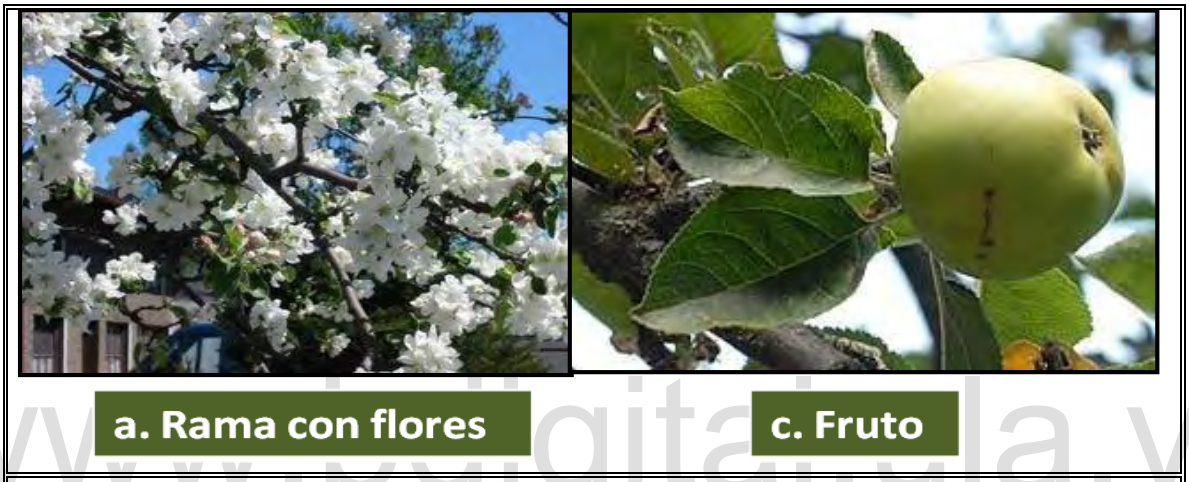


Figura 2. Subfamilia Maloideae: *Malus domestica* (Fede, 2017).

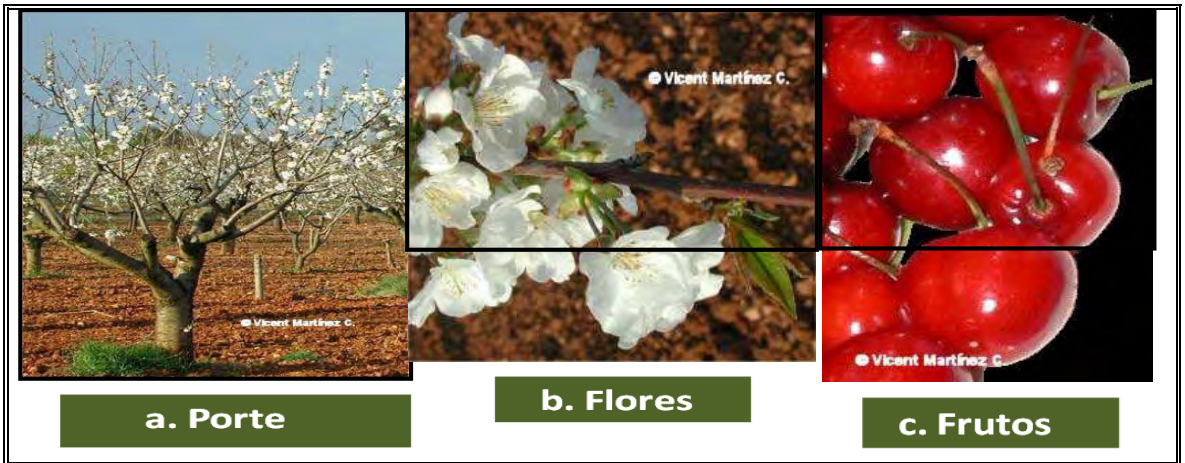


Figura 3. Subfamilia Prunoideae: *Prunus avium* (Fede, 2017).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

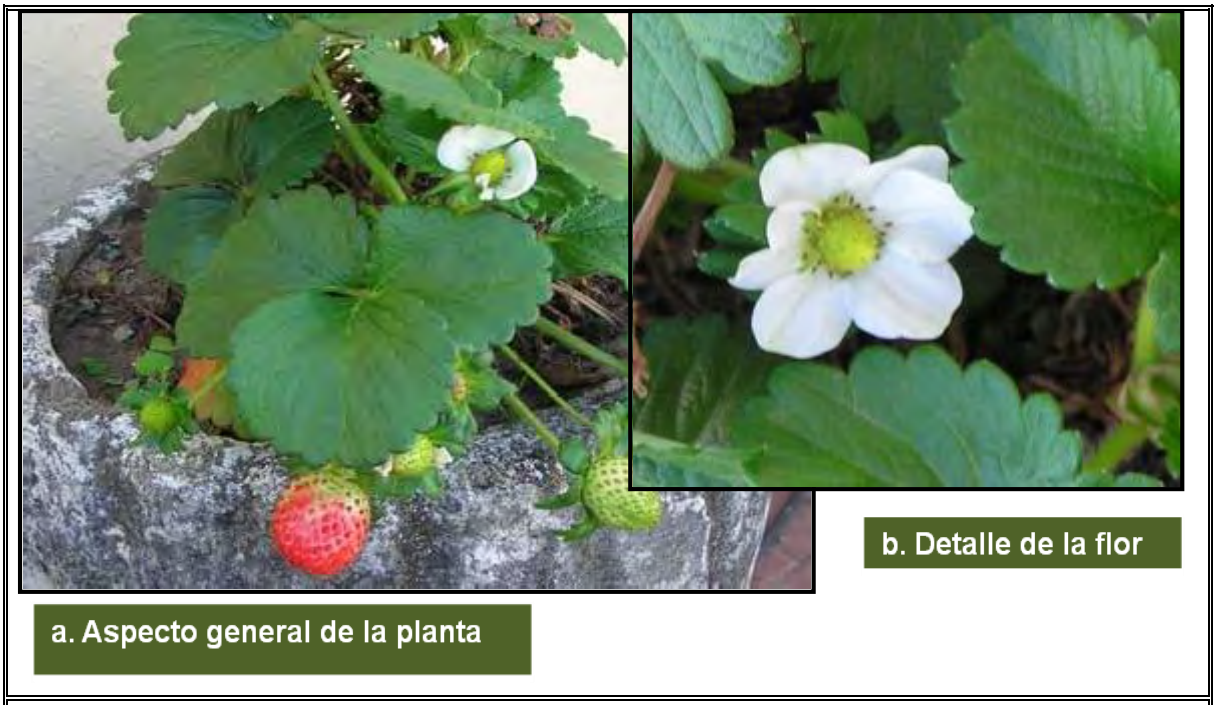


Figura 4. Subfamilia Rosoideae: *Fragaria chiloensis* (Fede, 2017).

Figura 5. Subfamilia Spiroideae: *Spiraea cantoniensis* (Fede, 2017).

La Rosaceae es una de las familias de cultivos más importantes que incluye cultivos como manzana (*Malus domestica*), pera (*Pyrus communis*), almendra (*Prunus dulcis*), albaricoque (*Prunus armeniaca*), cereza (varias especies de *Prunus*), melocotón (*Prunus persica*), mora (varias especies *Rubus*), fresa (género *Fragaria*) y ciruela (varias especies de *Prunus*) (Alisoltani *et al.*, 2019). La importancia económica de los cultivos rosáceos

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

comestibles deriva de sus sabrosas frutas y nueces que proporcionan contribuciones únicas a las elecciones dietéticas de los consumidores y a la salud humana en general. Las frutas rosáceas se consumen en múltiples formas, que incluyen jugo, fresco, seco y productos procesados. La variedad de sabores, texturas y niveles de dulzura y acidez que ofrece estas frutas satisfacen los diversos gustos de los consumidores. Las frutas de las rosáceas son también una importante dieta humana, fuente de fitoquímicos, como flavonoides y otros compuestos fenólicos, glucósidos cianogénicos, fitoestrogenos y fenoles que podrían potencialmente ofrecer ventajas para la salud y la lucha contra enfermedades (Shulaev y Schuyler, 2008).

2.1.2. GÉNERO *POLYLEPIS.*

A pesar de su importancia ecológica, la taxonomía de *Polylepis* sigue siendo poco entendida. Taxonómicamente, el género es difícil porque, por un lado, muchas especies son morfológicamente bastante similares, mientras que, por otro lado, a menudo existen considerables variaciones morfológicas dentro de las especies. El género *Polylepis* pertenece a la familia Rosaceae e incluye arbustos y árboles que se encuentran a lo largo de Los Andes y de montañas contiguas, desde la Cordillera de Mérida (Venezuela) hasta las Sierras de los Comechingones, en el centro de Argentina, e incluyen a todos los países, endémicos de las montañas de Sudamérica, suelen estar asociados con sitios relativamente inaccesibles como quebradas, roquedales o laderas empinadas (Renison *et al.*, 2018).

www.bdigital.ula.ve

Se caracterizan por tener una corteza con muchas láminas color rojizo y troncos retorcidos (aún se desconoce la función de estas láminas, pero se estima que brindan protección contra el frío y el fuego), las ramas también son retorcidas y caídas, las hojas son pequeñas y compuestas, tienen entre 3 y 9 folíolos según la especie, las flores hermafroditas son inconspicuas y dispuestas en racimos, lo cual les brinda a los árboles su aspecto característico, el follaje es siempre verde o semideciduo según la especie, y de color verde azulado o grisáceo, lo que facilita el reconocimiento de los bosques o individuos de *Polylepis* en imágenes satelitales (Cuyckens y Renison, 2018).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Figura 6. Detalles del tallo y hojas de *Polylepis* (Torres, 2014).

El género se caracteriza por una distribución dispersa en forma de fragmentos boscosos. Dentro de *Polylepis* existe un gradiente morfológico y ecológico en el que las especies con individuos altos, hojas delgadas y múltiples inflorescencias habitan el límite inferior de los bosques montanos y las elevaciones bajas. Mientras que aquellas con individuos pequeños, hojas coriáceas y pequeñas inflorescencias crecen en hábitat semiáridos ubicados en sitios elevados (Segovia *et al*., 2018).

www.bdigital.ula.ve

Figura 7. Bosque de *Polylepis* sp. Quebrada Llana−Ancash (Ocaña **y** Santander, 2019).

2.1.2.1. Distribución geográfica mundial del género *Polylepis.*

Con unos 5.400 Km desde su extremo norte hasta el sur, los bosques de *Polylepis* son una de las comunidades boscosas con mayor extensión latitudinal del mundo, ya que abarcan desde Venezuela hasta sectores de las Sierras Grandes de Córdoba, en la Argentina (Cuyckens y Renison, 2018).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

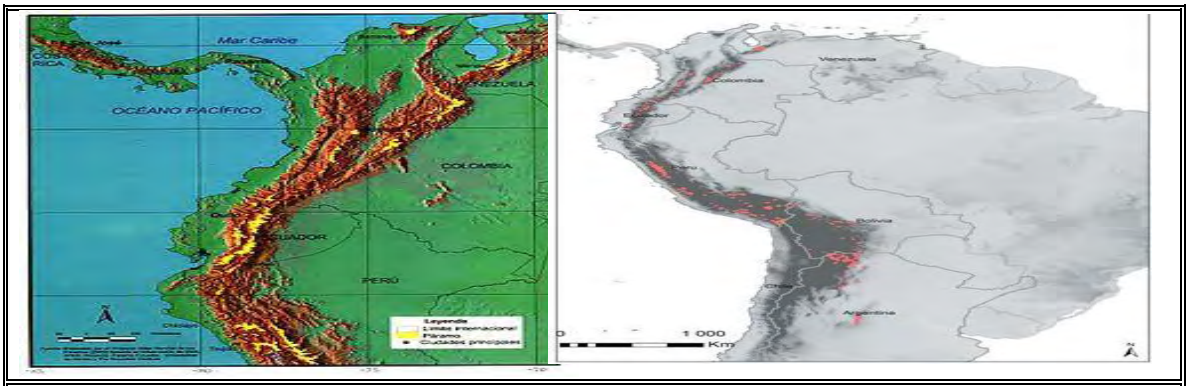


Figura 8. Distribución puntual del género *Polylepis* a lo largo de Los Andes y en las Sierras Grandes de Córdoba (Argentina) (Cuyckens y Renison, 2018).

Tabla 1. Especies reportadas para el género *Polylepis.*

Grupos evolutivos	Especie	Distribución Geográfica
Grupo *sericea.*	*P. canoi* W. Mend. (2005).	Perú (Ayacucho, Cuzco y Junín)
	P. lanuginosa Kunth. (1895).	Ecuador.
	P. multijuga Pilg. (1906).	Norte del Perú.
	P. pauta Hieron. (1895).	Ecuador y aislado en Perú y Bolivia.
	P. pepei B.B.Simpson. (1979).	Perú central hasta el noreste de Bolivia.
	P. sericea Wedd. (1861).	Los principales grupos geográficos se encuentran en Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, y Bolivia.
Grupo *reticulata.*	*P. hieronymi* Pilg. (1906).	Sur de Bolivia hasta el norte de Argentina.
	P. microphylla Bitter. (1911).	Poblaciones aisladas en Cuzco y Arequipa (Perú), y una sola población en Ozogoche (Ecuador).
	P. quadrijuga Bitter. (1911).	Cordilleras orientales de Colombia.
	P. reticulata Hieron. (1895).	Ecuador y aislado en el norte y centro del Perú.
	P. weberbaueri Pilg. (1906).	Ecuador hasta el sur de Perú.
Complejo *incana* Especies basales.	*P. australis* Bitter (1911).	Centro y noroeste de Argentina.
	P. neglecta M. Kessler. (1995).	Centro y sur de Bolivia.
	P. subsericans J. Macbr. (1934).	Centro y sur de Perú.
	P. rodolfo-vasquezii Valenz. & Villalba. (2015).	Esta especie está restringida a la comunidad de Santa Rosa de Toldopamba, en el Bosque

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

		Protector de Pui-Pui, en Junín, Perú.

Tabla 1. … continuación.

Grupos evolutivos	Especie	Distribución Geográfica
Subgrupo *racemosa.*	*P. flavipila* Bitter. (2006).	Andina occidental del centro del Perú.
	P. incarum Bitter. (2006).	Sur del Perú hasta Bolivia.
	P. lanata Kuntze. (2006).	Sur del Perú hasta Bolivia.
	P. pacensis M. Kessler. (2006).	Bolivia occidental.
	P. racemosa Ruiz & Pav. (1798).	Perú a Bolivia, y aislado en Ecuador.
	P. triacontandra Bitter. (1911).	Sur de Perú hasta Bolivia, aislado en centro de Perú.
Subgrupo *besseri.*	*P. besseri* Hieron. (1895).	Sur del Perú hasta Bolivia.
	P. crista-galli Bitter. (1911).	Sur de Bolivia hasta el norte de Argentina.
	P. rugulosa Bitter. (1911).	Suroeste de Perú hasta el extremo norte de Chile.
	P. subtusalbida Bitter. (2006).	Sur de Perú y Bolivia central.
Subgrupo *incana.*	*P. incana* Kunth. (1911).	Ecuador hasta el sur de Perú.
	P. tarapacana Phig. (1891).	Frontera de Argentina, Bolivia, Chile, y Perú.
	P. tomentella subsp. *incanoides* M. Kessler. (1995).	Perú y Bolivia.
	P. tomentella subsp. *nana* M. Kessler. (1995).	Provincia de Arani, Bolivia.
	P. tomentella subsp. *tomentella* Wedd. (1911).	Desde el sur del Perú hasta el noroeste de Argentina.

(Segovia *et al.*, 2018; Zutta *et al.*, 2012).

www.bdigital.ula.ve

2.1.3. *POLYLEPIS SERICEA* WEDD.

2.1.3.1. Clasificación taxonómica de *Polylepis sericea* Wedd.

La ubicación taxonómica de *Polylepis sericea* Wedd. Se muestra condensada en la tabla 2.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Polylepis sericea* Wedd.

Dominio	Eukaryota−eukaryotes.
Reino	Plantae.
Subreino	Viridaeplantae.
Clase	Magnoliopsida.
Subclase	Rosidae.
Orden	Rosales.
Superorden	Rosanae.
Familia	Rosaceae.
Subfamilia	Rosoideae.

(Tomada de: The Taxomicon)

2.1.3.2. Descripción botánica de *Polylepis sericea* Wedd.

Árboles de 2 a 5 m, ramas retorcidas y tallo color rojizo, corteza formada por sobre posición de una gran cantidad de capas delgadas coriáceas pero flexibles, rojizas y traslúcidas. Hojas imparipinnadas de dos a cinco pares de folíolos de 2 cm de largo y 1 cm de ancho, indumento denso de pelos en el envés de los folíolos (figura 9). Los árboles de *Polylepis sericea* rara vez crecen como individuos aislados. Tienden a formar pequeñas 'islas' forestales por encima del límite forestal continuo (3.200 msnm en los Andes venezolanos), generalmente cerca afloramientos rocosos masivos (Colmenares y Rada, 2002).

Estos sitios pueden considerarse refugios térmicos ya que las temperaturas de congelación son menos frecuentes que en la vegetación circundante del páramo, dominada por plantas de rosetas gigantes del género *Espeletia*. Sin embargo, la especie *Polylepis sericea* sigue siendo expuesto a temperaturas nocturnas que son lo suficientemente bajas como para causar congelación de tejidos y alteraciones metabólicas en plantas no bien adaptadas a estas condiciones (Rada *et al.*, 1985). Esta es una de las especies más ampliamente distribuidas y de morfología más variable, muchas poblaciones se encuentran geográficamente aisladas y ciertos estudios sugieren que presenta diferentes citotipos, al

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

menos en Ecuador. Debe ser considerada como un complejo de especies (Segovia *et al.*, 2018).

El bosque de *Polylepis sericea* aparece por arriba de los 3.500 m y hasta 4.300 m; se le encuentra siempre por arriba del límite tradicional del crecimiento arbóreo, definido por las zonas extra tropicales, sin embargo individuos aislados de *Polylepis sericea* pueden bajar por quebradas pedregosas hasta el entorno de los 3.000 m de altitud; se establecen por lo general, sobre derrubios rocosos, agrupaciones de bloque y taludes de montaña (Colmenares y Rada, 2002).

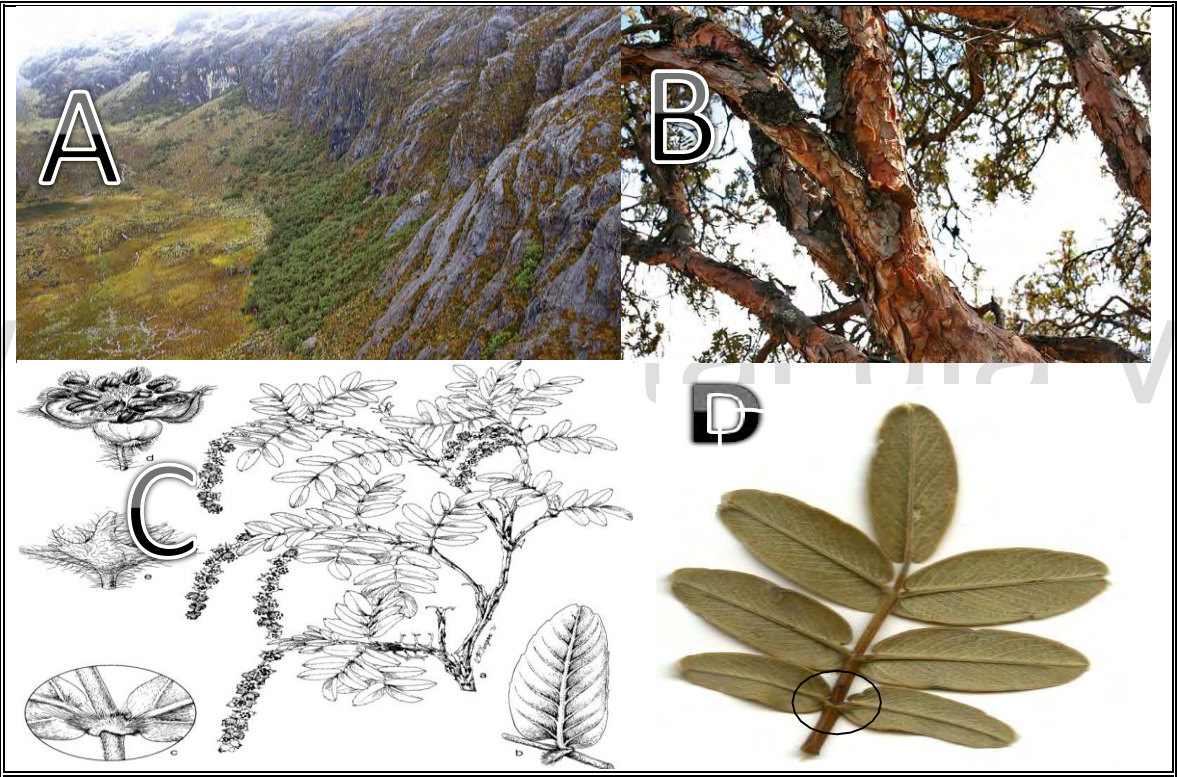


Figura 9. (A) Bosque de coloradito en laderas de la Sierra Nevada de Mérida. (B) Individuo de *Polylepis sericea.* (C) Ilustración botánica de *Polylepis sericea* donde se observan algunas características taxonómicas anteriormente mencionadas. (D) Hojas de *Polylepis sericea* conservadas (García y Eli, 2019; fotografía de Torres, 2014).

2.1.3.3. Distribución geográfica mundial de *Polylepis sericea* Wedd.

La distribución geográfica de *Polylepis sericea* se expande latitudinalmente más que todas las demás especies del género, pero las poblaciones son discontinuas a lo largo del eje

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

andino Norte-Sur (Colmenares y Rada, 2002). Los principales grupos geográficos se encuentran en Venezuela, en la Cordillera Occidental y Central de Colombia, en Ecuador, Cordillera Blanca, y Cuzco en Perú y Bolivia (figura 10) (Segovia *et al.*, 2018).

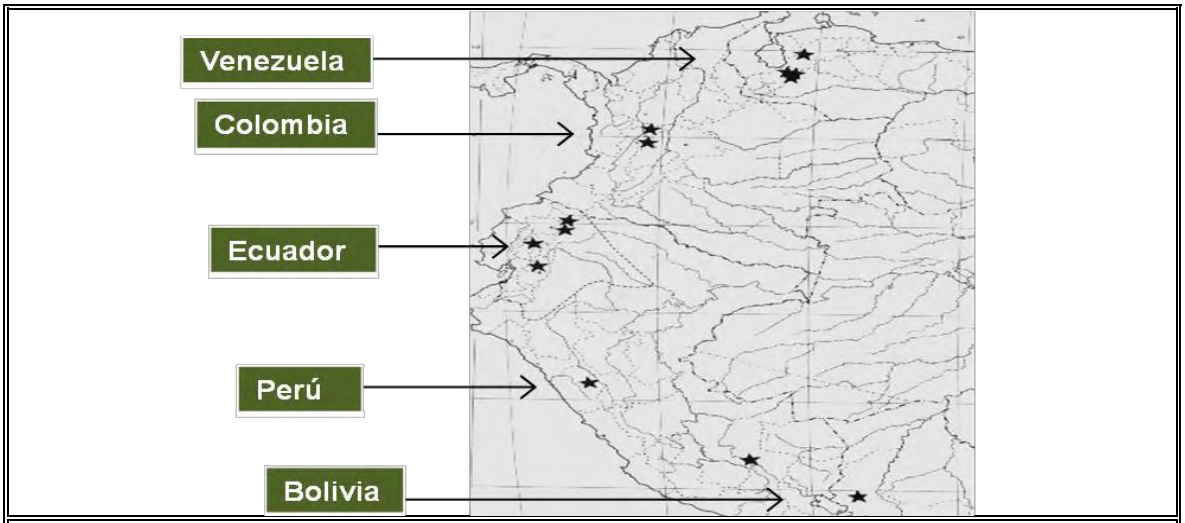


Figura 10. Distribución geográfica mundial de *Polylepis sericea* Wedd. (Colmenares y Rada, 2002).

www.bdigital.ula.ve

2.1.3.4. Distribución geográfica en Venezuela de *Polylepis sericea* Wedd.

Las altas montañas tropicales constituyen un ambiente donde prevalecen condiciones rigurosas. Los bosques de *Polylepis* se encuentran por encima de la línea continua de bosques a lo largo de la Cordillera de Los Andes, con *Polylepis sericea* como la única especie en Venezuela (Rada *et al.*, 2011).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

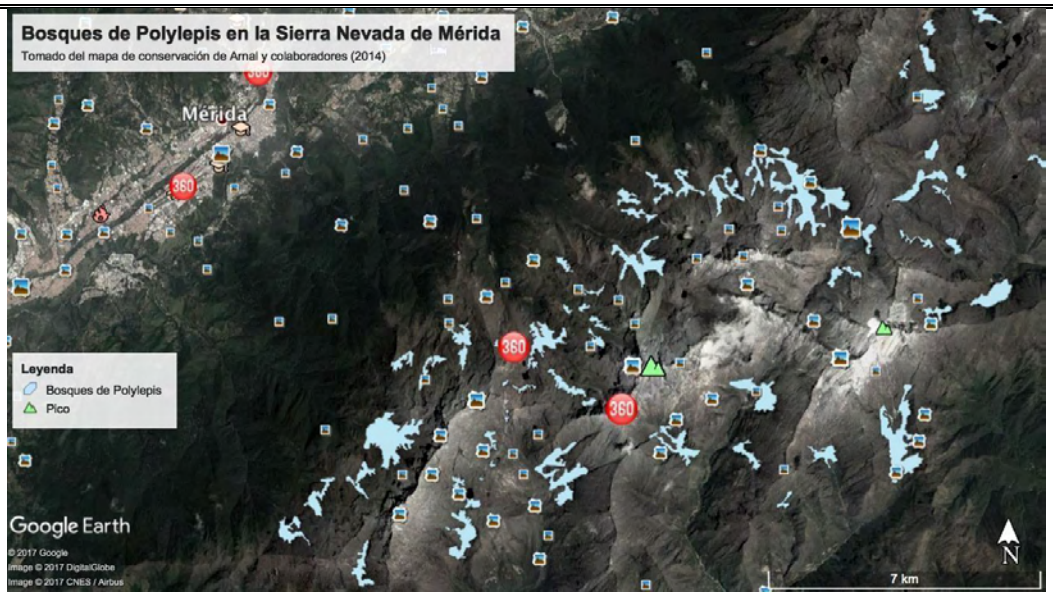


Figura 11. Mapa de los Bosques de *Polylepis sericea* ubicados en las cercanías del Sistema Teleférico Mukumbarí ubicados en el Parque Nacional Sierra Nevada del estado Mérida, Venezuela, Zona UTM: 19 N. Los polígonos azules representan el perímetro de los bosques. Datos obtenidos de Arnal *et al.* (2014).

www.bdigital.ula.ve

2.1.4. ETNOMEDICINA Y USOS TRADICIONALES DEL GÉNERO *POLYLEPIS.*

Los usos populares conocidos para especies pertenecientes al género *Polylepis* se condensan en la tabla 3.

Tabla 3. Etnomedicina y usos tradicionales del género *Polylepis.*

Especie	Parte usada	Empleo	Referencia
P. australis «queñoa».	Hojas y corteza.	Es empleado principalmente para enfermedades infecciosas de vías respiratorias, también es usado como hipoglucemiante y antihipertensivo.	(Daud y Sánchez, 2007).
P. besseri.	Flor.	En la provincia Quillacollo, Depto. Cochabamba, dan a beber hervido de la flor para el hígado, riñón y corazón.	(Zorrilla, 2004).
	Corteza.	En la Provincia Quillacollo, Depto. Cochabamba dan a beber hervido de la corteza para la tos y resfriados.	
P. incana «quinual».	Tallo.	Las comunidades del Perú los usan como colorantes y taninos (Tintóreas), como maderas para la construcción de cercas y corrales.	(Fernández y Rodríguez, 2007).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

P. incarum.	Hojas.	Son preparadas en infusión para curar infecciones respiratorias, próstata, gripe, dolor de estómago, dolor menstrual y complicaciones durante el parto.	(Hurtado *et al.*, 2018).
	Flores.	Mezclada con otras hierbas aplastadas se pone en el oído cuando le entra agua.	
	Corteza.	La infusión de la corteza sirve para curar la tos, diarrea infantil, pulmones, vesícula y sobreparto.	
	Tallo.	Parcialmente quemado es mezclado con hierbas, como infusión, para curar enfermedades de la próstata. También es utilizado para curar el sobreparto del ganado vacuno, preparando una infusión que se da a tomar a los animales. Es utilizado como madera para corrales, artesanías, herramientas y utensilios de cocina. Es utilizado también para quemar incienso en rituales como la mesa de ofrenda a la Pachamama, y es plantado cerca de las viviendas como protección contra los "malos espíritus.	

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. … continuación…

Especie	Parte usada	Empleo	Referencia
P. multijuga Pilger «quinual».	Tallo.	En Perú, antiguamente fue muy utilizada en las exploraciones mineras de Hualgayoc, en túneles y socavones. Actualmente, por el color rojo de la madera, es utilizado en obras de carpintería, sillas, muebles, umbrales de puertas y ventanas.	(Llanos y Dávila, 2018).
P. pacensis.	Hojas.	Son utilizadas en infusión para el dolor de estómago, cabeza, caderas, espalda y para curar tos, bilis, próstata y calentura (fiebre). Respecto de los usos rituales, las hojas y corteza molida son preparadas en una infusión e ingeridas para proteger contra las "maldiciones", curar el "mal de ojo" y afecciones provocadas por el "k'ari k'ari" (entidad maligna que extrae la grasa abdominal	

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

		cuando las personas duermen, provocándoles luego la enfermedad y la muerte).	
	Flores.	Preparadas en infusión sirven para el dolor de estómago.	(Hurtado *et al.*, 2018).
	Madera.	Seca y parcialmente quemada se hierve y se mezcla con perejil, hierba buena y limón para curar la calentura, los huesos rotos, el sobreparto y el resfrío.	
	Cenizas.	Se ingieren con agua hervida con "k'anapaco" (*Sonchus oleraceus* L.), "wira wira" y limón para curar la bilis.	
	Corteza.	Se unta con grasa de conejo para formar un parche que es utilizado para curar llagas de la piel.	
P. racemosa Ruiz & Pav. «queñua».	Hojas y corteza.	En la cuenca del Río Chillón, Canta, Lima se toma la poción de las ramas, una taza por la mañana y otra por la tarde, para desinflamar las vías urinarias.	(De La Cruz, 2007).
P. racemosa R. & P. «quinua».	Ramas terminales.	En comunidades del Perú, utilizan las ramas terminales, trituradas y hervidas para dar un color marrón claro en el teñido de lana y otros tejidos.	(Llanos y Dávila, 2018).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 3. … continuación…

Especie	Parte usada	Empleo	Referencia
P. tarapacana «queñoa».	Tallo.	La madera de la queñoa sirve como materia prima fundamental para realizar construcciones y herramientas; se utiliza como combustible para combatir el frío y cocinar los alimentos.	(Orrego, 2011).
	Hojas, raíces y corteza.	Se utilizan para curar enfermedades y también, para teñir lana y fabricar mantas de colores.	

2.1.5. FARMACOLOGÍA DEL GÉNERO *POLYLEPIS.*

La palabra farmacología procede de las voces griegas: *farmacon*, que significa fármaco, medicina o venenos y *logos*, que significa estudio o tratados. La farmacología es la ciencia que estudia las propiedades de las drogas o compuestos químicos que tienen

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

acción sobre la materia viva, relacionada con la Medicina y otras ciencias. En su sentido más amplio, comprende el conocimiento de la historia, origen, propiedades físicas y químicas, la presentación, los efectos bioquímicos y fisiológicos, los mecanismos de acción, la absorción, la distribución, la biotransformación y la excreción, así como el uso terapéutico y de otra índole de los fármacos (Rang y Ritter, 2016). En la tabla 4 se señalan los ensayos farmacológicos realizados sobre especies de *Polylepis*.

Tabla 4. Estudios farmacológicos realizados a especies del género *Polylepis*.

Especie	Parte usada	Empleo	Referencia
Polylepis racemosa R. & *P.* «quinual».	Corteza interna.	La infusión, por sus propiedades desinflamantes sirve para curar afecciones respiratorias; también dolores de garganta y amígdalas.	(Llanos y Dávila, 2018).
Polylepis australis Bitt «queñoa o tabaquillo».	Hojas y corteza.	Sirve para los efectos diuréticos de los extractos acuosos de hojas y corteza.	(Daud y Sánchez, 2007).
	Hojas.	El extracto alcohólico de las hojas de exhibe actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* formando un halo de inhibición de 8-11 mm de diámetro y contra *Pseudomonas aeruginosa* de 6-9 mm de diámetro.	(Daud *et al.*, 2008).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 4. … continuación…

Especie	Parte usada	Empleo	Referencia
Polylepis besseri.	Hojas.	Citotóxico específico contra melanoma (tumor negro) y carcinoma (tumor carnoso).	(Rado y De la Torre, 2011).
Polylepis incana Kunth.	Hojas.	Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico.	(Cubas *et al.*, 2018).
Polylepis rugulosa «queñua».	Hojas.	Demostró tener efectos antimicrobianos frente a patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* 6.	(Cubas *et al.*, 2018).

2.1.6. FITOQUÍMICA DEL GÉNERO *POLYLEPIS.*

La palabra "fitoquímica'' proviene del prefijo griego *phyto* que significa "planta'' y química; significa entonces "compuestos químicos de las plantas''. El estudio científico de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

las plantas tóxicas, medicinales y aún, las que hasta ahora no han sido utilizadas con fines terapéuticos, buscando encontrar actividad biológica en sus extractos, aislar e identificar los metabolitos secundarios presentes y más aún encontrar el o los principios activos, es el objetivo principal de la fitoquímica (Morales *et al.*, 2016).

Por otro lado, las plantas producen una gran cantidad y diversidad de compuestos orgánicos que no parecen tener una función directa en el crecimiento y desarrollo. Estas sustancias se conocen con el nombre de metabolitos secundarios, productos secundarios o productos naturales. Los metabolitos secundarios no tienen función reconocida o directa en los procesos de fotosíntesis, respiración, transporte de solutos, síntesis de proteínas, asimilación de nutrientes, diferenciación o formación de carbohidratos, proteínas y lípidos. Los metabolitos secundarios también difieren de los metabolitos primarios (aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos) en que tienen una distribución restringida en el Reino Vegetal. Es decir, un metabolito secundario determinado se encuentra con frecuencia en una sola especie vegetal o grupo de especies relacionadas, mientras que los metabolitos primarios se encuentran en todo el Reino Vegetal (Taiz y Zeiger, 2006).

www.bdigital.ula.ve

Más recientemente, se descubrió que muchos metabolitos secundarios tenían importantes funciones ecológicas en plantas (Taiz y Zeiger, 2006):

- Protegen a las plantas de la ingestión por herbívoros y de la infección por patógenos microbianos.
- Sirven como atrayentes de polinizadores y dispersadores de semillas y como agentes en la competencia planta-planta.

Por otro lado, los estudios orientados a la caracterización fitoquímica del género son escasos; en trabajos de Catalano y colaboradores (1994 y 1995), Lampasona y colaboradores (1998), Vélez y colaboradores (1998), Neto y colaboradores (2000), Lorenzo y colaboradores (2002), Caceda (2012), Lozano y colaboradores (2017), Cubas y Huaman, (2018) y García y colaboradores (2019) se han reportado fenilpropanoides, terpenoides, flavonoides, triterpenos, taninos, quinonas, esteroides, aceites diterpenicos, entre otros para *P. australis, P. quadrijuga, P. incana, P. racemosa, P. besseri y P. rugulosa*. Hasta los

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

momentos no existe ningún estudio fitoquímico en *P. sericea* única especie del género reportada para Venezuela.

En detalle, Catalano y colaboradores en 1994, en el trabajo titulado "Kaempferol 3−O−β−D− (6" Feruloylglucoside) from *Polylepis incana*", reportan de las partes aéreas de *Polylepis incana* recolectadas en la región de Paruso (Cusco), Perú en Septiembre de 1992, el aislamiento de 3-O-β-D-(6"-feruloilglucósido) de kaempferol **[1]** (figura 12).

Experimentalmente, las partes aéreas secas de *Polylepis incana* (450 g) se desgrasaron con *n*-hexano y se extrajeron en un aparato Soxhlet con $CHCl_3$, y luego $CHCl_3$−MeOH (9:1). El extracto crudo de $CHCl_3$-MeOH (10 g) se filtró en una columna Sephadex LH-20. Se eluyeron diez fracciones (I-X) con MeOH y se analizaron por TLC con $CHCl_3$-MeOH-H_2O (7:3:0.3) como eluyente, se purificó adicionalmente con PHPLC para dar 24 mg del compuesto puro.

En un trabajo posterior, Catalano y colaboradores en 1995, en el trabajo titulado "Investigación química de *Polylepis incana* (Rosaceae)", y utilizando el mismo material del párrafo anterior, propusieron una serie de marcadores taxonómicos químicos que incluye tanto flavonoides como triterpenoides.

www.bdigital.ula.ve

Experimentalmente, las partes aéreas secas (450 g), extraídas secuencialmente con hexano (22 h), cloroformo (20 h), cloroformo-metanol 9:1 (44 h) en un aparato Soxhlet y con metanol a temperatura ambiente. (6 semanas), dieron 17.44, 10.83, 22.0 y 45.23 g de residuos respectivamente. Una porción (10.0 g) del extracto de cloroformo se fraccionó por filtración en gel en una columna de cromatografía Sephadex LH-2O usando cloroformo-metanol (1:1) como eluyente, para dar 11 fracciones (I-XI). De la fracción VI, después de la cromatografía Flash y por gravedad en gel de sílice, se obtuvieron: el ácido 2α,3β-dihidroxiursólico (ácido corosólico) **[2]** y el ácido 2α,3β,19α-trihidroxiursólico (ácido torméntico) **[3]**. De la fracción VII por cromatografía de capa fina preparativa (CCFP) sobre gel de sílice se aisló: el ácido 2α,3β,19α,23-tetrahidroxiursólico (ácido 23-hidroxitorméntico) **[4]**.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Se fraccionó una porción (10.0 g) del extracto de cloroformo-metanol en Sephadex LH-20 usando metanol como eluyente para dar 25 fracciones (I-XXV). De las fracciones V1 y XVI, respectivamente, usando cromatografía en columna RP 18, fueron obtenidos el éster 28-*O*-β-D-glucopiranosilo del ácido 2α,3β,19α-23-tetrahidroxiursólico (nigaichigósido) **[5]** y *trans*-3,3',4',5,7-pentahidroxiflavanona (catequina) **[6]**. De la fracción XVII usando Sephadex LH-2O y CCFP en gel de sílice se aisló el 3-*D*-galactosil-3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona (3-galactosilquercetina) **[7]**, mientras que utilizando HPLC preparativa, se aislaron: 3-*D*-Glucosil-3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona (3-glucosilquercetina) **[8]**, 3-*O*-l-Arabinofuranosil-3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona (3-arabinosilquercetina) **[9]** y 3-O-β-D-(6"-feruloil) glucopiranósido de kaempferol (incanoside) **[10]**. De la fracción XlX, mediante TLC preparativa sobre gel de sílice, se obtuvieron: 3-O-β-D-(6" *p*-coumaroil) glucopiranósido de kaempferol (tilirósido) **[11]** y 4',5,7-trihidroxiflavona (apigenina) **[12]**. De las fracciones XXlI, XXlV y XXV, por cristalización con metanol, se obtuvieron: 3',4',5,7-tetrahidroxiflavona (luteolina) **[13]**, 3,4',5,7-tetrahidroxiflavona (kaempferol) **[14]** y 3,3',4',5,6-pentahidroxiflavona (quercetina) **[15]**, respectivamente (ver figura 12).

www.bdigital.ula.ve

Por otro lado, Lampasona y colaboradores en 1998, en el trabajo titulado "Derivados de ácidos oleanólicos y ursólicos de *Polylepis australis*", utilizando material de la corteza de *Polylepis australis* Britt., recolectado en mayo de 1983 cerca de La Quebradita, Tafí del Valle, Provincia de Tucumán, Argentina, reportan la presencia de triterpenoides (figura 12).

En detalle, la corteza molida (265 g) se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 6 L) a temperatura ambiente durante 6 días para dar 4,43 g de extracto crudo (1,67 %); el extracto fue dividido en dos porciones: la porción **I** (0,64 g) fue cromatografiada sobre gel de sílice (30 g) usando $CHCl_3$-Me_2CO 9:1 como eluyente y se recogieron 40 fracciones. Las fracciones 2-4 se combinaron (80 mg); una porción (15 mg) fue metilada con CH_2N_2 y procesada por HPLC (columna B, MeOH, 2 mL min^{-1}) para dar 4,9 mg del acetato de oleanolato de metilo, tiempo de retención (TR) 20 minutos, y 1.1 mg del acetato de ursolato de metilo, TR 21,7 min. Las fracciones 7-36 se combinaron (0,42 g), se metilaron con CH_2N_2 y se procesaron por HPLC (columna A, MeOH, 1 mL min^{-1}) para dar 172 mg del éster metílico del ácido 3β-hidroxiolean-12-en-28-oico (oleanolato de metilo) **[16]**, TR 28,5 min., y 121

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

mg del éster metílico del ácido 3β-hidroxiurs-12-en-28-oico (ursolato de metilo) **[17]**, TR 33,0 min. La porción **II** (1,7 g) se lavó con hexano-éter (1:1); el material insoluble se disolvió en Et_2O y fue metilado con CH_2N_2 para dar 0,87 g de ésteres metílicos que se cromatografiaron (sílice gel, 42 g) con hexano-EtOAc 7:3, recogiéndose 40 fracciones que se monitorizaron por CCF. Las fracciones 12-20 se combinaron (539 mg) y una porción (305 mg) fue procesada por HPLC (columna B, MeOH, 2 mL min^{-1}) dando después de la metilación, una mezcla compleja de ácidos triterpénicos constituida por cinco ésteres metílicos conocidos y dos nuevos ésteres metílicos de oleanos y ursanos conocidos. Los ésteres nuevos oleanos fueron: 3β-hidroxiolea-9(11) ,12-dien-28-oato de metilo **[18]** y 2α,3β-dihidroxi-11-oxoolean-12-en-28-oato de metilo **[19]** (figura 11). Se desconocen los ácidos correspondientes a los ésteres 18 y 19 y aunque se han informado los ácidos correspondientes a los ésteres 3β-hidroxi-11-oxoolean-12-en-28-oato de metilo **[20]**, 2α-metoxi-3β-hidroxi-11-oxoolean-12-en-28-oato de metilo **[21]**, obtusilinato de metilo **[22]** y 2α,3α,19α-trihidroxiursan-12-en-28-oato de metilo **[23]**, las propiedades de sus ésteres metílicos no se han registrado en la literatura. También se obtuvieron por cromatografía 1,3 mg de maslinato de metilo [2α,3β-dihidroxiolean-12-en-28-oato de metilo] **[24]**, 6,2 mg de 2α-metoxi-3β-hidroxiolean-12-en-28-oato de metilo **[25]** y 2α,3α-dihidroxiursan-12-en-28-oato de metilo **[26]** (ver figura 12).

www.bdigital.ula.ve

Por su parte Vélez y colaboradores en 1998, en el trabajo titulado "Rasgos ecológicos de las especies de árboles tropicales. *Polylepis quadrijuga* (Rosaceae) en Los Andes de Colombia", y utilizando una muestra recolectada en el bosque de *Polylepis quadrijuga* de "Sietecuerales", Río La Playa (3.200 msnm) en el Parque Nacional Natural Chingaza (4 ° 30′ N; 73 ° 45′ O), Departamento de Cundinamarca, Colombia, realizaron un análisis cualitativo preliminar basado en colorimetría y precipitación, en el cual encontraron quinonas, taninos, esteroides y flavonoides; éstos se identificaron por espectrofotometría, cromatografía en capa fina (TLC) y comparación con estándares; sin embargo, no mencionan las estructuras de los compuestos. En vista que en el procedimiento realizado se hidrolizó el extracto con HCl al 10 % para eliminar azúcares, los compuestos reportados no tienen por qué corresponder a las estructuras presentes en la planta.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Neto y colaboradores en el 2000, para el trabajo titulado "Ácidos triterpénicos citotóxicos de la planta medicinal peruana *Polylepis racemosa*" utilizaron las cortezas y los tallos de *Polylepis racemosa* recolectada de árboles que crecían a una altura de 3.600 m en el Callejón de Huaylas, Departamento de Ancash, Perú, en junio de l994. Experimentalmente, la corteza y el tallo de la planta molida (aproximadamente 160 g) se extrajeron exhaustivamente con EtOH al 95 % para producir un material sólido (7,14 g). Una porción (6,24 g) se sometió a reparto de disolventes utilizando un protocolo Kupchan modificado. La actividad citotóxica residía en el extracto de CCl_4 (540 mg) y el extracto de MeOH al 8 % (630 mg). La purificación se continuó por cromatografía (columna de 2 x 30 cm, gel de sílice-60, malla de 230-400), eluyendo primero con 300 mL de $CHCl_3$; luego con 300 mL de $CHCl_3$ / MeOH aumentando de 2 % a 10% de MeOH. La fracción 5 (376 mg) de la columna de gel de sílice mostró la mayor citotoxicidad. Se sometieron 260 mg de la fracción 5 por cromatografía radial en un modelo de cromatotron 7944t (placa de 1 mm, 100 % $CHCl_3$ a 4% MeOH / $CHCl_3$ al 96%); seguido de purificación por HPLC preparativa (10 x 250 mm Rainin Cl8 RP Microsorb (columna de fase reversa), velocidad de flujo = 2.5 mL/min, detección a 200 nm, 80/20 MeOH/H_2O a 100% MeOH). De un volumen de elución total de aproximadamente 180 mL, se aislaron cuatro compuestos: (14 mg) ácido 2-oxopomólico **[27]**, (6 mg) ácido polomérico **[28]**, (5 mg) ácido 3-*O*-acetilpomólico **[29]** y (15 mg) ácido ursólico **[30]** (ver figura 12). Estos compuestos se identificaron comparando sus espectros de RMN ^{13}C y ^{1}H con los datos publicados. La estructura del ácido 3-*O*-acetilpomólico se confirmó por comparación con los espectros suministrados por el grupo de B. Timmerman, que informó el aislamiento del compuesto de *Acaena pinnatifida*. El ácido pomólico es el componente más citotóxico para cada una de las líneas celulares analizadas. Con base en la citotoxicidad específica del ácido pomólico contra las células ME-188 del tejido uterino, es razonable concluir que el ácido pomólico es el principio activo contra el cáncer uterino presente en *Polylepis racemosa*. El uso de esta planta para tratar la inflamación uterina puede explicarse por la presencia de ácido ursólico, un poderoso agente antiinflamatorio. Por lo tanto, esos hallazgos proporcionan evidencia científica para el uso etnobotánico de *Polylepis racemosa*.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Por su parte, Lorenzo y colaboradores en 2002 publicaron el trabajo titulado "Composición del aceite esencial de *Polylepis besseri* Hieron. ssp. *besseri* de Bolivia", y utilizando muestras representativas de partes aéreas de *Polylepis besseri* recolectada en Alto Sapanani y su área geográfica de distribución a una altitud de 3.600 m durante la temporada de primavera de 1997. Experimentalmente, obtuvieron el aceite esencial (amarillo pálido, dm: 0,8420) de las partes aéreas del material fresco por destilación de arrastre con vapor (12-16 h) a la presión atmosférica en Cochabamba (564 mm Hg) usando un aparato de hidrodestilación de vidrio tipo Clevenger. El aceite se sometió a separación por cromatografía centrífuga (Chromatron, modelo 8924) sobre gel de sílice usando hexano que contiene proporciones crecientes de acetato de etilo obteniéndose doce fracciones que se concentraron al vacío y se analizaron por GC y GC/MS. Se analizó la composición del aceite por GC en un cromatógrafo de gases Shimadzu 14 B equipado con un FID y un software de procesador de datos Shimadzu EZ-Chrom, usando dos columnas capilares. La primera fue una columna capilar de sílice fundida reticulada SE-52 (Mega, Legnano, Italia) (25 m x 0,32 mm), recubierto con 5% de fenilpolimetilsiloxano (0,40-0,45 μm espesor de fase); temperatura inicial de la columna: 60 ºC (8 min.); de 60 ºC a 180 °C un gradiente de 3 ºC/min.; de 180 °C a 250 °C un gradiente de 20º C/min.; temperatura final de la columna: 250 °C (10 min.). Temperatura del inyector, 250 ° C; temperatura del detector, 280 °C; modo de inyección: dividido; relación de división: 1:30; volumen inyectado: 0.2 μL del aceite; gas portador: hidrógeno (55 kPa).

www.bdigital.ula.ve

El análisis mediante GC/MS se realizó utilizando un Shimadzu QP 5050, nuevamente usando dos columnas capilares. La primera columna fue una SE-52 (Mega, Legnano, Italia), columna capilar reticulada de sílice fundida (25 m x 0,25 mm) recubierta con 5% de fenilpolimetilsiloxano (0,25 μm de espesor de fase); temperatura inicial de la columna: 60 ºC (8 min.); de 60 ºC a 180 ºC a un gradiente de 5 ºC/ min.; de 180 °C-230 ºC a un gradiente de 20 ºC/min.; temperatura del inyector: 250 °C; modo de inyección: dividido; relación de división: 1:40; volumen inyectado, 0.2 μL del aceite; gas portador: helio (122,2 kPa, 51,6 cm/s); temperatura de la interfase: 250 °C; rango de adquisición de masas: 40-400; corte de solvente: 2 min. La segunda columna fue una BP 20 (SGE, Australia), columna capilar de sílice fundida (25 m x 0.25 mm) recubierta con polietilenglicol (0,25

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

μm de espesor de fase); temperatura de la columna: 40 ºC-180 °C (8 min) a 5 ºC (min), luego 180 ºC-230 °C a 20 "C (min); todos los otros parámetros fueron similares a los utilizados en la columna anterior, con la excepción de la presión y la velocidad del gas portador (He) que fueron de 92,6 kPa y 55,9 cm/s, respectivamente. Se identificaron cuarenta y tres componentes, que representan el 90 % de la composición total, (figura 12). Los componentes individuales se identificaron mediante la comparación de sus índices de retención lineal (IRL) en dos columnas, con los de estándares puros o reportado en la literatura y por comparación de los patrones de fragmentación en los espectros de masas con los almacenados en la base de datos del espectrómetro. Los porcentajes de cada componente se expresaron como porcentajes brutos, sin estandarización (ver tabla 5).

Los resultados experimentales mostraron que el aceite presentaba un alto contenido de diterpenos (54 %), y entre los compuestos oxigenados, de α-cadinol (3,8 %) y abietol (2,6 %), y por presencia de aldehídos saturados de cadena lineal C8, C9, C11 y C12. Para ver las estructuras ver la figura 12 (estructuras **[31] - [73])** y para ver los tiempos de retención ver tabla 5.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 5. Composición porcentual del aceite esencial de *Polylepis besseri* Hieron. ssp. *besseri.*

	Compuesto	%	IRL			Compuesto	%	IRL	
			SE-52	CW				SE-52	CW
31	α-Pineno	0.1	926	1024	**53**	Undecanal	0.2	1306	
32	Sabineno	0.1	971	1100	**54**	α−Copaeno	0.2	1372	1435
33	β-Pineno	0.1	971	1044	**55**	β−Bourboneno	0.1	1380	
34	Octanal	0.1	1002		**56**	Dodecanal	0.2	1405	
35	*p*-Cimeno	1.8	1022	1219	**57**	β−Caryofileno	0.2	1411	1573
36	Limoneno	0.1	1026	1158	**58**	9-*epi*-β-Caryofileno	0.2	1451	
37	1,8-Cineol	2.4	1029	1179	**59**	γ-Muuroleno	0.3	1468	
38	(*Z*)-β-Ocimeno	0.3	1044	1200	**60**	α-Muuroleno	1.0	1491	1660
39	(*E*)-β-Ocimeno	0.2	1049	1200	**61**	δ-Cadineno	2.4	1512	1685

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

40	γ−Terpineno	0.3	1055		**62**	α-Cadineno	0.2	1529	1771
41	Fenchona	0.4	1084	1346	**63**	(*E*)-Nerolidol	0.5	1558	1987
42	Linalool	0.4	1100	1524	**64**	Espatulenol	1.2	1569	2065
43	Nonanal	0.8	1103	1413	**65**	1-*epi*-Cubenol	0.4	1621	
44	Mentona	2.3	1153	1442	**66**	*epi*-*O*-Muurolol	3.8	1639	2120
45	Isomentona	0.6	1161	1413	**67**	Pimaradieno	4.1	1950	
46	Mentol	0.9	1175		**68**	α-Cadinol	3.8	1651	2167
47	Terpinen-4-ol	0.5	1175	1558	**69**	M.W. 272'	8.8	1972	
48	*p*−Cimen-8-ol	0.1	1184		**70**	Esclareno	1.0	1975	
49	α-Terpineol	0.3	1191	1662	**71**	Abietatrieno	6.1	2044	2429
50	Myrtenol	0.2	1200		**72**	Abietadieno	40.3	2130	2395
51	Pulegona	0.2	1233	1549	**73**	Abietol	2.6	2395	
52	Geraniol	0.1	1255						

Por otro lado, Caceda en 2012, en el trabajo titulado "Evaluación de la actividad antibacteriana "*in vitro*" del extracto alcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queilua") frente a cultivos bacterianos uropatógenos aislados en el Hospital Hipólito Unanue – Tacna", utilizando hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") durante su época de floración, entre los meses de febrero a mayo del 2011, colectadas en las faldas del sur y este del volcán Yukamani a 3.415 msnm, ubicado a una hora de la provincia Candarave, del Departamento de Tacna. En el laboratorio, las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") se limpiaron de impurezas, se secaron a temperatura ambiente en un área fresca, seca y resguardada de la luz y se trituraron mecánicamente. Para la obtención de los principios activos se empleó la técnica de maceración en agua y alcohol 70 %. En un envase estéril de vidrio color ámbar se colocaron en su interior 20 gramos de hojas de *Polylepis rugulosa* ("queñua") secas previamente triturada, luego se añadieron 100 mL (agua y alcohol 70 %) hasta que cubrió por completo el contenido de las hojas, este frasco se agitó tres veces por día; después de 5 días de maceración se filtró Whatman N°41; posteriormente, se procedió a la evaporación a sequedad en estufa a 37 °C de temperatura, obteniéndose, de esta manera, los principios activos y se comprobó la esterilidad del extracto mediante la siembra en agar Müeller-Hinton.

Las pruebas experimentales con las hojas de *Polylepis rugulosa* permitieron determinar la presencia de los constituyentes químicos a través del estudio fitoquímico preliminar y la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas, utilizando el

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

método de difusión de disco (Kirby-Bauer) con 5 repeticiones a diferentes concentraciones, obteniéndose la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y el método de dilución en medio líquido para obtener la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de las hojas de "queñua". Se observó la sensibilidad antibacteriana tanto para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, así como para *Escherichia coli*.

Lozano y colaboradores en el 2017, en el trabajo titulado "Alto contenido de ácido oleanólico en plantas bolivianas de altitud", utilizaron hojas y corteza de *Polylepis tomentella, P. hieronymi* y *P. besseri"*. Las especies de *Polylepis* fueron recolectadas en el Jardín Botánico de la Universidad de San Andrés. (UMSA), ubicado en Cota, ciudad de La Paz (3.600 m.s.n.m.). Para la parte experimental, el ácido oleanólico, usado como estándar, se obtuvo del residuo industrial de *Chenopodium quinoa* Willd. llamado "Mojuelo" rico en saponinas. Ese residuo se extrajo con EtOH/H_2O (75/25) durante 72 h a temperatura ambiente. El extracto concentrado de EtOH/H_2O se sometió a una hidrólisis ácida añadiendo HCl 2N a reflujo durante 3 h, dando el extracto de sapogeninas. El ácido oleanólico se aisló de ese extracto después de una cromatografía VLC en sílica gel G-60 y recristalización, comparando los datos de TLC y RMN con los del ácido oleanólico previamente aislado en ese laboratorio. Para la preparación de la muestra, partes de la corteza y las hojas de *Polylepis tomentella, P. hieronyni* y *P. besseri* se secaron a temperatura ambiente durante 2 o 3 días. Se extrajeron 500 mg del material vegetal seco y molido en 25 mL de EtOH 96 GL durante 48 h; el extracto se filtró Whatman # 4 y el residuo se lavó con 5 mL de EtOH, luego el extracto líquido se concentró al vacío. Antes del análisis por HPLC, las muestras fueron disueltas y fijadas con MeOH (grado HPLC), en matraces volumétricos de 5 mL.

Durante el análisis, los datos de HPLC se registraron en el instrumento de la serie HPLC 1100 de Agilent Technologies que consiste en una bomba cuaternaria, desgasificador de vacío continuo, inyección manual y compartimento de columna acoplado a una longitud de onda variable detector de matriz de diodos (DAD). La columna utilizada fue una EclipsePlus RP-C18 de Agilent Technologies (4.6 × 250 mm × 5µm) con un filtro de precolumna de 0,5 µm (Agilent Technologies), el compartimento de la columna se calentó a 35 ºC. Se usaron para la fase móvil de HPLC: acetonitrilo (Grado HPLC, Sigma-

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Aldrich), ácido fórmico> 98% (Merck) y agua ultrapura con una resistencia de 18.3 MΩ. El agua se filtró antes utilizar a través de un sistema de filtración de 0,45 µm (Sartorius Stedim Biotech). Para la preparación de la curva de calibración, se preparó una serie de soluciones de ácido oleanólico en MeOH HPLC a cinco concentraciones diferentes (400, 800, 1500, 2000 y 2500 µg/mL). El analito se detectó a 210 nm (DAD) y el área en el cromatograma en el tiempo de retención 8,2 fue grabado por triplicado. El analito mostró una relación lineal entre 400 y 2500 µg/Ml y produjo la siguiente curva de calibración: y = 12,957x + 735,69 (R 2 = 0,9983). Para la cuantificación de la muestra, las muestras fueron inyectadas manualmente y el volumen de patrones y muestras fue de 25 µL. La separación cromatográfica se realizó con un solvente isocrático de 93 % de acetonitrilo, ACN, como solvente D y 7 % de 0.15 % (v) de ácido fórmico en agua como solvente C, a un caudal de 1,0 mL/min. El disolvente C se filtró (Whatman de 0,45 µm de PTFE/celulosa) antes de su uso. Luego, el área del compuesto en el tiempo de retención TR= 8,2 min. Se registró por triplicado y el promedio se utilizó para el cálculo de la cantidad de ácido oleanólico en el extracto de EtOH de cada planta. Es interesante notar que la corteza de *Polylepis besseri* tiene un buen contenido de ácido oleanólico **[74]** (ver figura 12), probablemente debido a que la corteza de *Polylepis* se está exfoliando constantemente. La tabla 6 muestra las altas cantidades de ácido oleanólico presentes en todas las plantas recolectadas.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 6. Contenido de ácido oleanólico (mg/g) en plantas bolivianas de tierras altas.

Planta	(Media± DS) (mg/g)	CV (%)
Polylepis tomentella, hojas.	4,49 ±0,15	3,5
Polylepis tomentella, corteza.	2,87 ±0,04	1,4
Polylepis hieronymi, hojas.	3,62 ±0,04	1,1
Polylepis besseri, corteza.	11,06 ±0,03	0,3
Polylepis besseri, hojas.	2,88 ±0,16	5,8

Cubas y Huaman en 2018, para el trabajo titulado "Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Polylepis incana* Kunth*",* utilizaron hojas de *Polylepis incana* Kunth recolectada en el Departamento Ancash, Provincia de Huaraz, en el Distrito de Independencia, poblado de Huanchac. Las hojas seleccionadas y empaquetadas en papel craft se expusieron a desecar al aire libre por un mes, después se colocaron en una estufa a 40 ºC obteniendo 56 gr. Se colocaron en un frasco con alcohol de 96º y agitada tres veces al día por 10 días. Se filtró la solución obteniendo un concentrado

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

del extracto que se llevó a la estufa a 40 ºC por 3 días, obteniendo finalmente 20 gr de extracto etanólico de las hojas de *Polylepis incana* Kunth. Por último, se filtraron 2 mL de la muestra etanólica en un tubo de ensayo y se agregó etanol hasta clarificar, esta se denominó la muestra patrón, la cual se distribuyó en cinco tubos de ensayo para realizar el tamizaje fitoquímico. El tamizaje fitoquímico se realizó con la muestra patrón (MP) preparada siguiendo el siguiente esquema:

Cumarinas: MP + 2 gotas NaOH → amarillo intenso.

Taninos: MP + 1 gota gelatina + 5 gotas NaCl 1%.

Flavonoides: SHINODA: MP + 3 (trozos) Mg metálico + 3 gotas HCl conc.

MP + 1 gota Pb (CH_3COO) 21 % .→ PP↓ blanco lechoso.

Compuestos fenólicos: reacción con:

MP + 1 gota FeCl 5%. En zona → amarillo−azul.

Alcaloides (acidular con el HCl 1% x 5 minutos c/tubo):

MP + 1 gota reactivo de Dragendorff. → PP ↓ anaranjado.

MP + 1 gota reactivo de Mayer → ↓ PP blanco lechoso.

www.bdigital.ula.ve

Arrojando que los metabolitos secundarios más abundantes son los compuestos fenólicos, seguidos de los taninos, alcaloides, flavonoides y por último quinonas y glicósidos, dando como negativos los aminoácidos.

García y colaboradores en el 2019, para el trabajo titulado "Cuantificación de compuestos fenólicos y cambios morfoanatómicos foliares en *Polylepis sericea* Webb. (Rosaceae: Sanguisorbeae) en un gradiente altitudinal de la Sierra Nevada de Mérida" utilizaron muestras de hojas recolectadas en las cercanías de las estaciones Loma Redonda y la Aguada del Sistema Teleférico Mukumbarí del estado Mérida-Venezuela a 3.000−4.100 m.s.n.m. Experimentalmente, a partir de una extracción sólido-líquido haciendo uso del extractor soxhlet, con metanol grado técnico como solvente, se extrajeron los metabolitos presentes en las hojas secas molidas de *P. sericea* durante 48 horas por carga de muestra en el extractor. Se determinó la concentración de los compuestos polifenólicos disueltos en el filtrado metanólico, a través del método Folin-Ciocalteu,

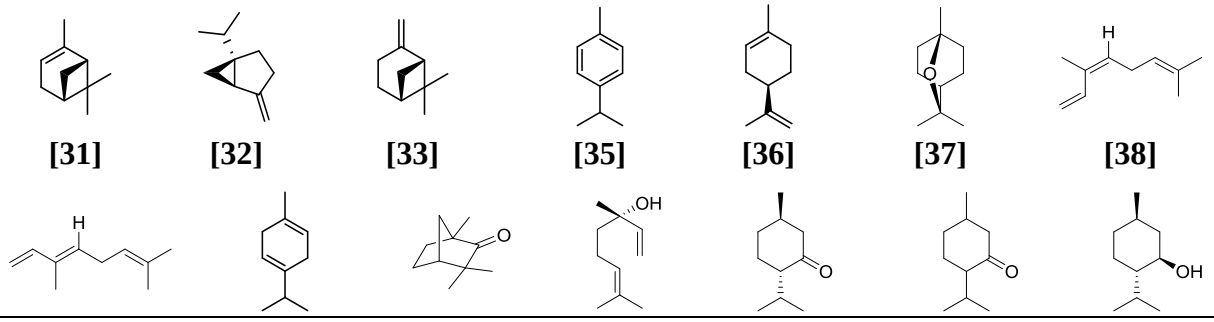
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

utilizando como compuesto de inferencia el ácido gálico para identificar el coeficiente de correlación lineal entre la absorbancia de los grupos hidroxilos de los fenoles y su concentración en la muestra. Acoplado al ensayo, se realizó un barrido desde los 190-800 nm, de los compuestos polifenólicos disueltos en el filtrado metanólico de cada localidad, para lo cual se diluyó la muestra 1/50 en metanol y se procedió a hacer la medición en el espectrofotómetro, entre 0-3 de absorbancia. Se realizó una cromatografía de capa fina en gel de sílice con placas Z234214 - Sigma-Aldrich® TLC Plates, utilizando como fase móvil una mezcla 2:1 de acetato de etilo/metanol grado técnico. Las placas fueron observadas en lámparas de luz UV a 254 y 366 nm, se revelaron con vainillina sulfúrica (100 mL de vainillina al 1% en etanol + 2 mL de ácido sulfúrico al 98 %), aplicando la vainillina en forma de rocío y calentando las placas por unos segundos. La porción mayoritaria parece estar compuesta por glicósidos de flavonoles dihidroxisustituidos. Los componentes de los extractos pertenecen a los fenilpropanoides dihidroxisustituidos, lo cual apoya a que los fenilpropanoides dihidroxisustituidos sean compuestos candidatos a formar la proporción mayoritaria de los extractos polifenólicos.

www.bdigital.ula.ve

A continuación (figura 12) se muestran las estructuras de los metabolitos secundarios extraídos de especies de *Polylepis*.

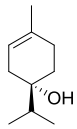
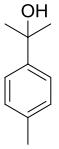
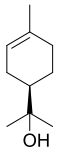
Monoterpenoides:

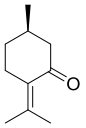
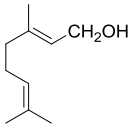


[31] **[32]** **[33]** **[35]** **[36]** **[37]** **[38]**

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

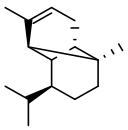
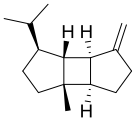
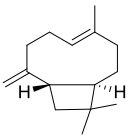
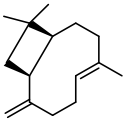
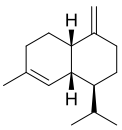
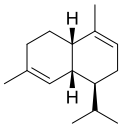
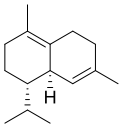
[39] **[40]** **[41]** **[42]** **[44]** **[45]** **[46]**

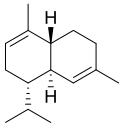
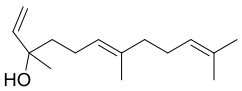
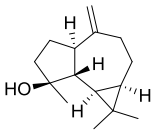
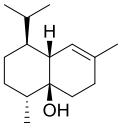
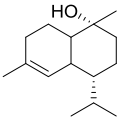
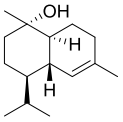



[47] **[48]** **[49]** **[50]** **[51]** **[52]**

Sesquiterpenoides:

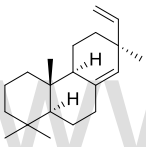
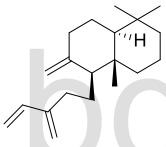
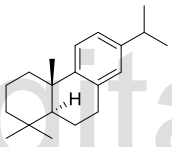
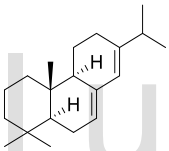
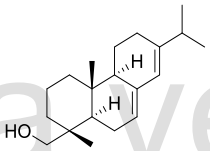








[54] **[55]** **[57]** **[58]** **[59]** **[60]** **[61]**

[62] **[63]** **[64]** **[65]** **[66]** **[68]**

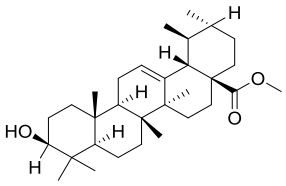
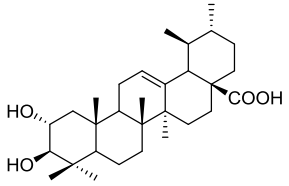
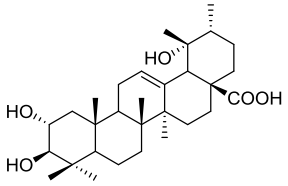
Diterpenoides:

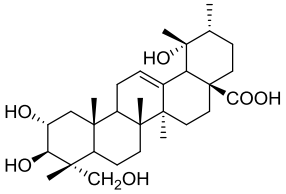
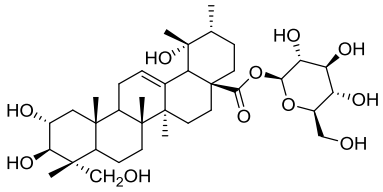
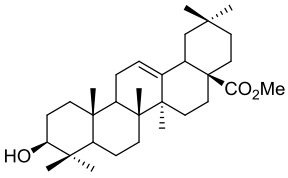
[67] **[70]** **[71]** **[72]** **[73]**

www.bdigital.ula.ve

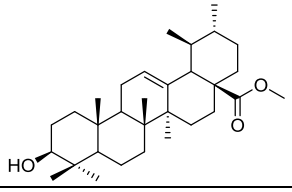
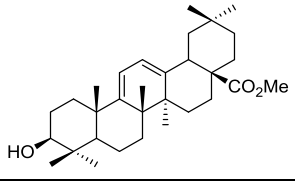
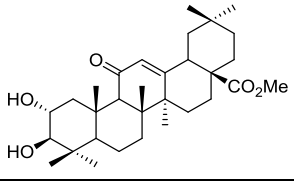
Triterpenoides:

[1] **[2]** **[3]**

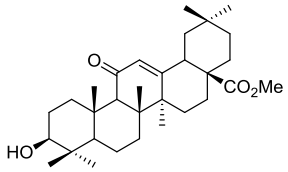




[4] **[5]** **[16]**

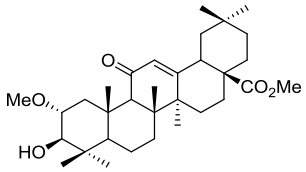




Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

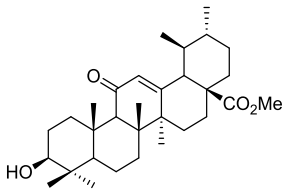
[17]



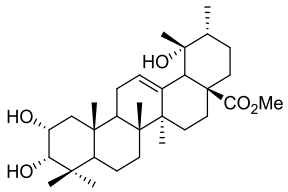
[18]



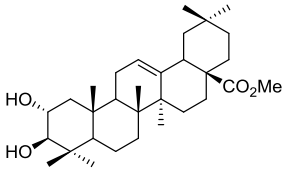
[19]



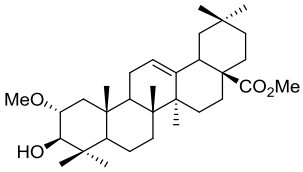
[20]



[21]



[22]

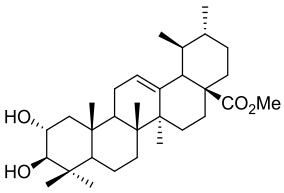


[23]

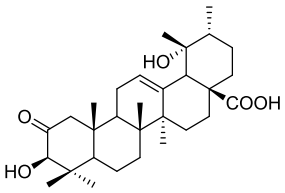
[24]

[25]

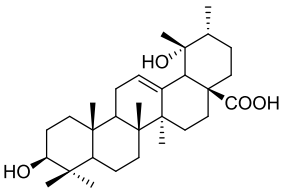
[26]



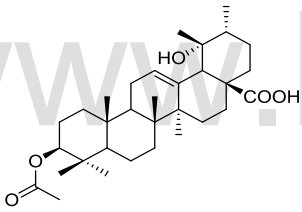
[27]



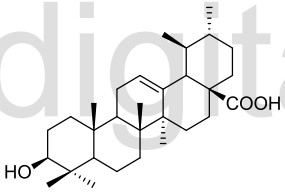
[28]



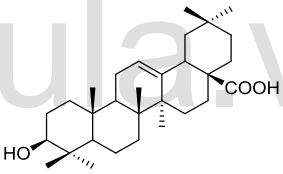
[29]



[30]

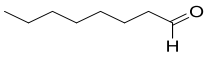


[74]

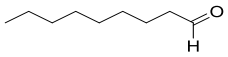


www.bdigital.ula.ve

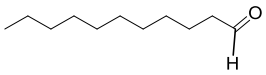
Compuestos grasos:



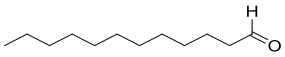
[34]



[43]

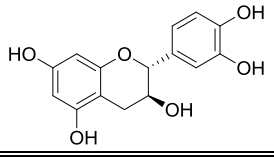


[53]

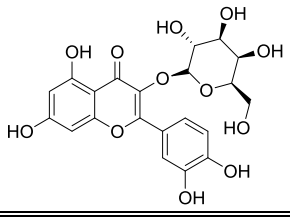


[56]

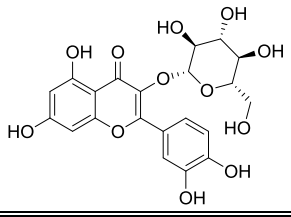
Flavonoides:



[6]

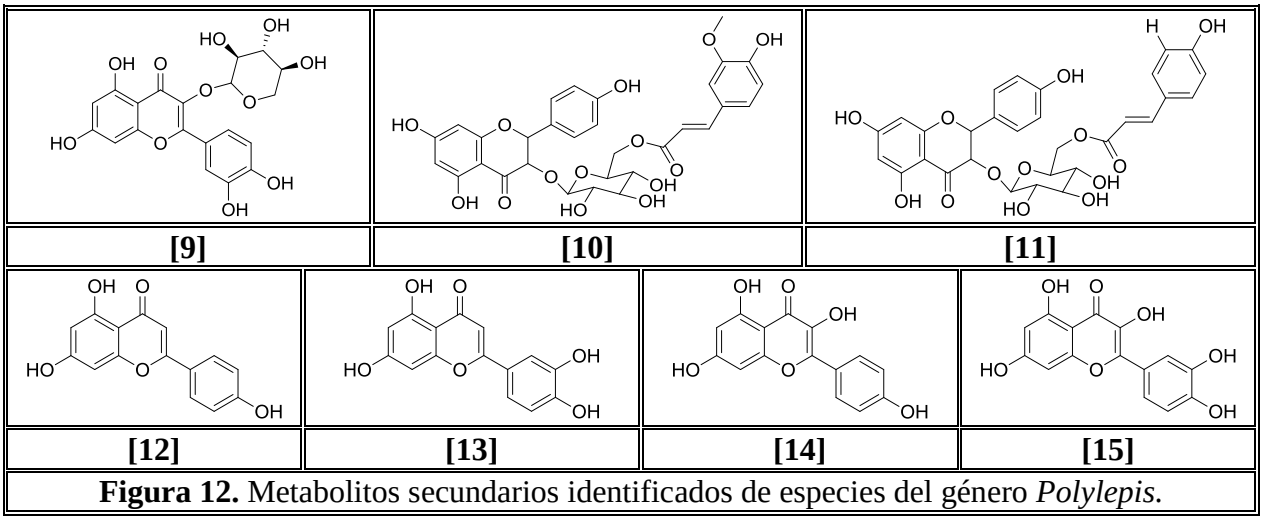


[7]



[8]

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual



[9]	[10]	[11]

[12]	[13]	[14]	[15]

Figura 12. Metabolitos secundarios identificados de especies del género *Polylepis*.

En base a la bibliografía, el género biosintetiza una serie de metabolitos secundarios, entre los cuales destacan los flavonoides y triterpenoides aunque también se han reportado quinonas, taninos, esteroides, alcaloides, glicósidos, entre otros, por lo tanto, es necesario dar un repaso de cada uno de estos metabolitos secundarios.

2.2. METABOLITOS SECUNDARIOS. GENERALIDADES.

www.bdigital.ula.ve

A continuación, se dará una breve reseña descriptiva sobre los tipos de metabolitos secundarios presentes en el género *Polylepis*.

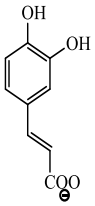
2.2.1. FENILPROPANOIDES.

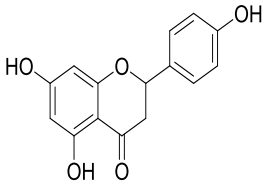
Los fenilpropanoides son una clase de metabolitos secundarios de plantas que constan de 6 carbonos (grupo fenilo) y una cadena lateral propanoide. Flavonoides, monolignoles (precursores de lignina) y ácidos fenólicos, son los grupos más comunesencasi en todas las plantas. Estos compuestos tienen funciones importantes en plantas como antibióticos, pesticidas naturales, moléculas de señal para la interacción de rizobios simbióticos con las raíces de las plantas, atrayentes para polinizadores, agentes protectores contra la luz UV y material estructural para la estabilidad de las plantas (Hyskova y Kyslava, 2019).

Por otro lado, los compuestos fenólicos son los antioxidantes dietéticos más extendidos; la tendencia a ver muchos alimentos no solo como sustento sino también como medicina, llamada comida funcional, está aumentando. Todos los compuestos fenólicos que poseen anillos aromáticos unidos a grupos hidroxilo, son potentes antioxidantes con potenciales *redox* generalmente altos. Estos potenciales les permiten actuar como agentes

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

reductores, donantes de hidrógeno, carroñeros radicales y extintores de oxígeno singlete. Además, ellos tienen una capacidad quelante de metales. Por lo tanto, los compuestos fenólicos desempeñan un papel importante en la eliminación de subproductos nocivos (especies reactivas de oxígeno, ROS) formadas durante la respiración celular aeróbica normal y especialmente en estrés oxidativo en condiciones patológicas (Hyskova y Kyslava, 2019).





Ácido caféico (Antioxidante)	**Naringenina (Antimicrobiano)**

Figura 13. Ejemplos de fenilpropanoides: ácido caféico y naringenina.

2.2.1.1. Flavonoides.

Flavo proviene del latín *flavus* y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro; y flavonoide se refiere a un grupo de pigmentos heterocíclicos aromáticos que contienen oxígeno, ampliamente distribuido entre las plantas, responsables de la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las hojas y frutas (Escamilla y colaboradores, 2009). Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana (Martínez *et al.*, 2014).

Son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 1' al 6' (figura 14). En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

- Flavanos, como la catequina (con un grupo -OH en posición 3 del anillo C).
- Flavonoles, representados por la quercitina (posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C).
- Flavonas, como la diosmetina (poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3).
- Antocianidinas (tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C). (Martínez *et al.*, 2014)

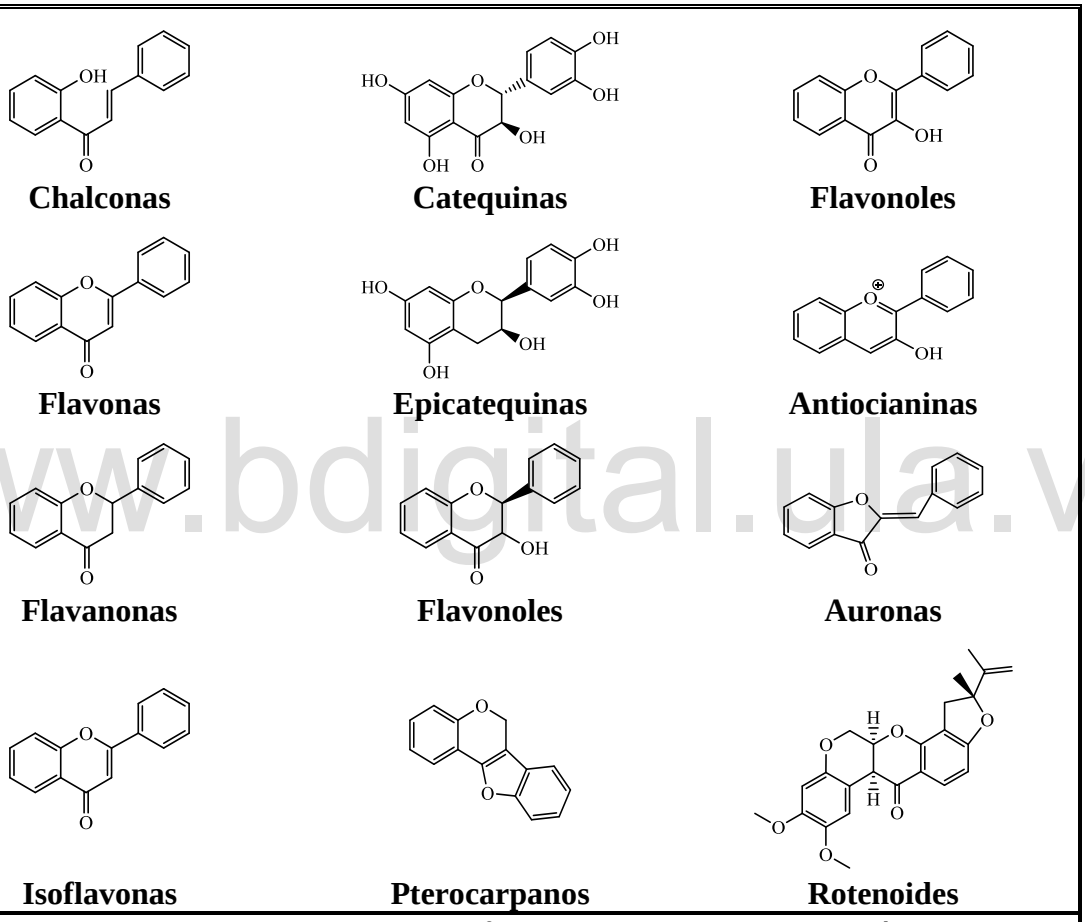


Figura 14. Esqueletos principales de los flavonoides. Tomada de: (Martínez, 2005).

www.bdigital.ula.ve

2.2.1.2. Taninos.

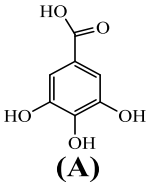
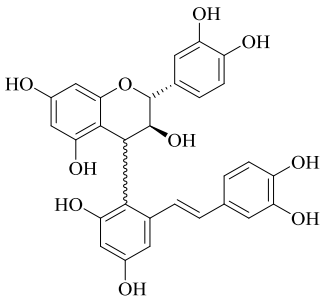
El proceso de conversión de las pieles animales en cueros durables utilizando extractos de plantas en regiones mediterráneas data de al menos 2000 años atrás. Este proceso se conoce como curtiembre (tanning), con lo cual se popularizó y estableció el uso del término

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

"tanino" en la literatura científica. Hace más de cien años atrás, Trimble comentó: "los taninos ocupan una parte de la línea fronteriza en ciencias entre la botánica y la química". Aunque la importancia de los taninos vegetales en diversas disciplinas científicas ha sido reconocida, no es fácil dar una definición firme. Probablemente la definición más simple, concisa y aceptable sigue siendo "Compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones fenólicas usuales, tienen propiedades especiales tales como la habilidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas." Muchos aún prefieren el término taninos vegetales, simplemente debido a su falta de precisión. Sin embargo, terminológica y científicamente, se recomienda el término "polifenoles vegetales" como descriptor para estos metabolitos secundarios de plantas superiores, si se quieren interpretar seriamente sus diversas características y aplicaciones a nivel molecular (Isaza, 2007).

Ahora es posible describir en términos amplios la naturaleza de los polifenoles vegetales. Son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en varios sectores del reino de las plantas superiores, especialmente en las familias Leguminosae, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Rhyzophoraceae, Myrtaceae y Melastomataceae. Se distinguen por las siguientes cinco características generales: a) solubilidad en agua, b) masa molecular entre 500 y 3000-5000, c) estructura y carácter polifenólico (12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de masa molecular relativa), d) complejación intermolecular (astringencia) y e) características estructurales (dos motivos estructurales mayores, proantocianidinas o taninos condensados y taninos hidrolizables, más un tercer grupo minoritario, los florotaninos (Isaza, 2007). En la figura 15 se muestran ejemplos de las estructuras de taninos.

www.bdigital.ula.ve

 **(A)**	 **(B)**
(A) Ácido gálico	(B) Proguibourtinidina

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

(tanino hidrolizable)	(tanino condensado)
Figura 15. Ejemplos de taninos. (Isaza, 2007).	

2.2.2. TERPENOIDES.

Un gran número de sustancias vegetales están incluidas en este grupo de metabolitos secundarios o productos naturales denominados terpenoides. Quizás es el grupo más numeroso, con varios miles de estructuras descritas. Todas tienen el mismo precursor biosintético (isopentenil-PP) y tienen como unidad estructural básica a la molécula de isopreno, de cadena abierta, ramificada e insaturada:

Isopreno =

Sus esqueletos carbonados se forman por la unión de dos o más de estas unidades de 5 C, de ahí que también se los denomina isoprenoides. Se los clasifica según la cantidad de unidades de isopreno que contengan en su estructura (tabla 7). Cada una de estas clases de terpenoides tiene importancia en diversos aspectos tales como: crecimiento de las plantas, el metabolismo, o en funciones ecológicas de las plantas (Ringuelet y Viña, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 7. Principales clases de terpenoides en las plantas (Ringuelet y Viña, 2013).

Unidades de isopropeno	**C_n**	**Nombre o clase**
1	5	Hemiterpenos
2	10	Monoterpenos
3	15	Sesquiterpenos
4	20	Diterpenos
5	25	Sesterterpenos
6	30	Triterpenos
8	40	Tetraterpenos
N	n > 40	Politerpenos

2.2.2.1. Triterpenos.

Poseen una estructura cíclica compleja, son ópticamente activos y generalmente difíciles de caracterizar por su falta de reactividad química. Han sido identificadas y caracterizadas muchas moléculas triterpenoides pero muy pocos tienen amplia distribución. Los que responden a la estructura típica de C_{30} se los denomina triterpenos verdaderos. Un ejemplo es la β-amirina y su derivado: ácido oleanólico (figura 16). Éstos se encuentran en los revestimientos cerosos de las hojas y frutos de manzanas y peras. Otros ejemplos de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

triterpenoides son los glicósidos cardíacos o cardenólidos, estudiados por su actividad farmacológica, específicamente sobre la función cardíaca (Ringuelet y Viña, 2013).

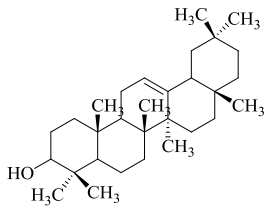
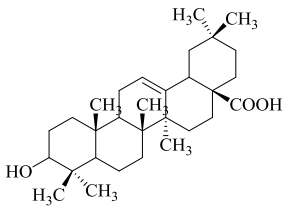
	
β-Amirina	Ácido oleanólico

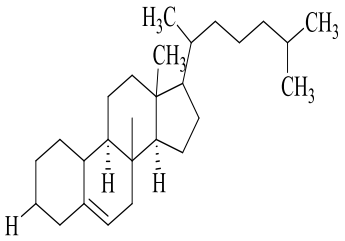
Figura 16. Ejemplos de triterpenoides. (Ringuelet y Viña, 2013)

2.2.2.2. Esteroides.

Con el término "esteroides" se denomina a un grupo de sustancias que poseen el núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno, que puede o no presentar una cadena lateral en C-17, así como los metilos angulares en C-10 y C-13. Aunque esta clasificación puede traer confusiones en cuanto al tipo de sustancias presentes, pues no indica diferencias estereoquímicas en la fusión de los anillos o en la cadena lateral, se designa con este término a los derivados al menos en principio, del lanosterol y por ello es frecuente encontrar incluidos en este grupo los ácidos cólicos, los espirostanoles, los bufanólidos y cardanólidos así como otros esteroles: furostanos, ergostanos y estigmastanos. Sin embargo, se prefiere designar como "esteroides" a los derivados de pregnano, androstano, estrano y gonano, y a los restantes como "esteroles" (Marcano y Hasegawa, 2018).

Debido a la importancia farmacológica de estos compuestos, pues comprenden sustancias vitales: hormonas sexuales, vitamina D, hormonas corticoides, compuestos cardiotónicos, hormonas de muda de los insectos, antibióticos, toxinas y otros, se ha desarrollado un gran número de análogos sintéticos con intenciones, entre otras cosas, de suplantar, modificar, o comprobar las estructuras de aquéllos aislados de La Naturaleza. Uno de los esteroides más conocidos es el colesterol (figura 17), el cual fue el esterol más conocido y mediante el cual se inició el estudio químico de los esteroides (Marcano y Hasegawa, 2018).

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual



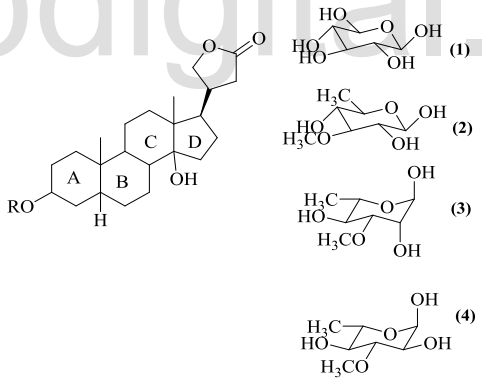
Colesterol

Figura 17. Estructura del colesterol. (Marcano y Hasegawa, 2018)

2.2.2.2.1. Glicósidos cardiotónicos.

Los glicósidos cardiotónicos (figura 18) poseen una estructura esteroidal que se caracterizan por llevar en el C-17 un anillo de lactona no saturado. Los cardenólidos tienen específicamente un anillo pentagonal con un doble enlace conjugado con el grupo carbonilo. Además, y como parte de la denominada aglicona, incluyen en la posición 3 moléculas de azúcar como sustituyentes, siendo las más comunes, la glucosa y los 6-desoxiazúcares (ramnosa, mucosa, digitalosa y thevetosa (Villa y colaboradores, 2011).

www.bdigital.ula.ve



R= **(1)** β-*D*-glucosa, **(2)** β-*D*-digitalosa, **(3)** α-*L*-rhamnosa, **(4)** α-*L*-thevetosa.

Figura 18. Estructura general de un glicósido cardiotónico. (Villa y colaboradores, 2011)

2.2.3. ALCALOIDES.

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos (figura 19) que generalmente se sintetizan a partir de aminoácidos, tales como triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina, solos o combinados con terpenoides. Los alcaloides se pueden dividir en los siguientes grupos: isoquinoléicos, quinolizidínicos, pirrolizidínicos, tropánicos y indólicos. (Sepúlveda y colaboradores, 2003).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

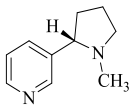
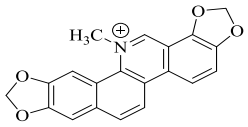
 **(A)**	 **(B)**
Nicotina	Sanginarina

Figura 19. Ejemplos de alcaloides. (Sepúlveda y colaboradores, 2003).

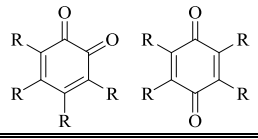
2.2.4. QUINONAS.

Las quinonas son un grupo de sustancias orgánicas coloreadas y semivolátiles, omnipresentes en La Naturaleza y derivados de compuestos aromáticos como el benceno, naftaleno y antraceno. La estructura de las quinonas tiene dos grupos carbonilos en un anillo insaturado de seis átomos de carbono, ubicado relativamente en posiciones "*orto*" (adyacentes) o "*para*" (opuestos). Utilizando como criterio el tipo de sistema aromático que contiene el anillo, las quinonas se clasifican como benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y fenantraquinonas (Tabla 8).

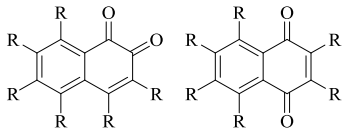
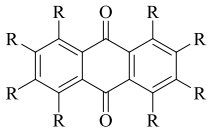
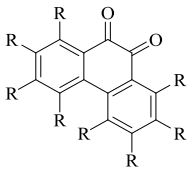
Estas sustancias se forman biogénicamente a través del metabolismo, oxidación de compuestos endógenos como catecolaminas, estrógenos y xenobióticos, así como también se originan directamente de la combustión incompleta de la materia orgánica, especialmente combustibles fósiles. Además, las quinonas son formadas en la atmósfera a través de la fotooxidación de hidrocarburos policíclicos (Teixeira y Andrade, 2012).

www.bdigital.ula.ve

Tabla 8. Clasificación de las quinonas según el sistema cíclico.

Grupo	Sistema aromático	Estructuras básicas
Benzoquinonas	Anillo de benceno.	

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Naftoquinonas	Anillo naftalénico.	
Antraquinonas	Anillo antracénico.	
Fenantraquinonas	Anillo fenantrénico.	

(Teixeira y Andrade, 2012).

2.3. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN.

La extracción es una de las operaciones básicas del laboratorio; Se define como la acción de separación de una mezcla de sustancias por disolución de cada componente, sirviéndose de uno o varios disolventes, donde siempre se obtienen por lo menos dos componentes: la solución extraída en su disolvente (solución extraída) y su residuo. Se pueden realizar desde los tres estados de la materia, y se llaman de la siguiente manera: extracción sólido−líquido; extracción líquido−líquido y extracción gas−liquido (Adrianzén, y colaboradores, 2018).

www.bdigital.ula.ve

2.3.1. EXTRACCIÓN SÓLIDO−LÍQUIDO.

Es la más utilizada y se emplea cuando la sustancia que se desea extraer está contenida en un material sólido, junto con otros componentes, los cuales deberán ser prácticamente insolubles en el disolvente utilizado. Es muy usada para aislar sustancias naturales de origen vegetal. Existen varias técnicas que utilizan este principio: extracción sólido-líquido breve (percolado); extracción sólido-líquido en reposo (macerado), y extracción sólido-líquido continua (soxhlet) (Adrianzén y colaboradores, 2018).

2.3.1.1. Extracción sólido-líquido continua (soxhlet).

Para este tipo de extracción se suelen emplear un equipo Soxhlet (figura 20), que es un aparato de extracción continua, la cual se efectúa en un aparato que consta de un matraz de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

fondo plano, un cuerpo extractor y un refrigerante. En el cuerpo extractor **A** se coloca el material vegetal seco y molido, generalmente envuelta en un material poroso que permita el contacto con el disolvente **B**. En el matraz **C** de fondo plano se coloca el disolvente orgánico (con piedras de ebullición), se lleva a ebullición y los vapores del disolvente ascienden por el tubo lateral **D** y llegan al refrigerante **E** donde condensan y caen sobre el recipiente con el material vegetal **B** situado en el cuerpo extractor. Cuando el cuerpo extractor se llena de líquido extractivo, éste se vacía por el sifón lateral interno **F** y desemboca en el matraz inferior por el desahogo **G**. El disolvente se va reciclando durante el proceso mientras que los principios activos se van concentrando en el matraz inferior (Adrianzén y colaboradores, 2018).

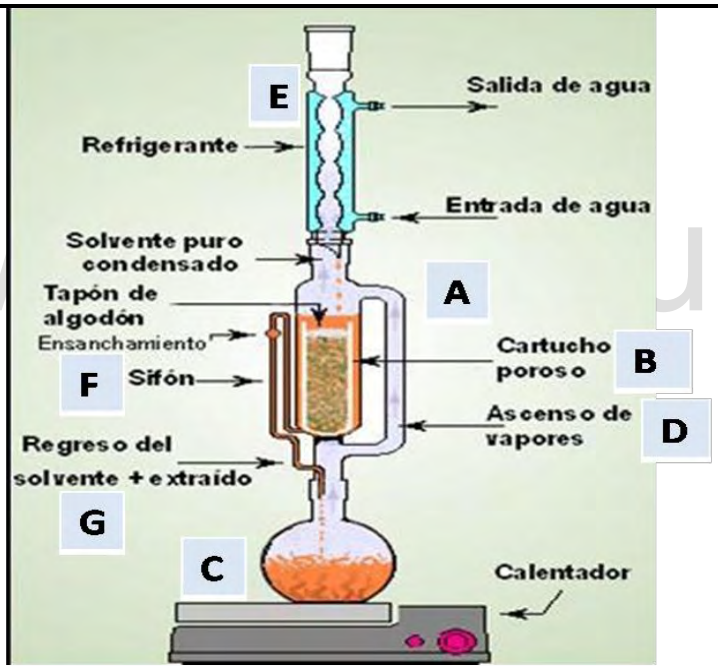


Figura 20. Equipo de extracción sólido-líquido (soxhlet) utilizado para la extracción.

www.ula.ve

2.3.1.2. Extracción sólido-líquido en reposo (macerado).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Es un método de extracción siendo la materia prima el material vegetal que contiene los principios activos solubles en el solvente que se emplea. Se generan dos productos que pueden emplearse de acuerdo al objetivo de su uso: el sólido sin los principios activos y el propio extracto; para lograrlo se coloca el material vegetal en forma de trozos o polvo según sea la conveniencia, en un recipiente lleno del solvente adecuado y se deja reposar por tres o más días, con agitación frecuente hasta completar la extracción del material vegetal. Una vez transcurrido ese período de tiempo, se filtra la solución por gravedad y el filtrado se concentra a sequedad, generalmente a presión reducida (Arroyo y Hernández, 2016).

2.3.1.3. Extracción sólido-líquido breve (percolado).

La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento, seguida por la extracción exhaustiva de los principios activos de la planta. El percolador es un recipiente cónico con una abertura superior en la cual se puede colocar una tapa circular horadada que permite el paso del líquido y se somete a una ligera presión a los materiales colocados en él. El material seco y molido se coloca dentro de un embudo buchner (dotado con papel de filtro) adosado a un kitasato. Con el sistema de vacío abierto, se le adiciona suficiente solvente para cubrir el material vegetal y luego se le aplica vacío hasta que deje de gotear el líquido del embudo. El procedimiento puede repetirse de ser necesario. El filtrado se concentra a sequedad, generalmente a presión reducida (Naveda y Ruales, 2010).

www.bdigital.ula.ve

2.3.2. EXTRACCIÓN LÍQUIDO−LÍQUIDO (LLE).

La extracción líquido-líquido (LLE), también conocida como extracción con solvente, es un sistema ternario típico en química, que separa los productos químicos de una solución a otra en función de la diferencia de solubilidad del soluto químico entre dos solventes. Tres componentes están involucrados en el proceso de LLE: soluto, diluyente y extractante. El soluto, que se disuelve en diluyente, se extrae del diluyente y se disuelve en otro diluyente, el extractante. Un proceso típico de LLE es el siguiente. El soluto A representa impurezas; soluto B representa el componente a separar del diluyente y/o soluto A. Hay tres pasos involucrados en el proceso. El primer paso es la adición del extractante, que debe ser inmiscible con diluyente, donde los solutos (A y B) se disuelven. El segundo paso es

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

mezclar estos dos solventes. La interfaz entre el extractante y el diluyente pueden mejorarse significativamente mezclando; más comúnmente ya sea el extractante o el diluyente forma gotas debido a la tensión superficial. Los solutos (A y B) tienen la oportunidad de elegir el solvente huésped según su diferente solubilidad en extractante y diluyente. En una extracción bien diseñada el sistema debe tener el soluto B disuelto principalmente en el extractante, mientras que el soluto A permanece con el diluyente. El último paso es colocar en capas el extractante y el diluyente. En esta etapa, es fácil separar el soluto B del soluto A simplemente separando el extractante del diluyente. El soluto B puede recuperarse del extractante mediante otros métodos como la destilación o la evaporación simple (Zhang y Hu, 2013).

Se deben considerar múltiples factores al aplicar el proceso LLE. Determinar la mejor manera de elegir un extractor suele ser la clave para el diseño exitoso de la separación LLE, Los requisitos para los extractantes son:

- El extractante debe tener una selectividad específica para el soluto de modo que la mayoría del soluto deseable pueda ser disuelto en el extractor del diluyente, y viceversa para compuestos indeseables.
- El soluto se debe separar fácilmente del extractor después del LLE.
- Una alta relación de partición es otra propiedad que permite la separación efectiva de un compuesto deseable del diluyente.
- El extractor debe tener una alta solubilidad para el soluto objetivo y baja solubilidad para el diluyente.
- El extractante debe tener una densidad diferente de los diluyentes para facilitar la estratificación.
- Alta tensión interfacial debe estar presente para una rápida coalescencia de las gotas extractoras después de la agitación.
- Se necesita baja toxicidad para el extractante y los diluyentes para uso industrial (Zhang y Hu, 2013).

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.4. TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA LA SEPARACIÓN DE COMPUESTOS.

Cromatografía significa "Escribir en Colores" [del griego cromos (color) y grafe (escribir)]. Debe su nombre al biólogo ruso Mikhail Tswett primera persona que utilizó esta técnica (1906) al separar una mezcla de pigmentos naturales. Se entiende por cromatografía al conjunto de técnicas analíticas que se fundamentan en la separación que se produce cuando una mezcla de compuestos es arrastrada por una fase móvil a lo largo de una fase estacionaria. La técnica cromatográfica de purificación consiste en separar mezclas de compuestos en función de su diferente afinidad entre una fase estacionaria y una móvil (figura 21). Todas las técnicas cromatográficas dependen de la distribución de los componentes de la mezcla entre dos fases inmiscibles, una de ellas llamada fase activa o fase móvil, que transporta las sustancias que se separan, y que progresa en relación a otra fase llamada fase estacionaria (López *et al.*, 2005).

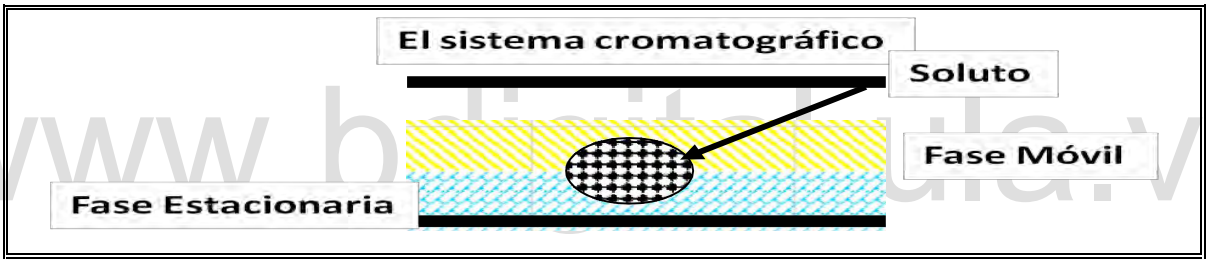


Figura 21. Representación del sistema cromatográfico. (López *et al.*, 2005).

www.bibdigital.ula.ve

2.4.1. CLASIFICACIÓN DE LOS PROCESOS CROMATOGRÁFICOS.

La fase móvil puede ser un líquido o un gas. La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido. Teniendo en cuenta la naturaleza de la fase estacionaria se establece la siguiente clasificación.

- Cromatografía de adsorción.
- Cromatografía de partición o reparto.
- Cromatografía de exclusión por tamaño.
- Cromatografía de intercambio iónico.

2.4.1.1. Cromatografía de adsorción.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Existen ciertas sustancias sólidas, químicamente inertes, que tienen la propiedad de adsorber o fijar débilmente en su superficie a una gran cantidad de compuestos. La fortaleza con la que se adsorben las sustancias sobre un adsorbente dado varía de un compuesto a otro. Entre los adsorbentes más usuales: sílice Gel (óxido de silicio), alúmina (óxido de aluminio), celulosa, fluorosil (silicato de magnesio) y sulfato de calcio. La separación se realiza por la diferente tendencia de adsorción de los compuestos orgánicos por la fase estacionaria. La fase móvil desplaza y disuelve a los componentes de la mezcla según sea su afinidad por la fase estacionaria, es decir, los componentes más polares estarán adsorbidos con más fuerza y serán más difíciles de separar de la fase estacionaria que los componentes poco polares. Los menos polares no presentan una interacción importante con la fase estacionaria (gel de sílice) y no serán retenidos (López *et al.*, 2005).

En un proceso de adsorción los componentes de la mezcla son adsorbidos por la fase estacionaria con diferente intensidad de tal forma que el proceso adsorción-desorción hace que unos componentes avancen más rápidamente que otros. La adsorción es un proceso de superficie mientras que la absorción es la penetración de una sustancia en el seno de otra (al escribir el papel adsorbe tinta mientras que la esponja absorbe agua). En cualquier fenómeno de adsorción influyen tres variables independientes: el adsorbente, el disolvente y las sustancias a cromatografíar. Por tanto, sí una molécula tiene una gran afinidad pasará muy lentamente mientras que otro componente con menos afinidad lo hará más rápidamente. La regla general es elegir la polaridad del disolvente análoga a la de la muestra a emplear y en la mayoría de los casos adsorbentes poderosos (activos) para sustancias no polares y adsorbentes con menos actividad para sustancias más polares (López *et al.*, 2005). La fase estacionaria es un sólido sobre el que se adsorben los componentes de la muestra y se subdivide en:

- Cromatografía Líquido – Sólido CLS (fase móvil líquido).
- Cromatografía Gas – Sólido CGS (fase móvil gas).
- Cromatografía en Capa Fina CCF (fase estacionaria sólida en forma plana y la móvil líquida) (López *et al.*, 2005).

2.4.1.1.1. Cromatografía de adsorción en columna.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

La cromatografía líquido–sólido utiliza columnas huecas verticales de vidrio cerradas en su parte inferior con una llave que permite la regulación del flujo de la fase móvil, como fase estacionaria se emplean básicamente dos adsorbentes, gel de sílice y alúmina. La técnica consiste en rellenar la columna con el adsorbente elegido que debe sedimentar sin que se produzcan canales o grietas. En la parte superior de la columna se coloca la mezcla a separar, llamada *cabeza de la columna* que se obtiene mezclando el adsorbente con la muestra con el eluyente (fase móvil) que va a ser utilizado en el proceso de separación. Se deja que el eluyente empiece a descender por la columna ya sea por gravedad o a presión (cromatografía flash). Se produce la adsorción de los componentes con diferentes intensidades logrando que unos avancen más que otros (figura 22). En la parte inferior de la columna se recogen las diferentes fracciones cromatográficas que se analizan y agrupan en función de sus características (López *et al.*, 2005).

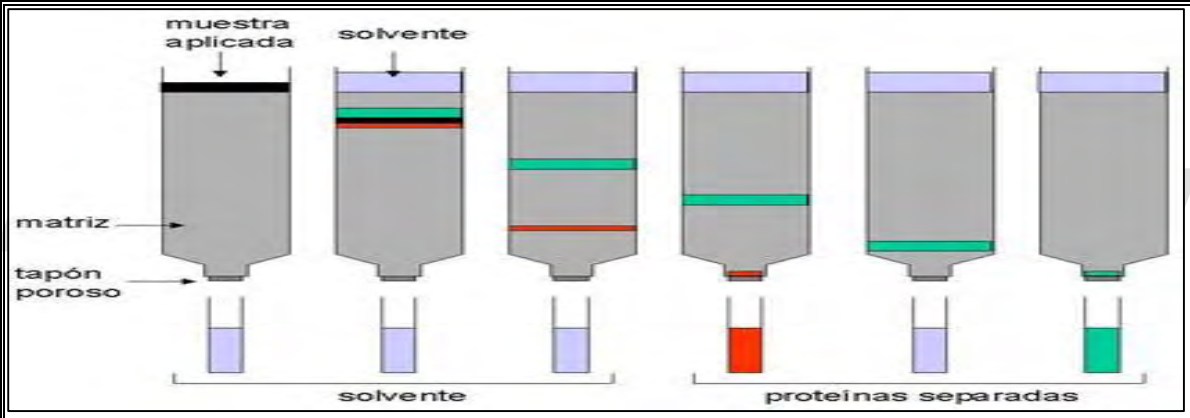


Figura 22. Representación del sistema de cromatografía de adsorción en columna. (López *et al.*, 2005)

El rendimiento del proceso depende básicamente de la preparación de la columna y del proceso de elución. El relleno de la columna puede ser en seco o en húmedo. El seco tiene el inconveniente de que pueden aparecer burbujas de aire en la columna que son difíciles de eliminar. También hay que tener presente que los adsorbentes al empaparse de los eluyentes aumenta su volumen y pueden romper la columna. El relleno húmedo evita los problemas anteriores y consiste en llenar la columna en forma continua con una mezcla de adsorbente con el eluyente a utilizar de menor polaridad. La cantidad de adsorbente a emplear es de

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

20–25 gramos de adsorbente por cada gramo de mezcla a separar. Este es el tipo de cromatografía más utilizado en Química Orgánica (López *et al.*, 2005).

2.4.1.1.2. Cromatografía en capa fina (CCF).

La técnica de Cromatografía en Capa Fina CCF (TLC, sus siglas en inglés Thin Layer Cromatography) es una adaptación especial de la cromatografía de adsorción muy utilizada en Química Orgánica ya que entre otras cosas permite:

- Determinar el grado de pureza de una muestra.
- Comparar muestras.
- Hacer el seguimiento de una reacción química.
- Controlar el contenido de las fracciones obtenidas por cromatografía en columna.
- Determinar las condiciones más adecuadas para una cromatografía en columna.

La fase estacionaria consiste en una fina capa delgada de gel de sílice o alúmina adherida a un soporte de vidrio, aluminio o materiales plásticos con un grosor que puede oscilar entre 1 hasta 0,1–0,2 mm. Para realizar la cromatografía se aplica la muestra disuelta en la parte inferior de la placa, y a 1 cm del borde de la misma, con la ayuda de un capilar. Las muestras se deben colocar entre 1-1,5 cm del extremo de la placa de tal forma que al ponerla en contacto con el disolvente que se encuentra en la cubeta no cubra la muestra. El cromatograma se introduce verticalmente en un recipiente cerrado llamado cubeta de cromatografía o tanque de desarrollo, que contiene en su fondo una pequeña cantidad del eluyente que se vaya a usar (fase móvil) dejando que el disolvente ascienda por capilaridad. Las sustancias que forman parte de la muestra se adhieren a la fase estacionaria o son arrastradas con la fase móvil, viajando una distancia que es inversamente proporcional a su afinidad por la fase estacionaria. Cuando el eluyente ha ascendido hasta casi el borde superior de la placa, se saca, y se observan las señales (figura 23). Muchas veces las sustancias desarrolladas por este método, al no ser coloreadas, no son visibles. Para hacerlas visibles se utiliza luz ultravioleta entre 240–370 nm. Para hacer visibles aquellas señales que no se detectan a la luz UV ni son coloreadas, se procede al revelado de la placa usando un revelador destacando entre los más usuales el yodo y el oleum [mezcla de ácido sulfúrico (4%) ácido acético (80%) y agua (16%)] (López *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

El revelado consiste en pulverizar el cromatograma con la especie reveladora y posterior calentamiento en una estufa alrededor de 100 ºC, lográndose de esta manera la carbonización de los compuestos orgánicos. El cromatograma una vez revelado nos presenta mediante manchas el grado de pureza de la muestra o el número de compuestos presentes en ella (López *et al.*, 2005).

Figura 23. Cromatograma. (López *et al.*, 2005)

www.bdigital.ula.ve

2.4.1.1.3. Cromatografía en capa fina bidimensional (CCF-2D).

Cuando las mezclas a analizar son complicadas la cromatografía unidireccional sólo nos conduce a una separación parcial. Para conseguir una mejor separación de las manchas se utiliza la TLC bidimensional. La técnica consiste en realizar una CCF normal, pero colocando la muestra en una esquina del cromatograma y eluyendo dicha placa con un disolvente A. Cuando el eluyente ha llegado al extremo superior de la placa se saca y se seca. A continuación, se gira la placa 90º y se vuelve a cromatografíar utilizando otro eluyente B. El empleo de un disolvente con características diferentes al primero permite aumentar el recorrido de las sustancias facilitando la separación parcial de las señales. Después del segundo desarrollo se saca la placa de la cubeta se seca y se revela con algún agente selectivo (figura 24). (López *et al.*, 2005).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

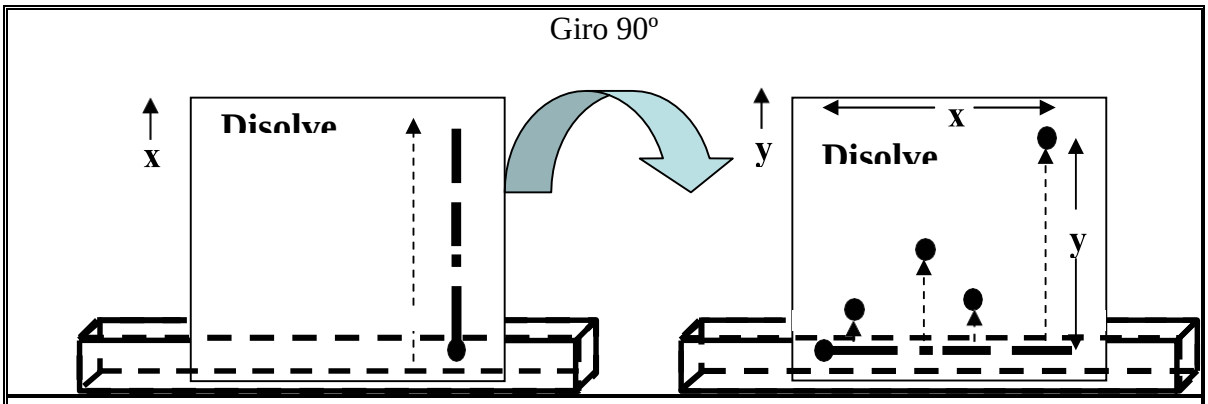


Figura 24. Representación de la cromatografía en capa fina bidimensional. (López et al., 2005)

2.4.1.1.4. Cromatografía en capa fina preparativa (CCFP).

La cromatografía en capa fina también se puede usar con fines cuantitativos para separar pequeñas cantidades de un compuesto. Las separaciones preparativas se realizan en placas estándar de 20x20 cm (algunas veces en placas de 20x40 cm) más gruesas y el volumen de la muestra también debe ser mayor (alrededor de 10 mL). La muestra se aplica en forma de banda lineal mediante una pipeta pasteur o con un capilar. Para la TLC preparativa podemos utilizar todos los sistemas de disolventes que hemos descrito para la TLC analítica obteniendo los mismos resultados. Una vez realizada la cromatografía, las bandas de interés se ponen de manifiesto utilizando una técnica no destructiva con el reactivo adecuado (luz UV, yodo o agua). La zona de la placa que contiene dicha banda es raspada y recuperada en un matraz y extraída con el disolvente adecuado. Finalmente, el disolvente es evaporado para la recuperación del soluto (López *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve

2.4.1.1.5. Cromatografía liquida de alta eficiencia (HPLC).

Técnica muy utilizada para el análisis de compuestos orgánicos pesados como pesticidas, aromáticos polinucleares, fármacos, vitaminas, alimentos etc. Cromatografía de adsorción conocida como HPLC (siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography) o Cromatografía Líquida de Alta Precisión o Resolución. Es una variante de la cromatografía en columna donde la fase estacionaria está formado por partículas muy pequeñas, en forma esférica, que hace que el empaquetamiento de la columna sea muy compacto. La disminución del tamaño de los poros que forman la fase estacionaria hace

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

que la cromatografía sea muy lenta debido a la pérdida por carga, por lo que hay que instalar a la entrada de la columna un sistema de bombeo que tiene dos finalidades:

- Superar la resistencia del relleno.
- Aportar un flujo de fase móvil que puede ser controlado a lo largo de toda la cromatografía.

En estas condiciones se consigue acortar el tiempo de análisis de las columnas de gravedad. Una cromatografía por HPLC puede tener un poder de separación miles de veces superior al de una columna simple. Las partículas de relleno suelen ser microesferas de sílice, alúmina o resina cuyo diámetro oscila entre 3–25 µm (micras). Las columnas de HPLC son de acero inoxidable, con un diámetro interno de 2–5 mm y una longitud variable de 10–30 cm dependiendo del diámetro de las micropartículas de relleno. El flujo a presión se aplica entre 1500–800 psi bidimensional (López *et al.*, 2005).

En la cromatografía HPLC, como en cualquier tipo de cromatografía, se distinguen una fase estacionaria y una fase móvil. Como ambas compiten con las moléculas del soluto serán de polaridades diferentes. Si la fase móvil la integran compuestos orgánicos poco polares, la fase estacionaria será relativamente polar. La técnica derivada de esta situación se llama de fase normal por ser la modalidad más usual de la HPLC. Si la fase móvil la forman líquidos acuosos o polares y la fase estacionaria es poco polar o apolar, la técnica se llama de *fase inversa* (cada vez más usada) bidimensional (López *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve

2.4.1.1.6. Cromatografía Gas–Sólido (CGS).

Técnica cromatográfica que se utiliza para separar compuestos orgánicos volátiles como hidrocarburos, alcoholes, disolventes, ácidos grasos, etc. La fase estacionaria es un sólido y la fase móvil un gas inerte. (López *et al.*, 2005).

2.4.1.2. Cromatografía de partición o reparto.

Técnica donde la separación selectiva de los componentes se produce por el diferente grado de solubilidad que estos puedan tener con las dos fases participantes. Es decir, como si se estuviese produciendo un elevado número de extracciones. Por ello, las fases tienen que ser inmiscibles entre sí y el soluto sufre un equilibrio de partición entre ambas que

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

queda definido por una constante K, llamada "coeficiente de reparto", cuyo valor depende para una fase estacionaria determinada y para una fase móvil dada, de la naturaleza del soluto a aislar, lo que origina las diferencias en la retención y la consiguiente separación. El soluto se reparte entre el líquido de la fase estacionaria y la fase móvil, por diferencia de solubilidad, hasta alcanzar el equilibrio (López *et al.*, 2005).

La técnica cromatográfica consiste en disponer de una columna de tal forma que su contenido sea capaz de establecer fuerzas de retención hacia una sustancia, a la vez que un disolvente que pasa continuamente por esa columna sea capaz de establecer fuerzas de disolución hacia ese soluto. Lógicamente, para que la fase estacionaria se mantenga dentro de la columna debe estar formando una delgada película sobre un soporte inerte. En este tipo de cromatografía se debe controlar la temperatura y los volúmenes de ambas fases (estacionaria y móvil) ya que estos parámetros alteran la solubilidad y por tanto el coeficiente de reparto (López *et al.*, 2005).

La fase estacionaria es un líquido sostenido por un sólido inerte.

- Cromatografía Líquido–Líquido, CLL (fase móvil un líquido).
- Cromatografía Gas–Líquido, CGL (fase móvil un gas).
- Cromatografía en papel, CP (fase estacionaria es una capa de agua adsorbida sobre una hoja de papel) (López *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve

2.4.1.2.1. Cromatografía Líquido–Líquido (CLL).

La fase estacionaria es un líquido (generalmente agua) retenido sobre la superficie de un soporte sólido inerte y la fase móvil es otro líquido inmiscible con el retenido. En este caso la separación de los compuestos depende de la constante de solubilidad de la muestra entre ambas fases líquidas. (López *et al.*, 2005)

2.4.1.2.2. Cromatografía Gas-Líquido (CGL).

La fase estacionaria es un líquido retenido sobre la superficie de un soporte sólido y la fase móvil es un gas. En este caso la separación de los compuestos depende de la constante de solubilidad de la muestra entre la fase líquida y la fase gaseosa. Esta es la técnica conocida vulgarmente como cromatografía de gases CG (Cromatografía de reparto). (López *et al.*, 2005)

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.4.1.2.3. Cromatografía en papel (CP).

Es similar a la CCF, excepto en que como fase estacionaria se utiliza una capa de agua adsorbida sobre una hoja de papel (líquido retenido sobre un soporte sólido inerte). El papel contiene retenido alrededor de un 20 % de agua. El soporte general que se utiliza es papel Whatman número 1 y número 3 para separaciones analíticas y Whatman 3 mm para trabajos preparativos, no es estrictamente una cromatografía de adsorción sino una combinación de adsorción y reparto. El reparto se produce entre el agua que hidrata la celulosa de la fase estacionaria y la fase orgánica móvil. (López *et al.*, 2005)

La técnica consiste en colocar el papel (fase estacionaria) en una cubeta de vidrio colgándolo de un soporte. La fase móvil, colocada en el fondo de la cubeta (1–1,5 cm), entra en contacto con el papel sobre el cual, a 1 cm de distancia hemos colocado las muestras que deben ser arrastradas y separadas. Este tipo de cromatografía, llamada ascendente, se debe realizar en unas condiciones estándar de saturación previa de la fase estacionaria ya que el disolvente se puede evaporar del papel antes de que se produzca la separación y no se consiga el efecto deseado (figura 25). La técnica de cromatografía en papel se utiliza preferentemente cuando se trata de separar compuestos poli funcionales o muy polares como aminoácidos o azúcares. La técnica descendente es similar a la anterior y sólo se diferencia en que el papel es introducido por su parte superior en una canaleta donde hay una pileta para el disolvente. Las muestras colocadas en la parte superior del papel, a 1-1,5 cm de la canaleta, serán arrastradas hacia abajo por el eluyente (fase móvil). Los resultados de ambas técnicas son similares. En forma análoga a la TLC se pueden realizar cromatografías en papel tanto preparativa como bidimensional (López *et al.*, 2005).

www.bdigital.ula.ve

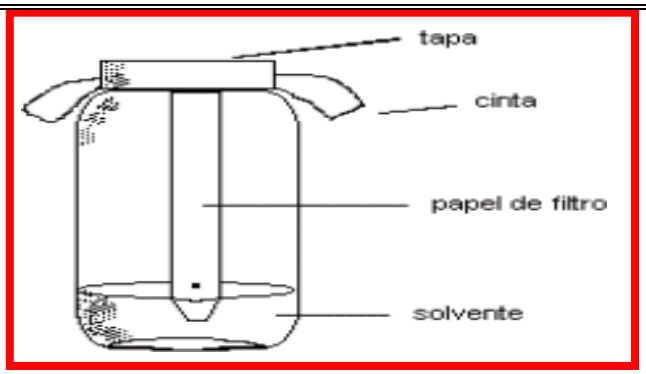


Figura 25. Representación de la cromatografía en papel. (López *et al.*, 2005)

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

2.4.1.3. Cromatografía de intercambio iónico.

Método muy utilizado en la separación de iones inorgánicos como nitratos (NO_3^-), sulfatos (SO_4^{-2}), separación y purificación de moléculas biológicas (proteínas) y en los procesos de desionización del agua. La técnica es muy similar a la utilizada en la cromatografía en columna y la separación se produce en función de la carga que posee el soluto (López *et al.*, 2005).

Fase estacionaria: resinas de intercambio iónico que tienen la propiedad de separar especies ionizadas (aniones o cationes).

Fase móvil: generalmente disoluciones amortiguadoras de pH.

La afinidad de los compuestos por los grupos cargados de la fase estacionaria está influida por el pH que determina su estado de ionización. El intercambiador iónico consiste en una matriz insoluble a la que se han unido covalentemente grupos cargados. Estos grupos cargados pueden ser reversiblemente intercambiados por otros iones de la misma carga sin alterar la matriz. Hay dos tipos de intercambiadores iónicos:

Intercambiador catiónico: Posee grupos cargados negativamente que atraen cationes (cargas positivas). También se les conocen como intercambiadores iónicos ácidos porque sus cargas negativas proceden de la ionización de sus grupos ácidos. Las resinas catiónicas presentan como grupos funcionales más frecuentes el sulfonato $-SO_3^-H^+$ y el carboxilato $-COO^-H^+$.

Intercambiador aniónico: Posee grupos cargados positivamente que atraen aniones (cargas negativas). También se les conocen como intercambiadores iónicos básicos ya que las cargas positivas que poseen resultan de la asociación de protones con grupos básicos. Las resinas aniónicas suelen contener grupos amonio cuaternario $-RN^+R_3$ ($-NH_3^+OH^-$) y ($-^+N(CH_3)_3OH^-$), se utilizan normalmente como fase móvil disoluciones acuosas tamponadas ya que las propiedades del agua contribuyen a la disociación de los grupos iónicos y al hinchamiento de la matriz efectos que aumentan el intercambio iónico. (López *et al.*, 2005)

2.4.1.4. Cromatografía de exclusión molecular.

También conocida como Cromatografía de filtración sobre gel, cromatografía de permeación sobre gel y cromatografía por tamaño molecular o por tamices moleculares. Es

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

un tipo especial de cromatografía que se utiliza en la separación de sustancias que poseen volúmenes o tamaños diferentes. La fase estacionaria, llamada malla molecular, está formada por partículas altamente porosas que permiten la separación de los componentes de la mezcla en función del tamaño de las moléculas. No existen interacciones entre la fase estacionaria y el soluto. Se separan por el tamaño de la partícula. Las especies más utilizadas como fase estacionaria se dividen en dos tipos:

Tipo Inorgánico: como las zeolitas sintéticas, por ejemplo, los tamices moleculares de Linde.

Tipo Orgánico: como geles y biogeles (polímeros orgánicos) por ejemplo, el Sephadex (polímero cruzado derivado del dextrano) Todas estas especies poseen cavidades o poros a través de los cuales las moléculas pueden pasar o ser retenidas (López *et al.*, 2005).

2.5. CARACTERIZACIÓN DE LOS COMPUESTOS..

Al confirmar la pureza de los productos aislados, se procederá a la identificación de cada uno de ellos o a la elucidación estructural en caso de tratarse de un nuevo compuesto, esto se realizará de acuerdo a las siguientes sub-etapas:

www.bdigital.ula.ve

2.5.1. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS.

Se le determinarán las constantes físicas (punto de fusión, punto de ebullición, índice de refracción, Rf, etc.) a cada uno de los productos aislados, esto para confirmar la pureza de los mismos y para su posterior identificación.

2.5.2. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICOS.

Los métodos espectroscópicos, son aquellos en los que existe intercambio de energía entre la radiación y la materia. En estos métodos se miden espectros, siendo éstos debidos a transiciones entre distintos niveles energéticos. Proporcionando datos complementarios acerca de la estructura molecular, además para la realización de los análisis la cantidad de muestra necesaria en muy pequeña (< 50 mg). Las técnicas espectroscópicas más utilizadas son:

- Espectroscopia de absorción infrarroja (IR).
- Espectrometría de masas atómicas (EM).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

- Espectroscopia de absorción molecular ultravioleta/visible (UV-Vis).
- Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN).

2.5.2.1. Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR).

Las moléculas no son estructuras rígidas, sino que en ellas los átomos están vibrando en todas las direcciones del espacio. Estas vibraciones son fundamentalmente de dos tipos (figura 26):

Vibraciones de tensión: se producen por movimiento oscilatorio de los átomos a lo largo del eje del enlace que los une, de forma que la distancia interatómica aumenta o disminuye, es decir, que en este tipo de vibración los enlaces se dilatan y contraen, sin que varíen los ángulos de los mismos (Pando y Madero, 1979).

Vibraciones de flexión: se producen por movimiento de los átomos en dirección perpendicular al enlace que los une. Estas vibraciones se deben a las longitudes de los mismos. Una vibración de flexión puede consistir en un cambio de los ángulos entre enlaces que tienen un átomo común o también el movimiento de un grupo de átomos con respecto al resto de la molécula, sin movimientos relativos de unos átomos respecto a otro dentro del grupo (Pando y Madero, 1979).

www.bdigital.ula.ve

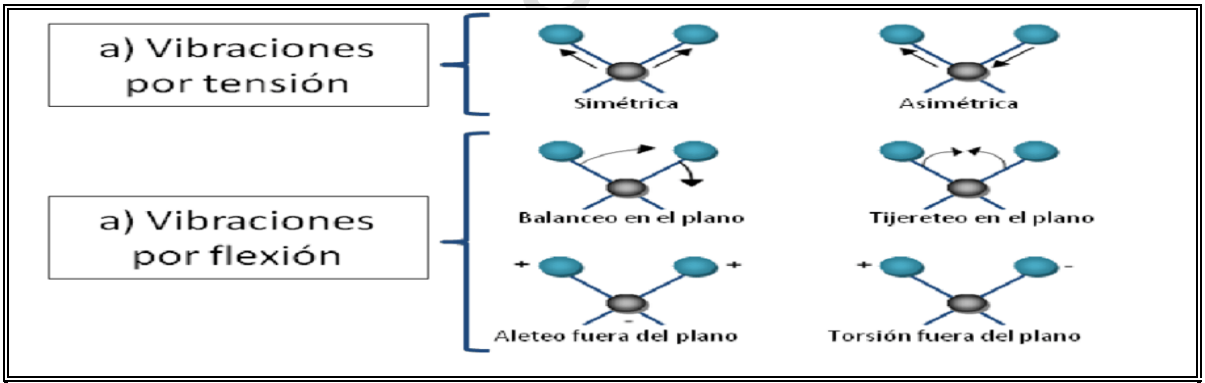


Figura 26. Modos vibracionales de una molécula. (Pando y Madero, 1979)

Cuando la radiación IR incide sobre una molécula, produce cambios en las vibraciones moleculares. En efecto, la energía que se requiere para que las moléculas pasen de su estado fundamental de vibración (energía vibracional mínima) al primer estado excitado de vibración, es del orden de 1 a 10 Kcal/mol. Esta es la energía propia de la radiación electromagnética en la zona del IR, comprendidas entre 400 y 4000 cm^{-1}.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Las bandas que se observan en los espectros IR se relacionan con el cambio de los estados vibracionales y rotacionales de los enlaces presentes en la molécula. Por lo tanto, el análisis del espectro infrarrojo ofrece información sobre los grupos funcionales presentes en la molécula, así como del carácter alifático y/o aromático del compuesto (Pando y Madero, 1979).

2.5.2.2. Espectrometría de masas (EM).

Es una técnica que proporciona información tanto cualitativa (estructura) como cuantitativa (masa molecular o concentración) de las moléculas analizadas previamente convertidas en iones. Las moléculas de interés, forman parte generalmente de una mezcla heterogénea que no requiere necesariamente una separación previa, y se someten en primer lugar a una fuente de ionización donde se ionizan adquiriendo carga negativa o positiva. Los iones atraviesan el analizador de masas hasta que alcanzan diferentes partes del detector de acuerdo con su relación masa/carga (m/z). Una vez en contacto con el detector, se generan señales que son registradas en el sistema informático y representado en un espectro de masas que muestra la abundancia relativa de las señales en función de su relación m/z. Así pues, para el análisis de las muestras por espectrometría de masas se producen básicamente:

www.bdigital.ula.ve

- Ionización de la muestra.
- Análisis de la muestra ionizada.
- Detección de los compuestos formados.

La ionización de la muestra es clave y puede llevarse a cabo de diferentes formas, según la naturaleza de la propia muestra y lo que se pretenda detectar en el análisis. Puede efectuarse en condiciones de alto vacio, por impacto electrónico (EI), o a presión atmosférica (API). En este último caso, si se trata de un análisis en fase liquida, se realizará una ionización por electrospray (ESI), mientras que si es en fase gaseosa, se efectuará una ionización química (APCI) o bien una fotoionización (APPI). Las técnicas de ionización más empleadas en el laboratorio son la ESI y la ACPI (Cocho, 2008).

Un compuesto orgánico que se expone a una corriente de electrones de alta energía (frecuentemente a 70 eV) se degrada en fragmentos de los cuales las especies con carga

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

positiva se separan por el campo magnético y se registran en el espectro de EM según la relación unidad de masa/número de cargas positivas (m/z, donde z=1 generalmente). Este tipo de espectroscopia se denomina LRMS o LREIMS (Low Resolution Electron Impact Mass Spectroscopy) y nos permite establecer la fórmula molecular correspondiente y algunas veces la estructura de fragmentos moleculares (Cocho, 2008).

2.5.2.3. Espectroscopia de absorción molecular ultravioleta/visible (UV−Vis).

La espectrofotometría de absorción en las regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético es, posiblemente, la más utilizada en la práctica del análisis cuantitativo de todas las técnicas espectroscópicas. Asimismo, puede resultar de utilidad como técnica auxiliar para la determinación de estructuras de especies químicas. Se relaciona con las transiciones electrónicas, es decir, la transición de un electrón desde un estado fundamental (correspondiente a los orbitales enlazantes o no enlazantes) a un estado excitado (correspondiente a orbitales antienlazantes). La absorción de la energía requerida para esa transición se registra en la región ultravioleta (190−380 nm) y/o en la región visible (380−700 nm). De esta manera la técnica permite detectar la presencia de un determinado cromóforo el cual origina prácticamente el mismo patrón espectral, independientemente de la estructura total de la molécula (Hernández y González, 2002).

www.bdigital.ula.ve

2.5.2.4. Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN).

Es la herramienta de análisis estructural más importante que existe en la actualidad. Por este tipo de espectroscopia puede analizarse el entorno de cada clase de átomos de un determinado tipo, por ejemplo, puede saberse cuántos tipos de diferentes de átomos de H hay en una molécula, cuántos hay de cada clase y qué tipo de entorno tiene cada uno. Por RMN no puede verse todos los tipos de núcleos, pero es posible ver H y C, lo que es de enorme importancia en moléculas orgánicas. Los experimentos de RMN que se utilizan hoy en día, se pueden clasificar en:

- Resonancia magnética nuclear protónica (RMN-^{1}H).
- Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN-^{13}C).
- Resonancia magnética nuclear bidimensional (Aldabe *et al.*, 2004).

2.5.2.4.1. Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN-^{1}H).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Es la técnica que suministra información de gran importancia acerca de desplazamientos químicos (δ), la multiplicidad, constantes de acoplamiento, número y tipo de protones presentes en una molécula orgánica. De las señales expresadas en esta técnica espectroscópica se obtiene el tipo de esqueleto carbonado, la presencia o ausencia de ciertos grupos funcionales, la posicion de sustituyentes y algunos rasgos especificos estructurales, permitiendo la asignación de estructuras parciales y hasta totales. En los espectros de resonancia magnética nuclear se puede observar la intensidad de campo magnético aumentando de izquierda (campo bajo) a derecha (campo alto). Los núcleos que absorben a campos bajos requieren menos intensidad de campo para su resonancia, estos núcleos tienen poca protección. Los que absorben a campo alto requieren mayor intensidad de campo en su resonancia, indicando que están muy protegidos. La intensidad de cada señal hace referencia al número de protones presente en la molécula. El desdoblamiento está relacionado al número de protones adyacentes, Con esta información se puede deducir la estructura de una molécula desconocida. (Wade, 2004).

2.5.2.4.2. Resonancia magnética nuclear de carbono-13 (RMN-^{13}C).

www.bdigital.ula.ve

Se presenta normalmente como un complemento a la de protón. El espectro de RMN de ^{13}C aporta una idea del entorno magnético de los átomos de carbono que existen en la molécula. Sin embargo, no es tan informativo como el espectro de RMN de ^{1}H, con el cual se puede deducir La estructura Del esqueleto hidrocarbonado de La molécula, observando los entornos magnéticos de los átomos de hidrogeno (Sierra *et al.*, 2010).

La técnica (RMN-^{13}C) proporciona valiosa información sobre el número de señales de los distintos carbonos presentes en un compuesto orgánico desconocido. Estas señales están representadas por el desplazamiento químico (δ) que adquieren los átomos de carbono, y estos están diferenciados a otros carbonos vecinos o grupos funcionales. En el espectro se observa las áreas de los picos (en la forma integrada) que indica cuantos carbonos de cada tipo hay presentes en una molécula (Sierra *et al.*, 2010).

2.5.2.4.3. Resonancia magnética nuclear bidimensional (2D).

El espectro de RMN convencional se llama espectro unidimensional porque tiene una dimensión de frecuencia: el desplazamiento químico y el acoplamiento se muestran en el

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

mismo eje con intensidad trazada en la segunda dimensión. En espectros de RMN bidimensionales tenemos dos dimensiones de frecuencia, mostradas en ejes ortogonales, con intensidad como tercera dimensión. Se utilizan para establecer conexiones, de acoplamiento o espaciales, entre los núcleos. Las señales se muestran en un eje y los núcleos que dan las señales en el otro eje. Si ambos ejes tienen espectros derivados del mismo elemento, se dice que los espectros están auto correlacionados. Si los espectros en los dos ejes son de elementos diferentes, se dice que están correlacionados. Hay varias secuencias de pulsos múltiples que proporcionan espectros de RMN 2D en uso común, ampliando enormemente el rango de información de la dada por Espectros de 1D-RMN.

En esta espectroscopia están implicadas una seria de técnicas para el análisis de las estructuras, está constituida por: COSY, HMQC, HMBC, NOESY entre otros (Fleming y Dodley, 2019).

2.5.2.4.3.1. ^{1}H-^{1}H COSY (COrrelation SpectroscopY).

Es una de las técnicas 2D más importantes es la técnica homonuclear (^{1}H-^{1}H) COSY en cuyos espectros aparecen los desplazamientos químicos de ^{1}H en ambas dimensiones. Los espectros COSY se obtienen mediante una serie de espectros individuales que se diferencian entre sí aplicando un tiempo de espera o *delay*, cuya duración se va incrementando, entre dos pulsos de 90º. La espectroscopia COSY correlaciona todos los desplazamientos químicos de protones sobre carbonos contiguos (H−C−C−H), con lo cual es posible ubicar los protones vecinos que están acoplados. RMN-^{13}C COSY correlaciona los desplazamientos químicos de un protón (o protones) que está (n) unido (s) a un carbono particular lo que facilita la asignación espectroscópica de ambos núcleos. Esta última técnica también se conoce como HETCOR (HETeronuclear CORrelation). (Duddeck, y colaboradores, 2000)

2.5.2.4.3.2. HMQC *(Heteronuclear Multiple Quantum Coherence)*.

El experimento de correlación cruzada de ^{1}H–^{13}C de un enlace se denomina espectro de coherencia cuántica múltiple *heteronuclear (HMQC).* Establece correlaciones a larga distancia haciendo uso de la mayor sensibilidad asociada a la detección de protón y es en esencia un HMQC "optimizado" para detectar correlaciones vía acoplamiento pequeños.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Los acoplamientos a dos o tres enlaces protón-carbono raramente sobrepasan 25 Hz, y en ausencia de insaturaciones son generalmente inferiores a 5 Hz. Hay que tener presente que los acoplamientos a tres enlaces pueden ser, y frecuentemente lo son, de magnitud mayor que los correspondientes a dos enlaces. Viene a ser una detección indirecta de la correlación de los núcleos heteronucleares. Permiten establecer correlaciones ^{1}H-^{13}C a un enlace, lo cual deja saber con certeza qué hidrógeno (s) está (n) directamente unido (s) a un determinado carbono otros. (Fleming y Dodley, 2019)

2.5.2.4.3.3. HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).

La secuencia de pulso que da un espectro HMBC es esencialmente la misma que la que da un espectro HMQC. Sin embargo, la técnica es poderosa, sobre todo porque es posible identificar la conexión entre un sistema de rotación y otro, incluso cuando hay un aislamiento grupo como un átomo de oxígeno, un carbono cuaternario o un grupo carbonilo en el medio. De este modo, a menudo se puede deducir la conectividad completa en esqueletos complejos. Antes de un HMBC se ejecuta el espectro, es esencial tomar un espectro HMQC o HSQC para identificar qué átomos de carbono están unidos directamente a qué protones. Se obtiene la misma información que resulta del ^{1}H-^{13}C COSY o HETCOR, la conectividad C-H. Está técnica posee la ventaja de emplear poca muestra, y su relación C-H se establece por el hidrógeno, mientras que en HETCOR el isótopo ^{13}C otros. (Fleming y Dodley, 2019).

www.bdigital.ula.ve

2.5.2.4.3.4. NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement SpectroscopY).

Es un espectro bidimensional que registra todos los NOEs protón-protón que ocurren en una molécula en un solo experimento se llama espectro NOESY. Superficialmente, se ve como un espectro ACOGEDOR: el espectro normal aparece en diagonal y ambos ejes ortogonales generalmente tienen impreso el espectro ^{1}H RMN. Sin embargo, difiere de manera crucial en que los picos cruzados ahora indican aquellos protones que están cercanos en el espacio, así como los experimentos de diferencia 1D-NOE detectan interacciones a través del espacio. Por lo tanto, un espectro NOESY proporciona Información sobre la geometría de las moléculas. Brinda información sobre la relación

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

entre protones acoplados entre sí, midiendo la relación entre núcleos de H otros (Fleming y Dodley, 2019).

3. JUSTIFICACIÓN.

Debido a que no se ha reportado ningún trabajo sobre la química de *Polylepis sericea* Webb., y teniendo en cuenta su uso en la medicina tradicional y la posible presencia de metabolitos secundarios de interés farmacológico reportados para otras especies del género, se decidió iniciar el estudio fitoquímico de la especie.

4. HIPÓTESIS.

www.bdigital.ula.ve

La corteza de *Polylepis sericea* Webb., recolectada en la Sierra Nevada (Mérida-Venezuela) puede ser una nueva fuente de compuestos de tipo fenilpropanoides, terpenoides, quinonas, esteroides y alcaloides, análogos hasta a los ahora reportados en otras especies del género, que podrían tener interés como productos potencialmente activos desde el punto de vista biológico.

5. OBJETIVOS.

5.1. OBJETIVO GENERAL.

Aislar, identificar metabolitos secundarios presentes en la corteza de *Polylepis sericea* Webb.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Realizar ensayos cromatográficos preliminares del extracto metanólico de la corteza de *Polylepis sericea* Wedd. en búsqueda de las sustancias mayoritarias presentes en la especie para ser utilizados como compuestos dianas a encontrar.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

- Separar los compuestos mayoritarios o de mayor relevancia por medio de técnicas cromatográficas.
- Medir las propiedades físicas (punto de fusión, punto de ebullición, índice de refracción, rotación óptica) de los compuestos obtenidos.
- Determinar las estructuras de los compuestos aislados mediante el uso de técnicas espectroscópicas (IR, RMN-^{1}H, RMN-^{13}C/DEPT, COSY, HSQC, HMBC) y espectrometría de masas.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El Trabajo Especial de Grado se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias, utilizando el siguiente procedimiento experimental:

6.1. Estudio bibliográfico de antecedentes: Se realizó una revisión bibliográfica detallada del género *Polylepis* haciendo especial énfasis en la especie *Polylepis sericea* Webb. Este estudio se enfocó en la búsqueda de los trabajos de orientación botánica, fitoquímica y/o farmacológica. Esta revisión se realizó utilizando como fuentes de información, (Biological Abstracts, Scielo, Chemicals Abstract), libros y trabajos originales en fuentes primarias. Sciencie, SciFinder y Google Scholar. Y la bibliografía disponible en internet, para luego obtener la información científica detallada en las referencias compiladas en estas.

6.2. Separación de los productos. Materiales y métodos.

6.2.1. Cromatografía de columna: Para la cromatografía en columna seca se utilizó como adsorbente gel de sílice 60 (70-230 mesh, Merck, 63 a 200 µ), el criterio para el correcto desarrollo de esta técnica cromatográfica se fundamentó en experiencias previas y en las técnicas descritas en la bibliografía.

www.bdigital.ula.ve

6.2.2 Cromatografía de capa fina y capa fina preparativa: Para la cromatografía de capa fina (CCF) y cromatografía de capa fina preparativa (CCFP) se empleó como adsorbente sílice gel Merck HF 254 (10-40 µ) depositada sobre placas de vidrio (0,25 y 0,5 mm de espesor, respectivamente). La fase móvil para CCF se eligió por tanteo; y para la CCFP, fue escogida utilizando el sistema más adecuado de separación observado y monitoreado por CCF. El revelado de las placas se realizó utilizando una solución de óleum (H_2O/H_2SO_4/AcOH 16:10:74) con un calentamiento posterior de las placas cromatográficas.

6.3. Determinación de las constantes físicas y espectroscópicas. Instrumentación.

6.3.1. Punto de fusión: Los puntos de fusión fueron medidos en un aparato Fisher-Johns dotado de plancha de calentamiento para el rango de 0 a 300 °C.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

6.3.2. Espectros infrarrojos: Los espectros infrarrojos fueron realizados en pastillas KBr en un espectrofotómetro Perkin-Elmer, modelo Spectrum 2000 Explorer FT-IR.

6.3.3. Espectros de resonancia magnética uni- y bi- dimensional: Los espectros de resonancia magnética uni- y bi- dimensional fueron tomados en un equipo espectrómetro Bruker-Avance II 500. Para los espectros se utilizaron $CDCl_3$ como solvente.

6.4. Recolección de la corteza: La recolección de la planta se realizó en la Sierra Nevada de la Cordillera de los Andes, en la Laguna La Fría, a media hora caminando de la estación La Aguada del Sistema Teleférico Mukumbarí del Estado Mérida-Venezuela. Las coordenadas del bosque de *Polylepis sericea* Wedd., seleccionado para la recolección de la muestra de corteza son: O: 27º18'32" N: 94º42'75", a una altitud de 4.087 m.s.n.m.

6.5. Tratamiento del material vegetal: La corteza de *Polylepis sericea* Webb. Se separó de los tallos y ramas, limpiada de restos de otros materiales vegetales (hongos, líquenes, etc.), y secada a la sombra por un mes. Posteriormente llevada a la estufa a 40 ºC hasta peso constante; por último, se realizó la molienda para aumentar la superficie de interacción con los solventes.

www.bdigital.ula.ve

6.6. Obtención del extracto metanólico: A la corteza seca y molida se le realizó una extracción continua sólido-líquido en un soxhlet utilizando metanol como solvente a 45 ºC. (García *et al.*, 2019).

6.7. Experimental.

Al extracto metanólico obtenido por extracción continua sólido-líquido en un soxhlet, cuya características físicas son: sólido, polvo muy fino, color marrón con un tono rojizo y una masa de 32,073 g; se le realizó una CCF utilizando metanol como solvente. Con la información de esta CCF se decidió realizarle una cromatografía de columna plástica (CCP) al extracto, utilizando 962,19 g de sílice en una proporción 30:1 y usando como solvente metanol. Una vez terminado el recorrido se procedió a cortar la columna en trozos de 7 cm obteniendo 23 trozos que fueron extraídos con metanol, al concentrar la solución y colocarlas en los tubos de ensayos al pasar unos minutos precipitaba un sólido, es por ello que se procedió a separar el primer sólido del líquido por centrifugado, al pasar unos minutos se observa la aparición de precipitados en los tubos, se centrifugó nuevamente

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

separando un segundo sólido y un líquido que se dejó evaporar el solvente (tercer sólido). Se analizaron las 23 fracciones de la columna de plástico por CCF y los resultados se expresan en la tabla 9.

Tabla 9.- Fracciones obtenidas de la CC plástica del extracto metanólico (32,073 g).

Fracciones	Primer sólido (mg)	Segundo sólido (mg)	Tercer sólido (mg)
1	81	132	341
2	867	486	1493
3	268	816	732
4	178	192	419
5	138	185	369
6	200	142	628
7	207	172	284
8	181	375	413
9	225	492	352
10	287	441	273
11	177	474	381
12	94	1567	988
13	89	320	162
14	72	613	444
15	83	89	159
16	46	141	382
17	92	114	278
18	76	1418	775
19	56	167	366
20	358	594	1196
21	91	478	757
22	1127	1094	1221
23	545	844	1181

www.bdigital.ula.ve

Se tomaron 4 g de las fracciones 20, 21, 22 y 23 de la tabla 9, para montar una columna de vidrio con 400 g de sílice, colocando la muestra en una cabeza de columna, obteniendo 87 fracciones de 50 mL (tabla 10). Con la información de la CCF de las fracciones de esta columna se obtuvieron cuatro reuniones (A, B, C y X tabla 10).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 10.- Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de las fracciones 20, 21, 22 y 23 (4 g).

Fracciones	Reunión	Eluyente	Peso(mg)
1-14	A	Benceno-metanol 95:5	27
15-26	B		1604
27-66	C		692
67-78	X	Benceno-metanol 95:5	54,22
79	-	Benceno-metanol 90:10	18
80	-		16
81	-		15
82	-	Metanol	17
83	-		41
84	-		1233,6
85	-		177
86	-		14
87	-		86

Por medio del análisis por CCF de estas reuniones y teniendo en cuenta las masas de cada una se procedió a montar una segunda columna de vidrio con la reunión B utilizando 160 g de sílice, obteniendo 95 fracciones, arrojando las reuniones D, E, F, G y H (tabla 11).

www.bdigital.ula.ve

A través de un análisis de CCF y teniendo en cuenta la masa, a la reunión D se le realizo una cromatografía de capa fina preparativa (CCFP), utilizando como solvente una mezcla de benceno-acetona (95:5) obteniendo tres franjas D_1, D_2, D_3 (tabla 12), debido a que las placas utilizadas en esta CCFP fueron hechas con una mezcla de solventes que había en el laboratorio, la sílice no se adhirió bien al vidrio y esto llevo a que no se separaran bien los compuestos de la reunión D, es por ello que se repitió la CCFP pero solo a la franja D_1 con la misma mezcla de solvente pero dándole 3 recorridos, obteniendo cinco franjas $D_{1.1}$, $D_{1.2}$, $D_{1.3}$, $D_{1.4}$, y $D_{1.5}$ (tabla 12).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 11.- Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la reunión B (1604 mg).

Fracciones	Reunión	Eluyente	Peso(mg)
1-25	-	Benceno-metanol 99:1; 98:2; 97:3	0
28-39	D	Benceno-metanol 97:3 y 96:4	376,4
40-47	E	Benceno-metanol 96:4 y 95:5	143
48-55	F	Benceno-metanol 95:5	596
56-65	G	Benceno-metanol 95:5 , 90:10 y 85:15	168
66-85	H	Benceno-metanol 85:15, 70:30 y 50:50	124.2
86	-	Metanol	82
87	-		75
88	-		8
89	-		4
90	-		3
91	-		3
92	-		4
93	-		6
94	-		4
95	-		7

www.bdigital.ula.ve

Tabla 12.- Franjas obtenidas de la CCFP de la reunión D (376,4 mg) y la franja D_1 (365,1 mg).

Reunión	Franjas	Eluyente	Peso (mg)
D	D_1	Benceno-acetona (95:5) 1 recorrido.	365,1
	D_2		4,2
	D_3		6,7
D_1	$D_{1.1}$	Benceno-acetona (95:5) 3 recorridos.	38,2
	$D_{1.2}$		21,7
	$D_{1.3}$		14,1
	$D_{1.4}$		130
	$D_{1.5}$		160,4

Aunque hubo una buena separación se observa que en la franja $D_{1.4}$ hay todavía una mezcla de por lo menos dos compuestos además de, que por el análisis de CCF, uno de ellos está en mayor proporción, es por ello que se decidió montar una columna de vidrio utilizando 1,30 g de compuestos y 39 g de sílice y realizando el montaje en forma húmeda para bajarla con benceno, obteniendo 88 fracciones de 50 mL (tabla 13); dando tres

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

reuniones I, J y K, que por medio de la CCF se determinó que la reunión J estaba pura, etiquetándola como CRDC-03 para su posterior análisis.

En cuanto a la reunión F se le realizó una CCFP obteniendo 6 franjas F_1, F_2, F_3, F_4, F_5 y F_6 (tabla 14), que mediante CCF se decidió hacer una columna de vidrio a la franja F_5 utilizando 188 g de sílice obteniendo 99 fracciones de 50 mL (tabla 15). Mediante CCF se obtuvieron las siguientes reuniones L, M y N, para después hacer una CCFP a la reunión M obteniendo 4 franjas M_1, M_2, M_3 y M_4 (tabla 16). Por CCF se formó la reunión O ($L+M_1$), para después hacer nuevamente una CCFP y así obtener 6 franjas más O_1, O_2, O_3, O_4, O_5 y O_6 (tabla 16), que por medio de la CCF se determinó que la franja O_1 estaba pura, etiquetándola como CRDC-01 para su posterior análisis. También se reunió P (M_3+N) (tabla 16) para montar una columna de vidrio obteniendo 77 fracciones de 50 mL (tabla 17), dando tres reuniones Q, R y S, que por medio de la CCF se determinó que la reunión S estaba pura, etiquetándola como CRDC-02 para su posterior análisis.

Por último se montó una columna de vidrio con la reunión C dando 40 fracciones de 50 mL, obteniendo las siguientes reuniones T y U (tabla 18), quedando pendiente para su posterior análisis, además de las reuniones A, E, G, H, I, X y K

www.bdigital.ula.ve

Tabla 13.- Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la franja $D_{1.4}$ (130 mg).

Fracciones	Reunión	Peso(mg)	Fracciones	Reunión	Peso(mg)
1-19	-	0	36	-	2,9
20	-	3,3	37	-	3,3
21	-	1,8	38	-	1,7
22	-	1,3	39	-	2,5
23	-	0,7	40	-	2,0
24	-	3,7	41	-	4,4
25	-	0,8	42	-	2,1
26	-	2,1	43	-	2,3
27	-	1,2	44	-	3,8
28	-	1,4	45-52	I	10,6
29	-	5,8	53-61	J(CRDC-03)	11,20
30	-	2,9	62-84	K	13,2
31	-	1,6	85	-	13
32	-	1,3	86	-	11

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

33	-	2,8	87	-	9
34	-	1,7	88	-	3
35	-	1,3	-	-	-

Tabla 14.- Franjas obtenidas de la CCFP de la reunión F (596 mg).

Reunión	Franjas	Eluyente	Peso (mg)
F	F_1	Benceno-metanol 90:10	8
	F_2		6
	F_3		9
	F_4		18,6
	F_5		527,9
	F_6		26,2

Tabla 15.- Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la franja F_5 (527,9 mg).

Fracciones	Reunión	Eluyente	Peso (mg)	Fracciones	Reunión	Eluyente	Peso (mg)
1-10	-	Benceno	0	72	-	B-M 97:3	1,2
11-20	-	B-M 99:1	0	73	-		1,1
21-30	-	B-M 98:2	0	74	-	B-M 96:4	1,0
31-50	-	B-M 97:3	0	75-76	-		0
51	L		38,2	77	-		1,1
52-53	M		157,4	78	-		1,6
54-56	N		183	79	-		1,8
57	-		7,3	80	-		1,1
58	-		2,6	81	-		1,3
59	-		2,1	82	-		1,7
60	-		1,8	83-88	-	Etanol	0
61	-		1,3	89	-		1,4
62	-		1,2	90	-		1,5
63	-		2,0	91	-		1,3
67	-		1,1	92	-		1,4
65	-		1,2	93	-		13,1
66	-		2.4	94	-		16,6
67	-		1,9	95	-		9,4
68	-		2,1	96	-		8,2
69	-		1,0	97	-		8,7
70	-		2,2	98	-	Agua	17,8
71	-		2,4	99	-		24,1

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 16.- Franjas obtenidas de la CCFP de las reuniones M (157.4 mg) y O (50.8 mg).

Reunión	Franjas	Eluyente	Peso (mg)
M	M_1	Benceno-metanol 95:5	13,3
	M_2		35,5
	M_3		67
	M_4		41,2
O	-	-	51,3
P	-	-	250
O	O_1 (CRDC-01)	9 recorridos benceno 12 recorridos benceno-metanol 99:1	10,60
	O_2		7,8
	O_3		8,7
	O_4		6,9
	O_5		7,2
	O_6		9.6

www.bdigital.ula.ve

Tabla 17.- Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la reunión P (250 mg).

Fracciones	Reunión	Eluyente	Peso(mg)
1-16	-	Benceno-metanol 97:3	0
17	Q		84,3
18-20	R		147
21-24	S (CRDC-02)		17,10
25-77	-		0

Tabla 18.- Fracciones obtenidas de la CC de vidrio de la reunión C (692 mg).

Fracciones	Reunión	Eluyente	Peso(mg)
1-3	-	Benceno-metanol 95:5	0
4-8	T		240
9-18	U	Benceno-metanol 90:10	175
19-28	-	Benceno-metanol 85:15	0
29	-		13
30	-	Benceno-metanol 70:30	17
31-32	-		0
33	-		11
34	-	Benceno-metanol	72

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

35	-	50:50	39
36	-		28
37	-	Metanol	39
38-40	-		23

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

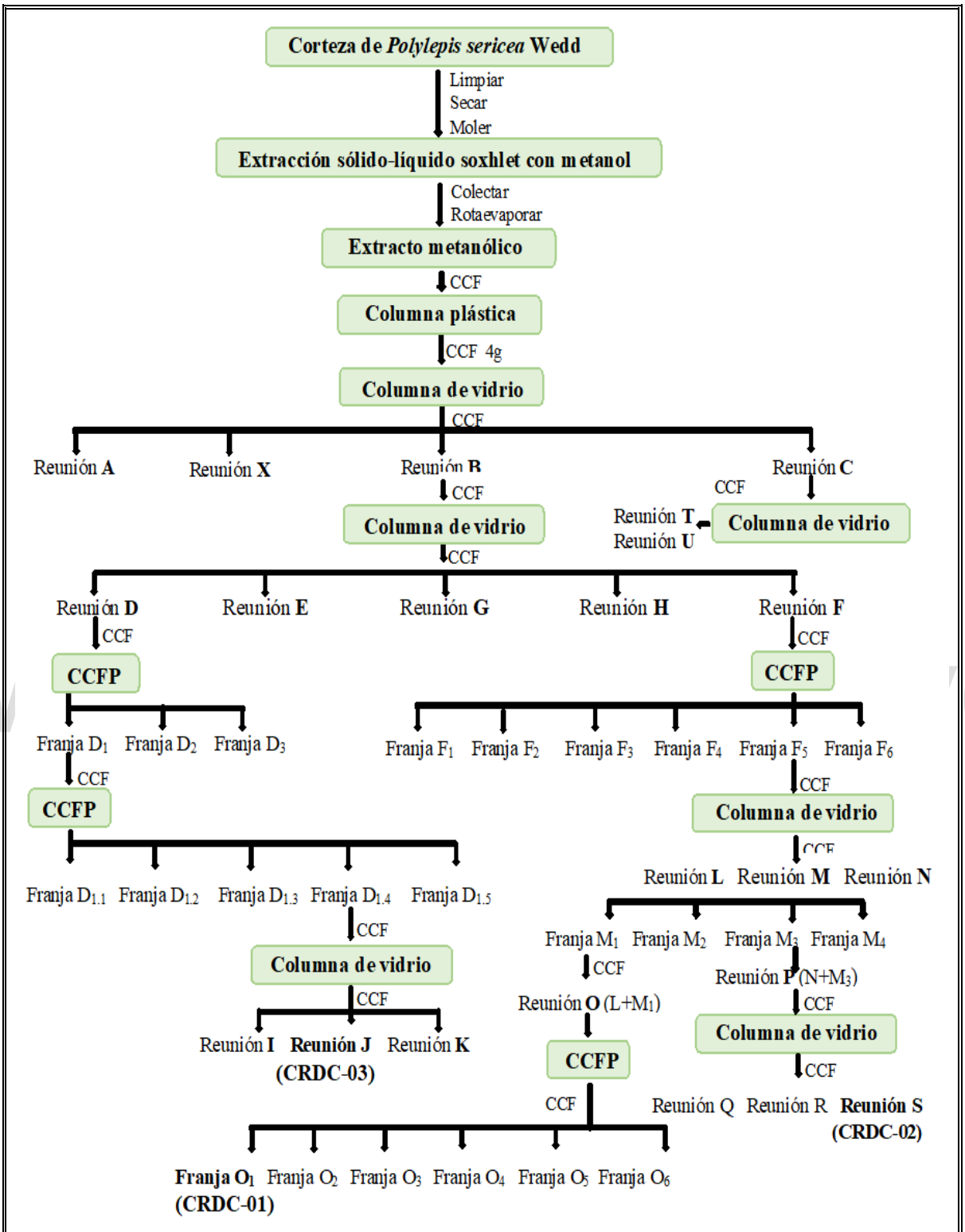


Figura 27.- Procedimiento empleado para el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios mayoritarios de la corteza de *Polylepis sericea* Wedd.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

7.1 Ácido 3-acetilursólico.

De las reuniones B y D provenientes de las cromatografías de columnas en sílice realizadas al extracto metanólico y luego de repetidos procesos cromatográficos de capa fina preparativa (CCFP), se logró aislar el compuesto ácido 3-acetilursolico (CRDC-03) proveniente de la columna de vidrio de la franja $D_{1.4}$; obteniendo 11,20 mg de un sólido blanco con un punto de fusión entre 250 y 252 °C. El análisis detallado de sus espectros de IR, RMN-^{1}H y RMN-^{13}C, permitió determinar el número, tipo de hibridación y grado de sustitución de cada uno de los carbonos presentes que conforman la molécula.

En su espectro infrarrojo (figura 28, tabla 19), se observan las bandas características de los grupos funcionales del compuesto, a 1737 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del carbonilo (C=O) de un éster, específicamente del grupo acetato, el cual es muy característico; a 1694 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del carbonilo (C=O) de un ácido carboxílico alifático, la presencia del éster fue corroborada por las adsorciones en 1246 cm^{-1} y 1028 cm^{-1} correspondientes a las tensiones asimétricas y simétricas (C-O-C); la existencia del ácido podría inferirse por la banda ancha a 3446 cm^{-1} correspondiente a la vibración de tensión (OH). Por otro lado tenemos a 3080 la vibración de tensión =CH y a 1643 la vibración de tensión C=C.

www.bdigital.ula.ve

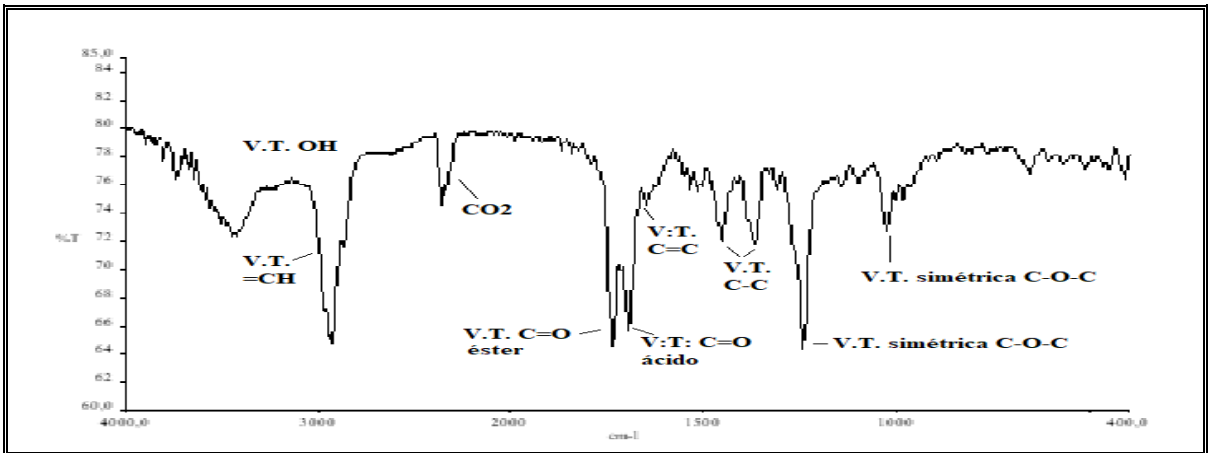


Figura 28.- Espectro infrarrojo del ácido 3-acetilursólico.

Tabla 19.- Bandas de adsorción relevante en el espectro infrarrojo del ácido 3-acetilursólico.

υ (cm^{-1})	3446	3080	1737	1694	1643	1246; 1028

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Asignación	-OH	=CH	C=O ácido	C=O éster	C=C	C-O-C

En el análisis del espectro de RMN-^{1}H se observa un singulete el cual corresponde a un protón geminal a un oxígeno (protón geminal al O del ácido) bastante desplazado que integra para 1 H a δ: 10.67 (H28), también se observa un triplete que corresponde a un protón de doble enlace (H12) a δ: 5.26 ppm con una constante de acoplamiento de 3.7 Hz; por otro lado, se observa un doble doblete que corresponde a un protón geminal a un grupo éster (H3) a δ: 4.52 con una contante de acoplamiento de 9.11 y 5.5 Hz. De igual forma se observa un singulete que integra para 3H a δ: 2.07 característico del metilo del grupo acetilo (H2') (figura 29 tabla 20); también se observa un doblete a δ: 2.21 (H18) con una contante de acoplamiento de 10.5 Hz, un doble doblete a δ: 2.02 (H16b) con contantes de acoplamiento de 13.7 y 4.5 Hz, y otro doblete de doblete a δ: 1.93 (H11b) con contantes de acoplamiento de 8.84 y 3.7 Hz, igualmente se observa un triple doblete a δ: 1.88 (H15b) con constantes de acoplamiento de 11.5 y 3.5 Hz (figura 30 tabla 21); por otro lado, se observan 5 singuletes pertenecientes a grupos metilos a δ: 1,10 (H27); 0,98 (H25); 0,89 (H23); 0,87 (H24); 0.80 (H26) y por último, dos dobletes a δ: 0,96 (H30) y 0,88 (H29) que pertenecen a dos grupos metilos con constantes de acoplamiento de 6.2 y 6.4 Hz respectivamente (figuras 31 tabla 22).

www.bdigital.ula.ve

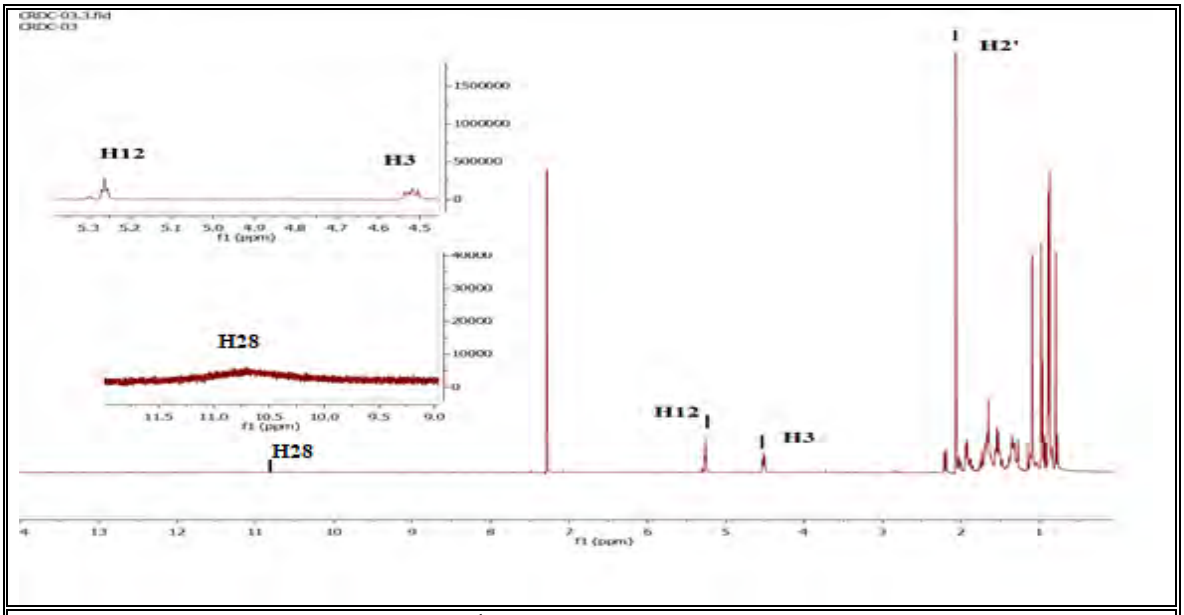


Figura29.- Espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 20.- Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido 3-acetilursólico. Parte 1.

H	H28	H12	H3	H2'
δ	10.67	5.26	4.52	2.07
m	*s*	*t*	*dd*	*s*
J (Hz)	-	3.7	9.11 y 5.5	-

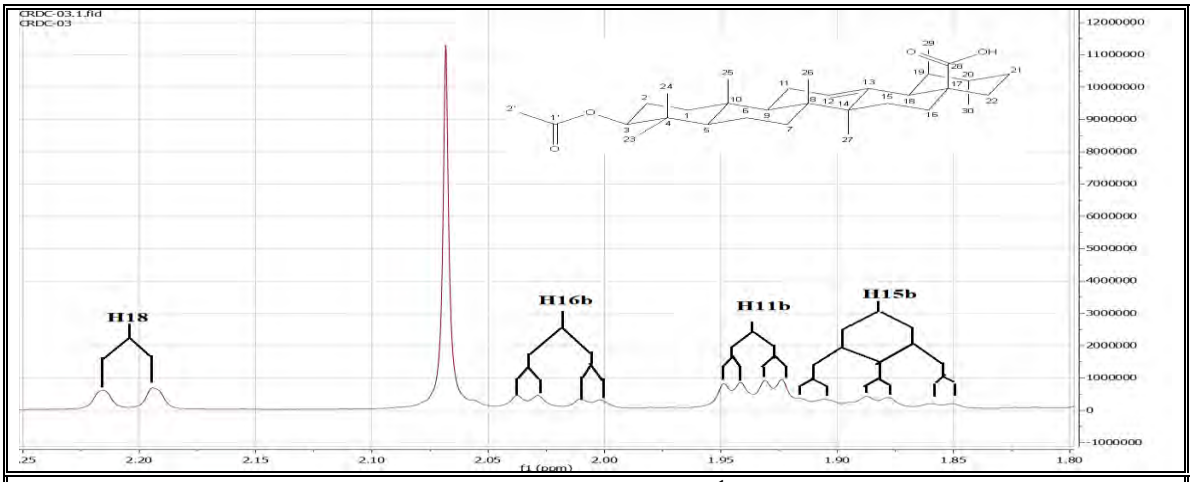


Figura 30.- 1ra ampliación del espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 21.- Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido 3-acetilursólico. Parte 2.

H	H18	H16b	H11b	H15b
δ	2.21	2.02	1.93	1.88
m	*d*	*dd*	*dd*	*td*
J (Hz)	10.5	13.7 y 4.5	8.84 y 3.7	11.5 y 3.5

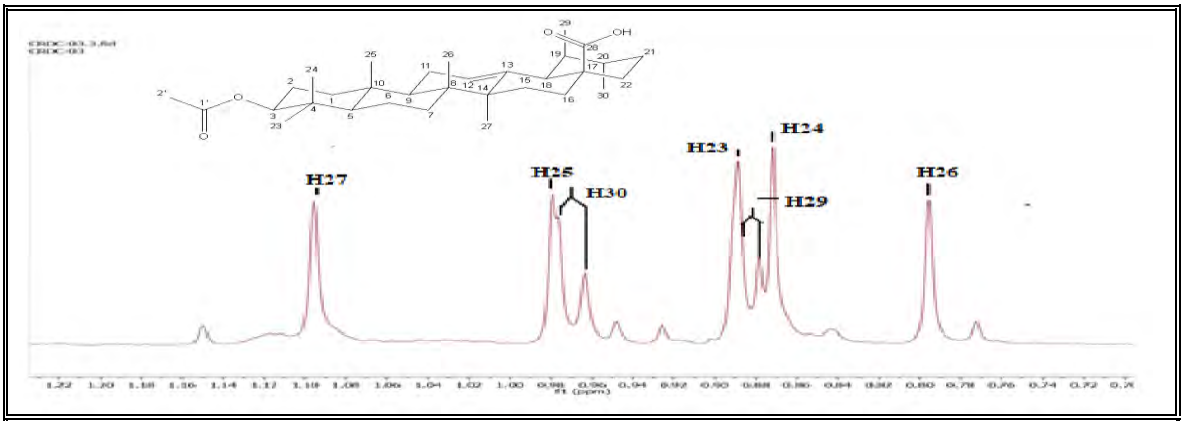


Figura 31.- 2da ampliación del espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

3-acetilursólico.

Tabla 22.- Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido 3-acetilursólico. Parte 3.

H	H27	H25	H23	H24	H26	H30	H29
δ	1.10	0.98	0.89	0.87	0.80	0.96	0.88
m	*s*	*s*	*s*	*s*	*s*	*d*	*d*
J (Hz)	-	-	-	-	-	6.2	6.4

En el espectro BB (broad band) de RMN-^{13}C si observan un total de 31 carbonos (figuras 32), y con la ayuda del espectro HSQC (figuras 33 y 34), donde se ponen de manifiesto las interacciones C-H a un enlace, se observó un carbono a δ: 182.86 (C28) el cual corresponde al grupo ácido; también se observó un carbono perteneciente el grupo éster a δ: 171.04 (C1'); se observaron los carbonos pertenecientes a un doble enlace a δ: 137.96 (C13) y 125.76 (C12); por otro lado, se observaron 8 metilos (–CH_3) a δ: 28.08 (C23), 23.58 (C27), 21.33 (C2'), 21.19 (C30), 17.10 (C26), 17.03 (C29), 16.72 (C24) y 15.54 (C25). También se observaron 8 metilenos (-CH_2-) a δ: 38.27 (C2), 36.72 (C22), 32.85 (C7), 30.60 (C21), 27.99 (C15), 24.09 (C16), 23.29 (C11) y 18.17 (C6). Se observaron 5 carbonos cuaternarios (>C<) a δ: 47.94 (C14), 41.92 (C17), 39.50 (C8), 37.70 (C4) y 36.91 (C10); por último, se observaron 6 metinos (>CH-) a δ: 80.94 (C3), 55.30 (C5), 52.57 (C18), 47.46 (C9), 38.83 (C20) y 39.03 (C19). Para esta última señal, se observan en el HSQC, interacciones con 3 protones no equivalentes magnéticamente, lo cual hace pensar que estamos en presencia de un -CH_2- más un >CH- sobrepuestos, entonces se tendría una fórmula molecular de $C_{32}H_{50}O_4$, lo que implica que se tienen 8 insaturaciones: una del carbonilo del grupo ácido, una del carbonilo del grupo éster y una del doble enlace, lo que nos permite deducir que es un compuesto pentacíclico. La existencia de dos metilos dobletes y 6 metilos singuletes señala que el esqueleto es el del ursano. La revisión bibliográfica (Ludeña y colaboradores 2017) señaló que el grupo ácido está colocado en el carbono 17 y que el grupo éster en el carbono 3 (tabla 23). Con la finalidad de determinar las posiciones de algunos sustituyentes presentes en la molécula y para confirmar el patrón de sustitución, se procedió al análisis de los espectros HMBC y COSY simultáneamente.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

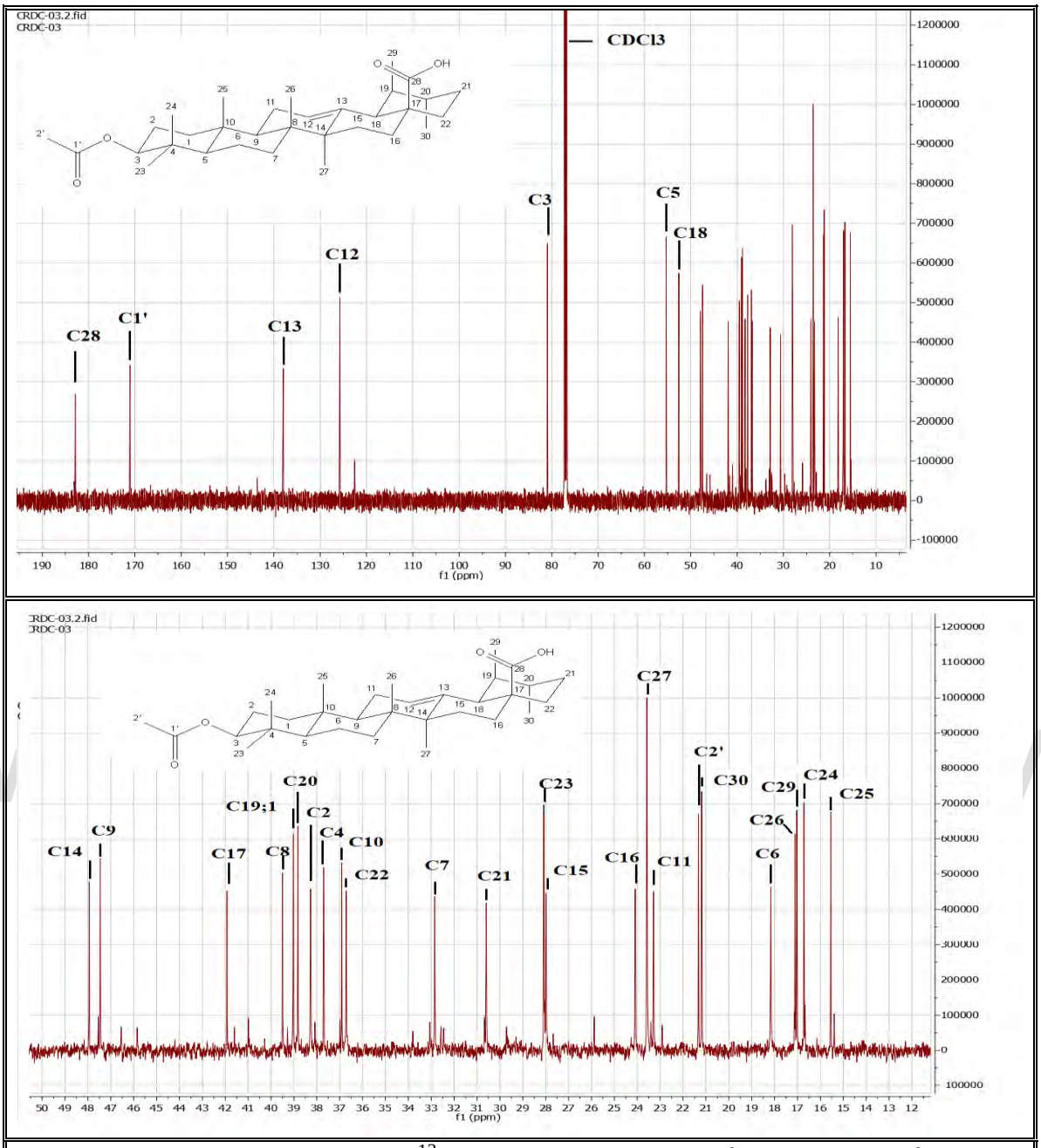


Figura 32.- Espectro de RMN-^{13}C ($CDCl_3$, 125 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

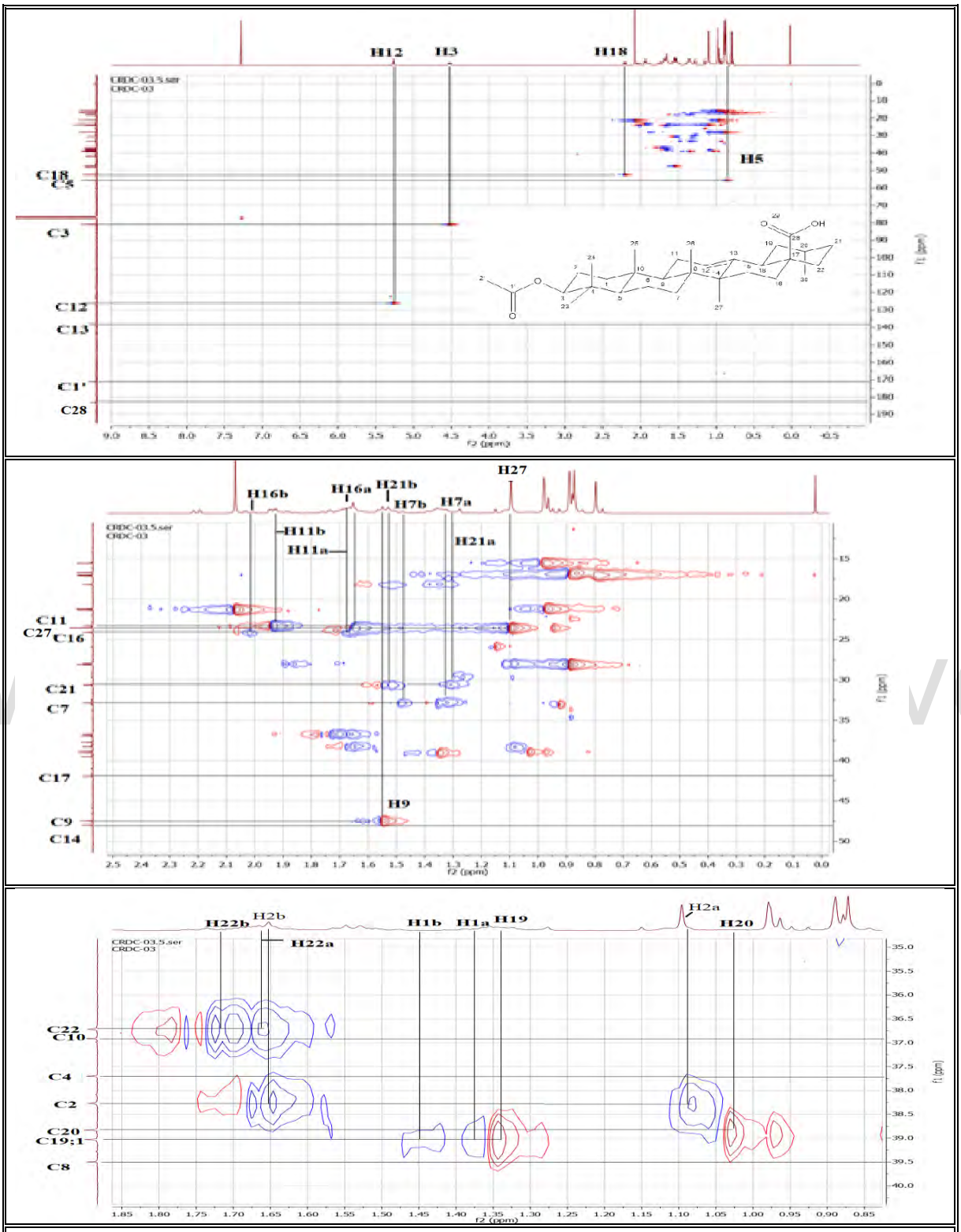


Figura 33.- Espectro de HSQC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

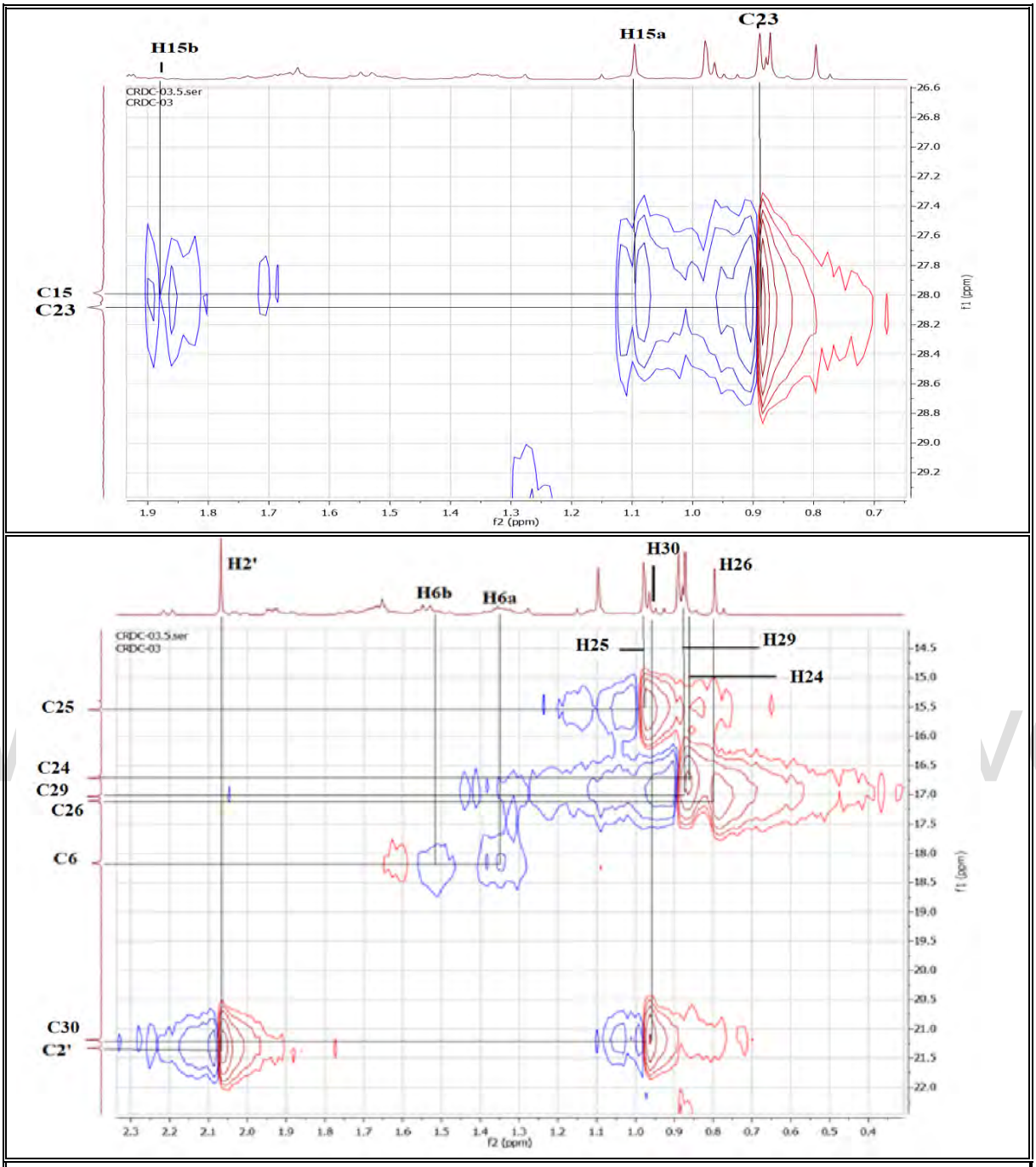


Figura 34.- Ampliaciones del espectro de HSQC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 23.- Desplazamientos químicos en RMN-^{1}H; ^{13}C ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

# C	δ_C(p) (ppm)	δ_C(E) (ppm)	Δ_H(E) (ppm)	Tipo
1	38.7	39.03	1.45;1.37	$-CH_2$
2	24.1	38.27	1.65;1.08	$-CH_2$
3	80.6	80.94	4.52	-CH
4	37.7	37.70	------	>C<
5	55.6	55.30	0.87	-CH
6	18.3	18.17	1.51;1.35	$-CH_2$
7	33.1	32.85	1.48;1.32	$-CH_2$
8	39.9	39.50	----	>C<
9	47.7	47.46	1.56	-CH
10	37.6	36.91	-------	>C<
11	29.8	23.29	1.93;1.65	$-CH_2$
12	123.0	125.76	5.26 (*t*)	-HC=
13	138.2	137.96	---	=C<
14	48.4	47.94	----	>C<
15	29.0	27.99	1,88;1,10	$-CH_2$
16	24.0	24.09	2.02;1.68	$-CH_2$
17	48.1	41.92	------	>C<
18	52.8	52.57	2.21	-CH
19	39.0	39.03	1.33	-CH
20	38.9	38.83	1.03	-CH
21	30.6	30.60	1.53;1.29	$-CH_2$
22	37.0	36.72	1.72;1,66	$-CH_2$
23	23.6	28.08	0.89 (s)	$-CH_3$
24	23.6	16.72	0.87 (s)	$-CH_3$
25	16.2	15.54	0.98 (s)	$-CH_3$
26	17.3	17.10	0.80 (s)	$-CH_3$
27	26.0	23.58	1.10 (s)	$-CH_3$
28	180.3	182.86	-----	-COOH
29	16.7	17.03	0.88 (d)	$-CH_3$
30	21.2	21.19	0.96 (d)	$-CH_3$
1'	170.2	171.04	---	-COO-
2'	21.0	21.33	2.07 (s)	$-CH_3$

Biogenéticamente el C3 tiene una función oxigenada, más adelante corroboraremos esa suposición, la revisión bibliográfica (Ludeña *et al.*, 2017) señala que el ácido se encuentra en C17 y el doble enlace generalmente, aunque no exclusivamente, se encuentra en C12.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

En el espectro HMBC (figuras 35, 36 y 37) se ven las correlaciones del C3 con los protones H2b, H5, H23 y H24; es decir; que el C3 correlaciona con dos metilos, además se ven las correlaciones del C1' con H3 y H2' (CH_3), aparte en el espectro COSY (figuras 38 y 39) se ven las correlaciones del H2a y H2b con H3, esto me corrobora que la función oxigenada (grupo éster) está en la posición 3 y el grupo acetilo sobre él. El grupo ácido (C28) en el HMBC da correlaciones con H16a, H16b y H18 (un $-CH_2-$ y un >CH-), esto me corrobora que el grupo ácido esta sobre el C17. Para la ubicación del doble enlace vemos que en el HMBC el C12 da correlación con un $-CH_2-$ (H11b) y con un >CH- (H18), además de las correlaciones de los carbonos C9, C11, C13 y C18 con el H12, en cuanto al COSY H12 da correlación con el H11b, además de la correlación de H11b con H12, esto me corrobora que el doble enlace está entre el C12 y C13.

Para la ubicación de los grupos metilos se tomaron en cuenta las correlaciones en el HMBC de los carbonos 24 y 23 con H3, H5 y entre ellos (H23 y H24), además de las correlaciones de C3, C4 y C5 con H24 y el H23, esto me ubica los metilos 24 y 23 sobre el C4. Las correlaciones del C25 con H5 y el H9, aparte de las correlaciones de los carbonos 1, 5, 9 y 10 con los H25 me ubican el metilo 25 sobre el C10. Por otro lado, la correlación del C26 con el H9 además de las correlaciones de los C7 y C8 con H26 me ubican el metilo 26 sobre el C8. La correlación del C27 con H15a aparte de las correlaciones de los C8, C13, C14 y C15 con H27 me ubica el metilo 27 sobre en C14. Por último la correlación del C30 con H19 además de las correlacione de los C19, C20 y C21 con H30 me ubican un metilo doblete sobre el C20; y las correlaciones del C29 con H18 y H19 además de las correlaciones de los C18, C19 y C20 con H29 me ubican el segundo metilo doblete sobre el C19, las posiciones de estos dos metilos dobletes se puedes confirmar en el espectro COSY con las correlaciones entre H19 y H20. El análisis completo del HMBC y COSY aparecen en las tablas 24 y 25.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

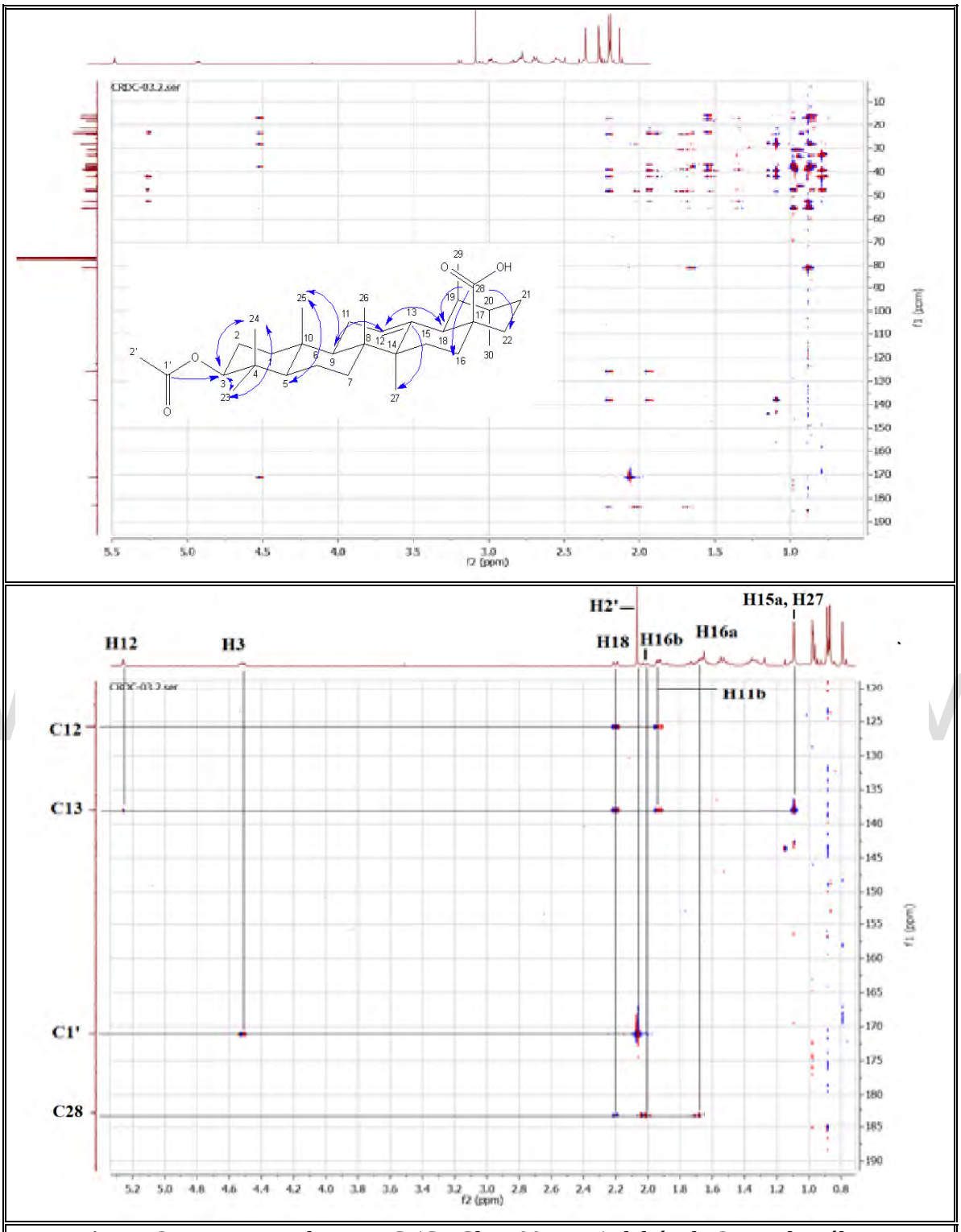


Figura 35.- Espectro de HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

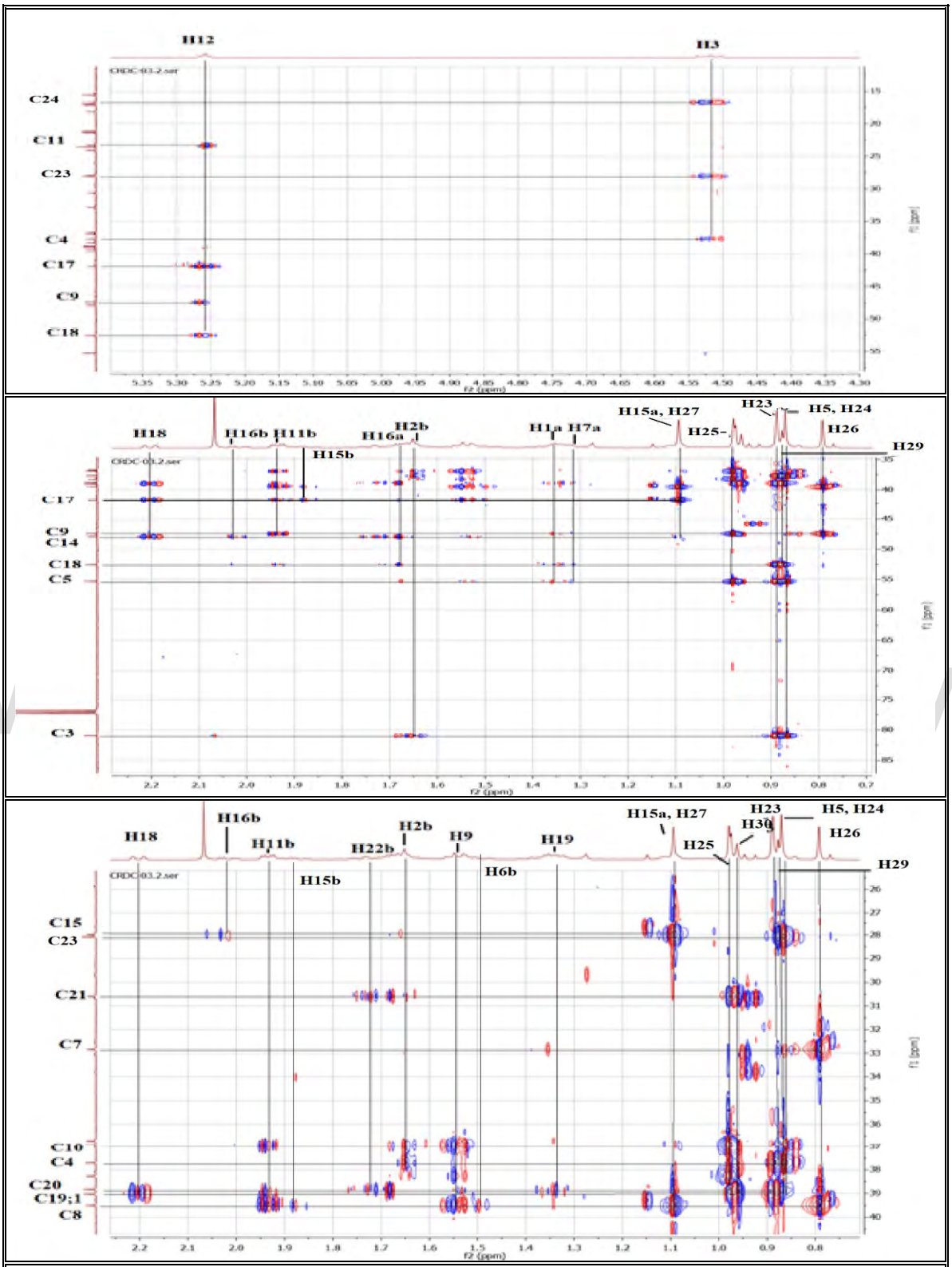


Figura 36.- 1ra ampliación del espectro de HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

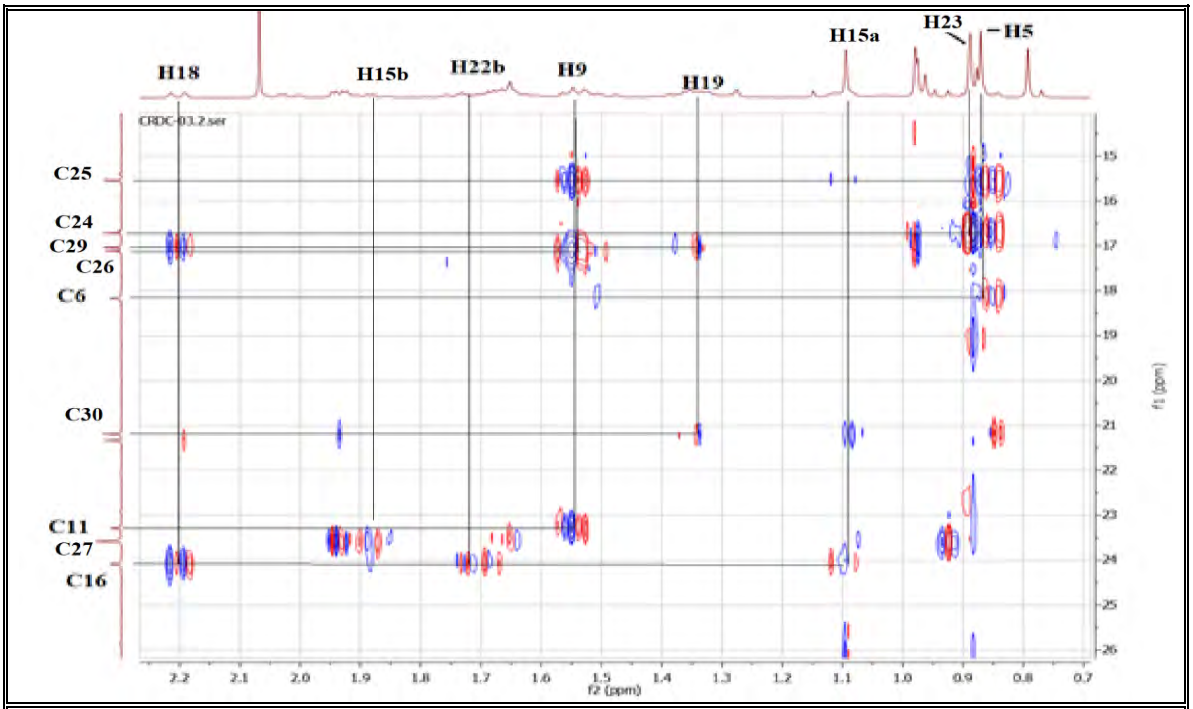


Figura 37.- 2[da] ampliación del espectro de HMBC ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

www.bdigital.ula.ve

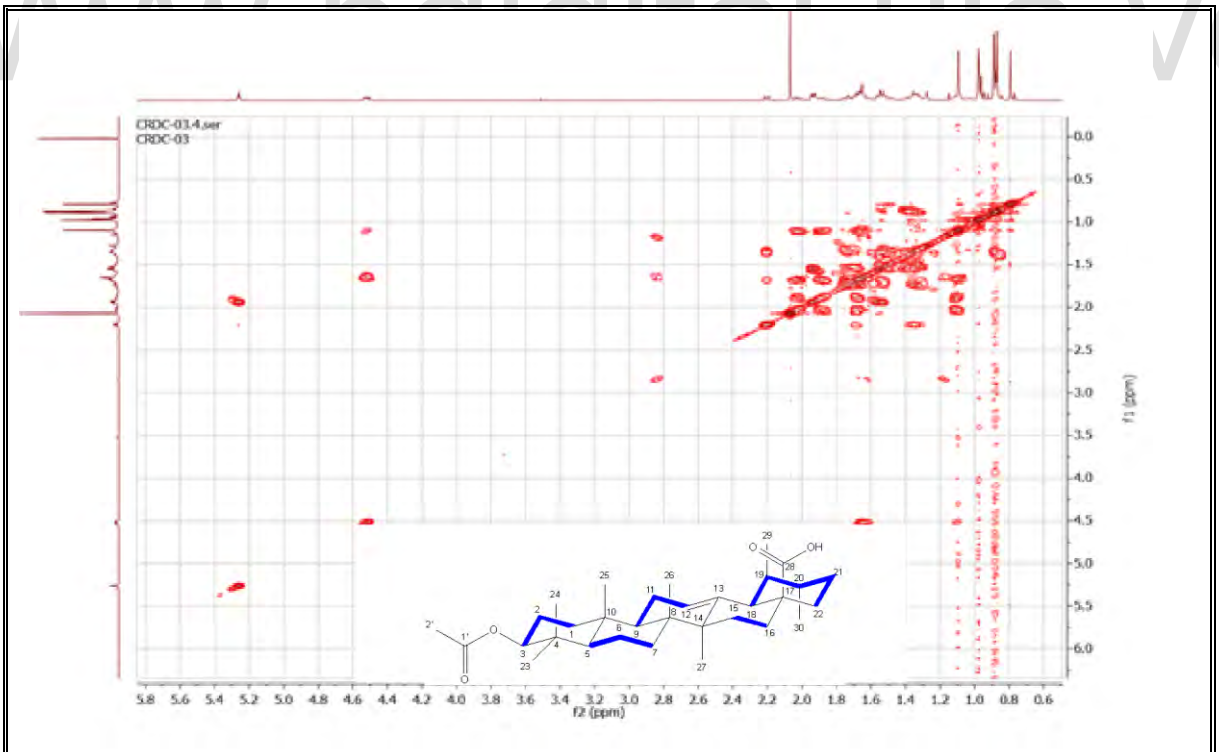


Figura 38.- Espectro ^1H, ^1H-COSY ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

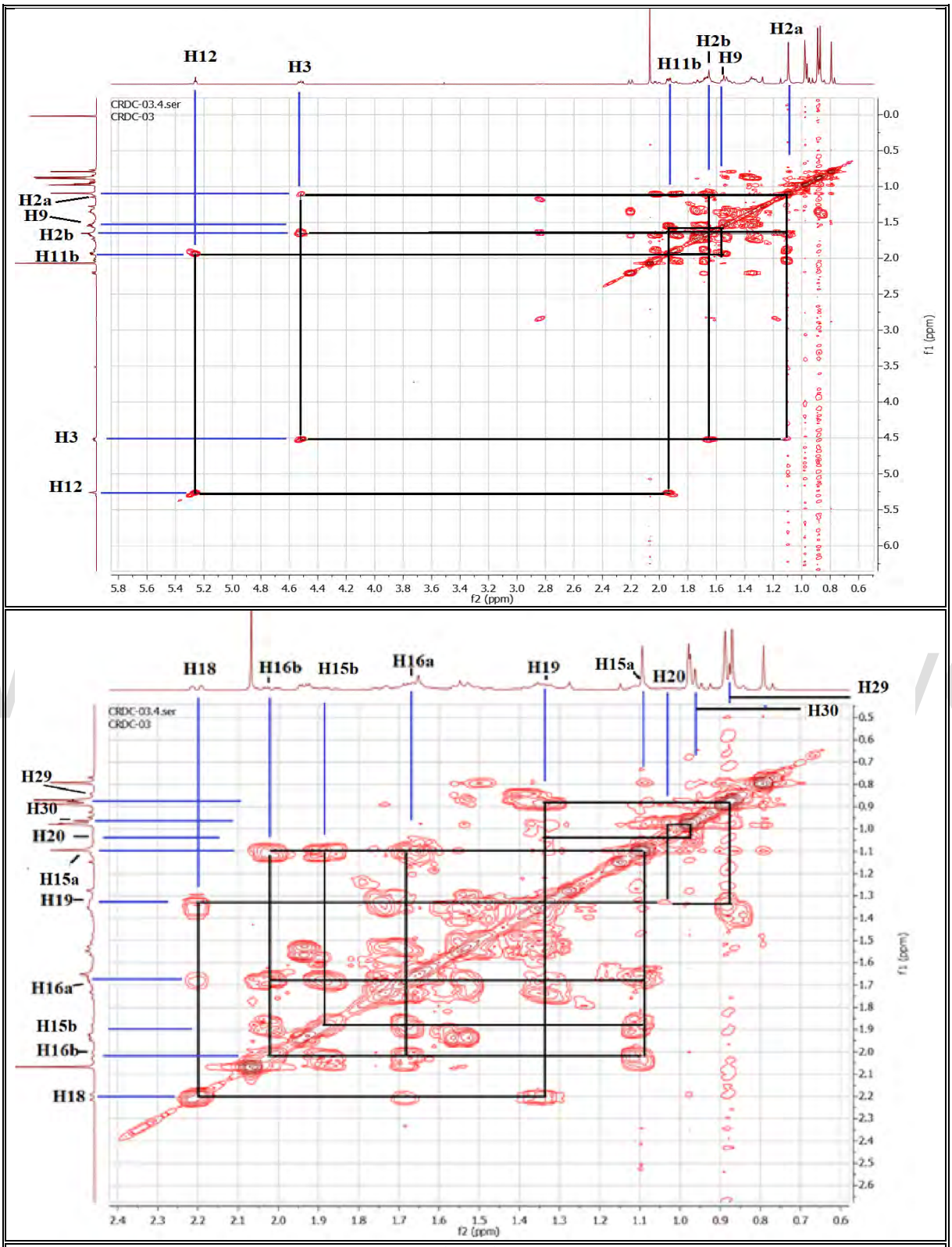


Figura 39.- Ampliación del espectro ^{1}H, ^{1}H-COSY ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 24.- Interacciones esperadas del espectro HMBC del ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

# C	δ_C	#H
1	39.03	*2a*,*2b*, 3,**5**,9,**25**
2	38.27	*1a*,*1b*,*3*
3	80.94	1a,1b,*2a*,***2b***,**5**,**23**,**24**
4	37.70	2a,**2b**,***3***,***5***,6a,6b,***23***,***24***
5	55.30	**1a**,1b,3,*6a*,*6b*,**7a**,7b,9,**25**,**23**,**24**
6	18.17	***5***,*7a*,*7b*
7	32.85	**5**,***6a***,*6b*,9,**26**
8	39.50	6a,**6b**,*7a*,*7b*,***9***,11a,**11b**,**15a**,**15b**,**26**,***27***
9	47.46	1a,1b,**5**,7a,7b,*11a*,***11b***,**12**,**25**,**26**
10	36.91	*1a*,*1b*,2a,**2b**,***5***,6a,6b,**11a**,**11b**,***25***
11	23.29	***9***,***12***
12	125.76	9,*11a*,***11b***,**18**
13	137.96	11a,**11b**,***12***,**15a**,15b,***18***,19,**27**
14	47.94	12,***15a***,*15b*,**16a**,**16b**,**18**,*26*,**27**
15	27.99	*16a*,***16b***,**27**
16	24.09	***15a***,*15b*,**18**,22a,**22b**
17	41.92	15a,**15b**,*16a*,*16b*,***18***,19,21a,**21b**,*22a*,*22b*,**12**
18	52.57	**12**,**16a**,16b,***19***,20,22a,22b,**29**
19	39.03	***18***,*20*,21a,21b,**30**,***29***
20	38.83	**18**,***19***,***21a***,***21b***,22a,**22b**,***30***,**29**
21	30.60	19,*20*,*22a*,***22b***,**30**
22	36.72	16,18.20,*21a*,***21b***
23	28.08	**3**,**5**,**24**
24	16.72	**3**,**5**,**23**
25	15.54	1a,1b,**5**,**9**
26	17.10	7a,7b,**9**
27	23.58	**15a**,15b
28	182.86	**16a**,**16b**,**18**,22a,22b
29	17.03	**18**,***19***,20
30	21.19	**19**,*20*,21a,21b
1'	171.04	**3**,**2'**
2'	21.33	-------

- Cursiva a dos enlaces, normal tres enlaces y resaltadas en negritas las observadas.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Tabla 25.- Interacciones esperadas del espectro ^{1}H, ^{1}H-COSY del ($CDCl_3$, 500 MHz) del ácido 3-acetilursólico.

# H	δ_H	#H
1a	1.37	**1b**,2a,2b
1b	1.45	**1a**,2a,2b
2a	1.08	1a,1b,**2b**,**3**
2b	1.65	1a,1b,**2a**,**3**
3	4.52	**2a**,**2b**
5	0.87	**6a**,6b
6a	1.35	**5**,**6b**,**7a**,**7b**
6b	1.51	5,**6a**,**7a**,**7b**
7a	1.32	**6a**,**6b**,**7b**
7b	1.48	**6a**,**6b**,**7a**
9	1.56	11a,**11b**
11a	1.65	9,11b,12
11b	1.93	**9**,11a,**12**
12	5.26	11a,**11b**
15a	1.10	**15b**,**16a**,**16b**
15b	1.88	**15a**,**16a**,**16b**
16a	1.68	**15a**,**15b**,**16b**
16b	2.02	**15a**,**15b**,**16a**
18	2.21	**19**
19	1.33	**18**,**20**,**24**
20	1.03	**19**,21a,21b,**23**
21a	1.29	20,**21b**,22a,**22b**
21b	1.53	20,**21a**,**22a**,**22b**
22a	1.66	21a,**21b**,**22b**
22b	1.72	**21a**,**21b**,**22a**
23	0.96	**------**
24	0.88	**------**
26	1.10	------
27	0.80	------
28	0.98	------
29	0.87	**19**
30	0.89	**20**
2'	2.07	------

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Todos estos datos, firmemente sustentados por el análisis e interpretación de los respectivos espectros bidimensionales ^{1}H, ^{1}H-COSY; HSQC y HMBC, confirmaron la estructura del compuesto en estudio.

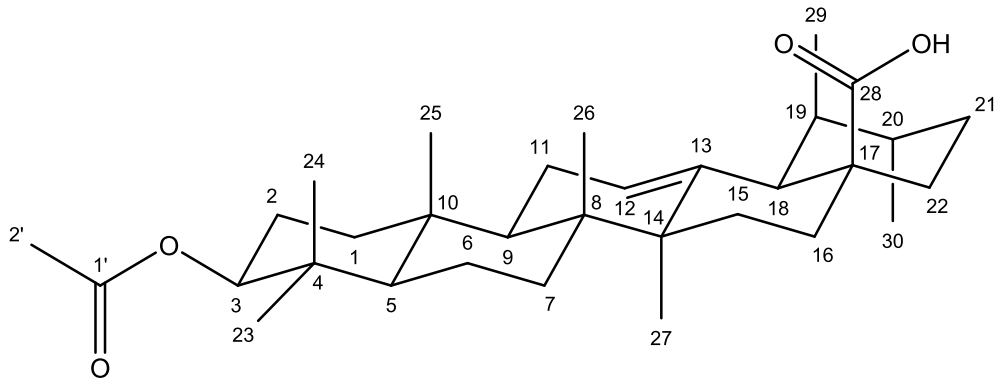


Figura 40.- Ácido 3-acetilursólico.

7.2 Ácido ursólico.

De las reuniones B, F provenientes de las cromatografías de columnas en sílice realizadas al extracto metanólico y luego de repetidos procesos cromatográficos de capa fina preparativa (CCFP), se logró aislar el compuesto ácido ursólico (CRDC-01) proveniente de la CCFP hecha a la reunión O; obteniendo 10,60 mg de un sólido blanco con un punto de fusión entre 264 y 266 °C.

www.bdigital.ula.ve

En su espectro infrarrojo (figura 41, tabla 26), se observan las bandas características de los grupos funcionales del compuesto, a 1745 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del carbonilo (C=O) del ácido carboxílico el cual es muy característico, fue corroborado por la banda ancha entre 2700-3100 cm^{-1} atribuida a la presencia de un grupo carboxílico, también tenemos la banda ancha y aguda a 3502 cm^{-1} característica de un grupo hidroxilo alcohólico, Por otro lado tenemos a 2990 cm^{-1} la vibración de tensión =CH, a 1686 la vibración de tensión C=C, se observan de igual forma dos bandas a 1249 cm^{-1} y 1014 cm^{-1} correspondientes a las tensiones (C-O) del ácido y del alcohol, las bandas a 1465 cm^{-1} y 1382 cm^{-1} que corresponden a la vibración de tensión C-C y por ultimo las bandas de tensión C-H a 2870-2975 cm^{-1}.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

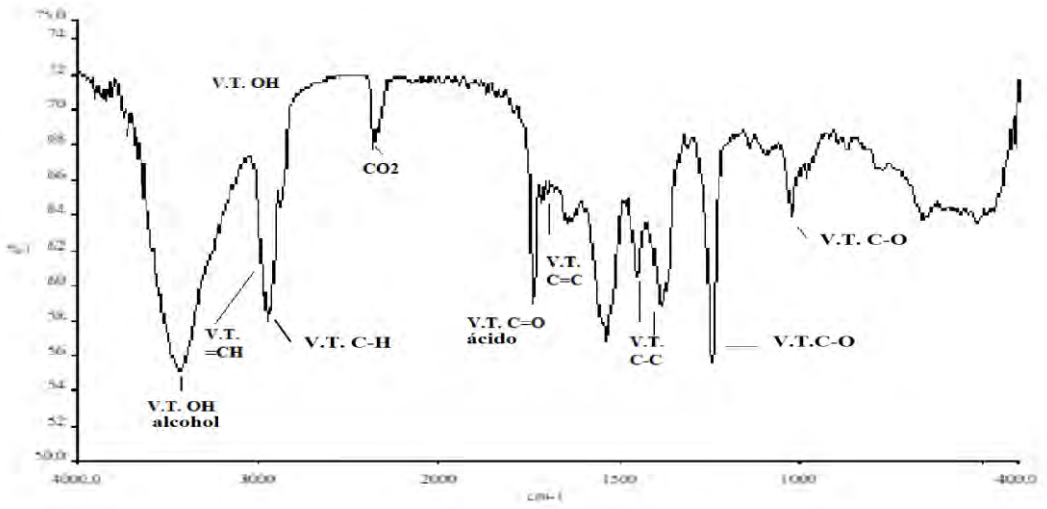


Figura 41.- Espectro infrarrojo del ácido ursólico.

Tabla 26.- Bandas de adsorción relevante en el espectro infrarrojo del ursólico.

ν (cm^{-1})	1745	2700-3100	3502	2990	1686	1249; 1014	1465; 1382	2870-2975
Asignación	C=O	-OH ácido	-OH	=CH	C=C	C-O	C-C	C-H

www.bdigital.ula.ve

En el análisis del espectro de RMN-^{1}H se observa un triplete no bien definido, a δ: 5.17 (H12) con una constante de acoplamiento de 3.47 Hz, también se observa un singulete ancho a δ: 4.74 que corresponde al OH del ácido, por otro lado se observa un doble doblete que corresponde a un protón geminal a un alcohol (H3) que integra para un H a δ: 4.52 con una constante de acoplamiento de 8.94 y 6.71 Hz, a δ: 2.58 se observa un singulete ancho que corresponde a un protón geminal a un grupo alcohólico (figura 42, tabla 27), también se observa un doblete a δ: 2.13 (H18) con una contante de acoplamiento de 10.8 Hz, se observan 5 singuletes pertenecientes a grupos metilos a δ: 1,08 (H27); 0,96 (H25); 0,88 (H23); 0,87 (H24); 0.81 (H26), por último un singulete a 0,86 (H29) (figuras 43, tabla 28).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

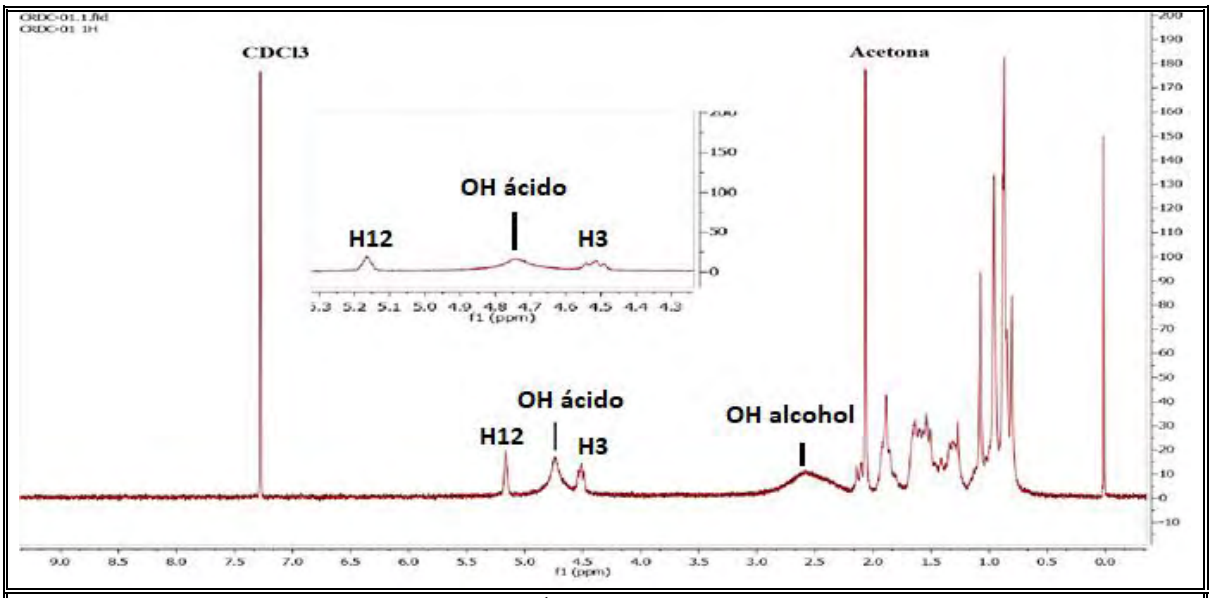


Figura 42.- Espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) del ácido ursólico.

Tabla 27.- Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido ursólico.

H	H12	OH ácido	H3	OH alcohol
δ	5.17	4.74	4.52	2.58
m	*t*	*s*	*dd*	*s*
J (Hz)	3.47	-	8.94-6.71	-

www.bdigital.ula.ve

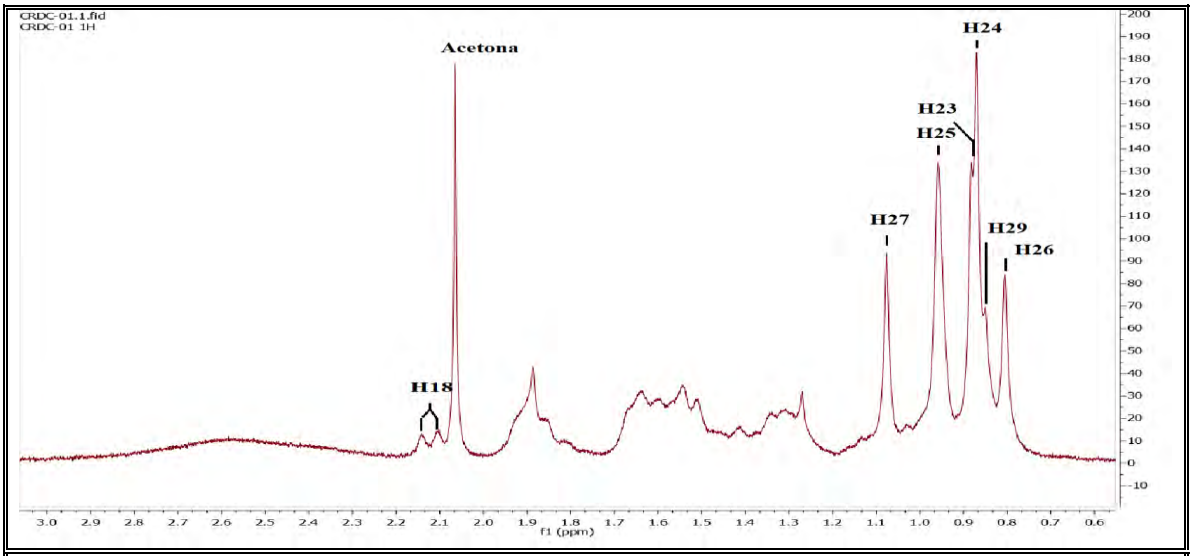


Figura 43.- Ampliación del espectro de RMN-^{1}H ($CDCl_3$, 300 MHz) del ácido ursólico.

Tabla 28.- Señales relevantes de hidrógenos en RMN-^{1}H del ácido ursólico. Parte 2.

H	H18	H27	H25	H23	H24	H29	H26

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

δ	2.13	1.08	0.96	0.88	0.87	0.86	0.81
m	*d*	*s*	*s*	*s*	*s*	-	*s*
J (Hz)	10.8	-	-	-	-	-	-

En el análisis del espectro IR se observan casi todas las bandas que se observaron en el compuesto CRDC-03, a excepción del carbonilo del grupo acetilo, además de las tensiones simétricas y asimétricas del grupo acetilo, además que se observa la banda ancha e intensa del OH de un grupo alcohólico, esto nos dice que ya no tenemos al grupo éster y que en cambio tenemos un alcohol en la molécula. Por otro lado en su espectro RMN-^{1}H tampoco se observó la señal del grupo metilo C2' ubicado en el C1' en cambio se observó un singulete muy intenso que corresponde a acetona esto se debe a que en el momento del análisis el compuesto todavía contenía trazas de solvente, por otro lado si se observó el triplete del H12, el doble doblete del H3 y además el singulete ancho del alcohol, aparte de los singuletes correspondientes a los grupos metilos. En conclusión la señal del H3 estaba menos desplazada en comparación al compuesto CRDC-03, y tanto en el IR como en el RMN-^{1}H se observa una señal del grupo alcohólico y no la del grupo acetilo (Borges, N. 2014). Es por ello que se propone como estructura el ácido ursólico.

www.bdigital.ula.ve

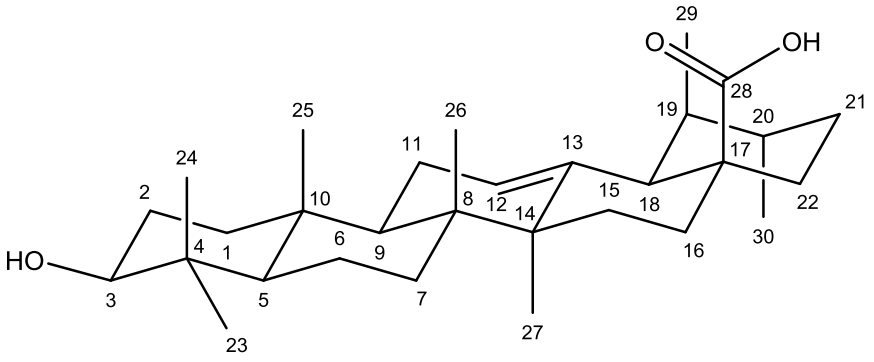


Figura 44.- Ácido ursólico.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

8. CONCLUSIÓNES

1. La revisión bibliográfica sobre la fitoquímica de *Polylepis sericea* Wedd., no reportó ningún estudio, y por consiguiente esta investigación se convierte en el primer reporte de productos naturales aislados de esta especie.
2. Del extracto metanólico de la corteza de *Polylepis sericea* Wedd. fueron aislados dos compuestos triterpénicos pentacíclicos del esqueleto del ursano:
    a. Ácido ursólico.
    b. Ácido 3-acetilursólico.
3. Previo a este trabajo, el ácido 3-acetilursólico no había sido reportado en el género *Polylepis*; sin embargo, el ácido ursólico había sido aislado en *Polylepis racemosa.*

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

9. RECOMENDACIONES.

- Continuar con el estudio fitoquímico de las fracciones restantes del extracto metanólico de la corteza de *Polylepis sericea* Wedd**.**
- Completar el estudio fitoquímico analizando las otras partes de la planta**.**

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Adrianzén, M.; Alvarado, L.; Rengifo, R. (2018). **Influencia del método de extracción Soxhlet y reflujo en la acción reductora del extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum*.** (Tesis de Pregrado). Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú. 33 p.
2. Aldabe, S.; Aramendia, P.; Bonazzola, C.; Lacreu, L. (2004). **Química 2. Química en acción.** Editorial COLIHUE. Buenos Aires. 335 p.
3. Alisoltani, A.; Karimi, M.; Ravash, R.; Fallahi, H.; Shiran, B. (2019). Molecular responses to gold stress in temperate fruit crops with focus on Rosaceae family. Springer nature Switzerland. *In*: Rajpal, V.R. *et al.* (eds), **Genomics assisted breeding of crops for abiotic stress tolerance, volumen II. Sustainable Development and Biodeversity**, **21**: 105-130.
4. Arnal, H.; Sampson, A.; Navarro, G.; Palomino, W.; Ferreira, W.; Romoleroux, K.; Caro, D.; Teich, I.;Cuyckens, E.;Antezana, C.;Arrazola, S.; Aucca, C.;Balderrama, J.; Beck, S.;Burneo, S.; De la Barra, N.; Bustamante, A.;Fandinso, Y.; Ferro, G.; Gómez, I.; Guzmán, G.; Iglesias, J.;Irazabal, J.; Lozano, P.; Mercado, M.;Monsalve, A.;Renison, D.; Salgado, S.;Samochuallpa, E. (2014). **Mapa Pan Andino de Bosques de *Polylepis* prioritarios para Conservación**. American Bird Conservancy, The Plains, USA.
5. Arroyo, N.; Hernández, A. (2016). **Alternativas para mejorar el rendimiento de extracción de vainillina en frutos curados de vainillina.** Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Universidad de Costa Rica. San José- Costa Rica. 130 p.
6. Asimov, I. (2003). **Breve historia de la química**. Alianza editorial. Madrid. 7 pp.
7. Borges, N. (2014**). Síntesis de derivados do estigmasterol e do ácido ursólico e avaliacao de suas atividades biológicas.** Tesis de Posgrado en Química. Centro de Ciencias Naturales y Exactas. Universidad Federal de Santa María, Brasil. 13-39 pp.
8. Caceda, C. (2012). Evaluación de la actividad antibacteriana "*in vitro*" del extracto alcohólico de las hojas de *Polylepis rugulosa* ("queilua") frente a cultivos bacterianos

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

uropatógenos aislados en el Hospital Hipólito Unanue–Tacna. **Revista Ciencia & Desarrollo**, **14**: 51-58.

9. Castillo, E.; Martínez, I. (2007). **Manual de fitoterapia.** ELSEVIER MASSON. Barcelona. 30-45 pp.
10. Catalano, S.; Bilia, A.; Martinozzi, M.; Morelli, I. (1994). Kaempferol 3−*O*−β−D−(6" feruloylglucoside) from *Polylepis incana*. **Phytochemistry**, **37**: 1777-1778.
11. Catalano, S.; Cioni, P.; Martinozzi, M.; De Feo, V.; Morelli, I. (1995). Chemical investigation of *Polylepis incana* (Rosaceae). **Biochemical Systematic and Ecology**, **23**: 105-107.
12. Cocho, J. (2008). **Desarrollo de un método por espectrometría de masas en tándem para la determinación de acilcarnitinas y la detección neonatal de alteraciones del metabolismo de ácidos orgánicos y ácidos grasos**. (Tesis Doctoral). Facultad de Química, Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela-España. 267 p.
13. Colmenares, M.; Rada, F. (2002**). Estudio del crecimiento de *Polylepis sericea* Wedd., en el páramo venezolano**. Tesis de Licenciatura en Biología. Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela. 57 p.
14. Cubas, M.; Huaman, D.; Montellanos, H. (2018). **Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Polylepis incana* Kunth**. (Tesis de Pregrado). Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso De La Vega. Perú. 86 p.
15. Cuyckens, G.; Renison, D. (2018). Ecología y conservación de los bosques montanos de *Polylepis*. Una introducción al número especial. **Ecología Austral**, **28**: 157-162.
16. Daud, A.; Habit, N.; Sánchez, A. (2008). Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, **13**: 1-11.
17. Daud, A.; Sánchez, A. (2007). Actividad diurética de extractos acuosos de *Polylepis australis* (queñoa) y *Phrygilanthus acutifolius* (corpo). Estudio comparativo en ratas. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, **6**: 337-339.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

18. De la Cruz, H. (2007). **Uso tradicional (medicinal y biocida) de las especies vegetales silvestres de la cuenca del rio Chillón, Canta-Lima**. (Tesis Doctoral). Programa Doctoral en Ciencias e Ingeniería Biológicas, Escuela de Pos-grado, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. 133 p.
19. Duddeck, H.; Dietrich, G.; Tóth, G. (2000). **Elucidación estructural mediante RMN**. 3ª edición. Springer-Verlag Ibérica. Barcelona. 7-23 pp.
20. Escamilla, C.; Cuevas, E.; Guevara, J. (2009). Flavonoides y sus acciones antioxidantes. **Revista de la Facultad de Medicina, UNAM.**, **52**: 73-75.
21. Fede, A. (2017**).** Familia Rosaceae. *En***: Diversidad vegetal**, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Corrientes-Argentina. 190-204 pp.
22. Fernández, A.; Rodríguez, E. (2007). **Etnobotánica del Perú pre-hispano.** Ediciones Herbarium TRUXILLENSE (HUT). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo-Perú. 8-41 pp.
23. Fleming, I.; Dodley, W. (2019). **Spectroscopy Methods in Organic Chemistry.** 7th edition. Springer Nature. Switzerland AG. 277−315 pp.
24. García, D.; Eli, F.; Rosquete, C. (2019). **Cuantificación de compuestos fenólicos y cambios morfoanatómicos foliares en *Polylepis sericea* Wedd. (Rosaceae: Sanguisorbeae) en un gradiente altitudinal de la Sierra Nevada de Mérida**. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida-Venezuela. 64 p.
25. García, F. (2003) **Familia Rosácea (Rosaceae). Parte IV: tema 22**. Universidad Politécnica de Valencia, España. (s.f.). Recuperado de http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas%20PDF/Ros%C3%A1ceas.pdf
26. Hernández, L.; González, C. (2002). **Introducción al Análisis Instrumental**. Editorial Ariel, S.A. Barcelona. 45-46 pp.
27. Hummer, K.; Janick, J. (2009). Rosaceae: taxonomy, economic importance, genomics. **U.S. Department of Agriculture. Research Gate**, **6**: 1-17.
28. Hurtado, R.; Palabral, A.; Domic, A.; Gómez, M.; Liberman, M. (2018). Estudios etnobotánicos y florísticos de los bosques amenazados de *Polylepis incarum* y *Polylepis pacensis* (Rosaceae) en Bolivia. **Revista del Instituto de Botánica del Nordeste. BONPLANDIA**, **27**: 113-126.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

29. Hyskova, V.; Kyslava, H. (2019). Antioxidant properties of phenylpropanoids. **Biochemistry & Analytical Biochemistry**, **8**: 1-2 pp.
30. Isaza, J. (2007). **Taninos o polifenoles vegetales. Scientia et Technica**, **1**: 13−18.
31. Lampasona, M.; Catalan, C.; Gedris, T. Herz, W. (1998**).** Oleanolic and ursolic acid derivatives from *Polylepis australis*. **Phytochemistry**, **49**: 2061−2064.
32. Llanos, J.; Dávila, L. (2018). **Etnobotánica de la flora arbórea y arbustiva del Departamento de Cajamarca**. (Tesis de Pregrado). Escuela Académico Profesional de Ingeniería Forestal, Universidad Nacional De Cajamarca. Cajamarca-Perú. 119 p.
33. López, G. (2018). Plantas medicinales: una farmacia natural para la salud pública. **PAIDEIA XXI**, **6**: 159-170 pp.
34. López, M.; Triana, J.; Pérez, F.; Torres, M. (2005). **Métodos físicos de separación y purificación de sustancias orgánicas**. (Monografía) Departamento de Química, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC). Las Palmas De Gran Canaria-España. 49 p.
35. Lorenzo, D.; Dellacasa, E.; Loayza, I.; De Groot, W. (2002). Composition of the essential oil of *Polylepis besseri* Hieron. ssp. *besseri* from Bolivia**. Journal of Essential Oil Research**, **14**: 254-256.
36. Lozano, M.; Flores, Y.; Almanza, G. (2017**).** Alto contenido de ácido oleánico en plantas bolivianas de altitud. **Revista Boliviana de Química**, **34**: 28-32.
37. Ludeña, M; Robles, J. (2017). **Método preparativo de ácido ursólico a partir de la planta medicinal flor de arena (*Clinopodium revolutum*)**. (Tesis de Magister). Escuela de Posgrado, Pontificia Universidad Católica Del Perú, San Miguel-Perú. 44-66pp.
38. Marcano, D.; Hasegawa, M. (2018). **Fitoquímica orgánica. 3ra edición.** Concejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 29-339 pp.
39. Martínez, A. (2005). **Flavonoides**. Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. Medellín. 9-10 pp.
40. Martínez, S.; González, J.; Culebras, J.; Tuñón, M. (2014). Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, **17**: 271-278.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

41. Mayer, L. (1987). **Métodos de la industria química en esquemas de flujo de colores. Parte 2**. REVERTE.S.A. Barcelona. 7-9 pp.
42. Morales, M.; Garza, R.; Espinosa, C. (2016). **Investigación en plantas de importancia médica**. OMNIASCIENCE. Nuevo León-México. 2-6 pp.
43. Naveda, G.; Ruales, J. (2010). **Estableciliento de un proceso de obtención de extracto de Ruda (*Ruta graveolens*), con alto contenido de polifenoles.** Tesis de Pregrado en Ingeniería Agroindustrial, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador. 98 p.
44. Neto, C.; Vaisberg, A.; Zhou, B.; Kingston, D.; Hammond, G. (2000). Cytotoxic triterpene acids from the peruvian medical plant *Polylepis racemosa*. **Planta Medica**, **66**: 483−484.
45. Ocaña, D.; Santander, J. (2019). Bosques de *Polylepis* como bancos genéticos para la restauración ecológica de los ecosistemas de montaña. **INAIGEM**, **1**: 111−115.
46. Oliveira, A; Santos, M; Silva, J; Almeida, R; Gurlart, A. (2006). **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia 16 (Supl.): 618-624.
47. Orrego, F. (2011). **Queñoa árbol de las alturas**. Gerencia de Medio Ambiente Compañía Minera Doña Inés de Collahuasi SCM Jack Stern y Cia. Ltda. Recuperado de https://es.scribd.com/document/353410479/Quenoa-arboles-de-las-alturas-pdf
48. Pando, E.; Madero, C. (1979). **Problemas de determinación estructural orgánica por espectroscopia IR**. Publicaciones de la Universidad de Sevilla, España. Serie Ciencias, (23): 9-11.
49. Paz, C.; Mendoza, M.; Cejas, J.; Pacheco, L. (2008). Anatomía de la madera de cinco especies de la familia Rosaceae. **Madera y Bosques**, **1**: 81-105.
50. Prieto, M. (2004). Conocimiento indígena tradicional: el verdadero guardián del oro verde. **Boletín de Antropología de la Universidad de Antioquia. Medellín-Colombia**. **18**: 132-164.
51. Rada, F.; García, C.; Rangel, S. (2011). Microclimate and regeneration patterns of *Polylepis sericea* in a treeline forest of the venezuelan Andes**. Sociedad Venezolana de Ecología. ECOTROPICOS**, **24**: 113-122.

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

52. Rada, F.; Goldstein, G.; Azocar, A.; Meizer, F. (1985). Daily and seasonal osmotic changes in a tropical tree line species. **Journal of Experimental Botany**, **36**: 989-1000.
53. Rado, B.; De la Torre, F. (2011). **Etnobotánica del distrito de Ocanto−Quispicanchi−Cusco**. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Cusco-Perú. 151 p.
54. Rang, H.; Ritter, J. (2016). **Farmacología. 8ª edición**. ELSEVIER. Sao Pablo. 1-32 pp.
55. Renison, D.; Morales, L.; Cuyckens, G.; Sevillano, S.; Cabrera, D. (2018). Ecología y conservación de los bosques y arbustales de *Polylepis*: ¿Qué sabemos y que ignoramos? **Ecología Austral**, **28**: 163-174.
56. Ringuelet, J.; Viña, S. (2013). **Productos naturales y vegetales.** Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires. 8-273 pp.
57. Segovia, M.; Domic, A.; Boza, T.; Kessler, M. (2018). Situación taxonómica de las especies del género *Polylepis*. Implicancias para los estudios ecológicos, la conservación y la restauración de sus bosques. **Ecología Austral**, **28**: 188−201.
58. Sepúlveda, G.; Porta, H.; Rocha, M. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. **Revista Mexicana de Fitopatología**, **21**: 355-363.
59. Shulaey, V.; Schuyler, K. (2008). Multiple models for Rosaceae genomics. **American Society of Plant Biologists**, **147**: 985-1003.
60. Sierra, I.; Pérez, D.; Gómez, S.; Morales, S. (2010). **Análisis Instrumental**. Editorial NETBIBLO, S.L. Barcelona-España. 115-116 pp.
61. Taiz, L.; Zeiger, E. (2006). Fisiología vegetal. **Publicaciones de la Universidad Jaume**, **1**(10). Castellón de la Plana-España. 533-536.
62. Teixeira, E.; Andrade, J. (2012). **Quinonas no ar atmosférico: Determinação, concentrações, e correlação entre as fases vapor e particulada**. (Tesis Doctoral). Programa De Pós-Graduação En Química. Instituto De Química, Universidade Federal Da Bahia. Salvador-Brasil. 97 p.
63. The Taxomicon. **Taxon: family Rosaceae**. Recuperado de https://web.archive.org/web/20070320160644/http://sn2000.taxonomy.nl/Taxonomicon/TaxonTree.aspx?id=7608

www.bdigital.ula.ve
Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

64. Torres, A. (Sierra Nevada, 2014). **Visión Torres**. Mérida-Venezuela. Recuperado de http://visiontorres.blogspot.com/2014/08/polylepis-conquistador-de-las-alturas.html
65. Vélez, V.; Cavelier, J.; Devia, B. (1998). Ecological traits of the tropical tree line species *Polylepis quadrijuga* (Rosaceae) in the Andes of Colombia. **Journal of Tropical Ecology**, **14**: 771-787.
66. Villa, F.; Hormaza, A.; Arias, M. (2011). Thevenin B: glicósido cardiotónico predominante en *Thevetia* peruviana. **Scientia et Technica**, 3: 298-303.
67. WADE, L.G. (2004). **Química Orgánica, 5ª edición**. Pearson Prentice Hall. Madrid. 490-1172 pp.
68. Zhang, J.; Hu, B. (2013). Liquid-liquid extraction (LLE). *In*: **Separation and purification. Technologies in Biorefineries.** John Wiley & Sons. Ltd. 61-77 pp.
69. Zorrilla, F. (2004). **Revalorización y gestión del saber local sobre la medicina tradicional en el sistema agroforestal**. Tesis de Ingeniería Agronómica, Facultad de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y Forestales, Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca. Sucre-Bolivia. 195 p.
70. Zutta, B.; Rundel, P.; Soatchi, S.; Velasco, Y.; Casana, J.; Gauthier, P.; Buermann, W. (2012). Prediciendo la distribución de *Polylepis*: bosques andinos vulnerables y cada vez más importantes. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. **Revista Peruana de Biología**, **19**: 205-212. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/ scielo.php?script= sci_abstract&pid=S1727-99332012000200013&lng=es.

www.bdigital.ula.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

11. GLOSARIO.

Actinomorfas: Se aplica a cualquiera de las partes u órganos de un vegetal que está dividido en dos partes simétricas por cualquier plano que pase por su eje y por la línea media de un sépalo o pétalo.

Adsorción: es el proceso en la cual átomos o moléculas de una sustancia son retenidas en la superficie de otra sustancia. En química y física, la adsorción es un fenómeno de superficie en la cual un componente tiende a concentrarse en la interface, o sea, entre una fase y otra de sustancias diferentes.

Aglicona: aglucona o genina en química orgánica es el agrupamiento no glucídico de un heterósido. Es el compuesto sin azúcares que queda tras reemplazar por un átomo de hidrógeno el grupo glicosilo de un glucósido. La aglicona se presenta bajo la forma de alcohol, de fenol o de una sustancia que contenga nitrógeno y azufre.

Antihipertensivo: designa toda sustancia o procedimiento que reduce la presión arterial.

www.bdigital.ula.ve

Antioxidantes: son sustancias naturales o fabricadas por el hombre que pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células. Los antioxidantes se encuentran en muchos alimentos, incluyendo frutas y verduras. También se encuentran disponibles como suplementos dietéticos.

Aquenio: fruto seco con una sola semilla y con el pericarpio independiente de la misma, es decir no soldado a ella.

Biodiversidad: o diversidad biológica se refiere a la extensa variedad de seres vivos existentes en el planeta.

Bioquímica: parte de la química que estudia la constitución de la materia viva y sus reacciones.

Biosíntesis: representa una serie de reacciones que ocurren dentro de un organismo cuando fabrican sustancias orgánicas complejas, partiendo de otras mucho más simples, con el subsiguiente desgaste de energía metabólica. El cuerpo humano, por ejemplo, produce proteínas partiendo de los aminoácidos producto del proceso de biosíntesis. Lo anterior

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

confirma, que la biosíntesis es un proceso biológico que se produce en la células y en donde se forman partículas que dan origen a nuevas células.

Biotecnología vegetal: es una extensión de la tradición de modificar las plantas, con una diferencia muy importante: la biotecnología vegetal permite la transferencia de una mayor variedad de información genética de una manera más precisa y controlada.

Carbohidrato: Es un término utilizado para describir aquellas moléculas que fundamentalmente tienen una estructura constituida por hidrógeno, oxígeno y carbono. Son biomoléculas y su primera función en los seres vivos es brindar energía para que este realice todas las tareas físicas y metabólicas necesarias para subsistir.

Catecolaminas: (también llamadas amino hormonas) son hormonas que se vierten al torrente sanguíneo. Son un grupo de sustancias que incluyen la adrenalina, la noradrenalina y la dopamina, las cuales son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina. Contienen un grupo catecol y un grupo amino.

Cimas: inflorescencia en la que se desarrollan en primer lugar las flores centrales, situadas al final del eje principal.

www.bdigital.ula.ve

Citotóxico: que tiene efectos tóxicos sobre ciertas células.

Cotoneaster: es un género de plantas leñosas en la familia de las Rosáceas.

Degradación: es un término que hace referencia a la situación en la que un individuo u objeto de importancia ve reducido su poder, capacidad, habilidad, etc., por la acción de un ente determinado. La degradación es la palabra utilizada para denominar todos los cambios biológicos que se dan en el suelo o la descomposición de restos de animales, plantas o algún objeto fabricado por humanos.

Derrubio: conjunto de fragmentos de roca desplazados por una corriente o agentes atmosféricos que se depositan en una pendiente.

Diurético: aumenta la secreción y excreción de la orina.

Drupa: fruto carnoso con una semilla rodeada de un envoltorio leñoso, como el melocotón y la ciruela.

Endémica: Se aplica a las especies vegetales y animales originarias de una región o comarca restringida.

Endosperma: parte de la semilla que rodea el embrión y suele ser consumida por este durante la maduración de la misma.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Envés: llama envés a la cara inferior o cara abaxial de la lámina o limbo de la hoja de una planta. La epidermis del envés suele ser diferente de la del haz o cara superior; casi siempre presenta una cutícula más fina, mayor densidad de estomas y, frecuentemente también, mayor abundancia de tricomas (pelos epidérmicos). Casi siempre es de color más claro que el haz.

Especiación: es un suceso de formación de linajes que produce dos o más especies diferentes.

Especie: Es la unidad básica de la clasificación biológica, se define a menudo como grupo de organismos capaces de entrecruzarse y de producir descendencia fértil.

Estípulas: Apéndices dobles, generalmente foliáceos, ubicados a ambos lados de la base de la hoja en algunas plantas.

Estrógenos: son hormonas sexuales esteroideas, es decir que se derivan del colesterol.

Etnomedicina: es un estudio o una comparación de la medicina tradicional practicada por varios grupos étnicos y especialmente por pueblos indígenas. La palabra etnomedicina se utiliza a veces como un sinónimo para medicina tradicional.

www.bdigital.ula.ve

Familia: Es una unidad sistemática y una categoría taxonómica situada entre el orden y el género; o entre la superfamilia y la subfamilia si estuvieran descritas.

Fitoestrógenos: son un grupo de alimentos naturales, cuya estructura es similar a la de los estrógenos de la mujer.

Flores hermafroditas: son aquellas flores que presentan los sexos masculino y femenino en una misma flor.

Folículo: fruto seco que se abre solo por un lado y tiene una única cavidad que normalmente contiene varias semillas.

Folíolos: cada segmento de una hoja compuesta.

Fotosíntesis: síntesis de un cuerpo químico o de una sustancia orgánica, como los glúcidos, realizada por las plantas clorofílicas mediante la energía luminosa. (La energía de origen solar se introduce en los grandes ciclos bioquímicos terrestres gracias a la fotosíntesis).

Género: Es una categoría taxonómica que se ubica entre la familia y la especie; así, un género es un grupo de organismos que a su vez puede dividirse en varias especies (existen algunos géneros que son mono específicos, es decir, contienen una sola especie).

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

Glucósidos cianogénicos: tienen como estructura general un grupo nitrilo unido a un carbono que tiene unido a su vez un azúcar mediante un enlace glicosídico, y dos grupos distintos, que varían dependiendo de cuál sea el glucósido. Se encuentra en las semillas y en los huesos de manzanas, cerezas, melocotones, almendras, papaya y nectarinas, donde actúa como una defensa química de la planta.

Hidrólisis: descomposición de compuestos químicos por acción del agua.

Hipoglucemiante: son un tipo de medicamentos empleados para disminuir los niveles de azúcar en la sangre, principalmente en los casos de resistencia a la insulina y la diabetes.

Hojas compuestas: son aquellas en las que el limbo está dividido en fragmentos que llegan al nervio principal.

Hojas coriáceas: Se dice de las hojas cuyo limbo es duro y espeso.

Hojas imparipinadas: aquellas hojas compuestas que no crecen en pares alrededor de la ramita o raquis de sostén.

Inconspicuas: no se nota o se ve fácilmente, no prominente o llamativo.

Inflorescencia: es la disposición de las flores sobre las ramas o la extremidad del tallo; su límite está determinado por una hoja normal.

www.bdigital.ula.ve

***In vitro*:** Indica que ciertos fenómenos biológicos se efectúan y observan en el laboratorio.

***In vivo*:** Indica que ciertos fenómenos biológicos se efectúan y observan en el cuerpo vivo de una planta o animal.

Lípidos: sustancia orgánica corrientemente denominada grasa, insoluble en el agua, soluble en bencina y éter, y formada por ácidos grasos unidos a otros cuerpos.

Líquenes: son asociaciones simbióticas entre un hongo (micobionte) y un alga verde o unas cianobacterias (fotobionte).

Monolignoles: son fitoquímicos que actúan como materiales fuente para la biosíntesis de lignanos y lignina.

Morfología: es la disciplina encargada del estudio de la estructura de un organismo o características. Esto incluye aspectos de la apariencia externa (forma, color, estructura) así como aspectos de la estructura interna del organismo como huesos y órganos.

Peciolo: Parte de la hoja que une la lámina al tallo.

Polución: nos permite designar de manera alternativa a la contaminación en el medio ambiente que habitamos los seres vivos, es decir, polución significa la contaminación

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

grave, ya sea del aire o del agua, como consecuencia de la acción degradante que ejerce algún agente tóxico o residuos que entran en contacto con alguno de estos.

***Potentilla*:** es un género de plantas perteneciente a la familia Rosaceae.

Proteínas: Son uno de los principales nutrientes que necesitamos los seres vivos. son macromoléculas formadas por la unión de varios aminoácidos que se componen de carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno (algunas además pueden presentar azufre, fósforo, hierro y molibdeno). Cumplen importantes funciones y su carencia puede llevar a serias enfermedades, sobre todo si esta carencia se produce en etapas críticas de la vida, como la gestación y la infancia temprana.

Resorción: Lo contrario a la adsorción; la eliminación de materia desde un medio adsorbente, usualmente para recuperar material.

Respiración celular aeróbica: es un proceso metabólico dentro de la célula y es posiblemente uno de los más importantes para la vida. Es un sofisticado y complejo proceso que se puede simplificar en la obtención de energía a partir de la glucosa que a su vez es derivada de los alimentos que consume un organismo.

Rizobios: son bacterias del perfil de suelo que fijan nitrógeno diazotrófico después de haberse establecido endosimbióticamente dentro de nódulos radiculares de las leguminosas. Los rizobios no pueden independientemente fijar nitrógeno atmosférico, requieren una planta hospedante.

Rosaceae: Las rosáceas, son una familia de plantas dicotiledóneas pertenecientes al orden de las Rosales.

Saponinas: son un grupo de glucósidos oleosos, los cuales son solubles en agua produciendo espumosidad cuando las soluciones son agitadas. Las contienen plantas muy diversas, entre ellas el abrojo, la saponaria o jabonera, el castaño de Indias y muchas otras.

Semidecicuo: Los botánicos califican así a los bosques en los que la mitad, grosso modo, de los árboles son caducifolios y la otra mitad son de hoja perenne también, Vegetación en la cual entre el 25 y 75 % de las especies de plantas pierden su follaje en la época seca.

Síntesis: formación artificial de un cuerpo a partir de sus elementos.

Solvente isocrático: lo cual significa que el solvente conserva la misma concentración durante todo el tiempo de corrida (muestreo o análisis), sea que se trate de un solvente puro o de mezclas de solventes.

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual

***Spiraea*:** es un género con 300 especies de plantas perteneciente a la familia de las Rosáceas.

Subfamilia: categoría taxonómica inferior a la familia y superior al género.

Taludes: inclinación de un terreno o de un muro (hay que tener cuidado al bajar por el talud de la montaña).

Tamizaje fitoquímico: consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación. Debe de permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo.

Taninos condensados: son una clase de flavonoides que son los pigmentos principales de muchas semillas, y también están presentes en los tejidos vegetativos de algunas plantas de forrajeo.

Taxón: es un grupo de organismos emparentados, que en una clasificación dada han sido agrupados, asignándole al grupo un nombre en latín, una descripción, y un "tipo", de forma que el taxón de una especie es un espécimen o ejemplar concreto.

Xenobiótico: se forma a partir de dos vocablos griegos: *xeno* (que puede traducirse como "extraño") y *bio* (vinculado a la "vida"). De este modo, alude a aquellos compuestos que disponen de una estructura química que no existe en La Naturaleza, sino que ha sido desarrollada por el hombre en un laboratorio.

www.bibliotecavirtual.ve

Reconocimiento-No comercial-Compartir igual