

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL



IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN EL

Dracontium spruceanum (jergón sachá)

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO FORESTAL

PRESENTADO POR:

JEAN ROMMEL MIXAN CAMACHO

Tingo María – Perú.

2022



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

Tingo María – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°053-2022-FRNR-UNAS

Los que suscriben, miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 11 de octubre de 2022 a horas 06:00 p. m. de la Escuela Profesional de Ingeniería Forestal:

“IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN EL *Dracontium spruceanum* (jergón sachá)

Presentado por el Bachiller: **MIXAN CAMACHO, Jean Rommel**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADO** con el calificativo de **“MUY BUENO”**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título Profesional de **INGENIERO FORESTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 08 de noviembre de 2022

Ing. M.Sc. PEDRO ALEJANDRO VEJARANO JARA
PRESIDENTE

Ing. M.Sc. RICARDO OCHOA CUYA
MIEMBRO



Ing. M.Sc. WILFREDO TELLO ZEVALLOS
MIEMBRO

Dra. TANIA GUERRERO VEJARANO
ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL



IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN EL
Dracontium spruceanum (jergón sacha)

Autor : MIXAN CAMACHO, Jean Rommel
Asesor (es) : Dra. GUERRERO VEJARANO, Tania Elizabeth
Programa de investigación : Ciencias Básicas Forestales (Química, Física,
Anatomía, Biotecnología Forestal)
Línea de investigación : Química Forestal
Eje temático : Fitoquímica
Lugar de ejecución : Universidad Nacional Agraria de la Selva – Tingo
María
Duración : 06 meses
Financiamiento : 1 992,00

Tingo María – Perú. 2022

2022



VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
OFICINA DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

REGISTRO DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO UNIVERSITARIO, INVESTIGACIÓN DOCENTE
Y TESISISTA

(Resol. N° 113-2019-CU-R-UNAS)

I. Datos generales de pregrado

Universidad	: Universidad Nacional Agraria de la Selva
Facultad	: Recursos Naturales Renovables
Escuela	: Escuela Profesional de Ingeniería forestal
Título de Tesis	: IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTES EN EL <i>Dracontium spruceanum</i> (jergón sachá)
Autor	: Bach. Jean Rommel Mixan Camacho
Asesor	: Dra. Tania E. Guerrero Vejarano
Programa de investigación	: Ciencias Básicas Forestales (Química, Física, Anatomía, Biotecnología Forestal)
Línea (s) de Investigación	: Química Forestal
Eje temático de investigación	: Fitoquímica
Lugar de Ejecución	: Universidad Nacional Agraria de la Selva – Tingo María
Duración	: Fecha de Inicio : Término :
Financiamiento	: FEDU : S/0.00 Propio : S/2 000.00 Otros : S/0.00

Tingo María - Perú, noviembre, 2022.

Bach. Jean R Mixan Camacho
Tesisista

Dra. Tania E Guerrero Vejarano
Asesora

DEDICATORIA

A Dios, por el obsequio de la vida, Él siempre estuvo en todo momento cuidándome y guiándome con sabiduría para no dejarme vencer por los nuevos retos y adversidades de la vida.

A mi padre Bacilio Mixan Camus y a mi madre Irma Camacho Chavez, quienes estuvieron incondicionalmente en cada momento de mi vida, apoyándome y brindándome en todo lo posible, incluso algunas veces hasta en lo imposible. Estaré eternamente agradecido y espero algún día recompensarlo.

A mis hermanos, Miller Mixan Camacho, Wilian Mixan Camacho y Milady Mixan Camacho por acompañarme en esta y cada etapa de mi vida. A mis sobrinos Liam Anghelo Mixan Crisanto y Mathews Brad Sarabia Mixan a mi tío Raul así mismo a mí cuñada Angie y su madre Lucila y padre Gumercindo, porque siempre permanecieron cerca brindándome su apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por la vida y brindarme salud durante toda mi etapa de formación profesional.

A mi familia, por estar presente siempre, confiando en mí y alentándome en todo momento en cada nueva experiencia.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y docentes de la escuela profesional de Ingeniería Forestal (EPIF) de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, por todas sus sapiencias transmitidas en cada uno de sus estudiantes.

A mi asesora, Tania Elizabeth Guerrero Vejarano, por sus sabias contribuciones para este trabajo de investigación.

Al Ing. Godofredo Rubén Hernández Peves por el apoyo al procesar mi muestra en el cromatógrafo de gases acoplada a espectrometría y a la vez al Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Recursos Naturales Renovables por darme la facilidad de ejecución de tesis en sus instalaciones.

A mis jurados de tesis, por todas las indicaciones para mejorar mi trabajo de investigación.

A mis amigos, por su compañía en toda esta etapa universitaria.

ÍNDICE GENERAL

Página

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Marco teórico	3
2.1.1. Clasificación taxonómica	3
2.1.2. Distribución geográfica	3
2.1.3. Descripción de la especie	3
2.1.4. Metabolitos secundarios	4
2.1.5. Técnicas de separación	9
2.2. Estado del arte	12
III. MATERIALES Y METODOS	16
3.1. Lugar de ejecución	16
3.1.1. Ubicación política.....	16
3.1.2. Ubicación geográfica.....	16
3.1.3. Zona de vida y clima	16
3.2. Materiales y métodos.....	17
3.2.1. Materiales y equipos.....	17
3.2.2. Metodología.....	18
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
4.1 Evaluación fitoquímica del corno de <i>D. spruceanum</i> para identificar los metabolitos secundarios	23
4.2 Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el corno de <i>D. spruceanum</i> mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS). 25	
V. CONCLUSIONES.....	29
VI. PROPUESTAS A FUTURO	30

VII. REFERENCIAS	31
ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Coordenadas UTM del lugar de investigación	16
2. Valoración cualitativa para el tamizaje fitoquímico.....	20
3. Tamizaje fitoquímico del extracto crudo del corno <i>D. spruceanum</i>	24
4. Metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo metanólico del <i>D. spruceanum</i>	25
5. Resultados de los ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico preliminar de la especie <i>D. spruceanum</i>	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Estructuras químicas: A terpenos, B compuestos fenólicos y C alcaloides	5
2. Alcaloide.....	5
3. Núcleo básico de un flavonoide	6
4. Estructura de los taninos.....	7
5. Estructura química de quinonas.....	8
6. Estructura de triterpenoides	8
7. Estructura básica de las cumarinas	8
8. Estructura de un cardiotónico.....	9
9. Esquema de identificación a través del analizador cuadrupolo en espectrometría de masas	11
10. Cromatograma operado en modo barrido completo del extracto metanólico de <i>D. spruceanum</i>	39
11. Espectro de masas de 4-trifluoroacetoxipentadecano.....	40
12. Espectro de masas de 3-trifluoroacetoxipentadecano.....	40
13. Espectro de masas de 2-trifluoroacetoxipentadecano.....	40
14. Espectro de masas de (5 β)pregnano-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4-diil)]-, diacetato	41
15. Espectro de masas de Ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico	41
16. Espectro de masas de Ácido pterin-6-carboxílico	42
17. Espectro de masas de Ácido dodecanoico, 3-hidroxi-.....	42
18. Espectro de masas de Digitoxina.....	43
19. Espectro de masas de Ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico	43
20. Espectro de masas de Ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico	44
21. Espectro de masas de Isoalocolato de etilo	44
22. Espectro de masas de t-butil-(2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditan-2-il)-dimetil-silano.....	45
23. Extracción del corno de <i>D. spruceanum</i>	52
24. Muestra estudiada	52
25. Pesado de la muestra.....	53
26. Trituración de la muestra.....	53

27. Percolación de la muestra	54
28. Muestra filtrada.....	54
29. Columna capilar TG-5SILMS	55
30. Equipo acoplado GC-MS	55

RESUMEN

Los múltiples beneficios medicinales que se obtienen de las plantas han hecho que a nivel mundial sean estudiadas; es así que conocer los compuestos presentes en ellas sea de vital importancia. Para ello esta investigación tuvo como objetivo identificar los metabolitos secundarios de la planta *Dracontium spruceanum* (jergón sacha), se extrajo la muestra del Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la selva (UNAS). Se realizó el tamizaje fitoquímico preliminar y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) el cual uso metanol como solvente. Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado al corno de la planta arrojaron los siguientes compuestos: alcaloides, antocianinas, flavonoides, cumarinas, leucoantocianidinas y saponinas. Así mismo el análisis GC-MS dilucido la presencia de 12 compuestos dentro de ellos se encontraron: 3-trifluoroacetoxipentadecano, 4-trifluoroacetoxipentadecano, 2-Trifluoroacetoxipentadecano, ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico; digitoxina; ácido dodecanoico, 3-hidroxi-; ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico; ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico; (5 β)pregnano-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4 diil)]-, diacetato; ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico; t-butil-{2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditian-2-il}-dimetilsilano; ácido pterin-6-carboxílico y Isoalocolato de etilo. En conclusión, el análisis revelo la presencia de 12 compuesto en forma de esterés, aminas, amidas y terpenos.

Palabras claves: cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS),

Dracontium spruceanum y metabolitos secundarios.

ABSTRACT

The multiple medicinal benefits that are obtained from plants have caused them to be studied at a world-wide level; thus, understanding the compounds present in them is of vital importance. The objective of this research was to identify the secondary metabolites of the *Dracontium spruceanum* (jergón sachá) plant, samples were taken from the Universidad Nacional Agraria de la Selva's (UNAS) forest reserve. Preliminary phytochemical screening and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) were performed using methanol as a solvent. The results of the phytochemical screening that was done to the corm of the plant gave the following compounds: alkaloids, anthocyanins, flavonoids, coumarins, leucoanthocyanidins, and saponins. At the same time, the GC-MS analysis elucidated the presence of twelve compounds, among which were: 3-trifluoroacetoxypentadecane, 4-trifluoroacetoxypentadecane, 2-trifluoroacetoxypentadecane, carbamic acid, N-[10,11-dihydro-5-(2-methylamino-1-oxoethyl)-3-5H-dibenzo[b,f]azepine], ethyl ester; digitoxin; dodecanoic acid, 3-hydroxy; cyclopropane tetradecanoic acid, 2-octyl, metallic ester; dodecanoic acid, 2,3-bis(acetyloxy)propyl ester; (5 β)pregnan-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-methyl-3-oxo-(1-oxa-4-aza-butanoate-1,4 diil)], diacetate; dodecanoic acid, ester 2,3-bis(acetyloxy)propyl; t-butyl-{2-[3-(2,2-dimethyl-6-methylene-cyclohexyl)-propyl]-[1,3]ditian-2-il}-dimethylsilane; pterin-6-carboxylic acid, and ethyl iso-allocholate. In conclusion, the analysis revealed the presence of 12 compounds in the form of esters, amines, amides and terpenes.

Keywords: gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), *Dracontium spruceanum* y secondary metabolites.

I. INTRODUCCIÓN

El ser humano siempre ha dependido de las plantas dado a las bondades que estas poseen, a tal punto de convertirlas en una de las principales alternativas en el cuidado de su salud. A nivel mundial el Perú es considerado uno de los países megadiversos, siendo la flora una de las características que lo confieren.

La importancia de las plantas medicinales en el cuidado de la salud humana es invaluable, esto se debe a la presencia de una o más sustancias químicas que están comprendidas dentro de los metabolitos secundarios llegando a tal punto de convertirse en objeto de estudio para los investigadores de productos naturales, puesto que son la fuente de los compuestos biológicamente activos como: terpenos, compuestos fenólicos, glucósidos, alcaloides, etc. Es así que mediante la cromatografía los metabolitos secundarios son aislados, purificados e identificados, esto a fin de poner en valor el conocimiento tradicional y convertirlo en evidencia científica.

El jergón sachá es una de las plantas muy usadas en la cultura medicinal de la selva peruana especialmente en Loreto, Huánuco y San Martín. Esto ha hecho que existan diversas investigaciones realizadas a esta parte de la planta (cormo) pero solo se basan en estudios preliminares para conocer determinados grupos de metabolitos secundarios, mas no en los componentes presentes en ellos, es así que esta investigación busca a través de la cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (GC-MS) identificar los compuestos presentes en el cormo. Debido a esto se formula la siguiente interrogante ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios que presenta en el cormo del *Dracontium spruceanum* (jergón sachá) utilizando el método cromatográfico?

La investigación realizada brindará información básica para conocer los compuestos presentes en esta parte de la planta. Así mismos, los resultados ayudarán a tener un mejor conocimiento de la composición química de los metabolitos secundarios presentes en el cormo de *D. spruceanum*, con el propósito de que en estudios posteriores se realice la identificación de los compuestos bioactivos; a quienes se les adjudica diversos beneficios en favor de la salud humana.

Objetivo general

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico en el corno de *D. spruceanum*, utilizando GC-MS.

Objetivos específicos

- Realizar el tamizaje fitoquímico preliminar del corno de *D. spruceanum*.
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el corno de *D. spruceanum* mediante CG-MS.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco teórico

2.1.1. Clasificación taxonómica

Collantes et al. (2011) realizaron la categorización, mediante la nomenclatura oficial de acuerdo al sistema desarrollado por Cronquist (1982) y el esquema por categorías taxonómicas de orden y familia, de acuerdo al sistema de clasificación establecido por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas (APG III 2009).

Reino : Plantae
Clase : Monocotiledónea
Orden : Alismatales
Familia : Araceae
Subfamilia : Lasioideae
Género : *Dracontium*
Especie : *Dracontium spruceanum* (Schott) G. Zhu
Nombre común: Jergón sacha

2.1.2. Distribución geográfica

La especie *D. spruceanum* (Schott) G.Zhu (anteriormente conocido como *D. lorentense* Krause) es una herbácea cuyo género *Dracontium* está constituido por 23 especies perteneciente a la familia Araceae, generalmente se encuentran presentes en los bosques húmedos tropicales desde Costa Rica hasta Brasil (Zhu y Croat, 2004).

Collantes et al. (2011) mencionan que dentro del territorio peruano se encuentran localizados en las regiones de Huánuco, San Martín, Loreto y Amazonas.

2.1.3. Descripción de la especie

Herbácea de altura entre 1,5-2 m, hojas multipartidas, con divisiones laterales oblongas de 10-15 cm de largo y 40-60 cm de ancho, las terminales profundamente

bilobadas, peciolo delgado de hasta 2 cm; pseudo-tallo coloreado parecido a la piel de la serpiente jergón. Inflorescencia en espádice de 4 cm de largo y 12 mm de espesor, espata estrechamente lanceolada de hasta 25 cm de largo y pedúnculo floral de casi 1 cm de largo (Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana [IIAP], 1998).

– **Cormo**

Tubérculo hemisférico, 4-18 cm de diámetro, 3-10 cm de espesor, plano o ligeramente convexo arriba, redondeado y blanco a marrón debajo, 15-40 cm debajo del nivel del suelo, tubérculos abundantes, redondeados 0,5-2 cm de diámetro, nacidos alrededor de la periferia del tubérculo (Zhu y Croat, 2004).

2.1.4. Metabolitos secundarios

Son productos derivados de los procesos bioquímicos generados al momento de producir los metabolitos primarios (aminoácidos, azúcares o lípidos) a diferencia de los metabolitos secundarios, estos se encuentran involucrados directamente con el crecimiento, desarrollo y reproducción de la planta. A estos compuestos químicos no se les adjudica funciones esenciales, sin embargo, en las plantas estas moléculas producidas sirven como mecanismo de defensa en respuesta a diferentes condiciones de estrés, tales como alta radiación, sequías, temperaturas extremas, infecciones de patógenos e incluso intervienen frente a ataques de herbívoros. Así mismo contribuyen en los colores, olores y sabores estos pueden llegar a hacer propios de cada especie y la vez se clasifican de acuerdo a su origen biosintético en tres grupos: compuestos fenólicos, terpenoides y compuestos nitrogenados o alcaloides (Osbourn y Lanzotti, 2009). En la **Figura 1**, se muestran tres ejemplos de estructuras, pertenecientes a cada uno de los grupos según su origen biosintético.

Los metabolitos secundarios, en las plantas pueden estar repartidos por toda su estructura o parte de esta como en las hojas, las flores, el tallo (la corteza generalmente usada con fines medicinales), los frutos y las raíces; estos pueden poseer diferentes metabolitos secundarios y coincidir en muchos de ellos, razón por la cual las investigaciones fitoquímicas son realizadas a cada una de ellas. Esto puede estar influenciado por diversos factores tales como ubicación geográfica, características del suelo, altura sobre el nivel del mar y de la época

del año en la cual ha sido extraído. Es por ello que una misma especie se puede estudiar fitoquímicamente en diferentes partes del mundo (Espino, 2019).

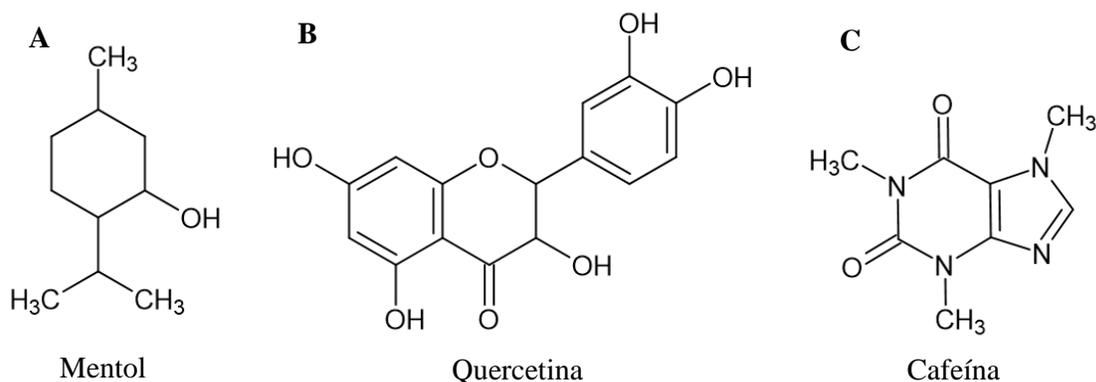


Figura 1. Estructuras químicas: **A** terpenos, **B** compuestos fenólicos y **C** alcaloides

2.1.4.1. Clasificación de los Metabolitos secundarios

–Alcaloides

Compuestos de origen vegetal conforman el grupo más extenso de metabolitos. Están presentes en las raíces, cortezas, hojas y semillas. Los alcaloides son sustancias derivadas de aminoácidos que contienen al menos un átomo de nitrógeno dentro de su molécula. A estos compuestos se les atribuye actividades farmacológicas (Loock, 1994). En la **Figura 2**, se muestra la disposición heterocíclica que generalmente tienen los alcaloides.

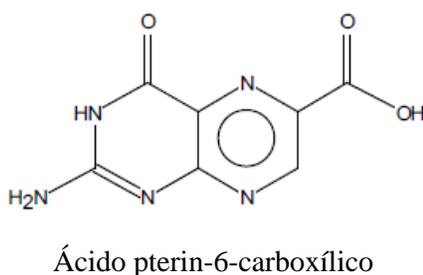


Figura 2. Alcaloide

Las plantas lo usan como regulador y en defensa de los parásitos e insectos que intentan dañarla. Además las distintas actividades farmacológicas que presentan

hacen que sean muy empleadas en la medicina, esto debido a que mejoran la circulación y la respiración, disminuye la presión sanguínea y otros son antitumorales (Fattorusso y Taglialatela, 2007).

–Flavonoides

Los flavonoides se caracterizan por poseer dentro de su estructura compuestos policíclicos de benzo- γ -pirano (**Figura 3**). Estos tienen dentro de su núcleo básico quince átomos de carbono formados bajo un sistema $C_6-C_3-C_6$. Su núcleo básico lo conforman dos anillos aromáticos llamados A y B unidos por una unidad de tres carbonos, este en ocasiones forma un tercer anillo llamado C (Lock, 1994).

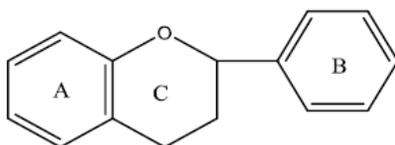


Figura 3. Núcleo básico de un flavonoide

Los beneficios que se le otorga a estos compuestos en la salud son diversos, tales como: combaten alergias, microbios, virus, hipertensión, tumores, radicales libres; actúan como protectores frente a estados tóxicos, antiinflamatorios, reducen el riesgo de varios tipos de cáncer y ciertos trastornos de la vista, además protegen el sistema circulatorio (Velioglu et al., 1998).

–Taninos

Son compuestos fenólicos muy astringentes y de gustos amargos, poseen masas moleculares elevadas lo cual hace que sus estructuras sean complejas, así mismo estos metabolitos secundarios abundan en el reino vegetal (Isaza, 2007). En la **Figura 4**, se muestra al ácido gálico, perteneciente al grupo de los taninos.

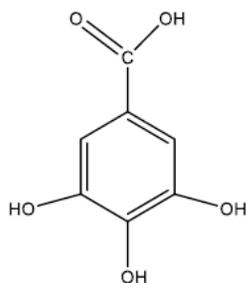


Figura 4. Estructura de los taninos

En medicina vernacular son empleados para combatir las hemorroides, diarrea, para curar heridas externas; como bactericidas y antídotos de otros venenos. Estos compuestos son usados por las plantas como medio de defensa ante agresiones externas producidas por depredadores; motivo por el cual presentan gustos muy amargos y astringentes (Ávalos y Pérez, 2009).

–Saponinas

Se encuentran dentro del grupo de los glicósidos cuyas moléculas son solubles en agua, esto hace que la tensión superficial presente una mejor distribución, es así que, al agitar sus soluciones se produzcan espuma abundante y relativamente estable. La afinidad que tiene con el agua y su peso molecular elevado hacen que estos compuestos sean empleados en la fabricación de lejías y jabones (Domínguez, 1979).

–Quinonas

Son compuestos orgánicos que poseen dentro de su estructura dobles enlaces carbonílicos α - β insaturados, estos hacen que se subdividan en benzoquinonas, naftoquinonas o antraquinonas si son estructuras monocíclicas, bicíclicas o tricíclicas, respectivamente. Mayormente se encuentran distribuidos en el corazón de la madera, corteza o en la raíz, y en ocasiones en las hojas donde su color esta superpuesto por otros pigmentos (Lock, 1994). En la **Figura 5**, se muestran dos ejemplos de estructuras monocíclicas y bicíclicas, referente a las quinonas.

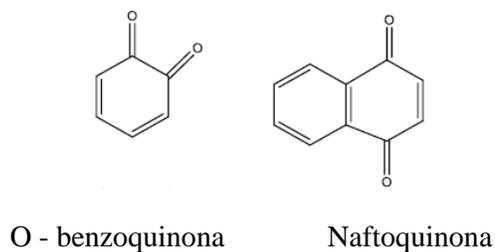


Figura 5. Estructura química de quinonas

–Triterpenos y Esteroides

Son compuestos que se encuentran dentro del grupo de los terpenos formado por seis unidades de isopreno, estos pueden poseer dentro de su estructura cuatro o cinco anillos aromáticos fusionados cuyos grupos funcionales estén compuestos por ácido carboxílico, aldehído, cetona o hidroxilos (Ch y Lock, 2001). En la **Figura 6**, se muestra al sitosterol, cuyo compuesto pertenece al grupo de los triterpenos.

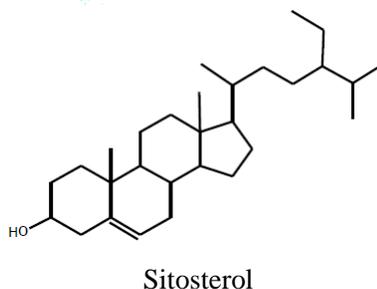


Figura 6. Estructura de triterpenoides

–Cumarinas

Son compuestos que tienen un anillo bencénico unido a una pirona (**Figura 7**). A estos metabolitos secundarios se les adjudican propiedades farmacológicas en particular, bacteriostática, fisiológica y la actividad antitumoral (Jain y Joshi, 2012).

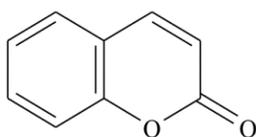
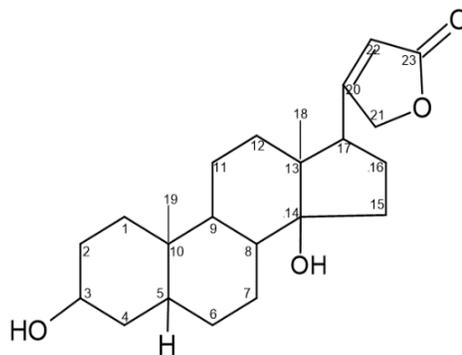


Figura 7. Estructura básica de las cumarinas

– **Cardenólidos**

Estas moléculas se encuentran caracterizadas por un núcleo esteroideo (genina o aglicona), dentro de su estructura tienen un grupo hidroxilo ubicado en el C14 β y un anillo lactónico insaturado de cinco carbonos en la posición C17 β (**Figura 8**). A bajas concentraciones influye de manera positiva contra afecciones cardiacas (Verma et al., 2016).



Digitoxigenina

Figura 8. Estructura de un cardenólidos

2.1.5. Técnicas de separación

– **Tamizaje fitoquímico**

Es una herramienta útil usada para ensayos preliminares rápidas y sencillas que detectan de forma cualitativa la presencia de determinados grupos de compuestos; estos grupos son evidenciados mediante la formación de precipitados, coloraciones y fluorescencia, en base a la micro-química (Singleton, 1965).

– **Cromatografía de gases**

Es un método analítico usado ampliamente para separar, identificar y cuantificar componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas. Esta técnica busca confirmar la presencia o ausencia de un compuesto en una muestra determinada mediante la

comparación del tiempo de retención de una muestra patrón (pura) con el de la muestra, siempre y cuando las condiciones para la obtención de ambos sean idénticas (Gutiérrez et al., 2002).

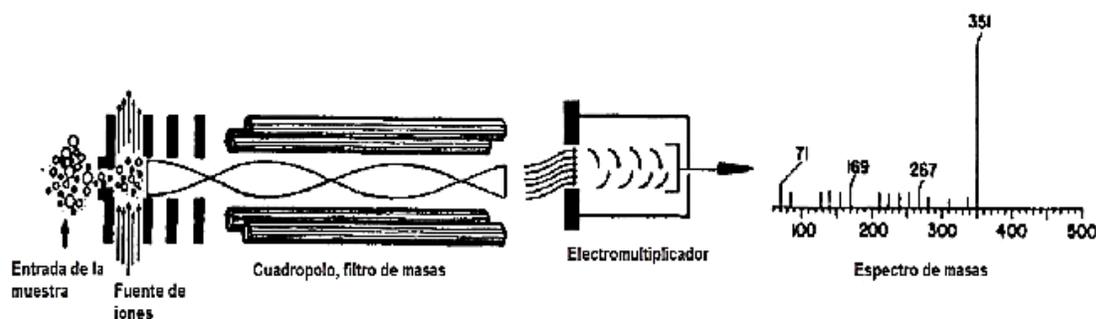
Los compuestos una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema mediante la cromatografía de gases, el tiempo de retención de los picos mostrados en el cromatograma es el único dato que se cuenta para la identificación. Es así que para tener una identificación más certera y sobre todo en la cromatografía de gases capilares cuyos trabajos frecuentemente se realizan con muestras complejas, el tiempo de retención es insuficiente (Benavides, 1987).

– **Índice de retención lineal**

El índice de retención describe el comportamiento de retención de una sustancia de interés comparándolos al de una mezcla de alcanos, cuyos carbonos poseen distintos átomos. Generalmente son usados como complemento para identificar compuestos en mezclas complejas, además permite que los resultados medidos en un laboratorio se utilicen en otros laboratorios incluso bajo diferentes flujos de gas portador (Van den Dool y Krats, 1963)

– **Espectrometría de masas**

La espectrometría de masas (MS) es una técnica de análisis cuyo principio está basado en la separación de las partículas moleculares o atómicas de la muestra de acuerdo a su masa. Las etapas que comprende esta técnica son las siguientes: ionización de la muestra, aceleración de los iones por un campo magnético eléctrico, separación de los iones según su masa/carga; detección de los iones y por último la producción de la correspondiente señal eléctrica. Se trata de una técnica extremadamente sensible y de gran versatilidad que proporciona información muy valiosa sobre los compuestos químicos: peso molecular, fórmula molecular y, a partir del patrón de fragmentaciones la estructura molecular (Fried y Sherma, 1999). En la **Figura 9**, se muestra al analizador cuadrupolar empleados para el análisis de las moléculas según su masa/carga.



Fuente: Karasek F.W y Clement R.E., (1988)

Figura 9. Esquema de identificación a través del analizador cuadrupolo en espectrometría de masas

Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar sustancias puras, pero es incapaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin antes haber sido separados. Esto se debe a que por superposición generada por los distintos espectros de cada componente presentes en una muestra, los espectros obtenidos presentarían una extrema complejidad (Gutiérrez et al., 2002; Benavides, 1987).

– Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

El acoplamiento de la GC-MS, como sistema individual es una técnica analítica capaz de separar, medir e identificar cualitativamente y cuantitativamente los componentes de una mezcla compleja para posteriormente proporcionar de cada compuesto orgánico su peso molecular y la elucidación de su estructura química, mediante su espectro de masas. La unión directa de la columna capilar con la cámara de ionización del espectrómetro de masas hace posible que se tenga información estructural de cada uno de los espectros de masas presentes en una mezcla, esto a medida que son transportados a través de la columna; previamente inyectada en el sistema de inyección del cromatógrafo de gases. La columna no es un instrumento analítico sino tan solo un medio de separación física (Dabrio, 1973; McMaster et al., 1998).

La cromatografía de gases es una técnica de separación que depende de los tiempos de retención para poder identificar los compuestos presentes en una muestra, esto hace que en muchos casos no se puede realizar una identificación altamente fiable utilizando únicamente los tiempos de retención. Además que en muchos casos existe la probabilidad de

coelución de dos o más compuestos diferentes en determinadas condiciones. Por estas razones, los tiempos de retención y los espectros de masas son complementarios entre sí. El uso combinado de índices de retención y espectros de masas puede permitir que las identificaciones de compuestos individuales en mezclas complejas se realicen con gran confianza (Lai y Song, 1995).

2.2. Estado del arte

Los estudios realizados a esta parte de la planta (cormo) son diversos, entre ellos la composición fotoquímica, en este contexto se cita algunos de los trabajos realizados.

Se evaluó la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro de tres especies en cuyo estudio realizó un tamizaje fitoquímico de las hojas y cormo del *D. spruceanum* en extracto metanólico, detectándose la presencia de flavonoides, esteroides, alcaloides, catequinas y cardiotónicos para ambos exceptuando en el cormo a las saponinas y polifenoles pero adicionalmente se halló lactonas y quinonas (Miranda, 2019).

Gonzales (2019) efectuó en su estudio un tamizaje fitoquímico en extracto hidroalcohólico, en el cual empleo el cormo de *D. spruceanum*. Detectando la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, triterpenos pentacíclicos, esteroides.

Caro et al. (2017) evaluaron el efecto protector de *Dracontium dubium* contra el veneno de *Bothrops asper*. En su estudio realizaron un tamizaje fitoquímico al cormo en extracto etanólico, revelando la presencia de compuestos fenólicos, glúcidos cardiotónicos, taninos, flavonoides, leucoantocianidinas, quinonas y esteroides/triterpenoides.

Realizó el estudio bromatológico y fitoquímico de las hojas y granos del *Lupinus mutabilis* (chocho), *Chenopodium quinoa* (quinua), *Amaranthus caudatus* (amaranto) y *Amaranthus hybridus* (sangorache). El tamizaje fitoquímico fue realizado mediante distintos extractos (etéreo, alcohólico y acuoso) mostrando los siguientes metabolitos: para el *L. mutabilis* alcaloides, triterpenos/esteroides, lactonas y cumarinas; para la *C. quinoa* antocinidinas, triterpenos/esteroides, flavonoides, saponinas, catequinas, lactonas y cumarinas; para el *A. caudatus* taninos, flavonoides, fenoles y saponinas, principios amargos y finalmente

el *A. hybridus* alcaloides, principios amargos, fenoles y taninos, saponinas, flavonoides (Guapi, 2014).

Rivera (2012) realizó la caracterización fitoquímica, farmacéutica y alimenticia de dos especies; donde llevó a cabo el tamizaje fitoquímico del corno en extracto etanólico de *D. spruceanum*. Obteniendo como resultados la presencia de cumarinas, sesquiterpenlactonas, taninos, cardiotónicos; triterpenos, esteroides, flavonoides y alcaloides.

Lovera et al. (2006) en su investigación llevó a cabo un tamizaje fitoquímico en extracto acuoso del corno de *D. spruceanum*. Mediante este análisis obtuvo resultados positivos para taninos, saponinas, fenoles, alcaloides y flavonoides.

Bocanegra (2007) en su estudio realizado para conocer la composición fitoquímica en el corno de la especie *Dracontium lorentense* y su variación según su ubicación geográfica. Logró identificar mediante el tamizaje fitoquímico en extracto metanólico los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, esteroides y catequinas.

Uddin et al. (2021) identificaron, los componentes fitoquímicos en extracto metanolico de las hojas de *Elatostema papillosum* (Urticaceae) mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, para el cual uso la columna capilar DB-1 (J&W) bajo un programa de temperatura lineal. En el análisis GC-MS, se identificaron 24 compuestos, siete de los cuales fueron documentados como bioactivos mediante el análisis de acoplamiento molecular. Estos compuestos aislados al ser examinados sus propiedades antidepresivas, ansiolíticas, analgésicas, antiinflamatorias y antioxidantes los siete mostraron afinidad de unión favorable siendo el 3-trifluoroacetoxipentadecano uno de los compuestos que mejor afinidad tuvo.

Maleki-Choreh et al. (2020) identificaron, los alcaloides presentes en el corno de *Lilium ledebourii* (Liliaceae) en extracto metanólico mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, el cual uso la columna capilar HP-5MS bajo un programa de temperatura lineal, en donde identifico al ácido pterin-6-carboxílico y a la vez mencionaron que posee diversas actividades biológicas, como antitumoral y antioxidante además le adjudicaron la propiedad de fluorescencia. También se logró dilucidar al compuesto 3-trifluoroacetoxipentadecano

Jasna y Khaleel (2020) realizaron, la identificación de los metabolitos secundarios en la corteza de *Kendalia candel* (Rhizophoraceae) en extracto de cloroformo mediante GC-MS para el cual uso una columna capilar TG-5MS bajo un sistema de temperatura lineal, donde encontró 24 compuestos entre ellos la digitoxina cuyo compuesto es usado como un glucosido cardico, anticancerígeno y el 3-trifluoroacetoxipentadecano usado como antinefrotóxicas y antioxidantes.

Kalaimagal (2019) realizó un estudio, con el propósito de identificar los compuestos bioactivos de flores de *Tabernaemontana divaricata* (Apocynaceae) en extracto etanólico acidulado mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, en el cual empleo una columna capilar Elite-5MS bajo un programa de temperatura lineal, logrando elucidar 16 compuestos activos, siendo uno de ellos ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico a quien se le atribuye la actividad antimicrobiana.

Gadhi et al. (2018) llevaron a cabo un estudio, para conocer la actividad antibiopelícula de extractos macroalga *Halamide sp.* para esto utilizaron extractos (hexano y metanol en muestras de algas frescas y extracción superficial con hexano) con el fin de evaluar el efecto de los solventes sobre la bioactividad, cuyo análisis realizado en el CG-MS bajo un programa de temperatura lineal, el cual empleo al hexano como solvente en algas frescas. Logrando identificar 30 compuestos siendo uno de ellos el ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico.

Nikhanj y Kocher (2018) realizaron, la fermentación de uvas en etanol, para eso usó un cromatógrafo de gases acoplada a espectrometría de masas operado bajo un programa de temperatura lineal. El análisis por CG-MS del vino (tinto y blanco) identifico la presencia de 41 compuestos volátiles dentro de ello encontró el isoalocolato de etilo y t-butil-{2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditian-2-il}-dimetilsilano.

Barros (2017) identificó metabolitos secundarios en la cáscara de la mazorca de cacao *Theobroma cacao* fermentado y sin fermentar al cual les inoculó cepas de (*Rhizopus stolonifer*). El análisis realizado a las cáscaras de mazorca de cacao sin fermentar en extracto etanolico mediante CG-MS empleo un programa de temperatura lineal donde identifico 9 compuestos, dentro de ellos se dilucido al ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico.

Parekh et al. (2016) realizaron, un estudio al sub producto de trigo y malta de cebada con el fin de fraccionar, caracterizar y estudiar la funcionalidad y estabilidad de los lípidos presentes en los granos usados de cervecería, para esto emplearon diversas técnicas de separación. Es así que mediante el extracto de hexano GC-MS uso una columna capilar operado bajo un programa de temperatura lineal, logrando identificar 12 compuestos, dentro de ellos se encontró el 4-trifluoroacetoxipentadecano el cual posee actividad antimicrobiana y antiinflamatoria.

Sathya et al. (2016) estudiaron el efecto combinado de biocebado y recubrimiento polimérico sobre los constituyentes químicos de la exudación de raíces *Capsicum annuum* (chile) en distintas edades (15 y 30 días), es así, que el análisis del extracto metanólico mediante GC-MS operado bajo un programa de temperatura lineal, revelaron que los exudados de raíces recolectados de plántulas bactericidas de 15 días arrojó 65 compuestos, entre ellos el 3-trifluoroacetoxipentadecano cuya naturaleza del compuesto es la de un alcano halogenado además posee actividad antimicrobiana.

Idan et al. (2015) realizaron, un estudio para conocer los compuestos bioactivos en extracto metanólico del fruto de *Citrullus colocynthis* (Cucurbitaceae) mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas para el cual uso una columna capilar Elite 1 operado bajo un programa de temperatura isotérmica (100 °C). En el análisis logró identificar 33 compuesto dentro de ellos se encontró el isoalocolato de etilo, este es usado como agente antimicrobianos y actividad antiinflamatoria además se identificó (5 β)pregnano-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4 diil)], diacetato y al Ácido dodecanoico, 3-hidroxi-.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Lugar de ejecución

3.1.1. Ubicación política

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Fitoquímica de la EPIF de la Facultad de Recursos Naturales Renovables. Esta instalación se ubica en la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), políticamente corresponde al distrito Rupa Rupa, provincia Leoncio Prado, región Huánuco.

3.1.2. Ubicación geográfica

Geográficamente la presente investigación se realizó en las siguientes coordenadas UTM.

Tabla 1. Coordenadas UTM (Datum WGS 84, UTM) del lugar de investigación

Lugar	Coordenada	
	Este	Norte
UNAS	390312	8970774

3.1.3. Zona de vida y clima

Ecológicamente usando la clasificación de formaciones vegetales del mundo y el diagrama bioclimático de Holdridge (1978) se estableció que el Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la selva (BRUNAS) se encuentra en la formación vegetal Bosque muy húmedo Pre-montano Tropical (bmh-PT), así mismo, de acuerdo a las regiones naturales del Perú establecidas por Pulgar (1987) dicha área, corresponde a Rupa Rupa o Selva Alta.

Respecto al clima, la zona donde se realizó el estudio registra precipitaciones anuales de 3019,8 mm; siendo los meses de enero-marzo y noviembre-

diciembre las de mayor precipitación. Cuenta con una humedad relativa de 82,5% y una temperatura media anual de 25,7 °C, la temperatura varía entre 19,0 °C - 32,1 °C (Universidad Nacional Agraria de la Selva [UNAS], 2017).

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Materiales y equipos

3.2.1.1. Materiales de laboratorio

Materiales usados en el laboratorio fueron: tubos de ensayo (Pyrex); probeta (Lasany), fiola (Lasany), vaso de precipitado (Lasany), pipeta (ISOLAB), micropipeta digital 10 µl (Microlit), vial de 2 ml (Thermo Fisher Scientific), matraz Erlenmeyer (Kimax), pera de decantación (Normax), placa Petri (Fisher Scientific), embudo (Normax), mortero y pilon (PyS), papel filtro (Whatman), limaduras de magnesio (Underground).

3.2.1.2. Equipos

Los equipos empleados fueron: balanza analítica (Ohaus), estufa (Elos, H110N), muestreador automático (Thermo Scientific TriPlus RSH), cromatógrafo de gases (Thermo Scientific TRACE serie 1310), espectrómetro de masas (Modelo N°. TSQ9K-VP, Thermo Scientific), lámpara UV/Vis (Ali, AD2038UV MG/WM), refrigeradora (Electrolux, DW44S) y cámara fotográfica (Sony, DSC-W800).

3.2.1.3. Reactivos

Alcohol etílico (Alkofarma), metanol (Lichrosolv), ácido sulfúrico (Merck), tolueno (Sigma Aldrich), acetato de plomo (J.T. Baker), sulfato de sodio anhídrido (Merck) ácido clorhídrico concentrado (Sigma-Aldrich), ácido acético (Sigma Chemical), agua destilada, diclorometano (R.J.T BAKER), cloruro férrico (Alfa Aesar), hidróxido de sodio (Merck), Mayer (Sigma Aldrich), Wagner (Sigma Aldrich), Hagger (Sigma Aldrich), Dragendorff (Sigma Aldrich); Shinoda (Sigma Aldrich), Rosenheim (Sigma Aldrich), reactivo de Kedde (Sigma-Aldrich); gelatina-sal (Merck) y Liebermann-Burchard (Sigma Aldrich).

3.2.2. Metodología

– Tipo, diseño y alcance de la investigación

El tipo, diseño y alcance de la investigación se estableció mediante lo referido por (Hernández-Sampieri, 2014).

Tipo de investigación

Investigación básica, ya que busca aumentar el conocimiento respecto a los metabolitos secundarios en la especie *D. spruceanum*.

Diseño y alcance de la investigación

El diseño es no experimental, ya que no se manipulo deliberadamente variables además posee un alcance descriptivo, dado que el estudio se centra en identificar los metabolitos secundarios presentes en el corno del jergon sacha.

– Material biológico

La muestra fue colectada a las 7 am en el BRUNAS e identificada por el Dr. Edilberto Chuquilín Bustamante jefe encargado del Jardín Botánico-UNAS perteneciente a la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (**Anexo C**)

– Preparación de la muestra

Se lavó con agua común para eliminar los residuos que estaban adheridos a la muestra. Seguidamente se extrajo la cascara, luego se lavó con agua destilada con la finalidad de eliminar cualquier tipo de impurezas que puedan modificar los ensayos. Finalmente se cortó en trozos pequeños.

3.2.2.1. Evaluación de los metabolitos secundario de *D. spruceanum* por medio del tamizaje fitoquímico preliminar

– Determinación del contenido de humedad

Se pesó 5 g de la muestra de sachá jergón en una placa Petri y se dejó a 103 ± 2 °C por 48 h. Luego se retiró la placa del horno, se dejó enfriar por 15 minutos en un desecador y se volvió a pesar.

Utilizando la relación del peso de la muestra secada a 103 °C \pm 2 °C y el peso de la muestra humedad, se calculó el contenido de humedad en base húmeda (CHh) con la siguiente expresión:

$$CHh = \frac{Ph - Ps}{Ph} \times 100$$

Dónde:

CHh : Contenido de humedad en base húmeda (%)

Ph : Peso húmedo de la muestra (g)

Ps : Peso seco de la muestra (g)

Para la dilucidación de los metabolitos secundarios, el estudio se realizó con un contenido de humedad de 71.93% (**Anexo D**).

– Tamizaje fitoquímico

Las pruebas fitoquímicas para alcaloides, flavonoides, leucoantocianidinas, cardiotónicos, saponinas; taninos, esteroides, quinonas, antocianinas y cumarinas se realizó empleando la metodología descrita por Martínez et al. (2008) (**Anexo E**). El procedimiento busca, la identificación cualitativa de los metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo mediante reacciones de precipitación, coloración o fluorescencia (**Tabla 5**, **Anexo A**). Estas se valoraron de acuerdo a lo establecido por Perilla y Sanabria (2007) (**Tabla 2**).

Tabla 2. Valoración cualitativa para el tamizaje fitoquímico

Cantidad relativa	Signo
Abundante	+++
Moderado	++
Leve	+
Ausente	-

3.2.2.2. Identificación de los metabolitos secundarios de *D. spruceanum* por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

– Preparación de la muestra

Se desmenuzo finamente en un mortero 1 g de muestra fresca y se colocó en un Erlenmeyer, al cual se añadió 10 ml de metanol. Realizado este proceso se pasó todo el extracto a través del papel filtro. Una vez filtrada se tomó 10 μ L de la solución y se aforo con 25 ml de metanol de grado GC.

Antes de inyectar la muestra en el cromatógrafo, se tomó una alícuota de 2 ml en un vial, posteriormente se agitó para una adecuada homogenización y se procedió con la inyección dentro del cromatógrafo de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS).

– Análisis en CG-MS

El análisis cromatográfico se realizó utilizando un CG-MS, equipado con un muestreador automático y un espectrómetro de masas, este cuenta con un analizador triple cuadrupolo, cuyo sistema de detección fue operado en modo barrido completo (full scan) por impacto de electrones a una energía de 70 eV y una corriente de emisión de 250 μ A. Se empleó un cromatógrafo de gases, equipado con una columna capilar ligeramente polar TG-5SILMS (5% fenil y 95 metilpolisiloxano) de 30 m de largo; 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μ m de película fina. La muestra inyectada fue de 1 μ l en modo de vaporización de

temperatura programada (PTV), que se programó de la siguiente manera: 50 °C (tiempo de retención 0,5 min) manteniendo abierta la válvula Split, luego se elevó a 250 °C (tiempo de retención 1,5 min). La temperatura del horno se programó de la siguiente manera: temperatura inicial 40 °C; seguido por el incremento gradual de la temperatura a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min hasta 300 °C (26 min.), finalmente se mantuvo a 300 °C (8 min.). El tiempo total de ejecución fue de 36 min. Se usó helio como gas portador a un flujo constante de 1 ml/min.

Se utilizó el software Thermo Scientific™ Chromeleon™ versión 7.2.10 para la generación de los datos.

– **Calculo de índice de retención lineal**

Se determinó utilizando la ecuación establecida por Van den Dool y Kratz (1963). Para ello se utilizaron 7 alcanos de grado reactivo de la marca Restek en cloruro de metileno. Cuya mezcla estaba compuesta de los siguientes n-alcanos: C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₂, C₁₄ y C₁₆.

$$I = 100 \left(\frac{t_u - t_n}{t_{n+1} - t_n} + n \right)$$

Dónde:

n : número de carbonos del n -alcano que eluye antes del compuesto u

t_u : tiempo de retención absoluto

t_n : tiempo de retención absoluta de elución del n -alcano antes que el compuesto u

t_{n+1} : tiempo de retención absoluta de elución del n -alcano después del compuesto u

– **Identificación de los compuestos**

Los diferentes componentes encontrados en la muestra, se identificaron utilizando los tiempos de retención del cromatograma, y los espectros de masa de

cada componente (**Tabla 4**). Los espectros de masa se compararon entre los obtenidos experimentalmente y los contenidos en la base de datos de la librería MAINLIB y Replib.

Mediante los tiempos de retención cromatográfico de cada compuesto analizado y de una mezcla estándar de alcanos, se calculó los índices de retención lineal para todos los componentes analizados.

Las distintas metodologías que se utilizaron, fueron con el fin de aumentar el grado de confiabilidad en la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo del *D. spruceanum*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación fitoquímica del corno de *D. spruceanum* para identificar los metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios encontrados en el estudio al extracto crudo de *D. spruceanum* mediante el tamizaje fitoquímico fueron: alcaloides (+++), antocianinas (+), flavonoides (+), cumarinas (++), leucoantocianidinas (+) y saponinas (+); siendo los alcaloides, flavonoides los metabolitos que presentaron mejor respuesta de coloración, seguido por las antocianinas (**Tabla 3**).

De acuerdo a Bocanegra (2007) en su estudio realizado cuyo fin era, conocer la composición fitoquímica en el corno de la especie *D. loretense* y su variación según su ubicación geográfica, logró identificar mediante el tamizaje fitoquímico en extracto metanólico los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, esteroides y catequinas; además, Gonzales (2018) efectuó en su estudio un tamizaje fitoquímico en extracto hidroalcohólico, para el cual empleo el corno de *D. spruceanum*, detectando la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, triterpenos pentacíclicos, esteroides; de la misma forma, Lovera et al. (2006) en su investigación al corno, en extracto acuoso del *D. spruceanum* mediante el tamizaje fitoquímico obtuvo, resultados positivos para taninos, saponinas, fenoles, flavonoides y alcaloides; así mismo, Miranda (2019) realizó el tamizaje fitoquímico de las hojas y corno del *D. spruceanum* en extracto metanólico, detectando la presencia de flavonoides, esteroides, alcaloides, catequinas, cardiotónicos lactonas y quinonas; del mismo modo, Rivera (2012) llevó a cabo el tamizaje fitoquímico del corno en extracto etanólico de *D. spruceanum* dando como resultados la presencia de cumarinas, sesquiterpenlactonas, taninos, cardiotónicos; triterpenos, esteroides, flavonoides y alcaloides. Los metabolitos encontrados se asemejan a los reportados por los autores, antes mencionados, quienes realizaron el tamizaje a la misma parte de la planta en estudio (corno). Sin embargo algunos de estos metabolitos tales como (flavonoides, leucoantocianidinas) también fueron encontrados en otras especies de *Dracontium*, como *D. dubium* (Caro et al., 2018). Así mismo, Guapi (2014) mediante extracto etéreo, alcohólico y acuoso reporto en el *L. mutabilis* (chocho) alcaloides y cumarinas; *C. quinoa* (quinua) antocinidinas, flavonoides, saponinas y cumarinas; *A. caudatus* (amaranto) flavonoides y saponinas; *A. hybridus* (sangoroche) alcaloides, saponinas y flavonoides.

En los estudios anteriormente mencionados mediante tamizaje fitoquímico a la misma parte de la especie (cormo) se observa algo particular, tanto por los autores como en esta, y es la presencia de alcaloides y flavonoides. Estos de acuerdo a la escala de valoración se establecieron como abundante (+++) y leve (+) respectivamente, sin embargo para estos autores (Miranda, 2019; Gonzales, 2018; Rivera, 2012; Bocanegra, 2007; Lovera *et al.*, 2006) ambos metabolitos fue calificado como leve (+). Esta coincidencia posiblemente se deba a que esta parte de la planta es usado como material de reserva, por lo tanto, Ávila (2017) menciona que, una de las cualidades de estos metabolitos es la de actuar en defensa contra especies herbívoras e insectos depredadores de las plantas. Respecto a la presencia de saponina, generó espuma persistente (altura: 10 mm), lo cual hace creer que esté presente en cantidades muy pequeñas como para considerarse que dicha especie use sapotoxinas como medio de defensa (Macías *et al.*, 1999). Así mismo dio positivo para cumarinas, por lo tanto se sugiere realizar estudios en estos compuestos ya que debido a su alta toxicidad pueden ser perjudiciales para los humanos.

Otros reportes en la misma especie, acreditan la presencia de cardiotónicos, quinonas, taninos y esteroides (Miranda, 2019; Gonzales, 2018; Rivera, 2012). En el presente trabajo, estos compuestos no se encontraron en los ensayos llevados a cabo esto podría deberse a las distintas metodologías de extracción o el solvente empleado en su ejecución. La variación de los metabolitos secundarios presentes en la plantas puede estar influenciado por la época del año, la altura sobre el nivel de mar junto con la ubicación geográfica, los factores bióticos y abióticos que influyen durante su ciclo de vida (Espino, 2019; Osbourn y Lanzotti, 2009).

Tabla 3. Tamizaje fitoquímico del extracto crudo del cormo *D. spruceanum*

Fracción de los extractos	Metabolito a identificar	Reacciones	Resultado
Fracción A	Alcaloide	Mayer, Wagner; Hager, Dragendorff	+++
	Flavonoides	Shinoda	+
Fracción B	Leucoantocianidinas	Rosenheim	+
	Cardiotónicos	Kedde	-
Fracción C	Saponinas	Saponificación	+
	Taninos	Gelatina-sal	-

	Esteroles	Liebermann-Burchard	-
	Quinonas	Ensayo con fracción	-
		Ensayo directo	-
Fracción D	Antocianinas	Medio alcalino, ácido	+
Fracción E	Cumarinas	Fluorescencia	++

Abundante (+++), moderado (++), leve (+), ausente (-). Escala ordinal reportada Perilla y Sanabria (2007)

4.2 Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el corno de *D. spruceanum* mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS)

Los componentes presentes en el extracto metanólico, analizados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con un tiempo de ejecución de 36 minutos, se presenta en la **Tabla 4** donde se muestra el tiempo de retención, fórmula molecular e índice de retención lineal de cada compuesto.

El análisis realizado (GC-MS) del extracto crudo metanólico de *D. spruceanum* muestra la presencia de 12 compuestos con un tiempo de retención entre 4,892 - 25,470. Dentro de estos componentes se encuentran tres isómeros: 3-trifluoroacetoxipentadecano, 4-trifluoroacetoxipentadecano y 2-Trifluoroacetoxipentadecano.

Tabla 4. Metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo metanólico del *D. spruceanum* (columna TG-5SILMS, calentada de 40 a 300 °C a 10 °C. min⁻¹, PTV Split)

Pico	Tr ^a (min)	Componente	Formula	I.R. ^b (experimental)
1	4,892	3-trifluoroacetoxipentadecano	C ₁₇ H ₃₁ F ₃ O ₂	813
2	6,264	4-trifluoroacetoxipentadecano	C ₁₇ H ₃₁ F ₃ O ₂	889
3	7,025	2-trifluoroacetoxipentadecano	C ₁₇ H ₃₁ F ₃ O ₂	934
4	14,46	Ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₃	1423

5	14,913	Digitoxina	$C_{41}H_{64}O_{13}$	1460
6	17,069	Ácido dodecanoico, 3-hidroxi-	$C_{12}H_{24}O_3$	1634
7	19,252	Ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico	$C_{26}H_{50}O_2$	1811
8	20,097	Ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico	$C_{19}H_{34}O_6$	1879
9	20,677	(5 β)pregnano-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4-diil)]-, diacetato	$C_{28}H_{43}NO_6$	1926
10	20,784	t-butyl-(2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditian-2-il)-dimetil-silano	$C_{22}H_{42}S_2Si$	1932
11	20,892	Ácido pterin-6-carboxílico	$C_7H_5N_5O_3$	1943
12	25,470	Isoalocolato de etilo	$C_{26}H_{44}O_5$	2314

^a Tiempo de retención

^b Índices de retención lineales

Los compuestos encontrados coinciden con otras investigaciones, quienes a su vez usaron alcoholes como solvente (metanol y etanol) tal es el caso Idan et al. (2015) mediante CG-MS usaron una columna capilar Elite 1 operado bajo un programa de temperatura isotérmica (100 °C), el cual empleo metanol como solvente, logrando identificar en el fruto de *C. colocynthis* (Cucurbitaceae) los compuesto, (5 β)pregnano-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4 diil)]-, diacetato y el Ácido dodecanoico, 3-hidroxi-; del mismo modo, Barros (2017) reporto, en la cascara de la mazorca de *T. cacao* sin fermentar en extracto etanolico a través de la CG-MS, el cual empleo un programa de temperatura lineal donde identificó al ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico, analogamente, Nikhanj y Kocher (2018) realizaron el análisis por CG-MS del vino (tinto y blanco) identifico t-butyl-{2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditian-2-il}-dimetilsilano, así mismo, Gadhi et al. (2018) realizaron el análisis a la macroalga *Halamide sp.* bajo un programa de temperatura lineal en CG-MS usando como solvente al hexano donde, identifico el compuesto ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico.

La sustancia 3-trifluoroacetoxipentadecano dilucidado coincide con varios estudios, cuyos análisis realizados en extracto metanólico al corno de *L. ledebourii* (Liliaceae) Maleki-Choreh et al. (2020) mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de

masas, emplearon la columna capilar HP-5MS bajo un programa de temperatura lineal donde dilucido el compuesto 3-trifluoroacetoxipentadecano. Así mismo en las hojas de *E. papillosum* (Urticaceae) Uddin et al. (2021) empleo la columna capilar DB-1 (J&W) bajo un programa de temperatura lineal, reportando al 3-trifluoroacetoxipentadecano, del mismo modo Sathya et al. (2016) en el análisis del extracto metanólico mediante GC-MS operado bajo un programa de temperatura lineal realizado al exudado de raíces *C. annuum* (chile) también logro identificarlo. Estos últimos autores mencionan que dicho compuesto tiene propiedades antidepresivas, ansiolíticas, analgésicas, antiinflamatorias, antioxidantes y antimicrobianas respectivamente. Sin embargo usando una columna capilar TG-5MS bajo un sistema de temperatura lineal este compuesto se observó en la corteza de *K. candel* (Rhizophoraceae) en extracto de cloroformo por Jasna y Khaleel (2020) quien reafirma su actividad antioxidante y antinefrotoxic. El compuesto 4-trifluoroacetoxipentadecano fue reportado por Parekh et al. (2016) en extracto de hexano a través de CG-MS para el cual usaron una columna capilar operado bajo un programa de temperatura lineal en el extracto de malta y cebada, así mismo hacen mención que dicho compuesto posee actividad antimicrobiana y antiinflamatoria. Además el ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico también fue identificado en extracto etanólico acidulado en las flores *T. divaricata* (Apocynaceae) para el cual hizo uso de la CG-MS y empleo una columna capilar Elite-5MS bajo un programa de temperatura lineal por Kalaimagal (2019) quien refiere que posee actividad antimicrobiana. El ácido pterin-6-carboxílico fue dilucidado por Maleki-Choreh et al. (2020) mencionan que dicho compuesto posee actividad antimicrobiana y antiinflamatoria; de igual manera Idan et al. (2015) reportaron al Isoalocolato de etilo en *C. colocynthis* atribuyéndole las mismas bioactividades, ambos compuestos fueron aislados con el mismo solvente en estudio. Por ultimo Jasna y Khaleel (2020) reportaron a la digitoxina en la especie *K. candel* en cuyo estudio manifiesta que, dicho compuesto es usado como glucósido cardico y anticancerígeno.

En resumen podemos inferir que los analitos encontrados en este estudio empleando la GC-MS y una columna capilar TG-5 SILMS bajo un programa de temperatura lineal se trate de compuestos apolares esto debido a que en las investigaciones antes mencionados, los compuestos encontrados en partes distintas de las plantas (cormo, raíces, hojas, corteza; flores, frutos, semillas y algas) fueron reportados en columnas capilares similares, cuyas fase estacionarias estaban recubiertas en su mayoría por dimetilpolisiloxano como parte de la fase estacionaria, siendo este compuesto el que en mayor proporción (5 % de

difenilo/ 95 % de dimetilpolisiloxano) se encontraba en la columna capilar usada (TG-5 SILMS).

Los compuestos bioactivos reportados anteriormente en la literatura, hacen inferir que el corno de la especie *D. spruceanum* tiene propiedades antidepresivas, ansiolíticas, analgésicas, antiinflamatorias; antioxidantes, antimicrobianas, antitumoral (Maleki Uddin et al., 2021; Choreh et al.2020; Kalaimagal, 2019; Parekh et al., 2016; Sathya et al.,2016; Idan et al., 2015) y actividades antinefrotoxicas, anticancerígeno y como glucósido cardico (Jasna y Khaleel, 2020) basados en estos se le podría atribuir las posibles causas benéficas que se obtienen en la ingesta de este producto. Sin embargo se debe continuar con los estudios a cada compuesto por separado para tener una mayor información de cómo influye en los seres vivos. Además, realizar estudios en los isómeros dilucidados, la razón de ello es que a los isómeros se les adjudica funciones estrictamente específicas para los cuales no se encontraron referencias.

V. CONCLUSIONES

- Los metabolitos secundarios identificados en el extracto metanólico crudo del corno de *D. spruceanum* por medio del tamizaje fitoquímico fueron: alcaloides, antocianinas, flavonoides, cumarinas, leucoantocianidinas y saponinas.
- El análisis cromatográfico mediante la espectrometría acoplado a masas dilucido 12 compuestos dentro de ellos se encontraron: 3-trifluoroacetoxipentadecano, 4-trifluoroacetoxipentadecano, 2-Trifluoroacetoxipentadecano, ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico; digitoxina; ácido dodecanoico, 3-hidroxi-; ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico; ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico; (5 β)pregnano-3,20 β -diol, 14 α ,18 α -[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4 diil)]-, diacetato; ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico; t-butil-{2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditan-2-il}-dimetilsilano; ácido pterin-6-carboxílico y Isoalocolato de etilo.

VI. PROPUESTAS A FUTURO

- Realizar estudios fitoquímicos al corno de *D. spruceanum* teniendo en cuenta la edad, ya que esto podría influir en la presencia de los metabolitos secundarios.
- Continuar con los estudios en GC-MS de los metabolitos secundarios en el corno del jergón sachá usando columnas capilares polares.
- Complementar este estudio realizando el análisis mediante la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS)

VII. REFERENCIAS

- Ávila, F. I. (2017). Metabolitos secundarios de especies arvenses en Chile y su efecto en el crecimiento vegetal. [Tesis de ingeniería, Universidad Católica de la Santísima Concepción]. Repositorio UCSC. <http://repositoriodigital.ucsc.cl/handle/25022009/1220>
- Ávalos, A., y Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). *Serie Fisiología Vegetal*, 2(3), 119-145.
- Barros, P. (2017). *Solid-state fermentation of Theobroma cacao pod husk using Rhizopus stolonifer-prospection of biomolecules*. [Tesis de maestría, Universidade Federal do Paraná] Repositório da UFPR. <https://acervodigital.ufpr.br/handle/1884/284/discover>
- Benavides, N. (1987). Procesamiento del pijuayo (Guillelma gasipaes): Deshidratación por flujo de aire caliente.
- Bocanegra, M. R. 2007. "Estudio preliminar de la Composición Fitoquímica en Extractos de Cormos de la especie Jergón Sacha (*Dracontium lorentense krause*) y su Variación según su Ubicación Geográfica". [Tesis de ingeniería. Universidad Nacional de San Martín]. Repositorio UNSM. <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/96>
- Caro, D., Ocampo, Y., Castro, J., Barrios, L., Salas, R., y Franco, L. A. (2017). Protective effect of *Dracontium dubium* against *Bothrops asper* venom. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1105-1114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.02.080>
- Ch, GT, y Lock, O. (2001). Aislamiento y caracterización de un triterpenoide a partir de la *Gentianella thyrsoides* (hooker.) Fabris. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 4 (1), 30-35.
- Dabrio, V. (1973). Análisis cualitativo: índices de retención. *Cromatografía de gases II*, 8-13.
- Domínguez, X. A. (1979). Métodos de Investigación Fitoquímica. Primera edición. 149-159 Limusa.

- Espino Arévalo, E. M. (2019). *Evaluación fitoquímica y perfil cromatográfico de las hojas de la Shapilloja (Zanthoxylum fagara)*. [Tesis de ingeniería, Universidad Nacional de San Martín]. Repositorio UNSM. <https://repositorio.unsm.edu.pe/handle/11458/3613>
- Fattorusso, E. y Tagliatalata-Scafati, O. (2007). *Alcaloides modernos: estructura, aislamiento, síntesis y biología*. John Wiley & Sons.
- Fried, B., y Sherma, J. (1999). *Thin-Layer Chromatography, Revised And Expanded* (4th ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203910214>
- Gadhi, A. A. A., El-Sherbiny, M. M., Al-Sofyani, A. M. A., Ba-Akdah, M. A., y Satheesh, S. (2018). Antibiofilm activities of extracts of the macroalga *Halimeda* sp. from the red sea. *Journal of Marine Science and Technology*, 26(6), 8. DOI: 10.6119/JMST.201812_26(6).0008
- Gonzales, L. A. (2019). Efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de raíz de *dracontium spruceanum* (schott) gh zhu (jergón sachá) en ratas albinas. [Tesis de ingeniería, Universidad Inca Garcilaso de la Vega]. Repositorio UIGV. <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/3952>
- Guapi, J. M. (2014). *Caracterización bromatológica y fotoquímica de los granos y hojas del chocho (Lupinus mutabilis Sweet), quinua (Chenopodium quinoa Willd), amaranto (Amaranthus caudatus L.) y sangor ache (Amaranthus hybridus L.)*. [Tesis de ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo]. Repositorio UNACH. <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/689>
- Gutiérrez Bouzán, M., y Droguet, M. (2002). La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. *Gutiérrez, MC; Droguet, M." La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor". Boletín Intexter, juliol 2002, núm. 122, p. 35-41.*
- Hernández-Sampieri, R., Fernández-Collado, C. y Baptista-Lucio, P. (2014). Selección de la muestra. En *Metodología de la Investigación* (6ª ed., pp. 170-191). México: McGraw-Hill

- Idan, S. A., Al-Marzoqi, A. H., y Hameed, I. H. (2015). Spectral analysis and anti-bacterial activity of methanolic fruit extract of *Citrullus colocynthis* using gas chromatography-mass spectrometry. *African Journal of Biotechnology*, 14(46), 3131-3158. DOI: 10.5897/AJB2015.14957
- IIAP, 1998 "Manual de cultivo de plantas medicinales". Instituto de investigación de la Amazonia peruana. Lima-Perú.
- Isaza, J. H. (2007). Taninos o polifenoles vegetales. *Scientia et Technica*, 1(33), 13-18
- Jain, P., y Joshi, H. (2012). Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of applied pharmaceutical science*, (Issue), 236-240.
- Jasna, T. K., y Khaleel, K. M. (2020). GC-MS ANALYSIS OF BIOACTIVE COMPONENTS OF KANDELIA CANDEL (L.) DRUCE. *Journal of Advanced Scientific Research*, 11(04 Suppl 9), 193-197.
- Kalaimagal, C. (2019). Identification of bioactive compounds in flower of *Tabernaemontana divaricata* (L.) using gas chromatography–mass spectrometry analysis. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 12, 129-132. <http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i9.34559>
- Karasek, F.W., y Clement, R.E. (1988), *Basic Gas Chromatography - Mass Spectrometry*. Elsevier.
- Lai, W. C., y Song, C. (1995). Temperature-programmed retention indices for gc and gc-ms analysis of coal-and petroleum-derived liquid fuels. *Fuel*, 74(10), 1436-1451.
- Lock, O. (1994). Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú.

- Lovera, A., Bonilla, C., y Hidalgo, J. (2006). Efecto neutralizador del extracto acuoso de *Dracontium lorentense* (jergón sachá) sobre la actividad letal del veneno de *Bothrops atrox*. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 23(3), 177-181.
- Macías, F. A., Molinillo, J. M., Galindo, J. C., Varela, R. M., Torres, A., y Simonet, A. M. (1999). *Terpenoids with potential use as natural herbicide templates* (pp. 15-31). CRC Press: Boca Raton, FL, USA.
- Maleki-Choreh, S., Zarinkamar, F., y Nazari, M. (2020). Biological investigation of *Lilium ledebourii* in Iran. *Rostaniha*, 21(2), 141-153. <https://doi.org/10.22092/BOTANY.2020.341949.1190>
- Martínez, M.A., Ospina, F., Valencia, G., y Jiménez, N. (2003). Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica 2003. *Universidad de Antioquia. Facultad de Química Farmacéutica. Departamento de Farmacia. Medellín. Colombia.*
- McMaster, M. C. 1998. *CG-MS: A practical User's guide*. John Wiley & Sons.
- Miranda, V. E. 2019. *Evaluación de la actividad antiproliferativa, antioxidante y antiinflamatoria in vitro del extracto metanólico de hojas de Piper aduncum, Buddleja incana y Dracontium spruceanum*. [Tesis Magistral. Universidad Nacional de San Marcos]. Repositorio UNMSM. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/10489>
- Nikhanj, P., y Kocher, G. S. (2018). Statistical optimization of ethanol fermentation parameters for processing local grape cultivars to wines. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13319. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13319>
- Osborn, A. E., y Lanzotti, V. (2009). *Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function, and Application*. Springer Science & Business Media.
- Parekh, I., Khanvilkar, A., & Naik, A. (2017). Barley–wheat brewers' spent grain: A potential source of antioxidant rich lipids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), e13244. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13244>

- Perilla, L. A y Sanabria, A. M (2007). Condiciones que favorecen el desarrollo del mildew polvoso (*sphaerotheca pannosa var rosae*) en los cultivos de rosa de la sabana de Bogotá. [Tesis, Pontificia Universidad Javerina].Repositorio UNIJAVERIANA. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/21806/43959_55721.pdf?sequence=1
- Pulgar, J. 1987. Geografía del Perú. Lima, Perú. 26 p
- Rivera, L. (2012). Caracterización fitoquímica, farma céutica, y alimenticia de papa culebrera india (*Dracontium spruceanum*(Schott), GH Zhu, Araceae) y sande (*Brosimum utile* (Kunth) Oken, Moraceae) del Jardín Botánico de Plantas Medicinales del CEA de Corpoamazonia, Mocoa, Putumayo. *Bogota, Colombia, 11*.
- Sathya, S., Lakshmi, S., y Nakkeeran, S. (2016). Combined effect of biopriming and polymer coating on chemical constituents of root exudation in chilli (*Capsicum annum* L.) cv. K 2 seedlings. *Journal of Applied and Natural Science*, 8(4), DOI: 2141-2154. 10.31018/jans.v8i4.1104
- Singleton, V. L., y Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158
- Uddin, M. Z., Paul, A., Rakib, A., Sami, S. A., Mahmud, S., Rana, M. S., ... y Simal-Gandara, J. (2021). Chemical profiles and pharmacological properties with in silico studies on *elatostema papillosum* wedd. *Molecules*, 26(4), 809. <https://doi.org/10.3390/molecules2604080>
- UNAS (Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María). (2017). Informe de datos meteorológicos de precipitaciones. Gabinete de Meteorología y Climatología. Tingo María, Perú, UNAS. 1 p.
- Van Den Dool, H., y Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 463-471.

Velioglu, Y., Mazza, G., Gao, L. y Oomah, BD (1998). Actividad antioxidante y compuestos fenólicos totales en frutas, verduras y cereales seleccionados. *Revista de química agrícola y alimentaria*, 46 (10), 4113-4117.

Verma, S. K., Das, A. K., Cingoz, G. S., y Gurel, E. (2016). In vitro culture of *Digitalis L.* (Foxglove) and the production of cardenolides: An up-to-date review. *Industrial Crops and Products*, 94, 20-51.

Zhu, G. y Croat, TB (2004). Revision of *Dracontium* (Araceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 593-667.

ANEXOS

ANEXO A. Datos reportados de la investigación.

Tabla 5. Resultados de los ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico preliminar de la especie *D. spruceanum*

Ensayo de alcaloides: reactivo de Mayer	Ensayo de alcaloides: reactivo de Wagner	Ensayo de alcaloides: reactivo de Hager	Ensayo de alcaloides: reactivo de Dragendorff	Ensayo de flavonoides: reactivo de Shinoda	Ensayo de leucoantocianidinas: reactivo de Rosenheim	Ensayo de cardiotónicos: reactivo de Kedde	Ensayo de saponinas: prueba de espuma
							
Se observó precipitado esperado a esta prueba	Se observó la precipitación esperada a esta prueba	Se observó precipitado esperado a esta prueba	Se observó la precipitación esperada a esta prueba	Se observó la coloración esperada para esta prueba	Se observó la coloración esperada para esta prueba	No se observó la coloración esperada para esta prueba	Se observó la formación de espuma para esta prueba
Ensayo de taninos: prueba de gelatina-sal	Ensayo de esteroides: reactivo de Liebermann-Burchard	Ensayo de quinonas: prueba de fracción	Ensayo de quinonas: prueba directa	Ensayo de antocianinas: comportamiento alcalino	Ensayo de antocianinas: comportamiento ácido	Ensayo de cumarinas: prueba de fluorescencia	
							
No se observó la coloración esperada para esta prueba	No se observó la coloración esperada para esta prueba	No se observó la coloración esperada para esta prueba	No se observó la coloración esperada para esta prueba	Se observó la coloración esperada para esta prueba	Se observó la coloración esperada para esta prueba	Se observó en UV visible la coloración esperada	

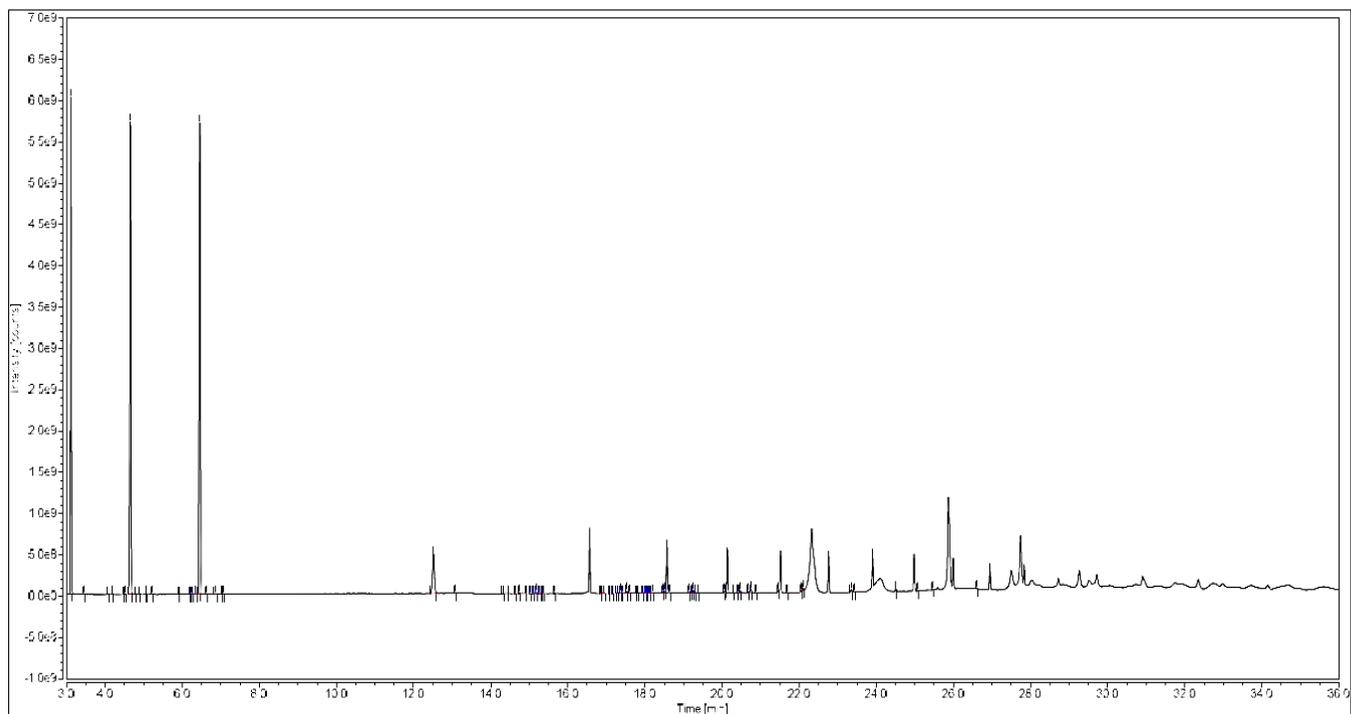


Figura 10. Cromatograma operado en modo barrido completo (full scan) del extracto metanólico de *D. spruceanum* (cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), 70 eV).

ANEXO B. Espectro de masas y su estructura química de cada compuesto

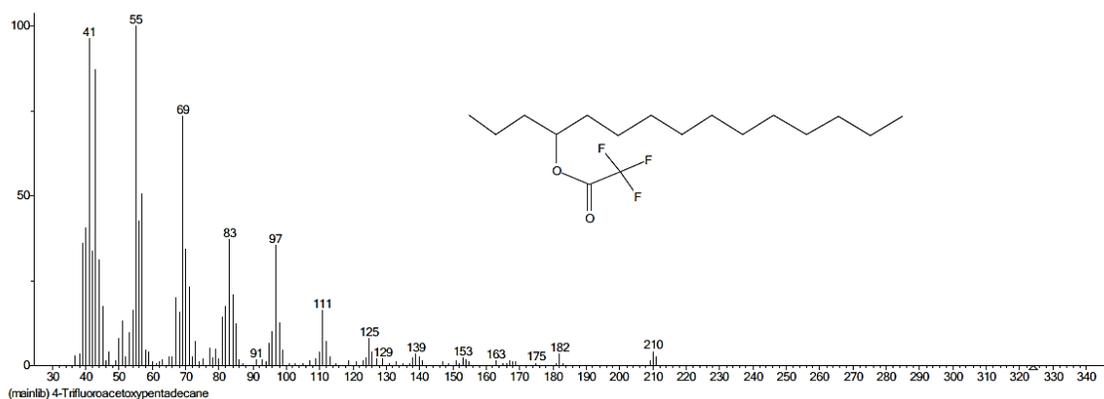


Figura 11. Espectro de masas de 4-trifluoroacetoxipentadecano

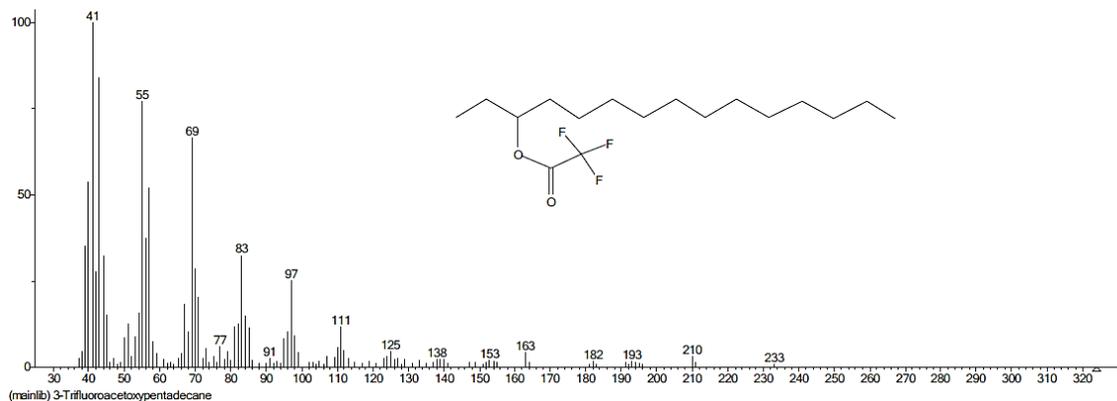


Figura 12. Espectro de masas de 3-trifluoroacetoxipentadecano

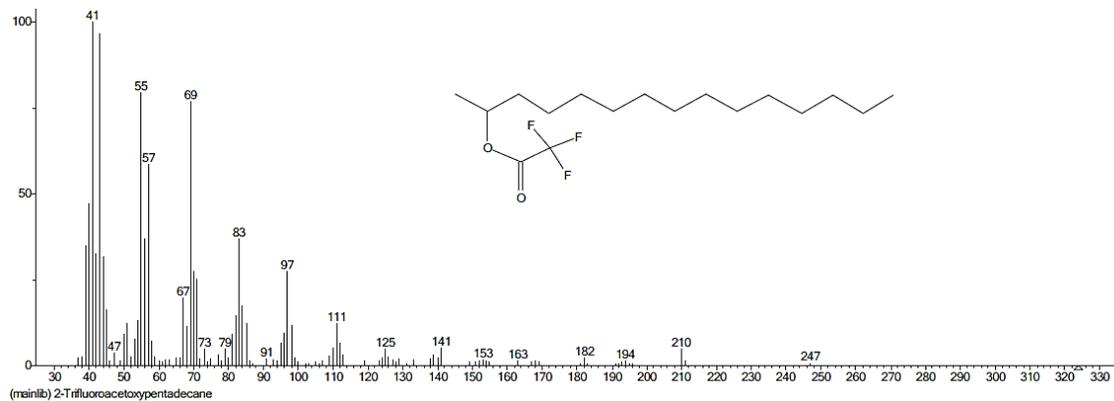


Figura 13. Espectro de masas de 2-trifluoroacetoxipentadecano

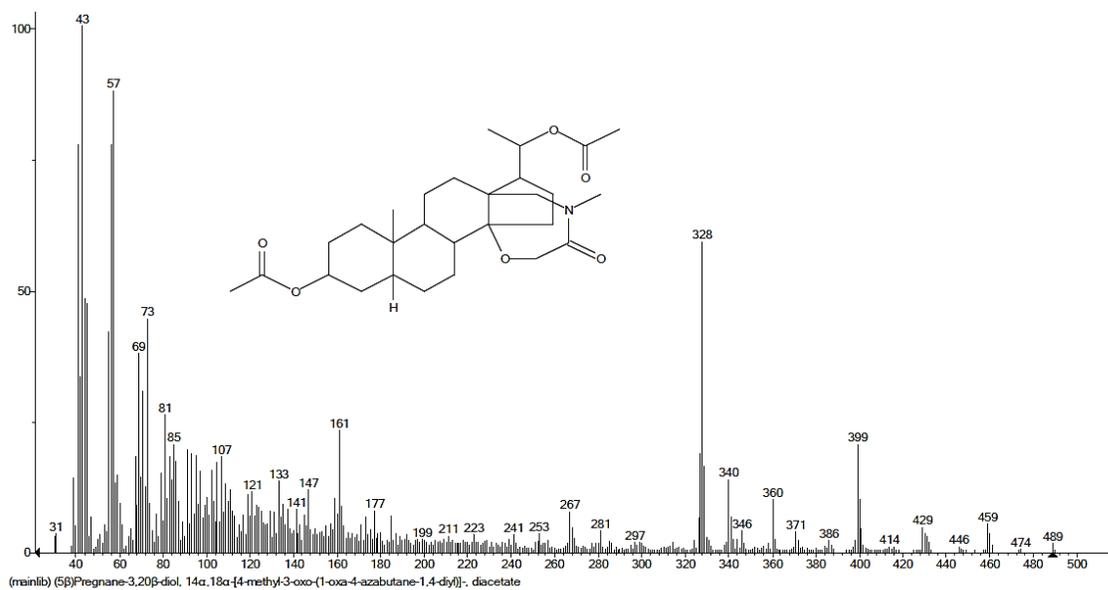


Figura 14. Espectro de masas de (5β)pregnane-3,20β-diol, 14α,18α-[4-metil-3-oxo-(1-oxa-4-azabutano-1,4-diil)-, diacetato

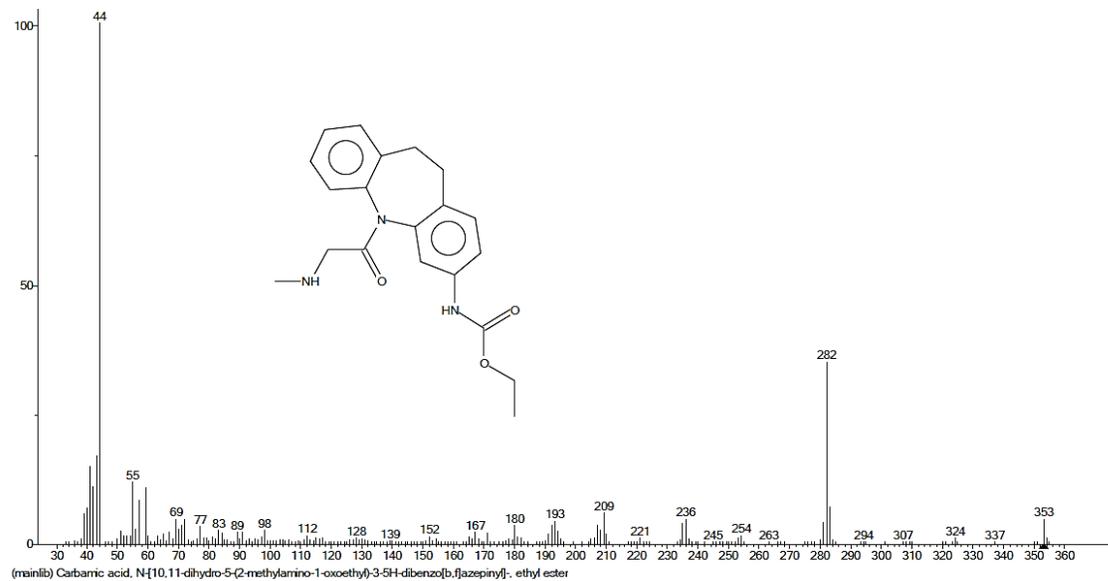


Figura 15. Espectro de masas de Ácido carbámico, N-[10,11-dihidro-5-(2-metilamino-1-oxoetil)-3-5H-dibenzo[b,f]azepinil]-, éster etílico

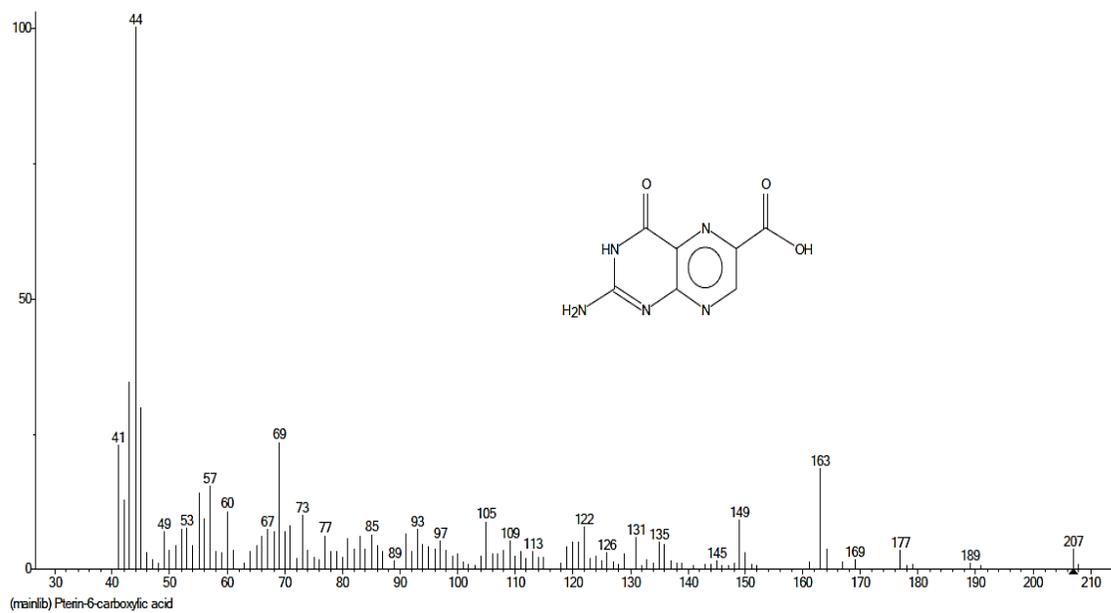


Figura 16. Espectro de masas de Ácido pterin-6-carboxílico

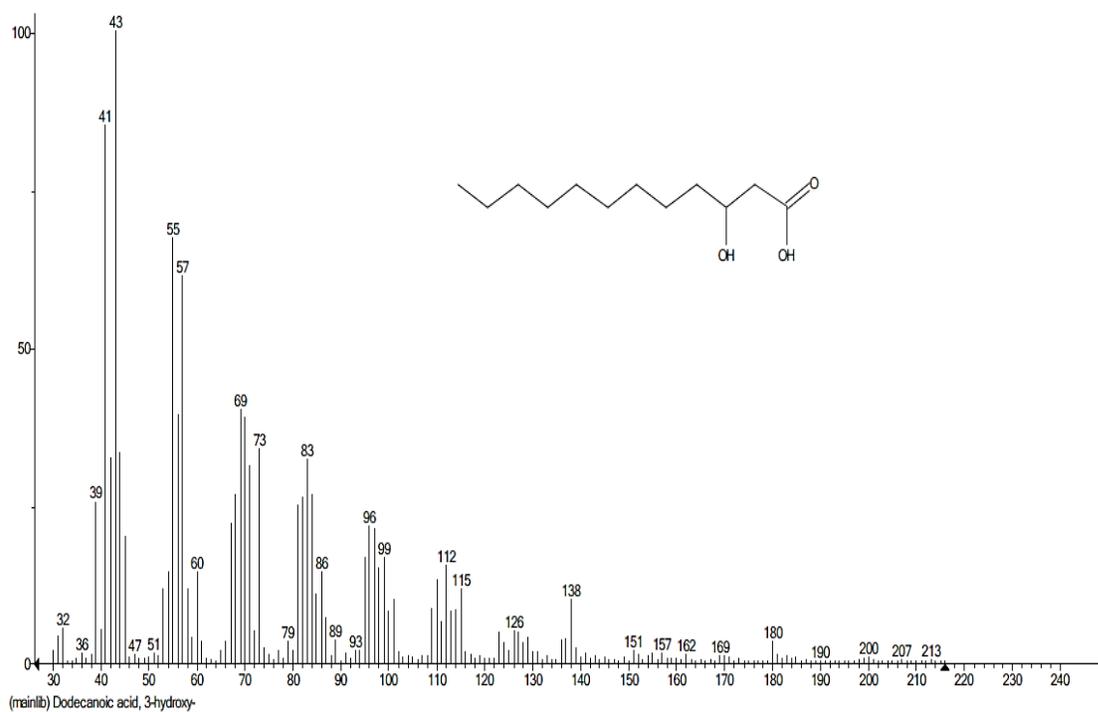


Figura 17. Espectro de masas de Ácido dodecanoico, 3-hidroxi-

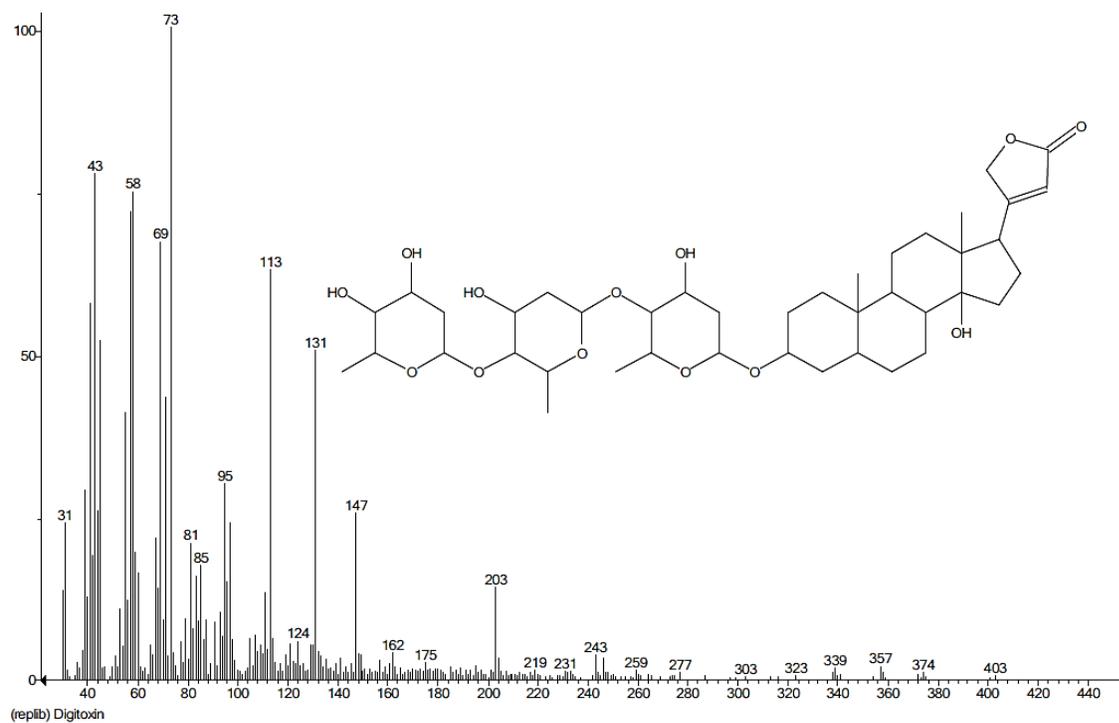


Figura 18. Espectro de masas de Digitoxina

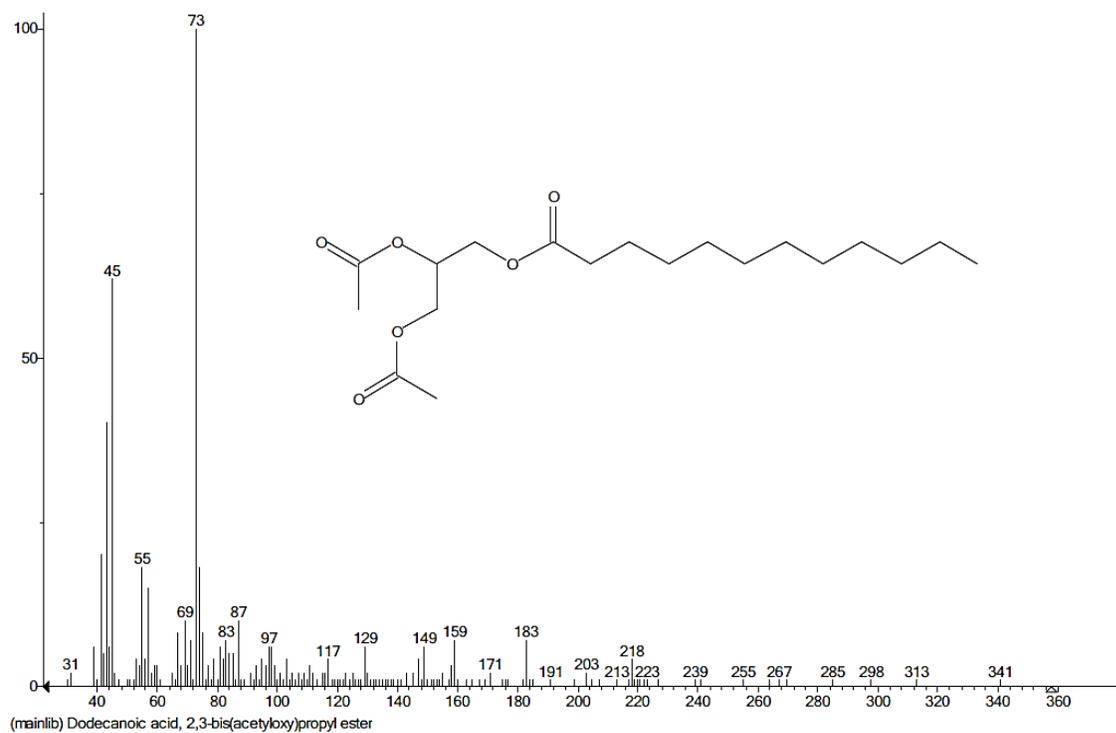


Figura 19. Espectro de masas de Ácido dodecanoico, éster 2,3-bis(acetiloxi)propílico

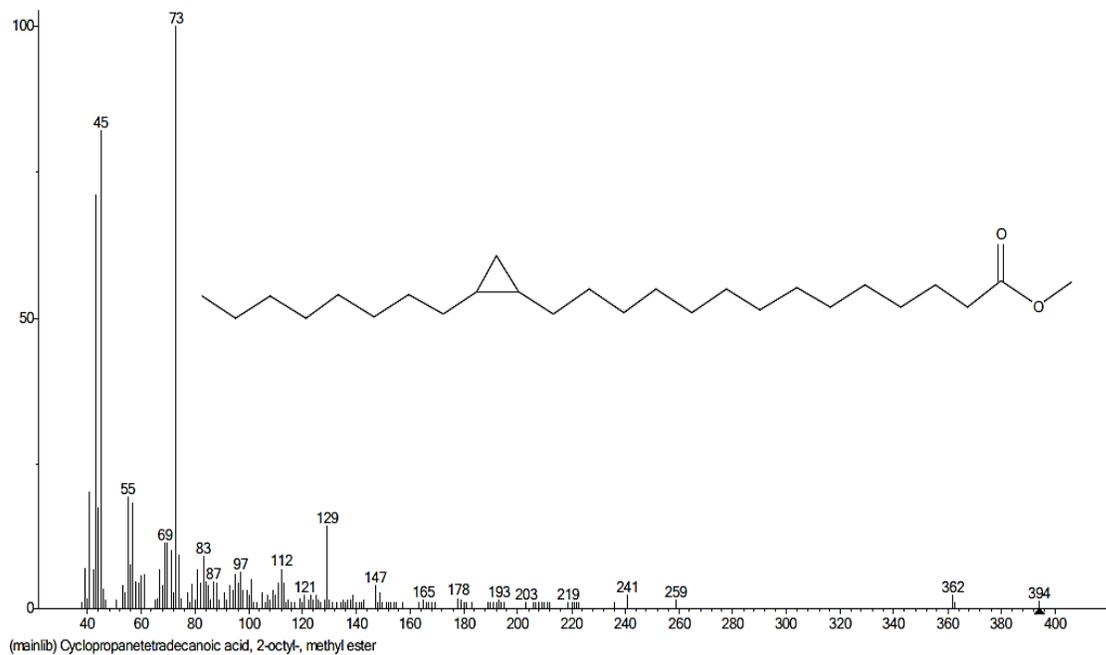


Figura 20. Espectro de masas de Ácido ciclopropanotetradecanoico, 2-octil-, éster metílico

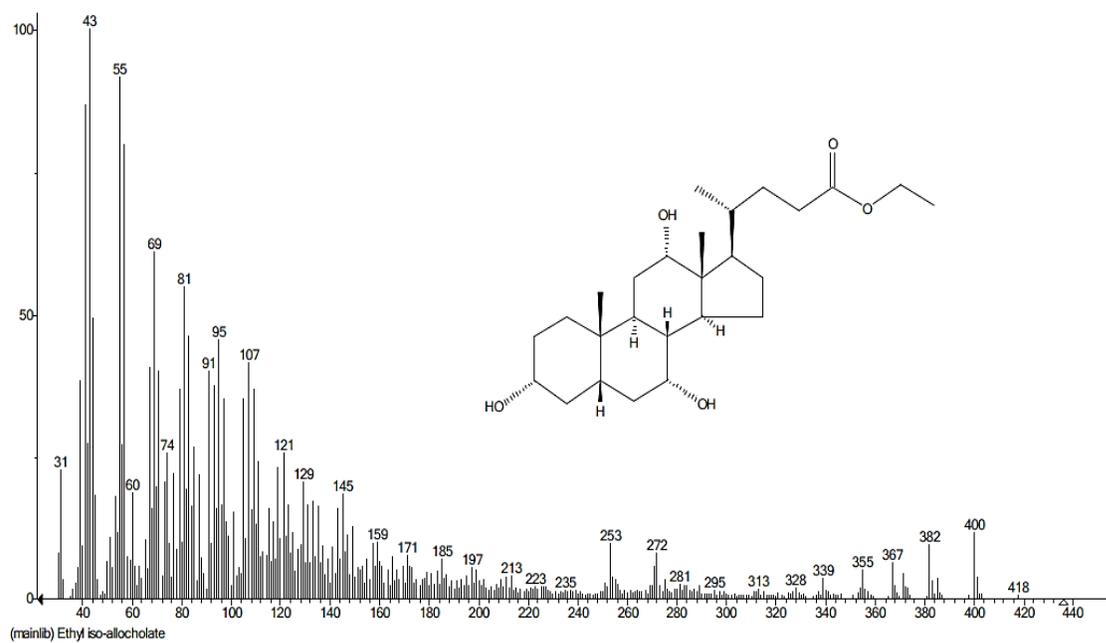


Figura 21. Espectro de masas de Isoalocolato de etilo

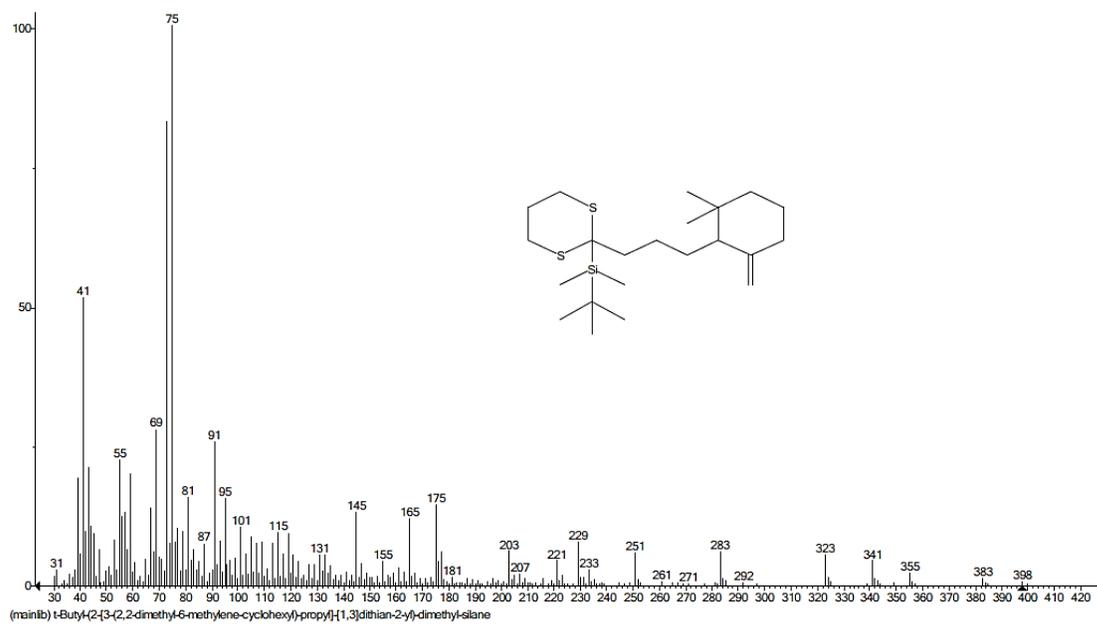


Figura 22. Espectro de masas de t-butil-(2-[3-(2,2-dimetil-6-metileno-ciclohexil)-propil]-[1,3]ditian-2-il)-dimetil-silano

ANEXO C. Certificado de identificación



Universidad Nacional Agraria de la Selva
 Facultad de Recursos Naturales Renovables
 Departamento Académico de Ciencias Ambientales
 Cátedra de Ecología

C-003-2022-JB-FRNR-UNAS

CERTIFICADO

El que suscribe, profesor de Ecología con línea de investigación en Sistemática Vegetal, de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, certifica que los especímenes colectados de una especie proveniente del Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, correspondiente al proyecto de tesis **Identificación de metabolitos secundarios presentes en jergón sachá (*Dracontium spruceanum* (Schott) G.H. Zhu)**, presentado por el Bach. JEAN ROMMEL MIXAN CAMACHO para su determinación pertenece a la especie que se indica a continuación:

Reino: : Plantae
 División: : Magnoliophyta
 Clase: : Liliopsida
 Orden: : Alismatales
 Familia: : Araceae
 Género: : *Dracontium*
 Especie: : *Dracontium spruceanum* (Schott) G.H. Zhu

Se expide el presente certificado para los fines pertinentes.

Tingo María, 21 de julio del 2022



Dr. Edilberto Chuquilín Bustamante
 Profesor Asociado
 Cátedra de Ecología
 Jefe del Jardín Botánico-UNAS
 Departamento Académico de Ciencias Ambientales
 Facultad de Recursos Naturales Renovables
 Universidad Nacional Agraria de la Selva

ANEXO D. Determinación del contenido de humedad en base húmeda (*CHh*)

1. Previo a ello se realizó un cambio de variable

$$\text{Peso fresco} = Ph$$

$$\text{Peso seco} = Ps$$

$$Ph = 5,02 \text{ g}$$

$$Ps = 1,41 \text{ g}$$

2. Finalmente se calculó el *CHh*

$$CHh = \frac{(5,02 - 1,41)}{5,02} \times 100$$

$$CHh = 71.93$$

Contenido de humedad de la muestra en base húmeda fue del 71.93%

ANEXO E. Reacciones del tamizaje fitoquímico

Procedimiento Experimental

1. Recolectar y preparar las muestras frescas

2. Reconocimiento de alcaloides

Desmenuzar finamente en un mortero, unos 10 g de muestra fresca y colocarlos en un erlenmeyer. Añadir un volumen suficiente de HCl al 5% para que toda la muestra esté en contacto con la solución ácida. Calentar con agitación al baño maría durante unos 5 minutos. Enfriar. Filtrar.

Colocar en 4 tubos de ensayo 2 ml de filtrado ácido. Añadir a cada uno 2 gotas de los reactivos de Dragendorff, Mayer, Wagner y Hager. Si se observa turbidez o precipitados en por lo menos 3 tubos, se considera que la muestra contiene alcaloides.

3. Reconocimiento de Flavonoides. Leucoantocianidinas y Cardiotónicos

En un erlenmeyer colocar unos 10 g de muestra fresca finamente desmenuzada. Añadir un volumen suficiente de alcohol etílico que cubra toda la muestra y le confiera fluidez. Calentar al baño maría durante unos 5 minutos, con agitación. Enfriar. Filtrar. Si hay presencia de clorofilas, al filtrado añadirle un volumen igual de solución de acetato de plomo al 4% que contenga ácido acético al 0,5%, agitar, dejar reposar 15 minutos y filtrar. Con el filtrado realizar ensayos de reconocimiento de flavonoides, leucoantocianidinas y cardiotónicos.

a) Ensayo para flavonoides

Colocar varias limaduras de magnesio en un tubo de ensayo. Añadir unos 2 ml del filtrado y por la pared del tubo, gota a gota dejar caer varias gotas de HCl concentrado. La aparición de colores naranja, rosado, rojo o violeta es prueba positiva para la existencia de flavonoides en la muestra.

b) Ensayo para Leucoantocianidinas

Colocar unos 2 ml del filtrado en un tubo de ensayo. Añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado. Calentar en baño de agua hirviendo durante 15 minutos. La aparición de coloraciones rojas es prueba positiva de la existencia de leucoantocianidinas en la muestra.

c) Ensayo para Cardiotónicos

En un tubo de ensayo colocar 1 ml de filtrado. Añadir 0,5 ml de Reactivo de Kedde (mezclar 1 ml de solución A con 1 ml de solución B para preparar este reactivo antes de su uso). La aparición de coloraciones violetas o púrpuras es prueba positiva de la existencia de cardiotónicos en la muestra.

4) Ensayo para saponinas

Desmenuzar con ayuda de un mortero unos 10 g de muestra fresca, con ayuda de unos pocos ml de agua. Filtrar. Agitar en un tubo de ensayo tapado, unos 4 ml de filtrado acuoso, vigorosamente durante un minuto. La formación de una espuma abundante y estable es prueba presuntiva de la presencia de saponinas en la muestra.

5) Ensayo para taninos

Desmenuzar con ayuda de un mortero unos 10 g de muestra fresca, con ayuda de unos pocos ml de agua. Filtrar. Tomar 1 ml de filtrado acuoso en un tubo de ensayo. Añadir 1 ml del Reactivo Gelatina -Sal. Si se forma un precipitado, centrifugar a 2000 RPM durante 5 minutos. Desechar el sobrenadante. Redisolver el precipitado en 2 ml de Urea 10M. Añadir 2 -3 gotas de solución de cloruro férrico al 10%.

La formación de precipitado al agregar el reactivo de gelatina, y la aparición de colores o precipitados verdes, azules o negros es prueba positiva de la presencia de taninos en la muestra.

6) Ensayo para Triterpenoides y/o esteroides

Moler la muestra vegetal seca. Agregar un volumen suficiente de cloroformo o diclorometano y extraer por agitación. Filtrar. Si el filtrado es turbio contiene humedad, secarlo agregando sulfato de sodio anhidro y filtrar. En un tubo de ensayo limpio y completamente seco, colocar 1 ml de filtrado orgánico. Añadir 1 ml de anhídrido acético. Por la pared del tubo y con mucha precaución, dejar resbalar 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La formación de colores azules, violetas, rojos o verdes es prueba positiva de que la muestra contiene Esteroides y/o Triterpenoides.

7) Ensayo para Quinonas

Ensayo con una fracción: Colocar en un tubo de ensayo unos 5 ml de filtrado acuoso. Añadir 1 ml de peróxido de hidrógeno al 20% y 1 ml de ácido sulfúrico al 50%. Calentar la mezcla en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Enfriar. Añadir 5 ml de tolueno. Agitar sin emulsionar. Recuperar la fase toluénica. Trasvasar 2 ml fase toluénica a un tubo de ensayo. Añadirle 1 ml de una solución de NaOH al 5% con amoníaco al 2%. Agitar sin emulsionar. Si la capa acuosa toma una coloración rosada a roja intensa es prueba positiva de la presencia de quinonas en la muestra.

Ensayo directo: Colocar 5 g de muestra fresca (ó 1 g de muestra seca y molida), en un sistema de reflujo, agregar 25 ml de HCl 5%. Reflujar 5 minutos. Dejar enfriar y filtrar. Con el filtrado acuoso proceder como se describe para el ensayo con una fracción acuosa.

8. Reconocimiento de Antocianinas

En un erlenmeyer colocar unos 100 g de muestra fresca finamente desmenuzada. Añadir unos 200 ml de agua. Calentar a ebullición durante unos 5 minutos. Filtrar.

Ensayo: En un tubo de ensayo colocar 2 ml de filtrado. Añadir 1 ml de NaOH diluido. Observar el color formado. En otro tubo de ensayo colocar otros 2 ml de filtrado. Añadir unas 6 gotas de un ácido mineral diluido. Observar el color formado. Las antocianinas se reconocen por producir diferentes colores a diferentes pH.

9. Reconocimiento de Cumarinas.

En un tubo de ensayo grande colocar 1 g de material vegetal fresco y macerado y agregar cantidad suficiente de etanol comercial que cubra el material vegetal. Cubrir la boca del tubo de ensayo con un papel filtro blanco y sujetarlo con unas pinzas para tubo de ensayo o con una banda elástica. Agregarle unas gotas de NaOH diluido en el papel filtro que cubre la boca del tubo de ensayo. Calentar hasta ebullición el tubo de ensayo por 5 minutos, enfriar y retirar el papel filtro. Observar bajo luz ultravioleta a 365 nm la aparición de una coloración fluorescente que puede ser: verde, amarilla, roja en el papel filtro.

Nota: El papel filtro normalmente se observa azul fluorescente bajo la luz ultravioleta de 365 nm.

ANEXO D. Panel fotografico

Figura 23. Extracción del corno de *D. spruceanum*



Figura 24. Muestra estudiada



Figura 25. Pesado de la muestra



Figura 26. Trituración de la muestra



Figura 27. Percolación de la muestra



Figura 28. Muestra filtrada



Figura 29. Columna capilar TG-5SILMS usada (30 m x 0,25 mm de d.i., 0.25 μ m)



Figura 30. Equipo acoplado GC-MS utilizado (Lab. de Fitoquímica, Facultad de RNR, UNAS)