

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**TRAS LOS PASOS DE GYÖRGYI:
DESCUBRIMIENTO DE LOS
POLIFENOLES**

**IN THE FOOTSTEPS OF
GYÖRGYI: DISCOVERY OF
POLYPHENOLS**



**Área: Química Orgánica
Autora: María Álvarez de Buergo Hernández
Tutor: Jesús Manuel González Díaz**

**JESÚS MANUEL GONZÁLEZ DÍAZ, CATEDRÁTICO DE QUÍMICA ORGÁNICA,
DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA.**

INFORMA: Que el Trabajo de Fin de Grado titulado “Tras los pasos de Györgyi: Descubrimiento de los polifenoles” ha sido realizado por **María Álvarez de Buergo Hernández**, bajo mi dirección, en los laboratorios del Instituto Universitario de Bio-Organica “Antonio González”, Departamento de Química Orgánica de la Universidad de La Laguna, autorizando su presentación a partir de la fecha abajo indicada.

La Laguna, a 27 de febrero de 2024



Edo. Jesús Manuel González Díaz

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	3
2. ABSTRACT.....	3
3. ABREVIATURAS.....	4
4. INTRODUCCIÓN.....	5
5. OBJETIVOS.....	13
6. MATERIALES Y MÉTODOS	13
6.1 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES GENERALES	13
6.2 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS EMPLEADAS.....	14
6.2.1. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	14
6.2.1.1. Resonancia Magnética Nuclear de protón (¹ H-RMN)	15
6.2.1.2. Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13 (¹³ C-RMN)	16
6.2.2. Espectrometría de Masas (EM)	16
6.3 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS EMPLEADAS	17
6.3.1. Cromatografía en capa fina (CCF)	17
6.3.2. Cromatografía de exclusión molecular	18
6.3.3. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	18
6.4 MATERIAL VEGETAL	19
6.5 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO	22
6.6 PURIFICACIÓN Y RESULTADOS DEL EXTRACTO DICLOROMETÁNICO	24
6.7 PURIFICACIÓN Y RESULTADOS DEL EXTRACTO N-BUTANÓLICO	28
7. ACTIVIDAD BIOLÓGICA	31
7.1 α -Tocoferol (1)	31
7.2 α -Amirina (2) y β -Amirina (3)	32
7.3 Lupeol (4)	32
7.4 β -Sitosterol (5)	33
7.5 Ácido oleico (6)	33
7.6 5-hidroximetil-2-furfural (HMF) (7)	33
7.7 Pirrolactona (8)	34
7.8 Quercetina (9)	34
8. CONCLUSIONES.....	35
9. BIBLIOGRAFÍA	36
10. GALERÍA DE ESPECTROS	43

1. RESUMEN:

Dentro del Reino Vegetal y como consecuencia del metabolismo secundario de las plantas, existe un grupo muy numeroso con más de 8.000 sustancias denominados flavonoides, una clase de polifenoles presentes en todo tipo de frutas y verduras, en ciertas bebidas como la cerveza, el vino o incluso en otros alimentos como el cacao. En el año 1930, gracias a las investigaciones que el científico Albert Györgyi realizó con los pimientos rojos (*Capsicum annuum*), consiguió determinar la actividad biológica de la vitamina C (Ácido ascórbico). Desde entonces, el creciente estudio de los flavonoides y sus estructuras han permitido caracterizar a este grupo como uno de los más importantes debido a su actividad farmacológica como antioxidantes, antiinflamatorios, antidiabéticos, anticancerígenos entre muchas otras. Todo ello conlleva a un profundo estudio de estas sustancias ya que conforman un pilar fundamental para nuestra salud.

Palabras Clave: *Polifenoles, Flavonoides, Capsicum annuum, Antioxidantes, Ácido ascórbico.*

2. ABSTRACT:

Whitin the Plant Kingdom and as a consequence of secondary metabolism of plants, there is a very large group with more than 8,000 substances called flavonoids, a class of polyphenols present in all types of fruits and vegetables, in certain beverages such as beer, wine or even in other foods such us cocoa. In the year 1930, thanks to the research that the scientist Albert Györgyi carried out with red peppers (*Capsicum annuum*), he managed to determinate the biological activity of vitamin C (ascorbic acid). Since then, the growing study of flavonoids and their structures have allowed us to characterize this group as one of the most important due to its pharmacological activity such us antioxidants, antidiabetic, anti-inflammatory, anticancer, among many others. All this leads to an in-depth study of these substances since they form a fundamental pillar for our health.

Key Words: *Polyphenols, Flavonoids, Capsicum annuum, Antioxidants, Ascorbic acid.*

3. ABREVIATURAS:

- **Ac. Etilo:** Acetato de etilo
- **CCF:** Cromatografía en capa fina
- **CEM:** Cromatografía de exclusión molecular
- **CH₂Cl₂:** Diclorometano
- **CV:** Cardiovascular
- **δ:** Desplazamiento químico
- **δ_C:** Desplazamiento químico de carbono
- **δ_H:** Desplazamiento químico de hidrógeno
- **d:** doblete
- **n-But:** Butanol
- **EM:** Espectrometría de masas
- **(ES/MS):** Espectrometría de masas de tipo electrospray
- **ESI-TOF:** Ionización por electrospray-analizador de tiempo de vuelo
- **EtOH:** Etanol.
- **FeCl₃:** cloruro férrico
- **g:** Gramo
- **HMF:** 5-hidroximetilfurfural
- **HPLC:** Cromatografía Líquida de alta resolución.
- **HREIMS:** Espectrometría de masas de alta resolución.
- **HSQC:** Heteronuclear single quantum coherence spectroscopy
- **Hz:** Hertzios
- **IV:** Intravenoso
- **J:** Constante de acoplamiento
- **Kg:** Kilogramo
- **LDL:** Lipoproteína de baja densidad
- **m:** Multiplete
- **L:** Litro
- **MeOH:** Metanol
- **mL:** Mililitro
- **ppm:** Partes por millón
- **RMN:** Resonancia magnética nuclear
- **¹H-RMN:** Resonancia magnética nuclear de protón
- **¹³C-RMN:** Resonancia magnética nuclear de carbono 13.
- **s:** singulete
- **t:** triplete
- **TMS:** Tetrametilsilano
- **T_R:** Tiempo de retención
- **UV:** Ultravioleta

4. INTRODUCCIÓN:

Desde el origen de los tiempos, el hombre ha dedicado su vida a estudiar la naturaleza, el entorno que le rodea, con el fin de hallar métodos, compuestos o sustancias beneficiosas para la salud y la supervivencia, ya sean de origen animal o vegetal.

Las plantas han jugado un papel primordial en este aspecto, ya que no solo han constituido la base de nuestra dieta y fuente de oxígeno, sino que también han sido fundamentales a la hora de curar y tratar cualquier tipo de afección, dolencia o enfermedad. El estudio y el análisis de las mismas han conseguido que en la actualidad podamos conocer los beneficios y propiedades de miles de ellas ya sean a nivel físico-químico, industrial, sanitario, nutricional, medioambiental o farmacológico entre otros.

Las células vegetales realizan procesos metabólicos comunes que conllevan a la formación de compuestos tales como aminoácidos, azúcares simples, ácidos grasos, nucleótidos y polímeros derivados de ellos que son elementales tanto para la planta como para la propia vida celular. El conjunto de todos estos procesos se define como metabolismo primario y sus productos como metabolitos primarios (1). Sin embargo, las plantas disponen de otras rutas metabólicas mediante las que son capaces de sintetizar una inmensa gama de sustancias denominadas metabolitos secundarios, también conocidos como productos naturales, y estos derivan biosintéticamente de los primarios (1, 2).

La biosíntesis de los metabolitos secundarios es el resultado de un proceso de diferenciación que ocurre en la planta en respuesta a periodos de estrés como puede ser la falta de alimento, diversos factores ambientales, o la presencia de ciertos organismos¹. Todos ellos juegan un papel decisivo para la supervivencia de la planta porque actúan como sustancias tóxicas que sirven de defensa frente a depredadores, protegen frente a rayos ultravioleta (UV), atraen o advierten a otras especies mediante el color, olor o sabor ya que también actúan como agentes colorantes o atrayentes, favoreciendo de esta manera los procesos de polinización y dispersión de frutos y semillas (3-7). (*Figura 1.*)

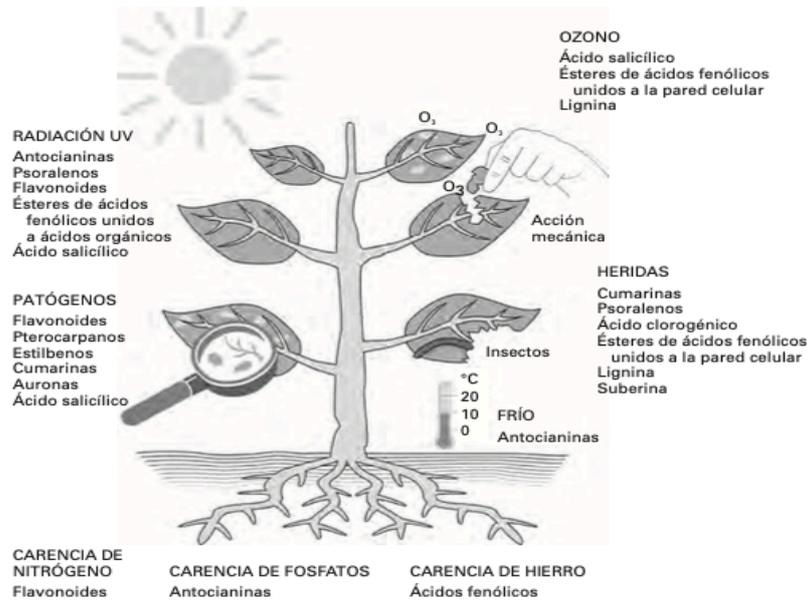


Figura 1. Metabolitos secundarios producidos por la planta ante situaciones de estrés (1).

Gracias a esta diversidad química, a las relaciones fisiológicas, ecológicas y a los avances en campos como la biología molecular y el desarrollo de nuevas técnicas bioquímicas, se ha podido demostrar que los metabolitos secundarios pueden actuar como antibióticos, antivirales y antifúngicos protegiendo de esta manera a la planta de posibles patógenos (fitoalexinas) al igual que actuar como antigerminativos (alelopatías) (7, 8). Es por ello por lo que el metabolismo secundario proporciona la mayoría de los productos naturales farmacológicamente activos (3, 5).

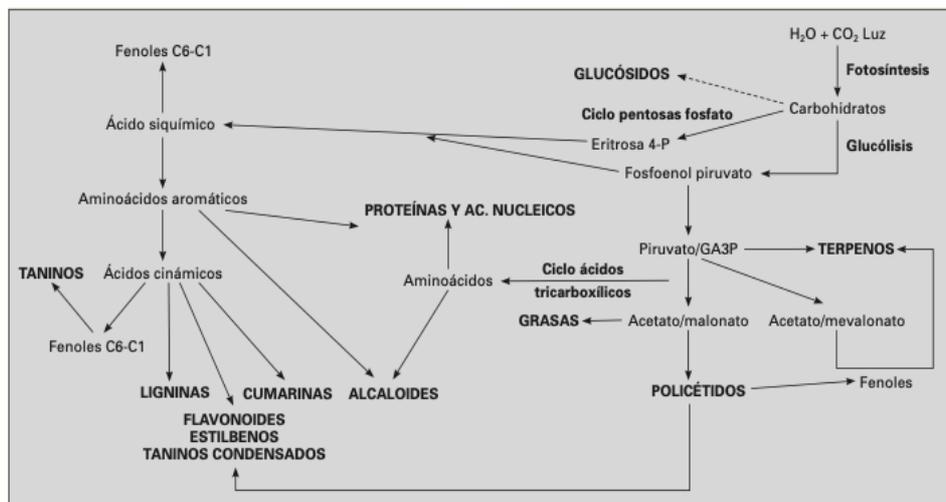


Figura 2. Relaciones entre el metabolismo primario y secundario de las plantas, origen biosintético de los principales grupos de compuestos secundarios (1).

Como podemos observar en la (**Figura 2.**), el resultado del metabolismo primario desemboca en la formación de los materiales de partida de las rutas más importantes del metabolismo secundario, que son los aminoácidos, el acetato o el ácido sikímico, de donde se obtendrán dichos productos naturales, los cuales se clasifican en tres categorías: Terpenos, fenoles y compuestos que contienen nitrógeno (1, 7). (**Tabla 1.**)

Terpenos	Hormonas Pigmentos Aceites esenciales Esteroides Goma
Fenoles	Cumarinas Flavonoides Lignina Taninos
Compuestos que contienen nitrógeno	Alcaloides Glicósidos Glucosinolatos <ul style="list-style-type: none"> - Saponinas, - Glucósidos cardiacos - Glucósidos cianogénicos Aminoácidos no proteicos

Tabla 1. Categorías comunes de los metabolitos secundarios con sus respectivos productos (7).

Los terpenos, también llamados isoprenoides, conforman la familia más diversa de productos naturales, con más de 40.000 estructuras diferentes. Todos los terpenos están sintetizados a partir de la condensación de unidades de isopreno (C_5) y en base al número de moléculas de isopreno incorporadas se pueden clasificar en: Hemiterpenos (C_5), Monoterpenos(C_{10}), Sesquiterpenos(C_{15}), Diterpenos(C_{20}), Triterpenos(C_{30}), Tetraterpenos(C_{40}) ...etc. (9, 10).

Los alcaloides constituyen un grupo muy amplio de metabolitos secundarios con más de 12.000 sustancias aisladas. Son compuestos que contienen uno o más átomos de nitrógeno heterocíclicos y son biosintetizados a partir de aminoácidos, con algunas excepciones. Reciben este nombre porque la mayoría de ellos son compuestos básicos (alcalinos) (9, 10).

Los fenoles, también denominados polifenoles o compuestos fenólicos, conforman uno de los fitoquímicos más abundantes y ampliamente distribuidos, con más de 8.000 estructuras conocidas (6, 11). Están presentes en todos los tejidos vegetales y se caracterizan por poseer uno o más grupos fenólicos, es decir, un anillo aromático de seis átomos de carbono (C-6), con uno o varios grupos hidroxilo (-OH) libres o sustituidos (1, 7, 12). (*Figura 3.*)

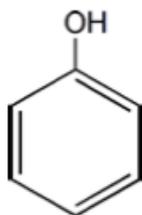


Figura 3. Estructura química del fenol.

Constituyen un grupo heterogéneo de moléculas con diversidad de estructuras químicas que se clasifican en diferentes grupos en base a su origen, su función biológica y a su estructura, es decir, al número de anillos fenólicos que contengan y a los elementos estructurales que los unen entre sí (6, 13). (*Tabla 2.*)

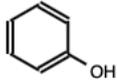
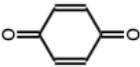
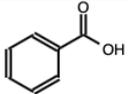
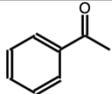
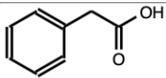
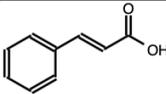
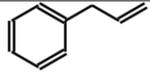
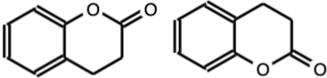
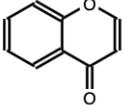
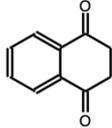
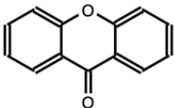
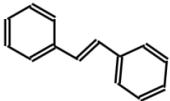
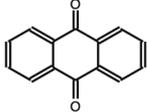
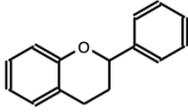
CLASE	ESQUELETO BÁSICO	ESTRUCTURA BÁSICA
Fenoles simples	C ₆	
Benzoquinonas	C ₆	
Ácidos Fenólicos	C ₆ -C ₁	
Acetofenonas	C ₆ -C ₂	
Ácidos Fenilacéticos	C ₆ -C ₂	
Ácidos Hidroxicinámicos	C ₆ -C ₃	
Fenilpropanos	C ₆ -C ₃	
Cumarinas, isocumarinas	C ₆ -C ₃	
Cromonas	C ₆ -C ₃	
Naftoquinonas	C ₆ -C ₄	
Xantinas	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Estilbenos	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Antraquinonas	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoides	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignan, neolignan	(C ₆ -C ₃) ₂	
Ligninas	(C ₆ -C ₃) _n	

Tabla 2. Principales clases de compuestos polifenólicos. (8)

Se originan biogenéticamente a partir de la vía del shikimato y de la vía del acetato (8). Esta variedad estructural les confiere multitud de propiedades biológicas y beneficios para la salud tanto para la prevención como para el tratamiento de numerosas enfermedades. Están presentes en numerosas frutas y verduras, así como en la cerveza, el té, el café, el vino, en cereales, legumbres o en el chocolate (6, 14-16).

Uno de los grupos en los que nos centraremos en este trabajo son los flavonoides, compuestos ampliamente distribuidos en los vegetales superiores (17). Fueron descubiertos por el científico Albert von Szent-Györgyi (1893-1986), un fisiólogo húngaro nacido en la ciudad de Szeged, en el seno de una familia rica y culta. Se dedicó a la investigación bioquímica, donde consiguió demostrar en uno de sus experimentos el movimiento de electrones como principio del proceso óxido-reducción. Esto le permitió descubrir una molécula de seis átomos de carbono ($C_6H_6O_6$) a la que denominó ácido hexurónico (18).

En el año 1930, tras haber estado estudiando y trabajando en el extranjero, regresa a su ciudad natal Szeged, conocida por su gran producción de pimientos. Una noche en la que su mujer le sirvió pimiento crudo para cenar, Györgyi cogió una muestra y al día siguiente lo analizó en su laboratorio, donde descubrió que contenía un alto porcentaje de ácido hexurónico. Esto le permitió aislar la suficiente cantidad como para determinar los efectos biológicos de la misma, molécula a la que hoy conocemos como vitamina C o ácido ascórbico, que recibe este nombre gracias a su capacidad de prevenir o tratar el escorbuto. Algo característico de la molécula es que se oxida fácilmente a ácido dehidroascórbico, es decir, sufre un proceso redox lo que la convierte en un buen agente reductor que evita que nuestro organismo entre en un estado demasiado oxidado (19, 20).

En 1936, tal y como queda recogido en su trabajo, Györgyi e István Rusznyák observaron que el ácido ascórbico iba acompañado en la célula de otra sustancia con similar importancia y actividad y que en ausencia de ambas prevalecían los síntomas del escorbuto. Si se administraba solo ácido ascórbico en ciertas patologías que afectaban a la permeabilidad o fragilidad de la pared capilar era ineficaz, pero si se administraban extractos de pimiento rojo húngaro, la situación podía revertirse. Los extractos se fraccionaron hasta obtener una sustancia pura, un polifenol perteneciente al grupo de las

flavonas, que si se administraba diariamente de forma intravenosa (IV), cesaba tanto el sangrado como la fragilidad capilar pasados unos días. Es por ello por lo que decidieron llamar a esta molécula vitamina P, por su acción sobre la permeabilidad vascular (20).

En 1937 fue galardonado con el premio Nobel de medicina por su descubrimiento relacionado con los procesos de combustión biológica, en especial referencia a la vitamina C y a la catálisis de los ácidos fumáricos (18). Sus investigaciones abrieron paso al descubrimiento no solo de los flavonoides, sino de todos los compuestos relacionados con los mismos y las implicaciones que tienen tanto en las plantas como en nuestro organismo.

Según Kuklinski (17), los flavonoides poseen una estructura tipo $C_6-C_3-C_6$ con dos anillos aromáticos unidos entre sí por una cadena de tres carbonos ciclada por un oxígeno. Su estructura deriva de la cromona (o benzo-pirona) que posee un fenilo en la posición 2, por lo tanto, son 2-fenil- γ -cromonas. En la posición 4 presentan un grupo carbonilo y las posibles variaciones se producen en el anillo B y en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad C_3 . (**Figura 4.**)

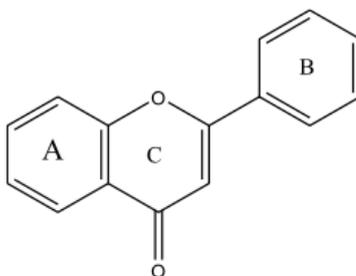


Figura 4. Estructura básica 2-fenil- γ -cromona.

En la naturaleza pueden presentarse como aglicones libres o como O-heterósidos o C-heterósidos y suelen estar unidos a la glucosa por ser el azúcar mayoritario (17). En la (**Tabla 2.**) queda reflejado los distintos tipos de flavonoides que existen, su estructura y los alimentos en los que se encuentran.

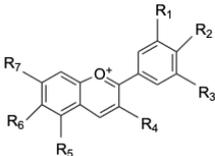
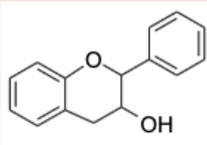
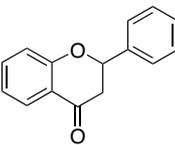
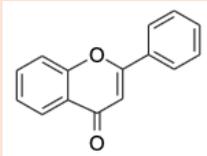
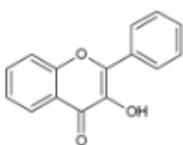
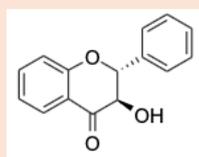
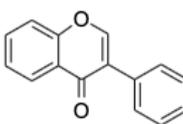
		FLAVONOIDES		FUENTES DE COMIDA
SUBGRUPO	COLOR	REPRESENTATIVOS		
Antocianinas 	Azul, Rojo, Violeta.	Cianidina		Frutas y flores. 
Flavanoles 	Incoloro Amarillo	Catequinas, galocatequina, epicatequina, galato de epigalocatequina Procianidina Teaflavinas	Manzanas, Lúpulo, Té, Cerveza. Vino, zumo de frutas Té negro.	 
Flavanonas 	Incoloro Pálido Amarillo	Hesperidina Naringenina, eriodictiol Neohesperidina	Frutas cítricas. Comino, naranjas, pomelo, menta.	
Flavonas 	Amarillo pálido	Apigenina, crisina, luteolina Diosmentina, luteolina	Hierbas, cereales, frutas, perejil, tomillo Verduras, flores	
Flavonoles 	Amarillo pálido	Isorhamnetina, kaempferol, quercetina, miricetina, rutina	Cebollas, cerezas, manzanas, brócoli, col rizada, tomates, bayas, té, vino tinto, trigo sarraceno tártaro	
Flavanonoles 		Taxifolina	Limón, Aurantium	
Isoflavonas 	Incoloro	Daizeína, genisteína, gliciteína, formononetina	Legumbres (por ejemplo, Soja)	

Tabla 3. Tipos de flavonoides y alimentos en los que se encuentran (11).

A los flavonoides, y a los compuestos fenólicos en general, se les atribuye propiedades biológicas tales como antiinflamatorias, antialérgicas, antitumorales, antivirales, antimicrobianas, antifúngicas, cardioprotectivas, antiarrítmicas, hipocolesterolémicas y antidiabéticas. También existen estudios que han demostrado actividad neuroprotectora en enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson y el Alzheimer (21-23).

5. OBJETIVOS:

Los objetivos sobre los que se ha fundamentado este trabajo han sido:

- El estudio fitoquímico de la especie *Capsicum annuum*, del que se pretende aislar e identificar diversos compuestos polifenólicos de interés.
- La caracterización de los extractos obtenidos mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y cromatográficas para poder determinar la presencia de dichos compuestos polifenólicos.
- Hacer un screening bibliográfico de los compuestos aislados.

Con estos objetivos, lo que queremos es seguir los pasos de Györgyi usando técnicas de aislamiento e identificación estructurales modernas.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES GENERALES

Para el aislamiento y purificación de las distintas sustancias se emplearon la cromatografía de adsorción de gel de sílice, la cromatografía de exclusión molecular y la

cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Las cromatografías de exclusión molecular se llevaron a cabo en SephadexLH-20 Pharmacia (ref.17-0099-01), mientras que para las cromatografías en capa fina se emplearon cromatofolios de sílica gel de la casa Macherey-Nagel, tipo SIL G-60 de 0.20 mm de espesor. Los resultados de las mismas fueron visualizados bajo luz UV de 254 nm y reveladas utilizando ácido fosfomoblídico, óleum ...etc. Una vez rociadas las placas, se expusieron a una fuente de calor para su revelado. En las cromatografías HPLC se empleó un sistema de bombeo JASCO Pu-980, una columna Waters Kromasil Si 5mm (10 x 250 mm) y un detector JASCO UV-975. Para poder llevar a cabo la elucidación de las muestras se empleó un espectrómetro Bruker Advance II 500 MHz y Bruker Advance III 600 MHz para obtener los espectros ^1H -rmn y ^{13}C -RMN, en los que los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en hertzios (Hz), empleando tetrametilsilano (TMS) como patrón interno. La espectrometría de masas de alta resolución (HR-ESI-MS) se llevó a cabo con un equipo LCT Premier XE, fuente de ionización electrospray y analizador de tiempo de vuelo con aceleración ortogonal (oa-TOF).

6.2 TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS EMPLEADAS

6.2.1. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

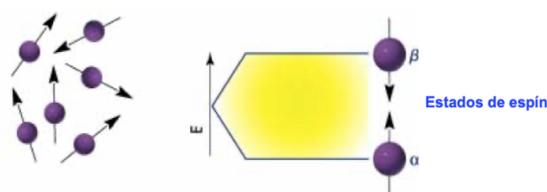


Figura 5. Esquema de energía nuclear al aplicar un campo magnético. (25)

En la actualidad, la Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) representa el pilar básico para la determinación estructural de compuestos orgánicos y macromoléculas tanto bioquímicas como sintéticas. Descubierta en 1951, esta técnica se caracteriza porque es capaz de estudiar núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones, como ocurre con los átomos de ^1H , ^{13}C , ^{19}F Y ^{31}P . Esto es debido

a que un núcleo con un número atómico impar posee un espín, por lo tanto, son magnéticamente activos y por ello observables en el espectrómetro. En ausencia de un campo magnético los espines se orientan aleatoriamente. Sin embargo, si se aplica un campo magnético externo, los núcleos con espín positivo se orientarán en la misma dirección y mantendrán un estado de mínima energía (espín a), mientras que en el caso de los núcleos con espín negativo ocurrirá el caso contrario (espín b) (24,25).

6.2.1.1. Resonancia Magnética nuclear de protón (^1H -RMN)

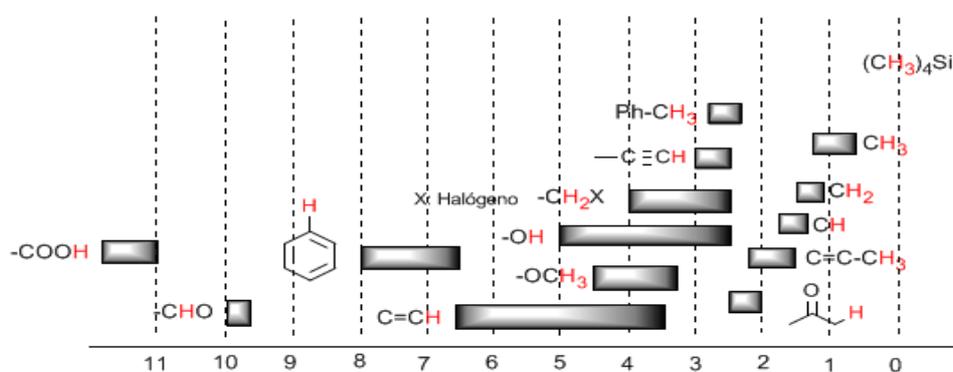


Figura 6. Desplazamientos químicos para ^1H -RMN.

Imagen obtenida de: <https://www.quimicaorganica.org/resonancia-magnetica-nuclear/800-rmn-tabla-de-desplazamientos-quimicos.html>

La ^1H -RMN constituye la herramienta más importante para la determinación de las estructuras de compuestos orgánicos. Mediante el uso del espectrómetro, podemos obtener información valiosa sobre el entorno electrónico de la molécula, los diferentes tipos de protones presentes, cuantos hay de cada tipo o cómo de cercanos están unos de otros midiendo parámetros como el número de absorciones, la cantidad de protección que muestra cada una de las señales, el desdoblamiento o la intensidad de las mismas, con el objetivo de poder dilucidar la estructura a estudiar. (24)

6.2.1.2. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (^{13}C -RMN)

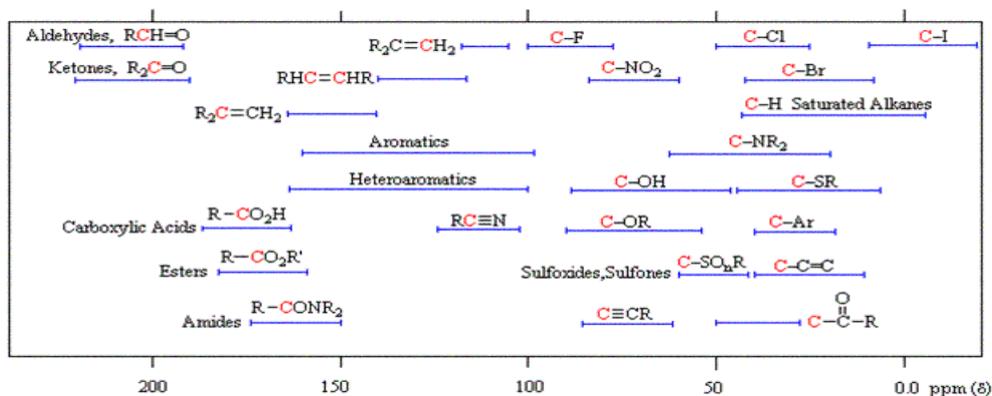


Figura 7. Desplazamientos químicos para ^{13}C -RMN.
 Imagen obtenida de: <https://www.liceoagb.es/quimiorg/rmn5.html>

La ^{13}C -RMN es una técnica complementaria a la ^1H -RMN que nos permite dilucidar el entorno magnético de los átomos de carbono de la molécula. Presenta RMN ya que al igual que ocurre con los protones, tiene un spin magnético. Se caracteriza por ser menos sensible que la ^1H -RMN ya que menos del 1% de átomos de carbono forman parte del isótopo del C^{13} . Las señales de carbono son más débiles, en consecuencia, los desplazamientos químicos de los núcleos de C^{13} son mucho más amplios, alcanzando los 200 ppm frente los 10-12 ppm para protones. (25,26)

6.2.2. Espectrometría de Masas

La espectrometría de masas es una técnica de análisis cualitativo basada en la obtención de iones a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa, en la que los iones se separan según su masa y su carga gracias a la detección por un dispositivo adecuado. El espectrómetro de masas bombardea la muestra con electrones, que acaba rompiendo las moléculas en fragmentos, aportando de esta forma información valiosa como la masa molecular (MM) o la posible fórmula molecular. Proporciona una información bidimensional que relaciona la abundancia de los distintos tipos iones que hay en la muestra en función de la relación masa-carga de cada uno de ellos (27).

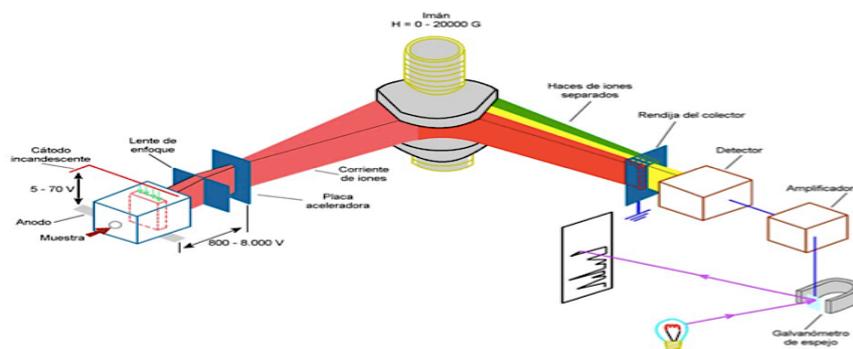


Figura 8. Esquema de un espectrómetro de masas clásico, de separación magnética.

Imagen obtenida de:

https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria_de_masas.pdf

6.3 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS EMPLEADAS

6.3.1. Cromatografía en capa fina (CCF)

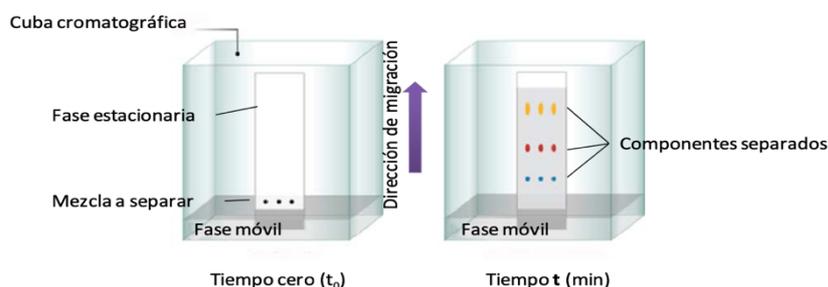


Figura 9. Representación gráfica de separación de componentes de una mezcla por cromatografía en capa fina.

Imagen obtenida de: <https://es.slideshare.net/GibranVargas2/cromatografia-pptx>

La cromatografía en capa fina (CCF) es una técnica analítica rápida y sencilla que permite comparar muestras, determinar el grado de pureza de un compuesto o llevar a cabo el seguimiento de una reacción. Se caracteriza por tener dos tipos de fases: una fase estacionaria compuesta por una fina capa de adsorbente, como puede ser gel de sílice, celulosa o alúmina donde quedan retenidos los compuestos que vamos a analizar y una fase móvil que por capilaridad arrastra la muestra, recorriendo distancias variables según su afinidad por las distintas fases. Esta técnica se realiza sobre un soporte plano. Una vez

separados, se emplea el factor de retención (R_f) para medir el movimiento de los componentes según esta fórmula:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

6.3.2. Cromatografía de exclusión molecular

La cromatografía de exclusión molecular (CEM), también denominada de tamiz molecular o filtración en gel, se caracteriza por el uso de columnas a las que se le introduce geles de varios tipos tales como dextranos con enlaces cruzados (sephadex), agarosa (sepharose, Bio-gel A), poliacrilamida (Bio-gel B) entre otros, que constituyen la fase estacionaria y un eluyente que representa la fase móvil. El objetivo es poder separar los distintos compuestos que contenga nuestra muestra de estudio (28).

Los geles están formados de un material poroso con un determinado diámetro, por tanto, al correr la muestra, las partículas de mayor tamaño podrán moverse a través de la fase estacionaria y salir primero mientras que las de menor tamaño podrán penetrar de forma selectiva en las mallas de gel y retrasar así su descenso.

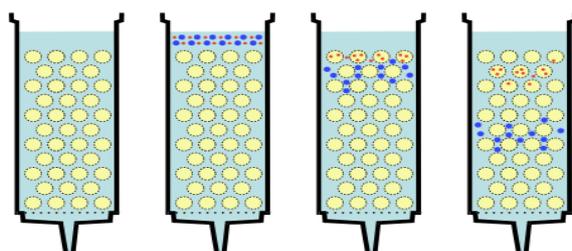


Figura 10. Esquema del funcionamiento de una cromatografía de exclusión molecular. (27)

6.3.3. Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución es una técnica analítica que permite separar los compuestos de una mezcla con el fin de identificarlos, purificarlos o cuantificarlos.

Consta de una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil a la que se le inyecta la muestra en solución. Lo que determina la separación son las interacciones no-covalentes que se establecen entre los componentes que emigran y la columna. Dependiendo de la naturaleza de los compuestos se emplearán diferentes detectores (29).

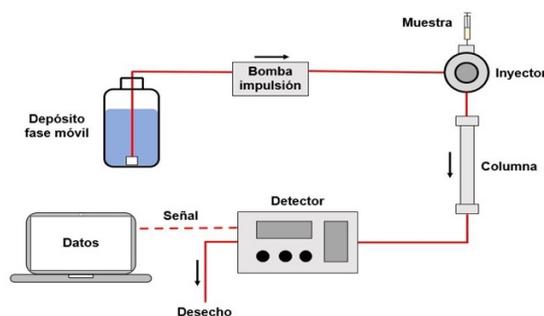


Figura 11. Esquema del funcionamiento del HPLC.
Imagen obtenida de: <https://apuntesde.es/como-funciona-un-hplc/>

6.4. MATERIAL VEGETAL



Figura 12. Pimienta Palmera fresca.



Figura 13. Pimienta Palmera seca.

Imágenes obtenidas de: <https://conecte.es/index.php/es/variedades/353-pimienta-palmera>.

El material vegetal empleado en el estudio es la pimienta palmera, un pimiento rojo seco empleado en la elaboración de mojos, almogrotes y diversos platos típicos en la gastronomía canaria. La especie es *Capsicum annuum* var. *palmera*, una herbácea que procede de la familia de las solanáceas.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Asteridae</i>
Orden	<i>Solanales</i>
Familia	<i>Solanaceae</i>
Subfamilia	<i>Solanoideae</i>
Género	<i>Capsicum</i>

Tabla 4. Clasificación taxonómica de *Capsicum annum*.

Basada en datos de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=4072>

El pimiento es una especie originaria de América Central y también de otras zonas como Bolivia y Perú. Se introdujo en España a finales del siglo XV gracias a los viajes que realizó Colón a dicho continente, donde más tarde se introduciría en el resto de Europa y actualmente son cultivados y consumidos globalmente (30, 31). Es una fuente de antioxidantes como flavonoides, vitaminas C, E, provitamina A y carotenoides. (32)

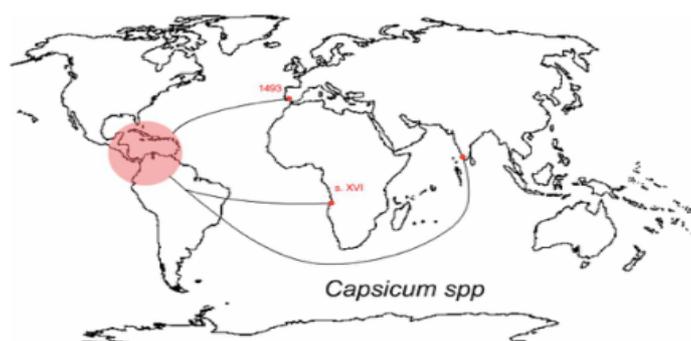


Figura 14. Origen y distribución de la especie *Capsicum spp.*
 Imagen obtenida de: https://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Capsicum_anuum.htm

El color rojo se debe a la presencia de carotenoides como la capsantina o la capsorrubina y el sabor picante de los pimientos se debe al contenido variable de capsaicinoides, unas amidas en las que el compuesto mayoritario es la capsaicina (**Figura 14**). En las especies

muy picantes el contenido puede llegar a superar el 1%. (33). Se ha descubierto que los capsaicinoides poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y son capaces de modular el sistema de defensa oxidativo de las células (6).

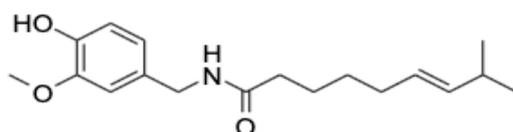


Figura 15. Estructura de la capsaicina.

Capsicum annuum var. *palmera*, también conocido como “pimienta picona”, fue adquirido en el Mercado de Nuestra Señora de África en Santa Cruz de Tenerife, concretamente en el puesto denominado “Especias el Morito”. El producto fue comprado en dicho establecimiento y no recolectado directamente del lugar de origen, pero sus vendedoras nos facilitaron todos los datos con respecto al material vegetal en una etiqueta. Esta pimienta es originaria de La Palma, concretamente de la zona de Fuencaliente, cuyo lote de producción fue 150223 y con fecha de caducidad en el año 2024. El material vegetal fue adquirido seco, ya que es típico dejarla secar al sol y se compraron en total 2 kilogramos (kg).



Figura 16. Etiqueta proporcionada por el establecimiento Especias el Morito.

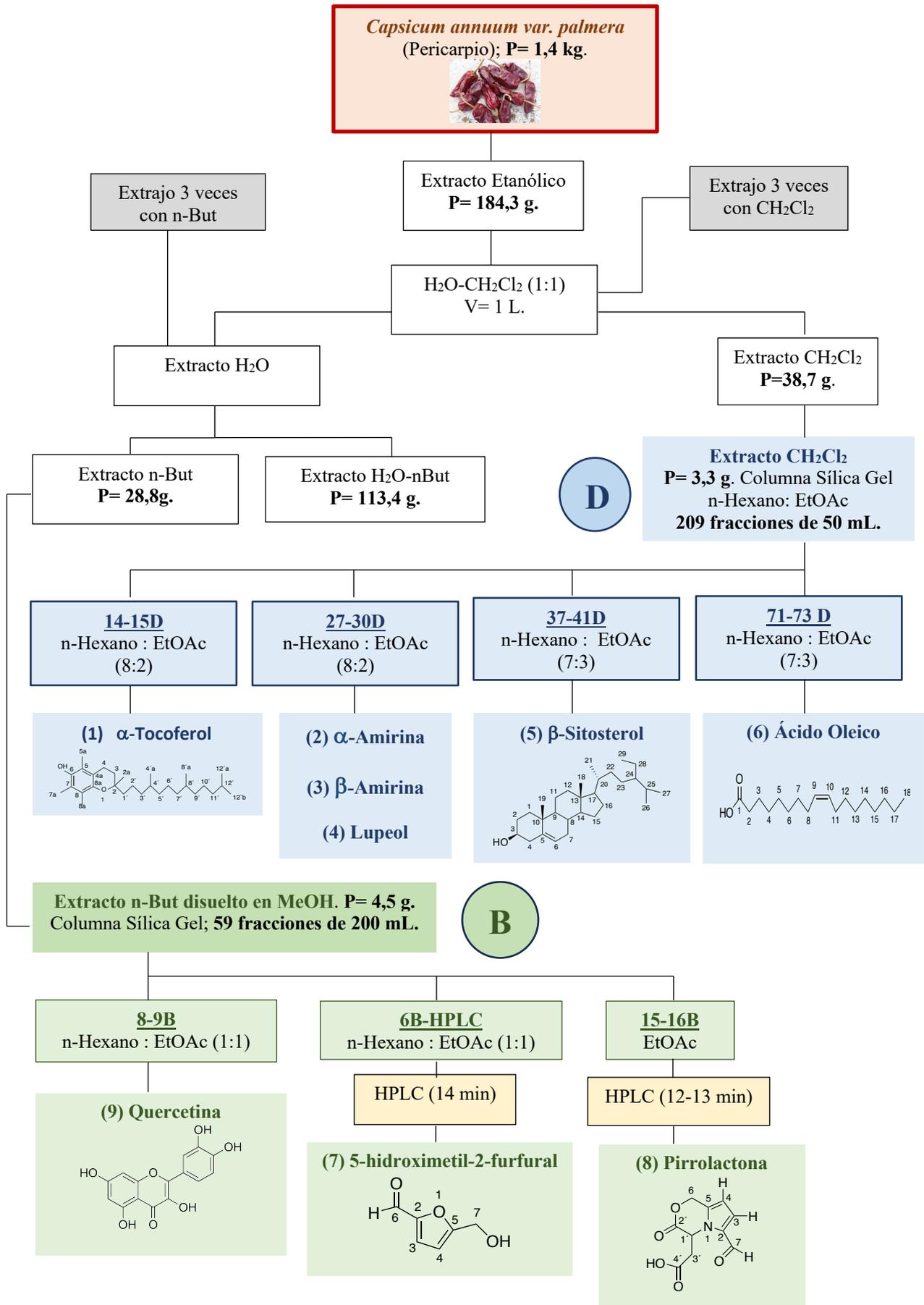
6.5 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO



Figura 17. Proceso de extracción de los componentes de Capsicum annum var. palmera.

Para preparar el extracto empleamos 1.4 Kg de pericarpio seco de *Capsicum annum*, var. *palmera* finamente divididos, que se maceró hasta agotamiento en una mezcla de etanol/ agua 95:5 (EtOH:H₂O; 95:5). Posteriormente se filtró y concentró al vacío a una temperatura de 60°C en el rotavapor, dando como resultado una masa de color rojo-anaranjado de textura gomosa de 184,3 g. El extracto crudo se resuspendió en agua y se extrajo con diferentes disolventes orgánicos.

En primer lugar, se realizaron tres extracciones con diclorometano (CH₂Cl₂) y la fracción acuosa de este proceso fue sometida nuevamente a otras tres extracciones esta vez con n-butanol (n-But), de esta forma se obtuvieron tres fracciones distintas; CH₂Cl₂ (38.7 g), n-butanol (28.8 g) y H₂O (113,4 g). En nuestro trabajo estudiamos la fracción de CH₂Cl₂ y la de n-But.



6.6 PURIFICACIÓN Y RESULTADOS DEL EXTRACTO DICLOROMETÁNICO

La purificación del **extracto diclorometánico** comenzó por una cromatografía en columna seca de gel de sílice (Merck 2300-400 mesh, 75 g). Se preparó una cabeza cromatográfica disolviendo en hexano 3,3 g de extracto de CH_2Cl_2 y depositándolo gota a gota sobre un lecho de gel de sílice y dejando evaporar el disolvente durante 24 horas. De esta forma el material vegetal impregna toda la gel de sílice. Ésta se deposita en la parte superior de la columna eluyendo a continuación con hexano y mezclas de hexano: acetato de etilo, de polaridad creciente 0 a 100%, recogiendo un total de 209 fracciones de 50 mL cada una. La evolución de esta cromatografía se sigue por CCF. A esta columna la denominamos D.



Figura 18. Cromatografía en columna gel de sílice del extracto de CH_2Cl_2 . Columna D.

Las **fracciones 14-15D** eluidas con hexanos-EtOAc 8:2 mostraron bajo la luz UV, la presencia de una única sustancia que una vez concentrada por eliminación del disolvente a vacío rinde 7.8 mg de un polvo blanco. Da positiva la reacción de FeCl_3 característica de fenoles. Presenta una fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$, determinada por espectrometría de masas de alta resolución HREIMS, donde se observa el ion molecular a m/z 430.3827 $[\text{M}]^+$ (100 %). El espectro de ^1H NMR en cloroformo deuterado muestra señales de grupos hidroxilo a δ_{H} 4.19 (1H, s) de protones bencílicos a δ_{H} 2.61 (2H, t, $J = 6.9$ Hz), tres metilos sobre anillo aromático a δ_{H} 2.17 (3H, s) y δ_{H} (2.12, 6H, s). Otras señales

claramente discernibles en este espectro son las debidas a los protones H-3a y H-3b a δ_H 1.83 y 1.77 ppm (cada una 1H, ddd, $J = 7.1, 6.8$ y 6.8 Hz), HSQC δ_C 31.7. Un metilo a δ_H 1.23 ppm (3H, s) y cuatro metilos alifáticos a δ_H 0.88 (6H, d, $J = 6.6$ Hz) y a δ_H 0.87 (3H, d, $J = 6.6$ Hz) y a δ_H 0.86 (3H, d $J = 6.4$ Hz). La asignación del resto de señales observadas entre δ_H 1.59 y 0.83 ppm se hizo en base a un profundo análisis de correlación bidimensional y por comparación con los datos dados en la literatura (34). Los datos anteriores nos permitieron identificar nuestro compuesto como la **Vitamina E. α -tocoferol (1)**.

De forma natural se clasifica a grandes rasgos en dos categorías: tocoferoles y tocotrienoles. Dependiendo del número y posición de los grupos metilo presentes en el anillo aromático de la unidad croman-6-ol, tenemos los subgrupos: α -tocoferol 5,7,8-trimethyl tocol, β -tocoferol 5,8-dimethyl tocol, γ -tocoferol 7,8-dimethyl tocol, δ -tocoferol 8-methyl tocol (35, 36). El término "tocol" para *2-metil-2-(4', 8',12'-trimetiltidecil) croman-6-ol*, fue propuesto por el grupo de Pennock (37) y aceptado por IUPAC-IUB en el año 1965 (38).

Las **fracciones 27-30D**, eluidas con hexanos-EtOAc 8:2 rinden 15.5 mg de un sólido cristalino en forma de agujas incoloras con un punto de fusión de 140-154°C. Presenta una fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$, determinada por espectrometría de masas de alta resolución HREIMS, donde se observa el ion molecular a m/z 426.3848 $[M]^+$ (13.5 %). El espectro de 1H NMR muestra señales de protones olefinicos a δ_H 5.19 (t, $J = 3.5$ Hz), 5.13 t, $J = 3.6$ Hz), y dos protones olefinicos a δ_H 4.69 y 4.57 singulete ancho característicos de un doble enlace exocíclico. Asimismo, se observan tres señales a δ_H 3.23 dd ($J = 11.1$ y 4.6 Hz), δ_H 3.23 dd ($J = 11.1, 4.6$ Hz) y a δ_H 3.19 dd ($J = 11.3$ y 4.8 Hz) señales estas típicas de protones geminales a grupos hidroxilo.

La inspección de las integrales correspondientes a estas señales nos muestra que en realidad estamos ante una mezcla de al menos tres productos diferentes en la proporción de (5:3:2) donde tentativamente podemos deducir que estamos ante una mezcla de **α -amirina (2)**, componente mayoritario, **β -amirina (3)** intermedio y **lupeol (4)**, minoritario. El espectro de ^{13}C -NMR muestra las típicas señales de carbono para un

esqueleto de terpenoides que incluye carbonos unidos a grupos OH en posición C-3 a δ_C 79.4131, 79.3980 y 79.3661. Los carbonos olefinicos del doble enlace exocíclico aparecieron a 151.1691 (C cuaternario) y 109,5452 ppm (C metileno) que se asignan al doble enlace C-20 y C-29 del compuesto minoritario, lupeol. Los carbonos C-12 y C-13 de la α -amirina se observan a δ_C 124.88 (C-H) y a δ_C 140.00 (C-cuaternario) y para la β -amirina aparecen a δ_C 122.17 (C-H) y δ_C 145.5 (C-cuaternario). HPLC/MS, nos permitió corroborar nuestra hipótesis, acerca de la composición de las fracciones en estudio. Tras realizar una HPLC en fase reversa C-18 usando Acetonitrilo-MeOH (95:5) como eluyente con un flujo de 1,0 ml/min, mostró la presencia de dos constituyentes principales con tiempos de retención de 17,3 y 28,3 min, cada uno identificado mediante espectrometría de masas ESI-TOF, Espectros de RMN de ^1H y ^{13}C como (4) y (2) respectivamente. (3) no se encontró.

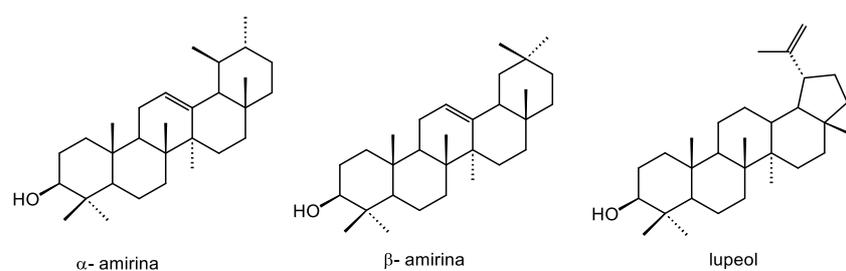


Figura 19. Estructuras de la α -amirina (2), β -amirina (3) y lupeol (4) respectivamente.

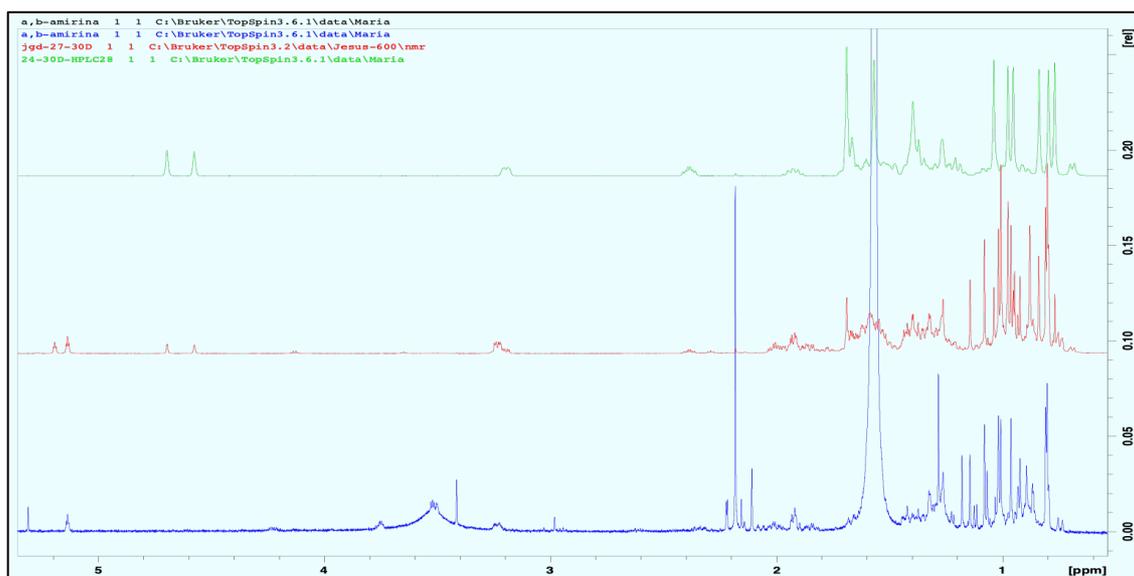


Figura 20. Separación y comparación de espectros RMN- ^1H de lupeol (verde), mezcla (rojo) de α -amirina β -amirina y lupeol y α -amirina (azul).

Las **fracciones 37-41D**, eluidas con una mezcla de hexanos-EtOAc 7:3 rinden 9.2 mg de cristales incoloros de punto de fusión (PF) (125°C, acetona), (literatura PF 130°C) (39). Presenta una fórmula molecular de C₂₉H₅₀O, determinada por espectrometría de masas de alta resolución HREIMS, donde se observa el ion molecular a m/z 414.3831 [M]⁺ (82.08 %). El espectro de ¹H NMR muestra señales de un protón olefínico a δ_H 5.36 singlete ancho, un protón germinal a grupo hidroxilo a δ_H 3.53 triplete de triplete (J = 11.0 y 4.7 Hz). Además, este espectro muestra dos singletes de intensidad tres protones cada uno a δ_H 0.68 y 1.01 ppm indicativos de grupos metilo angulares C-18 y C-19 respectivamente. Las señales a δ_H 0.80 (3H, d, J = 6.85 Hz), 0.83 (3H, d, J = 7.5 Hz), 0.82 (3H, d, J = 6.85 Hz) y 0.91 (3H, d, J = 6.6 Hz) se asignaron a C-27, C-29, C-26 y C-21 respectivamente.

En el espectro de masas se observan picos debidos a la pérdida de agua a m/z 396 [M-H₂O]⁺, indicativo de la presencia de grupos OH en la molécula. La formación de los fragmentos a m/z 303 [M-C₇H₁₁O]⁺ y 329 [M-C₇H₁₁O+29]⁺ son la indicación más característica de la presencia de un doble enlace entre los átomos C-5 y C-6 de un esteroide. Los datos anteriores están de acuerdo con la asignación de una estructura de **β-sitosterol (5)** para nuestro compuesto. Datos comparados con bibliografía (40).

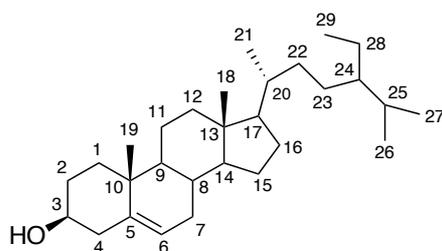


Figura 21. Estructura del β-sitosterol.

Las **fracciones 71-73 D** rinden un aceite incoloro de fórmula empírica C₁₈H₃₅O₂ [M+1]⁺. En su espectro de ¹H-RMN aparecen las señales características de un ácido graso insaturado; metilo terminal de una cadena alifática a δ_H 0.88 (3H, t, J = 6.7 Hz), once metilenos a 1.26 ppm, dos metilenos alílicos a δ_H 1.63 multiplete (m), y δ_H 2.01 m, un metileno contiguo a un grupo ácido a δ 2.35 (2H, t, J = 7.4 Hz), y un multiplete a δ_H 5.35

ppm de intensidad 2 hidrógenos vinílicos. Los datos anteriores nos permitieron identificar esta sustancia como el **ácido oleico (6)**. Datos comparados con bibliografía (41, 42).

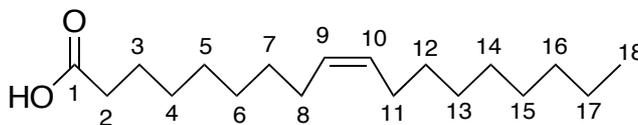


Figura 22. Estructura del ácido oleico.

6.7. PURIFICACIÓN Y RESULTADOS DEL EXTRACTO N-BUTANÓLICO

La purificación del **extracto n-butanólico** comenzó con una cromatografía en columna de SiO₂ de una alícuota del **extracto n-butanólico** (4.5 g), usando como eluyente mezclas de Hex-EtOAc de polaridad creciente. Se recolectaron un total de 59 fracciones de 200 mL cada una y su evolución se siguió por CCF. A esta columna la denominamos B.

La **fracción 6B-HPLC** eluída con Hex-EtOAc 1:1 rinde después de recromatografía en HPLC (SiO₂, EtOAc-Hex 1:2, flow 2 mL. min⁻¹, T_R 14 min), 18 mg de un compuesto incoloro de aspecto siruposo. El espectro de masas de alta resolución muestra el ion molecular a m/z 126.0322 [M]⁺ (71%) de acuerdo con una fórmula empírica C₆H₆O₃. El espectro de resonancia magnética nuclear en acetona deuterada muestra señales de dos protones mutuamente acoplados a δ_H 7.37 (1H, d, J = 3.8 Hz) y a δ_H 6.57 (1H, d, J = 3.8 Hz), características de H-3 y H-4 de un anillo furánico disustituido, dos protones oximetilénicos a δ_H 4.63 (2H, singlete ancho) y un protón de aldehído a δ_H 9.58 (1H s). El espectro de carbono trece ¹³C-NMR de (7), muestra dos carbonos olefinicos a δ_C 123.4 y 110.4, dos carbonos cuaternarios sp² a δ_C 153.9 y δ_C 163.3, un carbono carbonílico a δ_C 178.2, sugiriendo un esqueleto de 5-oximetil -2-formil-furano, **5-hidroximetil-2-furfural (HMF) (7)**. Esto fue corroborado por las correlaciones observadas en el espectro HMBC entre H-7 con C-2 y C-3, y H-6 con C-4 y C-5, H-3 con C-2, C-4, y C-5, y H-4 con C-5 and C-2.

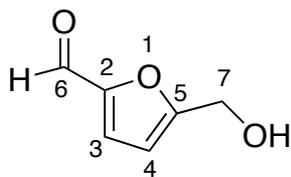


Figura 23. Estructura del HMF (7)

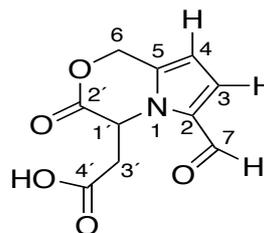


Figura 24. Estructura de la pirrolactona (8).

$^1\text{H-RMN}$ y $^{13}\text{C-RMN}$ de 5-Hidroximetil-2-furfural (HMF) 7 y Pirrolactona 8 , Acetona d_6		
	δ_{H} (valores de J en Hz)	δ_{C}
Nº	7	8
OH		10.21 s
2		---
3	7.37 d (3.8)	7.10 d (3.8)
4	6.57 d (3.8)	6.31 d (3.8)
5		---
6a	4.63 brs	4.73 d (14.1)
6b	4.63 brs	4.73 d (14.1)
7	9.58 s	9.41 s
1'		5.78 br dd (9.5, 7.0)
2'		---
3'a		3.14 dd (16, 9.5)
3'b		2.80 br dd (16, 7.0)
4'b		---
		169.8 C'2
		38.5
		38.5
		175.1 C'4

Tabla 5. Comparación $^1\text{H-RMN}$ en 600 MHz y $^{13}\text{C-RMN}$ en 150 MHz de HMF (7) y Pirrolactona (8)

La pirrolactona (8) de la fracción 15-16B se obtiene como un aceite incoloro de fórmula molecular $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_5$ determinada por HREIMS, donde se observa el ion molecular a m/z 223.0493 [$\text{M}]^+$ (9.0 %)], pérdida de un protón a m/z 222.0384 [$\text{M}-\text{H}]^+$ (69.0 %)]. La comparación de los espectros de ^1H y ^{13}C RMN de 7 y 8 muestra similitudes, siendo la principal diferencia, los desplazamientos químicos observados para los carbonos a δ_{C} 153.9 ppm, C-2 y δ_{C} 163.3 ppm C-5 para el compuesto 7 frente a 133.2 ppm C-2 y 145.6 C-5 para el compuesto 8 (ver tabla 2) indicando la presencia en 8 de un esqueleto 5-oximetil-2-formil-pirrol en lugar de 5-oximetil -2-formil-furano en 7. Además, los espectros de ^1H y ^{13}C -NMR de 8 muestran resonancias de un carbono metilénico a δ_{C} 38.5 ppm [1H, δ_{H} 3.14 dd, J = 16.0 y 9.5 Hz), 2.80 (1H, dd J = 16.0 y 7.0 Hz)]. Estos protones se acoplan con la señal que aparece a δ_{H} 5.78 (1H, dd, J = 9.5, 7.0 Hz), HSQC 56.9 ppm. Dos carbonos cuaternarios δ_{C} 169.8 y 175.1 ppm fueron asignadas a carbonos

carbonílicos de una lactona y un ácido, respectivamente. Las conectividades observadas en el experimento de correlación heteronuclear HMBC, (**Figura 25**) entre H'-1 con C-2, C-5, C-3, C'2 y C'4 confirman la unión de un resto de ácido succínico fusionado con un fragmento de 5-oximetil-2-formil-pirrol en **8**.

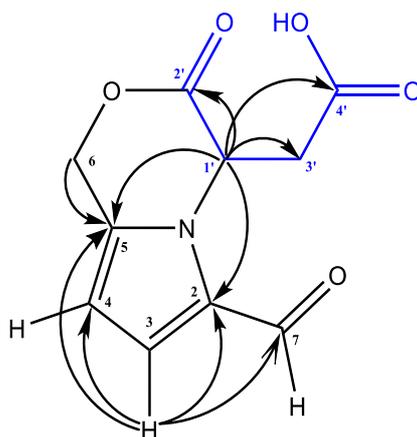


Figura 25. Correlación heteronuclear HMBC para el compuesto **8**.

Las **fracciones 8-9 B** rinden **quercetina (9)**, 10 mg. Se aísla como un polvo de color amarillo de punto de fusión 273-281°C (MeOH/EtOAc). Esta sustancia da positiva en la reacción del FeCl₃ característica de fenoles y presenta una fórmula molecular C₁₅H₁₀O₇, determinada por espectrometría de masas de alta resolución HREIMS, que muestra el pico del ion molecular a m/z 302.0429 [M]⁺ (100%). La fórmula molecular de (**9**) nos indica la presencia de 11 grados de insaturación en la molécula. El espectro de ¹³C-RMN, muestra 15 señales en la región aromática incluyendo una señal para un carbono carbonílico a δ_C 177.7 ppm. El espectro de ¹H-RMN, muestra resonancias de dos protones acoplados en *meta* a δ_H 6.75 y 6.79 ppm (cada uno 1H, d, J = 1.9 Hz), correlacionados con los carbonos δ_C 99.7 y 94.7 ppm, respectivamente, en el espectro de HSQC, característicos de los protones H-6 y H-8 del anillo A para un flavonoide hidroxilado en las posiciones C-5 y C-7.

El anillo B fue caracterizado como un anillo bencénico 1,3,4-trisustituido (δ_H 8.64 1H, d, J = 2.1 Hz, δ_C 117.1, δ_H 8.14 1H, dd, J = 8.5 y 2.1 Hz, δ_C 121.5 y a δ_H 7.42 1H, d J =

8.5 Hz, δ_c 117.1) así se pudo identificar al compuesto (9) como 3,5,7,3',4'-pentahidroxi flavona (quercetina) (21).

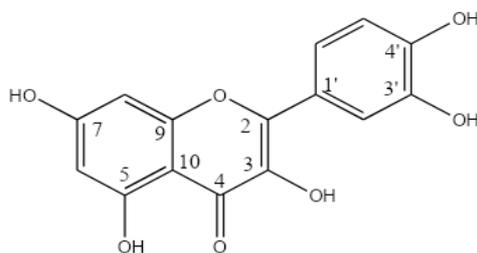


Figura 26. Estructura de la quercetina.

7. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

7.1. α -tocoferol (1): Vitamina E.

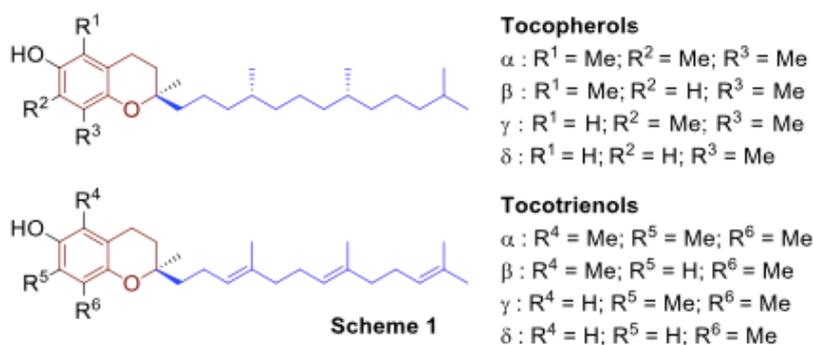


Figura 27. Formas naturales de la Vitamina E: Tocoferoles y Tocotrienoles. (35)

La vitamina E (vit.E) fue descubierta en el año 1922 por Herbert M.Evans y K. Scott Bishop, quienes observaron que las ratas en ausencia de este nutriente se volvían estériles, y establecieron a la vit.E como componente dietético necesario para la reproducción (35). Los tocoferoles se diferencian según el número y la posición de los grupos metilo en el anillo fenol y las vitaminas α , β , γ , δ , poseen tres, dos, dos y un grupo metilo respectivamente. La actividad biológica está determinada según estas diferencias estructurales, siendo los homólogos α los más activos (43,44). Está presente sobre todo en frutos secos y aceites vegetales (45). La vit.E participa en la prevención de diversas

enfermedades por su acción antioxidante, su intervención en procesos inflamatorios, en la inhibición de la agregación plaquetaria y su actividad potenciadora del sistema inmunológico, como pueden ser enfermedades cardiovasculares (CV), el Alzheimer o el cáncer. Se ha encontrado que el α -tocoferol inhibe principalmente la producción de nuevos radicales libres y que un aumento de su concentración en las células endoteliales inhibe la agregación plaquetaria y libera prostaciclina del endotelio (46).

7.2 α -amirina (2) y β -amirina (3)

La α - o β -amirina son triterpenos pentacíclicos, es decir, productos del metabolismo secundario presentes en numerosas especies de plantas. Su efecto antimicrobiano radica en que son capaces de producir ROS mitocondriales que destruyen orgánulos y previenen de esta forma la proliferación celular (47). Son ampliamente conocidas por sus potenciales efectos farmacológicos como antiinflamatorios, ansiolíticos, hepatoprotectores, así como efectos antitumorales (48). Asimismo, tanto α como β -amirina pueden ser candidatos para tratar la disfunción cognitiva que se produce en la Enfermedad del Alzheimer (EA) debido a alteraciones que se producen en el sistema de neurotransmisores colinérgicos (49).

7.3. Lupeol (4)

El lupeol (Lup-20(29)-en-3 β -ol) es un triterpeno presente en alimentos como el aceite de oliva, las uvas, pepino, zanahorias...etc. Varios estudios han demostrado que el lupeol y compuestos relacionados poseen una extensa variedad de actividades biológicas gracias a su capacidad de interactuar con múltiples objetivos moleculares, de ahí su actividad antiinflamatoria, antitumoral, antimelanoma, cardioprotectiva y antimicrobiana. También podría consumirse como suplemento dietético para prevenir enfermedades coronarias, hepáticas y para el cáncer. Debido a su amplia distribución en las plantas, es más fácil de obtener que muchos de los tratamientos ya comercializados, pero se recomiendan realizar estudios farmacocinéticos del mismo (50, 51).

7.4. β -sitosterol (5)

El β -sitosterol ((3 β)-stigmast-5-en-3-ol), es el principal fitosterol en la mayoría de las plantas superiores y se emplea para disminuir la absorción de colesterol en el sistema digestivo y en el hígado (52). Está presente en alimentos vegetales con alto contenido lipídico como puede ser en legumbres, aceite de oliva, semillas, nueces...etc. En la planta, se encuentra en las membranas de las células vegetales y posee una estructura similar a la del colesterol. Numerosos estudios han demostrado que posee efectos antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos, antidiabéticos, ansiolíticos, analgésicos, antimicrobianos, así como efectos protectores en enfermedades pulmonares, digestivas, en hepatitis...etc. Existen pruebas de que podría emplearse como suplemento para luchar contra enfermedades mortales (53, 54, 39).

7.5. Ácido oleico (6)

El ácido oleico (ácido 9- octadecanoico) es un ácido graso monoinsaturado caracterizado por poseer un doble enlace entre C9-C10 (55). Es una biomolécula nutracéutica versátil con capacidad antioxidante y efecto hipocolesterolémico, ya que disminuye la expresión de proteínas transportadoras de colesterol, disminuye la absorción del mismo y la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), por tanto, previene la aterosclerosis. Está implicado en la activación de distintas rutas intracelulares relacionadas con el desarrollo de células tumorales, como en la activación de la señalización de calcio intracelular. Numerosos estudios muestran el efecto inhibidor que tiene el ácido oleico sobre la proliferación de células tumorales, tales como la supresión de la expresión del oncogén HER2 (erbB-2), implicado en la etiología, progresión y metástasis de varios tipos de cáncer (56, 57).

7.6. 5-hidroxiacetil-2-furfural (HMF) (7)

El 5-hidroxiacetil-2-furfural es un aldehído heterocíclico de seis carbonos derivado del furano que contiene como grupos funcionales un aldehído y un alcohol (hidroxiacetil). El grupo formilo y el hidroxiacetil están unidos al anillo en las posiciones C-2 y C-5,

mientras que la estructura del anillo se basa en restos de furano. La síntesis de HMF en los alimentos es muy común y se ve beneficiada por la acumulación de azúcares simples, polisacáridos, aminoácidos, proteínas, un pH ácido y altas temperaturas (58, 59).

El HMF posee numerosas propiedades, entre ellas su importancia para la producción de biocombustibles a partir de diferentes tipos de biomasa, como el 2,5-dimetilfurano (2,5-DMF), un potencial candidato para sustituir a la gasolina y al diésel. También se ha visto implicada en la producción de polímeros, productos farmacéuticos, resinas o disolventes. Se ha comprobado que aldehídos que contienen HMF y furfural (F) inhiben el crecimiento de bacterias como *Escherichia coli* (E.coli) y *Saccharomyces cerevisiae* al dañar el ADN, inhibir la enzima glicolítica que reacciona con los componentes celulares y disminuir los niveles de NADPH (58, 59).

7.7. Pirrolactona (8)

La actividad biológica de esta nueva sustancia no ha sido determinada hasta la fecha, sin embargo, compuestos análogos se han mostrado activos frente al dolor debido a su capacidad de restaurar los niveles de glutatión de células vivas frente a especies reactivas de oxígeno (ROS) (60).

7.8. Quercetina (9)

La quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxi-flavona) es uno de los flavonoides más comunes en la naturaleza. Suele estar presente en elevadas cantidades en los tejidos vegetales y es conocida por sus propiedades biológicas y farmacéuticas. Es un potente antioxidante capaz de quelar metales, eliminar radicales libres y prevenir la oxidación de las LDL (61). Se encuentra en alimentos como las cebollas, las manzanas, lechugas, pimientos, brócoli, el té, las bayas, nueces (62, 63) ...etc.

Las propiedades biológicas radican de la presencia de grupos carbonilo e hidroxilo en su estructura, lo que le permite coordinar diversos iones metálicos endógenos (62). Algunas de estas propiedades son debidas a su gran capacidad antioxidante, donde numerosos

estudios experimentales con animales comprobaron su viabilidad en enfermedades metabólicas como en la diabetes, la obesidad y enfermedades CV, así como en el cáncer y en enfermedades neurodegenerativas. También se ha demostrado que su ingesta reduce el riesgo de diabetes tipo II (63).

8. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Además de los polifenoles Quercetina y α -tocoferol, se han aislado e identificado otros componentes biológicamente activos gracias a los avances recientes en técnicas de aislamiento, purificación e identificación estructural.
- En nuestro estudio hemos aislado un nuevo alcaloide (pirrolactona) análogo a sustancias con la capacidad de restauración del glutatión en las células vivas frente a las especies reactivas del oxígeno.
- Debido al tiempo limitado del que disponemos, queda más que justificado un futuro estudio más profundo de *Capsicum annuum var. palmera*, que con total seguridad se podrían obtener nuevos productos con posibles intereses farmacológicos.
- En conclusión, ¿la pimienta palmera es un condimento o un alimento? En base a los resultados obtenidos podemos afirmar que es un condimento muy apreciado en la cocina canaria y al mismo tiempo un alimento funcional debido a los componentes bioactivos presentes en el mismo.

9. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Azcón-Bieto J, Talón M, (Coordinación). Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2ª Ed [Internet] Madrid: McGraw-Hill Interamericana; Barcelona: Universitat de Barcelona, 2008 [citado 18 Sep 2023]. 651p. disponible en: <https://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/FundamentosdeFisiologiaVegetal2008Azcon..pdf>
- (2) Almaraz Abarca N, Ávila Reyes JA, Delgado Alvarado EA, Naranjo Jiménez N, & Herrera Corral J. El metabolismo secundario de las plantas, un nuevo concepto, [Internet] 2006 [citado 18 Sep 2023]. 18p. Disponible en: <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8292/1/METABOLISMO%20SECUNDARIO-ALMARAZ.pdf>
- (3) Dewick Paul M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach, 3rd Edition. [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2009. [citado 5 Feb 2024]. 539 p. Disponible en: <https://www.researchgate.net/profile/Br-Rajeswara-Rao/post/What-is-the-most-efficient-method-for-extraction-of-phytochemicals-from-plants/attachment/59d6460ec49f478072eae356/AS%3A273831233556480%401442297861397/download/Medicinal+Natural+Products-Paul.pdf>
- (4) Seigler DS. Plant Secondary metabolism. [Internet]. Springer Science & Business Media [30 Ene 2024]; 1998. 772p Disponible en: https://books.google.es/books?id=uKPwBwAAQBAJ&lpg=PP7&ots=AhPOh9Rnq_&dq=secondary%20metabolism%20in%20plants&lr&hl=es&pg=PA9#v=onepage&q=secondary%20metabolism%20in%20plants&f=false
- (5) Ávalos García A, Pérez-Urria Carril E. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). [Internet]. Serie Fisiología Vegetal. 2009 [citado 11 Feb 2024]; 2 (3): 119-145 p. Disponible en: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/26b94db5-92de-4aaf-8822-8f063c180904/content>
- (6) Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients [Internet]. 2010 [citado 9 Feb 2024]; 2(12):1231–46. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu2121231>
- (7) Bhatla SC, Lal MA. Secondary Metabolites. In: Plant Physiology, Development and Metabolism. [Internet]. Singapore: Springer Nature Singapore; 2023 [citado 11 Feb 2024] 765–808 p. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-981-99-5736-1>
- (8) Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci [Internet]. 2001; [citado 10 Feb 2024]; 161(5):839–51. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452\(01\)00490-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0168-9452(01)00490-3)
- (9) Osbourn AE, Lanzotti V, editors. Plant-derived natural products: Synthesis, function, and application. [Internet]. New York, NY: Springer US; 2009 [citado 10 Feb 2024]. Doi:10.1007/978-0-387-85498-4
- (10) Agostini-Costa Tania da S, Vieira Roberto F, Bizzo Humberto R, Silveira D, Gimenes Marcos A. Secondary Metabolites. In: Chromatography and its Applications.

InTech; [Internet]. 2012. [citado 11 Feb 2024]; 141-174 p. disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/1961>

(11) Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* [Internet]. Nov 1998. [citado 1 Feb 2024]; 56(11):317–33. Disponible en: <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/56/11/317/1901722>

(12) Harborne J.B. *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. 3rd Ed. Chapman & Hall. [Internet] UK. 1998 [citado 11 Feb 2024] 302 p. Disponible en: <https://www.researchgate.net/profile/Br-Rajeswara-Rao/post/What-is-the-most-efficient-method-for-extraction-of-phytochemicals-from-plants/attachment/59d6460ec49f478072eae359/AS%3A273831246139392%401442297864226/download/Phytochemical+methods-Harborne.pdf>

(13) Li A-N, Li S, Zhang Y-J, Xu X-R, Chen Y-M, Li H-B. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* [Internet]. 2014 [citado 11 Feb 2024]; 6(12):6020–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25533011/>

(14) Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2005 [citado 9 Feb 2024]; 45(4):287–306. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16047496/>

(15) Munawar Abbas, Farhan Saeed, Faqir Muhammad Anjum, Muhammad Afzaal, Tabussam Tufail, Muhammad Shakeel Bashir, Adnan Ishtiaq, Shahzad Hussain & Hafiz Ansar Rasul Suleria; Natural polyphenols: An overview, *International Journal of Food Properties* [Internet]. 2017 [citado 8 feb 2024]; 20:8, 1689-1699. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1220393>

(16) Fu L, Xu B-T, Xu X-R, Gan R-Y, Zhang Y, Xia E-Q, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chem* [Internet]. 2011; [citado el 11 Feb 2024]; 129(2):345–50. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.079>

(17) Kuklinski C. *Farmacognosia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Omega; 2000. 528p (pág 106).

(18) Berger Z, Berger Salinas A, Szánthó Pongrácz G. La vitamina C y algo más: Un premio Nobel poco conocido en Chile. *Rev Med Chil* [Internet]. 2015; [citado 12 Feb 2024]; 143(8):1065–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872015000800015>

(19) Újszászi I. *The intellectual heritage of Albert Szent-Györgyi: Szegedi Egyetemi Tudástar 2*. [Internet] Szeged, 2014 [citado 12 Feb 2024] <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwj49IvGtKaEAXVkVaQEHWRoDokQFnoECBEQAQ&url=https%3A%2F%2Fu-szeged.hu%2Fszent-gyorgyi-albert%2Fdokumentumok%2Fszegedi-egyetemi-200921&usq=AOvVaw3fjIAWwprWytwjwlcTWfXA&opi=89978449>

- (20) Rusznyák ST, Szent-Györgyi A. Vitamin P: Flavonols as vitamins. *Nature* [Internet]. 1936; [citado 12 Feb 2024]; 138(3479):27–27. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/138027a0>
- (21) Formica JV, Regelson W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 1995 [citado 14 Feb 2024]; 33(12):1061–80. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00077-1](http://dx.doi.org/10.1016/0278-6915(95)00077-1)
- (22) Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, et al. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules* [Internet]. 2020 [citado 14 Feb 2024]; 25(22):5243. 1-39 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25225243>
- (23) Muñoz Jáuregui AM, Ramos Escudero F. Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horizonte Médico* [Internet]. 2007 [citado 14 Feb 2024]; 7(1). 1-9 p. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371637115003>
- (24) Universidad de las Palmas de Gran Canaria. [Internet]. Espectroscopía RMN. [citado 9 Oct 2023]. Disponible en: https://www2.ulpgc.es/hege/almacen/download/42/42253/espectroscopia_rmnppt
- (25) Castell J. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear. [Internet] Universitat de Valencia; [citado 9 Oct 2023]. Disponible en: <https://www.uv.es/jcastell/Espectroscopia.pdf>
- (26) Universidad del País Vasco. [Internet]. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear; [citado 9 Oct 2023]. Disponible en: <https://www.ehu.eus/documents/1468013/5943652/RMN>
- (27) Museo Nacional de Ciencias Naturales – CSIC. [Internet]. Madrid. Espectrometría de masas. [citado 10 Oct 2023]. Disponible en: https://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria_de_masas.pdf
- (28) Universidad de Alcalá. [Internet]. Cromatografía; [citado 9 Oct 2023]. Disponible en: <https://biomodel.uah.es/tecnicas/crom/inicio.htm>
- (29) Universidad Complutense de Madrid. [Internet]. Cromatografía Líquida (HPLC), [citado 10 Oct 2023]. Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/650-2013-12-02-gases%20%C3%ADquidos.pdf>
- (30) Perry L. Capsicums/Chiles: Origins and development. In: *Encyclopedia of Global Archaeology*. [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2014 [citado 15 Dic 2023]. 1150–2 p. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0465-2_2172
- (31) Silvar C, Rocha F, Barata AM. Tracing Back the History of Pepper (*Capsicum annuum*) in the Iberian Peninsula from a Phenomics Point of View. *Plants* [Internet]. 13 Nov 2022 [citado 15 Dic 2023]; 11(22):3075. 18 p. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants11223075>

- (32) Bhatla SC, Lal MA. Changes in pigmentation in: Plant Physiology, Development and Metabolism. [Internet]. Singapore: Springer Nature Singapore; 2023. [citado 14 Feb 2024] 765–808 p. pág 613. Disponible en: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-981-99-5736-1>
- (33) Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales, 2ª Ed [Internet] Acribia, 1 octubre 2001, [citado 14 Feb 2024]. 1120 p. pág 768. Disponible en: https://tejadarossi.files.wordpress.com/2017/01/farmacognosia_bruneton.pdf
- (34) Ekiel IH, Hughes L, Burton GW, Jovall PA, Ingold KU, Smith ICP. Structure and dynamics of α -tocopherol in model membranes and in solution: a broad-line and high-resolution NMR study. Biochemistry [Internet]. 1988 [citado 10 Dic 2023]; 27(5):1432–40. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/bi00405a007>
- (35) Kundu S, Sarkar D. A year away to 100th year of vitamin E synthesis. J Heterocycl Chem [Internet]. 2021 [citado 10 Dic 2023]; 58(9):1741–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/jhet.4309>
- (36) Krucker M, Lienau A, Putzbach K, Grynbaum MD, Schuler P, Albert K. Hyphenation of capillary HPLC to microcoil ^1H NMR spectroscopy for the determination of tocopherol homologues. Anal Chem [Internet]. 2004 [citado 10 Dic 2023]; 76(9):2623–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/ac030379i>
- (37) Pennock JF, Hemming FW, Kerr JD. A reassessment of tocopherol chemistry. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. 1964 [citado 10 Dic 2023]; 17(5):542–8. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/0006-291x\(64\)90062-2](http://dx.doi.org/10.1016/0006-291x(64)90062-2)
- (38) Nomenclature of tocopherols and related compounds (Recommendations 1981). International Union of Pure and Applied Chemistry. 1982 [citado 10 Dic 2023]; 54(8): 1507-1510. <https://doi.org/10.1351/pac198254081507>
- (39) Kiprono PC, Kaberia F, Keriko JM, Karanja JN. The in vitro Anti-Fungal and Anti-Bacterial Activities of β -Sitosterol from *Senecio lyratus* (Asteraceae). Z Naturforsch C [Internet]. 2000 [citado 20 Nov 2023] ;55(5–6):485–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2000-5-629>
- (40) Rubinstein I, Goad LJ, Clague ADH, Mulheirn LJ. The 220 MHz NMR spectra of phytosterols. Phytochemistry [Internet]. 1976 [citado 20 Nov 2023]; 15(1):195–200. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)89083-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0031-9422(00)89083-4)
- (41) Ledea O, Díaz M, Molerio J, Jardines D, Rosado A, Correa TM. ^1H -NMR Spectroscopy Study of Oleic Acid and Methyl Oleate Ozonation in different reaction conditions. Rev CENIC [Internet]. 2003 [citado 21 Nov 2023]; 34(1):3–8. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181626017001>.
- (42) Datos de la Base de Datos de Referencia Estándar del NIST 69: *Libro del Web de Química del NIST*. National institute of standards and technology. [citado 21 Nov 2023] Disponible en: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C112801&Mask=2000#Gas-Chrom>

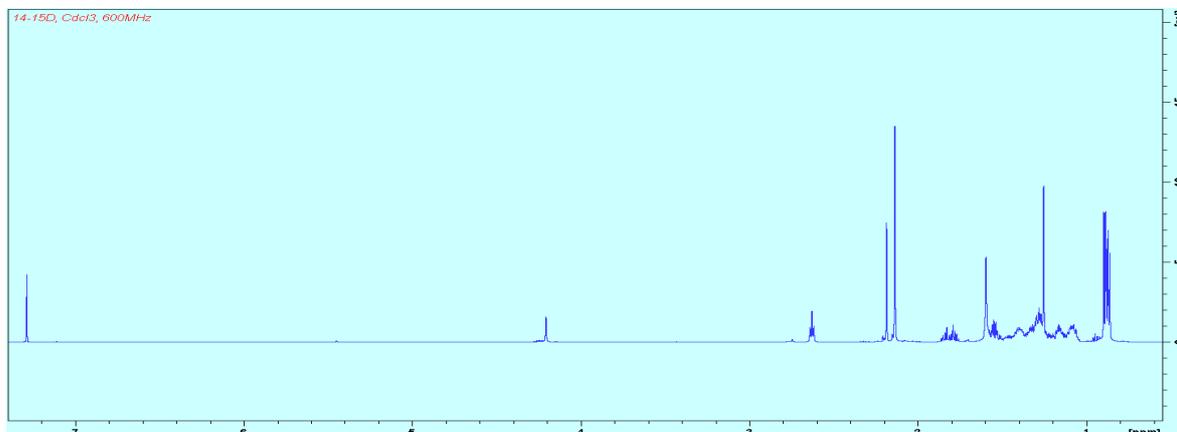
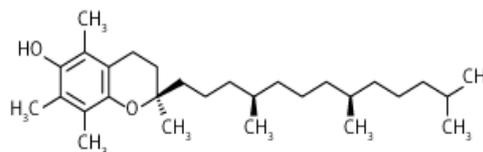
- (43) Rimbach G, Moehring J, Huebbe P, Lodge JK. Gene-regulatory activity of α -tocopherol. *Molecules* [Internet]. 2010 [citado 24 Ene 2024]; 15(3):1746–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules15031746>
- (44) Brigelius-Flohé R. Vitamin E research: Past, now and future. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2021[citado 24 Ene 2024]; 177:381–90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.10.029>
- (45) Vardi M, Levy NS, Levy AP. Vitamin E in the prevention of cardiovascular disease: the importance of proper patient selection. *J Lipid Res* [Internet]. 2013[citado 24 Ene 2024]; 54(9):2307–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.r026641>
- (46) Rizvi S, Raza ST, Ahmed F, Ahmad A, Abbas S, Mahdi F. The role of vitamin e in human health and some diseases. *Sultan Qaboos Univ Med J* [Internet]. 2014 [citado 24 Ene 2024]; 14(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24790736/>
- (47) Han G, Lee DG. Antibacterial mode of action of β -amyryn promotes apoptosis-like death in *Escherichia coli* by producing reactive oxygen species. *J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2022; [citado 25 Ene 2024]; 32(12):1547–52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.2209.09040>
- (48) Viet TD, Xuan TD, Anh LH. A-amyryn and β -amyryn isolated from *Celastrus hindsii* leaves and their antioxidant, anti-xanthine oxidase, and anti-tyrosinase potentials. *Molecules* [Internet]. 2021;[citado 25 Ene 2024];26(23):7248. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules26237248>
- (49) Park SJ, Ahn YJ, Oh SR, Lee Y, Kwon G, Woo H, et al. Amyryn attenuates scopolamine-induced cognitive impairment in mice. *Biol Pharm Bull* [Internet]. 2014; [citado 25 Ene 2024];37(7):1207–13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.b14-00113>
- (50) Gallo B.C. M, Sarachine MJ. Biological activities of Lupeol. *International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. [Internet] 2009 [citado 25 Ene 2024] (3) p. 46-66. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/227878150_Biological_Activities_of_Lupeol
- (51) Shwe HH, Win KK, Moe TT, Myint AA, Win T. Isolation and structural characterization of lupeol from the stem bark of *Diospyros ehretioides* wall [Internet] 2019 [citado 19 Feb 2024].Disponible en: https://www.ieeesem.com/researchpaper/Isolation_and_Structural_Characterization_of_Lupeol_from_the_Stem_Bark_of_Diospyros_ehretioides_Wall_.pdf
- (52) Villaseñor IM, Angelada J, Canlas AP, Echegoyen D. Bioactivity studies on β -sitosterol and its glucoside. *Phytother Res* [Internet]. 2002 [citado 25 Ene 2024]; 16(5):417–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.910>
- (53) Babu S, Jayaraman S. An update on β -sitosterol: A potential herbal nutraceutical for diabetic management. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2020; [citado 25 Ene 2024] 131(110702):110702. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110702>

- (54) Rashed, K. Beta-sitosterol medicinal properties: A review article. *J. Sci. Innov. Technol*, vol. 9, [Internet] 2020 [citado 25 Ene 2024], p. 208-212.
- (55) Bruneton J. *Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales*, 2ª Ed [Internet] Acibia, 1 octubre 2001, [citado 14 Feb 2024]. 1120 p. pág 126. Disponible en: https://tejadarossi.files.wordpress.com/2017/01/farmacognosia_bruneton.pdf
- (56) Santa-María C, López-Enríquez S, Montserrat-de la Paz S, Geniz I, Reyes-Quiroz ME, Moreno M, Palomares F, Sobrino F, Alba G. Update on Anti-Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid. *Nutrients*. [Internet] 2023 [citado 25 enero 2024]; 15(1):224. <https://doi.org/10.3390/nu15010224>
- (57) Carrillo C, del M. Cavia M^a., Alonso-Torre SR. Antitumor effect of oleic acid; mechanisms of action. A review. *Nutr Hosp* [Internet]. 2012 [citado 25 Ene 2024]; 27(5):1860–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2012.27.6.6010>
- (58) Kowalski S, Lukaszewicz M, Duda-Chodak A, Zięć G. 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) – heat-induced formation, occurrence in food and biotransformation - a review. *Pol J Food Nutr Sci* [Internet]. 2013 [citado 26 Ene 2024]; 63(4):207–25. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2478/v10222-012-0082-4>
- (59) Wang Y, A. Brown C, Chen R, Industrial production, application, microbial biosynthesis and degradation of furanic compound, hydroxymethylfurfural (HMF). *AIMS Microbiol* [Internet]. 2018 [citado 26 Ene 2024]; 4(2):261–73. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3934/microbiol.2018.2.261>
- (60) Koo, Sang Ho; Wu Bo; Jung, Hyun Uk; In, Ik Joon; Chang, Yong Keun; Lee, Bong Soo Novel pyrrolo-lactone and pyrrole compounds inducing cellular glutathione recovery effect against reactive oxygen species and method for preparing the same. [Internet]. Korea. KR101951752B1. 25 febrero 2019. [consultado 17 Feb 2024]. Disponible en: <https://worldwide.espacenet.com/patent/search?q=pn%3DKR101951752B1>
- (61) Dewick Paul M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*, 3rd Ed. [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2009. [citado 27 Ene 2024]. 539 p. pág 171. Disponible en: <https://www.researchgate.net/profile/Br-Rajeswara-Rao/post/What-is-the-most-efficient-method-for-extraction-of-phytochemicals-from-plants/attachment/59d6460ec49f478072eae356/AS%3A273831233556480%401442297861397/download/Medicinal+Natural+Products-Paul.pdf>
- (62) Rodríguez-Arce E, Saldías M. Antioxidant properties of flavonoid metal complexes and their potential inclusion in the development of novel strategies for the treatment against neurodegenerative diseases. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2021 [citado 27 Ene 2024]; 143(112236):112236. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112236>
- (63) Bule M, Abdurahman A, Nikfar S, Abdollahi M, Amini M. Antidiabetic effect of quercetin: A systematic review and meta-analysis of animal studies. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2019 [citado 27 Ene 2024]; 125:494–502. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2019.01.037>

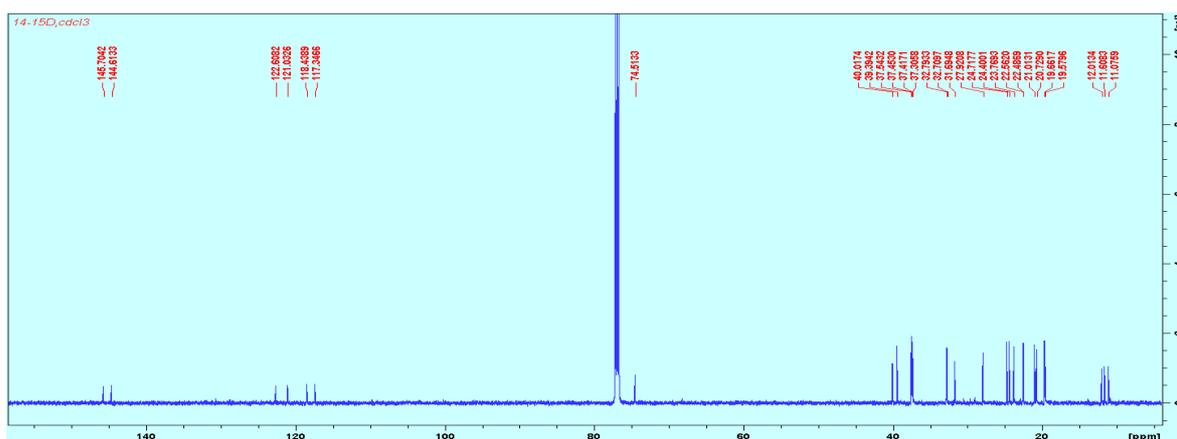
GALERÍA DE ESPECTROS

Fracción 14-15D: α -tocoferol (1)

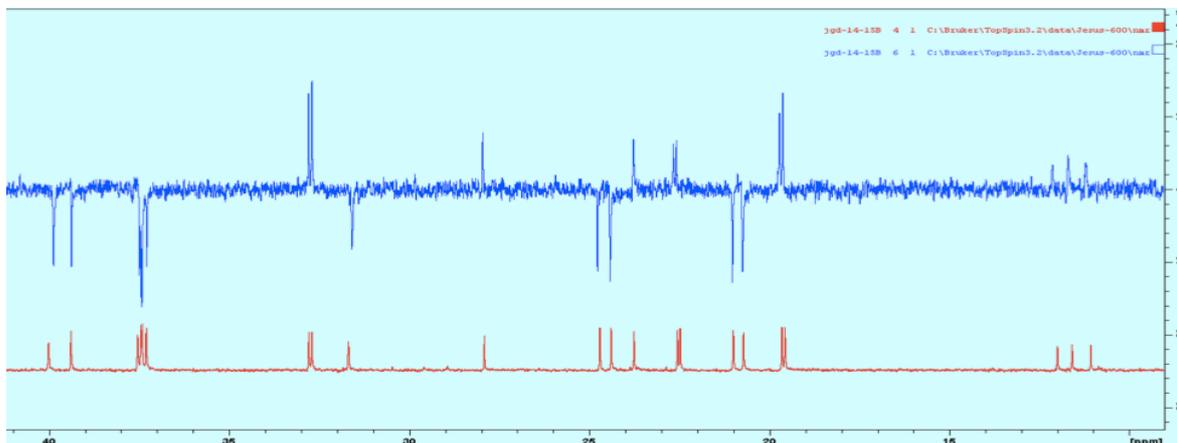
^1H -RMN de 14-15D



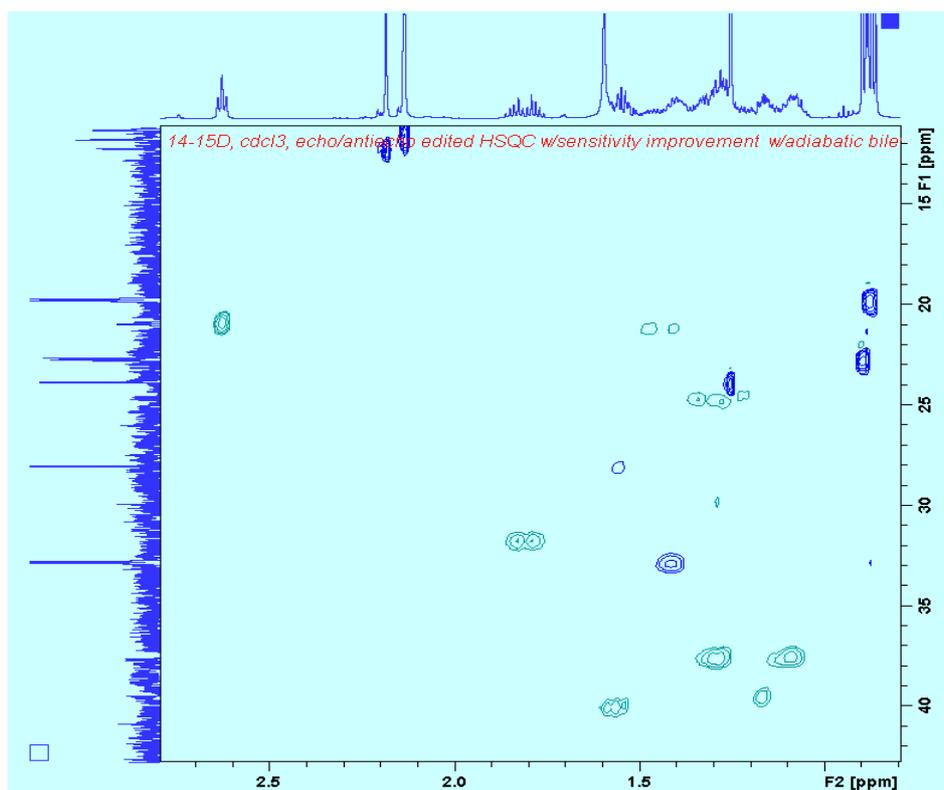
^{13}C -RMN de 14-15D



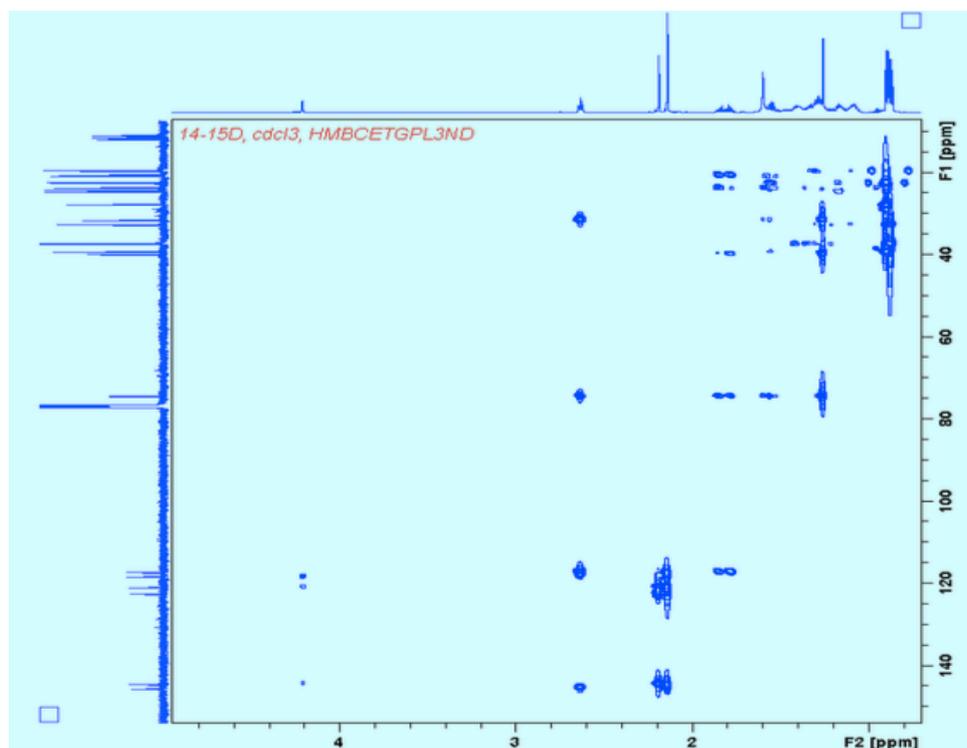
DEPT de 14-15D



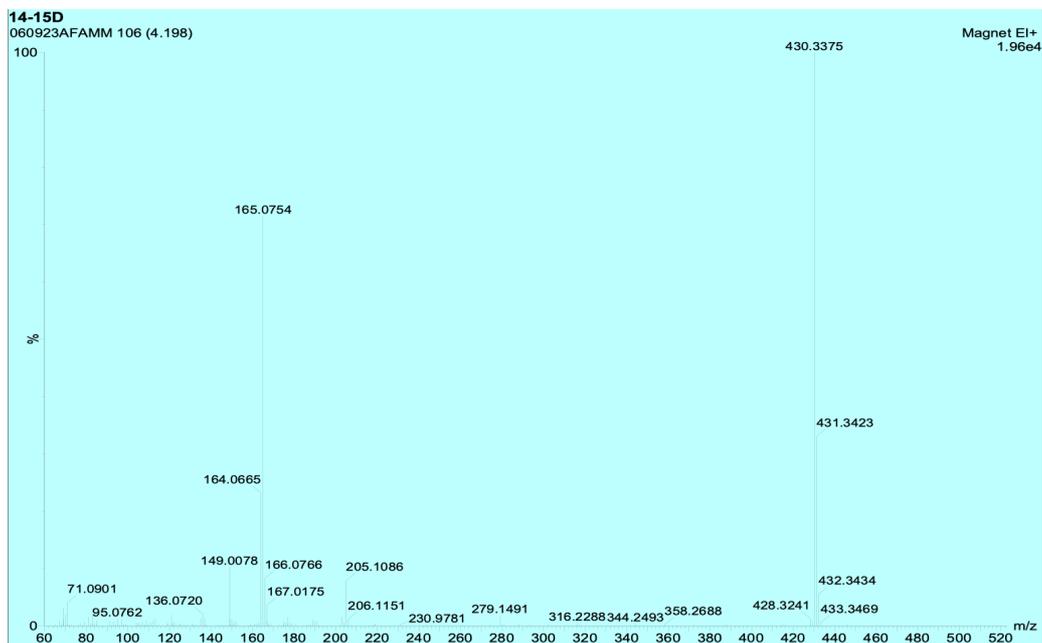
HSQC de 14-15D



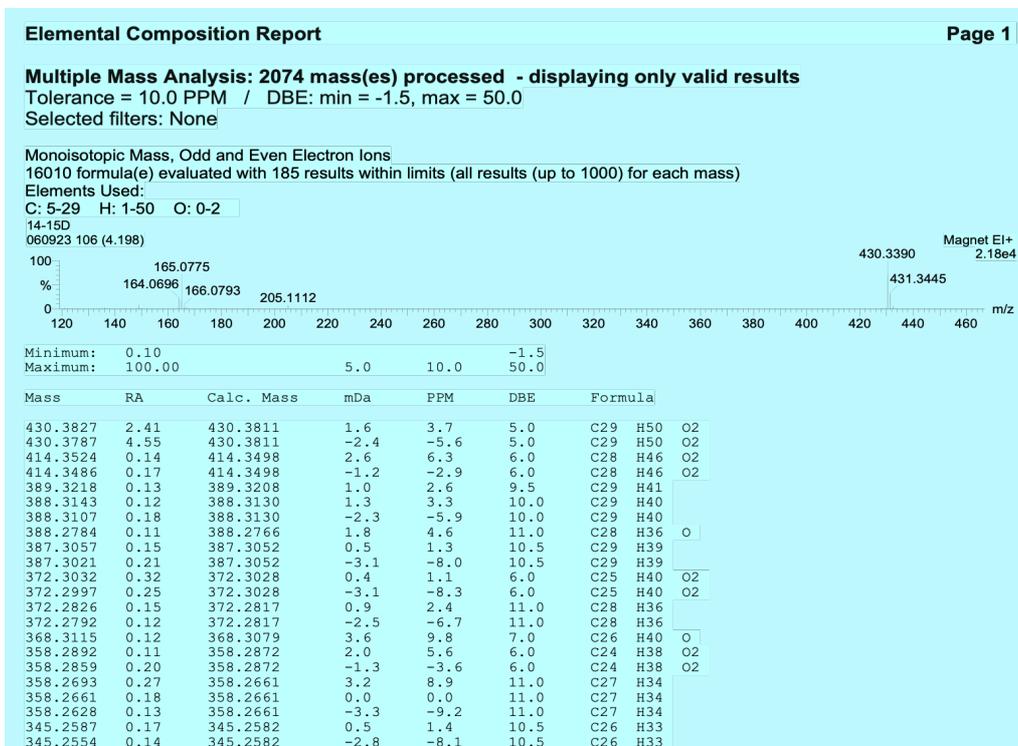
HMBC de 14-15D



Espectro de masas de 14-15D

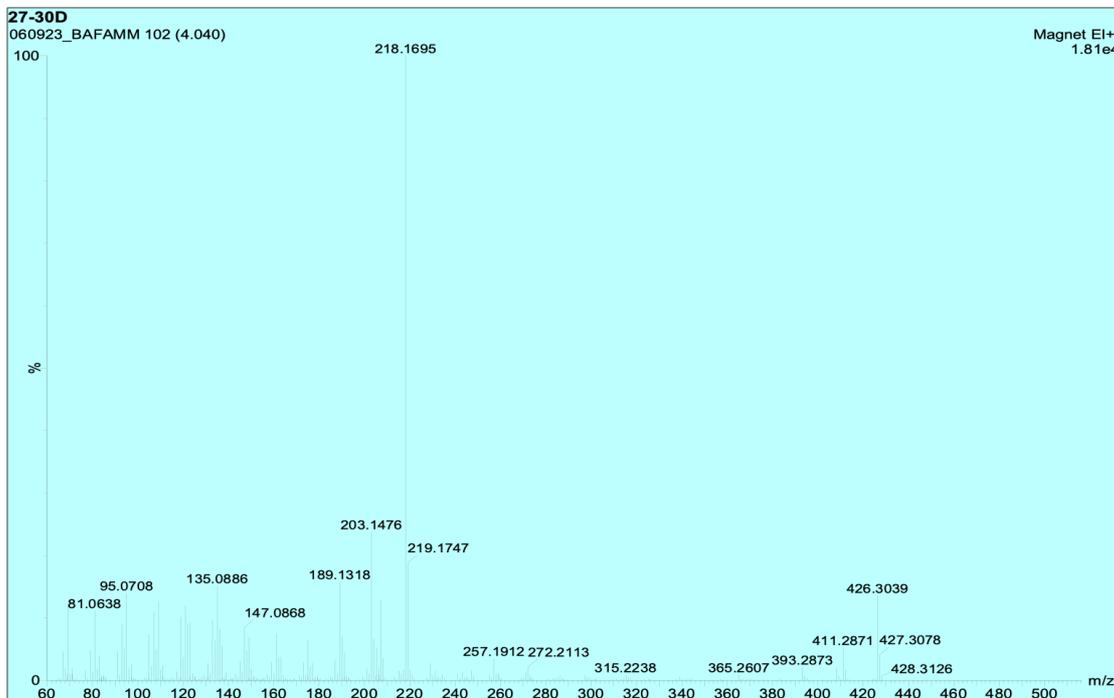
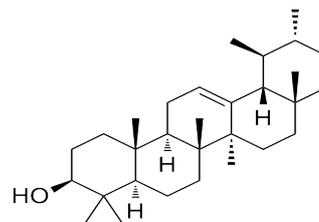


Espectro de masas de 14-15D

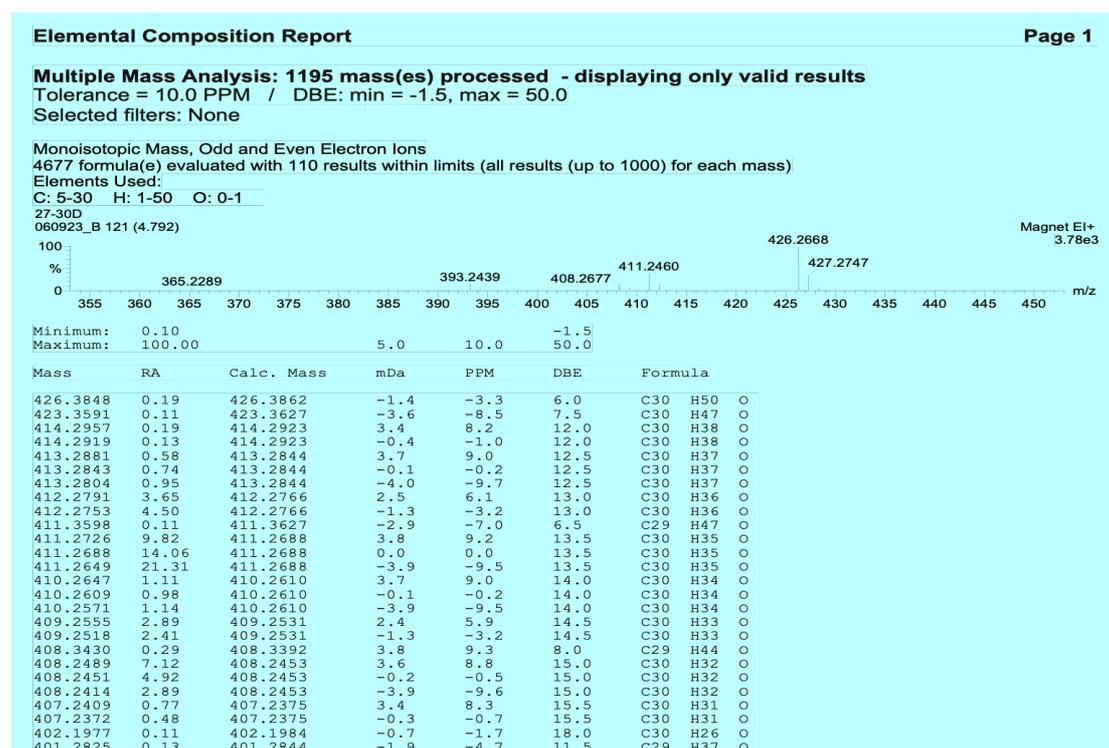


Fracción 27-30D: α -amirina (2)

Espectro de Masas 27-30D: α -amirina

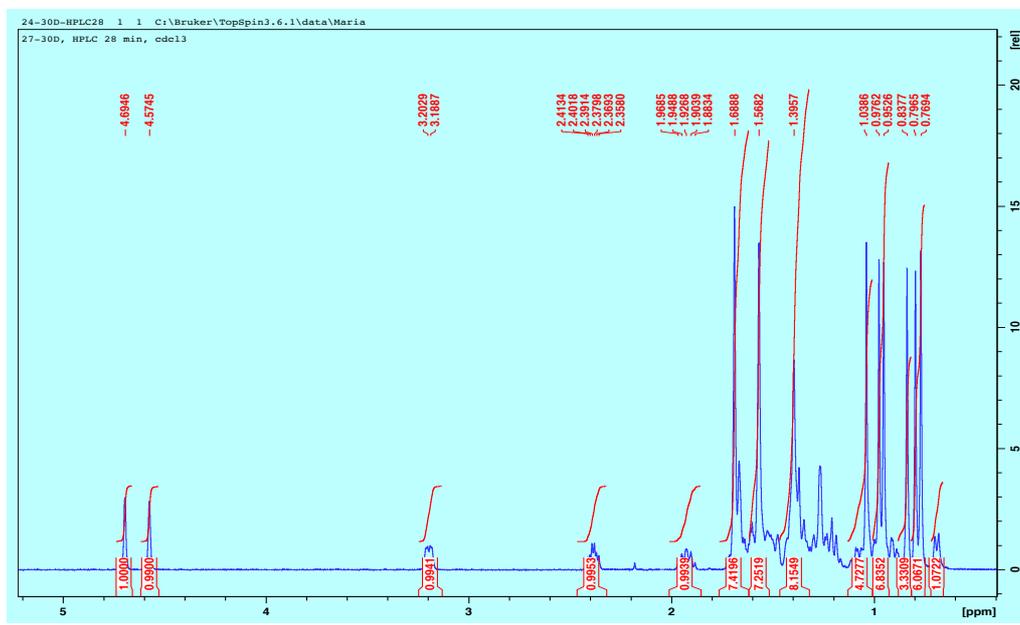
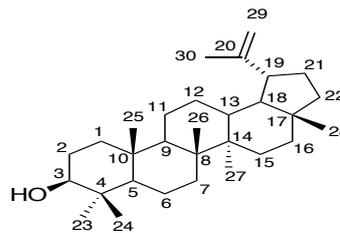


Espectro de masas 27-30D

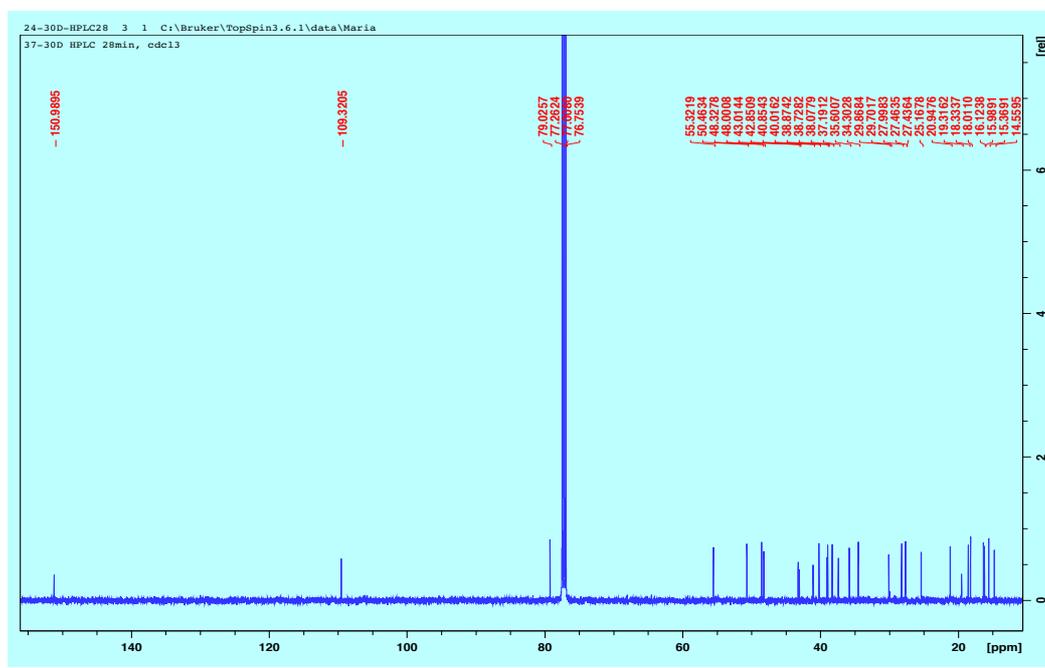


Fracción 27-30D: Lupeol (4)

^1H -RMN de Lupeol

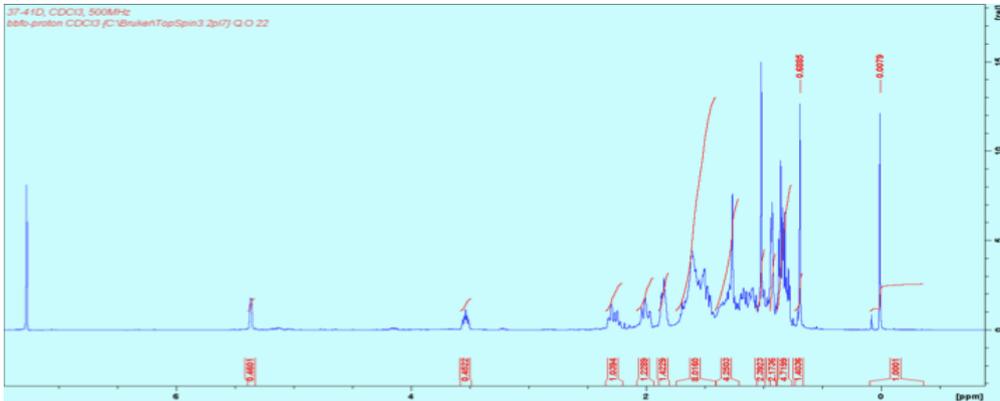
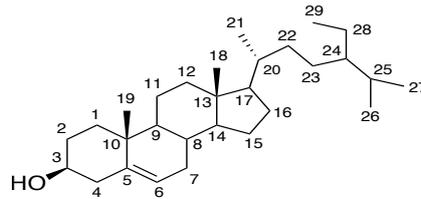


^{13}C -RMN de Lupeol

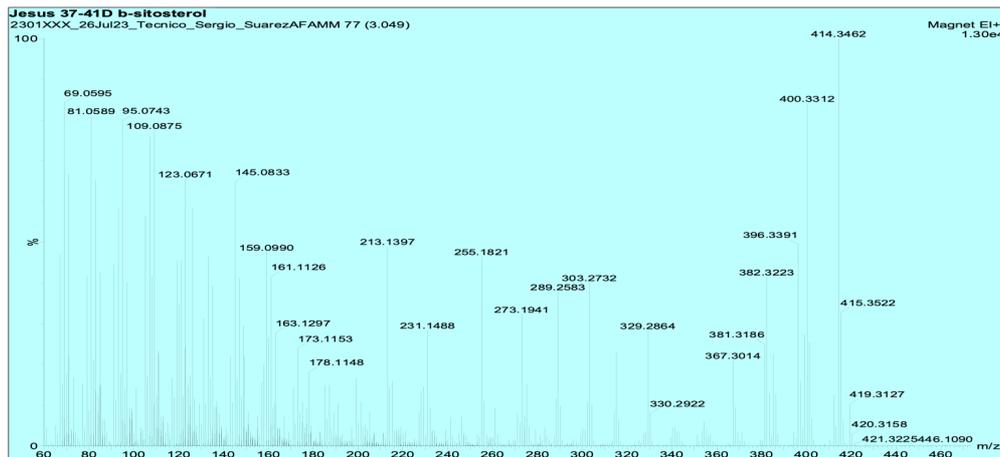


Fracción 37-41D: β -sitosterol (5)

$^1\text{H-RMN}$ de 37-41D:



Espectro de Masas de 37-41D:



Espectro de masas 37-41D

Elemental Composition Report Page 1

Multiple Mass Analysis: 1429 mass(es) processed - displaying only valid results
Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Selected filters: None

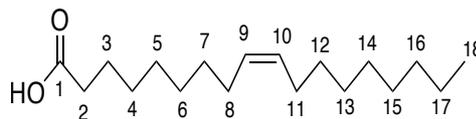
Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
8141 formula(e) evaluated with 206 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)
Elements Used: C: 5-29 H: 2-50 O: 0-1

Jesus 37-41D b-sitosterol
2301XX_26Jul23_Tecnico_Sergio_Suarez76 (3.010) Magnet EI+ 5.60e3

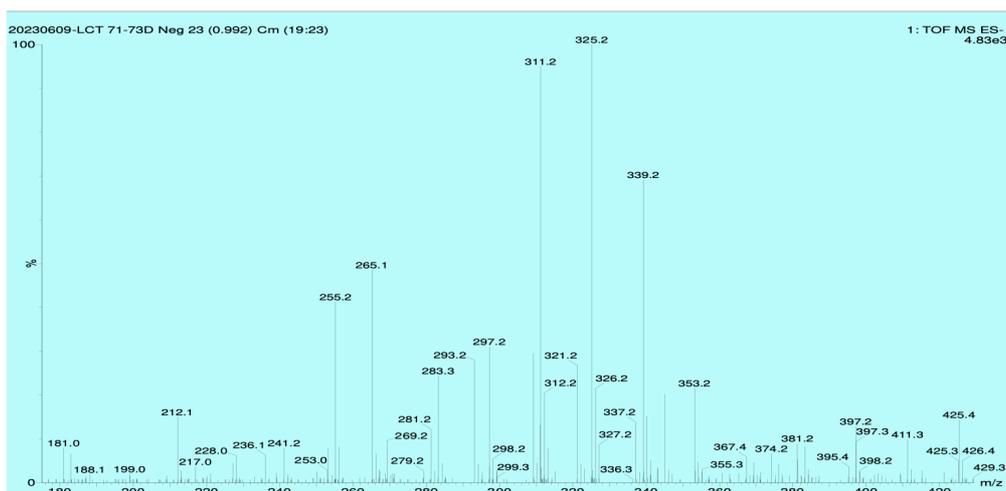
Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula
414.3869	72.15	414.3862	0.7	1.7	5.0	C29 H50 O
414.3831	82.08	414.3862	-3.1	-7.5	5.0	C29 H50 O
413.3789	2.25	413.3783	0.6	1.5	5.5	C29 H49 O
413.3750	2.59	413.3783	-3.3	-8.0	5.5	C29 H49 O
412.3733	9.43	412.3705	2.8	6.8	6.0	C29 H48 O
412.3695	9.76	412.3705	-1.0	-2.4	6.0	C29 H48 O
410.3544	1.04	410.3549	-0.5	-1.2	7.0	C29 H46 O
402.3884	3.77	402.3862	2.2	5.5	4.0	C28 H50 O
402.3846	4.11	402.3862	-1.6	-4.0	4.0	C28 H50 O
401.3799	16.08	401.3783	1.6	4.0	4.5	C28 H49 O
401.3763	17.96	401.3783	-2.0	-5.0	4.5	C28 H49 O
400.3741	46.65	400.3705	3.6	9.0	5.0	C28 H48 O
400.3704	56.44	400.3705	-0.1	-0.2	5.0	C28 H48 O
400.3667	66.32	400.3705	-3.8	-9.5	5.0	C28 H48 O
399.3633	18.22	399.3627	0.6	1.5	5.5	C28 H47 O
399.3597	21.58	399.3627	-3.0	-7.5	5.5	C28 H47 O
398.3520	2.00	398.3513	0.7	1.8	5.0	C29 H50 O
398.3882	2.47	398.3913	-3.1	-7.8	5.0	C29 H50 O
398.3552	4.98	398.3549	0.3	0.8	6.0	C28 H46 O
398.3515	3.81	398.3549	-3.4	-8.5	6.0	C28 H46 O

Fracción 71-73 D: *Ácido oleico* (6)

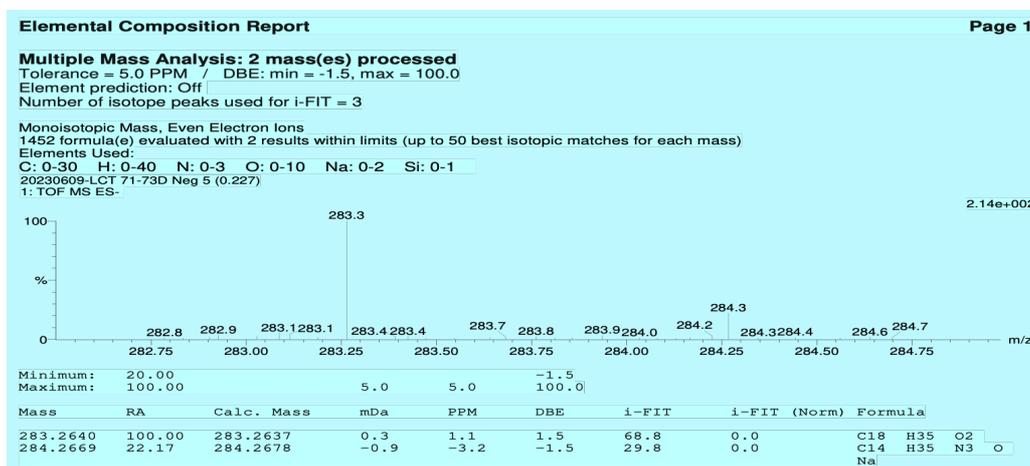
^1H -RMN de 71-73D



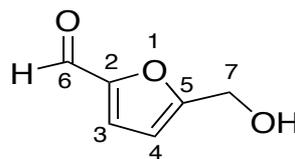
Espectro de masas de 71-73D



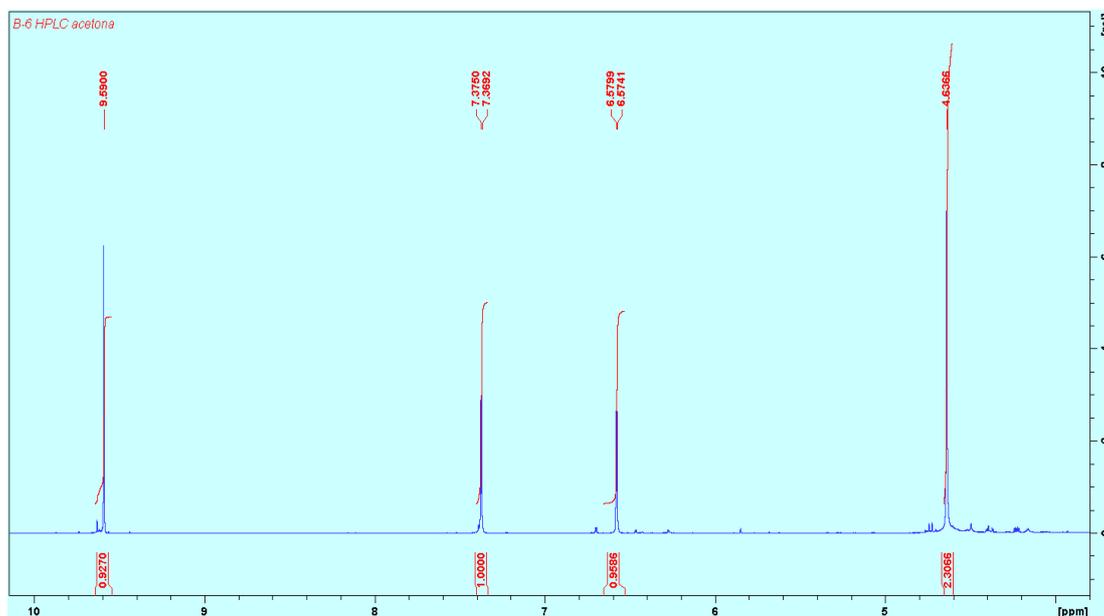
Espectro de masas de 71-73D



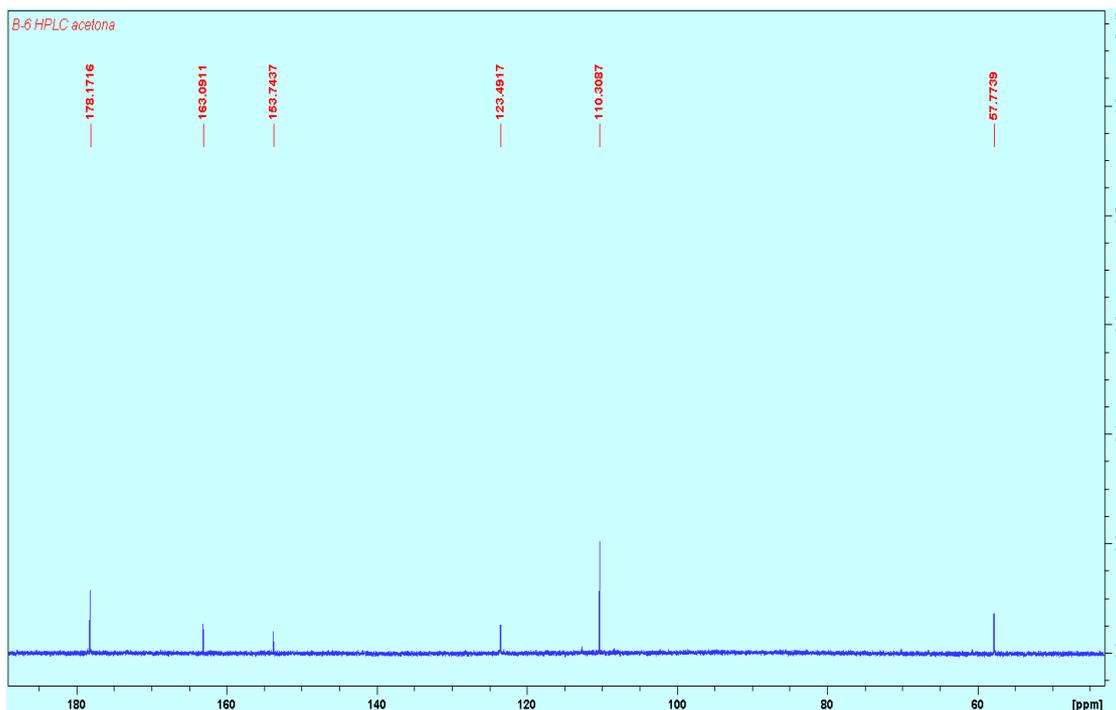
Fracción 6B-HPLC: 5-hidroximetilfurfural (HMF) (7)



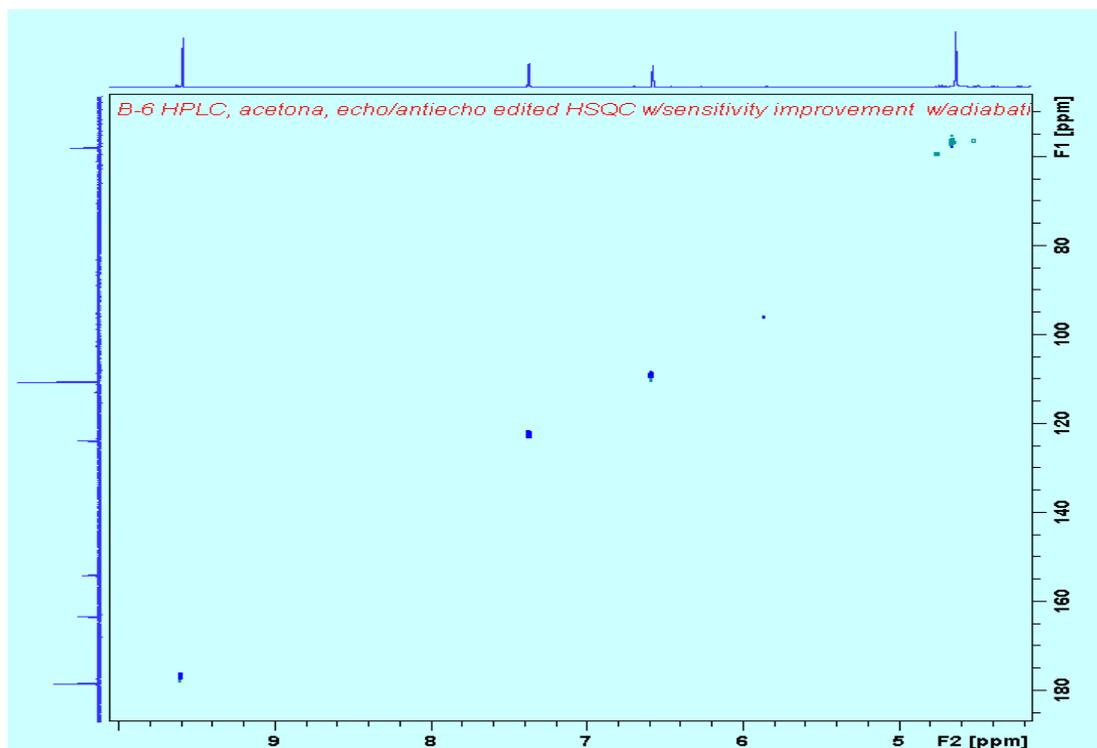
¹H-RMN de 6B-HPLC:



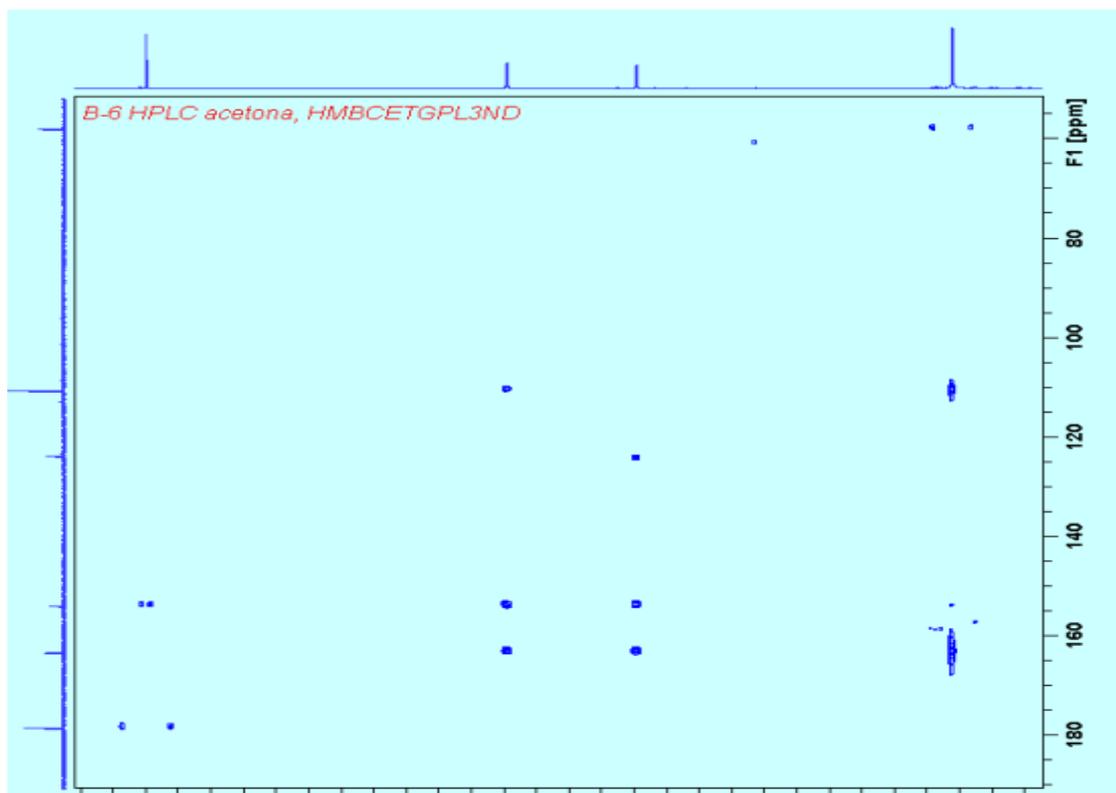
¹³C RMN de 6B-HPLC:



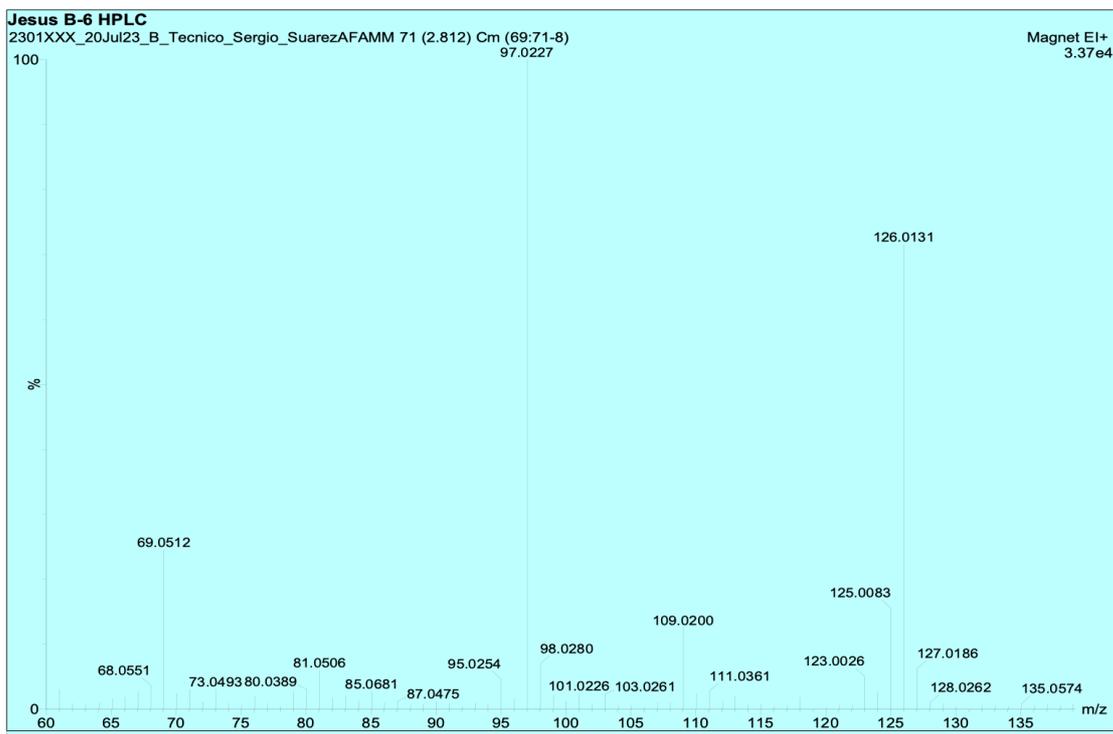
HSQC de 6B-HPLC:



HMBC de 6B-HPLC



Espectro de masas de 6B-HPLC



Espectro de masas de 6B-HPLC

Elemental Composition Report Page 1

Multiple Mass Analysis: 2225 mass(es) processed - displaying only valid results
Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Selected filters: None

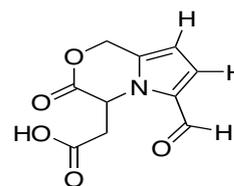
Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
4814 formula(e) evaluated with 34 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)
Elements Used:
C: 2-6 H: 2-6 O: 0-3

Jesus B-6 HPLC
2301XXX_20Jul23_B_Tecnico_Suarez 69 (2.733)
Magnet EI+ 3.68e4

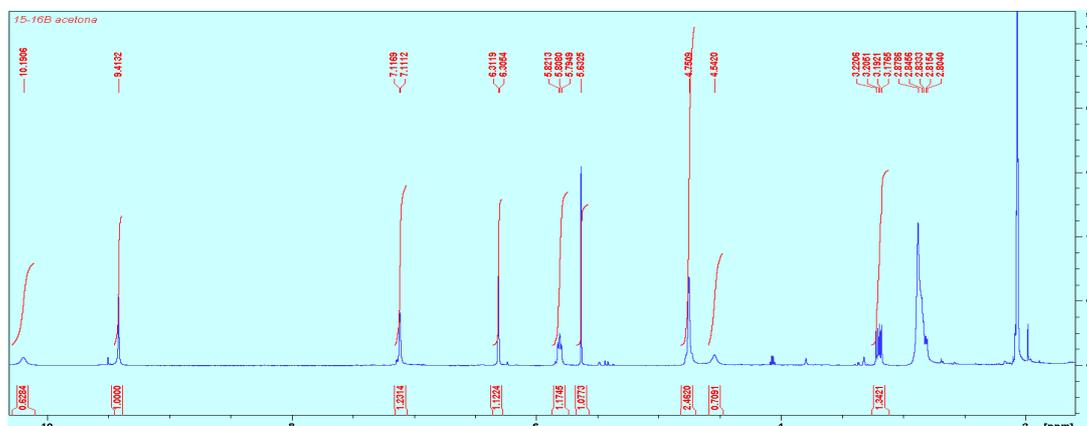
Minimum: 0.10
Maximum: 100.00

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	Formula
126.0322	6.31	126.0317	0.5	4.0	4.0	C6 H6 O3
126.0311	8.87	126.0317	-0.6	-4.8	4.0	C6 H6 O3
125.0248	0.39	125.0239	0.9	7.2	4.5	C6 H5 O3
125.0236	0.61	125.0239	-0.3	-2.4	4.5	C6 H5 O3
124.0163	0.21	124.0160	0.3	2.4	5.0	C6 H4 O3
124.0152	0.25	124.0160	-0.8	-6.5	5.0	C6 H4 O3
123.0092	0.27	123.0082	1.0	8.1	5.5	C6 H3 O3
123.0081	0.34	123.0082	-0.1	-0.8	5.5	C6 H3 O3
123.0070	0.37	123.0082	-1.2	-9.8	5.5	C6 H3 O3
113.0239	0.14	113.0239	0.0	0.0	3.5	C5 H5 O3
113.0229	0.14	113.0239	-1.0	-8.8	3.5	C5 H5 O3
110.0365	0.12	110.0368	-0.3	-2.7	4.0	C6 H6 O2
109.0300	0.91	109.0290	1.0	9.2	4.5	C6 H5 O2
109.0290	1.16	109.0290	0.0	0.0	4.5	C6 H5 O2
109.0280	1.56	109.0290	-1.0	-9.2	4.5	C6 H5 O2
101.0242	0.33	101.0239	0.3	3.0	2.5	C4 H5 O3
101.0233	0.37	101.0239	-0.6	-5.9	2.5	C4 H5 O3
100.0169	0.11	100.0160	0.9	9.0	3.0	C4 H4 O3
100.0160	0.12	100.0160	0.0	0.0	3.0	C4 H4 O3

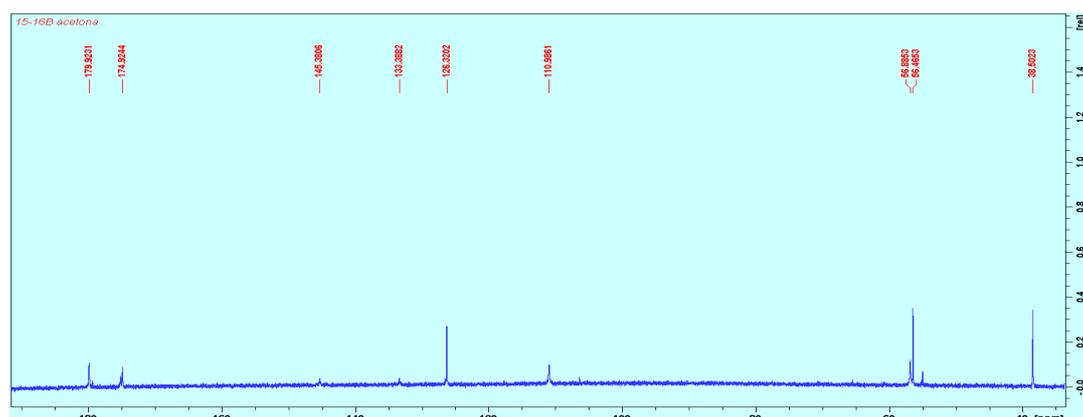
Fracción 15-16B: Pirrol-lactona (8)



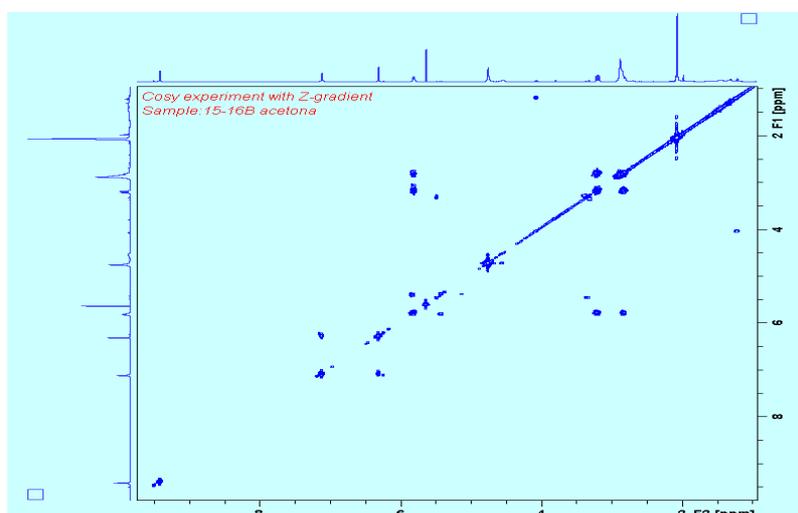
$^1\text{H-RMN}$ de 15-16B



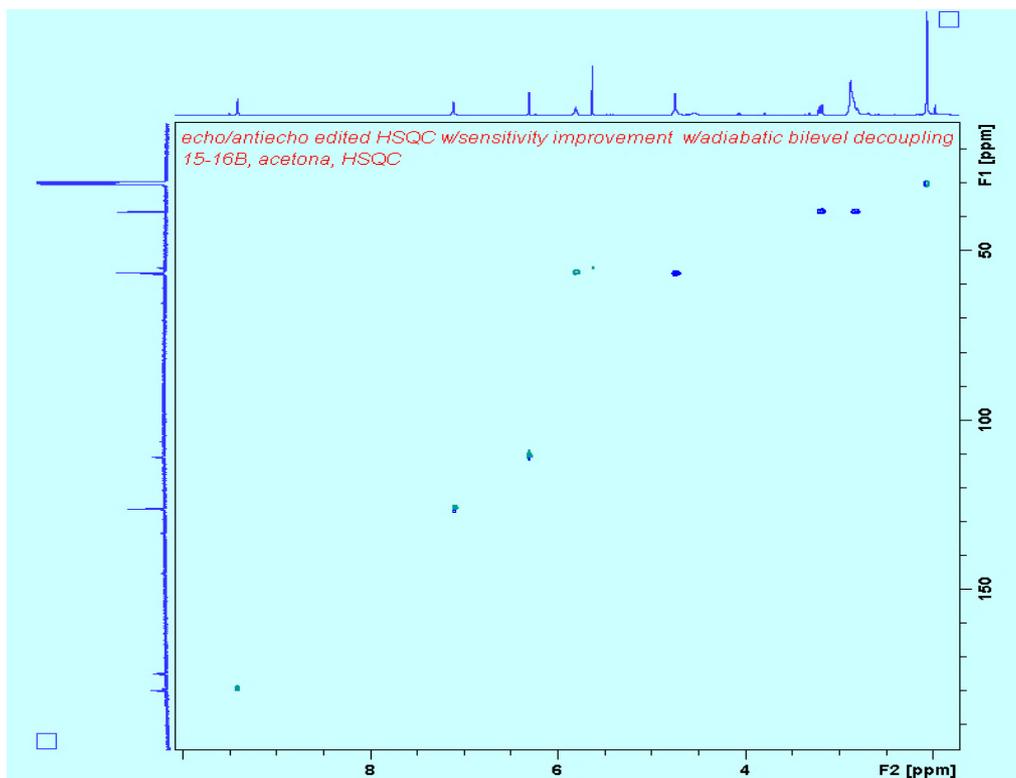
$^{13}\text{C-RMN}$ de 15-16B



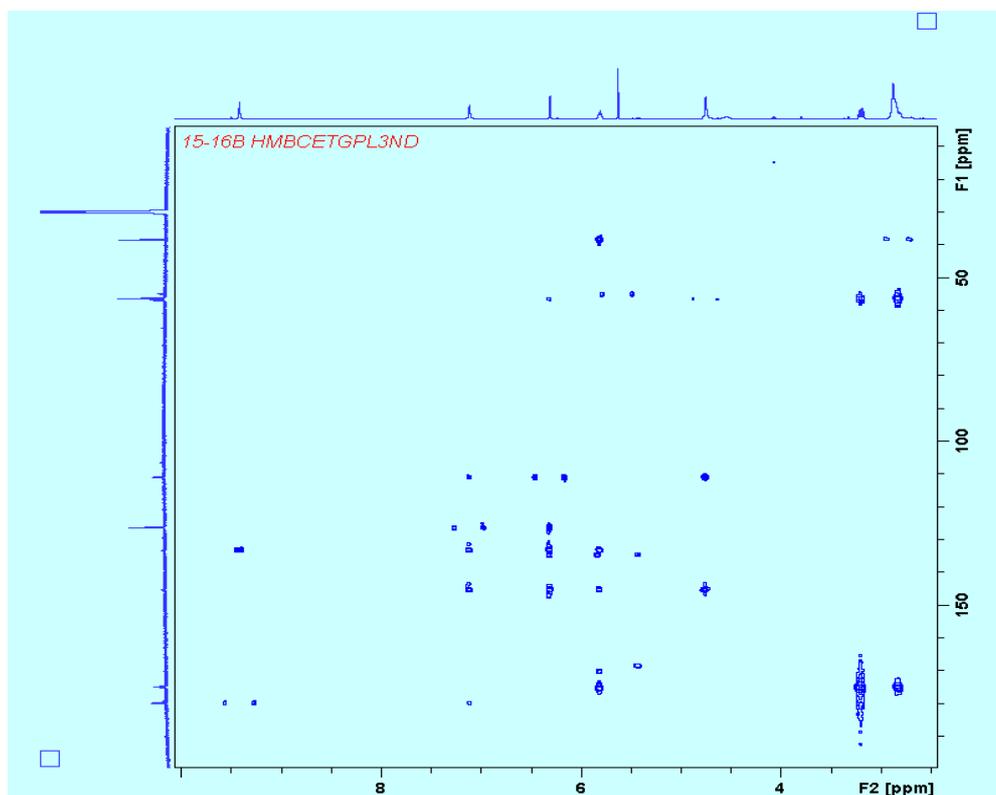
COSY de 15-16B



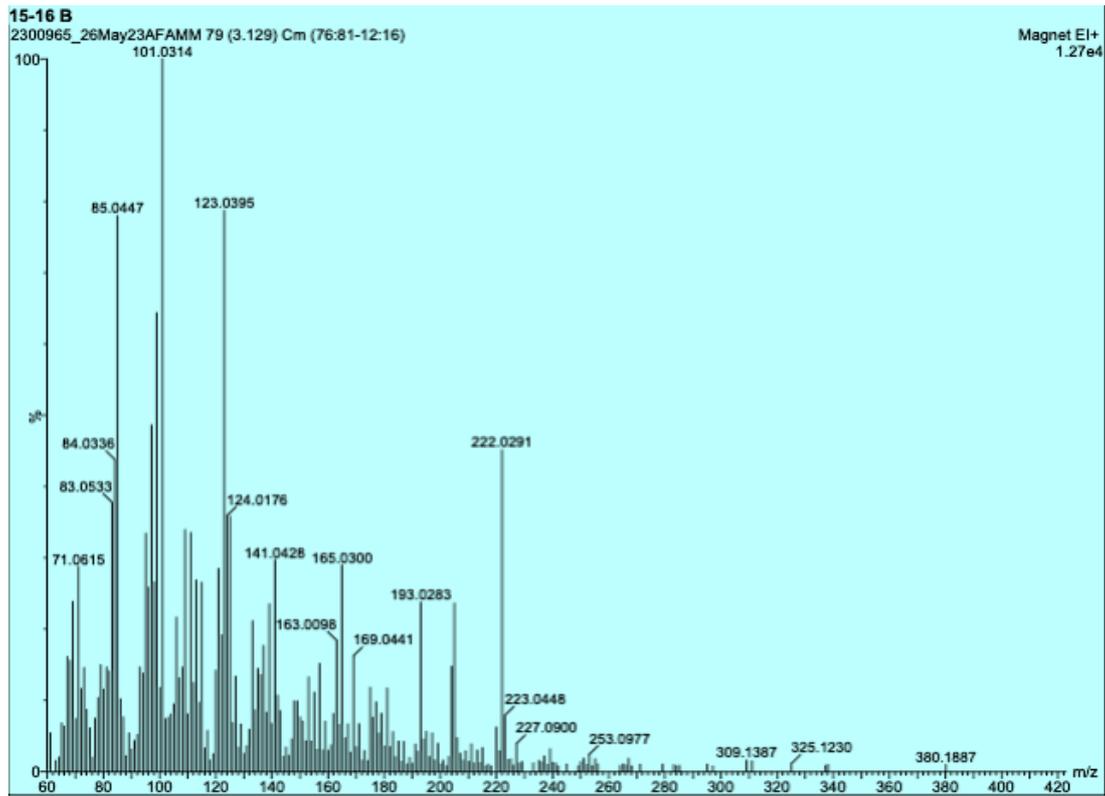
HSQC de 15-16B



HMBC de 15-16B



Espectro de Masas de 15-16B



Espectro de masas 15-16B

Elemental Composition Report Page 1

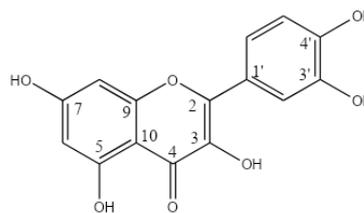
Multiple Mass Analysis: 13179 mass(es) processed - displaying only valid results
Tolerance = 10.0 PPM / DBE: min = -1.5, max = 50.0
Selected filters: None

Monoisotopic Mass, Odd and Even Electron Ions
127124 formula(e) evaluated with 131 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)
Elements Used:
C: 10-10 H: 5-10 N: 0-1 O: 0-5

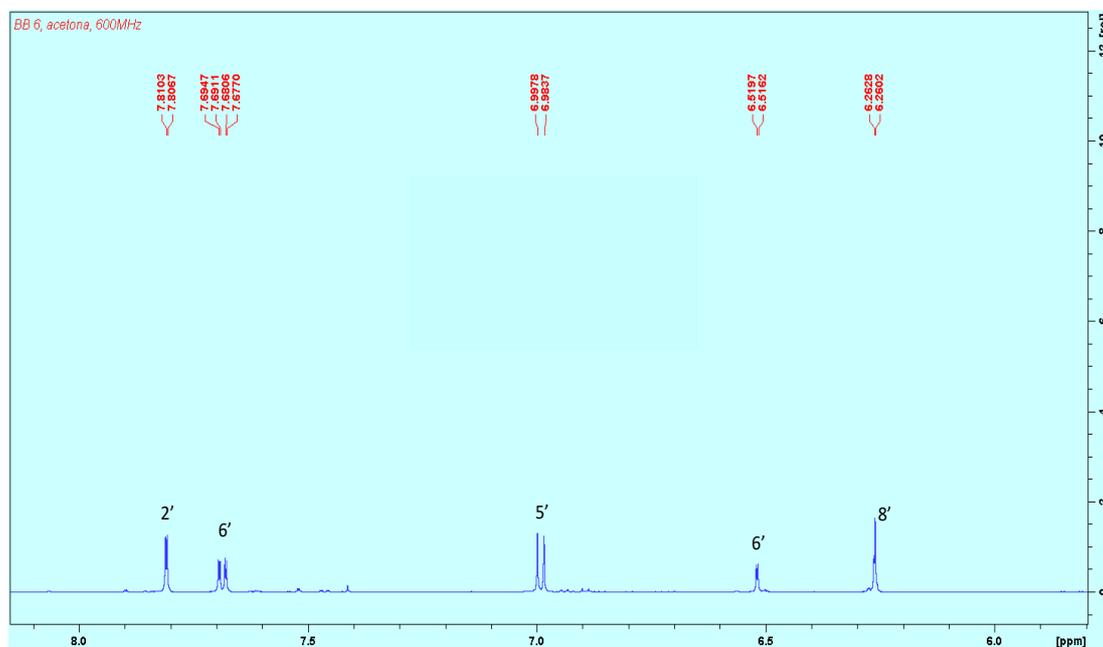
15-16 B
2300965_26May23 79 (3.129) Magnet EI+ 2.10e4

Mass	RA	Calc. Mass	nDa	PPM	DBE	Formula
224.0565	0.29	224.0559	0.6	2.7	6.5	C10 H10 N O5
224.0545	0.20	224.0559	-1.4	-6.2	6.5	C10 H10 N O5
223.0493	0.51	223.0481	1.2	5.4	7.0	C10 H9 N O5
223.0472	0.55	223.0481	-0.9	-4.0	7.0	C10 H9 N O5
222.0405	1.48	222.0402	0.3	1.4	7.5	C10 H8 N O5
222.0384	3.37	222.0402	-1.8	-8.1	7.5	C10 H8 N O5
221.0341	0.31	221.0324	1.7	7.7	8.0	C10 H7 N O5
221.0321	0.30	221.0324	-0.3	-1.4	8.0	C10 H7 N O5
220.0263	0.26	220.0246	1.7	7.7	8.5	C10 H6 N O5
220.0243	0.37	220.0246	-0.3	-1.4	8.5	C10 H6 N O5
219.0170	0.15	219.0160	0.2	0.9	9.0	C10 H5 N O5
219.0150	0.15	219.0160	-1.8	-8.2	9.0	C10 H5 N O5
210.0543	0.16	210.0528	1.5	7.1	6.0	C10 H10 O5
210.0523	0.23	210.0528	-0.5	-2.4	6.0	C10 H10 O5
209.0465	0.17	209.0450	1.5	7.2	6.5	C10 H9 O5
208.0627	0.59	208.0610	1.7	8.2	6.5	C10 H10 N O4
208.0607	0.67	208.0610	-0.3	-1.4	6.5	C10 H10 N O4
208.0378	0.13	208.0372	0.6	2.9	7.0	C10 H8 O5
208.0358	0.12	208.0372	-1.4	-6.7	7.0	C10 H8 O5

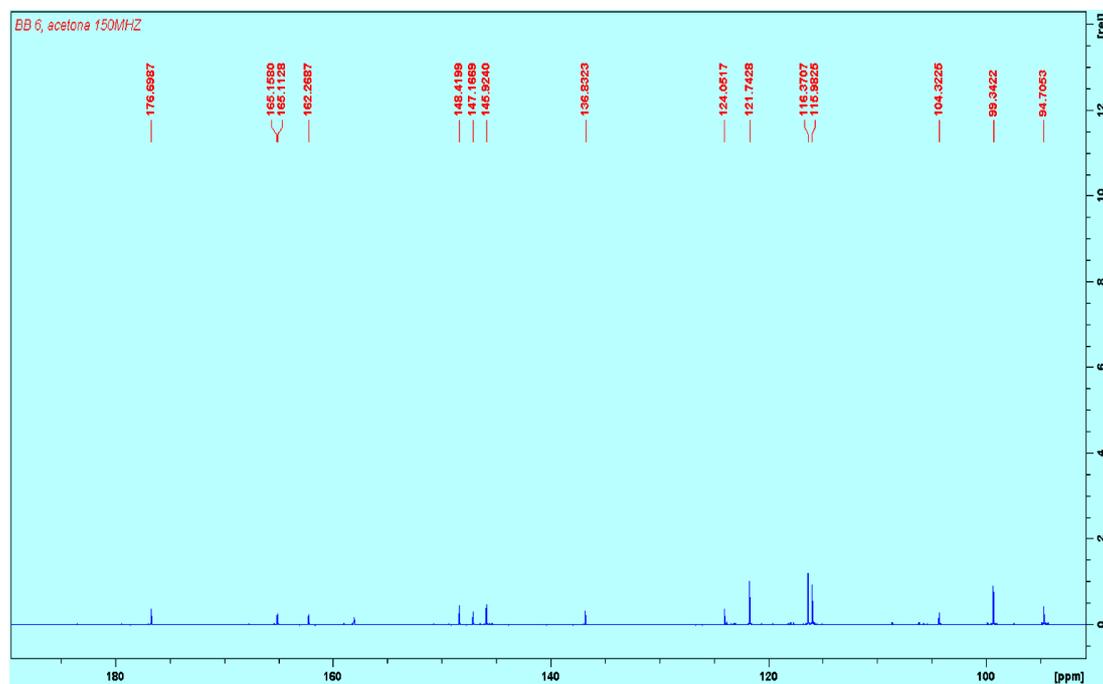
Fracción 8-9B: *Quercetina* (9)



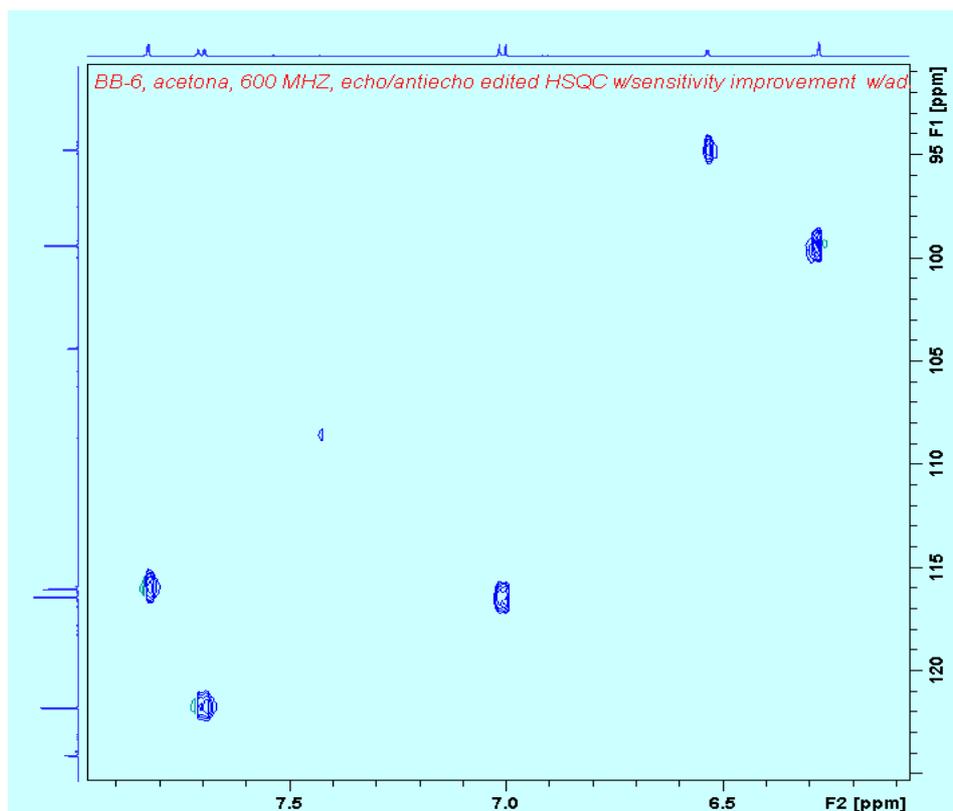
$^1\text{H-RMN}$ de 8-9B



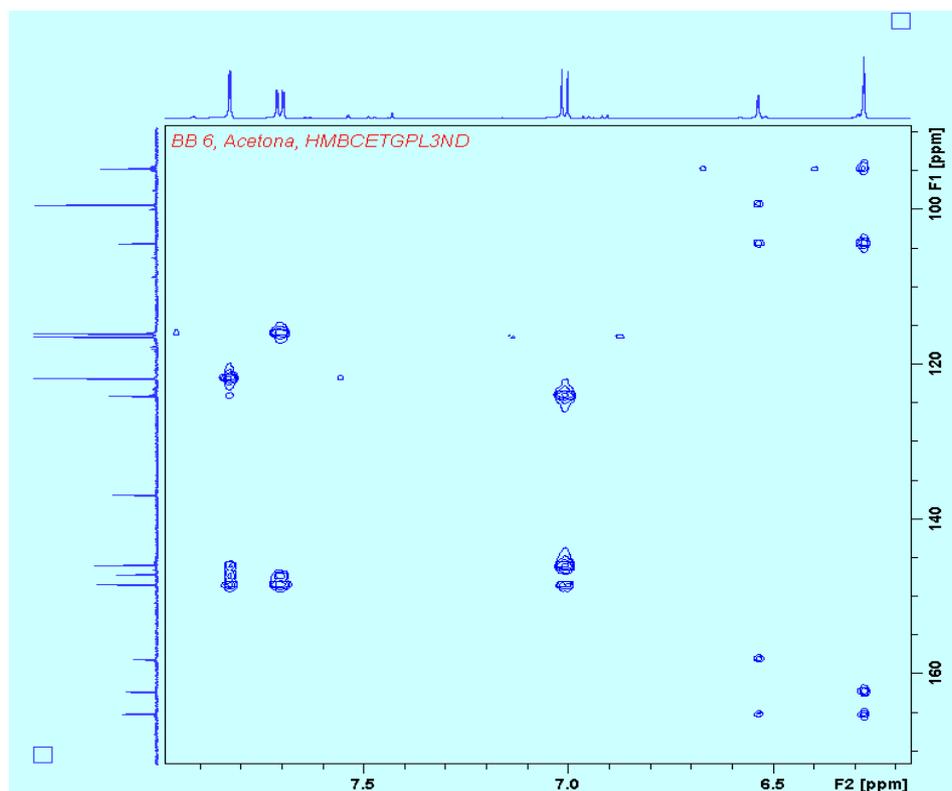
$^{13}\text{C-RMN}$ de 8-9B



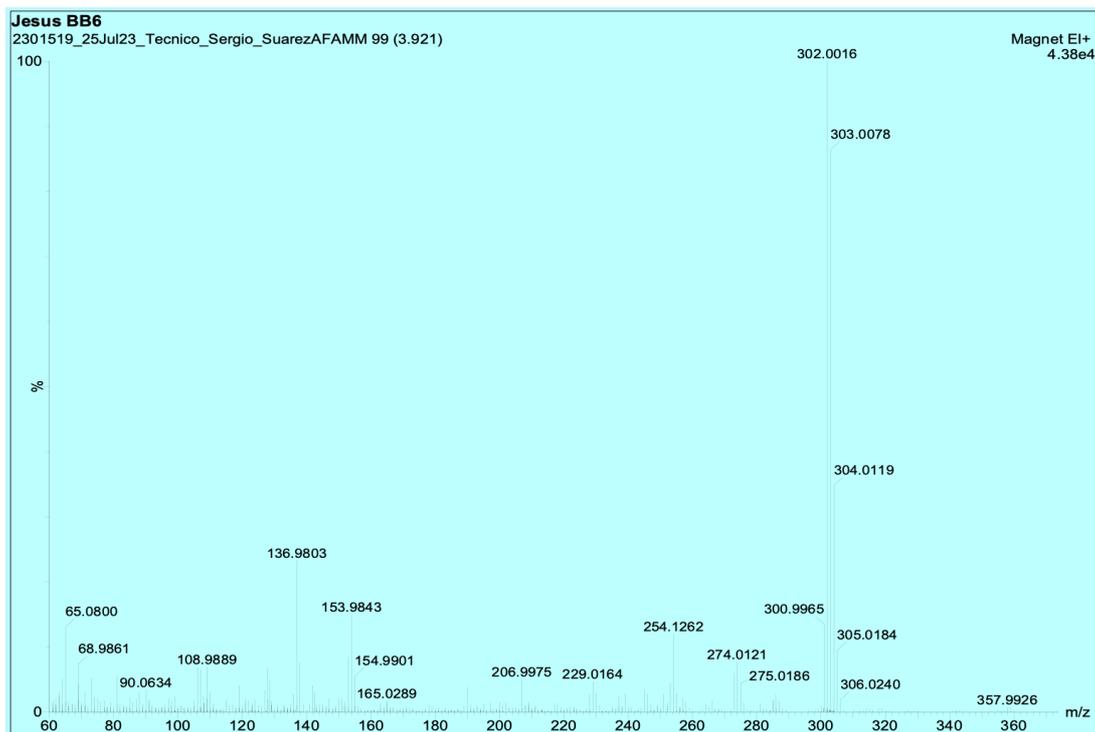
HSQC de 8-9B



HMBC de 8-9B



Espectro de masas de 8-9B



Espectro de masas de 8-9B

