

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE
EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL NATIVO Y UNO MODIFICADO
ESTRUCTURALMENTE



ÁNGELA MARCELA JARAMILLO ESTUPIÑÁN
EDWIN ORLANDO SANDOVAL MENDOZA

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR DE LICENCIATURA EN QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.

2019

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE
EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL NATIVO Y UNO MODIFICADO
ESTRUCTURALMENTE

ÁNGELA MARCELA JARAMILLO ESTUPIÑÁN

Código: 20081150030

EDWIN ORLANDO SANDOVAL MENDOZA

Código: 20072150060

Proyecto para ser desarrollado como requisito parcial para optar al título de licenciados en
Química

Proyecto asociado a la

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN SÍNTESIS ORGÁNICA

Director:

JOSUÉ ANSELMO GARCÍA ORTIZ

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
PROYECTO CURRICULAR DE LICENCIATURA EN QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.

2019

DEDICATORIA

Emma gracias por tanto amor, compañía, apoyo y provisión; gracias porque has sido mi motor para llegar hasta este punto, porque con tu cariño limpiaste mis lágrimas para que hoy yo pueda decirte que estoy por ti y para ti.

Ángela

Evila: En cada instante tus palabras retumban en mi mente, quisiera poder compartir contigo hoy lo que siento, lo que soy.

Ana María, Sarah y Luciana: por ser, por estar, por recordarme la responsabilidad que conlleva amar.

A Franky Sandoval: Compañero en la adversidad más que en la calma.

Orlando

AGRADECIMIENTOS

Dios, gracias por todos estos años de aprendizaje, por permitirnos contar con personas muy valiosas en este proceso. Agradecemos al profe Josué, por ser maestro, amigo y padre en este largo proceso que culmina, por creer en nosotros, por darnos mil oportunidades para aprender lo que la vida nos estaba enseñando. A nuestro compañero Andrés, por su apoyo, por las horas de compañía, por la preocupación de lograr un buen resultado, por ser amigo y compañero. Al cuerpo docente de la universidad, por haber compartido su formación de vida para hacernos crecer; por su carácter para pautar fuerza y determinación en nosotros. A nuestra universidad, por ser la fuente de este conocimiento.

A nuestras familias, amigos, compañeros y a todas aquellas personas que de una u otra manera estuvieron ahí ayudándonos y motivándonos para terminar la carrera.

A todos ... Siempre ... GRACIAS

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	1
1. GENERALIDADES.....	3
1.1. JUSTIFICACIÓN	3
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.3. OBJETIVOS.....	5
1.3.1. Objetivo general	5
1.3.2. Objetivos específicos	5
2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. APROXIMACIÓN AL ESTUDIO DE ACEITES ESENCIALES.....	7
2.1.1. Aceites esenciales modificados	9
2.2. FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA	10
2.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS A ESTUDIAR.....	13
2.3.1. Eucalyptus spp.....	13
2.3.2. Coronopus didymus	15
2.4. QUÍMICA CLICK.....	16
2.4.1. Ciclo adición dipolar de alquinos y azidas catalizada por cobre (CuAAC)...	17
2.4.2. Mecanismo de reacción de CuAAC	18
2.5. LIPASA PANCREÁTICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA.....	19

3. METODOLOGÍA	21
3.1. MUESTRAS VEGETALES Y PROCESOS DE EXTRACCIÓN.....	21
3.1.1. Recolección de muestras	21
3.1.2. Extracción de aceites esenciales de las hojas de eucalipto.	22
3.1.3. Extracción de metabolitos secundarios de <i>Coronopus Didymus</i>	22
3.2. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS EXTRACTOS OBTENIDOS.....	23
3.2.1. Los componentes del aceite esencial de la especie <i>Eucalyptus Globulus Labill</i> se determinaron por FT-IR y GC-MS.	23
3.3. FUNCIONALIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL Y EL EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO DE CORONOPUS DIDYMUS.....	24
3.3.1. Halogenación del aceite esencial de <i>Eucalyptus</i>	24
3.3.2. Propalgilación del Eucaliptol	24
1.3.3. Halogenación del extracto crudo de <i>Coronopus didymus</i>	25
3.3.3. Azidación del extracto crudo <i>Coronopus didymus</i>	25
3.4. FUNCIONALIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS POR MEDIO DE LA QUÍMICA “CLICK”	25
3.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA LIPASA PANCREÁTICA.....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27

4.1. Extracción, caracterización y funcionalización del aceite esencial a partir de una muestra de hojas secas y molidas de <i>Eucalyptus Globulus Labill.</i>	27
4.1.1. Extracción	27
4.1.2. Identificación.....	29
4.1.3. Funcionalización del Eucaliptol: Bromación.	40
4.1.4. Propalgilación del Eucaliptol Bromado.	43
4.2. Obtención, caracterización y funcionalización del extracto etanólico a partir de una muestra seca de hojas de <i>Coronopus Didymus.</i>	44
4.2.1. Caracterización Del Extracto Etanólico de <i>Coronopus Didymus</i>	45
4.2.2. Funcionalización del extracto etanólico de <i>Coronopus Didymus</i>	47
4.3. Acoplamiento por medio de química click de los productos funcionalizados de <i>Eucalyptus Gobulus Labill</i> , <i>Cononopus Didymus</i> y Prueba de Actividad Biológica.	59
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES	62
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	71

FIGURA 1. SÍNTESIS DE 1,2,3, TRIAZOLES A PARTIR DE AZIDO ALCOHOLES (VALDOMIR, G., & DAVYT, D. 2009	9
FIGURA 2. TRIAZOLES A PARTIR DE LIMONENO Y P-BR-BENZOATO DE PROPARGILO (VALDOMIR, G., & DAVYT, D.2009).....	10
FIGURA 3.3ESTRUCTURA BÁSICA DEL ESQUELETO DE LOS FLAVONOIDES. (MARTÍNEZ-FLÓREZ, GONZÁLEZ-GALLEGO, CULEBRAS, & TUÑÓN, 2002)	11
FIGURA 4. ESTRUCTURAS BÁSICAS DE LOS DIFERENTES GRUPOS DE FLAVONOIDES (WANG, LI, & BI, 2017)	12
FIGURA 5. PRINCIPALES COMPUESTOS PRESENTES EN EL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS (BARANSKA, Y OTROS, 2005).	14
FIGURA 6. CICLO ADICIÓN DE ALQUINOS Y AZIDAS CATALIZADA POR Cu^I (HUISGEN 2001)	18
FIGURA 7.7MECANISMO DE REACCIÓN PROPUESTO PARA LA CICLO ADICIÓN 1,3-DIPOLAR DE HUISGEN CATALIZADA POR $Cu(I)$. (ROSTOVTSSEV, V. V., GREEN, L. G., & FOKIN, V. V. 2002).	19
FIGURA 8. CROMATOGRAMA EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL.....	30
FIGURA 9. ESPECTROGRAMA INFRARROJO EXPERIMENTAL DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL.	31
FIGURA 10. ESPECTROGRAMA INFRARROJO TEÓRICO DEL 1,8 CINEOL OBTENIDO DE (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (AIST) , 1991).....	32
FIGURA 11.ESPECTROGRAMA INFRARROJO TEÓRICO DE 1,4-CICLOHEXADIENO, 1-METIL-4-(1METILETIL) OBTENIDO DE (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (AIST) , 1991)	33
FIGURA 12.ESPECTRO DE MASAS EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE E. GLOBULUS	34
FIGURA 13.COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA EXPERIMENTAL (SUPERIOR) Y TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO 1,8 CINEOL. OBTENIDOS DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (CENTRO) Y (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNO	35
FIGURA 14.ESPECTRO DE MASAS EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE E. GLOBULUS.FIGURA 13. ESPECTRO DE MASAS EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE E. GLOBULUS.....	36
FIGURA 15. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA EXPERIMENTAL (SUPERIOR) Y TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO TRANS-3-CAREN-2-OL. OBTENIDOS DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (CENTRO) Y (NATIONAL CENTER FOR BIOTCHNOLOGI INFORMATION (NCBI),	37
FIGURA 16. ESPECTRO DE MASAS EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE E. GLOBULUS.....	38

FIGURA 17. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA EXPERIMENTAL (SUPERIOR) Y TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO 1,4-CICLOHEXADIENO, 1-METIL-4-(1METILETIL). OBTENIDOS DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (CENTRO) Y (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCE.....	39
FIGURA 18. REACCIÓN PROPUESTA PARA LA BROMACIÓN DEL EUCALIPTOL.....	40
FIGURA 19. CROMATOGRAMA EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE E. GLOBULUS HALOGENADO	41
FIGURA 20. ESPECTRO DE MASAS EXPERIMENTAL DE ACEITE ESENCIAL DE E. GLOBULUS HALOGENADO	41
FIGURA 21. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO HALOGENADO 2- (3,4-DIBROMO-4-METILCICLOHEXIL). OBTENIDOS DE LA LIBRERÍA DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (SUPERIOR) Y (NATIONAL CENTER FOR BIOTCHNOLOGI I.....	43
FIGURA 22. EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS PRESENTE EN LA ESPECIE CORONOPUS DIDYMUS EMPLEADO EL EQUIPO SOXLET.....	44
FIGURA 23. REACCIÓN GENERAL DE UN FLAVONOIDE CON EL REACTIVO DE SHINODA	46
FIGURA 24. REACCIÓN GENERAL DE UN FLAVONOIDE CON LA VARIACIÓN DEL MÉTODO DE SHINODA INTERCAMBIO DE MG POR ZN	46
FIGURA 25. REACCIÓN GENERAL DE UN FLAVONOIDE CON ÁLCALIS	47
FIGURA 26. REACCIÓN PROPUESTA DE AZIDACIÓN DE CORONOPUS DIDYMUS USANDO LA METODOLOGÍA DADA POR BERNINI R. Y COLABORADORES [2015].....	47
FIGURA 27. CROMATOGRAMA EXTRACTO ETANÓLICO CORONOPUS DIDYMUS HALOGENADO.	48
FIGURA 28. ESPECTRO DE MASAS DE UN COMPUESTO PRESENTE EN EL EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO HALOGENADO DE CORONOPUS DIDYMUS.....	48
FIGURA 29. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO HALOGENADO 3-BROMO-1,2-DIMETILBENCENO OBTENIDOS DE LA LIBRERÍA DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (SUPERIOR) Y (NATIONAL CENTER FOR BIOTCHNOLOGI I.....	49
FIGURA 30. ESPECTRO DE MASAS TEÓRICO PARA UN COMPUESTO PRESENTE EN EL EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO HALOGENADO DE CORONOPUS DIDYMUS.....	50

FIGURA 31. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO HALOGENADO (1,3,3-TRIMETILNONIL) BENCENO OBTENIDOS DE LA LIBRERÍA DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (SUPERIOR) Y (NATIONAL CENTER FOR BIOTCHNOLOGI I	51
FIGURA 32. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO HALOGENADO 1-BROMO-2,4,6-TRIMETIL-BENCENO OBTENIDOS DE LA LIBRERÍA DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (SUPERIOR) Y (NATIONAL CENTER FOR BIOTCHNOLOGI I	52
FIGURA 33. COMPARACIÓN ENTRE LOS ESPECTROS DE MASA TEÓRICOS PARA EL COMPUESTO HALOGENADO 2,5-DIBROMO-P-XILENO OBTENIDOS DE LA LIBRERÍA DEL EQUIPO SHIMADZU QP20 10 PLUS GC-DETECTOR SELECTIVO DE MASAS (SUPERIOR) Y (NATIONAL CENTER FOR BIOTCHNOLOGI I	53
FIGURA 34. ESPECTRO DE MASA 1,5-DIBROMO-2,4-DIMETILBENCENO	54
FIGURA 35. ESPECTRO DE MASA TEÓRICO 1,5-DIBROMO-2,4-DIMETILBENCENO	55
FIGURA 36. ESPECTRO DE MASA 2 BROMO-4-ISOPROPIL-1-METILBENCENO.	56
FIGURA 37. ESPECTRO DE MASA TEÓRICO DEL 2 BROMO-4-ISOPROPIL-1-METILBENCENO.	56
FIGURA 38. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS ALFA, ALFA ¹ - DIBROMO-O-XILENO.	57
FIGURA 39. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS TEÓRICO ALFA, ALFA ¹ - DIBROMO-O-XILENO.	57
FIGURA 40. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS 2,4-DI BROMO-1,3,5-TRI METIL BENCENO.	58
FIGURA 41. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS TEÓRICO 2,4-DI BROMO-1,3,5-TRI METIL BENCENO.....	58
FIGURA 42. AUTOGRAFÍA DIRECTA INHIBICIÓN DE LA LIPASA PANCRÉÁTICA, DE IZQUIERDA A DERECHA; EXTRACTO M1 (EUCALIPTOL). M2 (CORONOPUS DIDYMUS) .M3 (ACEITE ESENCIAL MODIFICADO) Y ORLISTAT (CONTROL POSITIVO).	59

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL EUCALIPTO	71
ANEXO 2. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO	72
ANEXO 3. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO BROMADO.....	75
ANEXO 4. ESPECTRO INFRARROJO ACEITE ESENCIAL DE EUCALIPTO.....	78
ANEXO 5. ESPECTRO GASES ACOPLADO A MASAS CORONOPUS DIDYMUS BROMADO.....	79

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se desarrollan moléculas complejas con actividades farmacológicas que pretenden mejorar la calidad de vida de los seres humanos al utilizarse como tratamiento para diversas enfermedades, sin embargo muchas de las estructuras que se estudian en laboratorios especializados de síntesis tienen una amplia similitud con componentes que pueden ser encontrados en la naturaleza haciendo que el estudio de extracción y utilización de productos naturales y sus potenciales usos dentro del campo de la síntesis orgánica sean un tópico de gran interés para esta rama. Así mismo muchas de las metodologías empleadas para la realización de potenciales principios activos requieren de rutas sintéticas usualmente largas que disminuyen el rendimiento de reacción y el buen aprovechamiento de las materias primas, generando subproductos de desecho que son desperdiciados.

En este trabajo se realiza la revisión de metabolitos secundarios extraídos de las plantas *Eucalyptus Globulus Labill* y *Coronopus Didymus* empleando técnicas de arrastre de vapor y extracción sólido-líquido empleando un equipo Soxhlet, así también, se realizan modificaciones a las estructuras químicas de dichos metabolitos empleando la metodología propuesta por la *Química Click* y se evalúa el potencial inhibitorio de la actividad catalítica de la lipasa pancreática por los metabolitos secundarios vegetales y sintéticos (modificados), que posiblemente puedan convertirse en productos clínicos para el tratamiento de la obesidad.

A partir de esta metodología se plantearon cuatro capítulos que dan forma a este documento, los cuales se explicarán de forma general.

En el primero, se tratan las generalidades del presente escrito. La justificación, objetivos y Planteamiento del problema a estudiar en este trabajo de grado.

En el segundo, se tratan los fundamentos teóricos que dan forma a la investigación, tomando en cuenta varios criterios, como son: la caracterización de las plantas de estudio, la fundamentación de actividad biológica de los principales compuestos presentes en los extractos crudos de productos naturales y su funcionalización mediante *química click*.

En el tercero, narra los procesos de investigación en el trabajo de campo con las plantas de estudio, haciendo un análisis con diversos métodos para obtener la composición fitoquímica de *Coronopus didymus*, posteriormente, se relata la extracción del aceite esencial del eucalipto y su modificación química mediante reacciones de bromación y azidación para unir estas moléculas, y evaluar su actividad biológica.

En el cuarto, se describe el análisis de los resultados de la investigación. Se presentan los análisis espectrales que soportan la identificación de los compuestos presentes y se hace un paralelo con los resultados teóricos esperados.

1. GENERALIDADES

En este primer capítulo se expondrá las generalidades del proyecto de grado, esto es, la justificación, planteamiento del problema y objetivos, que se desarrollaran en el transcurso del presente.

1.1. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas la esperanza de vida de los seres humanos ha aumentado debido al desarrollo de fármacos para tratar diferentes afecciones. Por tal razón existe gran demanda de compuestos selectivos que funcionen de forma fiable y no generen efectos secundarios al ser consumidos. Estos criterios de selectividad y fiabilidad son los principales requerimientos de nuestro tiempo y conducen a buscar compuestos con dichas características. Las plantas han diseñado mecanismos de defensa para hacer frente a los depredadores, plagas y enfermedades generando compuestos químicos más potentes para minimizar el daño causado por estos. Siguiendo el ejemplo de la naturaleza se busca en los metabolitos secundarios presentes en *Eucalyptus Globulus Labill* y *Coronopus Didymus* posibles precursores sintéticos para nuevas moléculas con actividad biológica mediante la modificación de sus estructuras químicas a través de la ciclo adición 1-3 dipolar de alquinos y azidas (CUACC) por medio de *química click* esto permitiría explorar el campo de los productos naturales como agentes sintéticos, desarrollar un campo de estudio común entre productos naturales y síntesis orgánica introduciendo nuevos caminos de investigación.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El árbol de Eucalyptus es reconocido en Colombia como una planta medicinal debido a las propiedades curativas que por tradición se le atribuyen, generalmente el tratamiento de resfriados e irritaciones en las vías respiratorias (Jaramillo, 2003). Este legado ancestral sobre su uso y el conocimiento existente sobre la gran diversidad de compuestos con estereoquímicas definidas y relativo bajo costo de obtención, que se encuentran presentes en sus aceites esenciales hacen que sea un material de partida viable para la obtención de nuevos compuestos (Andrade Ochoa, , Nevárez Moorillón, Camacho, Noguera, & Sánchez, 2017)

En el siglo XXI una de las afecciones que paso de ser un problema solamente estético a un problema de salud pública es la obesidad que requiere de atención, un despliegue preventivo y sobretodo terapéutico para mejorar la calidad de vida de las personas que la padecen.

Teniendo en cuenta este panorama se sintetizará un compuesto nuevo a partir de aceite esencial de Eucalyptus Globulus Labill empleando la metodología click y se ensayará la actividad biológica tanto para el aceite esencial natural como para el producto sintetizado empleando una prueba biológica de inhibición enzimática, por lo cual se formula el siguiente problema de investigación:

¿Cuál será la actividad Biológica del extracto de aceite esencial de Eucaliptus Globulus Labill después de realizar su modificación química estructural?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Comparar la actividad biológica del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus Globulus Labill* con uno modificado estructuralmente a través de química click.

1.3.2. Objetivos específicos

- Extraer el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus Globulus Labill* por medio del método de arrastre de vapor.
- Modificar la estructura del aceite esencial obtenido de las hojas *Eucalyptus Globulus Labill*, uniéndolo con un extracto etanólico crudo de *Coronopus Didymus* por medio de la química click.
- Determinar la actividad biológica de inhibición de la enzima lipasa pancreática por el aceite esencial de *Eucalyptus Globulus Labill* natural y el aceite esencial modificado estructuralmente.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. APROXIMACIÓN AL ESTUDIO DE ACEITES ESENCIALES

Desde los primeros tiempos el hombre utiliza las plantas para obtener sustancias que le ayudan a cubrir sus necesidades alimenticias y de salud. Esta situación ha permitido desarrollar medicamentos y aditivos que presentan diferentes beneficios; ya sea como reguladores, antioxidantes, inhibidores enzimáticos, conservantes, entre otros (Raski, y otros, 2002)

Productos naturales como los aceites esenciales provenientes de las plantas presentan gran variedad de componentes tales como: monoterpenos, sesqui-terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos y cetonas, que están involucrados en la defensa de la planta frente a las agresiones causadas por herbívoros, hongos y bacterias (Batish D. &., 2008). Gracias a esa demostración los seres humanos han usado los mismos componentes presentes en los aceites esenciales como defensa o tratamiento contra organismos patógenos, entre sus múltiples aplicaciones se aprovechan como antioxidantes naturales y conservantes en la elaboración de alimentos, la producción de suplementos alimenticios y la industria farmacéutica (Wei & Shibamoto, 2007)

Los aceites esenciales (AE) son mezclas volátiles de compuestos orgánicos generalmente líquidos (aunque pueden ser sólidos) de apariencia oleosa. Extraídos y procesados de fragmentos vegetales como raíces, corteza, ramas, flores, semillas, hojas o frutos (Guarnizo, 2009), están formados por terpenos, monoterpenos y sesquiterpenos

(hidrocarburos, alcoholes, cetonas, que pueden ser acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos), sustancias azufradas y nitrogenadas (Acevedo, Navarro, & Monroy, 2013).

Los aceites esenciales presentan actividades biológicas que pueden ser aprovechadas en la preparación de productos farmacéuticos, cosméticos, alimenticios y agroquímicos (biopesticidas). Dichas propiedades biológicas dependen de los compuestos químicos que los constituyen, los cuales dependen a su vez del origen de la planta (Armendáriz-Barragán, Álvarez-Román, & Galindo-Rodríguez, 2016).

Cuantiosos estudios han examinado las propiedades biológicas antifúngicas, antimicrobianas, antioxidantes y antirradicalarias de aceites esenciales extraídos de diferentes partes de especies vegetales. Por ejemplo, el Análisis de los principales componentes químicos de 26 aceites esenciales de uso común mediante la evaluación de varios factores, a saber, TPC, RP, BCB actividad, TEAC y DFRS capacidad, revelan que los aceites esenciales absolutos de clavo, tomillo borneol y jazmín tienen potencial para uso como antioxidantes en alimentos funcionales y productos cosméticos (Wang, Yih, Yang, & Huang, 2017).

Los aceites esenciales de las especies de Eucalipto son ampliamente utilizados en el mundo; *Eucalyptus Globulus* demostró tener éxito en la protección de diferentes órganos contra la oxidación en varios modelos experimentales (Gonzalez, Cruz, Dominguez, & Parajo, 2004), del mismo modo el aceite esencial extraído de las hojas de *Eucalyptus Globulus* presenta propiedades antifúngicas, antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidantes y antihelmínticas (Nakhaee, Bokaeian, Saravani, Farhangi, & Akbarzadeh, 2009). Los principales compuestos de los aceites esenciales de *Eucalyptus Globulus* son el

1,8-cineol (Eucaliptol), el aromadendreno, el globulol, el D-limoneno y el pineno, cuyo contenido depende de factores ambientales, agronómicos, partes y edad de las plantas (Armando, y otros, 1977).

2.1.1. Aceites esenciales modificados

Se han realizado algunas modificaciones de los aceites esenciales

La elaboración de bloques correspondientes a azido-alcoholes se realizó mediante una estrategia de dos pasos de síntesis: primero a partir de alquinos sintéticos o semisintéticos y segundo a partir de alquenos terpénicos procedentes del aceite esencial de limón (*Citrus limon*) y Palo Santo (*Bulnesia sarmientoi*), para la producción de 1, 2,3-triazoles (Figura 5) (Valdomir & Davyt, 2009).

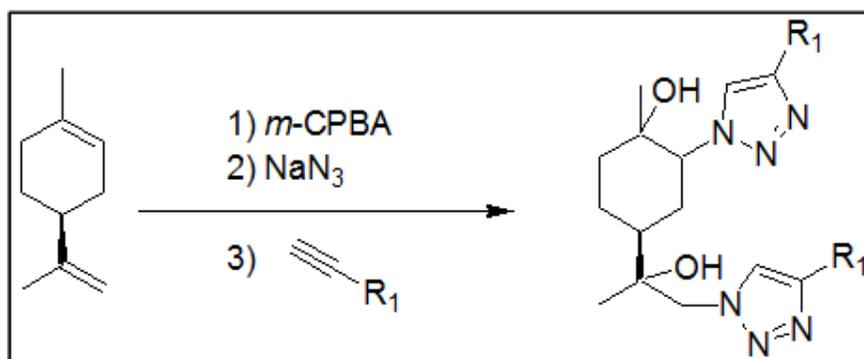


Figura 1. Síntesis de 1,2,3, Triazoles a partir de azido alcoholes (Valdomir, G., & Davyt, D. 2009)

El primer ensayo de la técnica constó de la producción de 1,2 azido alcoholes a partir de limoneno (**1**), para su posterior conjugación con p-Bromo-benzoato de propargilo (**4**). La síntesis de los 1,2,3 triazoles (Figura 5).

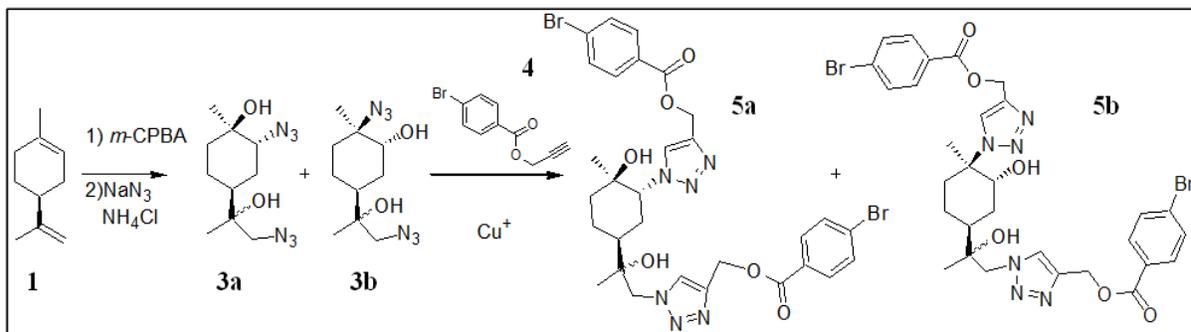


Figura 2. Triazoles a partir de Limoneno y *p*-Br-benzoato de propargilo (Valdomir, G., & Davyt, D.2009)

La síntesis descrita en la figura 4, corresponde a la obtención de 4 productos (2 isómeros por **5a** y dos isómeros por **5b**). Estos productos se definen en la reacción de azidólisis de los epóxidos debido a que el ataque de la azida en el epóxido fuera del ciclo se produce por el lado menos impedido, mientras que el ataque nucleofílico en el epóxido sobre el anillo del ciclohexano, aun cuando puede ser sobre cualquiera de los dos carbonos que soportan el epóxido solo puede darse en forma trans diaxial (Valdomir & Davyt, 2009).

2.2. FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Los flavonoides son una familia de compuestos de tipo fenólico con bajo peso molecular ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estos, son derivados del benzo- γ -pirano, estructuralmente compuestos por un esqueleto de 15 carbonos del tipo $C_6 - C_3 - C_6$ organizados en dos anillos bencénicos, anillos A y B unidos por un heterociclo piránico, anillo C (Ilustración 3). (Londoño, 2012), (Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002)

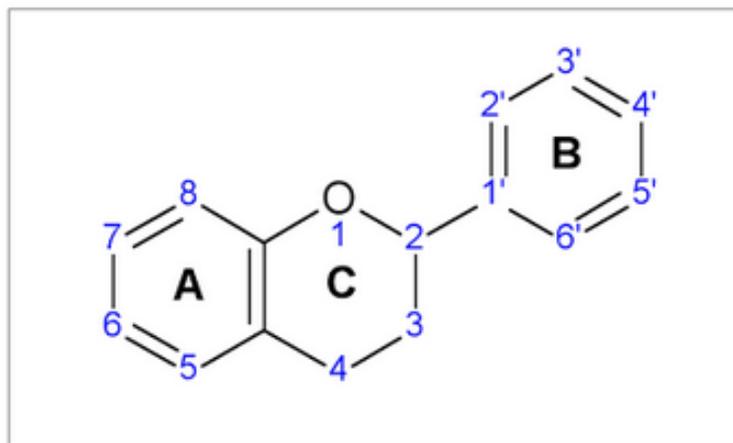


Figura 3.3 Estructura básica del esqueleto de los flavonoides. (Martínez-Flórez, González-Gallego, Culebras, & Tuñón, 2002)

Los flavonoides se biosintetizan a partir de derivados de ácidos acéticos y fenilalanina por vía del ácido shikímico. Teniendo en cuenta el grado de oxidación, variantes estructurales y anularidad del anillo C, además de la posición de conexión con el anillo B, los flavonoides pueden clasificarse en varios grupos: flavonas, flavonoles, flavononas, isoflavonas, flavanos, antocianinas catequinas, epicatequinas, xantonas, chalconas y auronas (Ilustración 4), (Wang, Li, & Bi, 2017)

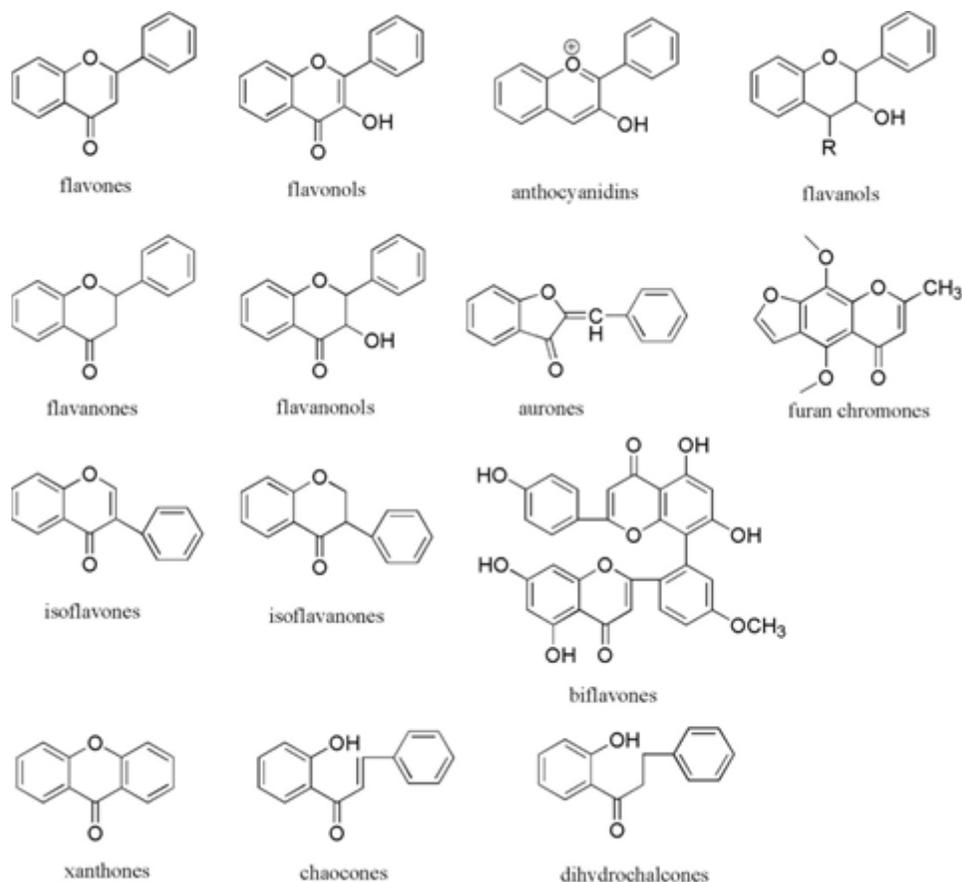


Figura 4. Estructuras básicas de los diferentes grupos de flavonoides (Wang, Li, & Bi, 2017)

Los flavonoides en las plantas, se encuentran generalmente combinados con azúcares en forma de glucósidos, aunque también se hallan con relativa frecuencia como agliconas libres (Cartaya & Reynaldo, 2001). Estos pueden presentar numerosos grupos sustituyentes enlazados a su estructura anular, generalmente grupos hidroxilo en las posiciones 3, 5, 7, 3', 4' y/o 5'; y frecuentemente uno o más de estos grupos hidroxilados están metilados, acetilados, fenilados o sulfatados (Avila, 2009).

Poseen diversas actividades biológicas y farmacológicas que incluyen propiedades antitumorales, antiangiogénicas, antiinflamatorias, antialérgicas, se atribuye a la facilidad

de donar hidrógeno. Las flavonas y las catequinas parecen ser los flavonoides más poderosos para proteger el cuerpo contra las especies reactivas de oxígeno (ROS). La capacidad de eliminación de radicales libres se atribuye principalmente a la alta reactividad de los sustituyentes hidroxilo presentes en el flavonoide ((Preethi Soundarya, Sanjay, Haritha Menon, Dhivya, & Selvamurugan, 2017).

2.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS PLANTAS A ESTUDIAR

2.3.1. *Eucalyptus* spp.

El *Eucalyptus spp*, también conocidos como “árbol de koala” o “goma azul”, son árboles con flor que pertenecen a la familia *Myrtaceae* y que posee mayor valor medicinal dentro de esta. Originarios de Australia, se plantan en regiones templadas y subtropicales. Este género contiene más de 700 especies registradas en todo el mundo usados para diferentes propósitos (Mahdi & Robab., 2017).

La composición química del aceite esencial de Eucalipto analizado por cromatografía de gases acoplada a masas GC-MS dio como resultado la identificación de 45 compuestos que representan el 90,32% del aceite. Los principales componentes de *Eucalyptus Globulus* se presentan en la figura 5, resaltando los que se encuentran en mayor porcentaje son 1,8-cineol, conocido también como Eucaliptol (63.81%), Alpha-pineno (3.68%) y limoneno (2.35%). ((Luís, Duarte, Gominho, Domingues, & Duarte, 2016)).

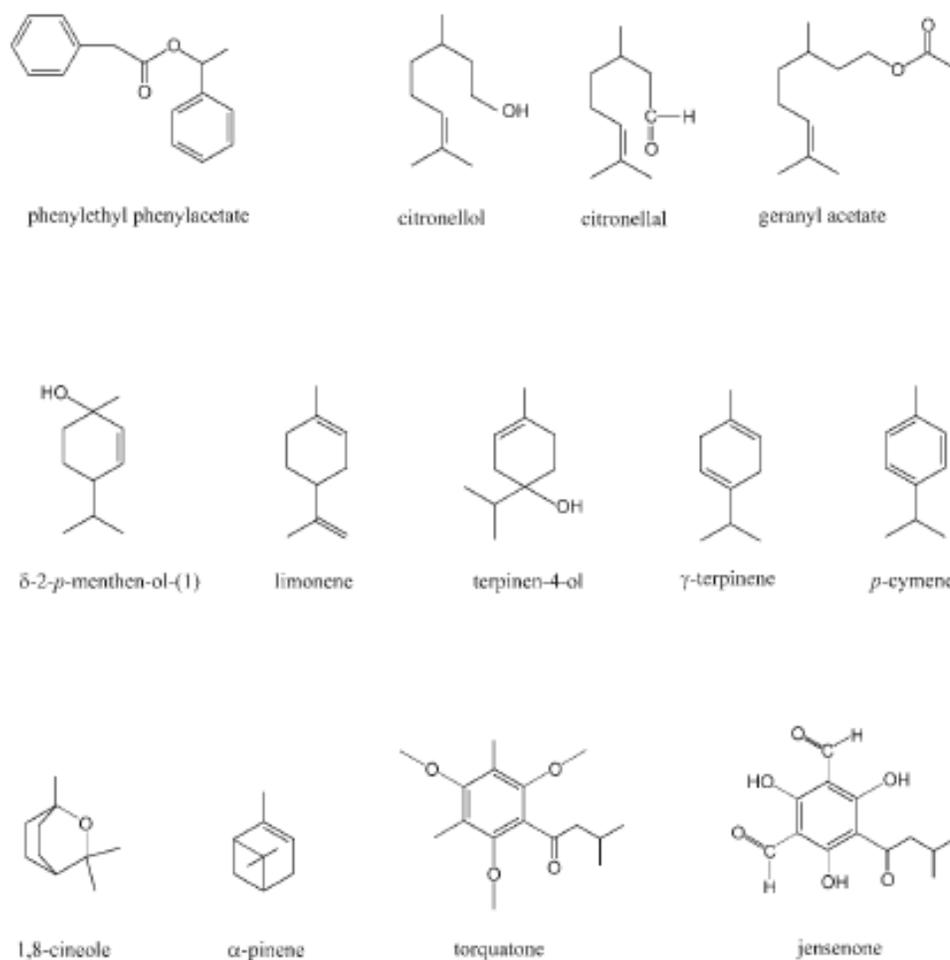


Figura 5. Principales compuestos presentes en el aceite esencial de *Eucalyptus* (Baranska, y otros, 2005).

Varios estudios han investigado los efectos terapéuticos del eucalipto, encontrándose eficaz en el tratamiento de enfermedades del tracto respiratorio como la bronquitis, la rinosinusitis y el asma grave debido a sus propiedades mucolíticas, que hacen el moco del tracto respiratorio más delgado((Juergen & Uwe, 2013). Dentro de la enorme diversidad de estructuras químicas, las cuales se pueden aislar y evaluar de manera individual, El fucoidano extraído de las hojas presenta una capacidad antioxidante similar a la del ácido ascórbico dependiendo de la concentración utilizada. El extracto metanólico (MeOH) de las

hojas de *Eucalyptus* registro la actividad antioxidante más potente en comparación con el extracto metanólico de *Mentha viridis*. El aceite esencial hidrodestilado de los frutos de *Eucalyptus* revelo actividad de eliminación DPPH débil en comparación con el estándar de hidroxianisol butilado (BHA) utilizado ((Mejri & Hassouna, 2017)).

2.3.2. *Coronopus didymus*

Coronopus didymus (35-45 cm), una hierba silvestre de la familia Brassicaceae, de crecimiento rápido. Se le conoce comúnmente como mastuerzo, presenta un sistema de raíces y brotes profusamente ramificado. Esta hierba anual tiene una amplia distribución en todo el mundo y es originaria de América del Sur. Crece durante los inviernos (octubre-febrero) a lo largo de los bordes de las carreteras, áreas vacantes, parcelas y jardines (Batish, Pal Singh, Kaur, & Kohli, 2008). Se considera actualmente como una especie medicinal para el tratamiento de varias enfermedades en las que el dolor y la inflamación son frecuentes. El tratamiento con la planta se puede hacer mediante infusión, decocción o alimentos (Parra, Vargas, & Gélvez, 2013)

Se ha informado que *Coronopus didymus* contiene flavonas, crisoeriol y crisoeriol-6 '(OAc) -4'- β -d-glucósido, cianuro de bencilo, glucotrapaeolina, un glucósido de isotiocianato de bencilo, 1,8-dihidroxi antraquinona (Prabhakar, y otros, 2006)

2.4. QUÍMICA CLICK

Actualmente se está usando la “química click” como estrategia en síntesis orgánica basada en desarrollar “bloques elaborados” (conjuntos de moléculas pequeñas), para la obtención de moléculas líderes; potentes, selectivas y modulares que funcionan de forma fiable tanto en aplicaciones de pequeña y gran escala, con el fin de incrementar su actividad (Sharpless, Kolb, & Finn, s, 2001).

Una reacción familiar que cumple con las características planteadas en la “química click” es la ciclo adición di polar entre alquinos y azidas catalizadas con Cu^{+1} de Huisgen para la formación de triazoles; compuestos utilizados recientemente como miméticos del enlace peptídico, síntesis de dendrimeros, polímeros, lipoproteínas, y macro ciclos, reportando excelentes resultados (Huisgen, 1963).

Esta estrategia permite que fragmentos activos puedan actuar sobre una misma molécula receptor mediante diferentes mecanismos de interacción o en más de un sitio de unión, teniendo así, dos o más farmacóforos distintos en una misma molécula. Recientemente (Valdomir & Davyt, 2009) han reportado un método práctico y sustentable para generar extractos sintéticos con actividad biológica a partir de productos naturales, empleando aceites esenciales debido a su actividad farmacológica, baja toxicidad y viabilidad económica.

Aprovechando el ejemplo de la naturaleza, en *Química click* se trabaja para generar sustancias de interés biológico, acoplando pequeñas unidades mediante enlaces heteroatómicos (C-X-C), a fin de obtener un conjunto creciente de “bloques” que sirvan de

intermediarios para el montaje rápido de nuevas entidades moleculares cumpliendo con las siguientes características (Sharpless, Kolb, & Finn, s, 2001):

- Ser modular: que contribuya a la formación de moléculas grandes
- Amplio alcance
- Alto rendimiento
- Materiales y reactivos de partida de fácil obtención
- Fácil de realizar: condiciones de reacción sencillas
- Insensible al agua y al oxígeno
- Realizable en solventes sencillos de remover
- De fácil separación por métodos no cromatográficos.

Una de las reacciones que cumple con muchos de los requisitos previos es la cicloadición dipolar de alquinos y azidas catalizadas por cobre.

2.4.1. Ciclo adición dipolar de alquinos y azidas catalizada por cobre (CuAAC)

Los reportes sobre química click se encuentran principalmente sobre la reacción de ciclo adición 1,3-dipolar de alquinos y azidas catalizada por Cu^+ (CuAAC) propuesta por Huisgen figura 3. Esta reacción es parte de la familia hetero-Diels-Alder considerada como la más fiable, por lo que es la reacción que impulsa todo el desarrollo de la *química click*. En la catálisis química efectuada por cobre se obtienen elevados rendimientos y disminución de los tiempos de reacción en un 80%. Esta reacción se puede efectuar en solventes como agua y etanol, lo que facilita enormemente su aplicación, dado que sin

importar la naturaleza aromática o alifática de los dipolos (alquinos y azidas) se genera el heterociclo (Akeroyd & Klumperman, 2011).

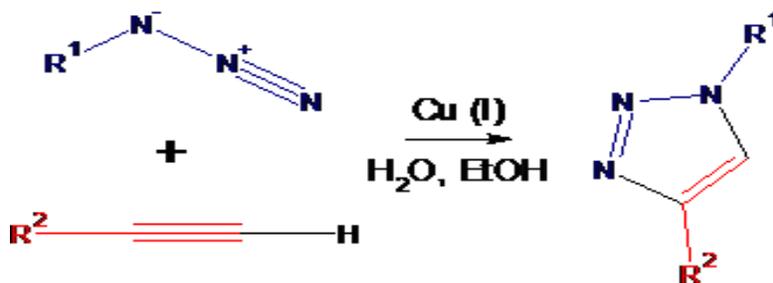


Figura 6. Ciclo adición de alquinos y azidas catalizada por Cu^I (Huisgen 2001)

2.4.2. Mecanismo de reacción de CuAAC

El mecanismo de reacción propuesto por Sharpless y colaboradores (figura 2) muestra dos vías. La primera vía propuesta es una ciclo adición directa [2+3] y la segunda es una secuencia escalonada (B-1→B-2→B-3) o “camino de ligadura”. La intermediación de cobre (I) en acetiluros CuAAC se postuló temprano en base a la falta de reactividad de los alquinos internos. Poco después, se realizó un estudio computacional de los pasos elementales de la secuencia. Los cálculos iniciales se centraron en los caminos de reacción posibles entre cobre (I), acetiluros y azidas orgánicas (propino y azida de metilo fueron elegidos por simplicidad). El catalizador de Cu (I) activo puede generarse a partir de sales de Cu (I) o sales de Cu (II) usando ascorbato sódico como agente reductor. La adición de un ligero exceso de ascorbato de sodio impide la formación de productos de homocuplo oxidativo. La desproporción de una sal de Cu (II) en presencia de un alambre Cu también se

puede usar para formar Cu (I) activo (Rostovtsev, Green, & Fokin, 2002) (Sharpless, 2012)

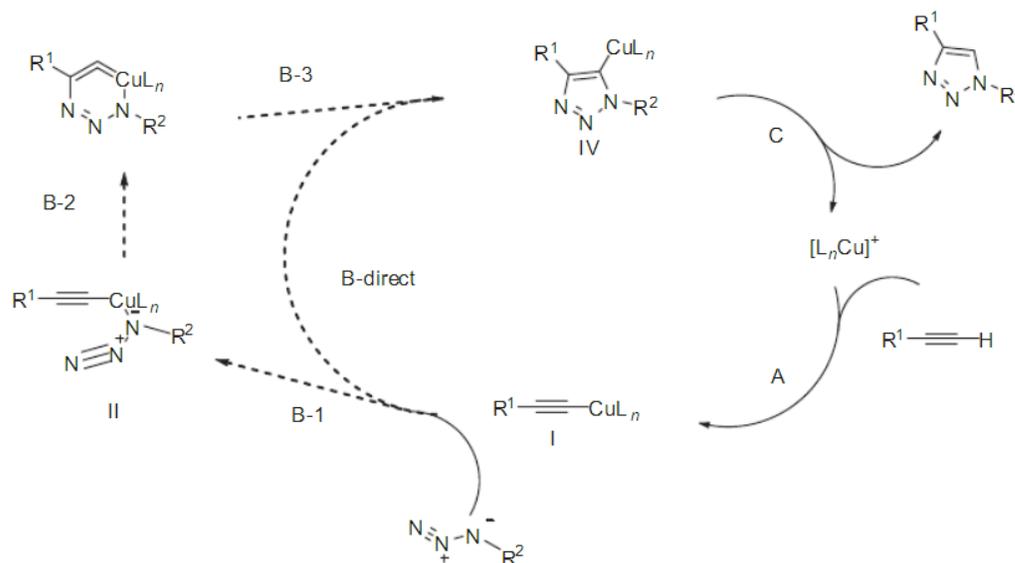


Figura 7. Mecanismo de reacción propuesto para la ciclo adición 1,3-dipolar de Huisgen catalizada por Cu (I). (Rostovtsev, V. V., Green, L. G., & Fokin, V. V. 2002).

2.5. LIPASA PANCREÁTICA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA

La lipasa pancreática (EC 3.1.1.3) secretada por el páncreas al tracto digestivo, se encarga de hidrolizar los lípidos provenientes de alimentos permitiendo la transformación de triacilgliceroles en sus posiciones 1 y 3 para formar 1,2-diacilgliceroles y 2-acilgliceroles respectivamente (Voet & Voet, 2006). Esta enzima soluble en agua actúa sobre sustratos y agregados moleculares insolubles lo que permite incrementar su actividad catalítica, conocida como activación interfacial donde la actividad enzimática presenta concentraciones menores a la concentración micelar crítica. (Sarda & Desnuelle, 1958). Enfoques recientes revelan que la inhibición de la actividad catalítica de esta enzima puede ser usada en el tratamiento de la obesidad, conduciendo a la pérdida de peso corporal debido a la disminución de la absorción de triglicéridos. Actualmente el único

medicamento probado clínicamente referente a la inhibición de lipasa pancreática para controlar la obesidad es Orlistat, en lo que respecta a su uso prolongado se han reportado efectos adversos como dolor abdominal, flatulencias, nefropatía por Oxalato y lesión renal aguda (Sarkar, Gaber, & Perazella, 2007). Por lo tanto, se hace necesaria la búsqueda de nuevas moléculas que sirvan de tratamiento para la obesidad y que generen menos efectos negativos.

3. METODOLOGÍA

La metodología empleada para alcanzar los objetivos del presente trabajo consiste en obtener extracto de aceite esencial del *Eucalyptus*, y posteriormente realizar una propalgilación del mismo; por otra parte obtener el extracto etanólico de *Coronopus didymus*, al cual se le realiza la caracterización fitoquímica, se funcionaliza con ácido de sodio; posteriormente se utiliza la metodología de química “click” para obtener el aceite esencial modificado y finalmente probar sus actividades biológicas en la inhibición de la enzima lipasa pancreática.

3.1. MUESTRAS VEGETALES Y PROCESOS DE EXTRACCIÓN

En esta sección se describen los procesos de recolección y preparación de las dos especies vegetales y los métodos de extracción de los metabolitos secundarios de las mismas.

3.1.1. Recolección de muestras

Se procede a tomar muestras de Eucalipto (*Eucalyptus Globulus Labill*) y Mastuerzo (*Coronopus didymus*) de la zona 5 de Usme, en Bogotá D.C. Se seca cada una de las muestras, y se llevan la muestra de *Eucalyptus* al Herbario Nacional Colombiano como indica el instructivo dado por la institución (Colombiano, 2015), se muelen y se almacenan.

3.1.2. Extracción de aceites esenciales de las hojas de eucalipto.

Para la extracción del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus labill* se emplea el método de arrastre de vapor; para este, se ubica la muestra de eucalipto molido y se inyecta vapor de agua de forma remota, pasando luego por un refrigerante de bolas. Posteriormente, por la diferencia de miscibilidad, densidad y viscosidad con el agua se obtiene el aceite esencial, que se analiza por FT-IR y GC-MS para su identificación.

3.1.3. Extracción de metabolitos secundarios de *Coronopus Didymus*.

Para la extracción de metabolitos secundarios presentes en las hojas de *Coronopus didymus*, se emplea la técnica Soxhlet propuesta por Torrenegra R. y colaboradores. En una primera fase se desengrasa la muestra con éter de petróleo por 72 h. la muestra vegetal se deja secar a temperatura ambiente por 24 h, posteriormente sobre dicha muestra se emplea la misma técnica. El material desengrasado se somete, nuevamente, durante 72 horas a extracción Soxhlet utilizando etanol al 96% v/v donde se obtiene un extracto etanólico crudo. Se emplea la metodología propuesta por García-González, 1992; Harborne, 1998 para identificar los principales grupos de metabolitos presentes en el extracto crudo. El extracto se concentra con rotavapor, para recuperar el etanol y obtener el extracto crudo concentrado de la muestra.

3.2. IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ALGUNOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS EXTRACTOS OBTENIDOS.

A los extractos crudos de las dos muestras vegetales se le realizan algunos procedimientos, los cuales se nombran a continuación:

3.2.1. Determinación de los componentes del aceite esencial de la especie *Eucalyptus Globulus* Labill.

Para la caracterización de los metabolitos secundarios presentes en *Coronopus didymus* se realiza un análisis fotoquímico preliminar aplicando la metodología propuesta por García-González, 1992; Harborne, 1998. Haciendo referencia a estos teóricos se determina los análisis así: Se realiza el ensayo de Shinoda para la identificación de flavona, flavonol y flavonona, también la variación de este con Zn para la identificación de dihidroflavonoles y flavononoles. También se realiza el Ensayo con ácido sulfúrico concentrado para la identificación de flavanonas, chalconas y auronas; se realiza la Prueba con alcalis para la determinación de flavonas /Flavonol /Flavanonol /Isoflavonas y la Prueba de Pacheco para la identificación de Flavonas /Flavonol/ dihidroflavonoles.

3.3. FUNCIONALIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS GLOBULUS LABILL Y EL EXTRACTO ETANÓLICO CRUDO DE CORONOPUS DIDYMUS.

En este apartado se presenta los procedimientos realizados a las muestras vegetales para la funcionalización.

3.3.1. Halogenación del aceite esencial de Eucalyptus.

Se modifica el procedimiento escrito por Konaklieva m. Dahl m. y otros (1992) así: Se añade 203 mg de bromo a 201 mg de aceite esencial de eucalipto en 5 mL de diclorometano a temperatura ambiente, y se deja en reacción por un tiempo de 1.5 horas. Luego de este tiempo, se vierte una solución acuosa de tiosulfato de sodio al 5% y se agita para eliminar el exceso de bromo. El producto se extrae de la mezcla lavando 3 veces con 20 mL de diclorometano. La capa orgánica se seca con sulfato de sodio y el solvente se deja evaporar.

3.3.2. Propargilación del Eucaliptol

Según Segura J. se ejecuta el procedimiento de la siguiente manera, se agregaron 150 mg del aceite esencial de Eucalyptus, el cual se mezcla con 15 mL de agua y 200 mg de hidróxido de sodio. Esta mezcla se agita por 30 min, y posteriormente se agrega 15 mL de tolueno y 100 mg de TBAB como catalizador de intercambio de fases. Luego se gotea 0,6 mL de bromuro de propargilo y se deja en agitación por 12 horas a 60°C. Al finalizar el tiempo de reacción, se separa la fase orgánica y se deja evaporar el solvente.

1.3.3. Halogenación del extracto crudo de *Coronopus didymus*

Para este se modifica el método propuesto por Bernini R de este modo: Se prepara la solución A de bromuro de sodio (328mg) y peróxido de hidrógeno (130mg), y la solución B de extracto de *Coronopus* (232mg) y ácido acético, las cuales se mezclan y colocan en reacción por un periodo de 4 h. Finalmente, la muestra es analizada por cromatografía de gases acoplada a masas.

3.3.3. Azidación del extracto crudo *Coronopus didymus*

La preparación de la azida se realiza de acuerdo a la metodología propuesta por Ríos (2009): Se disuelven 210 mg de la muestra de mastuerzo bromado en 10 mL de cloroformo y 10 mL de agua. La mezcla se homogeniza y se agregan 110 mg de bromuro de tetrabutilamonio (TBAB) y 220 mg de azida de sodio. La mezcla de reacción se deja en agitación en reflujo por un periodo de 24 horas. Posteriormente, se separa la fase orgánica y se seca con sulfato de sodio.

3.4. FUNCIONALIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE EUCALYPTUS POR MEDIO DE LA QUÍMICA “CLICK”

El proceso se lleva a cabo de esta manera: En un vial de vidrio de 10 mL se adiciona 54 mg de glucosa y se mezcla con 0,75 mL de reactivo de Benedict en una mezcla de agua/etanol 5:2 mL. Esta se calienta a una temperatura de 60°C hasta la aparición de un sólido rojizo. Posteriormente, se agrega 77mg de la mezcla de reacción obtenida en la funcionalización con azida de sodio del extracto etanólico crudo de *Coronopus didymus* y 49mg del aceite esencial de *Eucalyptus* propargilado. La mezcla de reacción resultante se agita a temperatura ambiente por 24 h. Luego,

a la mezcla de reacción se le adiciona 3 veces 15 mL de CH_2Cl_2 para extraer el producto de reacción. El solvente se evapora mediante rotavaporación.

3.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA INHIBICIÓN DE LA ENZIMA LIPASA PANCREÁTICA

Se va a describir el método propuesto por (Singh, Suresh, Bayineni, & Kadeppagari, 2015) con algunas modificaciones: 300 μg de cada uno de los extractos se aplican en placas de Sílica gel 60G, las cuales se desarrollan con distintas fases móviles, pentano: acetato de metilo (AcOMeT) (90:10, 70:30, 60:40) cloroformo (CHCl_3): etanol (EtOH) (90:10). Posteriormente se asperjan dos veces con una solución del sustrato enzimático acetato de α -naftilo (2.5 mg/mL). Se deja secar por 1 min. Posteriormente, las placas se asperjan con una solución de la lipasa pancreática (100 mg en 100 mL de Buffer fosfato pH 7.4) estabilizada con 100 mg de albumina de suero bovino (BSA). Seguido, las placas se incuban por 30 min bajo atmosfera húmeda a 37°C posteriormente se revelaron con una solución de Fast Blue (2.5 mg/mL). El control positivo utilizado fue el medicamento Orlistat (100 μg).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se presentan los resultados obtenidos durante el desarrollo de las metodologías propuestas en el capítulo anterior, así:

4.1. Extracción, caracterización y funcionalización del aceite esencial a partir de una muestra de hojas secas y molidas de *Eucalyptus Globulus Labill*.

4.1.1. Extracción

Se llevó a cabo la extracción del aceite esencial de una muestra de hojas secas y molidas de *Eucalyptus Globulus Labill* empleando la técnica de arrastre de vapor de agua, el aceite obtenido presentó un olor penetrante característico de la planta y un color amarillo claro. En la tabla 1 se presenta la cantidad de muestra empleada, el volumen de aceite obtenido y el porcentaje de rendimiento.

Tabla 1.

*Extracción del aceite esencial por arrastre de vapor de tres muestras de hojas secas y molidas de *Eucalyptus Globulus Labill**

# muestra	Peso muestra (g)	Volumen de aceite (mL)	Densidad del aceite (ρ) (g/mL)	Porcentaje de rendimiento* (%)
1	132.765	1.8	0,922	1.3
2	179.146	2.7	0,922	1.4
3	251.142	3.9	0,922	1.5
Σ	563.053	8.4	n/a	1.4

* Rendimiento volumétrico calculado para las tres cantidades de muestra empleadas, así:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{V \text{ aceite} * \rho \text{ aceite}}{m \text{ de muestra}} \times 100\%$$

Donde:

V= volumen del aceite (mL)

ρ = Densidad del aceite (g/mL)

m= Masa de la muestra vegetal (g)

El porcentaje de rendimiento calculado para el total de la muestra de hojas secas y molidas de *Eucalyptus Globulus Labill* presentó un valor de 1.4%. Se puede observar que el porcentaje de rendimiento obtenido para *Eucalyptus Globulus* es menor que el reportado por (Gilles, Zhao, An, & Agboola, 2010) para el género *Eucalyptus* está en un rango de 2.13 a 3.12% (w/w), el porcentaje de rendimiento para la especie *Globulus* reportado por (Yáñez & Cuadro, 2012), para las hojas secas es de 4%.

En la tabla 2 se presenta el porcentaje de error de la extracción de aceite esencial de *Eucalyptus Globulus Labill* teniendo como referencia los valores experimentales reportados por los autores mencionados anteriormente.

Tabla 2.

Porcentaje de error en la extracción de aceite esencial de Eucalyptus Globulus Labill.

Muestra	Porcentaje de rendimiento experimental otros autores (%t)	Porcentaje de rendimiento experimental (%exp)	Porcentaje de error (%error) *
Genero <i>Eucalyptus</i>	2,13	1.40	34.27
Genero <i>Eucalyptus</i>	3.12	1,40	55.12
Especie <i>Gobulus Labill</i>	4.00	1.40	65.50

* Porcentaje de error calculado a partir de los datos reportados por otros autores para la

extracción de aceite esencial de *Eucalyptus*, así:

$$\%_{error} = \frac{\%_{0t} - \%_{exp}}{\%_{0t}} \times 100 \%$$

Donde:

$\%_{0t}$ = Porcentaje de rendimiento otros autores.

$\%_{exp}$ = porcentaje de rendimiento experimental.

La información presentada anteriormente permite confirmar lo manifestado por algunos autores [(Nicolle, Dunlop, & Bignell, 1988); (Gilles, Zhao, An, & Agboola, 2010)], quienes afirman que el contenido de aceite esencial presente en muestras vegetales es diferente debido a factores como la localización geográfica de las plantas estudiadas, el genotipo, el clima predominante en la zona y el procedimiento de extracción.

4.1.2. Identificación

Para identificar los compuestos presentes en el aceite esencial de *E. Globulus* se realizaron análisis de Espectrometría FT-IR empleando el equipo Shimadzu IR Affnity 1 y Cromatografía de Gases Acoplada a Masas (GC-MS) empleando el equipo Shimadzu qp20 10 plus CG-detector selectivo de masas.

En la figura 7 se presenta el perfil cromatógrafo del aceite esencial de *E. Globulus* obtenido por GC-MS, se obtuvieron 5 componentes mayoritarios comunes a los monoterpenos: 1,8 cineol en una proporción de 88,73%, 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil) en una proporción de 4,25%, Trans-3-caren-2-ol en una proporción de 3.82%, 2-etil-1,3-dimetilbenceno en una proporción de 1.63% y el Alpha pinene en una proporción de 1,57%.

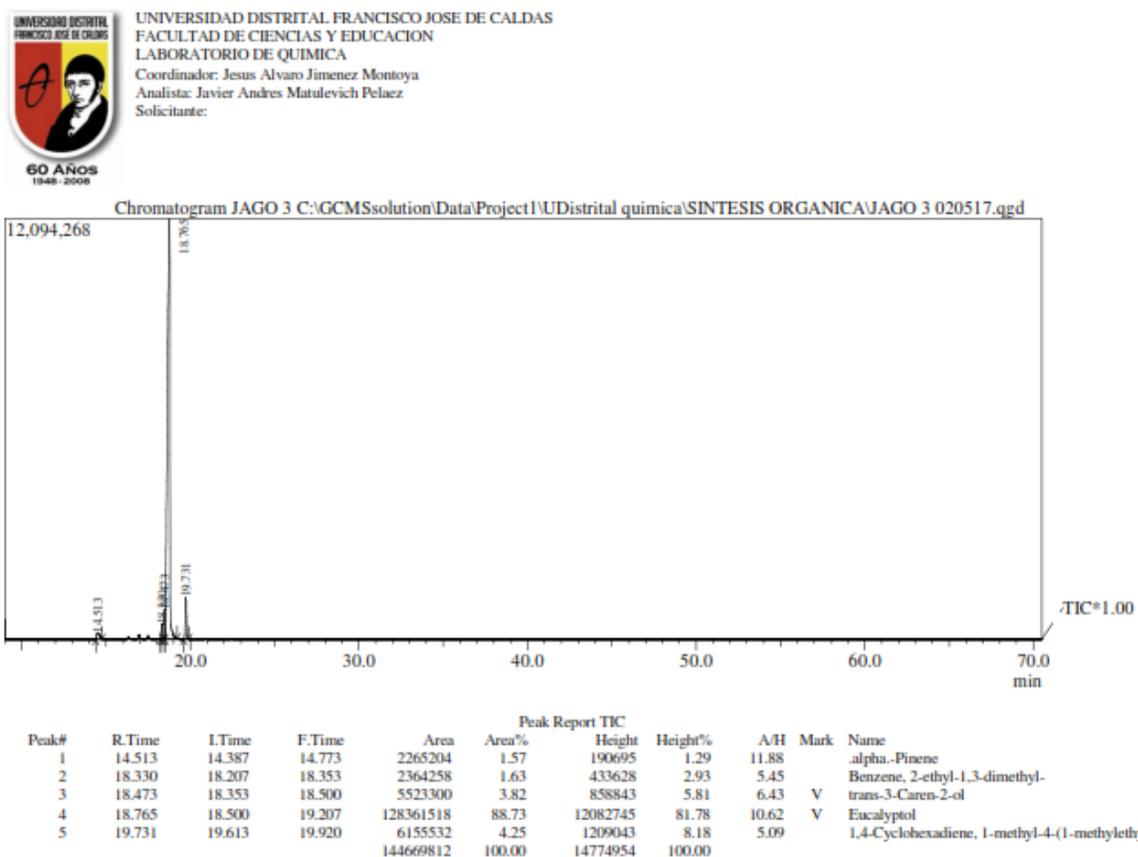


Figura 8. Cromatograma experimental de aceite esencial de *Eucalyptus Globulus Labill*

Se seleccionaron los compuestos que se encuentran en mayor concentración en el perfil cromatográfico de la muestra así: a) 1,8 cineol, b) trans-3-Caren-2-ol y c) 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil). Para confirmar su presencia se realizaron las comparaciones con FT-IR y GC-MS.

En la figura 9 se presenta el Espectrograma infrarrojo experimental del aceite esencial de *Eucalyptus Globulus Labill* donde se observa la intensidad de las señales con respecto a la frecuencia para tensiones C-H ubicada en 2966 para carbonos con hibridación Sp^3 , además presenta una banda localizada en 1215 corresponde a tensiones de C-O para compuestos éter.

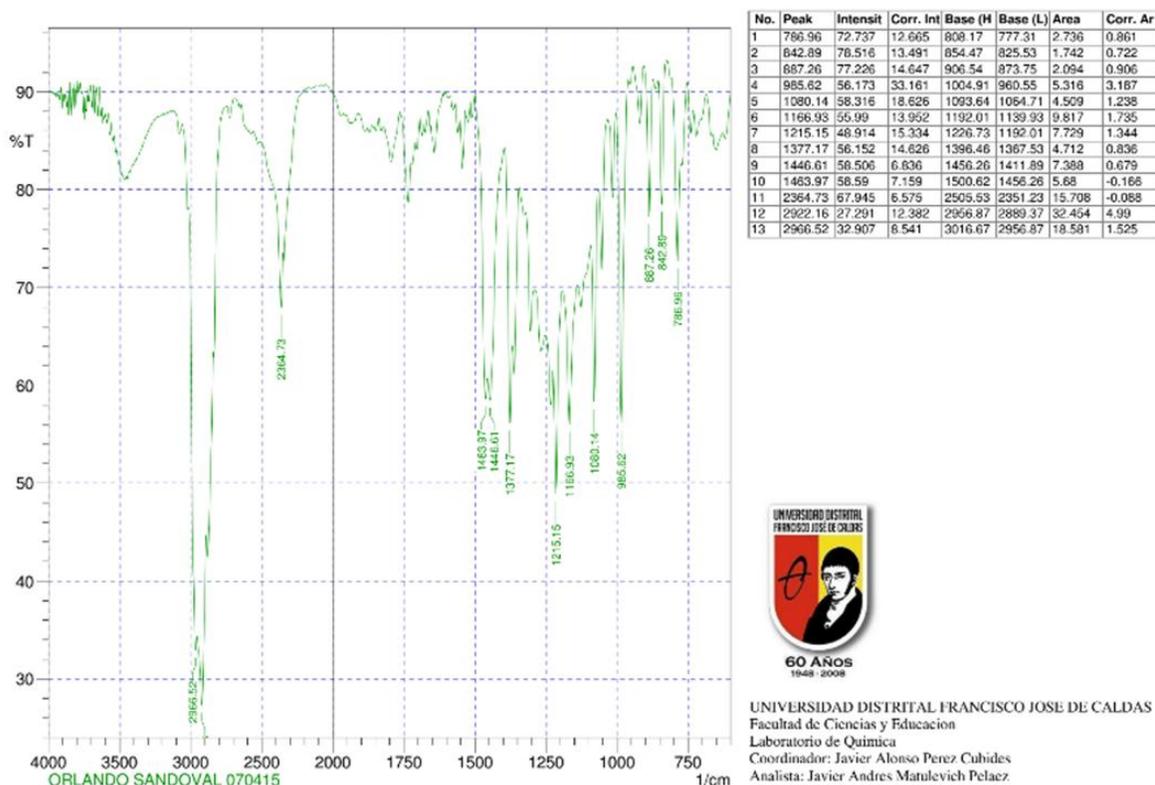


Figura 9. Espectrograma infrarrojo experimental del aceite esencial de *Eucalyptus Globulus Labill.*

Para respaldar la información presentada anteriormente, se realizó la comparación del espectrograma experimental (figura 9) con el espectrograma infrarrojo de 1,8 cineol (figura 9) obtenido de la base de datos Spectral Database for Organic Compounds (SDBS). Las tenciones para C-H de los grupos metilo y metileno presentes en la estructura se ubican para el espectrograma teórico en las bandas 2969 y 2957 y en el espectrograma experimental estas tenciones se ubican en una banda a 2966, así también, se puede ubicar banda para la tención C-O característicos de compuestos éter, en el espectrograma teórico se ubica en 1215 y en el espectrograma experimental esta tención C-O se ubica en 1215. Debido a estas coincidencias se

puede suponer que en el aceite esencial extraído de *Eucalyptus Globulus Labill* se encuentra el compuesto 1,8 cineol.

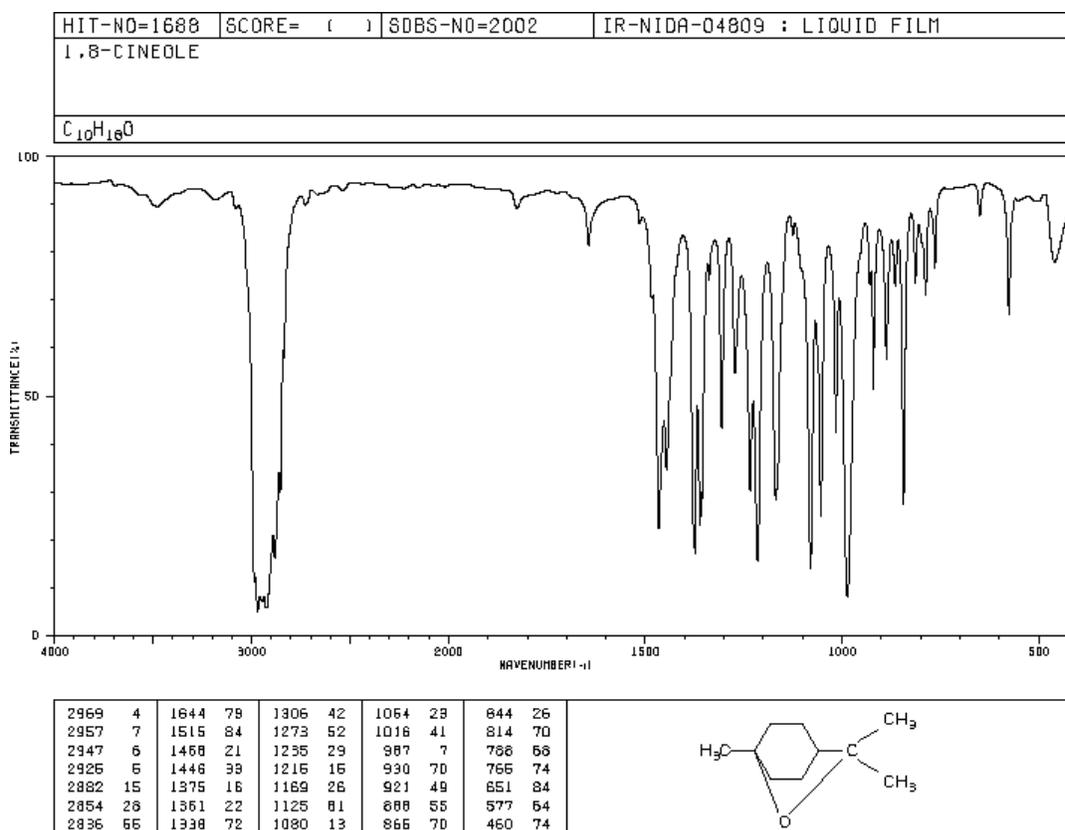


Figura 10. Espectrograma infrarrojo teórico del 1,8 cineol obtenido de (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1991)

Así también se realizó la comparación del espectrograma experimental (figura 9) con el espectrograma infrarrojo de 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil) (figura 11) obtenido de la base de datos Spectral Database for Organic Compounds (SDBS), donde la tensión C-H de compuestos con hibridación sp^3 se ubica en 2962 para el espectrograma teórico y en el espectrograma experimental esta tensión C-H se ubica en 2966. Pero no se encuentra en el espectrograma experimental tensiones en bandas sobre 3000 que son características de

compuestos C=C, mientras que en espectro teórico se reportan estas bandas en 3087,3020 y 3005 por esta razón no se puede inferir la presencia de este compuesto en el aceite esencial de *Eucalyptus Globulus* Labill.

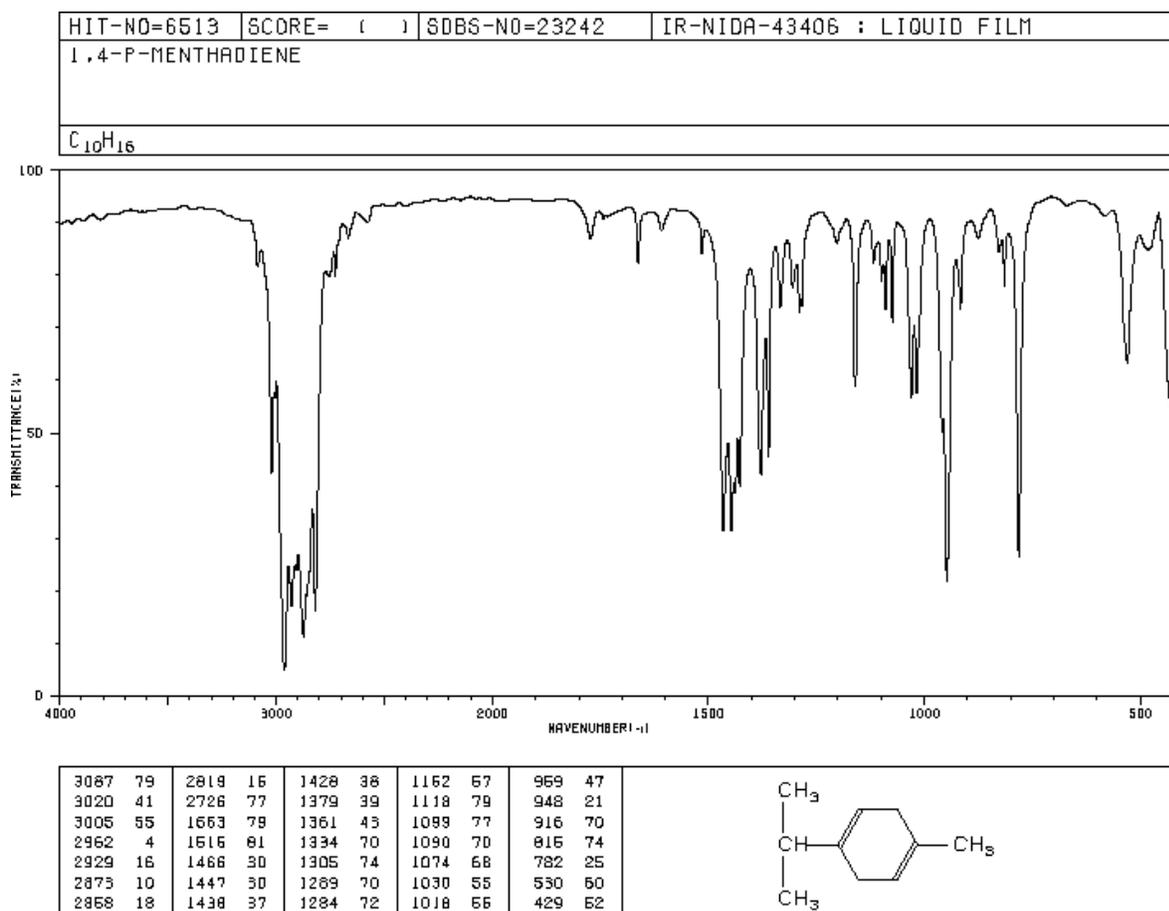


Figura 11. Espectrograma infrarrojo teórico de 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1-metiletil) obtenido de (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), 1991)

El análisis GC-MS de la muestra de aceite esencial extraído de las hojas de *E. Globulus* se realizó empleando el equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas, del cual se obtienen los siguientes espectros de masas experimentales:

En la figura 12 se presenta el espectro de masas experimental del compuesto que presenta un pico base en 43 m/z y un ion molecular en 154 m/z con un porcentaje de abundancia de 22% y fraccionamientos en 41,69,81,84,108,125, 139 y 140 respectivamente

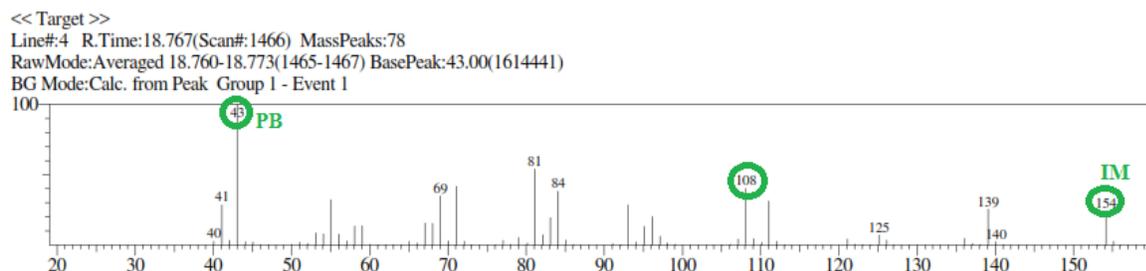


Figura 12. Espectro de masas experimental de aceite esencial de *E. Globulus*

Se realiza la comparación entre el espectro de masas experimental de la muestra de *E. Globulus* (figura 13 superior) con el espectro de masas teórico obtenido de la base de datos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (figura 13 centro), donde se encuentra una coincidencia (SI) de 93 %, pico base en 43 m/z, ion molecular en 154 m/z con un porcentaje de abundancia de 22%, y pérdidas de masa en los picos 41,69,81,84, 108,125,139 y 140 respectivamente proponiendo la estructura química del 1,8 cineol. Así también, se presenta la comparación con el espectro de masas teórico reportado en la base de datos Spectral Database for Organic Compounds (SDBS) (figura 13 inferior), para el 1,8 cineol el cual presenta %, pico base en 43 m/z, ion molecular en 154 m/z con un porcentaje de abundancia de 27%, y pérdidas de masa en 41,69,81,84,108,125,139 y 140 respectivamente, lo que permite confirmar que el espectro de masas experimental corresponde al compuesto 1,8 cineol

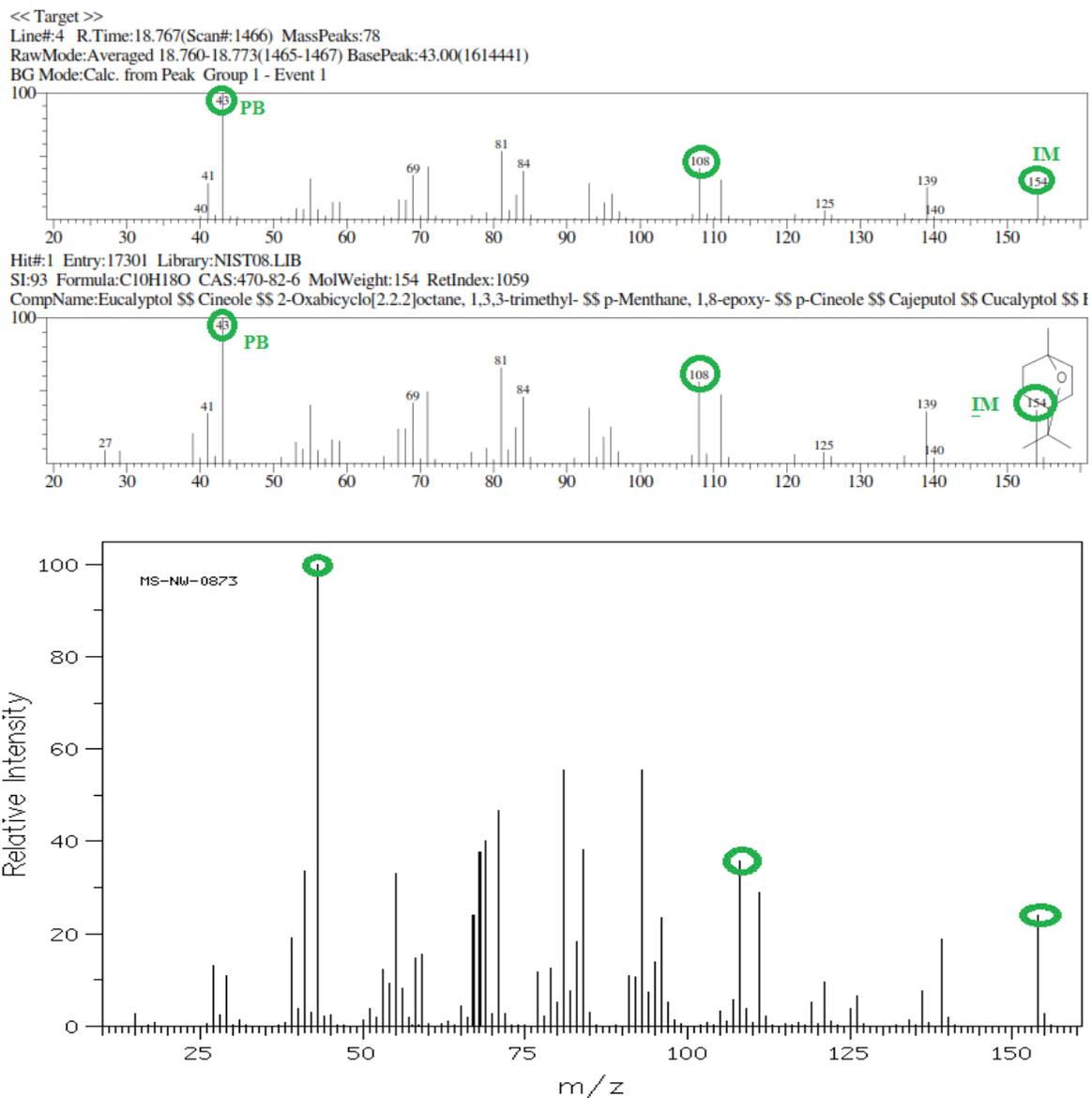


Figura 13. Comparación entre los espectros de masa experimental (superior) y teóricos para el compuesto 1,8 cineol. Obtenidos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (centro) y (National Institute of Advanced Industrial Science and Techno

En la figura 14 se presenta el espectro de masas experimental del compuesto que presenta un pico base en 119 m/z y un ion molecular en 134 m/z con un porcentaje de abundancia de aproximado 30% y pérdidas de masa en 40,53,68,79,93,107.

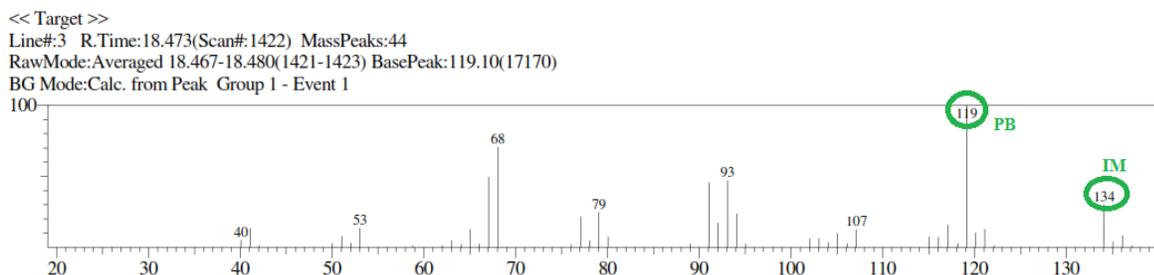
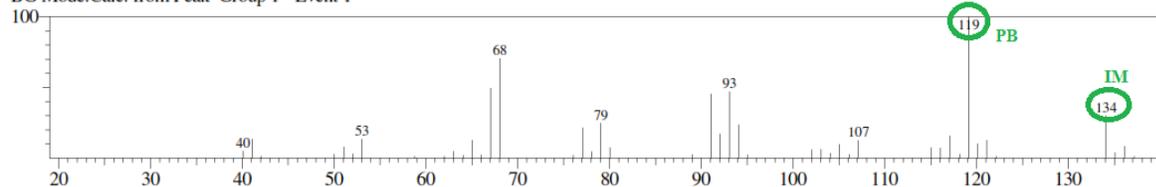


Figura 14. Espectro de masas experimental de aceite esencial de *E. Globulus*. Figura 13. Espectro de masas experimental de aceite esencial de *E. Globulus*.

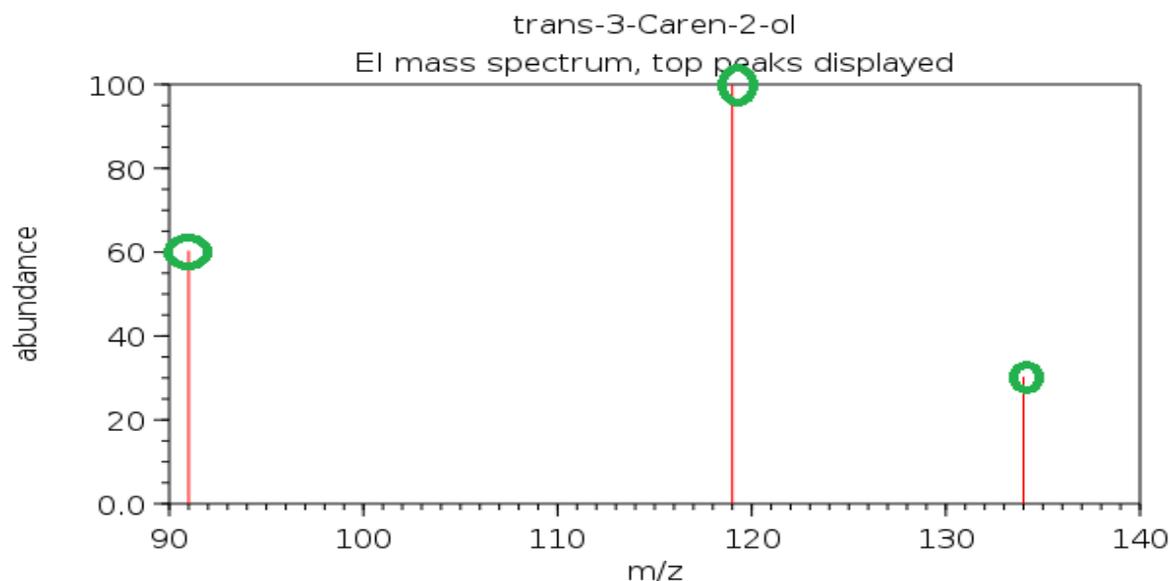
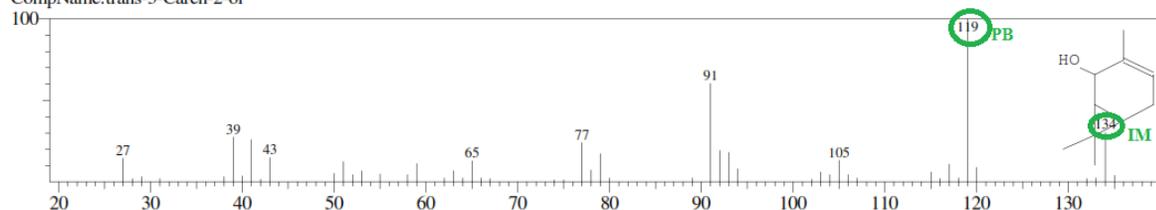
Se realiza la comparación entre el espectro de masas experimental de la muestra de *E. Globulus* (figura 15 superior) con el espectro de masas teórico obtenido de la base de datos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (figura 15 centro), donde se encuentra una coincidencia (SI) de 79 %, pico base en 119 m/z, ion molecular en 134 m/z con un porcentaje de abundancia de 30%, y pérdidas de masa en los picos 27,39,43,53, 65,77,93 y 107 respectivamente proponiendo la estructura química de trans-3-Caren-2-ol. Así también, se presenta la comparación con el espectro de masas teórico reportado en la base de datos PubChem: National Center for Biotechnology Information (NCBI) (figura 15 inferior), para el trans-3-Caren-2-ol el cual presenta pico base en 119 m/z, ion molecular en 134 m/z con un porcentaje de abundancia de 27%, y una pérdida de masa en 91 respectivamente lo cual no permite identificar plenamente la molécula debido a que los fraccionamientos son diferentes en los tres espectros de masas.

<< Target >>

Line#:3 R.Time:18.473(Scan#:1422) MassPeaks:44
 RawMode:Averaged 18.467-18.480(1421-1423) BasePeak:119.10(17170)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:16352 Library:NIST08.LIB
 SI:79 Formula:C10H16O CAS:0-00-0 MolWeight:152 RetIndex:1136
 CompName:trans-3-Caren-2-ol



© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

Figura 15. Comparación entre los espectros de masa experimental (superior) y teóricos para el compuesto trans-3-Caren-2-ol. Obtenidos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (centro) y (National Center for Biotechnology Information (NCBI),

En la figura 15 se presenta el espectro de masas experimental del compuesto que presenta un pico base en 93 m/z y un ion molecular en 136 m/z con un porcentaje de abundancia de aproximado 30% y pérdidas de masa en 40,41,43,65,77,91,105,121.

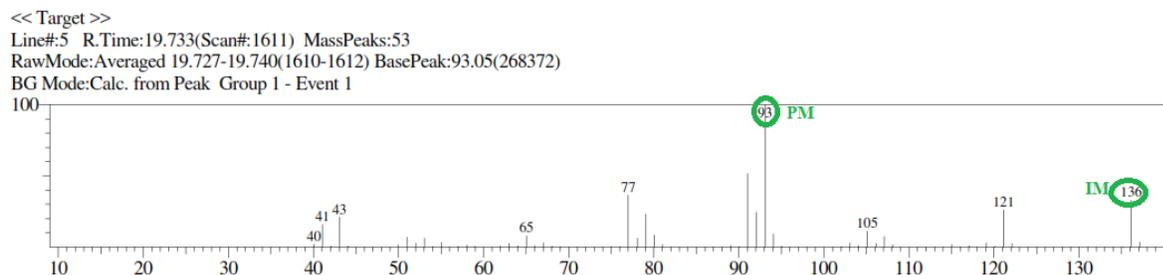
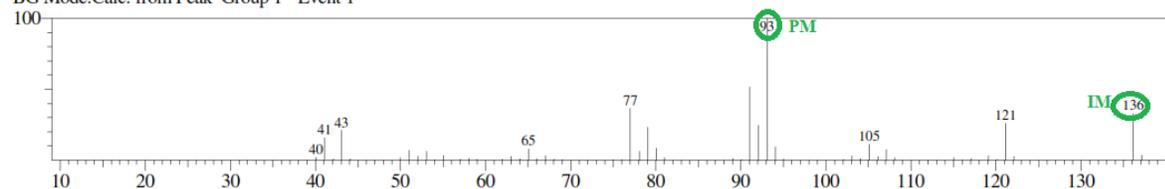


Figura 16. Espectro de masas experimental de aceite esencial de *E. Globulus*.

Se realiza la comparación entre el espectro de masas experimental de la muestra de *E. Globulus* (figura 17 superior) con el espectro de masas teórico obtenido de la base de datos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (figura 17 centro), donde se encuentra una coincidencia (SI) de 95 %, pico base en 93 m/z, ion molecular en 136 m/z con un porcentaje de abundancia de 30%, y pérdidas de masa en los picos 27,41,43,65,77,105 y 121 respectivamente proponiendo la estructura química de 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil). Así también, se presenta la comparación con el espectro de masas teórico reportado en la base de datos teórico reportado en la base de datos Spectral Database for Organic Compounds (SDBS) (figura 17 inferior), para el 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil) el cual presenta pico base en 93 m/z, ion molecular en 136 m/z con un porcentaje de abundancia de 35%, y una pérdidas de masa en 27,39,41,43,65,77,105 y 121 respectivamente, lo que permite confirmar que el espectro de masas experimental corresponde al compuesto el 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil)

<< Target >>

Line#:5 R.Time:19.733(Scan#:1611) MassPeaks:53
 RawMode:Averaged 19.727-19.740(1610-1612) BasePeak:93.05(268372)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:9784 Library:NIST08.LIB
 SI:95 Formula:C10H16 CAS:99-85-4 MolWeight:136 RetIndex:998
 CompName:1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- \$\$.gamma.-Terpinen \$\$.gamma.-Terpinene \$\$ p-Mentha-1,4-diene \$\$ Crithmene \$\$ Moslen

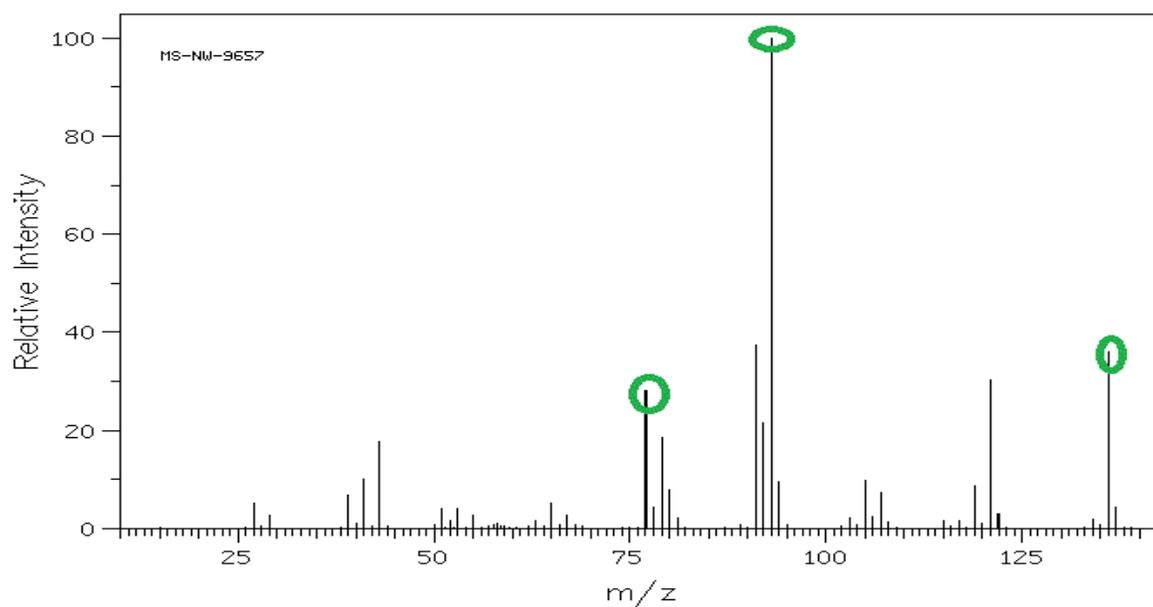
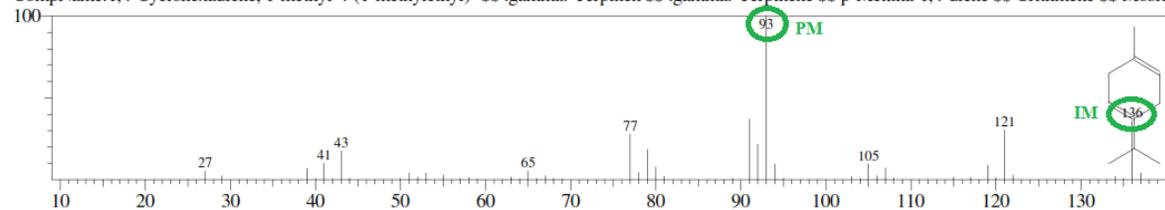


Figura 17. Comparación entre los espectros de masa experimental (superior) y teóricos para el compuesto 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1-metil-etil). Obtenidos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (centro) y (National Institute of Advance

4.1.3. Funcionalización del Eucaliptol: Bromación.

Teniendo en cuenta los resultados del apartado anterior identificación del aceite esencial de *E. Globulus* donde el compuesto en mayor proporción en la muestra es 1,8 cineol, seguido de 1,4-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1metiletil) se propone la siguiente reacción de Halogenación

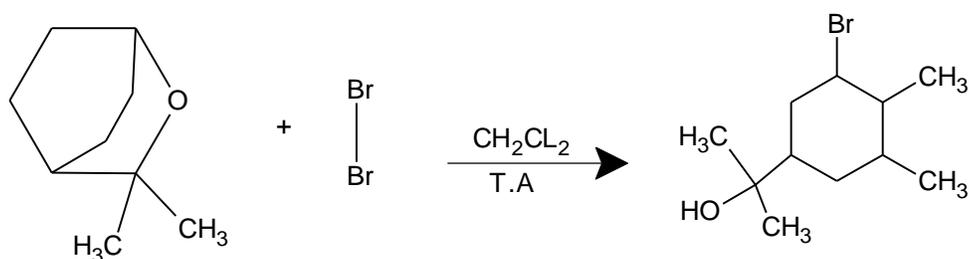
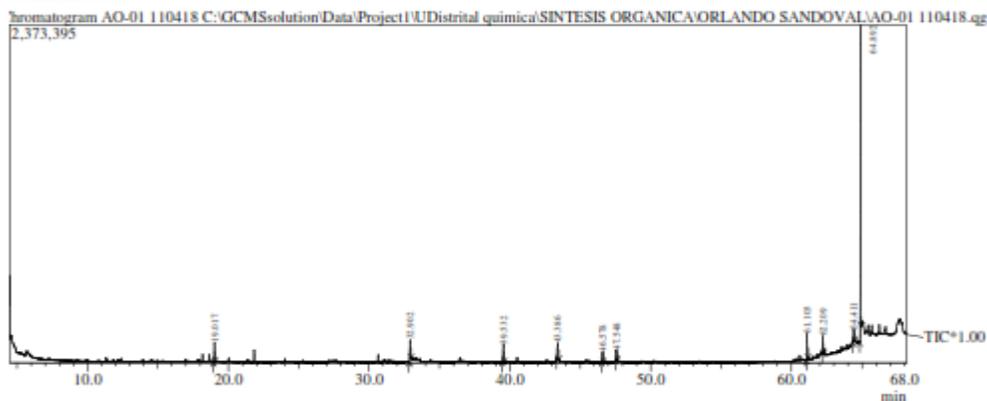


Figura 18. Reacción propuesta para la bromación del Eucaliptol.

En la figura 19 se presenta el perfil cromatográfico de la Halogenación experimental del aceite esencial de *E. Globulus* obtenido por GC-MS, donde se reportan 10 compuestos mayoritarios. Teniendo en cuenta que la reacción de Halogenación propuesta es selectiva pues genera condiciones exclusivas para romper éteres cíclicos el compuesto que exhibe estas características se ubica en el pico 2 con un porcentaje 6.06 de abundancia en la muestra es 2-(3,4-Dibromo-4-metilciclohexil) propan-2-ol.



UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACION
LABORATORIO DE QUIMICA
Coordinador: Adis Ayala Pajardo
Analista: Javier Andres Matulevich Pelaez
Solicitante:



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	19.017	18.954	19.086	450657	5.14	135301	4.20	3.33		3-Cyclohexan-1-ol, 3-methyl-
2	32.902	32.836	32.983	531043	6.06	144778	4.50	3.67		2-(3,4-Dibromo-4-methylcyclohexyl)propan-2-
3	39.532	39.473	39.605	465992	5.30	129140	4.01	3.60		Dodecanedioic acid, diethyl ester
4	43.386	43.308	43.477	519908	5.93	110794	3.44	4.69		l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dibenzofuranate
5	46.578	46.520	46.645	260577	2.97	72134	2.24	3.61		1,7,7-Trimethyl-3-phenethylidenebicyclo[2.2.1]
6	47.548	47.488	47.642	320709	3.66	69655	2.13	4.67		n-Pentadecanal
7	61.103	61.047	61.165	535417	6.11	181101	5.62	2.98		1,2-Benzoxindiol-3-carboxylic acid, mono(2-ethylyl)
8	62.289	62.162	62.272	333591	3.80	119940	3.72	2.78		Anthraniquinol-5,7,9,22-tetraen-3-one
9	64.411	64.355	64.472	300006	3.42	86492	2.69	3.47		4-Methoxy-N-(2,2,2-trifluoro-1-(3,4,5,6-tetra-
10	64.892	64.831	64.949	808024	57.61	2172892	67.45	2.33		2,6,10,14,18,22-Tetracosahexano, 2,6,10,15,1-
				8768124	100.00	3220427	100.00			

Figura 19. Cromatograma experimental de aceite esencial de *E. Globulus halogenado*

En la figura 20 se presenta el espectro de masas experimental del compuesto Halogenado que presenta un pico base en 59 m/z y un ion molecular en 217 m/z con un porcentaje de abundancia aproximado de 10% y perdidas de masa en 53,79,95,107,121,135,153.

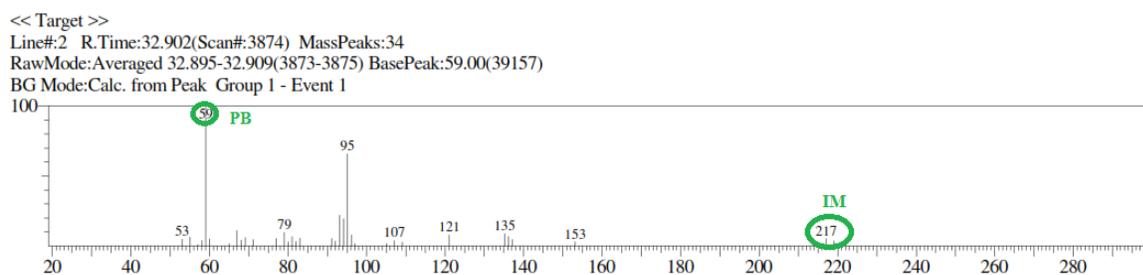
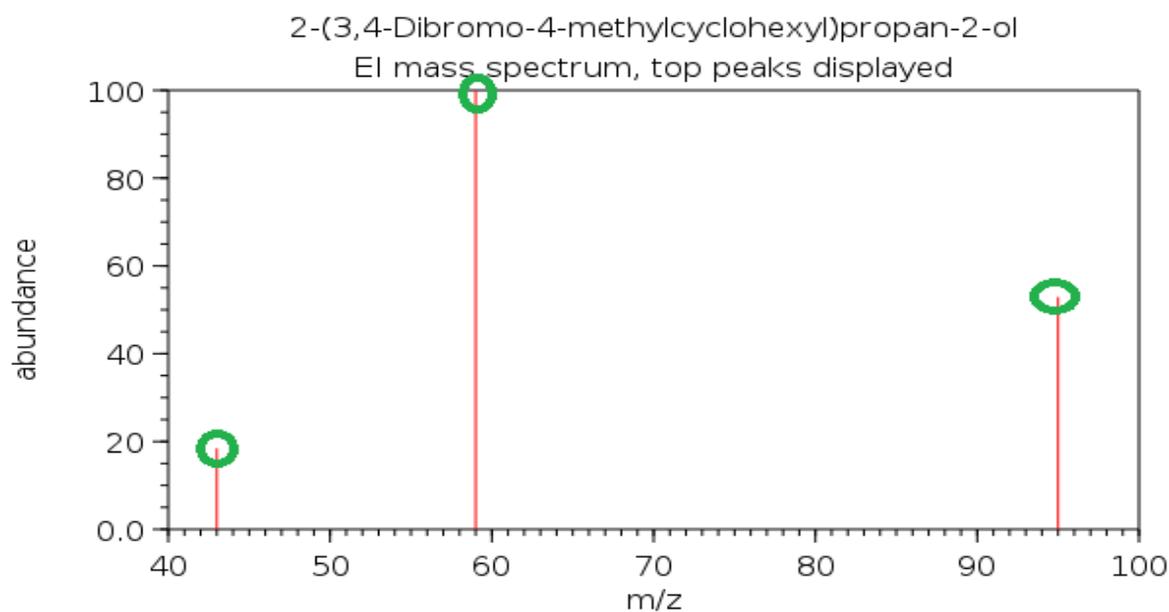
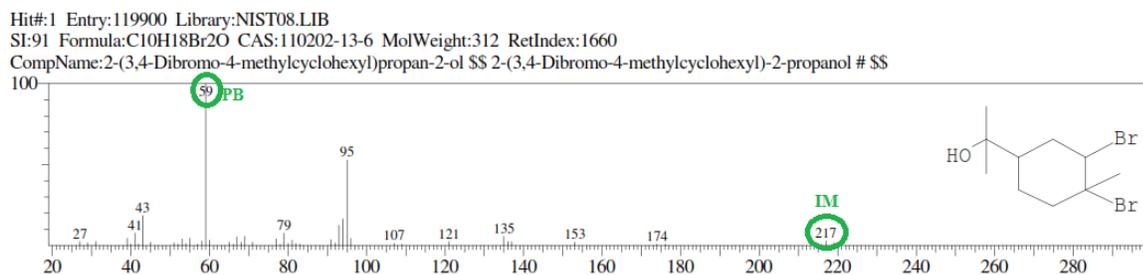


Figura 20. Espectro de masas experimental de aceite esencial de *E. Globulus halogenado*

Para precisar el compuesto presente en el espectro de masas de E. Globulus halogenado se desarrolló la comparación con el espectro de masas reportado por la base de datos del equipo y otro espectro de masas obtenido de la base de datos PubChem, como se muestra en la figura 21. En el espectro de masas teórico obtenido de la base de datos del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (figura 21 superior), se localiza una coincidencia (SI) de 91 %, pico base en 59 m/z, ion molecular en 217 m/z con un porcentaje de abundancia de 5%, y pérdidas de masa en los picos 27,41,43,79,95,107,121, 135, 153 y 174, respectivamente proponiendo la estructura química del compuesto 2- (3,4-Dibromo-4-metilciclohexil) propan-2-ol. Así también, se presenta la comparación con el espectro de masas teórico reportado en la base de datos PubChem: National Center for Biotechnology Information (NCBI) (figura 21 inferior), para el compuesto 2- (3,4-Dibromo-4-metilciclohexil) propan-2-ol; el cual presenta pico base en 59 m/z, ion molecular en 95 m/z con un porcentaje de abundancia de 55%, y una pérdida de masa en 43. Teniendo en cuenta este análisis de picos representativos y pérdidas de masa que coinciden con el espectro arrojado por el equipo se puede afirmar que el compuesto halogenado 2- (3,4-Dibromo-4-metilciclohexil); sin embargo, no se puede establecer una coorelacion con el espectro reportado en PubChem debido a que se desconocen las condiciones en que fue reportado dicho espectro.



© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

Figura 21. Comparación entre los espectros de masa teóricos para el compuesto halogenado 2-(3,4-Dibromo-4-metilciclohexil). Obtenidos de la librería del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (superior) y (National Center for Biotechnology)

4.1.4. Propalgilación del Eucaliptol Bromado.

Teniendo en cuenta los objetivos planteados en este trabajo la muestra halogenada de E. Globulus se trató de acuerdo a la metodología utilizada por Segura J. (2013). Para determinar el cambio del producto de reacción esperado con relación al extracto de aceite esencial de partida se realizó una prueba con nitrato de plata, en la muestra de E. Globulus halogenado se formó un precipitado negro brillante mientras que el extracto de aceite esencial sin modificar la muestra no presento cambio alguno. Así también, la materia prima (aceite esencial de E. Globulus) paso de ser un

líquido viscoso con un fuerte aroma a Eucaliptol a ser un sólido pastoso oscuro que perdió el olor característico proveniente de la planta. Sin embargo, teniendo en cuenta las características físicas color y textura del producto de reacción, no fue posible obtener análisis de FT-IR o GC-MS y así comprobar el tipo de molécula que se funcionalizó.

4.2. Obtención, caracterización y funcionalización del extracto etanólico a partir de una muestra seca de hojas de *Coronopus Didymus*.

Se desarrolló la metodología propuesta por Torrenegra y colaboradores empleando una técnica de separación solido-líquido en un equipo Soxhlet, donde se realizaron lavados sucesivos con éter de petróleo para desengrasar la muestra y luego con etanol al 96% v/v, para retirar de las hojas de la planta los compuestos más solubles en él. Se obtuvo un extracto de color verde oscuro presentado en la figura 26, que se concentró empleando un equipo de rotavaporación, se almaceno en frasco ámbar y se refrigero.



Figura 22. Extracción de metabolitos secundarios presente en la especie *Coronopus Didymus* empleado el equipo Soxlet.

4.2.1. Caracterización Del Extracto Etanólico de Coronopus Didymus

Se realizaron pruebas preliminares de tubo a el extracto etanólico de Coronopus Didymus para la identificación de metabolitos secundarios con esqueleto flavonoide. En la tabla número dos se presentan los resultados de las pruebas realizadas.

Tabla 3.

Resultados de pruebas de tubo para identificación de flavonoides

PRUEBA	RESULTADO
SHINODA	POSITIVO
Zn/HCl	POSITIVO
H₂SO₄ 98%	POSITIVO
ÁLCALIS	POSITIVO
PACHECO	POSITIVO
ESPEJO DE PLATA	NEGATIVO

La prueba Shinoda arrojó un resultado positivo mostrando un cambio de coloración, el color purpura varía desde un rosa muy tenue, rojo y amarillo, que pasa a la fase orgánica caracterizándolo como prueba positiva es decir que el extracto posee en su estructura el núcleo α -benzopirano característico de compuestos como: flavona, flavonol y flavonona. Así también, se realizó la prueba de Shinoda remplazando el Mg por el Zn en el procedimiento, solamente los dihidroflavonoles (o flavononoles) producen coloraciones rojo-violeta. En esta reacción se reduce la flavona a ion flavilio (rojo) esto dado por el hidrogeno producido.

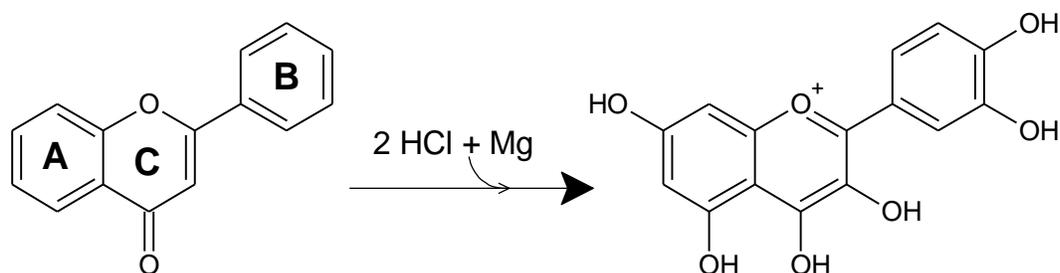


Figura 23. Reacción general de un flavonoide con el reactivo de Shinoda

Zn/HCl

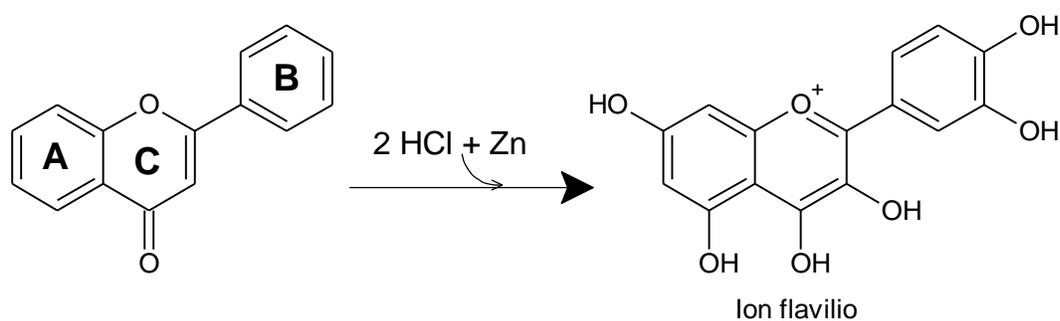


Figura 24. Reacción general de un flavonoide con la variación del método de Shinoda intercambio de Mg por Zn

Prueba ÁCIDO SULFÚRICO CONCENTRADO

La flavona de la muestra se disuelve en H_2SO_4 dando color amarillo respectivo ya que las flavanonas dan colores anaranjados y las chalconas y auronas darían rojo intenso o rojo-azul.

Prueba ÁLCALIS

Flavonas/Flavonol/Flavanonol/Isoflavonas: Positivo

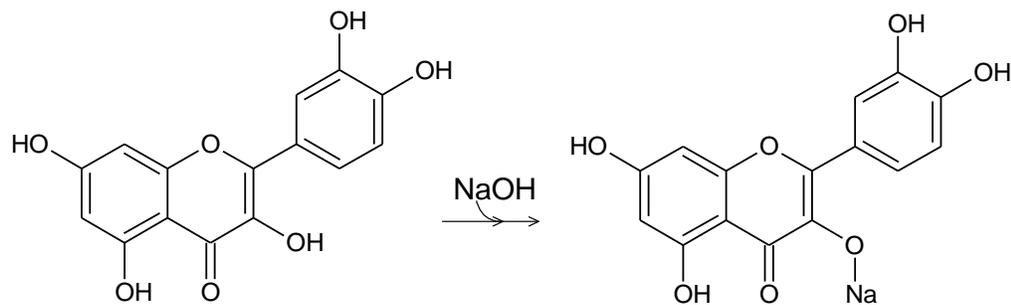


Figura 25. Reacción general de un flavonoide con álcalis

4.2.2. Funcionalización del extracto etanólico de *Coronopus Didymus*

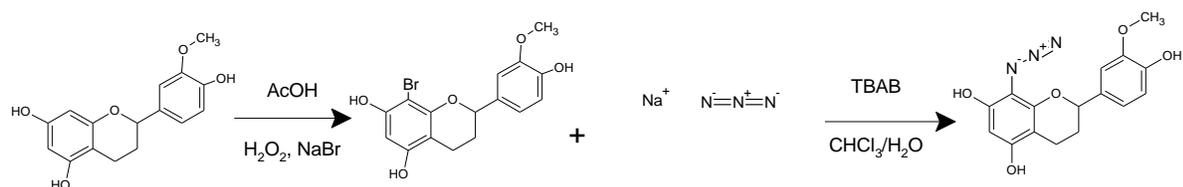


Figura 26. Reacción propuesta de azidación de *Coronopus didymus* usando la metodología dada por Bernini R. y colaboradores [2015].

En esta reacción se propone como se va a bromar una de las posibles flavonas presentes en el extracto etanólico crudo de *Coronopus Didymus* según la metodología utilizada. Así también se presenta el Cromatograma experimental tomado al extracto halogenado crudo de dicha planta

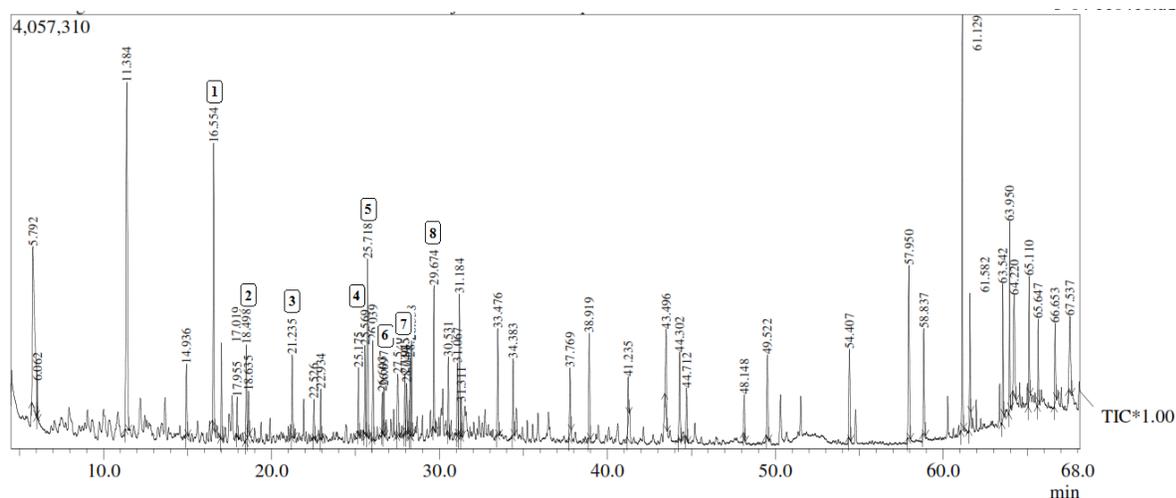


Figura 27. Cromatograma extracto etanólico *Coronopus Didymus* halogenado.

Teniendo en cuenta el Cromatograma (ilustración 27) se procede a analizar algunos compuestos que teniendo en cuenta la información reportada por otros autores y las pruebas preliminares de tubo nos permiten identificar algunos posibles compuestos presentes en el extracto etanólico crudo de *Coronopus Didymus*.

Se presenta en la ilustración 28 el espectro de masas para un posible compuesto presente en el extracto etanólico crudo halogenado de *Coronopus Didymus*, se observa un pico base en 105 m/z, el ion molecular en 184 m/z y rompimientos en 50,51,63,79,90, 119,143,171 respectivamente

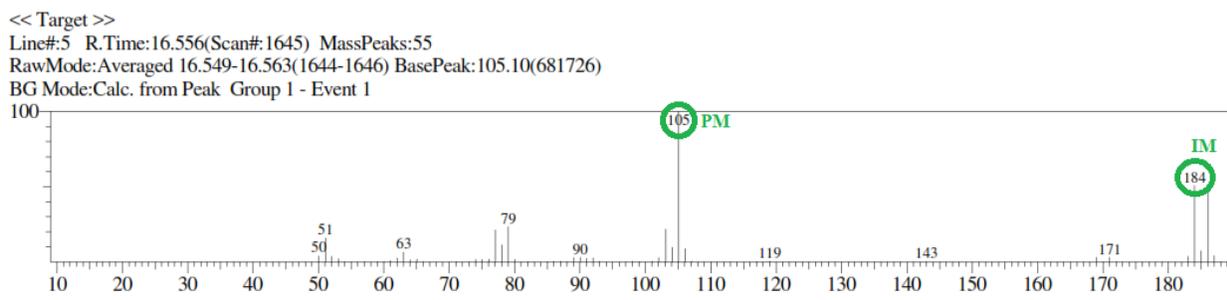


Figura 28. Espectro de masas de un compuesto presente en el extracto etanólico crudo halogenado de *Coronopus Didymus*.

Para identificar de que compuesto se trata se realiza la comparación con el la librería de espectros de masas del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas y el espectro de masas reportado en la base de datos de la base de datos PubChem, se observa el ion molecular (IM) en 184 m/z; y el pico base (PB) está en 105, por el ion molecular podemos decir la que la molécula se fraccionó en el anillo A y/o b de la flavona al mismo tiempo que se halógeno, se observa las coincidencias en el espectro de la base de datos del equipo formando el 3-Bromo-1,2-dimetilbenceno (ilustración 29).

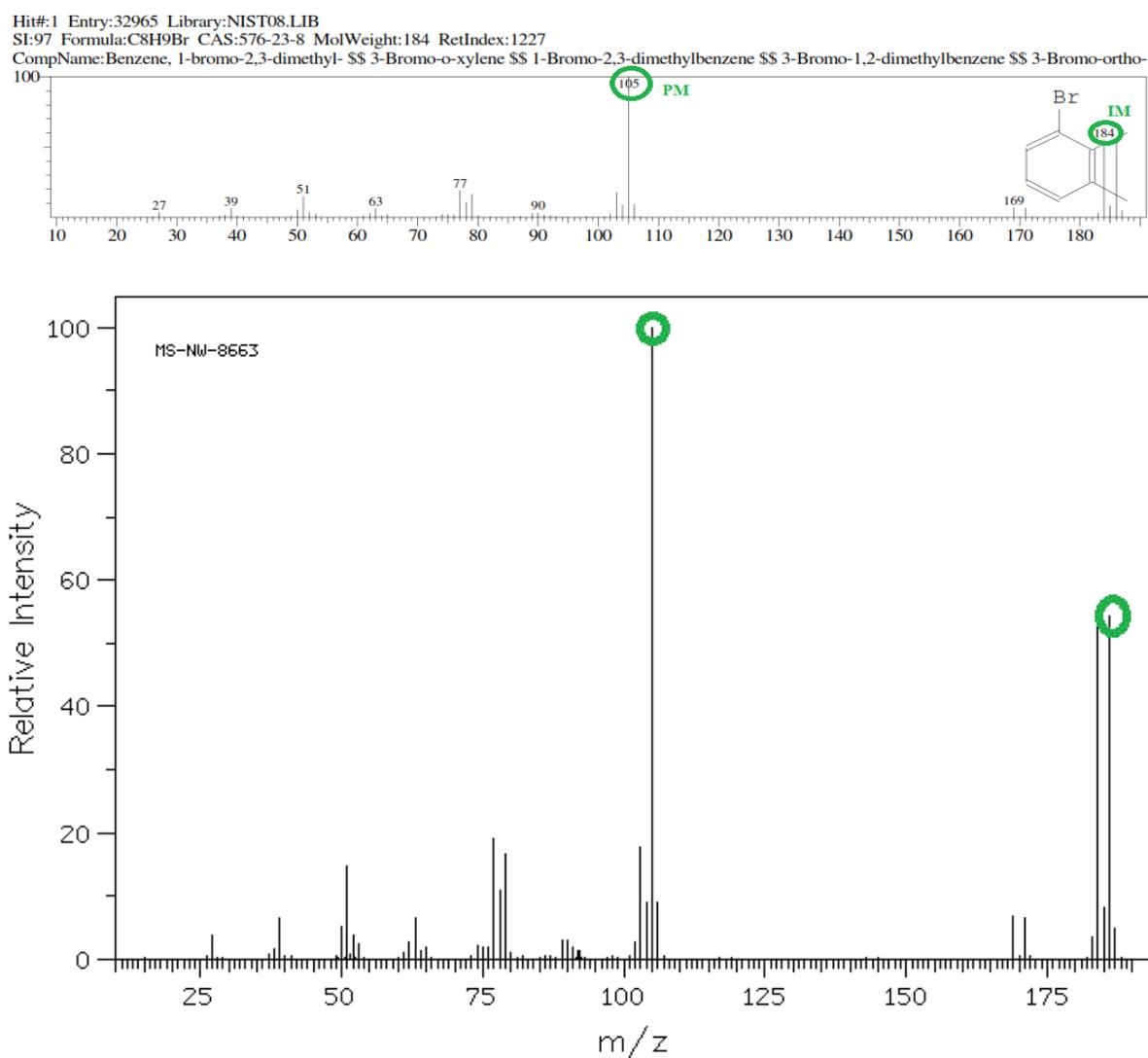


Figura 29. Comparación entre los espectros de masa teóricos para el compuesto halogenado 3-Bromo-1,2-dimetilbenceno Obtenidos de la librería del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (superior) y (National Center for Biotechnology).

Se presenta en la ilustración 30 el espectro de masas para un posible compuesto presente en el extracto etanólico crudo halogenado de *Coronopus Didymus*, se observa un pico base en 105 m/z, el ion molecular en 184 m/z y rompimientos en 50,57,71, 85, 120, 127, 140, y 161 respectivamente.

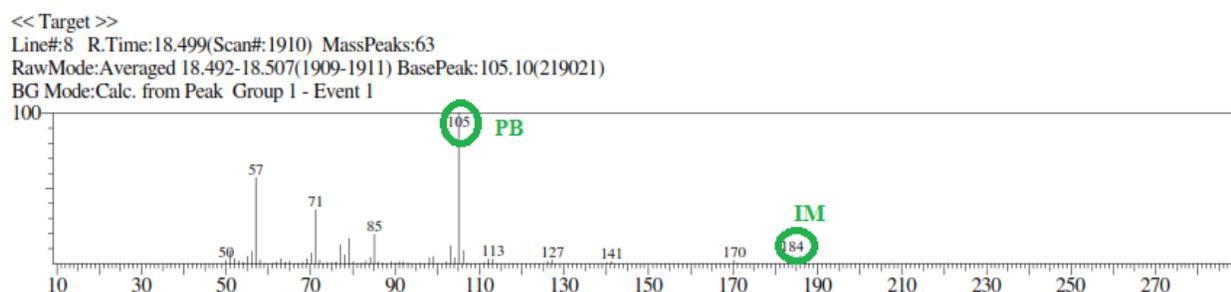
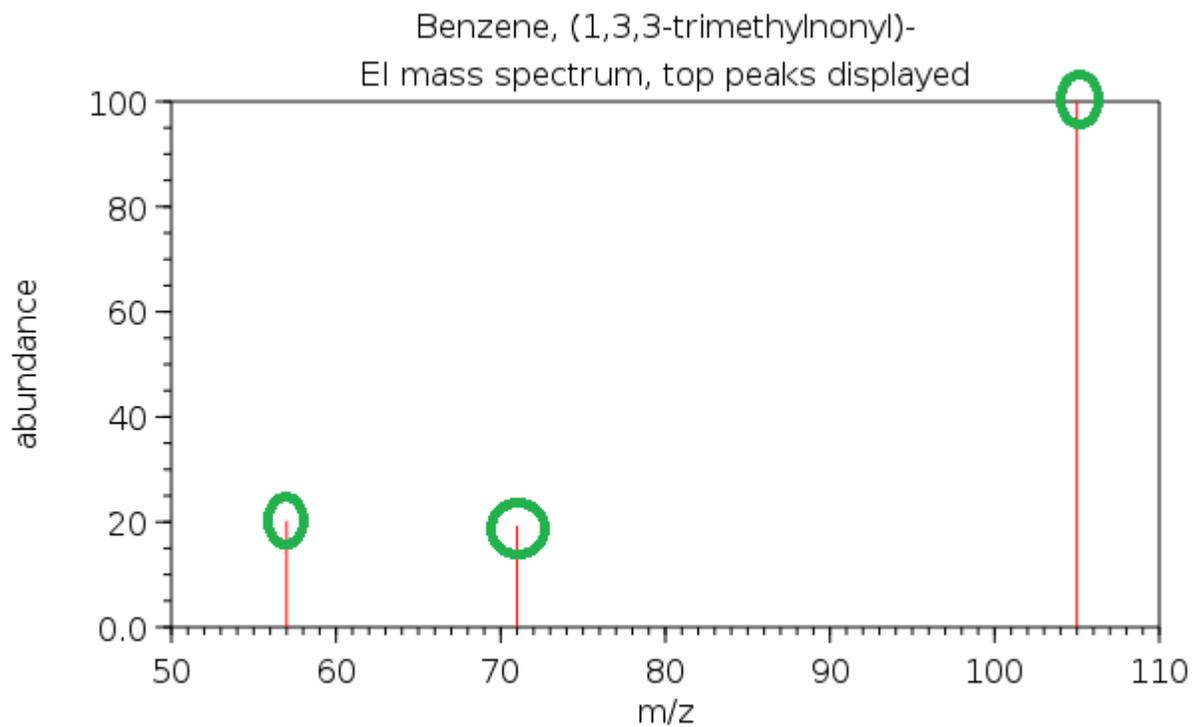
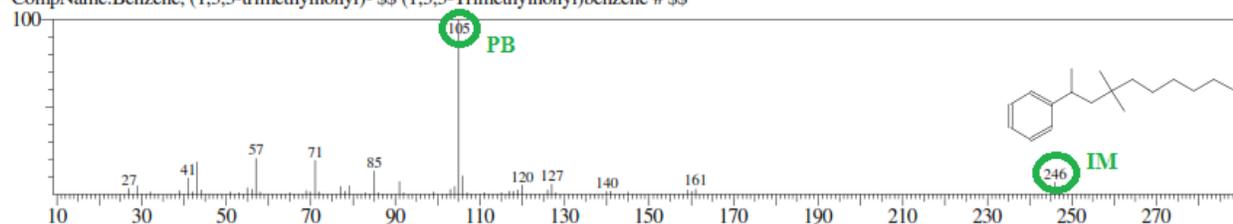


Figura 30. Espectro de masas teórico para un compuesto presente en el extracto etanólico crudo halogenado de *Coronopus Didymus*

Para identificar de que compuesto se trata se realiza la comparación con el la librería de espectros de masas del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas y el espectro de masas reportado en la base de datos de la base de datos PubChem, en la (ilustración 31 superior) se observa el ion molecular (IM) en 246 m/z; y el pico base (PB) está en 105, observa las coincidencias en el espectro de la base de datos del equipo y el espectro reportado en PubChem pero no hay relación de estos con el espectro de masas experimental. Por esta razón se puede decir que el compuesto presente es diferente al reportado en la literatura.

Hit#:1 Entry:73772 Library:NIST08.LIB
 SI:77 Formula:C18H30 CAS:54986-44-6 MolWeight:246 RetIndex:1738
 CompName:Benzene, (1,3,3-trimethylnonyl)- SS (1,3,3-Trimethylnonyl)benzene # SS



© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

Figura 31. Comparación entre los espectros de masa teóricos para el compuesto halogenado (1,3,3- trimetilnonyl) benceno Obtenidos de la librería del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (superior) y (National Center for Biochnologi I

En la ilustración 32 se presenta el espectro de masas teórico uno de los compuestos

<< Target >>

Line#:10 R.Time:21.235(Scan#:2283) MassPeaks:62
 RawMode:Averaged 21.227-21.242(2282-2284) BasePeak:119.10(186693)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

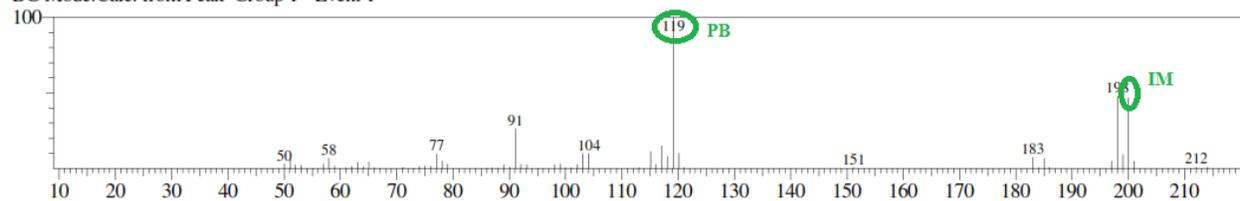


Figura 20. Espectro de masa 1-Bromo-2,4,6-trimetil-benceno

Hit#:1 Entry:41330 Library:NIST08.LIB

SI:90 Formula:C9H11Br CAS:576-83-0 MolWeight:198 RetIndex:1340

CompName:Benzene, 2-bromo-1,3,5-trimethyl- \$\$ Mesitylene, 2-bromo- \$\$ Bromomesitylene \$\$ Mesityl bromide \$\$ 1-Bromo-2,4,6-trimethylbenzene \$\$ 2

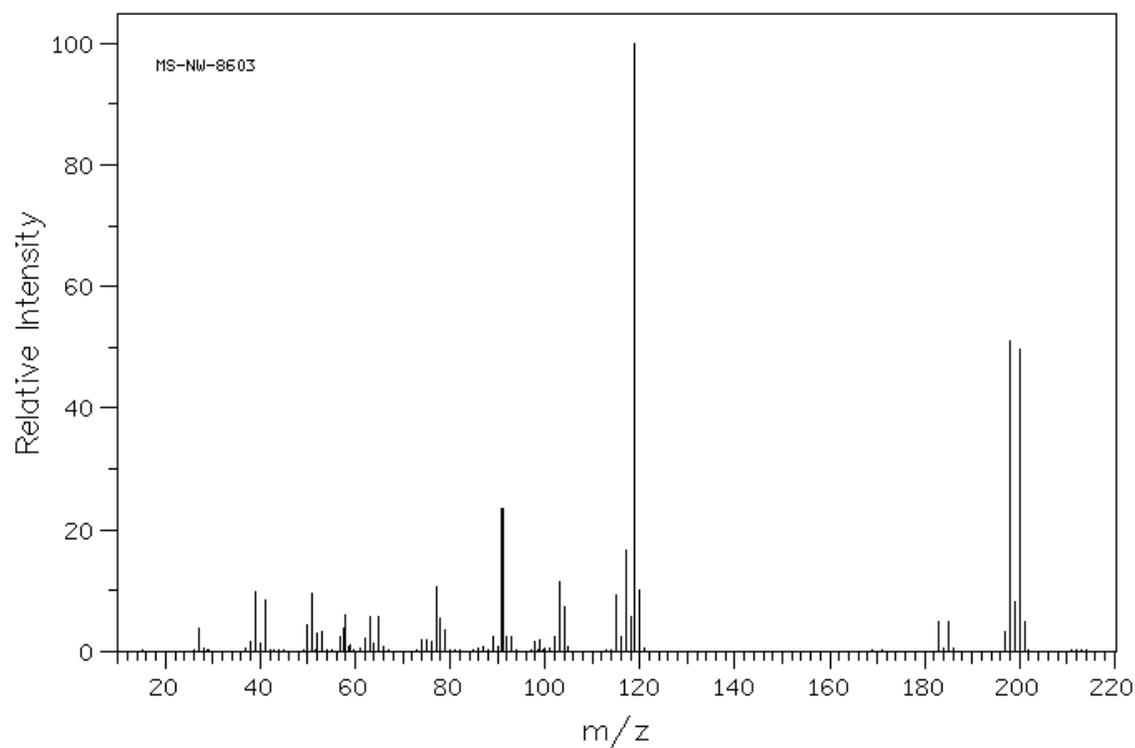
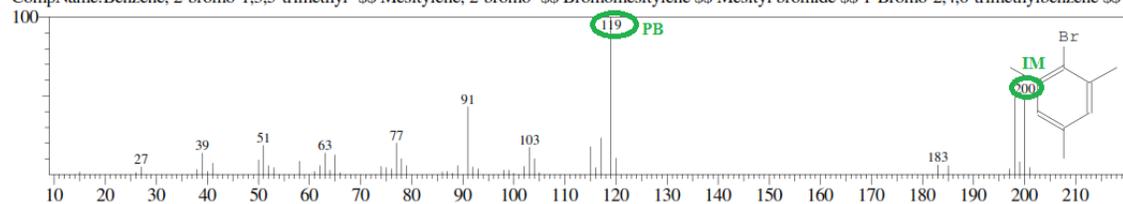


Figura 32. Comparación entre los espectros de masa teóricos para el compuesto halogenado 1-Bromo-2,4,6-trimetil-benceno Obtenidos de la librería del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (superior) y (National Center for Biochnologi I

Como en la figura anterior también obtenemos el ion molecular (IM) en 246 m/z; y el pico base (PB) está en 105, la molécula se fraccionó en el anillo C de la flavona, se observa las coincidencias en el espectro del 1-Bromo-2,4,6-trimetil-benceno (3 En la cromatograma).

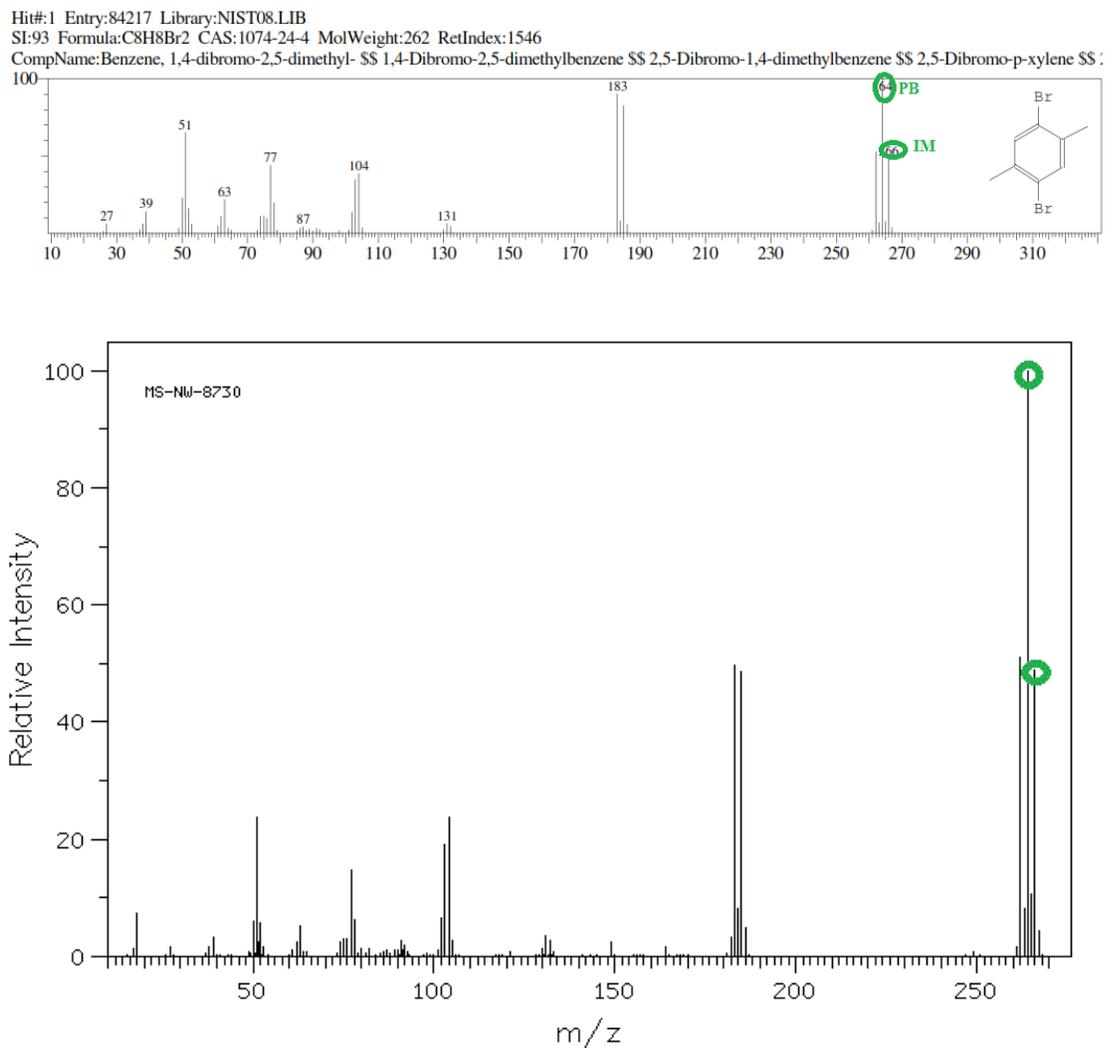
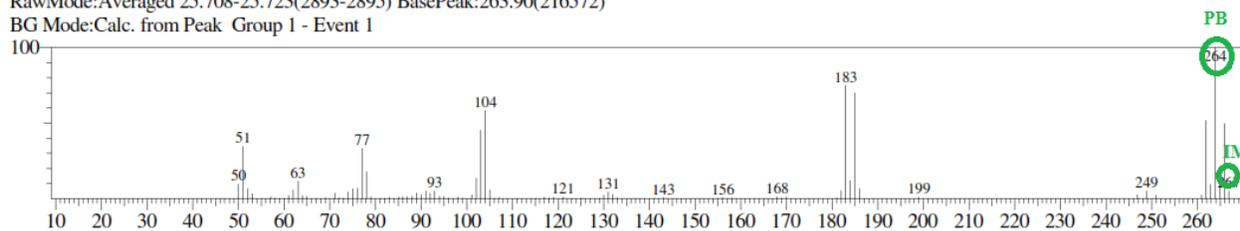


Figura 33. Comparación entre los espectros de masa teóricos para el compuesto halogenado 2,5-dibromo-p-xileno Obtenidos de la librería del equipo Shimadzu qp20 10 plus GC-detector selectivo de masas (superior) y (National Center for Biotchnologi I

Se observa el ion molecular (IM) en 267 m/z; y el pico base (PB) está en 264, la molécula se fraccionó en uno de los anillo de la flavona y se dibromo en posición para, se observa las coincidencias en el espectro del 2,5-dibromo-p-xileno (4 En la cromatograma).

<< Target >>

Line#:15 R.Time:25.715(Scan#:2894) MassPeaks:88
RawMode:Averaged 25.708-25.723(2893-2895) BasePeak:263.90(216572)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:84218 Library:NIST08.LIB
SI:92 Formula:C₈H₈Br₂ CAS:615-87-2 MolWeight:262 RetIndex:1546
CompName:Benzene, 1,5-dibromo-2,4-dimethyl- \$\$ 1,5-Dibromo-2,4-dimethylbenzene # \$\$

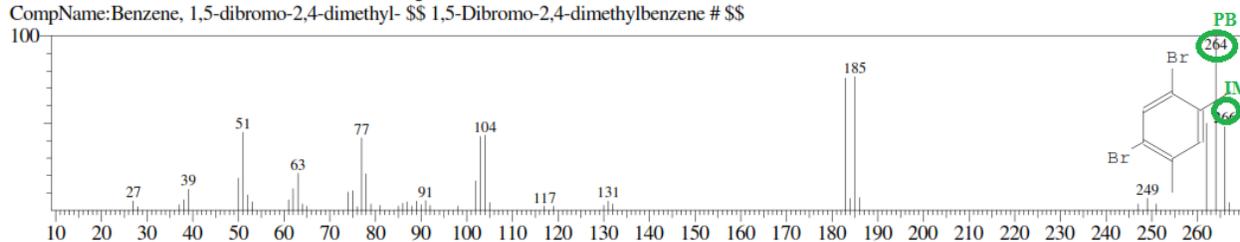
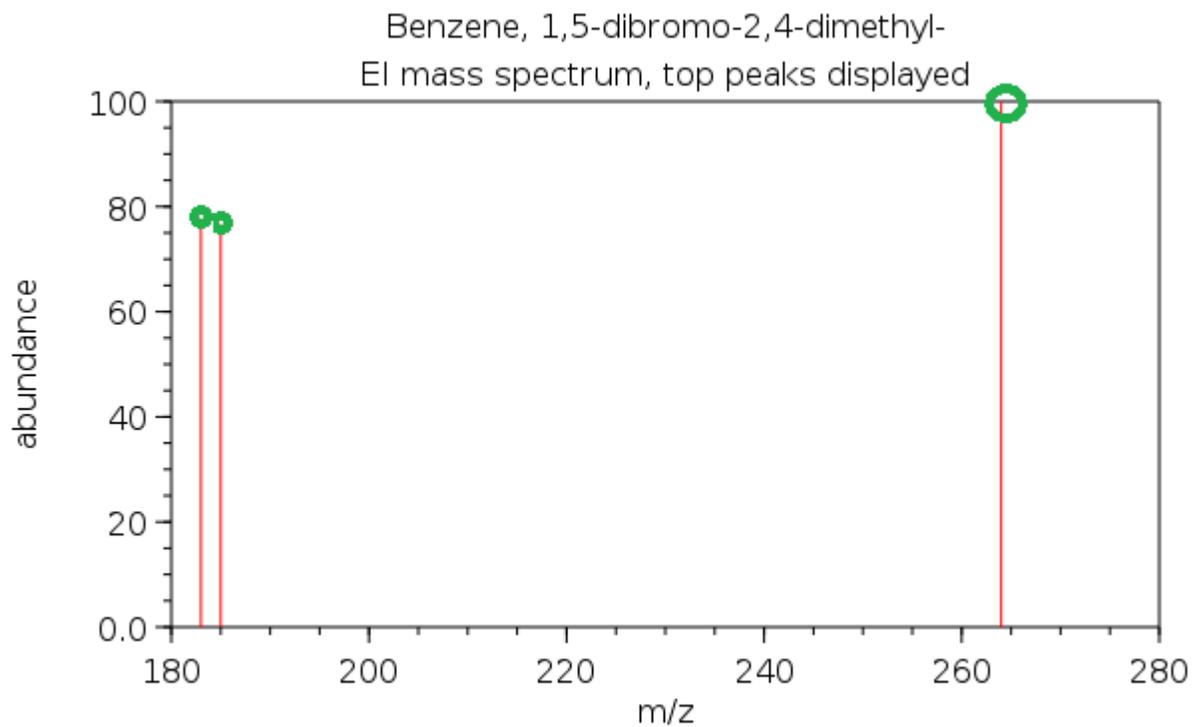


Figura 34. Espectro de masa 1,5-dibromo-2,4-dimetilbenzeno



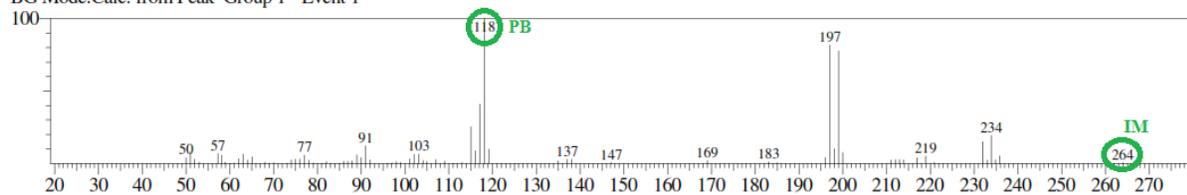
© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

Figura 35. Espectro de masa teórico 1,5-dibromo-2,4-dimetilbenceno

Observamos el fraccionamiento de la molécula, con ion molecular (IM) en 266 m/z y el pico base (PB) está en 185, la di-bromación se llevó a cabo en posición meta se observa las coincidencias en el espectro del 1,5-dibromo-2,4-dimetilbenceno (5 En la cromatograma).

<< Target >>

Line#:17 R.Time:26.603(Scan#:3015) MassPeaks:78
 RawMode:Averaged 26.595-26.610(3014-3016) BasePeak:118.10(58734)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:50371 Library:NIST08.LIB

SI:79 Formula:C₁₀H₁₃Br CAS:2437-76-5 MolWeight:212 RetIndex:1361

CompName:2-Bromo-p-cymene \$\$ Benzene, 2-bromo-1-methyl-4-(1-methylethyl)- \$\$ 2-Bromo-4-isopropyl-1-methylbenzene # \$\$

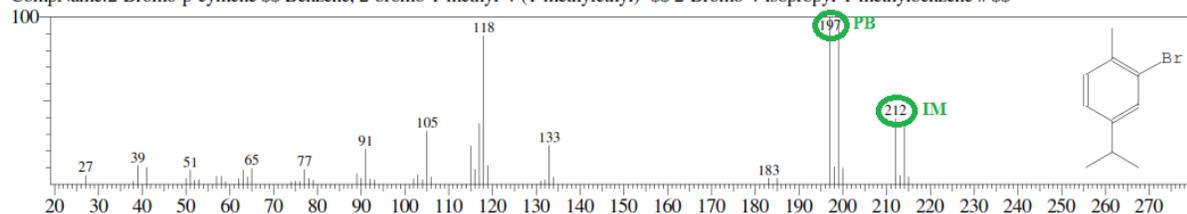


Figura 36. Espectro de masa 2-Bromo-4-isopropil-1-metilbenceno.

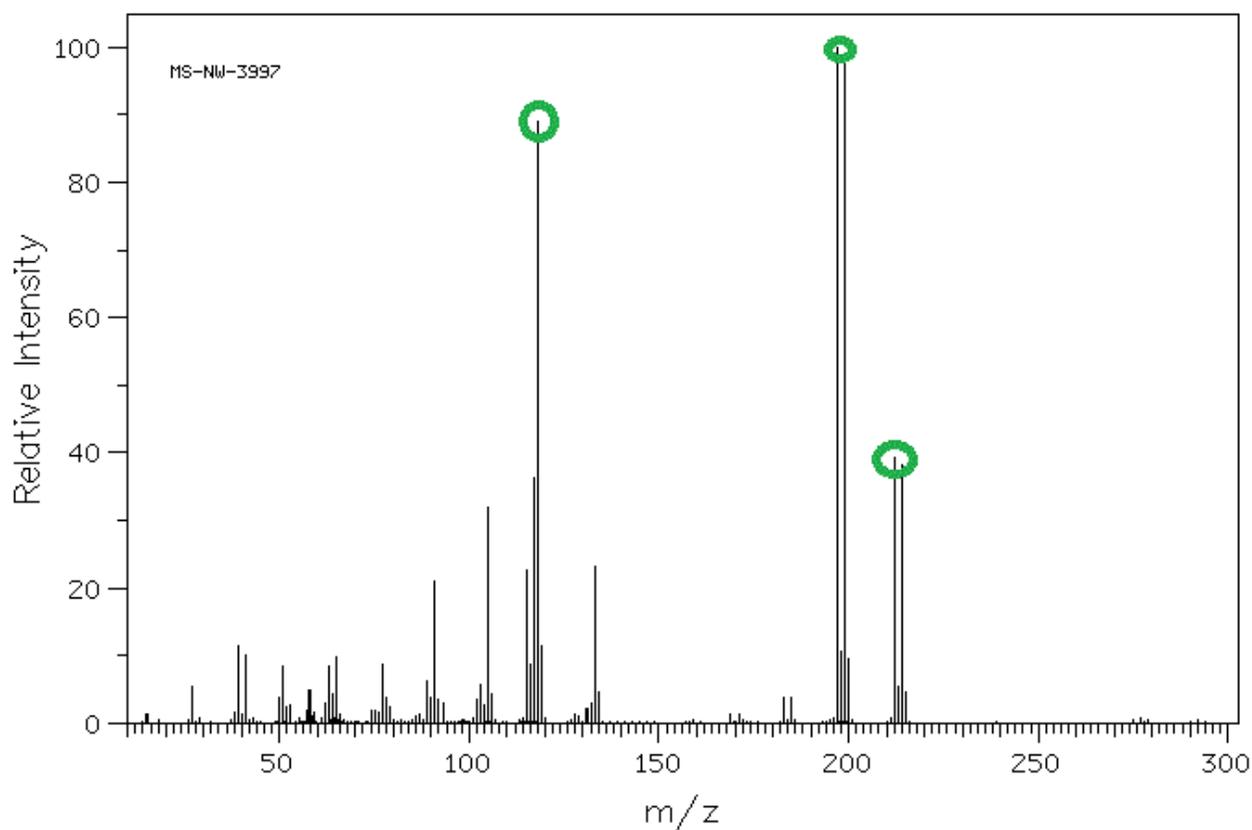


Figura 37. Espectro de masa teórico del 2-Bromo-4-isopropil-1-metilbenceno.

En este el fraccionamiento de la molecula, con ion molecular (IM) en 212 m/z y el pico base (PB) está en 197, se observa las coincidencias en el espectro del 2-bromo-4-isopropil-1-metilbenceno (6 En la cromatograma).

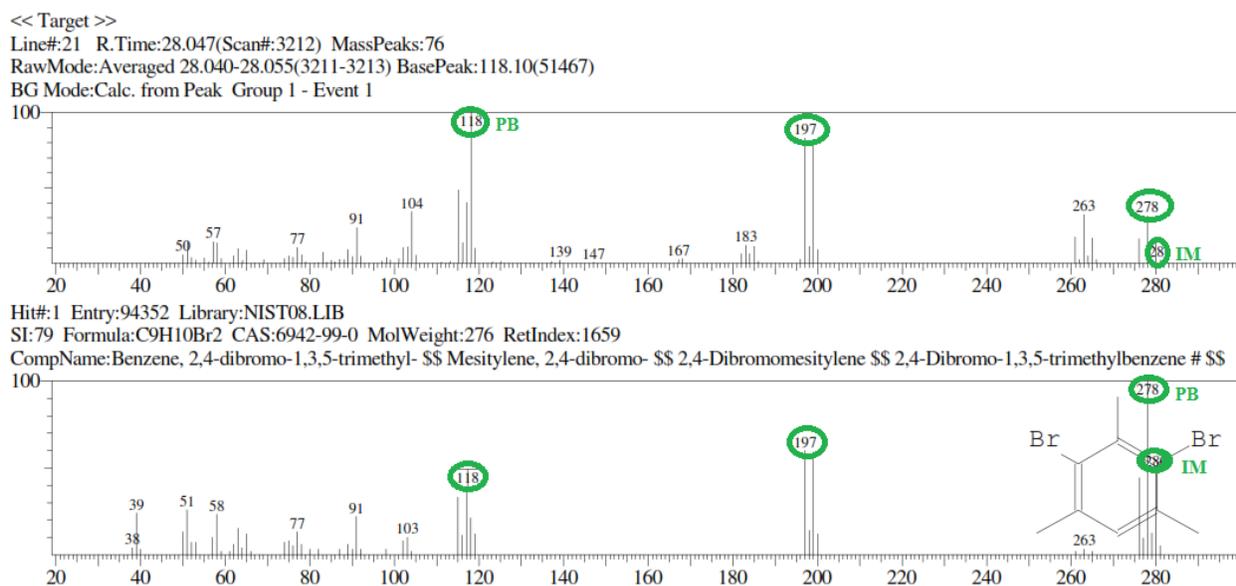


Figura 38. Espectro gases acoplado a masas alfa, alfa'- dibromo-o-xileno.

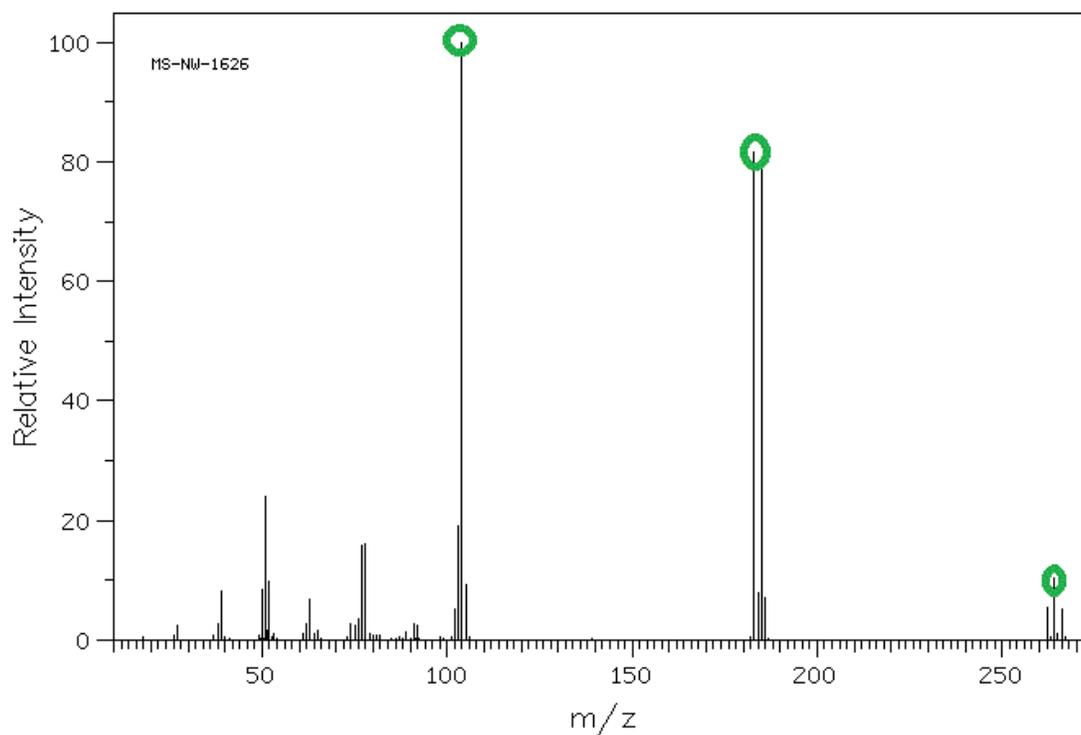


Figura 39. Espectro gases acoplado a masas teórico alfa, alfa'- dibromo-o-xileno.

El fraccionamiento de la molécula, con ion molecular (IM) en 264 m/z y el pico base (PB) está en 104, se observa di bromación en el carbono terminal esto coincide en el espectro del alfa, alfa'-dibromo-o-xileno (7 En la cromatograma).

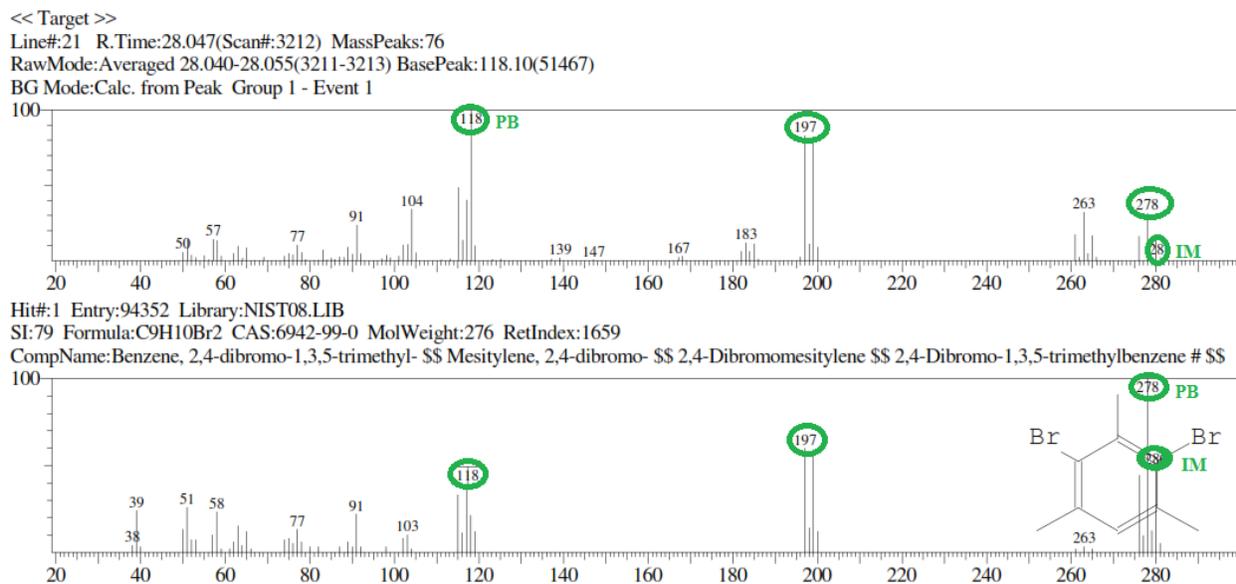
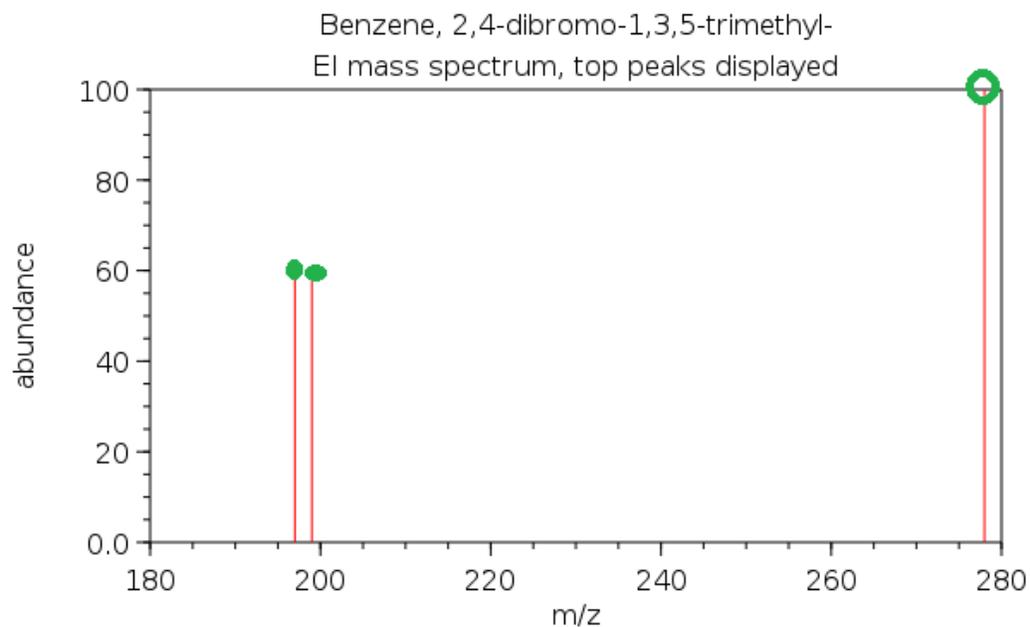


Figura 40. Espectro gases acoplado a masas 2,4-di bromo-1,3,5-tri metil benceno.



© 2014 by the U.S. Secretary of Commerce.

Figura 41. Espectro gases acoplado a masas teórico 2,4-di bromo-1,3,5-tri metil benceno.

Observamos el fraccionamiento de la molécula, con ion molecular (IM) en 280 m/z y el pico base (PB) está en 278, la di-bromación se llevó a cabo en posición meta con relación de fractura de los anillos de la flavona; se observa las coincidencias en el espectro del 2,4-di bromo-1,3,5-tri metil benceno (8 En la cromatograma).

4.3. Acoplamiento por medio de química click de los productos funcionalizados de Eucaliptus Gobulus Labill, Cononopus Didymus y Prueba de Actividad Biológica.

Se realizó el acoplamiento tomando como apoyo el resultado de la prueba de inhibición de la actividad catalítica de lipasa pancreática la cual arrojó un resultado positivo, aunque no significativo sobre la funcionalización.

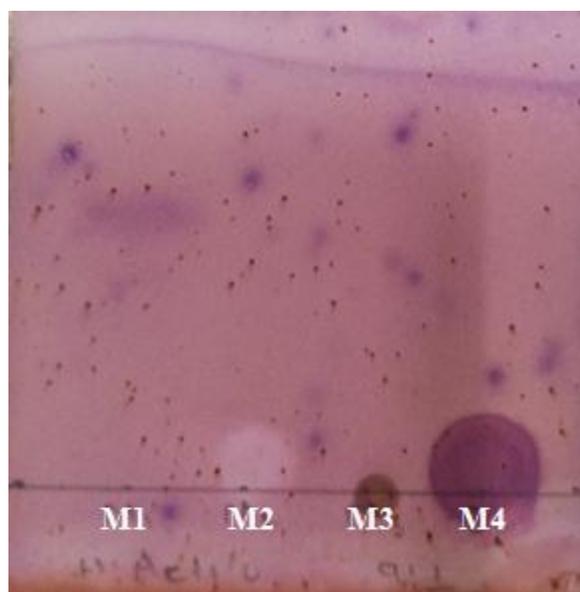


Figura 42. Autografía directa inhibición de la lipasa pancreática, de izquierda a derecha; extracto M1 (Eucaliptol). M2 (Coronopus didymus) M3 (aceite esencial modificado) y Orlistat (control positivo).

La presencia de puntos indica las zonas de inhibición de la lipasa pancreática, por eso decimos que el aceite de eucalipto modificado es significativamente más inhibitorio que el aceite en su estado natural, aunque representativamente ante el patrón positivo.

CONCLUSIONES

- Se obtuvo el aceite esencial de una muestra de 563.053 g de hojas secas de *Eucalyptus Globulus Labill* con un porcentaje de rendimiento de 1.38 % que, comparado con los informes en la literatura se reporta porcentajes de rendimiento entre 2.13 a 3.12 % (w/w) para el género *Eucalyptus* y .4% para la especie tratada.
- Se puede presumir la funcionalización del aceite esencia de *Eucalyptus* con el extracto etanólico crudo de *Coronopus Didymus* mediante el uso de química Click. Dicha presunción se fundamenta, dado que, en los cambios físicos del aceite esencial de *Eucalyptus* observados en el transcurso de la reacción general, análisis de cromatografía de gases acoplado a masas.
- La evidencia que aporta la prueba de inhibición de la enzima lipasa pancreática, prueba que su posible actividad inhibitoria aumenta con respecto a la muestra original del aceite esencial de *Eucalyptus*, aunque no alcanza los niveles del medicamento Orlistat, el cual se utiliza como control positivo.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar el aislamiento de las moléculas 1,8 cineol y 5,7,4'-trihidroxi-3'-metoxiflavona de los extractos crudos obtenidos de las especies vegetales empleadas en esta investigación.
2. Realizar al producto obtenido otras pruebas de actividad biológica pues el resultado no fue lo esperado, puede que, en otro tipo de prueba biológicas, actividad antioxidante, anti fúngicas, antibacterianas, antiinflamatorias, antioxidantes y antihelmínticas.

BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo, D., Navarro, M., & Monroy, L. (2013). Composición Química del Aceite Esencial de Hojas de Orégano (*Origanum Vulgare*). *Información Tecnológica*, 43-48.
- Akeroyd, N., & Klumperman, B. (2011). The combination of living radical polymerization and click chemistry for the synthesis of advanced macromolecular architectures. *European Polymer Journal*, 1207-1231.
- Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 143-152.
- Andrade Ochoa, S., Nevárez Moorillón, G. V., Camacho, A. D., Noguera, T. B., & Sánchez, T. L. (2017). Aceites esenciales y sus componentes como una alternativa en el control de mosquitos vectores de enfermedades. *Biomédica*, 224-243.
- Armando, J. D., Silvestre, J., Cavaleiro, A. S., Delmond, B., Filliatre, C., & Bourgeois, G. (1977). Análisis de la variación de la composición de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* Labill. de Portugal utilizando análisis estadístico multivariado. *Cultivos Nacionales y Productos*, 27-33.
- Armendáriz-Barragán, B., Álvarez-Román, R., & Galindo-Rodríguez, S. (2016). Formulación de productos naturales en sistemas de liberación micro- y nanoparticulados. *Investigación en plantas de importancia médica*, 411-436.

- Avila, I. M. (2009). Estudio de los Compuestos Polifenólicos, con Enfoque en Flavonoides del Hongo *Lentinula edodes* y Determinación de la actividad antioxidante. *Universidad Nacional de Colombia*.
- Baranska, M., Schulz, H., Reitzenstein, S., Uhlemann, U., Strehle, A., Krüger, H., . . . Popp, J. (2005). Vibrational Spectroscopic Studies to Acquire a Quality Control Method of Eucalyptus Essential Oils. *Biopolymers vol. 78*, 237-248.
- Batish, D. &. (2008). Eucalyptus essential oil as natural pesticide. *Forest Ecology and Management. Forest Ecology and Management*, 2166-2174.
- Batish, D., Pal Singh, H., Kaur, M., & Kohli, R. &. (2008). Caffeine affects adventitious rooting and causes biochemical changes in the hypocotyl cuttings of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb. *Acta Physiologiae Plantarum*, 401-405.
- Cartaya, O., & Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 5-14.
- Colombiano, H. N. (2015). *Instrucciones para la entrega de colecciones botánicas para determinación*. Bogotá D.C.
- Corrales, L. C., & Muñoz, M. M. (2012). *Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias*. Recuperado el 10 de agosto de 2017, de scielo.org:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1794-24702012000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Deng, J., Cheng, W., & Guangzhong, Y. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 1430-1435.

- Gilles, M., Zhao, J., An, M., & Agboola, S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. *Food Chemistry*, 731-737.
- Gonzalez, J., Cruz, J. M., Dominguez, H., & Parajo, J. C. (2004). Producción de antioxidantes a partir de madera de Eucalyptus globulus mediante extracción con solvente de hidrolizados de hemicelulosa. *Química de Alimentos*.
- Guarnizo, A. (2009). *Experimentos de Química Orgánica*. Armenia: Elizcom S.A.S.
- Hidayat, M. A., Fitri, A., & Kuswandi, B. (2017). Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 395-400.
- Huang D., Ou B., & Prior R.L. (2005). The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1841-1856.
- Jaramillo, A. G. (2003). *Plantas Medicinales en los Jardines de las Veredas Mancilla, La Tribuna, Pueblo Viejo y Tierra Morada (Facatativa Cundinamarca)*. Bogota: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de ciencias.
- Juergen, F., & Uwe, D. (2013). Efficacy of cineole in patients suffering from acute bronchitis: A placebo-controlled double-blind trial. *Cough (London, England)*, 9-25.
- Londoño, J. L. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. En J. L. Londoño, *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia* (pág. 129). Bogotá: Corporación Universitaria Lasallista.

- Luís, Â., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F., & Duarte, A. P. (2016). Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 274-282.
- Mahdi, D., & Robab., E. (2017). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Zhumeria majdae*, *Heracleum persicum* and *Eucalyptus* sp. against some important phytopathogenic fungi. *Journal de Mycologie Médicale. Journal of Medical Mycology*.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 271-278.
- Mejri, M., & Hassouna, M. (2017). Antioxidant and α -amylase inhibitory activities of some tunisian aromatic plants. *Semantic Scholar*.
- Mora, R. (2002). *Soprote nutricional especial*. Recuperado el 13 de 06 de 2017, de google libros :
<https://books.google.com.co/books?id=9xcMDqeWCAMC&pg=PA122&dq=actividad+antioxidante+definicion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjwnN-5wMjVAhWLLSYKHUJfC3wQ6AEIJTAA#v=onepage&q=actividad%20antioxidante%20definicion&f=false>
- Mora, S. Q. (2007). *Manual de experimentos de laboratorio para bioquímica*. Obtenido de <https://books.google.com.co/books?id=8SAtkthrFEkC>
- Nakhaee, A., Bokaeian, M., Saravani, M., Farhangi, A., & Akbarzadeh, A. (2009). Attenuation of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats by *Eucalyptus globulus*. *Indian J Clin Biochem*, 419-25.

National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2011). *PubChem*. Obtenido de PubChem:

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST) . (01 de 03 de 1991).

Spectral Database for Organic Compounds SDBS. Obtenido de Spectral Database for Organic Compounds SDBS: https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi

Nicolle, D., Dunlop, P. J., & Bignell, C. M. (1988). A study of the variation with time of the compositions of the essential leaf oils of 16 Eucalyptus species. *Flavour and Fragrance Journal*, 324–328.

Noreen, H., Semmar, N., Farman, M., & McCullagh, J. (2017). Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 1-10.

Oliveira, G. K., Tormin, T. F., Sousa, R. M., Oliveira, A. d., Morais, S. A., Richter, E. M., & Munoz, R. A. (2016). Batch-injection analysis with amperometric detection of the DPPH radical for evaluation of antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 691-697.

Parra, A. Q., Vargas, M. J., & Gélvez, I. M. (2013). Cuantificación De Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (Hap) En El Material Particulado Pm2.5 De Una Zona Residencial De Pamplona, Colombia. *SciELO - Scientific Electronic Library Online*.

Prabhakar, K., Veeresh, V., Vipani, P., Sudheer, M., Indira, P., Satish, R., . . . Kesavan., M. (2006). Bioactivity-guided fractionation of *Coronopus didymus*: A free radical scavenging perspective. *Phytomedicine. international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 591-595.

- Preethi Soundarya, S., Sanjay, V., Haritha Menon, A., Dhivya, S., & Selvamurugan, N. (2017). Effects of flavonoids incorporated biological macromolecules based scaffolds in bone tissue engineering. *J Biol Macromol*, 74-87.
- Raski, I., Ribnicky, D., Komarnytsky, S., Ilic, N., Poulev, A., Borisjuk, N., . . . Yakoby, N. (2002). *Plants and human health in the twenty-first century*. Recuperado el 24 de enero de 2017, de Academia:
https://www.academia.edu/4313727/Plants_and_human_health_in_the_twenty-first_century
- Rostovtsev, V. V., Green, L. G., & Fokin, V. V. (2002). A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew chem*, 2596-2599.
- Sánchez, C. (2017). Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushrooms. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 13-22.
- Sarda, L., & Desnuelle, P. (1958). Action De La Lipase Pancréatique Sur Les Esters En Émulsion. *Biochimica et Biophysica*, 513-521.
- Sarkar, S., Gaber, L., & Perazella, M. (2007). Acute Oxalate Nephropathy Associated With Orlistat, a Gastrointestinal Lipase Inhibitor. *American Journal of Kidney Diseases*, 153-157.
- Sharpless, B. (2012). Searching for New Reactivity (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition banner*, 2024-2032.

- Sharpless, B., Kolb, H., & Finn, M. (www.researchgate.net de 2001). s. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 2004-2021. Recuperado el 23 de enero de 2017, de www.researchgate.net:
<https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=57bc380edc332d26d73a8a91>
- Singh, G., Suresh, S., Bayineni, V. K., & Kadeppagari, R. K. (2015). Lipase inhibitors from plants and their medical applications. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 1-5.
- Valdomir, G., & Davyt, D. (octubre de 2009). Click Chemistry y productos naturales en el desarrollo de nuevos productos bioactivos. *XVI Jornadas de jovens pesquisadores da AUGM*. Brasil: Asociación de Universidades Grupo Montevideo.
- Voet, D., & Voet, J. (2006). *Bioquímica*. Buenos Aires, Argentina: Panamericana.
- Wang, H.-F., Yih, K.-H., Yang, C.-H., & Huang, K.-F. (2017). Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25-4.
- Wang, T.-y., Li, Q., & Bi, K.-s. (2017). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*.
- Wei, A., & Shibamoto, T. (2007). Antioxidant Activities and Volatile Constituents of Various Essential Oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1737-42.
- Yáñez, X. R., & Cuadro, O. M. (2012). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). *Bistua: Revista de la facultad de Ciencias Basicas.*, 52-61.

ANEXOS

Anexo 1. Identificación taxonómica del eucalipto



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ

FACULTAD DE CIENCIAS

INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

COL - 129

Bogotá D.C., 09 de mayo de 2017

Señores

ANGELA JARAMILLO

Ciudad

Asunto: **Identificación Taxonómica.**

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

☞ Nombre: *Eucalyptus globulus* Labill.
 ☞ Familia: MYRTACEAE
 No. COL 596979
 Colector Angela Jaramillo
 No. Colecta 1
 Determinó C. Parra-O./2017

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

Prof. CARLOS ALBERTO PARRA
 Administrador General
 Herbario Nacional Colombiano –COL
 Universidad Nacional de Colombia
 E-mail: herbacol_fcboq@unal.edu.co

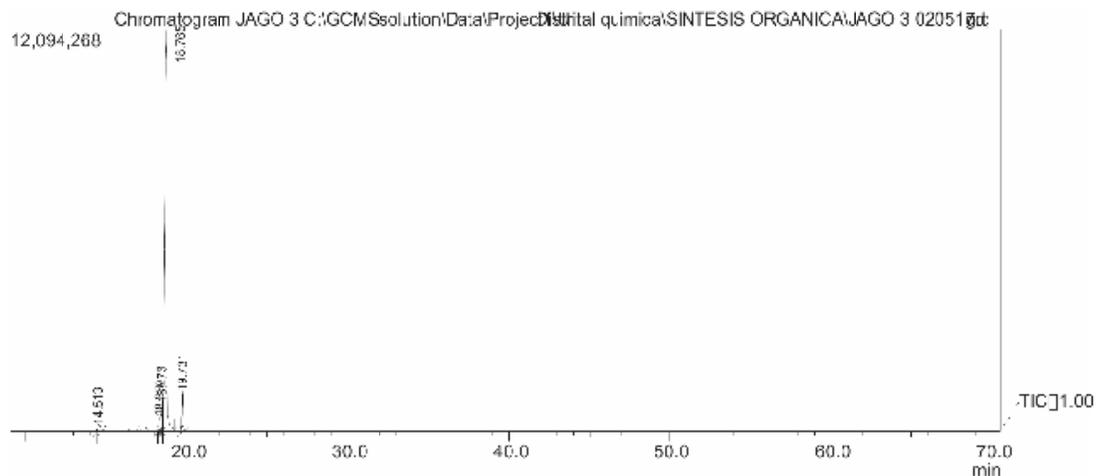
Copia: Archivo COL
Carlos Parra - O.

Carrera 30 No. 45-03, **INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES,**
 "HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)" Edificio 425- 2º piso, Oficina 222
 Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext.11538 – 11518 Fax: 11538
 Correo electrónico: herbacol_fcboq@unal.edu.co
 Bogotá, Colombia, Sur América

Anexo 2. Espectro gases acoplado a masas aceite esencial de eucalipto



UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
 FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACION
 LABORATORIO DE QUIMICA
 Coordinador: Jasus Alvaro Jiménez Montoya
 Analista: Javier Andrés Malolevich Pérez
 Solicitante:



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	14.513	14.387	14.773	2265204	1.57	190686	1.28	11.86		.alpha.-Pinene
2	18.330	13.207	18.353	2364258	1.63	433628	2.93	5.45		Benzene, 2-ethyl-1,3-dimethyl-
3	18.473	13.353	18.500	5523300	3.82	853843	5.81	6.43	V	trans-3-Carene 2-ol
4	18.765	13.500	19.207	128361518	88.73	1203043	81.78	10.62	V	Eucalyptol
5	19.731	13.513	19.920	6155532	50.85	1203043				1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methyl-ethyl)-
				144639812	100.00	14774954	100.00			

Method

[Comment]

----- Analytica Line 1 -----

[AOC-20]

of Rinses with Presolvent :5
 # of Rinses with Solvent(post) :5
 # of Rinses with Sample :2
 Plunger Speed(Suction) :High
 Viscosity Comp. Time :0.2 sec
 Plunger Speed(Injection) :Middle
 Syringe Insertion Speed :High
 Injection Mode :Normal
 Pumping Times :5
 Inj. Port Dwell Time :0.3 sec
 Terminal Air Gap :No
 Plunger Washing Speed :High
 Washing Volume :8uL
 Syringe Suction Position :0.0 mm
 Syringe Injection Position :0.0 mm

Use 3 Solvent: Vial : 1 vial

[GC-2010]

Column Oven Temp. : 40.0 °C
 Injection Temp. : 250.00 °C
 Injection Mode : Splitless
 Sampling Time : 1.00 min
 Flow Control Mode : Linear Velocity
 Pressure : 132.4 kPa
 Total Flow : 16.2 mL/min
 Column Flow : 1.20 mL/min
 Linear Velocity : 27.9 cm/sec
 Purge Flow : 3.0 mL/min
 Split Ratio : 10.0
 High Pressure Injection : OFF
 Carrier Gas Saver : OFF

Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	40.0	5.00
<.00	150.0	0.00
2.50	220.0	0.00
8.00	280.0	4.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven : Yes
 S-PL1 : Yes
 MS : Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

S-PL1 Carrier : Yes
 S-PL1 Purge : Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait : No
 Equilibrium Time : 3.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

IonSourceTemp : 230.00 °C
 Interface Temp. : 275.00 °C
 Solvent Cut Time : 9.00 min
 Detector Gain Mode : Relative
 Detector Gain : 0.00 kV
 Threshold : 1000

[MS Table]

--Group 1 - Event 1--

Start Time : 9.00min
 End Time : 10.30min
 ACQ Mode : Scan
 Event Time : 0.43sec
 Scan Speed : 1000
 Start m/z : 40.00
 End m/z : 400.00

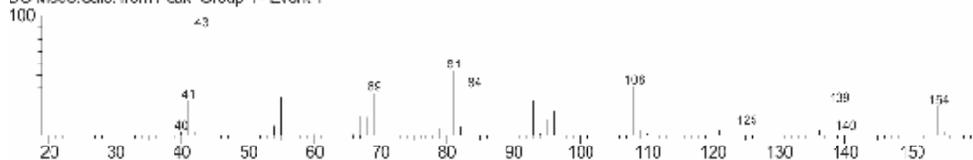
Sample Inlet Unit : GC

[MS Program]

Use MS Program : OFF

<< Target >>

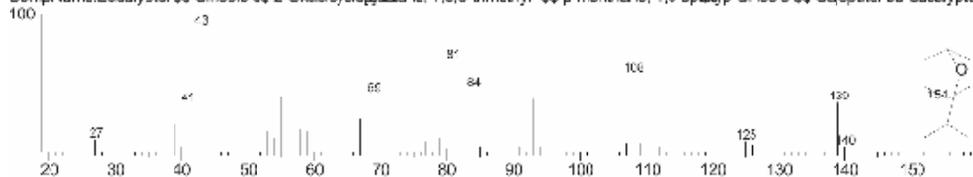
Line#4 R.Time:18.767(Scan#:1466) MassPeaks:78
 RawMode:Average(18.760-18.773(1465-1467) BasePeak(1614441))
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1- Event 1



Hit#1 Entry:17301 Library:NIST08.LIB

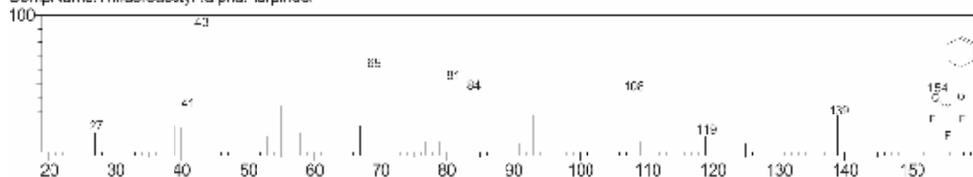
SI:93 Formula:C10H18O CAS:470-82-8 MolWeight:154 RetIndex:1099

CompName:Eucalyptol \$\$ Cineolol \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ p-Menthane, 1,8-epoxy-5p-Cineolol \$\$ Cineolol SS Eucalyptol SS Eucapulo



Hit#2 Entry:75978 Library:NIST08.LIB

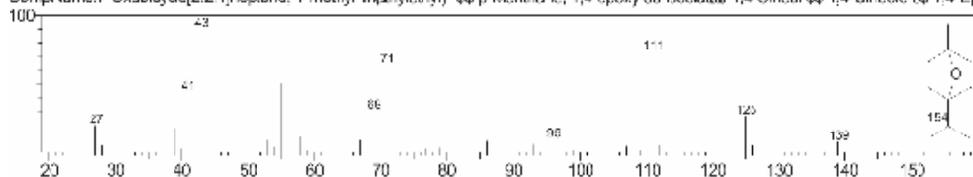
SI:87 Formula:C12H17F3O2 CAS:0-0-0 MolWeight:239 RetIndex:1167

CompName:Trifluoroacetyl- α -pineneol

Hit#3 Entry:17312 Library:NIST08.LIB

SI:84 Formula:C10H18O CAS:470-67-7 MolWeight:154 RetIndex:1012

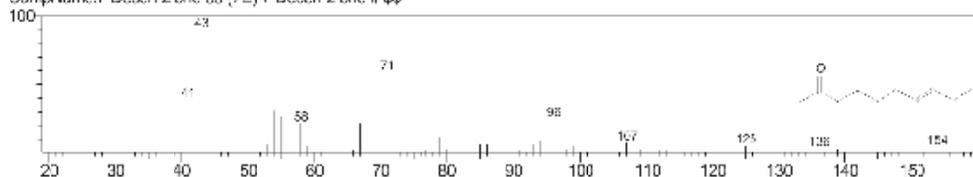
CompName:7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1-methyl-4-ethyl- \$\$ p-Menthane, 1,4-epoxy SS Isocineolol SS 1,4-Cineolol SS 1,4-Cineole SS 1,4-Epoxy-p-menth



Hit#4 Entry:17294 Library:NIST08.LIB

SI:84 Formula:C10H18O CAS:35194-33-3 MolWeight:154 RetIndex:1159

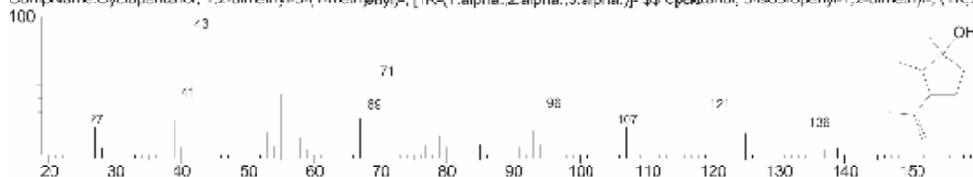
CompName:7-Decen-2-one SS (7E)-7-Decen-2-one # \$\$



Hit#5 Entry:17296 Library:NIST08.LIB

SI:83 Formula:C10H18O CAS:4028-60-8 MolWeight:154 RetIndex:1099

CompName:Cyclopentanol, 1,2-dimethyl-3-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.)]- \$\$ Cyclopentanol, 3-isopropenyl-1,2-dimethyl-, (1R,2S,3S)-

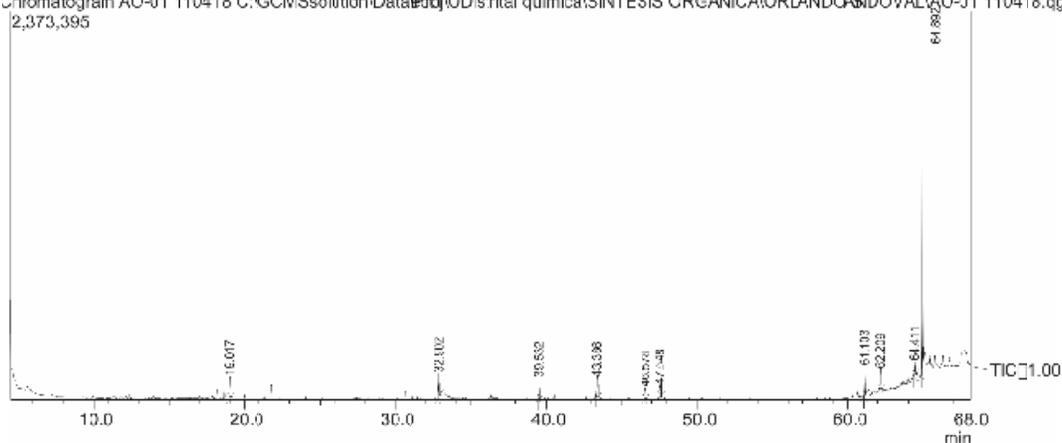


Anexo 3. Espectro gases acoplado a masas aceite esencial de eucalipto bromado.



UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
 FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACION
 LABORATORIO DE QUIMICA
 Coordinador: Adis Ayala Fajardo
 Analista: Javier Andres Nalulevich Pelaez
 Solicitante:

Chromatogram AO-01 110418 C:\GCM\Ssolution\Data\PU\UD\is'rital quimica\SINTESIS ORGANICA\ORLANDO ANDOVAL\AO-01 110418.qgd
 2,373,395



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	19.017	18.964	19.065	450857	5.14	135301	2.20	4	3.33	3-Cyclohexan-1-ol, 3-methyl-
2	32.902	32.836	32.983	531043	6.06	144778	.50	4	3.67	2-(3,4-Dibromo-4-methylcyclohexyl)propan-2-ol
3	39.532	39.473	39.605	465092	5.30	129140	.01	4	3.60	Decanedioic acid, didecyl ester
4	43.386	43.308	43.477	519908	5.93	110794	.44	3	4.69	l-(+)-Ascorbic acid 2,6-dihexadecan
5	46.578	46.520	46.645	260577	2.97	72134	24	2	3.61	1,7,7-Trimethyl-3-phenethylidenebicyclo[2.2.1]hept
6	47.548	47.488	47.642	320709	3.66	88655	13	2	4.67	n-Pentadecanol
7	61.103	61.047	61.165	535417	6.11	181101	.62	5	2.96	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) e
8	62.209	62.162	62.272	333591	3.80	115940	.72	3	2.78	Anthracen-5,7,9,22-tetraen-3-o
9	64.411	64.355	64.472	300006	3.42	86492	.69	2	3.47	4-Methoxy-N-[2,2,2-trifluoro-1-(3,4,5,6-tetrahydro
10	64.892	64.831	64.949	8768124	100.00	3220427	100.00		2.33	2,6,10,14,18,22-Tetraosahexaene, 2,6,10,15,19,23-

Method

[Comment]

----- Analytical Line 1 -----

[AOC-20]

of Rinses with Presolven. :5
 # of Rinses with Solvent(post) :5
 # of Rinses with Sample :3
 Plunge: Speed(Suction) :High
 Viscosity Comp. Time :0.2 sec
 Plunge: Speed(Injection) :Middle
 Syringe Insertion Speed :High
 Injection Mode :Norma
 Pumping Times :5
 Inj. Port Dwell Time :0.5 sec
 Terminal Air Gap :Nc
 Plunge: Washing Speed :High
 Washing Volume :8uL
 Syringe Suction Position :0.0 mm
 Syringe Injection Position :0.0 mm

Use 3 Solvent Vial :1 vial

[GC-2010]

Column Oven Temp. :40.0 °C
 Injection Temp. :250.00 °C
 Injection Mode :Splitless
 Sampling Time :1.00 min
 Flow Control Mode :Linear Velocity
 Pressure :63.9 kPa
 Total Flow :5.4 mL/min
 Column Flow :1.20 mL/min
 Linear Velocity :39.5 cm/sec
 Purge Flow :3.0 ml /min
 Split Ratio :1.0
 High Pressure Injection :OFF
 Carrier Gas Saver :OFF
 Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	40.0	1.00
4.00	130.0	1.00
2.50	220.0	1.00
8.00	285.0	3.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven :Yes
 SPL1 :Yes
 MS :Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier :Yes
 SPL1 Purge :Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait :No
 Equilibrium Time :3.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

IonSourceTemp :230.00 °C
 Interface Temp. :275.00 °C
 Solvent Cut Time :4.50 min
 Detector Gain Mode :Relative
 Detector Gain :0.00 kV
 Threshold :1000

[MS Table]

-Group 1 - Event 1-

Start Time :4.50min
 End Time :68.13min
 ACQ Mode :Scan
 Event Time :0.44sec
 Scan Speed :1000
 Start m/z :50.00
 End m/z :450.00

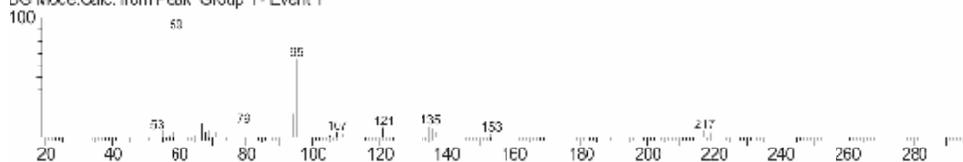
Sample Inlet Unit :GC

[MS Program]

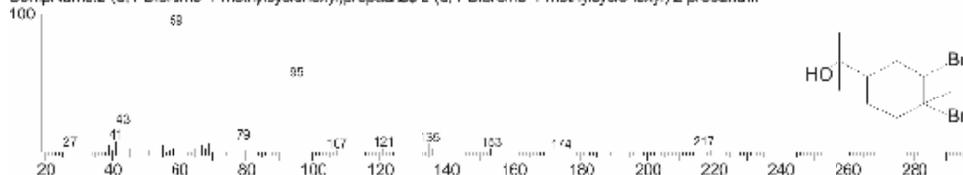
Use MS Program :OFF

<< Target >>

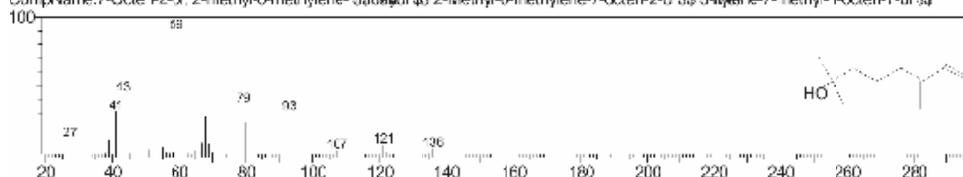
Line# 2 R.Time:32.902(Scan#:3874; MassPeaks:34)
 RawMode:Avoragod 32.906-32.909(3873-3875) BasePeak:39167)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1- Event 1



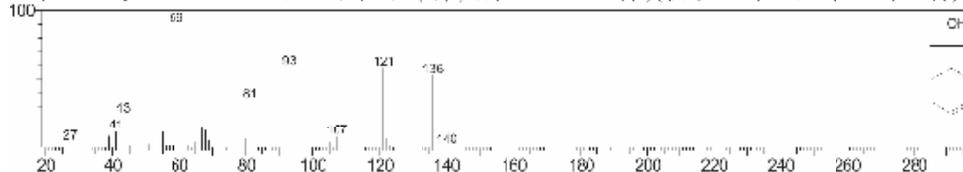
Hit# 1 Entry:119900 Library:NIST08.LIB
 SI:91 Formula:C10H18Br2O CAS:110202-13-0 MolWeight:312 RetIndex:1660
 CompName:2-(3,4-Dibromo-4-methylcyclohexyl)propan-2-ol



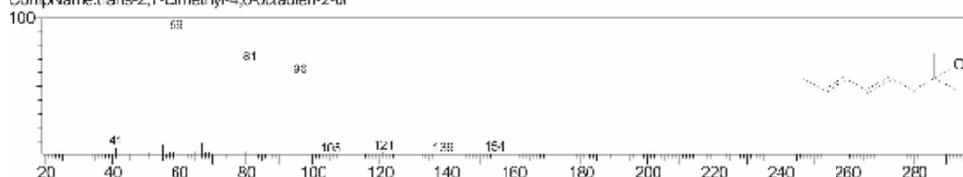
Hit# 2 Entry:17339 Library:NIST08.LIB
 SI:78 Formula:C10H18O CAS:543-39-5 MolWeight:154 RetIndex:1064
 CompName:7-Octen-2-ol, 2-methyl-6-methylene-5,8-dial



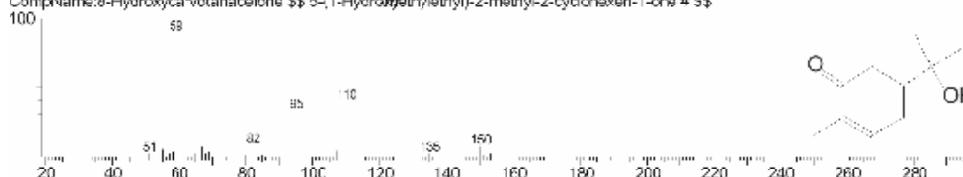
Hit# 3 Entry:17343 Library:NIST08.LIB
 SI:77 Formula:C10H18O CAS:10482-56-1 MolWeight:154 RetIndex:143
 CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha,alpha-dimethyl-, (S)-



Hit# 4 Entry:17341 Library:NIST08.LIB
 SI:75 Formula:C10H18O CAS:0-00-0 MolWeight:154 RetIndex:1100
 CompName:trans-2,7-Dimethyl-4,6-octadien-2-ol

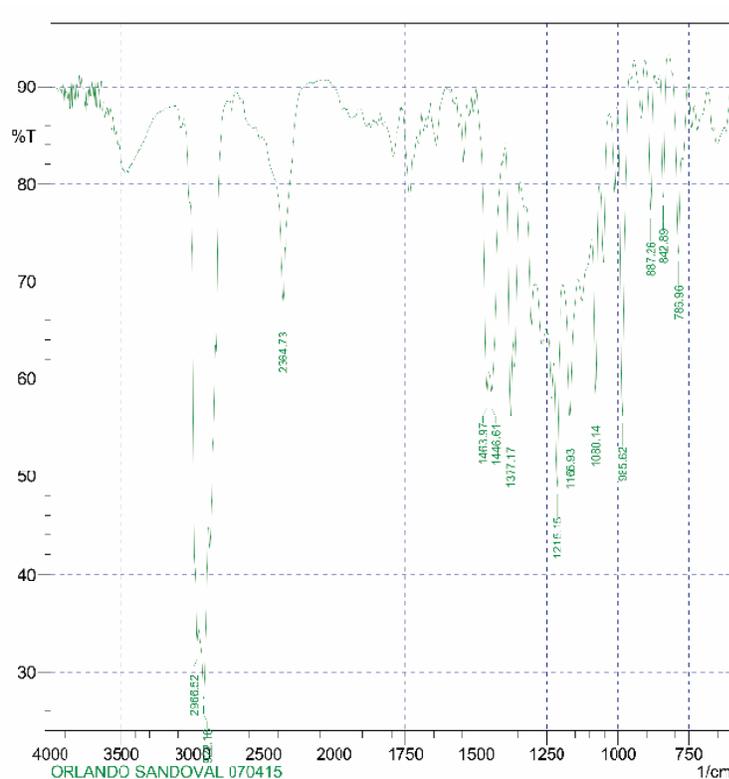


Hit# 5 Entry:24201 Library:NIST08.LIB
 SI:75 Formula:C10H16O2 CAS:7712-46-1 MolWeight:156 RetIndex:314
 CompName:8-Hydroxyxarvotanacelone



Anexo 4. Espectro infrarrojo aceite esencial de eucalipto.

SHIMADZ



No. Peak	Intensit	Corr. Int	Base (H)	Base (L)	Area	Corr. Ar	
1	786.06	72.737	12.666	808.17	777.31	2.736	0.86
2	842.89	78.516	13.491	854.47	825.53	1.742	0.722
3	887.26	77.226	14.647	906.54	873.75	2.094	0.906
4	985.62	56.173	33.161	1004.91	960.55	5.316	3.187
5	1080.14	58.316	18.626	1093.64	1064.71	4.509	2.238
6	1166.93	55.99	13.952	1192.01	1139.93	9.817	7.735
7	1215.15	48.914	15.334	1226.73	1192.01	7.729	5.344
8	1377.17	56.152	14.626	1396.46	1367.53	4.712	0.836
9	1446.61	58.506	6.636	1456.26	1411.89	7.388	0.679
10	1463.97	58.59	7.159	1500.62	1456.26	5.68	-0.166
11	2364.73	67.945	6.575	2505.53	2351.23	15.708	-0.088
12	2922.16	27.291	12.382	2956.87	2889.37	32.454	4.99
13	2966.52	32.907	8.641	3016.67	2956.87	18.581	5.525



UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
 Facultad de Ciencias y Educación
 Laboratorio de Química
 Coordinador: Javier Alonso Perez Cubides
 Analista: Javier Andres Matuevich Pelaez

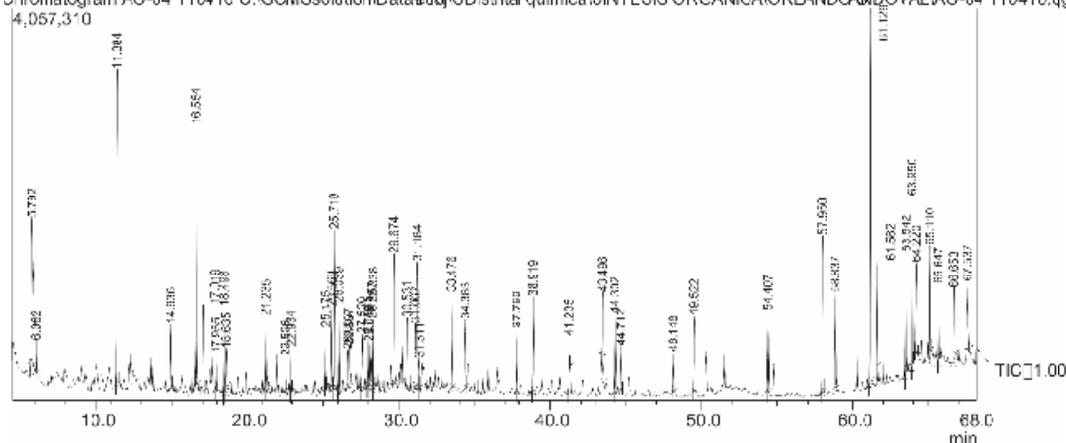
ORLANDO SANDOVAL 070415

ANEXO 5. Espectro gases acoplado a masas coronopus didymus bromado.



UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSÉ DE CALDAS
 FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
 LABORATORIO DE QUÍMICA
 Coordinador: Adis Ayala Fajardo
 Analista: Javier Andrés Maulovich Pelaez
 Solicitante:

Chromatogram AO-04 110418 C:\GCM\Solution\Data\Ford\UD\distral quimica\SINTESIS ORGANICA\ORLANDO ANDOVAL\AO-04 110418.qdd
 4,057,310



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	5.792	5.725	6.018	14900587	8.08	1487517	.113	10.02		Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
2	6.062	6.018	6.106	1291845	0.71	338742	1.07	3.81	V	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
3	11.384	11.276	11.503	17997850	9.70	3244961	6.79	5.55		Cyclotetrasiloxane, octamethyl-
4	14.936	14.877	15.023	2446666	1.32	633066	1.39	3.69		Undecane
5	16.554	16.475	16.644	9666566	5.72	2640666	1.87	3.02		1,4-dibromo-2,3-dimethyl-
6	17.019	16.967	17.105	2700538	1.46	855532	1.87	3.02		Cyclopentasiloxane, decamethyl-
7	17.955	17.913	18.030	146236	0.62	362638	0.76	3.17		1,1'-bicyclopropane, 2,2,2,2-tetrachloro-1,1-dimethyl-
8	18.498	18.441	18.558	2820349	1.52	882843	1.85	3.19		Benzene, (1,3,3-trimethylnonyl)-
9	18.635	18.558	18.697	419372	0.77	413830	0.87	3.43	V	Benzene, 1-(bromomethyl)-4-methyl-
10	21.235	21.176	21.337	2826922	3.662	866666	2-bromo-1,3,5-trimethyl-			
11	22.528	22.481	22.591	100933	3.106	366666	2-bromo-1,3,5-trimethyl-			
12	22.934	22.885	22.987	1264702	2.8769	358666	2-bromo-1,3,5-trimethyl-			
13	25.175	25.129	25.231	1684886	2.8451	388666	1,4-dibromo-2,5-dimethyl			
14	25.569	25.510	25.635	2717371	3.3947	366666	1,4-dibromo-2,5-dimethyl			
15	25.718	25.649	25.798	5698728	3.07	1853683	3.46	3.45		Benzene, 1,5-dibromo-2,4-dimethyl
16	26.039	25.979	26.111	3073684	3.3085	622715	1,4-dibromo-2,5-dimethyl			
17	26.603	26.559	26.647	1167818	3.023	267066	p-cymene			
18	26.697	26.647	26.764	1490699	3.849	366666	[3-bromo-1-chloropropyl]			
19	27.523	27.461	27.607	2673356	4.094	366666	1-bromo-			
20	27.945	27.893	27.986	1747877	3.154	655666	1,2-bis(bromomethyl)-			
21	28.049	27.996	28.113	1676996	3.8560	366666	2,4-dibromo-1,3,5-trimet			hyl-
22	28.257	28.223	28.297	2146863	2.8716	366666	1,3,5-trimethyl-			
23	28.338	28.297	28.399	2607732	2.8541	366666	1,3,5-trimethyl-			yl-
24	29.674	29.609	29.741	4530513	2.44	1344665	2.81	3.37		Benzene, 2,4-dibromo-1,3,5-trimethyl-
25	30.531	30.475	30.599	2330336	3.236	366666	2,4-dibromo-1,3,5-trimet			hyl-
26	31.067	31.010	31.120	2322858	3.065	366666	1,3,5-trimethyl-			
27	31.184	31.120	31.252	5048429	2.72	1317418	2.76	3.83	V	Tetradecane
28	31.311	31.252	31.362	1260802	3.957	366666	1-bromo-4-(1,1-dimethyl)			thyl)-
29	33.475	33.408	33.547	3684086	3.897	366666	hexadecamethyl			
30	34.383	34.325	34.449	245688	3.422	366666	heptadecane			
31	37.769	37.705	37.837	2253966	3.062	366666	hexadecane			
32	38.919	38.849	39.003	4086691	4.087	366666	octadecamethyl			
33	41.235	41.174	41.291	1696800	3.060	366666	hexadecane			
34	43.495	43.418	43.572	3022582	3.883	1779266	2,6-dihexadec			anolate
35	44.302	44.232	44.386	3557027	4.362	366666	octadecamethyl			
36	44.712	44.657	44.789	1794804	3.866	366666	hexadecane			
37	46.45	46.097	46.221	1492201	3.678	366666	hexadecane			
38	48.522	49.453	49.607	3352280	4.3180	366666	hexadecamethyl			
39	54.407	54.337	54.489	387488	4.839	366666	octadecamethyl			
40	57.950	57.872	58.048	7314701	3.54	1615347	3.38	4.53		Hexanedioic acid, bis(2-ethyl)ester

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
41	58.837	53.774	58.935	4000525	4.016	92920	9.12	3.24		Cyclononasiloxane, octadecamethyl
42	61.129	61.055	61.209	12577293	6.78	388250	8.12	3.24		1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester
43	61.582	61.521	61.641	3591611	1.94	1191708	2.90	3.01		Cyclononasiloxane, octadecamethyl
44	63.542	63.459	63.614	3540746	1.91	1271289	2.66	2.79		Cyclononasiloxane, octadecamethyl
45	63.950	63.900	64.003	4352767	2.35	1771079	3.70	2.46		Terephthalic acid, di(2-ethylhexyl) ester
46	64.220	64.135	64.347	5221920	5.022	429625	4.16	2.60		Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane
47	65.110	65.059	65.169	3020554	1.03	1162737	2.43	2.60		Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane
48	65.647	65.601	65.719	2047093	2.370	1898080	3.00			Decane
49	66.653	66.599	66.731	2592650	3.494	1944688	3.00			Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane
50	67.537	67.449	67.655	4143548	5.023	1704426	3.00			Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane
				185470737	100.00	47809608	100.00			

Method

[Comment]

----- Analytical Line 1 -----

[AOC-20]

of Rinses with Presolvent :5
 # of Rinses with Solvent(post) :5
 # of Rinses with Sample :3
 Plunger Speed(Suction) :High
 Viscosity Comp. Time :0.2 sec
 Plunger Speed(Injection) :Middle
 Syringe Insertion Speed :High
 Injection Mode :Normal
 Pumping Times :5
 Inj. Port Dwell Time :0.3 sec
 Terminal Air Gap :No
 Plunger Washing Speed :High
 Washing Volume :8uL
 Syringe Suction Position :0.0 mm
 Syringe Injection Position :0.0 mm
 Use 3 Solvent Vial :1 vial

[GC-2010]

Column Oven Temp. :40.0 °C
 Injection Temp. :250.00 °C
 Injection Mode :Splitless
 Sampling Time :1.00 min
 Flow Control Mode :Linear Velocity
 Pressure :63.9 kPa
 Total Flow :5.1 mL/min
 Column Flow :1.20 mL/min
 Linear Velocity :38.6 cm/sec
 Purge Flow :3.0 mL/min
 Split Ratio :1.0
 High Pressure Injection :OFF
 Carrier Gas Sever :OFF
 Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	40.0	1.00
4.00	160.0	1.00
2.50	220.0	1.00
8.00	285.0	3.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven : Yes
 SPL1 : Yes
 MS : Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier : Yes
 SPL1 Purge : Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait :No
 Equilibrium Time :3.0 min

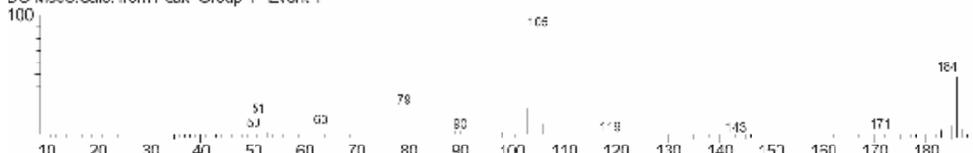
[GC Program]

[GCMS-QP2010 Plus]

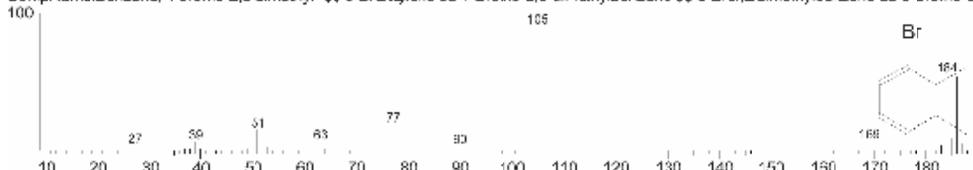
IonSourceTemp :250.00 °C
 Interface Temp. :275.00 °C
 Solvent Cut Time :4.50 min
 Detector Gain Mode :Relative
 Detector Gain :0.00 kW
 Threshold :1000

<< Target >>

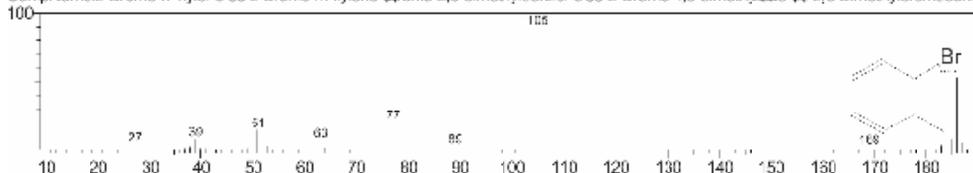
Line# 5 R.Time: 16.556 (Scan#: 1645) MassPeaks: 55
 RawMode: Averaged 16.549 16.563 (1644-1646) BasePeak: 106 (581726)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1- Event 1



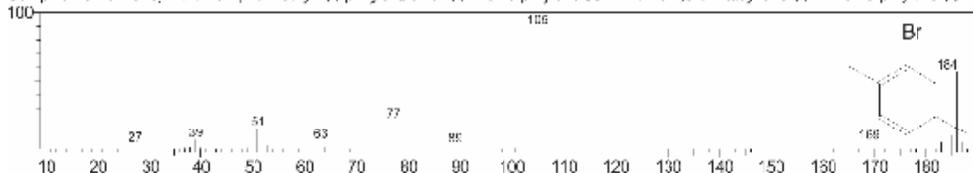
Hit# 1 Entry: 32965 Library: NIST08LIB
 St: 97 Formula: C8H9Br CAS 576-23-8 Mo/Wegt: 184 Index: 1227
 CompName: Benzene, 1-bromo-2,3-dimethyl- \$\$ 3-Bromotoluene SS 1-Bromo-2,3-dimethylbenzene \$\$ 3-Bromo-1,2-dimethylbenzene SS 3-Bromo-ortho-xylene \$\$



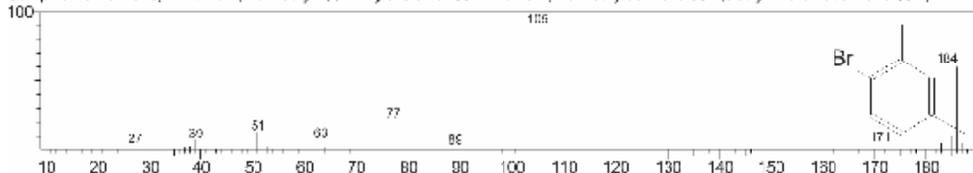
Hit# 2 Entry: 32964 Library: NIST08LIB
 St: 97 Formula: C8H9Br CAS 576-22-7 Mo/Wegt: 184 Index: 1227
 CompName: 2-Bromo-m-xylene SS 2-Bromo-m-xylene SS 2-Bromo-1,3-dimethylbenzene SS 2-Bromo-1,3-dimethylbenzene SS 2,6-Dimethylbromobenzene SS m-Xylene, 2-br



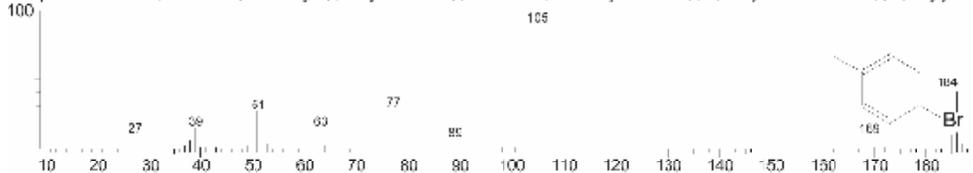
Hit# 3 Entry: 32963 Library: NIST08LIB
 St: 97 Formula: C8H9Br CAS 553-94-6 Mo/Wegt: 184 Index: 1227
 CompName: Benzene, 2-bromo-1,4-dimethyl- \$\$ p-Xylobromo- \$\$ Bromo-p-xylene SS 1-Bromo-2,5-dimethylbenzene SS 2-Bromo-p-xylene SS 2-Bromo-1,4-dimethy



Hit# 4 Entry: 32961 Library: NIST08LIB
 St: 96 Formula: C8H9Br CAS 583-70-0 Mo/Wegt: 184 Index: 1227
 CompName: Benzene, 1-bromo-2,4-dimethyl- \$\$ m-Xylobromo- \$\$ 1-Bromo-2,4-dimethylbenzene SS 1,3-Dimethyl-4-bromobenzene SS 2,4-Dimethylbromobenzene \$

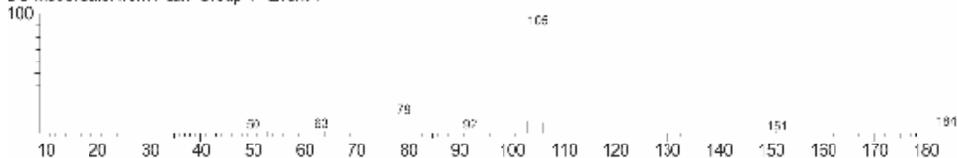


Hit# 5 Entry: 32962 Library: NIST08LIB
 St: 93 Formula: C8H9Br CAS 583-71-1 Mo/Wegt: 184 Index: 1227
 CompName: Benzene, 4-bromo-1,2-dimethyl- \$\$ o-Xylobromo- \$\$ 1-Bromo-3,4-dimethylbenzene SS 3,4-Dimethylbromobenzene SS 3,4-Xylyl bromide SS 4-Bromo-



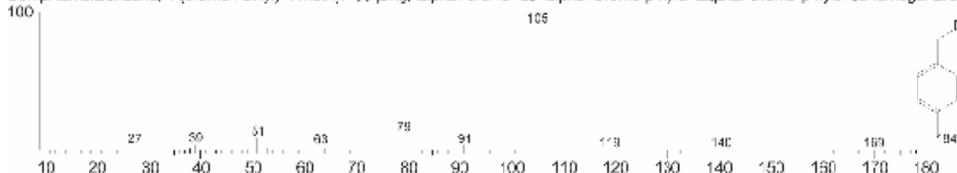
<< Target >>

Line#:9 R.Time:18.639(Scan#:1929) MassPeaks:38
 RawMode:Avoragod 18.631-18.646(1929 1930) BasePeak:105(218993)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



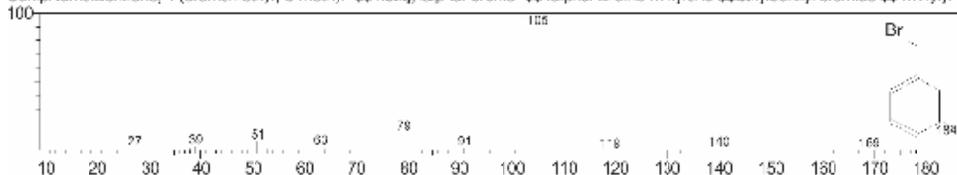
Hit#1 Entry:32956 Library:NIST08.LIB

SI:96 Formula:C8H9Br CAS 104-81-4 MolWeight:181 RetIndex:1203

CompName:Benzene, 1-(bromomethyl)-4-methyl- ~~SS~~ ~~alpha-bromo-~~ ~~SS~~ ~~alpha-Bromo-p-xylene~~ ~~SS~~ ~~alpha-Bromo-p-xylyl~~ ~~SS~~ ~~omega-Bromo-p-xylene~~ ~~SS~~ p

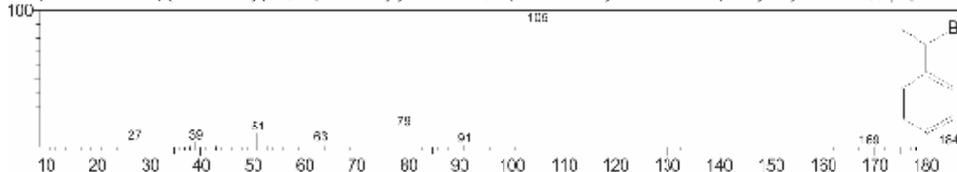
Hit#2 Entry:32955 Library:NIST08.LIB

SI:96 Formula:C8H9Br CAS 620-13-3 MolWeight:181 RetIndex:1203

CompName:Benzene, 1-(bromomethyl)-3-methyl- ~~SS~~ ~~alpha-bromo-~~ ~~SS~~ ~~alpha-Bromo-m-xylene~~ ~~SS~~ ~~ethylbenzyl bromide~~ ~~SS~~ ~~m-Xylyl bromide~~ ~~SS~~ 3-Methyl

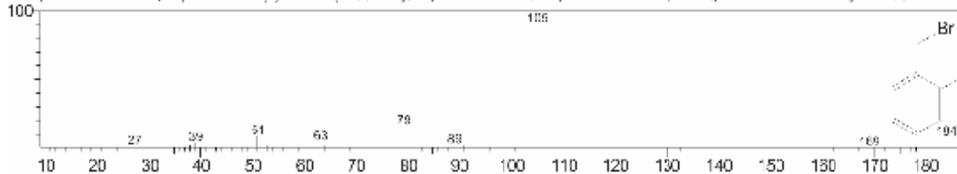
Hit#3 Entry:32957 Library:NIST08.LIB

SI:94 Formula:C8H9Br CAS 585-71-7 MolWeight:181 RetIndex:1125

CompName:Benzene, (1-bromoethyl)- ~~SS~~ ~~alpha-Methyl~~ ~~bromide~~ ~~SS~~ ~~alpha-Phenethyl bromide~~ ~~SS~~ ~~alpha-Phenylethyl bromide~~ ~~SS~~ ~~(alpha-Bromoethyl)benz~~

Hit#4 Entry:32958 Library:NIST08.LIB

SI:94 Formula:C8H9Br CAS 89-92-9 MolWeight:181 RetIndex:1203

CompName:Benzene, 1-(bromomethyl)-2-methyl- ~~SS~~ ~~alpha-bromo-~~ ~~SS~~ ~~alpha-Bromo-o-xylene~~ ~~SS~~ ~~alpha-Bromo-ortho-xylene~~ ~~SS~~ ~~o-Methylbenzyl bromide~~

Hit#5 Entry:14463 Library:NIST08.LIB

SI:93 Formula:C10H12O CAS 26437-10-5 MolWeight:148 RetIndex:1172

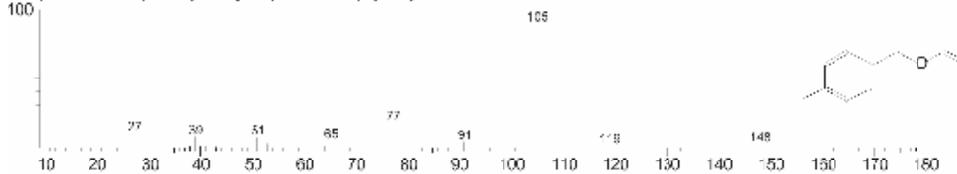
CompName:Ether, p-methylbenzyl vinyl ~~SS~~ 4-Methylbenzylvinylether # ~~SS~~

Tabla 3.

Resultados observados de pruebas de tubo para identificación de flavonoides

PRUEBA	RESULTADO	EVIDENCIA
SHINODA	POSITIVO	
Zn/HCl	POSITIVO	
H₂SO₄ 98%	POSITIVO	
ÁLCALIS	POSITIVO	
PACHECO	POSITIVO	
ESPEJO DE PLATA	NEGATIVO	