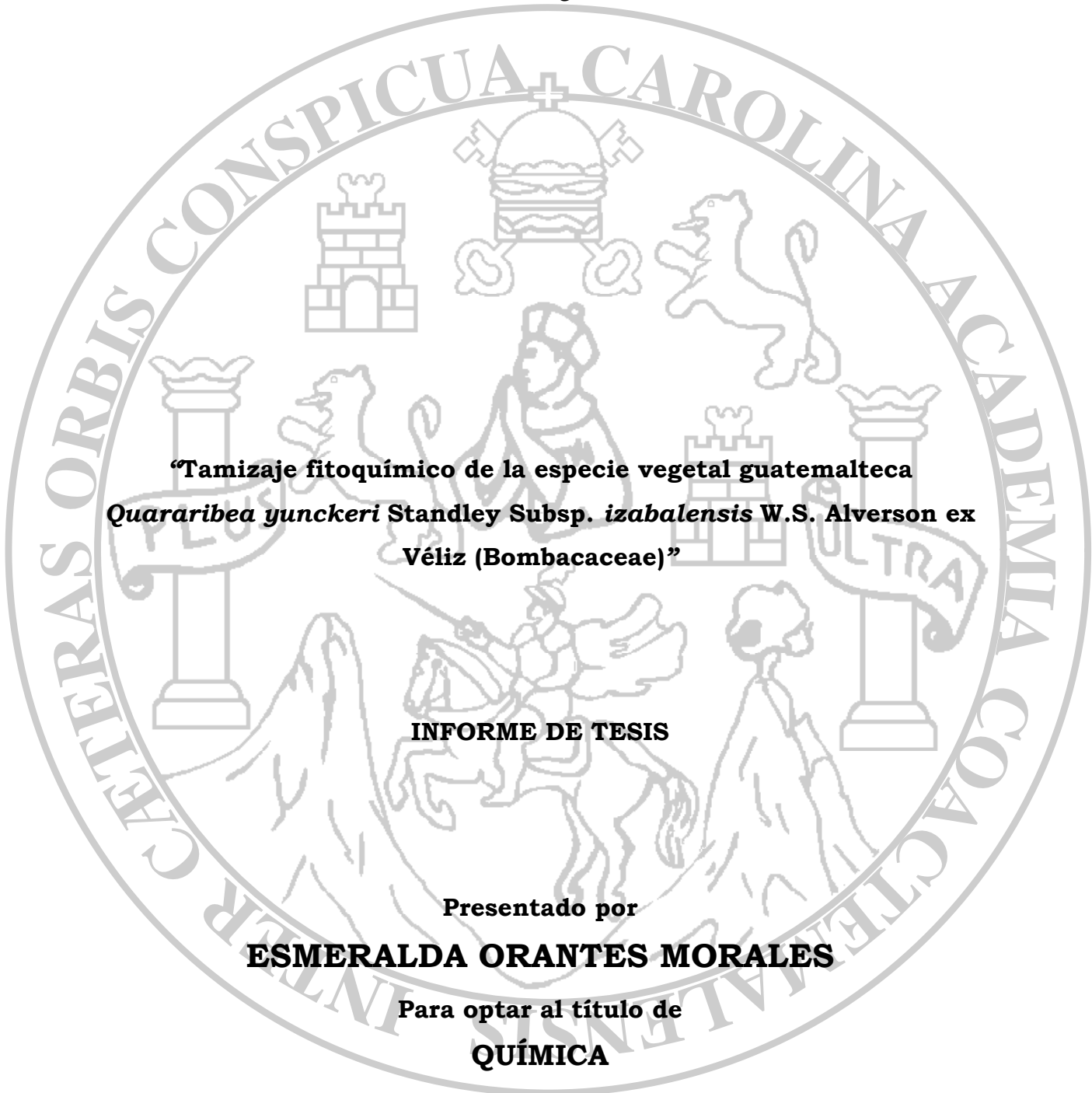


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large circular emblem in the background. It features a central figure of a woman in a crown, surrounded by various symbols including a castle, a lion, and a cross. The Latin motto "SICUT ERAS ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMENSIS INTER CETERAS" is inscribed around the perimeter. Two columns with scrolls are also present, with the words "PLUS" and "ULTRA" on them.

**“Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca
Quararibea yunckeri Standley Subsp. *izabalensis* W.S. Alverson ex
Véliz (Bombacaceae)”**

INFORME DE TESIS


Presentado por

ESMERALDA ORANTES MORALES

**Para optar al título de
QUÍMICA**

Guatemala, Agosto 2008

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large circular emblem in the background. It features a central figure of a seated woman, likely the Virgin Mary, holding a child. Above her is a crown with a cross. To the left and right are lions and castles. Below the central figure is a knight on horseback. The seal is surrounded by the Latin text "UNIVERSITAS CAROLINA CAQUETEMALENSIS INTER CETERAS ORBIS CONSPICUA" and "ACADEMIA COACTEMALENSIS".

**“Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca
Quararibea yunckeri Standley Subsp. *izabalensis* W.S. Alverson ex
Véliz (Bombacaceae)”**

**ESMERALDA ORANTES MORALES
QUÍMICA**

Guatemala, Agosto 2008

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II.	INTRODUCCIÓN	3
III.	ANTECEDENTES	4
	A. GENERALIDADES DE <i>Quararibea yunckeri</i> Standley Subsp. <i>izabalensis</i> W.S. Alverson ex Véliz.	4
	1) Familia a la que pertenece	4
	2) Nombre Científico	4
	3) Nombre Común	4
	4) Sinónimos	4
	5) Distribución Geográfica	4
	6) Hábitat	4
	7) Descripción Taxonómica	5
	8) Composición Química	5
	9) Usos Tradicionales	5
	B. CARACTERÍSTICAS DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y FUNAMENTOS TEÓRICOS DE LAS PRUEBAS A REALIZAR	6
	1) Alcaloides	6
	2) Flavonoides y Antocianinas	7
	3) Antraquinonas	8
	4) Cumarinas	9
	5) Esteroides o triterpenoides	10
	6) Saponinas	11
	7) Principios Amargos	12
	8) Taninos	13
	9) Aceites Volátiles	14
	10) Sesquiterpenlactonas	15
IV.	JUSTIFICACIÓN	17
V.	OBJETIVOS	18
VI.	HIPÓTESIS	19
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	20
VIII.	RESULTADOS	37
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	40
X.	CONCLUSIONES	44
XI.	RECOMENDACIONES	45
XII.	REFERENCIAS	46
XIII.	ANEXOS	49
XIV.	GLOSARIO	63

I. RESUMEN

El presente informe se basa en la identificación de grupos de metabolitos secundarios en hojas y tallos de la especie vegetal *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* (Molinillo) colectada en su hábitat natural, en la selva baja muy húmeda de la Sierra Santa Cruz, en el departamento de Izabal, Guatemala. (Ver anexo #5)

Hasta hoy se carecía de información sobre los metabolitos secundarios presentes en *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis*, únicamente se cuenta con antecedentes de la familia a la que pertenece (Bombacaceae), por lo tanto en el presente informe se dan a conocer los resultados del estudio exploratorio acerca de la composición química, por ser este un estudio no experimental, descriptivo y transversal (5); los resultados se dan a conocer de forma cualitativa indicando la presencia o ausencia del grupo de metabolito secundario presente.

Los grupos de metabolitos secundarios estudiados en *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* son: alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, esteroides o triterpenoides, saponinas, principios amargos, taninos, aceites volátiles y sesquiterpenolactonas; previo a la realización de las pruebas la muestra se seco y molió a temperatura ambiente para evitar la transformación de los metabolitos; el análisis se realizó mediante pruebas vía húmeda y cromatografía en capa fina las cuales están basadas en el Manual de Tamizaje Fitoquímico LIPRONAT; para el análisis de aceites volátiles se utilizó cromatografía de gases acoplado a masas.

Según los resultados obtenidos *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* presenta posible presencia de todos los metabolitos secundarios en

estudio, excepto taninos; sin embargo antraquinonas y sesquiterpenlactonas están presentes en cantidades menores a las que detectan las pruebas específicas vía húmeda, ambas pruebas se detectaron únicamente por cromatografía en capa fina.

Se caracterizaron 20 aceites volátiles en la especie vegetal mediante Cromatografía de Gases acoplada a Masas; se detectó la presencia de Timol, Metil Eugenol, α -Santaleno, β -cis-Farneseno, cis-Geranilacetona trans- β -Ionona, cis-Nerolidol, Benzofenona, Fitol, entre otros (11).

Este informe aportará al establecimiento de perfiles de composición de metabolitos secundarios de productos naturales, específicamente a la flora guatemalteca con posibles futuras evaluaciones de intereses de uso medicinal, industrial y/o alimenticio, así como su potencial farmacológico.

II. INTRODUCCIÓN

Quararibea yunckeri Standley Subsp. *izabalensis* (Molinillo) fue recientemente descrita como una especie vegetal nueva que crece en la selva baja muy húmeda, en suelos arcillosos, poco profundos; crece junto a *Quararibea funebris*, *Clusia flava*, *Terminalia nyssaefolia*, *Alseis hondurensis*, *Blakea bella*, entre otras; pertenece a la familia Bombacaceae, la cual no ha sido ampliamente estudiada a nivel nacional e internacional, es por esta razón que se desea llevar a cabo el tamizaje fitoquímico¹ de dicha especie para conocer su composición química (15).

Los metabolitos secundarios son compuestos químicos que poseen similitudes entre sí, los cuales confieren a la planta propiedades farmacológicas, de allí el interés de su investigación, especialmente de las que se desconoce su composición química (1).

En el siguiente trabajo de investigación, se realizan pruebas para caracterizar los grupos de metabolitos secundarios, específicamente, alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, esteroides o triterpenoides, saponinas, principios amargos, aceites volátiles y sesquiterpenolactonas; en la parte aérea de la planta (hojas y tallos), la cual será colectada en su hábitat natural (8).

¹. Caracterización de grupos de metabolitos secundarios

III. ANTECEDENTES

A. GENERALIDADES DE *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* W.S. Alverson ex Véliz.

- 1) FAMILIA A LA QUE PERTENECE: Bombacaceae.
- 2) NOMBRE CIENTÍFICO: *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* W.S. Alverson ex Véliz (15).
- 3) NOMBRE COMÚN: Molinillo (15).
- 4) SINONIMOS: No posee (15).
- 5) DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:
Guatemala (Izabal, Alta Verapaz y Huehuetenango), México (15).
- 6) HÁBITAT:
Quararibea yunckeri Standley Subsp. *izabalensis* crece en la selva baja muy húmeda, en suelos arcillosos, poco profundos, de origen cáustico; crece junto a *Quararibea funebris*, *Clusia flava*, *Terminalia nyssaefolia*, *Alseis hondurensis*, *Blakea bella*, *Calophyllum brasilensis* var. *rekoii*, *Pithecellobium donnell-smithii*, *Manikara zapata*, *Parathesis belizensis*, *Stylogyne guatemalensis*, *Sloanea tuerckheimii*, *Cleidion nicaraguensis* y *Psychotria* spp. (15).

7) DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA:

Reino: Plantae

Subreino: Embriobionta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Malvales

Familia: Bombacaceae

Género: *Quararibea*

Especie: *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis*
W.S. Alverson ex Véliz.

Notas taxonómicas: especie raramente colectada (15).

8) COMPOSICIÓN QUÍMICA: No se tienen antecedentes de la composición química de la especie en estudio acerca de los metabolitos secundarios presentes en ella, pero se posee información acerca de la composición química de la familia a la que pertenece (Bombacaceae), siendo estos los siguientes: taninos y aceites volátiles (12).

9) USOS TRADICIONALES: El uso de la especie vegetal en estudio a nivel comunitario, reportado en Honduras, México y Belice es alimenticio, como condimento y aromatizante, especialmente para la fabricación de chocolate a partir de cacao. Las especies vegetales de la familia Bombacaceae poseen actividad antidiabética, narcótica, antigripal, antipirética, astringente, diurética, supuración, antidontálgico, contra gonorrea, contra hemorroides, entre otros (12).

B. CARACTERÍSTICAS DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y FUNAMENTOS TEÓRICOS DE LAS PRUEBAS A REALIZAR

Los metabolitos secundarios son sustancias que se producen en un organismo a partir de los metabolitos primarios (carbohidratos, proteínas, lípidos, y aminoácidos), con funciones variadas y propias de los organismos en los que se encuentran (1).

1) Alcaloides:

Uno de los grupos más importantes dentro de las sustancias de origen natural con interés terapéutico debido a su actividad farmacológica significativa. Los alcaloides verdaderos se definen como sustancias nitrogenadas, básicas, de origen natural y distribución restringida, poseen una estructura compleja y su átomo de nitrógeno forma parte de un sistema heterocíclico, biosintéticamente se forman a partir de un aminoácido; pueden encontrarse en forma de sales. Los pseudoalcaloides poseen características de alcaloides verdaderos pero no derivan de aminoácidos y por último los protoalcaloides son aminas simples cuyo nitrógeno no se encuentra incluido en un sistema heterocíclico, poseen reacción básica y se forman in vivo a partir de aminoácidos. Los alcaloides poseen propiedades que actúan a nivel del sistema nervioso central (sedante o estimulante), a nivel del sistema autónomo (anticolinérgicos, ganglioplegicos entre otros); además algunos son anestésicos locales, antitumorales, antipalúdicos, amebicidas y antifibrilantes, entre otros. (1)

La extracción de alcaloides se basa en que habitualmente se encuentran en estado de sales, en su basicidad y en disolventes orgánicos; puede llevarse a cabo con un disolvente (diclorometano, cloroformo, benceno o dióxido de etilo) en medio alcalino o en medio ácido con una disolución alcohólica o hidroalcohólica

acidificada. Ensayos macro y semimicro: reacciones de color con reactivos de Mayer's², Dagendorff³, Wagner⁴ y Cromatografía en capa fina (1,8).

2) Flavonoides y Antocianinas:

Son pigmentos vegetales que poseen esqueleto carbonado C₆-C₃-C₆⁵ los cuales se encuentran ampliamente distribuidos en plantas libres y como glucósidos, estos últimos son los responsables de la coloración de flores, frutos y a veces de las hojas, la mayoría son hidrosolubles. Los flavonoides presentan coloraciones amarillas y los antocianosidos rojo, azul y violeta. De no ser directamente visibles, contribuyen a la coloración ya que cumplen un papel de copigmentos. El origen biosintético de los flavonoides es la condensación de tres moléculas de malonil-CoA y un ácido hidroxicinámico. Las antocianinas provienen de (2R,3R,4S)-*trans*-2,3-flavan-*cis*-3,4-diol. Las antocianinas son estables como sales en medio ácido. La principal propiedad biológica de los flavonoides es la de ser venosoactivo (capaz de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia). Su extracción puede llevarse a cabo con una mezcla de agua-acetona (20:80); ó agua-alcohol (metanol o etanol) en caliente, la proporción de agua depende del estado de la muestra, fresca o seca; luego se realiza una extracción liquido-liquido con disolventes inmiscibles con agua (hexano o acetato de etilo, en este ultimo se obtienen los heterósidos que son de interés) (1).

² Mayer's: yoduro de mercurio y potasio

³ Dagendorff: yoduro de bismuto y potasio

⁴ Wagner: yodo-yoduro de potasio

⁵ compuestos C₁₅, su estructura posee dos anillos bencénicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono, Ar-C₃-Ar, según un encadenamiento, 1,3-diarilpropano (flavonoides), 1,2-diarilpropano (isoflavonoides)

Se identifican mediante ensayos macro y semimicro: reacciones de color con reactivos específicos: ácido sulfúrico concentrado, las flavonas forman un complejo soluble color naranja o guinda, resultado de la sustitución nucleofílica del grupo SO_3H en la posición para- respecto al grupo hidroxilo; las charconas y auronas forman coloraciones rojo-guinda a rojo-azulado. Cloruro férrico al 10 % (p/v); ácido clorhídrico concentrado; magnesio metálico; medio básico, en este medio se lleva a cabo la formación de un fenóxidos de sodio los cuales presentan coloraciones características: para las flavonas, amarillo a rojo, los flavones, amarillos, los flavonoles, amarillo a café, los isoflavononas, diversos tonos de rojo, las chalconas, púrpura rojizo y las antocianinas, azul (1,8).

3) Antraquinonas:

Las antraquinonas son una clase de metabolitos secundarios vegetales con una funcionalidad p-quinoides en un núcleo antracénico (Anexo # 1, pag. 50); son biosintetizadas por la ruta de la malonil Coenzima-A en el caso de los hongos, líquenes y plantas superiores de las familias Ramnáceas, Poligonáceas y Leguminosas; mientras que en las Rubiáceas, las Gesneriáceas, las Escrofulariáceas, las Verbenáceas y las Bignoniáceas, se biosintetizan a partir de ácido shikímico y ácido mevalónico. Sin embargo, existen todavía dudas acerca del verdadero estado natural de estas sustancias, existen evidencias experimentales de algunas plantas, las cuales demuestran que las antraquinonas no se encuentran como tales en ellas, sino que son productos de degradación enzimática de las correspondientes formas reducidas, es decir, las antronas y los antranoles. Según esto, las antraquinonas aisladas corresponden a productos de oxidación o dimerización de antronas o antranoles. Por lo anterior, antes de realizarse reportes de antraquinonas vegetales debe considerarse

esta posibilidad. Las antraquinonas naturales generalmente presentan las siguientes características estructurales, tienen grupos hidroxilo (OH⁻) en C-1 y C-8, grupo metilo, hidroximetileno o carboxilo sobre C-3, grupos hidroxilo (OH⁻) o metoxi (OMe) en el C-6, carbohidratos ligados principalmente glucosa, ramnosa y rutinosa; los orto-glicósidos tienen los carbohidratos ligados a través de C-6 o C-8 y los C-glicósidos tienen los carbohidratos ligados a través de C-10. Los procedimientos para el aislamiento de estas sustancias dependen del tipo de núcleo de interés (1).

Se identifican mediante las siguientes pruebas: Prueba de Bornträger y Bornträger modificado⁶ y Cromatografía en capa fina (1,8).

4) Cumarinas:

Las cumarinas son 2H-1-benzopiran-2-onas las cuales se pueden considerar como primera aproximación como lactonas de ácidos 2-hidroxi-Z-cinámicos. Se encuentran sustituidas en C-7 por un hidroxilo (OH⁻); su precursor es la 7-hidroxicumarina (umbelifenona); los hidroxilos de las cumarinas simples pueden metilarse o formar parte de una unión heterosídica⁷.

Se encuentran distribuidos en el reino vegetal. Las cumarinas libres son solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos como dióxido de etilo y disolventes clorados con los cuales pueden ser extraídas (1).

Ensayos macro y semimicro (fluorescencia en medio básico (KOH)) esta prueba se basa en la apertura y solubilización en medio básico, las cumarinas se caracterizan por su intensa absorción en la región ultravioleta del espectro, las cuales al ser examinadas a la luz ultravioleta presentan coloración exaltada en presencia de amoníaco.

⁶ Ambas, en medio alcohólico pero Bornträger modificado medio básico alcohólico.

⁷ Unión acetálica entre un azúcar reducido a grupo hidroxilo (alcohol o fenol) y un no azúcar (genina); en la naturaleza los mas abundantes son los O-heterósidos, pueden existir C-, N-, y S-heterósidos.

e identifica mediante cromatografía en capa fina con los siguientes estándares de cumarinas: umbelifenona, ácido para-cumarico, cumarina y extracto metanólico de canela (1).

5) Esteroides o triterpenoides:

Los esteroides o triterpenoides son compuestos basados en más de 40 esqueletos diferentes, todos poseen 30 carbonos procedentes de la ciclación del 3S-2,3-epoxido-2,3-dihidroescualeno, o eventualmente del escualeno, casi siempre se encuentran hidroxilados en 3 (debido a la apertura del ciclo). Los triterpenos presentan una gran variedad estructural debida principalmente a la conformación adoptada por el epoxiescualeno o escualeno antes de la ciclación. Los ciclos tetra- y pentacíclicos son característicos de los triterpenos. Los esteroides poseen una unidad estructural muy marcada, aunque todos tienen el mismo esqueleto base (Anexo # 2, pag. 50). Se estima que no existen diferencias fundamentales entre esteroides y triterpenos; los esteroides pueden ser considerados como triterpenos tetracíclicos que han perdido, como mínimo tres metilos en C-4 y en C-14, es importante mencionar que su biosíntesis es vía ácido mevalónico. Algunos de los intereses de los esteroides y triterpenos se debe a que poseen propiedades terapéuticas en diversos campos, citostáticos, antivirales, insecticidas, molusquicidas y analgésicos, entre otros; anticonceptivos, anabolizante y antiinflamatorios para cubrir necesidades en la industria farmacéutica (1).

Su identificación se lleva a cabo mediante las siguientes reacciones de color: Liebermann Burchard⁸, Ácido Tricloroacético⁹ y Carr-Price¹⁰ (1).

⁸. Liebermann Burchard: anhídrido acético-ácido sulfúrico

⁹. Ácido Tricloroacético: ácido tricloroacético

¹⁰. Carr-Price: tricloruro de antimonio al 30% en cloroformo

6) Saponinas:

Poseen propiedades tenso-activas, que constituyen un amplio grupo de heterósidos muy frecuentes en los vegetales, se disuelven en agua formando disoluciones espumosas. Se pueden distinguir dos grandes grupos de saponinas, esteroídicas (habitualmente de 6 ciclos, uno furánico y otro piránico debido a la cetalización intramolecular posterior a la oxidación en C-16, C-22 y C-26) y triterpénicas (la mayoría proceden de la ciclación del 3(S)-2,3-epoxi-2,3-dihidroescualeno), dependiendo del esqueleto base carbonado que posea. En plantas se encuentran en forma de mezclas complejas, poseen fuerte polaridad, relativa fragilidad y muy pequeñas diferencias estructurales de masa molecular elevada, difícil de obtener en forma pura, difícilmente cristalizan, son higroscópicas y raramente se obtienen puntos de fusión netos y sin descomposición. Una de sus funciones es la hemólisis en células, permitiendo así la liberación de hemoglobina; muchos actúan como antimicrobianos o antifúngicos, espermicidas y citotóxicos. Son solubles en agua y por lo tanto se pueden extraer generalmente a ebullición, sin embargo se prefiere extraerlos en medio alcohólico (metanol o etanol), seguido de una partición con n-butanol y precipitarlos posteriormente con extracciones de éter dietílico (1).

Se identifican mediante las siguientes pruebas: test de espuma; test de hemólisis, que se basa en la destrucción de las paredes de glóbulos rojos, dispersando la hemoglobina; y con material fresco y seco con cromatografía en capa fina, utilizando gliciricina como estándar (1,8).

7) Principios Amargos:

Se caracterizan por el sabor amargo y su estructura triterpenoide. La mayor parte derivan de monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y triterpenos, todos ellos tienen en común unidades de isoprenos. Los monoterpenos son los constituyentes más sencillos de la serie de terpenos, son el resultado de acoplamiento de unidades isoprenicas, la mayoría se encuentran en forma libre y están ampliamente distribuidos en vegetales superiores; son el resultado del encadenamiento básico del acoplamiento *cabeza-cola* de dos unidades C₅, dando inicialmente GPP, pirofosfato de geranilo (Anexo # 3, pag. 50) y dependiendo el ataque que ocurra, ya sea intramolecular pueden formarse monoterpenos acíclicos, monocíclicos, bi- y tricíclicos. Los sesquiterpenos poseen como precursor común el pirofosfato de farnesilo, todos tienen en común el número de carbonos de la cadena carbonada C₁₅ como resultado de ciclaciones intramoleculares, reagrupamientos y oxidaciones, las cuales dan lugar a un gran número de estructuras. Los diterpenos son compuestos C₂₀ procedentes del metabolismo del 2E, 6E, 10E-geranilgeranilpirofosfato (Anexo # 4, pag. 50), pueden formarse compuestos acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tri- y tetracíclicos (1).

Las propiedades de los principios amargos son antiespasmódico, sedante, antiinflamatoria, analgésica, inhibidor de la agregación plaquetaria, antibacterianos, fitoalexinas, reguladores del crecimiento, micotoxinas, antihipertensivas, antiretrovirales, entre otras (1).

Se identifican mediante cromatografía en capa fina, utilizando estándares para principios amargos seguido de la detección mediante el revelador Lieberman-Burchard detectando su presencia con luz ultra violeta a una longitud de onda de 365 nm con colores característicos: gris o café (8).

8) Taninos:

Son polifenoles cuya estructura química exacta es la de los proantocianidoles y poliésteres de los ácidos gálico y elágico. Son compuestos fenólicos hidrosolubles que tienen una masa molecular comprendida entre 500 y 3000, poseen la capacidad de combinarse con macromoléculas por lo tanto precipitan celulosa, pectinas y proteínas y alcaloides. En vegetales superiores se distinguen generalmente dos grupos diferentes tanto por su estructura como por su origen biosintético: taninos hidrolizables¹¹ y taninos condensados o proantocianidoles¹². Los taninos poseen propiedades antioxidantes, inhibición de algunas enzimas, oposición al efecto mutagénico de ciertos cancerígenos estimulando el mecanismo inmunitario, inhibidores de la replicación de virus *in vitro*, aumentan la resistencia capilar y disminuyen la permeabilidad capilar, aumento del tono venoso, estabilizadores del colágeno e inhibición de la fijación de la serotonina, entre otros. Son solubles en agua, formando disoluciones coloidales de estabilidad moderada, su solubilidad disminuye conforme aumenta el grado de polimerización (1).

Se identifica mediante ensayos macro y semimicro: Precipitación de proteínas con gelatina al 1 % (p/v), gelatina al 1% - cloruro de sodio al 10% y cloruro férrico al 10 % (p/v), si la prueba es positiva debe observarse precipitado en las pruebas que contienen gelatina ya que los taninos tienen la propiedad de reaccionar con las

p

¹¹. Oligo o poliésteres de un azúcar, generalmente de glucosa; taninos gálicos derivados del ácido gálico y del ácido hexahidroxidifenico; los taninos elágicos derivados de la oxidación del ácido hexahidroxidifenico.

¹². Son polímeros constituidos por unidades flavan-3-oles ligadas entre si por enlaces carbono-carbono, generalmente 4→8 o 4→6.

e

inas formando compuestos insolubles, con cloruro férrico dan coloraciones distintas dependiendo del compuesto que forman, si la

coloración es negra grisácea, posible presencia de catecol; si la coloración es negro azulada posible presencia de pirogalol (1,8).

9) Aceites Volátiles:

Los aceites volátiles son mezclas complejas y variables los cuales pertenecen principalmente a dos grupos dependiendo de su origen biosintético: los terpenoides de masa molecular no muy elevada (monoterpenos acíclicos, monocíclicos o bicíclicos y sesquiterpenos compuestos por monociclos o policiclos, alcoholes, cetonas, aldehídos y ésteres) y los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano. Son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, muy raramente son coloreados, generalmente densidad menor a la del agua, poseen alto índice de refracción y la mayoría desvía la luz polarizada. Son liposolubles y solubles en disolventes orgánicos habituales, se pueden extraer por arrastre de vapor de agua ya que son poco solubles en ella. Su poder antiséptico, sedante, neurosedante, espasmolítico, cicatrizante, colérico e incluso irritante, son algunas de las propiedades de los aceites volátiles. Se identifican mediante cromatografía de gases tras hidrodestilación del material fresco (14).

10) Sesquiterpenlactonas:

Se conocen alrededor de 3,000 estructuras, descritas antiguamente bajo el nombre de principios amargos¹³, su distribución botánica es bastante esporádica, se encuentran en Hongos y Briofitas, en Angiospermas (Apiaceae, Lauraceae, Menispermaceae) y mayoritariamente en Asteraceae. Se localizan frecuentemente en hojas, tallos y bracteas de la inflorescencia, son escasas en los órganos subterráneos. Poseen estructuras variadas, todas relacionadas con el producto de ciclación ciclodecadienílico de 2E, 6E-farnesil-pirofosfato. Algunas poseen propiedades antibacteriana, antifúngica, animalárica, antihelmíntica, molusquicida, citotóxica. No existe un método específico de su extracción, se pueden extraer con etanol o metanol caliente, cloroformo o éter dietílico, también se pueden aislar con una mezcla de hexano:cloroformo:acetato de etilo (2:2:1); luego se fraccionan los extractos con una técnica cromatográfica apropiada con diferentes reactivos reveladores como vapores de yodo, disolución diluida de permanganato de potasio, vainillina sulfúrica, cloruro de cobalto en disolución sulfúrica acuosa y otros. (1, 8)

Se identifican lactonas α , β -insaturadas mediante las siguientes pruebas: Prueba de Legal, el reactivo utilizado en esta prueba es el nitroprusiato de sodio en medio básico, debido a que las lactonas α , β -insaturadas son reductores muy fuertes, son capaces de reducir al reactivo y por lo tanto oxidarse, de esta forma reaccionar ocasionando un cambio de coloración en dicho proceso, por lo tanto si se presenta coloración roja oscura, la prueba se interpreta como posible presencia de sesquiterpenlactonas; la Prueba de Baljet se basa en la formación de un complejo formado

¹³. Esta terminología obsoleta reúne un conjunto de compuestos muy homogéneo en el cual se incluyen lactonas terpénicas (mono, di, tri y sesquiterpénicas) cuya característica principal es el sabor amargo de las drogas; en la actualidad los principios amargos y las sesquiterpenlactonas se distinguen según su precursor.

entre el ácido pícrico y la lactona α , β y γ insaturada, dicho complejo presenta coloración rojo claro a oscuro. También se realiza analiza mediante cromatografía en capa fina (8).

IV. JUSTIFICACIÓN

Quararibea yunckeri Standley Subsp. *izabalensis* (Molinillo) fue descrita en el año 2000 (Véliz, M. 2000) como una nueva subespecie de Guatemala que crece en el departamento de Izabal, en selvas bajas muy húmedas de la Sierra Santa Cruz.

El genero vegetal *Quararibea* pertenece a la familia Bombacaceae, la cual no esta ampliamente estudiado, razón por la cual se desea investigar su composición química como un estudio exploratorio, no experimental, descriptivo y transversal. Los antecedentes de composición química de la familia Bombacaceae son presencia de taninos, flavonoides, triterpenos y aceites esenciales.

El objetivo de llevar a cabo la identificación cualitativa de grupos de metabolitos secundarios (presentes o ausentes) en la especie vegetal guatemalteca anteriormente indicada mediante tamizaje fitoquímico, es contribuir al estudio profundo de la diversidad florística de Guatemala, ya que recientemente se ha realizado su análisis taxonómico.

Una vez analizados los grupos de metabolitos secundarios se pretende documentar los mismos y posteriormente dar a conocer su composición química.

Dicha investigación aporta al establecimiento de perfiles de composición de metabolitos secundarios de productos naturales, específicamente a la flora guatemalteca con posibles futuras evaluaciones de intereses de uso medicinal y/o industrial, así como su potencial farmacológico.

V. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

- Identificar cualitativamente los grupos de metabolitos secundarios en la parte aérea de la planta (hojas y tallos) de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis*, que crece en la quebrada seca de la Sierra Santa Cruz, Izabal, Guatemala; mediante tamizaje fitoquímico.

VI. HIPÓTESIS

La investigación no posee hipótesis debido a que el estudio es exploratorio y descriptivo; la especie vegetal en estudio esta recién descubierta por lo que es un estudio inicial y por consiguiente se desconoce su composición química, en la cual se basaría la hipótesis planteada.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO DE TRABAJO:

POBLACIÓN:

Especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley
Subsp. *izabalensis*

MUESTRA:

50 g secos y 50 g frescos de la parte aérea (hojas y tallos) de la especie vegetal *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis*

B. RECURSOS

1. HUMANOS:

Investigadora: Esmeralda Orantes Morales

Asesores: a. Licda. Irma Nohemi Orozco Godinez.

b. Ing. Agr. Mario Esteban Véliz Pérez.

INSTITUCIONALES:

- Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos.
- Laboratorio de Investigación en Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de CCQQ y Farmacia, Universidad de San Carlos.
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos.

- Laboratorio de Toxicología, Antigua Facultad de CCQQ y Farmacia, Universidad de San Carlos.

2. RECURSOS MATERIALES:

a) EQUIPO:

- Cromatógrafo de Gases marca HP 5890, serie II, acoplado a un detector Selectivo de Masas modelo HP 5971A
- Columna Capilar HP de dimensiones HP-5 con diámetro interno de 0.2 mm y espesor film de 0.3
- Balanza Analítica Marca AND, modelo FR-2000.
- Estufa de metal marca Corning con agitación magnética
- Manta de calentamiento Corning con reóstato y niveles de calentamiento
- Lámpara UV (254 nm y 365 nm)
- Cámara fotográfica HP
- Mechero Bunsen con manguera de hule.

b) REACTIVOS:

REACTIVO	CANTIDAD (gramos o mililitros)	CALIDAD Y PUREZA
Ácido Acético	11.0 ml	A.C.S., 99 %
Ácido Sulfúrico	1.0 ml	A.C.S., 99 %
Anhídrido Acético	5 ml	A.C.S., 99 %
Cloroformo	260 ml	A.C.S., 99 %
Tricloruro de Antimonio	2 g	A.C.S., 30 %

Ácido tricloroacético	0.5 g	A.C.S., 99 %
Metanol	250 ml	A.C.S., 99 %
Artemisina	1 microlitro	A.C.S., 99 %
Acetato de etilo	77 ml	A.C.S., 99 %
Anisaldehído	1 ml	A.C.S., 99 %
Vainillina	1 ml	A.C.S., 99 %
Diclorometano	50 ml	A.C.S., 99 %
Tolueno	10 ml	A.C.S., 99 %
Xileno	10 ml	A.C.S., 99 %
1,8-cineol	0.5 ml	A.C.S., 99 %
Nitroprusiato de sodio	1 ml	A.C.S., 99 %
Hidróxido de potasio	1 g	A.C.S., 99 %
Ácido pícrico	1 g	A.C.S., 99 %
Éter etílico	5 ml	A.C.S., 99 %
Hidróxido de sodio	10 g	A.C.S., 99 %
Yodo	2 g	A.C.S., 99 %
Permanganato de potasio	2 g	A.C.S., 99 %
Acetona	50 ml	A.C.S., 99 %
Hidróxido de amonio	0.5 ml	A.C.S., 99 %
Papaverina	1 microlitro	A.C.S., 99 %
Antropina	1 microlitro	A.C.S., 99 %
Yoduro de Potasio	35 g	A.C.S., 99 %

Cloruro de Mercurio	2 g	A.C.S., 99 %
Nitrato de Bismuto	8 g	A.C.S., 99 %
Dietilamina	20 ml	A.C.S., 99 %
Tolueno	70 ml	A.C.S., 99 %
Peroxido de hidrogeno	5 ml	A.C.S., 3.0 %
Difenilboriloxietilamina	1 ml	A.C.S., 99 %
Polietilenglicol	5 ml	A.C.S., 99 %
Benceno	10 ml	A.C.S., 99 %
Quercetina	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Rutina	10 microlitros	A.C.S., 99 %
ácido clorogénico	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Hiperósido	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Aloína	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Flangulina	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Glucofrangulina	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Agliconas	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Reina	10 microlitros	A.C.S., 99 %
Aloeemodina	10 microlitros	A.C.S., 99 %
n-butanol	100 ml	A.C.S., 99 %

c) CRISTALERÍA:

- Pipetas de 1, 2, 3 y 5 ml.
- Micropipetas con bulbo.
- Beakers de 10, 50, 100, 250 y 500 ml.
- Probetas de 10, 25 y 100 ml.
- Balones aforados de 10 y 250 ml.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Pinzas para tubo de ensayo.
- Vidrio de reloj
- Varilla de agitación.
- Frascos de vidrio color ámbar con tapadera.
- Capilares sin heparina.
- Cámara cromatográfica
- Cromatoplasmas de Silicagel 60F₂₅₄.
- Maskin tape.
- Papel filtro Wathman No. 41.
- Papel parafilm.
- Caja de Petri con agar sangre.
- Jeringa para cromatografía de gases marca Hamilton de vidrio de escala de 0 a 10 microlitros.
- Vaso florentino Corning 45/50 esmerilado
- Balón Corning de 5000 ml y condensador 45/50 esmerilado.
- Termómetro graduado de -5 a 360 °C

3) MÉTODOS:

a. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

El diseño de la investigación es no experimental, descriptivo y transversal.

b. PROCEDIMIENTOS

Los procedimientos de las pruebas específicas para la investigación de metabolitos secundarios están basados en el Manual de Tamizaje Fitoquímico del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), versión 2005.

1. Obtención de la muestra: La muestra de la especie vegetal en estudio se tomó en su hábitat natural, ubicado en la Quebrada Seca de la Sierra Santa Cruz, departamento de Izabal, Guatemala. Se cortaron dos ramas, de las cuales se escogieron las hojas y tallos sanos para su análisis. La muestra fue colectada el 02 de diciembre de 2006 a las 13:20 hrs.

2. Determinación de alcaloides: (7,8)

a) Ensayos macro y semimicro:

i. Pesar 1 g de material vegetal

ii. Agregar 2 gotas de solución de hidróxido de amonio al 10% (p/v), luego añadir 25 mL de metanol a 60°C.

iii. Filtrar con papel filtro Whatman No. 41 y acidificar el filtrado con ácido clorhídrico 2 N.

iv. La solución resultante dividirla en 4 tubos y evaluar de la siguiente manera:

Tubo 1: agregar 5 gotas del reactivo de Mayer's. (Color blanco a crema).

Tubo 2: agregar 5 gotas del reactivo de Dragendorff. (Color rojo a naranja).

Tubo 3: agregar 5 gotas del reactivo de Wagner. (Color marrón).

Tubo 4: testigo.

Nota: Estándares soluciones al 1% de atropina y papaverina. Observar durante 2 horas la existencia de precipitados, turbidez o precipitación de complejos en los tubos, si se observa alguno de los cambios anteriores se asume la presencia de alcaloides.

v. Preparación de Reactivos:

Mayer's (yoduro de mercurio y potasio):

1. Se prepararon las siguientes soluciones:

Solución A: Disolver 1.36 g de HgCl_2 en 3 mL H_2O y 4.98 g KI en 3 mL H_2O , mezclar ambas soluciones disueltas y completar a 10 ml, agregar a la mezcla 1.5 ml de una solución al 17% de ácido clorhídrico.

Solución B: Disolver 0.5g de ZnCl en 8 ml de ácido clorhídrico fumante.

Solución C: diluir 5 ml de amoniaco en 33 ml de agua destilada.

2. Mezclar volúmenes iguales de las soluciones A, B y C, dejar reposar.

Dragendorff (yoduro de bismuto y potasio)

1. Preparar las siguientes soluciones:

Solución A: Disolver 8 g $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ en 20 mL HNO_3

Solución B: Disolver 27.2 g KI en 50 mL H_2O

2. Mezclar volúmenes iguales de las soluciones A y B, reposar, decantar sobrenadante y diluir a 100 mL. Conservar en refrigeración.

Wagner (yodo-yoduro de potasio)

1. Disolver 1.00 g de I₂ y 10 b g KI en 50 mL H₂O
2. Acidificar con 2 ml ácido acético glacial.
3. Diluir a 100 ml.

b) Cromatografía en capa fina:

- i. Pesar 1 g de material vegetal seco y molido y agregar 1 mL de hidróxido de amonio al 10% (p/v) y extraer con 5 mL de metanol.
- ii. Colocar en baño maría a 60°C durante 5 minutos, filtrar y concentrar.
- iii. Aplicar en una placa de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizando como estándar una solución de atropina y papaverina al 1 % en metanol (10 µL).
- iv. Preparar la fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10).
- v. Detectar sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia, UV 365 nm algunos fluorescen azul o amarillo.
- vi. Detectar con Reactivo de Dragendorff: zonas cafés o naranjas en región visible, los colores no son estables, presentan un tiempo de estabilidad menor a 30 minutos.

3. *Determinación de flavonoides y antocianinas: (7,8)*

a) Ensayos macro y semimicro:

i. Extraer 3 g de material vegetal pulverizado con 10 mL de etanol al 80 %, filtrar y concentrar.

ii. Enfriar a temperatura ambiente y triturar el residuo con 15 mL de hexano hasta que la extracción sea incolora.

iii. Disolver el residuo en 30 mL de metanol al 80 %, filtrar y dividir en 5 tubos:

Tubo 1: agregar 0.5 mL de ácido sulfúrico concentrado.

Tubo 2: agregar 3 a 5 gotas de cloruro férrico al 10 % (p/v).

Tubo 3: agregar 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado y calentar en baño de maría por 5 minutos (prueba para leucoantocianinas).

Tubo 4: agregar magnesio metálico y 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado.

Tubo 5: agregar un álcali a un extracto acuoso.

Tubo 6: testigo.

Observar los siguientes cambios de color y/o formación de precipitado comparados con el testigo: flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.

c) Cromatografía en capa fina:

i. Extraer 1 g de material vegetal seco pulverizado con 10 mL de metanol por 5 minutos en baño de maría a 60°C y posteriormente filtrar.

ii. Aplicar la solución filtrada sobre las cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizar como estándar una solución de flavonoides al 0.05 % en metanol (10 µL). (Quercetina, rutina, ácido clorogénico, hiperósido).

iii. Preparar la fase móvil: acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:11:27).

iv. Detectar sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia, zonas azules o amarillas. UV 365 nm, dependiendo la estructura fluorescen amarillo, azul o verde.

iv. Detectar con Reactivo de Productos Naturales NP/PEG): fluorescencia intensa en UV-365 nm (mezclar partes iguales de las soluciones NP y PEG que se describen a continuación.

v. Preparación de reactivos:

Solución 1: Difenilboriloxietilamina (NP) al 1%. Disolver 0.5 g de difenilboriloxietilamina (NP) en 60 ml de metanol al 99.9%

Solución 2: Polietilenglicol 4000 (PEG) al 5%. Disolver 2.5 g de polietilenglicol 4000 (PEG) en 59 ml etanol al 75%.

Aplicar a la placa vapores de amoníaco para intensificar el color de las manchas.

4. *Determinación de antraquinonas: (7,8)*

a) Prueba de Bornträger:

i. Extraer 3 g de material vegetal pulverizado con 10 mL de etanol al 80 %, filtrar y concentrar en baño de maría (60°C).

ii. Disolver el residuo con 30 mL de agua destilada y filtrar.

iii. Extraer con 10 mL de benceno y separar las fases.

iv. Añadir 5 mL de solución de test de amonio a la fase bencénica y agitar. Observar cambios de color en la fase alcalina, si se observa color rojo o rosado la prueba es positiva.

b) Prueba de Bortränger modificado:

i. Calentar 0.3 g de material vegetal pulverizado durante 10 minutos en baño de maría a 60°C con 10 mL de hidróxido de potasio alcohólico 0.5 N y 1 mL de peróxido de hidrógeno al 3 % a 60°C.

ii. Añadir 10 gotas de ácido acético glacial para acidificar. Extraer con 10 mL de benceno.

iii. A la fase bencénica adicionar 5 mL de solución de prueba de amonio y agitar. Observar cambios de color en fase alcalina (color rojo, rosado: positivo).

c) Cromatografía en capa fina:

i. Extraer 0.5 g de material vegetal seco pulverizado con 5 mL de metanol en baño maría a 60°C por 5 minutos.

ii. Filtrar y aplicar 10 µL en la cromatoplaque de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizar como estándar 10 µL de una solución al 0.1 % en metanol de antraquinonas (aloína, flangulina A/B, glucofrangulina A/B y sus agliconas, reina, aloe-emodina, extracto de sen).

iii. Preparar la fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (100:17:13).

iv. Detectar sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia, UV 365 nm fluorescencia amarilla o rojo-café.

v. Detectar con una solución etanólica de hidróxido de potasio al 10 % las siguientes coloraciones

respectivamente: antraquinonas: zonas rojas en visible y fluorescencia roja en UV-365 nm; antronas y antranolas: zona amarillas en visible y fluorescencia amarilla en UV-365 nm.

5. *Determinación de cumarinas: (7,8)*

a) Ensayos macro y semimicro:

i. Medir 5 mL de extracto vegetal metanólico y agregar 1 mL de agua destilada a punto de ebullición; dejar enfriar.

ii. Aplicar 2 manchas en papel filtro, a la primera mancha agregar 1 gota de hidróxido de potasio 0.5N y observar bajo luz UV de 365 nm (fluorescencia azul o verde: positivo).

b) Cromatografía en capa fina:

i. Pesar 1 g de material vegetal, agregar 10 mL de metanol y calentar 30 minutos en baño de maría.

ii. Filtrar y evaporar hasta 1 mL, aplicar 20 µL en una cromatoplaque de sílica gel 60 F₂₅₄ utilizando como estándar canela en metanol al 1 %, umbeliferona, ácido p-cumárico y cumarina.

iii. Preparar la fase móvil: tolueno-acetato de etilo (93:7).

iv. Detectar sin tratamiento químico: UV 254nm fluorescencia y UV 365 nm si se observa intensa fluorescencia azul o verde-azul la prueba es positiva ya que todas las cumarinas presentan dicha coloración a esta longitud de onda.

v. Detección con solución etanólica de hidróxido de potasio al 10%: UV-365 nm presencia de fluorescencia azul o verde, prueba positiva.

6. *Investigación de esteroides o triterpenoides: (7,8)*

a) Reacciones de color: Liebermann Burchard:

i. Aplicar unas gotas de ácido acético y 3 mL de anhídrido acético-ácido sulfúrico (50:1)

ii. Observar la presencia de color rosado o púrpura lo cual indicara que la prueba es positiva para saponinas triterpenoidales; presencia de coloración verde, azul verdoso: posibles esteroides conteniendo 2 enlaces C=C conjugados o formados por deshidratación con ácido sulfúrico.

b) Ácido tricloroacético:

i. Añadir a la muestra cristales de ácido tricloroacético

ii. Observar color naranja, rojo, rojo oscuro: presencia de triterpenos tetracíclicos; los esteroides desarrollan color a 60°C y los triterpenos pentacíclicos a 110°C.

7. *Determinación de saponinas: (8)*

a) Prueba de espuma:

Tubo 1: 100 mg de material vegetal pulverizado y seco.

Tubo 2: 2 mL de control de saponinas (0.5 %).

Tubo 3: 2 mL de agua.

i. Adicionar a cada tubo 10 mL de agua destilada y calentar en baño de maría (60°C) durante 30 minutos.

ii. Enfriar, tapar los tubos, agitar vigorosamente 30 a 40 segundos y dejar reposar los tubos durante 30 minutos.

iii. Observar la formación de capa de espuma. Si una capa de espuma mayor de 3 cm persiste en la superficie líquida después de 30 minutos se presume la presencia de saponinas.

b) Cromatografía en capa fina:

i. Pesar 2 g de material vegetal seco y extraer con 10 mL de etanol al 70% con reflujo por 10 minutos.; concentrar a 5 mL y aplicar 25-40 μ L en una cromatoplaque de silicagel 60 F₂₅₄ utilizando estándar de saponinas al 0.1 % en metanol (10 μ L).

ii. Preparar la fase móvil: cloroformo-metanol-agua (64:50:10).

iii. Detección con reactivo de Komarowsky: observar zonas azules, amarillas y rojas indican prueba positiva; con vainillina-ácido sulfúrico y anisaldehído-ácido sulfúrico: observar zonas azules, violetas, amarillentas.

8. *Determinación de principios amargos: (8)*

a) Cromatografía en capa fina:

i. Calentar 1 g de material vegetal con 10 mL de metanol en baño de María a 60°C por 10 minutos, filtrar y concentrar a 2 mL.

ii. Aplicar 20 μ L de la solución anterior en la cromatoplaque, utilizar como estándar *Neurolema* al 1 % en metanol (20 μ L).

iii. Preparar la fase móvil: cloroformo-metanol (95:5).

iv. Detectar con vainillina-ácido sulfúrico o anisaldehído-ácido sulfúrico observando la presencia de zonas rojas-violetas, cafés-rojas, azules-verdes; con reactivo de

Liebermann-Buchard: UV-365 nm: gris, café y VIS: café oscuro o gris indican prueba positiva.

9. Determinación de taninos: (8)

a) Ensayos macro y semimicro:

i. Extraer 10 g de material vegetal pulverizado con 30 mL de etanol al 80 %, filtrar y evaporar a sequedad.

ii. Añadir 25 mL de agua caliente al residuo y agitar con varilla y dejar enfriar.

iii. Agregar 1 mL de solución de cloruro de sodio al 10 % y filtrar y separar en 4 tubos de ensayo:

Tubo 1: testigo.

Tubo 2: agregar 4 a 5 gotas de solución de gelatina al 1 % (p/v).

Tubo 3: agregar 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1 % de gelatina y cloruro de sodio al 10%).

Tubo 4: agregar 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10 % (p/v).

iv. Observar la formación de precipitado y/o cambio de coloración. Con cloruro férrico: grisáceo-negro: presencia de catecol; negro-azulado: presencia de pirogalol)

10. *Determinación de aceites volátiles: (8)*

a) Cromatografía Gases-Mases

i. Pesar entre 40-50 g de material vegetal e hidrodestilar por 1 hora.

ii. Recolectar el aceite esencial en pentano y rotavaporear a temperatura menor a 60 °C.

iii. Tomar 2 μ L de aceite esencial extraído e inyectar en el cromatógrafo de Gases acoplado a Masas (utilizar helio

como gas acarreador); la temperatura inicial del horno debe ser de 50 °C por un tiempo inicial de 3 minutos, luego incrementar la temperatura 20 °C por minuto hasta llegar a una temperatura máxima de 280 °C y mantener por 15 minutos.

11. *Determinación de Sesquiterpenlactonas: (8)*

a) Prueba de Legal:

- i. Tomar 1-2 mg de muestra en agua o etanol
- ii. Agregar 1 mL de solución fresca de nitroprusiato de sodio 0.5% en agua y 1-4 gotas de KOH 2N. Observar la presencia coloraciones características; rojo oscuro para lactonas α , β y γ insaturada.

b) Prueba de Baljet:

- i. Preparar el reactivo de Baljet: mezclar 1 g de ácido pícrico en etanol al 95% a 10 g de NaOH en 100 mL de agua.
- ii. Añadir unas gotas del reactivo a la muestra; una coloración roja clara a oscura indica que la prueba es positiva.

c) Cromatografía en capa fina:

- i. Preparar la fase móvil: cloroformo: metanol (99:1).
- ii. Detección con Vapores de yodo, solución acuosa de permanganato de potasio al 5%, ácido sulfúrico concentrado o al 50%, vainillina al 1% en etanol, luego del calentamiento de la placa por 5 min a 100 –105 °C si se observan manchas verdes, amarillas, marrones, rojas o azules la prueba se toma positiva.

12. Análisis de Resultados:

Los resultados se interpretaron como “positivo o negativo”, refiriéndose a la presencia o ausencia respectivamente de los grupos de metabolitos secundarios en la especie vegetal en estudio.

VIII. RESULTADOS

Tabla No. 1: Resultados Tamizaje Fitoquímico de la parte aérea (hojas y tallos) de la especie vegetal *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* (Molinillo):

METABOLITO	PRUEBA	CAMBIOS OBSERVADOS	INTERPRETACIÓN	RESULTADO
Alcaloides	Mayer`s	Precipitado blanco	Posible presencia de alcaloides (precipitan en medio neutro o ligeramente ácido)	+
	Dragendorff	Coloración naranja	Posible presencia de alcaloides.	+
	Wagner	Coloración marrón	Posible presencia de alcaloides generales	+
	CCF	UV 365: fluorescencia azul	Posible presencia de alcaloides.	+
Flavonoides y Antocianinas	H ₂ SO ₄ Concentrado	Color amarillo	Posible presencia de flavonas y flavonoles.	+
	FeCl ₃ al 10% p/v	Color amarillo	Posible presencia de flavonas y flavonoles	+
	Método de Shinoda	Coloración rojiza	Coloraciones rojas indican la presencia de posibles núcleos de gama-benzopirona, flavanoles y flavanolas	+
	Bornträger	Coloración amarilla	Posible presencia de isoflavonas	+
	CCF	UV 254 nm: manchas con fluorescencia. UV 365 nm fluorescencia verde y roja. Con revelador NP/PEG: Amarillo-anaranjado y verde (se intensifico con vapores de amoniaco)	Coloración verde sin tratamiento a 365 nm posible presencia de flavonoides y antocianinas. Ninguna mancha corresponde a las de los estándares.	+
Antraquinonas	Bornträger	No presenta cambios respecto al testigo	No se observo cambios de color en la fase alcalina, ausencia de antraquinonas.	-

	Bornträger modificado	No presenta cambios respecto al testigo	Ausencia de antraquinonas y naftoquinonas	-
	CCF	Sin tratamiento: no se observan manchas con coloraciones características. Con tratamiento: leve coloración amarilla	Sin tratamiento: Ausencia de Antraquinonas. Con tratamiento: medio básico posible presencia de Antronas y Antranolas.	+
Cumarinas	Fluorescencia	Anillo fluorescente definido e intenso color azul.	Según fluorescencia posible presencia de hidroxycumarinas sencillas	+
	CCF	Fluorescencia verde y azul	Con y sin tratamiento químico se observa fluorescencia característica para cumarinas. La muestra coincide con la altura y color de los estándares, cumarina y umbelifenona, por lo tanto posible presencia de los mismos en la muestra.	+
Esteroides o Triterpenoides	Liebermann Burchard	Coloración amarillenta	Ausencia de saponinas triterpenoidales.	-
	Ácido Tricloracético	Coloración rojiza, inestable (duro 10 segundos)	Posible presencia de saponinas esteroidales.	+
	Car-Price	Coloración verde-amarillenta	Ausencia de derivados del colestano.	-
Saponinas	Prueba de espuma	Presencia de espuma, después de 30 minutos la capa de espuma en la superficie es menor a 3 cms.	Posible presencia de saponinas, la espuma es inestable debido a la presencia de flavonoides, proteínas y otros que interfieren en su estabilidad.	+
	CCF	Con revelador Lieberman-Burchard: coloraciones azul, rojas y violeta.	Posible presencia de saponinas esferoidales.	+
Principios Amargos	CCF	UV 365 nm: fluorescencia roja y violeta. Con revelador Lieberman-Buchard: manchas gris y marrón.	Posible presencia de principios amargos (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos y/o triterpenos)	+
Taninos	Gelatina	Ninguno	Ausencia de taninos.	-

	Gelatina-Sal	Ninguno	Ausencia de taninos.	-
	Cloruro Férrico	Cambio de Amarillo a Café	Coloración café indica posible presencia de compuestos fenólicos más no polifenoles (taninos).	-
Aceites Esenciales	Cromatografía de Gases-Masas	Timol, Ciclohexano, Metil Eugenol, α -Santaleno, β -cis-Farneseno, cis-Geranylacetona (Nerilacetona), trans-Geranylacetona, trans- β -Ionona, (+)- β -Selineno, cis-Nerolidol, Benzofenona, Heptadeceno, trans-9-Octadeceno, cis-7-Hexadeceno, Aldehido C-14, 5,9,13-Pentadecatrien-2-ona, Ácido metil ester palmítico, Fitol, Eicosano, n-Pentacosano.	Si hay presencia de aceites esenciales.	+
Lactonas Sesquiterpénicas	Legal	Cambio a coloración amarillo-mostaza.	Ausencia de lactona alfa, beta-insaturada	-
	Baljet	Cambio a coloración amarilla	Ausencia de lactona alfa, beta-insaturada	-
	CCF	UV 365 nm: dos manchas con fluorescencia roja: arriba (clorofila), abajo; mancha roja bien definida. Detección con Vainillina al 1% en etanol y luego calentamiento de la placa por 5 min a 105 °C: mancha verde.	Fluorescencia roja a 365 nm coincide con el estándar <i>Neurolema</i> y se observa además otra mancha en el borde de la cromatoplaca la cual indica presencia de clorofila ya que ambas son hojas. Con revelador resultado posible presencia de lactona sesquiterpénica.	+

Fuente: Datos Experimentales.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se investigaron nueve familias de metabolitos secundarios en la parte aérea (hojas y tallos) de la especie vegetal *Quararibea yunckeri* Subesp. *izabalensis* (Molinillo) crecida en la selva muy baja de la Sierra Santa Cruz, departamento de Izabal, Guatemala; la colecta se realizó en su hábitat natural; los grupos de metabolitos secundarios estudiados son: alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, esteroides o triterpenoides, saponinas, principios amargos, taninos, aceites volátiles y sesquiterpenolactonas por medio de diferentes pruebas específicas (8).

Las pruebas vía húmeda para la investigación de alcaloides dieron todas positivas lo cual indica que la especie vegetal en estudio presenta posible presencia de alcaloides generales; según la cromatografía en capa fina se detecta mancha con fluorescencia a 365 nm de color característico (azul), intensa y definida la cual confirma posible presencia de alcaloides.

Las pruebas vía húmeda para flavonoides y antocianinas indican posible presencia de flavonas, flavanoles, posibles núcleos gama-benzopirona, flavanoles, flavanolas e isoflavonas; la cromatografía en capa fina es positiva para posible presencia de flavonoides y antocianina (8) (Ver Figura #4, anexo 5).

Las pruebas vía húmeda (Bornträger y Bornträger modificado) para antraquinonas son negativas por lo cual se presume que la concentración del metabolito es menor a la concentración mínima detectable por dichas pruebas, ya que mediante cromatografía en capa fina si fue posible detectar las manchas características con detección UV y con revelador (vainillina al 1% en etanol) siendo ambas positivas e indicando posible presencia de antraquinonas en la muestra (8,13).

Según las pruebas vía húmeda realizadas para cumarinas existe posible presencia de hidroxicumarinas sencillas; la cromatografía en capa fina revela la presencia de cumarina y umbelifenona, ya que la muestra coincide con alturas y colores de ambos estándares (8) (Ver Figura #5, anexo 5).

Las pruebas de color realizadas para la investigación de esteroides o terpenoides fueron las siguientes: Liberman Burchard (específica para determinar saponinas triterpenoidales) la cual es negativa; Prueba del Ácido tricloroacético (específica para determinar saponinas esteroidales) es positiva y Car-Price (específica para determinar derivados del colestano) es negativa, por lo tanto se reporta posible presencia de saponinas triterpenoidales mas no saponinas triterpenoidales ni derivados del colestano (8) (Ver Figuras # 6 y 7, anexo 5).

Las pruebas realizadas para determinación cualitativa de saponinas son: prueba de espuma y cromatografía en capa fina, la prueba de espuma es una prueba presuntiva en la cual interfiere la presencia de metabolitos diferentes al de interés y otros compuestos provocando que la cantidad de espuma sea inestable, por lo tanto debido a la presencia de proteínas, flavonoides y otros la espuma luego de 30 minutos es menor a 3 cms, sin embargo debido a que aun permanece y la cromatografía en capa fina es positiva para presencia de saponinas esteroidales, se reporta posible presencia de saponinas en la muestra (13).

La placa cromatográfica corrida en capa fina para la investigación de principios amargos utilizando como estándar *Neurolena* es positiva por lo tanto se presume posible presencia de principios amargos (mono-, di-, tri- y sesquiterpenos) en la muestra, así como la presencia de *Neurolena* en la especie vegetal en estudio, ya que la misma coincide con las características de coloración y altura de la mancha (Ver Figura #8, anexo 5).

Las pruebas vía húmeda para la investigación de taninos dieron todas negativas ya que no se observó formación de precipitado en presencia de proteínas, esta prueba indica ausencia de taninos debido a que los mismos poseen la capacidad de formar complejos con macromoléculas, especialmente con proteínas; uno de los tubos se hizo reaccionar con cloruro férrico dando como resultado cambio de coloración, sin embargo no se observan coloraciones características (negro azulado o grisáceo), por lo tanto se presume la presencia de compuestos fenólicos mas no polifenoles (taninos) (8,13) (Ver Figura #9, anexo 5).

Los aceites volátiles detectados según Cromatografía de Gases acoplada a Masas en la especie vegetal son: Timol, Ciclohexano, Metil Eugenol, α -Santaleno, β -cis-Farneseno, cis-Geranilacetona (Nerilacetona), trans-Geranilacetona, trans- β -Ionona, (+)- β -Selineno, cis-Nerolidol, Benzofenona, Heptadeceno, trans-9-Octadeceno, cis-7-Hexadeceno, Aldehido C-14 (mirístico), 5,9,13-Pentadecatrien-2-ona, ácido metil ester palmítico, Fitol, Eicosano, n-Pentacosano; dichos aceites volátiles se detectaron utilizando las referencias reportadas por la librería del espectrómetro de masas y tomando de base certezas mayores al 90% (Ver Anexo # 6) (10).

Las pruebas para la identificación de sesquiterpenolactonas presentan coloraciones características, comúnmente rojas, marrones o verdes; al realizar las pruebas específicas para la identificación del anillo lactónico alfa, beta-insaturado no se observan colores característicos sin embargo mediante cromatografía en capa fina se observan dos fluorescencias rojas, una en la parte superior de la placa a 365 nm la cual coincide con uno de los estándares (*Neurolema*), sin embargo ambas son hojas y debido a que ambas contienen clorofila también presentan otra mancha en la frontera superior de la placa, esto puede causar confusión ya que de no estar bien separada la muestra y observarse claramente la mancha inferior se puede

reportar un falso positivo para sesquiterpenlactonas, ya que la clorofila es un interferente en esta prueba, sin embargo en la parte inferior de la placa se observa otra mancha roja a 365 nm la cual confirma la posible presencia de sesquiterpenlactonas coincidiendo con las características de *Neurolema* en la especie en estudio. Es posible que la concentración de sesquiterpenlactonas sea menor a la concentración mínima detectable mediante las pruebas vía húmeda y por tal motivo estas no presentaron los colores característicos (8).

IX. CONCLUSIONES

1. Los ocho posibles metabolitos secundarios presentes en *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis*, son los siguientes, alcaloides, flavonoides y antocianinas, antraquinonas, cumarinas, saponinas, aceites volátiles, eseroides y triterpenoides (específicamente saponinas esteroidales), principios amargos (específicamente mono-, di-, tri- y sesquiterpenos) y sesquiterpenlactonas.
2. Los metabolitos secundarios identificados mediante cromatografía en capa fina presentes en la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* son: *Cumarina*, *Umbelifenona*, y *Neurolena*; estos metabolitos secundarios fueron utilizados como estándares y la muestra de la especie en estudio coincide con las características de color y altura de revelado en la cromatoplaqueta de cada uno.
3. Los principales aceites volátiles presentes en la especie vegetal *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* identificados mediante Cromatografía Gases-Masas son: Timol, Ciclohexano, Metil Eugenol, α -Santaleno, β -cis-Farneseno, cis-Geranilacetona (Nerilacetona), trans-Geranilacetona, trans- β -Ionona, (+)- β -Selineno, cis-Nerolidol, Benzofenona, Heptadeceno, trans-9-Octadeceno, cis-7-Hexadeceno, Aldehído C-14 (mirístico), 5,9,13-Pentadecatrien-2-ona, ácido metil ester palmítico, Fitol, Eicosano y n-Pentacosano.

XI. RECOMENDACIONES

1. Debido a la presencia de alcaloides generales en *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* (Molinillo), y la importancia farmacológica que estos confieren a una especie, se recomienda caracterizar cada alcaloide.
2. Cuantificar los aceites volátiles mayoritarios presentes en *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* mediante Cromatografía de Gases-Masas.
3. Realizar pruebas de bioactividad de acuerdo al los grupos de metabolitos secundarios encontrados.

XII. REFERENCIAS

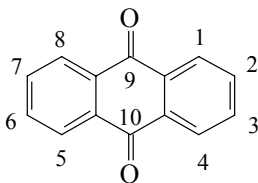
1. Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fitoterapia y Plantas Medicinales. 2ª edición. España. Editorial Acribia, S.A.
2. Cáceres, A., 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. 1ª edición, Editorial Universitaria, Dirección General de Extensión, Volumen 1, Guatemala. 1996. 45 p.
3. Domínguez, X. 1979. Métodos de Investigación Fitoquímica. México. Editorial Limusa, S.A. 281p.
4. Garrido, J. 2001. Tamizaje fitoquímico de las hojas y flores de *Lycaste skinneri* variedad Rosea, Ruborosa y Armeniaca por medio de cromatografía en capa fina. Guatemala. 43 p. Tesis de Licenciatura en Química Farmacéutica. Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Farmacéutica.
5. Hernández, R., et.al. 2004. Metodología de la Investigación. 3ª Edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 106 p.
6. Ikan, R. 1969. Natural Products; A laboratory guide. U.S. Academic Press Inc. 293 p.
7. Kuklinsky, C. 2000. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega. Barcelona.
8. Manual de Operaciones; Tamizaje Fitoquímico. 2005. Guatemala. LIPRONAT. 9 p.

9. Murray, R.K., 1994. Bioquímica de Harper. México. 14a. Edición Tr. Maria del Rosario Carsolio P. de la 28^a edición en inglés, Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. 54 p.
10. NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, June 2005 Release www.webbook.nist.gov/chemistry/
11. Santizo, I. 2004. Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerifera*. Guatemala. 100 p. Tesis de Licenciatura en Química Biológica. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química Biológica.
12. Morton, J. 1981. Atlas de Plantas Medicinales en Centro América, Estados Unidos. Editorial Charles C. Thomsons Publisher. 278 p.
13. Santa Cruz, L. Manual Selección Fitoquímica, Guía Práctica para los laboratorios de Química de Productos Naturales y Fitoquímica. USAC. Guatemala. 92 p.
14. Velásquez, M., 2001. Determinación de los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Lippia graveolens* H.B.K. (Orégano) por cromatografía de gases. Guatemala 79p. Tesis de Licenciatura en Química. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Escuela de Química.
15. Véliz. M. 2000. Subespecie nueva *Quararibea* (Bombacaceae) de Guatemala. México. Serie Botánica 71(2):81-85. Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

16. Vila, R & Reing, M. 2003. Métodos de Control de Calidad. Madaus, UB Virtual, Imicromat. 39 p.

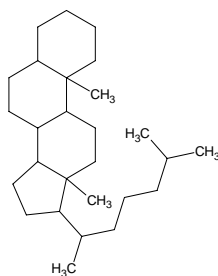
XIII. ANEXOS

Anexo # 1:

Antraquinona:

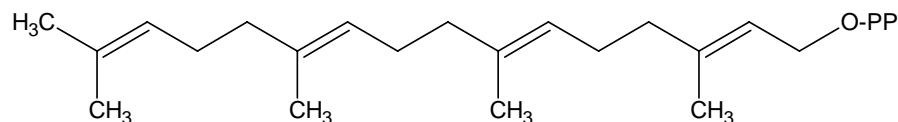
Fuente: Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fotoquímica y Plantas Medicinales. 2ª edición. España. Editorial Acribia.

Anexo # 2:

Esteroide:

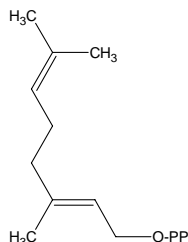
Fuente: Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fotoquímica y Plantas Medicinales. 2ª edición. España. Editorial Acribia.

Anexo # 3:

Pirofosfato de geranilo:

Fuente: Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fotoquímica y Plantas Medicinales. 2ª edición. España. Editorial Acribia.

Anexo # 4:

2E,6E,10E-geranilgeranilpirofosfato

Fuente: Bruneton, J. 2001. Farmacognosia, Fotoquímica y Plantas Medicinales. 2ª edición. España. Editorial Acribia.

Anexo # 5: **Fotografías del Proceso Experimental.**

Figura No. 1: **Mapa de Localización de *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis*.**



1. Quebrada Seca, localidad Tipo; 2. Río Ciénega; 3. Puerto Méndez; 4. La Cumbre; 5. Finca Exmibal; 6. Aldea Chichipate.

Fuente: Véliz. M. 2000. Subespecie nueva *Quararibea* (Bombacaceae) de Guatemala. México. Serie Botánica 71(2):84. Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Figura #2: ***Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis***



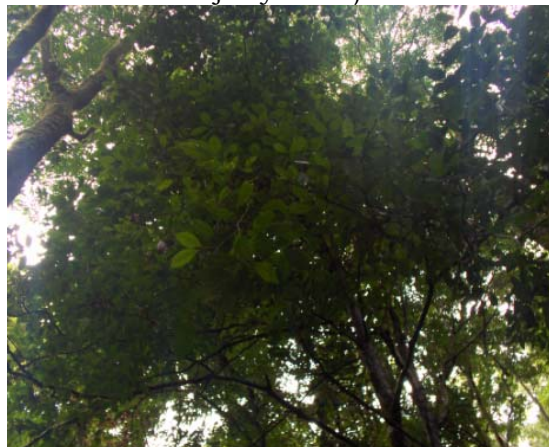
Hojas y tallos colectados en la quebrada seca, localidad tipo, Izabal, Guatemala.

Fuente: Herbario Bigu, USAC.

Figura #3: ***Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* (Molinillo) en su hábitat natural**



Follaje (parte aérea de la planta; hojas y tallos)



Fuente: Colecta de la especie en la localidad tipo.

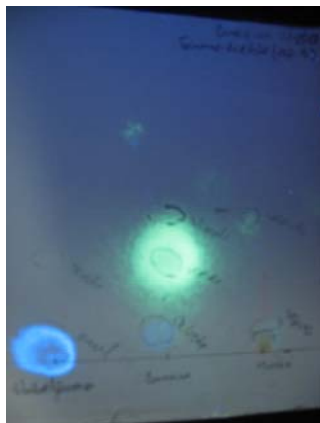
Figura #4: Identificación de Flavonoides y Antocinianas:



Flavonoides (+)
Con Revelador NP/PEG tras vapores de amoniaco
De izquierda a derecha:
Mancha 1: Muestra (+) con revelador: color verde; sin revelador: roja.
Mancha 2: Estándar Ácido Clorogénico
Mancha 3: Estándar de Rutina
Mancha 4: Estándar de Quercetina

Fuente: Datos Experimentales

Figura #5: Identificación de Cumarinas:



A 365 nm fluorescencia azul y verde (+)
De izquierda a derecha:
Mancha 1: Estandar Umbelifenona
Mancha 2: Estandar Umbelifenona
Mancha 3: Muestra (+) se observan manchas verde y azul (poco intensas)
Mancha 4: Muestra (+) se observan manchas verde y azul (poco intensas)

Fuente: Datos Experimentales

Figura #6 y 7: Identificación de Esteroides o Triterpenoides:



Derecha: Testigo
Izquierda: Prueba Liebermann Burchard(-)



Derecha: Testigo
Izquierda: Prueba Car-Price (-)

Figura #8: Identificación de Taninos (-)



De izquierda a derecha:
Tubo 1: Testigo; Tubo 2: Prueba Gelatina (-); Tubo 3: Gelatina-Sal(-); Tubo 4: Cloruro férrico(-).

Fuente: Datos Experimentales

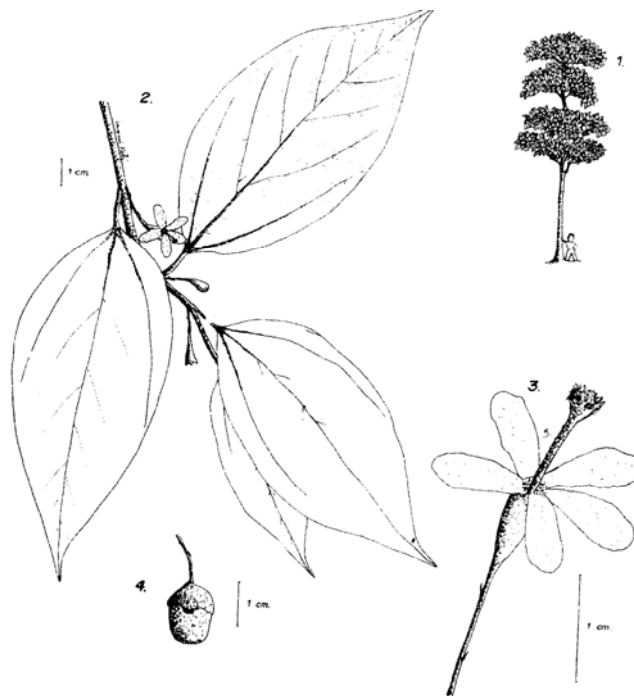
Figura #9: **Identificación de Principios Amargos (+)**



A 365 nm: fluorescencia roja y violeta
Izquierda: Neurolena (estándar)
Derecha: Muestra. (+)

Fuente: Datos Experimentales

Figura No. 10: **Morfología de *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis***



1. Árbol; 2.rama con flor; 3.flor; 4.fruto.

Fuente: Véliz. M. 2000. Subespecie nueva *Quararibea* (Bombacaceae) de Guatemala. México. Serie Botánica 71(2):83. Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Anexo # 6: Reporte del Análisis de Cromatografía de Gases-Masas para la identificación de Aceites Volátiles presentes en *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis*.

A. Condiciones Cromatográficas para el Análisis del Aceite Esencial:

- *Equipo:*
Cromatógrafo de gases HP 5890, serie II.
Detector Selectivo de Masas 5971
Librería Wiley 275 L y Software Chemstation Integrator.
- *Columna:*
Columna Capilar de dimensiones HP-5 con diámetro interno de 0.2 mm y espesor de film de 0.3 y 30 m largo.
- *Gas acarreador:* Helio
- *Flujo:* 1 ml/min
- *Temperaturas:*
Inicial del horno: 50 °C
Inicial del Inyector: 250 °C
Temperatura del Detector: 280 °C
Rampa de temperatura: Inicia en 50°C y finaliza en 250 °C, con un gradiente de 20 °C cada 5 minutos.
- *Cantidad de Inyección:* 0.6 µL de muestra del aceite esencial extraído.
- *Tiempo de corrida:* 30 minutos.

B. Componentes identificados por la Librería del Detector.

Tabla No. 2: Aceites volátiles identificados mediante Cromatografía de Gases-Masas.

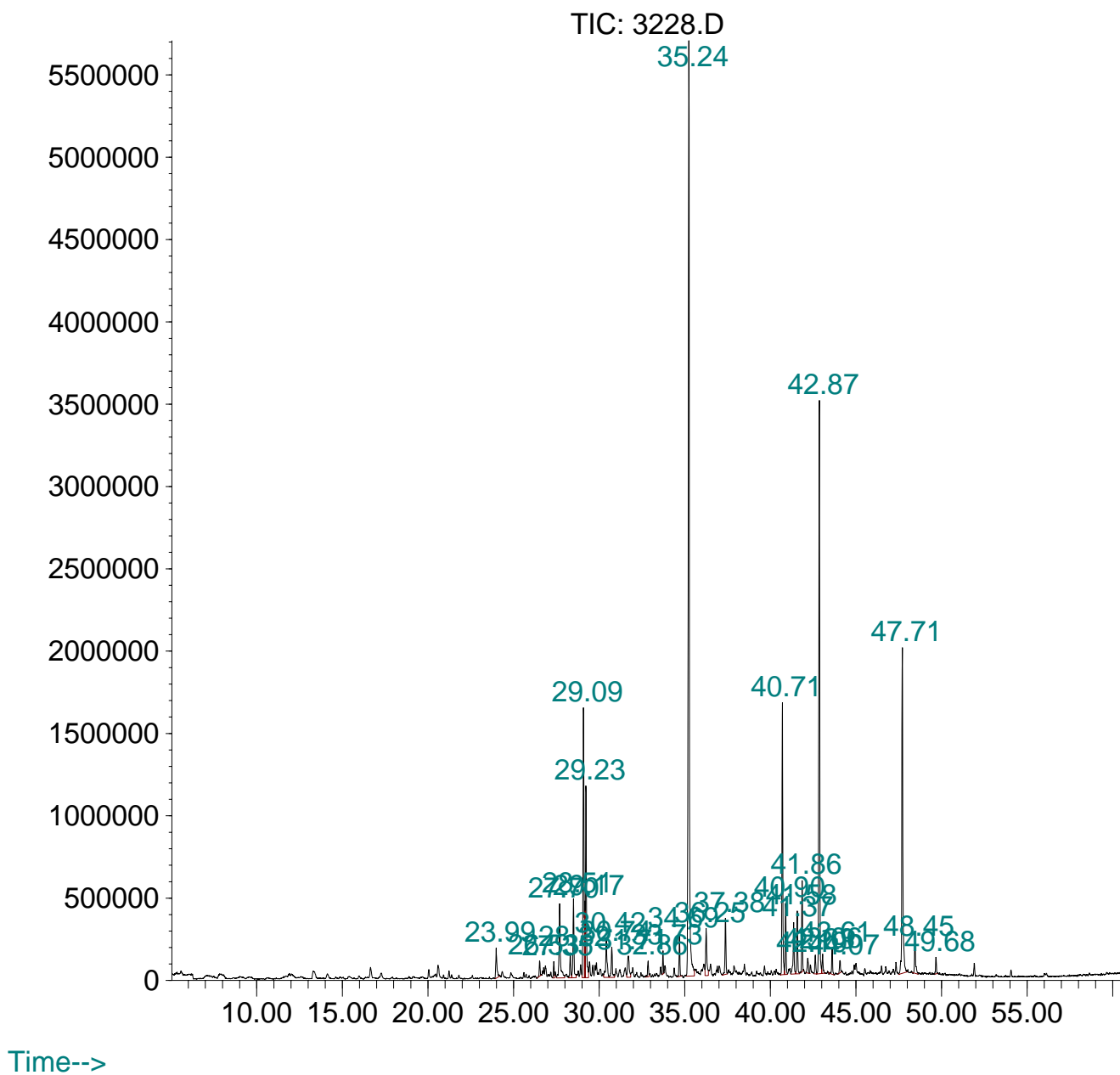
No. Pico	TR *	% Área	Compuesto Identificado	# Ref	# CAS	Certez a
1	23.99	0.95	Timol: 2-Isopropil-5-metilfenol	35717	89-83-8	93
3	27.35	0.35	Ciclohexano: 2,4-Diisopropenil-1-metil-1-vinilciclohexano	89681	515-13-9	91
4	27.69	2.72	Metil Eugenol: 1,2-Dimetoxi-4-(2-propenil)benceno	62369	93-15-2	94
5	28.32	0.65	α -Santaleno:	89456	512-61-8	97
8	29.17	1.23	Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano, 1,7- β -cis-Farneseno: 1,6,10-Dodecatrieno	89677	28973-97-9	90
9	29.24	5.00	cis-Geranilacetona: (5Z)-6,10-Dimetil-5,9-undecadien-2-ona	78880	3879-26-3	90
			trans-Geranilcetona: (5E)-6,10-Dimetil-5,9-undecadien-2-ona	78881	3796-70-1	91
10	30.42	1.47	trans- β -Ionona: 4-(2,6,6-trimetil-1-ciclohexen-1-il)-3-buten-2-ona	76514	79-77-6	96
11	30.75	0.99	β -Selineno:7-Isopropenil-4a-metil-1-Metilenedecahidronaftaleno	89381	17066-67-0	95
13	32.86	0.43	cis-Nerolidol: (6E)-3,7,11-Trimetil-1,6,10-dodecatrien-3-ol	108611	40716-66-3	90
16	35.24	29.44	Benzofenona: Difenil cetona	67341	119-61-9	97
17	36.25	1.55	Heptadeceno	124595	6765-39-5	91
			trans-9-Octadeceno	137623	7206-25-9	91
			cis-7-Hexadeceno	110850	35507-09-6	91
18	37.39	1.50	Aldehído C-14: 1-Tetradecil aldehído	98182	124-25-4	91
26	42.87	14.83	5,9,13-Pentadecatrien-2-ona	146619	762-29-8	96
27	43.05	0.49	Ácido metil ester palmítico	153626	112-39-0	93
30	47.71	9.60	Fitol:(2E)-3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecen-1-ol	175363	150-86-7	90
32	49.68	0.41	Eicosano	163883	112-95-8	94
33	51.92	0.34	n-Pentacosano	212921	629-99-2	95

*TR: Tiempo de Retención.

Fuente: Datos Experimentales

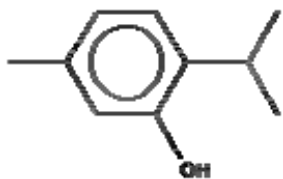
C. Cromatograma:**Figura No. 11: Cromatograma del Aceite Esencial de *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis*.**

Abundance

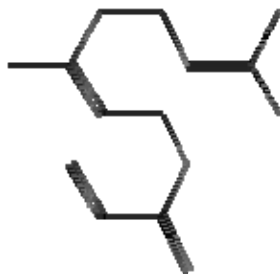


Fuente: Datos Experimentales.

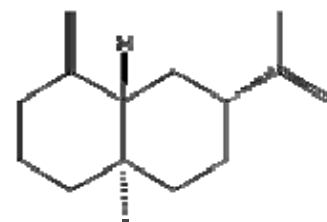
Anexo # 6: **Estructuras de los Aceites Volátiles identificados en *Quararibea yunckeri* Subsp. *izabalensis* mediante Cromatografía de Gases-Masas.**



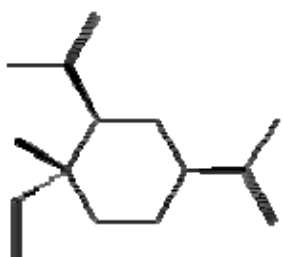
Timol $C_{10}H_{14}O$



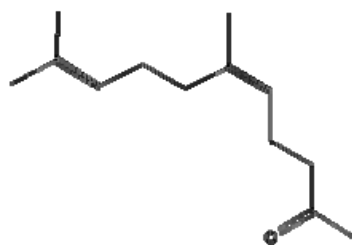
β -cis-Farneseno $C_{15}H_{24}$



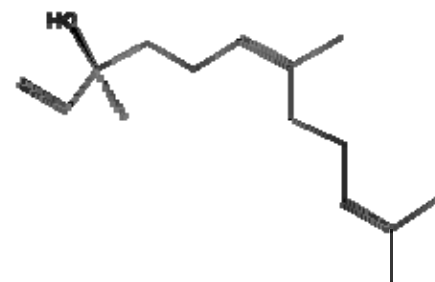
11. (+)- β -Selineno $C_{15}H_{24}$



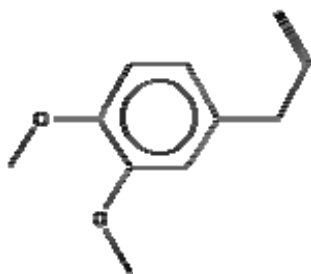
Ciclohexano $C_{15}H_{24}$



cis-Geranylacetona
(Nerilacetona) $C_{13}H_{22}O$



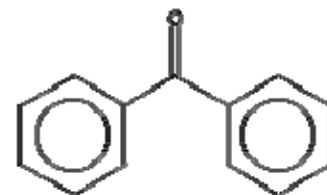
cis-Nerolidol $C_{15}H_{26}O$



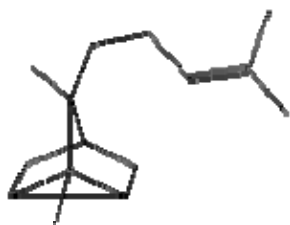
Metil Eugenol $C_{11}H_{14}O_2$



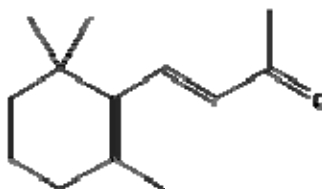
trans-Geranylacetona
 $C_{13}H_{22}O$



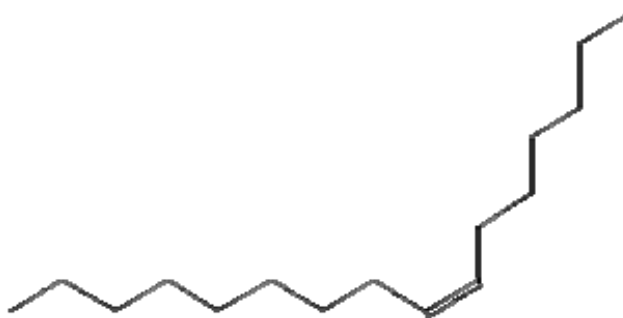
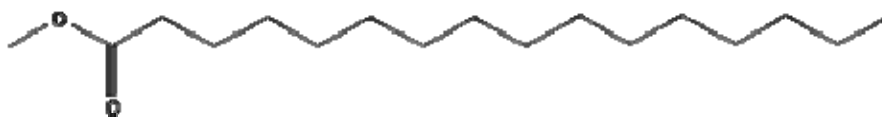
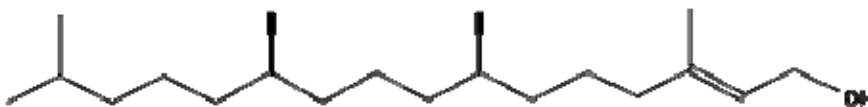
Benzofenona $C_{13}H_{10}O$



α -Santaleno $C_{15}H_{24}$



trans- β -Ionona $C_{13}H_{20}O$

Heptadeceno $C_{17}H_{34}$ trans-9-Octadeceno $C_{18}H_{36}$ cis-7-Hexadeceno $C_{16}H_{32}$ Aldehido C-14 (mirístico) $C_{14}H_{28}O$ 5,9,13-Pentadecatrien-2-one $C_{18}H_{30}O$ Palmitic acid, methyl ester (n-Hexadecanoic acid methyl ester) $C_{17}H_{34}O_2$ Fitol $C_{20}H_{40}O$ Eicosano $C_{20}H_{42}$

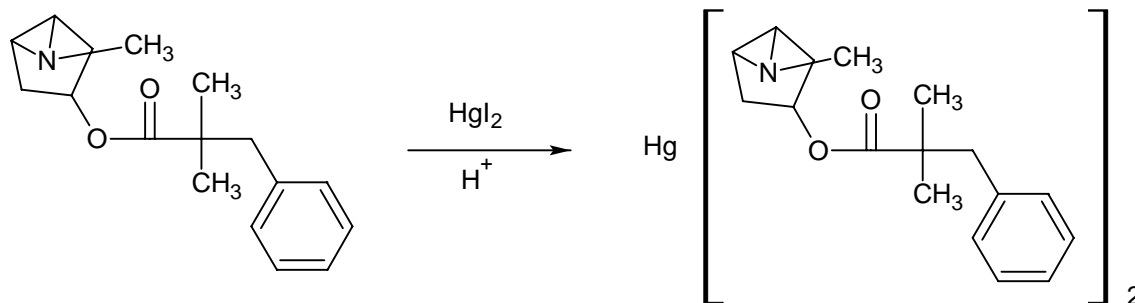


n-Pentacosano $C_{25}H_{52}$

Fuente: Datos Experimentales.

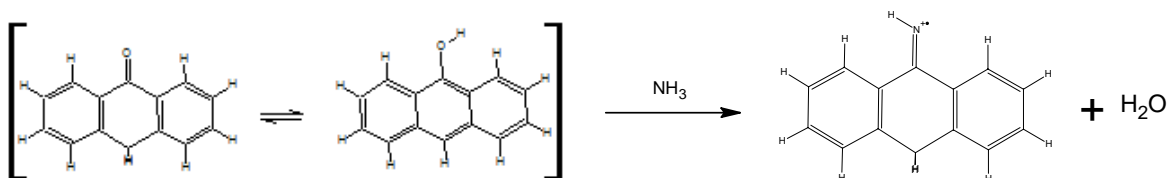
Anexo # 7: Reacciones de caracterización empleadas en la identificación de metabolitos secundarios.

1. Identificación de Alcaloides mediante la Prueba de Mayer's: Precipitación de alcaloides en medio ácido (3:217).



Atropina

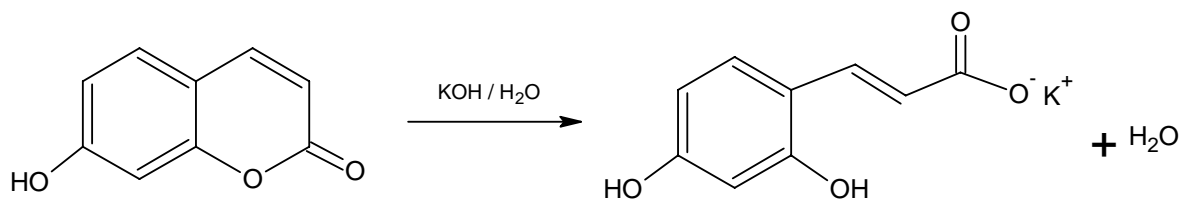
2. Identificación de Antraquinonas mediante la Prueba de Bornträger: Formación de imina (3:42)



antrona

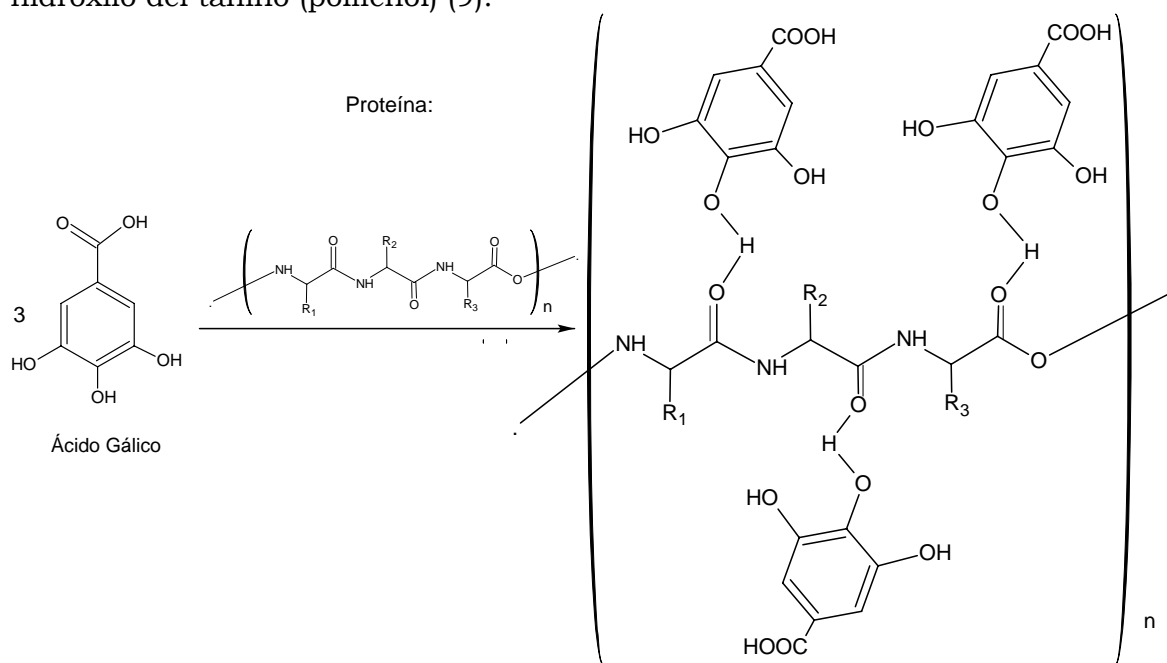
antranol

3. Identificación de Cumarinas: Apertura del anillo lactónico en medio básico y formación de la sal del ácido hidroxicinámico (3:114)

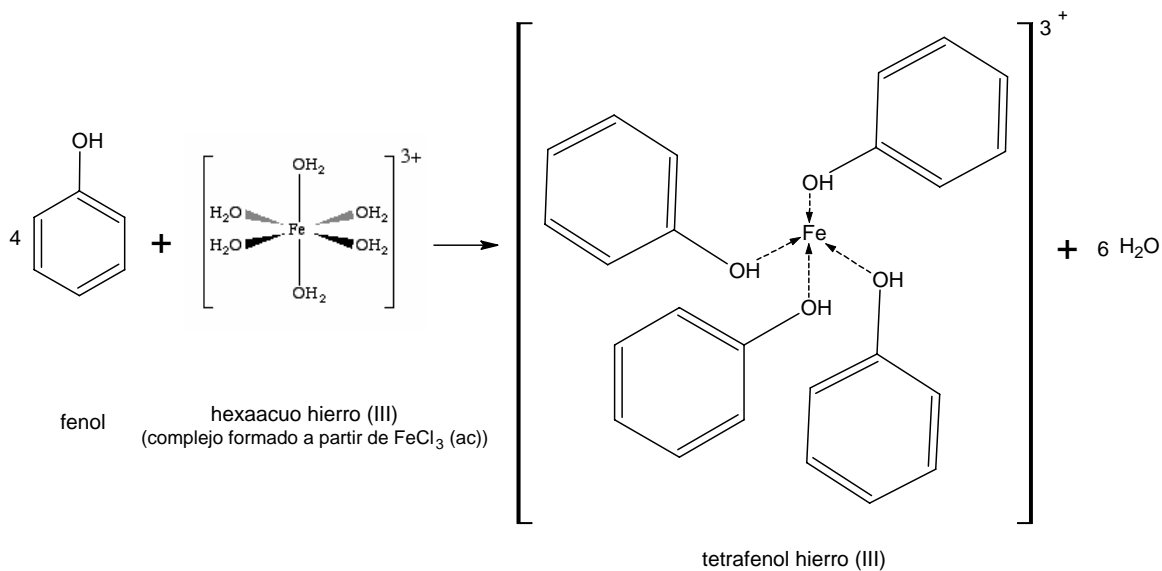


Umbeliferona

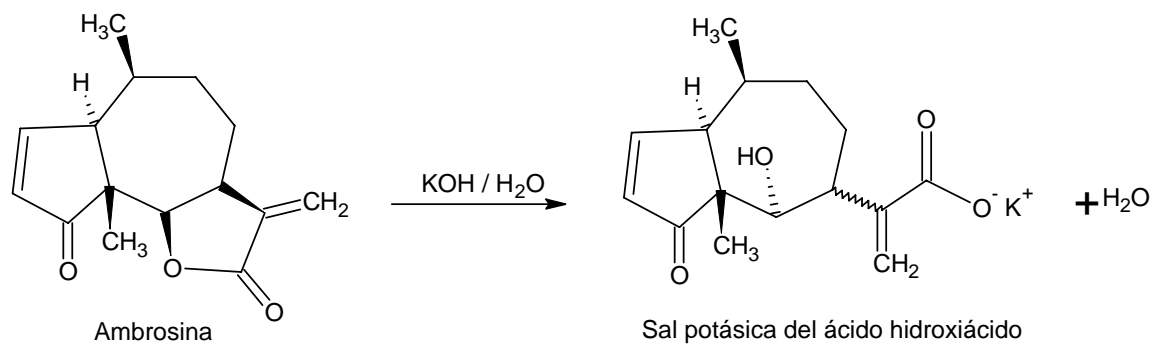
4. Identificación de Taninos: Precipitación de proteínas mediante formación de puentes de hidrogeno entre el sitio electronegativo de la proteína y el grupo hidroxilo del tanino (polifenol) (9).



5. Identificación de Compuestos Fenólicos mediante la formación de complejo de Fenol con cloruro férrico acuoso. (2)



6. Identificación de Sesquiterpenlactonas mediante la Prueba de Baljet:
Apertura de Anillo lactónico en medio básico (3:97)



XI. GLOSARIO

1. Amebicidas: Sustancia que combate la enfermedad conocida como amebiasis, la cual es causada debido presencia de amebas (protozoo que carece de membrana rígida y se desplaza mediante pseudopodos)
2. Anticolinérgicos: Fármaco que bloquea el paso de ciertos impulsos nerviosos al sistema nervioso central por inhibición de la producción de acetilcolina, un neurotransmisor (sustancia que transporta señales entre las células nerviosas y los músculos).
3. Antifibrilantes: Medicamento o compuesto contra la afección del corazón caracterizada por contracciones muy rápidas, pero ineficaces para el impulso sanguíneo
4. Antipalúdicos: Sustancia o medicamento que combate la enfermedad causada por causada por un protozoo (Plasmodium) que es transmitido al hombre a través de la picadura de la hembra del mosquito Anopheles.
5. Antitumorales: Sustancia que contrarresta el efecto del crecimiento desordenado y excesivo de las células en un órgano.
6. Auronas: Se caracterizan por una estructura 2-bencilidencumarona.
7. Ganglioplegicos: Inmovilización debida a la inflamación de los ganglios.

8. Heterósido: Compuesto que posee variabilidad estructural y su parte osídica es un disacárido o trisacarido que puede ser lineal o ramificado. Se caracterizan por la presencia de una cadena tricarbonada cetónica, α,β -insaturada.

9. Venoactivo: Capacidad de una sustancia de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia.

Esmeralda Orantes Morales

Autora

Licda. Irma Nohemi Orozco Godínez

Asesora

Ing. Agr. Mario Esteban Véliz Pérez

Asesor

Lic. Jhoni Frank Álvarez Castañeda

Director

Dr. Oscar Manuel Cóbar Pinto

Decano