

t  
660.2  
C29i

# UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

## ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



### TESIS

#### “IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LA PLANTA NATIVA CUCHARILLA (*Oreocallis grandiflora*)”

PRESENTADO POR:

BACH. CASTILLO OSORIO, CHRISTIAN ANTHONY  
BACH. MEDINA GAMBOA, CINDY SUSAN

ASESORADO POR:

ING. MG. TOLEDO PALOMINO, MARÍA ESTELA

CALLAO - PERU

2013

Id. Publ. 16008

Id. Exemplar: 39118

## **PRÓLOGO DEL JURADO**

La presente Tesis fue sustentada ante el JURADO DE SUSTENTACIÓN conformado por los siguientes Docentes Ordinarios:

<b>Ing. Viorica Stanciuc Stanciuc</b>	<b>: Presidente</b>
<b>Q.F. Walter Armando Tapia Chacaltana</b>	<b>: Secretario</b>
<b>Ing. Calixto Ipanaque Masa</b>	<b>: Vocal</b>
<b>Ing. María Estela Toledo Palomino</b>	<b>: Asesora</b>

Tal como está asentado en el Libro de Actas de Sustentación de Tesis N°02, Folio N°56, Acta N°239, de fecha Quince de Noviembre del 2013, para optar el Título Profesional de Ingeniero Químico en la modalidad de Titulación con Sustentación de Tesis, de acuerdo a lo normado por el Reglamento de Grados y Títulos aprobado por Resolución N°082-2011-CU de fecha 29 Abril del 2011.

## **DEDICATORIA**

A mi familia por ser mi mayor motivo para salir adelante, a Christian por su perseverancia y sobre todo a Dios por ser mi motor y guía en este camino.

*Cindy Susan Medina Gamboa*

A mi familia por apoyarme en todos estos años, a Susan por sus conocimientos brindados y a Dios por acercarnos más a la ciencia.

*Christian Anthony Castillo Osorio*

# AGRADECIMIENTO

A Dios y a nuestras familias quienes han sido los pilares más importantes durante la realización de este trabajo.

A la ingeniera Estela Toledo, nuestra asesora de tesis, quien a sabido guiarnos y ayudarnos en el desarrollo de este trabajo. Gracias por depositar su confianza en nosotros y por su amistad brindada.

A la secretaria Pilar Cáceres quien siempre nos demostró una actitud generosa y abierta a cualquier inquietud que surgía.

A la facultad de Ingeniería Química de la UNAC por brindarnos un espacio en sus laboratorios para la realización en este trabajo.

A todos los profesores de nuestra prestigiosa universidad quienes supieron impartir sus conocimientos forjando la profesión que ejercemos con eficiencia para engrandecer a nuestra patria y dejar muy en alto el nombre de la Universidad Nacional del Callao: Licenciados *Reyna Segura, Cabrera Arista* e Ingenieros *Toledo Palomino, Bellodas Arboleda, Medina Collana, Ancieta Dextre, Panana Girio, Rodríguez Vilchez, Luna Chávez, Champa Henriquez, Lazo Camposano, Rodríguez Taranco, Díaz Córdova, Avalos Jacobo, Ángeles Queirolo y Machaca Gonzales.*

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>13</b>
1.1 Situación problemática	13
1.2 Formulación del problema	14
1.3 Objetivos de la investigación	15
1.4 Justificación	16
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	<b>18</b>
2.1 Antecedentes del estudio	18
2.2 Referencial teórico conceptual	20
2.2.1 Descripción de la planta nativa cucharilla	20
2.2.2 Clasificación taxonómica	22
2.2.3 Descripción física de la planta	25
2.2.4 Distribución natural	26
2.2.5 Características botánicas dadas en el Perú	27
2.2.6 Características resaltantes para la siembra	29
2.2.7 Propiedades curativas	29
2.2.8 Registro de campo (ubicación geográfica)	30

2.2.9 Fitoquímica	30
2.2.10 Principios activos	31
2.2.11 Metabolismo vegetal	31
2.2.12 Metabolitos secundarios	34
2.2.13 Tipos de metabolitos secundarios	38
2.2.14 Marcha fitoquímica preliminar	57
2.2.15 Análisis fitoquímico	58
2.2.16 Técnicas a aplicar en un análisis fitoquímico	59
2.2.17 Técnicas de obtención de extractos	60
2.2.18 Técnicas de separación de componentes	66
2.2.19 Cromatografía en capa fina o delgada (CCD)	69
2.2.20 Técnicas de identificación de comp. activos	71
2.2.21 Definición de términos básicos	71
<b>III. DISEÑO METODOLÓGICO</b>	<b>75</b>
3.1 Tipo y diseño de la investigación	75
3.1.1 Tipo de investigación	75
3.1.2 Diseño de la investigación	75
3.2 Unidad de análisis	77
3.3 Escenario o sede del estudio	78
3.3.1 Laboratorio Química General	78
3.3.2 Laboratorio de Operaciones y Procesos Unitarios	78
3.3.3 Laboratorio Química Orgánica	78
3.3.4 Centro Experimental Tecnológico	78

3.4 Participantes o sujetos de estudio	79
3.4.1 Aspectos Generales	79
3.4.2 Localidad	79
3.4.3 Aspectos Ecológicos	80
3.4.4 Datos sobre la planta	80
3.4.5 Aspectos secundarios	80
3.4.6 Dimensiones de la flor y hoja	81
3.5 Técnicas e instrumentos para recolección de información	82
3.5.1 Técnicas	82
3.5.2 Instrumentos	82
3.5.3 Recolección de datos	83
3.6 Plan de trabajo de campo	83
3.6.1 Materiales, equipos y reactivos	83
3.6.2 Método	85
3.7 Análisis e interpretación de la información	117
<b>IV. RESULTADOS</b>	<b>118</b>
4.1 Recolección	118
4.2 Molienda	118
4.3 Tamizado	119
4.4 Resultados de la etapa preliminar	122
4.4.1 Parámetros calculados para cada extracción	122
4.4.2 Resultados de las pruebas preliminares	125
4.5 Parámetros calculados en el proceso de maceración	127



4.6	Parámetros calculados en el rotavapor	128
4.6.1	Pesos de los extractos obtenidos	129
4.7	Identificación de metabolitos secundarios en CCD	131
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	137
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	139
<b>VII.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	141
<b>VIII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	143
<b>IX.</b>	<b>ANEXOS</b>	150
	Anexo 1: Matriz de consistencia	150
	Anexo 2: Clasificación taxonómica de la planta cucharilla	151
	Anexo 3: Constante dieléctrica de algunos solventes	152
	Anexo 4: Cuadro de Indicadores de colores	153
	Anexo 5: Preparación de placas cromatográficas silica gel 60G	154
	Anexo 6: Fotos de ensayos preliminares	155
	Anexo 7: Reacciones químicas de la marcha preliminar	163
	Anexo 8: Fotos de cromatografía de capa fina	170

## INDICE DE TABLAS

Tabla N° 2.1 : Clasificación taxonómica de la planta nativa cucharilla	22
Tabla N° 2.2 : Ubicación geográfica	30
Tabla N° 2.3 : Tipos de terpenos	39
Tabla N° 2.4 : Tipos de esteroides	41
Tabla N° 2.5 : Tipos de glicósidos cardiotónicos	43
Tabla N° 2.6 : Acción farmacológica de flavonoides	46
Tabla N° 2.7: Tipos de antocianinas	49
Tabla N° 2.8: División de los alcaloides	53
Tabla N° 2.9: Tipos de alcaloides	53
Tabla N° 2.10: Acción farmacológica de los alcaloides	56
Tabla N° 2.11: Técnicas en un análisis fitoquímico	59
Tabla N° 2.12: Clasificación de los polvos (farmacopea brasileña)	60
Tabla N° 2.13: Proporción etanol - agua para extracción	64
Tabla N° 2.14: Polaridad de solventes	68
Tabla N° 2.15: Carácter polar en la cromatografía NP	69
Tabla N° 3.1 : Diseño experimental 3x1x1 (flores y hojas)	108
Tabla N° 3.2 : Diseño experimental 3x1x1 (ramas)	108
Tabla N° 3.3 : Revelado de cromatograma	112
Tabla N° 4.1 : Datos de campo	118
Tabla N° 4.2 : Peso muestra recolectada	118
Tabla N° 4.3 : Pesos muestra (ensayo molienda)	118

Tabla N° 4.4A: Tamizaje muestra seca - flores	119
Tabla N° 4.4B: Tamizaje muestra seca - hojas	120
Tabla N° 4.4C: Tamizaje muestra seca - ramas	121
Tabla N° 4.5A: Primer extracto - éter etílico	123
Tabla N° 4.5B: Segundo extracto - alcohol etílico	123
Tabla N° 4.5C: Tercer extracto - agua	124
Tabla N° 4.6 : Resultados de las pruebas preliminares	125
Tabla N° 4.7A: Pruebas para el proceso de maceración – flor	127
Tabla N° 4.7B: Pruebas para el proceso de maceración - hoja	127
Tabla N° 4.7C: Pruebas para el proceso de maceración – rama	128
Tabla N° 4.8 : Parámetros experimentales del rotavapor	128
Tabla N° 4.9A: Peso del extracto – parte I	129
Tabla N° 4.9B: Peso del extracto – parte II	130
Tabla N° 4.10A:Revelado del cromatograma - flor	131
Tabla N° 4.10B:Revelado del cromatograma - hoja	133
Tabla N° 4.10C:Revelado del cromatograma - rama	135

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 2.1A: Planta nativa cucharilla	23
Figura N° 2.1B: Flor de la planta nativa cucharilla	24
Figura N° 2.2 : Suelo de la planta nativa cucharilla	28
Figura N° 2.3 : Tipos de metabolismo vegetal	32
Figura N° 2.4 : Relación entre metabolismo primario y secundario	35
Figura N° 2.5 : Definición de metabolitos secundarios	37
Figura N° 2.6 : Unidad básica del los terpenoides	39
Figura N° 2.7 : Unidad básica de los esteroides	41
Figura N° 2.8 : Unidad básica de los glicósidos cardiotónicos	42
Figura N° 2.9 : Unidad básica de un flavonoide "flavano"	46
Figura N° 2.10: Estructura química de las antocianinas	48
Figura N° 2.11: Estructura química de una quinona	51
Figura N° 2.12: Marcha fitoquímica preliminar	57
Figura N° 2.13: Análisis fitoquímico	58
Figura N° 2.14: Técnicas generales extractivas de plantas	61
Figura N° 2.15: Factor Rf	70
Figura N° 3.1 : Diseño de la investigación	76
Figura N° 3.2 : Dimensión de la flor	81
Figura N° 3.3 : Dimensión de la hoja	82
Figura N° 3.4 : Análisis fitoquímico	85
Figura N° 3.5 : Hojas y ramas recolectadas	87

Figura N° 3.6 : Flores recolectadas	88
Figura N° 3.7A: Secado de hojas – hábitat natural	89
Figura N° 3.7B: Secado de flores – hábitat natural	90
Figura N° 3.8 : Secado de hojas – incubadora casera	90
Figura N° 3.9A: Secado de flores – estufa eléctrica	91
Figura N° 3.9B: Secado de hojas – estufa eléctrica	91
Figura N° 3.9C: Secado de ramas – estufa eléctrica	91
Figura N° 3.10: Separación de nervios centrales y peciolo – hojas	92
Figura N° 3.11: Molino de discos	93
Figura N° 3.12: Almacenaje de muestras molidas	93
Figura N° 3.13: Juego de tamices (#10 - 100#)	94
Figura N° 3.14: Partes del proceso de tamizado	94
Figura N° 3.15: Marcha fitoquímica preliminar	98
Figura N° 3.16: Ensayos en el extracto éter etílico	99
Figura N° 3.17: Ensayos en el extracto etanólico	100
Figura N° 3.18: Ensayos en el extracto acuoso	101
Figura N° 3.19: Muestra macerada	102
Figura N° 3.20: Muestra macerada envuelta en papel metálico	103
Figura N° 3.21: Adición de muestra a los matraces	107
Figura N° 3.22: Adición de solvente al matraz	107
Figura N° 3.23: Filtración de la muestras maceradas	109
Figura N° 3.24: Equipo rotavapor	110
Figura N° 3.25: Placas cromatográficas introducidas en la cuba	112

## RESUMEN

La presente investigación tiene por objeto identificar los metabolitos secundarios que se encuentran en la planta cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) nativa del departamento de Cajamarca, utilizada por sus propiedades curativas. Se realizaron dos etapas a las flores, hojas y ramas.

En la primera etapa se realizó una marcha fitoquímica en el que las reacciones de coloración y/o precipitación fueron el punto de análisis.

En la segunda etapa se realizó el análisis fitoquímico, con la maceración estática, filtración, evaporación del solvente, cromatografía de capa fina. En la identificación de los componentes activos se utilizó reactivos, luz UV, siendo la coloración formada el punto de análisis. Comprobando de esta manera que los metabolitos secundarios identificados cualitativamente en la planta nativa cucharilla son: alcaloides, compuestos fenólicos como catequinas, taninos, flavonoides, quinonas, triterpenos y esteroides como glicósidos cardiotónicos.

Palabras claves: *Oreocallis grandiflora*, marcha fitoquímica, metabolitos secundarios, análisis fitoquímico, maceración estática, cromatografía de capa fina.

## ABSTRACT

This research aims to identify the secondary metabolites found in the plant cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) native Cajamarca department, used for its healing properties such. There were two stages to flowers, leaves and branches.

In the first stage was performed preliminary test in which the reactions of color and / or precipitation were analysis point.

In the second stage was performed phytochemical analysis, with the static maceration, filtration, solvent evaporation, thin layer chromatography. For the identification of the active components was used reagents, UV light , in which the color were analysis point. Was checked that the secondary metabolites qualitatively identified in the cucharilla native plant are alkaloids, phenolic compounds as catechins, tannins, flavonoids, quinones, triterpenoids and steroidns as cardiotonic glycosides.

Keywords: *Oreocallis grandiflora*, phytochemical screening, secondary metabolites, phytochemical analysis, static maceration, thin layer chromatography.

## INTRODUCCION

El uso de las plantas medicinales se sustenta en las experiencias vividas por campesinos, ya que ellos a través del tiempo han probado y manifestado que los recursos botánicos pueden resolver problemas fitosanitarios, representando de esta manera casi las tres cuartas partes de los medicamentos de origen vegetal que son empleados. Pese a la diversidad de la flora que hay en el país, es escaso el conocimiento científico de sus propiedades para el control de enfermedades.

Las plantas producen una variedad de compuestos orgánicos que no participan directamente en su desarrollo y crecimiento, estas sustancias son los denominados “metabolitos secundarios”, a diferencia de los metabolitos primarios que si participan. Ahora se sabe que muchas de estas sustancias (metabolitos secundarios) juegan roles importantes en procesos de defensa, necesarios para la supervivencia de la planta, contra herbívoros y microorganismos patógenos, además de ello y lo más importante que se puede rescatar de estos productos secundarios es ser una fuente importante de principios activos de medicamentos y de otros productos químicos valiosos como esencias, colorantes, insecticidas o aditivos nutritivos.



En el Perú el conocimiento de la cucharilla es completamente empírico y los estudios de esta planta son escasos y limitados. A la planta nativa cucharilla se le atribuyen propiedades terapéuticas que son aprovechadas en medicina natural por un cierto sector de pobladores de algunas provincias del Perú, cuyo uso de éstas carece de pruebas científicas que la certifique como un suplemento para la salud. Precisamente la Fitoquímica nos determinó los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla, con estos datos y posteriores investigaciones se logrará saber cuáles son los efectos de los principios activos en la persona.

Esté insipiente conocimiento o falta de impulso a la investigación en estudiantes universitarios enmarca una verdadera distancia con la biodiversidad de la flora peruana, de esta manera trataremos de aportar conocimientos previos para las futuras investigaciones.

# CAPITULO I

## PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.1 Situación problemática

A través del tiempo se ha adquirido conocimientos de parte de nuestros ancestros en el uso de plantas medicinales para el consumo humano, gracias a sus experiencias vividas, a las necesidades de aquellas épocas, lo que les abrió paso a usar lo que tenían al alcance de las manos, descubriendo así nuevas formas de lucha contra sus enfermedades, esa carencia de estudio científico es el motor que nos impulsa a la investigación tomando en cuenta que las plantas medicinales abarcan hoy en día gran parte de la medicina tradicional por parte de varios países, lo que conlleva a buscar nuevas formas de sintetizar antídotos a partir de principios activos de los metabolitos secundarios presentes en las plantas que tengan propiedades curativas.

Se está en constante búsqueda por nuevos medicamentos que curen las dolencias y/o enfermedades; y que mejor que nuestro país que es rico en biodiversidad como su flora, para aplicar aquí esa búsqueda y seguir con la investigación.

Pero si nos ponemos a pensar ¿a qué se deben estas propiedades curativas?, llegaríamos a la conclusión que estamos en la necesidad de conocer: ¿Qué conlleva a que la planta realice funciones específicas?, según fuentes orales, existen diversas plantas medicinales, en tanto nos enfocaremos en una de ellas de manera particular, buscando ¿Qué sustancias contenidas en la planta cumplen estos roles?, la idea fundamental es la presencia de principios activos la cual radica en los productos naturales o metabolitos secundarios el que será nuestro punto de investigación, siendo este el motivo más importantes para desarrollar esta tesis, dando de esta manera el primer paso para que en un futuro se puedan elaborar nuevos medicamentos a partir de la síntesis de estos componentes.

**Por lo tanto existe la necesidad de identificar los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).**

## **1.2 Formulación del problema**

### **Problema general:**

¿Cuáles son los Metabolitos Secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*)?

**Sub problemas:**

- a) ¿Cómo se realiza la identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*)?
  
- b) ¿Cómo se realiza la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*)?

**1.3 Objetivos de la investigación**

**Objetivo general:**

Identificar los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).

**Objetivos específicos:**

- a) Realizar la identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).
  
- b) Realizar la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).

## 1.4 Justificación

Las razones que justifican la investigación propuesta son las siguientes:

- a) Según fuentes orales la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) es usada para alivio de afección de vías urinarias, regulación del flujo menstrual, desinflamación del hígado y riñones, fiebre, tos y resfrió.
- b) La tesis concluida permitirá dar paso a la investigación para sintetizar nuevos fármacos a partir de los metabolitos secundarios, es decir extraer los principios activos presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).
- c) En el Perú el conocimiento de la cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) es completamente empírico y los estudios de esta planta son escasos.
- d) Hoy en día las plantas medicinales son utilizadas por la medicina natural como fuentes de drogas, ya que sus principios activos tienen actividad farmacológica para su uso directo o para la elaboración de medicamentos.

- e) A partir de fuentes orales se establece que esta planta nativa presente diferentes propiedades curativas, las que conllevan a la búsqueda de información.
  
- f) El desarrollo de la tesis orientará al estudio de plantas medicinales para la posterior investigación de principios activos presentes en ella.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Antecedentes del estudio:

En la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao, hasta la actualidad no se han reportado tesis que hagan estudio de plantas medicinales con el fin de hacer estudios de los principios activos que estos presentan, y de esta manera poder sintetizar químicamente estos componentes.

- Lugar de búsqueda : Internet
- Publicaciones : Tesis

- a) Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniera Química.  
Universidad Técnica Particular de Loja (Escuela de Ingeniería Química) - Ecuador

**Autora:** Zayda Lorena Burneo Palacios

**Título:** “DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS TOTALES DE DOCE ESPECIES VEGETALES NATIVAS DEL SUR DEL ECUADOR: *Adiantum poiretti* (Culantrillo),

Neonelsonia acuminata (Zanahoria blanca), Siparuna eggersii (Monte de oso), Ilex guayusa (Guayusa), Verbena litoralis (Verbena), Justicia colorata (Insulina), *Oreocallis grandiflora* (Cucharilla), Baccharis genistelloides (Tres fillos), Artocarpus altilis (Fruto del pan), Costus comosus (Caña agria), Piper crassinervium (Guabiduca) y Croton wagneri (Mosquera)”.

**Año:** 2009

**Breve resumen:** En este trabajo evaluaron el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de 12 plantas usadas en la medicina tradicional del país de Ecuador, con ensayos de descoloramiento del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrihidracilo) y ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)); y el contenido de fenoles totales mediante el método de Folin Ciocalteu. Realizaron una comparación con los estándares respectivos DPPH ( $\alpha$ -Tocoferol); ABTS (TROLOX) y para fenoles totales (ácido gálico), con el fin de buscar cual de todas estas especies silvestres presentan mayor actividad antioxidante, siendo una de estas la cucharilla.

**b)** Tesis previa a la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico. Universidad Técnica Particular de Loja (Escuela de Bioquímica y Farmacia) Ecuador.



**Autora:** Verónica Alexandra Sarango Lozano

**Título:** “DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA DE LOS EXTRACTOS TOTALES DE NUEVE ESPECIES VEGETALES NATIVAS DEL SUR DEL ECUADOR: *Piper crassinervium* (Guabiduca), *Baccharis genistelloides* (Tres filos), *Neonelsonia acuminata* (Zanahoria blanca), *Siparuna eggertii* (Monte de oso), *Ilex guayusa* (Guayusa), *Croton wagneri* (Mosquera), *Costus comosus* (Caña agria), *Verbena litoralis* (Verbena) y *Oreocallis grandiflora* (Cucharilla) mediante ensayos de inhibición de alfa amilasa y alfa glucosidasa”

**Año:** 2008

**Breve resumen:** Este estudio se basó en evaluar la actividad inhibitoria, sobre  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, de los extractos totales de nueve especies vegetales del Sur del Ecuador, empleando los métodos espectrofotométricos para  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, con el fin de determinar la actividad antidiabética.

## **2.2 Referencial teórico conceptual**

### **2.2.1 Descripción general de la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*)**

La cucharilla incluye 77 géneros aproximadamente 1600 especies distribuidas en los trópicos y subtropicos, principalmente en

el hemisferio sur (sobre todo en Australia y Sur África) (Vásquez y Otros, 2010:1229). En el Perú se registran 5 generos y 19 especies, la especie más conocida es *Oreocallis Grabdiflora*(Lam.) R.Br., "cucharilla"(Vásquez y Otros, 2010:1230).

- Nombre Comunes:

Según fuentes orales del Perú, a la cucharilla se le conoce con otros nombres vulgares como:

- |                 |                 |
|-----------------|-----------------|
| - Atash         | - Mastimpanraní |
| - Catas         | - MastinParini  |
| - Cocániro      | - Paco-Paco     |
| - Cocaniro      | - Pichua        |
| - Chakpa        | - Pichuai       |
| - Chappa        | - Salta Perico  |
| - Cucharilla    | - Tacpá         |
| - Llamas        | - Tsacpä        |
| - Llama-Llama   | - Zacpa         |
| - MachinParani  | - Zacpá         |
| - MachinParrani | - Gañal         |

Fuente: Pretell y Otros, 1985:37. (Mejorado por los autores de tesis).

## 2.2.2 Clasificación taxonómica

Se puede observar la clasificación taxonómica de la planta nativa (véase la tabla N° 2.1), se observa la planta nativa (véase la figura N° 2.1A, en la página 23) y se observa la flor de la cucharilla (véase la figura N° 2.1B, en la página 24), cada una de estas en su hábitat natural.

**TABLA N° 2.1**  
**CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA PLANTA NATIVA CUCHARILLA**

<b>CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA</b>	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Sub clase	Rosidae
Orden	Proteales
Familia	Proteaceae
Género	<i>Oreocallis</i>
Especie	<i>Grandiflora</i>
Nombre Científico	<i>Oreocallis grandiflora</i>

Fuente: MUSEO DE HISTORIA NATURAL: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Determinada por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida. 10-07-12.

En el anexo 2 se encuentra la CONSTANCIA N° 187-USM-2012, la misma que acredita la clasificación taxonómica de la planta cucharilla.

**FIGURA N° 2.1A**  
**PLANTA NATIVA CUCHARILLA**



Fuente: Elaboración propia (Cajamarca).

**FIGURA N° 2.1B**  
**FLOR DE LA PLANTA NATIVA CUCHARILLA**



Fuente: Elaboración propia (Cajamarca).

### 2.2.3 Descripción física de la planta

Es un arbusto no muy coposo de flores amarillento-blanquecino, hasta tonalidades rosadas, muy llamativas. El tronco llega a medir hasta 6m de longitud, con un diámetro máximo de 20cm.

✓ **Árbol:**

Arbusto a árbol de densos racimos terminales de 3 hasta 6 m. de altura, y 20 cm de diámetro, con numerosas flores (Pretell y Otros, 1985:37).

✓ **Corteza:**

La corteza externa es agrietada, de color grisáceo. La corteza interna es de color blanquecino (Reynel y Otros, 2009:124).

✓ **Hojas:**

Simples, coriáceas, elípticas, de 8-9 cm. de largo y 4 cm. de ancho en su parte media. "Color verde opaco. Tiene el ápice obtuso a redondo, el borde entero y la base aguda" (Pretell y Otros. 1985:37). Los peciolo son largos, de 1 cm a 2 cm de longitud. Los nervios secundarios son de 10 a 15 pares, robustos y amarillentos por el revés de la hoja.

✓ Flores:

“Agrupadas en cimas. Vistasas, de color que varía de amarillento-blanquecino hasta rosados. De tamaño grande, reflejado en el nombre de la especie (*Grandiflora*)” (Pretell y Otros.1985:37). “Los pétalos están unidos formando un tubo estrecho y largo”. (Reynel y Otros. 2009:125).

✓ Frutos:

Vaina con cascara lisa, de color verde-amarillento a verde-rojizo, que se torna gris cuando madura y marrón cuando se seca. Son persistentes, es decir se forman en todo el año (Pretell y Otros, 1985:37).

✓ Semillas:

Achatadas, elípticas. Se tiene un promedio de 38,000 semillas por kilo. Por lo general se consigue semilla (en el árbol) durante todo el año (Pretell y Otros, 1985:37).

#### **2.2.4 Distribución natural**

El género *Oreocallis grandiflora* crece desde los andes peruanos hasta el centro del Ecuador, encontrándose también en Australia.

“En el Perú se encuentra distribuido desde el departamento de Cuzco hasta Cajamarca incluyendo los departamentos de Ancash, Amazonas, Apurímac, Ayacucho, Huanuco, Junin, La Libertad, Piura, San Martín” (Pretell y Otros. 1985:37). También crece en valles interandinos con buen nivel de humedad ambiental y sin heladas.

### **2.2.5 Características botánicas dadas en el Perú**

- ✓ Es endémica (no crece en otro lugar) y silvestre.
- ✓ El crecimiento de la planta se da sin necesidad de sembrío, ya que crece espontáneamente a las condiciones dadas.
- ✓ El rango Altitudinal es desde los 1000 hasta los 4000 m.s.n.m.(Reynel y Otros. 2009:126).
- ✓ “Al suelo normalmente se le encuentra prosperando en suelos muy delgados (por ejemplo 5 cm.), casi sobre roca” (Pretell y Otros. 1985:37), (véase la figura N° 2.2, en la página 28), es decir, en suelos aún en formación de granito y cuarzo, por lo tanto tiene un pH ácido.
- ✓ Variedades: existen dos especies (Flor blanquecina-amarillenta y flor violeta-rosada).
- ✓ Rebrotta con vigor, lo que es importante desde el punto de vista económico (Pretell y Otros, 1985:37).



**FIGURA N° 2.2**  
**SUELO DE LA PLANTA NATIVA CUCHARILLA**



Fuente: Elaboración propia (Cajamarca).

- ✓ En muchas zonas accesibles de la Sierra, es una especie en vías de extinción, por su aprovechamiento irracional (elaboración de canastas o cestos) y casi nulo impulso a su propagación (Pretell y Otros, 1985:37).
- ✓ Debido a la pobre capacidad de enraizamiento de las estacas de *Oreocallis grandiflora*, la mejor forma de propagarlo es a partir de semilla (Pretell y Otros, 1985:37).

#### **2.2.6 Características resaltantes para la siembra (si se desea hacer rebrotes)**

“El mejor sustrato encontrado para la siembra es dos partes de tierra agrícola, una parte de tierra de *Oreocallis grandiflora*, una de arena y una de turba, lo que permite tener una buena textura, drenaje y aeración” (Pretell y Otros, 1985:37).

#### **2.2.7 Propiedades curativas**

Según fuentes orales, las hojas en cocción se utilizan como astringente, para la afección de vías urinarias y para desinflamar el hígado y los riñones, enfermedades del corazón, resfrió, cuya dosis no se encuentra especificada, no existiendo contraindicaciones en su consumo.

## 2.2.8 Registro de campo (ubicación geográfica)

El lugar que se seleccionó para el trabajo de tesis fue el departamento de Cajamarca (véase la tabla N° 2.2)

**TABLA N° 2.2**  
**UBICACIÓN GEOGRÁFICA**

<b>DATOS GEOGRÁFICOS</b>	
Departamento	Cajamarca
Provincia	Cajabamba
Distrito	Cachachi
Altitud	3650 m.s.n.m.

Fuente: Elaboración propia.

## 2.2.9 Fitoquímica

La fitoquímica estudia cada grupo de la planta, desde su estructura química molecular, hasta las propiedades biológicas de los vegetales. Realiza relevamientos y análisis de los componentes químicos de las plantas, como los principios activos, los olores, pigmentos, entre otros.

La Fitoquímica es una especialidad que deriva de la Farmacognosia y se dedica al estudio químico de las plantas medicinales.

### **2.2.10 Principios activos**

“Son sustancias químicas puras aislada de la droga, que son responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico que se le atribuye a una droga” (Claudia Kuklinski 2000:4), siendo la droga todo material de origen natural, ya sea en bruto, por ejemplo, las hojas, la corteza, la flor de una especie vegetal u obtenida por sencillas operaciones por ejemplo los extractos para la elaboración de medicamentos.

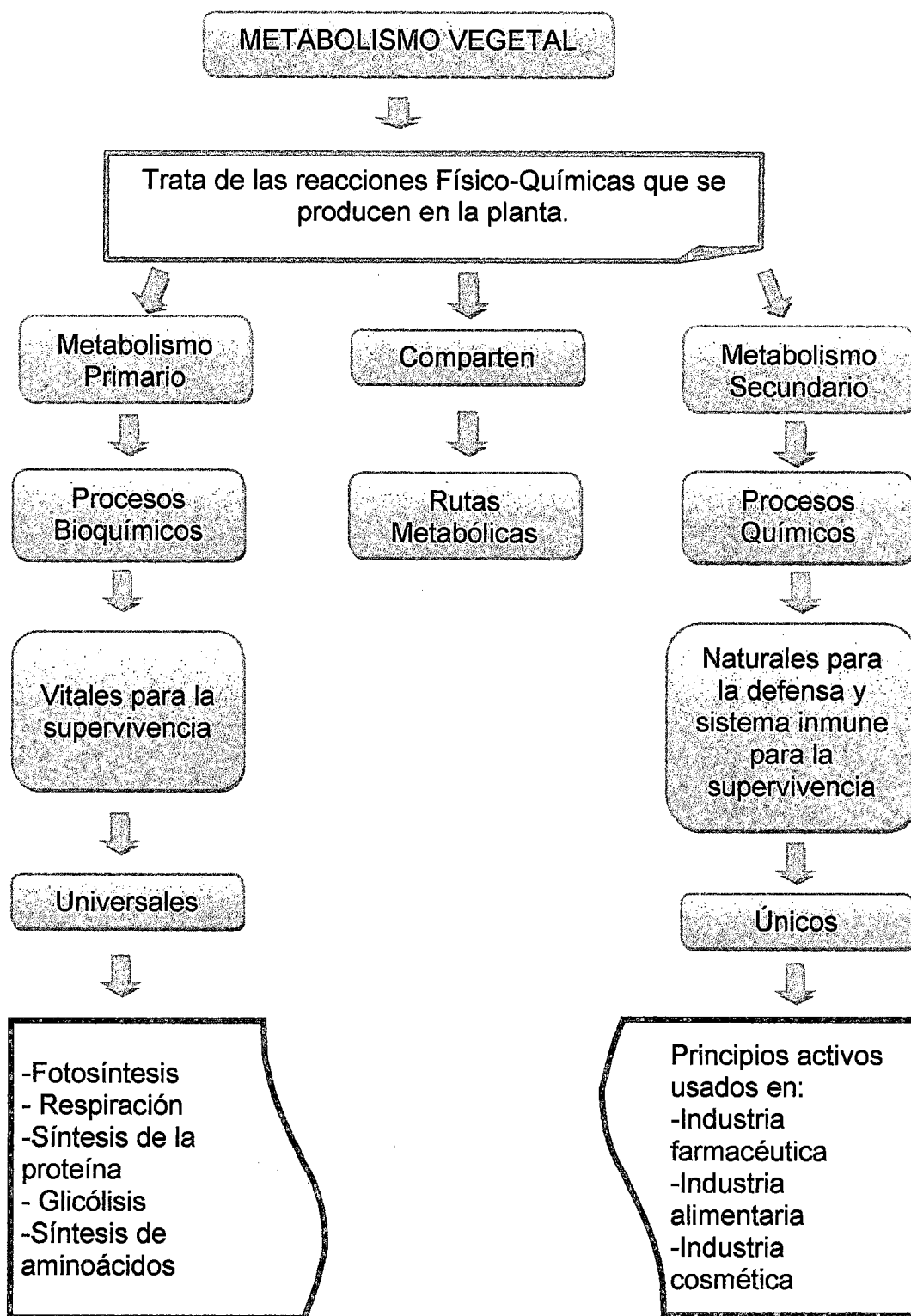
### **2.2.11 Metabolismo vegetal:**

Para la investigación se requiere de la extracción y purificación de los compuestos químicos presentes en la planta ya sea que se encuentre en la raíz, tallo, flor y hojas. El metabolismo en los vegetales puede clasificarse en dos clases (véase la figura N° 2.3, en la página 32):

#### **a. Metabolismo primario:**

Algunos autores lo han descrito como compuestos del Bioquímico.

**FIGURA Nº 2.3**  
**TIPOS DE METABOLISMO VEGETAL**



Fuente: Fitoquímica Orgánica (Marcano, 2002), consultada el 17-05-12.

Este tiene que ver con la producción de constituyentes que son esenciales para la vida de las plantas ya que intervienen en forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción de estas.

**b. Metabolismo secundario:**

Algunos autores lo han descrito como compuestos del Químico. Son aquellos compuestos relativamente complejos que aparentemente no tienen una función conocida en la planta ya que no intervienen en el metabolismo primario de las plantas pero debido a los avances de la química se están descubriendo ciertas funciones no necesariamente para las células que lo producen, pero si para la planta como ser vivo en su totalidad pues intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente, estos son originados por los metabolitos primarios mediante la biosíntesis, esta autodefensa de la planta a generado una gama de usos y aplicaciones en la medicina, la agricultura, como aditivos alimentarios, colorantes, biocidas, etc.

Se puede observar la relación que existe entre el metabolismo primario y el metabolismo secundario (véase la figura N° 2.4, en la página 35), además se aprecia que estos dos tipos de metabolismo no son independientes si no que están interrelacionados, el

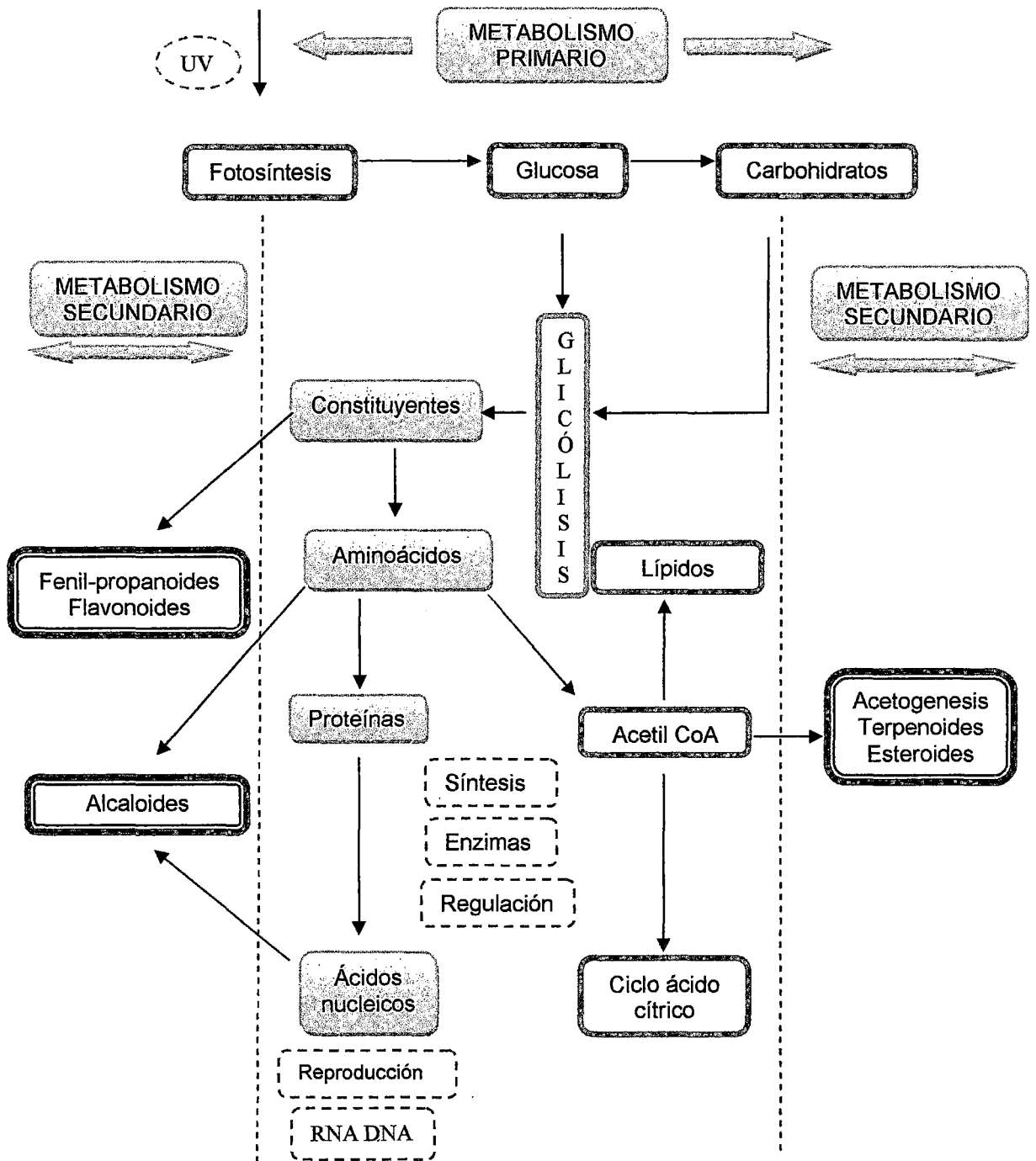
metabolismo secundario es prácticamente una extensión del metabolismo primario, se observa que el Acetil Coenzima A es el precursor para las acetogeninas, terpenos y esteroides, estos son compuestos cetónicos y estos compuestos tienen función hormonal.

También se puede apreciar los bloques constituyentes y productos como fenil-propanol, flavonoides, y alcaloides, además aminoácidos, estos productos pertenecen a la ruta del ácido shikímico, se puede deducir que los compuestos del metabolismo secundario son el producto de reacciones que tienen como precursores algunos constituyentes del metabolismo primario.

### **2.2.12 Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios son también llamados Productos Naturales, comprende aquellos procesos químicos que son únicos para una planta dada y no son universales. Es la química que conduce a la formación de un producto natural, esta química son comunes para un número de plantas diferentes o familias de plantas, pero actualmente la química de productos naturales es usualmente diferente de una planta a otra ya que precursores químicos comunes pueden conducir a resultados diferentes.

**FIGURA Nº 2.4**  
**RELACIÓN ENTRE METABOLISMO PRIMARIO Y SECUNDARIO**



Fuente: relación entre metabolismo primario y secundario, disponible en:  
<http://www.ugr.es/~quiorred/pnatu/secundario.htm>, página web, consultada el 21-05-12.



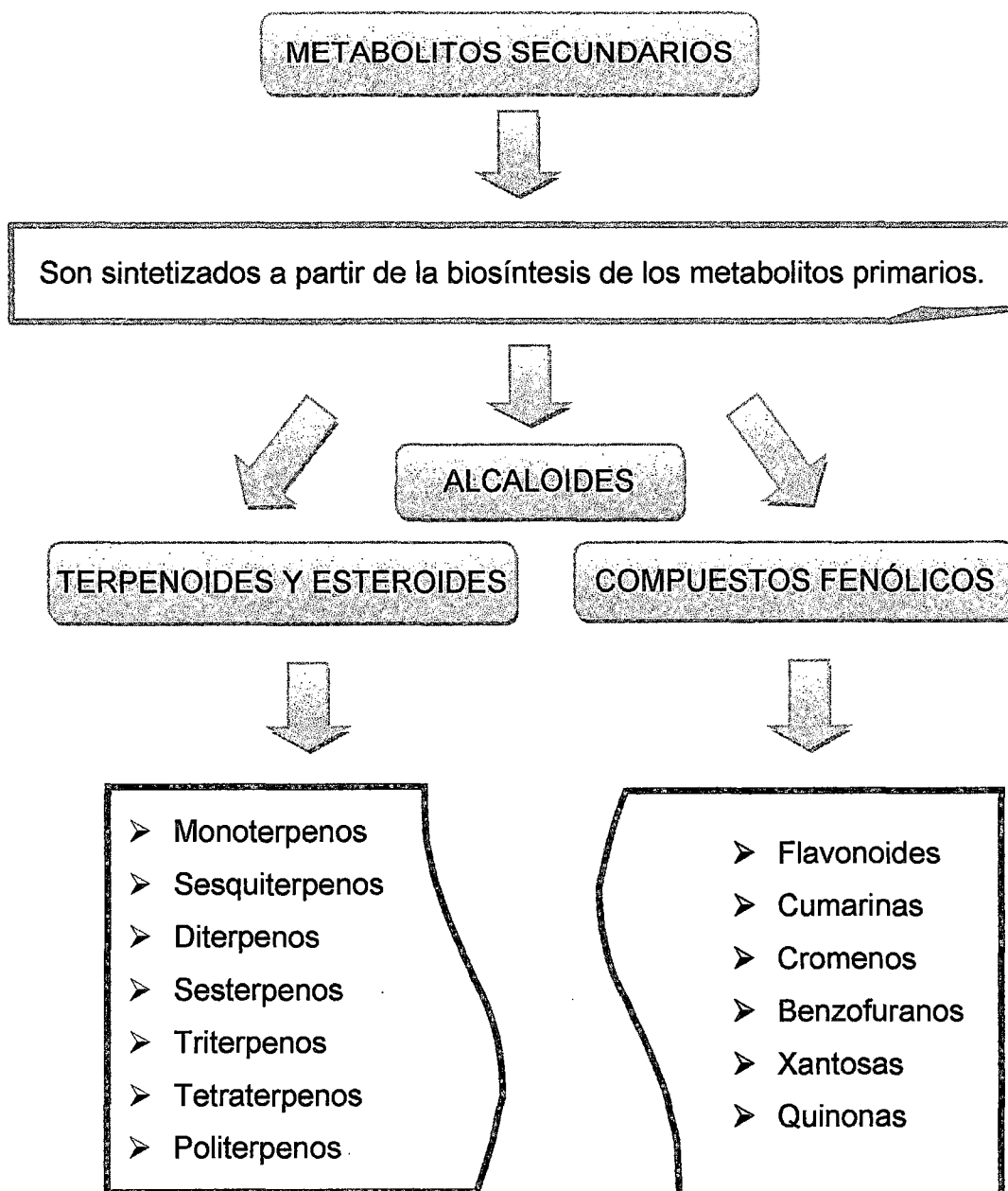
Según el tipo de sustrato a partir del cual son sintetizados y de sus vías de síntesis, se distinguen distintas clases de metabolitos secundarios.

➤ Características:

- No tienen funciones metabólicas directas aparentes.
- Son importantes para la supervivencia e interacción con el entorno.
- Presentan diferente distribución en el reino vegetal.
- No son clasificados como secundarios basándose en su estructura, ruta biogénica o tipo de distribución.
- La biosíntesis de los metabolitos secundarios es catalizada por enzimas que solo se sintetizan:
  - En estados específicos del desarrollo del organismo y de células especializadas.
  - Por deficiencia de nutrientes.
  - Como respuestas a estados de estrés provocado por ataque de microorganismos, insectos, etc.
- El metabolismo secundario utiliza siempre como sustratos a los productos del metabolismo primario.

Se dará una clasificación según las vías o rutas de la formación de productos, para el estudio de los metabolitos secundarios (véase la figura N° 2.5).

**FIGURA N° 2.5**  
**DEFINICIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS**



Fuente: Fitoquímica Orgánica (Marcano, 2002), consultada el 26-05-12.

### **2.2.13 Tipos de metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios de acuerdo a sus grupos funcionales se clasifican en tres partes, los cuales son: terpenoides y esteroides, compuestos fenólicos y alcaloides.

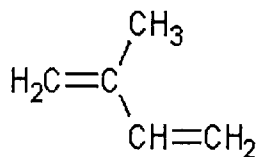
#### **a. Terpenoides y esteroides**

Los terpenos están distribuidos en el reino vegetal, su frecuencia y abundancia están íntimamente ligadas a factores genéticos y climáticos. (Marcano y Otros, 2002:237).

Al hablar de Terpenoides se refiere a un grupo de sustancias que poseen un origen biosintético común (Lock, 1994:23). La unidad fundamental que define estos esqueletos contiene cinco átomos de carbono y se la conoce como isopreno (Marcano y Otros, 2002:238) (véase la figura N° 2.6, en la página 39)

Los terpenos pueden encontrarse en la fuente vegetal solos o formando glicósidos. Se puede observar los tipos de terpenos que hay, donde "n" es el número de unidades de isopreno (véase la tabla N° 2.3, en la página 3).

**FIGURA N° 2.6**  
**UNIDAD BÁSICA DEL LOS TERPENOIDES (ISOPRENO)**



Fuente: Investigación Fitoquímica. (Olga Lock, 1994).

**TABLA N° 2.3**  
**TIPOS DE TERPENOS**

<b>TERPENOS (UNIDAD ISOPRENO)</b>			
<b>Unidades de Isopreno</b>	<b># Carbonos</b>	<b>Nombre</b>	<b>Ubicación</b>
1	5	Homoterpeno	Isopreno
2	10	Monoterpeno	Esencia de las flores
3	15	Sesquiterpeno	Cadenas laterales de la clorofila, Vitamina E, Acido Gibberellin
4	20	Diterpeno	Aceites esenciales
6	30	Triterpeno	Fitosteroides, Brasinoesteroides
8	40	Tetraterpeno	Carotenoides
Mayor a 8	>40	Politerpeno	Ubiquinona, Caucho, Dolicol

Fuente: Fitoquímica Orgánica. (Marcano, 2002).

### a.1 Triterpenos

Son terpenos compuestos de 30 carbonos, generalmente son generados por unión cabeza-cabeza por dos cadenas de 15

cadena, cada una de estas formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola, en total formada por 6 unidades de isopreno. Su estructura es generalmente tetracíclica y pentacíclica, estas pueden contener grupos cetónicos, hidroxilo y ácido carboxílico.

Los componentes de esta familia son muy numerosos, pero a pesar del mayor número de átomos de carbono del esqueleto básico, las modificaciones esqueléticas son menores que, por ejemplo, en el caso de los Sesquiterpenos (Marcano y Otros, 2002:317).

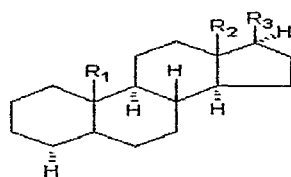
Esta gran clase de moléculas incluye a los brassinoesteroides, componentes de la membrana que son fitoesteroides, algunas fitoalexinas, varias toxinas y "feeding deterrents", y componentes de las ceras de la superficie de las plantas, como el ácido oleanólico de las uvas.

Los triterpenos han sido estudiados rigurosamente debido en parte, a su relación con los esteroides, los cuales han llamado poderosamente la atención desde hace tres cuartos de siglo. Los triterpenos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza tanto en el reino vegetal como en el reino animal.

## a.2 Esteroides

Los esteroides son derivados del núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno o esterano, (véase la figura N° 2.7) que se compone de carbono e hidrógeno formando cuatro anillos fusionados, tres hexagonales y uno pentagonal; posee 17 átomos de carbono. Se describe los tipos de esteroides (véase la tabla N° 2.4).

**FIGURA N° 2.7**  
**UNIDAD BÁSICA DE LOS ESTEROIDES**



Fuente: Plant Drug Analysis. (Wagner, 2001).

**TABLA N° 2.4**  
**TIPOS DE ESTEROIDES**

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	
H	H	H	Gonano
H	CH <sub>3</sub>	H	Estrano
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	Androstano
CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	Pregnano

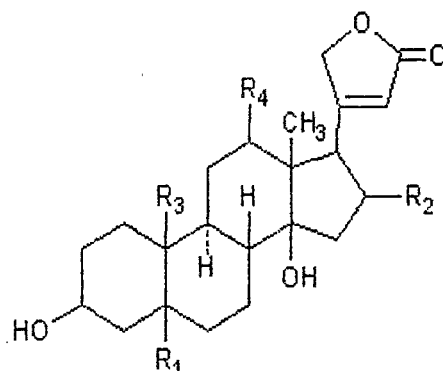
Fuente: Plant Drug Analysis. (Wagner, 2001).

### a.2.1 Glicósidos cardiotónicos

Los agentes cardiotónicos y sus principios activos son glicósidos esteroidales. Estos se clasifican en dos categorías, dependiendo del anillo lactónico en sus agliconas: cardenólidos (lactona de cinco miembros) y bufanólidos (lactona de seis miembros). Los primeros se encuentran siempre en plantas como glicósidos pero los segundos se presentan tanto en animales (sapos) como en vegetales.

Se observa la unidad básica de los glicósidos cardiotónicos (véase la figura N° 2.8). Se describen los tipos de glicósidos cardiotónicos (véase la tabla N° 2.5, en la página 43)

**FIGURA N° 2.8**  
**UNIDAD BÁSICA DE LOS GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS**



Fuente: Plant Drug Analysis. (Wagner, 2001).

**TABLA N° 2.5**  
**TIPOS DE GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS**

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	
H	H	CH <sub>3</sub>	H	Digitoxigenina
H	H	CH <sub>3</sub>	OH	Digoxigenina
H	OH	CH <sub>3</sub>	H	Gitoxigenina
OH	H	CHO	H	Strofantidina
H	OH	CHO	H	Adonitoxigenina
H	OH	CH <sub>2</sub> OH	H	Adonitoxigenol
OH	OH	CHO	H	Strofadogenina

Fuente: Plant Drug Analysis. (Wagner, 2001).

Las drogas que contienen glicósidos esteroidales afectan específicamente al dinamismo y ritmo de la insuficiencia cardiaca.

**b. Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más substituyentes hidroxilo y que ocurren frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar (Lock, 1994:111).



Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico. Su naturaleza aromática les permite que tengan una intensa absorción en la región UV del espectro siendo este método muy importante para su identificación.

Algunos tipos de compuestos fenólicos son flavonoides, cumarinas, cromenos y benzofuranos, xantonas, y quinonas. Algunas características de los compuestos fenólicos son:

- Algunos compuestos fenólicos podrían no contener el OH fenólico libre.
- Varios grupos de materiales poliméricos de las plantas como las ligninas son polifenólicos.
- A veces se encuentran unidades fenólicas en las proteínas, alcaloides y terpenoides.

#### **b.1 Flavonoides**

Los flavonoides sin ser metabolitos primarios, se encuentran casi en cualquier vegetal superior, hay más de 8000 compuestos conocidos de plantas vasculares mientras que en los vegetales

inferiores: algas, hongos, bacterias, los compuestos fenólicos principales son quinonas y xantonas y a éstos deben su color.

La función de los flavonoides en las plantas son varias. Así, se consideran como antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales y antinutricionales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, atractores visuales para los insectos, entre otros, además de su acción farmacológica (véase la tabla N° 2.6, en la página 46)

La estructura general de los flavonoides comprende un anillo A derivado de la cadena del policétido (sigue el patrón de oxigenación del floroglucinol o del resorcinol: patrón meta), un anillo B, derivado del ácido shikímico, con sustitución en orto, como en los ácidos cumárico, cafeico y gálico, y tres átomos de carbono que unen los anillos A y B, correspondientes a la parte alquílica del fenilpropano, están unidos por una unidad de tres carbonos que puedan o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C, es por ello que se les conoce como unidades  $C_{15}:C_6-C_3-C_6$  y el esqueleto recibe el nombre de núcleo de flavano (véase la figura N° 2.9, en la página 46).

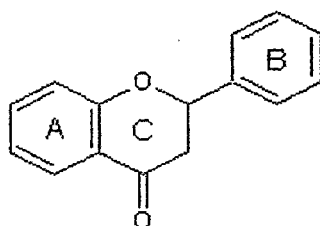
**TABLA N° 2.6**  
**ACCIÓN FARMACOLÓGICA DE FLAVONOIDES**

ACTIVIDAD	TIPO
Fragilidad capilar	- Bioflavonoides.
Dilatadores de coronarias	- Proantocianidinas.
Espasmolítica	- Glicósidos de apigenina.
Antihepatotóxica	- Silimarina de silybum.
Actividad antimicrobiana	- Flavonoides prenilados
Acción fungitóxica	- Isoflavonas.

Fuente: Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. (Olga Lock, 1994). Consultada el 03-06-12.

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado que contienen 15 átomos de carbono en su núcleo básico, como se encuentra en la flavonona, aurona, chalcona, flavona, flavanonol, flavonol, leucoantocianidina, antocianidina, catequina, isoflavona y neoflavona (Domínguez, 1973:81).

**FIGURA N° 2.9**  
**UNIDAD BÁSICA DE UN FLAVONOIDE “FLAVANO”**



Fuente: Investigación Fitoquímica. (Olga Lock, 1994).

“Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa” (Lock, 1994: 115), es frecuente que diferentes azúcares se hallen unidos a una misma aglicona y en diferentes posiciones, lo que hace mayor el número de glicósidos conocidos.

También se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas, debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas, de edulcorante por los glucósidos de dihidrochalconas, de insecticida por la rotenona (Lock, 1994:117).

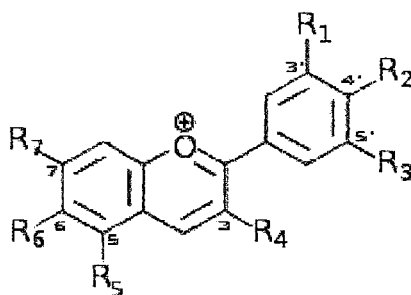
➤ Tipos de flavonoides:

Varios son los tipos de flavonoides siendo los representantes más abundantes de los flavonoides naturales los flavonoles y las flavonas. Se han aislado tanto libres como formando glicosidos y están distribuidos en todos los órganos de las plantas de una gran variedad de géneros y familias. Las agliconas, especialmente cuando son altamente oxigenadas, se localizan en la parte más externa de vegetal.

### b.1.1 Antocianinas

Constituyen los pigmentos principales de las flores y de las hojas de otoño, sus colores van desde el rojo hasta el azul (véase la figura N° 2.10). Son glicósidos polihidroxi flavilio en los cuales la unión glicosídica está principalmente en C-3 (véase la tabla N° 2.7, en la pagina 49).

**FIGURA N° 2.10**  
**ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS ANTOCIANINAS**



Fuente: Antocianinas, disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Antocianinas>, artículo web.

Las antocianinas representan un factor importante en la industria alimenticia debido a las restricciones sanitarias hacia el uso de colorantes sintéticos.

Las antocianinas no son estables bajo ciertas condiciones de almacenamiento, el cambio de color afecta la calidad del producto almacenado que las contiene. La sensibilidad del color se debe

fundamentalmente a los cambios de pH, productos de la fermentación, que inducen transformaciones estructurales de estos colorantes.

**TABLA N° 2.7**  
**TIPOS DE ANTOCIANINAS**

ANTOCIANIDINA	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>
Apigenidina	H	OH	H	H	H	H	OH
Aurantidinina	H	OH	H	OH	OH	OH	OH
Capensinidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH
Cianidina	OH	OH	H	OH	OH	H	OH
Delfinidina	OH	OH	OH	OH	OH	H	OH
Europinidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH
Hirsutidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>
Luteolinidina	OH	OH	H	H	OH	H	OH
Pelargonidina	H	OH	H	OH	OH	H	OH
Malvidina	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	H	OH
Peonidina	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH	H	OH
Petunidina	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OH	H	OH
Rosinidina	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>

Fuente: Antocianinas, disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Antocianinas>, artículo web. Consultada el 21-05-12.

### **b.1.2 Flavonoides poliméricas: Taninos**

Las plantas vasculares presentan una mezcla compleja de compuestos fenólicos y entre ellos los flavonoides poliméricos de alto peso molecular y estructuras mal definidas que por hidrólisis producen antocianidinas y flavonoles. Este grupo de sustancias se conoce como proantocianidinas y forma parte de los llamados taninos condensados.

Los taninos se los clasifica en:

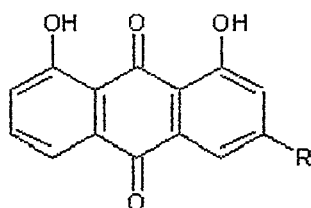
- Hidrolizables, (galotaninos y elagitaninos) aquellos que por tratamiento con ácido o por enzimas, se separan en la aglicona (ácidos gálico y elágico, o sus derivados) y los azúcares.
- Condensados, aquellos que por tratamiento con ácido no se degradan, polimerizan aún más, convirtiéndose en masas amorfas insolubles conocidas como flobafenos; estos son polímeros derivados de 3-hidroxi-y 3,4.dihidroxi-flavanos.

### **b.2 Quinonas**

Entre los productos naturales, las quinonas están ampliamente representadas, bien sea como núcleo principal de una estructura o

formando parte de moléculas complejas aromáticas - alifáticas y a veces diméricas, (véase la figura N° 2.11). Las quinonas constituyen un grupo importante de pigmentos vegetales y animales.

**FIGURA N° 2.11**  
**ESTRUCTURA QUÍMICA DE UNA QUINONA**



Fuente: Investigación Fitoquímica. (Olga Lock, 1994).

Su coloración es desde amarillo pálido, generalmente lo hallamos en la corteza de las plantas hasta casi negro. Pero contribuyen muy poco en el color de la planta y generalmente se encuentran en estado libre (Lock, 1994:182).

Las quinonas por el sistema aromático que dan al reducirse se pueden clasificar en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas (las más numerosas) y las fenantraquinonas (la menos numerosa).

Las quinonas son dicetonas cíclicas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles siendo reversible esta reacción. Las quinonas derivan su nombre del miembro más simple de la serie p-benzoquinona.



Aun pudiendo agrupar estos compuestos dentro de una estructura común, su origen biogenético está distribuido entre los metabolitos fundamentales principales: ácido acético, shikímico y mevalónico.

### c. Alcaloides

Son compuestos fisiológicamente activos, son muy heterogéneos, su característica principal es que posee nitrógeno, además de ello los alcaloides provienen de los aminoácidos, por ejemplo la Efedrina cuyo precursor es la Lisina, la Nicotina cuyo precursor es la Ornitina, Bencil Iso Quinoleina cuyo precursor es la Pirosina, de aquí se deduce que hay varias rutas que nos llevan a los alcaloides es por ello que los alcaloides son estudiados por grupos.

Los alcaloides desde el punto de vista elemental se dividen en ternarios y cuaternarios (véase la tabla N° 2.8, en la página 53).

“Los alcaloides constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios de plantas. Se encuentran en las semillas, raíces, cortezas y hojas; al estado libre o como glicósidos o formando sales con ácidos orgánicos” (Lock, 1994:211).

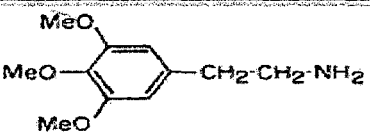
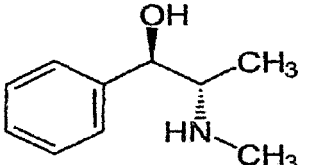
**TABLA N° 2.8**  
**DIVISIÓN DE LOS ALCALOIDES**

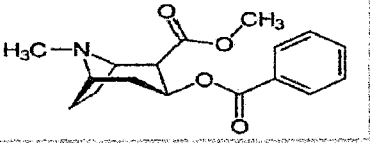
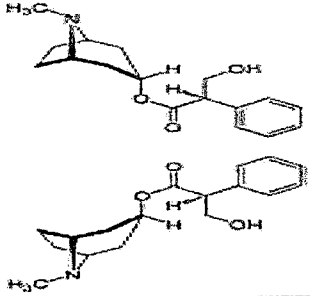
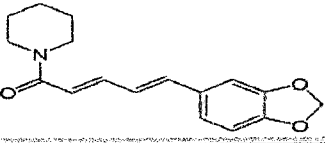
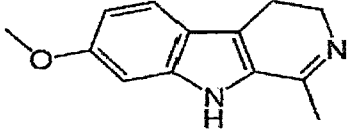
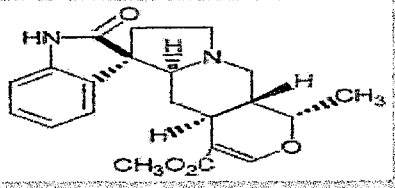
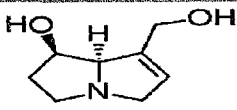
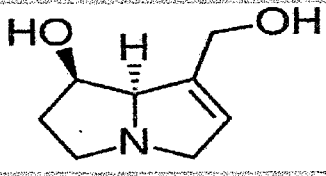
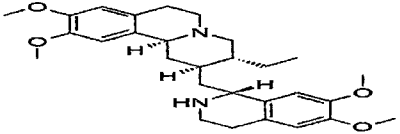
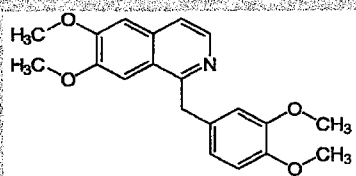
TIPO	DESCRIPCION
Ternarios C-H-N	<ul style="list-style-type: none"> <li>- No oxigenados, líquidos, olorosa, volátiles.</li> <li>- Arrastrables por el vapor de agua, bastante solubles en agua.</li> <li>- Se pueden separar de la planta o analizar por su volatilidad a diferencia de los otros, por ejemplo la nicotina y la cicutina.</li> </ul>
Cuaternarios C-H-O-N	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Son sólidos, cristalizables, insolubles.</li> <li>- Fijos, es decir no arrastrables por el vapor de agua.</li> <li>- La mayoría de los alcaloides son oxigenados.</li> </ul>

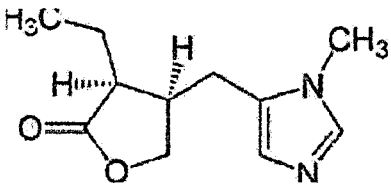
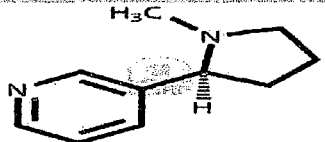
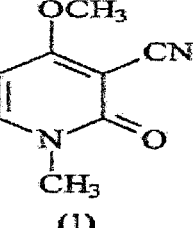
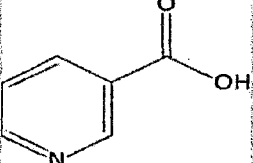
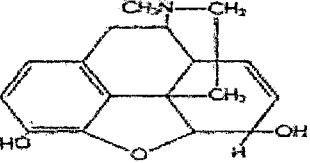
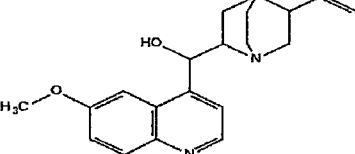
Fuente: Fitoquímica, Química Agrícola (Paiva, 1964). Consultada el 21-06-12.  
(Mejorado por los autores de tesis).

La clasificación según tipos de alcaloides se observa en el siguiente cuadro (véase la tabla N° 2.9).

**TABLA N° 2.9**  
**TIPOS DE ALCALOIDES**

TIPO	NOMBRE	ESTRUCTURA
Feniletilamínicos	Mescalina	
	Efedrina	

Pirrolidínicos, Piperídínico, del Tropano	Cocaína	
	Atropina	
	Piperina	
Indólicos	Harmalina	
	Mitrafilina	
Pirrolizidínicos	Retronecina	
	Platinecina	
Izoquinolínicos	Emetina	
	Papaverina	

Imidazólicos	Pilocarpina	
	Nicotina	
Piridínicos	Ricinina	 (1)
	Ac. Nicotínico	
Morfinícos	Morfina	
Quinolínicos	Quinina	

Fuente: Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. (Olga Lock ,1994), Consultada el 03-06-12. (Mejorado por los autores de tesis).

Los alcaloides presentan diferentes acciones farmacológicas (véase la tabla N° 2.10, en la página 56).

**TABLA N° 2.10**  
**ACCIÓN FARMACOLÓGICA DE LOS ALCALOIDES**

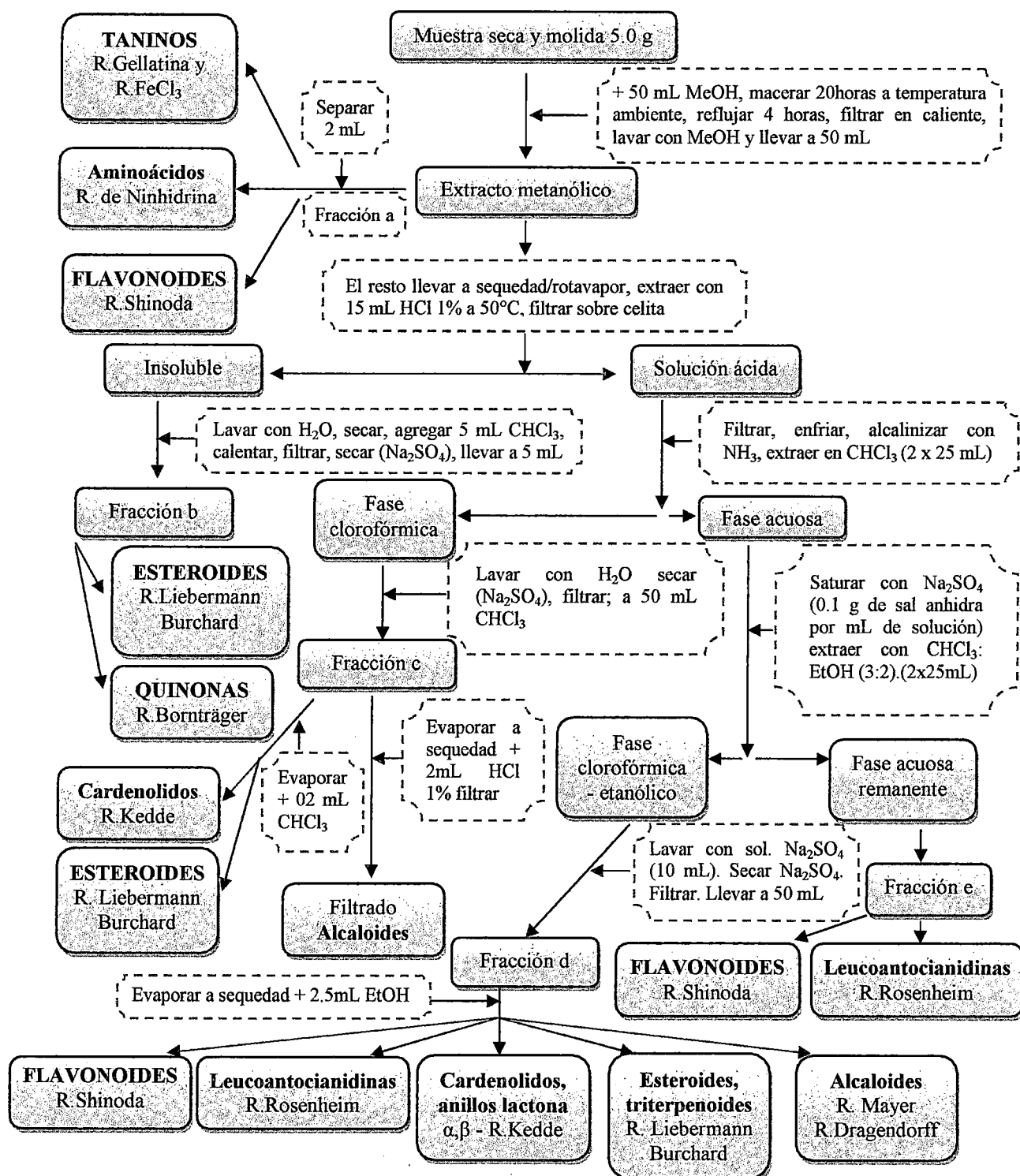
<b>ALCALOIDES</b>	<b>ACCIÓN FISIOLÓGICA</b>
Atropina	Antiespasmódico, estimulante, analgésico.
Cocaína	Estimulante, analgésico local, sedante.
Codeína	Analgésico, sedante, hipnótico.
Emetina	Emético, expectorante, antipirético, amebicida.
Escopolamina	Hipnótico, sedante.
Esparteína	Estimulante cardiaco, diurético.
Hiosciamina	Hipnótico, sedante cerebral, midriático.
Morfina	Narcótico, sedante hipnótico, analgésico.
Quinina	Tónico, emenagogo, antiséptico, antipirético.
Efedrina	Vasoconstrictor, asma, insuficiencia circulatoria.
Papaverina	Relajante muscular.
Lobelina	Expectorante, emético, estimulante respiratorio.
Reserpina	Control de la presión alta de las sangre.
Tubocurarina	Relajante muscular.

Fuente: Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. (Olga Lock, 1994), Consultada el 03-06-12. (Mejorado por los autores de tesis).

## 2.2.14 Marcha fitoquímica preliminar

FIGURA N° 2.12

### MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR



Fuente: Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales.

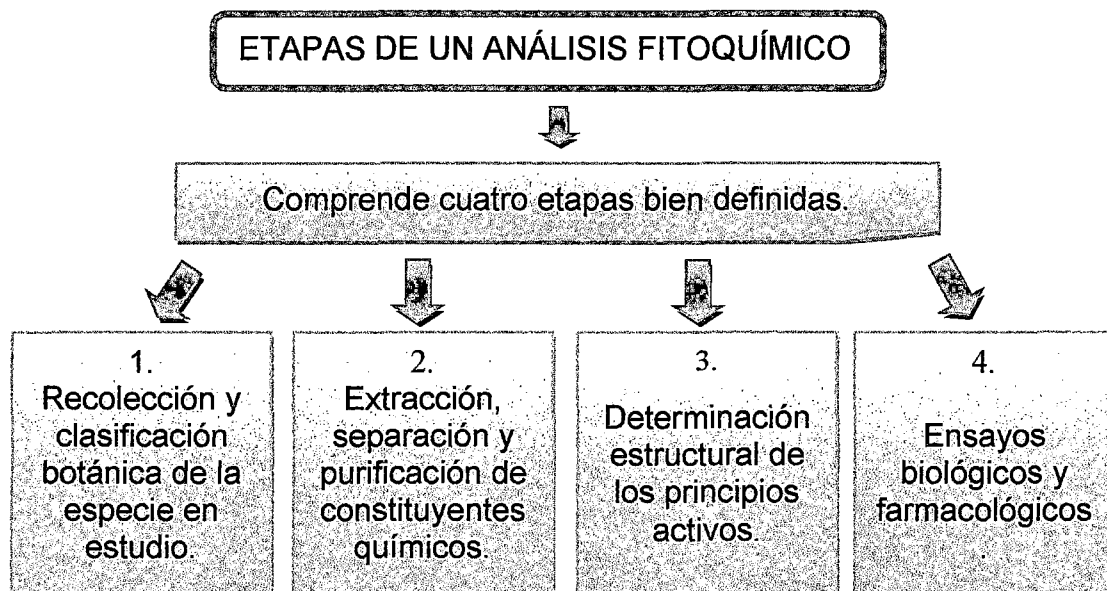
(Olga Lock, 1994), Consultada el 03-06-12.

“Se han desarrollado una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos en las plantas, basados en la extracción de estos con solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración” (Lock, 1994:3) (véase la figura N° 2.12, en la página 57).

### 2.2.15 Análisis fitoquímico

El análisis fitoquímico permite identificar plantas con importante actividad biológica, como en el caso de plantas medicinales, consta de cuatro etapas (véase la figura N° 2.13).

FIGURA N° 2.13  
ANÁLISIS FITOQUÍMICO



Fuente: Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales. (Olga Lock, 1994). Consultada el 15-06-12. (Mejorado por los autores de tesis).

**2.2.16 Técnicas generales a aplicar en un análisis  
fitoquímico (véase la tabla N° 2.11)**

**TABLA N° 2.11  
TÉCNICAS EN UN ANÁLISIS FITOQUÍMICO**

<b>PASOS</b>	<b>OPERACIÓN</b>	<b>MÉTODO</b>
1°	Selección de la planta	Investigación tanto oral como escrita.
2°	Recolección de la planta	La recolección se hace teniendo nociones generales de anatomía vegetal.
3°	Acondicionamiento de la planta	Tanto la conservación como el almacenamiento deben ser adecuados para obtener buenos resultados.
4°	Preparación de la muestra	La preparación depende de la forma de extracción que se le va a dar.
5°	Extracción de las sustancias en estudio	Maceración, percolación (con los solventes adecuados) arrastre de vapor, etc. para luego ser filtrados.
6°	Separación y purificación de los componentes	Uso de técnicas de cromatografía.
7°	Determinación de los componentes activos (Metabolitos Secundarios)	Uso de espectrometría, Rayos X, reacciones de coloración, reacciones de precipitación y propiedades físicas.
8°	Utilización de la planta para fines adecuados	Realización de diferentes formulaciones según los componentes activos (metabolitos secundarios) encontrados.

Fuente: Recursos Botánicos con Potencial Biocida: Conceptos Básicos y Métodos de Análisis. (Reinhart Hoss, 1999). Consultada el 15-06-12. (Mejorado por los autores de tesis).



Preparación de la muestra:

- Molienda:

La Farmacopea Brasileña clasifica los polvos en 5 tipos (véase la tabla N° 2.12)

**TABLA N° 2.12**  
**CLASIFICACIÓN DE LOS POLVOS (FARMACOPEA BRASILEÑA)**

TIPO DE POLVO	NUMERO DE TAMIZ (SERIE TYLER)	
	AL 100%	AL 40%
Grueso	10	44
Moderadamente grueso	22	60
Semi-Fino	44	85
Fino	85	---
Finísimo	120	---

Fuente: Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos (Nikolai Sharapin ,2000), Consultada el 19-07-12. (Mejorado por los Autores de Tesis).

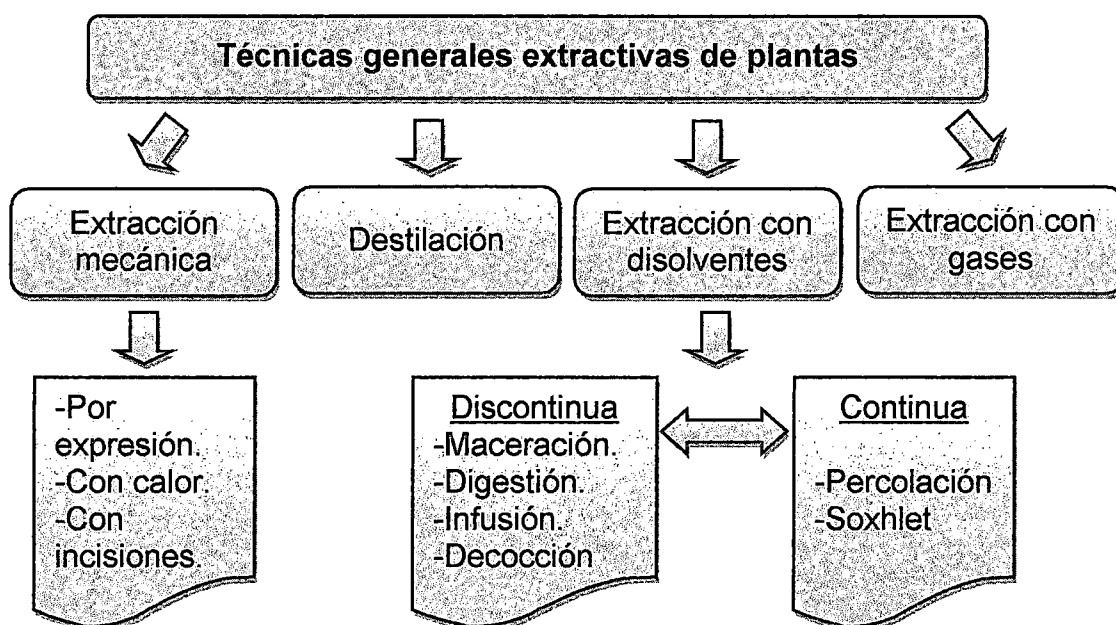
En cuanto a la molienda, los molinos de cuchillas son los más indicados para la mayoría de las drogas vegetales como hojas, ramas, cortezas y raíces, la otra opción es el molino de discos (Sharapin, 2000:31).

### **2.2.17 Técnicas generales de obtención de extractos vegetales**

Un extracto vegetal es una mezcla compleja de principios activos. Pueden ser líquido, semisólido o en polvo y se puede obtener por procesos físicos, químicos y/o microbiológicos, a partir

de una fuente vegetal y utilizable en cualquier campo de la tecnología. Se realiza el proceso extractivo con el fin de aislar los principios activos directamente a partir de la droga (Kuklinski, 2003:32) (véase la figura N° 2.14).

**FIGURA N° 2.14**  
**TÉCNICAS GENERALES EXTRACTIVAS DE PLANTAS**



Fuente: Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural. (Claudia Kuklinski, 2003), Consultada el 16-06-12. (Mejorado por los autores de tesis).

**a. Extracción con disolventes:**

Consiste en poner en contacto la droga con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben pasar la droga al disolvente de manera que se obtenga un

extracto líquido. Posteriormente dicho extracto se puede concentrar eliminando mayor o menor cantidad de disolvente.

“La extracción con disolventes es uno de los métodos que se emplea con más frecuencia para la obtención de principios activos” (Kuklinski, 2003:33).

Normalmente se usa un solvente de naturaleza general, de alta polaridad como el alcohol etílico o el metanol, o se emplea un solvente selectivo de menor polaridad como el hexano, que solo extrae de las plantas grasas vegetales y otros componentes apolares (Sharapin, 2000:35).

La materia prima vegetal en la industria de fitofármacos está representada en la mayoría de las ocasiones, por la droga seca, de esta manera cuando la droga se pone en contacto con el solvente, se inicia un proceso opuesto al proceso de secado que tiende a reconstruir el estado original de la célula. Inicialmente el solvente penetra en la célula vegetal y desprende el aire contenido en el citoplasma, dándose inicio de esta forma al proceso extractivo. La penetración del solvente en la célula induce un momento dipolar en las moléculas de los compuestos que van a ser extraídos. Es de esta manera como las sustancias extraíbles se adhieren a las moléculas

del solvente. La capacidad de asociación puede expresarse en términos de la constante dieléctrica ( $\epsilon$ ). Cuanto más polar sea un solvente, mayor será su respectiva constante dieléctrica. Compuestos ionizables y/o altamente polares se disuelven en solventes de elevada constante dieléctrica. En el anexo 3 se encuentran diversos solventes y sus respectivas constantes dieléctricas.

La capacidad de una mezcla de solventes de inducir un momento dipolar puede ser calculada. La constante dieléctrica del sistema depende de la constante de cada uno de ellos y su respectivo porcentaje en la mezcla. Siendo así, se puede calcular la constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) del sistema a través de la formula:

$$(\epsilon) \text{ del sistema} = \frac{\epsilon_A \times \%A + \epsilon_B \times \%B + \dots + \epsilon_n \times \%n}{100}$$

Donde A, B, C..., n; son los componentes del sistema.

Entre los solventes generales, los más utilizados son los alcoholes alifáticos de hasta 3 carbonos o mezclas de estos con el agua. Debido a su poder extractivo, estos solventes son los indicados para los casos en que los constituyentes activos de las plantas no son bien conocidos, siendo necesario agotar completamente la droga. "El alcohol etílico y sus mezclas con agua

es el solvente por excelencia para la obtención de extractos".  
(Sharapin, 2000:40).

Se establece la relación solvente agua, para el caso que no existan estudios específicos (véase la tabla N° 2.13).

**TABLA N° 2.13**  
**PROPORCIÓN ETANOL-AGUA PARA EXTRACCIÓN**

<b>PLANTA SIN ESTUDIO ESPECIFICO</b>	<b>RELACIÓN ETANOL/AGUA</b>
Partes leñosas de las plantas, raíces y semillas	7/3 o 8/2
Hojas o partes aéreas verdes	1/1

Fuente: Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. (Nikolai Sharapin, 2000), consultado el 24-07-12. (Mejorado por los autores de tesis).

**a.1 Extracción discontinua o simultánea:**

A la operación en virtud de la cual se disuelve un cuerpo en un líquido cualquiera, se le dan diferentes nombres según la temperatura en la que ha sido hecha. Se le llama maceración cuando se hizo en frío, digestión cuando la temperatura es más elevada que la atmosfera y menos que la ebullición del líquido, infusión cuando se echa el líquido hirviendo sobre la substancia que se sujeta a su acción y decocción cuando hierve la sustancia en el líquido (Nysten, 1818: 475).

### a.1.1 Maceración:

“Los protocolos de extracción a través de la maceración varían de acuerdo al material vegetal, los compuestos a analizar y los solventes a usar” (Hoss, 1999: 41).

Los elementos comunes son los siguientes: la maceración se lleva a cabo en un recipiente cerrado a temperatura ambiente, con material vegetal previamente secado; el tiempo de reposo es de tres a diez días los solventes usados son agua (destilada), alcoholes o mezclas hidroalcohólicas; la relación cuantitativa entre la muestra y el solvente varía entre 0.05g y 100g Muestra/L. Siendo los solventes más usados en las industrias de productos fitoterapéuticos el agua, el alcohol etílico, y mezclas de estos.

La gran desventaja del proceso de maceración es la lentitud y el hecho de no ser posible alcanzar la extracción completa de la droga. “Para disminuir pérdidas del extracto en el residuo, se debe repetir el proceso 2 o 3 veces después de haber escurrido el solvente de la extracción anterior” (Sharapin, 2000:42).

## **2.2.18 Técnicas generales de separación de componentes**

### **activos:**

#### **a. Cromatografía:**

Esta consiste en la separación de una mezcla de dos o más compuestos por distribución entre dos fases, siendo una estacionaria y la otra una fase móvil. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes. A continuación se detallan cada uno de los tres componentes del proceso cromatográfico:

#### **a.1 Fase estacionaria:**

De acuerdo a las características de las interacciones entre las dos fases y los analitos a separar, se puede definir cuatro categorías de la cromatografía: filtración de geles en relación al tamaño molecular, intercambio iónico en relación a la carga positiva/negativa, afinidad específica entre la superficie sólida y el analito y cromatografía de adsorción.

En el caso del presente estudio la mayoría de las sustancias naturales poseen varios grupos funcionales específicos, por lo que las técnicas de cromatografía de adsorción son las más usadas.

La polaridad de las dos fases es el criterio fundamental para la definición de los diferentes tipos de la cromatografía: la de fase normal (NP), y la de fase reversa (RP). La cromatografía NP se caracteriza por una fase estacionaria de naturaleza fuertemente polar, usando silicagel como material; la fase móvil está caracterizada por eluyentes apolares, por tanto analitos polares quedan retenidos más tiempo que los menos polares. La cromatografía RP usa silicagel modificado (hidrocarburos largos C-18, C-8), para establecer condiciones lipofílicas en la fase sólida y eluir con solventes relativamente polares, analitos menos polares serán más retenidos.

#### **a.2 Fase móvil:**

La composición de la fase móvil, determina las condiciones cromatográficas del sistema de separación, de acuerdo a la polaridad de los eluyentes se ha establecido la siguiente relación de solventes (véase la tabla N° 2.14, en la página 68).



**TABLA N° 2.14**  
**POLARIDAD DE SOLVENTES**

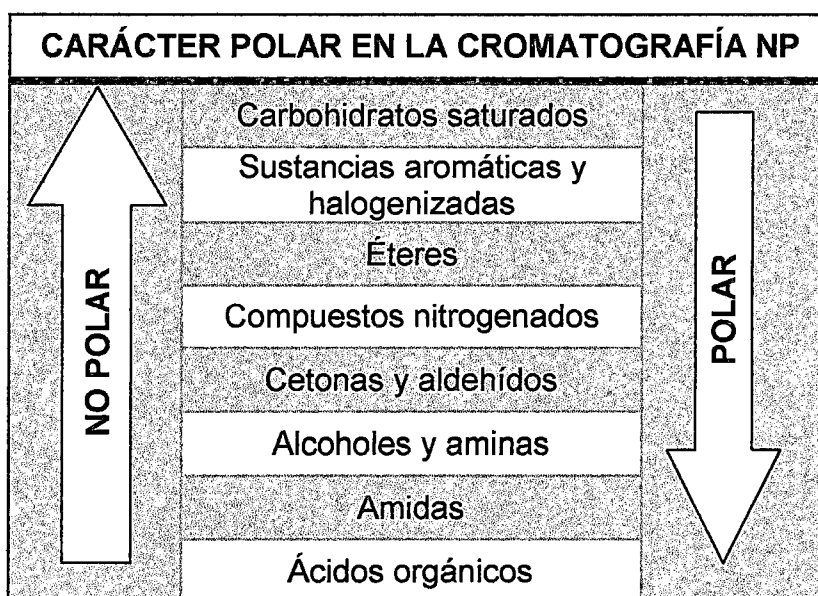
POLARIDAD DE SOLVENTES		
<p style="text-align: center;">↑</p> <p style="text-align: center;"><b>NP</b></p> <p style="text-align: center;">↑</p> <p style="text-align: center;"><b>FASE NORMAL</b></p>	Agua	<p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><b>RP</b></p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p style="text-align: center;"><b>FASE REVERSA</b></p>
	Metanol	
	Etanol	
	Acetonitrilo	
	Acetato de etilo	
	Cloroformo	
	Dietiléter	
	Benzeno	
	Ciclo-hexano	
	Éter de petróleo	
	n-hexano	

Fuente: Recursos Botánicos con Potencial Biocida: Concepto Básicos y Métodos de Análisis, (Reinhart Hoss, 1999), consultada el 24-08-12. (Mejorado por los autores de tesis).

**a. Los analitos:**

Estos interactúan con las fases estacionarias y móviles de acuerdo a sus características se retienen en menor o mayor grado en una de las dos fases. Refiriéndose a la cromatografía NP, la presencia y ubicación de los diferentes grupos funcionales determina el carácter polar de las sustancias naturales en la siguiente relación (véase la tabla N° 2.15, en la página 69).

**TABLA N° 2.15**  
**CARÁCTER POLAR EN LA CROMATOGRAFÍA NP**



Fuente: Recursos Botánicos con Potencial Biocida: Concepto Básicos y Métodos de Análisis, (Reinhart Hoss, 1999), consultada el 24-08-12. (Mejorado por los autores de tesis).

### 2.2.19 Cromatografía en capa fina o delgada(CCD)

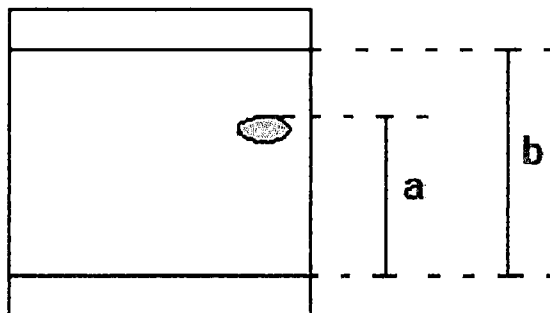
“Consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana” (Sharapin, 2000:161).

Permite desarrollar el fraccionamiento en un periodo de tiempo mucho menor que la cromatografía sobre papel. “Una razón de esto es el tamaño tan fino de las partículas que constituyen los medios

empleados, por los que se consiguen mejores resoluciones y manchas más compactas” (Abbott y Otros., 1970:49). Para fines de estudio la CCD, tiene amplia aplicación por su capacidad de detectar sustancias biológicamente activas directamente en el sistema cromatográfico (Hoss, 1999:20).

El factor que describe cuantitativamente la relación entre el desplazamiento de los analitos y el avance del solvente es la retención ( $R_f$ ) (véase la figura N° 2.15).

**Figura N° 2.15**  
**Factor  $R_f$**



Fuente: Recursos Botánicos con Potencial Biocida (Hoss, 1999)

Donde:

a = distancia entre la zona de aplicación y la zona de acumulación.

b = distancia entre la zona de aplicación y el frente del solvente.

$$R_f = a/b$$

El valor  $R_f$  que oscila entre 0.0 (sustancia no se mueve de la zona de aplicación) hasta 1.0 (sustancia corre hasta el frente del

solvente) es específico para cada sustancia bajo condiciones cromatográficas definidas, y permite la comparación de cromatogramas de diferentes tamaños desarrollados en el mismo ambiente cromatográfico (fase estacionaria y móvil).

### **2.2.20 Técnicas generales de identificación de componentes activos:**

Entre las técnicas para identificar los componentes activos, encontramos la espectrometría, rayos X y reacciones de coloración.

#### ➤ Reacciones de coloración:

Las reacciones de coloración se darán por medio de agentes cromogénicos con el cual se podrá identificar los metabolitos secundarios presentes en la muestra, cada tipo de muestra estará acondicionada según el agente cromogénico a utilizar.

### **2.2.21 Definición de términos básicos**

- 1. Acetil coenzima A:** Es un compuesto intermediario clave en el metabolismo, que consta de un grupo acetilo, de dos carbonos, unido de manera covalente a la coenzima A.

2. **Ácido mevalónico:** Es un precursor en la ruta biosintética conocida como la vía mevalonate que produce terpenos y esteroides
3. **Ácido shikímico:** Intermediario bioquímico importante en plantas y microorganismos, para la biosíntesis de metabolitos secundarios. Su nombre deriva de la flor de shikimi japonés (*Illicium anisatum*), fuente natural del cual fue extraído por primera vez.
4. **Adsorbente:** Acción de adsorber mediante un proceso por el cual átomos, iones o moléculas son atrapadas o retenidas.
5. **Análisis Fitoquímico:** Es el aislamiento de principios activos responsables de una determinada actividad.
6. **Antibacterial:** Es un compuesto o sustancia que mata o se ralentiza el crecimiento de bacterias.
7. **Antibióticos:** Es una sustancia química producida por un ser vivo o derivada sintética de ella que mata o impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles, generalmente bacterias.

8. **Biosintético:** Que requiere de un organismo vivo para producirlo.
9. **Cromatografía:** Es un método físico o de separación para la caracterización de mezclas complejas.
10. **Droga:** Es todo material de origen natural ya sea en bruto (por ejemplo, las hojas, la corteza) u obtenido por sencillas operaciones (por ejemplo, los extractos) que contiene los principios activos con actividad farmacológica para su uso directo o para la elaboración de medicamentos.
11. **Farmacognosia:** Es la ciencia que se ocupa del estudio de las drogas y las sustancias medicamentosas de origen natural: vegetal, microbiano (hongo, bacterias) y animal.
12. **Glicólisis:** Es la vía metabólica encargada de oxidar la glucosa con la finalidad de obtener energía para la célula.
13. **Papel Whatman:** Es un papel de filtro que se aplica a análisis químicos en muestras que requieren una alta calidad de filtración.

- 14. Principios activos:** Sustancia o grupo de sustancias químicamente caracterizadas, cuya acción farmacológica es conocida, siendo la responsable total o parcialmente de los efectos terapéuticos de los productos fitoterapéuticos.
- 15. Silicagel:** El gel de sílice o ácido silícico es uno de los más utilizados en cromatografía, es débilmente ácido, su pH oscila entre 4-5. Con lo cual no se deberá utilizar con sustancias que se corrompan con los ácidos.

## **CAPITULO III**

### **DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Tipo y diseño de la investigación**

##### **3.1.1 Tipo de investigación**

La investigación fue del tipo aplicada (La Investigación aplicada es la utilización de los conocimientos en la práctica, para aplicarlos, en la mayoría de los casos, en provecho de la sociedad. Un ejemplo son los protocolos de investigación clínica).

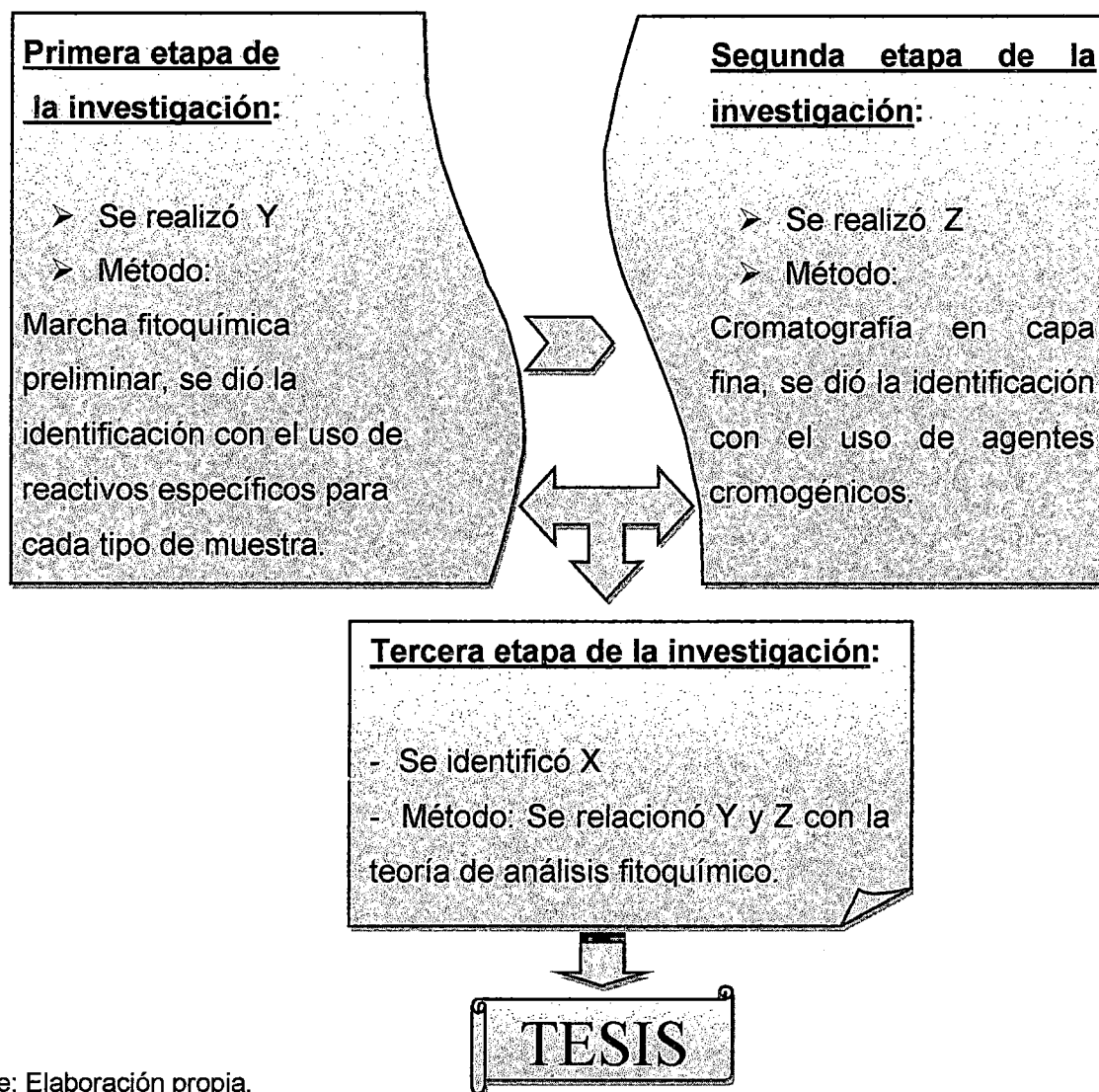
##### **3.1.2 Diseño de la investigación**

- a)** El diseño de la investigación que se realizó fue de tipo experimental, es decir no se limitó a observar los acontecimientos sino a intervenir en los mismos.
  
- b)** El diseño que se consideró para la investigación mostró tres momentos (véase la figura N° 3.1, en la página 76).

Este diseño estuvo comprendido por las variables de investigación con sus respectivos métodos.



**FIGURA 3.1**  
**DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**



Fuente: Elaboración propia.

Relación de variables:  $X=f(Y, Z)$

**X:** Metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).

**Y:** Identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).

**Z:** Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).

### 3.2 Unidad de análisis

El objeto de la investigación fue identificar cualitativamente los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla, éste se logró mediante:

- **Marcha Fitoquímica Preliminar:** se dio una identificación previa de los tipos de metabolitos secundarios presentes en la planta cucharilla donde las reacciones de coloración y/o de precipitación fueron el punto de análisis.
- **Análisis Fitoquímico:** se realizó la maceración estática, filtración, evaporación del solvente, separación de metabolitos secundarios con el uso de la cromatografía de capa fina y la identificación de componentes activos, donde el punto de análisis fueron las reacciones de coloración.

La segunda etapa dependió de la primera ya que el análisis fitoquímico se realizó para aquellos resultados que arrojaron positivo en la marcha fitoquímica preliminar de esta manera se logró determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en la planta cucharilla.

### **3.3 Escenario o sede del estudio**

El análisis fitoquímico que se realizó fue llevado a cabo en la Universidad Nacional del Callao (Facultad de Ingeniería Química), ubicado en Av. Juan Pablo II 306, Bellavista Callao

#### **3.3.1 Laboratorio Química General**

Acondicionamiento (secado) y Preparación (molienda).

#### **3.3.2 Laboratorio de Operaciones y Procesos Unitarios**

Preparación (tamizado).

#### **3.3.3 Laboratorio Química Orgánica**

Marcha fitoquímica preliminar, extracción (maceración y filtración), separación (cromatografía) e identificación (reactivos de coloración).

#### **3.3.4 Centro Experimental Tecnológico**

Parte de la extracción (evaporación del solvente).

## **3.4 Participantes o sujetos de estudio**

### **3.4.1 Aspectos Generales**

- Número de ramas colectadas : 15
- Número de flores colectadas : 23
- Fecha : 9 de junio del 2012
- Hora de recolección : 7:00 – 8:00 de la mañana

### **3.4.2 Localidad**

- País : Perú
- Departamento : Cajamarca
- Provincia : Cajabamba
- Distrito : Cachachi
- Cooperativa : Sunchubamba
- Altitud : 3650 m.s.n.m.
- Latitud : Entre los paralelos  
7° 30' y 7°45' de latitud sur.
- Longitud : Entre los meridianos  
78°16'01.1de longitud  
Oeste de Greenwich.

### 3.4.3 Aspectos Ecológicos

- Abundancia : Escaso, con facilidad de rebrote.
- Hábitat : Suelo rocoso entre los 1000 y 4000 m.s.n.m.

### 3.4.4 Datos sobre la planta

- Forma de vida : Arbusto
- Altura de la planta : 6 – 7m
- Diámetro del tallo : 5 – 10cm
- Color de las flores : Inflorescencia blanco – amarillo, con algunas manchas violetas.
- Observaciones adicionales : Olor suave característico. tallo y rama relativamente dura.

### 3.4.5 Otros:

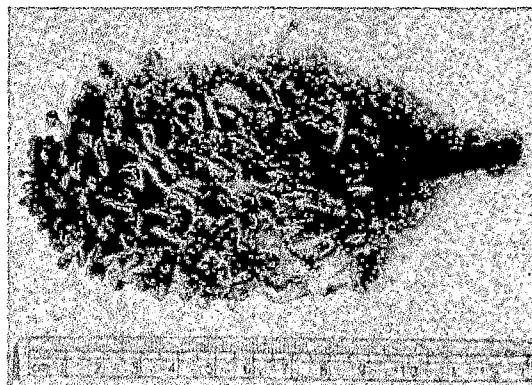
- Nombre vulgar : Cucharilla (más conocido)

- Aplicación medicinal : Se usa para tratar afección de vías urinarias, regulación del flujo menstrual, desinflamación del hígado y riñones, fiebre, tos y resfrió entre otros.
- Otros usos comunes : Para hacer cestas, y la semilla lo usan para cucharitas de madera, gracias a la dureza que esta presenta.

#### 3.4.6 Dimensiones de la flor y hoja:

- Dimensión aproximada de la flor de la cucharilla: 10-18cm (véase la figura N° 3.2)

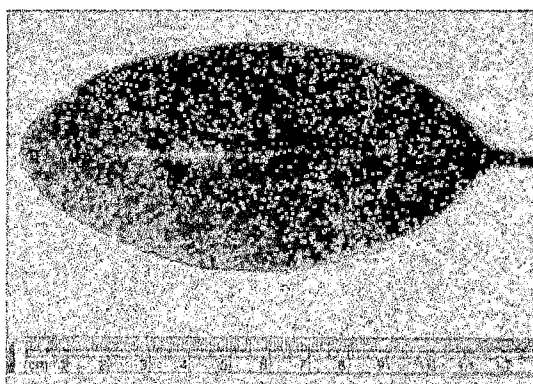
**FIGURA N° 3.2**  
**DIMENSION DE LA FLOR**



Fuente: Elaboración propia.

- Dimensión aproximada de la hoja de la cucharilla: 10-20cm (véase la figura N° 3.3)

**FIGURA N° 3.3**  
**ANÁLISIS FITOQUÍMICO**



Fuente: Elaboración propia.

### **3.5 Técnicas e instrumentos para la recolección de la información**

#### **3.5.1 Técnicas:**

Tanto en la primera como en la segunda etapa de la investigación se hizo uso de referenciales y consultas para tener la información necesaria.

#### **3.5.2 Instrumentos:**

Para el caso de las consultas, se utilizó preguntas relacionados al temas, con esto se analizó y se concluyó la toma de decisiones del trabajo de tesis.

### **3.5.3 Recolección de datos:**

- Los datos que se extraigan de la teoría fueron guardados y almacenados en un dispositivo (USB), mientras que las consultas fueron transcritas y anexadas para la realización de los análisis.

## **3.6 Plan de trabajo de campo**

### **3.6.1 Materiales, equipos y reactivos**

#### **a. Materiales y equipos**

- Balanza
- Baño maría
- Cámara cromatográfica
- Estufa eléctrica
- Lámpara de luz ultra violeta (onda corta y onda larga)
- Matraz de 250mL
- Papel de filtro
- Placas de cromatografía de capa fina
- Rotavapor
- Tamices #20 - #80



- Termo-higrómetro

**b. Reactivos**

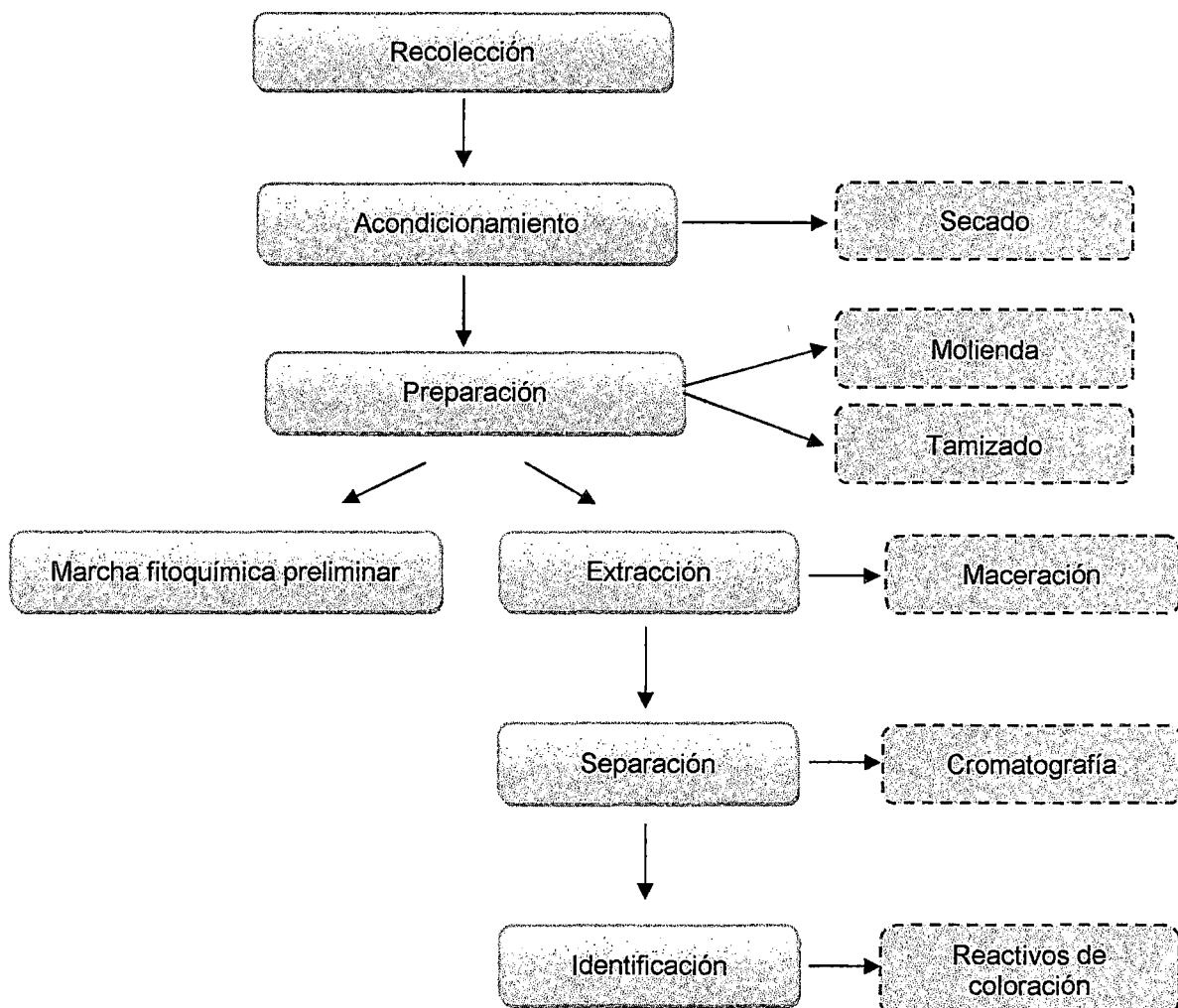
- Acetato de etilo
- Acetato de plomo básico
- Acetona
- Ácido acético glacial
- Ácido clorhídrico
- Ácido fórmico
- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Alcohol amílico
- Amoníaco
- Carbonato de sodio
- Cloroformo
- Cloruro de aluminio
- Dietilamina
- Etanol 96%
- Hidróxido de sodio
- Magnesio metálico
- Metanol
- n-butanol

- Ninhidrina
- Piridina
- Tolueno
- Vainillina
- Reactivo Baljet
- Reactivo Borntrager
- Reactivo Cloruro férrico
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Kedde
- Reactivo Liberman-Buchard
- Reactivo Mayer
- Reactivo Shinoda
- Reactivo Sudan III
- Reactivo Wagner

### **3.6.2 Método:**

Se resumen las etapas generales para la identificación de metabolitos secundarios de la planta nativa cucharilla realizados para las flores, hojas y ramas (véase la figura N° 3.4 en la página 85).

**FIGURA N° 3.4**  
**ANÁLISIS FITOQUÍMICO**



Fuente: Elaboración propia.

**a. Recolección**

La cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) fue recolectada en Cajabamba, provincia de Cajamarca. Para la recolección de la planta se tuvieron en cuenta algunas recomendaciones.

- Se evitó recoger en días de lluvia, nevado, o cuando el medio ambiente estuvo húmedo. El mejor momento para la recolección fueron las primeras horas de la mañana, de 5 a 8 am.
  
- La edad de los vegetales influye de una manera particular en la composición de su contenido en complejos biológicos activos por ello se cosechó:
  - Las hojas al inicio de la floración (véase la figura N° 3.5).
  - Las flores al momento de su máxima maduración (véase la figura N° 3.6, en la página 88).

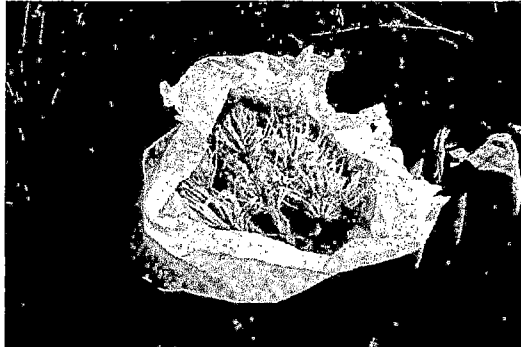
La temperatura y la humedad relativa fueron medidas con un THERMO-HYGROMETER, modelo 303C.

**FIGURA N° 3.5**  
**HOJAS Y RAMAS RECOLECTADAS**



Fuente: Elaboración propia.

**FIGURA N° 3.6**  
**FLORES RECOLECTADAS**



Fuente: Elaboración propia.

La materia prima vegetal recolectada se pesó en una Balanza mecánica (CAVORY, modelo Kitchen Scale), luego de esto se revisó y se separó aquellas que estaban dañadas, después se clasificó entre ramas con hojas y flores.

Al recolectar la muestra, esta no fue lavada y se llevo directamente al proceso de secado; ya que “si el lavado con agua retira de la droga la tierra y la arena adherida puede retirar también parte de los principios activos y, aumenta el tiempo para ser secado”(Sharapin, 2000: 24).

“El lavado con hipoclorito reduce la carga microbiano sin embargo como el hipoclorito es oxidante, existe el riesgo de oxidar los principios activos” (Sharapin, 2000: 24).

**b. Acondicionamiento**

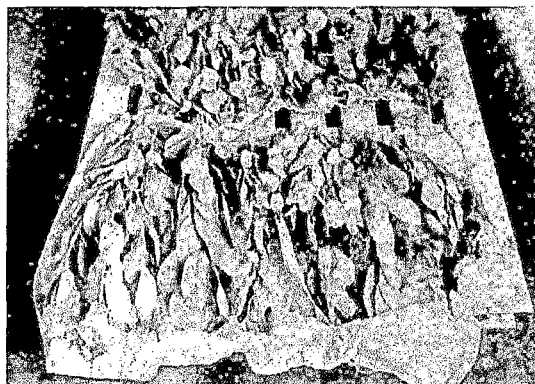
Para el acondicionamiento de la planta se tuvo en cuenta el secado, conservación y almacenamiento. Estas técnicas se detallan a continuación:

➤ **Secado:** Se procedió con dos tipos de secado

- **Primera etapa del secado:**

Las muestras fueron secadas en su hábitat natural (véase la figura N° 3.5 A-B, en la página 90) por 4 días, al aire libre, bajo sombra y lejos de contaminantes que pueden ocasionar daños irreversibles en las mismas, en este proceso se perdió un 30% de humedad.

**FIGURA N° 3.7A**  
**SECADO DE HOJAS-HABITAT NATURAL**



Fuente: Elaboración propia.

**FIGURA N° 3.7B**  
**SECADO DE FLORES-HÁBITAT NATURAL**



Fuente: Elaboración propia.

Luego fueron secadas en una incubadora casera (véase la figura N° 3.8), en el que se alcanzó una HR=23%(THERMO HIGROMETER, modelo 303C), con una temperatura de 45°C, de esta manera se trato de conservar la muestra, evitando su deterioro.

**FIGURA N° 3.8**  
**SECADO DE HOJAS-INCUBADORA CASERA**

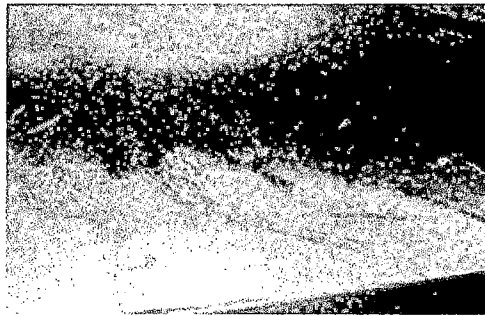


Fuente: Elaboración propia.

- Segunda etapa del secado:

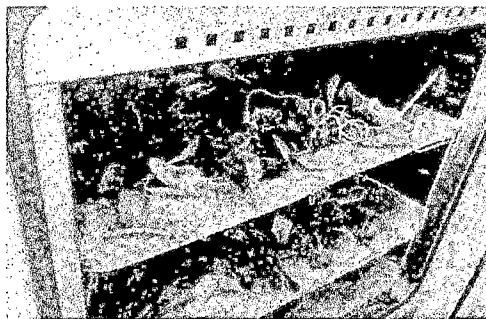
Para el secado de las muestras se utilizó la estufa eléctrica (véase la figura N° 3.7 A-B-C, en la página 91).

**FIGURA N° 3.9A**  
**SECADO DE FLORES-ESTUFA ELÉCTRICA**



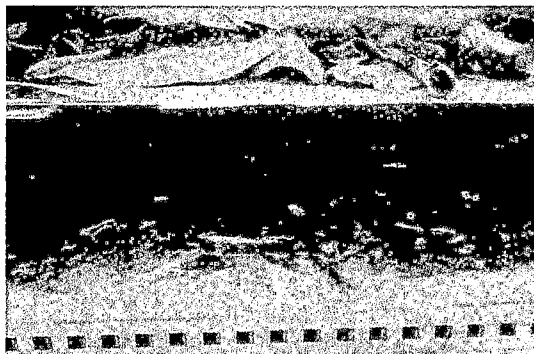
Fuente: Elaboración propia.

**FIGURA N° 3.9B**  
**SECADO DE HOJAS-ESTUFA ELÉCTRICA**



Fuente: Elaboración propia.

**FIGURA N° 3.9C**  
**SECADO DE RAMAS-ESTUFA ELÉCTRICA**



Fuente: Elaboración propia.



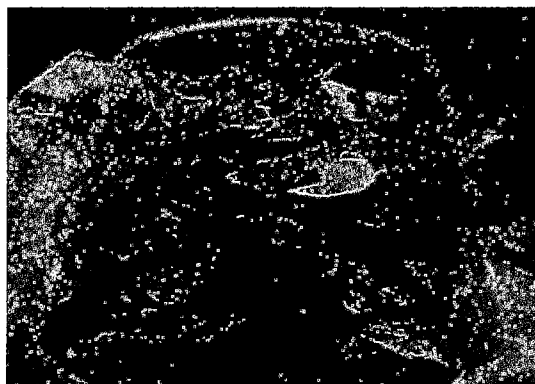
➤ **Almacenamiento y Conservación:**

Luego del secado, la muestra fue almacenada en bolsas de sobre manila y en papel craf, de esta manera se evitó la acción de polvo, calor, humedad, microbios y roedores. El objetivo de la conservación fue el de mantener las características físicas, químicas, organolépticas y farmacológicas de la droga vegetal.

**c. Preparación de la muestra**

Antes de proceder a extraer las sustancias investigadas, se separó manualmente los nervios centrales y los peciolos (como se observa en la figura N° 3.10) para quedar con los tejidos de alto contenido en sustancias secundarias.

**FIGURA N° 3.10**  
**SEPARACIÓN DE NERVIOS CENTRALES Y PECIOLOS-HOJAS**

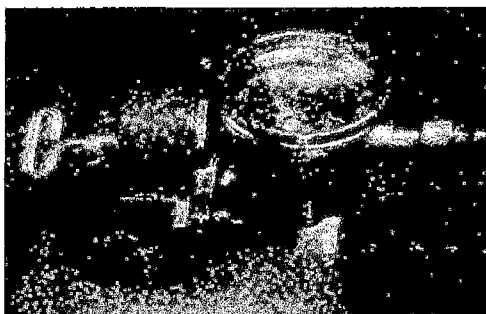


Fuente: Elaboración propia.

➤ Molienda:

Para nuestro caso se utilizó el molino de discos por ser más comercial y estar al alcance (véase la figura N° 3.11). Las muestras fueron molidas hasta conseguir un polvo clasificado como moderadamente grueso o semi-fino.

**FIGURA N° 3.11**  
**MOLINO DE DISCOS**



Fuente: Elaboración propia.

Las muestras molidas fueron almacenadas en frascos de vidrio debidamente cerrados, para el posterior tamizaje (véase la figura N° 3.12).

**FIGURA N° 3.12**  
**ALMACENAJE DE MUESTRAS MOLIDAS**

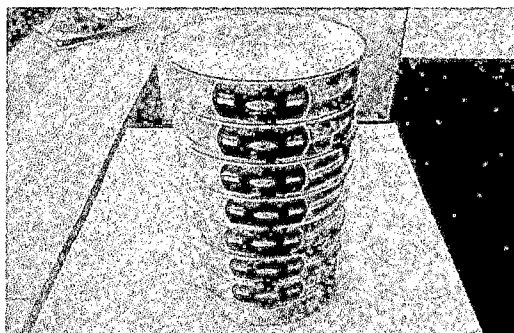


Fuente: Elaboración propia.

➤ Tamizado:

Luego las muestras molidas se tamizaron en un juego de tamices comprendidos entre tamices número 10 y 100 (véase la figura N° 3.13); con base para el desperdicio.

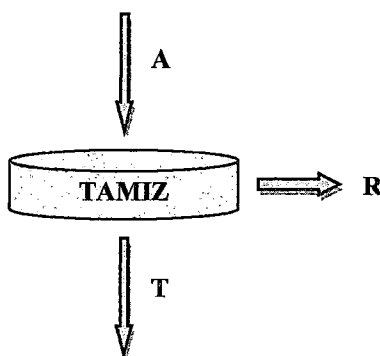
**FIGURA N° 3.13**  
**JUEGO DE TAMICES (#10 - #100)**



Fuente: Elaboración propia.

Luego del armado de la batería de tamices de la serie Tyler, en este caso de 10-100 más el ciego (véase la figura N° 3.14)

**FIGURA N° 3.14**  
**PARTES DEL PROCESO DE TAMIZADO**



Fuente: Elaboración propia.

Donde: **A:** Alimentación

**R:** Rechazo

**T:** Tamizado

Solo se utilizó el rechazo de las mallas comprendidas entre los números 18 y 100, porque en este rango están comprendidos los polvos de naturaleza moderadamente grueso a semi-fino.

# **METODOLOGÍA**

**1º**

## **ETAPA**

Identificación preliminar de los  
metabolitos secundarios presentes  
en la planta nativa cucharilla  
(*Oreocallis grandiflora*).

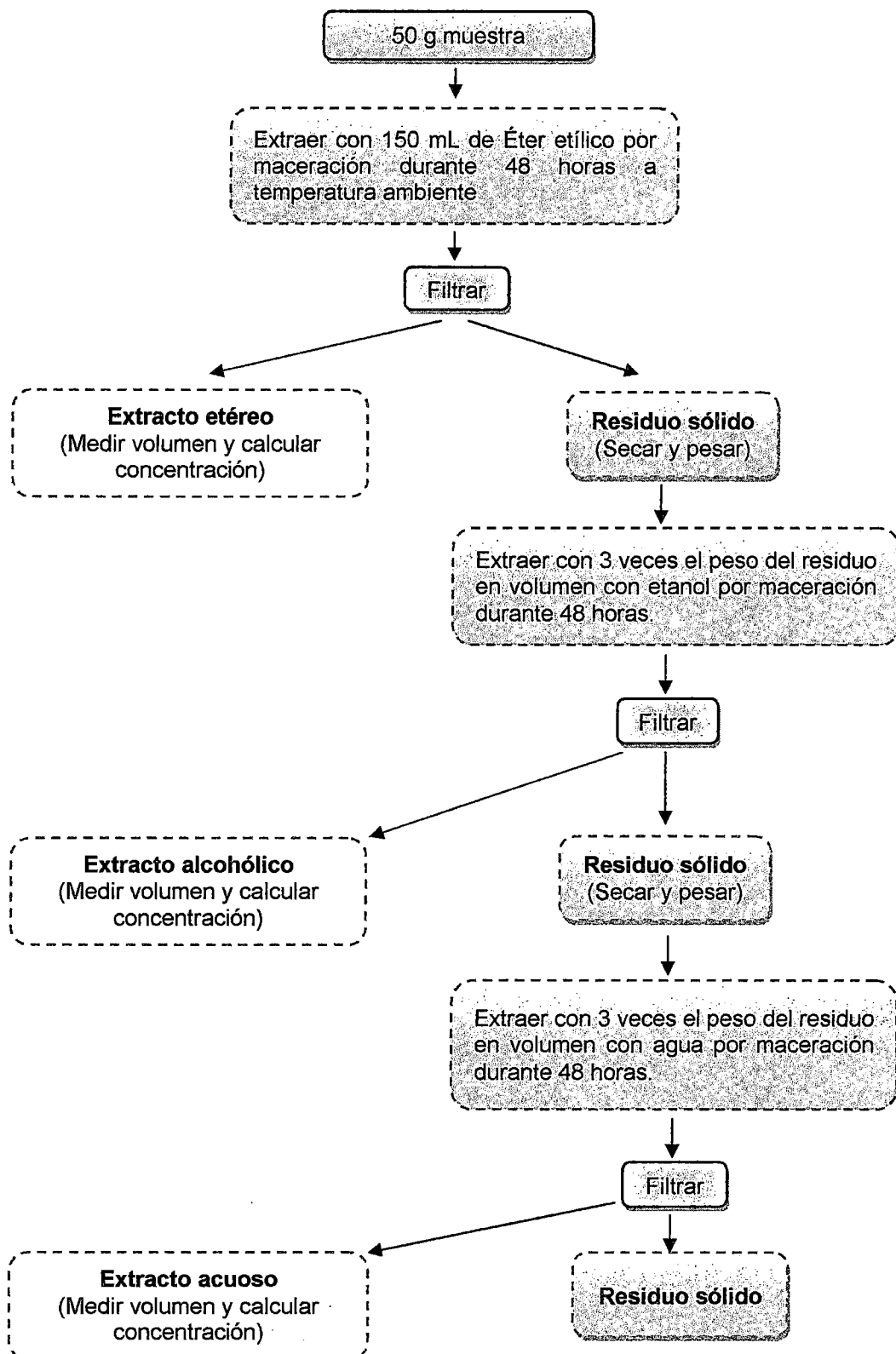
Antes de realizar la extracción completa de la muestra a ser analizada, se llevaron a cabo pruebas preliminares que ayudaron a detectar cualitativamente la presencia de determinados grupos de compuestos. En esto radicó la primera etapa del procedimiento.

**d. Marcha fitoquímica preliminar**

Esto se logró mediante las técnicas del "screening" (tamizaje), que se ayudan de la microquímica para evidenciar estos grupos de constituyentes mediante formación de precipitados y coloraciones con el uso de reactivos específicos. La identificación preliminar fue realizada para la flor, hoja y ramas, los métodos se basaron en los modelos propuestos por Migdalia Miranda y Olga Lock.

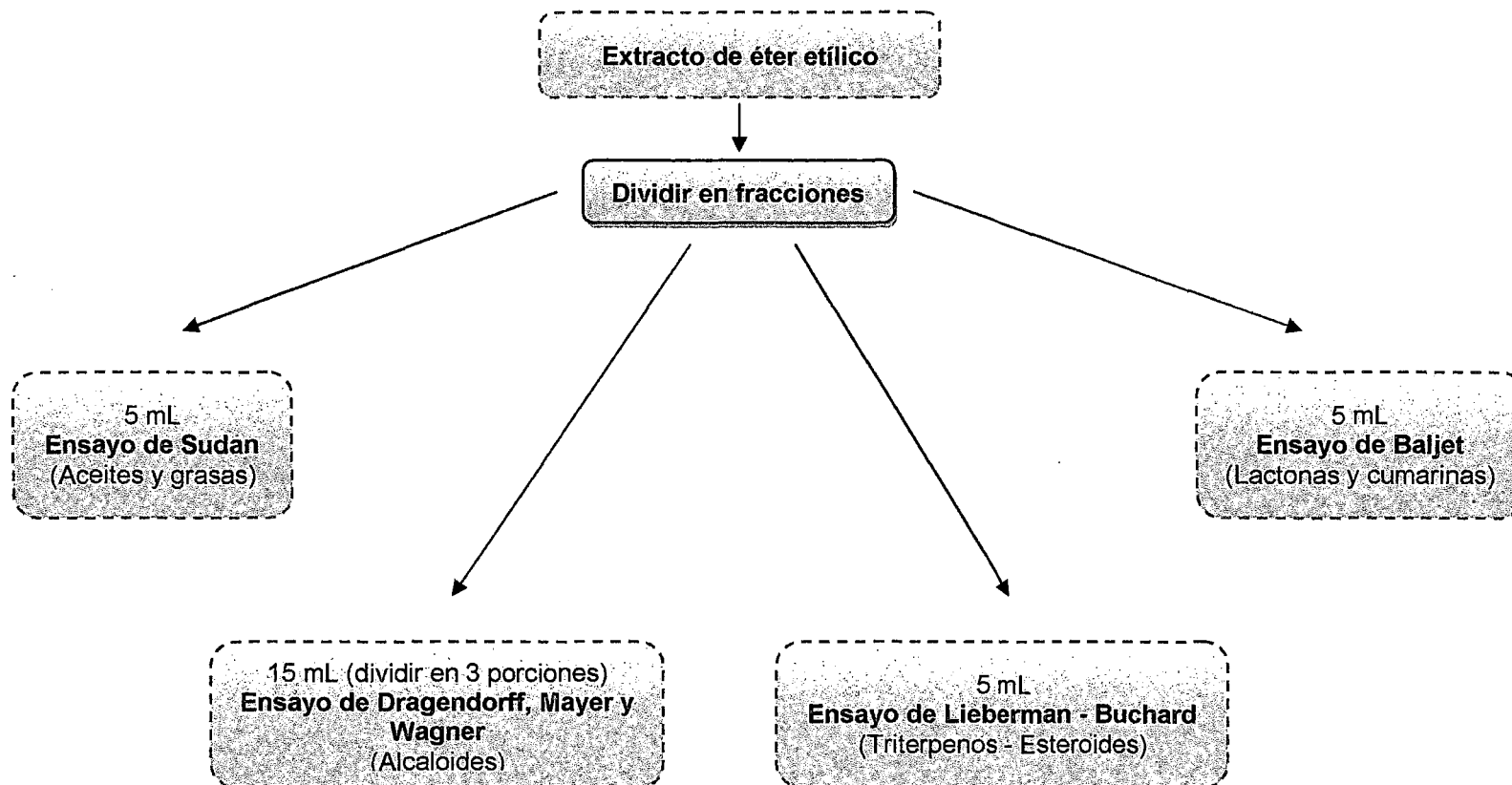
Las muestras tamizadas fueron sometidas a tres extracciones sucesivas (flor, hoja y rama de manera separada) según lo que indica la marcha fitoquímica preliminar (véase la figura N° 3.15, en la página 98), cada extracto obtenido se midió el volumen y su concentración (gramos de sustancia extraída por mililitro de extracto). Los ensayos que se realizaron con cada tipo de extracto tanto etéreo, alcohólico y acuoso (véanse las figuras N° 3.14 - 3.15 - 3.16, en las páginas 99, 100, 101).

**FIGURA Nº 3.15**  
**MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR**



Fuente: Elaboración propia.

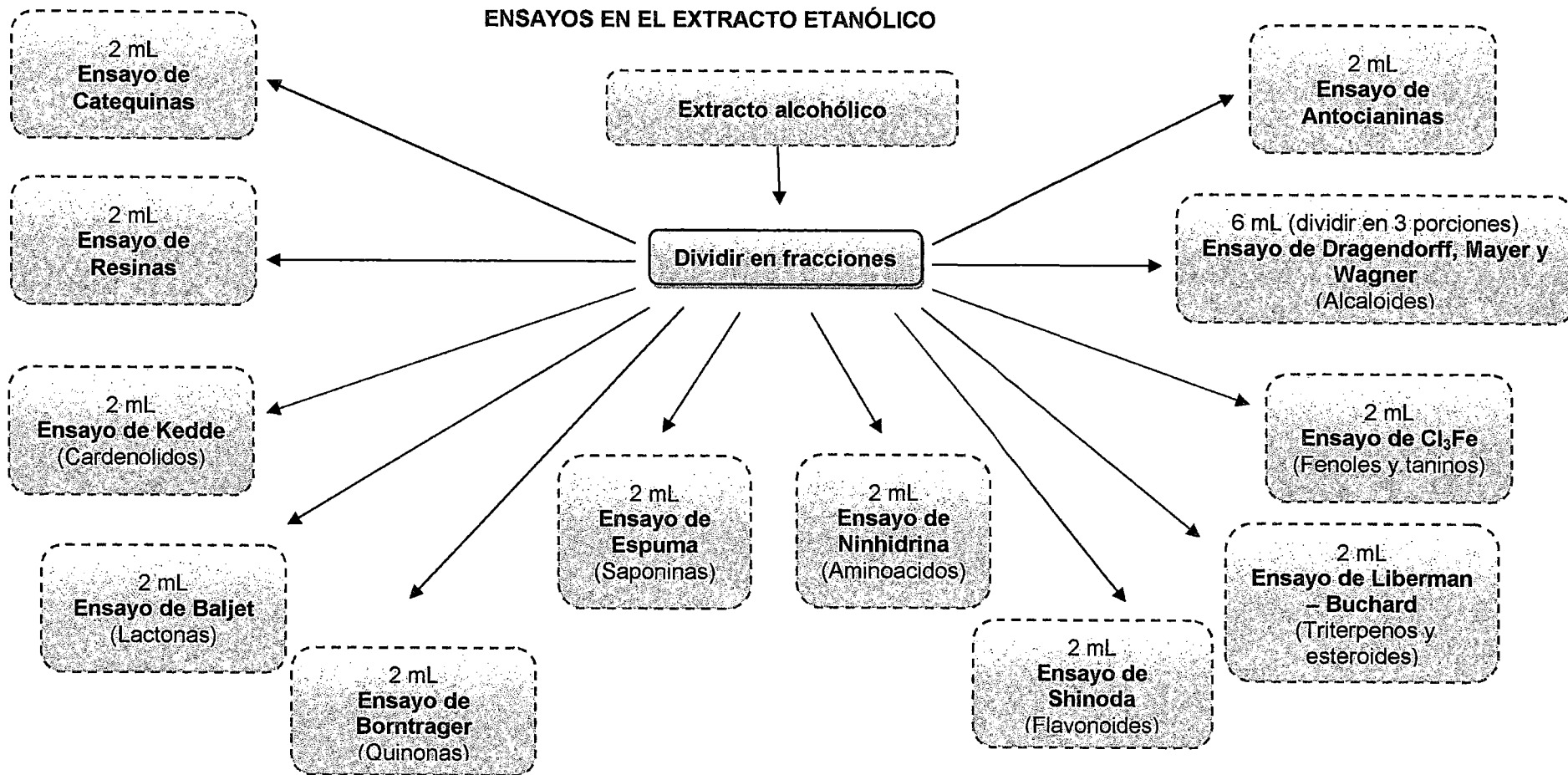
**FIGURA N° 3.14**  
**ENSAYOS EN EL EXTRACTO ÉTER ETÍLICO**



Fuente: Elaboración propia.

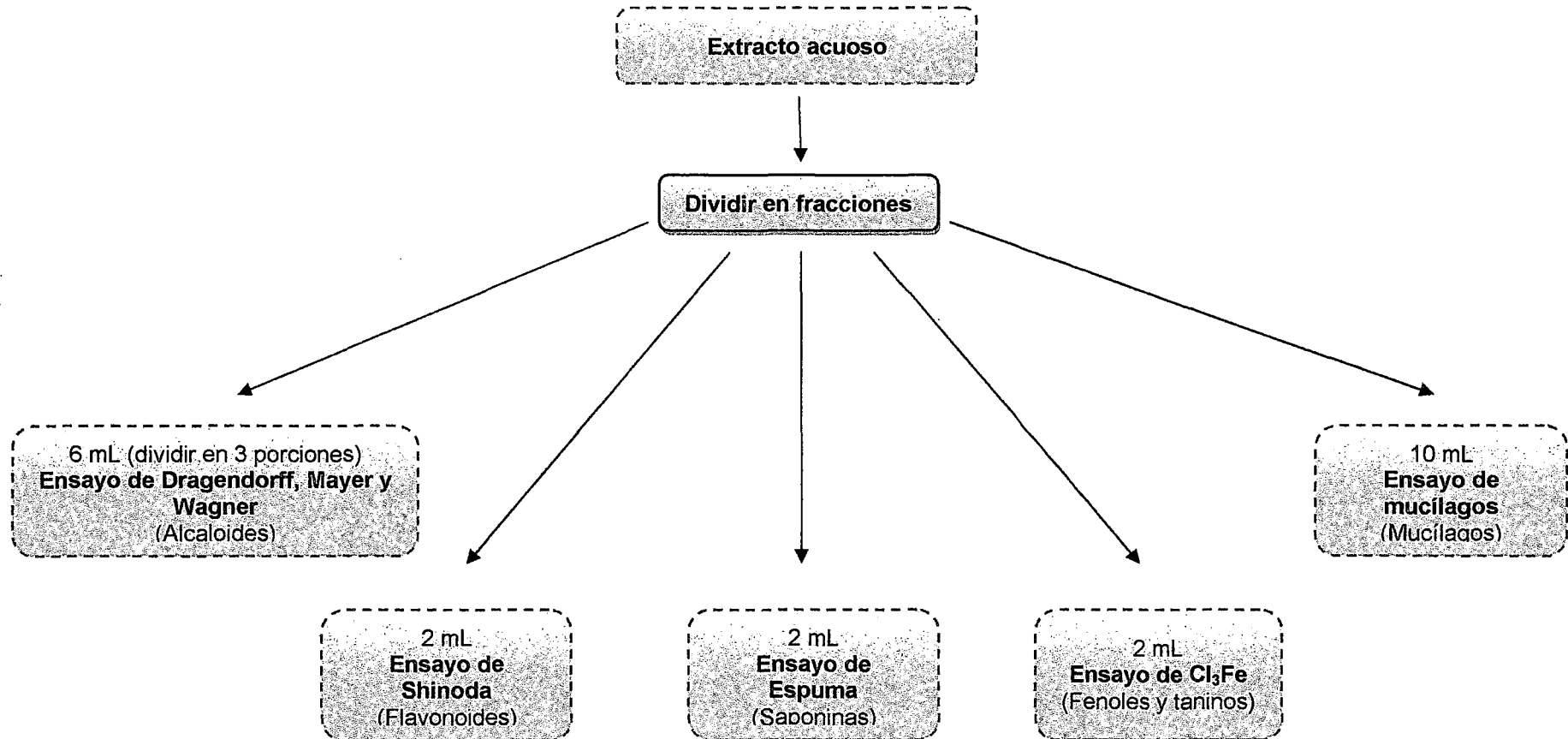


**FIGURA N° 3.15**  
**ENSAYOS EN EL EXTRACTO ETANÓLICO**



Fuente: Elaboración propia.

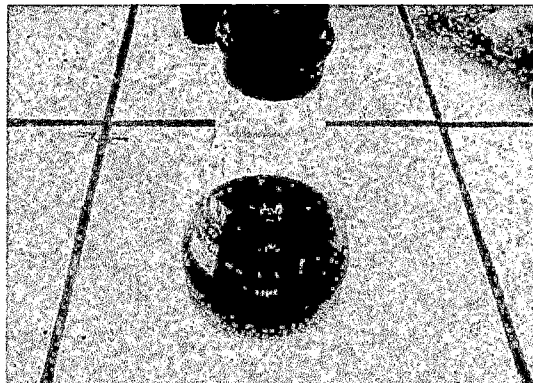
**FIGURA N° 3.16**  
**ENSAYOS EN EL EXTRACTO ACUOSO**



Fuente: Elaboración propia.

- Procedimiento de la marcha fitoquímica preliminar
1. De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada, se pesaron exactamente 50g y se transfirieron a un matraz erlenmeyer de 250mL, añadiéndose 150 mL de éter etílico (véase la figura N° 3.19), este fue envuelto con papel metálico para evitar alguna reacción con la luz solar (véase la figura N° 3.18, en la página 103) y fue dejado en maceración por 48 horas a temperatura ambiente.

**FIGURA N° 3.19**  
**MUESTRA MACERADA**



Fuente: Elaboración propia.

2. Posteriormente se procedió a filtrar con papel de filtro rápido, luego se midió el volumen, se calculó la concentración del extracto éter etílico el residuo se secó y pesó.

3. Éste residuo fue sometido a extracción con un volumen de alcohol etílico al 96% equivalente a tres veces el peso del residuo, el que fue dejado en maceración durante 48 horas.
4. Luego procedimos a filtrar con papel de filtro rápido, se midió el volumen y se calculó la concentración del extracto etanólico al 96% y el residuo se secó y pesó.
5. Seguidamente se realizó la extracción acuosa de este residuo con un volumen de agua equivalente a tres veces su peso, el cual se dejó en maceración durante 48 horas.

**FIGURA N° 3.20**  
**MUESTRA MACERADA ENVUELTA EN PAPEL METÁLICO**



Fuente: Elaboración propia.

6. Finalmente se filtró con papel de filtro rápido, se midió el volumen y calculó la concentración del extracto.

7. El extracto éter etílico, se dividió en fracciones para la realización de los ensayos de Sudan III, Dragendorff, Mayer, Wagner, Baljet y Liebermann- Burchard.
8. El extracto alcohólico al 96%, se dividió en fracciones para la realización de los ensayos de catequinas, resinas, Baljet, Lieberman-Buchard, espuma, cloruro férrico, kedde, Borntrager, shinoda, antocianina, Dragendorff, Mayer, Wagner y ninhidrina.
9. El extracto acuoso, se dividió en fracciones para la realización de los ensayos de Dragendorff, Mayer, Wagner, Cloruro Férrico, Shinoda, mucílagos y Espuma.
10. Este procedimiento se aplicó a las muestras de flores, hojas y ramas como se indico anteriormente, cada una se trabajó independientemente.

# **METODOLOGÍA**

**2º**

## **ETAPA**

Determinación cualitativa de los  
metabolitos secundarios presentes

en la planta nativa cucharilla

*(Oreocallis grandiflora)*.

El análisis de las reacciones tanto de coloración como precipitación llevadas en la marcha fitoquímica preliminar, fue en cada prueba y para aquellos que dieron resultado positivo, se siguió con el análisis fitoquímico correspondiente.

e. Extracción de las sustancias en estudio

e.1 Maceración

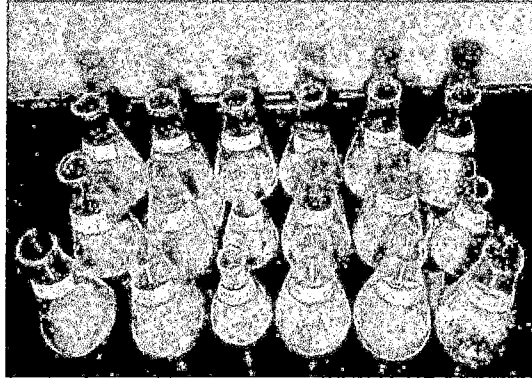
Se realizó el proceso extractivo con el fin de aislar los principios activos directamente a partir de la droga.

- Variables a controlar:

i. Relación Sólido-Líquido:

En este caso se hizo varias consultas bibliográficas, y la mayoría toma la relación de 100g muestra/1 Litro de solvente es decir en relación de 1/10 (véase la figura N° 3.24, en la página 107) y teniendo en cuenta que el rendimiento del extracto disminuye cuando la relación droga/solvente aumenta.

**FIGURA N° 3.21**  
**ADICIÓN DE MUESTRA A LOS MATRACES**



Fuente: Elaboración propia.

ii. Solvente:

El solvente seleccionado fue el etanol al 96%, debido a su bajo costo, facilidad de manipulación y bajo grado de toxicidad. El solvente se utilizó en diferentes concentraciones; para las flores y hojas 0; 48 y 96%; mientras que para la rama al 48; 72 y 96%. (Véase la figura N° 3.22)

**FIGURA N° 3.22**  
**ADICIÓN DE SOLVENTE AL MATRAZ**



Fuente: Elaboración propia.



iii. Tiempo para la maceración:

El tiempo de maceración necesario fue de 11 días.

Con estas variables a controlar, se pudo determinar el diseño experimental (véase las tablas N° 3.1 y 3.2, en la página 108).

**TABLA N° 3.1**  
**DISEÑO EXPERIMENTAL 3 X 1 X 1 (FLORES Y HOJAS)**

<b>VARIABLES DE PROCESO</b>	<b>CONCENTRACIÓN DEL SOLVENTE</b>	<b>TIEMPO DE MACERACIÓN</b>	<b>RELACIÓN (g muestra / mL solvente)</b>
<b>VARIABLES DE PROCESO</b>	Al 96%	11 días	1/10
	Al 48%	11 días	1/10
	Al 0%	11 días	1/10

Fuente: Elaboración propia.

**Tabla N° 3.2**  
**Diseño Experimental 3 x 1 x 1 (ramas)**

<b>VARIABLES DE PROCESO</b>	<b>CONCENTRACIÓN DEL SOLVENTE</b>	<b>TIEMPO DE MACERACIÓN</b>	<b>RELACIÓN (g muestra / mL solvente)</b>
<b>VARIABLES DE PROCESO</b>	Al 96%	11 días	1/10
	Al 72%	11 días	1/10
	Al 48%	11 días	1/10

Fuente: Elaboración propia.

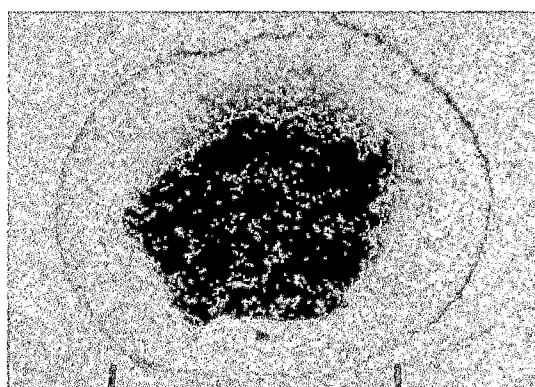
- Proceso de extracción

El método usado para la extracción fue maceración estática, en el que la muestra y el solvente se mantienen dentro de erlenmeyers de 250mL a temperatura ambiente.

**e.2 Filtración**

Con el fin de separar el extracto de las muestras sólidas, se utilizó un embudo con papel de filtro rápido (véase la figura N° 3.23), con el extracto obtenido se halló el volumen y la concentración en g/mL.

**FIGURA N° 3.23  
FILTRACIÓN DE LAS MUESTRAS MACERADAS**

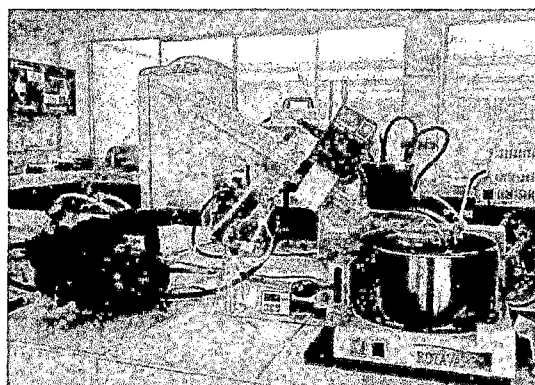


Fuente: Elaboración propia.

### e.3 Evaporación del solvente

Con el fin de disminuir el contenido etanólico del extracto hasta un grado en el que ya no posea poder antiséptico y no interfiera en el análisis, se evaporó el solvente de los extractos en el rotavapor. Esta técnica se utilizó para evaporar a presión reducida el disolvente de una disolución aislando el compuesto de la extracción que nos interesa por ello está conectado a una bomba de vacío (véase la figura N° 3.24).

**FIGURA N° 3.24**  
**EQUIPO ROTAVAPOR**



Fuente: Elaboración propia.

### f. Separación de metabolitos secundarios

Los analitos obtenidos poseen varios componentes, estos fueron identificados con el uso de la cromatografía de capa fina, utilizando solventes adecuados para cada tipo de metabolito secundario.

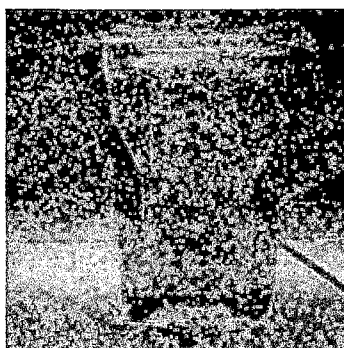
- Cromatografía de capa fina

Se aisló y purificó los compuestos naturales. La sustancia inicial se caracterizó por un extracto formado por diferentes componentes, las cuales se aprovecharon para su separación entre ellas. Las sustancias estuvieron disueltas en un solvente orgánico. La preparación de las placas cromatográficas se muestran en el anexo 5.

- Desarrollo cromatográfico:
  - Se adicionó suficiente liquido eluyente (véase la tabla N° 3.3, en la página 112) en el recipiente de desarrollo cromatográfico para que entre en contacto con el extremo inferior del portaobjetos, pero sin llegar a tocar la muestra sembrada.
  - Se tapó y dejó unos minutos para crear una atmosfera saturada de fase móvil.
  - Se colocó los portaobjetos en la cubeta y se tapó rápidamente (véase la figura N° 3.25, en la página 112).
  - Cuando el frente del disolvente avanzó hasta aproximadamente la señal marcada, se sacó de la cubeta y se rasgó

cuidadosamente la superficie del portaobjetos para indicar la posición del frente del disolvente. A continuación se dejó secar al aire durante unos minutos para evaporar el disolvente orgánico.

**FIGURA N° 3.25**  
**PLACAS CROMATOGRÁFICAS INTRODUCIDAS EN LA CUBA**



Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 3.3**  
**REVELADO DEL CROMATOGRAMA**

METABOLITO SECUNDARIO	FASE ESTACIONARIA	FASE MOVIL	
		SOLVENTE	PROPORCION
ALCALOIDES	Silicagel 60 G	Tolueno	7
		Acetato de etilo	2
		Dietilamina	1
ANTOCIANINAS	Silicagel 60 G	Acetato de etilo	10
		Acido acético glacial	1,1
		Acido fórmico	1,1
		Agua	2,6
	Silicagel 60 G	n- Butanol	4
		Acido acético glacial	1
		Agua	2

CATEQUINAS	Silicagel 60 G	Cloroformo	8,8
		Acetona	1,9
		Acido fórmico	1
GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	Silicagel 60 G	Acetato de etilo	10
		Metanol	1.4
		Agua	1
FLAVONOIDES	Silicagel 60 G	Acetato de etilo	16
		Piridina	4
		Agua	2
	Silicagel 60 G	Metanol	1
		Cloroformo	20
		Agua	0,5
QUINONAS	Silicagel 60 G	Acetato de etilo	10
		Metanol	1.4
		Agua	1
TRITERPENOS – ESTEROIDES	Silicagel 60 G	Cloroformo	1
		Acetato de etilo	1

Fuente: Elaboración propia.

**g. Identificación de los componentes activos**

Los componentes activos fueron identificados mediante la coloración que presentaron, estos fueron comparados con datos bibliográficos (Lock, Wagner, y datos complementarios según Marcano, Sharapin, entre otros).

➤ **Identificación con el revelado del cromatograma:**

Las manchas de color son visibles, las de bajo color o las incoloras se pueden revelar mediante luz UV onda corta u onda larga y/o pulverizando el portaobjetos con la disolución correspondiente.

Un indicativo de la presencia de metabolitos secundarios es la reacción que se da al entrar en contacto con diversos agentes como los que se muestran a continuación:

**g.1 Alkaloides:**

- Luz UV-254nm: oscurecimientos pronunciados de algunos tipos de alcaloides como índoles, quinolinas, isoquinolinas, purinas, oscurecimientos suaves para alcaloides del tipo tropina.
- Luz UV-366nm: para algunos alcaloides fluorescencia azul, verde-azulado o violeta y fluorescencia amarilla para alcaloides del tipo colchicina, entre otros.
- Reactivo Wagner: pulverizar y observar en la luz visible la formación de manchas marrones.

**g.2 Antocianinas:**

- Sin tratamiento químico: las antocianinas muestran color rojo o azul-violeta a la luz visible.

**g.3 Catequinas:**

- Reactivo vainillina - ácido clorhídrico: pulverizar y observar en la luz visible la aparición de manchas rojas identifica la presencia de catequinas, si es necesario calentar en la mufla.

**g.4 Flavonoides:**

- Cloruro de aluminio: pulverizar y observar la aparición de fluorescencia amarilla a la luz UV-366nm.
- Vapores de amoniaco

**g.5 Glucósidos cardiotónicos:**

- Luz UV 254nm: débil fluorescencia para todos.
- Luz UV 366nm: no hay fluorescencia para todos.



- Reactivo ácido sulfúrico en etanol: pulverizar las placas luego calentarlas a 100°C por 3-5 minutos, se observará zonas de fluorescencia azul, marrón, verde y amarillento que son vistas en el UV-366nm, hay posibilidad que las mismas zonas aparezcan marrón o azul a la luz visible.

#### **g.6** Quinonas:

- Reactivo Borntrager: pulverizar y evaluar a la luz UV-366nm. Todas las antraquinonas muestran fluorescencia rojo, antronas fluorescencia amarilla y las cumarinas fluorescencia azul.

#### **g.7** Triterpenos – esteroides:

- Reactivo vainillina - ácido sulfúrico: pulverizar, luego calentar de 5-10 minutos a 110°C, evaluar la placa en el visible, se observará coloraciones violeta, azul, rojo, gris o verde, lo que indica la presencia de esteroides.
- Reactivo Libermann-Burchard: pulverizar y calentar 10 minutos a 110°C, la presencia de manchas fluorescentes a la luz UV-366nm es indicativo de glicósidos triterpénicos.

### **3.7 Análisis e interpretación de la información**

Según la información recopilada y teniendo en cuenta nuestro propio criterio el orden que se siguió en el proceso de investigación fue el siguiente:

- Selección y recolección: se tuvo en cuenta nociones básicas de anatomía vegetal ya que la edad de los vegetales influye bastante en la cantidad de componentes activos encontrados.
- Acondicionamiento: resaltando aquí la conservación ya que se tuvo que mantener las características químicas, físicas, organolépticas y farmacológicas de la droga vegetal.
- Extracción: la maceración fue el punto crítico pues de este dependió la cantidad de componentes activos extraídos.
- Separación de componentes activos: este se dio con el uso de cromatografía de capa fina.
- Determinación de componentes activos: se procedió con el uso de reactivos de coloración:

**CAPITULO IV**  
**RESULTADOS**

**4.1 Recolección:**

**TABLA N° 4.1**  
**DATOS DE CAMPO**

<b>TIEMPO</b>	<b>INICIO DE RECOLECCIÓN</b>	<b>FIN DE RECOLECCIÓN</b>
Hora	7:34am	8:21am
Humedad relativa	74%	78%
Temperatura	8.7 °C	10.5 °C
Fecha de recolección	9 de junio del 2012	

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 4.2**  
**PESO MUESTRA RECOLECTADA**

<b>TIPO DE MUESTRA</b>	<b>PESO DE MUESTRA FRESCA (G)</b>
Flores	630
Ramas y hojas	1050

Fuente: Elaboración propia.

**4.2 Molienda:**

**TABLA N° 4.3**  
**PESOS MUESTRA (ENSAYO MOLIENDA)**

<b>TIPO DE MUESTRA</b>	<b>PESO DE MUESTRA SECA(g)</b>		<b>TIEMPO DE MOLIENDA (MINUTOS)</b>
	<b>ANTES DE MOLER</b>	<b>DESPUÉS DE MOLER</b>	
Flores	178	146	10
Hojas	374	244	14
Ramas	219	202	21

Fuente: Elaboración propia.

### 4.3 Tamizado:

**TABLA N° 4.4A**  
**TAMIZAJE MUESTRA SECA – FLORES**

<b>Ø NOMINAL (ASTM)</b>	<b>MALLA</b>	<b>A (g)</b>	<b>X<sub>A</sub> (%)</b>	<b>R (g)</b>	<b>X<sub>R</sub> (%)</b>	<b>T (g)</b>	<b>X<sub>T</sub> (%)</b>
2 mm	10	144.1	30.58	2.4	1.74	141.6	42.59
1 mm	18	141.6	30.06	52.6	38.03	88.8	26.74
710 µm	25	88.9	18.87	39.8	28.78	49.0	14.73
500 µm	35	49.0	10.40	21.7	15.69	27.2	8.19
300 µm	50	27.2	5.78	14.4	10.41	12.8	3.86
212 µm	70	12.8	2.72	5.3	3.83	7.5	2.26
150 µm	100	7.5	1.59	2.1	1.52	5.4	1.63
Ciego		-	-	4.6	-	-	-
<b>TOTAL</b>		<b>471.1</b>	<b>100</b>	<b>138.3</b>	<b>100</b>	<b>332.4</b>	<b>100</b>

Fuente: Elaboración propia.

Peso inicial (alimentación) = 144.1g

Peso perdido (polvo) = 0.96g

Peso sin utilizar (malla #10, ciego) = 7.0g

Peso utilizado = 136.14g

**TABLA N° 4.4B**  
**TAMIZAJE MUESTRA SECA – HOJAS**

<b>Ø NOMINAL (ASTM)</b>	<b>MALLA</b>	<b>A (g)</b>	<b>X<sub>A</sub> (%)</b>	<b>R (g)</b>	<b>X<sub>R</sub> (%)</b>	<b>T (g)</b>	<b>X<sub>T</sub> (%)</b>
2 mm	10	242.7	22.94	3.8	1.79	238.8	28.25
1 mm	18	238.8	22.57	45.7	21.61	192.9	22.82
710 µm	25	192.9	18.23	38.5	18.20	154.3	18.25
500 µm	35	154.3	14.59	38.9	18.39	115.1	13.62
300 µm	50	115.1	10.88	45.0	21.28	70.1	8.29
212 µm	70	70.1	6.63	25.9	12.25	44.0	5.21
150 µm	100	44.0	4.16	13.7	6.48	30.1	3.56
Ciego		-	-	28.8	-	-	-
<b>TOTAL</b>		<b>1057.9</b>	<b>100</b>	<b>211.5</b>	<b>100</b>	<b>845.3</b>	<b>100</b>

Fuente: Elaboración propia.

Peso inicial (alimentación) = 242.7g

Peso perdido (polvo) = 2.4g

Peso sin utilizar (malla #10, ciego) = 32.6g

Peso utilizado = 207.7g

**TABLA N° 4.4C**  
**TAMIZAJE MUESTRA SECA – RAMAS**

<b>Ø NOMINAL (ASTM)</b>	<b>MALLA</b>	<b>A (g)</b>	<b>X<sub>A</sub> %</b>	<b>R (g)</b>	<b>X<sub>R</sub> %</b>	<b>T (g)</b>	<b>X<sub>T</sub> %</b>
2 mm	10	198.9	30.09	30.4	15.67	168.1	36.22
1 mm	18	168.1	25.44	56.1	28.94	111.6	24.04
710 µm	25	111.6	16.88	16.7	8.62	94.7	20.41
500 µm	35	94.7	14.33	36.5	18.82	57.9	12.48
300 µm	50	57.9	8.76	35.9	18.52	21.5	4.63
212 µm	70	21.5	3.25	12.4	6.39	8.3	1.78
150 µm	100	8.3	1.25	5.9	3.04	2.0	0.44
Ciego		-	-	2.0	-	-	-
<b>TOTAL</b>		<b>661.0</b>	<b>100</b>	<b>193.9</b>	<b>100</b>	<b>464.1</b>	<b>100</b>

Fuente: Elaboración propia.

Peso inicial (alimentación) = 198.9g

Peso perdido (polvo) = 3.0g

Peso sin utilizar (malla #10 y ciego) = 32.4g

Peso utilizado = 163.5g

# RESULTADOS

1º

## ETAPA

Identificación preliminar de los  
metabolitos secundarios presentes  
en la planta nativa cucharilla  
(*Oreocallis grandiflora*).

#### 4.4 Resultados de la etapa preliminar

##### 4.4.1 Parámetros calculados para cada extracción

**TABLA N° 4.5A**  
**PRIMER EXTRACTO – ÉTER ETÍLICO**

<b>PARAMETROS CALCULADOS</b>	<b>FLOR</b>	<b>HOJA</b>	<b>RAMA</b>
Volumen inicial éter etílico (mL)	150	150	150
Volumen del extracto (mL)	128	129	131
Densidad del extracto (g/mL)	0.68	0.70	0.67
Peso torta seca (g)	47.1	44.9	48.5
Volumen del alcohol etílico añadido (mL)	142	135	146
Rendimiento de filtración	85.3%	86%	87.3%

Fuente: Elaboración propia.

Densidad del éter etílico = 0.66 g/mL

**TABLA N° 4.5B**  
**SEGUNDO EXTRACTO – ALCOHOL ETÍLICO**

<b>PARAMETROS CALCULADOS</b>	<b>FLOR</b>	<b>HOJA</b>	<b>RAMA</b>
Volumen inicial alcohol etílico (mL)	142	135	146
Volumen del extracto (mL)	124	119	132
Densidad del extracto (g/mL)	0.82	0.84	0.82
Peso torta seca (g)	44	40.2	46.3
Volumen del agua añadido (mL)	132	121	139
Rendimiento de filtración	87.3%	88.14%	90.4%

Fuente: Elaboración propia.

Densidad del alcohol etílico = 0.81 g/mL



**TABLA N° 4.5C**  
**TERCER EXTRACTO – AGUA**

<b>PARAMETROS CALCULADOS</b>	<b>FLOR</b>	<b>HOJA</b>	<b>RAMA</b>
Volumen inicial agua (mL)	132	121	139
Volumen del extracto (mL)	116	101	121
Densidad del extracto (g/mL)	0.998	0.998	0.996
Rendimiento de filtración	87.8%	83.4%	87.1%

Fuente: Elaboración propia.

Densidad del agua = 0.995 g/mL

#### 4.4.2 Resultados de las pruebas preliminares

**TABLA N° 4.6**  
**RESULTADOS DE LAS PRUEBAS PRELIMINARES**

METABOLITOS SECUNDARIOS		RESULTADOS								
		1° EXTRACTO ETereo			2° EXTRACTO ALCOHOLICO			3° EXTRACTO ACUOSO		
IDENTIFICACIÓN	PRUEBA	F	H	R	F	H	R	F	H	R
ACEITES Y GRASAS	ENSAYO SUDAN	-	-	-	X	X	X	X	X	X
ALCALOIDES	ENSAYO DE DRAGENDORFF	++	++	+	+++	+++	++	-	-	-
	ENSAYO DE MAYER	++	++	+	+++	+++	+++	-	-	-
	ENSAYO DE WAGNER	++	++	+	+++	+++	+++	-	-	-
AMINOÁCIDOS	ENSAYO DE NINHIDRINA	X	X	X	++	-	-	X	X	X
ANTOCIANINA	ENSAYO DE ANTOCIANINA	X	X	X	+	+	+	X	X	X
CATEQUINAS	ENSAYO DE CATEQUINAS	X	X	X	++	+++	++	X	X	X
FENOLES Y TANINOS	ENSAYO DE $Cl_3Fe$	X	X	X	+++	+++	++	-	-	-
FLAVONOIDES	ENSAYO DE SHINODA	X	X	X	+++	+++	+++	++	++	++
GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	ENSAYO DE KEDDE	X	X	X	+++	+++	++	X	X	X
LACTONAS Y COUMARINAS	ENSAYO DE BALJET	-	-	-	-	-	-	X	X	X
MUCÍLAGOS	ENSAYO DE MUCÍLAGOS	X	X	X	X	X	X	-	-	-
QUINONAS	ENSAYO DE BORNTRAGER	X	X	X	+++	++	+++	X	X	X
RESINAS	ENSAYO DE RESINAS	X	X	X	-	-	-	X	X	X
SAPONINAS	ENSAYO ESPUMA	X	X	X	-	-	-	-	-	-
TRITERPENOS – ESTEROIDES	ENSAYO DE LIEBERMAN – BUCHARD	++	++	++	+++	+++	+++	X	X	X

Fuente: Elaboración propia.

• Legenda:

- |                               |       |                |
|-------------------------------|-------|----------------|
| Reacción negativa             | (-)   | Flor (F)       |
| Reacción positiva moderada    | (+)   | Hoja (H)       |
| Reacción positiva intensa     | (++)  | Rama (R)       |
| Reacción positiva muy intensa | (+++) | X (Sin Prueba) |

# **RESULTADOS**

**2º**

## **ETAPA**

Determinación cualitativa de los  
metabolitos secundarios presentes

en la planta nativa cucharilla

*(Oreocallis grandiflora)*.

**4.5 Los parámetros calculados en el proceso de maceración fueron los siguientes:**

**TABLA N° 4.7A  
PROCESO DE MACERACIÓN – FLOR**

N° DE PRUEBA	ENSAYO	VARIABLES DE CONTROL		
		CONC. SOLVENTE (%)	TIEMPO (DIAS)	RELACIÓN (g muestra/mL solvente)
1	I	96	11	10/100
2		48	11	10/100
3		0	11	10/100
4	II	96	11	10/100
5		48	11	10/100
6		0	11	10/100

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 4.7B  
PROCESO DE MACERACIÓN – HOJA**

N° DE PRUEBA	ENSAYO	VARIABLES DE CONTROL		
		CONC. SOLVENTE (%)	TIEMPO (DIAS)	RELACIÓN (g muestra/mL solvente)
1	I	96	11	10/100
2		48	11	10/100
3		0	11	10/100
4	II	96	11	10/100
5		48	11	10/100
6		0	11	10/100

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 4.7C**  
**PROCESO DE MACERACIÓN – RAMA**

N° DE PRUEBA	ENSAYO	VARIABLES DE CONTROL		
		CONC. SOLVENTE (%)	TIEMPO (DIAS)	RELACIÓN (g muestra/mL solvente)
1	I	96	11	10/100
2		72	11	10/100
3		48	11	10/100
4	II	96	11	10/100
5		72	11	10/100
6		48	11	10/100

Fuente: Elaboración propia.

**4.6 Los parámetros calculados en el rotavapor fueron los siguientes:**

**TABLA N° 4.8**  
**PARÁMETROS EXPERIMENTALES DEL ROTAVAPOR (FLOR-HOJA)**

MUESTRA	SOLVENTE ETANOL (%)	PRESIÓN DE VACÍO (mbar)	RPM	T° BAÑO MARÍA (°C)	TIEMPO NECESARIO PARA LA CONCENTRACIÓN	
Flores	Parte 1	48	1100	96	40	16'3"
	Parte 2	48	1100	96	40	16'11"
Hojas	Parte 1	48	1100	96	40	10'1"
	Parte 2	48	1100	96	40	10'14"
Ramas	Parte 1	72	1100	96	40	8'9"
	Parte 2	72	1100	96	40	8'23"

Fuente: Elaboración propia.

#### 4.6.1 Pesos de los extractos obtenidos

**TABLA N° 4.9A**  
**PESO DEL EXTRACTO – PARTE I**

<b>MUESTRA</b>	<b>CONCEN. ALCOHOL (%)</b>	<b>VOLUMEN (mL)</b>	<b>PESO EXTRACTO (g)</b>	<b>PESO SOLVENTE (g)</b>	<b>PESO COMPONENTE EXTRAÍDO (g)</b>
Flor	96	10	8.1420	8.0394	0.1026
	48	10	9.3804	9.1861	0.1943
	0	-	-	-	-
Hoja	96	10	8.1254	8.0394	0.0860
	48	10	9.3150	9.1861	0.1289
	0	-	-	-	-
Ramas	96	10	8.1193	8.0394	0.0799
	72	10	8.8332	8.6552	0.1780
	48	10	9.2262	9.1861	0.0401
	0	-	-	-	-

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 4.9B**  
**PESO DEL EXTRACTO – PARTE II**

<b>MUESTRA</b>	<b>CONCENT. ALCOHOL (%)</b>	<b>VOLUMEN (mL)</b>	<b>PESO EXTRACTO (g)</b>	<b>PESO SOLVENTE (g)</b>	<b>PESO COMPONENTE EXTRAÍDO (g)</b>
Flor	96	10	8.1419	8.0389	0.1030
	48	10	9.3810	9.1871	0.1939
	0	-	-	-	-
Hoja	96	10	8.1251	8.0389	0.0862
	48	10	9.3138	9.1865	0.1273
	0	-	-	-	-
Ramas	96	10	8.1210	8.0389	0.0821
	72	10	8.8299	8.6560	0.1739
	48	10	9.2231	9.1865	0.0366
	0	-	-	-	-

Fuente: Elaboración propia.

De las dos tablas anteriormente mostradas se observa que para flor y hojas la mejor extracción se logro con un porcentaje de concentración de solvente del 48%, mientras que para las ramas con una concentración de solvente del 72%, lo que verifica lo planteado por la bibliografía. (Sharapin, 2000:40).

**4.7 Identificación de metabolitos secundarios en las placas cromatográficas:**

**TABLA N° 4.10A  
REVELADO DEL CROMATOGRAMA – FLOR**

METABOLITO SECUNDARIO	DETECCIÓN	REFERENCIA		COLOR EXPERIMENTAL	VALOR R <sub>f</sub>
		SEGÚN (AUTOR)	COLOR PATRÓN		
ALCALOIDES	Luz UV-365	H. Wagner (pág. 6)	Fluorescencia azul, verde-azulado, violeta y fluorescencia amarilla.	Amarillo fluorescente	0.9669
	Pulverizado reactivo Wagner (visible)	Lock de Ugaz (pág. 267)	Manchas marrones	Marrón	0.8220
				Marrón	0.2203
ANTOCIANINAS	Luz visible	H. Wagner (pág. 281)	Rojo o azul – violeta	Rasgos naranjas	-
CATEQUINAS	Pulverizado vainillina-acido clorhídrico (visible-placa sin calentar).	Lock de Ugaz (pág. 263)	Manchas rojas	Amarillo	-
	Pulverizado vainillina-acido clorhídrico (visible-placa calentada)	Lock de Ugaz (pág. 263)	Manchas rojas	Naranja-amarillento	-
GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	Luz UV-366nm	H. Wagner (pág. 100)	Marrón, fluorescencia azul, verde, amarillento.	Verde fluorescente	0.8416
				Amarillo fluorescente	0.6166
				Marrón	0.4583
	Pulverizado ácido sulfúrico-etanol (luz UV-366nm)	H. Wagner (pág. 366)	Marrón, fluorescencia azul, verde, amarillento.	Verde fluorescente	0.6833
				Verde fluorescente	0.5166
				Marrón	0.4583
				Verde fluorescente	0.3666



FLAVONOIDES (Glicósidos)	Luz UV-366	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, fluorescencia amarilla, naranja, celeste	Amarillo fluorescente	0.8898			
	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 261)	Fluorescencia amarilla	Fluorescencia amarilla	0.9110			
				Fluorescencia amarilla	0.1694			
Vapores de amoniaco, (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar.	Fluorescencia amarilla	0.8898				
FLAVONOIDES (Agliconas)	Luz UV-366	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, fluorescencia amarilla, naranja, celeste	Fluorescencia celeste	0.9491			
				Fluorescencia naranja	0.4406			
				Verde	0.3220			
	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 261)	Fluorescencia amarilla	Fluorescencia amarilla	0.75			
				Vapores de amoniaco, (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar	Fluorescencia celeste	0.9491
							Fluorescencia naranja	0.4406
Verde	0.3220							
QUINONAS	Luz UV-366nm	H. Wagner (pág. 64)	Fluorescencia roja, amarilla o azul	Fluorescencia amarilla	0.3278			
	Pulverizado reactivo Borntrager (luz UV-366nm)	H. Wagner (pág. 64)	Fluorescencia roja, amarilla o azul.	Fluorescencia amarilla	0.3790			
				Fluorescencia amarilla	0.1693			
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Reactivo vainillina-acido sulfúrico (visible)	Lock de Ugaz (pág. 260)	Violeta, azul, rojo, gris o verde	Violeta claro	0.6746			
				Gris	0.1904			
				Verde oscuro	0.1666			
	Reactivo Liebermann-Burchard (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 259)	Fluorescencia amarilla o naranja.	Fluorescencia amarilla	0.9826			
				Fluorescencia naranja	0.3521			

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 4.10B**  
**REVELADO DEL CROMATOGRAMA – HOJA**

METABOLITO SECUNDARIO	DETECCIÓN	REFERENCIA		COLOR EXPERIMENTAL	VALOR R <sub>f</sub>
		SEGÚN (AUTOR)	COLOR PATRÓN		
ALCALOIDES	Luz UV-366	H. Wagner (pág. 6)	Fluorescencia azul, verde-azulado, violeta y fluorescencia amarilla.	Amarillo fluorescente	0.9842
	Reactivo Wagner (visible)	Lock de Ugaz (pág. 267)	Manchas marrones	Rasgos marrones	0.5338
				Marrón claro	0.2627
ANTOCIANINAS	Luz visible	H. Wagner (pág. 281)	Rojo o azul – violeta	Rasgos naranjas	-
CATEQUINAS	Pulverizado vainillina-acido clorhidrico (visible-placa sin calentar)	Lock de Ugaz (pág. 263)	Manchas rojas	Rojo	0.4166
	Pulverizado vainillina-acido clorhidrico (visible-placa calentada)	Lock de Ugaz (pág. 263)	Manchas rojas	Rojo oscuro	0.2033
GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	Luz UV-366nm	H. Wagner (pág. 100)	Marrón, fluorescencia azul, verde, amarillento.	Amarillo fluorescente	0.8474
				Verde fluorescente	0.5847
	Pulverizado ácido sulfúrico-etanol (luz UV-366nm)	H. Wagner (pág. 366)	Marrón, fluorescencia azul, verde, amarillento.	Amarillo fluorescente	0.9677
				Verde fluorescente	0.8387
				Verde fluorescente	0.4274
Marrón	0.3064				
FLAVONOIDES (Glicósidos)	Luz UV-366	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, fluorescencia amarilla, naranja, celeste	Fluorescencia naranja	0.9344
				Fluorescencia amarilla	0.9098
	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 261)	Fluorescencia amarilla	Fluorescencia amarilla	0.2033

	Vapores de amoniaco, (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar.	Fluorescencia naranja	0.9344
				Fluorescencia amarilla	0.9098
FLAVONOIDES (Agliconas)	Luz UV-366	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, fluorescencia amarilla, naranja, celeste	Fluorescencia celeste	0.95
				Fluorescencia amarilla	0.3333
				Fluorescencia naranja	0.2666
				Verde oscuro	0.1333
	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 261)	Fluorescencia amarilla	Fluorescencia amarilla	0.3220
	Vapores de amoniaco, (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar.	Fluorescencia celeste	0.95
				Fluorescencia amarilla	0.3333
				Fluorescencia naranja	0.2666
Verde oscuro				0.1333	
QUINONAS	Luz UV-366nm	H. Wagner (pág. 64)	Fluorescencia roja, amarilla y azul.	Amarillo oscuro	-
	Pulverizado reactivo Borntrager (luz UV-366nm)	H. Wagner (pág. 64)	Fluorescencia roja, amarilla y azul.	Fluorescencia roja	0.9672
				Fluorescencia amarilla	0.9180
				Fluorescencia amarilla	0.1639
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Reactivo vainillina-acido sulfúrico (visible)	Lock de Ugaz (pág. 260)	Violeta, azul, rojo, gris o verde	Verde	0.9237
				Gris	0.3305
				Verde oscuro	0.2288
	Reactivo Liebermann-Burchard (luz UV-366)	Lock de Ugaz (pág. 259)	Fluorescencia amarilla y naranja.	Fluorescencia naranja	0.9491
			Fluorescencia naranja	0.1652	

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA Nº 4.10C**  
**REVELADO DEL CROMATOGRAMA – RAMA**

METABOLITO SECUNDARIO	DETECCIÓN	REFERENCIA		COLOR EXPERIMENTAL	VALOR R <sub>f</sub>
		SEGÚN (AUTOR)	COLOR PATRÓN		
ALCALOIDES	Luz UV-366	H. Wagner (pág. 6)	Fluorescencia azul, verde-azulado, violeta y fluorescencia amarilla.	Amarillo fluorescente	0.9754
	Reactivo Wagner (visible)	Lock de Ugaz (pág. 267)	Manchas marrones	Marrón	0.4237
				Marrón claro	0.2966
				Marrón oscuro	0.1779
ANTOCIANINAS	Luz visible	H. Wagner (pág. 281)	Rojo o azul – violeta	Naranja	-
CATEQUINAS	Pulverizado vainillina-ácido clorhídrico (visible-placa sin calentar)	Lock de Ugaz (pág. 263)	Manchas rojas	Rojo	0.5423
	Pulverizado vainillina-ácido clorhídrico (visible-placa calentada)	Lock de Ugaz (pág. 263)	Mancha rojas	Purpura	-
GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	Luz UV-366nm	H. Wagner (pág. 100)	Marrón, fluorescencia azul, verde, amarillento.	Verde fluorescente	0.3262
				Amarillo fluorescente	0.1271
	Pulverizado ácido sulfúrico-etanol (luz UV-366nm)	H. Wagner (pág. 366)	Marrón, fluorescencia azul, verde, amarillento.	Amarillo fluorescente	0.9672
				Verde fluorescente	0.4590
				Verde fluorescente	0.2377
FLAVONOIDES (Glicósidos)	Luz UV-366nm	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, fluorescencia amarilla, naranja, celeste	Fluorescencia naranja	0.9663
				Verde	0.2016

	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366nm)	Lock de Ugaz (pág. 261)	Fluorescencia amarilla	Fluorescencia amarilla	0.1512
	Vapores de amoniaco. (luz UV-366nm)	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar.	Fluorescencia naranja	0.9663
				Verde	0.2016
FLAVONOIDES (Agliconas)	Luz UV-366nm	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Verde, fluorescencia amarilla, naranja, celeste	Fluorescencia celeste	0.9250
				Fluorescencia naranja	0.2500
				Verde oscuro	0.2333
	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366nm)	Lock de Ugaz (pág. 261)	Fluorescencia amarilla	Fluorescencia amarilla	0.1833
	Vapores de amoniaco. (luz UV-366nm)	Lock de Ugaz (pág. 123-124)	Sin cambios respecto a la placa sin pulverizar.	Fluorescencia celeste	0.9250
			Fluorescencia naranja	0.2500	
			Verde oscuro	0.2333	
QUINONAS	Luz UV-366nm	H. Wagner (pág. 64)	Fluorescencia roja, amarilla y azul.	Fluorescencia roja	0.9250
	Pulverizado reactivo Borntrager (luz UV-366nm)	H. Wagner (pág. 64)	Fluorescencia roja, amarilla y azul.	Rojo oscuro	-
				Fluorescencia amarilla	0.2203
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Reactivo vainillina-acido sulfúrico (visible)	Lock de Ugaz (pág. 260)	Violeta, azul, rojo, gris o verde	Verde	0.9827
				Rojo	0.9396
				Violeta	0.7241
				Verde	0.2413
				Verde	0.1551
	Reactivo Libermann-Burchard ( luz UV-366nm)	Lock de Ugaz (pág. 259)	Fluorescencia amarilla y naranja.	Fluorescencia amarilla	0.9661
				Fluorescencia naranja	0.9406
				Fluorescencia amarilla	0.3220
				Fluorescencia naranja	0.2330
			Fluorescencia amarilla	0.1483	

Fuente: Elaboración propia.

## CAPITULO V

### DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. El proceso de secado realizado a la planta cucharilla (*Oreocallis grandiflora*), se dio en tres partes llegando hasta una humedad relativa de 14%.
2. Se realizó el proceso de molienda y tamizaje a la planta cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) y solo se utilizó los rechazos entre las mallas 18 y 100 que es para polvo moderadamente grueso a semi-fino.
3. Al realizar la prueba de aminoácidos en la etapa preliminar se afirmó la presencia del mismo solo en la flor, mas no en las hojas ni ramas. Lo cual es significativo para asegurar las pruebas de alcaloides, en las etapas subsiguientes.
4. El tiempo de maceración en etanol de la planta cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) fue de 11 días obteniéndose la mejor extracción para flores y hojas al 48% en etanol, mientras que para las ramas fue del 72%, procediendo luego a la cromatografía de capa fina.

5. La etapa preliminar arrojó un resultado positivo para las pruebas de antocianinas mas no en la cromatografía lo que indica que el solvente móvil no era el adecuado para el tipo de antocianina a extraer.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

1. En la identificación preliminar de metabolitos secundarios en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) se encontró la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos como antocianinas, catequinas, taninos, flavonoides, quinonas, triterpenos y esteroides como glicósidos cardiotónicos.
  
2. Los metabolitos secundarios encontrados en la determinación cualitativa de la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) fueron alcaloides, compuestos fenólicos como catequinas, flavonoides, quinonas, triterpenos y esteroides como glicósidos cardiotónicos.
  
3. De acuerdo con las condiciones probadas en este estudio y teniendo en cuenta la compatibilidad entre las pruebas preliminares y la cromatografía de capa fina los metabolitos secundarios identificados en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) son: alcaloides, compuestos fenólicos como catequinas, taninos, flavonoides, quinonas, triterpenos y esteroides como glicósidos cardiotónicos.



4. Con la caracterización fitoquímica se confirmó que los principales metabolitos secundarios presentes en la flor son: flavonoides, glicósidos cardiotónicos, quinonas, triterpenos y esteroides.
  
5. Con la caracterización fitoquímica se confirmó que los principales metabolitos secundarios presentes en la hoja son: alcaloides, catequinas, glicósidos cardiotónicos, flavonoides.
  
6. Con la caracterización fitoquímica se confirmó que los principales metabolitos secundarios presentes en la rama son: alcaloides, catequinas, flavonoides, triterpenos y esteroides, glicósidos cardiotónicos.

## CAPITULO VII

### RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar extracciones con diferentes concentraciones de etanol y además probar con otros tipos de solventes, con la finalidad de lograr la máxima extracción de los componentes activos.
2. Se recomienda realizar un análisis cuantitativo de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) con el fin de precisar la cantidad de cada tipo de metabolitos secundarios, haciendo uso del IR, Espectrometría UV, cromatografía de gases, Resonancia magnética nuclear, entre otros.
3. Si los resultados arrojan negativo, seguir realizando pruebas ya que se deben considerar varios parámetros como la selección errónea del solvente, la presencia de sustancia extrañas que interfieran, la existencia de componentes activos pero solos en trazas, ocultando de esta manera la existencia de los componentes activos buscados.
4. Se recomienda realizar un estudio en el que se analice los subtipos de metabolitos secundarios ya que este estudio solo

se limita a identificar la presencia del mismo pero en forma general mas no los subtipos que cada metabolito secundario contiene.

5. Se recomienda realizar estudios científicos del extracto con fines farmacológicos que aseguren las propiedades curativas que la planta nativa cucharilla (*Oreocallis grandiflora*) presenta, y así hallar la dosis efectiva, con el propósito de establecer el posible uso para el consumo humano.

## CAPITULO VIII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBOTT DAVID, R.S. ANDREWS. **Introducción a la Cromatografía**. España. Editorial Alhambra S.A. Tercera Edición. 1993.
2. ARA ROLDAN ALFREDO. **100 Planta Medicinales Escogidas: Una guía de plantas seleccionadas de todo el mundo seleccionadas por su valor terapéutico**. Madrid. Editorial EDAF. Cuarta Edición. 2004.
3. ARA ROLDAN ALFREDO. **40 Planta Medicinales**. Madrid. Editorial EDAF. Tercera Edición. 2003.
4. ARELLANO JIMENEZ PEDRO. **El libro verde, Guía de Recursos Terapéuticos Vegetales**. Perú. Editado por Gustavo Adolfo Aguirre. Primera Edición. 1992.
5. BURNEO PALACIOS, ZAYDA LORENA. **DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS TOTALES DE DOCE ESPECIES VEGETALES**

- NATIVAS DEL SUR DEL ECUADOR.** Tesis previa a la obtención de Título Ingeniería Química. Loja. Universidad Técnica Particular de Loja.2009.
6. **D. BLAS LÁZARO É IBIZA. Plantas Medicinales.** Barcelona. Editorial MAXTOR. Primera Edición. 2008.
  7. **DOMINGUEZ XORGE A. Cromatografía en papel y en capa delgada.** Mexico. Editorial Chesneau. Primera Edición. 1975.
  8. **DOMINGUEZ XORGE A. Métodos de Investigación Fitoquímica.** México. Editorial Limusa. Primera Edición. 1973.
  9. **DOUGLAS A. SKOOG Y OTROS. Principios de Análisis Instrumental.** México. Editorial Edamsa Impresiones. Sexta Edición. 2008.
  10. **GONZÁLES ALCARAZ FRANCISCO. NOMENCLATURA DE QUIMICA ORGANICA.** Universidad de murcia. Editorial Ingramur. 1991.
  11. **HOSS REINHART. Recursos Botánicos con Potencial Biocida: Conceptos Básicos y Métodos de Análisis.** Perú. Editorial Grafico Stefany S.R. Lda. Primera Edición. 1999.

12. HUBERT NYSTEN PIERRE, **Manual de Medicina Práctica**, Francia. Traducido por el Doctor Lorenzo Sánchez Núñez. Primera Edición. 1918.
13. KUKLINSKI CLAUDIA. **Farmacognosia, Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural**. España. Editorial Omega. Primera Edición. 2003.
14. LOCK DE UGAZ OLGA. **Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de productos naturales**. Perú. Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Segunda edición. 1994.
15. MARCANO DEANNA, HASEGEWA MASAHISA. **Fitoquímica Orgánica**. Venezuela. Editorial Torino. Segunda Edición. 2002.
16. MARTINEZ M. ALEJANDRO, VALENCIA P. GLORIA A., JIMENEZ U. NORA, MESA MONICA, GALEANO J. ELKIN. **Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica**. Medellín. 2008.

17. MINISTERIO DEL AMBIENTE: PERÚ. **Flora del Perú**. Pág. 4.  
Febrero 2009.
18. MIRANDA MARTINEZ MIGDALIA. **Métodos de análisis de drogas y extractos**. La Habana. 2002.
19. MUÑOZ FERNANDO. **Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio Cultivo y Procesado**. México. Editorial Aedos.  
Primera Edición. 1996.
20. OLAYA FLORES JULIA MARIA, MENDEZ ALZAMORA JACOBO. **Guía de Prácticas y Productos Terapéuticos**. Colombia. Primera Edición. 2003.
21. OLIVERA PERCY, TAMARIZ CARMEN, CASTILLO FERNANDO Y MAXIMILIANO. **Características de suelo y usos tradicionales de especies vegetales en la Provincia de Huaraz, Ancash, Perú**. *Encuentro Científico Internacional*.  
Volumen 8: 44 a 47, (Numero 1). Enero 2011.
22. PAIVA MARCELO. **Tomo II, Fitoquímica, Química Agrícola**. Argentina. Editorial Talleres Gráficos. Primera Edición. 1964.

23. PASTO DANIEL J., CARL R. **Determinación de estructuras orgánicas.** España. Editorial Reverté. Primera Edición. 1981.
24. PRETELL CHICLOTE JOSÉ, OCAÑA VIDAL DAVID, JON JAP RICARDO, BARAHONA CHURA EMILIO. **Apuntes Sobre Algunas Especies Forestales Nativas de la Sierra Peruana.** Perú. Editorial INFOR. Primera Edición. 1985.
25. PROMANU. **Utilidades y Características Especies Leñosas Andinas.** Disponible en:  
<http://www.edym.com/pm/promanu/web07/28cap02anex04.pdf>.  
artículo web. Consultada el 27 de mayo del 2012.
26. REYNEL C. Y MARCELO J. **Proteáceas.** Serie Investigación y Sistematización, *Arboles de los Ecosistemas Forestales Andinos*. No.9:  
122 a 127. 2009.
27. SANCHEA VEGA ISIDORO, BRIONES ROJAS ALBERTO. **Nombres Vulgares de las Especies Vegetales de la Ladera del Valle de Cajamarca (Herbario PPEA).** Perú. Primera Edición. 1992.



28. SARANGO LOZANO, VERONICA ALEXANDRA. **DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA DE LOS EXTRACTOS TOTALES DE NUEVE ESPECIES VEGETALES NATIVAS DEL SUR DEL ECUADOR.** Tesis previa a la obtención de Bioquímico Farmacéutico. Loja. Universidad Técnica Particular de Loja. 2008.
29. SHARAPIN NIKOLAI. **Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos.** Colombia. Soporte Editorial. Primera Edición. 2000.
30. UNIVERSIDAD INTERNATIONAL MENÉNDEZ PELAYO (IUMP) Y UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. **Master en Biodiversidad en Breas Tropicales.** Disponible en: [http://www.rncalliance.org/WebRoot/rncalliance/Shops/rncalliance/4C3D/4F8B/D6F8/6FEB/C271/C0A8/D216/98EF/RCN\\_Cofradia\\_Loja.pdf](http://www.rncalliance.org/WebRoot/rncalliance/Shops/rncalliance/4C3D/4F8B/D6F8/6FEB/C271/C0A8/D216/98EF/RCN_Cofradia_Loja.pdf). artículo web. Consultada el 22 de mayo del 2012.
31. VALCÁRCEL CASES M., GÓMEZ HENS. **Técnicas Analíticas de Separación.** España. Editorial Reverté S.A. Primera Edición. 1988.

32. VERNAT VANACLOCHA Y SALVADOR CAÑIGUERAL.  
**Fitoterapia.** España. Editorial MASSON S.A. Cuarta Edición.  
2003.
  
33. WAGNER. H. Y BLADT S. **Plant Drug Analysis.** Editorial  
Springer. Alemania. Segunda Edición. 2001.
  
34. SOFTWARE. **ACD/CHEMSKETCH.**

## CAPITULO IX - ANEXOS

### Anexo 1: Matriz de consistencia

TEMA: "IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN LA PLANTA NATIVA CUCHARILLA (*OREOCALLIS GRANDIFLORA*)"

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	METODOLOGÍA	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES
¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> )?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla.	Los Metabolitos Secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla son Terpenoides, Esteroides, Compuestos Fenólicos y Alcaloides.	- Relacionando Y y Z con la teoría de Análisis Fitoquímico.	X = Metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla.	- Triterpenos y Esteroides - Compuestos fenólicos - Alcaloides.	-Compatibilidad de resultados obtenidos.
SUB-PROBLEMA	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICOS	METODOLOGÍA	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES
a) ¿Cómo se realiza la identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> )?	a) Realizar la identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> ).	a) La identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> ) es mediante la marcha fitoquímica preliminar.	Marcha fitoquímica preliminar: se dará la identificación con el uso de reactivos específicos para cada tipo de muestra.	Y = Identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> ).	- Reacción Lieberman - Reacción Shinoda - Reacción Dragendorff - Reacción Kedde - Reacción Borntrager - Reacción Catequinas	- Reactivos de coloración.
b) ¿Cómo se realiza la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> )?	b) Realizar la determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> ).	b) La determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> ) es mediante reacciones de coloración (ag. cromogénicos).	Cromatografía en capa fina: se dará la identificación con el uso de agentes cromogénicos.	Z = Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla ( <i>Oreocallis grandiflora</i> ).	-Reacciones cromogénicas que modifican las sustancias naturales ubicados en la superficie cromatográfica.	-Cromatofolios. -Reactivos de coloración. -Luz UV

Fuente: Elaboración propia.

**Relación de variables: X=f (Y, Z)**

**X: Metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).**

**Y: Identificación preliminar de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).**

**Z: Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en la planta nativa Cucharilla (*Oreocallis grandiflora*).**

## Anexo 2. Clasificación taxonómica de la planta cucharilla



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el reconocimiento de Nuestra Biodiversidad"

### CONSTANCIA N° 187-USM-2012

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama con hojas y flores), recibida de **Cindy Susan MEDINA GAMBOA** y **Christian Anthony CASTILLO OSORIO**, estudiantes de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao, ha sido estudiada y clasificada como: ***Oreocallis grandiflora*** (Lam.) R. Brown y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: PROTEALES**

**FAMILIA: PROTEACEAE**

**GENERO: *Oreocallis***

**ESPECIE: *Oreocallis grandiflora*** (Lam.) R. Brown

Nombre vulgar: ""

Determinada por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 10 de Julio de 2012



*Haydeé Montoya Ferreros*  
Dra. Haydeé Montoya Ferreros  
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

### Anexo 3: Constante dieléctrica de algunos solventes

SOLVENTES	CONSTANTE DIELECTRICA ( $\epsilon$ ) A 25°C
Hexano	1,89
Ciclohexano	2,02
1,4-dioxano	2,21
Tetracloruro de carbono	2,24
Benceno	2,28
Tolueno	2,38
Acetonitrilo	3,88
Éter etílico	4,34
Cloroformo	4,87
Acetato de etilo	6,02
Acido acético	6,15
Tetrahidrofurano	7,58
Diclorometano	9,14
Piridina	12,3
2-Butanol	15,8
1-Butanol	17,8
2-Propanol	18,3
1-Propanol	20,1
Acetona	20,7
Etanol	24,3
Metanol	33,6
Glicerina	43,0
Agua	78,3

Fuente: Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos, (Nikolai Sharapin, 2000) consultada el 19-07-12.

#### Anexo 4: Cuadro de Indicadores de colores

RELACIÓN DE COLORES	INTENSIDADES		
	+	++	+++
<b>Amarillo</b>			
<b>Verde limón</b>			
<b>Verde oscuro</b>			
<b>Anaranjado</b>			
<b>Rojo</b>			
<b>Celeste</b>			
<b>Morado</b>			
<b>Marrón</b>			
<b>Negro</b>			

Donde:

Reacción positiva moderada (+)

Reacción positiva intensa (++)

Reacción positiva muy intensa(+++)

## **Anexo 5: Preparación de placas cromatográficas silica gel 60G**

- Se limpió los portaobjetos de dimensiones 25x75mm con disolución jabonosa, se enjuagó minuciosamente con agua destilada y se secó.
- Se preparó una pasta formada por gel de sílice/agua en una proporción de 1/2, luego se procedió a mezclar bien obteniendo finalmente una pasta homogénea (véase la figura N° 9.1).

**FIGURA N° 9.1**

### **PREPARACIÓN DE LA PASTA PARA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

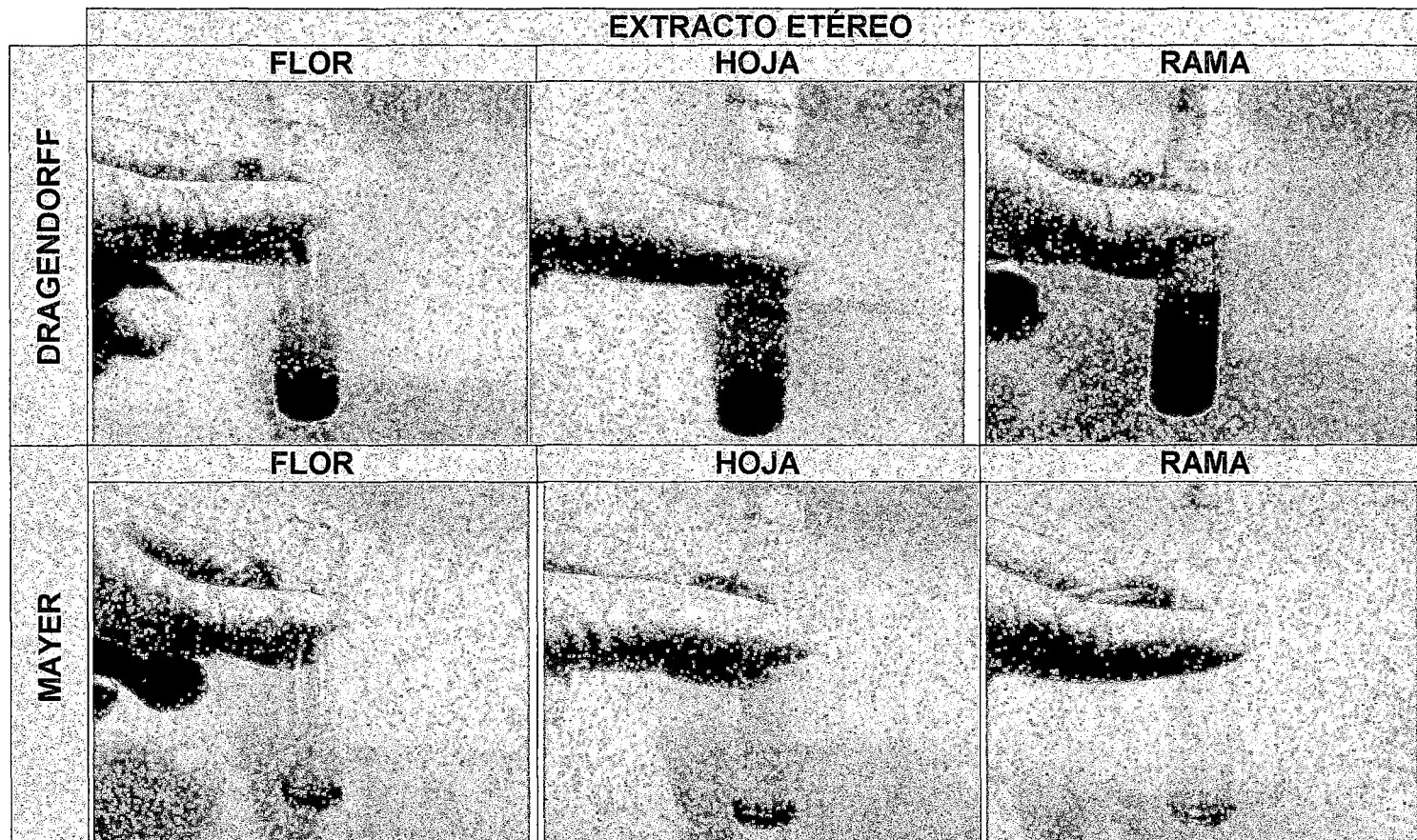


Fuente: Elaboración propia.

- Se cogió por los extremos dos portaobjetos, juntos por sus caras más extensas y se sumergió en la pasta separándolos a continuación. Debe quedar una capa fina y homogénea sobre cada portaobjeto.
- Se dejó secar al aire.
- Una vez seco el gel al aire, se colocó los portaobjetos en una estufa a 100°C durante una hora.

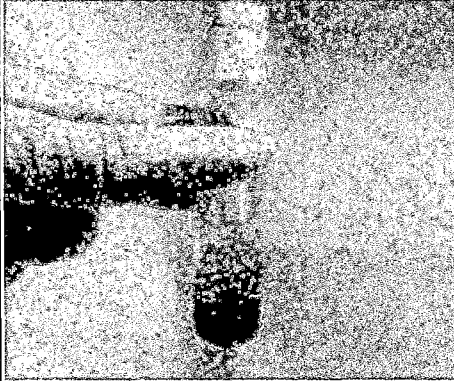
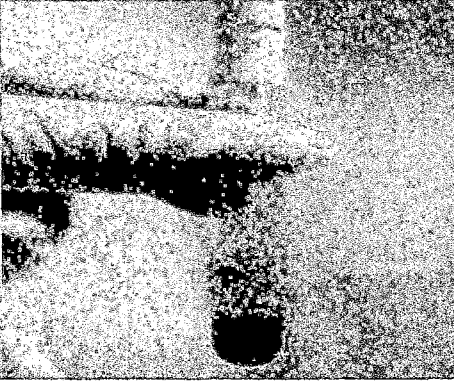
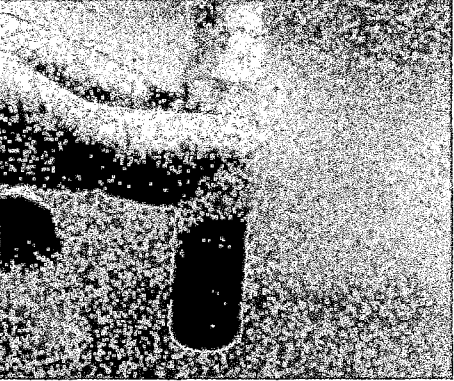
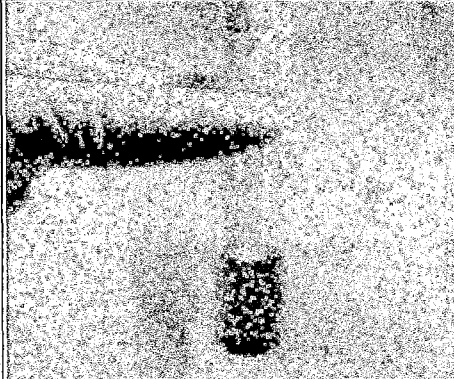
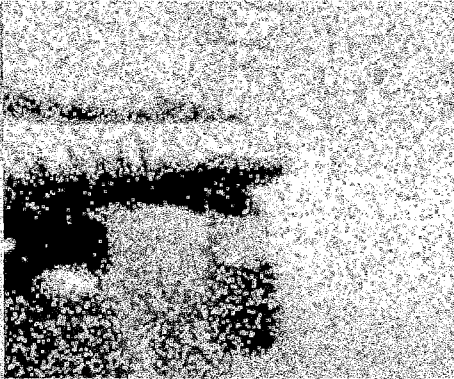
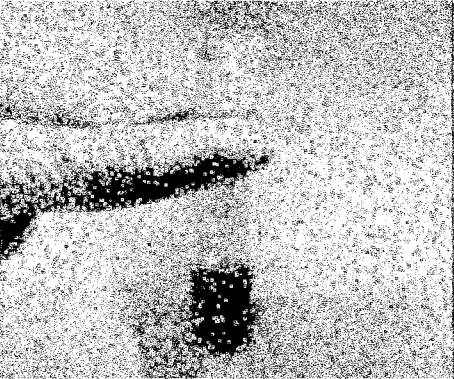
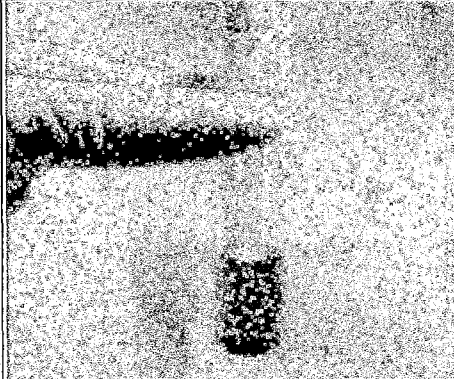
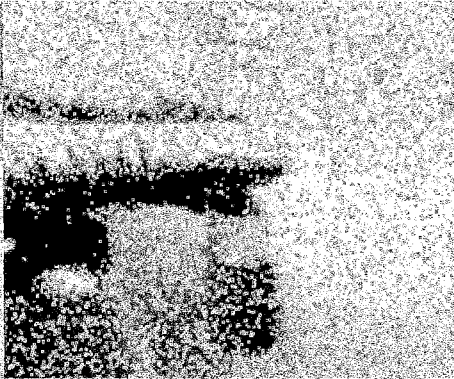
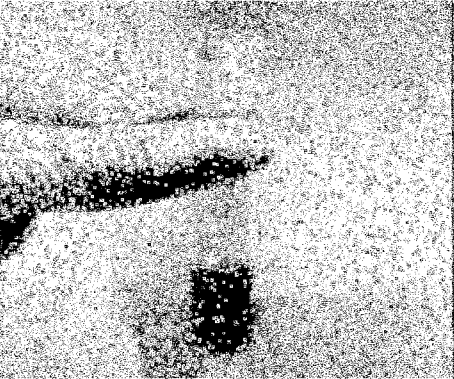
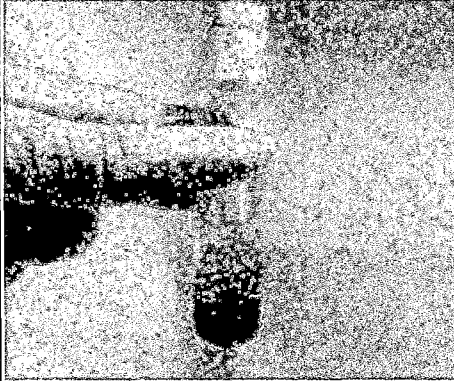
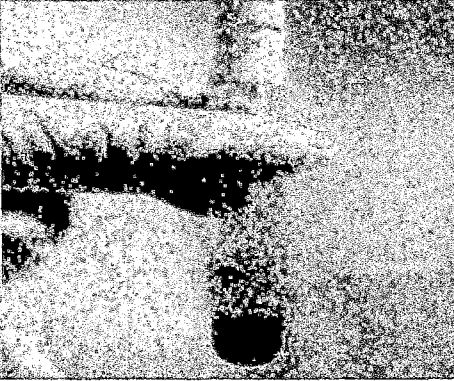
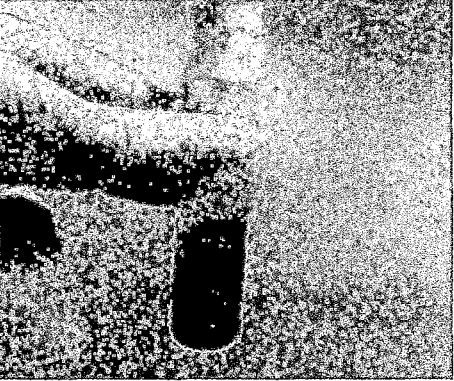
Anexo 6: Fotos de ensayos preliminares

FIGURA N° 9.2  
PRUEBAS PRELIMINARES DEL EXTRACTO ETÉREO



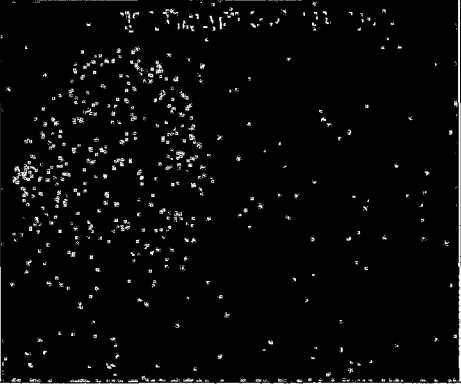


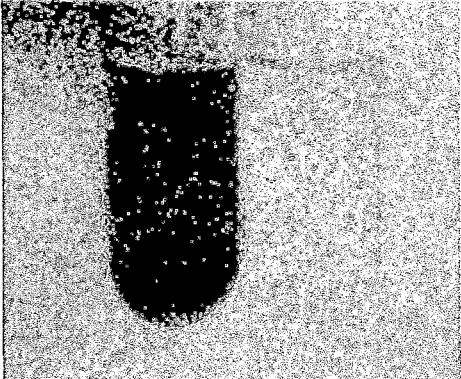
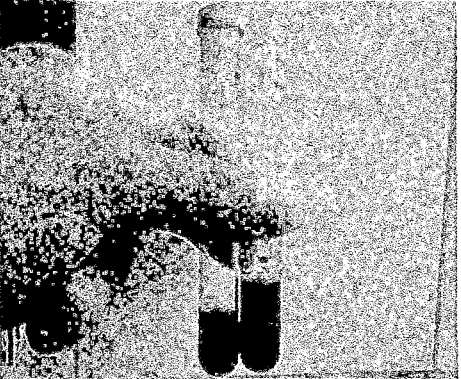
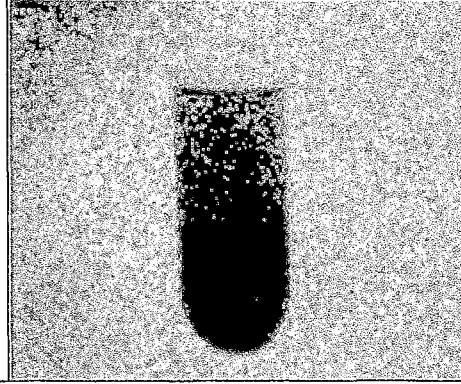
Fuente: Elaboración propia.



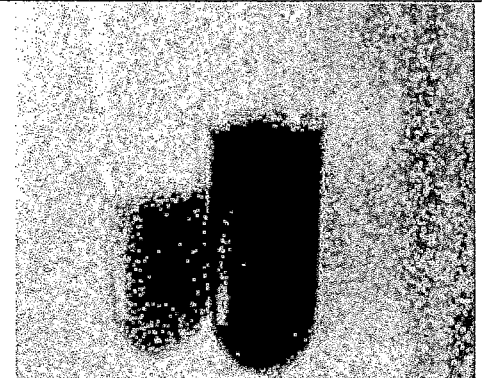
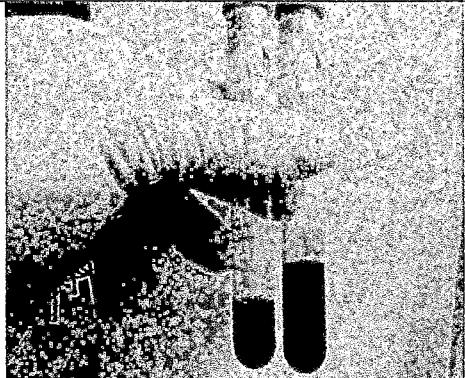

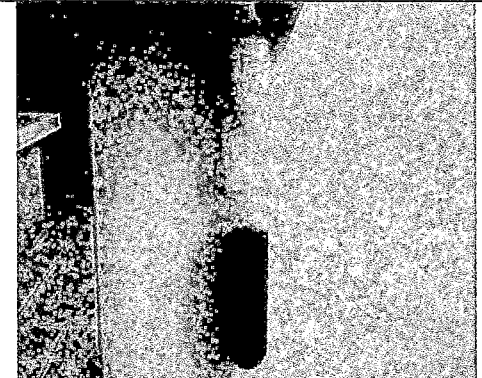
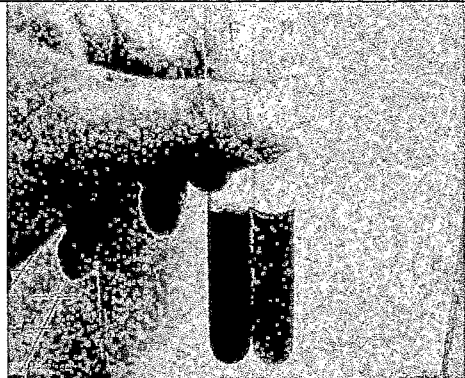
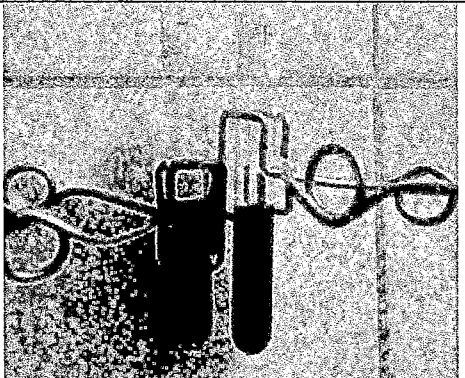
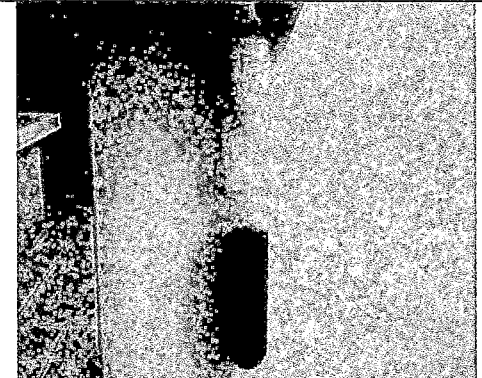
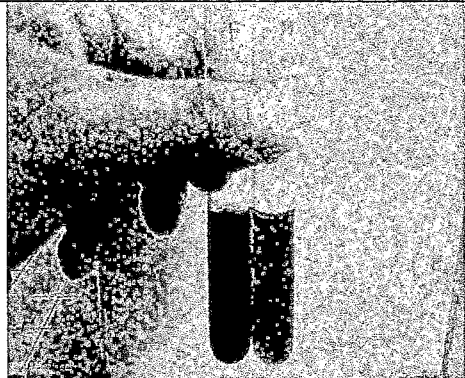
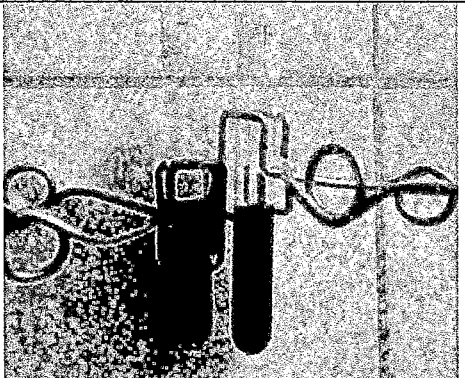
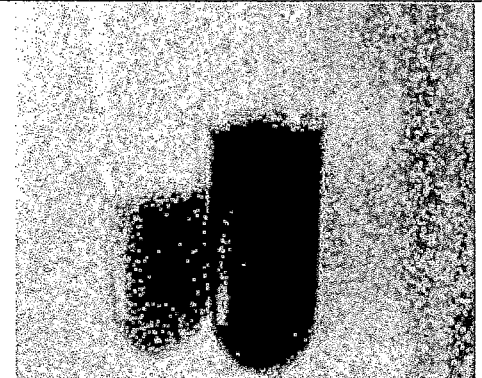
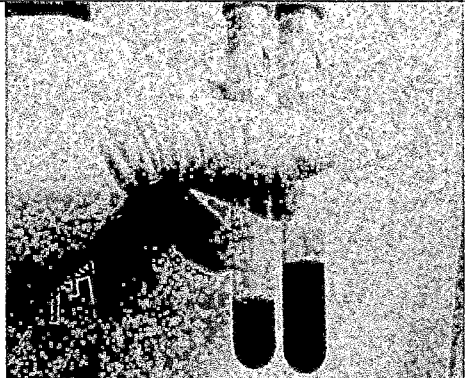

		EXTRACTO ETÉREO		
		FLOR	HOJA	RAMA
WAGNER				
				
LIEBERMAN-BUCHARD				
				

Fuente: Elaboración propia.

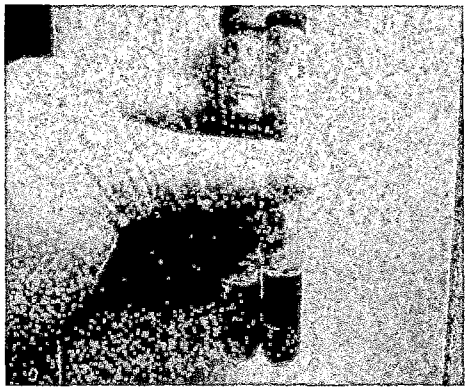
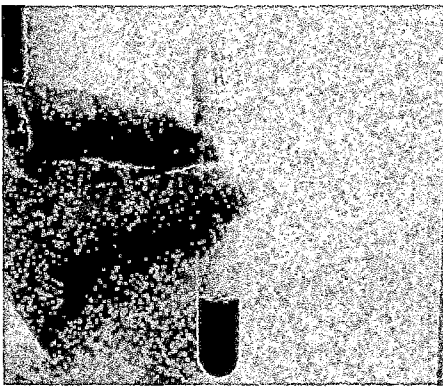
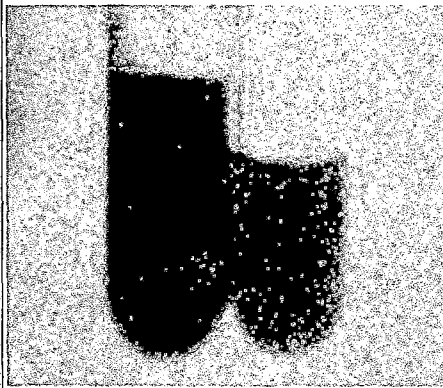
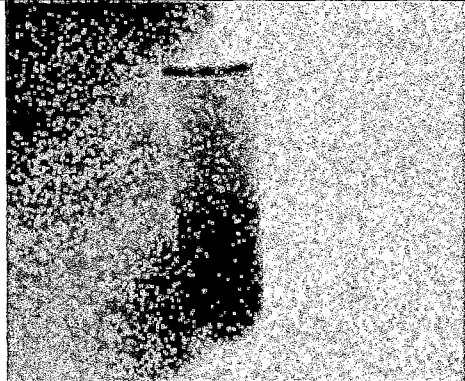
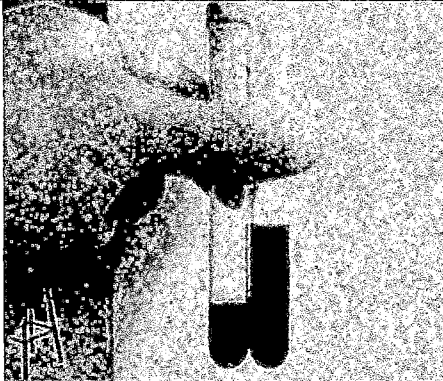
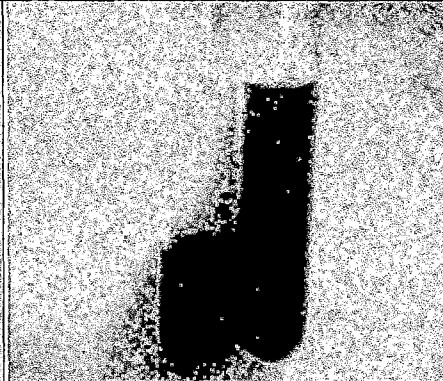
**FIGURA N° 9.3**  
**PRUEBAS PRELIMINARES DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO**

		EXTRACTO ALCOHÓLICO		
		FLOR	HOJA	RAMA
CATEQUINAS				
LIEBERMAN - BUCHARD				

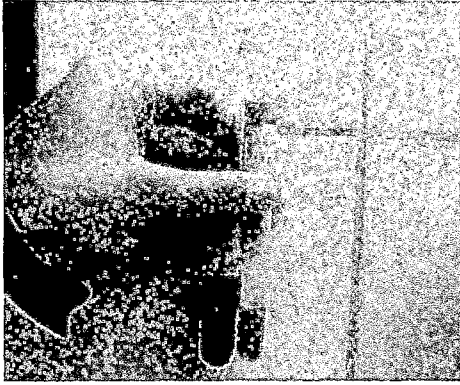
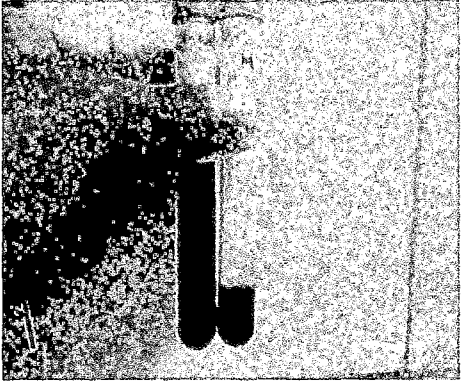
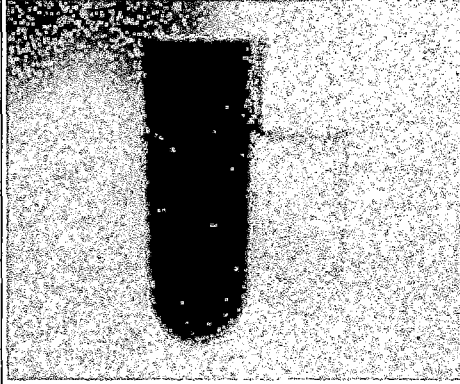
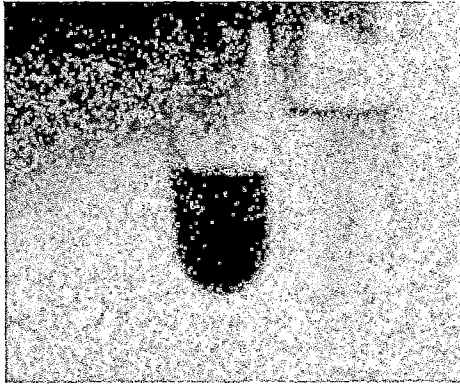

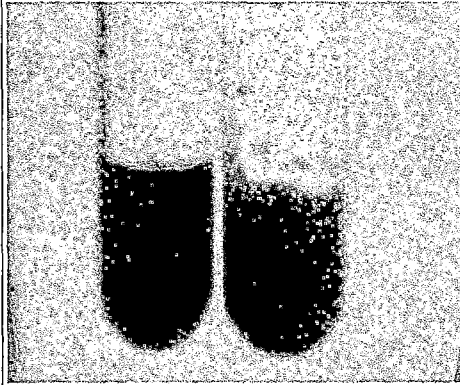
Fuente: Elaboración propia.

		EXTRACTO ALCOHÓLICO		
		FLOR	HOJA	RAMA
CLORURO FERRICO				
				
NINHIDRINA				
				

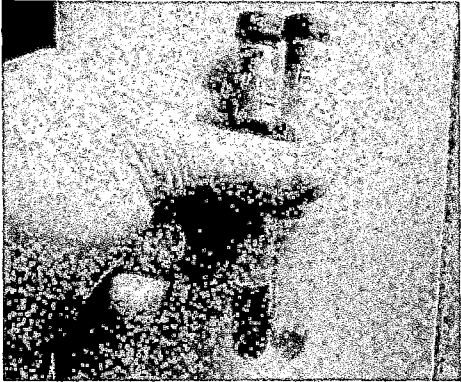
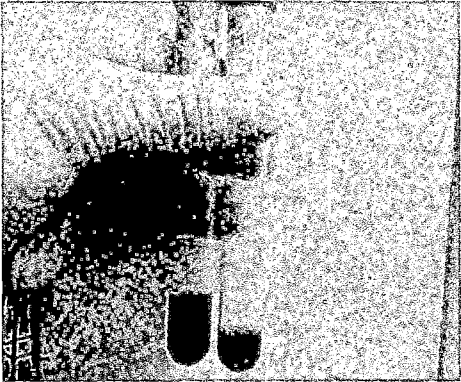
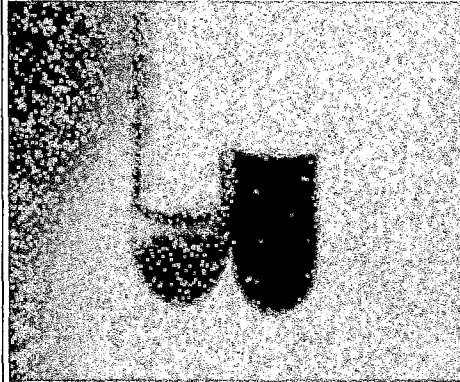
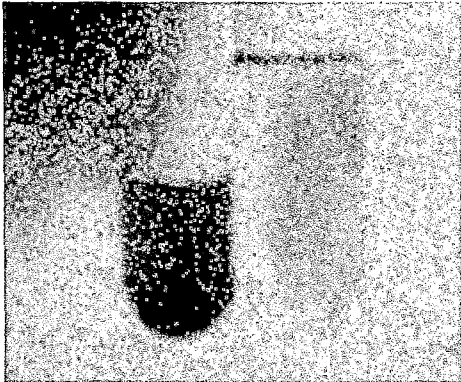
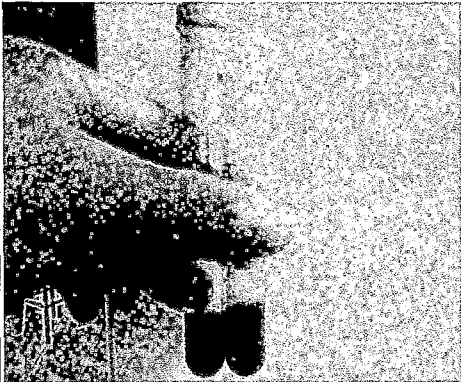
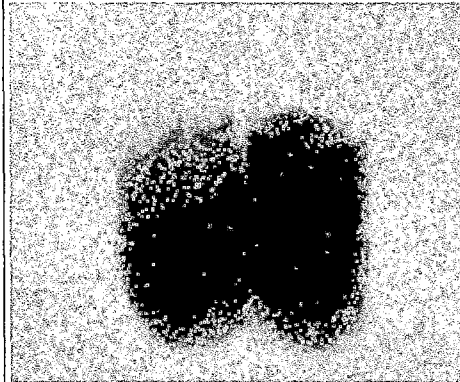
Fuente: Elaboración propia.

		EXTRACTO ALCOHÓLICO		
		FLOR	HOJA	RAMA
BORNRAGER				
SHINODA				

Fuente: Elaboración propia.


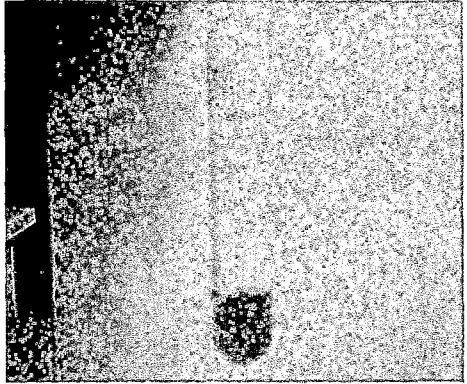
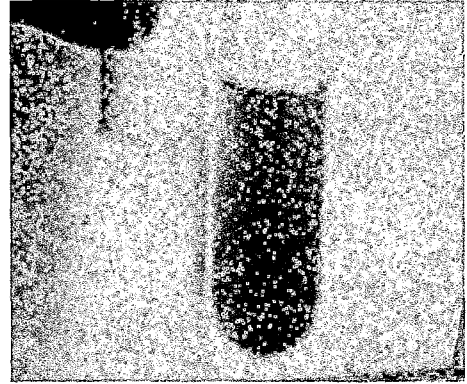
		EXTRACTO ALCOHÓLICO		
		FLOR	HOJA	RAMA
ANTOCIANINA				
				

Fuente: Elaboración propia.

		EXTRACTO ALCOHÓLICO		
		FLOR	HOJA	RAMA
MAYER				
WAGNER				

Fuente: Elaboración propia.

FIGURA Nº 9.4  
PRUEBAS PRELIMINARES DEL EXTRACTO ACUOSO

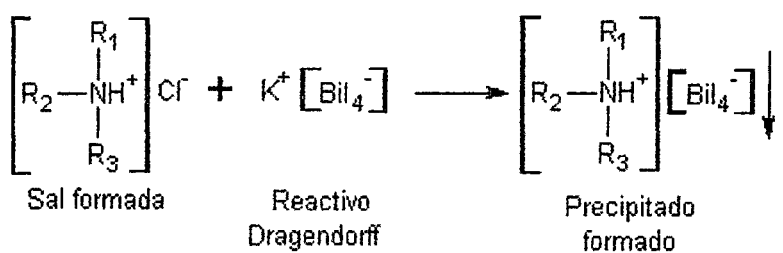
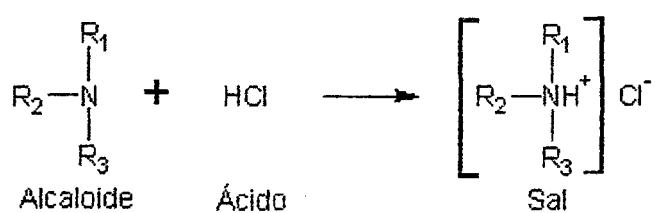
EXTRACTO ACUOSO			
	FLOR	HOJA	RAMA
SHINODA (NaOH)			

Fuente: Elaboración propia.

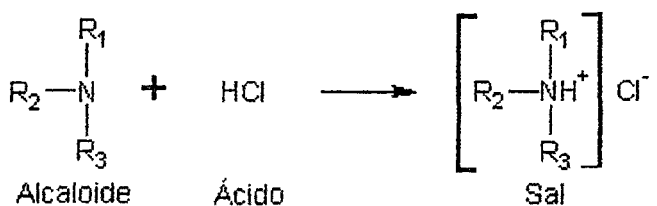
## Anexo 7: Reacciones químicas de la marcha preliminar

### 7.1 Alcaloides:

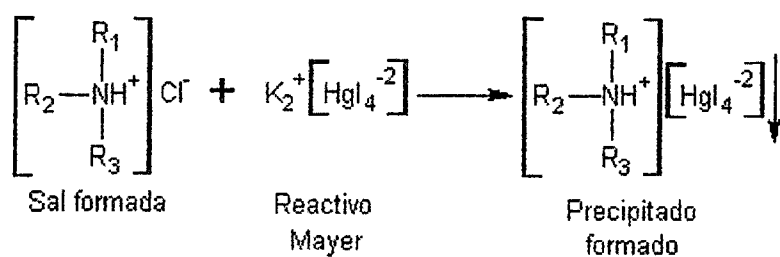
#### a) Ensayo de Dragendorff:



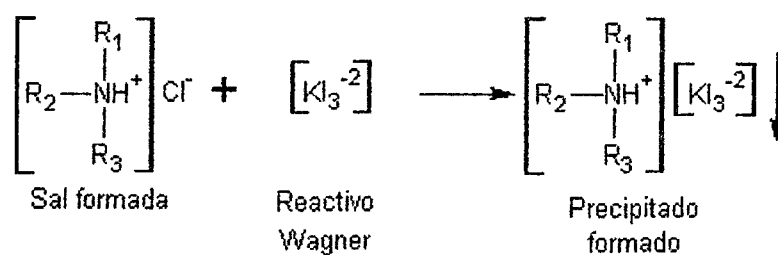
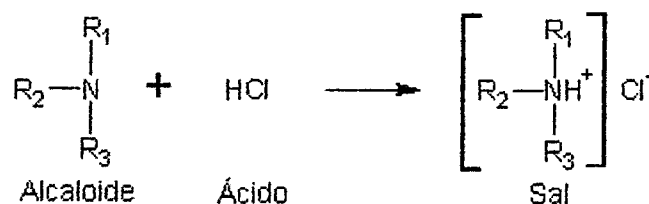
#### b) Ensayo de Mayer:



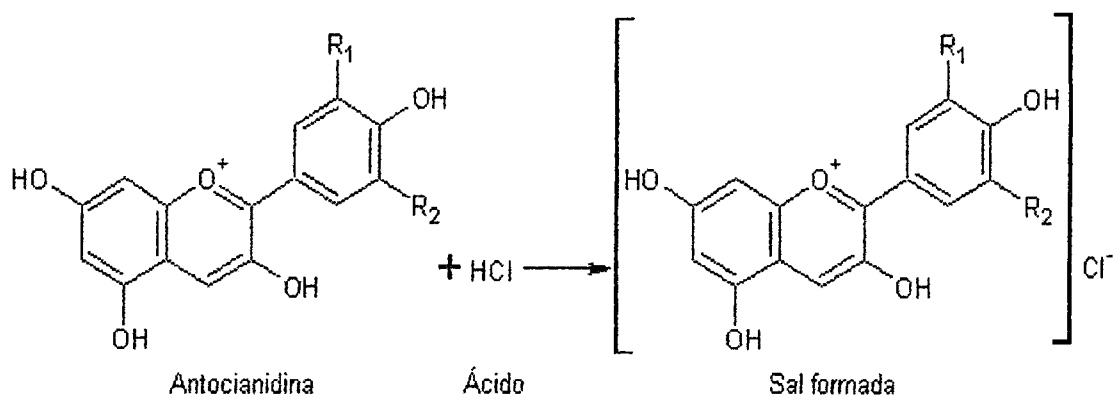


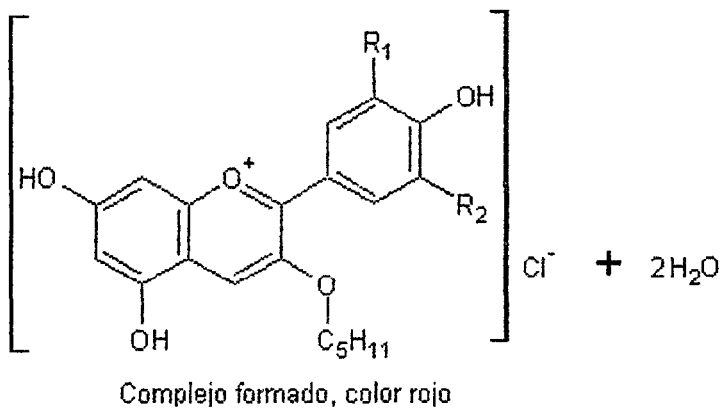
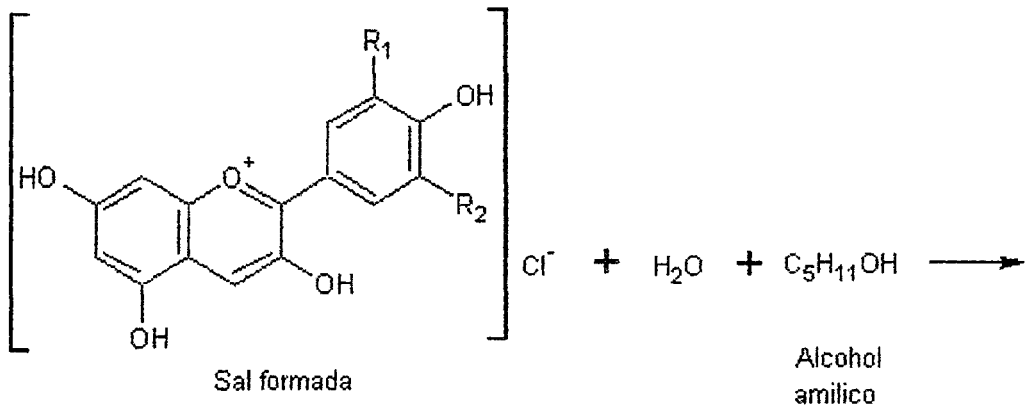


c) Ensayo de Wagner:

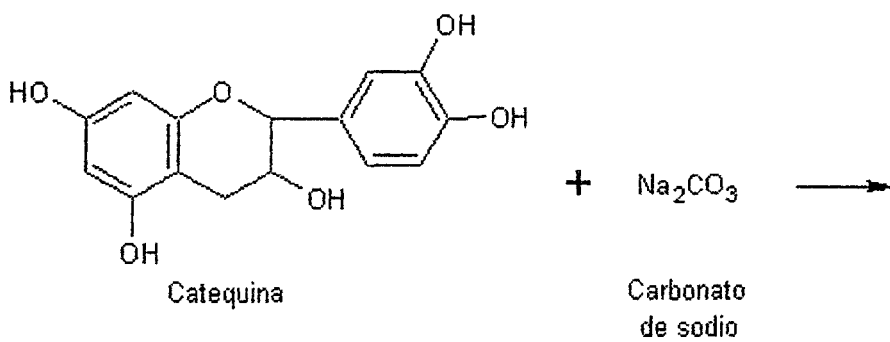


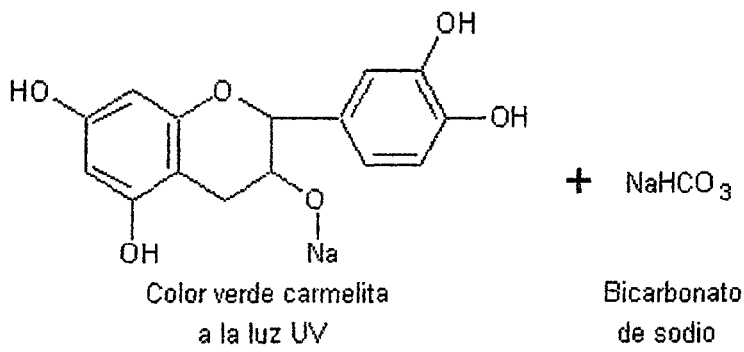
7.2 Ensayo de antocianinas:



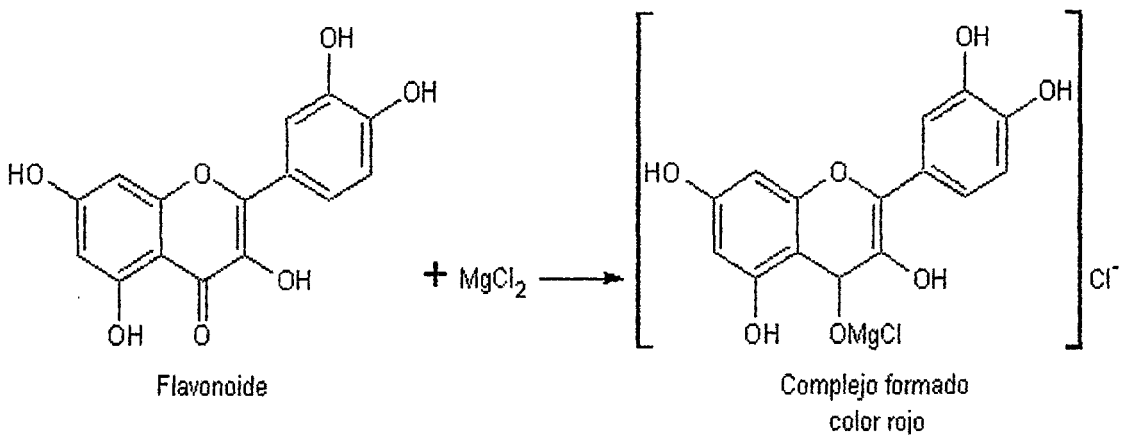


### 7.3 Ensayo de catequinas:

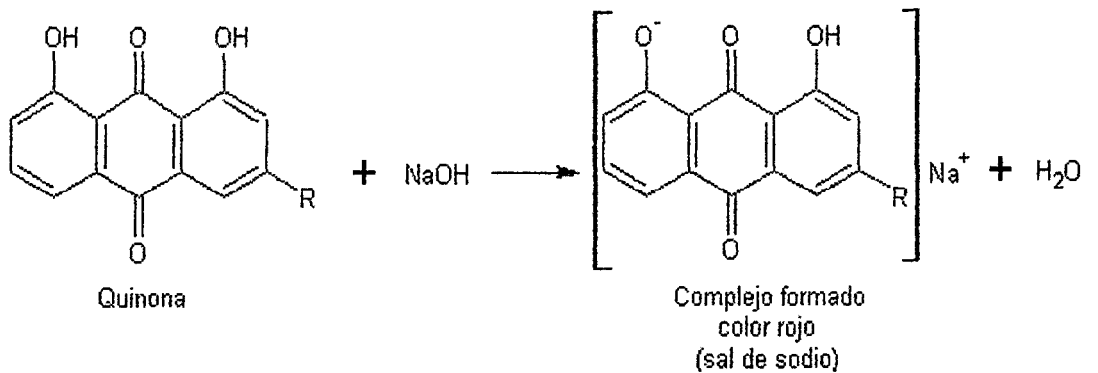




#### 7.4 Ensayo de Shinoda:

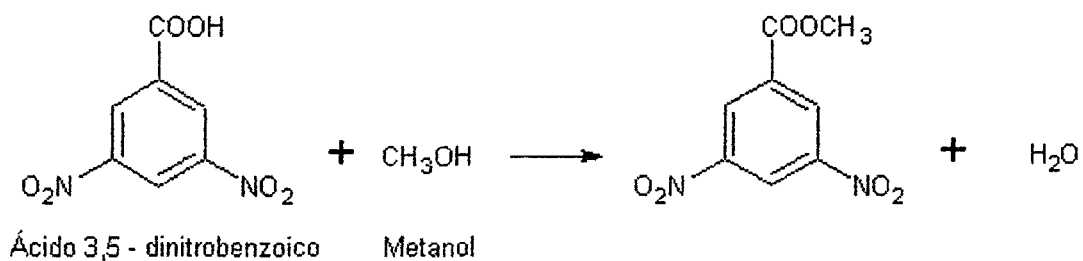


#### 7.5 Ensayo de Borntrager:

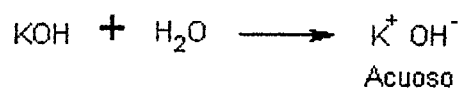


## 7.6 Ensayo de Kedde:

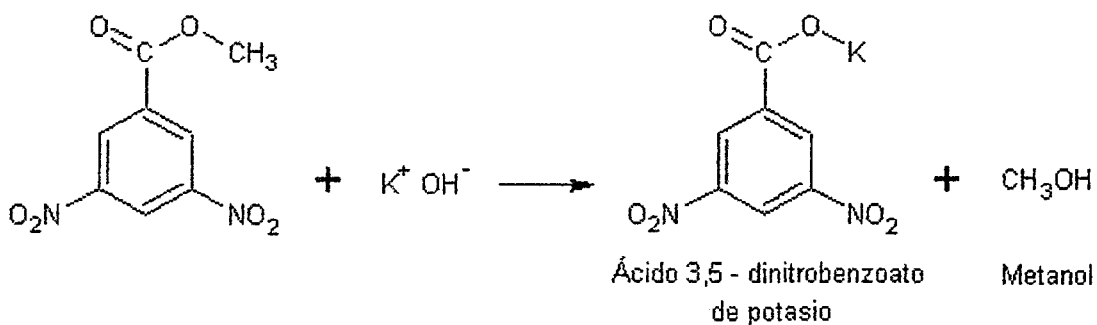
- Reacción de la 1º solución:



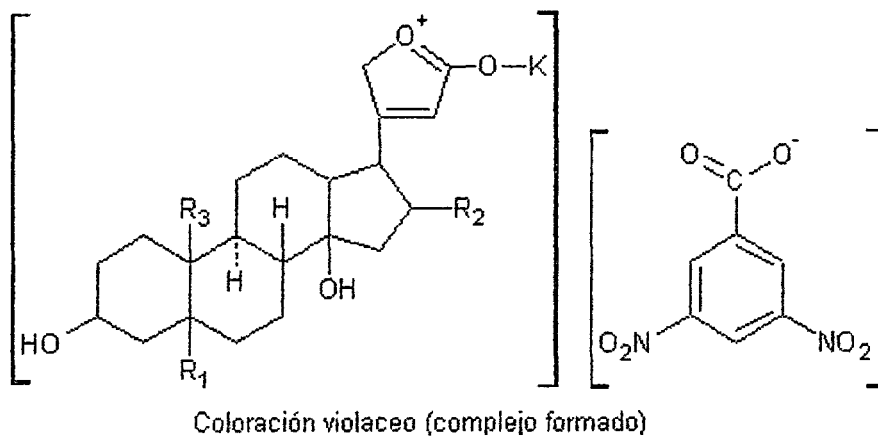
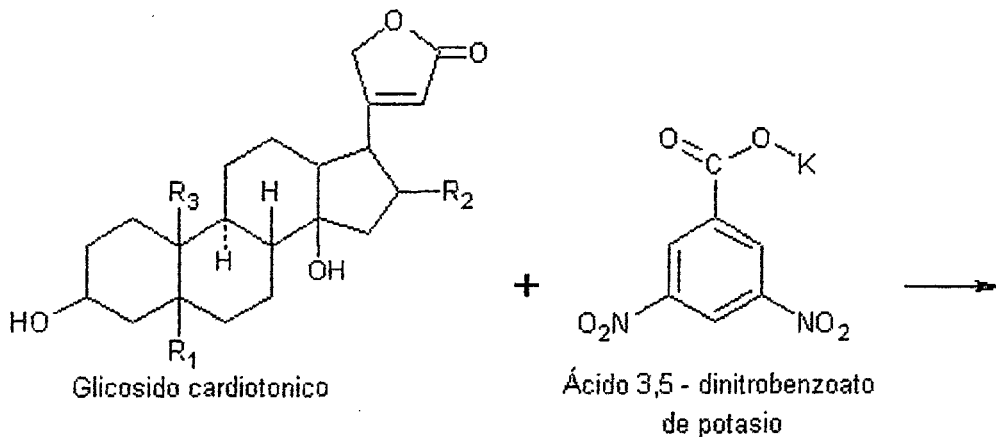
- Reacción de la 2º solución:



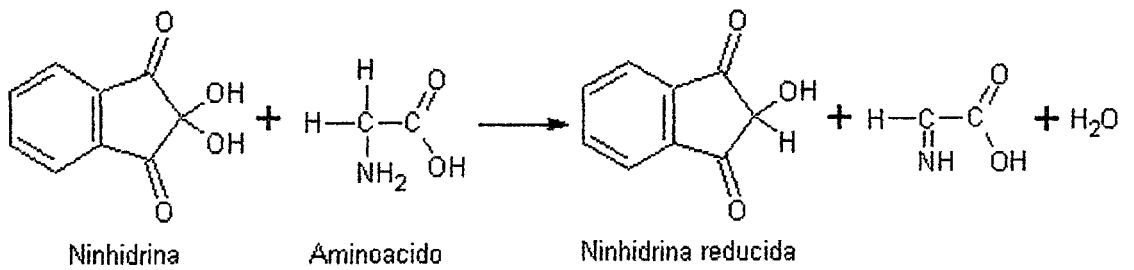
- Al mezclar ambas soluciones:

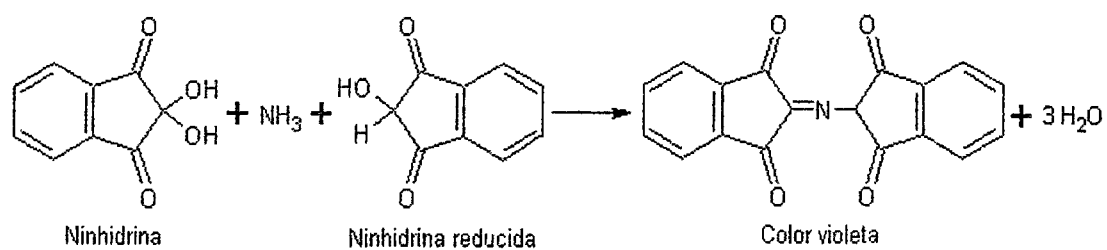
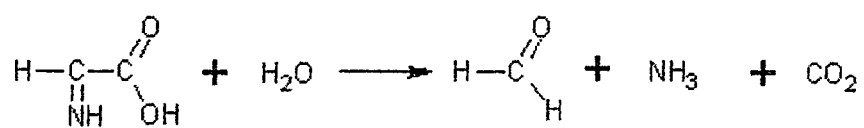


- La reacción que se produce con el glicosido cardiotónico presente:



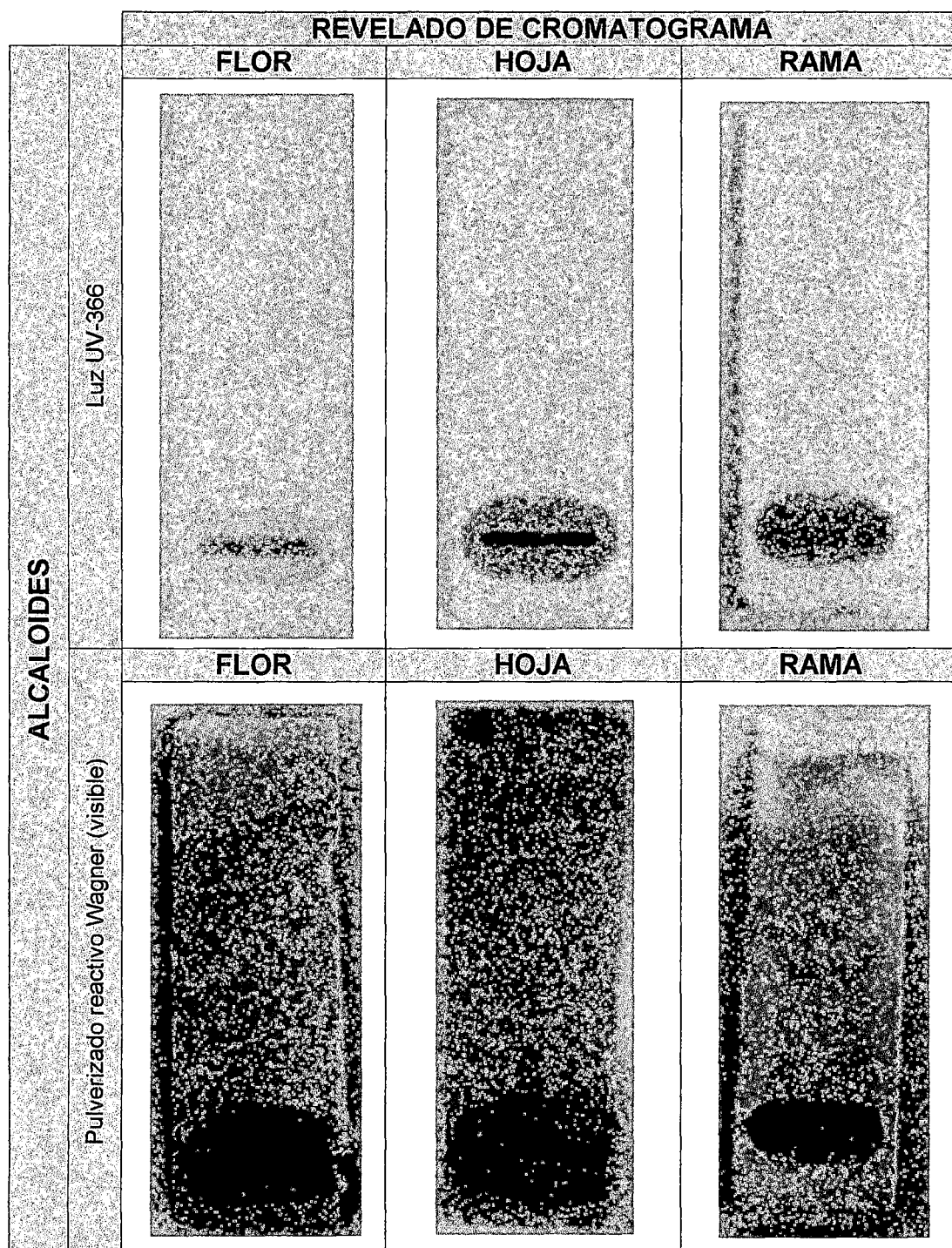
### 7.7 Ensayo de la ninhidrina:



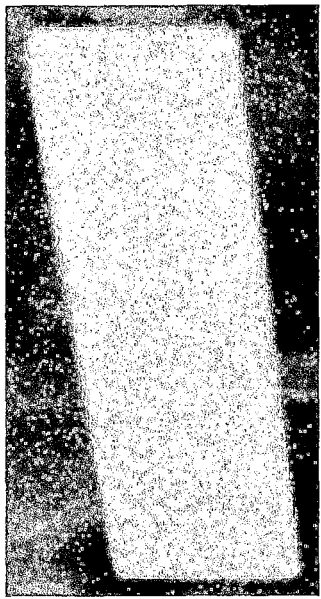

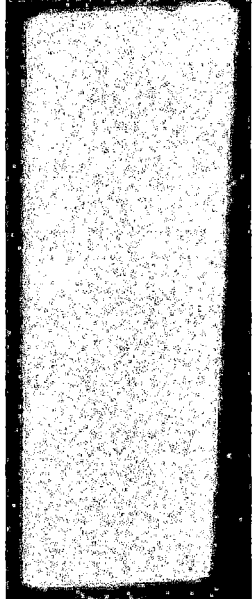
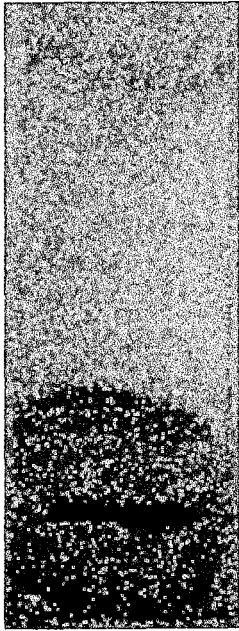
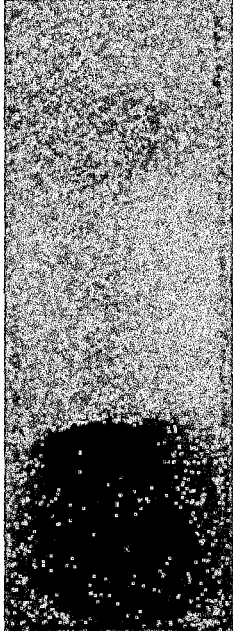
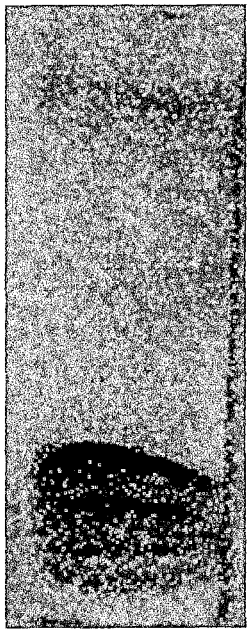


## Anexo 8: Fotos de cromatografía de capa fina

FIGURA N° 9.5  
FOTOS DE CROMATOGRAFIA

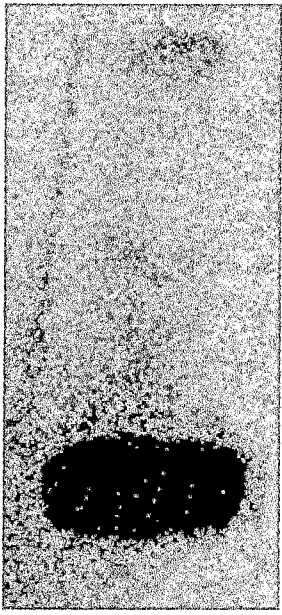

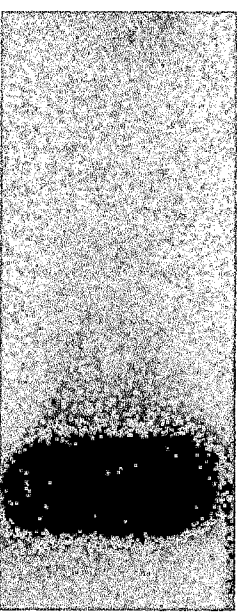

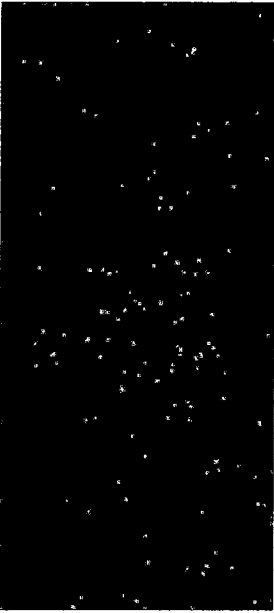
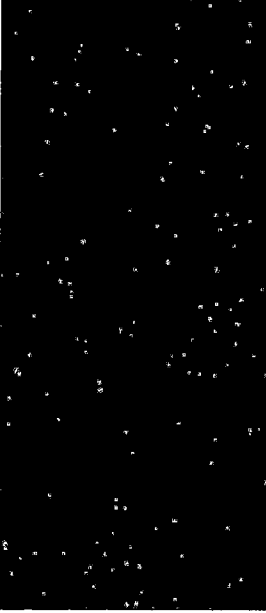


Fuente: Elaboración propia.

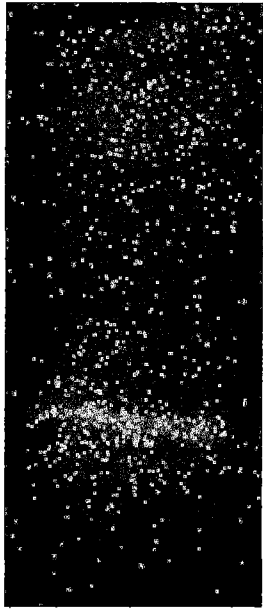
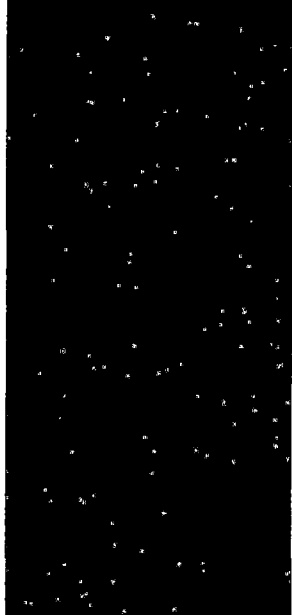
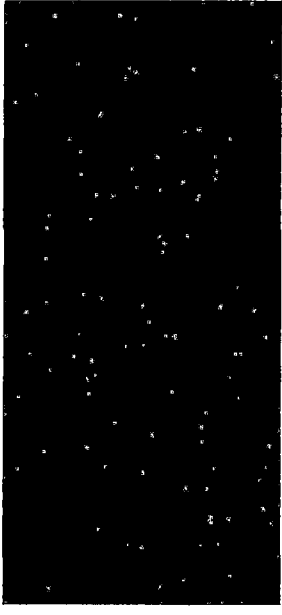

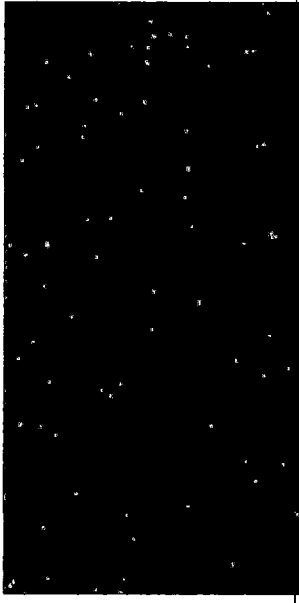
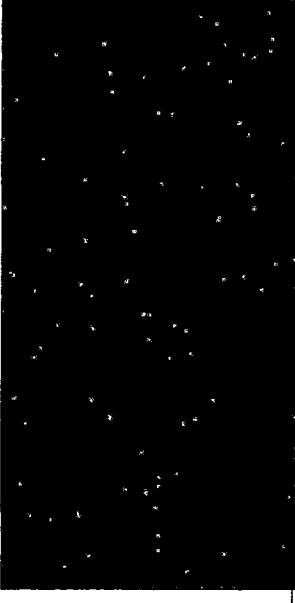
		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
<b>CATEQUINAS</b>	Pulverizado vainillina-acido clorhidrico (visible-placa sin calentar)			
	Pulverizado vainillina-acido clorhidrico (visible-placa calentada)			

Fuente: Elaboración propia.



		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	Luz UV-366nm			
	Pulverizado ácido sulfúrico-etanol (luz UV-366nm)			

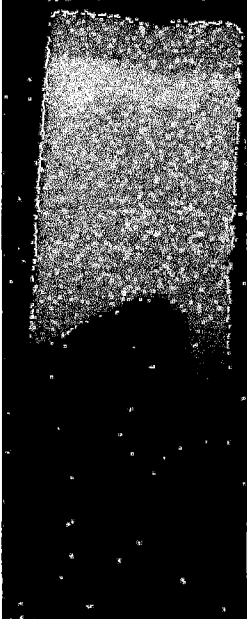

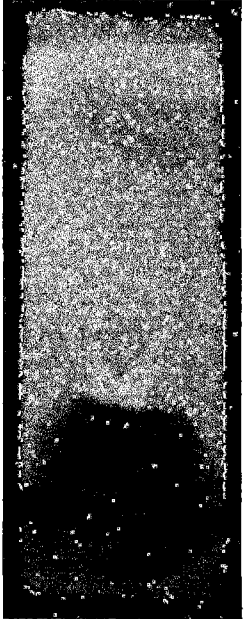
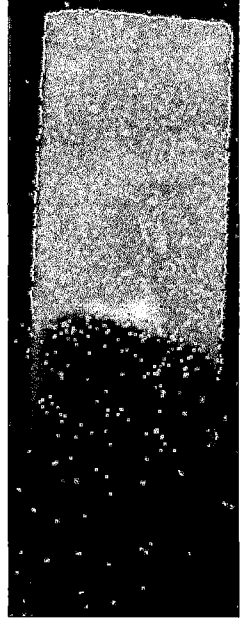

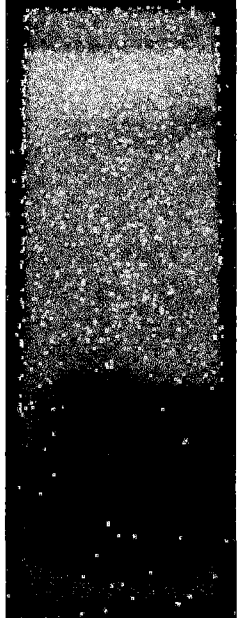
Fuente: Elaboración propia.

		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
FLAVONOIDES (Glicósidos)	Luz UV-366nm			
	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366nm)			

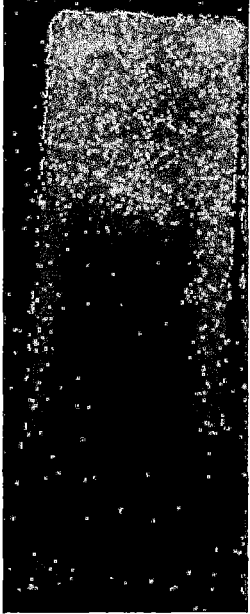
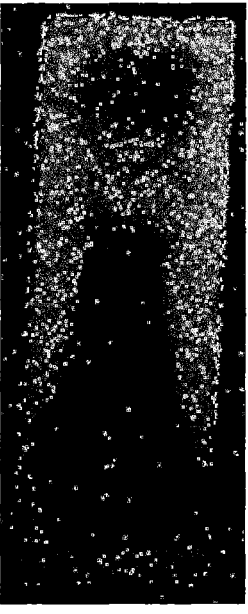
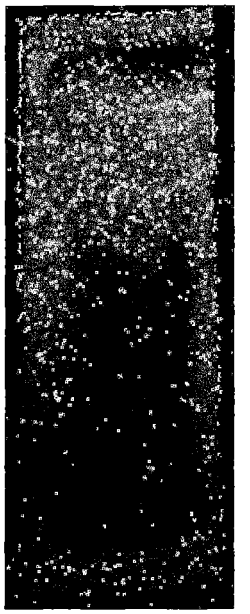
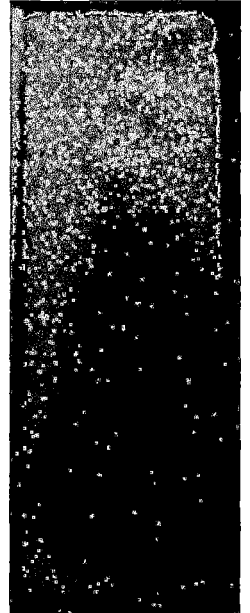
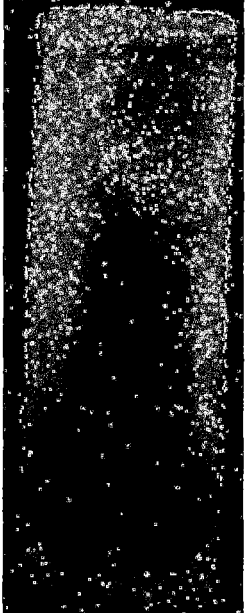
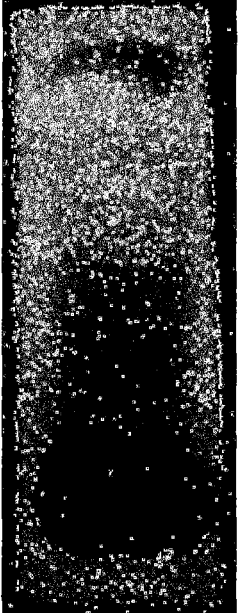
Fuente: Elaboración propia.

		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
FLAVONOIDEOS (Glicósidos)	Vapores de amoniaco, (luz UV-366nm)			
		FLOR	HOJA	RAMA
FLAVONOIDEOS (Agliconas)	Luz UV-366nm			
		FLOR	HOJA	RAMA


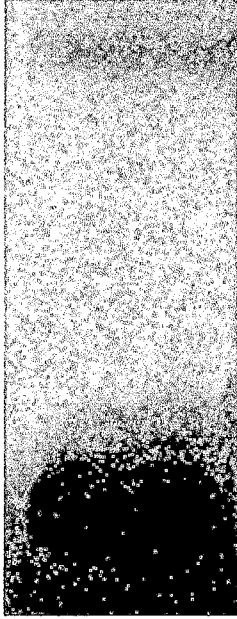

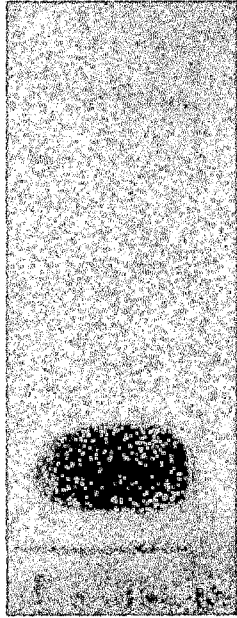
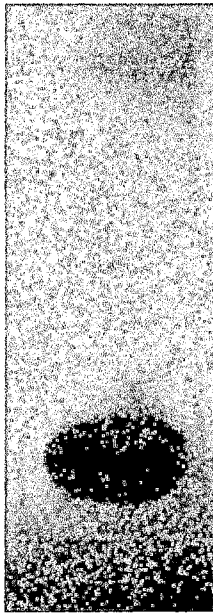

Fuente: Elaboración propia.

		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
FLAVONOIDEOS (Agliconas)	Pulverizado con cloruro de aluminio (luz UV-366nm)			
	Vapores de amoniaco, (luz UV-366nm)			

Fuente: Elaboración propia.

		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
QUINONAS	Luz UV-366nm			
	Pulverizado reactivo Borntrager (luz UV-366nm)			

Fuente: Elaboración propia.

		REVELADO DE CROMATOGRAMA		
		FLOR	HOJA	RAMA
TRITERPENOS Y ESTEROIDES	Reactivo vainillina-acido sulfúrico (visible)			
	Reactivo Libermann-Burchard ( luz UV-366nm)			

Fuente: Elaboración propia.