



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**  
*La Universidad Católica de Loja.*

**ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA**

TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

**Obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea Stipularis*  
L.f de la provincia de Loja.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

**AUTORA:** Muñoz Jaramillo, Jessica Tatiana.

**DIRECTOR:** Armijos Riofrío, Chabaco Patricio, Ph. D.

LOJA - ECUADOR

**2016.**

**APROBACIÓN DEL DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN.**

Ph.D. Chabaco Patricio Armijos Riofrío.

**DOCENTE DE LA TITULACIÓN.**

**De mi consideración:**

El presente trabajo de titulación “Obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea stipularis* L.f de la provincia de Loja” realizado por Jessica Tatiana Muñoz Jaramillo, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, 7 de Octubre del 2016.

f. ....

**Ph.D. Chabaco Patricio Armijos Riofrío.**

CI: 1102430509

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.

“Yo Jessica Tatiana Muñoz Jaramillo declaro ser autora del presente trabajo de titulación: “Obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea stipularis* L.f de la provincia de Loja”, de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo Ph.D. Chabaco Patricio Armijos Riofrío director del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad.”

f. ....

Jessica Tatiana Muñoz Jaramillo.

CI: 1719962969.

## **DEDICATORIA.**

Dedico este trabajo a mis padres, quienes han sido un pilar fundamental en mi vida y me han inspirado a formarme tanto espiritual como profesionalmente, siendo siempre ejemplo de perseverancia, constancia y superación.

A mis hermanos, familiares, y amigos que participaron de manera directa o indirecta en la realización de la tesis.

A mis profesores, quienes con motivación y sabiduría fueron una gran ayuda para la culminación del presente trabajo.

*Jessica Tatiana Muñoz Jaramillo.*

## **AGRADECIMIENTOS.**

En primer lugar agradezco a Dios por darme la vida y por todo lo bondadoso que ha sido en el transcurso de mi vida.

A mis padres quienes han estado en todo momento brindándome su apoyo y amor incondicional, permitiéndome con su esfuerzo concluir el primer escalón de mi formación profesional.

Al Ph.D Chabaco Armijos por brindarme la confianza de realizar el presente trabajo y por sus consejos brindados, y a todos los docentes que participaron en el desarrollo de dicha investigación.

Son muchas las personas que han sido parte esencial durante la realización de mi tesis, a los cuales les agradezco por su amistad, consejos, y ánimo tanto en buenos como en momentos difíciles, por todo aquello muchas gracias.

*Jessica Tatiana Muñoz Jaramillo.*

## ÍNDICE DE CONTENIDOS.

### CARÁTULA I

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN .....	ii
DEDICATORIA .....	iv
AGRADECIMIENTOS .....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDOS .....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABLAS.....	ix
ABREVIATURAS.....	x
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO .....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
1.1 Antecedentes.....	6
1.2 Plantas medicinales.....	6
1.3 Uso de plantas medicinales.....	7
1.4 Plantas en Latinoamérica.....	7
1.5 Plantas medicinales en Ecuador.....	8
1.6 Familia Ealeocarpaceae.....	8
1.7 Género <i>Vallea</i> .....	9
1.8 Especie <i>Stipularis</i> .....	9
1.9 Taxonomía de la especie <i>Stipularis</i> .....	10
1.10 Flavonoides.....	11
1.11 Técnicas cromatográficas.....	13
1.11.1 Cromatografía de capa fina.....	13
1.11.2 Cromatografía en columna.....	14
1.12 Resonancia Magnética Nuclear.....	15

<b>CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
2.1 Área de recolección.....	18
2.2 Secado, filtrado y maceración de la muestra. ....	18
2.3 Particiones del extracto total. ....	19
2.4 Obtención de los tres extractos: Acetato, Cloroformo y Metanol-Agua.....	19
2.5 Estudio de los extractos. ....	19
2.6 Cromatografía en columna.....	19
2.7 Cromatografía en capa fina.....	22
<b>Capítulo III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>23</b>
3.1 Extractos de la especie <i>Vallea stipularis</i> L.f. ....	24
3.2 Compuestos aislados a partir del extracto de acetato.....	24
3.3 Aislamiento de los flavonoides glucósidos Isoquercitrina y Astragalina.....	24
3.4. Identificación de los flavonoide glicosilados: Isoquercitrina y Astragalina.....	25
<b>CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>30</b>
4.1 Conclusiones.....	31
4.2 Recomendaciones.....	31
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>32</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>34</b>

## LISTA DE FIGURAS.

FIG.1. FOTOGRAFÍA DE LA ESPECIE <i>VALLEA STIPULARIS</i> L.F. ....	10
FIG.2. CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS PRINCIPALES FLAVONOIDES. ....	12
FIG.3. TIPOS DE FLAVONOIDES. ....	12
FIG.4. DETERMINACIÓN DEL R <sub>F</sub> (B/A). ....	14
FIG.5. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA.....	15
FIG.6. ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
FIG.7. CC. FRACCIÓN JM-53/54-15.....	22
FIG.8. TLC POLARIDAD 1:1 METANOL:AGUA.....	25
FIG.9. ESTUDIOS REALIZADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LOS FLAVONOIDES. ....	25
FIG.10. MOLÉCULA DE ISOQUERCITRINA.....	26
FIG.11. MOLÉCULA DE ASTRAGALINA.....	26



## LISTA DE TABLAS.

TABLA 1. DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DE LA ESPECIE STIPULARIS. ....	10
TABLA 2. FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO DEL EXTRACTO TOTAL DE ACETATO. ....	20
TABLA 3. FRACCIONAMIENTO CROMATOGRÁFICO DE LA FRACCIÓN JM-53/54-15. ....	21
TABLA 4. DATOS ESPECTRALES DE <sup>13</sup> C-NMR DEL FLAVONOIDE ISOQUERCITRINA. ....	27
TABLA 5. DATOS ESPECTRALES DE <sup>13</sup> C-NMR DEL FLAVONOIDE ASTRAGALINA. ....	28

## ABREVIATURAS.

<b>AcOEt.</b>	Acetato de etilo.
<b>CH<sub>3</sub>OH</b>	Metanol.
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Agua.
<b>CH<sub>3</sub>OD</b>	Metanol deuterado.
<b>CC.</b>	Cromatografía en columna.
<b>TLC.</b>	Cromatografía en capa fina.
<b>UV.</b>	Ultravioleta.
<b>Rf.</b>	Factor de Retención.
<b>NMR.</b>	Resonancia Magnética Nuclear.
<b><sup>1</sup>H-NMR.</b>	Resonancia Magnética Nuclear de Protón.
<b><sup>13</sup>C-NMR.</b>	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13.

## **RESUMEN.**

En la presente investigación se estudió las partes aéreas (hojas) de la planta *Vallea stipularis*., recolectada en la provincia Azuay, cantón Oña. Se secó, pesó y maceró las partes aéreas de la planta *Vallea stipularis* L.f., una vez filtrado el producto de maceración, se procedió a rota-evaporarlo, obteniendo como resultado un extracto total de 60.03 g. A partir del extracto total se realizó particiones con solventes de distinta polaridad, consiguiéndose 3 extractos, metanol-agua, cloroformo y acetato; éste último con un peso de 18.10 g, siendo el de mayor rendimiento con un 31.78%. Se trabajó con todos los extractos, obteniéndose los compuestos de interés a partir del extracto de acetato, para lo cual se realizó cromatografía en columna, y cromatografía en capa fina de la fracción JM-20/41-16; a dicha fracción se le realizó estudios de NMR ( $^1\text{H}$ -  $^{13}\text{C}$ ), con la finalidad de identificar los compuestos, dando como resultado dos flavonoides glicosilados: Astragalina e Isoquertricina.

### **Palabras clave:**

*Vallea stipularis* L.f. – Extracto de acetato – Flavonoides glicosilados – Astragalina – Isoquercitrina.

## **ABSTRACT.**

In this research the aerial parts (leaves) *Vallea stipularis* plant was studied, collected in the province Azuay, Oña Canton . It was dried , weighed and macerated the aerial parts of the plant *Vallea stipularis* L.f., after filtering the product of maceration, we proceeded to broken - evaporate, resulting in a total extract of 60.03 g .From the total extract partitions with different polarity solvents was performed , achieving three extracts, methanol - water, chloroform and ethyl; the latter weighing 18.10 g , being the highest performance with 31.78%. We worked with all extracts give the compounds of interest from acetate extract , for which column chromatography was performed, and thin layer chromatography of the JM -20 / 41-16 fraction; to this fraction we are studied NMR (  $^1\text{H}$  -  $^{13}\text{C}$  ), in order to identify compounds, resulting in two glycosylated flavonoids: Astragalin and Isoquercitrin.

## **Keywords.**

*Vallea stipularis* L.f - Extract acetate - Flavonoids glycosylated - Astragalin - Isoquercitrin .

## **Introducción.**

La presente investigación se refiere al tema de obtención de metabolitos secundarios a partir de la planta *Vallea stipularis* L.f. de la provincia de Loja, el cual es de gran importancia ya que las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Las plantas medicinales contienen sustancias químicas conocidas como principios activos, poseen acción farmacológica y pueden tener un efecto positivo o negativo sobre el organismo. Su utilidad muchas veces específica es la de actuar como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud. La droga se la obtiene de partir de la parte útil del vegetal, es decir de la parte vegetal que contiene los principios activos de ésta (Castro et al., 2013).

En la actualidad, el conocimiento que se posee de las plantas medicinales ha sido una herramienta clave para el uso extendido de éstas, logrando así la difusión de sus diversas propiedades; aunque existen grandes avances en la medicina, una importante parte de la población sigue haciendo uso de la medicina tradicional. La industria farmacéutica actual se encuentra basada en los conocimientos tradicionales para realizar tanto la síntesis y producción de fármacos, muchos de éstos son replicados sintéticamente u obtenidos mediante el aislamiento de principios activos de plantas tradicionales (Estrada & Imbaquingo, 2015).

Ecuador ha dado origen a uno de los medicamentos más importantes para la humanidad, a través de la Cinchona, cuyo compuesto Quinina fue descubierto en el siglo XVII y utilizado para la cura del paludismo (Buitrón, 1999).

La familia Elaeocarpaceae contiene 10 géneros y aproximadamente 520 especies, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del globo. En investigaciones realizadas acerca de esta familia se han encontrado la presencia de metabolitos secundarios como es el caso de alcaloides, compuestos fenólicos, terpenos, taninos, saponinas y flavonoides (Marquéz et al., 2007).

Ampliamente distribuidos en el reino vegetal, los flavonoides forman parte de una extensa familia de metabolitos secundarios polifenólicos, que han adquirido un gran interés e importancia, ya que se les otorga efectos antioxidantes, antibacterianos, antialérgicos, antivirales, antiinflamatorios, antimutágenos, vasorrelajantes, incluso efectos antineoplásicos entre los más importantes (Puebla, Guerrero, & Correa, 2004).

En el presente estudio se pretende comprobar la existencia de metabolitos secundarios presentes en la familia Elaeocarpaceae reportados por Marqu ez et al., 2007, en específico en la especie *Vallea stipularis* L.f debido a que en el país no se han realizado investigaciones acerca de ésta.

**CAPÍTULO I**  
**MARCO TEÓRICO**

## **1.1 Antecedentes.**

El ser humano desde la antigüedad ha buscado cubrir sus necesidades básicas por lo que tuvo que aprender a cazar, vestirse y curarse para llegar a conseguir su bienestar, gran parte de las soluciones las ha encontrado en la naturaleza. Nuestros ancestros, cazadores, y recolectores nómadas, para sobrevivir debían ser muy cautelosos con la naturaleza; estas sociedades por más primitivas que parezcan practicaban a base de ensayo-error las ciencias de hoy en día como la arquitectura, al construir sus viviendas, la física, al dominar el fuego, y la medicina al ser capaces de curar los males que padecían (Gallardo, et al., 2004).

Con el tiempo estas tribus fueron evolucionando y el conocimiento pudo ser difundido con mayor facilidad al existir un lenguaje más estructurado. Así muchas de las culturas llamadas desarrolladas dieron un mejor uso y manejo de los conocimientos ancestrales a base de recursos naturales enfocados en el bienestar, los cuales estuvieron muy ligados al ámbito mágico-religioso; dicho saber se ve reflejado en culturas de América, Asia, Europa y África, entre otras (Gallardo, et al., 2004).

En la actualidad, el conocimiento que se posee de las plantas medicinales ha sido una herramienta clave para el uso extendido de éstas, logrando así la difusión de sus diversas propiedades; aunque existen grandes avances en la medicina, una importante parte de la población sigue haciendo uso de la medicina tradicional. La industria farmacéutica actual se encuentra basada en los conocimientos tradicionales para realizar tanto la síntesis y producción de fármacos, muchos de éstos son replicados sintéticamente u obtenidos mediante el aislamiento de principios activos de plantas tradicionales. (Estrada & Imbaquingo, 2015).

## **1.2 Plantas medicinales.**

Las plantas medicinales poseen un doble papel, tanto como fuente de salud así como de ingresos económicos para manufactureros de medicinas basadas en plantas, cultivadores, comerciantes y colectores, además contribuye de manera importante al proceso de desarrollo. No obstante, la materia prima requerida no siempre está a disposición; en algunos casos, especies con valor medicinal se encuentran en poca cantidad y esto plantea una amenaza tanto para el bienestar humano como para las especies silvestres (Buitrón, 1999).



### **1.3 Uso de plantas medicinales.**

Las plantas medicinales son utilizadas para diversos fines como curar, mitigar y combatir enfermedades humanas, estudiadas con mayor enfoque en la región andina; muchas investigaciones acerca de los usos de las plantas medicinales de especies vegetales andinas se han realizado con la intención de que los ecuatorianos las incorporen en su vida cotidiana, y utilicen las plantas como análogos a las medicinas convencionales (Balslev, Navarrete, de la Torre & Macía 2008).

Las plantas medicinales contienen sustancias químicas conocidas como principios activos, poseen acción farmacológica y pueden tener un efecto positivo o negativo sobre el organismo. Su utilidad muchas veces específica es la de actuar como droga o medicamento que alivie la enfermedad o restablezca la salud. La droga se la obtiene de partir de la parte útil del vegetal, es decir de la parte vegetal que contiene los principios activos de ésta (Castro et al., 2013).

Estas plantas también poseen considerables aplicaciones en la medicina moderna, entre otras, constituyen fuente directa de agentes terapéuticos; son destinadas como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más complejos, la estructura química de sus principios activos puede servir como modelo para la fabricación de drogas sintéticas y tales principio pueden ser utilizados como marcadores taxonómicos en busca de nuevos medicamentos (Oliveira, Velázquez & Bermúdez, 2005).

Las plantas medicinales y sus productos derivados, han sido milenariamente utilizados en la medicina tradicional, y en la actualidad son cada vez más preciados como materia prima en la elaboración de medicamentos modernos para la industria farmacéutica y herbal, cuyo mercado, igualmente importante sigue una tendencia hacia un aumento significativo (Buitrón, 1999).

### **1.4 Plantas en Latinoamérica.**

Un sinnúmero de plantas han sido protagonistas del origen de compuestos y medicinas importantes para la cura de enfermedades muy graves, que han repercutido en el estado de salud de la humanidad a lo largo del tiempo (Buitrón, 1999).

Latinoamérica tiene un papel muy importante en el aporte de compuestos y medicinas derivadas de plantas originarias de Centro y Sudamérica como la Diosgenina utilizada como anticonceptiva, la Emetina eficaz contra las amebas, y muchas otras que se encuentran en estudios para enfermedades graves como el cáncer y el SIDA (Buitrón, 1999).

### **1.5 Plantas medicinales en Ecuador.**

La mayoría de las especies nativas del Ecuador también existen en otros países como Colombia y Perú o pueden alcanzar Centroamérica o Bolivia, o incluso otros continentes. Pero aproximadamente una de cada cuatro especies ecuatorianas son endémicas, es decir, se encuentran exclusivamente en el Ecuador. Actualmente se conocen 4 143 especies endémicas (27% de las 15 306 registradas). Se estima que de cada dos especies nuevas que se descubren en el país, una resulta ser endémica (Jorgensen & León, 2015).

El número más alto de especies se encuentra en la región andina, con 9865 especies o el 64,4% del total. La región de la Costa está representada por 4463 especies o el 29,2% y en la región amazónica se encuentran 4857 especies o el 31,7%. En Galápagos solamente se encuentran 699 especies o el 4,6%. Es claro que la gran diversidad de plantas en el Ecuador se debe en alto grado a la presencia de los Andes (Jorgensen & León, 2015).

Ecuador ha dado origen a uno de los medicamentos más importantes para la humanidad, a través de la *Cinchona*, cuyo compuesto Quinina fue descubierto en el siglo XVII y utilizado para la cura del paludismo. Otros compuestos igualmente importantes se han derivado también de otras plantas nativas, como el Curare (*Chondodendron spp.*, *Strychnos sp.*), utilizado en cirugías del ojo y como anestésico y el Modulador Biológico de la Respuesta Inmune (BIRM), producido de la Dulcamara (*Psychotria viridis*, *Kalanchoe pinnata* y/o *Solanum dulcamara*), el cual modifica la conducta biológica del tumor cancerígeno y eleva las defensas bajas proporcionando una mejor calidad de vida a pacientes con cáncer y SIDA. No obstante, es muy poco lo que se conoce sobre la situación del país con relación al comercio de plantas medicinales y sus productos, así como la importancia de esta actividad y problemática a nivel nacional, regional y global (Buitrón, 1999).

### **1.6 Familia Ealeocarpaceae.**

La familia Elaeocarpaceae contiene 10 géneros y aproximadamente 520 especies, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales del globo. Se caracterizan por ser árboles o arbustos, cuyas hojas pueden ser alternas u opuestas, simples o estipuladas; las flores se disponen en racimos, mientras que los frutos se encuentran en forma de cápsula, drupas o bayas. Todas las partes que componen a la plantas son utilizadas como medicina tradicional; se le han atribuido propiedades medicinales como actividad antiespasmódica, sedativa, calmante de la irritación ocular, neuralgias, sarampión, viruela, herpes zoster, varicela,

emoliente, disentería, afecciones relacionadas con la piel y broncopleurales, entre otras (Marquéz et al., 2007).

En investigaciones realizadas acerca de esta familia se han encontrado la presencia de metabolitos secundarios como es el caso de alcaloides, compuestos fenólicos, terpenos, taninos, saponinas y flavonoides (Marquéz et al., 2007).

### **1.7 Género *Vallea*.**

*Vallea* es un género perteneciente a la familia Elaeocarpaceae, de pequeños y medianos árboles. Las observaciones de campo de *Vallea* en Ecuador demostraron que al menos dos formas de reconocimiento taxonómico merecedor se encuentran en el país: *Vallea stipularis* y *Vallea ecuadorensis* (Jaramillo, 1988).

Generalmente *Vallea* se encuentra en los bosques nubosos primarios y secundarios y en los cinturones de transición a los bosques de tierras bajas, en ambos la vertiente occidental y oriental de los Andes a alturas entre 1600 metros y 3700 metros (Jaramillo, 1988).

Debido a su gran tamaño de hasta 1.5 metros de diámetro y 1.8 metros de altura, su buena madera, y la rapidez de crecimiento, las especies de *Vallea* podrían ser utilizadas para programas de reforestación. La población indígena utiliza a *Vallea* para preparar té estimulantes (Jaramillo, 1988).

### **1.8 Especie *Stipularis*.**

La especie *Stipularis*, es una especie nativa del Ecuador, cuyo hábito se encuentra clasificado desde arbusto, árbol hasta arbolito. Sus hojas y las flores se usan para preparar bebidas aromáticas. Se utiliza como combustible para fabricar carbón, se usa para tratar afecciones indeterminadas, su flor se emplea para realizar arreglos navideños y para tratar el "espanto", en cuanto a sus aplicaciones medicinales se la utiliza para curar los "nervios", mientras que la infusión de las hojas se usa en baños para bajar la "inflamación de calor", y las hojas humedecidas en aguardiente para tratar el dolor de la cabeza (Balslev et al., 2008).

Se trata de una especie totalmente regeneradora de ambientes quemados, la planta es usada como cerca viva y como protector climático (Balslev et al., 2008). *Vallea stipularis* presenta actividad antiulcerosa probablemente debida a la presencia de flavonoides en el extracto acuoso de sus hojas (Bonilla, Arroyo & Chávez, 2007).

## 1.9 Taxonomía de la especie *Stipularis*.

Tabla 1. Descripción taxonómica de la especie *stipularis*.

<b>Clase.</b>	Equisetopsida.
<b>Subclase.</b>	Magnoliidae.
<b>Superorden.</b>	Rosanae.
<b>Orden.</b>	Oxalidales.
<b>Familia.</b>	Elaeocarpaceae.
<b>Género</b>	Vallea.
<b>Especie</b>	Stipularis.

Fuente: (Mutis, 2016).  
Elaboración: La autora



FIG.1. Fotografía de la especie *Vallea stipularis* L.f.  
Elaboración: La autora.

### 1.10 Flavonoides.

Ampliamente distribuidos en el reino vegetal, los flavonoides forman parte de una extensa familia de metabolitos secundarios polifenólicos, comprometidos en numerosas funciones como en la protección de la radiación ultravioleta, en la pigmentación de flores, frutos y semillas, así como en la fertilidad y germinación del polen, se encuentran presentes en numerosos vegetales y frutos que forman parte fundamental de la dieta humana (Puebla, Guerrero, & Correa, 2004).

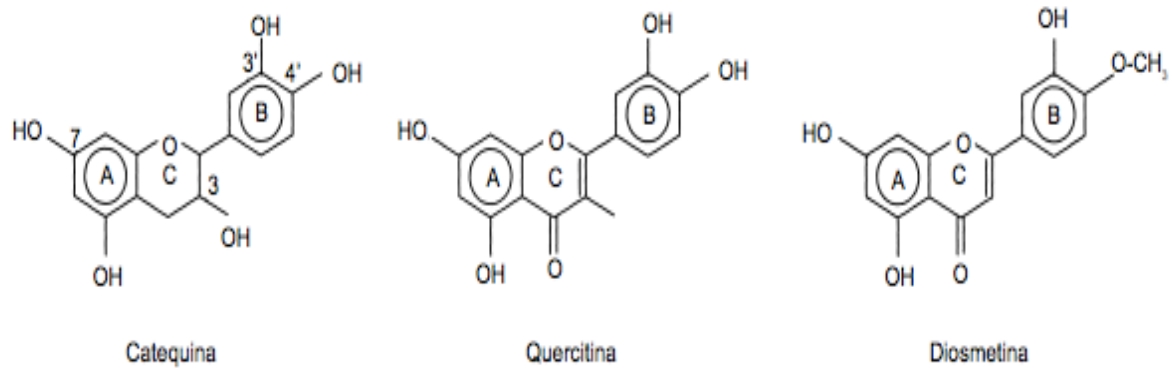
Debido a los efectos beneficiosos en la salud del ser humano, en la actualidad los compuestos polifenólicos han adquirido un gran interés e importancia, ya que se les otorga efectos antioxidantes, antibacterianos, antialérgicos, antivirales, antiinflamatorios, antimutágenos, vasorrelajantes, incluso efectos antineoplásicos entre los más importantes (Puebla et al., 2004).

Además de las numerosas aplicaciones de los flavonoides, éstos participan en la interacción planta-animal, ya que se encuentran presentes en los colores de los frutos y flores, dichos pigmentos son aportados por las antocianinas, los cuales son de gran ayuda para atraer a los polinizadores y dispersadores de las semillas. Son responsables del color de las plantas otros tipos de flavonoides como las flavonas, flavonoles y chalconas. El kaempferol otro tipo de flavonoide es capaz de proporcionarle protección contra los rayos UV-B a la planta (Puebla et al., 2004).

Los flavonoides se encuentran en las plantas tanto en su estado libre como formando glicósidos; estos últimos son los que contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas (Pacheco, 2004).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular, tienen en común un esqueleto de difenilpiranos ( $C_6-C_3-C_6$ ), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) unidos a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). En los anillos C y A los átomos de carbono se enumeran del 2 al 8, mientras que los del anillo B desde el 2' al 6'. Este tipo de estructura permite abundantes variaciones y sustituciones en el anillo C (Martínez, González, Culebras & Tuñón, 2002).

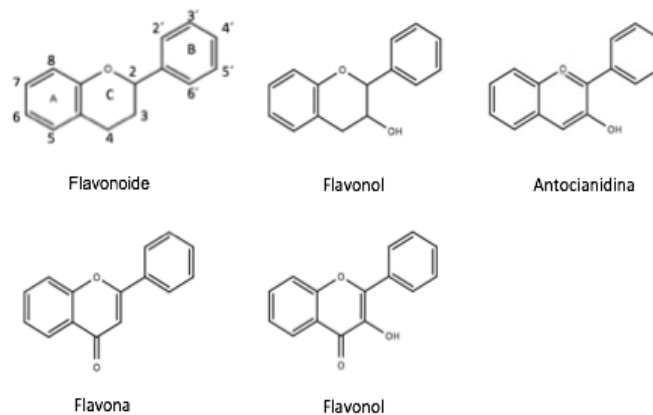
Los flavonoides según sus características estructurales se clasifican en: Flavanos como la catequina, Flavonoles representados por la quercitina, Flavonas como la diosmetina, y Antocianidinas (Martínez et al., 2002).



**FIG.2. Características estructurales de los principales flavonoides.**

Fuente: (Martínez et al., 2002).

En la posición C3 tanto en flavonoles y flavonas se unen azúcares , y en menor frecuencia se unen al anillo A de la posición C7, por lo que éstos compuestos se encuentran generalmente como O-glicósidos, como residuo de azúcar más frecuente se encuentra la D-glucosa (Martínez et al., 2002).



**FIG.3. Tipos de flavonoides.**

Fuente: (Martínez et al., 2002).

Elaboración: La autora.

Así mismo pueden encontrarse otros residuos de azúcares unidos a los flavonoides como la D-galactosa, D-xilosa, L-ramnosa, L-arabinosa, y el ácido D-glucorónico (Martínez et al., 2002).

Se denomina aglicona a la parte del flavonoide que no posee azúcar. Los glicósidos son menos reactivos frente a radicales libres y son más solubles en agua que su aglicona (Martínez et al., 2002).

Los radicales flavonoides son neutros en un medio ácido, por debajo de pH 3, y poseen una carga negativa a pH 7, dicha carga es sumamente importante en la evaluación del potencial antioxidante de este tipo de compuestos (Martínez et al., 2002).

### **1.11 Técnicas cromatográficas.**

Para conocer los principios activos de los vegetales, así como su complejidad, los caminos de biosíntesis, su degradación y los mecanismos de de regulación es necesario realizar un estudio fitoquímico de éstos (Sampietro, Isla, Quiroga & Vattuone, 1997).

Para la identificación de los compuestos químicos, se han desarrollado algunas técnicas fundamentadas en la extracción de los principios activos con la ayuda de solventes adecuados (Sampietro et al., 1997) o mediante Cromatografía en capa fina o en columna entre otras.

La cromatografía es una de las técnicas de análisis tradicionales y eficientes utilizadas para la separación de mezclas de compuestos, gracias a su volubilidad y eficacia de tiempo (Doria, 2013).

En la actualidad es considerada una de las técnicas con mayor aplicación e importancia para el análisis químico de mezclas, resultando eficaz en la cuantificación e identificación de compuestos, cualquiera que sea su naturaleza; fundamentada en equilibrios de concentración de compuestos presentes en dos fases no miscibles relacionadas entre fases estacionarias y móviles, obteniendo como resultado final una separación (Doria, 2013).

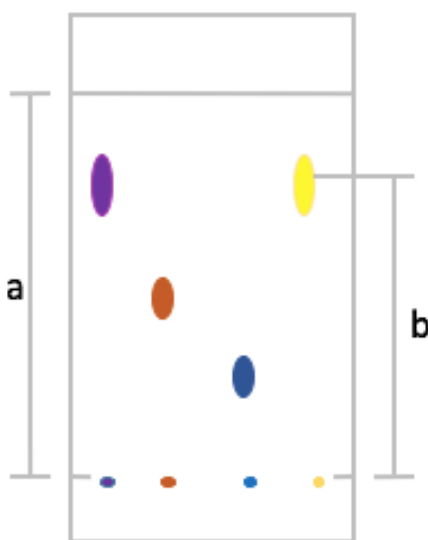
#### **1.11.1 Cromatografía de capa fina.**

La cromatografía en capa fina es un método utilizado para separar y caracterizar pequeñas cantidades de compuestos, dada la distribución de los componentes de la mezcla entre dos fases: Una fase estacionaria o fija, y otra móvil. La separación se logra debido a que algunas sustancias son más fuertemente retenidas por la fase estacionaria, mientras que otras se desplazan mejor en la fase móvil (Herrera, Bolaños & Lutz, 2003).

La caracterización de los compuestos se logra comparando la migración ( $R_f$ ) de sustancias desconocidas con la migración de un compuesto patrón. En un sistema particular de disolventes, el  $R_f$  es característico de cada sustancia, y es así posible identificar compuestos desconocidos. Frecuentemente, comparando la migración  $R_f$  de sustancias desconocidas con

la migración de compuestos patrón, en un sistema particular de disolvente, es posible identificar tentativamente los compuestos que se encuentran presentes en una determinada mezcla (Herrera et al, 2003).

La distancia recorrida por un compuesto y la del disolvente desde el origen, se conoce como factor de retención ( $R_f$ ) (Navarro, 2007).



**Fig.4. Determinación del  $R_f(b/a)$ .**  
Fuente: (Navarro, 2007).  
Elaboración: La autora.

### 1.11.2 Cromatografía en columna.

La cromatografía en columna es el método más utilizado para realizar separación de compuestos orgánicos a escala preparativa. Se realiza en una columna de vidrio cuya parte inferior posee una placa porosa, y un estrechamiento con una llave, cuya función es impedir el paso de la fase estacionaria que se deposita en el interior de ésta. La mezcla se deposita sobre la parte superior de la fase estacionaria mientras que la fase móvil va a atravesar el sistema por gravedad o presión. Los compuestos van saliendo por separado de la columna y se recogen en fracciones, los más polares quedan más retenidos, y en general hace falta aumentar la polaridad del disolvente. El adsorbente más utilizado para la cromatografía de columna es gel de sílice. La disminución del tamaño de las partículas de adsorbente conduce a una separación más eficaz (Puma, 2013).





**Fig.5. Cromatografía en columna.**  
Fuente:(Pardo, 2013).  
Elaboración: la autora.

### 1.12 Resonancia Magnética Nuclear.

Otro tipo de técnica es la Resonancia Magnética Nuclear, capaz de proporcionar detalles más sutiles de la estructura molecular, como son los ángulos de enlace o las densidades electrónicas. Dado que la técnica puede emplearse a bajas temperaturas, es posible estudiar moléculas que son inestables o muy reactivas a temperatura ambiente. Por medio de la RMN puede examinarse los equilibrios conformacionales, incluso en las moléculas complejas de importancia biológica (Weiniger & Stermitz, 1988).

El nombre de resonancia magnética deriva del hecho de que este tipo de espectroscopía supone un cambio energético de los núcleos atómicos, y de que es necesario un campo magnético para que estas variaciones de energía puedan observarse (Weiniger & Stermitz, 1988).

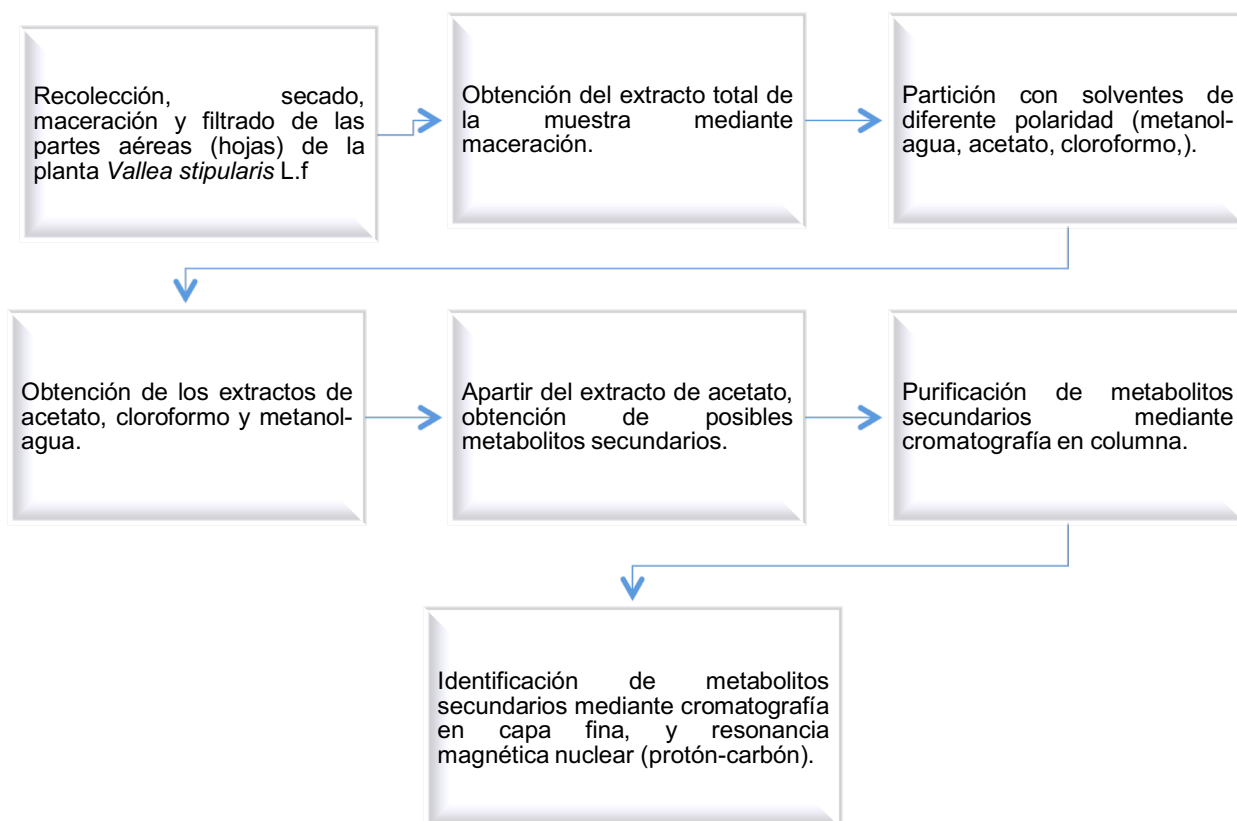
Es necesario que los núcleos tengan un momento magnético diferente a cero; éste requisito no lo cumplen los núcleos que poseen un número atómico y másico par como es el caso de  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$ , por lo que los núcleos que tiene relevancia en química orgánica son:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ , y  $^{31}\text{P}$ . En ésta técnica son importantes los núcleos con número cuántico de espín nuclear igual a  $\frac{1}{2}$ , debido a que carecen de momento cuadrupolar eléctrico, que da como resultado un estrechamiento de las señales de RMN (Puma, 2003).

Es importante que el isótopo sea abundante en la naturaleza, debido a que la intensidad de la señal va a depender de la concentración de esos núcleos activos. Por lo que uno de los más eficientes para la identificación de estructuras es el  $^1\text{H}$ , constituyendo la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (Puma, 2003).

Aunque el  $^{13}\text{C}$  es un núcleo poco abundante y sensible, también es de gran interés en el estudio de química orgánica (Puma, 2003).

**CAPÍTULO II**  
**MATERIALES Y MÉTODOS.**

La presente investigación fue desarrollada con la metodología que se expone en la Fig. 6.



**FIG.6. Esquema de la metodología de la investigación.**

Elaboración: La autora.

## 2.1 Área de recolección.

Las partes aéreas de planta *Vallea stipularis* L.f. fueron recolectadas entre los límites de la provincia de Loja y Azuay, a una latitud de 2791 m.s.n.m. con las siguientes coordenadas geográficas: 03.25.0 NW y 79.13.0 SW.

## 2.2 Secado, filtrado y maceración de la muestra.

Las partes aéreas (hojas) de la planta *Vallea stipularis* L.f, fueron secadas durante 72 horas en el área de secado. Se pesó la planta, obteniendo un peso total de 253.31 g. Se realizó dos maceraciones de la planta con etanol, a temperatura ambiente, la primera fue de 48 horas, mientras que la segunda fue de 72 horas, y se unió el producto de ambas maceraciones. El producto de la unión de las dos maceraciones se lo filtró, y se lo concentró con la ayuda del rota-evaporador a una temperatura de 35°C, teniendo como resultado un extracto total con un peso de 60.0261 g.

### **2.3 Particiones del extracto total.**

Una vez obtenido el extracto total (60.03 g), producto de las dos maceraciones se procedió a realizar particiones con 200 ml de Metanol-Agua en proporción 1:1 con la ayuda de un embudo de decantación.

Las particiones se realizaron con 50 ml de acetato y 50 ml de cloroformo, el proceso fue realizado con la misma cantidad de los dos solventes, por triplicado, y como producto final se obtuvo la partición de metanol-agua.

### **2.4 Obtención de los tres extractos: Acetato, Cloroformo y Metanol-Agua.**

A partir de las tres particiones de acetato, cloroformo y metanol-agua se procedió a concentrarlas en el rotaevaporador a una temperatura de 35°C hasta eliminar completamente el solvente y obtener así los extractos secos. Finalmente se procedió a pesar cada extracto.

### **2.5 Estudio de los extractos.**

Los tres extractos fueron analizados mediante cromatografía en capa fina, en placas de sílica directa e inversa, reveladas con ácido sulfúrico al 5% y vainillina; fueron visualizadas bajo luz UV con una longitud de onda de 254 y 360 nm.

### **2.6 Cromatografía en columna.**

Se realizó cromatografía en columna de los tres extractos, sin embargo el compuesto de interés se encontró en mayor cantidad en el de acetato.

Para la cromatografía en columna se utilizó sílica gel fase inversa, en relación 1:100 extracto-sílica, utilizando 2 g de la muestra del extracto de acetato, en una polaridad 1:1, 6:4, metanol: agua, y finalmente se utilizó metanol al 100%.

El fraccionamiento del extracto total de acetato se detalla en la tabla 2.

**Tabla 2. Fraccionamiento cromatográfico del extracto total de acetato.**

<b>Fracciones</b>	<b>Proporción</b>	<b>Mezcla de disolventes</b>	<b>Peso (mg)</b>
JM-1/29-15	1:1	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	27.0
JM-30-40-15	1:1	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	889.2
JM-41/44-15	1:1	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	302.2
JM-45/50-15	1:1	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	313.1
JM-51/52-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	96.7
<b>JM-53/54-15</b>	<b>6:4</b>	<b>CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O</b>	<b>23.0</b>
JM-55/58-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	38.5
JM-56/69-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	45.1
JM-70/72-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	4.6
JM-73-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.8
JM-74/80-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	2.3
JM-81/83-15	6:4	CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.9
JM-84/90-15	100	CH <sub>3</sub> OH	316.3

**Elaboración: La autora.**

Se realizó una segunda columna de la fracción JM-53/54-15 (23 mg), de donde se obtuvo la fracción de interés JM-20/41-16, empleando sílica fase directa, con una relación 1-100 extracto-sílica, utilizando como solventes acetato: metanol: agua, proporción 11.35: 0.5: 0.5 respectivamente. Las fracciones obtenidas se detallan en la tabla 3.

**Tabla 3. Fraccionamiento cromatográfico de la fracción JM-53/54-15.**

Fracciones	Proporción	Mezcla de disolventes	Peso (mg)
JM-1/7-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	1.6
JM-8-10-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.5
JM-11/14-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.7
JM-15/17-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	2.0
JM-18/19-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	1.1
<b>JM-20/41-16</b>	<b>11.35: 0.5: 0.5</b>	<b>AcOEt: CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O</b>	<b>9.5</b>
JM-42/43-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.8
JM-44/51-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	1.9
JM-52/56-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.8
JM-57/59-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.6
JM-60/88-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	2.9
JM-89/90-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	0.9
JM-91/93-16	11.35: 0.5: 0.5	AcOEt: CH <sub>3</sub> OH: H <sub>2</sub> O	1.5

Elaboración: La autora.



**FIG.7. CC. fracción JM-53/54-15.**  
**Elaboración: La autora.**

## **2.7 Cromatografía en capa fina.**

Se realizó cromatografía en capa fina, fase inversa, polaridad 1:1y 6:4 CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O, y 100% CH<sub>3</sub>OH a las fracciones obtenidas a partir del extracto total de acetato (tabla 2); observándose manchas cromatográficas de interés en la subfracción JM-53/54-15.

Luego del fraccionamiento cromatográfico de la subfracción JM-53/54-15, se procedió a realizar cromatografía en capa fina de cada una de las 13 fracciones obtenidas (tabla 3), en una polaridad 11.35:0.5:0.5 AcOEt: CH<sub>3</sub>OH: H<sub>2</sub>O respectivamente. Se observó en primera instancia una sola mancha cromatográfica de la fracción JM-20/41-16 (9.5 mg) por lo que se envió a realizar estudios de NMR.



**Capítulo III**  
**Resultados y Discusión.**

### 3.1 Extractos de la especie *Vallea stipularis* L.f.

En la tabla 2 se detalla los rendimientos obtenidos en la investigación, el rendimiento del extracto total de la planta fue de 23.70%, mientras que extracto con mayor rendimiento fue el de acetato con un 31.49%, seguido del extracto de metanol-agua con un rendimiento del 26.92%, y finalmente el de menor rendimiento fue el del extracto de cloroformo con 4.64%.

**Tabla 4. Pesos y rendimiento de los extractos de la planta *Vallea stipularis* L.f.**

Descripción.	Peso inicial (g)	Peso final extracto (g)	Rendimiento (%)
Planta <i>Vallea stipularis</i> L.f.	253.31	60.03	23.70
Extracto Cloroformo	60.03	2.78	4.64
Extracto Acetato	60.03	18.90	31.49
Extracto Metanol-agua	60.03	16.16	26.92

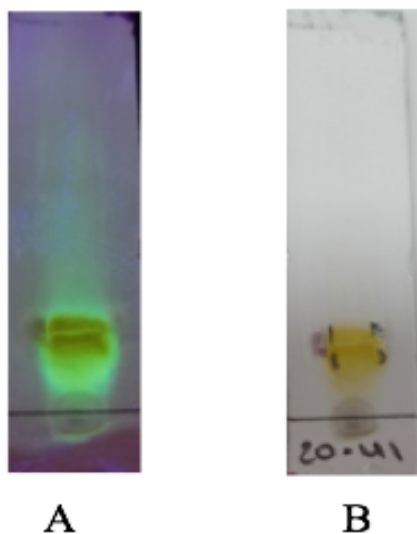
Elaboración: La autora.

### 3.2 Compuestos aislados a partir del extracto de acetato.

A partir de la subfracción JM-53/54-15 (tabla 2), se obtuvieron 13 fracciones (JM-1-JM-93) expuestas en la tabla 3.

### 3.3 Aislamiento de los flavonoides glucósidos Isoquercitrina y Astragalina.

Los compuestos se obtuvieron de las fracciones JM-20/41-16 del extracto de acetato, mediante la elución de los solventes Acetato: Metanol: Agua en proporción 11,35: 0,5: 0,5 respectivamente. La cromatografía de capa fina fue revelado con ácido sulfúrico al 5% y vainilla, mostró un color amarillento característico de los flavonoides, y presentó un factor de retención de 0.12, en ésta se observó la presencia de dos compuestos con un Rf similar.



**FIG.8. TLC polaridad 1:1 Metanol:Agua. A)Antes del revelado, luz UV 340nm. B) Revelado.**  
Elaboración: La autora.

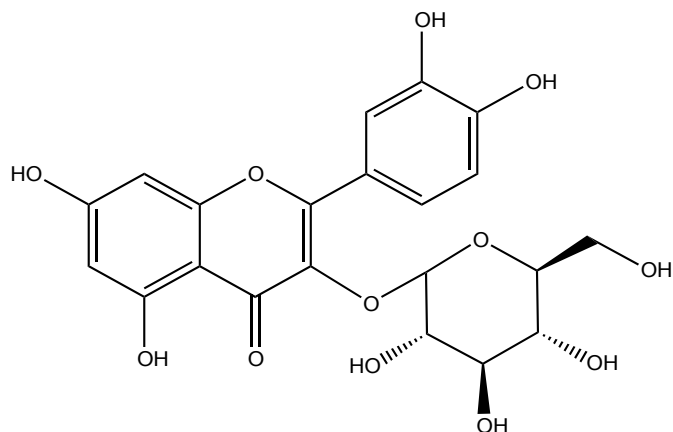
### 3.4. Identificación de los flavonoide glicosilados: Isoquercitrina y Astragalina.

Para la identificación de los flavonoides glicósidos se realizó a la fracción JM-20/41-16 los estudios detallados en la Fig. 9.



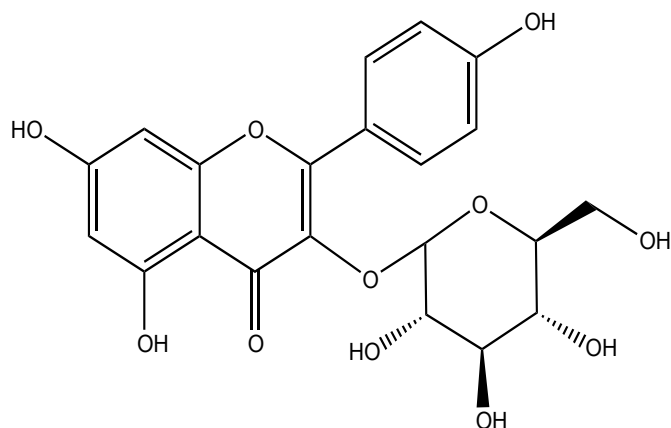
**FIG.9. Estudios realizados para la identificación de los flavonoides.**  
Elaboración: La autora.

Con los estudios realizados de resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , se pudo identificar dos flavonoides glicosilados, Isoquercitrina (Fig. 10) y Astragalina (Fig. 11).



**FIG.10. Molécula de Isoquercitrina.**  
Elaboración: La autora.

Isoquercitrina es un glucósido de flavonol, y posee una diversidad de acción biológica como es el caso de la supresión de los eosinófilos en una inflamación (Loureiro, 2015), y es utilizado para el tratamiento de alergias. Su fórmula química es  $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$  y su peso molecular es de 464g/mol, mayor al de la molécula de astragalina debido a la presencia de un grupo hidroxilo extra (OH).



**FIG.11. Molécula de Astragalina.**  
Elaboración: La autora.

Al flavonoide glucósido astragalina le es otorgada la acción diurética y antialérgica (Cazaña, Pérez & Díaz, 2010); cuya fórmula química es  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$  y un peso molecular de 448 g/mol.

Los datos espectrales de  $^{13}\text{C}$ -NMR, obtenidos de los dos compuestos en investigación fueron comparados con una publicación anterior (Baek et al., 2015), por lo que se llegó a la identificación de los dos flavonoides glicosilados, Astragalina e Isoquercitrina. Los espectros fueron realizados a 400 MHz, y la muestra fue diluida con  $\text{CH}_3\text{OD}$ , tanto en el presente estudio

como en el de la bibliografía comparada. En la tabla 4 se exponen los datos espectrales NMR-<sup>13</sup>C de la molécula isoquercitrina obtenidos en la investigación y en la bibliografía consultada: Baek et al., 2015.

**Tabla 4. Datos espectrales de <sup>13</sup>C-NMR del flavonoide Isoquercitrina.**

Datos experimentales <sup>1</sup> H	Datos experimentales <sup>13</sup> C	Baek et al., 2015 <sup>13</sup> C	Baek et al., 2015 <sup>1</sup> H
7.70 (1H, br s)	179.5 (C-4)	178.9 (C-4)	7.70 (1H, br s)
7.58(1H, br d, J=8.4Hz)	166.2 (C-7)	166.4 (C-7)	7.57 (1H, br d, J=8.4Hz)
6.86 (1H,d, J=8.4Hz)	163.0 (C-9)	163.0 (C-8a)	6.87 (1H, d, J=8.4Hz)
6.39 (1H,br s)	159.0 (C-5)	161.3 (C-5)	6.36 (1H, br s)
6.19 (1H,br s)	158.5 (C-2)	158.9 (C-2)	6.18 (1H, br s)
5.23 (1H,d, J=7.6Hz)	150.0 (C-4')	150.4 (C-4')	5.23 (1H, d, J=7.2 Hz)
-	146.0 (C-3')	147.9 (C-3')	-
-	136.0 (C-3)	136.3 (C-3)	-
-	123.2 (C-6')	123.2 (C-6')	-
-	123.1(C-1')	123.0 (C-1')	-
-	117.5 (C-5')	117.5 (C-5')	-
-	116.0 (C-2')	116.0 (C-2')	-
-	105.4 (C-10)	105.6 (C-4a)	-
-	104.3 (C-1'')	104.2 (C-1'')	-
-	99.9 (C-6)	99.8 (C-6)	-
-	94.7 (C-8)	94.7 (C-8)	-
-	78.4 (C-3'')	78.4 (C-3'')	-
-	78.1 (C-5'')	78.0 (C-5'')	-
-	75.7 (C-2'')	75.7 (C-2'')	-
-	73.2 (C-4'')	72.8 (C-4'')	-
-	62.5 (C-6'')	62.4 (C-6'')	-

Elaboración: La autora.

En la tabla 5 se detallan los datos espectrales de la molécula de astragalina obtenidos en la investigación y los datos reportados por Baek et al., 2015.

**Tabla 5. Datos espectrales de <sup>13</sup>C-NMR del flavonoide Astragalina.**

Datos experimentales <sup>1</sup> H	Datos experimentales <sup>13</sup> C	Baek et al., 2015 <sup>13</sup> C	Baek et al., 2015 <sup>1</sup> H
8.07 (2H, d, J=8.4 Hz)	179.5 (C-4)	179.5 (C-4)	8.04 (2H, d, J=8.8 Hz)
6.88 (2H, d, J=8.4 Hz)	166.2 (C-7)	166.0 (C-7)	6.90 (2H, d, J=8.8 Hz)
6.32 (1H, d, J=2.0 Hz)	163.0 (C-9)	163.0 (C-8a)	6.36 (1H, d, J=2.0 Hz)
6.16 (1H, d, J=2.0 Hz)	159.0 (C-4')	161.5 (C-4')	6.18 (1H, d, J=2.0 Hz)
5.17 (1H, d, J=8.0 Hz)	163.1 (C-5)	159.0 (C-5)	5.24 (1H, d, J=7.2 Hz)
-	158.5 (C-2)	158.4 (C-2)	-
-	135.8 (C-3)	135.4 (C-3)	-
-	135.6 (C-2')	132.3 (C-2')	-
-	135.6 (C-6')	132.3 (C-6')	-
-	123.1 (C-1')	122.7 (C-1')	-
-	116.1 (C-3')	116.1 (C-3')	-
-	116.1 (C-5')	116.1 (C-5')	-
-	105.4 (C-10)	105.7 (C-4a)	-
-	104.8 (C-1'')	104.1 (C-1'')	-
-	99.9 (C-6)	99.9 (C-6)	-
-	94.7 (C-8)	94.8 (C-8)	-
-	78.4 (C-3'')	78.4 (C-3'')	-
-	78.1 (C-5'')	78.0 (C-5'')	-
-	75.7 (C-2'')	75.7 (C-2'')	-
-	73.2 (C-4'')	71.3 (C-4'')	-
-	62.5 (C-6'')	62.6 (C-6'')	-

La autora.

Tanto en la tabla 4 y 5 se señalan con color azul los valores espectrales obtenidos en el presente estudio fitoquímico que difieren de la bibliografía consultada. Cabe resaltar que se adjunta un solo anexo de  $^1\text{H-NMR}$  y  $^{13}\text{C-NMR}$  debido a que se trata de una mezcla de flavonoides, los cuales al encontrarse en un Rf muy similar no pudieron ser separados de manera idónea, tratándose de una mezcla de flavonoides.

El espectro  $^1\text{H RMN}$  del compuesto astragalina indica que los protones del anillo B, H-6' y H-2' muestran un doblete (2H, J = 8,0 Hz) a  $\delta$  8,07. Las señales H-3' y H-5' se observan a  $\delta$  6,88 ppm como doblete (2H, J = 8,0 Hz). En la posición  $\delta$  6.16 (1H, d, J = 2,0 Hz) y 6.32 (1H, d, J = 2,0 Hz), corresponde a los protones H-6 y H-8 respectivamente. La señal a  $\delta$  5.17 (1H, d, J = 7,2 Hz) pertenece al protón anomérico de una  $\beta$ -glucosa.

El espectro  $^1\text{H RMN}$  del compuesto isoquercitrina, muestra un acoplamiento orto a  $\delta$  7.58 ppm y  $\delta$  6.86 ppm que corresponden a los protones H-6'-H-5', y para H-6'-H-2' presenta un acoplamiento meta a  $\delta$  7.58 y  $\delta$  7.70 ppm, respectivamente. La región aromática exhibió otro acoplamiento meta para los protones H-6 y H-8 ( $\delta$  6.19 y  $\delta$  6.39, d, J = 2,0 Hz). Además, una señal anomérica de protones que aparece a  $\delta$  5.23 (d, J = 7,6 Hz, H-1") fue asignado al protón anomérico de  $\beta$ -glucosa.

En estudios fitoquímicos realizados por Bonilla et al., 2007, obtuvieron manchas fitoquímicas a partir de la especie vegetal *Vallea stipularis* L.f, como flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, aminoácidos, carbohidratos y saponina esteroidales; concordando en los resultados de la presente investigación con la presencia de manchas fitoquímicas características de flavonoides.

La actividad antioxidante de los flavonoides depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación entre las diferentes partes de la estructura química, debido a su acción protectora y la incapacidad del organismo humano para producir dichos compuestos, estos merecerían ser incorporados al grupo de nutrientes esenciales (Pacheco, 2004).

**CAPÍTULO IV**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**



#### **4.1 Conclusiones.**

El estudio de las partes aéreas de la planta *Vallea stipularis* L.f. mediante la aplicación de técnicas espectrales de  $^{13}\text{C}$ -NMR y  $^1\text{H}$ -NMR a partir del extracto de acetato, se identificó dos flavonoides glicosilados: Isoquercitrina y Astragalina.

El extracto de la planta *Vallea stipularis* L.f que presentó mayor rendimiento fue el de acetato con un 31.49%, seguido del extracto de metanol-agua con un rendimiento del 26.92%, mientras que el más bajo fue el del extracto de cloroformo con un 4.64%.

#### **4.2 Recomendaciones.**

Se recomienda realizar una hidrólisis de los flavonoides para corroborar el tipo de azúcar presente en cada uno de ellos.

## BIBLIOGRAFÍA.

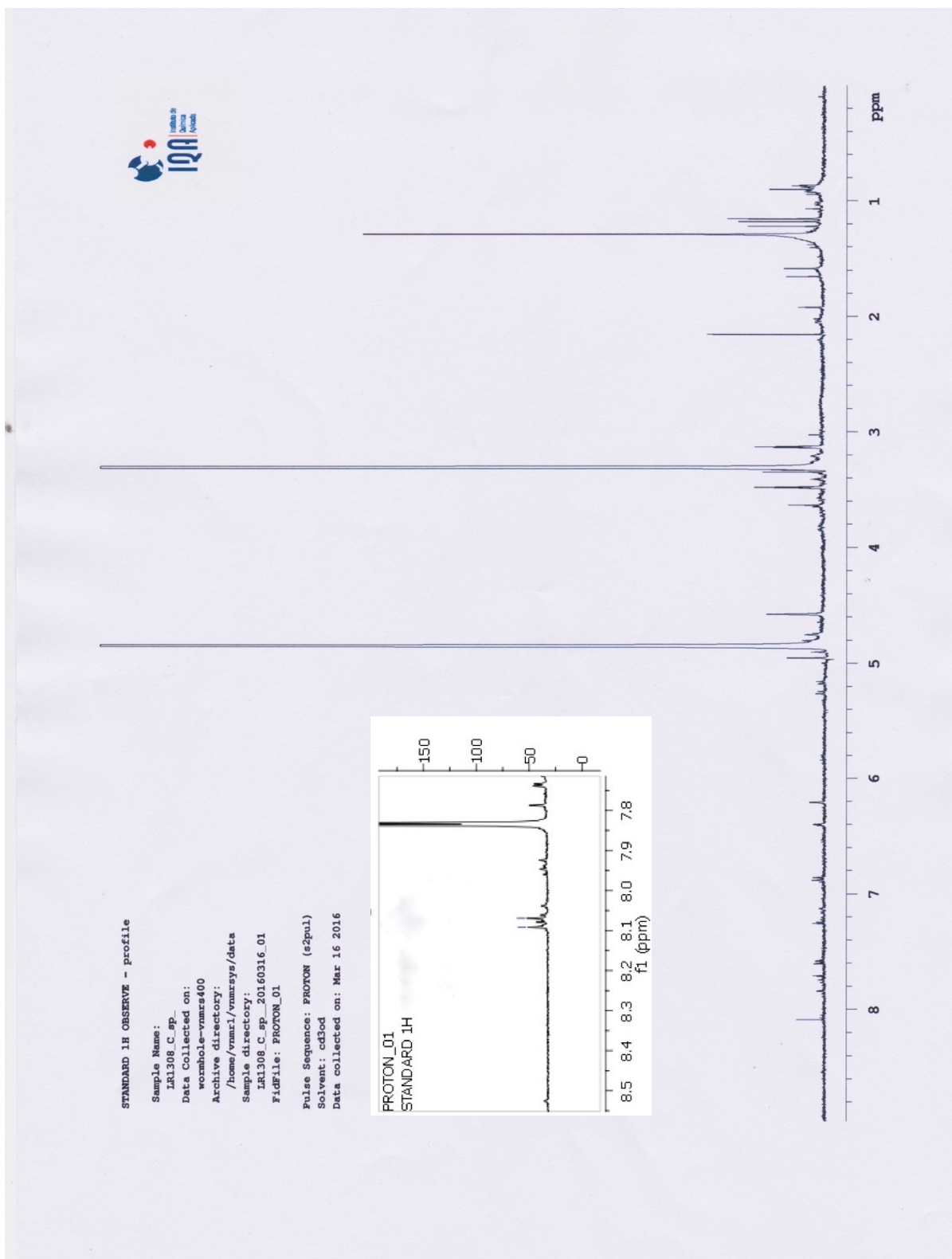
- Balslev, H., Navarrete H., de la Torre L., Macía M. (2008). Enciclopedia de Plantas Útiles del Ecuador.
- Bonilla, P., Arroyo, J., Chávez. J. (2007). Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea stipularis* L.f "Chuillur" en ratas. ACAD Perú Salud. 14(2)
- Buitrón, X. (1999). Ecuador: Uso y comercio de plantas medicinales, situación actual y aspectos importantes para su conservación. Reino Unido. Editorial Traffic Internacional.
- Castro, D., Díaz, J., Serna, R., Martínez, M., Urrea, P., Muñoz, K., Osorio, E. (2013). Cultivo y producción de plantas aromáticas medicinales (2ª ed.). Antioquia - Colombia. Editorial Universidad Católica de Oriente.
- Cazaña, Y., Pérez, Y., & Díaz, M. (2010). Propiedades farmacológicas de la Morera (*Morus alba* Linn). Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". Cuba.
- Doria, H. (2013). Cromatografía. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Escuela de Ciencias Básicas Tecnologías e Ingenierías. Medellín.
- Dumortier. B. (2016). Tropicos.org. Documento recuperado: 31-07-16.
- Estrada, A., Imbaquingo, H. (2015). Medicina tradicional y uso de plantas medicinales en los cantones Antonio Ante y Catacochi de la provincia de Imbabura.(Tesis de pregrado). Universidad Técnica del Norte. Ibarra-Ecuador.
- Gallardo, V., Ceja, J., Arroyo, M., Aureoles, G., Galván, D., Landa, J. (2004). Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. Historia de la medicina. Biomed. 15:123-136.
- Herrera, C., Bolaños, N & Lutz, G. (2003). Química de Alimentos. Manual de Laboratorio. Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica.
- Jorgensen, P., León S. (2015). Proyects. Catálogo de las plantas vasculares del Ecuador.
- Loureiro, M. (2015). Avaliação de flavonóides em extratos vegetais por meio da Técnica de Clae. (Tesis de pregrado). Universidade de Basília. Brasília.
- Martínez, S., Gonzalez, J., Culebras, J., Tuñón, M. (2002). Nutrición Hospitalaria. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Departamento de Fisiología. Universidad de León y Hospital de León. España.
- Mutis, J. (2016). Tropicos.org. Documento recuperado: 31-07-16.
- Navarro, F. (2007). Estandarización del método de cromatografía en capa fina para su aplicación en las ciencias forenses. (Tesis de Pregrado). Instituto tecnológico y de estudios superiores de Occidente. Tlaquepaque- Jalisco.
- Oliveira, M., Velázquez, D., Bermúdez, A. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales. Revista de ciencia y tecnología de América. Vol. 30. ISSN 0378-1844.

- Pacheco, D., (2004). Análisis de flavonoides en plantas medicinales en el sur de Chile con técnica Hplc. (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias. Escuela de Química y Farmacia. Valdivia-Chile.
- Puebla, P., Guerrero, M., Correa, X. (2004). Flavonoides del género *Croton*. Revista Colombiana de Ciencias Farmacéuticas. 33(1).
- Puma, A. (2013). Aislamiento y elucidación estructural de los metabolitos secundarios presentes en las ramas de *Sebastiania longicuspis*. Euphorbiaceae.(Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Carrera de Química Farmacéutica. Quito - Ecuador.
- Sampietro, A., Isla, M., Quiroga, E & Vattuone, M. (1997). Importancia del Estudio Fitoquímico en la Formación del Profesional Bioquímico. Argentina.
- Weiniger, S., Stermitz, F. (1988). Química Orgánica. Barcelona –España. Editorial Reverté, S.A.
- Baek, Yoon-Su., Song, Young-Na., Kim Dae-Ok., Kang, Hee-Cheol., Kwon, Keun-Oh., Back, In-Nam. (2015). Flavonoide from *Fargaria ananassa* calyx and their antioxidant capacities. CrossMarck. 58(6):787-793.
- Marquéz, R., Mendoza, D., Parejo, M., Hernández, R., Martínez, A., Vanegas, A. (2007). Evaluación química del extracto total etanólico de las hojas y corteza fresca de *Mutingia calabura* (Elaeocarpaceae). Scientia et Technica Año XII. ISSN 0122-1701.

## **ANEXOS**

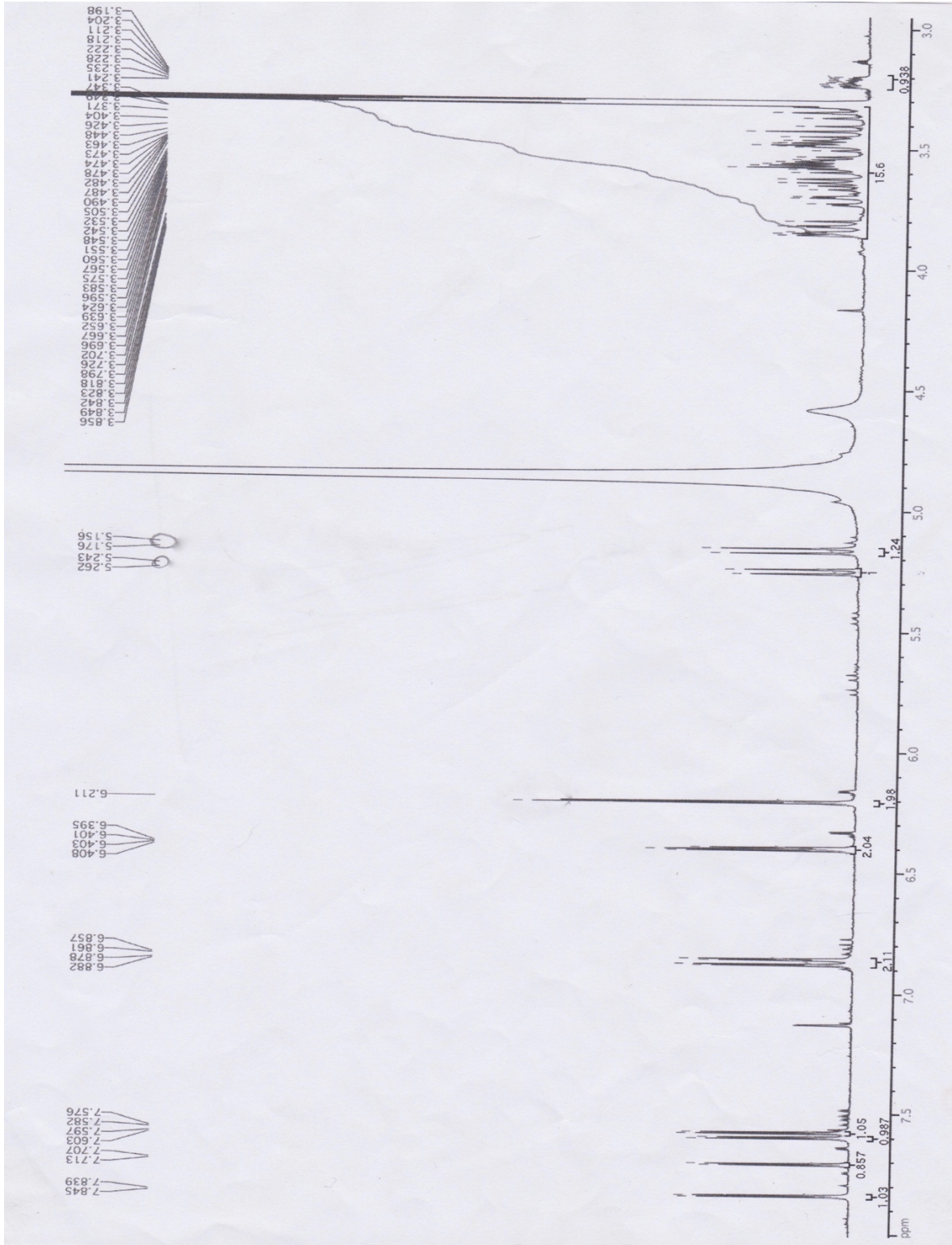
# Anexo 1.

## Resonancia Magnética Nuclear de Protón (1H-NMR).



Anexo 1.

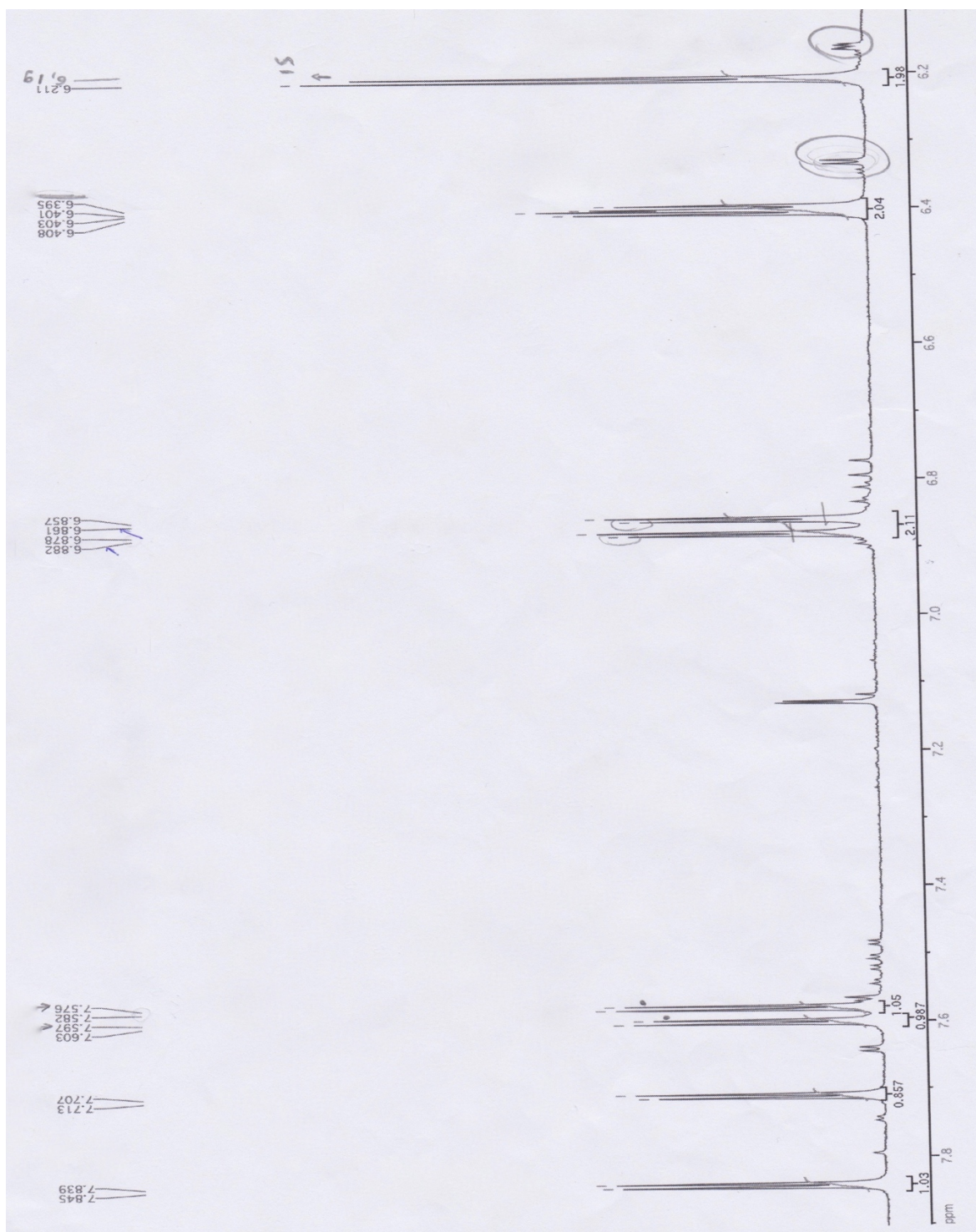
Resonancia Magnética Nuclear de Protón (1H-NMR)





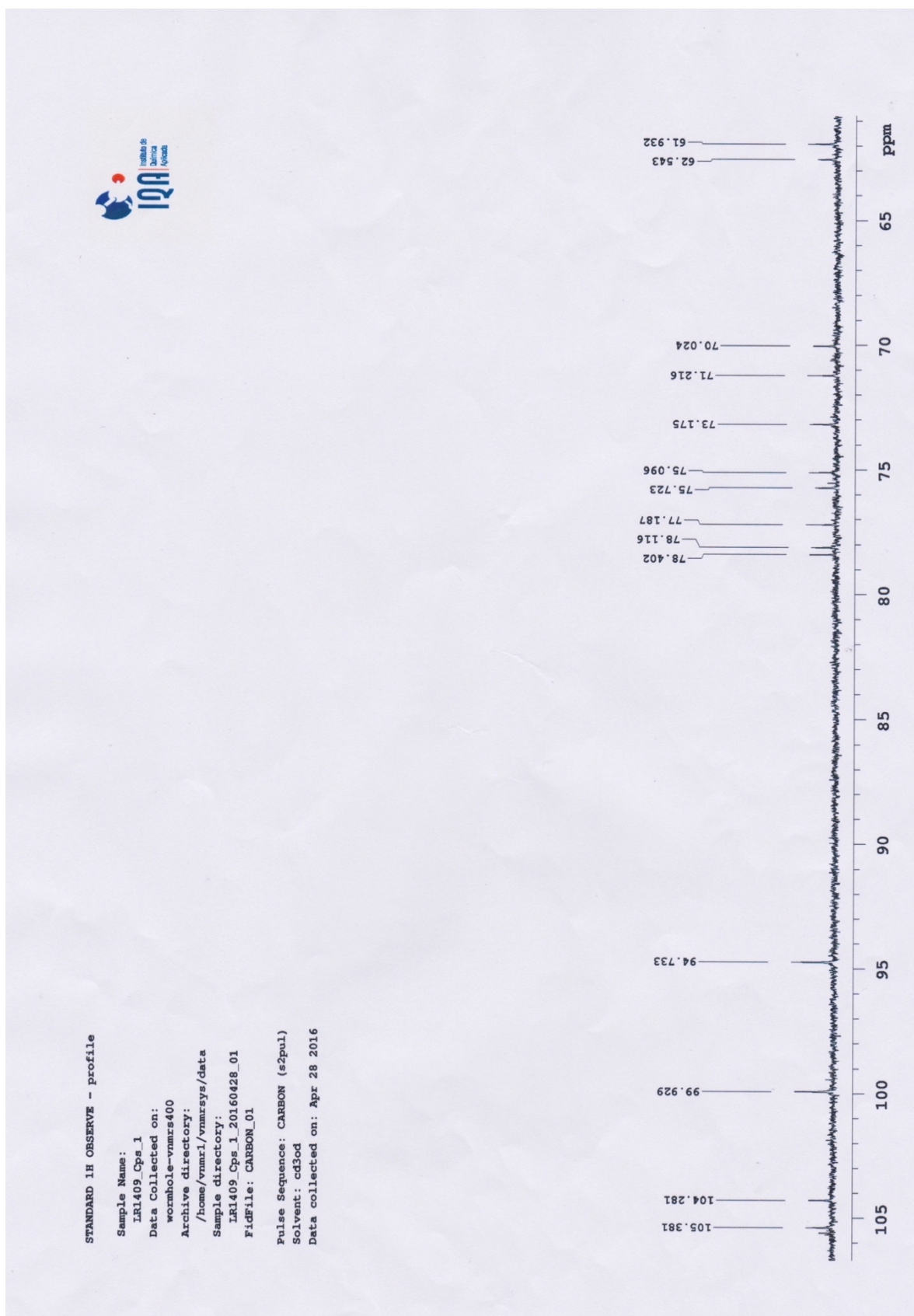
# Anexo 1.

## Resonancia Magnética Nuclear de Protón (1H-NMR)



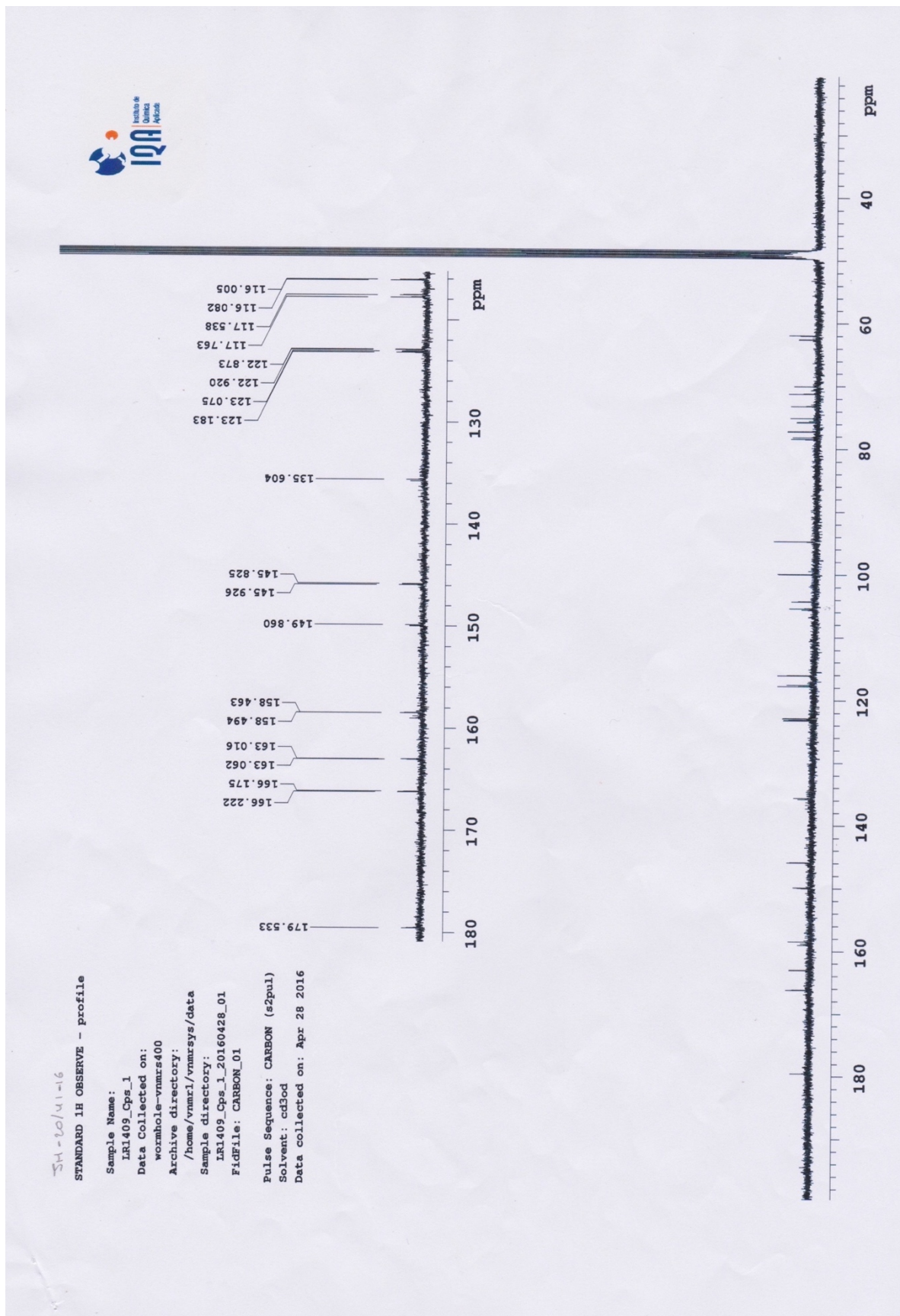
## Anexo 2.

### Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 ( $^{13}\text{C}$ -NMR)





## Anexo 2. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (<sup>13</sup>C-NMR)



Anexo 2.  
Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (<sup>13</sup>C-NMR).

