UNIVERSIDAD TECNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO

Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie *Acanthoxanthium spinosum*.

TRABAJO DE TITULACIÓN

AUTORA: Chamba Rueda, Juana Katherine.

DIRECTOR: Armijos Riofrío, Chabaco Patricio, Dr

LOJA – ECUADOR

2016

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

Septiembre, 2016

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctor.-

Chabaco Patricio Armijos Riofrío.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN.

De mi consideración

El presente trabajo de titulación: Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie *Acanthoxanthium spinosum* realizado por Chamba Rueda Juana Katherine ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, junio de 2016

f)……..

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo Rueda Juana Katherine declaro ser autora del presente trabajo de titulación: Aislamiento e identificación de metabolitos secundarios de la especie *Acanthoxanthium spinosum*, de la Titulación de Ingeniería química, siendo 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) _____

Autor: Juana Katherine Chamba Rueda.

Cédula: 1104742356

DEDICATORIA

Con amor infinito a su presencia constante Mamá y Papá

Juana Katherine

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mi madre, que con su demostración de una madre ejemplar me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada, siempre perseverar, luchar sin perder la humidad y la sencillez de ser humano que ha sembrado en mí a través de sus sabios consejos y amor infinito. A mi padre, que siempre lo he sentido presente en mi vida. Y sé que está orgulloso de la persona en la cual me he convertido.

A mis hermanas por su apoyo incondicional y por demostrarme la gran fe que tienen en mí. A Erasmo y Vinicio por brindarme su apoyo, gracias infinitas por ser parte de mi familia.

Mis amigos y amigas por ser la familia que yo escogí por creer en mí, por su apoyo, amor, buenos y malos momentos compartidos por eso y por muchas cosas más gracias por demostrar que aunque somos pocos somos reales.

A mis formadores, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto en el que me encuentro.

De manera especial al PhD Chabaco Armijos, gracias por su paciencia, sus ganas de compartir sus conocimientos y colaborar en la culminación en el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener una afable titulación profesional.

Juana Katherine

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS ii
DEDICATORIA iii
AGRADECIMIENTO iv
RESUMEN 1
ABSTRAC 2
INTRODUCCIÓN 3
CAPITULO 1 5
FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO 5
CAPITULO 2 6
MARCO TEÓRICO 7
1. Antecedentes 8
2. Fundamento teórico 8
2.1 Familia Asteraceae 9
2.2 Especie *Xanthium spinosum*. 9
2.3 Taxonomía de la especie vegetal *Xanthium spinosum*. 10
2.4 Perfil químico de la especie vegetal *Xanthium spinosum.* 11
2.5 Actividad Biológica de la especie *Xanthium spinosum*. 12
2.6 Usos tradicionales de la especie vegetal *Xanthium spinosum*. 15
2.7 Actividad antifúngica de la especie vegetal *Xanthium spinosum*. 15
2.9 Metabolitos en las plantas. 16
2.9.1 Metabolitos Primarios. 16
2.9.2 Metabolitos Secundarios. 16
2.7.2.1 Terpenos 16
CAPITULO 3 19
METODOLOGÍA 19
3.1 Esquema general de la metodología 20
3.2 Materiales y métodos. 21
3.2.1 Materia vegetal 21
3.2.2 Secado del material vegetal 21
3.2.3 Molienda 21
3.2.4 Maceración 21
3.2.5 Eliminación del solvente 21
3.2.6 Selección de los extractos 22
3.3 Aislamiento y purificación 22
3.3.1 Cromatografía en columna (CC) 22

3.3.2 Cromatografía de capa fina (CCF) 23
3.4 Unión y purificación de fracciones 23
3.5 Caracterización química 23
3.5.1 Punto de fusión 23
3.5.2 Factor de retención 24
3.6 Elucidación e identificación de los compuestos aislados. 24
3.6.1 Resonancia Magnética Nuclear (RMN) 25
3.6.2 Cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas (GC-EM) 25
CAPITULO 4 26
RESULTADOS 26
4.1 Rendimiento de los extractos obtenidos 27
4.2 Aislamiento e identificación del Estigmasterol 28
4.3 Datos de RMN ^{1}H y ^{13}C para la identificación del estigmasterol 30
Conclusiones 35
Recomendaciones 36
Bibliografía 37
ANEXOS 41
Espectro de masas del terpeno estigmasterol de la bibliografía (Da Silva 2010) 47

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1. Especie *Acanthoxhantium spinosum*

Figura N°2. Estructura de Ziniolide

Figura N°3. Estructura Isoxanthanol

Figura N°4. Estructura Anhydrodehydroioulbin

Figura N°5. Estructura Xanthinosin

Figura N°6. Estructura isohydroinusoniolide

Figura N°7. Estructura de Xanthatin

Figura N°8. Estructura de Cyclospinosolide

Figura N°9. Estructura de Ácido clorogénico

Figura N°10. Estructura de Figura N°20. Estructura de 2-desacetyl-8-epixanthumanol-4-O-b-D galactopyranoside

Figura N°11. Estructura de Xanthatin

Figura N°12. Estructura de Stizolicin

Figura N°13. Estructura de Solstitialin

Figura N°14. Estructura de Xanthinin

Figura N°15. Estructura de Phenisophan

Figura N°16. Estructura de compuestos terpenicos

Figura N°17. Esquema general de la metodología empleada

Figura N°18. Equipo Fisher Jones

Figura N°19. Equipo Fisher Jones

Figura N°20. Factor de retención

Figura N°21. TLC (fase directa) extractos totales

Figura N°22. Esquema del Montaje de la Cromatografía en Columna (CC)

Figura N°23. Placa de CCF de las fracciones (282-354)

Figura N°24. Estructura de Estigmasterol

Figura N°25. Espectro de Estigmasterol (Autor)

Figura N°26. Espectro de Estigmasterol (Bibliografía)

LISTA DE FIGURAS

Tabla 1 La clasificación botánica de la especie *Xanthium spinosum.*

Tabla 2 Porcentaje de rendimiento de extractos de hojas.

Tabla 3 Desplazamiento Químico (δ), en el Espectro RMN-1H.

Tabla 4 Desplazamiento Químico (δ), en el Espectro RMN-13C

RESUMEN

Mediante la recolección vegetal a partir de 300g de hojas, tallos, flores secas, de la especie *Xanthium spinosum* se obtuvieron los extractos totales: hexánico, diclorometano, de acetato de etilo y metanólico. Mediante técnica cromatográfica se fracciono 5g de extracto de acetato de etilo, utilizando los siguientes solventes: hexano-acetato de etilo, con las polaridades: 40:2, 30:2, 20:2, 15:2, 10:2, 4:2, 1:1, 1 y finalmente metanol. Con el fin de aislar, elucidar e identificar los metabolitos secundarios presentes en la especie *Acanthoxanthium spinosum.*

Se recolectaron 686 fracciones, de las cuales 42 fracciones cristalizaron y mostraron similitud entre ellas según el análisis de TLC las misma que fueron agrupadas, posteriormente fueron analizadas por RMN y CG-EM. Logrando identificar el terpeno conocido con el nombre de Estigmaesterol ($C_{29}H_{48}O$), aislado a partir de extracto acetato de etilo.

PALABRAS CLAVES: Metabolitos secundarios, Acathoxantium spinosum, Estigmasterol.

ABSTRAC

With 500 grams of dried plant, from the species Acanthoxanthium spinosum we got four extracts: hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol.

Through column chromatography fractionated extract 5g of ethyl acetate, with the next polarities: (40: 2, 30: 2, 20: 2, 15: 2, 10: 2, 4: 2, 1: 1, 1 finally methanol).

They collected 686 fractions, the fraction what crystals and they showed equality between them were united. The crystals were cleaned and recristalizadon with hexane GR. Finally were analyzed by GC-MS and RMN, isolating a terpene identified with the name of stigmasterol ($C_{29}H_{48}O$), isolated from ethyl acetate extract.

KEYWORDS: Secondary metabolites, Acathoxantium spinosum, Stigmasterol.

INTRODUCCIÓN

Ecuador es considerado como uno de los 17 países megadiversos. Si se considera las cifras reportadas de especies registradas por unidad de área, en comparación con otros países se concluye que es el país más diverso del mundo (Mittermeier, R , 1988).

El ecuador posee 45 tipos de vegetación **(Sierra R, 1999)**, en el país se han reportado 17.058 especies de plantas vasculares, 15.306 especies nativas, y de estas el 27.3% sólo existen en Ecuador.

Actualmente la información etnobotánica se ha utilizado como una vía alternativa para el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos. De igual forma han guiado al éxito en investigaciones fitoquímicas y farmacológicas originando una interesante oportunidad para el descubrimiento de nuevos metabolitos secundarios con actividades biológicas únicas y mecanismos de acción **(Abreu & Cuéllar, 2008)**.

El interés por las plantas medicinales utilizadas por los pueblos aborígenes del Ecuador es cada día mayor, ya que un alto porcentaje de medicinas provienen de las plantas. Son múltiples las investigaciones realizadas con la finalidad de descubrir y aislar nuevas sustancias para combatir enfermedades que afectan a la humanidad **(Peguero, 1998)** , (Andrade et al., 2009).

(Rodríguez et al., 2006) resalta que las líneas de investigación de las múltiples especies en estudio, están encaminadas siempre a identificar los diferentes productos naturales. El fin de extraer, aislar y elucidar estructuralmente los metabolitos secundarios, para desarrollar y descubrir nuevos fármacos, los mismos que se acoplan a un proceso de vigilancia biológica, con el propósito de validar a cada especie según su uso tradicional (Ntie-Kang, et al., 2013).

La familia Asteraceae está caracterizada por la presencia de: flavonoides, iso flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, alcoholes triterpenicos, pentaciclicos, mientras que carece de taninos e iridoides. Siendo los metabolitos primarios y secundarios los responsables de determinar la utilidad de la especie vegetal (Bohlmann F, 1977)

La información obtenida según los datos relevantes a la taxonomía de las *Asteráceas* se basan en el conocimiento bioquímico por sus rasgos fitoquímicos que caracterizan a esta familia.

De acuerdo con Sundararaman P. (1977). Manifiesta que los metabolitos secundarios mencionados anteriormente en este género presentan actividad farmacológica; un ejemplo de ello es estigmasterol que inhibe los niveles plasmáticos de colesterol, así como también la síntesis hepática, el estigmasterol también se utiliza como precursor en la fabricación de progesterona semisintética

La especie *Xanthium spinosum*, es una especie perteneciente a la familia Asteraceae, su estructura es ramificada, con tallo rectos llenos de espinas, hojas lanceoladas, sus frutos son ovoides con una envoltura en puntas y sus flores amarillas. Es originaria de América del sur, pero se cultiva en casi todo el mundo. Su principal actividad medicinal es ser antiinflamatoria según la bibliografía esta especie se caracteriza por aislar lactonas sesquiterpénicas conocidos como xanthanolides.

En la presente investigación, se aisló, purifico e identifico los principios activos en la especie *Xanthium spinosum*, se obtuvo extractos totales mediante el uso de diferentes solventes los cuales fueron fraccionados aplicando técnicas cromatográficas. Se definió la estructura química del estigmasterol atreves de técnicas espectrométricas como: CG-EM y RMN. Con el fin de elucidar la estructura química del estigmasterol presente en la especie *Xanthium spinosum.*

La Universidad Técnica Particular de Loja promueve la investigación etnobotánica, como una estrategia de conservación sobre usos sostenibles de la biodiversidad medicinal, lo cual se considera fundamental para crear conciencia sobre su valor cultural y la importancia de conservarla, además de nuevas oportunidades que signifiquen no solo el crecimiento científico, tecnológico, de identidad cultural, desarrollo económico, sino también mejorar el nivel de vida en la comunidad (Andrade J, et al., 2009). De ahí la importancia de esta investigación.

CAPITULO 1

FIN, PROPÓSITO Y COMPONENTES DEL PROYECTO

FIN DEL PROYECTO

Aislar, elucidar e identificar los compuestos denominados como metabolitos secundarios en la especie *Acanthoxanthium spinosum* (*Asteraceae*).

PROPÓSITO DEL PROYECTO

Elucidar las estructuras químicas de los metabolitos secundarios presentes en la especie *Acanthoxanthium spinosum* (*Asteraceae*).

COMPONENTES DEL PROYECTO

a) Obtener extractos de la especie utilizando solventes de polaridad creciente: Hexano, Diclorometano, Acetato de etilo y Metanol.
b) Fraccionar el extracto de acetato de etilo.
c) Aislar los metabolitos secundarios obtenidos del extracto de acetato de etilo.
d) Purificar la estructura aislada.
e) Caracterizar el metabolito aislado.

CAPITULO 2

MARCO TEÓRICO

1. Antecedentes

El ser humano con su afán de explorar y buscar cada vez nuevos medios para combatir enfermedades han proporcionado evidencias del uso de plantas para combatir diferentes enfermedades. Ecuador es un país relativamente pequeño que cuenta con una gran variedad de plantas medicinales utilizadas en las diferentes culturas que practican la medicina alternativa, se han realizado múltiples estudios de los efectos terapéuticos de las plantas con el fin de conocer los principios activos responsables de sanar enfermedades.

Los estudios fitoquímicos del género *Xanthium* están representados por un número relativamente limitado de especies distribuidas en casi todas las partes del mundo. La química de este género es muy uniforme ya que sus principales metabolitos aislados son estructuras sesquiterpénicas con esqueleto xanthanolide se han reportado en todos los estudios fitoquímicos (Riscala et al., 1994).

Algunas especies pertenecientes al género *Xanthium* de la especie *spinosum, strumarium* poseen estructuras sesquiterpénicas, las mismas que tienen fama en el tratamiento de fiebre, leucoderma, y el herpes (Saxena & Mondal, 1994). Por otro lado, estas estructuras presentan actividad biológica como anti-bacteriana hacia la meticilina Staphylococcus aureus (Sato et al., 1997), y la actividad citotóxica hacia las líneas celulares de cáncer humano (Kinghorn et al., 1999).

La especie *Xanthium spinosum* ha sido objeto de estudios químicos y biológicos. Se utiliza en la medicina tradicional en diferentes países del mundo (Ridvan et al., 2013). Extractos de *Xanthium spinosum* contienen una mezcla de compuestos tales como: β-sitosterol, estigmasterol, quercetina y otros; flavonoides tales como pendulin, iocein, centaurin y patuletina (Ansari & Dubey, 2000). Por otra parte, contiene lactonas sesquiterpénicas denominadas xanthanolide como: xantina (1), xantano (2), stizolicin (3) y solstitialin (4) (Geissman et al., 1954). Según informes, los extractos de cloroformo de partes aéreas de *Xanthium spinosum* son utilizadas en el tratamiento de hidrofobia, la rabia y fiebre (Ciulei et al., 1993) así como para el tratamiento de la diarrea y el cáncer (Salinas et al., 1998). Las lactonas sesquiterpénicas aisladas xanthinin (1), stizolicin (3) y solstitialin (4) se experimentaron ensayos para determinar la acción antitumoral in vitro en dos tipos de los tumores: L-1210 de leucemia y P-388 de la leucemia (Naidenova et al., 1998).
Con estos antecedentes se desarrolló un estudio fitoquímico de la especie *Acanthoxanthium spinosum* con el fin de aislar, elucidar e identificar los metabolitos secundarios presentes en la especie.

2. Fundamento teórico

A continuación se detalla la descripción taxonómica, clasificación y características de la especie *Xanthium spinosum.*

2.1 Familia Asteraceae

La familia Asteraceae es la más grande de las angiospermas, que comprende 25.000 especies pertenecientes a 1.600 géneros dispuestos en 17 tribus y tres subfamilias (Bremer K, 1994). En Ecuador, la familia es representada por aproximadamente 196 géneros y unas 1.900 especies (Barroso, 1991). Durante los últimos 25 años, esta familia viene siendo estudiada intensamente no sólo en cuanto a su la ontogenia, citogenética, morfología, anatomía, ecología y fitoquímica (Holmes & McDaniel, 1996). Estos estudios contribuyen al aumento de la conocimiento en la clasificación Asteraceae (Bremer, 1994).

Durante los últimos 25 años, esta familia viene siendo estudiada intensamente no sólo en cuanto a su morfología, la anatomía, la ontogenia, citogenética, la ecología y la fitoquímica, sino también por su estructura macromolecular (Holmes & McDaniel, 1996).

2.2 Especie *Xanthium spinosum*.

Esta especie se deriva de la familia de las compuestas Asteráceas, se caracteriza por presentar una altura de hasta 60 cm, su tallo es erecto con espinas de tres puntas de color amarillo. Sus hojas tienen forma de punta de lanza, con peciolos cortos, ápice agudo, provistos de un par de lóbulos en la base. Los capítulos florales son unisexuados, florece desde principios de verano. Es originaria de Sudamérica, de zonas cálido-templadas, se ha distribuido en todo el continente Americano y en algunas partes de Europa, crece entre los 1800 y 3200 m s. n. m., especialmente en los suelos modificados, terrenos cultivados, potreros, baldíos, orillas de caminos y arcenes (Menéndez J, 1753).

Xanthium spinosum (Asteraceae) es una hierba que se encuentra ampliamente distribuida en todo el mundo. Se piensa que es nativa de américa del sur, por lo tanto se usa ampliamente en la medicina tradicional (Duke et al., 2008).

Por ejemplo en Bolivia que usan las raíces en cocción de la especie para combatir enfermedades inflamatorias, hipertensión y artritis (Fernandez et al., 2003).

Mientras que en américa del Norte es utilizada por los Cherokee que lo aplican para problemas pulmonares y mordeduras de serpiente (Hamel & Chiltoskey. 1975).

Las características establecidas entre las especies *Xanthium spinosum* y *Xanthium strumarium* son múltiples, desde la familia a la que pertenecen hasta las estructuras químicas aisladas (Abdei et al., 1991).

Las características morfológicas de esta especie vegetal se pueden observar en la figura 1 A, B.

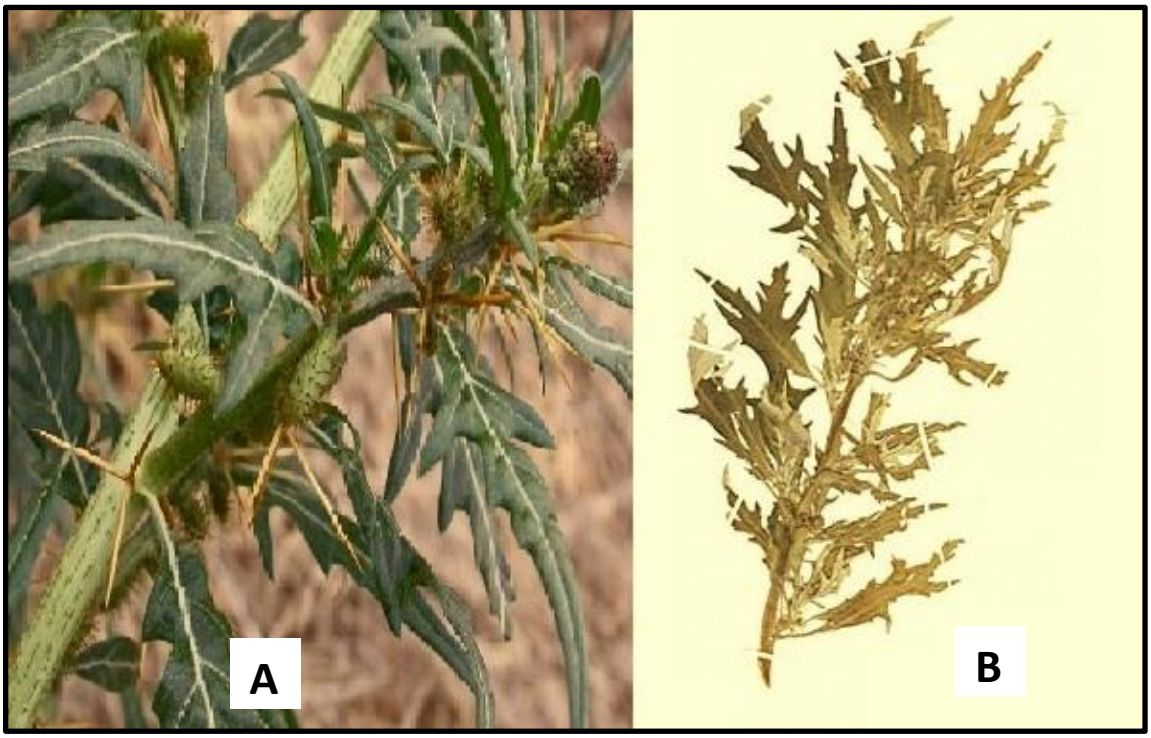


Figura N°1. A Fotografía de la especie vegetal *Xanthium spinosum* en el lugar de recolección. **B.** Fotografía de la especie vegetal *Xanthium spinosum* conservada en el herbario de la UNL.

Fuente. Autor.

2.3 Taxonomía de la especie vegetal *Xanthium spinosum*.

La clasificación botánica de la especie vegetal *Xanthium spinosum* se muestra a continuación en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación botánica de la especie vegetal *Xanthium spinosum.*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Subfamilia	Asteroideae

Tribu	Heliantheae
Subtribu	Ambrosiinae
Género	*Xanthium*
Especie	*Xanthium spinosum*

Fuente. Autor.

2.4 Perfil químico de la especie vegetal *Xanthium spinosum.*

A continuación se describen algunas investigaciones que demuestran el perfil químico obtenido de la especie en estudio.

La figura N°2 muestra la estructura de Ziniolide obtenido del extracto metanólico de las raíces de *Xanthium spinosum*, es un anti inflamatorio, que inhiben rápidamente a los eicosanoides pro inflamatorios. Estas dianas farmacológicas son mediadores en la fiebre, inflamación, trastornos hepáticos y pulmonares, mordeduras de serpiente y diarrea crónica, los cuales son los usos medicinales populares más importantes de esta planta (Játiva et al., 1991)

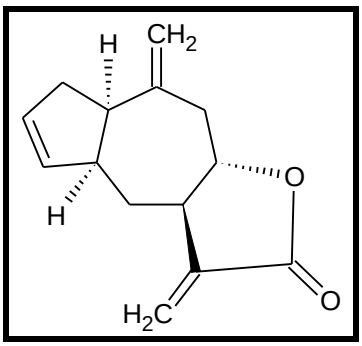


Figura N°2. Estructura química de Ziniolide

La siguiente investigación se muestra en la figura N°3 Xanthanolides obtenidos de la especie *Xanthium spinosum*: partes aéreas de *Xanthium spinosum* proporcionaron tres nuevos xanthanolides. Las estructuras fueron determinadas por métodos espectroscópicos y por síntesis parcial. (Abdallah et al., 1984)

Las estructuras identificadas como xanthanolides en esta investigación se detallan a continuación:

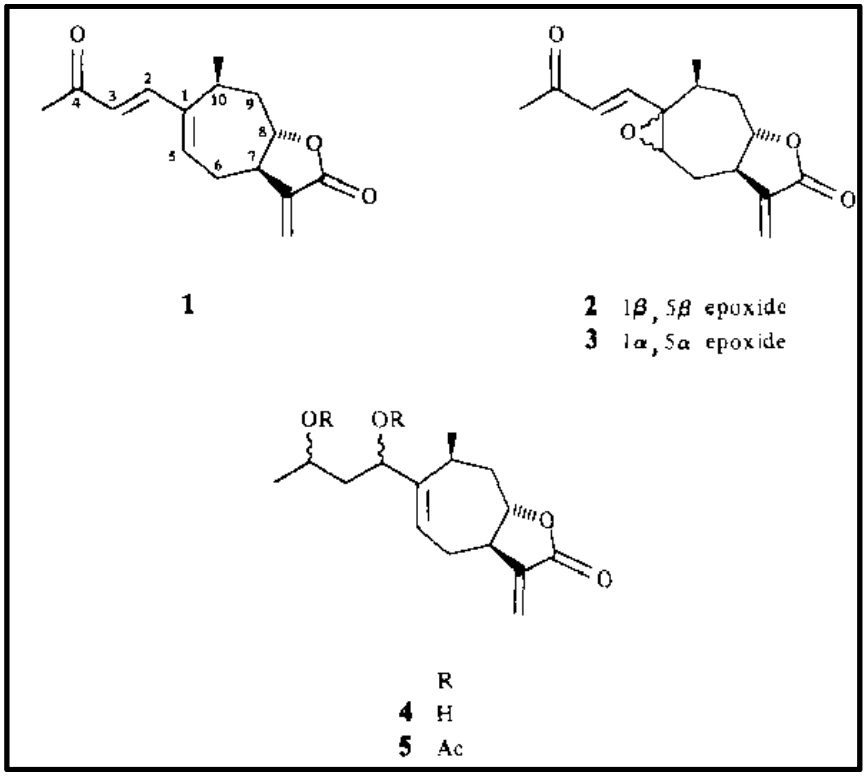


Figura N°3. Estructura química de Xanthanolides

2.5 Actividad Biológica de la especie *Xanthium spinosum*.

A continuación se detallan las investigaciones características en la especie *Xanthium spinosum* basándose en su actividad biológica.

En la figura N°9 se puede observar la estructura del ácido clorógenico, este componente es utilizado como antioxidante y como anti inflamatorio. Su efecto secundario es la reducción de niveles de glucosa.

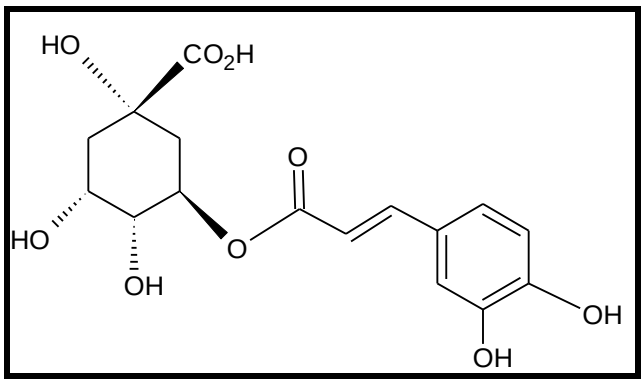


Figura N°9. Estructura del Ácido clorogénico (1)

En la figura N°10 se muestra una lactona sesquiterpénica extraída de la corteza de la especie *Xanthium spinosum*, identificado como: 2-desacetil-8-epi-xanthumanol-4-O-b-D-galactopiranósido. Se utilizan sus infusiones por su efecto diurético, cáncer y diarrea. Además se caracteriza por su potencial antitumoral (Ansari et al., 2000).

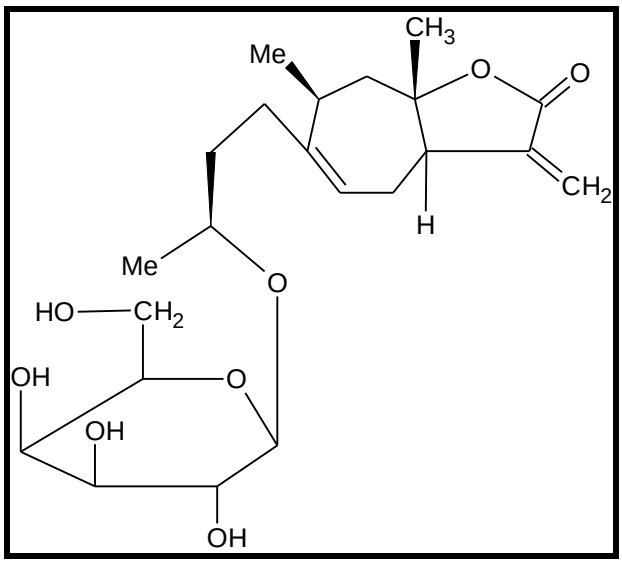


Figura N°10. Estructura de 2-desacetyl-8-epixanthumanol-4-O-b-D-galactopyranoside (2)

En la figura N° 11 se indica la estructura de xanthatin que se caracteriza por su actividad antimicrobiana, bactericida y fungicida. El mismo que es activo contra *Colletotrichum gloeosporioides, Trichothecium roseum, Bacillus cereus y Staphylococcus aureus* (Ginesta et al., 1994).

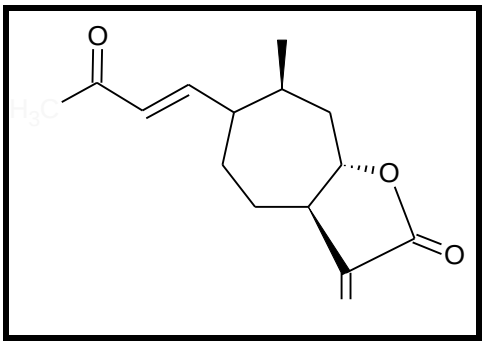


Figura N°11. Estructura de Xanthatin (3)

En la figura N° 12 se muestran las estructuras del aislamiento y obtención de lactonas sesquiterpénicas con propiedades antitumorales identificadas como: xanthinin, stizolicin y solstitialin. Utilizadas para determinar la acción antitumoral in vivo en dos tipos de tumores: L-1210 de leucemia y P-388 de leucemia. Las sustancias demuestran actividad antitumoral limitada. (Naidenova et al., 1998). A continuación se muestran las estructuras.

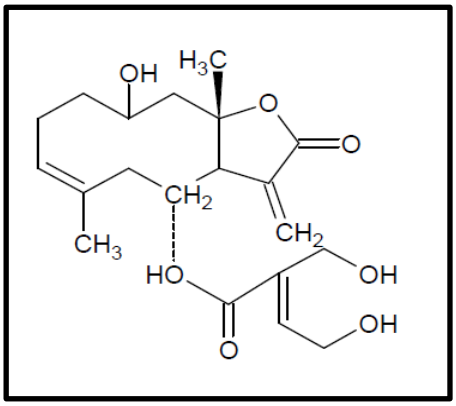


Figura N°12. Estructura de stizolicin (1)

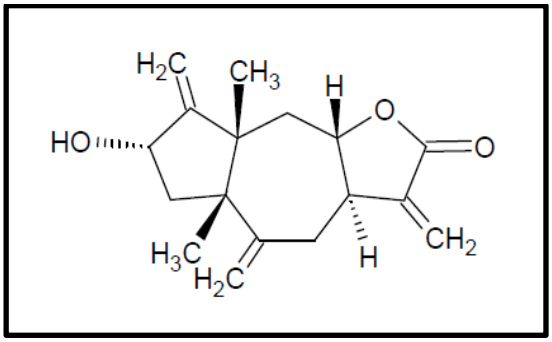


Figura N°13. Estructura de solstitialin (2)

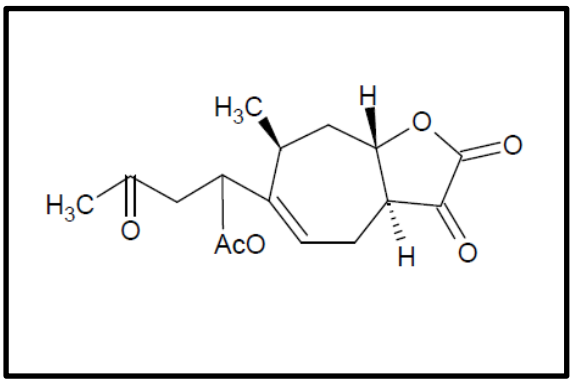


Figura N°14. Estructura de xanthinin (3)

Finalmente en la figura N°15 se muestra la estructura obtenida de una mezcla herbicida. La aplicación herbicida se la identifico como phenisophan, la misma que fue obtenida mediante pulverización, combate las plagas que atacan al algodón.

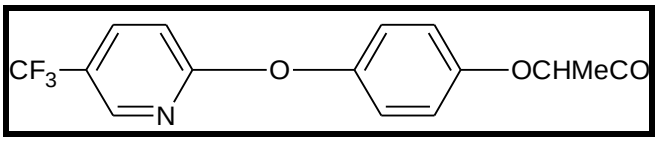


Figura N°15. Estructura de phenisophan (1)

2.6 Usos tradicionales de la especie vegetal *Xanthium spinosum*.

Es utilizado para problemas diuréticos. Se preparan mates de las hojas contra el sarampión, la escarlatina, la tos, las enfermedades del hígado, estómago, la retención de orina, enfermedades del bazo, riñones, ovarios y las hemorragias internas (Fernández et al., 2003). Un trozo de la raíz machacada en agua fría es un excelente depurador de la sangre y se recomienda tomar como refresco para el colesterol, flebitis, varices y arterioesclerosis.
La estructura química de xanthatin hace presuponer una actividad diurética y antiinflamatoria (Alonso J, 1998).
La infusión de la planta, en particular las hojas, el tallo y la raíz, se usa para tratar inflamación de las vías urinarias (Kichwa de la sierra Imbabura). Las semillas en emulsiones y horchatas para combatir la tos (Etnia no especificada Azuay, Cañar) (De la Torre et al., 2008).

2.7 Actividad antifúngica de la especie vegetal *Xanthium spinosum*.

La bibliografía no reporta información referente a la actividad antifúngica de la especie *Xanthium spinosum,* Abdei et al., (1991) detalla que todas las especies (*Xanthium spinosum, Xanthium strumarium, Xanthium cavanillesii*) pertenecientes al género *Xanthium* tienen muchas similitudes en cuanto a su taxonomía, origen, y estructuras químicas aisladas como es caso de lactonas sesquiterpénicas, identificadas con el nombre de xanthanolide los más característicos en la mayoría de las especies de este género.

Claro es el caso de la especie *Xanthium strumarium* se caracteriza por su potente actividad antifúngica contra patógenos y no patógenos, debido a la presencia de triterpenos, d-limonene y d-carveol. El compuesto antifúngico de la planta fue identificado con el nombre de 4-oxo-1(5),2,11,(13)-xanthatriene-12, 8-olid como d-acetil xanthin.

El extracto de raíces de la planta puede ser utilizado como un fungicida tóxico muy potente contra el crecimiento del Micelio de *Fusarium moniliforme*. Mientras que los estudios de hexano, acetato de etilo y los extractos alcohólicos de las hojas para sus actividades de difusión en el disco antimicrobiano (antifúngica, antibacteriano). La actividad antifúngica se comparó con fluconazol y nistatina como estándares. Extracto de etil acetato mostró una inhibición contra *E. coli* a una concentración de 200 g/disco (Kishore et al., 1982).

Tomando como referencia a (Ma C et al., 2007) se explica el potencial significativo que posee la especie frente a *Candida neoformans* y *Candida sp*, la introducción de un grupo amino libre en el compuesto antes indicado sería el responsable de aumentar la actividad inhibidora contra *Aspergillus fumigatus.*

2.8 Actividad neurofarmacológica

Dentro del género *Xanthium*, la especie *Xanthium strumarium* siendo una de las más representativas de este grupo, mostró actividad depresora de SNC (efectos sedantes y tranquilizantes) responsable de disminuir la actividad cerebral.

2.9 Metabolitos en las plantas.

Las plantas son grandes elaboradores de metabolitos tanto primarios como secundarios; su clasificación se la realiza basándose en:

- Actividad farmacológica.
- Distribución botánica.
- Origen biosintético.

Haciendo referencia a la clasificación de origen biosintético se desprenden dos grandes grupos: metabolitos primarios y secundarios (García & Martínez, 2007).

2.9.1 Metabolitos Primarios.

Son compuestos que se producen en todas las células y juegan un papel central en el metabolismo y la reproducción de las células. (Gutiérrez et al, 201).

2.9.2 Metabolitos Secundarios.

Llamados también productos naturales, son sustancias específicas que conducen a la formación de un compuesto químico sintetizado por las planta (Taiz L & Zeiger E, 2006),

Estos se clasifican en tres grupos químicamente diferentes:

- Terpenos.
- Fenoles.
- Compuestos que contienen nitrógeno.

2.7.2.1 Terpenos

Los terpenos o compuestos terpenoides forman un conjunto enorme de sustancias naturales, el término terpeno proviene del nombre trementina o aguarrás. Cuando se sometieron estas

sustancias a análisis elemental, llamó pronto la atención el hecho de que casi siempre contenían un número de carbonos múltiplo de 5, generalmente 10, 15, 20, 30 carbonos. La clasificación de los terpenos se realiza según sea el número de carbonos que posee en su estructura. Más tarde se descubrieron compuestos con 40 carbonos. Actualmente se conoce como monoterpenos al compuesto formado por 10 carbonos ya que parecía ser el número base.

A la vista de las estructuras de terpenos conocidas, se percató del hecho que las estructuras carbonatadas se podían subdividir en un número entero de unidades con el fragmento C5, cuya estructura correspondía con la de un hidrocarburo de nombre (2-metil-1,3-butadieno), lo que dio lugar al nombre de unidades de isopreno y a la regla isoprénica, según la cual los esqueletos cabonados de los terpenos son divisibles en un número entero de unidades isoprénica conectadas cabeza con cola.

Los monoterpenos y sesquiterpenos fueron conocidos desde muy pronto como constituyentes de esencias vegetales, dado que una buena proporción de ellos exhiben una apreciable volatilidad.

Los diterpenos y los triterpenos suelen ser constituyentes de gomas, resinas. Los tetraterpenos engloban el amplio grupo de los carotenoides, colorantes muy abundantes en el reino vegetal.

En la figura N°16 se muestran diferentes compuestos terpenicos.

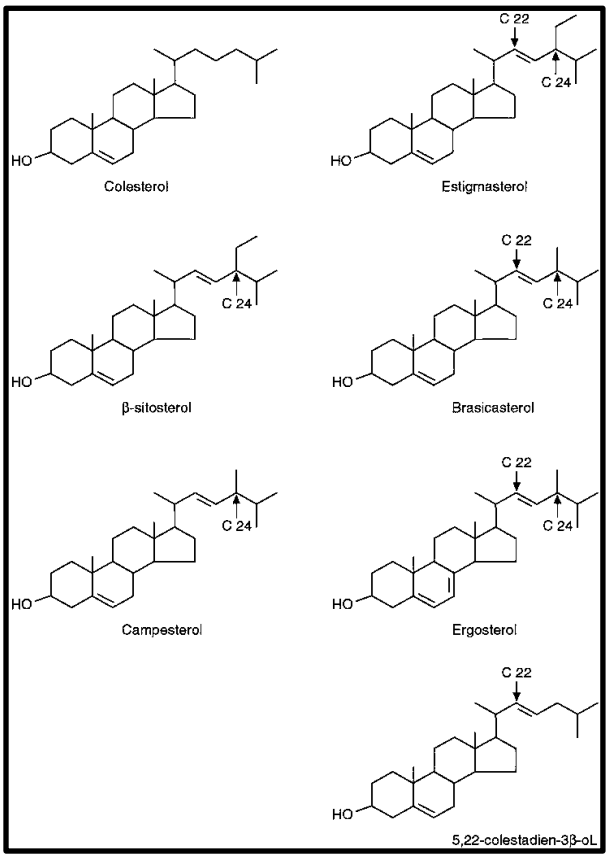


Figura N° 16. Estructura de compuestos terpenicos.

Fuente. (Olga de Ugaz, 2002)

CAPITULO 3

METODOLOGÍA

3.1 Esquema general de la metodología.

La metodología empleada en esta investigación se detalla a continuación:

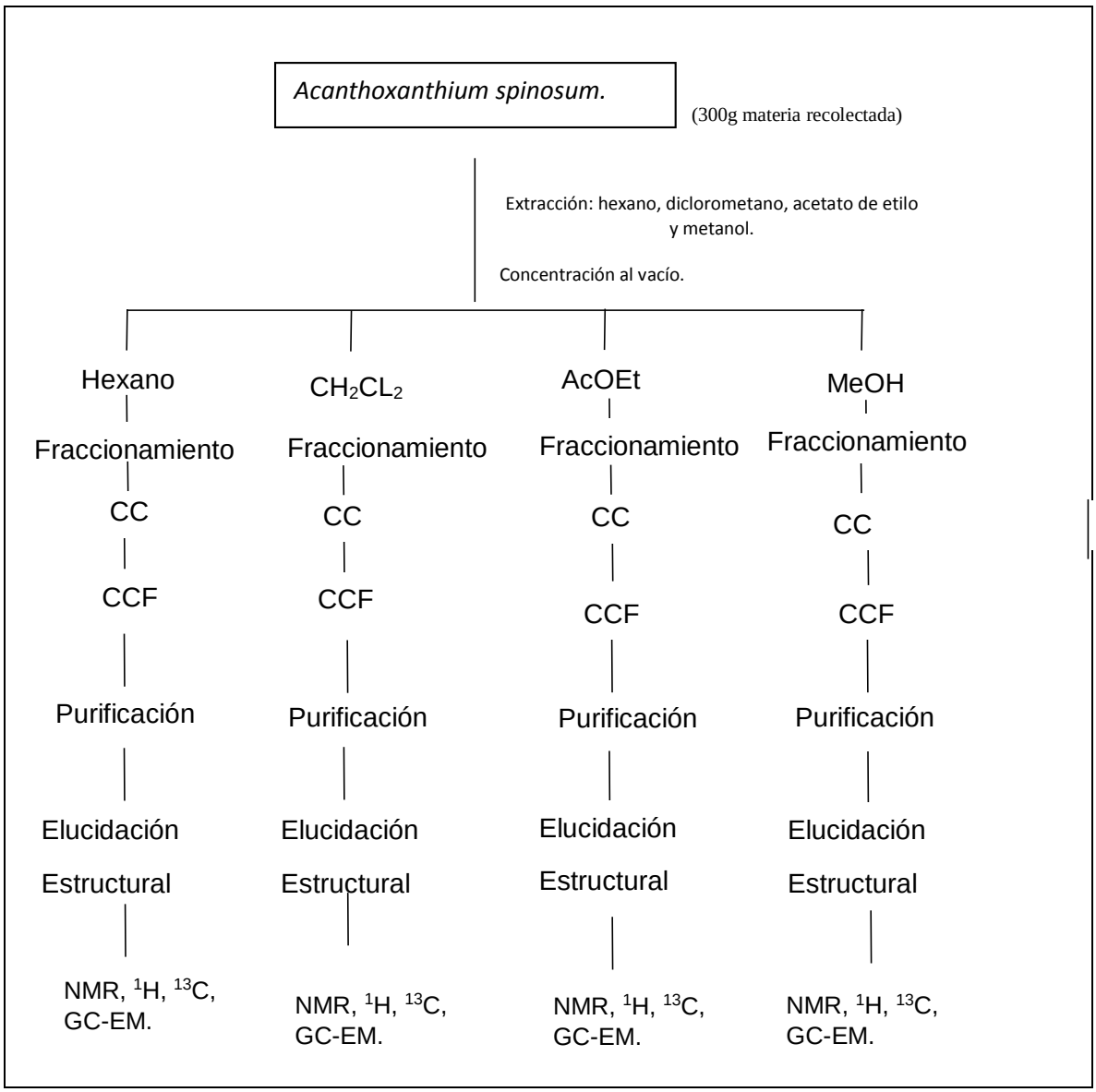


Figura N° 17. Esquema general de la metodología empleada en esta investigación.

Fuente: Autor.

El aislamiento del metabolitos secundarios, se realizó a partir del extracto de AcOEt, basándose en su rendimiento, y en la separación de los componentes observados en las placas de CCF.

3.2 Materiales y métodos.

3.2.1 Materia vegetal

Las hojas, tallos y frutos se recogieron al azar de diferentes plantas *Xanthium spinosum*, cultivadas en el cantón Catamayo de la Provincia de Loja, 3°59′45″S 79°22′19″O. La especie fue identificada en el herbario de UNL por el curador Ing. Bolívar Merino mediante la comparación de la muestra colectada con la referencia del herbario UNL-registró-1945.

3.2.2 Secado del material vegetal

El material vegetal se secó en un cuarto de secado (37°C), durante 5 días, para eliminar toda el agua contenida y evitar el enmohecimiento causado por microorganismos.

3.2.3 Molienda

Con la finalidad de aumentar la superficie de contacto entre la materia vegetal y el solvente, todo el material vegetal siguió un proceso de trituración, para lograr que el proceso de extracción de productos naturales sea más eficiente.

3.2.4 Maceración

Molido y pesado el material vegetal, se colocó el solvente en un recipiente de vidrio, utilizando disolventes de polaridad ascendente (Hexano, Diclorometano, Acetato de etilo, Metanol).

3.2.5 Eliminación del solvente

Para eliminar el disolvente y recuperar el soluto, la mezcla pasa por una filtración al vacío, posterior a esto de utilizó un rotaevaporador, con una temperatura moderada (30°C) y presión reducida para evitar la degradación de los constituyentes químicos.

Figura N° 18. Rotaevaporador.

Fuente. Autor

3.2.6 Selección de los extractos

Los extractos fueron seleccionados por su porcentaje de rendimiento, riqueza y separación de los componentes observados en las placas de CCF, basándonos en estas características se seleccionó el extracto de acetato de etilo de la especie en estudio.

Para evaluar el porcentaje del rendimiento de los extractos se tomó en cuenta los pesos de la materia vegetal seca y del producto final (extractos); de acuerdo a la siguiente la fórmula.

$$\%R_E = \frac{W_E}{W_{MV}} \times 100$$

Dónde:

%R = rendimiento del extracto; WE = peso del extracto; WMV = peso de la materia vegetal seca.

3.3 Aislamiento y purificación

Para el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios se tomaron en cuenta las siguientes técnicas: Cromatografía en columna, cromatografía en capa fina son técnicas utilizadas para el aislamiento.

3.3.1 Cromatografía en columna (CC)

La columna cromatográfica fue empaquetada en húmedo, como fase estacionaria se utilizó sílica gel Merck (0.015-0040 mm), las columnas húmedas se montaron con sílica gel suspendida en disolvente, por compactación a presión. La muestra a sembrar fue mezclada con una mínima cantidad de sílica gel y disuelta con el disolvente CH_2Cl_2 para formar una mezcla homogénea. 5g de extracto de acetato de etilo fueron sometidos a fraccionamiento cromatográfico, con una relación sílica gel: muestra (50:1), los disolventes utilizados fueron Hex-AcOEt (40:2, 30:2, 20:2, 15:2, 10:2, 4:2, 1:1,) AcOEt (100:0), y finalmente con Metanol (100 %). Para las diferentes polaridades utilizadas se cargó un total de (1000 ml) de solvente en la columna y se recolectó un volumen de 10 ml por cada fracción, se eliminó el disolvente por evaporación y se realizó placas de CCF para el control cromatográfico.

3.3.2 Cromatografía de capa fina (CCF)

Para las cromatografías de capa fina (CCF) se utilizaron placas de sílica gel 60 F_{254} (fase directa) posterior a esto la detección de los compuestos sobre las placas se realizó por fluorescencia con luz ultravioleta a 254 y 360 nm, se utilizó como eluyentes Hex-AcOEt y como revelador: ácido sulfúrico/vainillina 1%.

3.4 Unión y purificación de fracciones

Se recolectaron 686 fracciones, cada una de 10 ml. La unión de las diferentes fracciones se la realizó considerando la altura de las manchas características en cada fracción, y la similitud que estas presentaron ante la luz ultravioleta. Utilizando como reveladores sulfúrico/vainillina.

Las fracciones 282-324 que cristalizaron, fueron purificadas con la ayuda de Hexano Gr para limpiar las impurezas y para recristalizar se utilizó Acetato de etilo. Para terminar este proceso por decantación se obtuvieron los cristales.

3.5 Caracterización química

El proceso de caracterización se realizó en la fracción que cristalizo en donde se determinó:

- Punto de fusión
- Factor de retención

3.5.1 Punto de fusión

Se determinó el punto de fusión calentando lentamente una mínima temperatura de la muestra en el lente del equipo Fisher Jones Melting Point, serial 40-22 de 50-60 Hz, se registró la temperatura en la cual la muestra sólida pasa a estado líquido.

En la figura 19 podemos observar el equipo que se utilizó para determinar el punto de fusión.

Figura N° 19. Equipo Fisher Jones.

Fuente. Autor

3.5.2 Factor de retención

El factor de retención se lo determinó evaluando la distancia que recorre la muestra con respecto al recorrido del disolvente, se determina el FR aplicando la fórmula que se detalla a continuación.

$$Rf = \frac{recorrido\ (muestra)}{recorrido\ (solvente)}$$

El recorrido del solvente y la muestra se realiza desde el punto (siembra) hasta el límite de la placa de TLC, como lo muestra la figura 20.

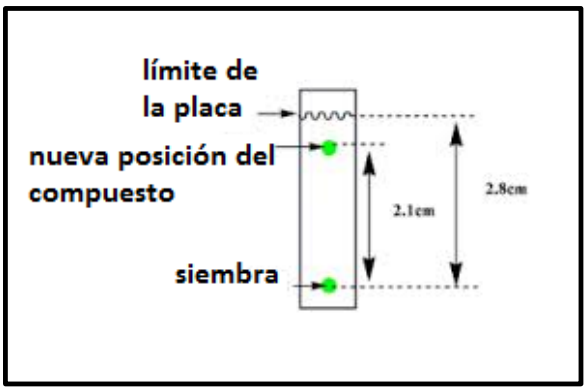


Figura N° 20. Factor de retención

Fuente. Autor

3.6 Elucidación e identificación de los compuestos aislados.

La elucidación e identificación se realizó mediante resonancia magnética nuclear (RMN) y por cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas (GC-EM).

3.6.1 Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de RMN, fueron analizados en el equipo Varian Unity con número de serie 21953, que opera a 400 MHz para RMN 1H y a 100 MHz para RMN 13C, a una temperatura de 25°C. Los compuestos se disolvieron en cloroformo deuterado (CDCl3). Los valores de desplazamiento químico (δ) se expresan en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en Hz.

3.6.2 Cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas (GC-EM)

Los espectros de masas se registraron en un equipo Aligent 6890N GC-MS, con una columna capilar de cuarzo (30 m x 250 µm) modelo Agilent 122-5532. Las condiciones de operación fueron: T de horno, 50 °C (2 min) hasta 270 °C (15 min) a una velocidad promedio de 40 cm/seg; gas portador, nitrógeno; temperatura del detector 250 °C, y una gradiente de temperatura de 5°C, energía de ionización 70 eV.

CAPITULO 4

RESULTADOS

En base a la metodología antes señalada, a continuación se presentan los resultados obtenidos durante todo el proceso.

4.1 Rendimiento de los extractos obtenidos

Después del proceso de extracción de las partes de la especie *Acanthoxanthium spinosum* (*Xanthium spinosum*). Con 300g sometidos a maceración dinámica con disolventes de polaridad ascendente permitió obtener los extractos de Hexano, Diclorometano, Acetato de etilo y Metanol.

Todos los extractos presentan consistencia sólida. Los extractos de hexano, diclorometano y metanol son de color verde oscuro; el extracto de acetato de etilo de un color más claro. Los porcentajes de rendimiento (en base seca) oscilan entre: 2,63% - 3,27% (planta), siendo el extracto de metanol el que presentó mayor rendimiento. Estos valores fueron obtenidos en base al peso de la materia vegetal.

La tabla 2, muestra la cantidad en gramos y el rendimiento de los extractos, obtenidos del proceso de maceración dinámica con diferentes disolventes de polaridad ascendente a partir de la especie de *Acanthoxanthium spinosum* (*Xanthium spinosum*).

Tabla 2. Porcentaje de rendimiento de extractos de hojas.

Extracto	Peso (g)	Rendimiento (%)
Hex	7,89	2,63
CH_2Cl_2	8,8	2,93
AcOEt	7,48	2,49
MeOH	9,83	3,27

Fuente. Autor

En la figura N°21 se observan las TLC, que se realizaron a cada uno de los extractos, empezando desde la izquierda con el extracto de hexano, diclorometano, acetato de etilo y metanol. En la proporción 8:2 (hexano-acetato), ya que con estos solventes muestran mejor separación.

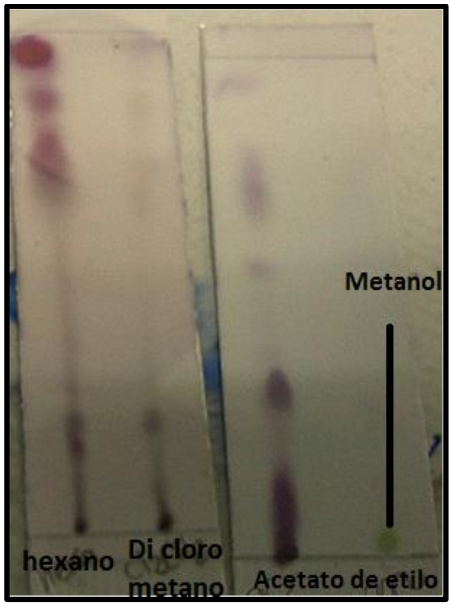


Figura N° 21. TLC (fase directa) extractos totales.

Fuente. Autor

4.2 Aislamiento e identificación del Estigmasterol

El compuesto estigmasterol fue obtenido de las fracciones 282–354 eluidas con Hex-AcOEt (15:2) del extracto de acetato de etilo, y la comparación de los espectros de RMN 1H y 13C reportados en bibliografía permitieron identificar. Este compuesto fue cristalizado en hexano GR. Se obtuvo un peso de 0,80 g. La estructura fue asignada en base a su análisis de RMN y espectrometría de masas. A continuación se muestra el esquema empleado en la identificación del mismo.

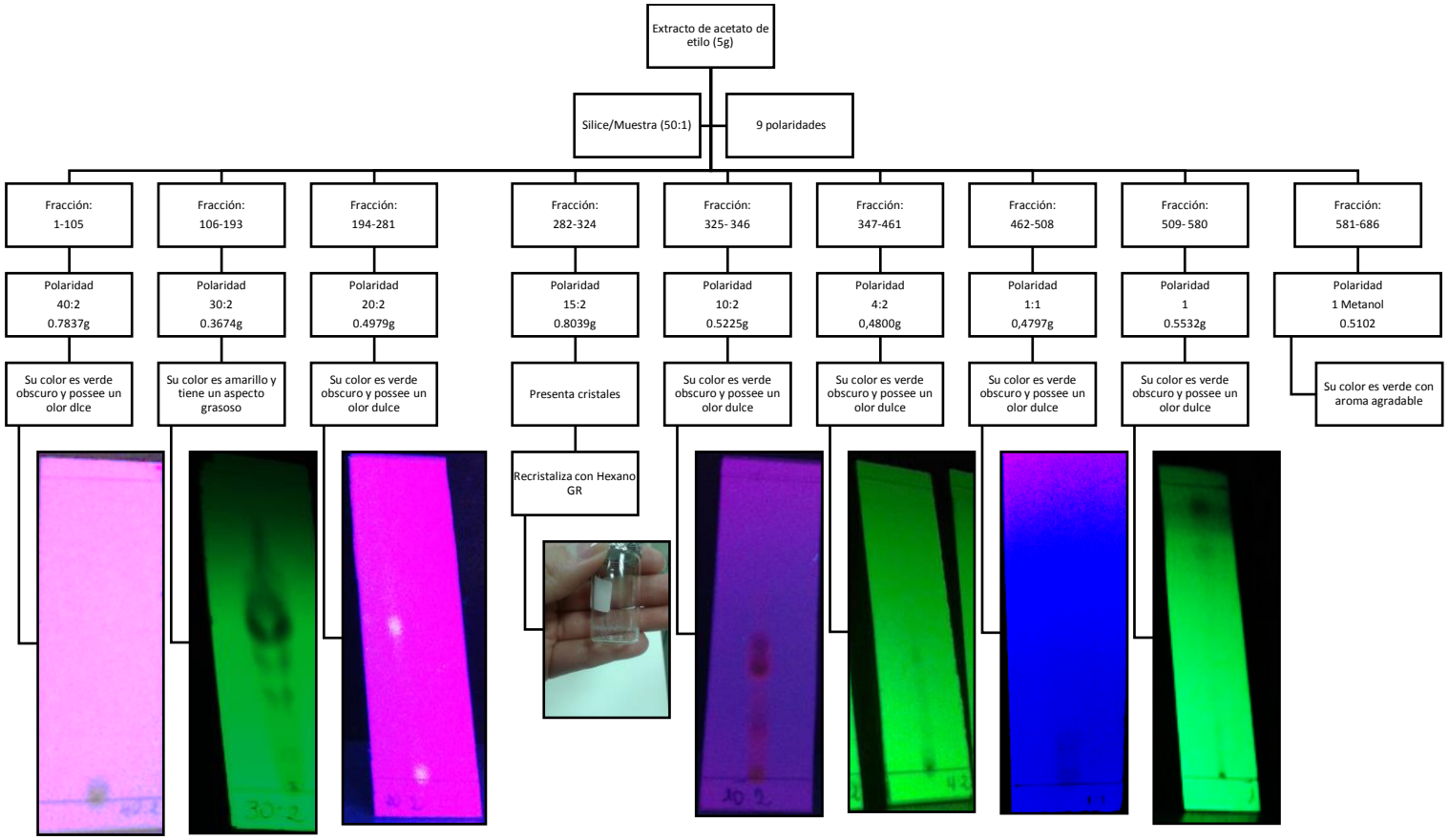


Figura N° 22. Esquema del Montaje de la Cromatografía en Columna (CC)

Fuente. Autor

El compuesto se encuentra en forma de cristales incoloros, en forma de delgados y pequeños palillos, su punto de fusión 167-168°C, posee la fórmula molecular $C_{29}H_{48}O$. El análisis de CG-EM mostró un pico de ion molecular (m/z) de 412 [M]+. La placa de CCF eluida en Hex-AcOEt (8:2) permite determinar el Rf en 0.60.

Figura N°23. Placa de CCF de las fracciones (282-354)

Fuente. Autor

En el anexo 1, se muestra el espectro de RMN ^{1}H (LR621, 400 MHz) en el que resaltan como señales significativas: un desplazamiento (δ ppm) en 5,17 (1H, dd) pertenece al hidrógeno oleofínico C22, 5,03 (1H, dd) pertenece al hidrógeno oleofínico del C23; del 3,52 (1H, m) que corresponde al hidrógeno del grupo hidroxilo (OH) del C3. El desplazamiento 0,69 (3H, s) corresponde a los hidrógenos del grupo metilo del C18.

4.3 Datos de RMN ^{1}H y ^{13}C para la identificación del estigmasterol

Los valores del desplazamiento químico de las señales del espectro RMN-^{1}H y RMN-^{13}C se muestran en la tabla 3 y 4.

Tabla 3. Desplazamiento químico (δ), en el espectro RMN-^{1}H, de los hidrógenos del estigmasterol.

H	δ (H1)	Ramírez (1997)
H-3	3.52 (m)	3.52 (m)
H-6	5,35 (m)	5,32 (m)
H-18	0,69 (s)	0.69 (s)
H-19	1,00 (s)	1.01 (s)

H-21	1,01 (d)	1,02 (d)
H-22	5,17 (dd)	5,12 (dd)
H-23	4,98 (dd)	4,89 (dd)
H-26	0,84 (d)	0,83 (d)
H-27	0,80 (d)	0,79 (d)

Para cada protón se muestra el desplazamiento químico.
Fuente: Autor

Datos espectroscópicos del compuesto aislado.

RMN-^{1}H (300 MHz, CDCl3 (TMS); ppm): 5,35 (1H, d, J=5.2, H-6), 3.52 (1H, m, H-3), 1,01 (3H, s, H-19), 1,01 (3H, d, J=6,4 Hz, H-21), 0,86 (5H,d, J=0 Hz, H-26 y H-27), 0,68 (3H, s,H-18).

Al comparar los datos espectroscópicos obtenidos con los datos descritos en la literatura, permite confirmar que se trata de la estructura del estigmasterol cuya estructura se indica en la figura N°24.

En la tabla N°4 se detallan los desplazamientos químicos, del espectro RMN-^{13}C, comparado con los datos de bibliografía.

Tabla 4. Desplazamiento químico (δ), en el espectro RMN-^{13}C, de carbonos estigmasterol.

C	δ 13C	Da Silva (2010)	Goad (1991)
1	37,4	37,47	37,3
2	31,82	32,13	31,7
3	71,97	72,04	71,08
4	42,46	42,5	42,4
5	140,99	140,97	140,8
6	121,87	121,95	121,7
7	32,05	32,13	31,9
8	32,05	32,13	31,9
9	50,28	50,4	50,2
10	36,66	36,36	36,6
11	21,02	20,04	21,1
12	39,92	39,9	39,7
13	42,46	42,5	42,4
14	56,91	57,08	56,9

15	24,45	24,58	24,4
16	29,07	29,14	29
17	56,1	56,26	56,1
18	12,13	12,19	12,1
19	19,54	19,62	19,4
20	40,65	40,72	40,5
21	21,02	20,04	21,1
22	138,47	138,54	138,54
23	129,42	129,49	129,49
24	51,39	50,34	51,13
25	32,05	32,13	31,9
26	21,23	20,04	21,3
27	18,92	19,24	19
28	25,55	25,63	25,4
29	12,4	12,26	12,3

*****Desplazamientos químicos en ppm

Fuente: Autor

Datos espectroscópicos del compuesto aislado.

RMN 13C (300 MHz, CDCl3; ppm): 37.4 (C-1), 31.66 (C-2), 31,82 (C-3), 42,46 (C-4), 140.99 (C-5), 121,87 (C-6), 32.05 (C-7), 32.05 (C-8), 50.28 (C-9), 36,66 (C-10), 21,02 (C-11), 39,92 (C-12), 42,46 (C-13), 56,91 (C-14), 24,45 (C- 15), 29,07 (C-16), 56.01 (C-17), 12.13 (C-18), 19.54 (C-19), 40.65 (C- 20), 21.02 (C-21), 138.47 (C-22), 129.42 (C-23), 51.39 (C-24), 32.05 (C-25), 21.23 (C- 26), 18.92 (C- 27), 25.55 (C-28), 12.4 (C-29).

El espectro mostró 36 señales. Las señales (δ) fueron asignadas 24,45 y 121,87 a los carbonos del doble enlace entre C-5 y C-6 de estigmasterol. Se observaron a 138,47 y 129,42 (δ) señales características de los átomos de carbono del doble enlace entre C-22 y C-23. También se observó una señal en 71.97 (δ) atribuido al carbono C-3. Un análisis comparativo con los datos de bibliografía permite confirmar la identificación del estigmasterol. La estructura química correspondiente al estigmasterol se muestra en la figura N°24.

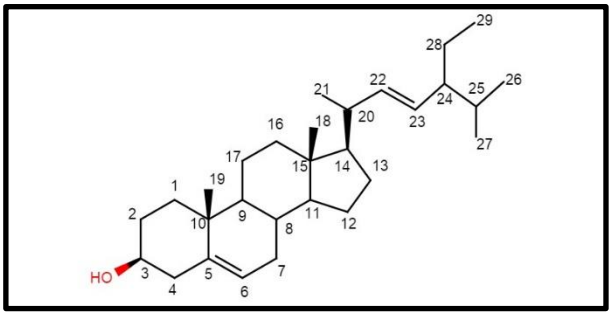


Figura 24. Estructura de estigmasterol

Fuente. Autor

Las señales de RMN ^{1}H y ^{13}C coinciden con los datos reportados por la bibliografía (Da Silva, 2010; Ramírez de Uzcatagui, 1997).

4.4 Identificación del compuesto mediante cromatografía de gases acoplado a espectroscopía de masas (GC-MS).

Para confirmar la atribución dada al espectro se comparó con el espectro de la bibliografía (Da Silva 2010) el mismo que coincide con el espectro que consta en la base de datos del aparato Aligent 6890N (GC-MS), comprobando que corresponde al terpeno estigmasterol. El espectro del compuesto reportado en la bibliografía se observa en la figura 10.

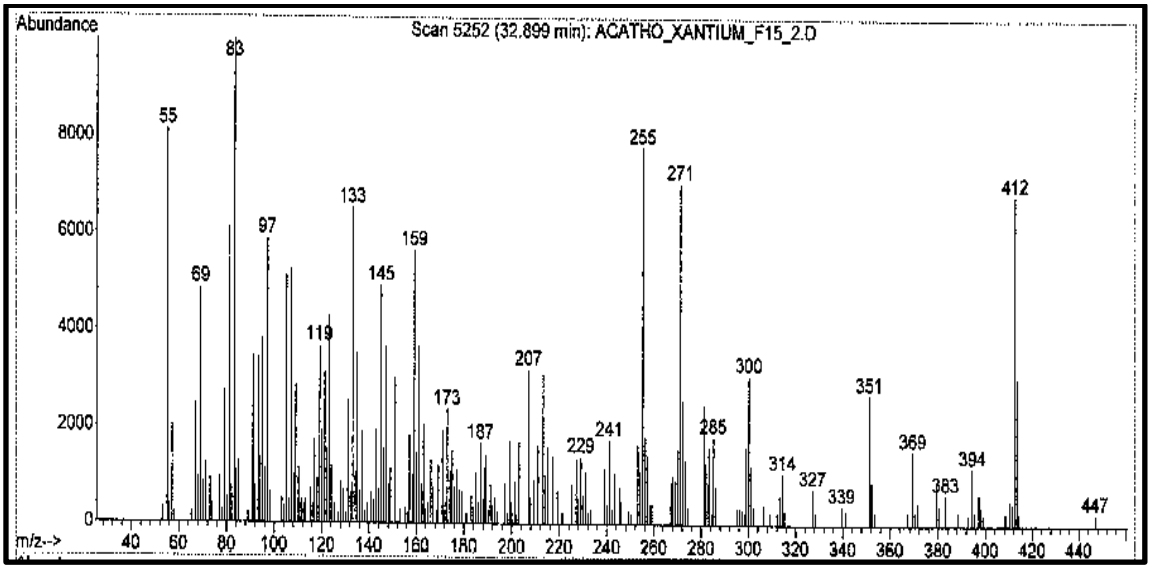


Figura 25. Espectro de estigmasterol

Fuente. Autor

En la figura N° 11 el espectro reportado según Da Silva, 2010. Sirve para comparar los datos espectroscópicos así poder atribuir el nombre de la molécula aislada

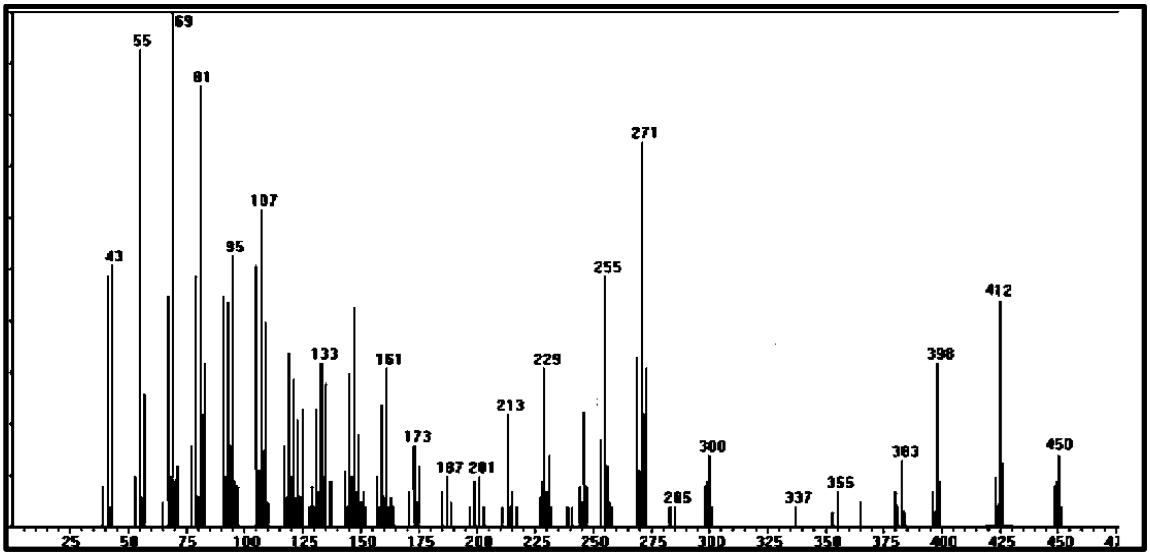


Figura 26. Espectro de estigmasterol

Fuente. (Da Silva, 2010)

Mediante la comparación del espectro de masas se observó: un ión molecular a m/z=412, correspondiente a una fórmula molecular $C_{29}H_{48}O$, en el espectro de masas de baja resolución se observaron fragmentos significativos a m/z=394 perdida de agua [M+ - H_2O] y m/z=379 [M+ -CH_5O] con una abundancia relativa de 25. Igualmente se observó señales a m/z= 397 con una abundancia relativa de 21 y una señal a m/z= 271 con una abundancia relativa de 20 según los desplazamientos químicos de sus respectivas señales se confirmó la estructura del estigmasterol.

Conclusiones

- ✓ Las técnicas cromatográficas y espectroscópicas permitieron la separación e identificación del compuesto estigmasterol a partir del extracto de acetato de etilo de la especie Acathoxantium spinosum (*Xanthium spinosum*).

- ✓ Los porcentajes de rendimiento de los extractos obtenidos oscilan entre 2.63% - 3.27% siendo el extracto de metanol el que presento mayor rendimiento.

Recomendaciones

- ✓ Continuar con el estudio fitoquímico de la especie *Acanthoxanthium spinosum* (*Xanthium spinosum*), con la finalidad de obtener una validación química completa de la especie. Según la bibliografía se sabe que de las raíces de la especie se han podido aislar xanthaloides.

- ✓ Utilizar una mezcla de solventes (éter de petróleo, éter etílico, acetona) desde el proceso de maceración, igualmente en la elaboración de placas de TLC, ya que según la bibliografía consultada al realizar esta mezcla de solventes se logra aislar varios metabolitos secundarios como flavonoides, lactonas sesquiterpénicas, etc.

Bibliografía

Abdallah A. Omar, Elsayed M. Elrashidy, Nabila A. Ghazy, Ali M. Metwally, Jürgen Ziesche a, Ferdinand Bohlmann. (1984). Xanthanolides from Xanthium spinosum. *Phytochemistry*, 915-916.

Abdei-Mogib, M., Dawidar, A.M., Metwally, M.A., Abou-Elzahab, M.,. (1991). Xanthanolides from Xanthium spinosum. *Phytochemistry 30,*, 3461–3462.

Abreu & Cuéllar. (2008). Estrategía en la selección de plantas medicinales a investigar. *Rev. Plantas Medicinales.*, 13-20.

Aguirre, M., Madsen, J., Cotton, E., & Balslev, H. (2002). Botánica austro ecuatoriana. Estudios sobre los recursos vegetales de las Provincias del Oro, Loja y Zamora Chinchipe. *Ed. ABYA-YALA. Quito-Ecuador.*, 2-4p.

Alonso, J.R. (1998.). Tratado de Fitomedicina. *ISIS Ediciones, Argentina,*, 386.

Andrade , José Miguel ; Armijos, Chabaco Patricio; Malagón , Omar Germán ; Lucero Mosquera , Hernán;. (2009). *Plantas medicinales silvestres empleadas por la etnia Saraguro en la parroquia San Lucas, Loja-Ecuador. Loja-Ecuador.* Loja : Editorial universitaria UTPL.

Ansari A.H, Dubey K.S. (2000). 2-Desacetyl-8-epi-xanthumanol-4-O-b-D-galactopyranoside: the potential antitumor sesquiterpenoidal lactone from Xanthium spinosum bark . *Asian J. Chem 12*, 521-526.

Auroma, O.I. . (2003). Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutat*, 9-20.

Barroso. (1991). *Sistemática de angiospermas do Brasil.* Brazil: Viçosa: Universitária, v.2, 1991. 377 p.

Bisht NPS, Singh R. . (1978). Chemical Investigation of the leaves of Xanthium Strumarium L. *Journal of Indian Chemistry Society.* , 55:707708.

Bohlmann F. (1977). Summary of the chemistry of the Compositae. The Biology and Chemistry of the Compositae. *Heywood, Harborne & Turner (eds.)*, 2: 1097-1104. London, Academic Press.

Bohlmann F. Zdero C. . (1981). *Phytochemistry* , 20, 2429.

Bremer K. (1994). *Asteraceae: cladistics and classification.* Timber Press: Porlland, OR.

Cetinsoy S, Tamer A, Aydemir M. (1998). Investigations on repellent and insecticidal effects of Xanthium spinosum L. on colorado potato beetle leptinotrasa decemlineata say (Col: Chrysomelidae) . *Traditional J Agric Forestry* , 22:54352.

Ciulei I, Grigorescu E, Stanescu U. (1993). Planta Medicinale,Fitochimie, Fitoterapie, vol. 2. *Bucuresti.*, pp 215- 228.

Da Silva Roberto . (2010). *Estudo fitoquimico y biologico de Bauhinia acuruana .* Brazil .

Deuel P, Geissman T. (1957). Xanthinin. II. The structures of xanthinin and xanthatin. *J. Am. Chem. Soc 79*, 3778-3781.

Dharmananda S. (2003). Safety issues affecting Chinese herbs: The case of Xanthium. *Institute for Tradional Medicine European Branch, Vol. 1*, p.18.

Duke J, Ottesen J , Andrea R. (2008.). Handbook of medicinal plants of Latin America. *Boca Raton: CRC Press.*

Esmaeili A, Rustaiyan A, Akbari MT, Moazami N, Masoudi S, Amiri H. (2006). Composition of the essential oils of Xanthium spinosum L. *Essential Oil Res*.

Fernandez EC, Sandi YE, Kokoska L. . (2003). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in the Bustillo Province of the Potosi Department,. *Fitoterapia* , 74:407-16.

García del Castillo E; Martínez I. (2007). *Manual de fitoterapia .* España : Masson; 536.

Geissman T, Deuel P, Bonde E, Addicott F . (1954). Xanthinin: a plant-growthregulating compound from Xanthium pennsylvanicum. *I, J. Am. Chem. Soc. 76*, 685-687.

Ginesta-Peris, E.; Garcia-B F. J.; Primo-Yufera, E. (1994). *Letters in Applied Microbiology* . 18(4), 206-8.

Gutierrez-Lomeli, M. T.-S.-S.-H. (2012). *Natural Products Extracts: Terpenes and Phenolics.* Mexico.

Habibi Z, Laleh A, Masoudi S, Rustaiyan A. (2004). Composition and taxonimia of essential oil of Xanthium Brasilium vellozo from Iran. *J Essential Oil Res*, 16:312.

Hamel PB, Chiltoskey MU. (1975.). Cherokee plants and their uses. . *A 400 year history. Sylva, North Carolina: Herald publishing; .*

Holmes & McDaniel. (1996). *Mikania. In: Macbride Flora of Peru. Fieldiana, Botany,.* pp. 1–56.

Horeau, A. (1977). *in Stereochemistry. Fundamentals and Methods Vol. 3.* Kagan : G. Thieme, Stuttgart.

Jativa Cumanda , Marinoni G, De Bernardi M, Vidari G, Vita-Finzi P. (1991). New sesqui terpenes from Xanthium catharticum. *J Nat Prod*, 54:460–5.

Kinghorn, A.D., Farnsworth, N.R., Soejarto, D.D., Cordell, G.A., Pezutto, J.M., Udeani, G.O., Wani, M.C., Wall, M.E., Navarro, H.A., Kramer, R.A., Menendez, A.T., Fairchild, C.R., Lane, K.E., Forenza, S., Vyas, D.M., Lam, K.S., Shu, Y.Z. (1999). Novel strategies for the discovery of plant-derived anti-cancer agents. *Pure and Applied Chemistry* , 71:1611–1618.

Kishore N, Dubey NK, Tripathi RD, Singh SK. (1982). Fungitoxicity of the leaf extracts of some higher plants against Fusarium Moniliforme. . *National Academy Science Letters*, 5; 9-10 .

Kupchan SM, Eakin MA, Thomas M. (1969). Tumor inhibitors. *Structurecytotoxicity*, 34.

Lavault M, Landreu A, Larcher G, Bouchara JP, Pagniez F, Le Pape P, Richomme P. (2005). Antileishmanial and antifungal activities of xanthanolides isolated from Xanthium macrocarpum. *Fitoterapia*, 363-366.

Ma C, Kully M, Khan JK, Hattoric M, Daneshtalaba M. (2007;). Synthesis of chlorogenic acid derivatives with promising antifungal activity. . *Bioorg Med Chem.*, 15:6830-3.

Mandal SC, Dhara AK, Ashok Kumar CK, Maiti BC. (2001.). Neuropharmacological activity of Xanthium strumarium extract. . *J Herbs Spices Med Plants* , 8:6977.

Martinez ML, Molina Torres J. (1991). Tocopherols and leaf age in Xanthium Strumarium L . *New Phytol* , 118-959.

Menéndez J. (1753). *Xanthium spinosum .* Brazil: Astronauta .

Mittermeier, R . (1988). *Case studies from Brazil and Madagascar and the importance of the megadiversity countries.* Brazil : E.O. Wuilson, & F.M. Peter, Edits. Biodiversity. The National Academy Press, Pp. 145-154.

Naidenova E, Kolarova-Pallova I, Popov D, Dimitrova-Konaklieva S,. (1998). Isolation and obtaining of sesquiterpene lactones with antitumor properties xanthinin, stizolicin, and solstitialin. *Natl. Oncol.Cent. Med. Acad.*, 105-106.

Ntie-Kang F, Lifongo L, Mbaze L, Ekwelle N, Owono L, Megnassan E . (2013). Cameroonian medicinal plants: a bioactivity versus ethnobotanical survey and chemotaxonomic classification. *Complementary and Alternative Medicine*, 147-164.

Olga de Ugaz Luck Sing. (2002). *Manual de fisicoquimíca.* PUCP.

Peguero, B. (1998). Estudio etnobotánico de las comunidades ubicadas dentro y en la periferia del parque nacional Juan Bautista Pérez Rancier. *Ed. ABYA-YALA. Quito-Ecuador.*, 9-12.

Ramirez de Uzcategui. (1997). *Estudio Fitoquimico de hojas Bodwicha.*

Rastogi RP, Mehrotra BN. (1979). Compendium of Indian medicinal plant. *CDRI Lucknow and NSIC New Delhi*, 2:711.

Riscala E, Catalán C, Díaz J, Herz W. (1994). Xanthanolides and bis-norxanthanolides from Xanthium cavanillessi. *Phytochemistry* , 35:1080-1082.

Rodríguez J, Lafourcade A, Ferris K, Cañada J. (2006). Plataforma para la enseñanza de la química de los fármacos naturales. *Revista Cubana de Química*, 167-175.

Roussakis H, Chinou CI, Vayas CJ. (1994). Cytotoxic activity of Xanthatin and the crude extracts of Xanthium strumarium. *Planta Med*, 60:4734.

Salinas A, De Ruiz E, Ruiz O. (1998). Sterols, flavonoids, and sesquiterpenic lactones from Xanthium spinosum (Asteraceae). *Acta Farm. Bonaer*, 297-300.

Sato, H. Oketani, T. Yamada, K.I. Singyouchi, T. Ohtsubo, M. Kihara, M. Shibata, T.J. Higuti. (1997). A xanthalonide with potent antibacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. . *J Pharm Pharmcol* , 49:10424.

Sato, Y., Oketani, H., Yamada, T., Singyouchi, K., Ohtsubo, T., Kihara, M., Shibata, H., Hi, T., . (1997). A xanthanolide with potent anti-bacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus . *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49, 104.

Saxena V, Mondal S. (1994). A xanthanolide from Xanthium strumarium. . *Phytochemistry*, 35:1080–1082.

Sierra R. (1999). *Prpopuesta preliminar de un sistema de clasificación de vegetación para el Ecuador continental. Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y Ecociencia.* Quito-Ecuador : Sierra R. Ed.

Sundararaman P, D. C. (1977). A convenient synthesis of progesterone from stigmasterol. *J Org Chem. 42 (22)*, 3633-3634.

Taiz L & Zeiger E. (2006). FISIOLOGIA VEGETAL. Crecimiento y desarrollo. *Publicacions de la Universitat Jaumel. Castelló de la Plana*, ISBN 978-84-8021-600-5.

Torre L, Navarrete P. Muriel M, Macia M. (2008). *Enciclopedia de la Plantas Útiles del Ecuador p. 289.* . Ecuador : Balslev (eds).

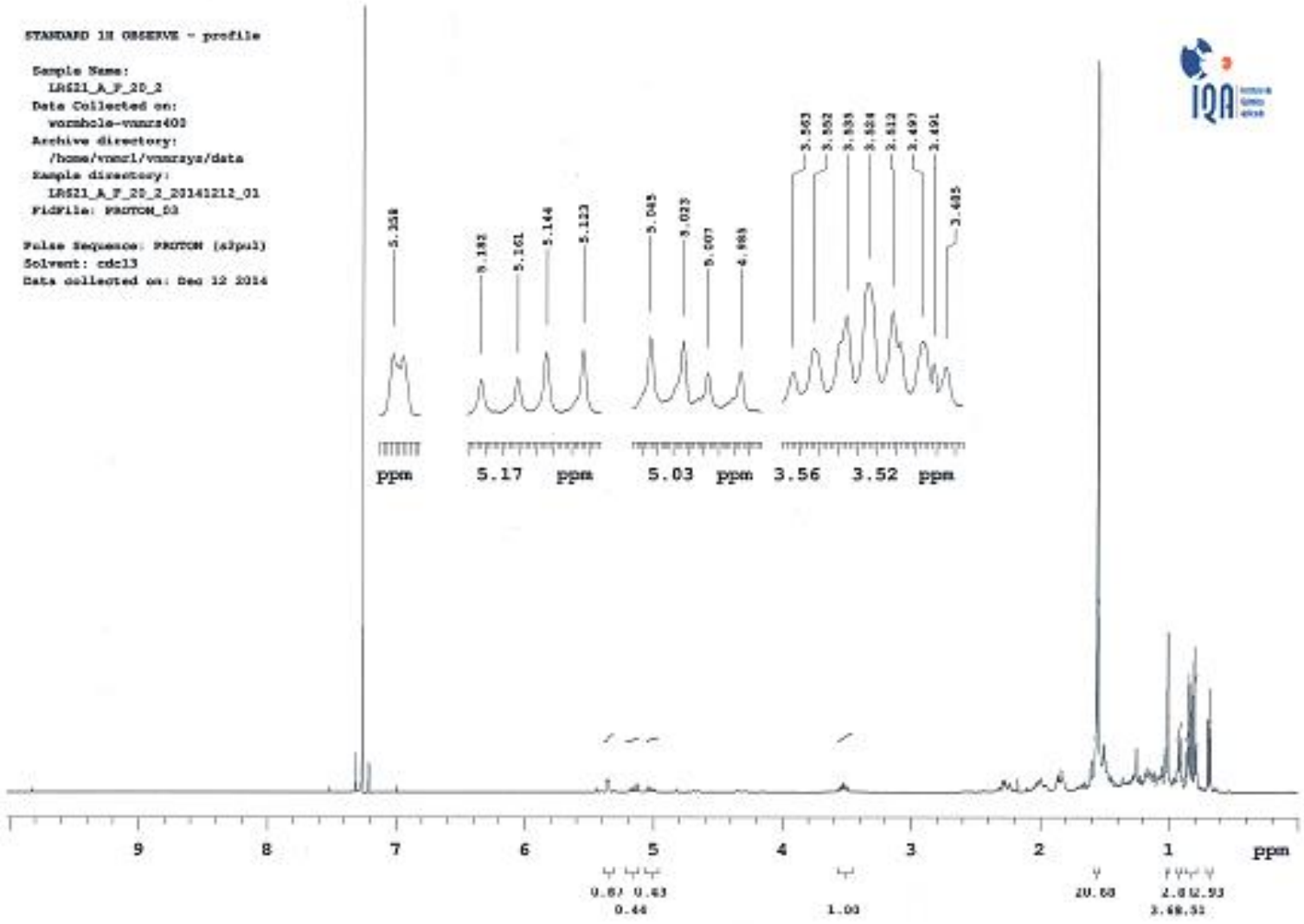
Torres M & Martinez M. (1991). Tocopherols and leaf age in Xanthium Strumarium L. *New Phytol*, 118:959.

Yoon J.H, Lim H.J, Lee H.J, Kim H.D, Jeon R, Ryu J.H. (2008). Inhibition of lipo polysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by xanthanolides isolated from Xanthium strumarium18 . *Bioorg. Med. Chem. Lett.* , 21.

ANEXOS

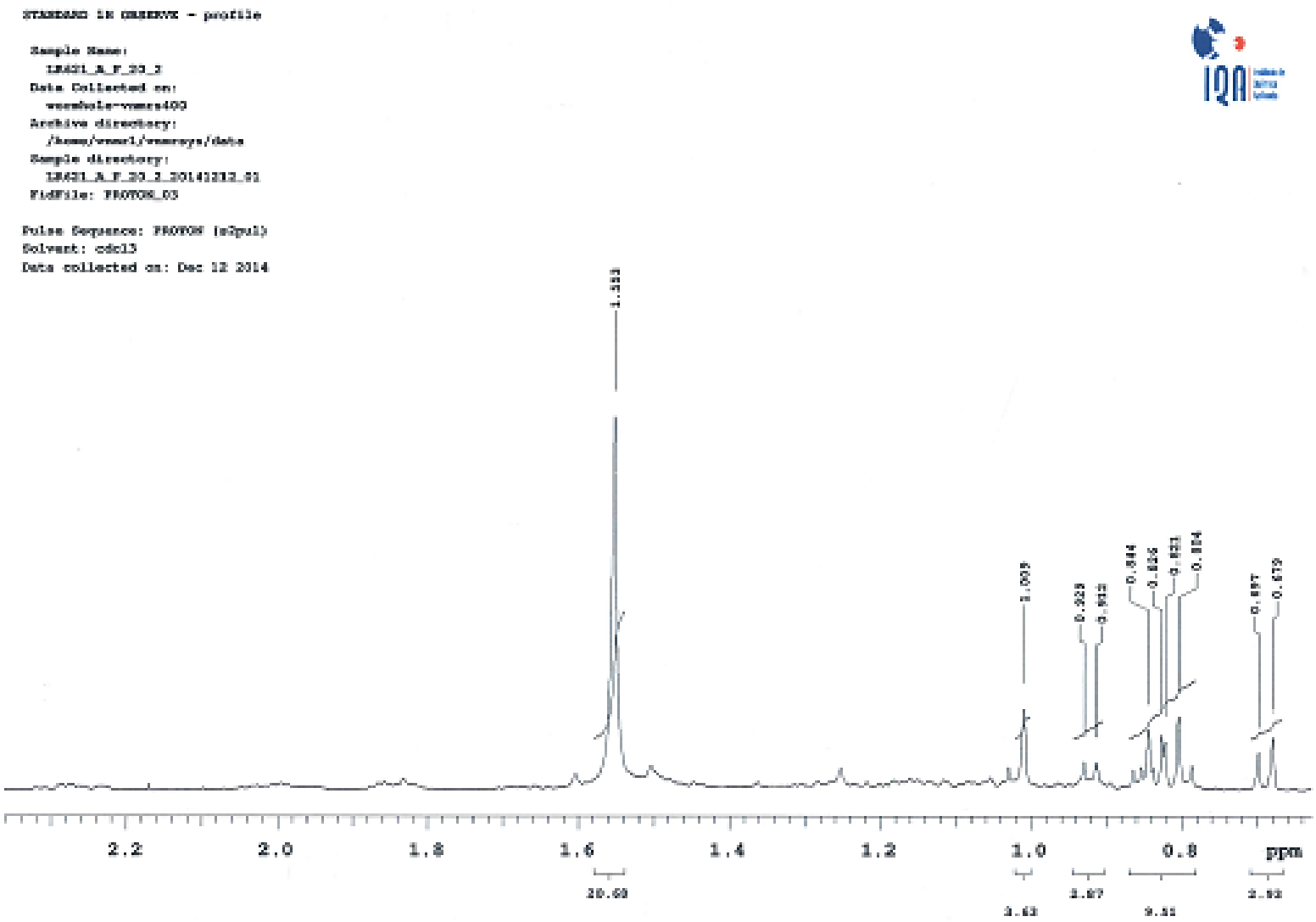
Anexo 1

Espectro de RMN ^{1}H del triterpeno Estigmasterol.



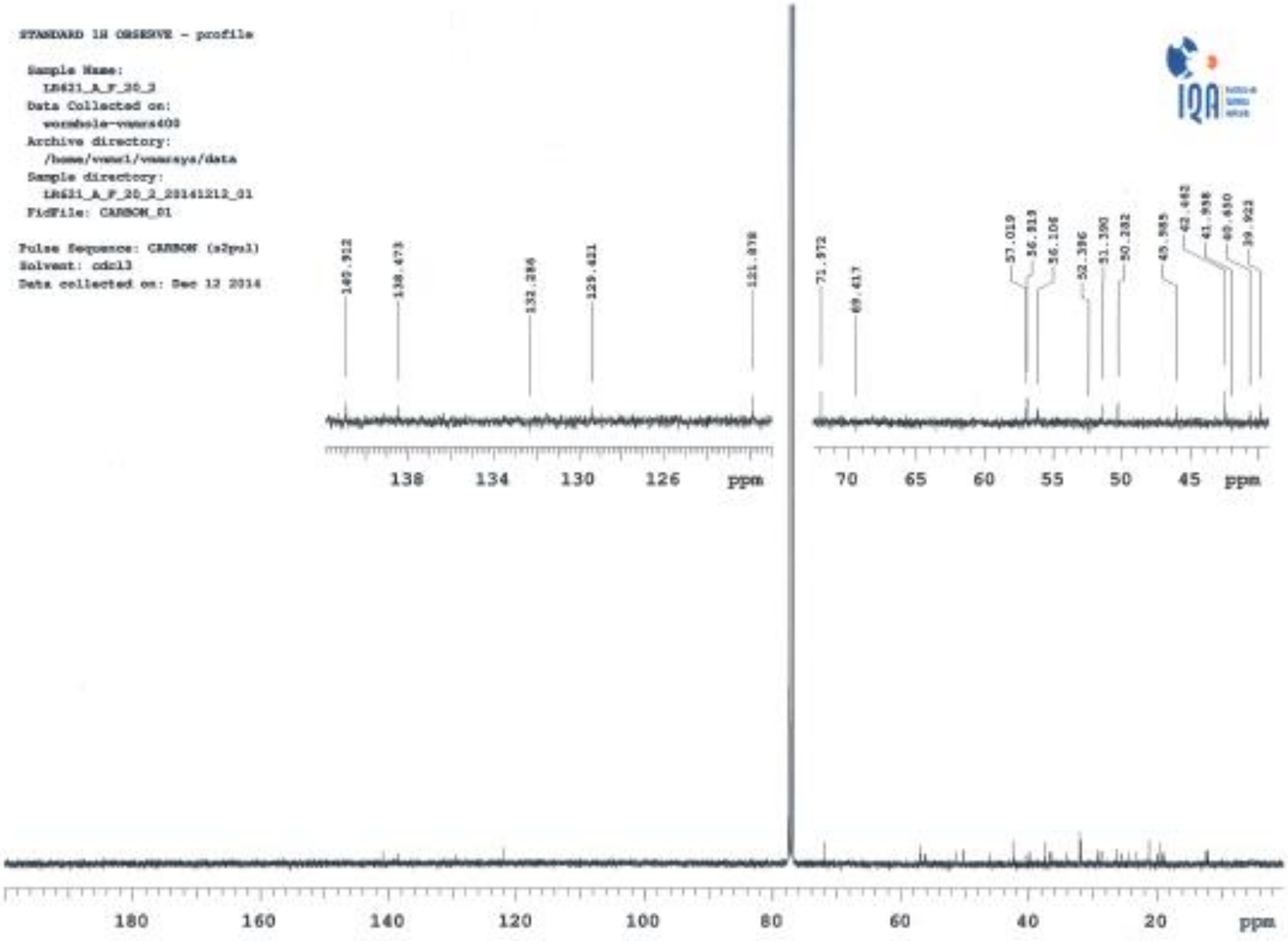
Anexo 2

Espectro de RMN ^{1}H del triterpeno Estigmasterol.



Anexo 3

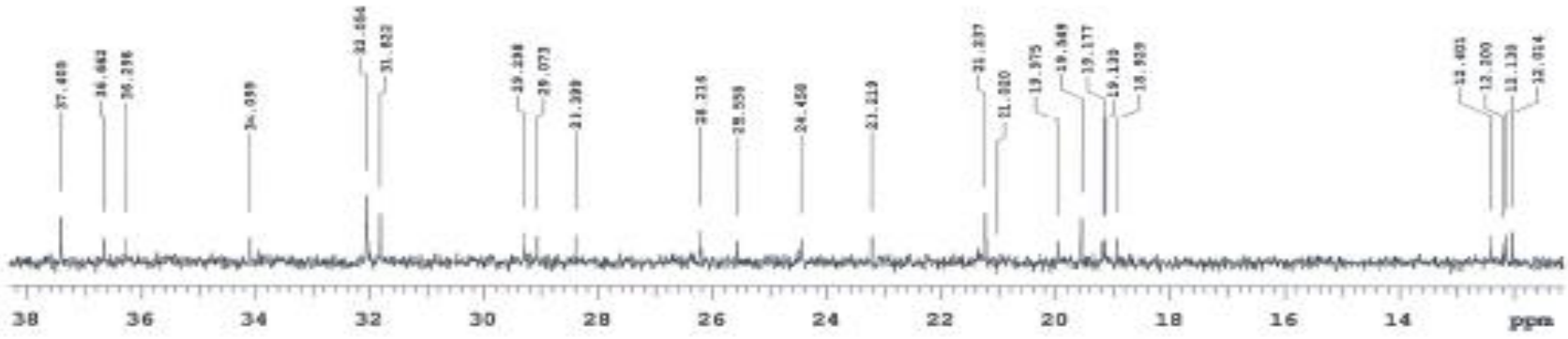
Espectro de RMN ^{13}C del triterpeno Estigmasterol.



Anexo 4

Espectro de RMN ^{13}C del triterpeno Estigmasterol.

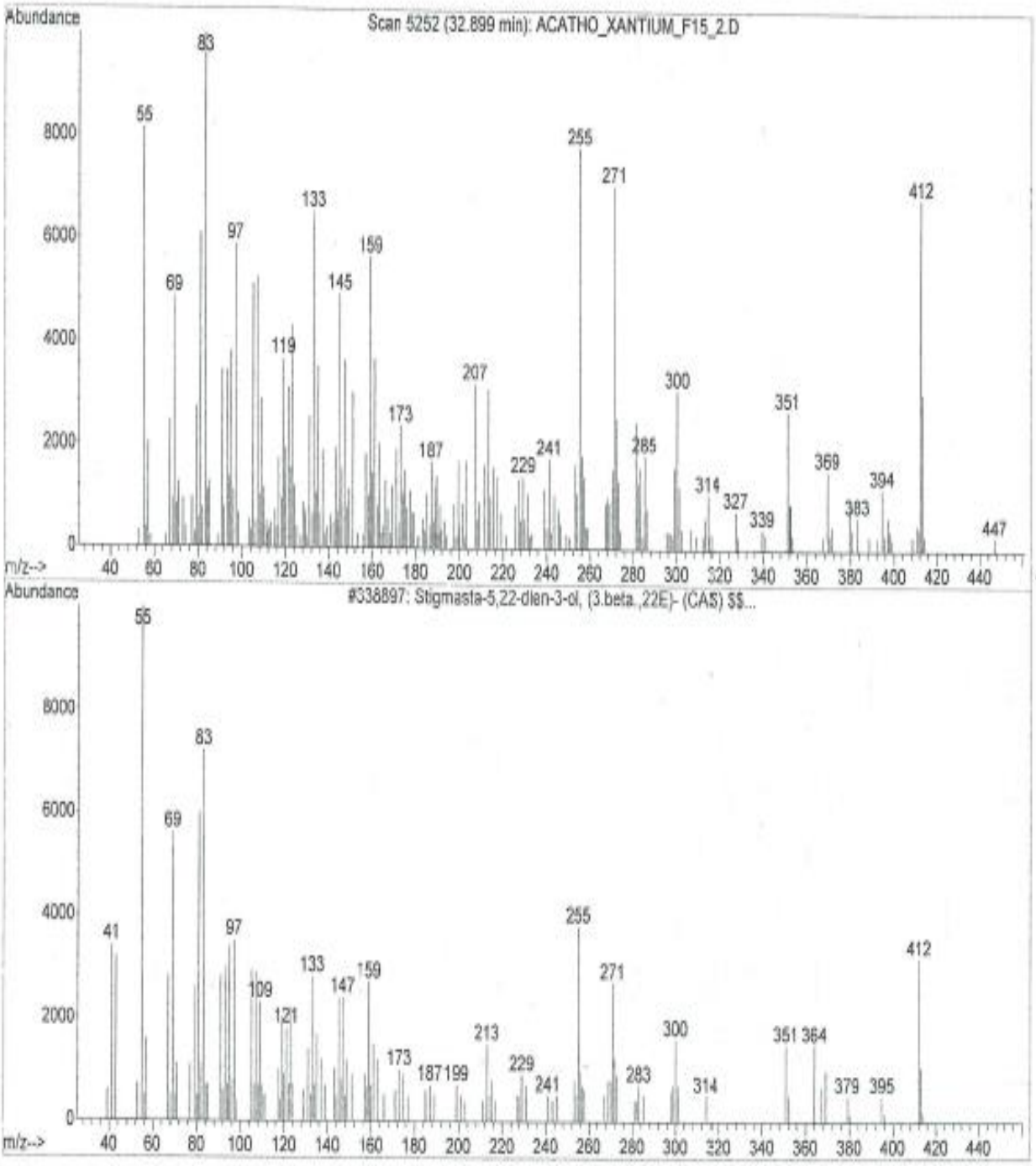
```
STANDARD 13 OBSERVE - profile

 Sample Name:
   LR621_A_F_20_2
 Data Collected on:
   wormhole-vnmrs400
 Archive directory:
   /home/vnmrl/vnmrsys/data
 Sample directory:
   LR621_A_F_20_2_20161212_01
 FidFile: CARBON_01

Pulse Sequence: CARBON (s2pul)
Solvent: cdcl3
Data collected on: Dec 12 2016
```



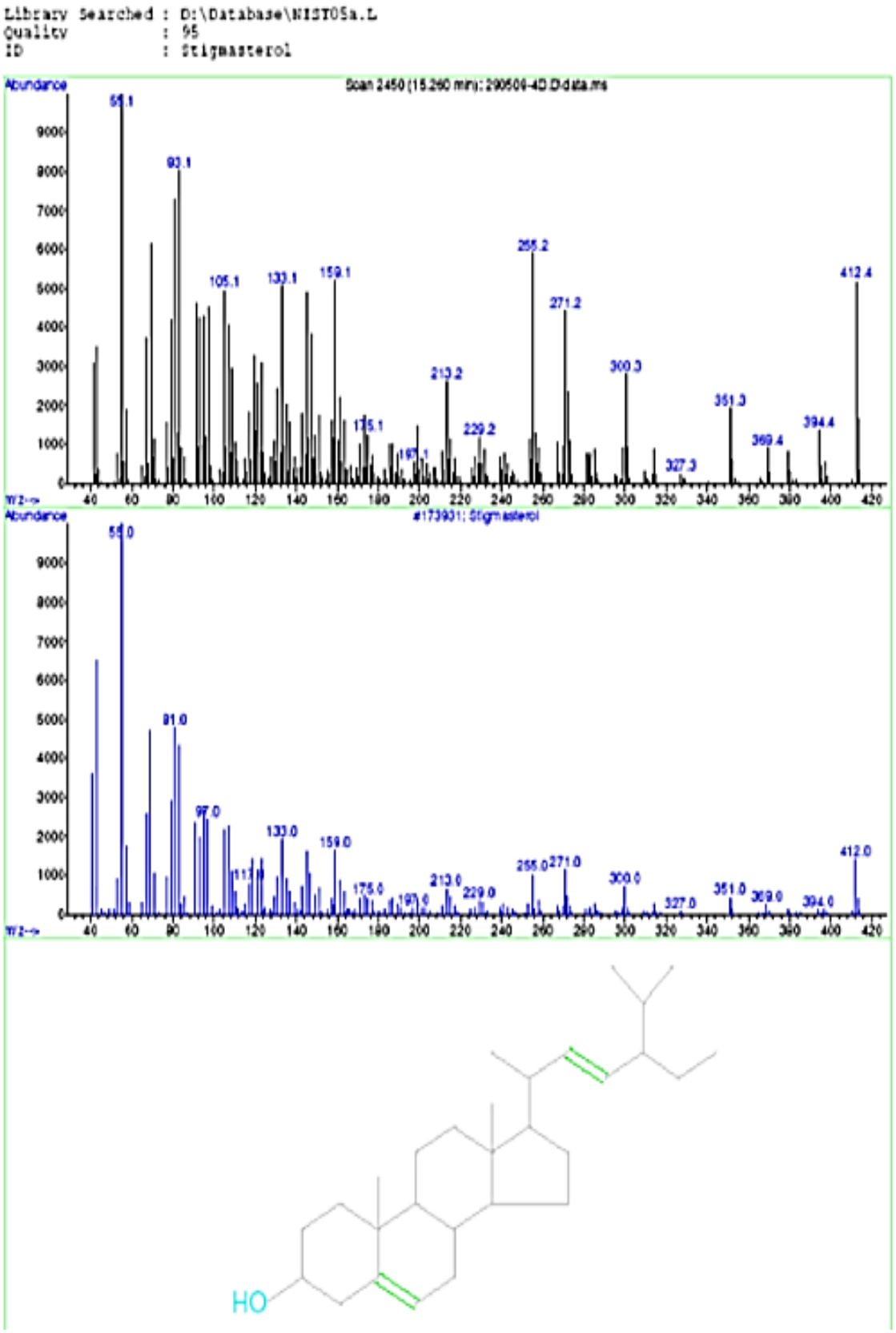
Anexo 5

Espectro de masas del triterpeno Estigmasterol

Library Searched : C:\DATABASE\wiley7n.l
Quality : 93
ID : Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3.beta.,22E)- (CAS) $$ Stigmasterol $$ Stigmasterin $$ .beta.-Stigmasterol $$ Stigmasta-5,22-dien-3.beta.-ol $$ (24S)-5,22-Stigmastadien-3.beta.-ol $$ Stigmasta-5,22-dien-3-ol, (3.beta.)- $$ .DELTA.5,22-Stigmastadien-3.beta.-ol



Espectro de masas del terpeno estigmasterol de la bibliografía (Da Silva 2010)



UNIVERSIDAD TECNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

Monografía de la especie:

Acanthoxanthium spinosum

COMPOSITAE (ASTERACEAE)

AUTOR: Chamba Rueda, Juana Katherine.

Introducción.

Las plantas medicinales y sus derivados han sido utilizados desde tiempos remotos, empleadas en todas las culturas del mundo, el hombre aprendió a recoger vegetales, con fines alimenticios y medicinales permitiéndole diferenciar su utilidad alimenticia, curativa y toxica, etc.

Se considera que nuestros antepasados obtuvieron el conocimiento de estas especies después de distinguir las que servían para comer y aquellas que tenían algún efecto en su organismo, a partir de esto empezaron a diferenciarlas y seleccionarlas.

Las plantas con beneficios medicinales fueron descubiertas por accidente, es una de las formas más extendidas de medicina desde allí el hombre primitivo fue adquiriendo sus propios conocimientos a base de sus propias experiencias.

Actualmente las plantas medicinales juegan un papel importante como fuente de salud y fuente económica para cultivadores, comerciantes, colectores y manufactureros de medicinas, que contribuyen de manera importante al proceso de desarrollo. Milenariamente las plantas medicinales han sido utilizadas como materia prima en la medicina natural, hoy en día son mucho más valiosos como materia prima en la elaboración de medicamentos modernos en la industria farmacéutica.

La estructura de las plantas es compleja, ya que solo una parte de la plantas es en la que radica su actividad farmacológica y es esa característica la que determina que una especie botánica adquiera el rango de planta medicinal. Cada una especie posee una o varias drogas específicas, considerando el término droga a cada una de estas partes activas del vegetal, siendo los principios activos los responsables de la acción farmacológica de las drogas (Torres M & Martinez M, 1991).

Generalmente los principios activos se obtienen de las plantas medicinales que proceden de la complejidad molecular de los productos naturales, por ello se ve la necesidad de dividirlo en dos grandes grupos. Esta clasificación puede realizarse por diversos criterios como su actividad farmacológica, clasificación botánica y por su origen biosintético, en la última clasificación se los subdivide en dos grupos: metabolitos secundarios y primarios.

La especie *Acanthoxhantium spinosum*, es una especie perteneciente a la familia Asteraceae, su estructura es ramificada, con tallo rectos llenos de espinas, hojas lanceoladas, sus frutos son ovoides con una envoltura en puntas y sus flores amarillas. Es originaria de América del sur,

pero se cultiva en casi todo el mundo. Su principal actividad medicinal es ser antiinflamatoria. Esta especie es analizada en diversos países del mundo, con ayuda del sistema de información Sci-Finder arroja 73 resultados en el año 2015, mes de septiembre; se analizó y se concluyó que esta especie presenta algunos estudios entre los más relacionados con la molécula que se aisló en esta investigación mencionamos los siguientes: "Estudios in vitro de genotoxicidad en extracto acuoso", "Quimiotipos ecológicos de *X. spinosum* de tricomas glandulares", "Extracción de xanthanolides (sesquiterpenoides)", "Control de calidad de *X. spinosum*", "Capacidad antioxidante y contenido de fenoles de la especie *X. spinosum*", "Evaluación antifúngica in vitro de la especie *X. spinosum* del sur de Argentina" , "Biosíntesis de terpenos de las hojas de la especie *X. spinosum*", "Modulación de lactonas sesquiterpénicas del extracto de la raíz de la especie *X. spinosum*", entre otros temas de investigación. En los temas mencionados anteriormente se puede detallar que la información encontrada hace referencia a estudios fitoquímicos y biológicos, aunque no existe mucha información sobre esta especie se ha completado datos de especies del mismo género. Con el fin de aportar información para esta especie se logró aislar la molécula de estigmasterol utilizando todas las partes de la planta de esta especie.

Figura N°1. Especie *Acanthoxanthium spinosum*

COMPOSITAE (ASTERACEAE)

Acanthoxanthium spinosum

Acanthoxanthium spinosum (Habibi Z et al., 2004).

Sinónimos:

Xanthium indicum Koening

Xanthium sibiricum

Xanthium spinosum L

Xanthium strumarium

Xanthium cavanillesii (Habibi Z et al., 2004).

Definición.-

Especie vegetal conocida comúnmente como "amor seco" y denominada mayormente en las investigaciones con el sinónimo *Xanthium spinosum*.

Nombres vulgares.-

Amores, arrancamoños, aulagas, azotacristos, cachurera menor, cadillos fuertes, cardo de la Virgen, caparrillas, caramaula, abrojos, aburejo, arrancamoños, cardo de la jara, cardo de tres puntas, cepa de caballo, floravia, garbanzos del cura (Habibi Z et al., 2004).

Hábito.-

Alcanza hasta los 60 cm de altura.

Descripción Taxonómica.-

De la familia de las compuestas Asteráceas, su tallo es erecto con espinas. De hojas lanceoladas y alternas, provistos de un par de lóbulos en la base, peciolo corto, ápice agudo

Los capítulos florales son unisexuados, los femeninos en un involucro cerrado en forma de ancla con dos picos superiores, donde se observan sus dos únicas flores; mientras que los masculinos se caracterizan por presentarse en forma de espigas.

Florece desde principios de verano hasta principios de otoño. Es originaria de Sudamérica, de zonas cálido-templadas, se ha distribuido en toda el continente Americano y en algunas partes de Europa, crece entre los 1800 y 3200 m. s. n. m., especialmente en los suelos modificados, terrenos cultivados, potreros, baldíos, orillas de caminos y arcenes.

Material vegetal de interés: Hojas y fruto

Su fruto es ovoide color rojizo que se encuentra recubierto por espinas ganchudas y sus hojas largas lanceoladas de color verde oscuro con envés de color blanco.

Apariencia general

Sus hoja se encuentran distribuidas alternadas, tienen un color verde con venas de color blanco; con una dimensión de 2-10 cm de largo y de 5-30 mm de ancho, presentan hojas inferiores, que se caracterizan por tener lóbulos irregulares unos más grandes que otros. Mientras que las hojas superiores carecen de estos.

Propiedades organolépticas

Se caracteriza por tener un olor fuerte y su sabor es amargo.

Características Microscópicas

Las semillas se separan fácilmente, debido a su capacidad para flotar, se caracterizan por tener la forma de huevo ligeramente aplanado, glandular, cubierto de espinas muy delgadas, que son difícil de visualizar. La semilla tiene dos cavidades alargadas, cada una con una semilla. La semilla más baja tiene un período de latencia más corto y germina primero, la semilla superior se encuentra para ayudar a las condiciones de baja permeabilidad de la capa de semilla al oxígeno (Rastogi & Mehrotra, 1979)

Las cavidades superiores e inferiores de las semillas germinan fácilmente si se quita la capa de semilla. La semilla más baja puede germinar rápidamente o en unos pocos meses después de la madurez, pero la semilla superior no puede germinar durante varios meses o incluso años. Esta germinación escalonada significa que las plantas de semillero pueden surgir en cualquier momento durante un período de varios años durante las condiciones de crecimiento favorables, tiene un requerimiento alto de agua y nace mejor en suelos calientes y húmedos.

Distribución geográfica.-

Es originaria de américa del sur, pero se cultiva en todo el mundo su crecimiento es efectivo en terrenos calientes y húmedos (Anasari & Dubey, 2000).

Propiedades.-

Medicinal

Pruebas de identidad general.-

Exámenes macroscópicos y microscópicos determinan solubilidad solvente (éter, hexano, acetato, cloroformo), mediante análisis cromatográfico se identificó la presencia de β-sitosterol, estigmasterol, triterpenos, lactonas y xanthaloides (Cetinsoy et al., 1998).

Pruebas de pureza

Entre los análisis más característicos tenemos:

Microbiológico

El extracto de *X. spinosum* en la prueba de Salmonella (spp) en productos *Radix astragali* con un resultado negativo.
Los límites aceptables de otros microorganismos son: bacterias aerobias, no más de 107/g; hongos no más de 105/g; *Escherichia coli*: no más de 102/g.

Productos Químicos

Contiene principalmente triterpenos, xanthanolides y lactonas sesquiterpénicas según la literatura (Abdei, 1991).

Materia orgánica extraña

En tallos y hojas se reporta el 10% la presencia de glicósidos; los mismos que se caracterizan por ser tóxicos (Cetinsoy et al., 1998).

Cenizas totales

Partiendo del análisis de tallo y hojas de la especie *X. spinosum* se reporta no más de 18.31% (Sato H et al., 1977)

Cenizas insolubles en ácido

Partiendo del análisis de tallo y hojas de la especie *X. spinosum* se registra un valor no mayor a 5.97%.

Extractos solubles en etanol diluido

Partiendo del análisis de tallo y hojas de la especie *X. spinosum* se reporta un valor no más de 10%.

Residuos de Pesticidas

Los efectos repelentes del extracto de frutos secos y hojas de *Xanthium spinosum y Xanthium strumarium*, se han estudiado. El extracto de estas partes se diluye en agua, para experimentar su capacidad insecticida, se aplicó directamente a esta plaga y se concluyó que su efecto insecticida era bajo, mientras que el efecto repelente era bastante alto. Cuyo efecto es positivo eliminando larvas del escarabajo; plaga que ataca a las patatas. Puede aparecer este efecto debido a los componentes tóxicos de los frutos y hojas de cuyos componentes son hidroquinona y xantano. Estos componentes se conocen como pesticidas (Yoon J et al., 2008).

Metales pesados

Los antecedentes de la evaluación de la especie *Xanthium spinosum* aún no se han establecido, ya que no se encontró literatura bibliográfica sobre el estudio de estos parámetros.

Residuos radioactivos

La especie en estudio no presenta datos relevantes en este parámetro.

Estudios fitoquímicos de *Xanthium spinosum*.

- Modulación de ziniolide estructura sesquiterpénicas obtenido del extracto metanólico utilizando las raíces de la especie *Xanthium spinosum* (Játiva C et al., 1991).

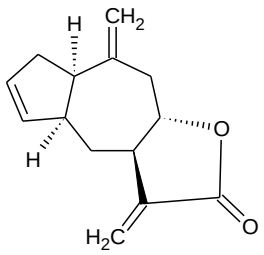


Figura N°2. Estructura de Ziniolide

La figura N°2 muestra la estructura de Ziniolide obtenido del extracto metanólico de las raíces de *Xanthium spinosum*, es un anti inflamatorio, que inhiben rápidamente a los eicosanoides pro inflamatorios. Estas dianas farmacológicas son mediadores en la fiebre, inflamación, trastornos hepáticos y pulmonares, mordeduras de serpiente y diarrea crónica, los cuales son los usos medicinales populares más importantes de esta planta (Játiva et al., 1991)

- Estructuras denominadas Xanthanolidos obtenidas del extracto acuoso metanólico de la especie *Xanthium spinosum*: Xanthanol, isoxanthanol y sus 4 carbonos epímeros (Bohlmann & Zdero, 1981).

Las estructuras identificadas como xanthanolidos en esta investigación se detallan a continuación:

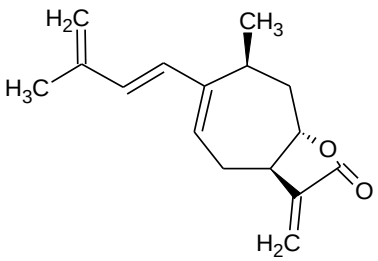


Figura N°3. Estructura Isoxanthanol (1)

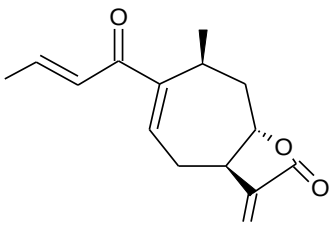


Figura N°4. Estructura Anhydrodehydroioulbin (2)

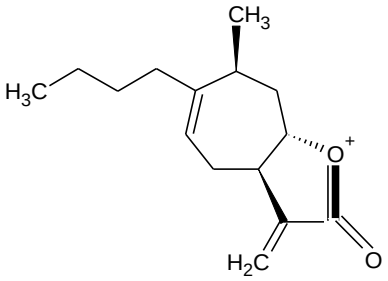


Figura N°5. Estructura Xanthinosin (3)

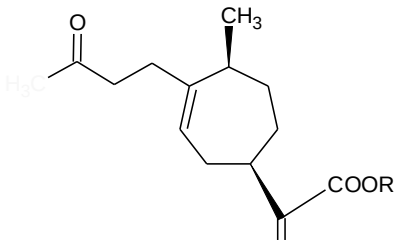


Figura N°6. Estructura isohydroinusoniolide (4)

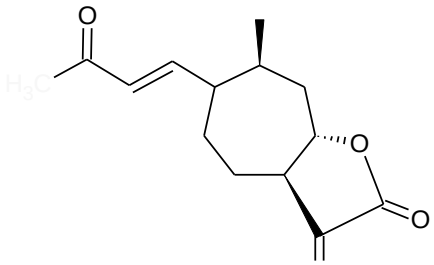


Figura N°7. Estructura de Xanthatin (5)

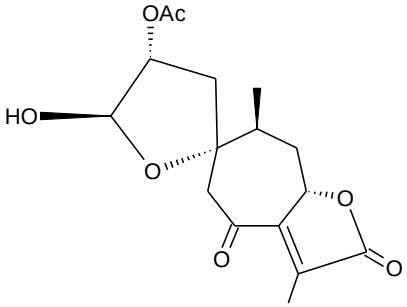


Figura N°8. Estructura de Cyclospinosolide (6)

- Xanthanolides obtenidos de la especie *Xanthium spinosum* (Deuel & Geissman, 1975).

.

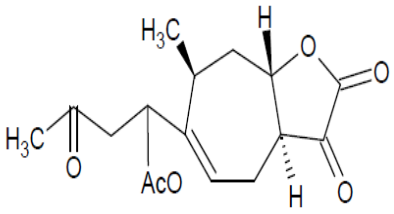


Figura N°9. Estructura de Xanthatin (7)

- Estudio fitoquímico del extracto etanolico de los tallos de la especie *Xanthium spinosim* (Salinas A et al.,1996)

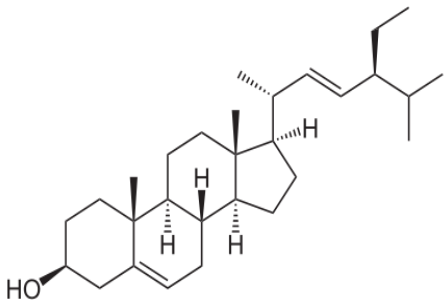


Figura N°10. Estructura de β- sitosterol (8)

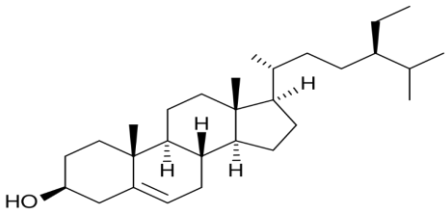


Figura N°11. Estructura de Estigmasterol (9)

- Bebida saludable que contiene extracto de Yerba Mate y su método de preparación.

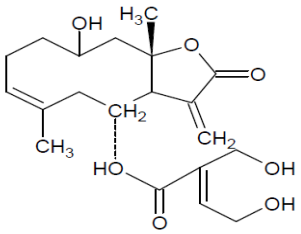


Figura N°12. Estructura de stizolicin (10)

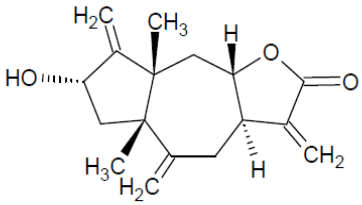


Figura N°13. Estructura de solstitialin (11)

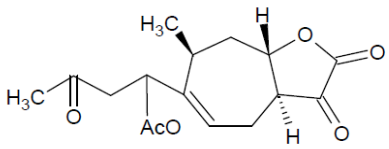


Figura N°14. Estructura de xanthinin (12)

La bebida o bebida en polvo contiene lactonas sesquiterpénicas, principios activos de las hierbas mencionadas; y tiene efectos de purificación en la sangre, tratamiento de obesidad, reumatismo, etc. El producto es adecuado para los pacientes con diabetes, colecistitis, y cálculos renales, etc.

Estudios fitoquímicos de *Xanthium cavanillesii*.

Dos nuevos xhantaloides aislados de *Xanthium cavanillesii*.

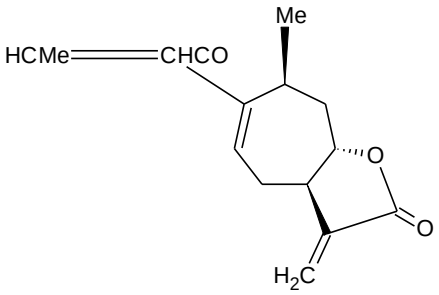


Figura N°15. Estructura Xanthaloide (1)

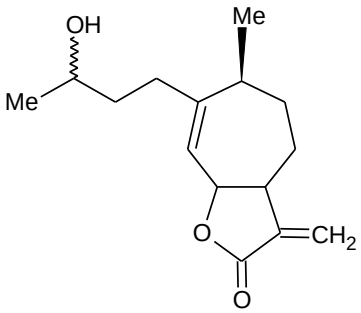


Figura N°16. Estructura Xanthaloide (2)

- Xanthanolidos del extracto acuoso metanólico de la especie *Xanthium indicum*: configuración absoluta de Xanthanol, isoxanthanol y sus 4 carbonos epímeros (Horeau, A, 1977)

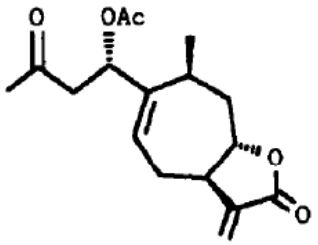


Figura N°17. Estructura de Epixamthano (1)

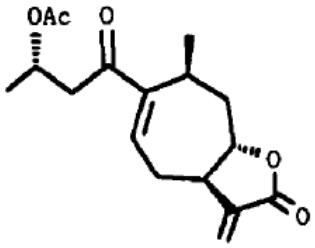


Figura N°18. Estructura de Epiisoxanthanol (2)

Actividad Biológica de la especie *Xanthium spinosum*.

- Antioxidante in vitro del ácido clorogénico componente presente en la especie *Xanthium sibiricum*

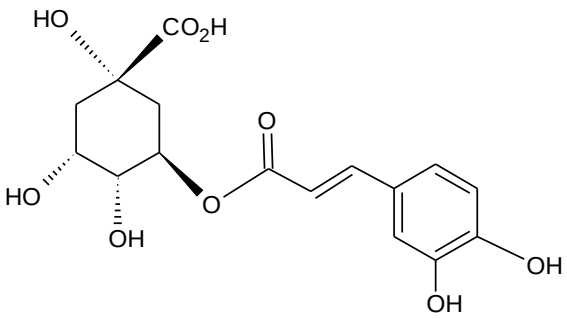


Figura N°19. Estructura del Ácido clorógenico (1)

Utilizado como antioxidante y como antiinflamatorio. Su efecto secundario es la reducción de los niveles de glucosa.

- Utilizando la corteza *Xanthium spinosum* se aisló una lactona sesquiterpenica que se la identifico como: 2-desacetil-8-epi-xanthumanol-4-O-b-D-galactopiranósido. Que se caracteriza por su poder antitumoral.

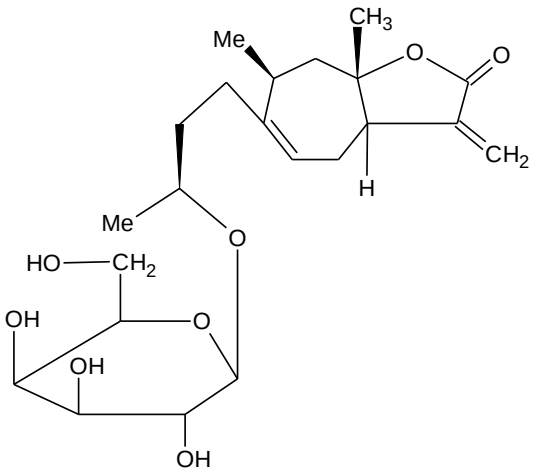


Figura N°20. Estructura de 2-desacetyl-8-epixanthumanol-4-O-b-D-galactopyranoside (2)

Utilizadas sus infusiones por su efecto diurético, cáncer y diarrea.

- La actividad antimicrobiana de xanthatin compuesto presente en la especie *Xanthium spinosum*.

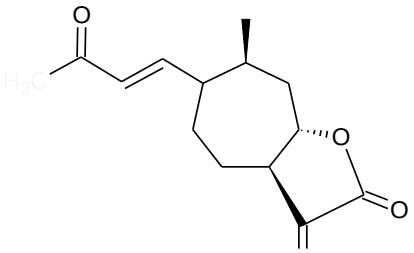


Figura N°21. Estructura de Xanthatin (3)

El compuesto identificado como xanthatin presenta su potencial bactericida y fungicida contra *Colletotrichum gloeosporioides, Trichothecium roseum, Bacillus cereus y Staphylococcus aureus.*

- Aislamiento y obtención de lactonas sesquiterpénicas con propiedades antitumorales las mismas que fueron identificadas como: xanthinin, stizolicin y solstitialin.

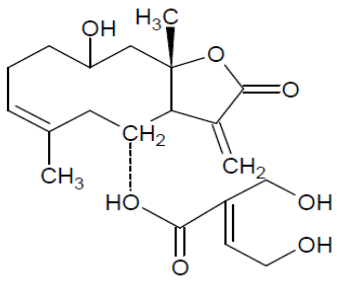


Figura N°22. Estructura de stizolicin (1)

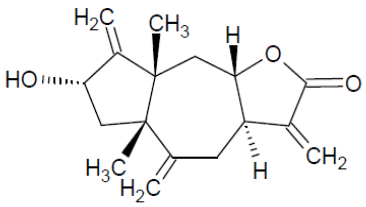


Figura N°23. Estructura de solstitialin (2)

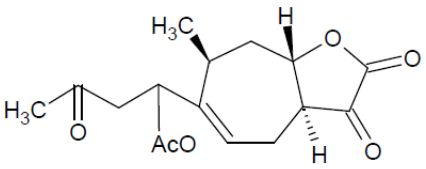


Figura N°24. Estructura de xanthinin (3)

Lactonas sesquiterpénicas identificadas como xanthinin, stizolicin y solstitialin fueron aisladas de *Xanthium spinosum* utilizadas para determinar la acción antitumoral in vivo en dos tipos de tumores: L-1210 de leucemia y P-388 de la leucemia. Las sustancias demuestran actividad antitumoral limitada.

- Mezclas herbicidas.

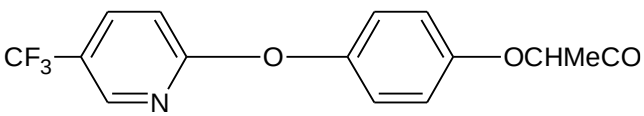


Figura N°25. Estructura de phenisophan (1)

La aplicación del herbicida phenisophan mediante pulverización combate las plagas que atacan al algodón.

Actividad Biológica de la especie *Xanthium cavanillesii.*

- La actividad anti-ulcerogénico de estructuras sesquiterpenicas fueron identificadas como xanthanolide utilizando la especie *Xanthium cavanillesii* la misma que fue aplicada en ratas. Cuyas estructuras se detallan a continuación.

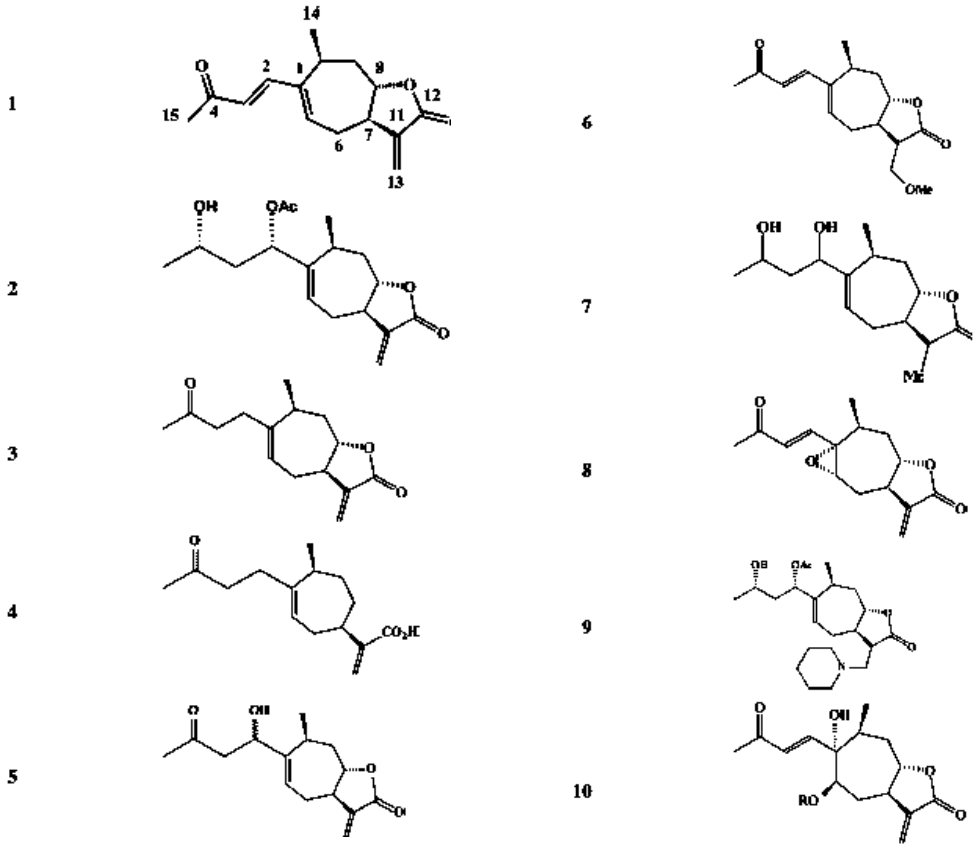


Figura N°26. Estructuras de diversos Xhantaloides (1)

Utilizados a nivel general como agentes anti-ulcerogénico.

Formas de dosificación

La planta seca se usa para infusiones; existen preparaciones galénicas para la administración oral.

Líquidos o pomadas se usan para la aplicación tópica elaboradas del extracto de la planta.

Usos medicinales

Usos apoyados por datos clínicos

Ninguno

Usos descritos en los sistemas tradicionales de medicina

Utilizado para problemas diuréticos, Se preparan mates de las hojas contra el sarampión, la escarlatina, la tos, las enfermedades del hígado, estómago, la retención de orina, enfermedades del bazo, riñones, ovarios y las hemorragias internas. Un trozo de la raíz machacada en agua fría es un excelente depurador de la sangre y se recomienda tomar como refresco como el colesterol, flebitis, varices y arterioesclerosis.

La estructura química de xanthatin hace presuponer una actividad diurética de la misma su actividad antiinflamatoria.

La infusión de la planta, en particular las hojas, el tallo y la raíz, se usa para tratar inflamación de las vías urinarias (Kichwa de la sierra Imbabura). Las semillas en emulsiones y horchatas para combatir la tos (Etnia no especificada Azuay, Cañar) (De la Torre et al., 2008).

Farmacología

Farmacología experimental

Amebicida y actividad antimicrobiana

El extracto de la planta exhibió actividad antimicrobiana frente a *Candida pseudotropicalis, Bacillus subtilis, Candida albicans, Staphylococcus aureus*, y *Proteus vulgaris*. Su actividad de debe a la presencia de xantholoide llamado Xanthatin. El xanthatin contenido en la planta actúa como un regulador del crecimiento vegetal y tiene actividad antibacteriana. Mientras que sus semillas secas presentan un rendimiento (30-35%) en aceite comestible que se asemeja aceite de girasol y se utiliza en infección de la vejiga, herpes, y la erisipela (Lavault et al., 2005) Solución alcohólica de xanthinin en la concentración de 0.010 - 1% mostraron una fuerte actividad antibacteriana contra gramnegativos bacterias y hongos. En un estudio, la actividad antibacteriana mostró inhibición del crecimiento de las tres cepas, *Escherichia coli, S. aureus*

y C. albicans incluso a 30 ng/ml y con la excepción de *Pseudomonas aeruginosa* (Kupcham et al., 1969)

Efectos sedantes

No los posee.

Actividad antifúngica

La planta tiene potente actividad antifúngica contra patógenos y no patógenos, debido a la presencia de triterpenos, d-limonene y d-carveol. El compuesto antifúngico de la planta fue identificado con el nombre de 4-oxo-1(5),2,11,(13)-xanthatriene-12, 8-olid como d-acetil xanthin (Auroma, O.I. , 2003).

El extracto de raíces de la planta puede ser utilizado como un fungicida tóxico muy potente contra el crecimiento del Micelio de *Fusarium moniliforme*. Mientras que los estudios de hexano, acetato de etilo y los extractos alcohólicos de las hojas para sus actividades de difusión en el disco antimicrobiano (antifúngica, antibacteriano). La actividad antifúngica se comparó con fluconazol y nistatina como estándares. Extracto de etil acetato mostró una inhibición contra *E. coli* a una concentración de 200 g/disco. La planta posee potencia significativa frente a *C. neoformans* y *Candida sp* con especies de baja toxicidad para los camarones de salmuera la introducción de un grupo amino libre aumentó la actividad inhibidora contra *Aspergillus fumigatus* (Martínez & Molina, 1991).

Farmacológica clínica

La planta posee propiedades diuréticas. Los resultados obtenidos con la planta eran en comparación con la de un control positivo, tales como ciclofosfamida, y un control negativo que se administró el vehículo alcohólico utilizado en el extracto.

Además, otro estudio experimental para evaluar el potencial efecto diurético de extracto líquido en solución hidroalcohólica 65% de *X. spinosum*. Tres niveles de dosis, es decir, 100,200 y 400 mg/kg de peso corporal, se utilizaron. Los resultados confirman la similitud entre la acción diurética del extracto y la de furosemida, con un alto nivel de diuresis. Los resultados confirmaron y apoyaron la seguridad de la planta porque no había signos clínicos que evidencian toxicidad y muertes con una dosis de 2000 mg/kg, que es el límite de dosis, según la norma utilizada (Roussakis et al., 1994).

Contraindicaciones

No se debe aplicar a niños.

Advertencias

No existe información disponible.

Precauciones

No hay datos disponibles. Preparaciones que contienen *Xanthium spinosum* no deben ser administrados a niños.

Uso en pediatría

Xanthium spinosum no debe administrarse a niños.

Otras precauciones

No hay información disponible acerca de las precauciones generales (Dharmananda S, 2003).

Reacciones adversas

En humanos el exceso de infusión produce cansancio, deshidratación (diarrea).
Mientras que en animales produce intoxicación hasta producir la muerte (Habibi Z, 2004)

Posología

La dosis diaria para el tratamiento diuretico, 4-16 g como una infusión dividida dosis durante 3-7 días (Dharmananda S, 2003).

Conclusión

La especie *Acanthoxanthium spinosum*, se caracteriza por poseer lactonas sesquiterpénicas llamadas xanthaloides, los mismo que son útiles para tratar inflamaciones, sarampión, las enfermedades del hígado, estómago, la retención de orina, enfermedades del bazo, riñones, ovarios y las hemorragias internas según la medicina tradicional, en cuanto a su actividad biológica se han elaborado insecticidas, repelentes para combatir plagas en las papas, algodón

entre otras bacterias. Mientras que el género ***Xanthium cavanillesii*** se caracterizan por la presencia de xanthaloides. Y su aporte con la actividad biológica ha sido aplicado en ratas como agente anti-ulcerogénico según la bibliografía. De forma general el género *Acanthoxanthium* conocido comúnmente por su sinónimo *Xanthium* es rica en xanthaloides.

BIBLIOGRAFÍA

Ginesta-Peris, E.; Garcia-B F. J.; Primo-Yufera, E. (1994). *Letters in Applied Microbiology .* 18(4), 206-8.

Bohlmann F. Zdero C. . (1981). *Phytochemistry* , 20, 2429.

García del Castillo E; Martínez I. (2007). *Manual de fitoterapia .* España : Masson; 536.

Abdallah A. Omar, Elsayed M. Elrashidy, Nabila A. Ghazy, Ali M. Metwally, Jürgen Ziesche a, Ferdinand Bohlmann. (1984). Xanthanolides from Xanthium spinosum. *Phytochemistry*, 915-916.

Abdei. Mogib M, Dawidar A, Metwally M, Abou-Elzahab M. (1991). Xanthanolides from Xanthium spinosum . *Phytochemistry*, 30(10):3461–2. doi: 10.1016/0031-9422(91)83230-I.

Abdei-Mogib, M., Dawidar, A.M., Metwally, M.A., Abou-Elzahab, M.,. (1991). Xanthanolides from Xanthium spinosum. *Phytochemistry 30,*, 3461–3462.

Abreu & Cuéllar. (2008). Estrategía en la selección de plantas medicinales a investigar. *Rev. Plantas Medicinales.*, 13-20.

Aguirre, M., Madsen, J., Cotton, E., & Balslev, H. (2002). Botánica austro ecuatoriana. Estudios sobre los recursos vegetales de las Provincias del Oro, Loja y Zamora Chinchipe. *Ed. ABYA-YALA. Quito-Ecuador.*, 2-4p.

Alonso, J.R. (1998.). Tratado de Fitomedicina. *ISIS Ediciones, Argentina,*, 386.

Andrade , José Miguel ; Armijos, Chabaco Patricio; Malagón , Omar Germán ; Lucero Mosquera , Hernán;. (2009). *Plantas medicinales silvestres empleadas por la etnia Saraguro en la parroquia San Lucas, Loja-Ecuador. Loja-Ecuador.* Loja : Editorial universitaria UTPL.

Ansari A, Dubey K. (2000). 2-Desacetyl-8-epi-xanthumanol-4-O-b-D-galactopyranoside: the potential antitumor sesquiterpenoidal lactone from Xanthium. *Asian J. Chem*, 521-526.

Ansari A.H, Dubey K.S. (2000). 2-Desacetyl-8-epi-xanthumanol-4-O-b-D-galactopyranoside: the potential antitumor sesquiterpenoidal lactone from Xanthium spinosum bark . *Asian J. Chem 12*, 521-526.

Auroma, O.I. . (2003). Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutat*, 9-20.

Barroso. (1991). *Sistemática de angiospermas do Brasil.* Brazil: Viçosa: Universitária, v.2, 1991. 377 p.

Bisht NPS, Singh R. . (1978). Chemical Investigation of the leaves of Xanthium Strumarium L. *Journal of Indian Chemistry Society.* , 55:707708.

Bohlmann F. (1977). Summary of the chemistry of the Compositae. The Biology and Chemistry of the Compositae. *Heywood, Harborne & Turner (eds.)*, 2: 1097-1104. London, Academic Press.

Bremer K. (1994). *Asteraceae: cladistics and classification.* Timber Press: Porlland, OR.

Cetinsoy S, Tamer A, Aydemir M. (1998). Investigations on repellent and insecticidal effects of Xanthium spinosum L. on colorado potato beetle leptinotrasa decemlineata say (Col: Chrysomelidae) . *Traditional J Agric Forestry* , 22:54352.

Cetinsoy S, Tamer A, Aydemir M. . (1998). Investigations on repellent and insecticidal effects of Xanthium spinosum L. on colorado potato beetle leptinotrasa decemlineata say (Col: Chrysomelidae). *Traditional J Agric Forestry* , 22:54352.

Ciulei I, Grigorescu E, Stanescu U. (1993). Planta Medicinale,Fitochimie, Fitoterapie, vol. 2. *Bucuresti.*, pp 215- 228.

Da Silva Roberto . (2010). *Estudo fitoquimico y biologico de Bauhinia acuruana .* Brazil .

Deuel P, Geissman T. (1957). Xanthinin. II. The structures of xanthinin and xanthatin. *J. Am. Chem. Soc 79*, 3778-3781.

Dharmananda S. (2003). Safety issues affecting Chinese herbs: The case of Xanthium. *Institute for Tradional Medicine European Branch, Vol. 1*, p.18.

Duke J, Ottesen J , Andrea R. (2008.). Handbook of medicinal plants of Latin America. *Boca Raton: CRC Press.*

Esmaeili A, Rustaiyan A, Akbari MT, Moazami N, Masoudi S, Amiri H. (2006). Composition of the essential oils of Xanthium spinosum L. *Essential Oil Res*.

Fernandez EC, Sandi YE, Kokoska L. . (2003). Ethnobotanical inventory of medicinal plants used in the Bustillo Province of the Potosi Department,. *Fitoterapia* , 74:407-16.

Geissman T, Deuel P, Bonde E, Addicott F . (1954). Xanthinin: a plant-growthregulating compound from Xanthium pennsylvanicum. *I, J. Am. Chem. Soc. 76*, 685-687.

Gutierrez-Lomeli, M. T.-S.-S.-H. (2012). *Natural Products Extracts: Terpenes and Phenolics.* Mexico.

Habibi Z, Laleh A, Masoudi S, Rustaiyan A. (2004). Composition and taxonimia of essential oil of Xanthium Brasilium vellozo from Iran. *J Essential Oil Res*, 16:312.

Hamel PB, Chiltoskey MU. (1975.). Cherokee plants and their uses. . *A 400 year history. Sylva, North Carolina: Herald publishing;* .

Holmes & McDaniel. (1996). *Mikania. In: Macbride Flora of Peru. Fieldiana, Botany,.* pp. 1–56.

Horeau, A. (1977). *in Stereochemistry. Fundamentals and Methods Vol. 3.* Kagan : G. Thieme, Stuttgart.

Jativa Cumanda , Marinoni G, De Bernardi M, Vidari G, Vita-Finzi P. (1991). New sesqui terpenes from Xanthium catharticum. *J Nat Prod*, 54:460–5.

Kinghorn, A.D., Farnsworth, N.R., Soejarto, D.D., Cordell, G.A., Pezutto, J.M., Udeani, G.O., Wani, M.C., Wall, M.E., Navarro, H.A., Kramer, R.A., Menendez, A.T., Fairchild, C.R., Lane, K.E., Forenza, S., Vyas, D.M., Lam, K.S., Shu, Y.Z. (1999). Novel strategies for the discovery of plant-derived anti-cancer agents. *Pure and Applied Chemistry* , 71:1611–1618.

Kishore N, Dubey NK, Tripathi RD, Singh SK. (1982). Fungitoxicity of the leaf extracts of some higher plants against Fusarium Moniliforme. . *National Academy Science Letters*, 5; 9-10 .

Kupchan SM, Eakin MA, Thomas M. (1969). Tumor inhibitors. *Structurecytotoxicity*, 34.

Lavault M, Landreu A, Larcher G, Bouchara JP, Pagniez F, Le Pape P, Richomme P. (2005). Antileishmanial and antifungal activities of xanthanolides isolated from Xanthium macrocarpum. *Fitoterapia*, 363-366.

Ma C, Kully M, Khan JK, Hattoric M, Daneshtalaba M. (2007;). Synthesis of chlorogenic acid derivatives with promising antifungal activity. . *Bioorg Med Chem.*, 15:6830-3.

Mandal SC, Dhara AK, Ashok Kumar CK, Maiti BC. (2001.). Neuropharmacological activity of Xanthium strumarium extract. . *J Herbs Spices Med Plants* , 8:6977.

Martinez ML, Molina Torres J. (1991). Tocopherols and leaf age in Xanthium Strumarium L . *New Phytol* , 118-959.

Menéndez J. (1753). *Xanthium spinosum .* Brazil: Astronauta .

Mittermeier, R . (1988). *Case studies from Brazil and Madagascar and the importance of the megadiversity countries.* Brazil : E.O. Wuilson, & F.M. Peter, Edits. Biodiversity. The National Academy Press, Pp. 145-154.

Naidenova E, Kolarova-Pallova I, Popov D, Dimitrova-Konaklieva S,. (1998). Isolation and obtaining of sesquiterpene lactones with antitumor properties xanthinin, stizolicin, and solstitialin. *Natl. Oncol.Cent. Med. Acad.*, 105-106.

Ntie-Kang F, Lifongo L, Mbaze L, Ekwelle N, Owono L, Megnassan E . (2013). Cameroonian medicinal plants: a bioactivity versus ethnobotanical survey and chemotaxonomic classification. *Complementary and Alternative Medicine*, 147-164.

Olga de Ugaz Luck Sing. (2002). *Manual de fisicoquimíca.* PUCP.

Peguero, B. (1998). Estudio etnobotánico de las comunidades ubicadas dentro y en la periferia del parque nacional Juan Bautista Pérez Rancier. *Ed. ABYA-YALA. Quito-Ecuador.*, 9-12.

Ramirez de Uzcategui. (1997). *Estudio Fitoquimico de hojas Bodwicha.*

Rastogi RP, Mehrotra BN. (1979). Compendium of Indian medicinal plant. *CDRI Lucknow and NSIC New Delhi*, 2:711.

Rastogi RP, Mehrotra BN. . (1969). Compendium of Indian medicinal plant. 1969;1:. *CDRI Lucknow and NISC, New Delhi.*, 1:437.

Riscala E, Catalán C, Díaz J, Herz W. (1994). Xanthanolides and bis-norxanthanolides from Xanthium cavanillessi. *Phytochemistry* , 35:1080-1082.

Rodríguez J, Lafourcade A, Ferris K, Cañada J. (2006). Plataforma para la enseñanza de la química de los fármacos naturales. *Revista Cubana de Química*, 167-175.

Roussakis H, Chinou CI, Vayas CJ. (1994). Cytotoxic activity of Xanthatin and the crude extracts of Xanthium strumarium. *Planta Med*, 60:4734.

Salinas A, De Ruiz E, Ruiz O. (1998). Sterols, flavonoids, and sesquiterpenic lactones from Xanthium spinosum (Asteraceae). *Acta Farm. Bonaer*, 297-300.

Salinas A, Ruiz L, Ruiz S. (1996). Estudio fitoquímico del Xanthium spinosum. La Plata: INTA. *En: X Congreso de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales.*, 30.

Sato, H. Oketani, T. Yamada, K.I. Singyouchi, T. Ohtsubo, M. Kihara, M. Shibata, T.J. Higuti. (1997). A xanthalonide with potent antibacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. . *J Pharm Pharmcol* , 49:10424.

Sato, Y., Oketani, H., Yamada, T., Singyouchi, K., Ohtsubo, T., Kihara, M., Shibata, H., Hi, T., . (1997). A xanthanolide with potent anti-bacterial activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus . *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49, 104.

Saxena V, Mondal S. (1994). A xanthanolide from Xanthium strumarium. . *Phytochemistry*, 35:1080–1082.

Sierra R. (1999). *Prpopuesta preliminar de un sistema de clasificación de vegetación para el Ecuador continental. Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y Ecociencia.* Quito-Ecuador : Sierra R. Ed.

Sundararaman P, D. C. (1977). A convenient synthesis of progesterone from stigmasterol. *J Org Chem. 42 (22)*, 3633-3634.

Taiz L & Zeiger E. (2006). FISIOLOGIA VEGETAL. Crecimiento y desarrollo. *Publicacions de la Universitat Jaumel. Castelló de la Plana*, ISBN 978-84-8021-600-5.

Torre L, Navarrete P. Muriel M, Macia M. (2008). *Enciclopedia de la Plantas Útiles del Ecuador p. 289.* . Ecuador : Balslev (eds).

Torres M & Martinez M. (1991). Tocopherols and leaf age in Xanthium Strumarium L. *New Phytol*, 118:959.

Yoon J.H, Lim H.J, Lee H.J, Kim H.D, Jeon R, Ryu J.H. (2008). Inhibition of lipo polysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by xanthanolides isolated from Xanthium strumarium18 . *Bioorg. Med. Chem. Lett.* , 21.