

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ANÁLISIS QUÍMICO Y DETERMINACIÓN DEL EFECTO  
VASODILATADOR DE EXTRACTOS OBTENIDOS DE LAS  
PARTES AÉREAS DE *Heliopsis longipes*”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:**

**JUAN JOSÉ ROMERO TOVAR**

**DIRIGIDA POR:**

**Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA**

**CODIRIGIDA POR:**

**M. en C. GABRIELA VICTORIA RUIZ CASTILLO**

**SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2024**

La presente obra está bajo la licencia:  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

### Usted es libre de:

**Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

### Bajo los siguientes términos:



**Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



**NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



**SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

**No hay restricciones adicionales** — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

### Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**“ANÁLISIS QUÍMICO Y DETERMINACIÓN DEL EFECTO  
VASODILATADOR DE EXTRACTOS OBTENIDOS DE LAS  
PARTES AÉREAS DE *Heliopsis longipes*”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:**

**JUAN JOSÉ ROMERO TOVAR**

**DIRIGIDA POR:**

**Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA**

**CODIRIGIDA POR:**

**M. en C. GABRIELA VICTORIA RUIZ CASTILLO**

**SINODALES**

**Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA**  
**DIRECTORA**

\_\_\_\_\_

**M. en C. GABRIELA VICTORIA RUIZ CASTILLO**  
**CODIRECTORA**

\_\_\_\_\_

**Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO**  
**SINODAL**

\_\_\_\_\_

**Dra. JUANA ISELA ROJAS MOLINA**  
**SINODAL**

\_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, quien ha sido mi pilar y fuente constante de apoyo. A mi mamá, Susana, por su amor, paciencia y por enseñarme a creer en mí mismo, incluso en los momentos más difíciles; a mi papá, Jesús, por su ejemplo de esfuerzo y perseverancia, que me ha inspirado a superar cada reto; y a mi hermano, Felipe, por su confianza en que lo lograría.

A mi novio, Abraham, por su comprensión, paciencia y palabras de ánimo que han sido fundamentales en los momentos de dificultad, gracias por brindarme tu apoyo incondicional y por ser una fuente constante de amor.

A mis amigos, quienes estuvieron desde el inicio de esta aventura. Su amistad genuina, las risas compartidas, las largas noches de estudio y todos los momentos que vivimos juntos hoy se convierten en entrañables anécdotas que hicieron de este camino un verdadero placer.

A la Dra. Alejandra, mi directora de tesis, por recibirme en su laboratorio. Su pasión, vocación y compromiso con la excelencia son una gran fuente de inspiración que fácilmente se contagia, es un privilegio aprender de alguien que ama tanto lo que hace.

A la M. en C. Victoria, mi codirectora de tesis, por ser realmente una guía invaluable en este proceso. Su apoyo constante, paciencia y sabiduría siempre fueron un faro que me permitió avanzar con paso firme. Definitivamente, todo un ejemplo a seguir.

A los integrantes del comité de tesis, el Dr. César y la Dra. Isela, cuyas observaciones y sugerencias fueron esenciales para mejorar y fortalecer esta investigación. Aprecio profundamente su disposición para revisar y contribuir con sus valiosos conocimientos el presente trabajo.

A la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro por ser mi segundo hogar y permitirme ser ahora un profesionista. Indudablemente, la formación que recibí aquí fue fundamental para mi desarrollo personal y profesional.

*Este trabajo va dedicado a quienes nunca dudaron en que lo lograría y desde el  
inicio confiaron en mí.*

„Erfolg entsteht nicht aus dem, was wir wissen, sondern aus dem, was wir tun und bereit sind, immer weiter zu verbessern. Nur durch stetige Anstrengung und Ausdauer kommen wir unseren Zielen näher.“

— Nota del autor

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1. Etnobotánica y plantas medicinales	3
II.1.1. Plantas en la medicina tradicional	3
II.1.2. Búsqueda de nuevos fármacos	4
II.2. Chilcuague ( <i>Heliopsis longipes</i> )	4
II.2.1. Características morfológicas y taxonomía	6
II.2.2. Distribución geográfica	7
II.2.3. Estadios fenológicos	7
II.2.4 Usos tradicionales en la etnobotánica	8
II.2.5 Investigación actual sobre <i>H. longipes</i>	9
II.2.6 Raíces de <i>H. longipes</i>	10
II.2.7 Hojas de <i>H. longipes</i>	10
II.2.8 Flores de <i>H. longipes</i>	11
II.3. Metabolómica vegetal	13
II.3.1 Metabolitos primarios	14
II.3.2 Metabolitos secundarios (especializados)	14
II.4. Métodos de extracción	17
II.4.1 Maceración	17
II.5. Técnicas analíticas instrumentales	18
II.5.1 CG-EM en la metabolómica vegetal	19
II.5.2 HPLC en la metabolómica vegetal	20
II.6. Enfermedades cardiovasculares	22
II.6.1 Estadísticas de las ECVs	23

II.6.2 Etiología de las ECVs	23
II.6.3 Fisiopatología de las ECVs	24
II.6.4 Diagnóstico de las ECVs	25
II.6.5 Tratamiento de las ECVs	25
III. HIPÓTESIS	28
IV. OBJETIVOS	29
IV.1 Objetivo General	29
IV.2 Objetivos específicos	29
V. METODOLOGÍA	30
V.1 Materiales	30
V.1.1 Material biológico	30
V.1.2 Reactivos	30
V.2 Métodos	30
V.2.1 Recolección de especímenes de <i>H. longipes</i>	30
V.2.2 Obtención de los extractos	33
V.2.3 Análisis de los extractos de diclorometano mediante CG-EM	33
V.2.4 Análisis de los extractos orgánicos mediante UPLC-EM	34
V.2.5 Cuantificación de afinina y búsqueda de alcamidas por HPLC-DAD	36
V.2.6 Cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y capacidad antioxidante.	37
V.2.7 Ensayo de vasodilatación <i>ex-vivo</i>	39
V.2.8 Análisis estadístico	41
V.2.9 Gráficos de espacio químico	41
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
VI.1 Compuestos identificados por CG-EM	42
VI.1.1 Raíces	46
VI.1.2 Hojas	50
VI.1.3 Flores	56
VI.2 Compuestos identificados por UPLC-EM	60
VI.3 Cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y capacidad antioxidante.	65



VI.3.1 Compuestos fenólicos totales (CFT)	65
VI.3.2 Cuantificación de flavonoides totales (FT)	67
VI.3.3 Capacidad antioxidante (CA)	70
VI.4 Cuantificación de afinina en los extractos orgánicos	73
VI.5 Efecto vasodilatador de los extractos orgánicos	75
VI.6 Discusión global	78
VII. CONCLUSIONES	82
VIII. BIBLIOGRAFÍA	83
IX. ANEXOS	99
IX.1 Carta bioética	99
IX.2 Matriz de datos empleados para el gráfico de espacio químico.	101
IX.3 Cromatogramas UPLC-EM	107

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Nombre de Cuadro	Página
1	Comparación de <i>H. longipes</i> con sus congéneres morfológicamente similares.	5
2	Condiciones experimentales del cromatógrafo de gases.	33
3	Condiciones experimentales del EM para CG-EM.	34
4	Condiciones experimentales del UPLC-EM para extractos orgánicos.	35
5	Condiciones experimentales del EM para UPLC-EM.	36
6	Condiciones experimentales del HPLC-DAD para los extractos orgánicos.	37
7	Compuestos identificados en las raíces de <i>H. longipes</i> por CG-EM.	46
8	Compuestos identificados en las hojas de <i>H. longipes</i> por CG-EM.	50
9	Compuestos identificados en las flores de <i>H. longipes</i> por CG-EM.	56
10	Compuestos identificados en extractos metanólicos mediante UPLC-EM	61
11	Reporte de compuestos fenólicos totales.	65
12	Reporte de flavonoides totales.	67
13	Reporte de capacidad antioxidante.	71
14	Parámetros estadísticos y farmacológicos de las curvas dosis-respuesta.	76

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Nombre de Figura	Página
1	Partes de la planta	6
2	Distribución geográfica de <i>H. longipes</i>	7
3	Fenología de <i>H. longipes</i> registrada en la localidad de Huertitas, Rioverde, S.L.P., México	8
4	Imagen de las raíces de <i>H. longipes</i>	10
5	Imagen de las hojas de <i>H. longipes</i>	11
6	Imagen de las flores de <i>H. longipes</i>	12
7	Metabolómica vegetal: Una nueva era en la mejora de cultivos	13
8	Descripción general de las funciones de los metabolitos secundarios	15
9	Estructura química de la afinina, la principal alcaloide en las raíces de <i>H. longipes</i>	16
10	Descripción general del flujo de trabajo de la CG-EM aplicado en metabolómica	20
11	Descripción general del flujo de trabajo de la HPLC aplicado en metabolómica dirigida	21
12	Enfermedades cardiovasculares: implicaciones y estrategias terapéuticas	22
13	Mecanismos de acción de los vasodilatadores	26
14	Gráfico de espacio químico no polar de <i>H. longipes</i> en 5D.	42
15	Gráfico de espacio químico no polar de <i>H. longipes</i> en 4D.	43
16	Gráfico t-SNE no polar de <i>H. longipes</i> .	45
17	Cromatograma de las raíces y sus compuestos mayoritarios.	48
18	Cromatograma de las hojas y sus compuestos mayoritarios.	53
19	Cromatograma de las flores y sus compuestos mayoritarios.	58
20	Curva de calibración del ácido gálico.	65
21	Cuantificación de compuestos fenólicos totales. A) Flores y hojas (Parola-Contreras y col., 2021) B) Hojas, Flores, Raíces y Semillas de Beltrán.	66

22	Curva de calibración de catequina.	67
23	Cuantificación de flavonoides totales.	68
24	Comparación de flavonoides totales respecto a compuestos fenólicos totales.	69
25	Curva de calibración de TROLOX para DPPH.	70
26	Curva de calibración de TROLOX para FRAP.	70
27	Actividad de eliminación de radicales libre de los extractos. A) Flores y hojas (Parola-Contreras y col., 2021) B) Semillas, raíces, hojas y flores de Beltrán.	71
28	Curva de calibración de la afinina.	73
29	Cromatogramas empleados para la cuantificación de afinina.	73
30	Cuantificación de afinina en los extractos orgánicos de <i>H. longipes</i> .	74
31	Curvas dosis-respuesta del ensayo de vasodilatación. A) Extractos de diclorometano. B) Extractos metanólicos.	75

## RESUMEN

El estudio de las plantas utilizadas en la medicina tradicional ha contribuido de manera significativa al descubrimiento de compuestos bioactivos con diferentes actividades farmacológicas y al posterior desarrollo de nuevos fármacos. *Heliopsis longipes* es una planta endémica de la Sierra Gorda y su raíz, es ampliamente utilizada con fines culinarios y medicinales en el centro de México. En este sentido, el aprovechamiento tradicional de esta especie se ha limitado únicamente a la utilización de la raíz como materia prima lo que implica la destrucción total de la planta. Hasta el momento, no existe registro del uso de otras partes de la planta con fines culinarios, medicinales o agronómicos. La ausencia de investigaciones formales en la caracterización de los compuestos químicos de los diferentes órganos de esta planta representa una limitación significativa para alcanzar una comprensión integral de esta valiosa especie. El presente proyecto de investigación abordó un análisis exploratorio de los metabolitos especializados presentes en las partes aéreas (hojas y flores) de especímenes silvestres de *H. longipes*, a través de la caracterización de los extractos orgánicos polares y no polares. Adicionalmente, se llevó a cabo la evaluación farmacológica de su efecto vasodilatador. Los resultados derivados del análisis cromatográfico permitieron identificar un total de 36 compuestos en las raíces, de los cuales, las alcanidas, como la afinina, representaron el 78.21% de la abundancia total. En el caso de las hojas, se identificaron 72 compuestos, principalmente terpenoides y ácidos grasos y en las flores se lograron identificar 73 compuestos, siendo los mayoritarios ácidos grasos, ésteres y terpenoides.

A través de gráficos de espacio químico y t-SNE, se reveló la notable diversidad metabólica de *H. longipes* y su adaptación funcional a diferentes necesidades ecológicas. Los extractos no polares de hojas presentaron actividad vasodilatadora con un  $E_{\text{máx}}$  del 100% y  $CE_{50}$  de 570.6  $\mu\text{M}$  cuyo efecto no se atribuye a la presencia de la afinina, como en el caso de los extractos obtenidos a partir de las raíces. Los resultados derivados de la presente investigación indican que las hojas de *H. longipes* como una fuente de moléculas vasodilatadoras, potencialmente útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

## I. INTRODUCCIÓN

En el vasto campo de la etnobotánica y la etnofarmacología, la exploración de las plantas medicinales y sus aplicaciones tradicionales ha sido fundamental tanto para el descubrimiento de nuevos fármacos, como para la preservación del conocimiento ancestral. Alrededor del 35 % de los fármacos aprobados por la FDA se originaron directa o indirectamente a partir de productos naturales. Las plantas son una fuente muy importante de agentes terapéuticos, que incluyen compuestos puros o fitomedicamentos. De manera particular, los productos naturales, entre los que destacan los metabolitos secundarios, constituyen la materia prima para el desarrollo de medicamentos complejos y semisintéticos, prototipos para el diseño de compuestos líderes y representan también marcadores taxonómicos. El presente estudio se centra en el análisis químico y farmacológico de las partes aéreas de la especie vegetal *Heliopsis longipes*, conocida como chilcuague, la cual posee diversas aplicaciones en la medicina tradicional mexicana.

A pesar de su importancia en la herbolaria indígena y los hallazgos prometedores en investigaciones recientes, la planta *H. longipes* enfrenta desafíos en términos de conservación, cultivo sostenible y optimización de sus usos medicinales. La falta de estudios exhaustivos sobre métodos de extracción eficientes, caracterización de compuestos químicos de todas sus partes y la evaluación de su potencial en aplicaciones farmacológicas específicas limita la comprensión completa de esta valiosa especie.

Evidentemente, la medicina tradicional representa una fuente de información valiosa en la búsqueda de nuevos fármacos y es necesaria la realización de investigaciones más profundas sobre especies vegetales cuyo uso con fines terapéuticos se encuentra muy difundido, tal es el caso de *H. longipes*. En estudios científicos previos, se ha demostrado que los extractos orgánicos preparados a partir de la raíz de esta planta, poseen actividad vasodilatadora, antinociceptiva, antiproliferativa y antiinflamatoria, entre otras actividades farmacológicas, lo que la convierte en un candidato prometedor para el desarrollo de nuevos fármacos. Sin embargo, a la fecha no se han realizado estudios químicos y farmacológicos sobre las partes

aéreas de esta especie vegetal (hojas y flores), de tal forma que se desconocen las potenciales aplicaciones que estas partes de la planta podrían tener, limitando su aprovechamiento.

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo general realizar un análisis químico y determinar el efecto vasodilatador de extractos orgánicos obtenidos a partir de las partes aéreas de *H. longipes*.

## **II. ANTECEDENTES**

### **II.1. Etnobotánica y plantas medicinales**

#### **II.1.1. Plantas en la medicina tradicional**

La etnobotánica es un campo interdisciplinario que combina el estudio de las plantas y sus usos tradicionales por parte de diferentes comunidades. Implica la exploración de conocimientos y prácticas indígenas relacionadas con las plantas medicinales, las cuales han sido ampliamente reconocidas por su contribución a la salud y preservación de la biodiversidad. La investigación etnobotánica juega un papel crucial en la documentación y preservación de este valioso conocimiento, así como en la comprensión de los factores culturales y ecológicos que influyen en el uso de plantas medicinales en diferentes sociedades (Rejón-Orantes y col., 2023).

El estudio de la etnofarmacología, rama de la etnobotánica, se centra específicamente en las prácticas medicinales tradicionales de diferentes culturas y el uso de hierbas medicinales en el tratamiento de enfermedades. Este campo ha sido fundamental en la identificación de nuevos fármacos y agentes terapéuticos, varios de los cuales tienen su origen en plantas tradicionalmente utilizadas por los pueblos indígenas. Por ejemplo, la morfina, la quinina y la aspirina se derivan de plantas que se han utilizado durante siglos en la medicina tradicional (Nerkar y Nagarkar, 2023).

En los últimos años, ha habido un creciente interés en el potencial de diferentes sistemas médicos tradicionales, tales como: la medicina Ayurvédica, la homeopatía, los nutraceuticos, la alopática y el uso de medicamentos herbarios. Estos sistemas tradicionales de medicina tienen una rica historia de uso de remedios basados en plantas para tratar diversas dolencias y enfermedades. La medicina ayurvédica, por ejemplo, se ha practicado durante más de 5,000 años y se basa en los principios del equilibrio y la armonía del cuerpo, la mente y el espíritu. Utiliza remedios naturales, incluyendo hierbas, minerales y productos animales para promover la salud y el bienestar (Nandaniya y col., 2023).

La exploración de la etnobotánica y la etnofarmacología no sólo ha llevado al descubrimiento de nuevos fármacos, sino que también ha ayudado a preservar los



conocimientos tradicionales y la biodiversidad. Al estudiar los usos tradicionales de las plantas medicinales, los investigadores pueden obtener información sobre las propiedades terapéuticas potenciales de estas plantas y desarrollar prácticas sostenibles para su uso (Saha y Sarankar, 2023).

#### II.1.2. Búsqueda de nuevos fármacos

Las plantas medicinales han sido reconocidas desde hace mucho tiempo por su potencial en el descubrimiento y desarrollo de fármacos debido a su rico reservorio de compuestos bioactivos con diversas estructuras químicas y actividades biológicas. Los productos naturales derivados de plantas han demostrado propiedades antimicrobianas, antioxidantes y anticancerígenas prometedoras, convirtiéndolos en candidatos atractivos para el desarrollo de nuevas terapias para combatir enfermedades infecciosas y cáncer (Ahmad y Karmakar, 2023).

El proceso de descubrimiento de fármacos a partir de productos naturales implica un enfoque integral y riguroso, que incluye aislamiento de compuestos, caracterización, evaluación de su actividad biológica y ensayos preclínicos y clínicos para identificar compuestos con potencial terapéutico (Ajani, 2022).

Así mismo, la conservación y cultivo de plantas medicinales es de suma importancia para asegurar un suministro sostenible de estos valiosos recursos y apoyar el desarrollo de medicamentos seguros y eficaces para el manejo y prevención de enfermedades (Ajani, 2022).

#### II.2. Chilcuague (*Heliopsis longipes*)

La tribu Heliantheae de la familia Asteraceae alberga al género *Heliopsis*, que comprende 14 especies, en su mayoría endémicas de México y aún no todas debidamente definidas (algunas diferencias y similitudes se muestran en el cuadro 1). La utilidad de estas plantas se ha limitado, desde el punto de vista antropocéntrico, a dos especies específicas. En Estados Unidos, la *Heliopsis helianthoides* ha sido comercializada como flor de ornato en jardinería bajo el nombre de "falso girasol". Por otro lado, en México, la *Heliopsis longipes*, conocida

comúnmente como chilcuague, presenta aplicaciones más diversas (García-Chávez y col., 2004).

Cuadro 1. Comparación de *H. longipes* con sus congéneres morfológicamente similares (Cilia-López y col., 2014).

Especie	Atributo						Distribución
	hábito	altura	hoja			pedúnculo largo (cm)	México
			forma	largo (cm)	anchura (cm)		
<i>H. longipes</i>	ascendente a decumbente; subdecumbente o erecto	19.6-38.9	ovada a oblongas	(2-)2.6-4(-5)	(1-)1.6-2.9(-3.5)	9.9-25(-30)	San Luis Potosí, Guanajuato, Querétaro
<i>H. procumbens</i>	ascendentes, rastreros o postrados	20-25	orbicular, lanceolada raramente ovada-oblonga	1-3.5(-4.5)	0.5-2(3)	12-15(20)	Sinaloa, Jalisco, Michoacán, Estado de México, Distrito Federal, Hidalgo, Morelos, Tlaxcala, Puebla, Veracruz
<i>H. parvifolia</i>	Erecto	30-40	deltoide-lanceolada a ovada	1.5-6	0.8-3.5	8.5-20	Chihuahua, Sonora, Durango, Zacatecas, Coahuila, Nuevo León, Aguascalientes, Tamaulipas
<i>H. buphtalmoides</i>	Erecto	50-75(200)	ovada a ovado-lanceolada, deltoide	(1-)4.5-9.5(-6)	2.5-4.5(-6)	10-14.5(-20)	Durango, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Estado de México, Morelos, Guerrero, Puebla, Oaxaca, Chiapas

*Heliopsis longipes* tiene una arraigada tradición en la herbolaria indígena, como lo evidencian sus denominaciones de origen náhuatl. Entre los nombres registrados para esta planta se encuentran "ichcha", citado en la traducción de la obra de

Francisco Hernández "De historia plantarum Novae Hispaniae", así como "chilcuán", que significa chile de víbora, y "chilmécatl", derivado de "chili" (chile) y "mécatl" (mecate), haciendo referencia a las raíces filiformes y al sabor picante que caracteriza a esta planta (García-Chávez y col., 2004).

### II.2.1. Características morfológicas y taxonomía

*Heliopsis longipes* es una especie con importancia económica en México debido a sus usos tradicionales. Pertenece a la familia Asteraceae y se caracteriza por su hábito ascendente a decumbente, hojas ovadas-oblongas y pedúnculo relativamente largo, morfológicamente muy similar a *H. procumbens* como se observa en la Figura 1 (Cilia-López y col., 2014).

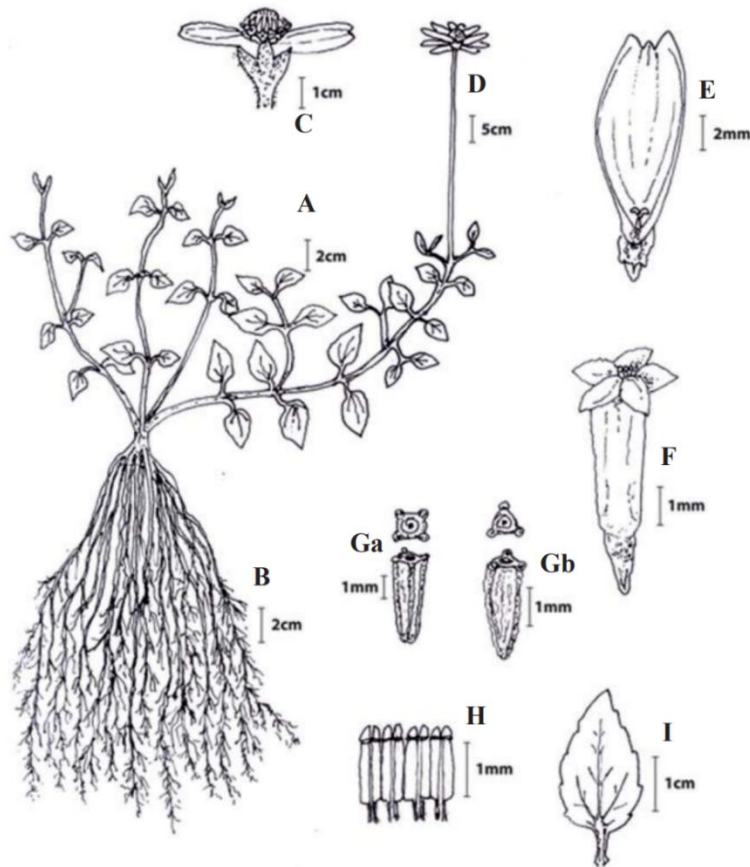


Figura 1. Partes de la planta. A. Hábito B. Raíz C. Cabezuela. D. Pedúnculo E. Flor ligulada F. Flor del disco Ga. Aquenio de flor ligulada Gb. Aquenio de flor del disco H. Estambres I. Hoja (Cilia-López y col., 2014).

### II.2.2. Distribución geográfica

*H. longipes* es una hierba perenne endémica de Sierra de Álvarez y Sierra Gorda en el centro de México. Se distribuye en los estados de San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro, específicamente en cañones escarpados con bosques de encino y roble-pino y sustratos de origen ígneo en la Sierra de Álvarez y Sierra Gorda como se muestra en la Figura 2 (Cilia-López y col., 2014).

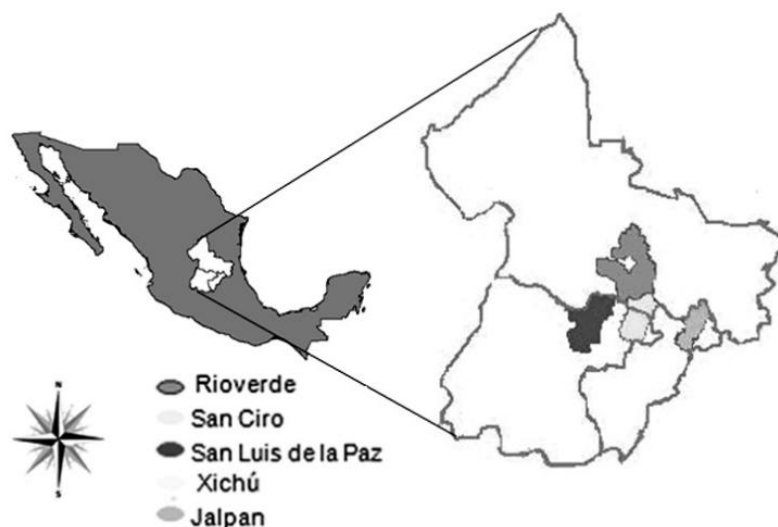


Figura 2. Distribución geográfica de *H. longipes* (Cilia-López y col., 2014).

### II.2.3. Estadios fenológicos

Se distinguen 4 etapas fenológicas en *H. longipes*: vegetativa, floración, fructificación y defoliación. La etapa reproductora se desarrolla durante la temporada húmeda. Las primeras yemas florales se manifiestan hacia finales de junio, mientras que la antesis de las flores liguladas y las del disco tiene lugar entre los meses de julio y agosto, respectivamente. El periodo de fructificación se presenta al inicio de la época seca y fría, comprendida entre octubre y febrero. En la parte media de esta temporada, específicamente en diciembre y enero, se lleva a cabo la dispersión inicial de los aquenios de las flores liguladas, seguida por la dispersión de los aquenios de las flores del disco (Cilia-López y col., 2014).

Durante la época seca y cálida, que abarca de marzo a mayo, la población experimenta una pérdida notable, oscilando entre el 60 % y el 80 % del follaje,

probablemente atribuible a la escasa disponibilidad de agua. En cuanto a la producción de órganos vegetativos, se registran a lo largo de casi todo el año. Sin embargo, durante la temporada húmeda, el 43 % de la población presenta este estado fenológico, generando activamente tallos y hojas. En contraste, solo el 19.02 % mantiene esta condición durante la época seca y cálida, enfocándose principalmente en la producción de hojas. En la Figura 3 se muestra el número de individuos por mes durante un año y denota los estadios fenológicos de *H. longipes* (Cilia-López y col., 2014).

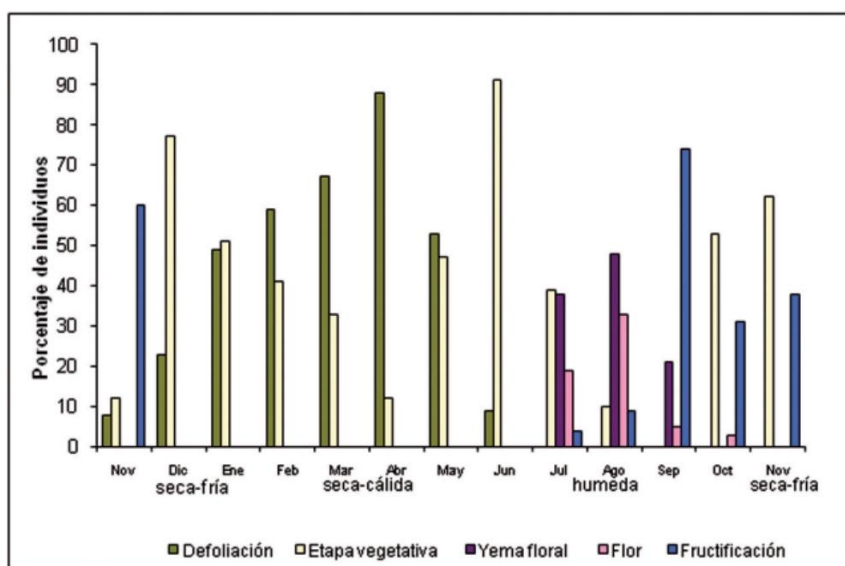


Figura 3. Fenología de *H. longipes* registrada en la localidad de Huertitas, Rioverde, S.L.P., México (Cilia-López y col., 2014).

#### II.2.4 Usos tradicionales en la etnobotánica

Las raíces de *H. longipes* se utilizan para diversos fines, entre ellos como remedio tradicional para el alivio del dolor, en particular, del dolor de muelas (Cilia-López y col., 2014). Adicionalmente, las raíces de chilcuague se utilizan con fines medicinales, debido a sus propiedades anestésicas, analgésicas y antiinflamatorias en la boca (Willig y col., 2019). Se ha encontrado que la planta contiene afinina, su alcaloide mayoritaria, que exhibe potentes actividades antinociceptivas y antiinflamatorias (Castro-Ruiz y col., 2017). Además, el extracto de *H. longipes* ha mostrado efectos antiproliferativos significativos y aumento de la apoptosis celular en

diversas líneas celulares cancerosas (Nieto-Reséndiz y col., 2017). También se ha encontrado que el extracto etanólico induce vasodilatación y tiene aplicaciones terapéuticas potenciales en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Castro-Ruiz y col., 2017). El extracto etanólico de las raíces de *H. longipes* ha mostrado efectos antifúngicos contra *Aspergillus parasiticus*, inhibiendo su crecimiento, la producción de aflatoxinas y la tasa de germinación de esporas (Velez-Haro y col., 2018). Adicionalmente, se ha encontrado que el extracto de hexano enriquecido con afinina de las raíces de *H. longipes* tiene efectos antiartríticos, inhibiendo el edema tanto en las fases aguda como crónica (Escobedo-Martínez y col., 2017).

#### II.2.5 Investigación actual sobre *H. longipes*

Se ha encontrado que extractos orgánicos de *H. longipes* tiene efectos antiproliferativos significativos e inducen apoptosis en diversas líneas celulares cancerosas al detener el ciclo celular. El principal constituyente responsable de estos efectos es la afinina, el cual está presente en altas concentraciones en los extractos (Willig y col., 2019). Se ha demostrado que la elicitación controlada con ácido salicílico y peróxido de hidrógeno aumenta el contenido de afinina, la principal sustancia responsable de las propiedades analgésicas y antiinflamatorias de *H. longipes*, en las raíces de las plantas cultivadas que se correlaciona con la regulación al alza de las actividades enzimáticas relacionadas con las respuestas al estrés, como catalasa, superóxido dismutasa, fenilalanina amoniaco liasa y valina descarboxilasa (Cilia-López y col., 2014). También las investigaciones actuales se centran en la comprensión de las rutas biosintéticas de la afinina y la sobreexpresión genética de proteínas como la policétido sintasa (PKS) en las raíces (Buitimea-Cantúa y col., 2020).

La utilización con fines medicinales de extractos obtenidos de las hojas y las flores del chilcuague proporcionará a esta planta un valor agregado, ya que actualmente estas partes de la planta se descarta y carece de un uso significativo. Es necesario realizar más estudios relacionados con la optimización del proceso de extracción, la caracterización y purificación de sustancias fenólicas conjuntamente con la

evaluación *in vivo* de su potencial antioxidante para su posible aplicación como ingredientes en alimentos funcionales, productos cosméticos y fitomedicamentos (Parola-Contreras y col., 2020).

#### II.2.6 Raíces de *H. longipes*

Las raíces se extienden a lo largo del suelo, alcanzando dimensiones de 15 a 30 cm de longitud con aproximadamente 2 mm de ancho. Estas raíces presentan una corteza de tono moreno que envuelve un eje interno de aspecto lechoso y amarillento (ver Figura 4). Este sistema radicular revela características típicas de plantas herbáceas perennes, siendo predominantemente fibroso. Las raíces fibrosas delgadas y superficiales, se despliegan de una intrincada red, estableciendo así una conexión eficiente con el suelo. Esta estructura no solo facilita la absorción óptima de nutrientes y agua del entorno circundante, sino que también confiere estabilidad a la planta, contribuyendo a su anclaje y soporte. La adaptabilidad y funcionalidad de este sistema radicular subrayan su capacidad para prosperar en su entorno natural (Castro-González y Rojas-Alba, 2009).



Figura 4. Imagen de las raíces de *H. longipes* (Castro-González y Rojas-Alba, 2009).

#### II.2.7 Hojas de *H. longipes*

Las hojas de esta planta se disponen de manera opuesta, con pecíolos que presentan una textura estrigosa, midiendo entre 3.9 y 6.2 mm de longitud y con un diámetro de 1.4 a 2 mm. La lámina foliar, de forma ovada a oblonga, a veces lanceolada, exhibe dimensiones que oscilan entre 2.6 y 4 cm de largo por 1.6 a 2.9

cm de ancho. El ápice de la lámina es submucronado, variando de obtuso a agudo, mientras que la base se presenta truncada o cuneada. El margen de la lámina muestra un borde aserrado a ligeramente dentado o en algunas ocasiones, casi entero cerca del ápice. La nervación de las hojas es triple, basal e imperfecta, y la textura de las láminas se caracteriza por ser membranacea y de tonalidad verde-oscuro. En el haz de las hojas, se aprecia una superficie piloso-estrigosa, mientras que, en el envés, la textura es más clara y con frecuencia menos densamente pubescente como se muestra en la Figura 5 (Cilia-López y col., 2014).



Figura 5. Imagen de las hojas de *H. longipes* colectadas en la Sierra Gorda, México. A: Conca, B: San Juan Buenaventura (SJB) y C: Beltran (Parola-Contreras y col., 2020).

#### II.2.8 Flores de *H. longipes*

Las flores liguladas, en número de 5 a 11, son de color amarillo, hermafroditas y poseen láminas lineares a oblongo-elípticas que miden entre 15.2-20.5 mm de largo y 5.4-7.4 mm de ancho (ver Figura 6). Estas láminas son escasamente pubescentes a pubérulas en el exterior y tienen un ápice hendido tridentado. En cuanto a las flores del disco, su número varía entre 40 y 176, también son hermafroditas y presentan una corola tubulosa de color castaño-amarillo, siendo glabras y midiendo 4.7-5.6 mm de largo por 1-1.3 mm de ancho. La corola de estas flores del disco tiene 5 dientes, las anteras son de color negruzco y tienen aproximadamente 1.5 mm de largo, con la base aflechada y ocasionalmente obtusa (Cilia-López y col., 2014).



Las ramas del estilo son aplanadas, romas y peniciliadas en el ápice. Los aquenios de las flores liguladas tienen dimensiones de 3.1-4.5 mm de largo y 1.4-2.5 mm de ancho, son cuadrangulares y estriados, con colores que van desde verdes hasta castaños. Por otro lado, los aquenios de las flores del disco miden entre 2.6-3.9 mm por 1.2-2.9 mm, son triangulares o cuadrangulares, muricados, estriados, y presentan colores que van desde castaños hasta castaño-negruzcos. El vilano es una estructura en forma de pelos, escalas o cerdas que ayuda en la dispersión de las semillas al viento; en la planta está ausente o solo se presenta raramente con 2-4 aristas pequeñas y membranosas (Cilia-López y col., 2014).



Figura 6. Imagen de las flores de *H. longipes*.

Se encontraron ácidos fenólicos (ácido hidroxibenzoico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácido cumárico), así como flavonoides (rutina, apigenina, genisteína, quercetina y naringenina) en el extracto metanólico de las flores, el cual ha demostrado su capacidad de eliminación de radicales libres (DPPH<sup>•</sup> y ABTS<sup>•+</sup>), lo que indica que los compuestos fenólicos y flavonoides identificados en los extractos confieren un efecto antioxidante (Parola-Contreras y col., 2020). El ácido clorogénico ha demostrado ser un poderoso antioxidante, ya que inhibe la carcinogénesis y tiene efectos protectores contra el estrés oxidativo (Caprioli y col., 2016). Se ha demostrado que el ácido cafeico, la apigenina y la quercetina tienen efectos

anticancerígenos y protectores contra el fotoenvejecimiento de la piel por sus propiedades antioxidantes (Lorencini y col., 2014).

### II.3. Metabolómica vegetal

La metabolómica vegetal es un campo en rápido avance dentro de las ciencias vegetales y la biología de sistemas. Involucra análisis exhaustivos de pequeñas moléculas (metabolitos) en tejidos y células vegetales. Estos metabolitos incluyen una amplia gama de compuestos, como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, metabolitos secundarios (por ejemplo, alcaloides y flavonoides), lípidos, entre otros. La metabolómica permite comprender los roles funcionales de metabolitos específicos en la fisiología, desarrollo y respuestas de las plantas a tensiones bióticas y abióticas como se muestra en la Figura 7. Puede llevar a la identificación de metabolitos vinculados con rasgos o funciones específicas (Manickam y col., 2023).

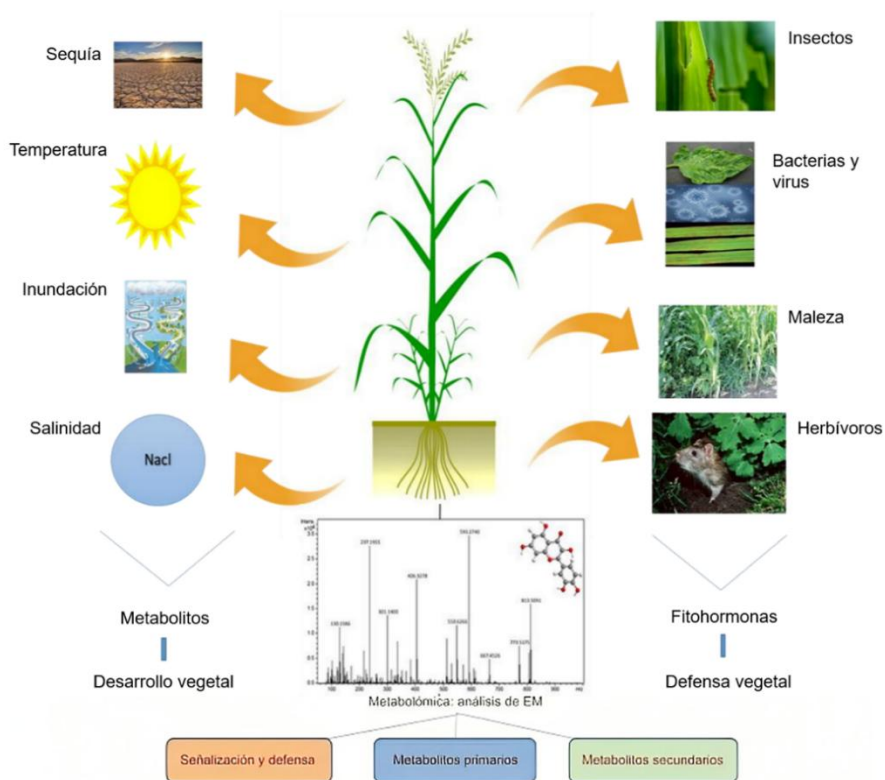


Figura 7. Metabolómica vegetal: Una nueva era en la mejora de cultivos (Manickam y col., 2023).

Las redes y rutas metabólicas vegetales pueden entenderse mejor con la ayuda de la metabolómica. Los investigadores pueden determinar cómo reaccionan las plantas a señales ambientales o modificaciones genéticas examinando cómo cambian los perfiles de metabolitos en diversas etapas del cultivo. La metabolómica desempeña un papel importante en la mejora de cultivos y la biotecnología. Integrar datos de metabolómica con otros datos ómicos (genómica, transcriptómica y proteómica) proporciona una perspectiva más completa de la biología vegetal. Este enfoque de biología de sistemas permite a los investigadores comprender las complejas interacciones dentro de los organismos (Manickam y col., 2023).

### II.3.1 Metabolitos primarios

Los metabolitos primarios, como carbohidratos, aminoácidos, lípidos y compuestos orgánicos, son esenciales para la supervivencia y perspectivas nutricionales de las plantas. Desempeñan un papel crucial en el mantenimiento de la homeostasis metabólica durante el estrés abiótico y están estrechamente relacionados con el fenotipo vegetal (Prathibha, y col. 2023). Estos metabolitos actúan como osmolitos y osmoprotectores, ayudando a las plantas a mantener la homeostasis celular y proteger contra los efectos perjudiciales de los factores de estrés. La acumulación o no acumulación de metabolitos primarios específicos se ha relacionado con la tolerancia al estrés en las plantas y sus niveles pueden ser utilizados como indicadores de respuesta al estrés (Rahman y col., 2023).

### II.3.2 Metabolitos secundarios (especializados)

Los metabolitos secundarios de las plantas (PSM) juegan un papel crucial en la defensa de las plantas contra los estresores abióticos. Estos metabolitos, incluidos los compuestos fenólicos, terpenoides y compuestos que contienen nitrógeno, no están directamente involucrados en el crecimiento y desarrollo de las plantas, pero son esenciales para la comunicación, defensa y adaptación de las plantas a las tensiones ambientales. Se ha estudiado ampliamente la síntesis y acumulación de metabolitos secundarios en respuesta a condiciones de estrés, y su papel en la regulación de los mecanismos de defensa de las plantas ha sido bien documentado (Rahman y col., 2023).

Los PSM pueden ser producidos como aleloquímicos por una planta emisora y detectados por varios receptores, como otras plantas, insectos y microorganismos. Los PSM también pueden desempeñar funciones de defensa, como moléculas de señalización o como compuestos antipatógenos. Existen dos grupos de este último tipo de compuestos: las fitoanticipinas que se encuentran constitutivamente en la planta y las fitoalexinas, las cuales incrementan sus niveles tras la infección como se muestra en el esquema de la Figura 8 (Muñoz-Hoyos y Stam, 2023).

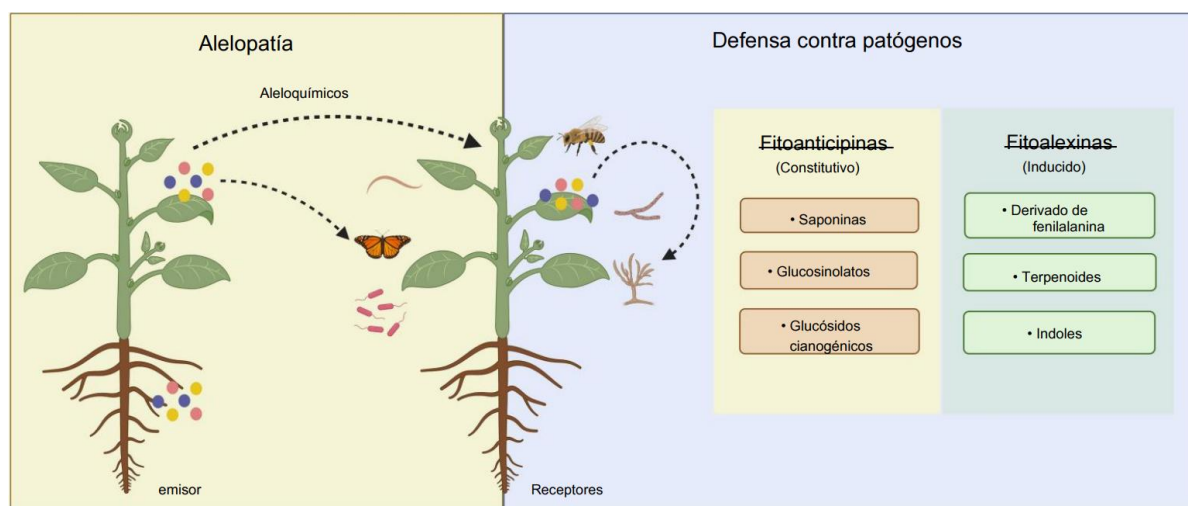


Figura 8. Descripción general de las funciones de los metabolitos secundarios (Muñoz-Hoyos y Stam, 2023).

### II.3.2.1 Metabolitos especializados en *H. longipes*

Las alcamidas son una clase de moléculas bioactivas que se encuentran en diversos organismos, incluyendo plantas. Una especie vegetal que acumula alcamidas en sus raíces es *H. longipes*. Se propone que la vía biosintética de la cadena acilo de alcamidas esté mediada por un complejo de policétido sintasa (PKS) de cuatro módulos. Este complejo es el responsable de la síntesis de una alcamida C10 llamada afinina (ver Figura 9). Se ha demostrado que la afinina posee actividad antimutagénica, por lo que es potencialmente útil en el tratamiento de ciertas afecciones. Además de la afinina, las raíces de *H. longipes* también producen otras alcamidas menores, como longipinamida A, longipenamida A y longipenamida B, que pueden contribuir a la bioactividad general de *H. longipes* (Willig y col., 2019).

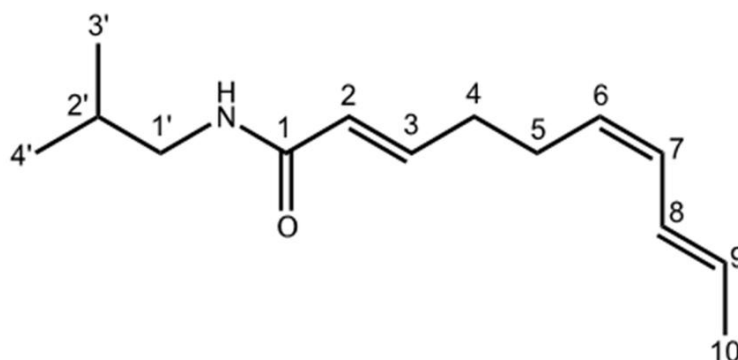


Figura 9. Estructura química de la afinina, la principal alcaloide en las raíces de *H. longipes* (Castro-Ruiz y col., 2017).

Previamente, también se han aislado de las raíces de esta planta compuestos químicos como el éster bornílico del ácido (2*E*,6*Z*,8*E*)-deca-2,6,8-trienoico, la (2*E*,6*E*,8*E*)-*N*-(2-metilbutil)deca-2,6,8-trienamida, (2*E*,4*Z*)-*N*-(2-metilpropil)undeca-2,4-dien-8,10-diinamida, la (2*E*,6*Z*)-*N*-isobutil-2,6-decenoamida, la (2*E*)-*N*-isobutil-2-decenamida, el escualeno, el palmitato de  $\beta$ -sitosterilo, el palmitato de estigmasterilo, el acetato de lupeilo, el lupeol, el angelicoidenol, el  $\beta$ -sitosterol y el estigmasterol (López-Martínez y col., 2011).

Por otra parte, otra variedad de *Heliopsis*, *H. helianthoides* var. *scabra*, ha sido investigada por sus potenciales efectos antimetastásicos en el cerebro. De las raíces de esta variedad se aislaron diversos compuestos, entre ellos neolignan tipo arilbenzofurano y derivados de lignano. Estos compuestos mostraron efectos inhibidores sobre la migración celular y potenciaron la función de barrera de la barrera hematoencefálica. Esto sugiere que estos compuestos pueden tener el potencial de interferir en diferentes pasos de la formación de metástasis cerebrales (Hajdu y col., 2014).

Así mismo, se encontró que las *N*-alquilamidas de *H. helianthoides* var. *scabra* modulan el sistema endocannabinoide, el cual está involucrado en diversos procesos fisiológicos. Estas *N*-alquilamidas exhibieron acciones cannabimiméticas, lo que indica sus potenciales aplicaciones terapéuticas (Hajdu y col., 2014). Además, se encontró que las partes aéreas de *H. helianthoides* contenían guaianólidos,

germacranólidos, derivados de homogéranilnerol, daucano y derivados de tremetona. Estos compuestos se identificaron mediante espectroscopia de RMN de campo alto y contribuyen a la significación quimiotaxonómica del género (Jakupovic y col., 1988). También, *H. helianthoides* contiene compuestos fenólicos con actividad antioxidante. La mayor concentración de estos compuestos se observó en las hojas de la planta, siendo el ácido clorogénico y la rutina los compuestos dominantes. El efecto antioxidante de estas sustancias bioactivas indica su potencial uso en el desarrollo de fármacos antioxidantes (Pavlenko-Badnaoui y col., 2021).

#### II.4. Métodos de extracción

Las plantas contienen varios compuestos químicos valiosos que se utilizan ampliamente en las industrias alimentarias para diversas aplicaciones. Estos compuestos obtenidos de los materiales vegetales se han extraído mediante diferentes técnicas de procesamiento convencionales, como maceración, extracción Soxhlet y métodos de asistencia no convencionales como microondas, ultrasonido, líquido presurizado, fluido supercrítico y campo eléctrico pulsado. La eficiencia del método de extracción varía según varios factores, como la naturaleza de la matriz vegetal, la química del extracto vegetal, el tipo de disolvente y la metodología utilizada para la extracción (Farooq y col., 2022).

##### II.4.1 Maceración

La extracción de los componentes activos de las plantas es el primer paso crucial en la investigación de productos naturales. Para la extracción no dirigida con el objetivo de aislar y caracterizar la mayor cantidad de compuestos posible, la técnica más clásica y más sencilla de implementar es la extracción Soxhlet que no causa artefactos durante el largo proceso de calentamiento; sin embargo, no permite recuperar todos los compuestos de la planta. La segunda técnica más utilizada es la extracción mediante maceraciones sucesivas utilizando disolventes de polaridad creciente. Si bien este método se utiliza con frecuencia, hay pocos estudios disponibles para racionalizarlo y optimizarlo. Además, esta técnica de extracción requiere algunas mejoras principalmente por razones de eficiencia, ambientales y de tiempo (Gori, 2021).

La maceración es una de las técnicas de extracción más simples, populares, económicas y eficientes utilizadas para la extracción de diferentes compuestos bioactivos, a partir del material vegetal. El proceso de maceración consiste en triturar el material vegetal grueso en partículas más pequeñas para aumentar la superficie y facilitar la mezcla con un disolvente (metanol, etanol, acetato de etilo, acetona, hexano, etc.). Después esta mezcla de material vegetal y solvente se deja reposar por un periodo de tiempo, se agita en diferentes intervalos y se filtra. La polaridad del disolvente es el parámetro importante que afecta la eficiencia de la extracción. En este método se utilizan diferentes disolventes y combinaciones de tiempo y temperatura para una extracción eficiente (Farooq y col., 2022).

## II.5. Técnicas analíticas instrumentales

La metabolómica se ha convertido en una poderosa herramienta para estudiar la composición de los metabolitos en las plantas y obtener información sobre sus respuestas de adaptación, aclimatación y defensa a las tensiones ambientales. Al analizar la regulación metabolómica en las plantas, los investigadores pueden comprender mejor la producción de diversos metabolitos y su papel en la biología vegetal (Tsugawa y col., 2021).

En el campo del análisis de plantas se aplican diversas técnicas analíticas para caracterizar sustancias valiosas en plantas medicinales y aromáticas. Los métodos cromatográficos, que incluyen cromatografía en capa fina (TLC), cromatografía de gases (CG) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), se utilizan ampliamente. También han ganado protagonismo las técnicas modernas de preparación de muestras como la extracción en fase sólida (SPE), la microextracción en fase sólida (SPME), la extracción por sorción en barra agitadora (SBSE), la extracción acelerada por solventes (ASE) y la extracción de fluidos supercríticos (SFE). Los métodos de espectroscopia vibracional, como el infrarrojo medio (MIR), el infrarrojo cercano (NIR) y la espectroscopia Raman, en combinación con la quimiometría, ofrecen un monitoreo rápido y eficiente de numerosas muestras de plantas (Wolfender y col., 2015).

Herramientas analíticas avanzadas en sistemas acoplados, que incluyen cromatografía de gas-espectrometría de masas (CG-EM), cromatografía líquida-espectroscopia de masas (LC-MS), electroforesis-espectrometría de masas capilar (CE-MS), espectrometría de resonancia ciclotrón de iones transformada de Fourier (FTICR-MS), desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI), espectrometría de movilidad iónica (IMS) y la resonancia magnética nuclear (RMN), han acelerado significativamente el perfil metabólico preciso en las plantas. Estas herramientas permiten a los investigadores identificar y cuantificar con precisión metabolitos en muestras de plantas (Patel y col., 2021).

#### II.5.1 CG-EM en la metabolómica vegetal

La cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) es un método analítico comúnmente utilizado para la identificación de metabolitos, ya que genera espectros moleculares que pueden compararse con los compuestos de referencia. El proceso de identificación implica comparar los espectros observados con compuestos de referencia conocidos y asignar la mejor referencia coincidente como la identificación, basada en una puntuación de similitud por encima de un umbral especificado. Ahora bien, no hay garantía de que los metabolitos identificados estén sin falsos positivos y se carece de una estimación precisa de la tasa de descubrimiento falso (FDR), que representa el número esperado de identificaciones falsas en relación con el conjunto total (Flores y col., 2023).

Una de las aplicaciones clave de la CG-EM es la metabolómica no dirigida, donde permite la medición de moléculas pequeñas y compuestos volátiles que desempeñan papeles cruciales en diversas vías biológicas. Esta técnica puede ser utilizada para identificar y cuantificar metabolitos en muestras biológicas, proporcionando información valiosa sobre el estado metabólico de un organismo o el impacto de ciertas condiciones o enfermedades. El CG-EM también se puede utilizar para el análisis dirigido, que ofrece una mejor especificidad, una mayor sensibilidad y un procesamiento de datos simplificado, así como la identificación de compuestos que muestra la Figura 10 (Rey-Stolle y col., 2022).



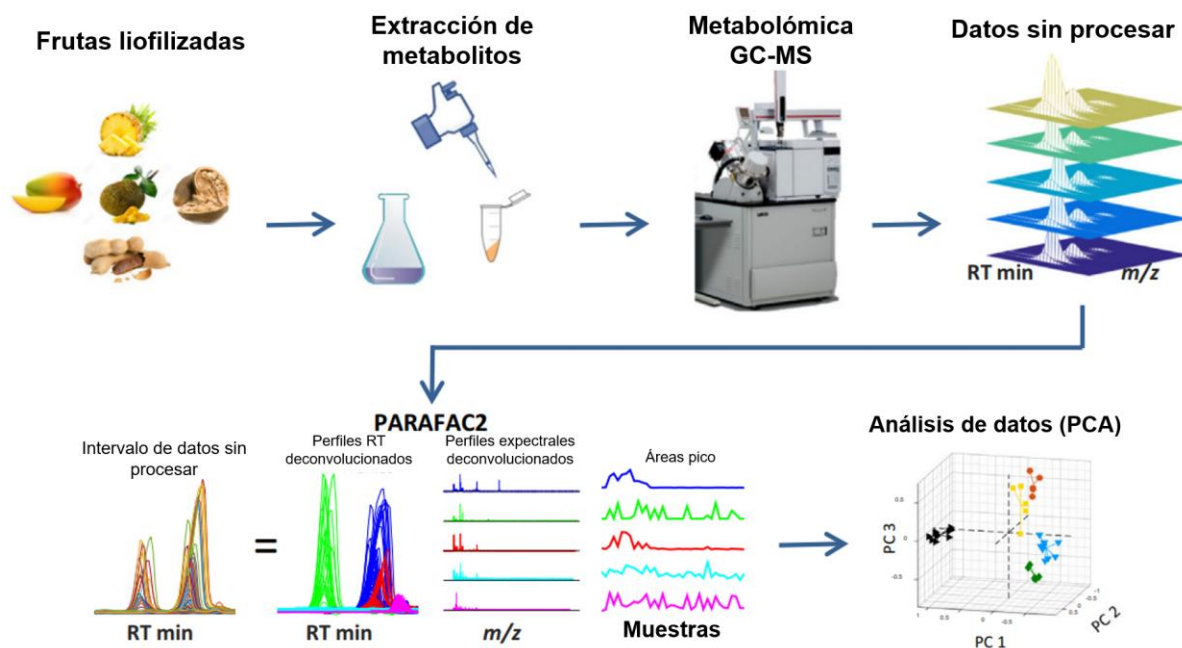


Figura 10. Descripción general del flujo de trabajo de la CG-EM aplicado en metabolómica (Khakimov y col., 2016).

### II.5.2 HPLC en la metabolómica vegetal

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es un método preferido para la obtención de perfiles con ventajas como su fácil y amplia disponibilidad, y su costo de mantenimiento relativamente bajo. La HPLC presenta varias ventajas en el análisis de medicinas herbales, como una alta sensibilidad, buena resolución y linealidad, capacidad para analizar múltiples componentes y facilidad de automatización, lo que la hace adecuada para obtener una huella digital. Tiene la capacidad de separar, identificar y cuantificar compuestos presentes en una muestra. La HPLC puede utilizarse para la detección cualitativa y cuantitativa de compuestos activos o marcadores (Gholkar y col., 2022).

La cromatografía líquida de ultraeficiencia (UPLC) es una técnica moderna que ofrece un nuevo enfoque para la cromatografía líquida. La UPLC proporciona al usuario velocidad de aplicación, resolución y sensibilidad. La cuantificación y separación en UPLC se realizan bajo una presión muy alta (Gupta y col., 2022).

La cromatografía líquida-espectrometría de masas o cromatografía líquida de alto rendimiento-espectrometría de masas (HPLC-EM) es una técnica analítica que combina la separación de alta resolución con la detección de un espectro de masas sensible y específico. La combinación de CL con EM representa un desarrollo significativo en las técnicas de cromatografía. La espectrometría de masas en CL-EM ayuda a determinar la composición elemental y a elucidar la estructura de una muestra (Gujrati y col., 2021).

Un sistema típico de CL-EM es una combinación de HPLC con EM mediante una interfaz, es decir, una fuente de ionización. Los componentes de una muestra se separan mediante cromatografía líquida, se pulverizan en una fuente iónica a presión atmosférica, que transforma los iones en la fase gaseosa. Hay un analizador de masas que se utiliza para clasificar los iones según su relación masa-carga y se emplea un detector para contar los iones que provienen desde el analizador de masas, amplificando las señales generadas por cada ion. Como consecuencia, se obtiene un espectro de masas, que se utiliza para determinar la masa de las moléculas y la naturaleza elemental o isotópica de los componentes de una muestra, así como para elucidar la estructura química de las moléculas (Gujrati y col., 2021).

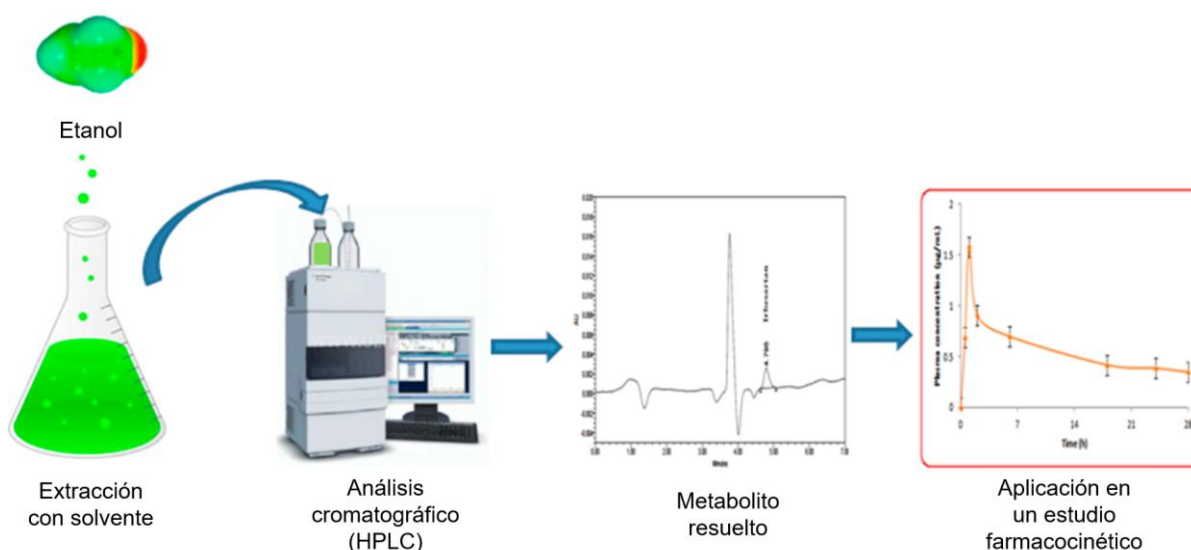


Figura 11. Descripción general del flujo de trabajo de la HPLC aplicado en metabolómica dirigida (Haneef y col., 2018).

## II.6. Enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son una clase de enfermedades que afectan el corazón y los vasos sanguíneos como se muestra en la Figura 12. Incluyen afecciones como cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular, enfermedad de las arterias coronarias, disritmias cardíacas y enfermedad vascular periférica. Las ECV son la principal causa de mortalidad en todo el mundo y las tasas de mortalidad ajustadas por edad disminuyen en la mayoría de los países, debido a la mejora de los esfuerzos de prevención y tratamiento. Sin embargo, existen variaciones significativas en las tasas de ECV entre los países, observándose tasas más altas en los países de ingresos bajos y medianos. Los factores de riesgo modificables como el consumo de tabaco, la dieta poco saludable, la inactividad física, la presión arterial alta, la dislipidemia, la diabetes y el alto índice de masa corporal contribuyen a una gran proporción de la carga de ECV. El desarrollo económico, la globalización y la urbanización también juegan un papel en la relación entre las ECV y la salud (Bovet y col., 2023).

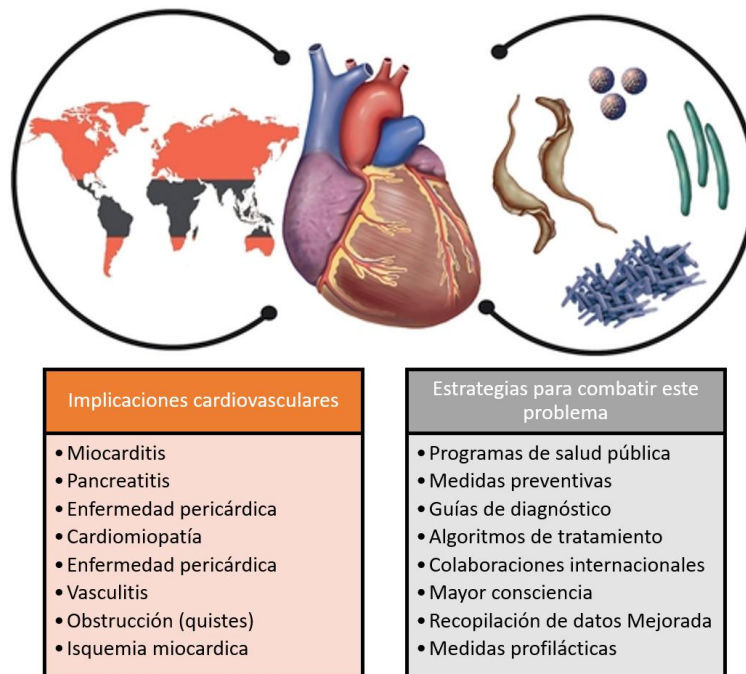


Figura 12. Enfermedades cardiovasculares: implicaciones y estrategias terapéuticas (Farina y col., 2023).

La hipertensión arterial se erige como una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, representando una carga significativa para los sistemas de salud. A pesar de los avances en el desarrollo de fármacos antihipertensivos, una proporción considerable de pacientes no logra alcanzar los objetivos de presión arterial establecidos, lo que subraya la necesidad de nuevas estrategias terapéuticas (Derosa y Maffioli, 2012).

#### II.6.1 Estadísticas de las ECVs

Las ECV siguen siendo una de las 2 principales causas de muerte en los Estados Unidos desde 1975, con 633,842 muertes o 1 de cada 4 muertes. En 2015, las enfermedades cardíacas ocuparon el primer lugar como causa principal de muerte, seguidas por 595,930 muertes relacionadas con el cáncer. A nivel mundial, las ECV también son la causa número 1 de muerte, con un estimado de 17.7 millones de muertes en 2015, según la Organización Mundial de la Salud (OMS). La carga de las ECV se extiende aún más, ya que se considera la enfermedad más costosa, incluso por delante de la enfermedad de Alzheimer y la diabetes, con costos indirectos calculados de 237 mil millones de dólares por año y una proyección de aumento a 368 mil millones para 2035 (Olvera-Lopez y col., 2024).

#### II.6.2 Etiología de las ECVs

Las ECV pueden tener diversas etiologías, como embolias en pacientes con fibrilación auricular que resultan en accidentes cerebrovasculares isquémicos, o fiebre reumática que causa enfermedad valvular del corazón. Sin embargo, abordar los factores de riesgo asociados al desarrollo de la aterosclerosis es crucial, ya que esta es un denominador común en la fisiopatología de las ECV. La industrialización de la economía, el cambio hacia trabajos sedentarios y la cultura actual impulsada por el consumismo y la tecnología, con jornadas laborales más extensas, largos desplazamientos y menos tiempo libre para actividades recreativas, explican el aumento significativo y constante en las tasas de ECV en las últimas décadas. La inactividad física, la ingesta de dietas ricas en calorías, grasas saturadas y azúcares están asociadas al desarrollo de aterosclerosis y otras alteraciones metabólicas,

como el síndrome metabólico, la diabetes mellitus y la hipertensión, prevalentes en personas con ECV (Olvera-Lopez y col., 2024).

Estudios como INTERHEART han identificado nueve factores de riesgo modificables que representan el 90 % del riesgo de sufrir un primer infarto de miocardio, destacando el tabaquismo. Factores no modificables como antecedentes familiares, edad y género también influyen, con la historia familiar de enfermedad aterosclerótica prematura considerada un factor de riesgo independiente. Además, condiciones como el VIH, historial de radiación en el pecho, microalbuminuria e indicadores inflamatorios elevados también se asocian con un mayor riesgo de ECV. La relación entre factores dietéticos específicos, como el consumo de carne, fibra y café, y las ECV sigue siendo controvertida debido a sesgos y confusión residual presentes en estudios epidemiológicos. La Asociación Americana del Corazón ha desarrollado programas de promoción de la salud centrados en siete recomendaciones para reducir el riesgo de ECV, enfatizando evitar el tabaco, mantenerse físicamente activo, llevar una dieta saludable y mantener niveles normales de presión arterial, peso corporal, glucosa y colesterol (Olvera-Lopez y col., 2024).

### II.6.3 Fisiopatología de las ECVs

La aterosclerosis es el proceso patogénico que afecta las arterias y la aorta, pudiendo causar enfermedad como consecuencia de la disminución o ausencia de flujo sanguíneo debido a la estenosis de los vasos sanguíneos. Este proceso implica múltiples factores, como la dislipidemia, fenómenos inmunológicos, inflamación y disfunción endotelial. Se cree que estos factores desencadenan la formación de una estría grasa, que es la característica distintiva en el desarrollo de la placa aterosclerótica, un proceso progresivo que puede ocurrir incluso en la infancia. Esta evolución incluye el engrosamiento intimal con la acumulación posterior de macrófagos cargados de lípidos (células espumosas) y matriz extracelular, seguido por la agregación y proliferación de células musculares lisas, constituyendo la formación de la placa de ateroma (Olvera-Lopez y col., 2024).

A medida que estas lesiones continúan expandiéndose, puede ocurrir apoptosis de las capas profundas, precipitando un mayor reclutamiento de macrófagos que pueden calcificarse y dar lugar a placas ateroscleróticas. Otros mecanismos como la remodelación arterial y la hemorragia intra-placa desempeñan un papel importante en la demora y aceleración de la progresión de las enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas (Olvera-Lopez y col., 2024).

#### II.6.4 Diagnóstico de las ECVs

Una historia clínica exhaustiva y un examen físico dirigido, pero no limitado al sistema cardiovascular, son los pilares para el diagnóstico de las ECVs. Específicamente, una historia clínica compatible con obesidad, angina, disminución de la tolerancia al ejercicio, ortopnea, disnea paroxística nocturna, síncope o presíncope, y claudicación debería llevar al médico a obtener una historia y examen físico más detallados y, si es pertinente, realizar pruebas diagnósticas adicionales de acuerdo con el escenario clínico (Olvera-Lopez y col., 2024).

Además del diagnóstico basado en la sospecha clínica, la mayoría de los esfuerzos deben orientarse hacia la prevención primaria, centrándose en personas con factores de riesgo y tratando los factores de riesgo modificables por todos los medios disponibles. A partir de los 20 años, todos los pacientes deben participar en la discusión de los factores de riesgo de ECV y la medición de lípidos. Existen programas que utilizan los niveles de LDL-colesterol y HDL-colesterol, junto con la presencia de otros factores de riesgo, para calcular un puntaje de ECV a 10 o 30 años y determinar si se indican terapias adicionales, como el uso de estatinas y aspirina, para la prevención primaria, generalmente indicado si dicho riesgo es superior al diez por ciento (Olvera-Lopez y col., 2024).

#### II.6.5 Tratamiento de las ECVs

Los vasodilatadores son medicamentos comúnmente utilizados para tratar ECVs como hipertensión, angina e insuficiencia cardíaca al dilatar los vasos sanguíneos, mejorando el funcionamiento del sistema cardiovascular. Los diferentes tipos de

vasodilatadores tienen diversos grados de selectividad para diferentes lechos vasculares y pueden tener distintos perfiles clínicos.

En general, los vasodilatadores dilatan o previenen la constricción de los vasos sanguíneos como lo señala la Figura 13, lo que permite un mayor flujo sanguíneo a varios órganos del cuerpo. Muchos vasodilatadores se unen a receptores de las células endoteliales de los vasos sanguíneos, que estimulan la liberación de calcio. El calcio activa la enzima óxido nítrico sintasa (NO sintasa) y convierte la L-arginina en NO. Sale de la célula endotelial por difusión y entra en las células del músculo liso vascular. NO activa GTP y lo convierte en cGMP. Luego, el GMPc estimula la fosfatasa de cadena ligera de miosina, que elimina un solo fosfato de los filamentos de miosina y actina. La desfosforilación de los filamentos de miosina y actina permite la relajación del músculo liso vascular (Hariri y Patel, 2024).

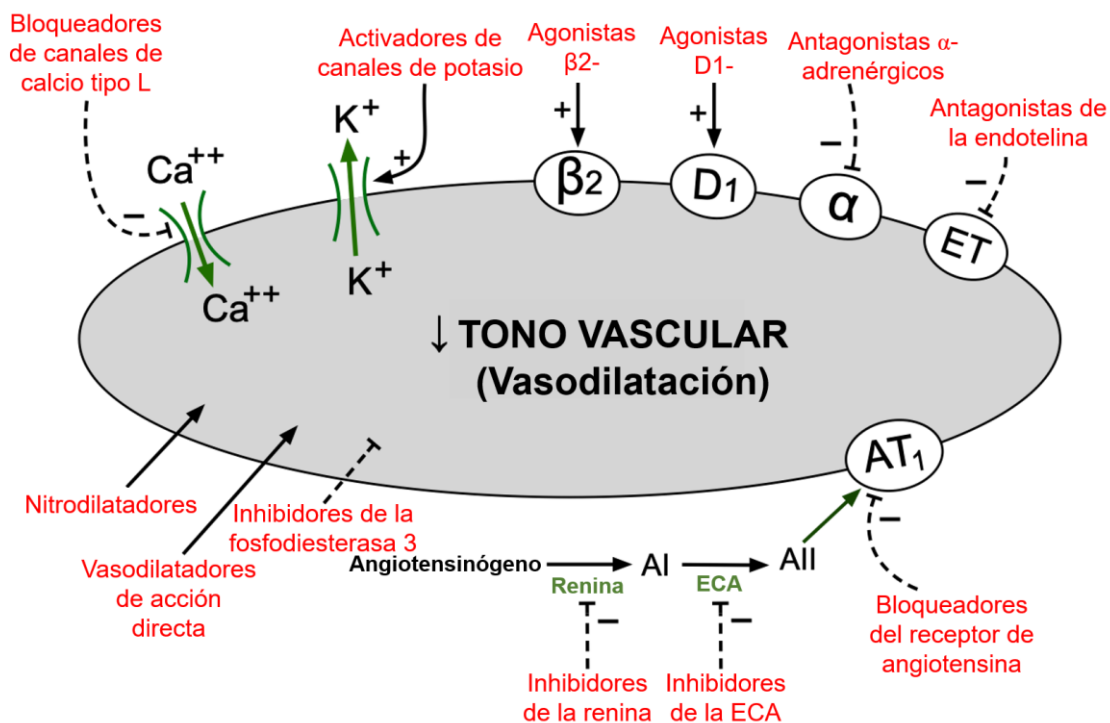


Figura 13. Mecanismos de acción de los vasodilatadores (Klabunde, 2023).

Ejemplo de vasodilatadores:

- Bloqueadores de los canales de calcio (verapamilo, diltiazem, nifedipina, amlodipina)
- Un antagonista del sistema renina-angiotensina-aldosterona (bloqueadores de los receptores de angiotensina, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina)
- Agonista del receptor  $\beta$ -adrenérgico 2 (salbutamol, terbutalina)
- Antagonista del receptor postsináptico  $\alpha$ -adrenérgico 1 (prazosina, fenoxibenzamina, fentolamina)
- Agonista del receptor  $\alpha$ -adrenérgico 2 de acción central (clonidina,  $\alpha$ -metildopa)
- Antagonista del receptor de endotelina (bosentán, ambrisentán)
- Inhibidores de la fosfodiesterasa (sildenafil, tadalafilo)

El descubrimiento de nuevos vasodilatadores es importante porque proporciona a los médicos opciones alternativas para mejorar los resultados en pacientes con insuficiencia cardíaca e hipertensión (Zamani y Greenberg, 2013).



### III. HIPÓTESIS

Las partes aéreas de *Heliopsis longipes* contienen metabolitos especializados polares (flavonoides y ácidos fenólicos) y no polares de bajo peso molecular (terpenos y alcanoides) que exhiben un efecto vasodilatador en anillos aórticos de rata.

## IV. OBJETIVOS

### IV.1 Objetivo General

Caracterizar el perfil químico y evaluar el efecto vasodilatador de los extractos de diclorometano y metanol obtenidos a partir de las partes aéreas de *Heliopsis longipes*.

### IV.2 Objetivos específicos

- a) Obtener los extractos metanólicos y de diclorometano a partir de las partes aéreas (hojas y flores) de *H. longipes*.
- b) Caracterizar el perfil químico no polar (extracto de diclorometano) mediante CG-EM y polar (extracto metanolico) por UPLC-EM.
- c) Cuantificar afinina y buscar otras alcaloides en los extractos orgánicos de las partes aéreas de *H. longipes* mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a detector de fotodiodos (HPLC-DAD).
- d) Evaluar el efecto vasodilatador de los extractos orgánicos de las partes aéreas de *H. longipes* en anillos aórticos de rata.

## V. METODOLOGÍA

### V.1 Materiales

#### V.1.1 Material biológico

- Semillas, raíces, hojas y flores de *H. longipes*
- Ratas Wistar macho

#### V.1.2 Reactivos

- |                             |                               |
|-----------------------------|-------------------------------|
| • Diclorometano             | • Agua grado masas            |
| • Metanol                   | • Isoflurano                  |
| • Hexano                    | • Afinina estándar            |
| • Acetato de etilo          | • Quercetina estándar         |
| • Hexano                    | • Ácido clorogénico estándar  |
| • Placas de gel de sílice   | • Solución de Krebs-Henseleit |
| • Cloroformo                | • L-fenilefrina (1 µM)        |
| • Agua grado HPLC           | • Acetilcolina                |
| • Acetonitrilo grado HPLC   | • Solución salina             |
| • Etanol grado HPLC         | • KCl (100 mM)                |
| • Diclorometano grado HPLC  | • Agua desionizada            |
| • Ácido acético glacial     | • Dimetilsulfóxido (DMSO)     |
| • Ácido fórmico grado masas |                               |

### V.2 Métodos

#### V.2.1 Recolección de especímenes de *H. longipes*

Las plantas silvestres de *H. longipes* ( $n=3$ ) con altura homogénea fueron seleccionadas y recolectadas en la localidad de Beltrán municipio de Xichú, ubicado en el estado de Guanajuato, México en las siguientes coordenadas geográficas: 21° 16' 15.5856" N, 100° 3' 11.4624" O. Los ejemplares fueron identificados y herborizados en la colección Etnobotánica del Herbario "Jerzy Rzedowski", ubicado en la facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

### V.2.2 Obtención de los extractos

Las hojas y flores recolectadas se sometieron a un proceso de secado a temperatura ambiente y en completa oscuridad por 14 días. Una vez seco el material vegetal, las partes aéreas previamente molidas fueron maceradas de manera inicial con diclorometano por 7 días a temperatura ambiente. Concluido el tiempo, el solvente fue retirado mediante rotaevaporación. Este proceso se realizó de manera exhaustiva hasta la pérdida completa de coloración. Concluido el proceso de extracción con diclorometano, se realizó el mismo procedimiento con metanol utilizando material vegetal recuperado.

### V.2.3 Análisis de los extractos de diclorometano mediante CG-EM

Los extractos de diclorometano completamente secos (10 mg) se reconstituyeron con 10  $\mu$ L de diclorometano grado HPLC en viales de 2 mL. Se inyectaron 5  $\mu$ L de la muestra empleando un automuestreador bajo las condiciones del cuadro 2.

Cuadro 2. Condiciones experimentales del cromatógrafo de gases.

Temperatura del inyector	280 °C
Modo de inyección	Split 2:1
Gas acarreador	Helio (pureza 99.999 %)
Flujo del gas	1 mL/min
Columna utilizada	Columna capilar DB-5MS
Dimensiones de la columna	Espesor de película de 60 m x 250 $\mu$ m de diámetro, 0.25 $\mu$ m de espesor de fase
Detector	Espectrómetro de masas cuadrupolar modelo 5975C (Agilent Technologies®)
Programación de temperatura	Inicio: 40 °C por 10 min 1 <sup>er</sup> Incremento 140 °C a 3 °C/min durante 20 min 2 <sup>do</sup> Incremento 220 °C a 3 °C/min durante 5 min 3 <sup>er</sup> Incremento

	300 °C a 10 °C/min durante 10 min Final: 230 °C durante 2 min
--	--

Los analitos separados ingresaron al espectrómetro de masas cuyas condiciones se describen en el Cuadro 3. La identificación de los analitos se realizó por comparación directa de los espectros de masas obtenidos contra los reportados en la base de datos NIST Mass Spectra Library® 2019.

Cuadro 3. Condiciones experimentales del EM para la CG-EM.

Fuente de ionización	Impacto electrónico a 70 eV
Factor de ganancia	1
Analizador	Cuadrapolo
Detector	Copa de Faraday
Temperaturas	Línea de transferencia: 280 °C Fuente de ionización: 230 °C Cuadrapolo: 150 °C
Rango de exploración	33 a 600 u.m.a.

#### V.2.4 Análisis de los extractos orgánicos mediante UPLC-EM

Los extractos metanólicos (1.5 mg) se disolvieron en 1 mL de metanol grado masas. Consecutivamente, se sonicaron durante 15 minutos y se filtraron a través de membranas de nailon con un tamaño de poro de 0.45 µm. Posteriormente, se tomó una alícuota de 100 µL y se completó a 1 mL con la fase móvil utilizada; la muestra se inyectó por triplicado bajo las condiciones que se muestran en el cuadro 4.

Cuadro 4. Condiciones experimentales del UPLC-EM para los extractos metanólicos.

Fase estacionaria	Columna BEH C18 (Waters®) (2.1 × 100 mm, 1.7 μm)																					
Fase móvil	Fase A: Acetonitrilo (ACN) y Fase B: Agua (acidificadas con ácido fórmico al 1%) en gradiente.																					
Flujo	0.4 mL/min																					
Volumen de inyección	6 μL																					
Gradiente de elución	<table><tr><td>Tiempo</td><td>Fase A</td><td>Fase B</td></tr><tr><td>0</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>2</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>22</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>25</td><td>5</td><td>95</td></tr><tr><td>27</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>30</td><td>95</td><td>5</td></tr></table>	Tiempo	Fase A	Fase B	0	95	5	2	95	5	22	5	95	25	5	95	27	95	5	30	95	5
Tiempo	Fase A	Fase B																				
0	95	5																				
2	95	5																				
22	5	95																				
25	5	95																				
27	95	5																				
30	95	5																				
Tiempo de análisis	60 min																					
Detector	Espectrómetro de masas de tiempo de vuelo modelo HP6210 (Agilent Technologies®)																					

Los analitos separados ingresaron al espectrómetro de masas cuyas condiciones se describen en el Cuadro 5. Se llevó a cabo un barrido de absorbancia de 210 a 600 nm, con canales específicos: 214, 280, 320, 360 (y 520 nm en modo positivo). Se llevó a cabo la ionización en modo negativo. El modo de análisis fue MSE, en el que la energía de colisión baja fue 6 eV, con una rampa de 15 a 45 eV en alta energía. La temperatura de la fuente de 120°C, temperatura de desolvatación 450 °C, Argón como gas de colisión y desolvatación con flujo de 50 L/h y 800 L/h, respectivamente y voltaje de cono de 40 V. Se utilizó leucina encefalina en una concentración de 200 pg/µL como referencia para la corrección de masas con un flujo de 10 µL/min.

Para el análisis de datos se empleó el Software Unifi 1.9 SR 4 con bibliotecas propias del Laboratorio Especializado en Análisis de Alimentos, The University of Mississippi Botanical Library y The University of Ottawa Phytochemical Library. La identificación de los analitos se realizó inicialmente por la detección del ión molecular de compuestos que fueron cargados en una biblioteca de compuestos fenólicos elaborada a partir de la búsqueda bibliográfica exhaustiva de compuestos reportados para la especie y familia a la que pertenece la planta. Posteriormente, se realizó una comparación directa de los espectros de masas obtenidos contra los reportados en la base de datos de The Human Metabolome Database (HMDB), FooDB versión 1.0 y MassBank of North America tomando como criterio de aceptación la presencia de al menos de 3 picos en el espectro experimental. La biblioteca consistió en 295 compuestos de la familia Asteraceae y adicionalmente se emplearon bibliotecas elaboradas para *Malvastrum bicuspidatum*, *Physalis cinerascens* e *Ipomoea purpurea*, por lo que la biblioteca final consistió en 1495 compuestos.

Cuadro 5. Condiciones experimentales del EM para la UPLC-EM.

Fuente de ionización	Ionización por electrospray (ESI)
Analizador	Tiempo de vuelo VION IMS (ToF)
Modo de ionización	Negativa
Temperatura	Gas de secado (nitrógeno): 350 °C
Flujo del gas de secado	11 L min <sup>-1</sup>
Voltaje del capilar	2 kV
Voltaje del fragmentador	220 kV
Presión de nebulización	45 psi
Rango de exploración	50 a 1800 u.m.a.

#### V.2.5 Cuantificación de afinina y búsqueda de alcaloides por HPLC-DAD

La cuantificación de la afinina se realizó mediante HPLC-DAD, para lo cual, se elaboró una curva de calibración utilizando un estándar de afinina en un rango de 15

a 90 µg/mL (15, 30, 45, 60 y 90 µg/mL). Para preparar la muestra, se pesaron 2 mg de los extractos orgánicos y se disolvieron en 1 mL de etanol grado HPLC. Éstos se sonicaron durante 15 minutos y se filtraron a través de una membrana de nailon con un tamaño de poro de 0.45 µm. Posteriormente, se tomó una alícuota de 100 µL y se completó a 1 mL con la fase móvil. La muestra se inyectó por triplicado bajo las condiciones que se muestran en el cuadro 6.

Cuadro 6. Condiciones experimentales de la HPLC-DAD para los extractos orgánicos.

Fase estacionaria	Columna ZORBAX® ECLIPSE XDB-C8 (4.5×150 mm, tamaño de partícula de 5 µm y tamaño de poro de 120 Å)
Fase móvil	Acetonitrilo : Agua con ácido acético al 1 %, en una proporción de 1:1
Flujo	1 mL/min
Volumen de inyección	20 µL
Gradiente de elución	Isocrática
Tiempo de análisis	20 min
Detector	Arreglo de diodos (DAD) para UV-Vis
Longitud de onda	236 nm

(Marrero-Morfa y col., 2023)

V.2.6 Cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y capacidad antioxidante.

#### V.2.6.1 Cuantificación de compuestos fenólicos

La cuantificación de fenoles totales se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu. Primero, se elaboró una curva de calibración con ácido gálico, utilizando concentraciones de 0.005, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mg en 1 mL, disuelto en metanol al 80 %, empleando este mismo solvente como blanco. A continuación, se añadieron 1.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 en agua a 0.3 mL del extracto, previamente diluido 1:10 en metanol, y a 0.3 mL de la solución estándar de



ácido gálico para la curva de calibración. Después de 1 minuto, se agregaron 1.2 mL de una solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 7.5 % y se agitó la mezcla. La reacción se dejó reposar en oscuridad durante 90 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia a 765 nm utilizando como blanco metanol al 80 %.

#### V.2.6.2 Cuantificación de flavonoides totales

La cuantificación de flavonoides se llevó a cabo utilizando el método de Zhishen. Para comenzar, se realizó una curva de calibración con catequina, empleando concentraciones de 0.02, 0.04, 0.08, 0.12, 0.16 y 0.2 mg en 1 mL. La catequina fue disuelta en metanol al 80 %. En un matraz volumétrico de 10 mL, se añadieron 4 mL de agua destilada y 1 mL del extracto, previamente diluido en una proporción de 1:10 en metanol, y 1 mL de la solución estándar de catequina para la curva de calibración. En el tiempo cero, se agregaron 0.3 mL de  $\text{NaNO}_2$  al 5 %. Después de cinco minutos, se añadieron 0.3 mL de  $\text{AlCl}_3$  al 10 %. Un minuto más tarde, se incorporaron 2 mL de  $\text{NaOH}$  1M, completando el volumen con agua y agitando la solución. La lectura de las muestras se realizó a 510 nm utilizando un blanco de agua, asegurando que se midiera en un tiempo no mayor a 30 minutos.

#### V.2.6.3 Determinación de capacidad antioxidante

##### V.2.6.3.1 Método de DPPH

Se realizó una curva de calibración utilizando Trolox como estándar en concentraciones de 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 y 0.25 mg/mL. Posteriormente, se disolvieron 2 mg de DPPH en 50 mL de metanol, y se ajustó la absorbancia de la solución a 1 antes de su uso. Este ajuste se realizó añadiendo más DPPH o diluyendo la solución con metanol, según fuera necesario. A continuación, se añadieron 2.8 mL del reactivo DPPH a 0.2 mL del extracto previamente diluido en una proporción 1:10 en metanol, o bien a 0.2 mL de las soluciones correspondientes a la curva de calibración. Las muestras fueron incubadas durante 30 minutos a temperatura ambiente, en completa oscuridad. Posteriormente, se midió la absorbancia a 480 nm, utilizando metanol como blanco.

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante el cálculo del porcentaje de inhibición, tomando en cuenta la absorbancia inicial del reactivo DPPH. El porcentaje de inhibición se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{abs_{inicial} - abs_{final}}{abs_{inicial}} \cdot 100$$

Los resultados obtenidos se expresaron como mg equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

#### V.2.6.3.1 Método de FRAP

El ensayo FRAP se llevó a cabo utilizando un reactivo compuesto por 50 mL de buffer de acetato a 300 mM, con un pH de 3.7, 5 mL de 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) (10 mM en HCl 40 mM) y 5 mL de FeCl<sub>3</sub> a 20 mM. Para generar una curva de calibración, se prepararon soluciones estándar de Trolox en concentraciones de 0.025, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 y 0.25 mg/mL. A continuación, se añadieron alícuotas de 2.8 mL del reactivo FRAP a cada tubo, seguidas de 0.2 mL de extracto (diluido 1:10 en metanol), y de las soluciones estándar de Trolox para la curva de calibración. Las mezclas se dejaron reposar en la oscuridad durante 30 minutos y luego se midió la absorbancia a 630 nm. Los resultados obtenidos se expresaron como mg equivalentes de Trolox por gramo de muestra.

#### V.2.7 Ensayo de vasodilatación *ex-vivo*

##### V.2.7.1 Animales de experimentación

Se emplearon 16 ratas macho Wistar (200 – 250 g) suministradas por el bioterio del Instituto de Neurobiología (UNAM), Campus Juriquilla, Querétaro, México. Se emplearon: 8 ratas para los extractos metanólicos (4 para hojas y 4 para flores) y 8 ratas para los extractos de diclorometano (4 para hojas y 4 para flores). Se realizaron 4 repeticiones con 4 réplicas ( $n=4$ )

El tiempo de aclimatación de las ratas experimentales fue de una semana y se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio (temperatura (22 °C), humedad (30%), nivel de ruido (<85 dB) y ventilación) con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas, con libre acceso a alimento (Rodent chow 5001) y agua *Ad libitum* (dieta isocalórica

y agua purificada). Las ratas fueron alojadas individualmente en jaulas de polycarbonato con dimensiones de 54.5 cm de largo, 39.5 cm de ancho y 20.0 cm de alto, con tapa de rejilla metálica con separaciones de 1.5 cm entre cada una. Como material de cama se utilizó aserrín suave con comprimidos sanitarios, sustituyéndolo diariamente.

El manejo de las ratas y los procedimientos experimentales se realizaron considerando los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999 para la reproducción, cuidado y uso de animales de laboratorio, así como las directrices del International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS).

Los residuos peligrosos biológicos infecciosos se almacenaron, etiquetaron y desecharon de acuerdo con las especificaciones de la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 por un periodo no mayor a 30 días y se contratará un servicio especial dedicado al tratamiento y procesamiento de estos residuos.

#### V.2.6.2 Ensayo de aorta aislada de rata

Las ratas macho Wistar (200-250 g) fueron sacrificadas por decapitación, utilizando una guillotina (NOM-062-ZOO-1999, apartado 9.5.3.3). La aorta torácica descendente fue extraída y sumergida en una solución oxigenada de Krebs-Henseleit a baja temperatura, con la siguiente composición: 126.8 mM de NaCl, 5.9 mM de KCl, 2.5 mM de  $\text{CaCl}_2$ , 1.2 mM de  $\text{MgSO}_4$ , 1.2 mM de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 30 mM de  $\text{NaHCO}_3$  y 5 mM de  $\alpha$ -glucosa (pH = 7.4). Posteriormente, se realizó un lavado inmediato de la aorta con la solución de Krebs-Henseleit para prevenir la formación de coágulos intravasculares. La aorta fue limpiada de tejido adiposo y conectivo, y se seccionaron en anillos de 4 a 5 mm. Estos anillos aórticos se colocaron entre ganchos de acero inoxidable y se suspendieron en baños de órganos de 7 mL con solución oxigenada de Krebs-Henseleit (95 %  $\text{O}_2$  y 5 %  $\text{CO}_2$ ) a 37°C.

Una vez colocados, se ajustaron los segmentos aórticos a la tensión de reposo de 1.5 g y, posteriormente, se contrajeron con 100 mM de KCl. Una vez alcanzada una contracción estable, se restableció el medio de baño para recuperar una tensión de

reposo de 1.5 g. Posteriormente, los tejidos se contrajeron con 1  $\mu$ M de L-fenilefrina y se registró la fuerza de contracción desarrollada, la cual se definió como el 100 %.

A continuación, se añadió acetilcolina (ACh) y los extractos, ambos disueltos en agua desionizada al baño de órganos, alcanzando concentraciones finales de 0.2 ng/mL a 2 mg/mL y 1  $\mu$ g/mL a 3 mg/mL, respectivamente. La tensión isométrica fue medida mediante un transductor de fuerza-desplazamiento Grass FT03 conectado a un polígrafo Grass 7D<sup>®</sup>. Los resultados se expresaron como porcentaje de la contracción inicial lograda con L-fenilefrina (Ibarra-Alvarado y col., 2010).

#### V.2.8 Análisis estadístico

Los resultados del efecto vasodilatador se reportaron como la media  $\pm$  desviaciones estándar ( $n = 4$ ) con 4 réplicas. Los datos se ajustaron a una ecuación sigmoideal al obtener las curvas concentración respuesta y se determinaron las concentraciones efectivas medias ( $CE_{50}$ ), empleando el software Prism 10<sup>®</sup>. Las diferencias significativas entre los tratamientos se determinaron por análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación de medias por Tukey ( $p < 0.05$ ).

#### V.2.9 Gráficos de espacio químico

Se realizaron gráficos de espacio químico empleando el software Datawarrior v06.02.05 introduciendo la notación SMILES de todos los compuestos encontrados en la CG-EM. Se obtuvieron los siguientes descriptores moleculares: FragFP (fragmentation fingerprint), peso molecular, LogP (coeficiente de partición octanol:agua), PSA (área superficial polar), fracción de carbonos  $sp^3$ , donadores y aceptores de puentes de hidrógeno. Con los descriptores se realizaron diferentes gráficos de reducción de la dimensionalidad: t-SNE y UMAP a diferentes dimensiones y probando diferentes descriptores encontrando una buena agrupación con el gráfico t-SNE empleando LogP en X, peso molecular en Y, fracción de carbonos  $sp^3$  en Z, PSA en el tamaño de las esferas y la similitud (FragFP) con respecto a la afinina en el color (Sander y col., 2015).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VI.1 Compuestos identificados por CG-EM

En la Figura 14, se representa un gráfico de espacio químico no polar de todas las partes de *H. longipes*, el cual, nos permite visualizar de manera muy general la distribución de los metabolitos presentes mediante el uso de descriptores (valores numéricos que expresan una característica molecular). Cada punto en este gráfico representa una molécula específica encontrada en CG-EM de *H. longipes*.

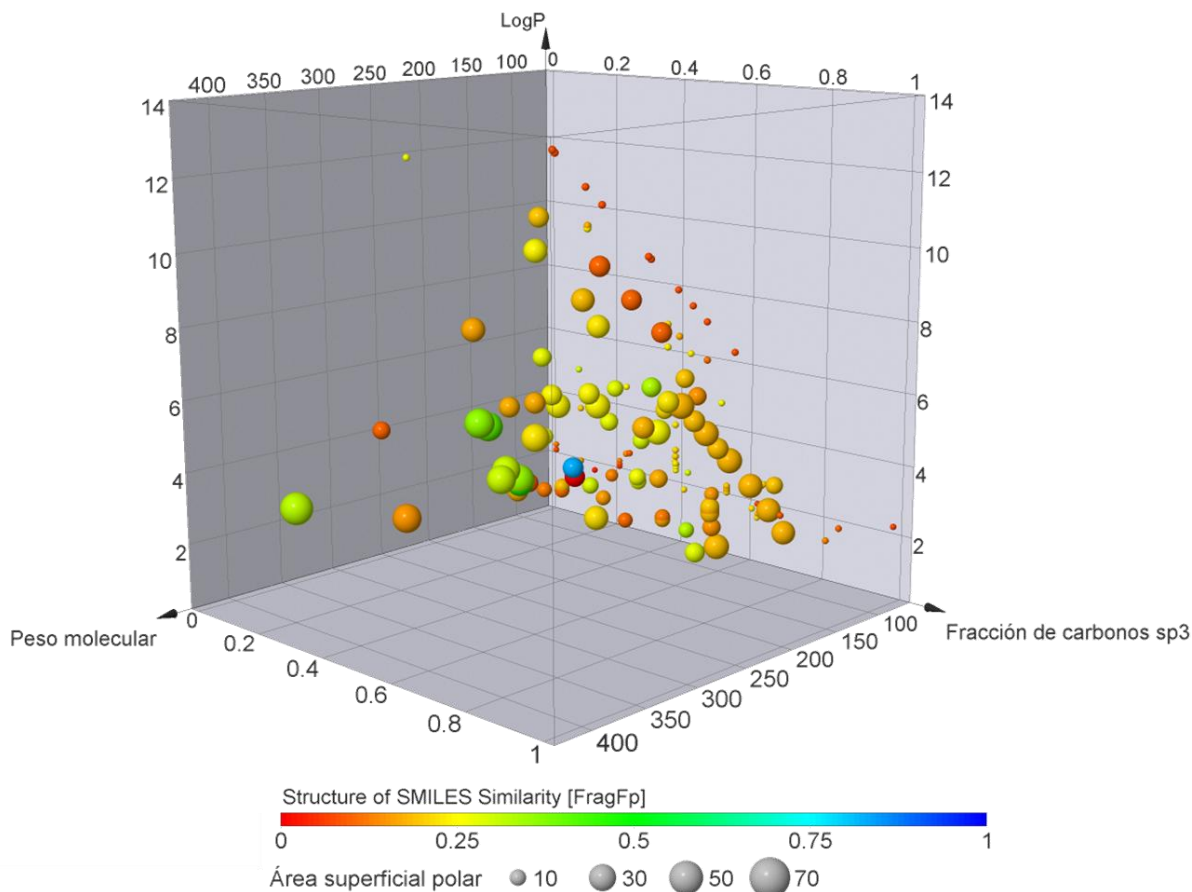


Figura 14. Gráfico de espacio químico no polar de *H. longipes* en 5D.

Los descriptores empleados fueron:

1. Fracción de carbonos  $sp^3$  (Eje x): La proporción de átomos de carbono en la molécula que tienen enlaces simples.
2. LogP (Eje y): Una medida de la lipofilia de una molécula.
3. Peso Molecular (Eje z): La masa total de una molécula.
4. FragFP (Color): Similitud estructural SMILES de los compuestos respecto a la afinina.

5. Área superficial polar (tamaño de la esfera): la suma de la superficie de todos los átomos o moléculas polares, principalmente oxígeno y nitrógeno.

Los puntos grandes, que representan moléculas con una mayor área superficial polar, se encuentran en la región de pesos moleculares más altos (en la parte derecha del eje X). Esto es lógico, ya que las moléculas más grandes tienden a tener más grupos funcionales polares, lo que aumenta su área superficial. En contraste, las moléculas con pesos moleculares más bajos (a la izquierda del gráfico) tienden a tener áreas superficiales polares más pequeñas (esferas más pequeñas), lo que es consistente con su menor tamaño general.

Las moléculas con alta fracción de carbonos  $sp^3$  (en la parte superior del eje Z) suelen tener una distribución bastante uniforme en cuanto a LogP. Estas moléculas tienden a ser más tridimensionales, lo cual puede mejorar su capacidad de interactuar con dianas biológicas complejas, como proteínas. Los compuestos con una baja fracción de carbonos  $sp^3$  (en la parte inferior del gráfico) parecen estar más concentrados en rangos medios o bajos de LogP, lo que sugiere que tienden a ser más planas o aromáticas, y, por lo tanto, menos lipofílicas.

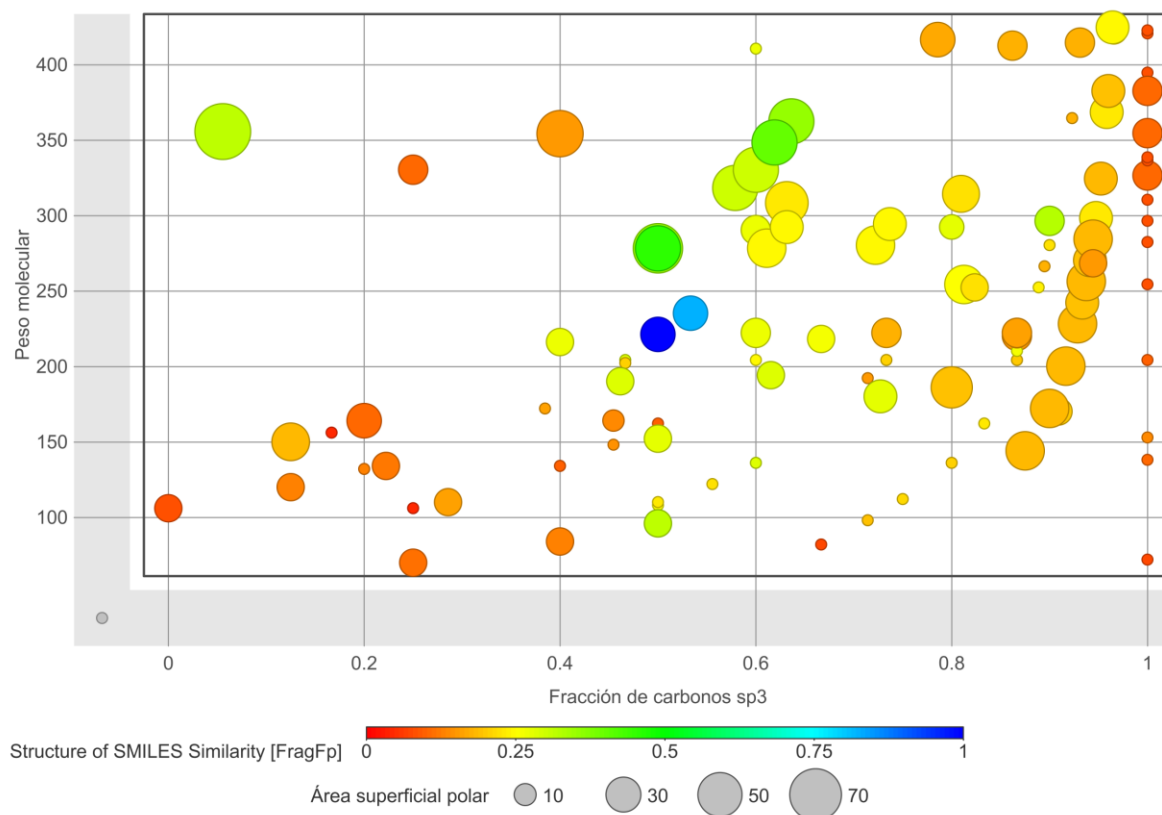


Figura 15. Gráfico de espacio químico no polar de *H. longipes* en 4D.

Los colores permiten identificar agrupamientos de moléculas con estructuras similares (ver Figura 15). En el gráfico, se observó que las moléculas rojas representan compuestos que son bastante diferentes estructuralmente de los demás (posiblemente, estructuras atípicas o únicas), y tienden a dispersarse en varias regiones del gráfico. Por otra parte, las moléculas azules y verdes (alta similitud estructural) parecen agruparse en la parte central derecha del gráfico, lo que indica que compuestos estructuralmente similares también tienden a compartir características en términos de peso molecular, LogP y fracción de carbonos  $sp^3$ .

Hay un cierto patrón de agrupamiento en torno a moléculas con pesos moleculares en el rango de 200-400 g/mol, lo cual podría corresponder a compuestos medianos con buenas propiedades de permeabilidad y biodisponibilidad oral (requisitos clave en el diseño de fármacos). Las moléculas con LogP alrededor de 2-4 y con fracción de carbonos  $sp^3$  intermedia (0.2-0.4) parecen formar el núcleo de este grupo, lo que sugiere que estas propiedades son ideales para compuestos con un balance entre hidrofobia y polaridad, haciéndolos potencialmente bioactivos.

El algoritmo t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding), una técnica avanzada de visualización de datos de alta dimensión que asigna a cada punto de datos una posición en un mapa bidimensional o tridimensional, facilitando así la interpretación visual de relaciones complejas en el conjunto de datos. Para grandes conjuntos de datos, el t-SNE utiliza un enfoque innovador de recorridos aleatorios en gráficos de vecindad, lo cual permite que la estructura de datos completa influya en la representación de un subconjunto seleccionado. Esto ayuda a conservar las relaciones locales y globales de los datos, logrando una disposición más intuitiva y estructurada en el espacio de visualización. El algoritmo t-SNE ha demostrado producir visualizaciones más informativas y estructuradas en la mayoría de los conjuntos de datos (Liu y col., 2021).

La distribución de los metabolitos en el gráfico t-SNE (Figura 16) muestra una clara diferenciación en función de la parte de la planta de la que provienen. Los metabolitos derivados de las hojas (representados por esferas grises) se agrupan mayoritariamente en la parte derecha del gráfico. Esto sugiere que las hojas tienden a producir una mayor diversidad de compuestos, destacando especialmente los fenilpropanoides, compuestos halogenados y alcaloides, que se manifiestan en colores predominantes como el verde y el azul. Estos compuestos desempeñan roles cruciales en la defensa de la planta y en la señalización.

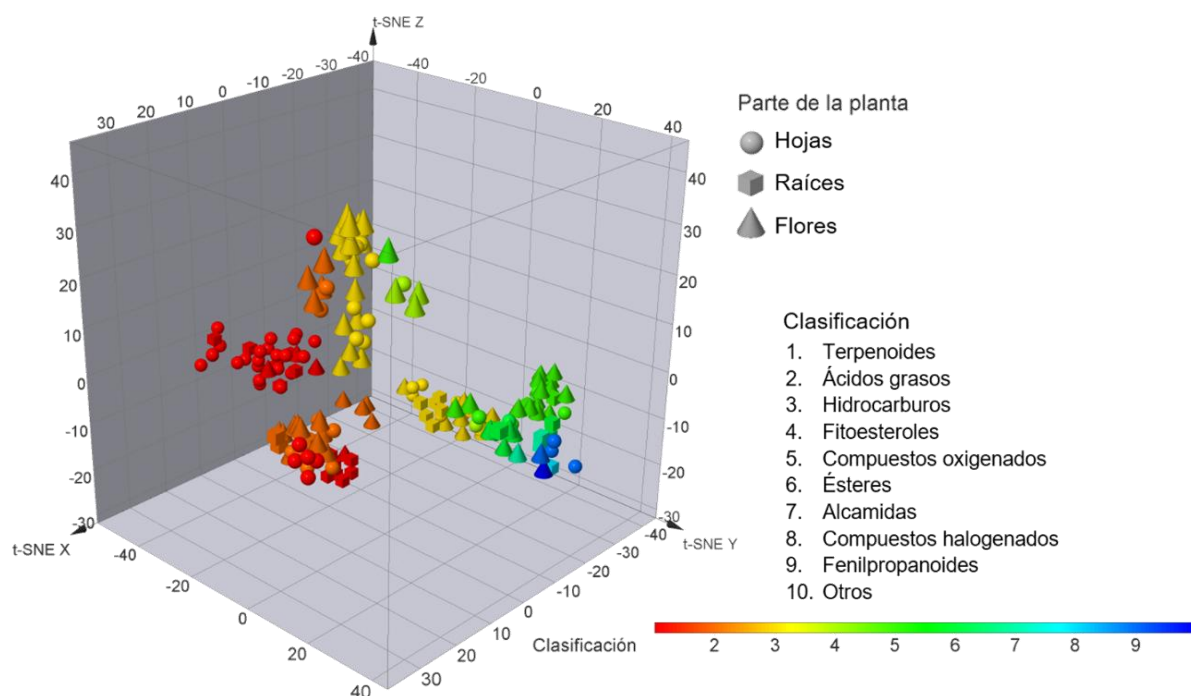


Figura 16. Gráfico t-SNE no polar de *H. longipes*.

Por otro lado, los metabolitos provenientes de las raíces (indicados por cubos grises) se concentran en la parte inferior izquierda del gráfico, donde los colores rojos y naranjas indican una alta presencia de hidrocarburos, ácidos grasos y terpenoides. Este patrón refleja la función protectora y estructural de las raíces, ya que estos compuestos son fundamentales para la conservación de energía y la estructura celular en las partes subterráneas de la planta.

En cuanto a los metabolitos de las flores (conos grises), se observa una mayor dispersión en el gráfico, lo que refleja la diversidad química que producen. Se aprecia una mezcla de terpenoides (representados en naranja y rojo) y compuestos oxigenados (en amarillo), los cuales son comunes en las flores debido a su papel clave en la atracción de polinizadores y en la participación en interacciones ecológicas con el entorno.

Los hidrocarburos y ácidos grasos (clasificados en las categorías 2 y 3) tienden a agruparse en la parte izquierda del gráfico, destacando su fuerte presencia en las raíces. Estos compuestos hidrofóbicos son esenciales para la protección y estructura de las raíces, lo que permite a la planta soportar condiciones ambientales adversas.

Los terpenoides (categoría 1) están distribuidos en varias regiones del gráfico, aunque su concentración más alta se encuentra en las flores, donde juegan un papel



crucial en la defensa química y la atracción de polinizadores. Por su parte, los compuestos oxigenados y ésteres (categorías 5 y 6) se distribuyen tanto en flores como en hojas, sugiriendo su importancia en los procesos metabólicos y de defensa en ambas partes de la planta.

Finalmente, los fenilpropanoides y compuestos halogenados (categorías 8 y 9) aparecen mayoritariamente en las hojas. Estos compuestos, altamente reactivos, participan en mecanismos de defensa y señalización en las partes aéreas de la planta, protegiéndola de herbívoros y agentes patógenos.

El gráfico revela patrones interesantes de diversidad metabólica según la parte de la planta. Las hojas son especialmente ricas en compuestos polares como los fenilpropanoides y alcanidas, que cumplen funciones vitales en la defensa contra herbívoros y patógenos. Las raíces, por su parte, producen principalmente compuestos lipofílicos como los hidrocarburos y ácidos grasos, esenciales para la estructura celular y el almacenamiento de energía. Finalmente, las flores, como parte reproductiva, muestran una mayor diversidad química, con un enfoque en compuestos volátiles como los terpenoides y ésteres, que juegan un papel clave en la atracción de polinizadores y la comunicación ecológica con el entorno.

#### VI.1.1 Raíces

El análisis químico de las raíces de *H. longipes* revela 36 compuestos identificados (Cuadro 7) de una rica diversidad, donde las alcanidas destacan por su predominancia, seguidas de compuestos como los ácidos grasos, terpenoides, ésteres y hidrocarburos. Esta riqueza en compuestos no solo refleja el sofisticado sistema de defensa de la planta contra factores ambientales, sino que también resalta su potencial como fuente de nuevos medicamentos y tratamientos para diversas afecciones humanas.

Cuadro 7. Compuestos identificados en las raíces de *H. longipes* por CG-EM

No	RT	Área %	% Match	Nombre	Clasificación	CAS
1	90.445	78.21	81	Afinina	Alcamida	25394-57-4
2	92.75	3.52	91	N-(2-metilbutil)-(2E,6Z,8E)-decatrienamida	Alcamida	1000106-16-0
3	97.03	0.36	93	Ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico	Ácido graso	60-33-3
4	91.147	0.21	99	Ácido n-hexadecanoico	Ácido graso	57-10-3
5	90.922	0.13	97	Ácido cis-9-hexadecenoico	Ácido graso	373-49-9
6	49.283	0.08	99	(+)-ciclosatino	Diterpeno	22469-52-9
7	51.722	0.07	95	Cipereno	Sesquiterpeno	2387-78-2
8	104.96	0.05	86	Ftalato de bis(2-etilhexilo)	Éster de ftalato	1000308-98-5
9	49.837	0.03	94	$\alpha$ -cubebeno	Sesquiterpeno	17699-14-8

10	24.843	0.02	91	2-ciclohexen-1-ona	Cicloalquenona	930-68-7
11	6.479	0.01	86	Acido acetico	Ácido carboxílico	64-19-7
12	7.722	0.01	91	2-butenal	Aldehído insaturado	4170-30-3
13	16.43	0.01	97	Tetracloroetileno	Haloalqueno	127-18-4
14	25.899	0.01	95	Canfeno	Monoterpeno	79-92-5
15	30.617	0.01	95	<i>p</i> -cimeno	Monoterpeno	99-87-6
16	30.842	0.01	94	D-limoneno	Monoterpeno	5989-27-5
17	33.069	0.01	90	( <i>E</i> )-1,2-Diclorociclohexano	Haluro de cicloalcano	822-86-6
18	33.648	0.01	90	1-etil-2,3-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	933-98-2
19	34.112	0.01	97	<i>o</i> -cimeno	Monoterpeno	527-84-4
20	35.811	0.01	97	1,2,4,5-tetrametilbenceno	Hidrocarburo aromático	95-93-2
21	37.781	0.01	91	1,2,3,5-tetrametilbenceno	Hidrocarburo aromático	527-53-7
22	39.95	0.01	83	1-metil-3-(1-metiletenil)ciclohexeno	Monoterpeno	499-03-6
23	41.836	0.01	94	2-metoxi-4-metil-1-(1-metiletil)benceno	Éter aromático	1076-56-8
24	53.164	0.01	92	Cariofileno	Sesquiterpeno	87-44-5
25	59.311	0.01	95	(+)-valenceno	Sesquiterpeno	4630-07-3
26	27.688	0	97	(-)- $\beta$ -pineno	Monoterpeno	18172-67-3
27	28.956	0	90	( <i>E,E</i> )-2,4-heptadienal	Aldehído insaturado	4313-03-5
28	32.586	0	93	2-etil-1,4-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	1758-88-9
29	33.751	0	94	<i>p</i> -cimeno	Monoterpeno	99-87-6
30	35.296	0	91	4-etil-1,2-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	934-80-5
31	37.079	0	87	1-fenil-1-buteno	Alqueno aromático	824-90-8
32	38.875	0	90	1-metil-4-(1-metilpropil)benceno	Hidrocarburo aromático	1595-16-0
33	41.591	0	90	1-metoxi-4-metil-2-(1-metiletil)benceno	Éter aromático	31574-44-4
34	44.7	0	80	( <i>E,E</i> )-2,4-decadienal	Aldehído insaturado	25152-84-5
35	47.449	0	80	Piperonal	Aldehído aromático	120-57-0
36	52.321	0	95	Neoisolongifoleno	Sesquiterpeno	1000156-12-4

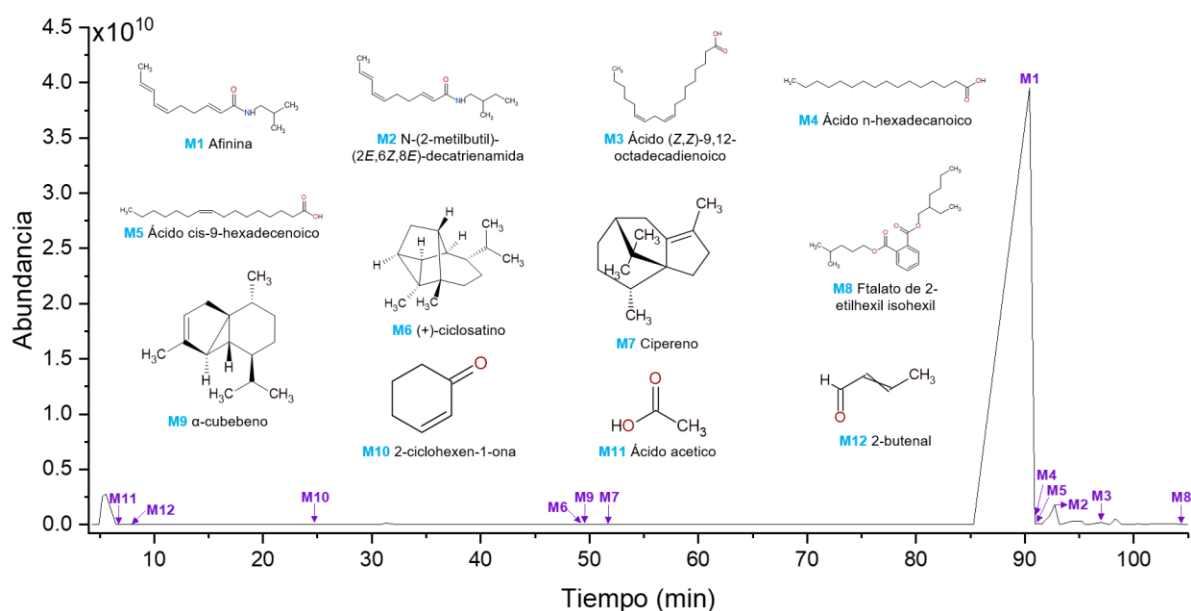


Figura 17. Cromatograma de las raíces y sus compuestos mayoritarios.

Las alcanidas constituyen el 78.21 % del área total de los compuestos identificados en *H. longipes*, lo cual subraya su importancia en la defensa de la planta. Estos compuestos, como la afinina y la N-(2-metilbutil)-(2E,6Z,8E)-decatrienamida, son ampliamente reconocidos por sus propiedades bioactivas y se identificaron en mayor abundancia, en concordancia con lo reportado por Ruíz-Castillo en 2021. La afinina, en particular, ha mostrado una serie de actividades farmacológicas, como la inhibición del crecimiento planctónico de *Candida albicans* (Fabri y col., 2021).

El hecho de que las alcanidas también actúen como repelentes contra herbívoros y patógenos sugiere que *H. longipes* ha desarrollado un mecanismo de defensa químico muy eficaz, con implicaciones importantes en su ecología. A nivel farmacológico, la afinina también ha mostrado propiedades antiinflamatorias, reduciendo la mucositis intestinal inducida por quimioterapias como el 5-fluorouracilo (de Freitas-Blanco y col., 2018). Esto amplía su potencial terapéutico para enfermedades inflamatorias, además de su efecto analgésico actuando a través de la liberación de GABA en el cerebro (Ríos y col., 2007). También, la afinina promueve la angiogénesis tanto *in vitro* como *in vivo*, sugiriendo su potencial en el tratamiento de enfermedades relacionadas con una insuficiencia vascular (García-Badillo y col., 2021).

Más allá de sus propiedades individuales, las alcanidas también tienen un potencial notable en la medicina cardiovascular. Estudios han demostrado que la afinina ejerce un efecto vasodilatador mediado por gasotransmisores en aortas de

rata (Castro-Ruiz y col., 2017) y reduce significativamente la presión arterial mediante la activación de receptores cannabinoides tipo 1 y canales TRPA1 y TRPV1 (Luz-Martínez y col., 2024). Estos hallazgos sugieren aplicaciones clínicas en el tratamiento de hipertensión y otros trastornos vasculares.

Otras actividades biológicas y farmacológicas de la afinina son el control de vectores de enfermedades como la malaria y el dengue, al ejercer un efecto larvicida sobre *Anopheles albimanus* y *Aedes aegypti* (Hernández-Morales y col., 2015), su efecto antimutagénico a través de su capacidad antioxidante, neutralizando los radicales libres y protegiendo el ADN de daños oxidativos (Arriaga-Alba y col., 2013), su actividad antiartrítica en un modelo de rata, inhibiendo el edema y previniendo lesiones secundarias (Escobedo-Martínez y col., 2017) y su inhibición del crecimiento y producción de aflatoxinas en *Aspergillus parasiticus* al suprimir la expresión de los genes aflD y aflR (Buitimea-Cantúa y col., 2019).

Aunque representan solo el 1.85 % del área total, los ácidos grasos presentes en *H. longipes*, como el ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico (ácido linoleico) y el ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico), cumplen roles fundamentales en la biología de la planta y ofrecen beneficios potenciales para la salud humana. Estos ácidos son componentes esenciales de las membranas celulares, contribuyendo a su estabilidad y fluidez. En el caso del ácido linoleico, sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes pueden ser explotadas para tratar enfermedades inflamatorias y cardiovasculares.

El ácido linoleico también ha mostrado actividad antiviral, inhibiendo la replicación del virus de la diarrea epidémica porcina (PEDV) al interferir con la vía de señalización PI3K, específicamente inhibiendo la fosforilación de AKT (Yang y col., 2023) y promueve la función inmune mediante la mejora del metabolismo mitocondrial en células T CD8+ (Nava Lauson y col., 2023). Esto sugiere un posible uso del ácido linoleico como complemento en terapias inmunomoduladoras. Asimismo, el ácido palmítico ha demostrado propiedades anticancerígenas, induciendo apoptosis en células de cáncer de endometrio (Zhao y col., 2024), lo que refuerza su potencial como agente quimioterapéutico. El ácido linoleico, aislado de *Holigarna caustica*, exhibe una potente actividad nematicida contra *Caenorhabditis elegans*, respaldando el uso tradicional de esta planta en el tratamiento de problemas intestinales (Panda y col., 2020).

Los terpenoides, que constituyen el 9.88 % del área total analizada, juegan un papel crucial en la ecología de *H. longipes*, ya que muchos de ellos, como el cipereno y el (+)-ciclosatino, son conocidos por sus propiedades aromáticas que atraen

polinizadores y repelen herbívoros. Este tipo de interacción ecológica es esencial para la supervivencia y éxito reproductivo de la planta.

A nivel farmacológico, los terpenoides no son menos interesantes. Compuestos como el cipereno han mostrado potentes propiedades antioxidantes y protectoras del ADN, lo que podría tener aplicaciones en la protección celular contra el estrés oxidativo (Hu y col., 2017). Este tipo de compuestos podría ser empleado en la formulación de nuevos antioxidantes naturales para combatir el envejecimiento celular y proteger el ADN frente a mutaciones que podrían derivar en cáncer.

A pesar de su baja abundancia (1.58 % del área total), los ésteres y compuestos oxigenados en *H. longipes*, como el ftalato de bis(2-etilhexilo) y el ácido acético, cumplen funciones clave en la interacción de la planta con su entorno. Estos compuestos contribuyen a las características organolépticas, como el aroma y sabor, que podrían atraer polinizadores o repeler depredadores. Además, estos ésteres podrían tener funciones simbióticas o defensivas, facilitando la interacción de *H. longipes* con otros organismos en su hábitat natural.

Los hidrocarburos, que constituyen el 5.48% del área total, como el p-cimeno y el cariofileno, son compuestos que refuerzan las defensas de la planta. Actúan atrayendo polinizadores y, al mismo tiempo, disuadiendo a herbívoros, lo que ayuda a la planta a sobrevivir en su entorno. Estudios sugieren que compuestos volátiles como el  $\alpha$ -cubebeno y  $\beta$ -cubebeno poseen propiedades antibacterianas, lo que valida el uso de estas plantas en la medicina tradicional para combatir infecciones bacterianas (Ruiters y col., 2016).

#### VI.1.2 Hojas

Se identificaron 72 compuestos en las hojas de *H. longipes* (ver Cuadro 8) agrupados en cinco categorías principales: terpenoides, ácidos grasos, hidrocarburos, ésteres y compuestos oxigenados.

Cuadro 8. Compuestos identificados en las hojas de *H. longipes* por CG-EM

No	RT	Área %	% Match	Nombre	Clasificación	CAS
1	73.343	15.05	96	$\gamma$ -eudesmol	Sesquiterpeno	1209-71-8
2	71.154	2.36	72	(+)-rosifoliol	Sesquiterpeno	63891-61-2
3	89.441	1.2	99	Ácido n-hexadecanoico	Ácido graso	57-10-3
4	96.54	1.16	95	Ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico	Ácido graso	463-40-1
5	95.189	0.97	90	Fitol	Diterpeno	150-86-7
6	8.931	0.82	90	Etenilciclobutano	Hidrocarburo	2597-49-1
7	96.206	0.71	99	Ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico	Ácido graso	60-33-3

8	52.694	0.47	99	Cariofileno	Sesquiterpeno	87-44-5
9	65.586	0.45	95	Elemol	Sesquiterpeno	639-99-6
10	74.218	0.36	99	$\beta$ -eudesmol	Sesquiterpeno	473-15-4
11	89.157	0.35	95	Ftalato de butil isobutilo	Éster de ftalato	17851-53-5
12	75.37	0.33	90	$\alpha$ -farneseno	Sesquiterpeno	502-61-4
13	68.502	0.31	70	(-)-espatulenol	Sesquiterpeno	77171-55-2
14	58.036	0.28	95	$\beta$ -cubebeno	Sesquiterpeno	13744-15-5
15	85.386	0.28	72	Ácido ftálico	Ácido carboxílico	17851-53-5
16	107.772	0.27	99	Escualeno	Triterpeno	111-02-4
17	73.536	0.26	76	$\gamma$ -cadineno	Sesquiterpeno	39029-41-9
18	88.108	0.26	83	Dehidrofukinona	Sesquiterpeno	19598-45-9
19	84.233	0.24	78	2,6,10,14-tetrametil-2-hexadeceno	Diterpeno	56554-34-8
20	87.387	0.22	94	3-metil-2-(3,7,11-trimetildodecil)furano	Furanoide	166773-55-3
21	79.11	0.19	87	1,2-dietil-3,4-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	54410-75-2
22	66.784	0.18	91	Nerolidol 2	Sesquiterpeno	142-50-7
23	68.708	0.17	78	Óxido de cariofileno	Sesquiterpeno	1139-30-6
24	93.122	0.17	91	Ftalato de mono(2-etilhexilo)	Éster de ftalato	4376-20-9
25	97.023	0.15	91	Ácido octadecanoico	Ácido graso	57-11-4
26	74.373	0.13	90	$\alpha$ -eudesmol	Sesquiterpeno	473-16-5
27	87.548	0.13	99	Éster metílico del ácido hexadecanoico	Éster de ácido graso	112-39-0
28	57.817	0.12	97	$\alpha$ -curcumeno	Sesquiterpeno	644-30-4
29	83.667	0.12	94	3,7,11,15-tetrametil-, [R-[R*,R*-(E)]]-2-hexadeceno	Diterpeno	14237-73-1
30	107.096	0.12	89	Ciclotetracosano	Cicloalcano	297-03-0
31	57.335	0.11	93	$\gamma$ -selineno	Sesquiterpeno	515-17-3
32	91.616	0.11	89	(E,E)-geranilinalol	Sesquiterpeno	1113-21-9
33	108.648	0.11	93	Heptacosano	Alcano	593-49-7
34	55.475	0.1	99	$\alpha$ -cariofileno	Sesquiterpeno	6753-98-6
35	74.012	0.1	92	2,3,4,5-tetrametiltríciclo[3.2.1.02,7]oct-3-eno	Hidrocarburo policíclico	62338-44-7
36	105.77	0.08	93	Heneicosano	Alcano	629-94-7
37	112.394	0.08	94	Eicosano	Alcano	112-95-8
38	90.039	0.07	83	(E)-3-eicoseno	Alqueno	74685-33-9
39	94.468	0.07	94	Linolenato de metilo	Éster de ácido graso	301-00-8
40	104.432	0.07	90	1-hexacoseno	Alqueno	18835-33-1
41	62.349	0.06	94	$\delta$ -cadineno	Sesquiterpeno	483-76-1
42	109.066	0.06	89	Progesterona	Esteroides	57-83-0
43	63.514	0.05	96	5,6,7,7a-tetrahidro-4,4,7a-trimetil-2(4H)-benzofuranona	Lactona bicíclica	15356-74-8
44	94.159	0.05	99	9-cis,11-trans-octadecadienoato de metilo	Éster de ácido graso	13058-52-1
45	103.846	0.05	80	Ftalato de ciclohexil-2-pentilo	Éster de ftalato	1000315-55-3

46	106.227	0.05	94	Tetracosanoato de metilo	Éster de ácido graso	2442-49-1
47	50.319	0.04	92	Biciclosesquifelandreno	Sesquiterpeno	54324-03-7
48	79.676	0.04	99	$\alpha$ -hexilcinamaldehído	Aldehído aromático	101-86-0
49	101.748	0.04	95	1-Nonadeceno	Alqueno	18435-45-5
50	103.08	0.04	95	(Z)-3-tetradecen-5-ino	Alquino	74744-44-8
51	103.743	0.04	95	2,4-bis(1-metil-1-feniletíl)-fenol	Fenol	2772-45-4
52	20.466	0.03	97	1,3-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	108-38-3
53	38.186	0.03	91	1-fenil-1-propanona	Cetona aromática	93-55-0
54	59.781	0.03	99	$\alpha$ -Muuroleno	Sesquiterpeno	31983-22-9
55	97.673	0.03	91	Alcohol behénico	Alcohol graso	661-19-8
56	101.252	0.03	99	4,8,12,16-tetrametilheptadecan-4-olida	Lactona	96168-15-9
57	112.143	0.03	91	$\gamma$ -tocoferol	Tocoferol	7616-22-0
58	24.637	0.02	91	2-ciclohexen-1-ona	Cicloalquenona	930-68-7
59	39.222	0.02	94	1-(4-metilfenil)etanona	Cetona aromática	122-00-9
60	47.648	0.02	93	$\alpha$ -cubebeno	Sesquiterpeno	17699-14-8
61	48.169	0.02	90	Eugenol	Fenilpropanoide	97-53-0
62	48.845	0.02	86	2,6,10,14-tetrametilhexadecano	Diterpeno	638-36-8
63	54.779	0.02	90	Nerilacetona	Cetona sesquiterpénica	3879-26-3
64	55.082	0.02	93	Cis- $\beta$ -farneseno	Sesquiterpeno	28973-97-9
65	64.093	0.02	86	$\gamma$ -maaliene	Sesquiterpeno	20071-49-2
66	112.883	0.02	93	Ciclotetracosano	Cicloalcano	297-03-0
67	51.368	0.01	96	2,7-dimetilnaftaleno	Hidrocarburo aromático	582-16-1
68	61.403	0.01	86	$\gamma$ -muuroleno	Sesquiterpeno	30021-74-0
69	100.035	0.01	87	2-hidroxi-octadeca-9,12,15-trienoato de metilo	Éster de ácido graso	1000336-39-1
70	15.883	0	80	2-metil-3-hepteno	Alqueno	17618-76-7
71	18.721	0	87	2,5,5-trimetil-1-hexen-3-ino	Alqueno	37439-53-5
72	36.042	0	81	2-etenil-1,4-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	2039-89-6

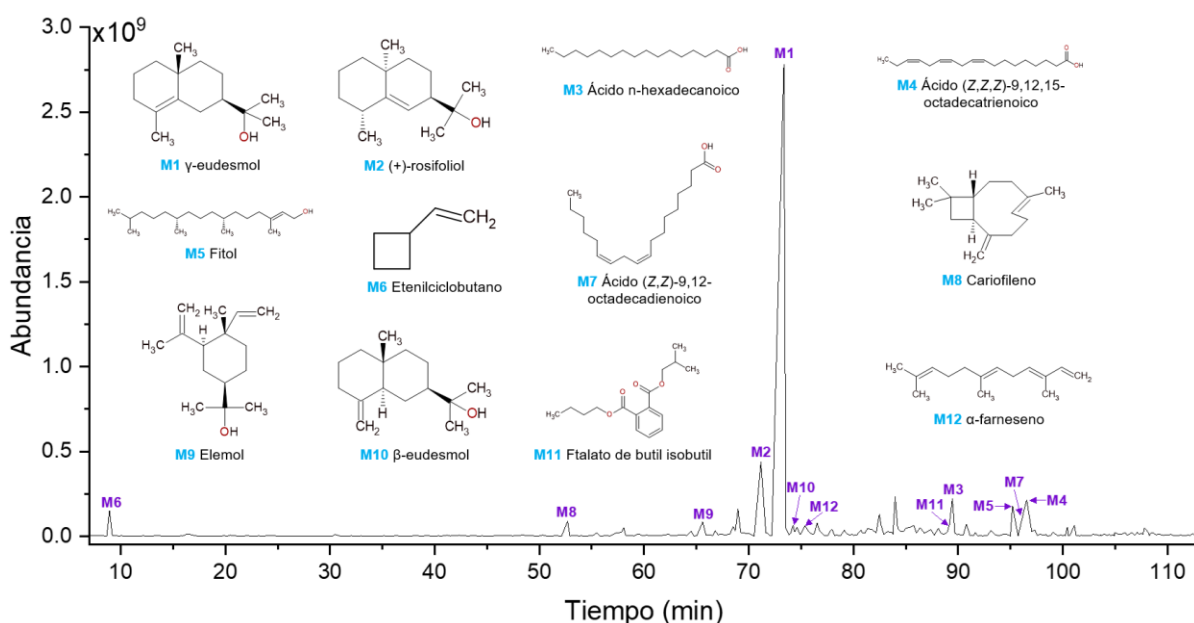


Figura 18. Cromatograma de las hojas y sus compuestos mayoritarios.

De los compuestos identificados, el 41.67 % corresponde a los terpenoides, con 30 compuestos clasificados en esta categoría. Los terpenoides son conocidos por ser metabolitos secundarios clave en las plantas, desempeñando funciones tanto defensivas como regulatorias. En el caso de *H. longipes*, su abundancia sugiere un papel esencial en la defensa de la planta contra herbívoros y patógenos. Este tipo de compuestos ha sido ampliamente estudiado en otras especies vegetales debido a su capacidad de repeler o inhibir el crecimiento de organismos invasores.

Estudios previos indican que terpenoides como el β-cariofileno y el γ-eudesmol, que también se encuentran en aceites esenciales de otras plantas como *Drimys winteri* presentan actividad antimicrobiana contra *H. pylori*, *S. aureus* y *E. coli*, así como actividad antifúngica contra *C. albicans* (Bruna y col., 2022). De manera similar, *Pelargonium graveolens* contiene epi-γ-eudesmol, geraniol y β-citronellol como sus compuestos mayoritarios que demostraron actividad bactericida contra una variedad de patógenos, incluyendo *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhimurium* (M'hamdi y col., 2024). El aceite esencial de *Heliotropium bacciferum*, rico en compuestos como agarospirol, rosifoliol y elemol, demostró una notable actividad antibacteriana contra bacterias Gram-positivas, especialmente *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus cereus* (Hasni y col., 2023). Los extractos de *Schinus molle* L. mostraron un alto potencial antioxidante y antibacteriano, atribuido principalmente a compuestos como α-elemol, β-pineno, α-felandreno y β-eudesmol (Salem y col., 2016).



En la planta, como mecanismo de defensa directo, las plantas liberan sustancias repelentes, tales como el (*E*)- $\beta$ -farneseno, que resulta tóxico para pulgones del algodón (*Aphis gossypii*), al funcionar como inhibidores enzimáticos que dificultan la alimentación de los insectos (Su y col., 2006). La defensa indirecta se activa cuando las plantas son dañadas por herbívoros, liberando terpenos volátiles que sirven como señales para atraer a enemigos naturales. Por ejemplo, el cariofileno atrae a la avispa parasitaria *Cotesia sesamiae*, el enemigo natural de las larvas del taladro del maíz (*Chilo partellus*), para defenderse contra estos insectos (Tamiru y col., 2017).

Además de su función defensiva, algunos terpenoides de *H. longipes* podrían tener aplicaciones farmacológicas, especialmente en el tratamiento de cáncer. Los isómeros de eudesmol ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ) han mostrado una notable actividad citotóxica, induciendo apoptosis en células tumorales mediante la activación de caspasas y la pérdida del potencial de membrana mitocondrial (Bomfim y col., 2013). El aceite esencial de *Scutellaria brevibracteata* subsp. *brevibracteata*, rico en elemol,  $\gamma$ -eudesmol y  $\beta$ -eudesmol, demostró una notable actividad antibiófilm contra *Pseudomonas aeruginosa* y una significativa citotoxicidad en líneas celulares de cáncer de pulmón, induciendo apoptosis (Kart y col., 2023).

El  $\beta$ -eudesmol no solo ha mostrado potenciar la eficacia de quimioterapéuticos como 5-FU y doxorubicina en células de colangiocarcinoma al inhibir la actividad de la enzima NQO1, sino que también tiene un efecto protector sobre la barrera epitelial pulmonar, previniendo la inflamación alérgica al interferir con la señalización de IL-4/13 (Srijwangsa y col., 2018; Tharabenjasin y col., 2024).

Por otra parte, los ácidos grasos y sus derivados representaron el 13.89 % del total de compuestos, con 10 compuestos específicos identificados. Estos compuestos son componentes esenciales de las membranas celulares y juegan un papel clave en la integridad celular, la señalización intracelular y la regulación de los procesos fisiológicos de la planta. La presencia de ácidos grasos en *H. longipes* sugiere que estos compuestos podrían estar involucrados en la adaptación de la planta a condiciones ambientales adversas, manteniendo la estabilidad de las células vegetales.

El ácido palmítico inhibe el crecimiento y la metástasis de células de cáncer de próstata al inducir un arresto en la fase G1 del ciclo celular y suprimir la vía PI3K/Akt (Zhu y col., 2021). Este hallazgo abre la posibilidad de explorar el uso de los ácidos grasos presentes en *H. longipes* para el desarrollo de terapias antitumorales y también ha demostrado potenciar la eficacia de antibióticos como la ciprofloxacina en la inhibición de biopelículas bacterianas de *Pseudomonas aeruginosa*, lo que

sugiere su uso en el combate de infecciones bacterianas resistentes (Sajayan y col., 2023).

En cuanto a los hidrocarburos constituyeron el 24.29 % del total de compuestos, con 17 compuestos identificados. Aunque los hidrocarburos suelen tener un papel menos estudiado en la bioquímica vegetal, en *H. longipes* estos compuestos parecen estar asociados con la resistencia a condiciones ambientales adversas, como la deshidratación y el daño por radiación UV. Su presencia sugiere que los hidrocarburos podrían contribuir a la adaptación de la planta a su entorno, protegiendo las hojas de agresiones externas.

Los ésteres, que constituyeron el 2.78 % del total de compuestos con 2 compuestos identificados, como el ftalato de butilo, aunque presentes en menor cantidad, tienen aplicaciones industriales importantes. Este compuesto es utilizado en la fabricación de fragancias y sabores, lo que podría hacer de *H. longipes* una fuente interesante para la industria de perfumes y alimentos. Además, estudios han demostrado que el ftalato de butil isobutilo aislado de *Rubus steudneri* tiene actividad inhibitoria de la  $\alpha$ -glucosidasa, una enzima clave en la digestión de carbohidratos, sugiriendo su posible uso como agente antidiabético (Raghavendra y col., 2021).

El ftalato de butil isobutilo, aislado de endofitos de *Streptomyces* en *Rumex dentatus*, demostró un significativo efecto promotor del crecimiento en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.), atribuido en parte a su capacidad para aumentar la germinación de semillas y estimular el desarrollo radicular (Ntemafack y col., 2022). Esto sugiere que los ésteres en *H. longipes* no solo tienen valor industrial, sino también potencial agrícola como promotores del crecimiento vegetal.

Finalmente, los compuestos oxigenados representaron el 9.72 % del total de compuestos, con 7 identificados. Estos compuestos, aunque en menor proporción, son conocidos por su alta actividad biológica. El fitol, un diterpeno oxigenado, ha mostrado propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antifúngicas. En estudios recientes, el fitol ha demostrado ser eficaz para reducir la inflamación articular y la hiperalgesia en modelos de artritis, modulando las vías de señalización de p38MAPK y NF- $\kappa$ B (Carvalho y col., 2020). Además, el fitol ha mostrado ser el principal compuesto responsable de los efectos analgésicos en el tratamiento de migrañas, al inhibir los canales de sodio Nav1.7 en los ganglios trigeminales (Song y col., 2023). Así mismo, el fitol de *Stevia rebaudiana*, inhibió la diferenciación de osteoclastos al suprimir la expresión de NFATc1 y c-Fos, modulando así la vía de señalización de Nrf2 (Kim y col., 2022). Por otra parte, Lima y col. en 2020 sintetizaron nanopartículas sólidas lipídicas cargadas con fitol que demostraron una mayor actividad antifúngica

contra *Candida spp.* en comparación con el fitol libre, gracias a una mejor solubilidad y penetración celular.

### VI.1.3 Flores

El análisis detallado de los 73 compuestos químicos identificados en las flores de *H. longipes* (ver Cuadro 9) revela una variedad notable de sustancias que no solo son cruciales para la biología de la planta, sino que también presentan amplias aplicaciones potenciales en la salud humana y en diversas industrias.

Cuadro 9. Compuestos identificados en las flores de *H. longipes* por CG-EM

No.	RT	Área %	% Match	Nombre	Clasificación	CAS
1	101.194	3.82	96	Asarinina	Lignano	133-03-9
2	89.653	2.2	99	Ácido n-hexadecanoico	Ácido graso	57-10-3
3	106.749	0.74	99	$\gamma$ -sitosterol	Esterol vegetal	83-47-6
4	96.283	0.71	99	Ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico	Ácido graso	60-33-3
5	89.202	0.65	97	Ftalato de 1-butilo y 2-isobutilo	Éster de ftalato	17851-53-5
6	108.693	0.56	98	Tetracosano	Alcano	646-31-1
7	8.815	0.54	90	Ciclohexeno	Cicloalqueno	110-83-8
8	104.695	0.49	99	Estigmasterol	Esterol vegetal	83-48-7
9	96.489	0.41	81	1,3-ciclooctadieno	Cicloalqueno	1700-10-3
10	80.783	0.34	99	Ácido tetradecanoico	Ácido graso	544-63-8
11	97.081	0.33	99	Ácido octadecanoico	Ácido graso	57-11-4
12	108.886	0.33	95	1-hexacosanol	Alcohol graso	506-52-5
13	105.796	0.32	97	Heptacosano	Alcano	593-49-7
14	112.419	0.24	99	Octacosano	Alcano	630-02-4
15	105.893	0.2	98	Ciclotetracosano	Cicloalcano	297-03-0
16	110.379	0.2	94	Triacotano	Alcano	638-68-6
17	104.013	0.19	91	Ftalato de mono(2-etilhexilo)	Éster de ftalato	4376-20-9
18	85.373	0.17	83	Ftalato de isobutilo y nonilo	Éster de ftalato	1000309-04-4
19	87.568	0.17	99	Hexadecanoato de metilo	Éster de ácido graso	112-39-0
20	105.461	0.17	76	2-nonacosanona	Cetona	17600-99-6
21	45.62	0.15	90	2,4-decadienal	Aldehído insaturado	2363-88-4
22	103.865	0.14	91	Ftalato de dicitlohexilo	Éster de ftalato	84-61-7
23	68.876	0.13	83	Óxido de cariofileno	Sesquiterpeno	1139-30-6
24	90.059	0.13	99	(E)-3-Eicoseno	Alqueno	74685-33-9
25	103.756	0.13	93	2,4-bis(1-metil-1-feniletil)fenol	Fenol	2772-45-4
26	104.444	0.13	94	1-hexacoseno	Alqueno	18835-33-1
27	106.24	0.11	91	Tetracosanoato de metilo	Éster de ácido graso	2442-49-1
28	110.662	0.11	86	Acetato de hexacosilo	Éster de ácido graso	822-32-2
29	44.423	0.1	91	(E,E)-2,4-decadienal	Aldehído insaturado	25152-84-5

30	106.466	0.1	99	9-hexacoseno	Alqueno	71502-22-2
31	94.197	0.09	99	(Z,Z)-9,12-octadecadienoato de metilo	Éster de ácido graso	112-63-0
32	97.828	0.09	84	Docosano	Alcano	629-97-0
33	101.754	0.09	91	1-tetracosanol	Alcohol graso	506-51-4
34	108.126	0.09	90	5-(4-clorofenilaminometileno)-1-(4-metilfenil)-pirimidin-2,4,6(1H,3H,5H)-triona	Derivado de pirimidina	346612-25-7
35	48.78	0.08	97	Ácido n-decanoico	Ácido graso	334-48-5
36	107.914	0.08	91	E-15-heptadecenal	Ácido graso	1000130-97-9
37	90.277	0.07	91	Eicosano	Alcano	112-95-8
38	101.825	0.07	98	Tetracosano	Alcano	646-31-1
39	38.984	0.06	90	Ácido octanoico	Ácido graso	124-07-2
40	106.066	0.05	87	2-nonadecanona	Cetona	629-66-3
41	28.724	0.04	94	(E,E)-2,4-heptadienal	Aldehído insaturado	4313-03-5
42	32.85	0.04	94	Acetofenona	Cetona aromática	98-86-2
43	57.965	0.04	92	3,4-dehidro-β-ionona	Terpenoide	1203-08-3
44	63.546	0.04	87	Dihidroactinidiolida	Lactona	17092-92-1
45	67.086	0.04	90	Ácido dodecanoico	Ácido graso	143-07-7
46	81.723	0.04	96	(E)-9-octadeceno	Alqueno	7206-25-9
47	83.899	0.04	91	(1R)-(+)-cis-pinano	Monoterpeno	4795-86-2
48	104.914	0.04	90	21-metildocosanoato de metilo	Éster de ácido graso	1000336-25-7
49	4.837	0.03	80	Pentano	Alcano	109-66-0
50	39.228	0.03	95	1-(4-metilfenil)etanona	Cetona aromática	122-00-9
51	44.32	0.03	94	2-undecanona	Cetona	112-12-9
52	48.014	0.03	90	1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno	Hidrocarburo aromático	30364-38-6
53	74.051	0.03	96	β-eudesmol	Sesquiterpeno	473-15-4
54	79.689	0.03	92	α-hexilcinamaldehído	Aldehído aromático	101-86-0
55	82.92	0.03	90	Octadecanal	Aldehído graso	638-66-4
56	85.907	0.03	86	2-metil-Z-4-tetradeceno	Alqueno	866760-27-2
57	94.493	0.03	91	(9Z,12Z,15Z)-9,12,15-octadecatrienoato de metilo	Éster de ácido graso	301-00-8
58	95.523	0.03	94	16-metilheptadecanoato de metilo	Éster de ácido graso	5129-61-3
59	7.792	0.02	94	2-butenal	Aldehído insaturado	4170-30-3
60	9.092	0.02	91	3-penten-2-ona	Cetona insaturada	625-33-2
61	24.63	0.02	86	2-ciclohexen-1-ona	Cicloalquenona	930-68-7
62	78.292	0.02	89	Tetradecanoato de metilo	Éster de ácido graso	124-10-7
63	82.051	0.02	87	Octadecano	Alcano	593-45-3
64	112.143	0.02	87	γ-tocoferol	Tocoferol	7616-22-0
65	112.799	0.02	93	Ciclotriacontano	Cicloalcano	297-35-8
66	7.47	0.01	94	4-metil-2-pentino	Alquino	21020-27-9
67	7.979	0.01	81	2,3-dimetil-1-pentino	Alqueno	3404-72-6

68	14.756	0.01	91	3-metil-2-butenal	Aldehído	107-86-8
69	18.676	0.01	87	1,2,5,5-tetrametil-1,3-ciclopentadieno	Hidrocarburo policíclico	004249-12-1
70	20.44	0.01	91	1,3-dimetilbenceno	Hidrocarburo aromático	108-38-3
71	26.516	0.01	86	Benzaldehído	Aldehído aromático	100-52-7
72	53.222	0.01	83	9-oxononanoato de metilo	Éster de cetona de ácido graso	1931-63-1
73	17.421	0	97	1,3-octadieno	Alqueno	1002-33-1

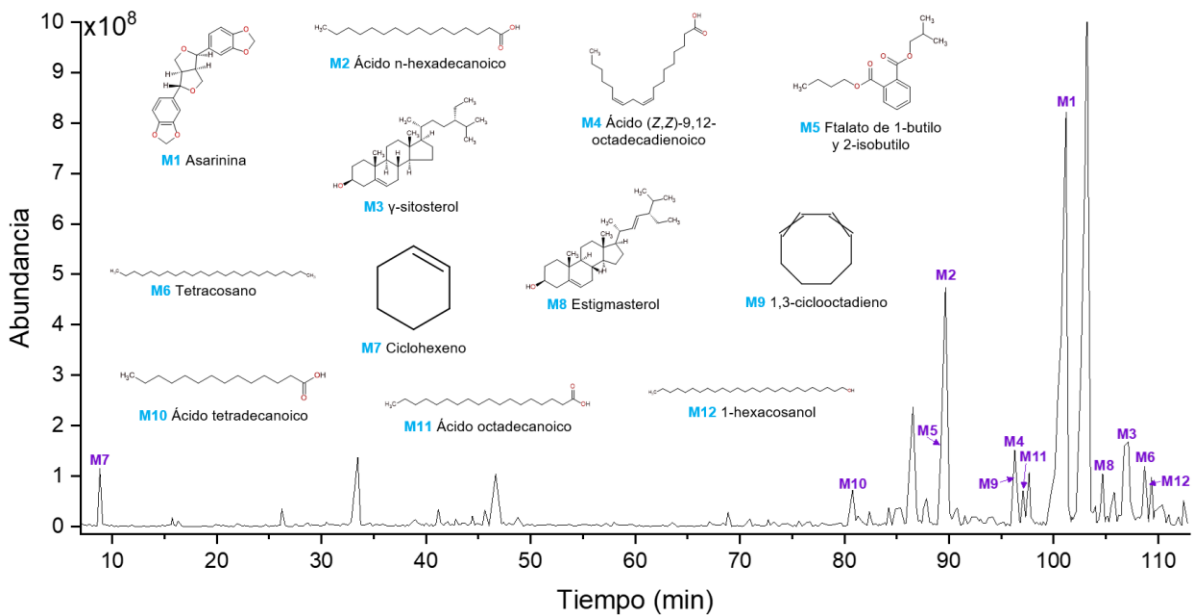


Figura 19. Cromatograma de las flores y sus compuestos mayoritarios.

Los ácidos grasos y sus derivados constituyen el 29.16 % de los compuestos analizados, destacando la importancia de estos lípidos en la formación de membranas celulares y el almacenamiento de energía en la planta. Compuestos como el ácido oleico y el ácido linoleico no solo son esenciales para el funcionamiento biológico de *H. longipes*, sino que también presentan beneficios significativos para la salud humana. La abundancia de estos ácidos grasos sugiere que las flores de *H. longipes* podrían ser una fuente valiosa de lípidos esenciales, relevantes tanto para la nutrición humana como para la formulación de productos alimenticios enriquecidos.

Además, estudios previos han demostrado que el ácido linoleico y el ácido linoleico conjugado (CLA) inhiben la proliferación celular y la producción de citoquinas proinflamatorias en macrófagos (Yamaguchi y col., 2024), lo que subraya su potencial antiinflamatorio. Estas propiedades hacen que los ácidos grasos de *H.*

*longipes* sean candidatos prometedores para el desarrollo de suplementos nutricionales y productos funcionales.

Los hidrocarburos representan el 21.31 % del total de compuestos, e incluyen alcanos, alquenos y cicloalcanos. Su importancia radica no solo en la formación de estructuras celulares, sino también en su capacidad para actuar como compuestos volátiles que atraen polinizadores mediante la emisión de aromas. Esta función es fundamental para la reproducción de la planta, ya que la polinización es un proceso clave en su ciclo de vida.

Adicionalmente, ciertos hidrocarburos presentan propiedades insecticidas, lo que sugiere que *H. longipes* puede utilizar estos compuestos como un mecanismo de defensa natural contra herbívoros. Esto es relevante en un contexto ecológico, donde la supervivencia de la planta depende de su capacidad para disuadir a los depredadores.

Los lignanos y fenoles constituyen un 3.82 % del total de compuestos identificados en las flores de *H. longipes*. La presencia de estos compuestos fenólicos es notable, ya que se les atribuyen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Los antioxidantes son vitales para la defensa de la planta contra el estrés oxidativo y los patógenos, y también sugieren que las flores de *H. longipes* podrían tener aplicaciones en la medicina tradicional o complementaria.

Por ejemplo, la asarinina se une al receptor CGRP con alta afinidad, ha demostrado efectos inhibitorios en la vía de señalización asociada a la migraña (Rushendran y Chitra, 2024), induce apoptosis en células de lesiones precancerosas gástricas al aumentar la producción de especies reactivas de oxígeno e inhibir la vía de señalización de STAT3 (Zhao y col., 2024), modula la respuesta inmune al suprimir la activación de TLR-4 y MyD88 en células dendríticas, lo que sugiere un potencial para prevenir el rechazo de injertos (Zhang y col., 2023) y reduce la inflamación pulmonar inducida por IL-13 al disminuir la producción de ROS y aumentar el potencial de membrana mitocondrial (Li y col., 2023).

Constituyendo el 2.18 % del total, los ésteres, como el ftalato de 1-butilo, son relevantes no solo por su presencia en la planta, sino por su uso industrial como plastificantes y fragancias. Esto sugiere que *H. longipes* podría ser una fuente valiosa de materiales para la fabricación de productos químicos y cosméticos, ampliando su aplicación más allá de los usos alimentarios. La industria cosmética busca constantemente ingredientes naturales que ofrezcan propiedades beneficiosas, y los ésteres de *H. longipes* podrían cumplir con esta demanda.

A pesar de representar solo el 0.04 % del total de compuestos, los terpenoides son fundamentales para las interacciones ecológicas de la planta. Actúan como atrayentes de polinizadores y como compuestos defensivos contra herbívoros, resaltando la importancia de cada componente en el ecosistema.

El estigmasterol, un fitoesterol, ha mostrado eficacia en la neuroinflamación en modelos de Alzheimer al reducir la producción de citoquinas proinflamatorias y modulando vías de señalización como NF- $\kappa$ B y NLRP3 (Jie y col., 2022) y en la reconfiguración de la microbiota intestinal aumentando la abundancia de *Lactobacillus spp.* y disminuyendo la proporción de células T reguladoras, lo que conduce a la apoptosis de células tumorales (Huo y col., 2024), lo que destaca su potencial en la salud mental y en el tratamiento de enfermedades metabólicas. También, el estigmasterol atenúa los síntomas psicóticos inducidos por ketamina al modular los niveles de neurotransmisores como GABA y dopamina, y al reducir el estrés oxidativo (Yadav y col., 2018).

El estigmasterol y el 1-hexacosanol, aislados de *Chromolaena odorata*, demostraron una potente actividad larvicida contra mosquitos, principalmente a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa (Gade y col., 2017). El hexacosanol, al unirse a la subunidad  $\beta$  de la AMPK, regula el metabolismo lipídico, disminuyendo los niveles de colesterol en el hígado y plasma (Lee y col., 2017).

Por otra parte, el ácido octanoico ha demostrado ser eficaz en la reducción de patógenos como *Escherichia coli* (Haynes y col., 2020). El ácido octanoico demostró ser un compuesto clave en la protección de la barrera hemato-testicular, al suprimir el estrés oxidativo y la autofagia, lo que sugiere su potencial como terapia para la infertilidad masculina (Cao y col., 2024) y también, actúa directamente en el cerebro, reduciendo el apetito y aumentando el gasto energético al modular la actividad de las neuronas POMC (Haynes y col., 2020). El ácido mirístico demostró tener propiedades antiinflamatorias al aumentar la producción de IL-10 en macrófagos (Alonso-Castro y col., 2021).

El  $\gamma$ -sitosterol, aislado de *Lippia nodiflora*, demuestra propiedades antidiabéticas al disminuir los niveles de glucosa en sangre y mejorar la función pancreática en modelos animales de diabetes (Balamurugan y col., 2011).

## VI.2 Compuestos identificados por UPLC-EM

El Cuadro 10 enlista los 45 compuestos químicos identificados en las semillas, raíces, hojas y flores de *H. longipes*.

Cuadro 10. Compuestos identificados en extractos metanólicos mediante UPLC-EM

No	Nombre	Clasificación	TR (min)	Conteo del detector	Ión molecular (m/z)	Error de masa (mDa)	Picos identificados
<b>RAÍCES</b>							
1	Ácido linoleico	Ácido graso	19.53	337818	279.2336	0.6	279, 280, 281
2	Florizina	Flavonoide	7.24	201662	435.1300	0.4	167.0347, 273.0769, 435.1294
3	Ácido palmítico	Ácido graso	20.61	96883	255.2331	0.2	99.9255, 183.0120, 255.2331
4	$\beta$ -tocotrienol	Tocoferol	22.48	83300	409.3100	-1.2	149.0971, 383.1905, 409.3111
5	Floretina	Flavonoide	7.25	73254	273.0765	-0.3	123.0447, 167.0347, 273.0769
<b>FLORES</b>							
1	Miricetina-3-O-galactósido	Flavonoide glicosilado	5.49	589016	479.0835	0.4	271.0244, 316.0225, 317.0300, 318.0338
2	Naringenina-7-O-glucósido	Flavonoide glicosilado	6.92	276027	433.1149	0.9	135.0451, 271.0600, 433.1148
3	Cinarina	Ácido hidroxicinámico	6.57	194165	515.1195	0.0	135.0447, 179.0347, 191.0559, 353.0884, 515.1195
4	Paeonósido	Terpenoide	5.94	131647	609.1453	-0.8	255.0292, 300.0276, 609.1450
5	Miricetina	Flavonoide	6.56	100062	317.0304	0.1	135.0447, 179.0347, 191.0559, 317.0306
6	Hiperósido	Flavonoide glicosilado	6.10	99129	463.0872	-1.0	301.0351, 302.0338, 463.0872
7	6-Geranyl naringenina	Flavonoide	19.35	74809	407.1870	0.6	119.0499, 407.1869
8	Ácido palmítico	Ácido graso	20.60	64615	255.2328	-0.1	99.9254, 183.0119, 255.2329, 256.2357
9	Quercetina 3-O-glucurónido	Flavonoide glicosilado	5.49	54714	477.0666	-0.8	271.0244, 339.0123, 477.0666
10	$\beta$ -tocotrienol	Tocoferol	22.48	48432	409.3111	-0.1	149.0971, 325.1846, 339.2001,



							383.1902, 409.3103
11	Ácido linoleico	Ácido graso	19.52	44135	279.2328	-0.2	115.9203, 116.9280, 279.2327
12	Ácido clorogénico	Ácido hidroxicinámico	4.22	32968	353.0878	0.0	191.0559, 351.0721, 353.0878
13	Solabiosa	Oligosacárido	0.59	29203	341.1075	-1.5	112.9855, 191.0559, 341.1074
14	Termiarjunosido II	Terpenoide	6.55	17561	679.3711	1.2	179.0347, 191.0559, 679.3710
15	Ácido p-cumárico	Ácido hidroxicinámico	4.41	17103	163.0398	-0.3	119,0501; 163,0397
16	Apigetrina	Flavonoide glicosilado	6.06	16012	431.0983	-0.1	269.0454, 301.0351, 431.0982
17	Enmein	Diterpenoide	17.68	10804	361.1654	-0.3	293.1789, 361.1654
18	Cnicina	Sesquiterpenoide lactónico	16.05	7644	377.1611	0.5	309.1738, 377.1611
<b>HOJAS</b>							
1	Cinarina	Ácido hidroxicinámico	6.58	1687952	515.1194	-0.1	135.0448, 179.0348, 191.0558, 353.0884, 515.1194
2	Ácido clorogénico	Ácido hidroxicinámico	6.59	261554	353.0887	0.9	135.0449, 161.0240, 173.0452, 179.0347, 191.0557, 335.0767, 353.0880
3	Ácido quínico	Ácido hidroxicinámico	4.22	94916	191.0559	-0.2	191.0559, 161.0239, 133.0292
4	Kaempferol-3-O- Rutinosido	Flavonoide glicosilado	6.43	86505	593.1493	-1.9	284.0321, 285.0400, 593.1493
5	Quercetina 3-O- robinobiosido	Flavonoide glicosilado	5.96	79351	609.1445	-1.6	301.0275, 609.1449
6	6- Geranilnaringenina	Flavonoide	19.38	73325	407.1869	0.5	119.0498, 407.1868, 255.2321
7	β-tocotrienol	Tocoferol	22.49	30887	409.3108	-0.4	149.0970, 325.1586, 339.2001, 383.1902, 409.1902
8	Primulaverina	Terpenoide glicosilado	4.18	24947	475.1451	-0.6	133.0292, 191.0559,

							375.0698, 475.1551
9	Glucósido de Juglona	Quinona glicosilada	6.57	21404	335.0768	-0.5	179.0348, 335.0771, 133.0290, 201.0164
10	Ácido cafeico	Ácido hidroxicinámico	4.28	21201	179.0346	-0.3	135.0448, 179.0345
11	Ácido rosmarínico	Ácido hidroxicinámico	4.28	17194	359.0775	0.2	359.0774, 179.0345, 135.0448
12	Tricina 5-glucósido	Flavonoide glicosilado	3.90	11021	491.1218	2.3	135.0449, 179.0346, 191.0831
<b>SEMILLAS</b>							
1	Cinarina	Ácido hidroxicinámico	6.57	922087	515.1194	-0.1	135.0448, 179.0346, 191.0560, 353.0883, 515.1193
2	Ácido clorogénico	Ácido hidroxicinámico	6.58	130805	353.0878	0.0	135.0448, 161.0240, 179.0346, 191.0560, 335.0773, 353.0882
3	Solabiosa	Oligosacárido	0.63	123996	341.1096	0.7	131.0458, 191.0560, 341.1096
4	Ácido 1-cafeoilquínico	Ácido hidroxicinámico	4.20	123034	353.0882	0.3	353.0881; 191.0561; 179.0342, 135.0446
5	β-tocotrienol	Tocoferol	22.48	73626	409.3102	-1.0	149.0972, 325.1848, 339.2006, 383.1903, 409.3102
6	Ácido linoleico	Ácido graso	17.80	49862	279.2330	0.1	183.0122, 255.2326
7	6-Gingerol	Fenilpropanoide	11.88	31944	293.1759	0.0	221.1540, 293.1758
8	Isoodoritol	Sesquiterpenoide	22.15	29344	473.3629	-0.8	279.2331, 383.1873, 473.3628
9	Glucósido de Juglona	Quinona glicosilada	6.57	13279	335.0763	-1.0	335.0762, 179.0346, 161.0240

En las raíces se identificaron varios compuestos, predominantemente ácidos grasos y flavonoides. El ácido linoleico y el ácido palmítico son los más abundantes entre los ácidos grasos, lo cual es consistente con el hecho de que las raíces suelen ser ricas en compuestos lipofílicos que participan en la estructura celular y

almacenamiento de energía. La presencia de estos ácidos grasos también puede estar relacionada con funciones protectoras, como la prevención de la pérdida de agua.

El flavonoide florizina y la floretina también fueron detectados en las raíces. La florizina es un glucósido de la floretina, y su función en las raíces puede estar relacionada con la defensa contra patógenos o herbívoros. La detección de  $\beta$ -tocotrienol, un miembro de la familia de la vitamina E, sugiere un posible rol antioxidante en las raíces, ayudando a contrarrestar el estrés oxidativo.

Las flores revelaron una rica variedad de compuestos, especialmente flavonoides glicosilados como la miricetina-3-O-galactósido, la naringenina-7-O-glucósido y el hiperósido. Estos compuestos, a menudo asociados con la pigmentación y protección contra la radiación UV, también desempeñan funciones en la atracción de polinizadores y la defensa contra insectos. Los flavonoides también actúan como potentes antioxidantes.

Entre los ácidos hidroxicinámicos, se destaca la cinarina, un compuesto conocido por su actividad antioxidante y antiinflamatoria. La 6-geranilnaringenina, un flavonoide con una cadena geranilada, sugiere una posible actividad en la defensa contra herbívoros, mientras que el ácido clorogénico también es común en las flores y es conocido por su acción antioxidante.

También se observaron terpenoides como el paeonósido y el termiarjunosido II, que pueden desempeñar un papel protector y defensivo, además de ser potencialmente activos en las interacciones ecológicas de las flores. Finalmente, la presencia del sesquiterpenoide cnicina, que es un lactónico, sugiere actividad biológica específica, posiblemente relacionada con la defensa de la planta contra herbívoros.

En las hojas, el compuesto más abundante fue nuevamente la cinarina, seguida por otros ácidos hidroxicinámicos como el ácido clorogénico y el ácido quínico. Estos compuestos desempeñan un papel importante en la protección de la planta contra estrés oxidativo y daños por radiación UV.

Entre los flavonoides, se destaca el kaempferol-3-O-rutinosido, conocido por sus propiedades antioxidantes, y la quercetina 3-O-robinobiósido, ambos compuestos que refuerzan la defensa química de la planta. La presencia de 6-geranilnaringenina en las hojas refuerza su papel en la defensa contra insectos herbívoros.

Los terpenoides también están presentes en las hojas, con compuestos como la primulaverina, un glucósido de terpenoide que puede estar implicado en la defensa

de la planta, y el glucósido de juglona, una quinona glicosilada que puede tener actividad alelopática.

Las semillas presentan una alta concentración de cinarina, lo que sugiere que este compuesto puede tener un papel en la protección del material genético de la planta. Además, los ácidos grasos como el ácido linoleico son esenciales para el almacenamiento de energía en las semillas.

Entre los fenilpropanoides, destaca el 6-gingerol, que es conocido por sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, lo cual podría ser importante en la protección de las semillas contra el daño oxidativo. También se detectó el sesquiterpenoide isoodorato, un compuesto con posibles funciones en la defensa química.

VI.3 Cuantificación de compuestos fenólicos totales, flavonoides y capacidad antioxidante.

VI.3.1 Compuestos fenólicos totales (CFT)

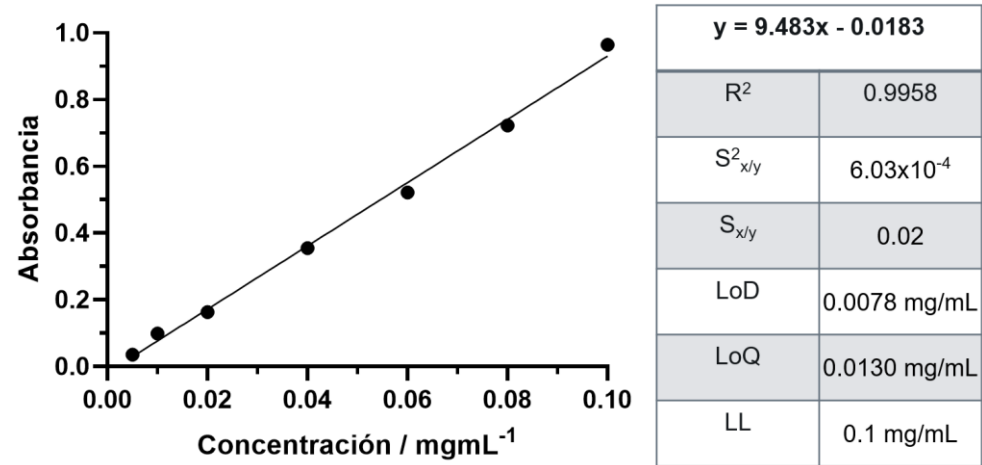


Figura 20. Curva de calibración del ácido gálico.

Cuadro 11. Reporte de compuestos fenólicos totales.

REPORTE CFT		
HOJAS	105.71 ± 8.30	mg EAG/g
FLORES	76.32 ± 2.58	mg EAG/g
RAÍCES	37.84 ± 6.80	mg EAG/g
SEMILLAS	86.87 ± 3.64	mg EAG/g

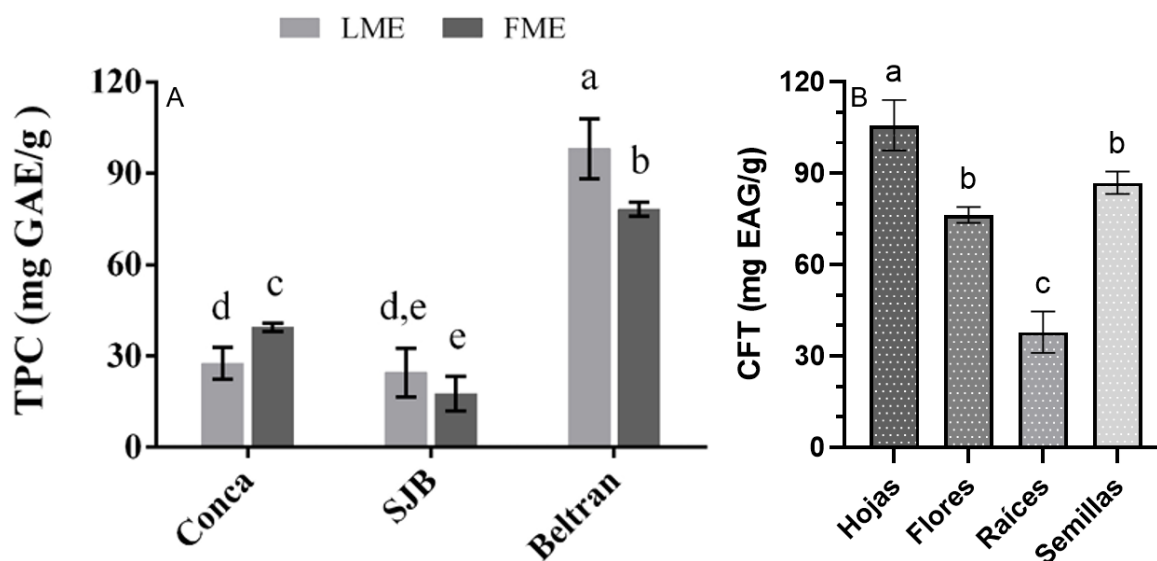


Figura 21. Cuantificación de compuestos fenólicos totales. A) Flores y hojas (Parola-Contreras y col., 2021) B) Hojas, Flores, Raíces y Semillas de Beltrán.

Las flores y hojas de la localidad Beltrán (Figura 21A) muestran el contenido más alto de compuestos fenólicos totales en ambos extractos, siendo significativamente mayor en LME (hojas) en comparación con FME (flores), con un valor cercano a los 110 mg EAG/g para LME y 90 mg EAG/g para FME. Esto indica que las hojas de esta localidad tienen una probable mayor capacidad antioxidante. En contraste, las localidades de Conca y SJB presentan concentraciones fenólicas menores. En el caso de Conca, FME supera ligeramente a LME, lo que sugiere una mayor concentración de compuestos fenólicos en las flores. En SJB, los valores de compuestos fenólicos son los más bajos entre las localidades, y tanto en hojas como en flores se observan valores similares, con FME apenas superando a LME.

En este estudio (Figura 21B), las hojas muestran el valor más alto de CFT con  $105.71 \pm 8.30$  mg EAG/g, lo que las coloca como el órgano con mayor concentración de compuestos fenólicos. Esto es coherente con su exposición constante a factores de estrés ambiental como la radiación UV, lo que puede inducir una mayor síntesis de compuestos antioxidantes. Las flores tienen un contenido fenólico significativo, con  $76.32 \pm 2.58$  mg EAG/g, lo que también refleja su papel en la defensa antioxidante, aunque en menor proporción en comparación con las hojas. Por otra parte, las raíces, que tienen una función principalmente estructural y de almacenamiento, muestran el contenido fenólico más bajo, con  $37.84 \pm 6.80$  mg EAG/g. Esto indica una menor acumulación de compuestos fenólicos en comparación con los órganos aéreos, probablemente debido a la falta de exposición directa a factores ambientales como la luz solar. Las semillas exhiben un contenido

fenólico intermedio, con  $86.87 \pm 3.64$  mg EAG/g, lo que sugiere una cantidad moderada de compuestos fenólicos. Dado su rol en la protección del material genético durante la germinación, este contenido es relevante para preservar la viabilidad de las semillas frente a condiciones adversas.

### VI.3.2 Cuantificación de flavonoides totales (FT)

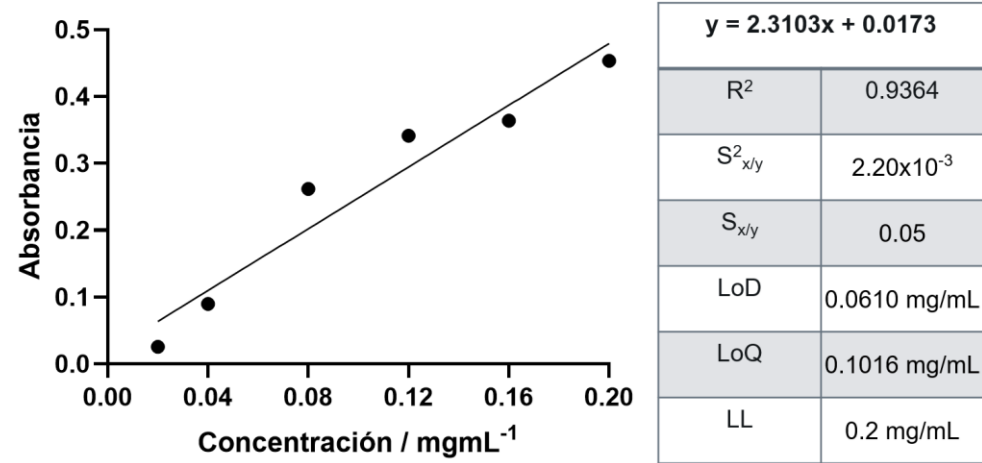


Figura 22. Curva de calibración de catequina.

Cuadro 12. Reporte de flavonoides totales.

REPORTE FT		
HOJAS	$86.16 \pm 6.71$	mg EC/g
FLORES	$42.56 \pm 3.61$	mg EC/g
RAÍCES	$10.46 \pm 2.38$	mg EC/g
SEMILLAS	$63.75 \pm 2.32$	mg EC/g

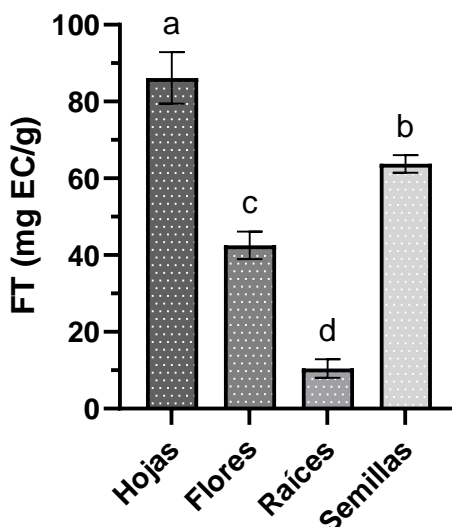


Figura 23. Cuantificación de flavonoides totales.

La alta concentración de flavonoides en las hojas de *H. longipes* puede atribuirse a su función como primera línea de defensa contra diversos factores de estrés ambientales, especialmente la radiación ultravioleta (UV). Los flavonoides actúan como eficientes filtros solares, absorbiendo la radiación UV y previniendo el daño oxidativo en los tejidos fotosintéticos. Además, estos compuestos poseen propiedades antioxidantes que neutralizan los radicales libres generados durante el estrés oxidativo, contribuyendo a la protección celular (Agati y col., 2020).

La menor concentración de flavonoides en las flores, aunque significativa, podría estar relacionada con las funciones reproductivas de este órgano. Si bien los flavonoides pueden conferir cierta protección contra herbívoros y patógenos, es posible que otros compuestos, como los pigmentos antocianicos, sean más importantes para estas funciones en las flores de *H. longipes*.

La baja concentración de flavonoides en las raíces es consistente con su función subterránea, donde están protegidas de la radiación UV y otros factores de estrés ambientales directos. Sin embargo, es importante destacar que las raíces pueden contener otros compuestos fenólicos con funciones específicas, como la interacción con microorganismos del suelo (Kumar y col., 2024).

El contenido relativamente alto de flavonoides en las semillas sugiere un papel protector durante la embriogénesis y la germinación. Los flavonoides pueden proteger los embriones en desarrollo de patógenos y depredadores, además de conferir propiedades alelopáticas que inhiben la germinación de otras especies y

facilitan la colonización del nicho ecológico por parte de la plántula (Khalid y col., 2019)

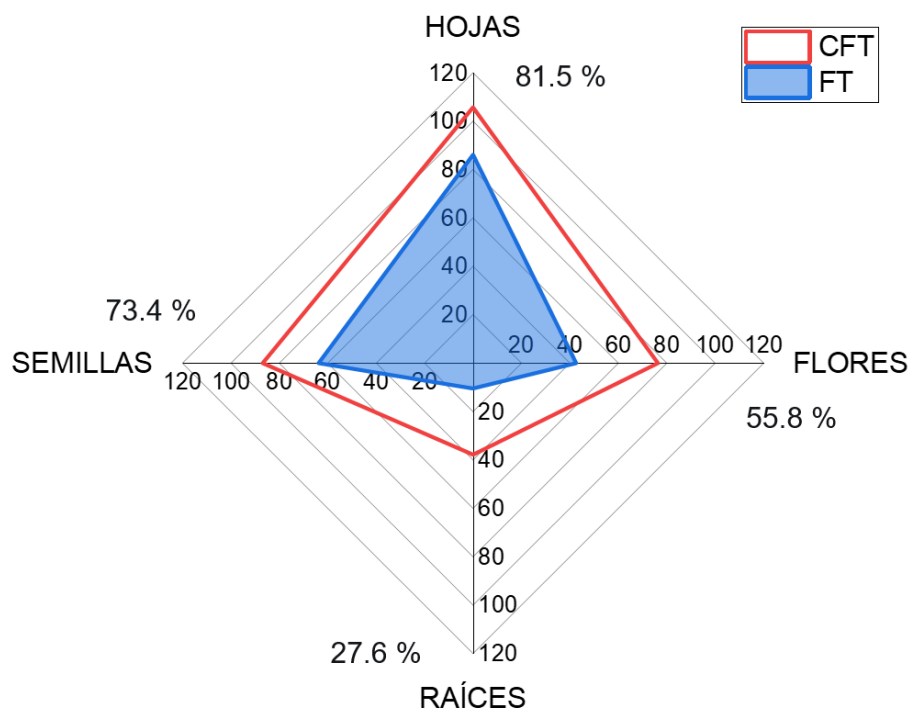


Figura 24. Comparación de flavonoides totales contra compuestos fenólicos totales.

Las hojas presentan el contenido más alto de flavonoides totales, con un valor de  $86.16 \pm 6.71$  mg EC/g. Este alto contenido de flavonoides se debe a su papel crucial en la fotosíntesis y a su exposición directa a la luz ultravioleta (UV). La radiación UV genera estrés oxidativo en las células vegetales, y los flavonoides actúan como compuestos protectores que neutralizan los efectos dañinos de este estrés, lo que explica su abundancia en las hojas.

Las semillas, con un contenido de  $63.75 \pm 2.32$  mg EC/g, ocupan el segundo lugar en cuanto a flavonoides totales. Esto sugiere que los flavonoides desempeñan un papel importante en la protección del embrión y del material genético almacenado, ya que estos compuestos ayudan a proteger las semillas frente a condiciones ambientales adversas durante la germinación, como el ataque de patógenos y el estrés oxidativo.

Por otro lado, las flores contienen  $42.56 \pm 3.61$  mg EC/g, colocándose en tercer lugar en términos de contenido de flavonoides. Además de su función protectora, los flavonoides en las flores están relacionados con la atracción de polinizadores mediante la pigmentación, lo cual es fundamental para la reproducción de la planta.



Finalmente, las raíces presentan el contenido más bajo de flavonoides totales, con  $10.46 \pm 2.38$  mg EC/g. Este bajo nivel es consistente con su función y ubicación subterránea, ya que no están expuestas a la luz solar ni enfrentan el mismo nivel de estrés oxidativo que los órganos aéreos. Por lo tanto, las raíces no requieren grandes cantidades de estos compuestos antioxidantes. A pesar de que las flores y las semillas no presentan una significancia estadística para los compuestos fenólicos totales, ésta sí se presenta en la cantidad de flavonoides teniendo una relación más estrecha entre las concentraciones las semillas en lugar de las hojas.

### VI.3.3 Capacidad antioxidante (CA)

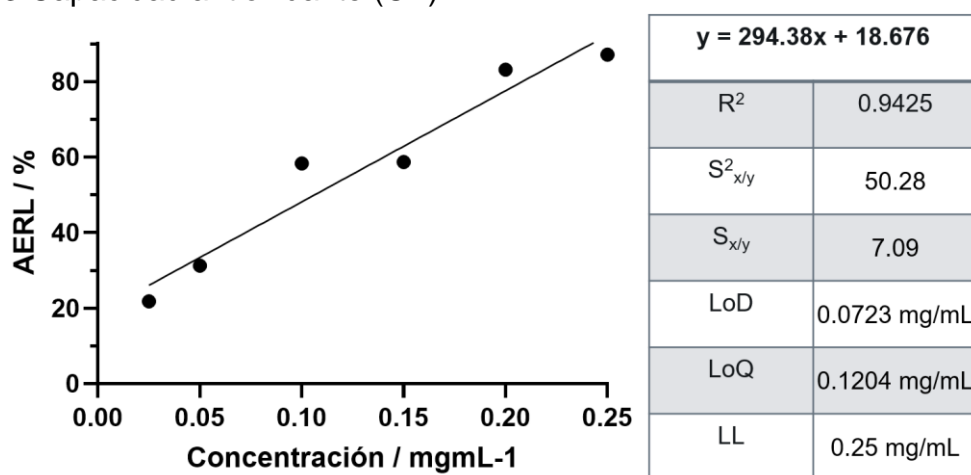


Figura 25. Curva de calibración de TROLOX para DPPH.

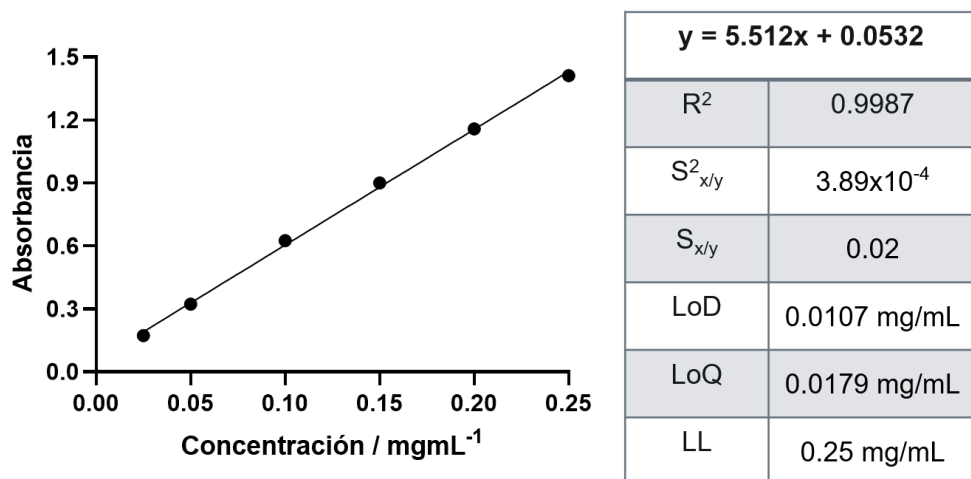


Figura 26. Curva de calibración de TROLOX para FRAP.

Cuadro 13. Reporte de capacidad antioxidante.

PARTE	DPPH ( $\mu\text{mol ET/g}$ )	FRAP ( $\mu\text{mol ET/g}$ )
HOJAS	$907.27 \pm 5.16$	$1681.18 \pm 132.10$
FLORES	$717.15 \pm 1.43$	$808.30 \pm 34.00$
RAÍCES	$79.87 \pm 5.57$	$224.68 \pm 1.38$
SEMILLAS	$813.46 \pm 9.50$	$1059.14 \pm 81.85$

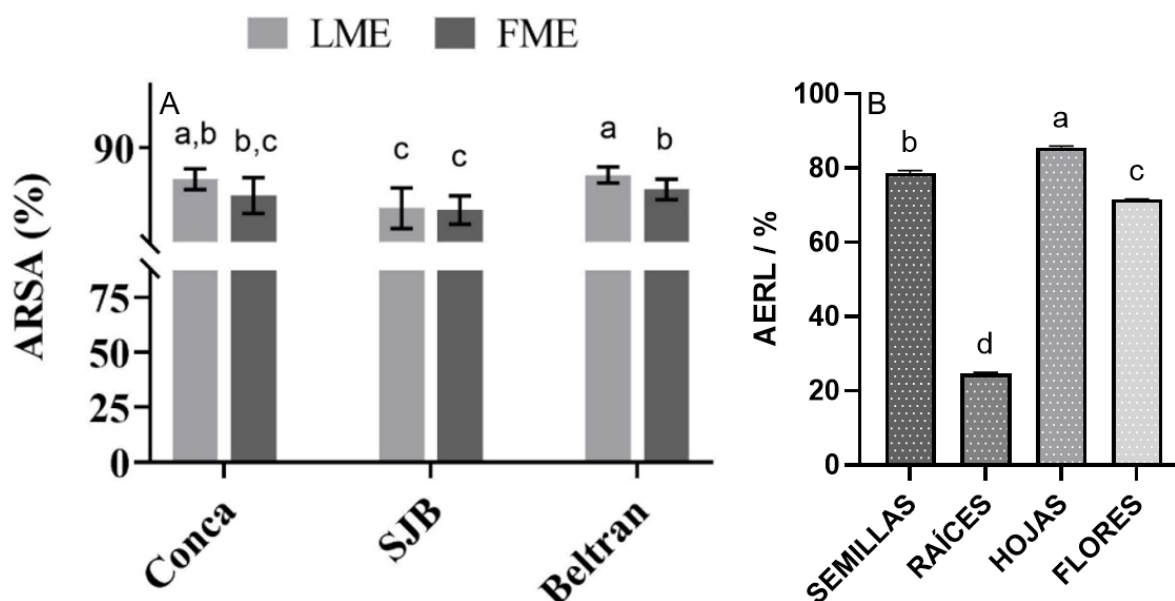


Figura 27. Actividad de eliminación de radicales libre de los extractos. A) Flores y hojas (Parola-Contreras y col., 2021) B) Semillas, raíces, hojas y flores de Beltrán.

El Cuadro 13 presenta los resultados de la actividad antioxidante de diversas partes de *H. longipes* evaluadas mediante dos métodos complementarios: DPPH y FRAP, ambos orientados a medir la capacidad de los extractos para neutralizar radicales libres.

El método de DPPH se utiliza para medir la capacidad de los antioxidantes presentes en los extractos para donar electrones o hidrógenos y así neutralizar los radicales libres. Los resultados se expresan en  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de trolox por gramo ( $\mu\text{mol ET/g}$ ).

Las hojas ( $907.27 \pm 5.16 \mu\text{mol ET/g}$ ) demostraron la mayor capacidad antioxidante en el ensayo de DPPH, lo que coincide con su elevado contenido de flavonoides, como se había discutido previamente. Esta correlación sugiere que los flavonoides desempeñan un papel clave en la neutralización de radicales en las hojas. Las flores

( $717.15 \pm 1.43 \mu\text{mol ET/g}$ ) mostraron una actividad antioxidante ligeramente menor en comparación con las hojas, lo cual es coherente con su menor contenido de flavonoides. No obstante, mantienen una actividad antioxidante significativa. Por otra parte, las raíces ( $79.87 \pm 5.57 \mu\text{mol ET/g}$ ) presentaron la actividad antioxidante más baja en este ensayo, lo que podría estar relacionado con su bajo contenido de flavonoides y otros compuestos fenólicos, mientras que las semillas ( $813.46 \pm 9.50 \mu\text{mol ET/g}$ ) exhibieron una actividad antioxidante relativamente alta, a pesar de no presentar los niveles más altos de flavonoides, lo que sugiere la posible presencia de otros compuestos antioxidantes, como taninos o lignanos (Tong y col., 2022).

El método FRAP mide la capacidad de los extractos para reducir iones férricos ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a ferrosos ( $\text{Fe}^{2+}$ ), lo que también es un indicador de la capacidad antioxidante total.

Las hojas ( $1681.18 \pm 132.10 \mu\text{mol ET/g}$ ) nuevamente demostraron la mayor capacidad antioxidante, duplicando en actividad a las flores ( $808.30 \pm 34.00 \mu\text{mol ET/g}$ ). Este hallazgo refuerza la idea de que los compuestos fenólicos, como los flavonoides, son los principales responsables de la actividad antioxidante en las hojas. Las raíces ( $224.68 \pm 1.38 \mu\text{mol ET/g}$ ) repetidamente mostraron la menor capacidad antioxidante y las semillas ( $1059.14 \pm 81.85 \mu\text{mol ET/g}$ ) mostraron una alta capacidad reductora, comportamiento que coincide con lo observado en el ensayo de DPPH.

La parte inferior de la imagen analiza la actividad de eliminación de radicales libres en dos gráficos distintos: el primero enfocado en la actividad de eliminación de radicales superóxido (ARSA), y el segundo en la actividad de eliminación de radicales libres (AERL).

La Figura 27A muestra que, en la localidad de Conca, tanto las hojas como las flores de *H. longipes* muestran una actividad antioxidante similar, lo que indica que ambas partes de la planta contienen compuestos antioxidantes en proporciones comparables. Sin embargo, en SJB y Beltrán, las hojas presentan una mayor actividad antioxidante que las flores. Esta diferencia podría estar relacionada con una mayor acumulación de flavonoides en las hojas. El patrón de variación observado sugiere que las condiciones ambientales y los factores ecológicos en cada región afectan la síntesis de compuestos antioxidantes, particularmente de flavonoides (Liu y col., 2016).

La Figura 27B presenta la actividad de eliminación de radicales libres en semillas, raíces, hojas y flores de la localidad de Beltrán. Las semillas (80 % AERL) mostraron una elevada capacidad de eliminación de radicales libres, coherente con los resultados obtenidos en los ensayos de DPPH y FRAP. Las hojas (85 % AERL), nuevamente, sobresalen por su alta capacidad antioxidante, lo que refuerza su

elevado contenido de flavonoides y la alta actividad registrada en los ensayos anteriores, también Buitimea-Cantúa y Molina-Torres en 2021 realizaron estudios genómicos en hojas que revelaron la presencia de enzimas que se relacionan con la biosíntesis de carotenoides por lo que su presencia debe ser confirmada, sin embargo, de estar presentes, contribuirían a la capacidad antioxidante (Dewanjee y col., 2021). Aunque las flores (75 % AERL) presentan una actividad antioxidante considerable, esta es menor en comparación con las hojas y las semillas. Esto podría deberse a una menor concentración de flavonoides en las flores. Las raíces (30 % AERL) mostraron la menor actividad antioxidante en todos los ensayos.

#### VI.4 Cuantificación de afinina en los extractos orgánicos

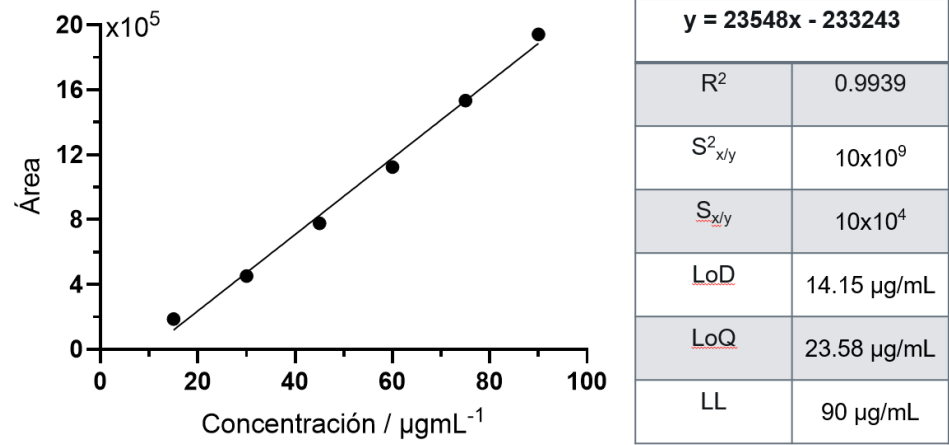


Figura 28. Curva de calibración de la afinina.

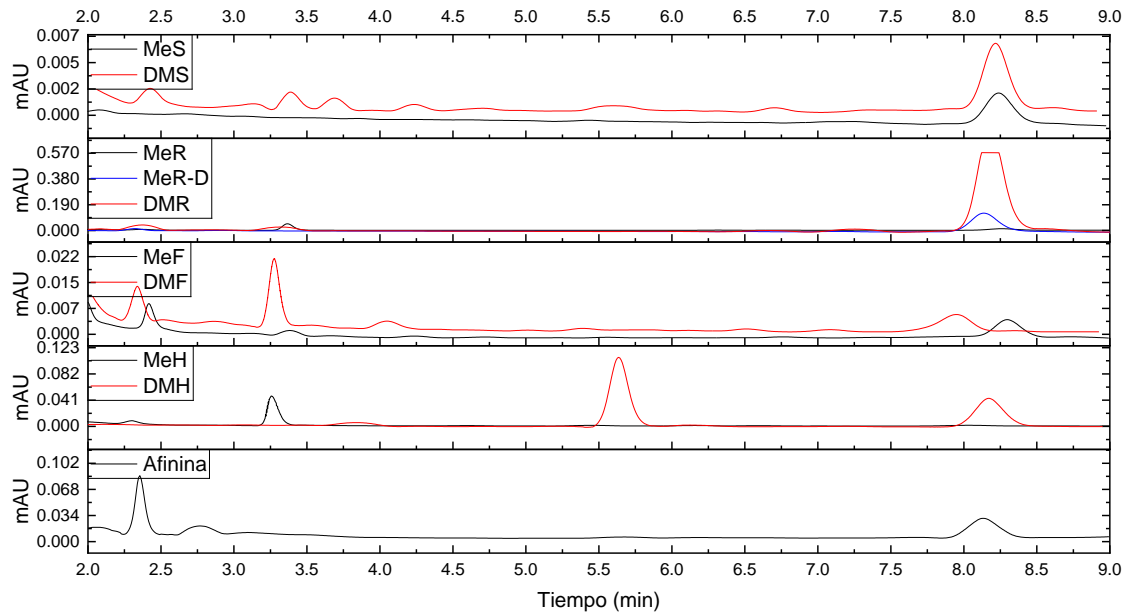


Figura 29. Cromatogramas empleados para la cuantificación de afinina.

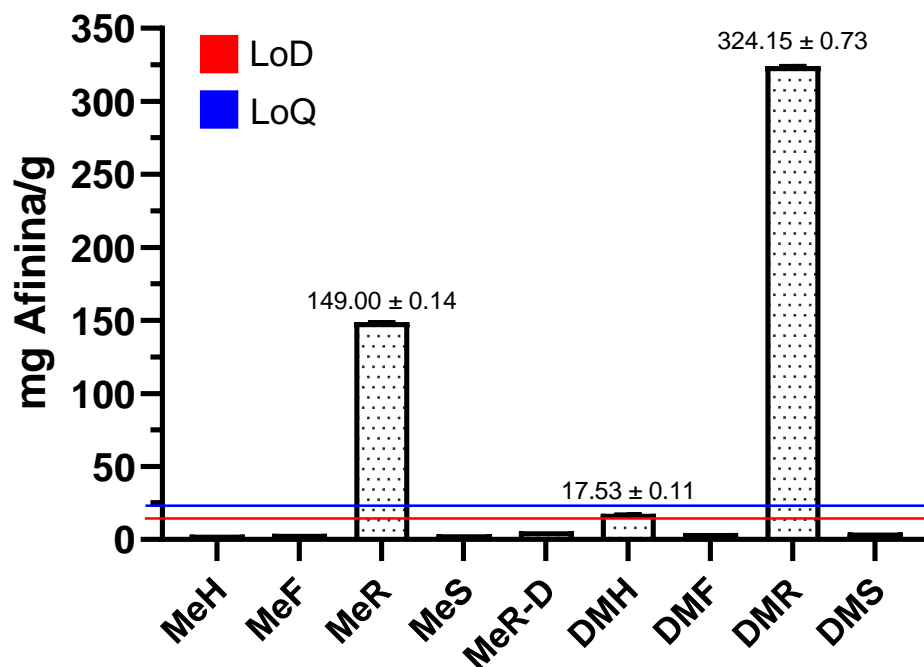


Figura 30. Cuantificación de afinina en los extractos orgánicos de *H. longipes*.

La afinina, dada su naturaleza anfipática, se extrajo con solventes no polares. Los extractos de diclorometano de raíces (DMR) presentaron la mayor concentración de afinina. Si bien las raíces extraídas con metanol (MeR) también contenían afinina, su concentración fue significativamente menor que los extractos de DMR (aproximadamente el 50 %).

Ni las flores ni las semillas mostraron niveles detectables de afinina. Por otra parte, los extractos de diclorometano de las hojas (DMH) presentaron concentraciones muy bajas de este compuesto con respecto a las raíces. Es relevante destacar la presencia de un pico desconocido en los cromatogramas de hojas de mayor intensidad que el de la afinina con un tiempo de retención de 5.6 minutos, que hasta el momento es de identidad química desconocida y se especula es una alcanida de mayor polaridad o naturaleza similar a esta alcanida.

*Acmella oleracea* ha demostrado un potencial significativo como bioinsecticida debido a la presencia de la afinina en su aceite esencial y extracto de planta (Spinozzi y col., 2022). La mayor cantidad se encuentra en flores, sin embargo, en especímenes del género *Heliopsis* se ha encontrado únicamente en raíces de manera muy abundante.

## VI.5 Efecto vasodilatador de los extractos orgánicos

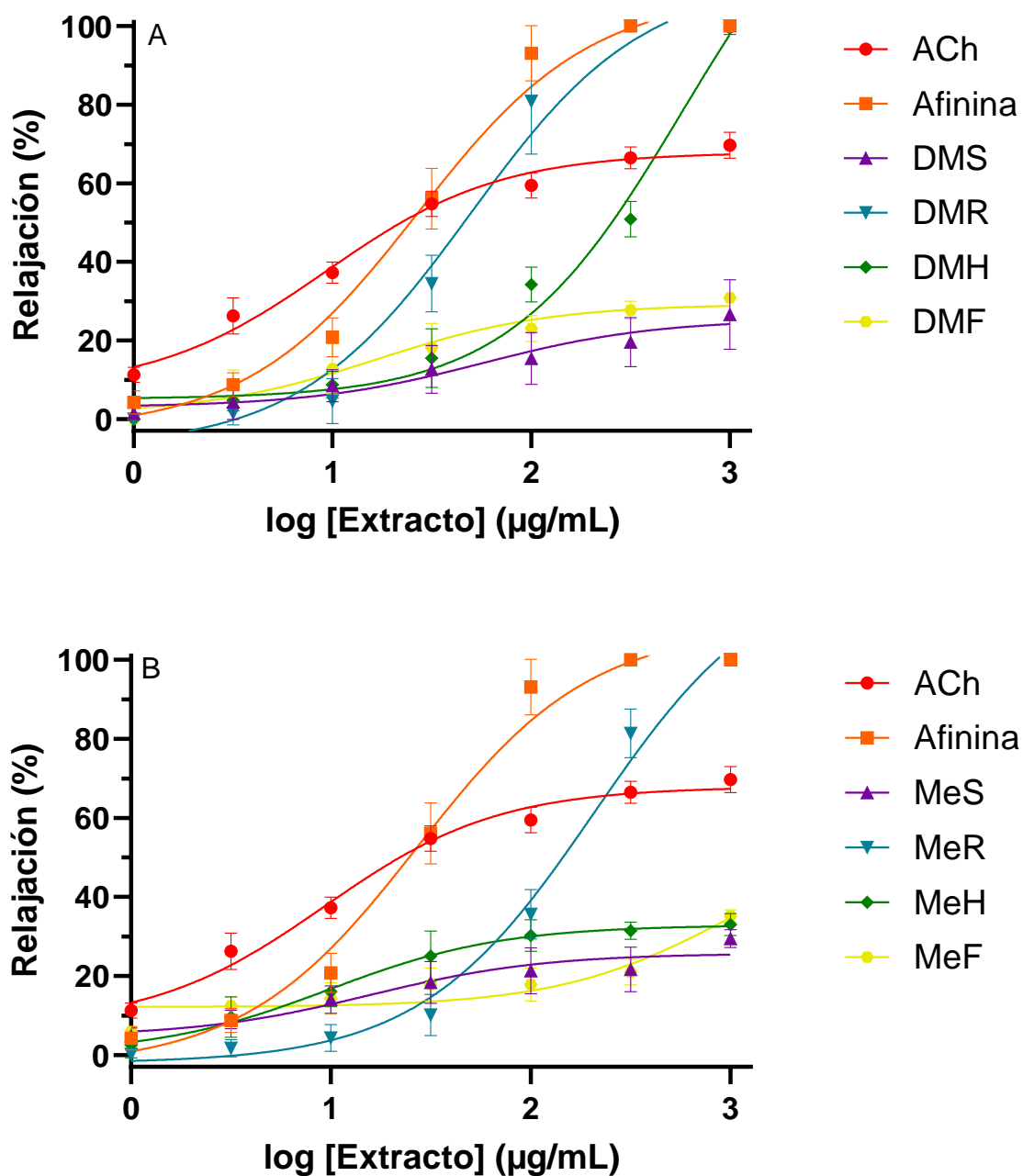


Figura 31. Curvas dosis-respuesta del ensayo de vasodilatación. A) Extractos de diclorometano. B) Extractos metanólicos.

Cuadro 14. Parámetros estadísticos y farmacológicos de las curvas dosis-respuesta.

Parámetro	ACh	Afinina	DMR	DMS	DMH	DMF
DE	7.386	-3.032	-7.391	3.035	5.098	1.167
E <sub>máx</sub>	67.88	108.2	112.1	25.37	150.8	29.25
LogCE <sub>50</sub>	0.9687	1.432	1.696	1.753	2.756	1.223
CE <sub>50</sub> (μM)	9.305	27.05	49.61	56.61	570.6	16.72
Amplitud	60.5	111.3	119.5	22.33	145.7	28.08

Parámetro	ACh	Afinina	MeR	MeS	MeH	MeF
DE	7.386	-3.032	-2.084	4.672	0.2236	12.14
E <sub>máx</sub>	67.88	108.2	124.9	25.72	32.89	57.47
LogCE <sub>50</sub>	0.9687	1.432	2.319	1.196	0.9896	3.002
CE <sub>50</sub> (μM)	9.305	27.05	208.4	15.71	9.764	1005
Amplitud	60.5	111.3	127	21.04	32.66	45.33

El análisis se centró en dos parámetros clave (ver Cuadro 14): concentración efectiva 50 (CE<sub>50</sub>) y efecto máximo (E<sub>máx</sub>). La acetilcolina (control positivo) es el vasodilatador más potente y efectivo, al mostrar una CE<sub>50</sub> bajo, un E<sub>máx</sub> alto y un rango estrecho de respuestas.

La acetilcolina (ACh) se utiliza aquí como el control positivo debido a su bien establecida acción como vasodilatador. La ACh muestra una CE<sub>50</sub> de 9.305 μM y un E<sub>máx</sub> de 67.88 %, lo que significa que se requiere una baja concentración para alcanzar la mitad de su efecto máximo, reflejando una alta potencia. El valor de CE<sub>50</sub> indica que la acetilcolina es un compuesto altamente eficiente, logrando respuestas significativas con concentraciones mínimas. El extracto DMH se distingue por su alto E<sub>máx</sub> de 150.8 %, lo que indica que es capaz de generar un efecto vasodilatador máximo muy elevado en comparación con otros compuestos. Sin embargo, su CE<sub>50</sub> de 570.6 μM es significativamente mayor, lo que implica que se requieren concentraciones mucho más altas de DMH para alcanzar la mitad de su efecto máximo. Este alto valor de CE<sub>50</sub> sugiere una baja potencia, aunque su alta eficacia (E<sub>máx</sub>) lo coloca como un candidato relevante cuando se busca un fuerte efecto vasodilatador, pero a expensas de necesitar dosis más altas. Esto lo hace menos eficiente en comparación con otros compuestos más potentes, como la ACh, ya que, aunque tiene la capacidad de inducir un fuerte efecto, se necesita mucho más del compuesto para lograrlo.

Los extractos DMF y DMS muestran propiedades intermedias tanto en términos de potencia como de eficacia. DMF tiene un  $CE_{50}$  de 16.72  $\mu M$  y un  $E_{m\acute{a}x}$  de 29.25 %, lo que indica que se requiere una concentración moderada para alcanzar su efecto a la mitad de su capacidad máxima, pero el  $E_{m\acute{a}x}$  relativamente bajo sugiere que su capacidad total de vasodilatación es limitada en comparación con otros extractos. DMS, por su parte, tiene un  $CE_{50}$  de 56.61  $\mu M$  y un  $E_{m\acute{a}x}$  de 25.37 %, lo que lo coloca como un extracto que necesita una mayor concentración que DMF para alcanzar su efecto medio, pero con una eficacia ligeramente menor. Ambos extractos ofrecen una eficacia moderada y requieren concentraciones relativamente bajas en comparación con DMH, aunque no alcanzan su potencial máximo de efecto.

La afinina se destaca entre los compuestos estudiados por su  $CE_{50}$  de 27.05  $\mu M$  y su  $E_{m\acute{a}x}$  de 108.2 %. Aunque su  $CE_{50}$  es más alto que el de la acetilcolina, la afinina muestra una potencia moderada y una alta eficacia, situándola como uno de los compuestos más efectivos tras la ACh. Su alta eficacia sugiere que tiene un importante papel en la vasodilatación, aunque su  $CE_{50}$  más alto indica que se necesita una mayor concentración de afinina para desencadenar el efecto en comparación con la acetilcolina. Este equilibrio entre potencia y eficacia hace que la afinina sea un compuesto prometedor en el desarrollo de agentes vasodilatadores, siendo capaz de generar un efecto robusto sin requerir dosis extremadamente altas, como es el caso de DMH.

El extracto MeR se muestra como el más prometedor de los extractos metanólicos con un  $E_{m\acute{a}x}$  de 124.9 % y una  $CE_{50}$  de 208.4  $\mu M$ , lo que sugiere que aunque se necesita una concentración relativamente alta para alcanzar su efecto medio, este extracto es muy eficaz en su acción máxima. Esta alta eficacia la logra debido a que también la afinina se encuentra presente en este extracto, aunque en menor proporción que en el extracto de DMR.

El extracto MeS, por su parte, muestra un  $CE_{50}$  bajo de 15.71  $\mu M$  y un  $E_{m\acute{a}x}$  de 25.72 %, lo que indica que tiene una potencia alta pero una eficacia relativamente baja en comparación con MeR y otros compuestos como DMH. Aunque es capaz de actuar rápidamente a bajas concentraciones, el efecto máximo que puede lograr es limitado, lo que lo posiciona como un compuesto de interés en situaciones donde se necesiten efectos vasodilatadores moderados con dosis bajas.

El extracto MeH se encuentra entre los menos efectivos, con un  $E_{m\acute{a}x}$  de 32.89% y un  $CE_{50}$  de 9.764  $\mu M$ , lo que refleja una potencia relativamente alta, pero una eficacia moderada, lo que podría limitar su utilidad en aplicaciones donde se requiera una vasodilatación más potente. Finalmente, el extracto MeF tiene un  $E_{m\acute{a}x}$  de 57.47 % y



un  $CE_{50}$  de 1005  $\mu$ M, lo que lo posiciona como el extracto menos potente y eficaz entre los analizados.

## VI.6 Discusión global

### CG-EM

Al comparar los perfiles químicos de las flores, hojas y raíces de *H. longipes*, queda claro que cada parte de la planta está altamente especializada en sus funciones, reflejando una adaptación evolutiva a las diversas presiones ambientales a las que se enfrenta. Esta especialización funcional se traduce en variaciones significativas en la proporción de compuestos químicos presentes en cada órgano, lo que permite a la planta optimizar su supervivencia y eficacia dentro de su entorno.

Las flores de *H. longipes* están particularmente orientadas hacia la atracción de polinizadores y el almacenamiento de energía. Con un alto contenido de ácidos grasos (29.16%) y una notable cantidad de hidrocarburos (21.31%), estas estructuras juegan un papel crucial en los procesos reproductivos y en la comunicación con el ecosistema circundante. Los ácidos grasos, además de ser fuentes de energía, participan en la síntesis de compuestos volátiles que atraen a los polinizadores. Asimismo, los hidrocarburos, comunes en las cutículas vegetales, contribuyen a la protección física de las flores contra desecación y herbívoros, lo que también favorece su función reproductiva.

Por otro lado, las hojas, aunque también ricas en lípidos (35.43%), presentan un perfil químico que sugiere un enfoque más defensivo. El notable contenido de compuestos fenólicos (14.57%) indica que las hojas de *H. longipes* no solo son importantes en la fotosíntesis y la producción de energía, sino que también juegan un papel fundamental en la protección de la planta contra herbívoros y patógenos. Los fenoles, conocidos por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, protegen a las hojas de la oxidación inducida por la radiación solar y las infecciones. Esta capacidad antioxidante también puede ayudar a mitigar el daño celular en respuesta a condiciones ambientales adversas, como la exposición a la luz ultravioleta o fluctuaciones térmicas.

En contraste, las raíces de *H. longipes* se destacan por su alto contenido de carbohidratos (30.94%), lo que revela su función primordial en el almacenamiento de energía y la estabilidad de la planta. Al estar más protegidas en el suelo, las raíces no requieren los mismos mecanismos de defensa que las hojas y flores, permitiendo que se especialicen en la absorción de nutrientes y el almacenamiento de compuestos esenciales. Los carbohidratos almacenados en las raíces aseguran que la planta pueda mantener sus funciones metabólicas durante períodos de estrés,

como la sequía o la falta de nutrientes, y también proporcionan la energía necesaria para el crecimiento y la reproducción en momentos oportunos.

Las flores y hojas, al estar más expuestas a factores externos como la radiación solar, herbívoros y patógenos, han desarrollado una serie de mecanismos defensivos y de interacción con su entorno. Por el contrario, las raíces, más resguardadas en el suelo, han evolucionado principalmente para maximizar la eficiencia en la absorción de nutrientes y el almacenamiento de energía.

Este patrón de especialización refleja la importancia de la integración funcional de las distintas partes de *H. longipes* dentro de su ecosistema. Las flores juegan un papel esencial en la reproducción y la atracción de polinizadores, las hojas actúan como un escudo protector y una fuente de energía para la planta, mientras que las raíces aseguran el suministro de nutrientes y energía a largo plazo. Esta división de funciones maximiza la eficiencia y permite a *H. longipes* prosperar en su entorno natural, enfrentando tanto las presiones bióticas como abióticas de manera eficaz.

#### UPLC-EM

El análisis de UPLC-EM ha revelado una rica diversidad de metabolitos especializados en las diferentes partes de la planta. Las raíces tienden a concentrar ácidos grasos y compuestos antioxidantes, mientras que las flores muestran una gran variedad de flavonoides glicosilados, terpenoides y ácidos hidroxicinámicos, lo que sugiere una fuerte actividad en la defensa contra herbívoros y la atracción de polinizadores. Las hojas están ricas en compuestos antioxidantes y flavonoides, lo que refuerza su función protectora en las partes aéreas de la planta, y las semillas destacan por su contenido en compuestos protectores y almacenadores de energía.

Este patrón de distribución de metabolitos subraya la capacidad de la planta para adaptar su producción de metabolitos especializados a las diferentes funciones y necesidades ecológicas de cada órgano, desde la protección y el almacenamiento hasta la reproducción y la defensa contra agresores externos.

#### Compuestos fenólicos

El comportamiento diferencial entre las partes de la planta sugiere que la acumulación de compuestos antioxidantes está influenciada por la función biológica de cada órgano. Las hojas, como sitios de fotosíntesis, están expuestas a altos niveles de estrés oxidativo, lo que justifica su alto contenido de flavonoides. Las semillas, por su parte, requieren protección durante la fase de latencia y germinación, lo que explica su alta actividad antioxidante. Las raíces, en cambio, parecen

depender menos de estos mecanismos antioxidantes, reflejándose en sus bajos niveles de actividad.

Las hojas presentan el contenido más alto de compuestos fenólicos totales ( $105.71 \pm 8.30$  mg EAG/g), lo cual es consistente con su exposición directa a la radiación UV y otros factores de estrés ambiental. La elevada concentración de estos compuestos en las hojas refuerza su rol clave en la defensa antioxidante. Las flores, con un contenido de  $76.32 \pm 2.58$  mg EAG/g, también poseen una cantidad considerable de compuestos fenólicos, pero en menor proporción que las hojas, probablemente debido a la distinta función reproductiva de este órgano. Las semillas, con  $86.87 \pm 3.64$  mg EAG/g, muestran un contenido intermedio, lo que sugiere que los compuestos fenólicos en las semillas juegan un papel protector crucial durante la germinación. En contraste, las raíces tienen el contenido más bajo ( $37.84 \pm 6.80$  mg EAG/g), lo que refleja su menor exposición a factores externos y su función más estructural.

Los flavonoides, compuestos que destacan por su capacidad antioxidante y su función de protección frente a la radiación UV, se concentran mayormente en las hojas ( $86.16 \pm 6.71$  mg EC/g), lo que refuerza su papel clave en la defensa contra el estrés oxidativo. Las semillas contienen una cantidad notable de flavonoides ( $63.75 \pm 2.32$  mg EC/g), lo que indica su importancia en la protección del embrión durante el desarrollo y la germinación. Las flores ( $42.56 \pm 3.61$  mg EC/g) ocupan el tercer lugar, lo que sugiere que además de su función en la reproducción, los flavonoides contribuyen a la atracción de polinizadores. Por último, las raíces tienen la menor concentración ( $10.46 \pm 2.38$  mg EC/g), reflejando su función subterránea, protegida de la radiación UV.

Los ensayos de DPPH y FRAP confirman que las hojas presentan la mayor capacidad antioxidante, con valores de  $907.27 \pm 5.16$   $\mu$ mol ET/g en DPPH y  $1681.18 \pm 132.10$   $\mu$ mol ET/g en FRAP, lo que está correlacionado con su elevado contenido de flavonoides y compuestos fenólicos. Las semillas también muestran una capacidad antioxidante alta ( $813.46 \pm 9.50$   $\mu$ mol ET/g en DPPH y  $1059.14 \pm 81.85$   $\mu$ mol ET/g en FRAP), lo que refuerza su rol protector durante la germinación. Las flores presentan una actividad antioxidante significativa pero menor que las hojas ( $717.15 \pm 1.43$   $\mu$ mol ET/g en DPPH y  $808.30 \pm 34.00$   $\mu$ mol ET/g en FRAP). Finalmente, las raíces tienen la menor capacidad antioxidante en ambos ensayos, lo que refleja su bajo contenido de compuestos antioxidantes.

La variabilidad en el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y capacidad antioxidante entre los distintos órganos de *H. longipes* puede atribuirse principalmente a las diferencias funcionales y ecológicas de cada parte de la planta.

Las hojas, expuestas directamente a la luz solar y otros factores de estrés, sintetizan y acumulan mayores cantidades de compuestos antioxidantes, lo que refuerza su función protectora. Las semillas, aunque no están expuestas al estrés ambiental directo durante su formación, requieren una protección significativa para asegurar la viabilidad del embrión, lo que justifica su alto contenido de flavonoides y su notable capacidad antioxidante. Las flores, aunque esenciales para la reproducción, muestran una menor acumulación de compuestos antioxidantes en comparación con las hojas, posiblemente debido a la importancia de otros compuestos como los pigmentos para atraer polinizadores. Por su parte, las raíces, al estar protegidas del estrés ambiental, no requieren una alta concentración de antioxidantes, lo que explica su bajo contenido en estos compuestos.

#### Efecto vasodilatador

Aunque el DMH también presenta un efecto máximo elevado, su  $CE_{50}$  es significativamente mayor, lo que sugiere que se requieren concentraciones más altas para lograr respuestas similares. Los extractos de DMF y DMS exhiben propiedades intermedias en cuanto a la  $CE_{50}$ , efecto máximo y rango de acción. El ajuste de bondad para todos los extractos es en general bueno, lo que indica que los modelos utilizados para ajustar los datos son adecuados.

Los resultados sugieren que MeR es el más prometedor como vasodilatador, debido a su alta potencia y eficacia debido a la afinina. Los extractos MeS y MeH también muestran actividad vasodilatadora, aunque con menor potencia y eficacia que MeR. El extracto MeF, por otro lado, parece ser el menos activo de los cuatro.

## VII. CONCLUSIONES

- En el presente trabajo se encontró que los extractos de diclorometano de las hojas, las flores y las semillas de *H. longipes* presentaron efecto vasodilatador, siendo el extracto de las hojas el que presentó el mayor efecto máximo.
- Los extractos metanólicos de las hojas, flores y semillas también indujeron un moderado efecto vasodilatador y el extracto de las flores presentó el mayor efecto máximo.
- Se encontró que únicamente los extractos de diclorometano de las raíces, metanólicos de raíces y de diclorometano de las hojas contenían afinina con concentraciones de  $324.15 \pm 0.73$ ,  $149 \pm 0.14$  y  $17.53 \pm 0.11$  mg de afinina/g de extracto, respectivamente.
- Los compuestos mayoritarios volátiles encontrados en el extracto de diclorometano de las hojas fueron el  $\gamma$ -eudesmol (15.05 %), el (+)-Rosifoliol (2.35 %) y el ácido n-hexadecanoico (1.2 %) y en el correspondiente extracto de las flores fueron la asarinina (3.82 %), el ácido n-hexadecanoico (2.22 %) y el  $\gamma$ -sitosterol (0.74 %) y ninguno de ellos cuenta con efecto vasodilatador ya reportado.
- Los principales compuestos polares encontrados en las hojas, las flores, las semillas y la raíz son compuestos fenólicos. El contenido de compuestos fenólicos fue mayor en las hojas y las flores que en las raíces y las semillas. Se hipotetizar que esto es debido a que las partes aéreas de la planta están más expuestas a factores de estrés como la radiación ultravioleta.
- Las partes aéreas de *H. longipes* son una fuente de moléculas vasodilatadoras, potencialmente útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelsalam, A., Mahran, E., Chowdhury, K., Boroujerdi, A., y El-Bakry, A. (2017). NMR-based metabolomic analysis of wild, greenhouse, and in vitro regenerated shoots of *Cymbopogon Schoenanthus* subsp. *proximus* with GC–MS assessment of proximadiol. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(2), 369–383. <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0432-0>
- Agati, G., Brunetti, C., Fini, A., Gori, A., Guidi, L., Landi, M., Sebastiani, F., & Tattini, M. (2020). Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty Years of our investigation. *Antioxidants*, 9(11), 1098. <https://doi.org/10.3390/antiox9111098>
- Ahmad, S. R. (2023). The role of medicinal plants in drug discovery across the world. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences*, 11(2), 30–41. <https://doi.org/10.18782/2582-2845.8995>
- Ajani, E. O. (2022) Medicinal plants and drug discovery. Therapeutic Use of Plant Secondary Metabolites, 21–49.
- Akram, J., Ahmed, W., y Azmat, R. (2021). Plants as a natural resource of bioactive compounds for drug formulation to control infectious diseases. *Journal Advances of Nutrition Science and Technology*, 1(1), 11. <https://doi.org/10.15228/anst.2021.v01.i01.p02>
- Alonso-Castro, A. J., Serrano-Vega, R., Pérez Gutiérrez, S., Isiordia-Espinoza, M. A., & Solorio-Alvarado, C. R. (2021). Myristic acid reduces skin inflammation and nociception. *Journal of Food Biochemistry*, 46(1). <https://doi.org/10.1111/jfbc.14013>
- Arriaga-Alba, M., Rios, M. Y., & Déciga-Campos, M. (2013). Antimutagenic properties of affinin isolated from *heliopsis longipes* extract. *Pharmaceutical Biology*, 51(8), 1035–1039. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.775161>
- Balamurugan, R., Duraipandiyan, V., & Ignacimuthu, S. (2011). Antidiabetic activity of  $\gamma$ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 667(1–3), 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.025>
- Bomfim, D. S., Ferraz, R. P., Carvalho, N. C., Soares, M. B., Pinheiro, M. L., Costa, E. V., y Bezerra, D. P. (2013). Eudesmol isomers induce caspase-mediated apoptosis

in human hepatocellular carcinoma hEPg2 cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 113(5), 300–306. <https://doi.org/10.1111/bcpt.12097>

Bovet, P., Banatvala, N., Khaw, K.-T., y Reddy, K. S. (2023) Cardiovascular disease. *Noncommunicable Diseases* 45–51. <https://doi.org/10.4324/9781003306689>

Bruna, F., Fernández, K., Urrejola, F., Touma, J., Navarro, M., Sepúlveda, B., Larrazabal-Fuentes, M., Paredes, A., Neira, I., Ferrando, M., Osorio, M., Yañez, O., y Bravo, J. (2022). The essential oil from *Drimys winteri* possess activity: Antioxidant, theoretical chemistry reactivity, Antimicrobial, antiproliferative and chemical composition. *Frontiers in Natural Products*, 1. <https://doi.org/10.3389/fntpr.2022.958425>

Buitimea-Cantúa, G. V., & Molina-Torres, J. (2021). De novo transcriptome sequencing, assembly and characterization of *Heliopsis longipes* roots vs. leaves to discover putative genes involved in specialized metabolites biosynthesis. *Plant Omics*, (14(01):2021), 11–22. <https://doi.org/10.21475/poj.14.01.21.p3067>

Buitimea-Cantúa, G. V., Buitimea-Cantúa, N. E., del Refugio Rocha-Pizaña, M., Rosas-Burgos, E. C., Hernández-Morales, A., & Molina-Torres, J. (2019). Antifungal and anti-aflatoxic activity of *heliopsis longipes* roots and affinin/spilanthol against *aspergillus parasiticus* by downregulating the expression of *alfD* and *aflR* genes of the aflatoxins biosynthetic pathway. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(3), 210–219. <https://doi.org/10.1080/03601234.2019.1681818>

Buitimea-Cantúa, G. V., Marsch-Martinez, N., Ríos-Chavez, P., Méndez-Bravo, A., y Molina-Torres, J. (2020). Global gene expression analyses of the alkamide-producing plant *heliopsis longipes* supports a polyketide synthase-mediated biosynthesis pathway. *PeerJ*, 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.10074>

Cao, C., Zhang, H., He, Z., Zhang, K., Qian, Z., Shen, J., Zheng, L., Xue, M., Sun, S., Li, C., Zhao, W., Jing, J., Ma, R., Ge, X., & Yao, B. (2024). Octanoic acid mitigates busulfan-induced blood-testis barrier damage by alleviating oxidative stress and autophagy. *Lipids in Health and Disease*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12944-024-02157-2>

Caprioli, G., Iannarelli, R., Sagratini, G., Vittori, S., Zorzetto, C., Sánchez-Mateo, C. C., Rabanal, R. M., Quassinti, L., Bramucci, M., Vitali, L. A., Petrelli, D., Lupidi, G.,

Venditti, A., y Maggi, F. (2016). Phenolic acids, antioxidant and antiproliferative activities of Naviglio® extracts from *schizogyne sericea* (asteraceae). *Natural Product Research*, 31(5), 515–522. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1195383>

Carvalho, A. M., Heimfarth, L., Pereira, E. W., Oliveira, F. S., Menezes, I. R., Coutinho, H. D., Picot, L., Antoniolli, A. R., Quintans, J. S., y Quintans-Júnior, L. J. (2020). Phytol, a chlorophyll component, produces antihyperalgesic, anti-inflammatory, and antiarthritic effects: Possible NFKB pathway involvement and reduced levels of the proinflammatory cytokines TNF- $\alpha$  and IL-6. *Journal of Natural Products*, 83(4), 1107–1117. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01116>

Castro-González, V. y Rojas-Alba M. (2009) Monografía de la raíz de oro, chilcuague, *Heliopsis longipes* A. Gray.

Castro-Ruiz, J., Rojas-Molina, A., Luna-Vázquez, F., Rivero-Cruz, F., García-Gasca, T., y Ibarra-Alvarado, C. (2017). Affinin (spilanthol), isolated from *heliopsis longipes*, induces vasodilation via activation of gasotransmitters and Prostacyclin signaling pathways. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 218. <https://doi.org/10.3390/ijms18010218>

Cilia-López, V. G., Aguirre-Rivera, J. R., Espinosa-Reyes, G., Flores-Cano, J. A., Reyes-Agüero, J. A., y Juárez-Flores, B. I. (2014). Distribución de *Heliopsis longipes* (heliantheae: Asteraceae), UN Recurso Endémico del centro de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 20(1), 47–54. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.05.015>

Cilia-López, V. G., Aguirre-Rivera, J. R., Reyes-Agüero, J. A., y Juárez-Flores, B. I. (2014) Ampliación de la descripción y aspectos taxonómicos de *Heliopsis longipes* (ASTERACEAE: HELIANTHEAE). *Polibotánica*, XX(36), 1405-2768.

de Freitas-Blanco, V., Monteiro, K., de Oliveira, P., de Oliveira, E., de Oliveira Braga, L., de Carvalho, J., & Ferreira Rodrigues, R. (2018). Spilanthol, the principal alkylamide from *Acmella oleracea*, attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Planta Medica*, 85(03), 203–209. <https://doi.org/10.1055/a-0715-2002>



- Derosa, G. y Maffioli, P. (2012). Current and emerging Pharmacotherapies for the management of hypertension, focus on Aliskiren. *Clinical Medicine Reviews in Women's Health*, 4, 1–14. <https://doi.org/10.4137/cmrwh.s5963>
- Dewanjee, S., Bhattacharjee, N., Chakraborty, P., Bhattacharjee, S. (2021). Carotenoids as Antioxidants. In: Zia-Ul-Haq, M., Dewanjee, S., Riaz, M. (eds) Carotenoids: Structure and Function in the Human Body. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-46459-2\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-46459-2_12)
- Escobedo-Martínez, C., Guzmán-Gutiérrez, S. L., Hernández-Méndez, M. de, Cassani, J., Trujillo-Valdivia, A., Orozco-Castellanos, L. M., y Enríquez, R. G. (2017) Heliopsis longipes: Anti-arthritic activity evaluated in a Freund's adjuvant-induced model in rodents. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(2), 214–219.
- Fabri, R. L., Freitas, J. C., Lemos, A. S., Campos, L. M., Diniz, I. O., Pinto, N. C., Silva, T. P., Palazzi, C., Marchesini, P., Monteiro, C., Barbosa, A. F., Carvalho, M. G., Chedier, L. M., Araújo, M. G., Apolônio, A. C., Rocha, V. N., Melo, R. C., & Pinto, P. F. (2021). Spilanthol as a promising antifungal alkylamide for the treatment of vulvovaginal candidiasis. *Medical Mycology*, 59(12), 1210–1224. <https://doi.org/10.1093/mmy/myab054>
- Farina, J. M., Liblik, K., Iomini, P., Miranda-Arboleda, A. F., Saldarriaga, C., Mendoza, I., Zaidel, E. J., Rubio-Campal, J. M., Sosa-Liprandi, A., y Baranchuk, A. (2023). Infections and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 81(1), 71–80. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.08.813>
- Farooq, S., Mir, S. A., Shah, M. A., y Manickavasagan, A. (2022) Extraction techniques. *Plant Extracts: Applications in the Food Industry*, 23–37.
- Flores, J. E., Bramer, L. M., Degnan, D. J., Paurus, V. L., Corilo, Y. E., y Clendinen, C. S. (2023). Gaussian mixture modeling extensions for improved false discovery rate estimation in GC–MS Metabolomics. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 34(6), 1096–1104. <https://doi.org/10.1021/jasms.3c00039>
- Gade, S., Rajamanikyam, M., Vadlapudi, V., Nukala, K. M., Aluvala, R., Giddigari, C., Karanam, N. J., Barua, N. C., Pandey, R., Upadhyayula, V. S., Sripadi, P., Amanchy, R., & Upadhyayula, S. M. (2017). Acetylcholinesterase inhibitory activity of Stigmasterol & Hexacosanol is responsible for larvicidal and repellent properties of

Chromolaena odorata. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1861(3), 541–550. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.11.044>

García-Badillo, P. E., Avalos-Soriano, A., López-Martínez, J., García-Gasca, T., & Castro-Ruiz, J. E. (2021). Proangiogenic effect of affinin and an ethanolic extract from *heliopsis longipes* roots: Ex vivo and in vivo evidence. *Molecules*, 26(24), 7670. <https://doi.org/10.3390/molecules26247670>

García-Chávez, A., Ramírez Chávez, E., y Molina-Torres, J. (2004) El Género *Heliopsis* (Heliantheae; Asteraceae) en México y las alcanidas presentes en sus raíces. *Acta Botanica Mexicana* (69), 115–131.

Gholkar, M. S., Daswani, P. G., Iyer, V. V., y Birdi, T. J. (2022). High Performance Liquid Chromatography-Based Metabolomics of *Psidium Guajava* Linn. Leaf Extracts. <https://doi.org/10.1101/2022.01.25.477015>

Gori, A., Boucherle, B., Rey, A., Rome, M., Fuzzati, N., y Peuchmaur, M. (2021). Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Fitoterapia*, 148, 104798. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104798>

Gujrati, A., Jain, S., Joshi, V., Shukla, S. S., Vyas, A., y Jain, V. (2021). Importance of chromatography techniques in phytomedicine research. *Evidence Based Validation of Traditional Medicines*, 1, 279–297.

Gupta, M. K., Ghuge, A., Parab, M., Al-Refaei, Y., Khandare, A., Dand, N., y Waghmare, N. (2022). A comparative review on high-performance liquid chromatography (HPLC), ultra-performance liquid chromatography (UPLC) & high-performance thin layer chromatography (HPTLC) with current updates. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 35(4), 224–228. <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0039>

Hajdu, Z., Haskó, J., Krizbai, I. A., Wilhelm, I., Jedlinszki, N., Fazakas, C., Molnár, J., Forgo, P., Hohmann, J., y Csupor, D. (2014). Evaluation of lignans from *Heliopsis helianthoides* var. *scabra* for their potential antimetastatic effects in the brain. *Journal of Natural Products*, 77(12), 2641–2650. <https://doi.org/10.1021/np500508y>

Hajdu, Z., Nicolussi, S., Rau, M., Lorántfy, L., Forgo, P., Hohmann, J., Csupor, D., y Gertsch, J. (2014). Identification of endocannabinoid system-modulating *n*-

alkylamides from *heliopsis helianthoides* var. *scabra* and *lepidium meyenii*. *Journal of Natural Products*, 77(7), 1663–1669. <https://doi.org/10.1021/np500292g>

Haneef, J., Gulati, M., y Chadha, R. (2018). Development of green bioanalytical HPLC method for estimation of Irbesartan in rat plasma: Towards greener chromatographic science. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 10, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2018.10.004>

Hariri, L., y Patel, J. B. (2023). Vasodilators. In *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554423/>

Hasni, M., Belboukhari, N., Sekkoum, K., Stefan-van Staden, R.-I., Alothman, Z. A., Demir, E., y Ali, I. (2023). Heliotropium bacciferum essential oil extraction: Compositions determination by GC-MS and anti-inflammatory and antibacterial activities evaluation. *Analytical Biochemistry*, 683, 115366. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2023.115366>

Haynes, V. R., Michael, N. J., van den Top, M., Zhao, F.-Y., Brown, R. D., De Souza, D., Dodd, G. T., Spanswick, D., & Watt, M. J. (2020). A neural basis for octanoic acid regulation of Energy Balance. *Molecular Metabolism*, 34, 54–71. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2020.01.002>

Hernández-Morales, A., Arvizu-Gómez, J. L., Carranza-Álvarez, C., Gómez-Luna, B. E., Alvarado-Sánchez, B., Ramírez-Chávez, E., & Molina-Torres, J. (2015). LARVICIDAL activity of affinin and its derived amides from *heliopsis longipes* A. Gray Blake against *anopheles albimanus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18(2), 227–231. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.09.004>

Hu, Q.-P., Cao, X.-M., Hao, D.-L., & Zhang, L.-L. (2017). Chemical composition, antioxidant, DNA damage protective, cytotoxic and antibacterial activities of *cyperus rotundus* rhizomes essential oil against foodborne pathogens. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/srep45231>

Huo, R., Yang, W.-J., Liu, Y., Liu, T., Li, T., Wang, C.-Y., Pan, B.-S., Wang, B.-L., & Guo, W. (2024). Stigmasterol: Remodeling gut microbiota and suppressing tumor growth through Treg and CD8+ T cells in hepatocellular carcinoma. *Phytomedicine*, 129, 155225. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155225>

Ibarra-Alvarado, C., Rojas, A., Mendoza, S., Bah, M., Gutiérrez, D. M., Hernández-Sandoval, L., y Martínez, M. (2010). Vasoactive and antioxidant activities of plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of cardiovascular diseases. *Pharmaceutical Biology*, 48(7), 732–739. <https://doi.org/10.3109/13880200903271280>

Jakupovic, J., Schuster, A., Chau-Thi, T. V., Bohlmann, F., y Dominguez, X. A. (1988). Guaianolides and homoditerpenes from *Heliopsis helianthoides*. *Phytochemistry*, 27(7), 2235–2240. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(88\)80133-x](https://doi.org/10.1016/0031-9422(88)80133-x)

Jie, F., Yang, X., Yang, B., Liu, Y., Wu, L., & Lu, B. (2022). Stigmasterol attenuates inflammatory response of microglia via NF-KB and NLRP3 signaling by AMPK activation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113317. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113317>

Kart, N. N., Günal, B., Mutlu, D., Doğan, N. M., Arslan, Ş., y Semiz, G. (2023). Evaluating antibiofilm, cytotoxic and apoptotic activities of scutellaria brevibracteata subsp.. brevibracteata essential oil. *Chemistry & Biodiversity*, 20(12). <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300878>

Khakimov, B., Mongi, R. J., Sørensen, K. M., Ndabikunze, B. K., Chove, B. E., y Engelsen, S. B. (2016). A comprehensive and comparative GC–MS metabolomics study of non-volatiles in Tanzanian grown mango, pineapple, jackfruit, baobab and tamarind fruits. *Food Chemistry*, 213, 691–699. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.005>

Khalid, M., Saeed-ur-Rahman, Bilal, M., & HUANG, D. (2019). Role of flavonoids in plant interactions with the environment and against human pathogens — a review. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(1), 211–230. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(19\)62555-4](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(19)62555-4)

Kim, E.-N., Trang, N. M., Kang, H., Kim, K. H., y Jeong, G.-S. (2022). Phytol suppresses osteoclast differentiation and oxidative stress through nrf2/HO-1 regulation in Rankl-induced RAW264.7 cells. *Cells*, 11(22), 3596. <https://doi.org/10.3390/cells11223596>

Klabunde, R. Vasodilator drugs. *CV Pharmacology* [Internet]. Vasodilator Drugs. (2023, November 30). <https://cvpharmacology.com/vasodilator/vasodilators>

- Kumar, G. A., Kumar, S., Bhardwaj, R., Swapnil, P., Meena, M., Seth, C. S., & Yadav, A. (2024). Recent advancements in multifaceted roles of flavonoids in plant–RHIZOMICROBIOME interactions. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1297706>
- Lee, J. H., Jia, Y., Thach, T. T., Han, Y., Kim, B., Wu, C., Kim, Y., Seo, W. D., & Lee, S.-J. (2017). Hexacosanol reduces plasma and hepatic cholesterol by activation of AMP-activated protein kinase and suppression of sterol regulatory element-binding protein-2 in hepg2 and C57BL/6J MICE. *Nutrition Research*, 43, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2017.05.013>
- Li, S., Guo, S., Lin, D., Yu, J., Tang, J., lv, X., Zhang, Y., & Wang, Q. (2023). 6-gingerol, asarinin, and deoxyschizandrin improve bronchial epithelium functions in an interleukin-13–induced beas-2b cell model. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 10(2), 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.jtcms.2023.02.001>
- Lima, T. L., Souza, L. B., Tavares-Pessoa, L. C., Santos-Silva, A. M., Cavalcante, R. S., Araújo-Júnior, R. F., Cornélio, A. M., Fernandes-Pedrosa, M. F., Chaves, G. M., y Silva-Júnior, A. A. (2020). Phytol-loaded solid lipid nanoparticles as a novel anticandidal nanobiotechnological approach. *Pharmaceutics*, 12(9), 871. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090871>
- Liu, H., Yang, J., Ye, M., James, S. C., Tang, Z., Dong, J., & Xing, T. (2021). Using t-distributed stochastic neighbor embedding (T-SNE) for cluster analysis and Spatial Zone delineation of groundwater geochemistry data. *Journal of Hydrology*, 597, 126146. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2021.126146>
- Liu, W., Yin, D., Li, N., Hou, X., Wang, D., Li, D., & Liu, J. (2016). Influence of environmental factors on the active substance production and antioxidant activity in *Potentilla fruticosa* L. and its quality assessment. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep28591>
- López-Martínez, S., Aguilar-Guadarrama, A. B., y Rios, M. Y. (2011). Minor alkamides from *Heliopsis longipes* S.F. Blake (Asteraceae) fresh roots. *Phytochemistry Letters*, 4(3), 275–279. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.04.014>

Lorencini, M., Brohem, C. A., Dieamant, G. C., Zanchin, N. I. T., y Maibach, H. I. (2014). Active ingredients against human epidermal aging. *Ageing Research Reviews*, 15, 100–115. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.03.002>

Loskutov, I. G., Shelenga, T. V., Konarev, A. V., Shavarda, A. L., Blinova, E. V., y Dzubenko, N. I. (2017). The metabolomic approach to the comparative analysis of wild and cultivated species of oats (*Avena L.*). *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 7(5), 501–508. <https://doi.org/10.1134/s2079059717050136>

Luna-Vázquez, F., Ibarra-Alvarado, C., Rojas-Molina, A., Rojas-Molina, J., Yahia, E., Rivera-Pastrana, D., Rojas-Molina, A., y Zavala-Sánchez, Á. M. (2013). Nutraceutical value of Black Cherry *Prunus serotina* Ehrh. fruits: Antioxidant and antihypertensive properties. *Molecules*, 18(12), 14597–14612. <https://doi.org/10.3390/molecules181214597>

Luz-Martínez, B. A., Marrero-Morfa, D., Luna-Vázquez, F. J., Rojas-Molina, A., e Ibarra-Alvarado, C. (2024). Affinin, isolated from *Heliopsis longipes*, induces an antihypertensive effect that involves CB1 cannabinoid receptors and TRPA1 and TRPV1 channel activation. *Planta Medica*, 90(05), 380–387. <https://doi.org/10.1055/a-2244-8855>

M'hamdi, Z., Bouymajane, A., Riffi, O., Rhazi Filali, F., Ettarchouch, M., ELhourri, M., y Amechrouq, A. (2024). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of pelargonium graveolens and its fractions. *Arabian Journal of Chemistry*, 17(1), 105375. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105375>

Manickam, S., Rajagopalan, V. R., Kambale, R., Rajasekaran, R., Kanagarajan, S., y Muthurajan, R. (2023). Plant metabolomics: Current initiatives and future prospects. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(11), 8894–8906. <https://doi.org/10.3390/cimb45110558>

Marrero-Morfa, D., Ibarra-Alvarado, C., Luna-Vázquez, F. J., Estévez, M., Ledesma, E. M., Rojas-Molina, A., y Quirino-Barreda, C. T. (2023). Self-microemulsifying system of an ethanolic extract of *Heliopsis longipes* root for enhanced solubility and release of affinin. *AAPS Open*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s41120-023-00086-5>

- Muñoz-Hoyos, L., y Stam, R. (2023). Metabolomics in plant pathogen defense: From single molecules to large-scale analysis. *Phytopathology*, 113(5), 760–770. <https://doi.org/10.1094/phyto-11-22-0415-fi>
- Nandaniya, J., Maitreya, B., Kumarkhaniya, H., Pandya, H., y Mankad, A. (2023). Ethnobotany and medicinal plant in the Dhandhuka Taluka of Gujarat. *International Association of Biologicals and Computational Digest*, 2(1), 200–210. <https://doi.org/10.56588/iabcd.v2i1.132>
- Nava Lauson, C. B., Tiberti, S., Corsetto, P. A., Conte, F., Tyagi, P., Machwirth, M., Ebert, S., Loffreda, A., Scheller, L., Sheta, D., Mokhtari, Z., Peters, T., Raman, A. T., Greco, F., Rizzo, A. M., Beilhack, A., Signore, G., Tumino, N., Vacca, P., ... Manzo, T. (2023). Linoleic acid potentiates CD8+ T cell metabolic fitness and antitumor immunity. *Cell Metabolism*, 35(4). <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.02.013>
- Nerkar, A. G., y Nagarkar, R. P. (2023). Ethnopharmacology. *Current Trends in Pharmacy and Pharmaceutical Chemistry*, 5(2), 45–48. <https://doi.org/10.18231/j.ctppc.2023.011>
- Nieto-Reséndiz, L. C., Mares-Mares, E., y Cerón-García, A. (2017). Valoración de compuestos bioactivos en extractos de chilcuague (*Heliopsis longipes*). *Jóvenes en la Ciencia*, 3(2), 63-67.
- Ntemafack, A., Ahmed, S., Kumar, A., Chouhan, R., Kapoor, N., Bharate, S. B., Hassan, Q. P., y Gandhi, S. G. (2022). Plant growth promoting potential of butyl isobutyl phthalate and *Streptomyces* sp. from *Rumex dentatus* on Rice. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(7), 2603–2617. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-11862-w>
- Olvera-Lopez, E., Ballard, B. D., y Jan, A. (2023). Cardiovascular disease. In *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535419/>
- Panda, S. K., Das, R., Mai, A. H., De Borggraeve, W. M., & Luyten, W. (2020). Nematicidal activity of *Holigarna Caustica* (dennst.) Oken fruit is due to linoleic acid. *Biomolecules*, 10(7), 1043. <https://doi.org/10.3390/biom10071043>
- Parola-Contreras, I., Guevara-González, R. G., Feregrino-Pérez, A. A., Reynoso-Camacho, R., Pérez-Ramírez, I. F., Ocampo-Velázquez, R. V., Rojas-Molina, A.,

- Luna-Vazquez, F., y Tovar-Pérez, E. G. (2020). Phenolic compounds and antioxidant activity of methanolic extracts from leaves and flowers of chilcuague (*Heliopsis longipes*, Asteraceae). *Botanical Sciences*, 99(1), 149–160. <https://doi.org/10.17129/botsci.2671>
- Patel, M., Pandey, S., Kumar, M., Haque, M., Pal, S., y Yadav, N. (2021). Plants metabolome study: Emerging tools and techniques. *Plants*, 10(11), 2409. <https://doi.org/10.3390/plants10112409>
- Pavlenko-Badnaoui, M., Protska, V., Burda, N., Zhuravel, I., y Kuznetsova, V. (2021a). The study of phenolic compounds and antioxidant activity of raw materials of *Heliopsis helianthoides* (L.) Sweet. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 34(1), 28–33. <https://doi.org/10.2478/cipms-2021-0006>
- Prathibha, M. D., Harsha, S. G., Geetha, G. A., Loksha, A. N., y Shivashankara, K. S. (2023). Metabolomics as a selection tool for abiotic stress tolerance in crops. In *Translating Physiological Tools to Augment Crop Breeding* (pp. 311–335). [https://doi.org/10.1007/978-981-19-7498-4\\_14](https://doi.org/10.1007/978-981-19-7498-4_14)
- Rahman, A., Albadrani, G. M., Ahmad Waraich, E., Hussain Awan, T., Yavaş, İ., y Hussain, S. (2023). Plant secondary metabolites and abiotic stress tolerance: Overview and implications. In *Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance Mechanisms*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.111696>
- Rejón Orantes, J. del, Sánchez-Cartela, S. A., Gutiérrez-Sarmiento, W., Farrera-Sarmiento, O., y Pérez de la Mora, M. (2023). Ethnobotany of medicinal plants used for healers of the chol ethnic group from Tila, Chiapas, Mexico. *Polibotánica*, 0(56). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.56.13>
- Rey-Stolle, F., Dudzik, D., Gonzalez-Riano, C., Fernández-García, M., Alonso-Herranz, V., Rojo, D., Barbas, C., y García, A. (2022). Low and high resolution gas chromatography-mass spectrometry for untargeted metabolomics: A tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 1210, 339043. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.339043>
- Rios, M. Y., Aguilar-Guadarrama, A. B., & Gutiérrez, M. del. (2007). Analgesic activity of affinin, an alkamide from *heliopsis longipes* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, 110(2), 364–367. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.041>



- Rivera-Pastrana, D. M., Yahia, E. M., y González-Aguilar, G. A. (2010). Phenolic and carotenoid profiles of papaya fruit (*Carica papaya* L.) and their contents under low temperature storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(14), 2358–2365. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4092>
- Ruiters, A. K., Tilney, P. M., Van Vuuren, S. F., Viljoen, A. M., Kamatou, G. P. P., & Van Wyk, B.-E. (2016). The anatomy, ethnobotany, antimicrobial activity and essential oil composition of southern African species of *teucrium* (lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 102, 175–185. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.06.008>
- Ruiz-Castillo, G. V. (2021). *Caracterización química del extracto de diclorometano de la raíz de Heliopsis longipes y evaluación del efecto vasodilatador de los compuestos mayoritarios presentes en el extracto*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro], Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma de Querétaro. <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/3416>
- Rushendran, R., y Chitra, V. (2024). Antimigraine activity of Asarinin by oprm1 pathway with multifaceted impacts through network analysis. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70933-2>
- Saha, D., y Sarankar, S. K. (2023). Critical review on potentials of ethnopharmacological, ethnomedicinal and traditional practices of *Madhuca longifolia* (J. Koenig ex L.) J. F. Macbr. (family: Sapotaceae). *Prospects in Pharmaceutical Sciences*, 21(2), 30–36. <https://doi.org/10.56782/pps.130>
- Sajayan, A., Ravindran, A., Selvin, J., Ragothaman, P., y Seghal Kiran, G. (2023). An antimicrobial metabolite N- hexadecenoic acid from marine sponge-associated bacteria *bacillus subtilis* effectively inhibited biofilm forming multidrug-resistant *P. aeruginosa*. *Biofouling*, 39(5), 502–515. <https://doi.org/10.1080/08927014.2023.2232722>
- Salem, M. Z., Zayed, M. Z., Ali, H. M., y Abd El-Kareem, M. S. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Schinus Molle* Wood branch growing in Egypt. *Journal of Wood Science*, 62(6), 548–561. <https://doi.org/10.1007/s10086-016-1583-2>
- Sander, T., Freyss, J., von Korff, M., & Rufener, C. (2015). Datawarrior: An open-source program for Chemistry Aware Data Visualization and analysis. *Journal of*

*Chemical Information and Modeling*, 55(2), 460–473.  
<https://doi.org/10.1021/ci500588j>

Scalabrin, E., Radaelli, M., Rizzato, G., Bogani, P., Buiatti, M., Gambaro, A., y Capodaglio, G. (2015). Metabolomic analysis of wild and transgenic *Nicotiana langsdorffii* plants exposed to abiotic stresses: Unraveling metabolic responses. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(21), 6357–6368.  
<https://doi.org/10.1007/s00216-015-8770-7>

Song, J., Jiang, M., Jin, Y., Li, H., Li, Y., Liu, Y., Yu, H., y Huang, X. (2023). Phytol from faeces bombycis alleviated migraine pain by inhibiting nav1.7 sodium channels. *Journal of Ethnopharmacology*, 306, 116161.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116161>

Spinozzi, E., Ferrati, M., Baldassarri, C., Cappellacci, L., Marmugi, M., Caselli, A., Benelli, G., Maggi, F., & Petrelli, R. (2022). A review of the chemistry and biological activities of *Acmella oleracea* (“Jambù”, Asteraceae), with a view to the development of bioinsecticides and acaricides. *Plants*, 11(20), 2721.  
<https://doi.org/10.3390/plants11202721>

Srijjwangsa, P., Ponnikorn, S., y Na-Bangchang, K. (2018). Effect of  $\beta$ -eudesmol on NQO1 suppression-enhanced sensitivity of cholangiocarcinoma cells to chemotherapeutic agents. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 19(1).  
<https://doi.org/10.1186/s40360-018-0223-4>

Su, J., Zhu, S., Zhang, Z., y Ge, F. (2006). Effect of synthetic aphid alarm pheromone (e)- $\beta$ -Farnesene on development and reproduction of *Aphis Gossypii* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 99(5), 1636–1640.  
<https://doi.org/10.1093/jee/99.5.1636>

Sun-Raghavendra, H. L., Bharath, B. R., Kekuda, T. R., Chetan, D. M., Chaitanya, M. M., y Kumar, H. S. (2021). Understanding pharmacodynamics of butyl isobutyl phthalate: Where in vitro and in silico studies converge. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.772>

Tamiru, A., Bruce, T. J., Richter, A., Woodcock, C. M., Midega, C. A., Degenhardt, J., Kelemu, S., Pickett, J. A., y Khan, Z. R. (2017). A maize landrace that emits defense volatiles in response to herbivore eggs possesses a strongly inducible terpene

synthase gene. *Ecology and Evolution*, 7(8), 2835–2845.  
<https://doi.org/10.1002/ece3.2893>

Tharabenjasin, P., Moonwiriyaakit, A., Sontikun, J., Timpratueang, K., Kuno, S., Aiebchun, T., Jongkon, N., Mongkolrob, R., Pabalan, N., Choowongkamon, K., y Muanprasat, C. (2024). The barrier-protective effect of  $\beta$ -eudesmol against type 2-inflammatory cytokine-induced tight junction disassembly in airway epithelial cells. *PLOS ONE*, 19(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0302851>

Tong, Z., He, W., Fan, X., & Guo, A. (2022). Biological function of plant tannin and its application in animal health. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.803657>

Tsugawa, H., Rai, A., Saito, K., y Nakabayashi, R. (2021). Metabolomics and complementary techniques to investigate the plant phytochemical cosmos. *Natural Product Reports*, 38(10), 1729–1759. <https://doi.org/10.1039/d1np00014d>

Valentino, G., Graziani, V., D'Abrosca, B., Pacifico, S., Fiorentino, A., y Scognamiglio, M. (2020). NMR-based plant metabolomics in Nutraceutical Research: An overview. *Molecules*, 25(6), 1444. <https://doi.org/10.3390/molecules25061444>

Velez-Haro, J. M., Buitimea-Cantúa, N. E., Rosas-Burgos, E. C., Molina-Torres, J., y Buitimea-Cantúa, G. V. (2018). Effect of the roots extract from *Heliopsis longipes* on *Aspergillus parasiticus* growth. *Biotechnia*, 20(3), 127–134. <https://doi.org/10.18633/biotechnia.v20i3.720>

Willig, J. B., Salomón, J. L. d. O., Vianna, D. R. B., Moura, S., Pilger, D. A., Buffon, A., y Konrath, E. L. (2019). *Heliopsis longipes* S.F. Blake (Asteraceae) extract causes cell cycle arrest and induces caspase-dependent apoptosis against cancer cell lines. *South African Journal of Botany*, 125, 251–260. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.035>

Wolfender, J.-L., Marti, G., Thomas, A., y Bertrand, S. (2015). Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. *Journal of Chromatography A*, 1382, 136–164. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.091>

Yadav, M., Parle, M., Jindal, D. K., & Dhingra, S. (2018). Protective effects of stigmasterol against ketamine-induced psychotic symptoms: Possible behavioral,

biochemical and histopathological changes in mice. *Pharmacological Reports*, 70(3), 591–599. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.01.001>

Yamaguchi, M., Weir, J. D., & Hartung, R. (2024). The composition of linoleic acid and conjugated linoleic acid has potent synergistic effects on the growth and death of Raw264.7 macrophages: The role in anti-inflammatory effects. *International Immunopharmacology*, 141, 112952. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112952>

Yang, S., Huang, X., Li, S., Wang, C., Jansen, C. A., Savelkoul, H. F., & Liu, G. (2023). Linoleic acid: A natural feed compound against porcine epidemic diarrhea disease. *Journal of Virology*, 97(12). <https://doi.org/10.1128/jvi.01700-23>

Zamani, P., y Greenberg, B. H. (2013a). Novel vasodilators in heart failure. *Current Heart Failure Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11897-012-0126-4>

Zhang, H., Dolan, H. L., Ding, Q., Wang, S., & Tikekar, R. V. (2019). Antimicrobial action of octanoic acid against escherichia coli O157:H7 during washing of baby spinach and grape tomatoes. *Food Research International*, 125, 108523. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108523>

Zhang, L., Sun, Y., Yang, Z., & Xia, P. (2023). Asarinin inhibits immunological rejection via the toll-like receptor-myeloid differentiation factor 88 signaling pathway in vitro. *Transplant Immunology*, 81, 101949. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2023.101949>

Zhao, M., Wen, Y., Yang, Y., Pan, H., Xie, S., Shen, C., Liao, W., Chen, N., Zheng, Q., Zhang, G., Li, Y., Gong, D., Tang, J., Zhao, Z., & Zeng, J. (2024). (-)-asarinin alleviates gastric precancerous lesions by promoting mitochondrial ros accumulation and inhibiting the Stat3 Signaling pathway. *Phytomedicine*, 126, 155348. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2024.155348>

Zhao, Z., Wang, J., Kong, W., Newton, M. A., Burkett, W. C., Sun, W., Buckingham, L., O'Donnell, J., Suo, H., Deng, B., Shen, X., Zhang, X., Hao, T., Zhou, C., & Bae-Jump, V. L. (2024). Palmitic acid exerts anti-tumorigenic activities by modulating cellular stress and lipid droplet formation in endometrial cancer. *Biomolecules*, 14(5), 601. <https://doi.org/10.3390/biom14050601>

Zhu, S., Jiao, W., Xu, Y., Hou, L., Li, H., Shao, J., Zhang, X., Wang, R., y Kong, D. (2021). Palmitic acid inhibits prostate cancer cell proliferation and metastasis by

suppressing the PI3K/akt pathway. Life Sciences, 286, 120046.  
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120046>

## IX. ANEXOS

### IX.1 Carta bioética



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE QUÍMICA

C.U., Querétaro, mayo 22, 2024  
No. de oficio. CBQ24/058

**Dra. Alejandra Rojas Molina**  
**M.C. Gabriela Victoria Ruíz Castillo**  
Investigadoras responsables

**Juan José Romero Tovar**  
Estudiante responsable

**Dr. César Ibarra Alvarado**  
**Dra. Juana Isela Rojas Molina**  
Colaboradores

El protocolo de investigación titulado “Análisis químico y determinación del efecto vasodilatador de extractos obtenidos de las partes aéreas de *Heliopsis longipes*” sometido a evaluación por parte del Comité de Bioética de la Facultad de Química involucra el uso de animales de experimentación. Las características del diseño del protocolo de investigación son resumidas a continuación:

Tipo de estudio	Ex vivo
Modelo experimental	Ratas macho Wistar (250-300 g)
Tamaño de muestra	16 ratas
Alojamiento	Jaulas de policarbonato (54.5 x 39.5 x 20.0 cm) en el bioterio de la FQ-UAQ a 22 °C, 30% HR, <85 dB, 12:12 h luz:oscuridad
Alimentación	Ratas alimentadas con alimento estándar Rodent chow 5001 y agua <i>ad libitum</i>
Inducción de enfermedad	No aplica
Monitoreo de animales	No aplica
Administración de tratamiento	No aplica
Método de eutanasia	Decapitación con guillotina
Manejo de RPBI	Se contratará el servicio de una empresa para hacer la disposición de RPBI





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO  
FACULTAD DE QUÍMICA

Recolección de órganos	Aorta torácica descendente
Variables de medición	Medición <i>ex vivo</i> de la actividad vasodilatadora del extracto de etanol y diclorometano de hojas y flores de <i>H. longipes</i>

Con base en las actividades de responsabilidad para el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro en la revisión de proyectos de investigación con la participación de sujetos humanos (directamente en ensayos clínicos, investigación observacional o por empleo de muestras biológicas), así como del uso de animales de experimentación, le comunicamos que el protocolo de investigación titulado **“Análisis químico y determinación del efecto vasodilatador de extractos obtenidos de las partes aéreas de *Heliopsis longipes*”**, del cual Usted es responsable, fue evaluado con una resolución de **aprobado en lo referente a los aspectos bioéticos del proyecto**.

Cabe mencionar que ningún integrante del Comité declaró conflicto de interés para la evaluación del protocolo de investigación. Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes.

Iza Fernanda Pérez Ramírez

Presidente

Comité de Bioética de la Facultad de Química

Universidad Autónoma de Querétaro



## IX.2 Matriz de datos empleados para el gráfico de espacio químico.

SMILES	Parte	Clasificación	Total Molweight	cLogP	Polar Surface Area	sp <sup>3</sup> -Carbon Fraction
<chem>C/C1=C\CC(/C=C/C/C/C(=C/CC1)/C)(C)C</chem>	1	1	204.356	6.2387	0	0.6
<chem>C/C1=C\CCC(=C)[C@H]2CC([C@@H]2CC1)(C)C</chem>	1	1	204.356	5.4861	0	0.73333
<chem>C/C=C(\C)/CCC[C@H](C)CCC[C@H](C)CCCC(C)C</chem>	1	1	280.538	8.3479	0	0.9
<chem>C1CC=CC(=O)C1</chem>	1	5	96.1285	1.0682	17.07	0.5
<chem>C1CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>	1	3	336.645	10.906	0	1
<chem>C1CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>	1	3	336.645	10.906	0	1
<chem>C=C1CCC[C@@]2(C)CC[C@@H]3[C@H]([C@H]12)C3(C)C</chem>	1	1	204.356	4.0602	0	0.86667
<chem>C=CC1CCC1</chem>	1	3	82.1454	1.9062	0	0.66667
<chem>CC(=C)C#CC(C)(C)C</chem>	1	3	-	-	-	-
<chem>CC(=C)[C@@H]1C[C@@H](CC[C@@]1(C)C=C)C(C)(C)O</chem>	1	1	222.37	4.1488	20.23	0.73333
<chem>CC(=C1CCC2(CCCC(=C)C2C1)C)C</chem>	1	1	204.356	4.7932	0	0.73333
<chem>CC(=CCC/C(=C/C/C=C(\C)/C=C)/C)C</chem>	1	1	-	-	-	-
<chem>CC(=CCC/C(=C/CC/C(=C/CC/C=C(/C/C=C(/CCC=C(C)C)\C)\C)/C)C</chem>	1	1	410.727	13.099	0	0.6
<chem>CC(=CCC/C(=C/CC/C(=C/CCC(C)(C=C)O)/C)C</chem>	1	1	290.489	7.5747	20.23	0.6
<chem>CC(=CCC/C(=C\CCC(=C)C=C)/C)C</chem>	1	1	204.356	6.465	0	0.46667
<chem>CC(=CCC/C(=C\CCC(=O)C)/C)C</chem>	1	1	194.317	4.7222	17.07	0.61538
<chem>CC(=CCC/C(=C\CC[C@@](C)(C=C)O)/C)C</chem>	1	1	222.37	5.4029	20.23	0.6
<chem>CC(=O)[C@H]1CC[C@@H]2[C@@]1(CC[C@H]3[C@H]2CCC4=CC(=O)C[C@]34C)C</chem>	1	4	314.467	4.019	34.14	0.80952
<chem>CC(C)(C1=CC=CC=C1)C2=CC(=C(C=C2)O)C(C)(C)C3=CC=CC=C3</chem>	1	9	330.469	5.1085	20.23	0.25
<chem>CC(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC1(CC(C=O)O1)C</chem>	1	5	324.547	6.7102	26.3	0.95238
<chem>CC/C=C\C/C=C\C/C=C\C\CCCCCCC(C(=O)OC)O</chem>	1	2	308.46	5.6208	46.53	0.63158
<chem>CC/C=C\C/C=C\C/C=C\C\CCCCCCC(=O)O</chem>	1	2	278.434	6.2147	37.3	0.61111
<chem>CC/C=C\C/C=C\C/C=C\C\CCCCCCC(=O)OC</chem>	1	2	292.461	6.6426	26.3	0.63158
<chem>CC1(CCCC2(C1=CC(=O)O2)C)C</chem>	1	5	180.246	1.7589	26.3	0.72727
<chem>CC1=C(C2(C3C2CC1(C3)C)C)C</chem>	1	3	162.275	3.1268	0	0.83333
<chem>CC1=C(C=C2CCC(OC2=C1C)(C)CC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)O</chem>	1	4	416.687	9.2999	29.46	0.78571
<chem>CC1=C(OC=C1)CCC(C)CCCC(C)CC(C)C</chem>	1	9	292.505	7.1506	13.14	0.8



CC1=C2C[C@@H](CC[C@]2(CCC1)C)C(C)(C)O	1	1	222.37	3.7311	20.23	0.86667
CC1=CC(=C(C=C1)C)C=C	1	3	132.205	3.0503	0	0.2
CC1=CC(=CC=C1)C	1	3	106.167	2.3474	0	0.25
CC1=CC2=C(C=C1)C=CC(=C2)C	1	3	156.227	3.5418	0	0.16667
CC1=CC=C(C=C1)C(=O)C	1	5	134.177	1.8747	17.07	0.22222
CC1=CC=C(C=C1)C(C)CCC=C(C)C	1	1	202.34	5.3623	0	0.46667
CC1=CCC[C@]2([C@H]1C[C@@H](CC2)C(C)(C)O)C	1	1	222.37	3.5602	20.23	0.86667
CC1=C[C@@H]2[C@H](CC1)C(=CC[C@H]2C(C)C)C	1	1	204.356	4.253	0	0.73333
CC1=C[C@H]2[C@@H](CC1)C(=C)CC[C@H]2C(C)C	1	1	204.356	4.3313	0	0.73333
CC1=C[C@H]2[C@@H](CCC(=C2C1)C)C(C)C	1	1	204.356	4.4239	0	0.73333
CC1=C[C@H]2[C@H](CC1)C(=C)CC[C@H]2C(C)C	1	1	204.356	4.3313	0	0.73333
CCC(=O)C1=CC=CC=C1	1	5	134.177	1.9852	17.07	0.22222
CCC(C)CCCC(C)CCCC(C)CCC=C(C)C	1	1	280.538	8.3479	0	0.9
CCC(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C	1	1	282.553	8.212	0	1
CCC1=C(C(=C(C=C1)C)C)CC	1	3	162.275	3.8664	0	0.5
CCC=CC#CCCCCCCCC	1	3	192.345	5.81	0	0.71429
CCCC(C)OC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)OC2CCCCC2	1	6	318.411	4.7157	52.6	0.57895
CCCC=CC(C)C	1	3	112.215	3.2153	0	0.75
CCCCC(CC)COC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)O	1	6	278.347	3.9543	63.6	0.5
CCCCC/C=C\C/C=C\C\CCCCCCCCC(=O)O	1	2	280.45	6.4669	37.3	0.72222
CCCCCC/C(=C\C1=CC=CC=C1)/C=O	1	5	216.323	4.4896	17.07	0.4
CCCCCC/C=C/C=C\C\CCCCCCCCC(=O)OC	1	2	294.477	6.8948	26.3	0.73684
CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O	1	2	256.428	6.0625	37.3	0.9375
CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC	1	2	270.455	6.4904	26.3	0.94118
CCCCCCCCCCCCCCCCC/C=C/CC	1	3	280.538	8.9042	0	0.9
CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O	1	2	284.482	6.9713	37.3	0.94444
CCCCCCCCCCCCCCCCC=C	1	3	266.511	8.5165	0	0.89474
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	1	3	282.553	9.1564	0	1
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	1	3	296.58	9.6108	0	1
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC	1	2	382.67	10.126	26.3	0.96
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC	1	3	364.699	11.697	0	0.92308
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	1	3	380.742	12.337	0	1

CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCO	1	2	326.606	9.1385	20.23	1
CCCCOC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)OCC(C)C	1	5	278.347	3.8797	52.6	0.5
CCCCOC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)OCC(C)C	1	6	-	-	-	-
COC1=C(C=CC(=C1)CC=C)O	1	9	164.203	2.2723	29.46	0.2
C[C@@H](CCC[C@@H](C)CCC/C(=C/CO)/C)CCCC(C)C	1	1	296.537	7.4212	20.23	0.9
C[C@@H]1CCC[C@@]2(C1=C[C@@H](CC2)C(C)(C)O)C	1	1	222.37	3.5602	20.23	0.86667
C[C@@H]1CC[C@H](C2=CC(=C)CC[C@H]12)C(C)C	1	1	204.356	4.3313	0	0.73333
C[C@@H]1CC[C@H]([C@H]2[C@]13[C@@H]2C(=C)CC3)C(C)C	1	1	204.356	4.0594	0	0.86667
C[C@@H]1CC[C@H]([C@H]2[C@]13[C@@H]2C(=CC3)C(C)C	1	1	204.356	3.9811	0	0.86667
C[C@@]12CC[C@@H]3[C@H](CC3(C)C)C(=C)CC[C@H]1O2	1	1	220.355	4.0553	12.53	0.86667
C[C@H]1CCCC2=CC(=O)C(=C(C)C)C[C@]12C	1	1	218.339	4.0065	17.07	0.66667
C[C@]1(CC[C@H]2[C@H]1[C@@H]3[C@@H](C3(C)C)CCC2=C)O	1	1	220.355	3.1746	20.23	0.86667
C[C@]12CCCC(=C)[C@@H]1C[C@@H](CC2)C(C)(C)O	1	1	222.37	3.6385	20.23	0.86667
C(=C(C)Cl)(Cl)Cl	2	8	-	-	-	-
C/C/1=C\CCC(=C)[C@H]2CC([C@@H]2CC1)(C)C	2	1	204.356	5.4861	0	0.73333
C/C=C/C=C\CC/C=C/C(=O)NCC(C)C	2	7	221.343	3.6122	29.1	0.5
C/C=C/C=O	2	5	-	-	-	-
C1CC=CC(=O)C1	2	5	-	-	-	-
C1CC[C@@H]([C@H](C1)Cl)Cl	2	8	153.051	2.622	0	1
C1OC2=C(O1)C=C(C=C2)C=O	2	5	150.133	1.7043	35.53	0.125
CC(=O)O	2	5	-	-	-	-
CC(C)C1CCC2(C3C1C4C2(C4C3)C)C	2	1	204.356	3.7092	0	1
CC/C=C/C=C/C=O	2	5	-	-	-	-
CC1(C2CCC(C2)C1=C)C	2	1	136.237	2.7993	0	0.8
CC1(CCCC23C1=CC(C2(C)C)CC3)C	2	1	204.356	4.0441	0	0.86667
CC1([C@H]2CCC(=C)[C@@H]1C2)C	2	1	136.237	2.7993	0	0.8
CC1=CC(=C(C(=C1)C)C)C	2	3	134.221	3.0352	0	0.4
CC1=CC(=C(C=C1)C(C)C)OC	2	6	164.247	3.1205	9.23	0.45455
CC1=CC(=C(C=C1)OC)C(C)C	2	6	164.247	3.1205	9.23	0.45455
CC1=CC(=C(C=C1)C)C	2	3	134.221	3.0352	0	0.4
CC1=CC(CCC1)C(=C)C	2	1	136.237	3.3614	0	0.6
CC1=CC=C(C=C1)C(C)C	2	1	134.221	3.1905	0	0.4
CC1=CC=C(C=C1)C(C)C	2	1	134.221	3.1905	0	0.4
CC1=CC=CC=C1C(C)C	2	1	134.221	3.1905	0	0.4

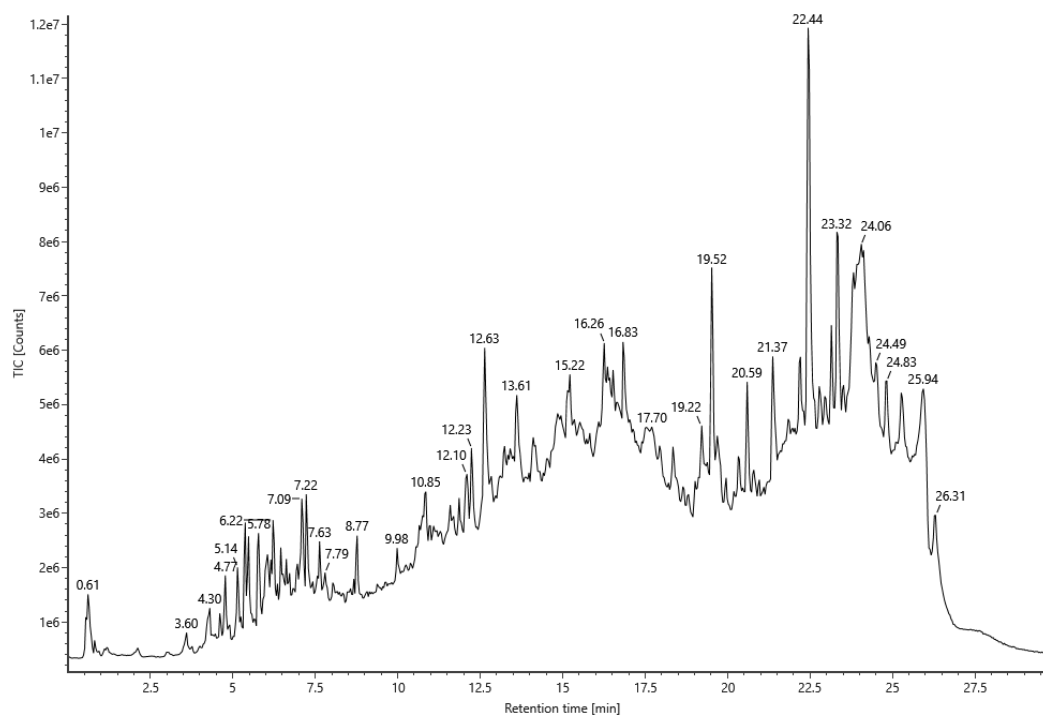
<chem>CC1=CC[C@@H](CC1)C(=C)C</chem>	2	1	136.237	3.3614	0	0.6
<chem>CC1CCC(C2C13C2C(=CC3)C)C(C)C</chem>	2	1	204.356	3.9811	0	0.86667
<chem>CCC(C)C1=CC=C(C=C1)C</chem>	2	3	148.248	3.6449	0	0.45455
<chem>CCC(C)CNC(=O)/C=C/CC/C=C\C=C\C</chem>	2	7	235.369	4.0666	29.1	0.53333
<chem>CCC1=C(C=CC(=C1)C)C</chem>	2	3	-	-	-	-
<chem>CCC1=CC(=C(C=C1)C)C</chem>	2	3	134.221	3.1069	0	0.4
<chem>CCC1=CC=CC(=C1C)C</chem>	2	3	134.221	3.1069	0	0.4
<chem>CCC=CC1=CC=CC=C1</chem>	2	3	132.205	3.2046	0	0.2
<chem>CCCCC(CC)COC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)OCCCC(C)C</chem>	2	6	362.508	6.37	52.6	0.63636
<chem>CCCCC/C=C/C=C/C=O</chem>	2	5	152.236	2.969	17.07	0.5
<chem>CCCCC/C=C\C/C=C\C\CCCCCCCC(=O)O</chem>	2	2	280.45	6.4669	37.3	0.72222
<chem>CCCCCC/C=C\C\CCCCCCCC(=O)O</chem>	2	2	254.412	5.8103	37.3	0.8125
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	2	2	256.428	6.0625	37.3	0.9375
<chem>C[C@@H]1CCC=C2[C@]1(C[C@@H](CC2)C(=C)C)C</chem>	2	1	204.356	4.6223	0	0.73333
<chem>C[C@@H]1CC[C@@H]2CC3=C(CC[C@]13C2(C)C)C</chem>	2	1	204.356	4.1528	0	0.86667
<chem>C/C=C/C(=O)C</chem>	3	5	84.1175	1.0352	17.07	0.4
<chem>C/C=C/C=O</chem>	3	5	70.0906	0.4948	17.07	0.25
<chem>C/C=C/CCCCCCCCCCCCC=O</chem>	3	2	252.44	6.402	17.07	0.82353
<chem>C1=CC=C(C=C1)C=O</chem>	3	5	106.124	1.5929	17.07	0
<chem>C1C/C=C\C=C/CC1</chem>	3	3	108.183	3.1308	0	0.5
<chem>C1CC=CC(=O)C1</chem>	3	5	96.1285	1.0682	17.07	0.5
<chem>C1CCC(CC1)OC(=O)C2=CC=CC=C2C(=O)OC3CCCCC3</chem>	3	6	330.422	4.597	52.6	0.6
<chem>C1CCC=CC1</chem>	3	3	82.1454	1.7766	0	0.66667
<chem>C1CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC1</chem>	3	3	336.645	10.906	0	1
<chem>C1CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC1</chem>	3	3	420.806	13.632	0	1
<chem>C1[C@H]2[C@H](CO[C@@H]2C3=C4C(C=C3)OCO4)[C@@H](O1)C5=CC6=C(C=C5)OCO6</chem>	3	10	354.357	3.2246	55.38	0.4
<chem>CC#CC(C)C</chem>	3	3	82.1454	2.1909	0	0.66667
<chem>CC(=CC=O)C</chem>	3	5	84.1175	1.1012	17.07	0.4
<chem>CC(=O)C1=CC=CC=C1</chem>	3	5	120.151	1.5308	17.07	0.125
<chem>CC(C)(C1=CC=CC=C1)C2=CC(=C(C=C2)O)C(C)(C)C3=CC=CC=C3</chem>	3	9	330.469	5.1085	20.23	0.25
<chem>CC(C)CCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	298.509	7.1631	26.3	0.94737
<chem>CC(C)CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC</chem>	3	2	368.643	9.4351	26.3	0.95833
<chem>CC/C=C/C=C/C=O</chem>	3	5	110.155	1.6058	17.07	0.28571

<chem>CC/C=C\C/C=C\C/C=C\C\CCCCCCCC(=O)OC</chem>	3	2	292.461	6.6426	26.3	0.63158
<chem>CC1=C(C(C=C1)(C)C)C</chem>	3	3	122.21	2.6404	0	0.55556
<chem>CC1=C(C(CC=C1)(C)C)/C=C/C(=O)C</chem>	3	1	190.285	3.0404	17.07	0.46154
<chem>CC1=C(C=C2CCC(OC2=C1C)(C)CC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)O</chem>	3	4	416.687	9.2999	29.46	0.78571
<chem>CC1=CC(=CC=C1)C</chem>	3	3	106.167	2.3474	0	0.25
<chem>CC1=CC2=C(C=C1)C(CC=C2)(C)C</chem>	3	3	172.27	3.4475	0	0.38462
<chem>CC1=CC=C(C=C1)C(=O)C</chem>	3	5	134.177	1.8747	17.07	0.22222
<chem>CC1=CC=C(C=C1)N2C(=C(C(=O)NC2=O)C=NC3=CC=C(C=C3)C)O</chem>	3	7	355.78	2.5886	82	0.055556
<chem>CCC(C)C(=C)C</chem>	3	3	98.1882	2.9796	0	0.71429
<chem>CCCC/C=C/C=C</chem>	3	3	110.199	3.2659	0	0.5
<chem>CCCCC</chem>	3	3	72.1503	2.3404	0	1
<chem>CCCCC(CC)COC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)O</chem>	3	6	278.347	3.9543	63.6	0.5
<chem>CCCCC/C=C/C=C/C=O</chem>	3	5	152.236	2.969	17.07	0.5
<chem>CCCCC/C=C/C=C/C=O</chem>	3	5	152.236	2.969	17.07	0.5
<chem>CCCCC/C=C\C/C=C\C\CCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	280.45	6.4669	37.3	0.72222
<chem>CCCCC/C=C\C/C=C\C\CCCCCCCC(=O)OC</chem>	3	2	294.477	6.8948	26.3	0.73684
<chem>CCCCCC/C(=C\C1=CC=CC=C1)/C=O</chem>	3	5	216.323	4.4896	17.07	0.4
<chem>CCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	144.213	2.4273	37.3	0.875
<chem>CCCCCCCC/C=C/CCCCCCCC</chem>	3	3	252.484	7.9954	0	0.88889
<chem>CCCCCCCC/C=C\C(C)C</chem>	3	3	210.403	6.3961	0	0.86667
<chem>CCCCCCCC(=O)C</chem>	3	5	170.295	4.0138	17.07	0.90909
<chem>CCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	172.267	3.3361	37.3	0.9
<chem>CCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	200.321	4.2449	37.3	0.91667
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	228.374	5.1537	37.3	0.92857
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC</chem>	3	2	242.401	5.5816	26.3	0.93333
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	256.428	6.0625	37.3	0.9375
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OC</chem>	3	2	270.455	6.4904	26.3	0.94118
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC/C=C/CC</chem>	3	3	280.538	8.9042	0	0.9
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC=CCCCCCC</chem>	3	3	364.699	11.631	0	0.92308
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>	3	3	254.5	8.2476	0	1
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)C</chem>	3	5	282.51	7.649	17.07	0.94737
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>	3	2	284.482	6.9713	37.3	0.94444
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC=O</chem>	3	5	268.483	7.1086	17.07	0.94444
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>	3	3	282.553	9.1564	0	1
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>	3	3	310.607	10.065	0	1
<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC</chem>	3	3	338.661	10.974	0	1



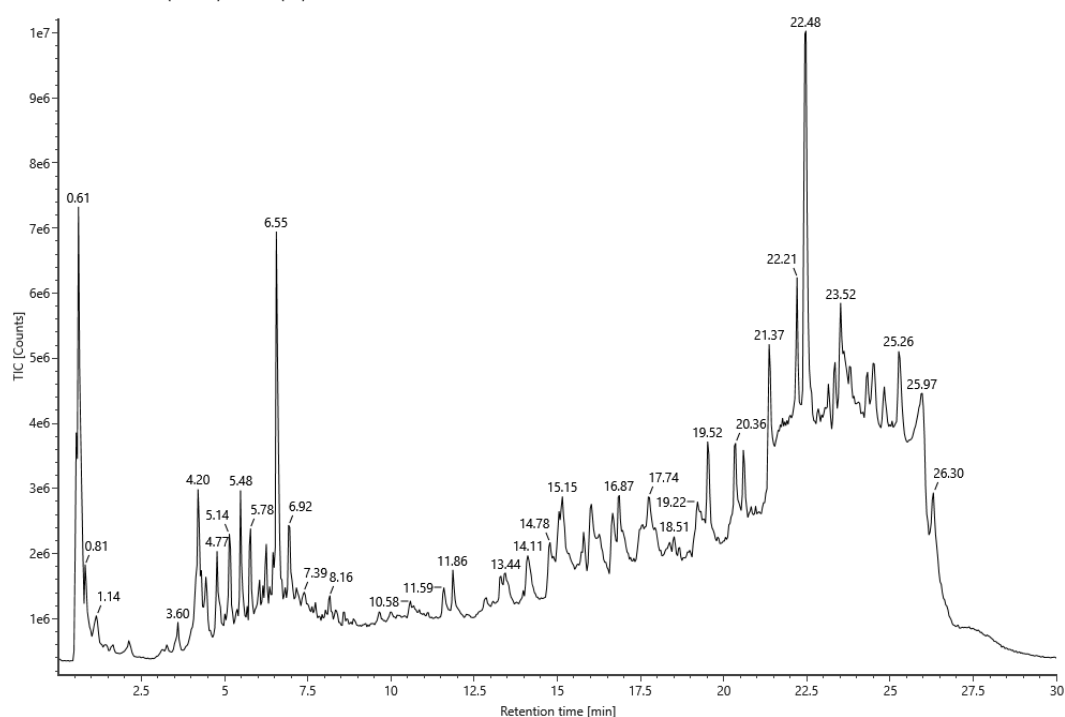
## IX.3 Cromatogramas UPLC-EM RAÍCES

Item name: HIR\_2uL  
Channel name: 2: TOF MSe (50-1800) -6eV ESI- (TIC)



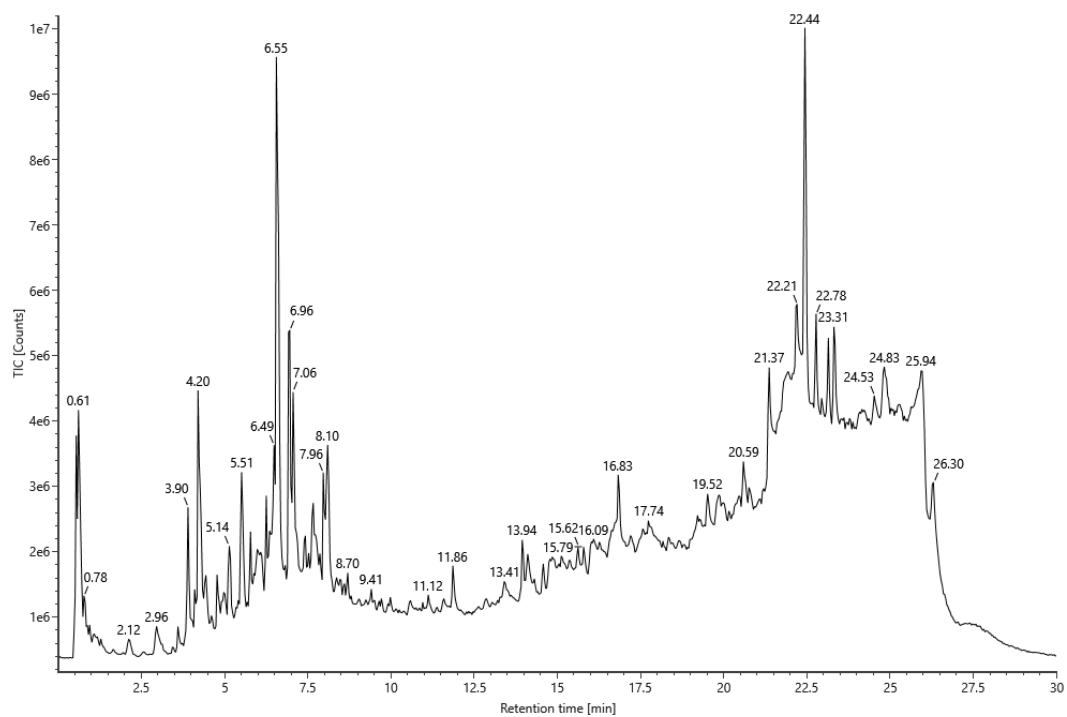
## SEMILLAS

Item name: HIS\_2uL  
Channel name: 2: TOF MSe (50-1800) -6eV ESI- (TIC)



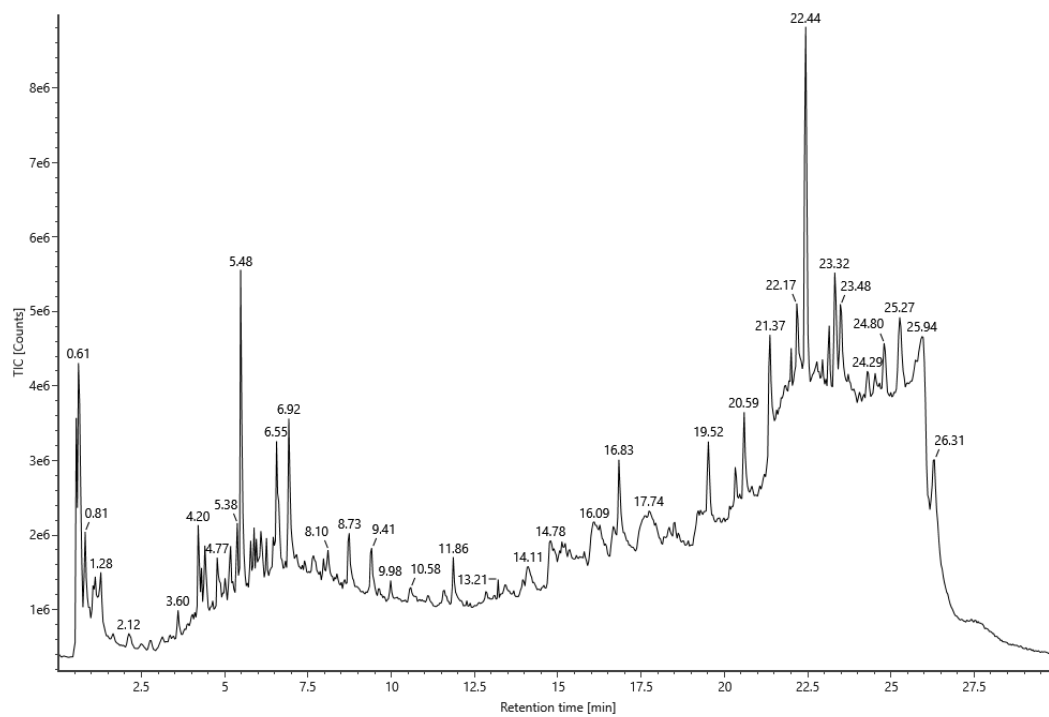
## HOJAS

Item name: HIH  
Channel name: 2: TOF MSe (50-1800) -6eV ESI- (TIC)



## FLORES

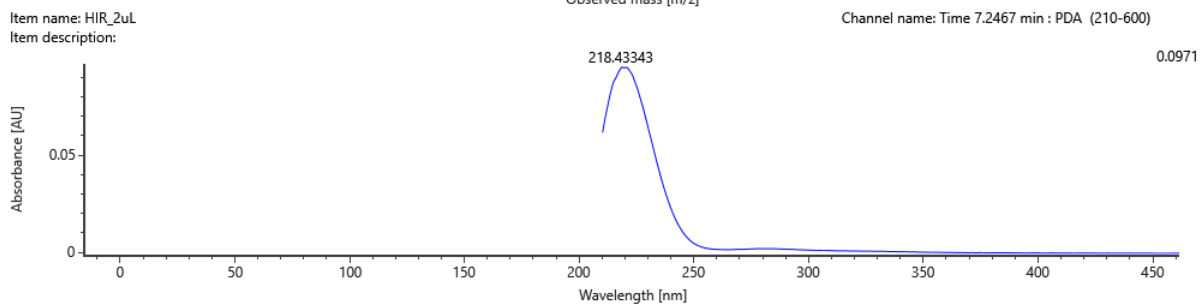
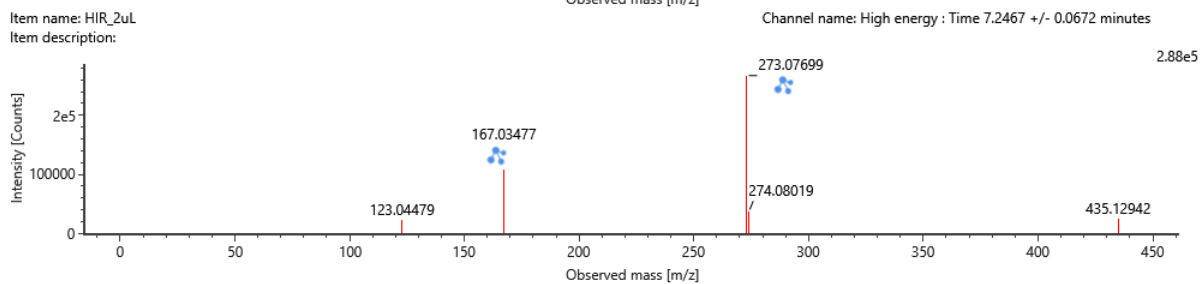
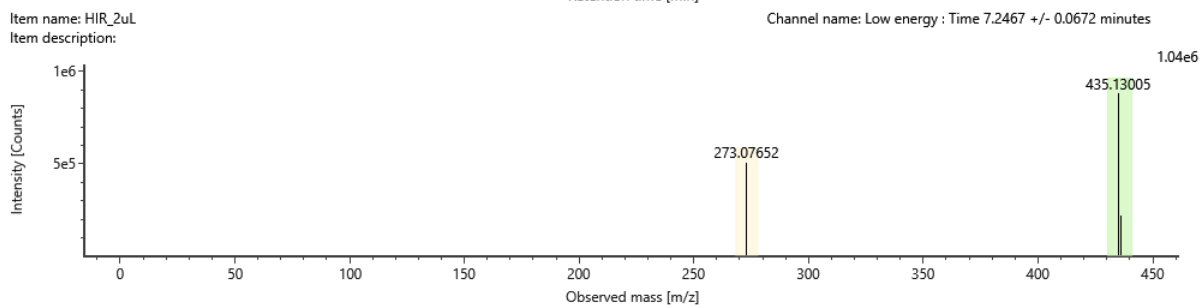
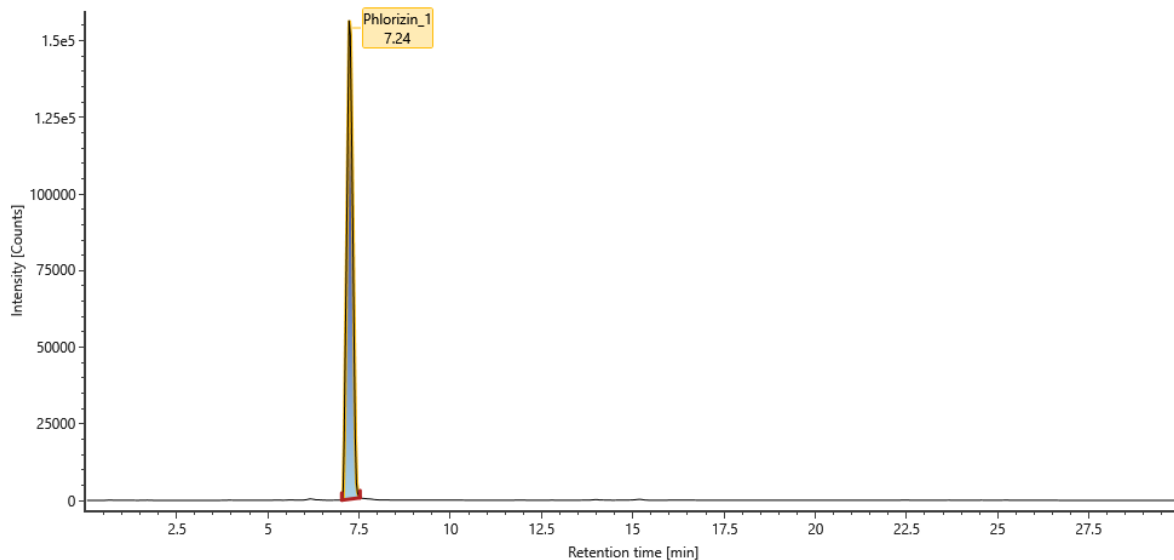
Item name: HIF  
Channel name: 2: TOF MSe (50-1800) -6eV ESI- (TIC)



# RAÍCES

## Florizina

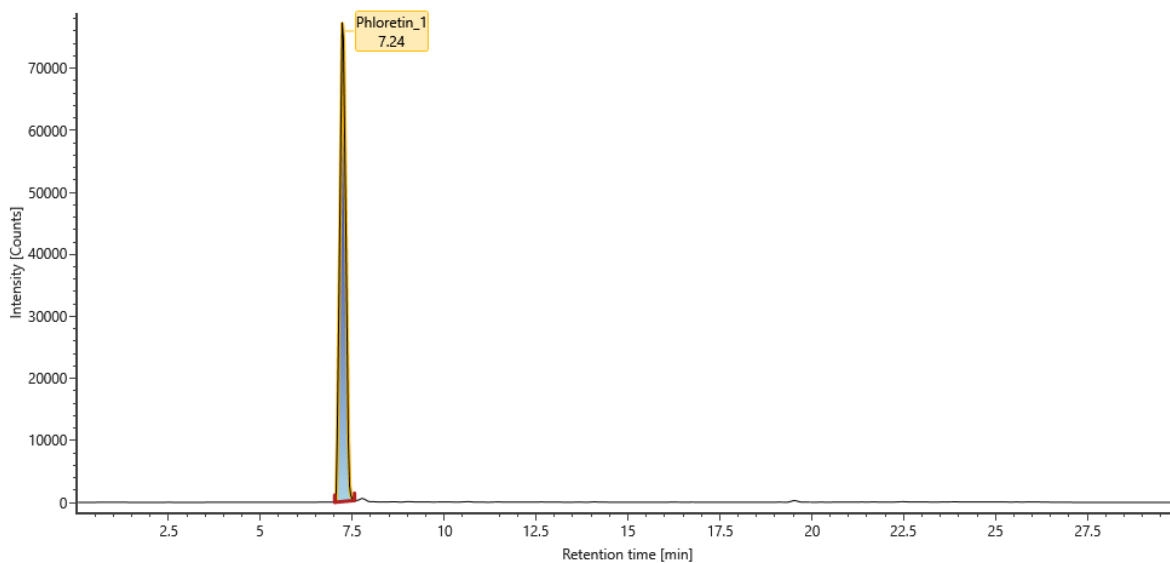
Item name: HIR\_2uL  
Channel name: Phloridzin [-H] : Phlorizin\_1 [-H] : (24.7 PPM) 435.1300





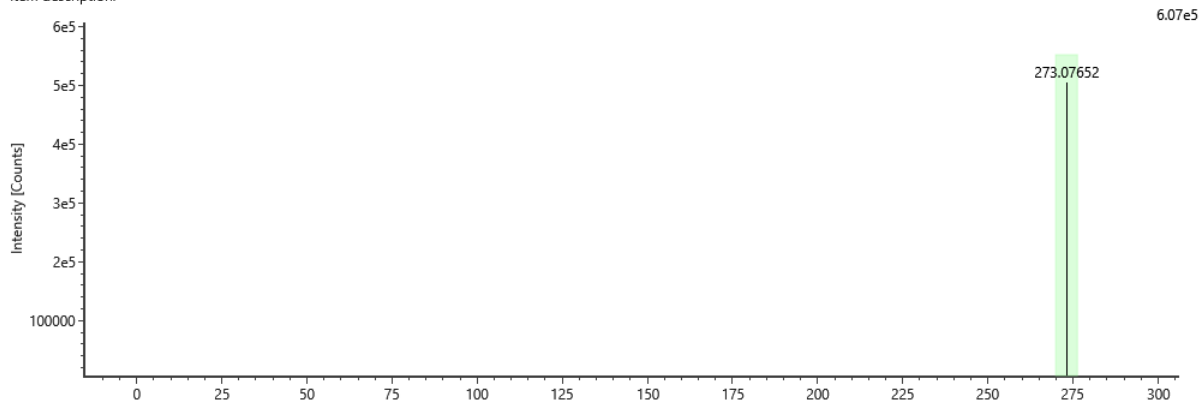
# Floretina

Item name: HIR\_2uL  
Channel name: Phloretin\_1 [-H] : (24.7 PPM) 273.0765



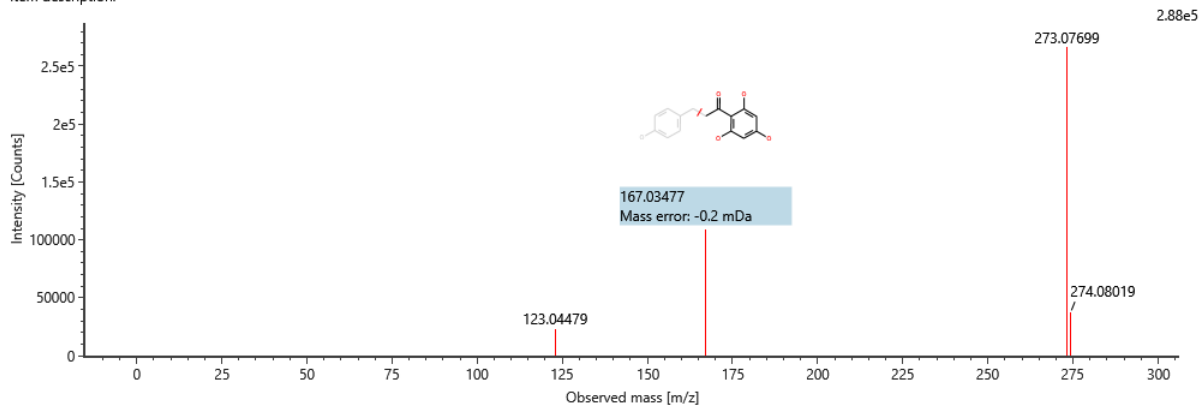
Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 7.2465 +/- 0.0672 minutes



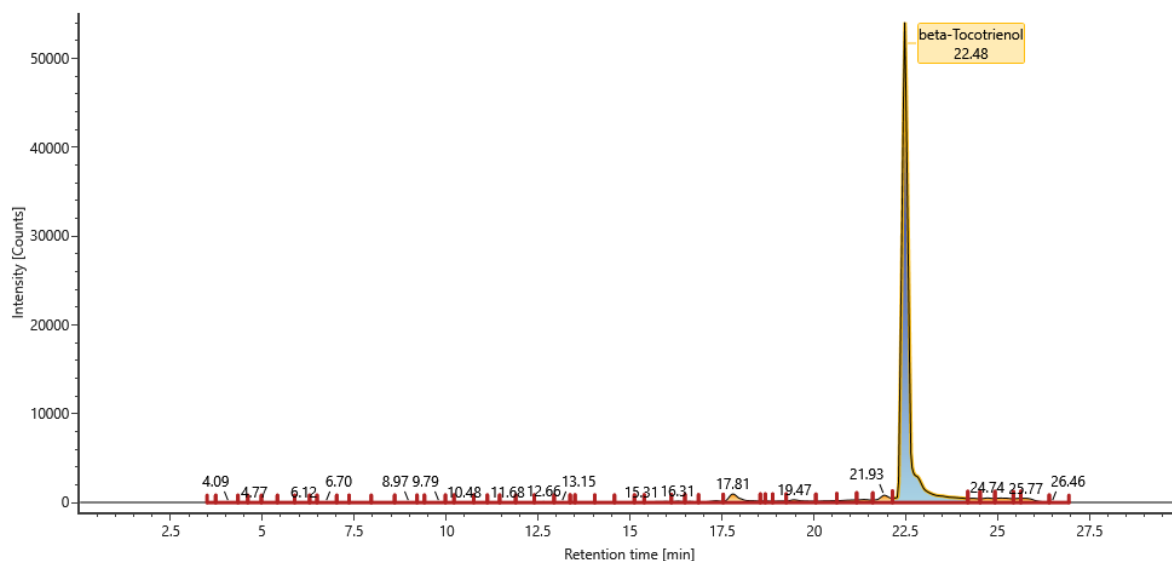
Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 7.2465 +/- 0.0672 minutes



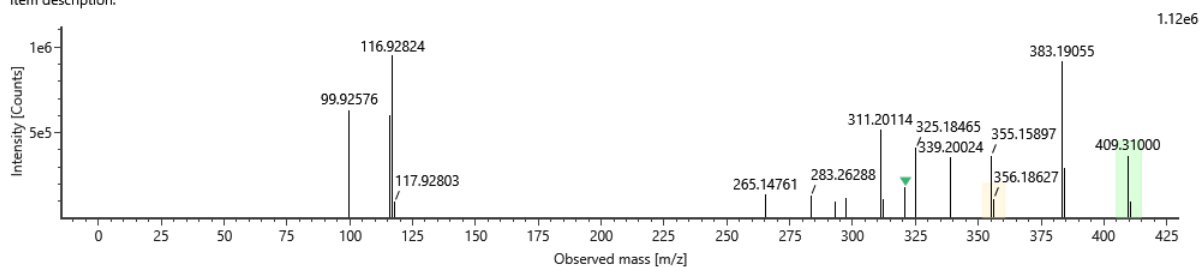
# $\beta$ -tocotrienol

Item name: HIR\_2uL  
Channel name: beta-Tocotrienol [-H] : (24.7 PPM) 409.3100



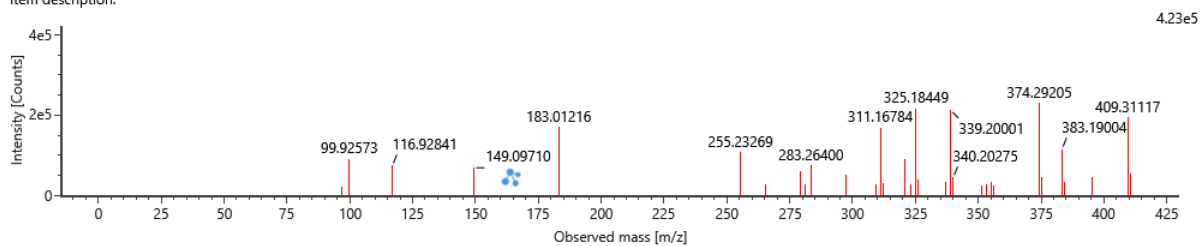
Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 22.4854 +/- 0.0672 minutes



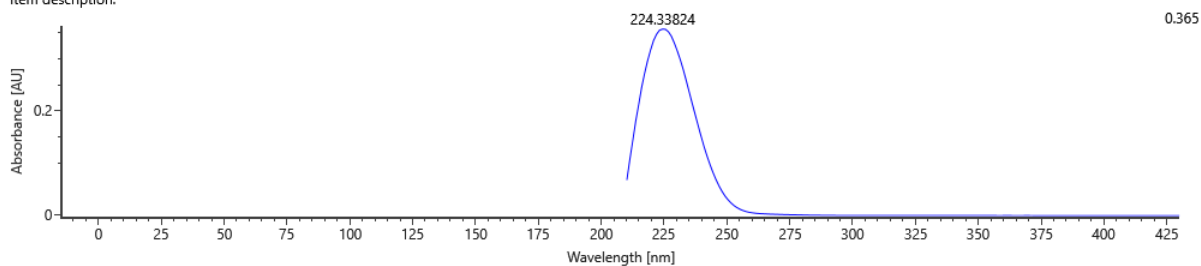
Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 22.4854 +/- 0.0672 minutes



Item name: HIR\_2uL  
Item description:

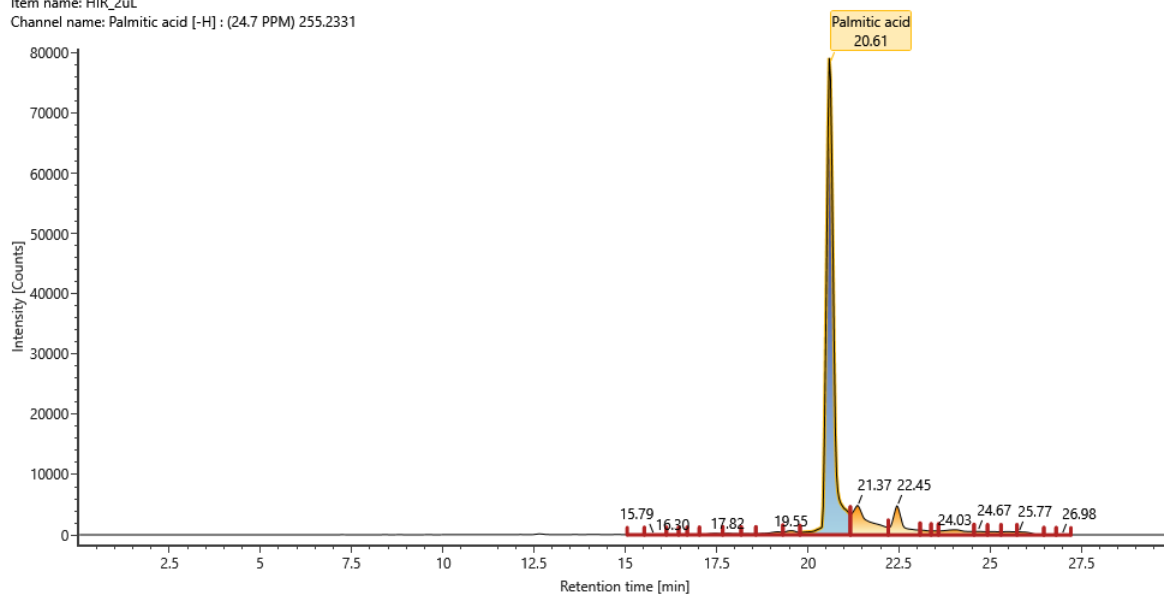
Channel name: Time 22.4854 min : PDA (210-600)



# Ácido palmítico

Item name: HIR\_2uL

Channel name: Palmitic acid [-H] : (24.7 PPM) 255.2331

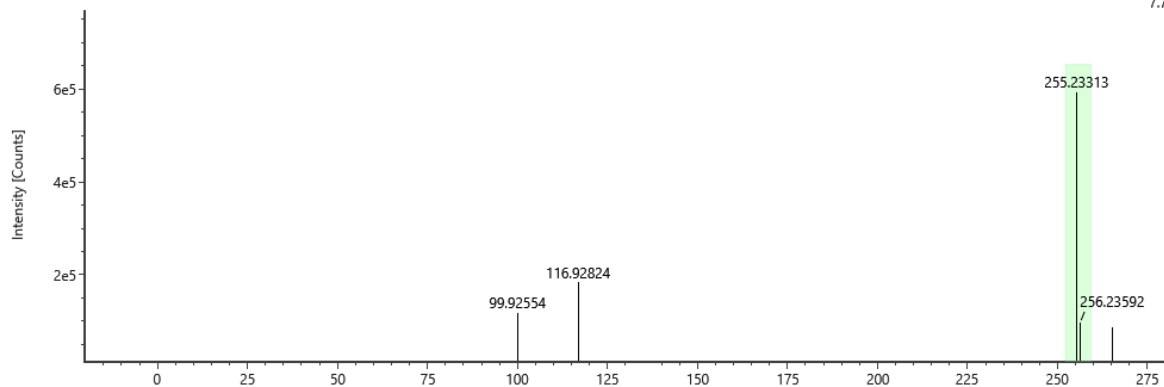


Item name: HIR\_2uL

Item description:

Channel name: Low energy : Time 20.6114 +/- 0.0672 minutes

7.71e5

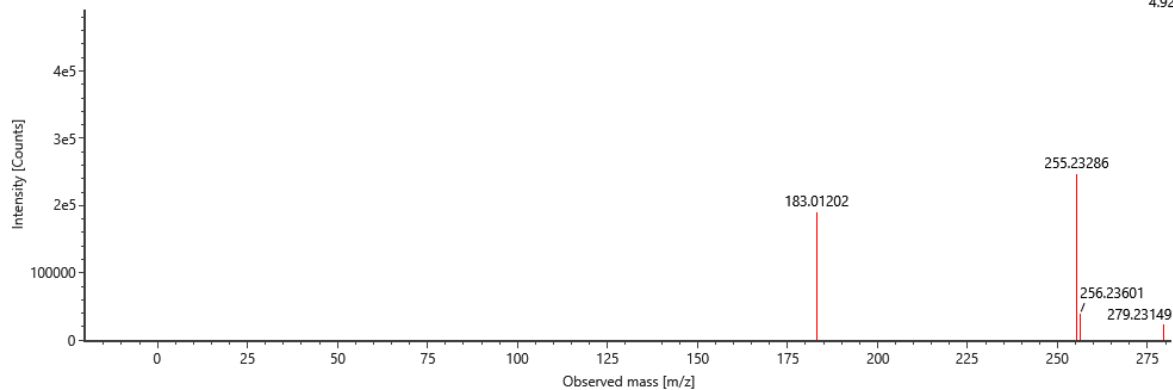


Item name: HIR\_2uL

Item description:

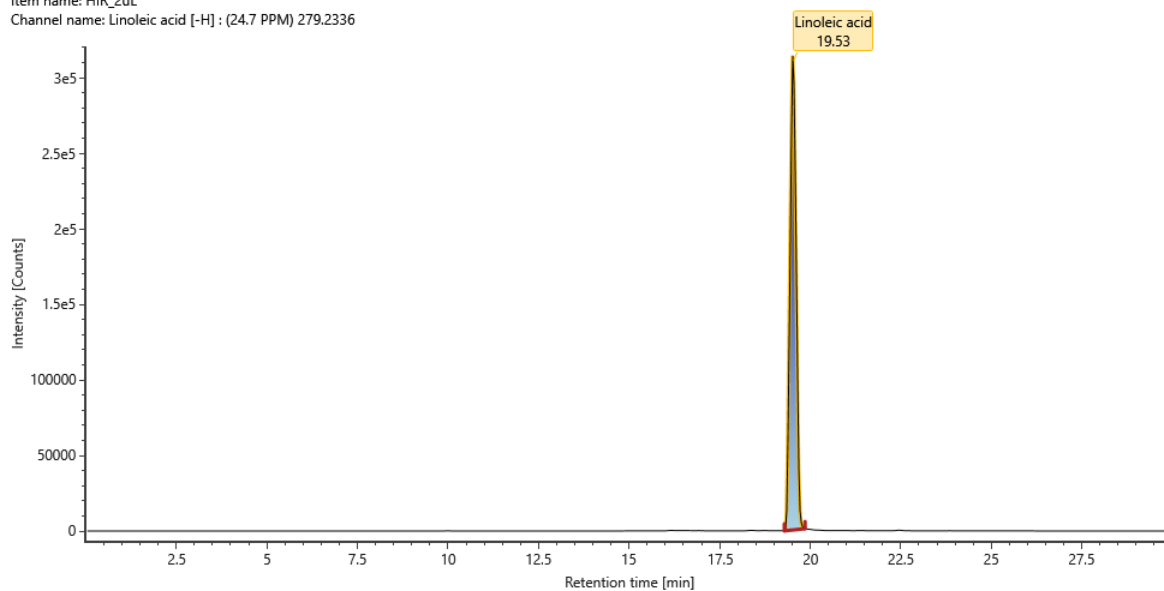
Channel name: High energy : Time 20.6114 +/- 0.0672 minutes

4.92e5



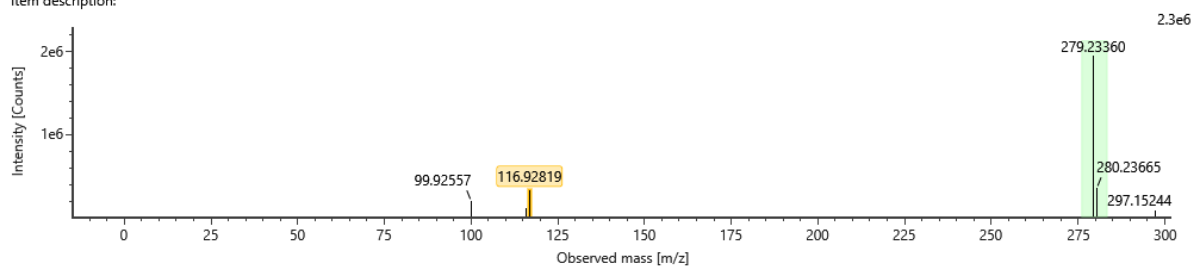
# Ácido linoleico

Item name: HIR\_2uL  
Channel name: Linoleic acid [-H] : (24.7 PPM) 279.2336



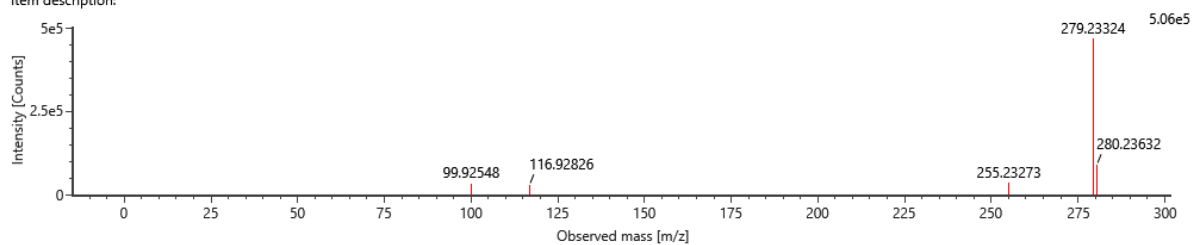
Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 19.5359 +/- 0.0672 minutes



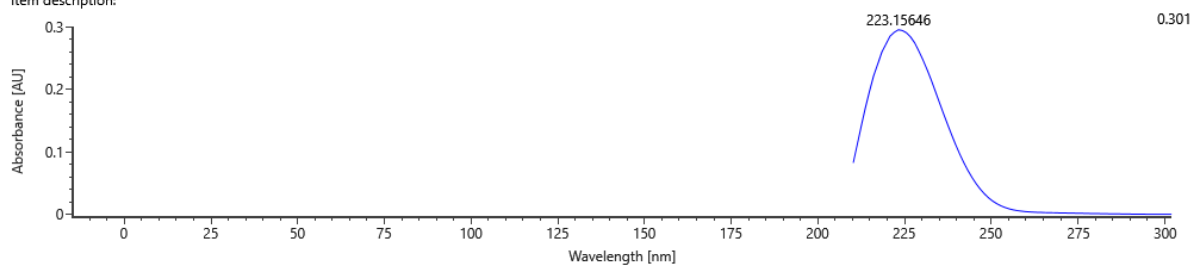
Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 19.5359 +/- 0.0672 minutes



Item name: HIR\_2uL  
Item description:

Channel name: Time 19.5359 min : PDA (210-600)

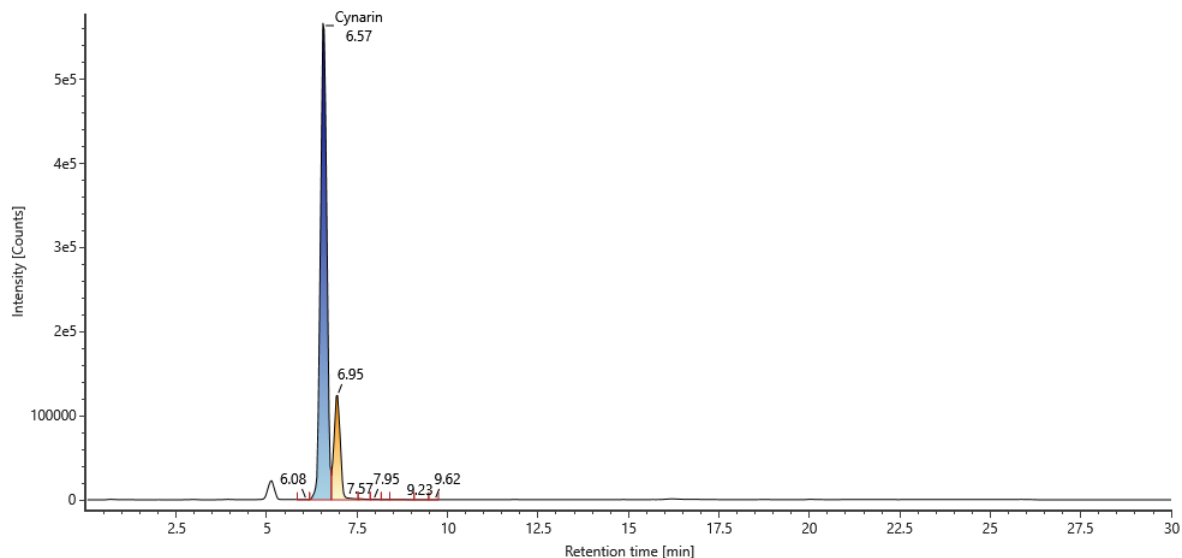


# SEMILLAS

## Cinarina

Item name: HIS\_2uL

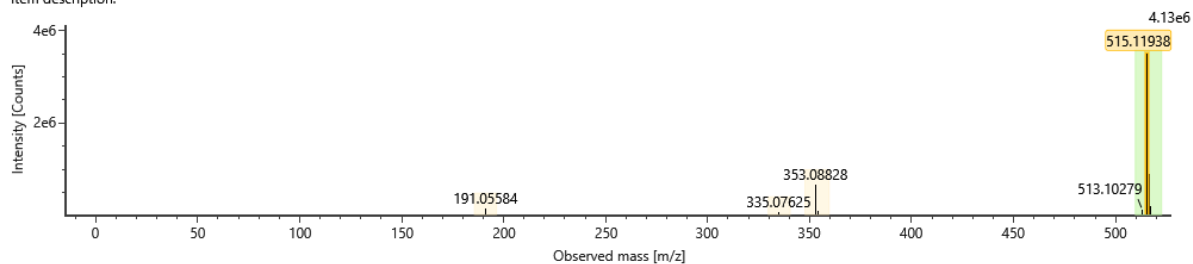
Channel name: 1,5-Dicaffeoylquinic acid [-H] : Cynarin [-H] : (24.7 PPM) 515.1194



Item name: HIS\_2uL

Item description:

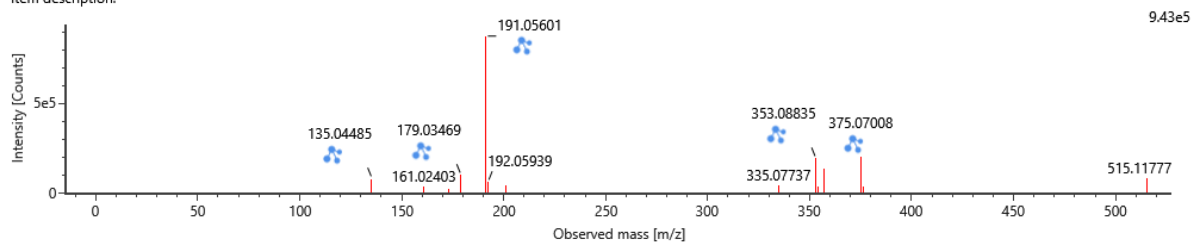
Channel name: Low energy : Time 6.5788 +/- 0.0618 minutes



Item name: HIS\_2uL

Item description:

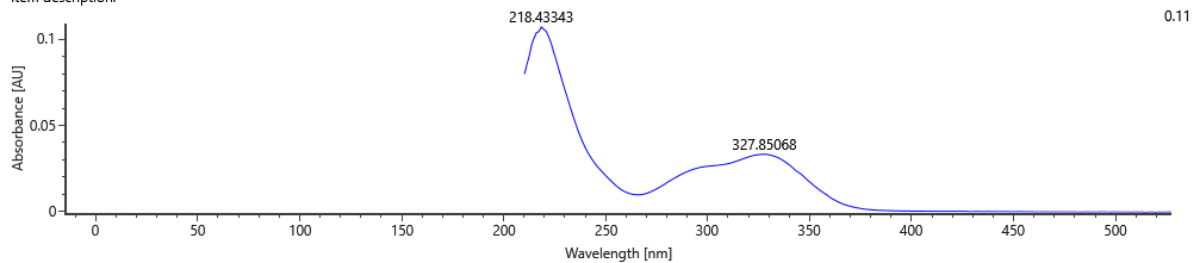
Channel name: High energy : Time 6.5788 +/- 0.0618 minutes



Item name: HIS\_2uL

Item description:

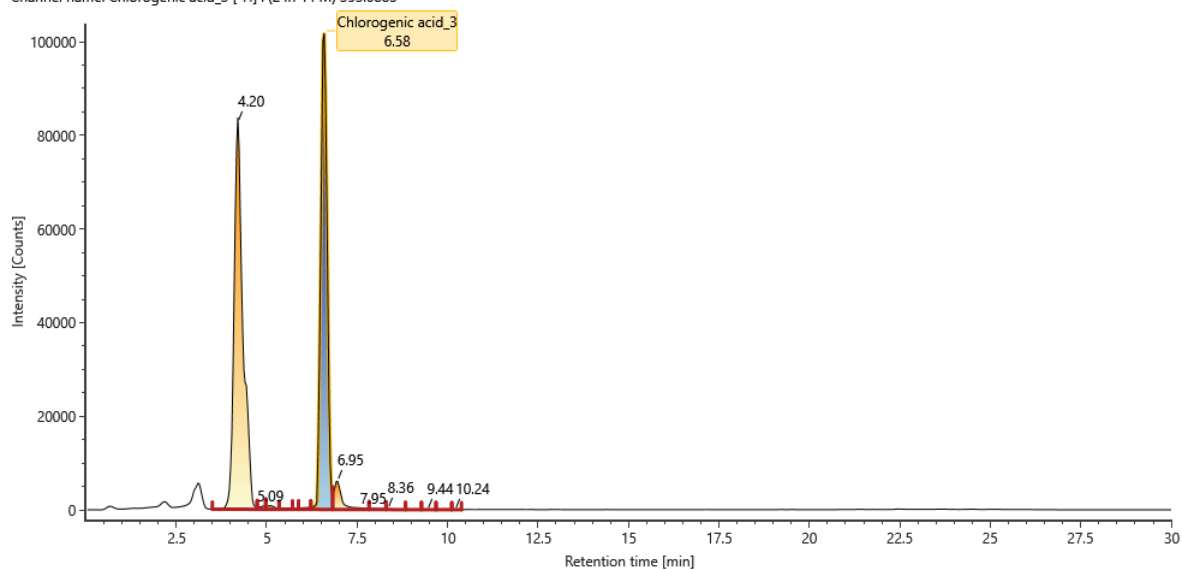
Channel name: Time 6.5788 min : PDA (210-600)



# Ácido clorogénico

Item name: HIS\_2uL

Channel name: Chlorogenic acid\_3 [-H] : (24.7 PPM) 353.0883

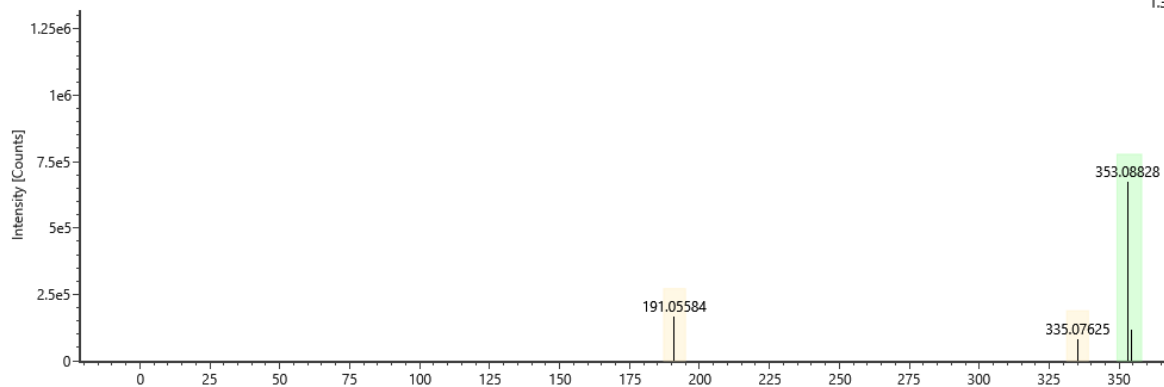


Item name: HIS\_2uL

Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5856 +/- 0.0618 minutes

1.32e6

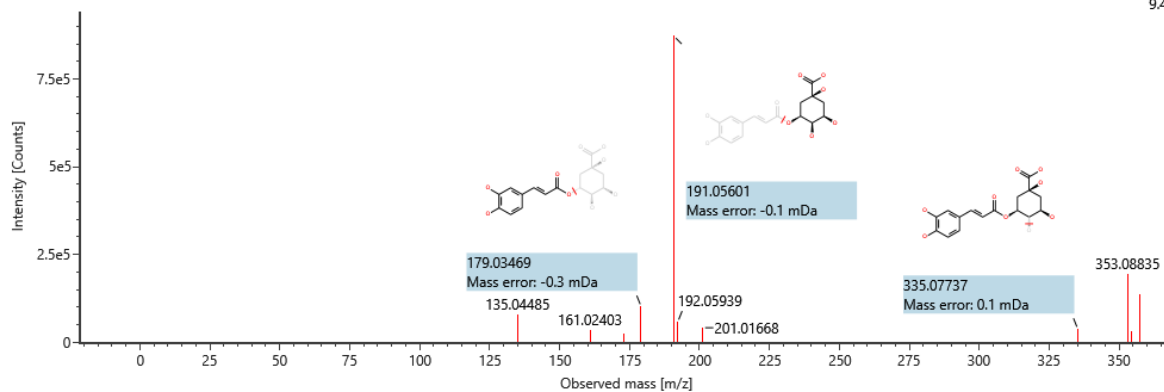


Item name: HIS\_2uL

Item description:

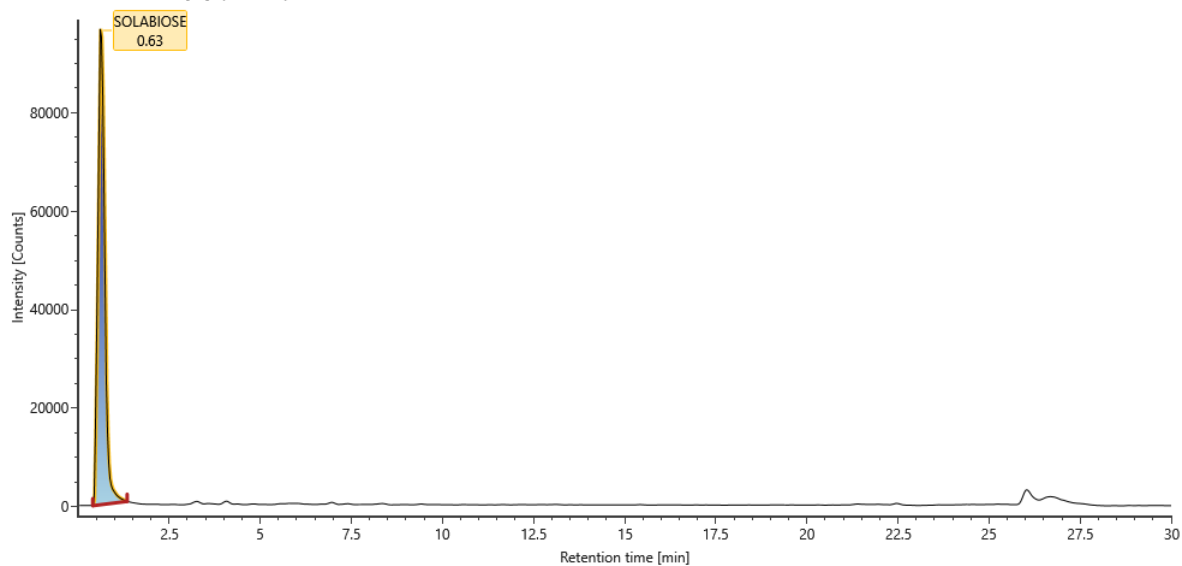
Channel name: High energy : Time 6.5856 +/- 0.0618 minutes

9.43e5



# Solabiosa

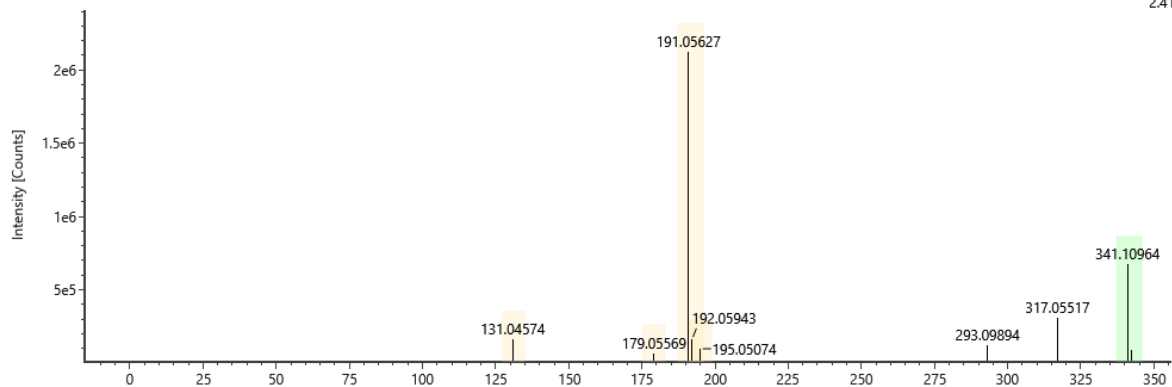
Item name: HIS\_2uL  
Channel name: SOLABIOSE [-H] : (24.7 PPM) 341.1096



Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 0.6329 +/- 0.0618 minutes

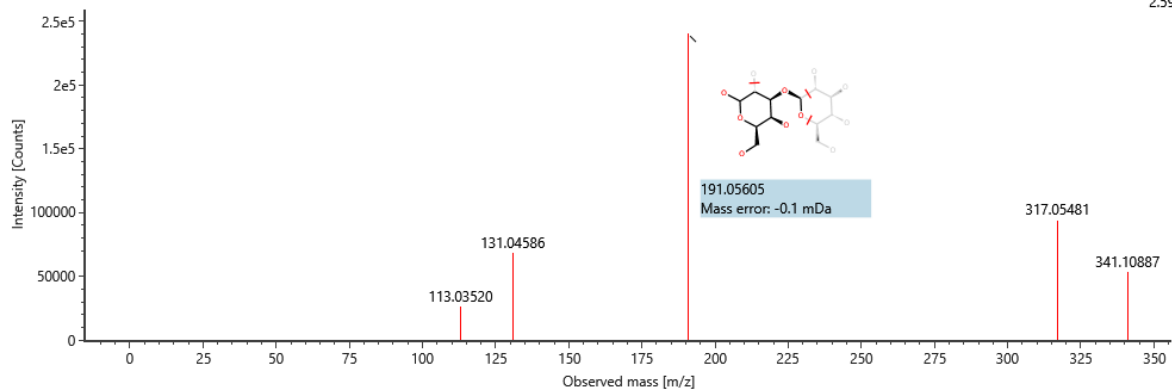
2.41e6



Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 0.6329 +/- 0.0618 minutes

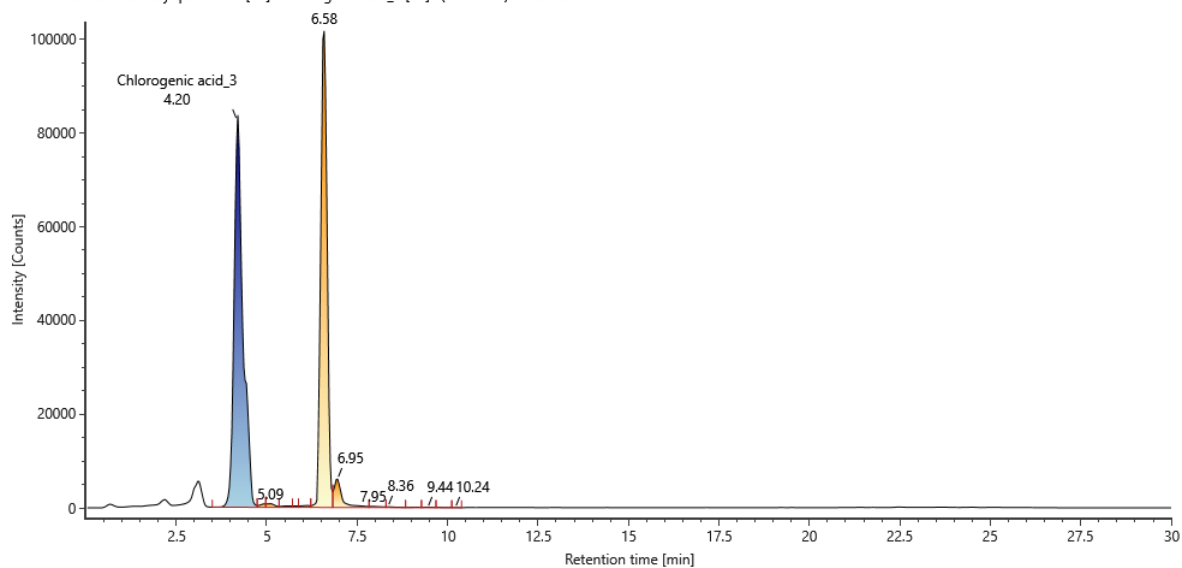
2.59e5



# Ácido 1-cafeoilquínico

Item name: HIS\_2uL

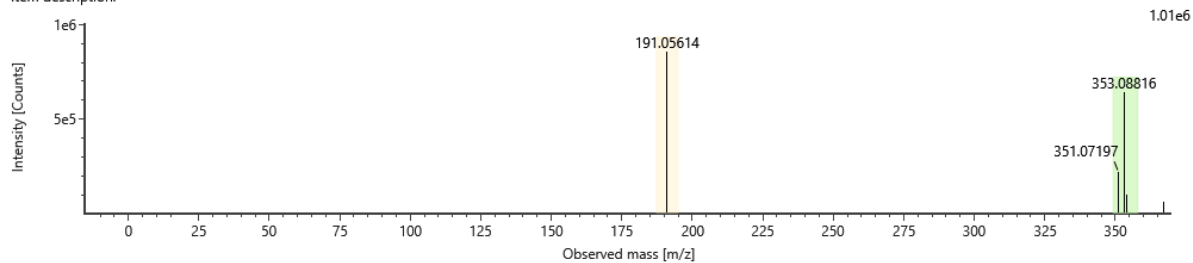
Channel name: 1-Caffeoylquinic acid [-H] : Chlorogenic acid\_3 [-H] : (24.7 PPM) 353.0882



Item name: HIS\_2uL

Item description:

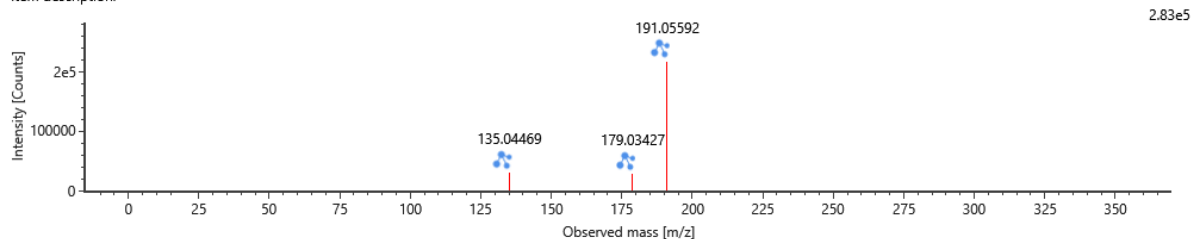
Channel name: Low energy : Time 4.2065 +/- 0.0618 minutes



Item name: HIS\_2uL

Item description:

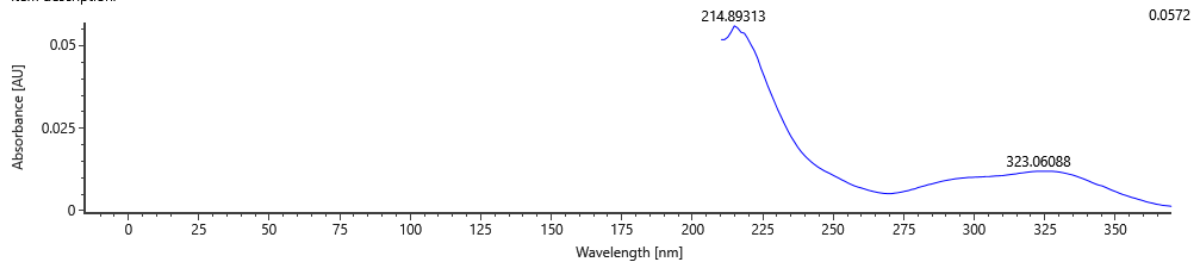
Channel name: High energy : Time 4.2065 +/- 0.0618 minutes



Item name: HIS\_2uL

Item description:

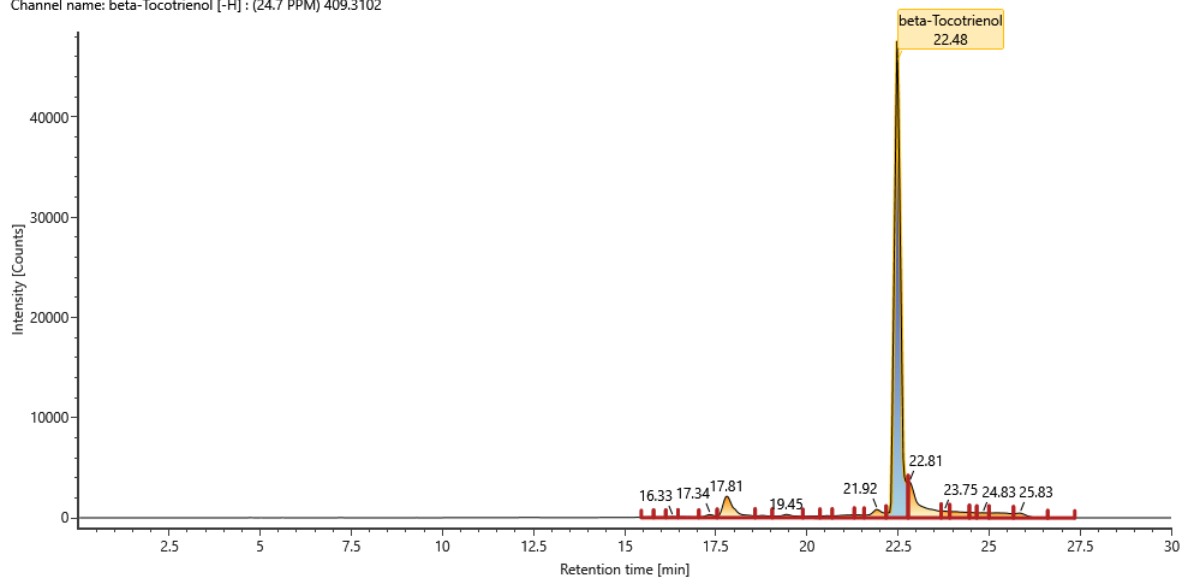
Channel name: Time 4.2065 min : PDA (210-600)





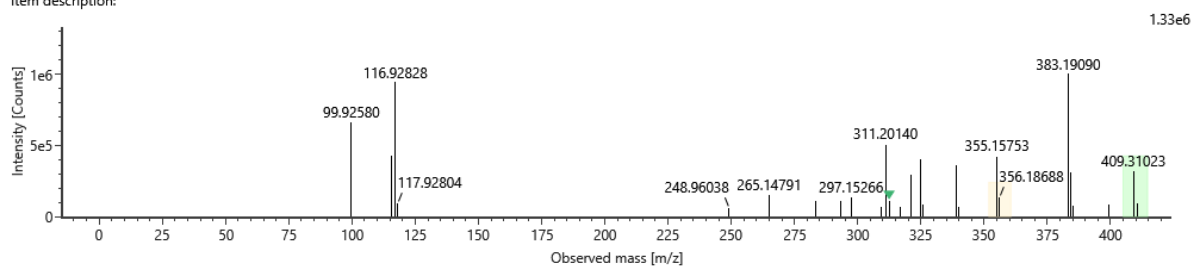
# $\beta$ -tocotrienol

Item name: HIS\_2uL  
Channel name: beta-Tocotrienol [-H] : (24.7 PPM) 409.3102



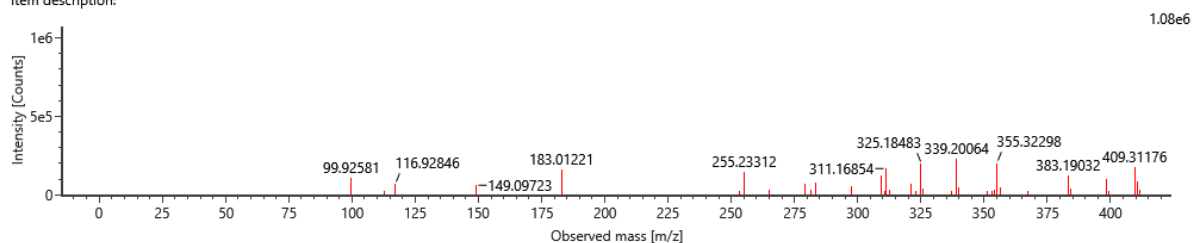
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 22.4870 +/- 0.0618 minutes



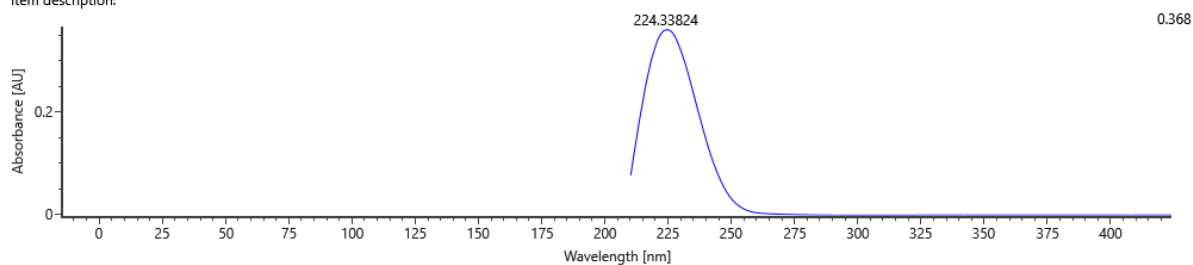
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 22.4870 +/- 0.0618 minutes



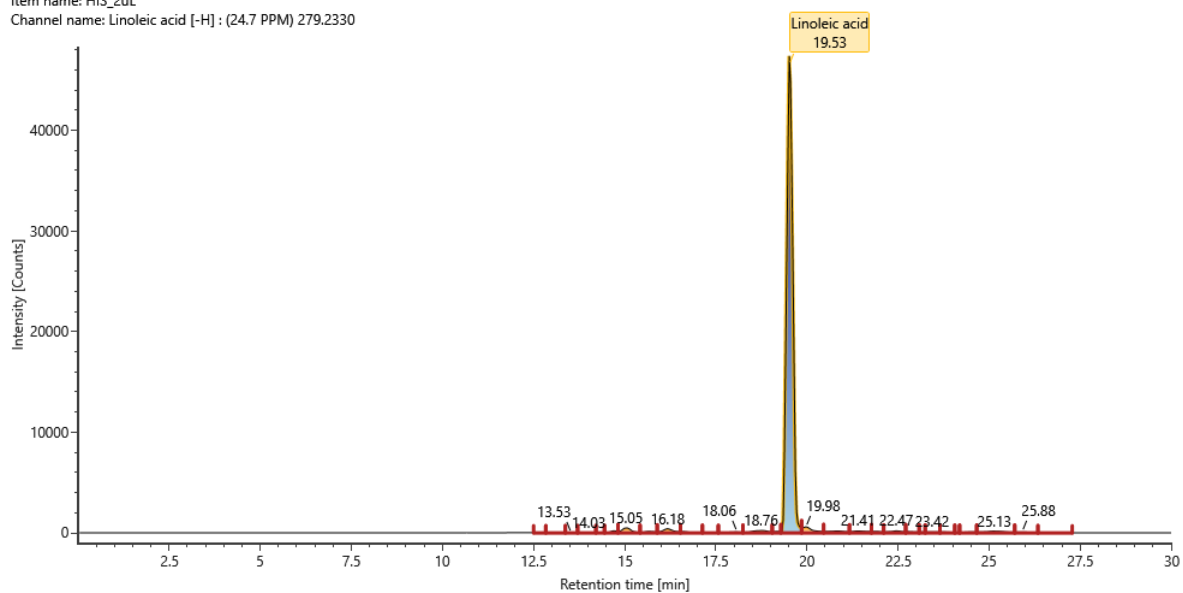
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Time 22.4870 min : PDA (210-600)



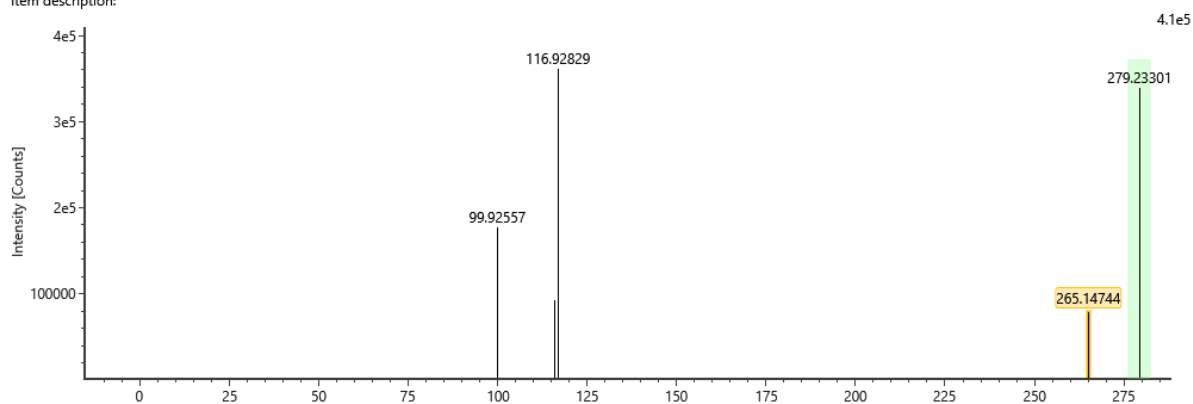
# Ácido linoleico

Item name: HIS\_2uL  
Channel name: Linoleic acid [-H] : (24.7 PPM) 279.2330



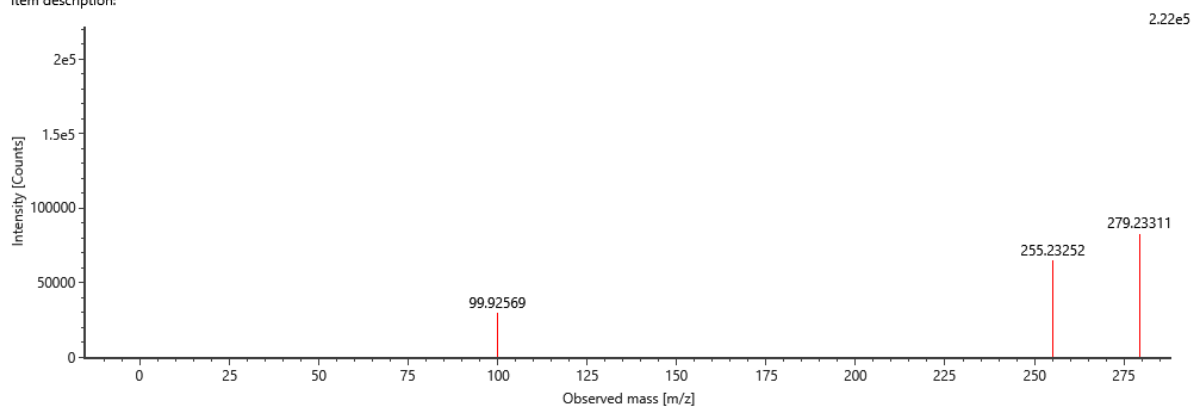
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 19.5373 +/- 0.0618 minutes



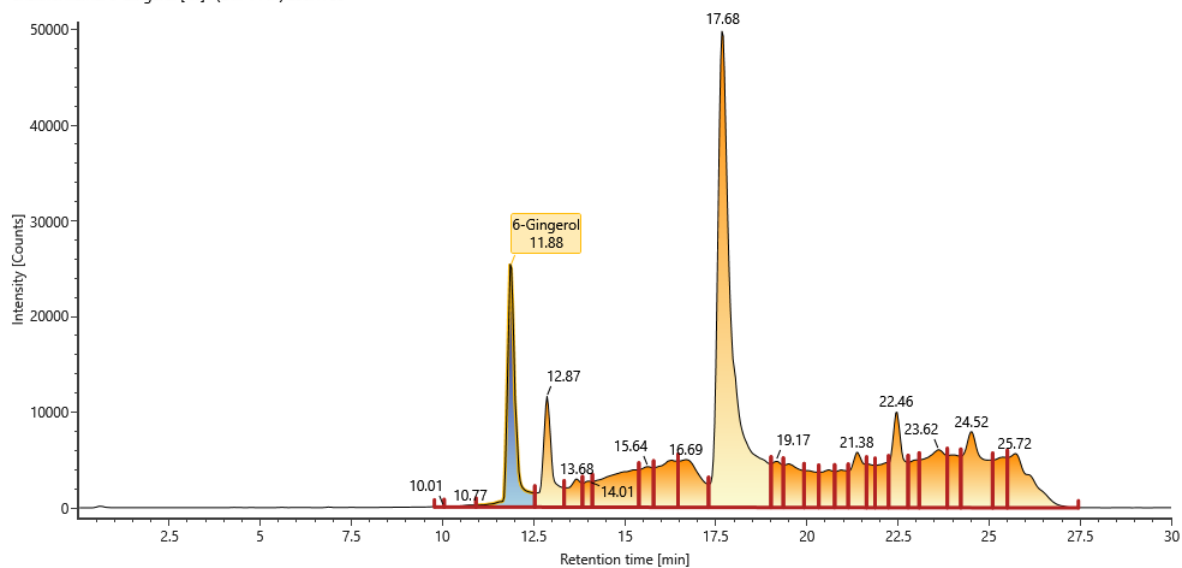
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 19.5373 +/- 0.0618 minutes



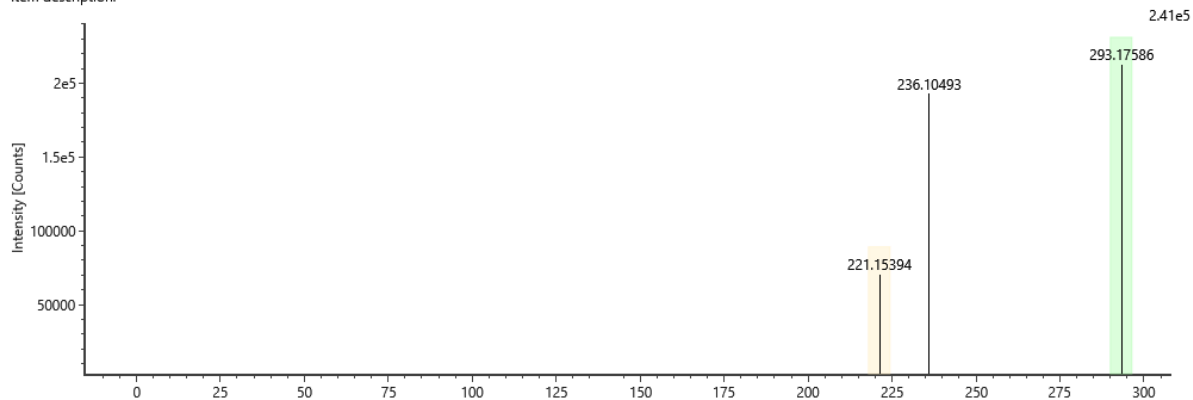
# 6-Gingerol

Item name: HIS\_2uL  
Channel name: 6-Gingerol [-H] : (24.7 PPM) 293.1759



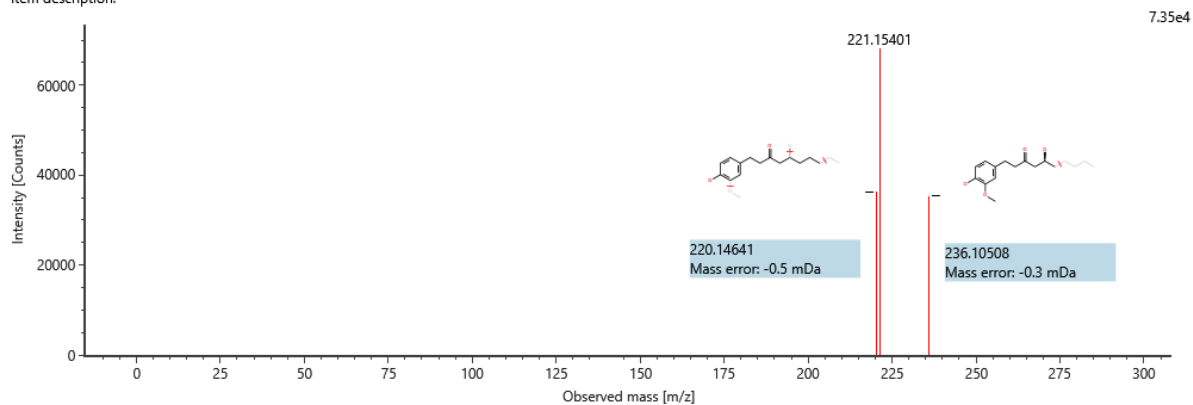
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 11.8820 +/- 0.0618 minutes



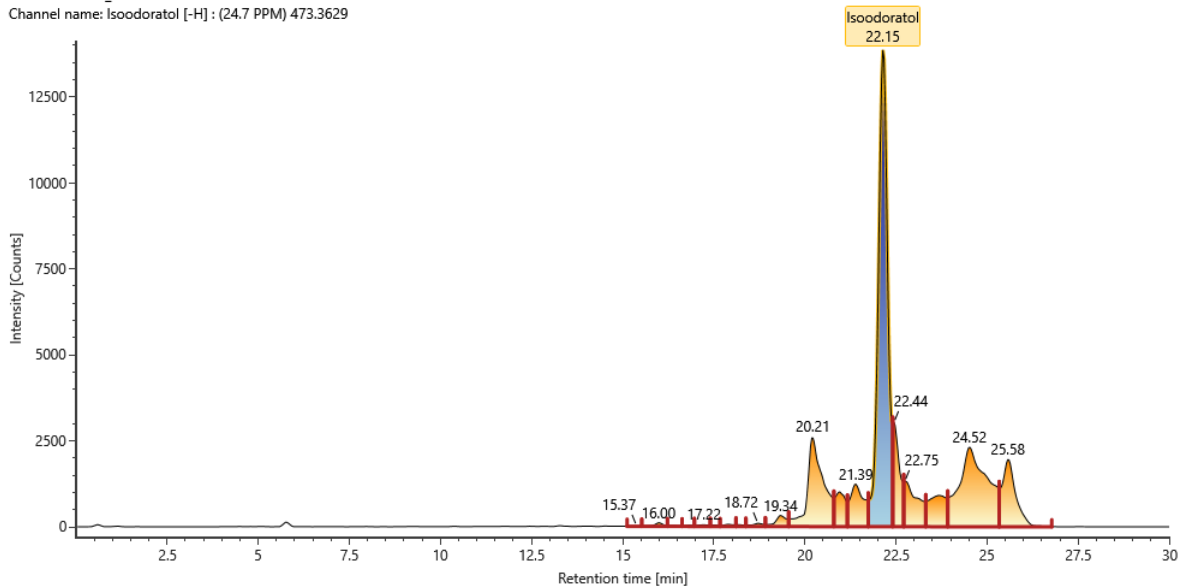
Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 11.8820 +/- 0.0618 minutes



# Isodoratol

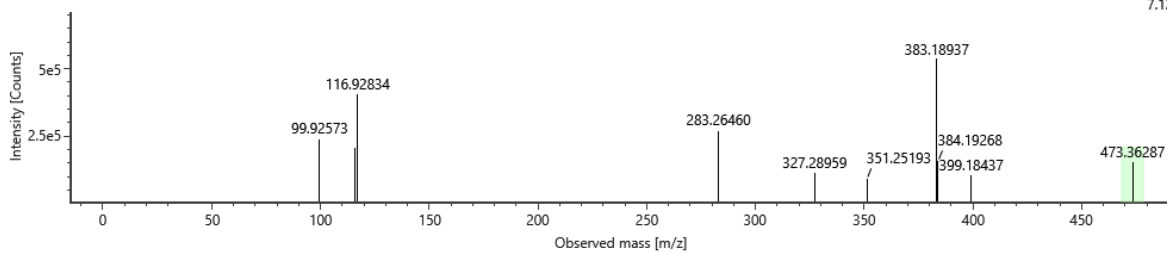
Item name: HIS\_2uL  
Channel name: Isodoratol [-H] : (24.7 PPM) 473.3629



Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 22.1666 +/- 0.0618 minutes

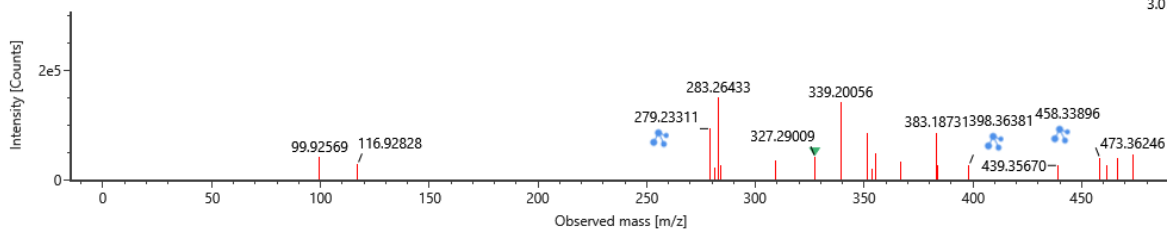
7.12e5



Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: High energy : Time 22.1666 +/- 0.0618 minutes

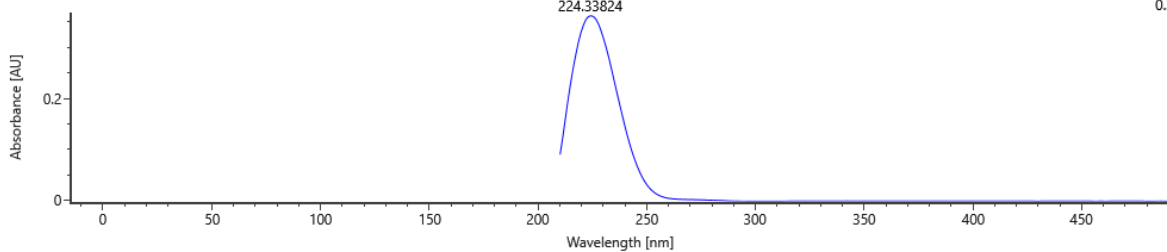
3.07e5



Item name: HIS\_2uL  
Item description:

Channel name: Time 22.1666 min : PDA (210-600)

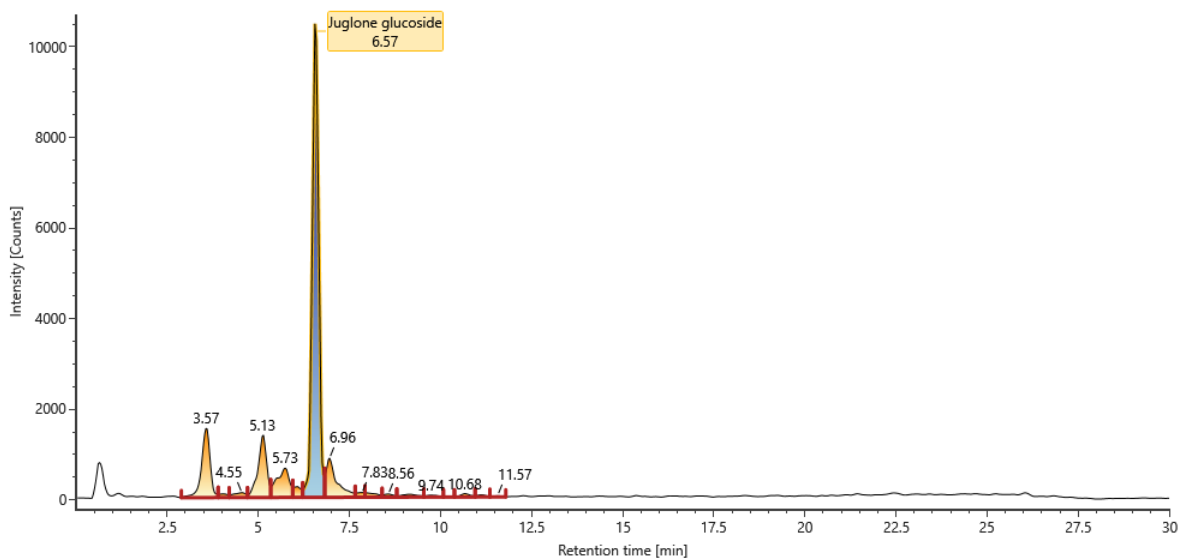
0.369



# Glucósido de Juglona

Item name: HIS\_2uL

Channel name: Juglone glucoside [-H] : (24.7 PPM) 335.0763

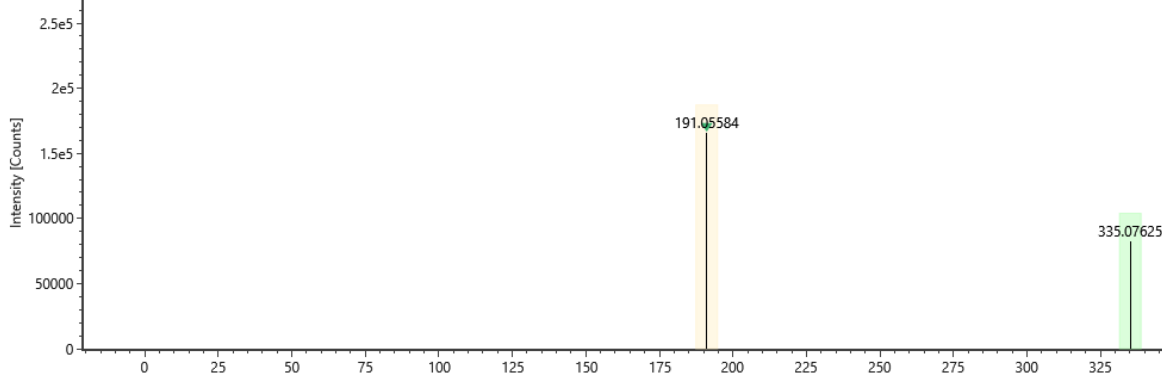


Item name: HIS\_2uL

Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5766 +/- 0.0618 minutes

2.69e5

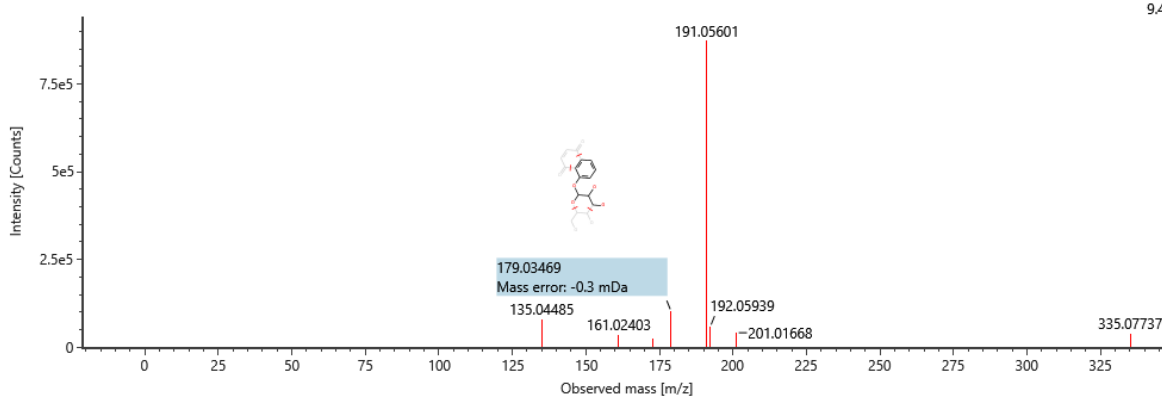


Item name: HIS\_2uL

Item description:

Channel name: High energy : Time 6.5766 +/- 0.0618 minutes

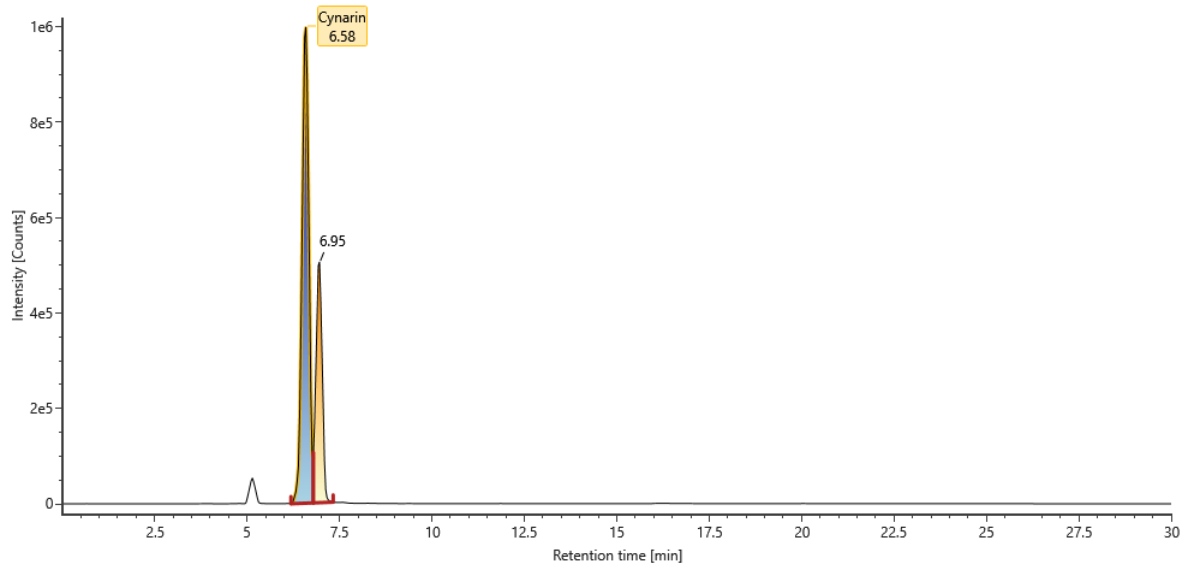
9.43e5



# HOJAS

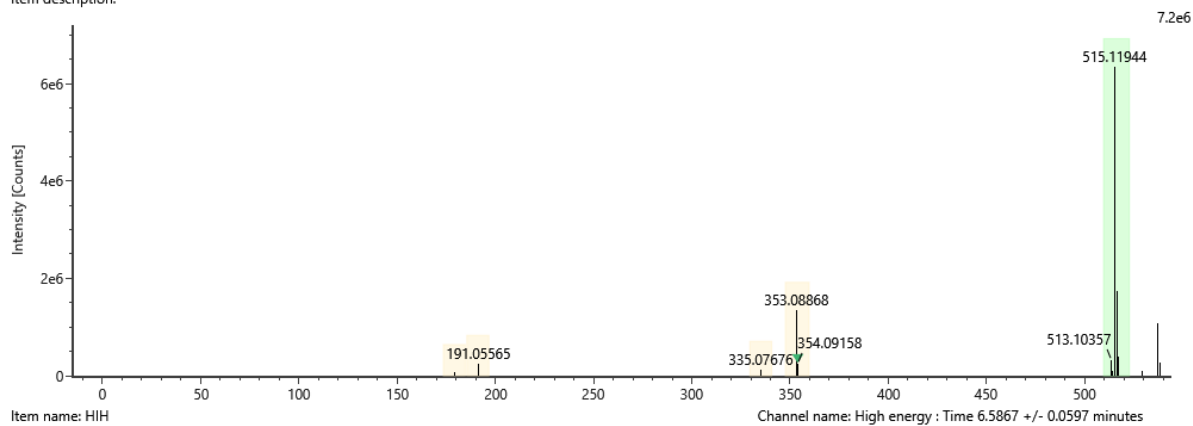
## Cinarina

Item name: HIH  
Channel name: Cynarin [-H] : (24.7 PPM) 515.1194



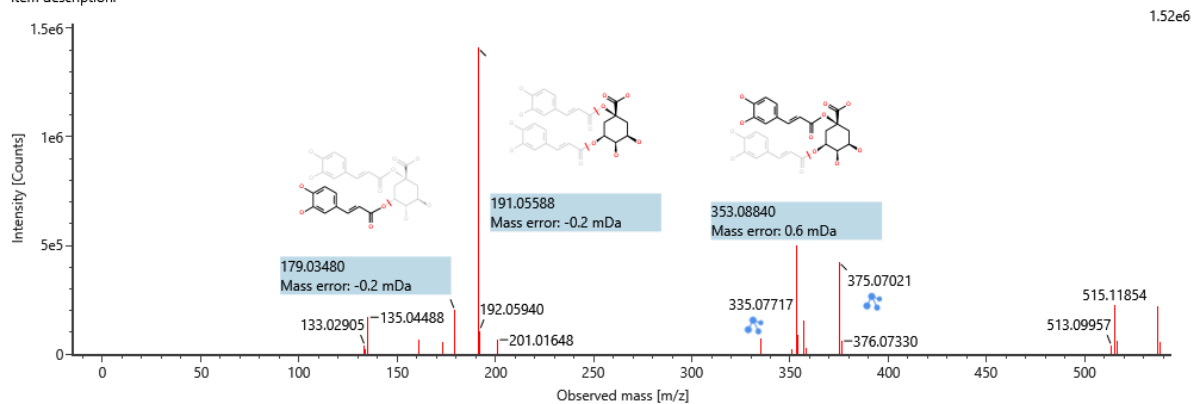
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5867 +/- 0.0597 minutes



Item name: HIH  
Item description:

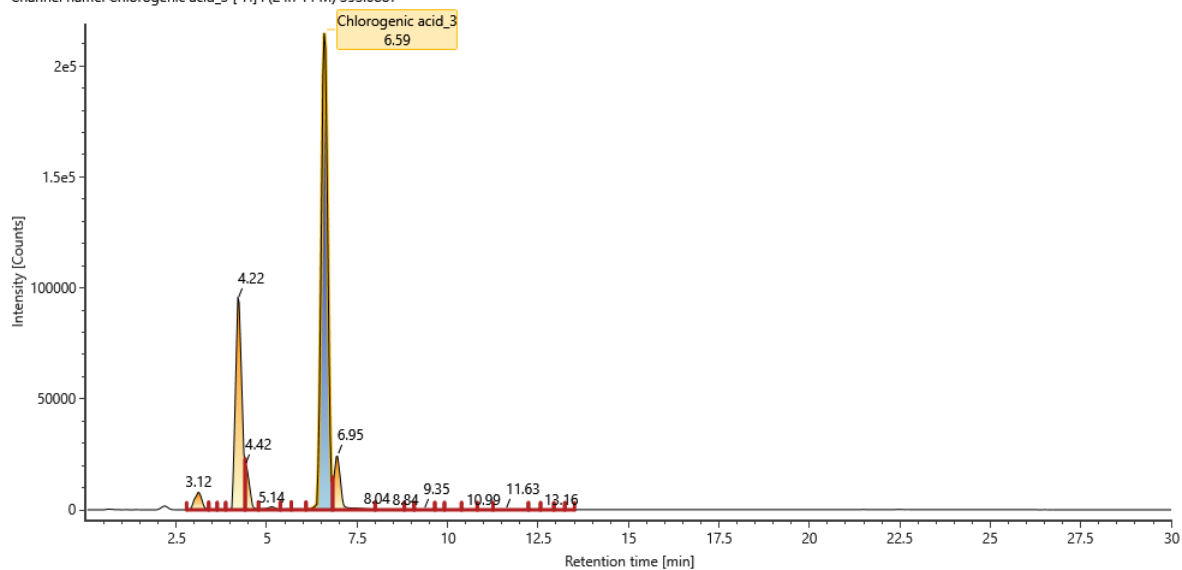
Channel name: High energy : Time 6.5867 +/- 0.0597 minutes



# Ácido clorogénico

Item name: HIH

Channel name: Chlorogenic acid\_3 [-H] : (24.7 PPM) 353.0887

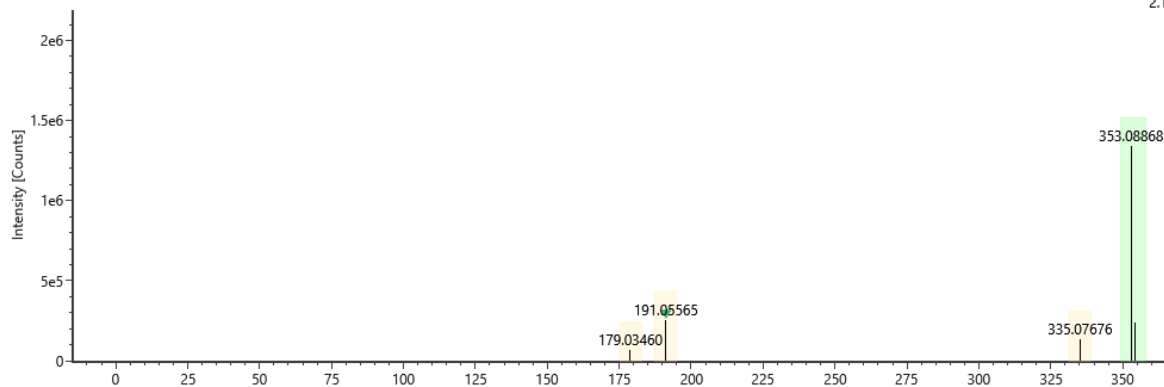


Item name: HIH

Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.6004 +/- 0.0597 minutes

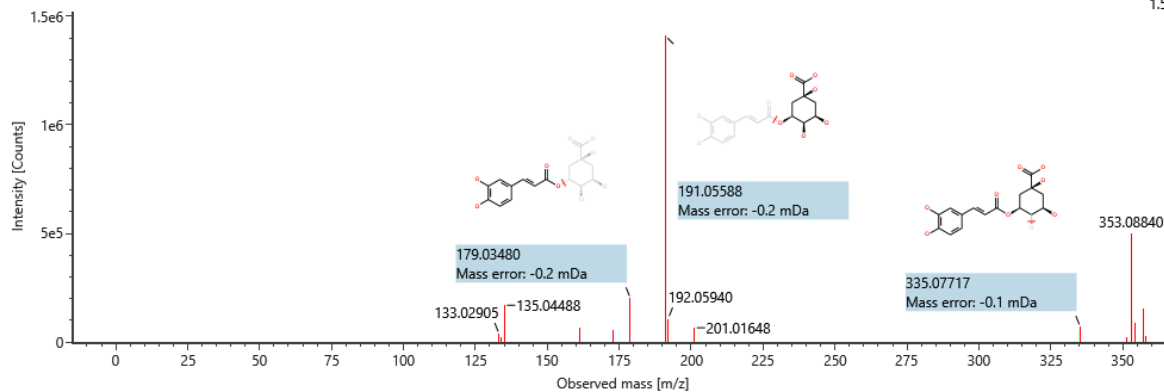
2.19e6



Item name: HIH  
Item description:

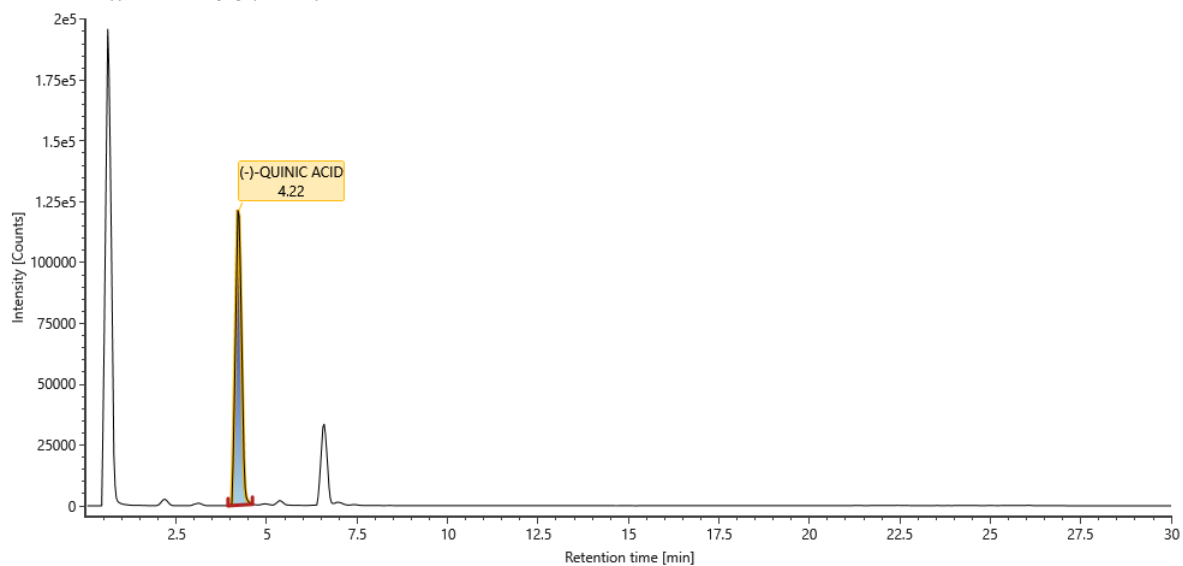
Channel name: High energy : Time 6.6004 +/- 0.0597 minutes

1.52e6



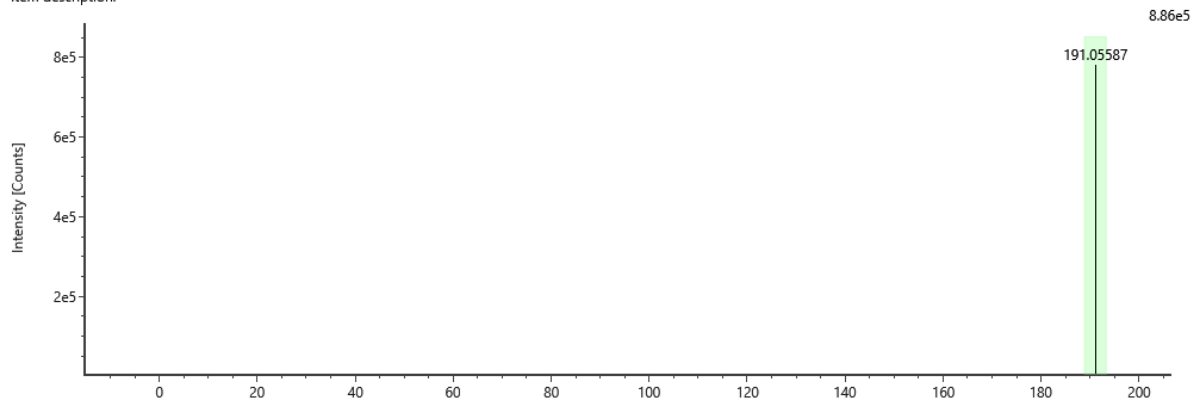
# Ácido quínico

Item name: HIH  
Channel name: (-)-QUINIC ACID [-H]: (24.7 PPM) 191.0559



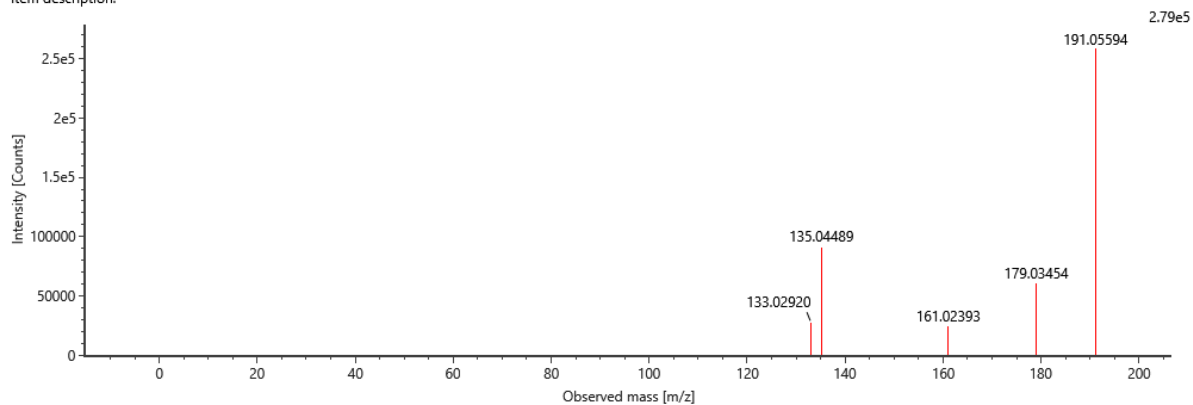
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 4.2255 +/- 0.0597 minutes



Item name: HIH  
Item description:

Channel name: High energy : Time 4.2255 +/- 0.0597 minutes

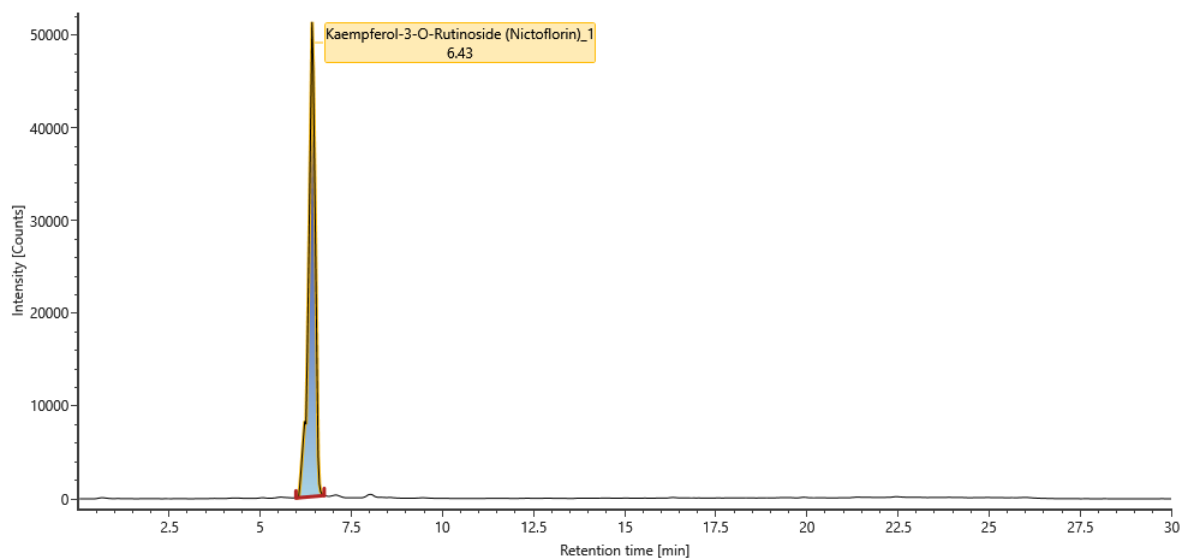




# Kaempferol-3-O-Rutinosido

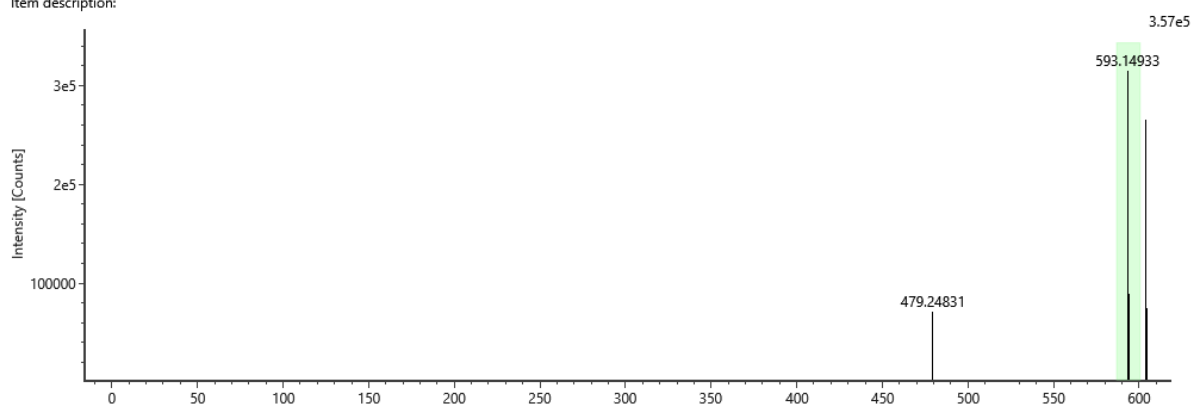
Item name: HIH

Channel name: Kaempferol-3-O-Rutinoside (Nictoflorin)\_1 [-H]<sup>+</sup> : (24.7 PPM) 593.1493



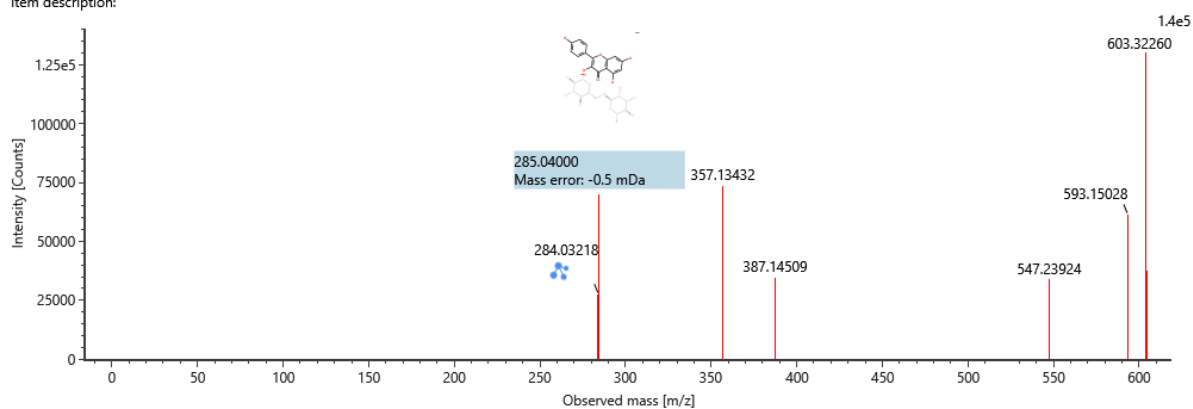
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.4356 +/- 0.0597 minutes



Item name: HIH  
Item description:

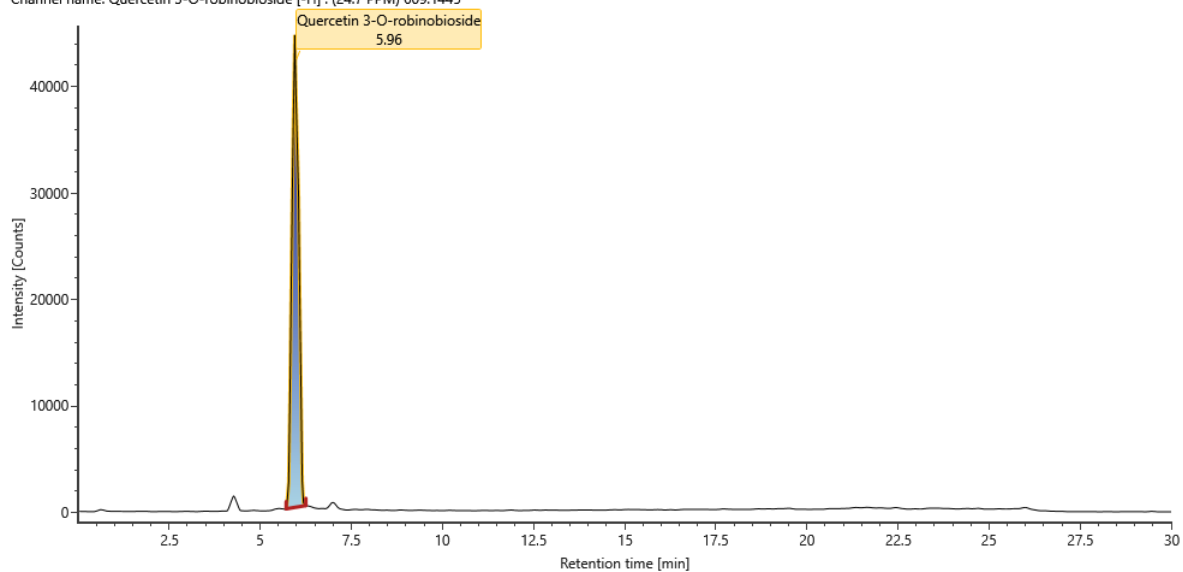
Channel name: High energy : Time 6.4356 +/- 0.0597 minutes



# Quercetina 3-O-robinobiosido

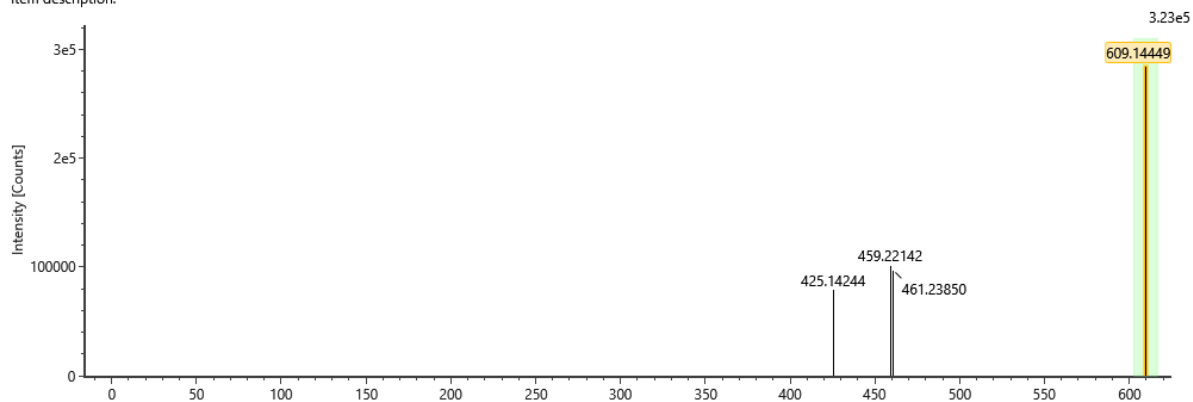
Item name: HIH

Channel name: Quercetin 3-O-robinobioside [-H] : (24.7 PPM) 609.1445



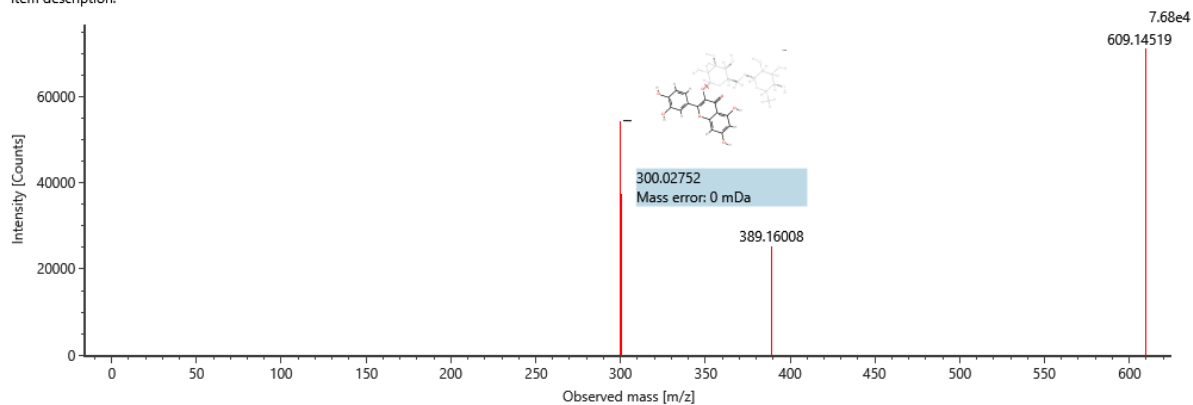
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 5.9559 +/- 0.0597 minutes



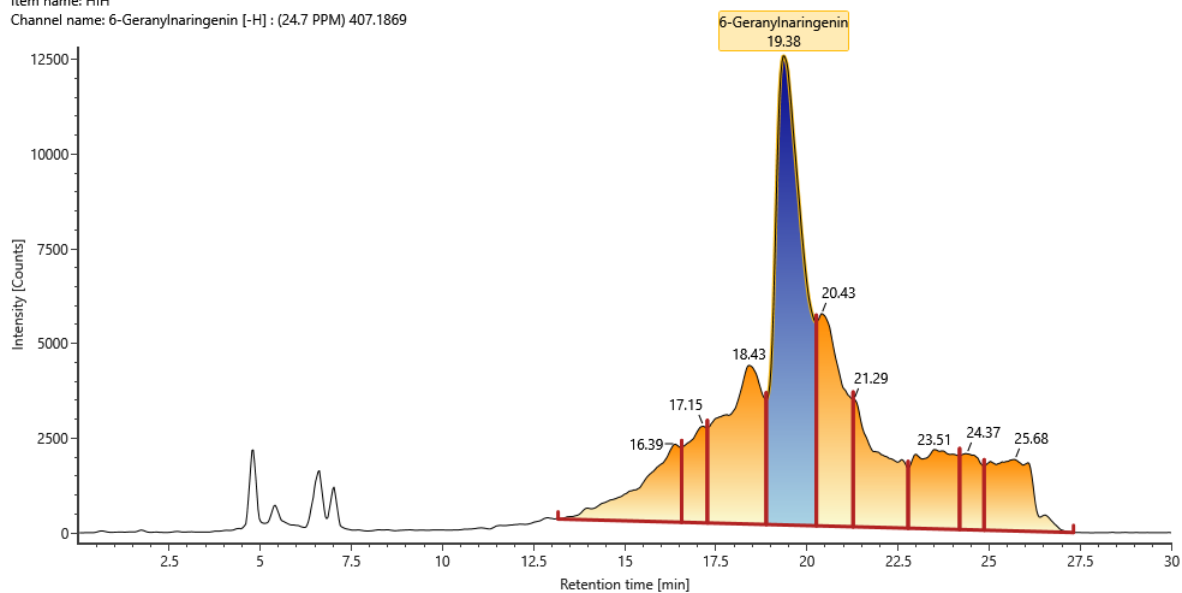
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: High energy : Time 5.9559 +/- 0.0597 minutes



# 6-Geranylneringenina

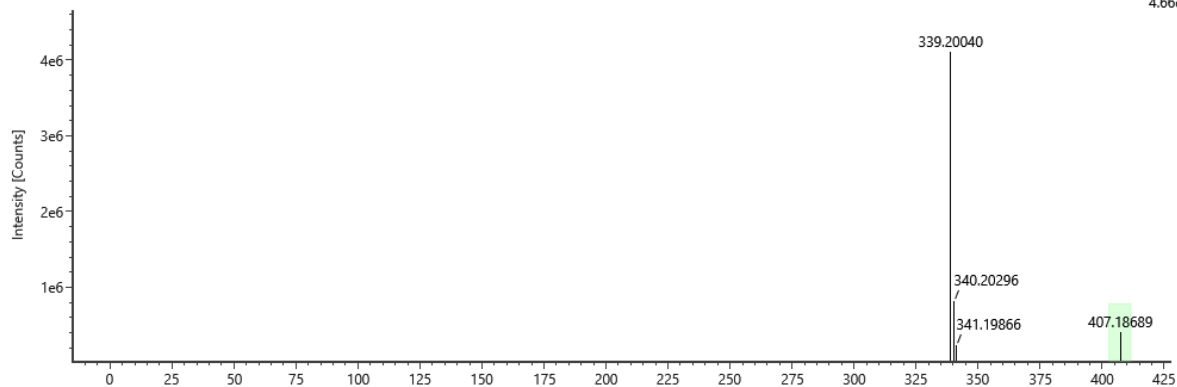
Item name: HIH  
Channel name: 6-Geranylneringenin [-H] : (24.7 PPM) 407.1869



Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 19.2789 +/- 0.0597 minutes

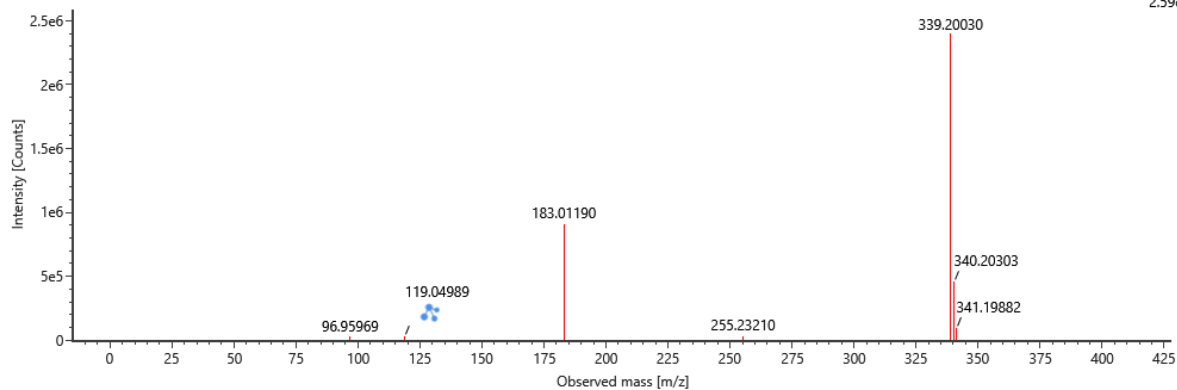
4.66e6



Item name: HIH  
Item description:

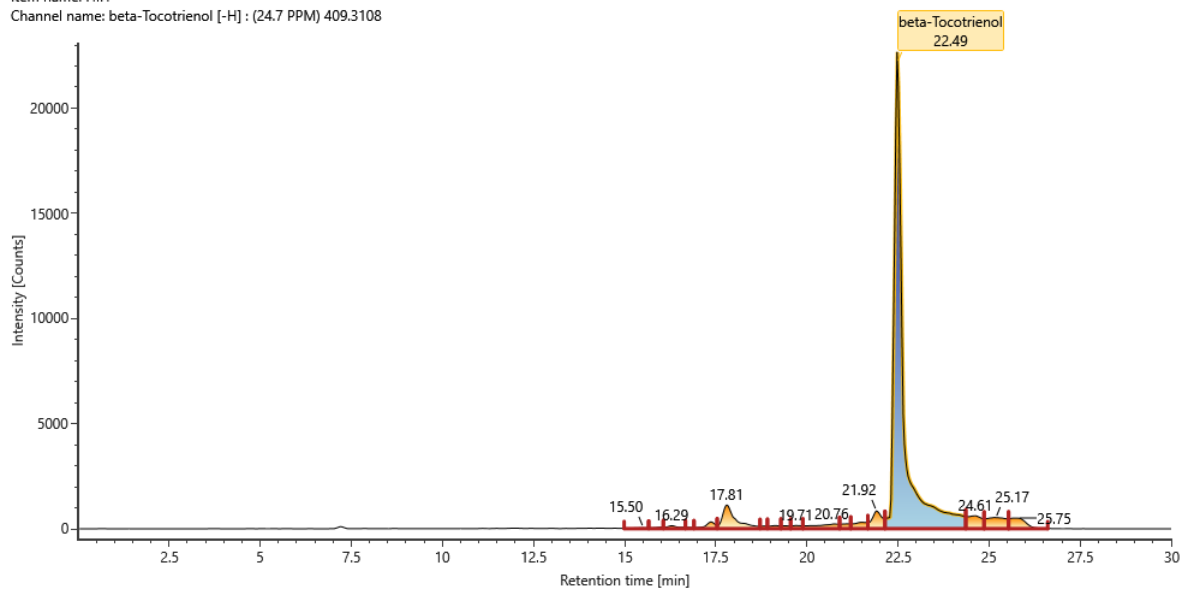
Channel name: High energy : Time 19.2789 +/- 0.0597 minutes

2.59e6



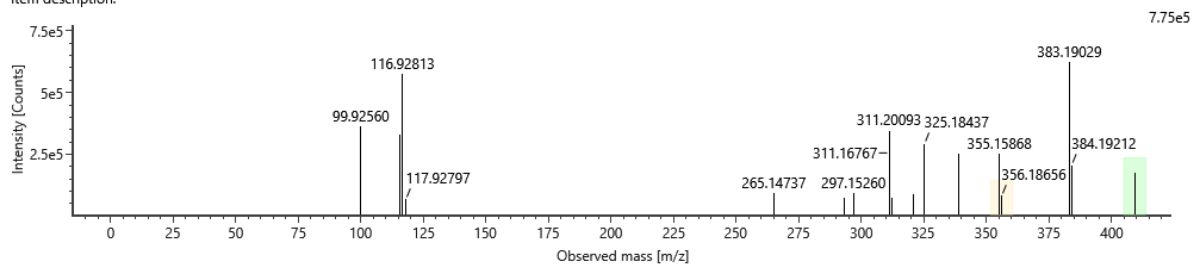
# $\beta$ -tocotrienol

Item name: HIH  
Channel name: beta-Tocotrienol [-H] : (24.7 PPM) 409.3108



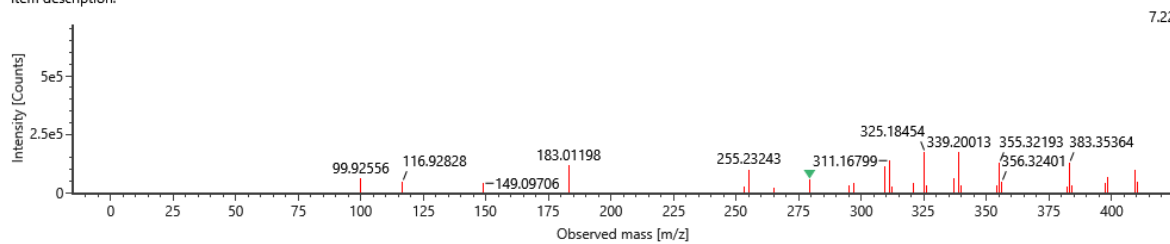
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 22.4881 +/- 0.0597 minutes



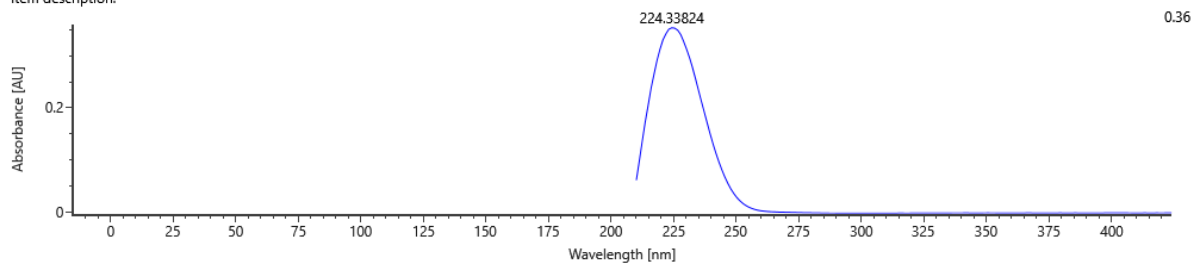
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: High energy : Time 22.4881 +/- 0.0597 minutes



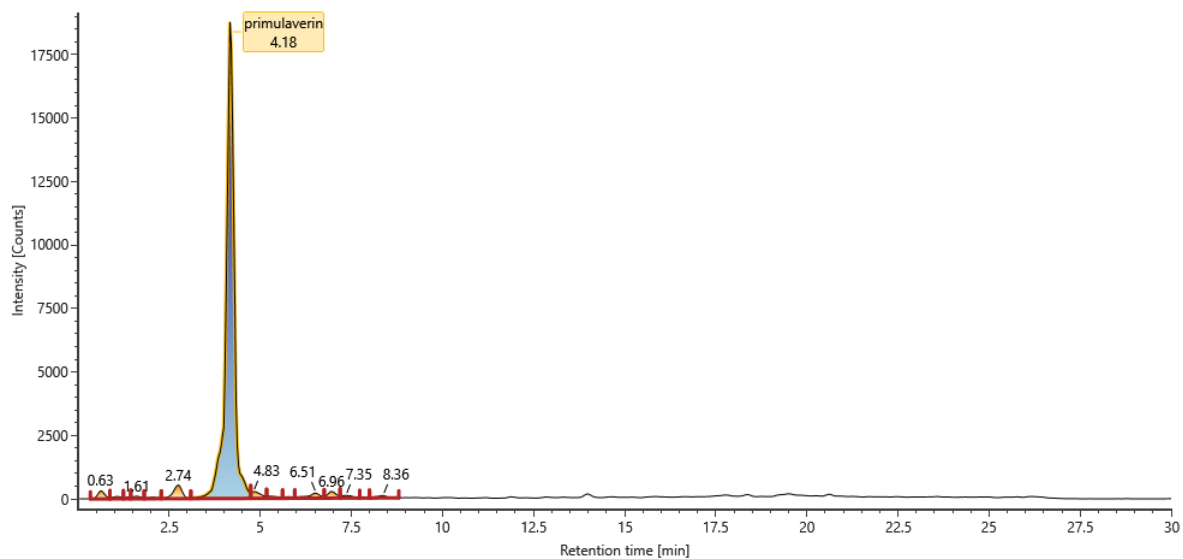
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Time 22.4881 min : PDA (210-600)



# Primulaverina

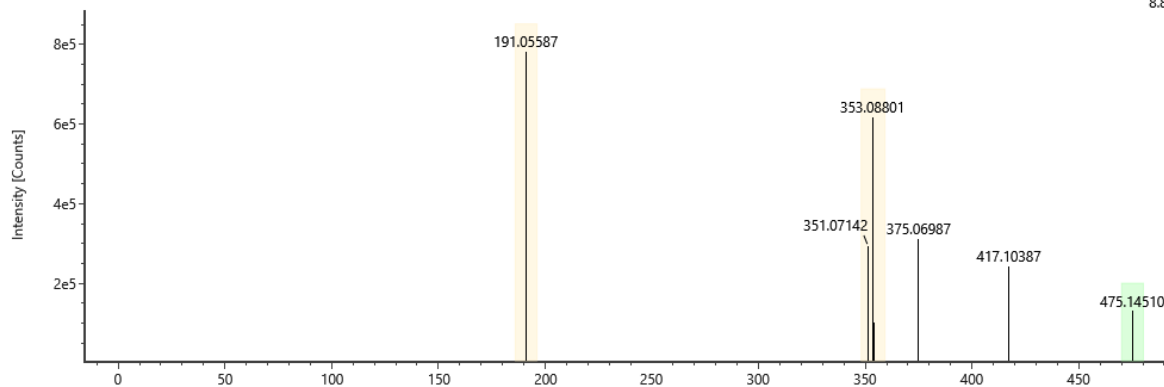
Item name: HIH  
Channel name: primulaverin [-H] : (24.7 PPM) 475.1451



Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 4.1906 +/- 0.0597 minutes

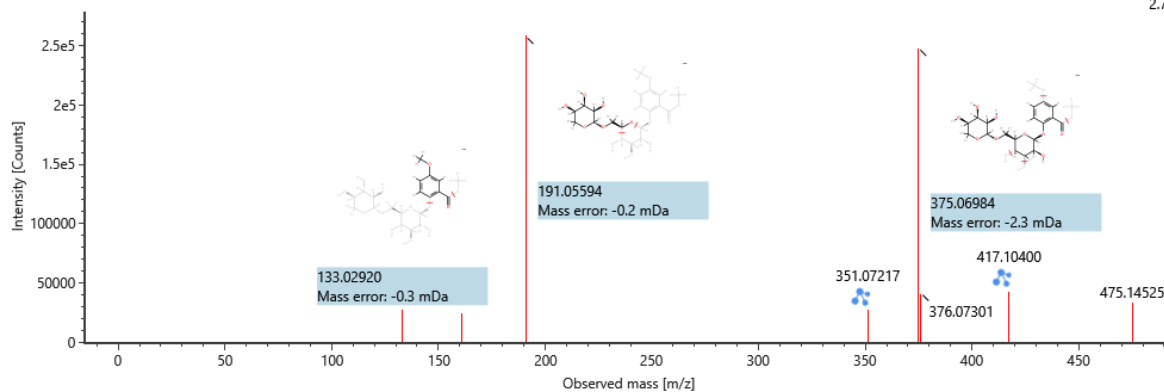
8.86e5



Item name: HIH  
Item description:

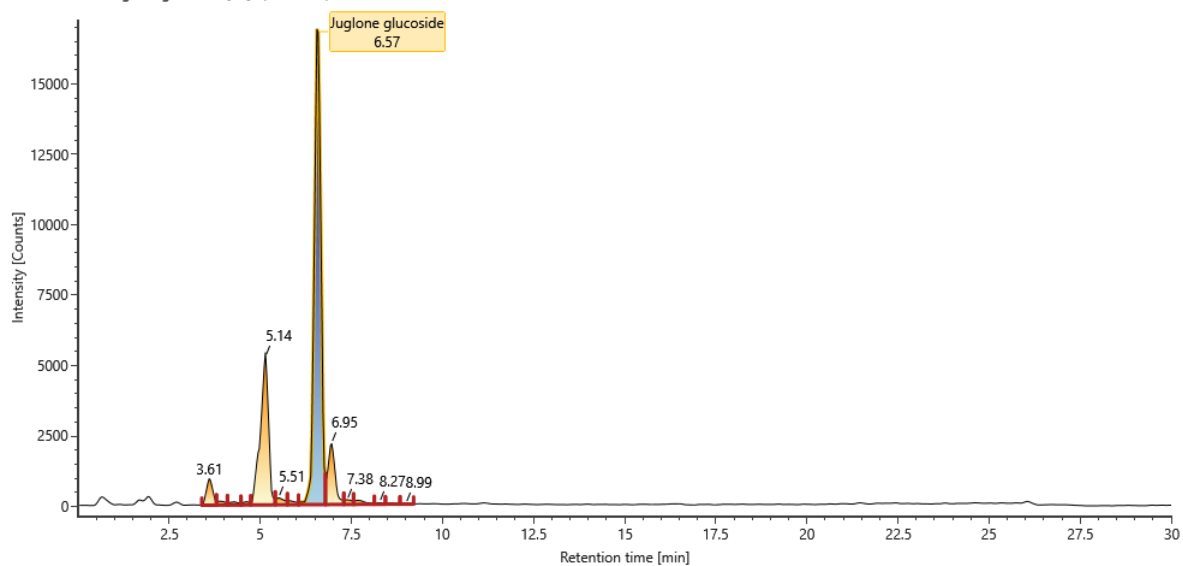
Channel name: High energy : Time 4.1906 +/- 0.0597 minutes

2.79e5



# Glucósido de Juglona

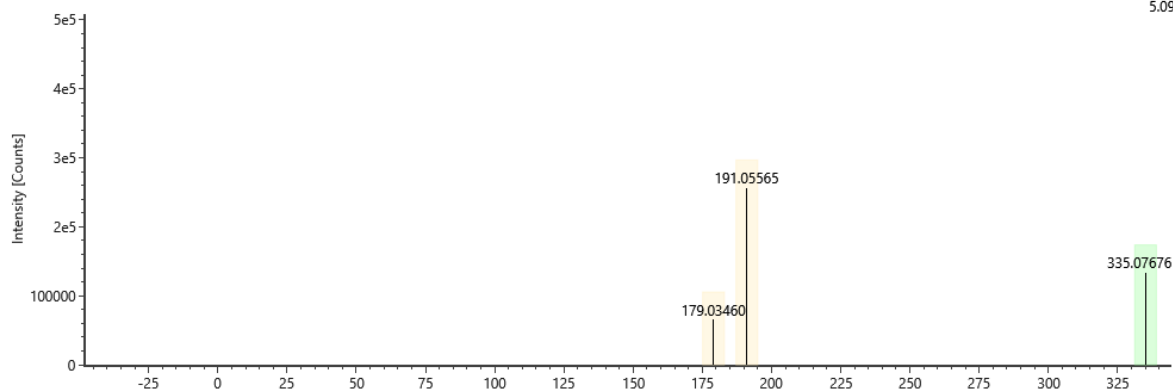
Item name: HIH  
Channel name: Juglone glucoside [-H] : (24.7 PPM) 335.0768



Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5807 +/- 0.0597 minutes

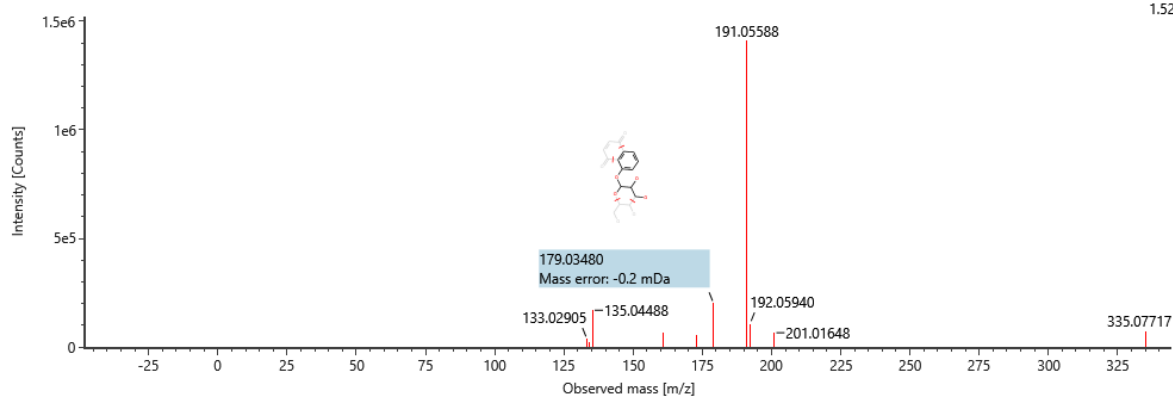
5.09e5



Item name: HIH  
Item description:

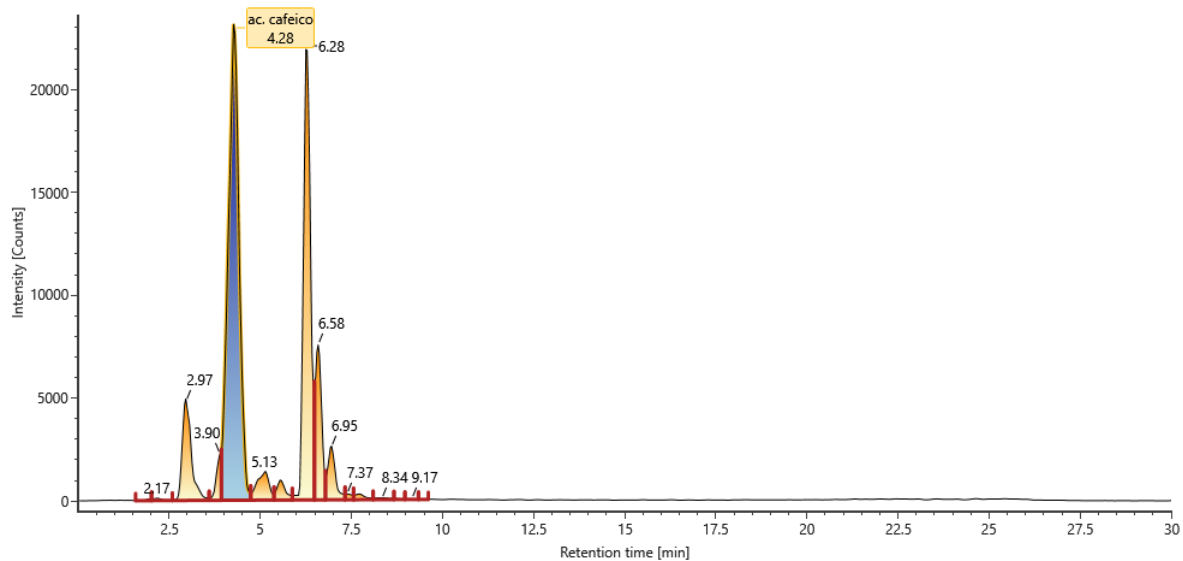
Channel name: High energy : Time 6.5807 +/- 0.0597 minutes

1.52e6



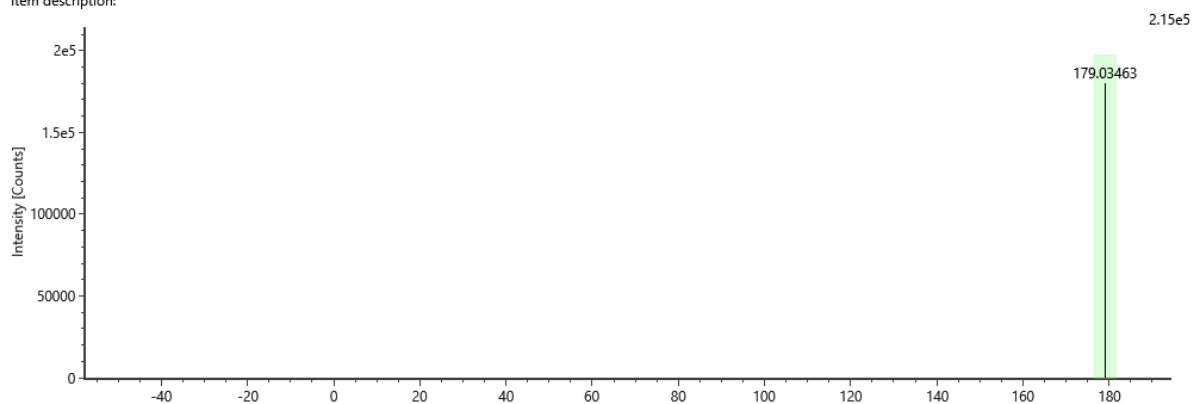
# Ácido cafeico

Item name: HIH  
Channel name: ac. cafeico [-H] : (24.7 PPM) 179.0346



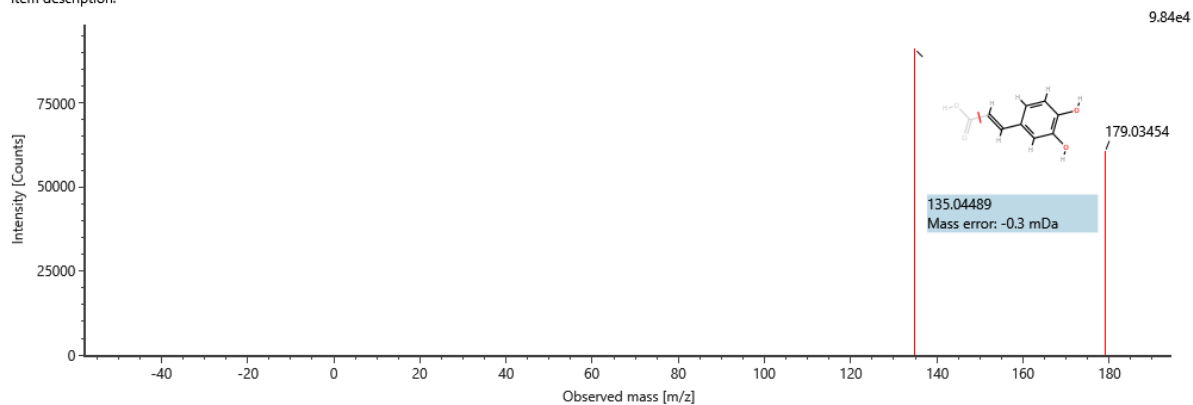
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 4.3005 +/- 0.0597 minutes



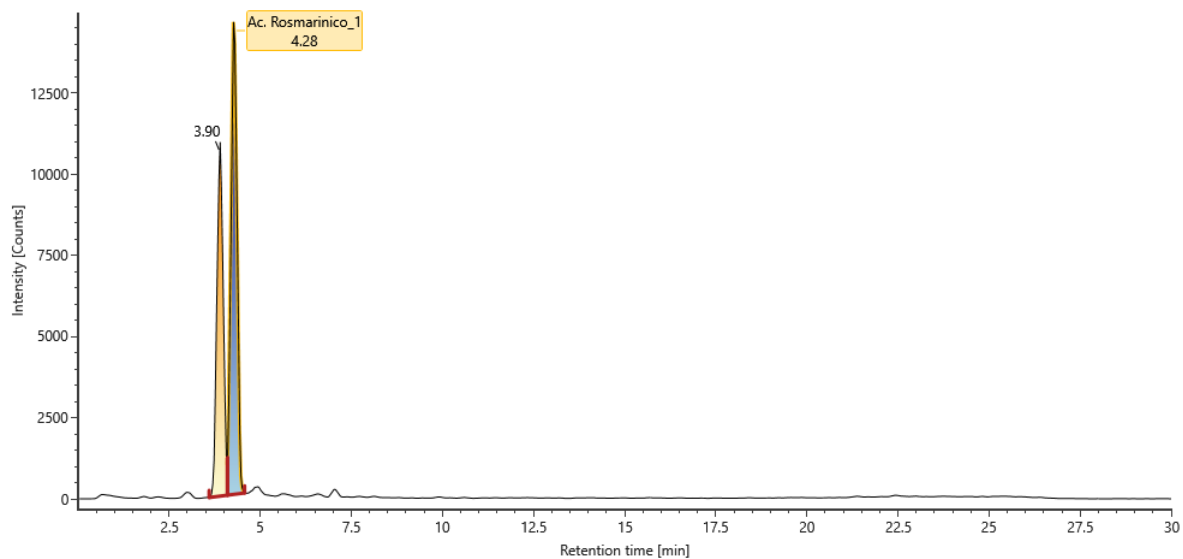
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: High energy : Time 4.3005 +/- 0.0597 minutes



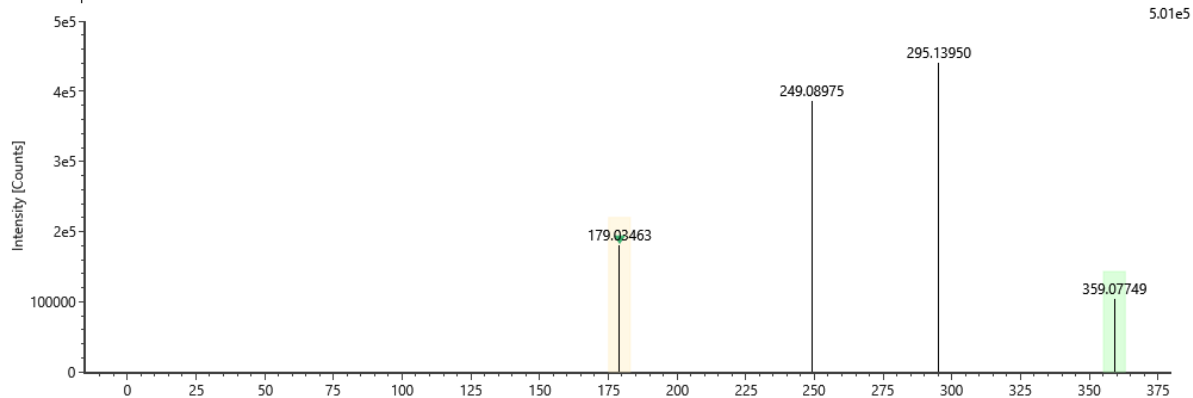
# Ácido rosmarínico

Item name: HIH  
Channel name: Ac. Rosmarinico\_1 [-H] : (24.7 PPM) 359.0775



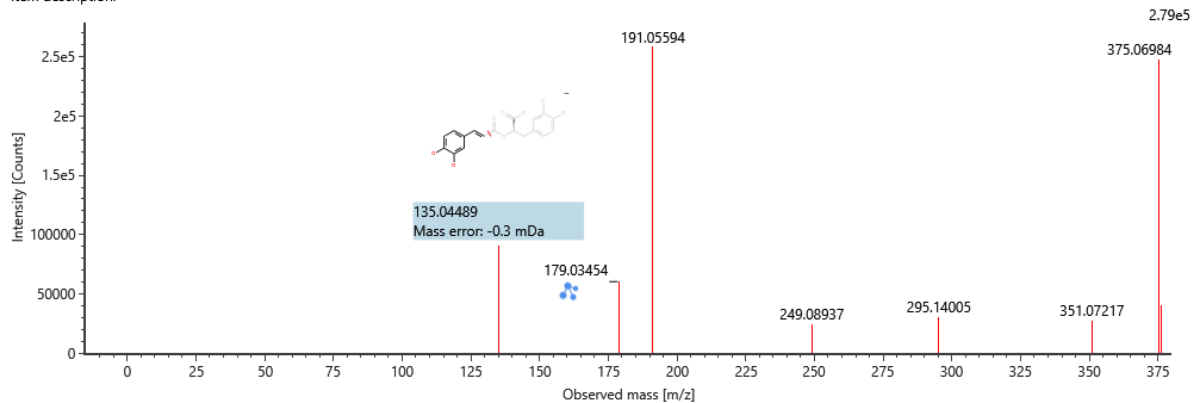
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 4.2897 +/- 0.0597 minutes



Item name: HIH  
Item description:

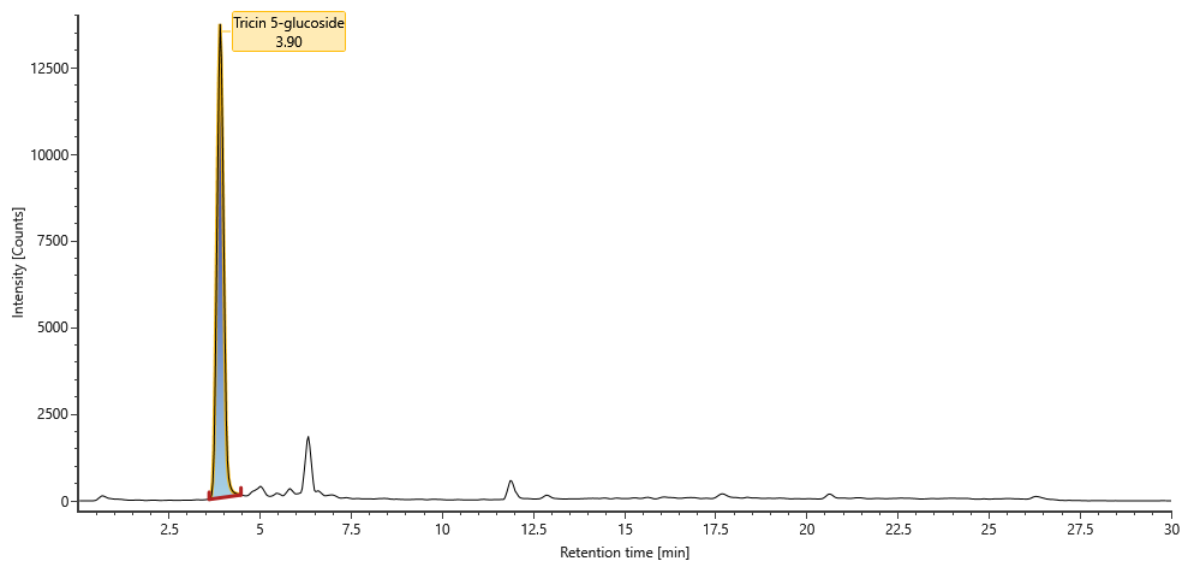
Channel name: High energy : Time 4.2897 +/- 0.0597 minutes





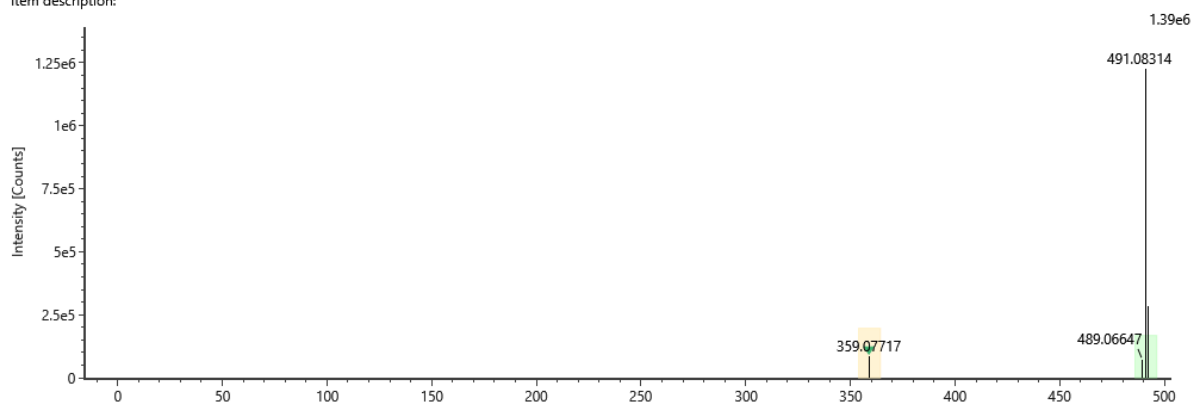
# Tricina 5-glucósido

Item name: HIH  
Channel name: Tricin 5-glucoside [-H] : (24.7 PPM) 491.1218



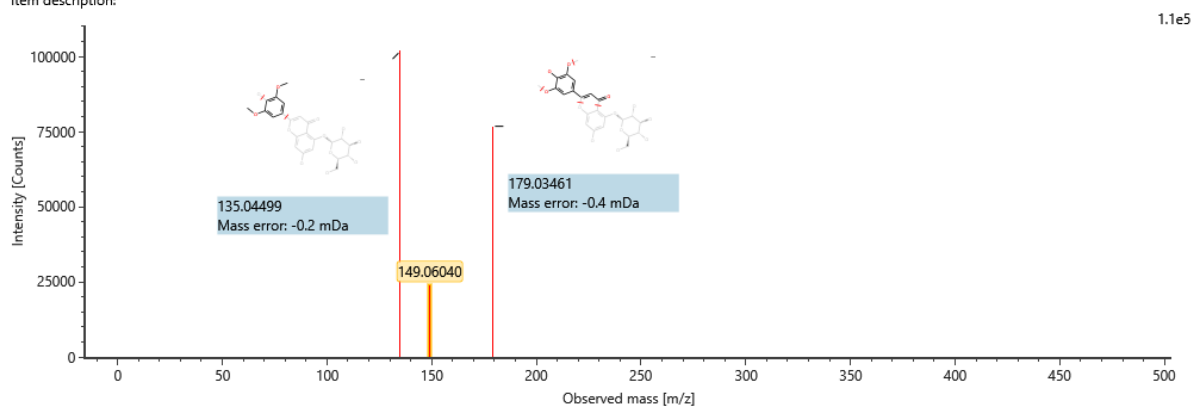
Item name: HIH  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 3.9108 +/- 0.0597 minutes



Item name: HIH  
Item description:

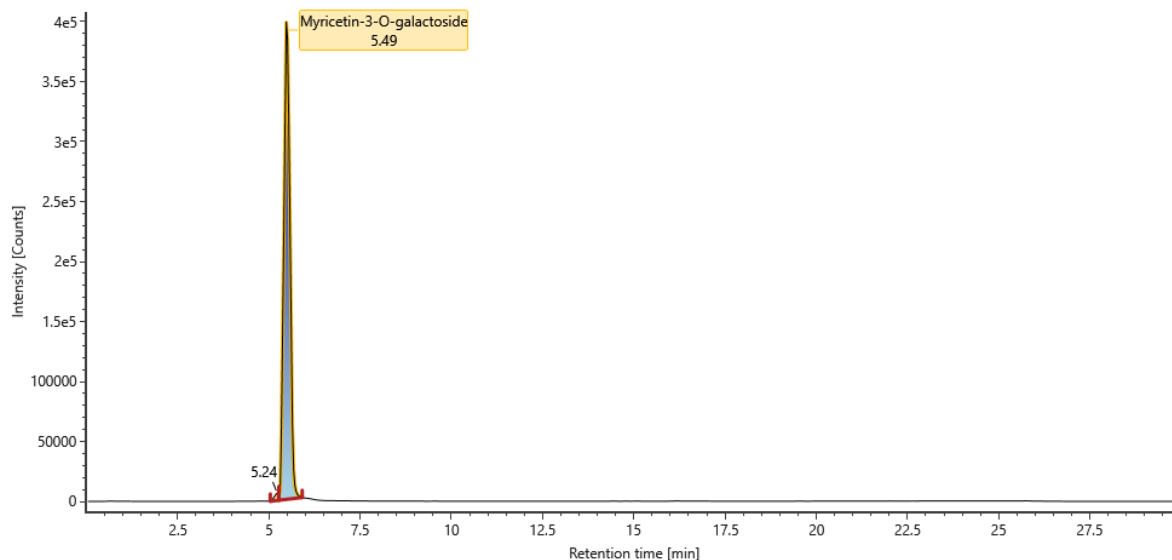
Channel name: High energy : Time 3.9108 +/- 0.0597 minutes



# FLORES

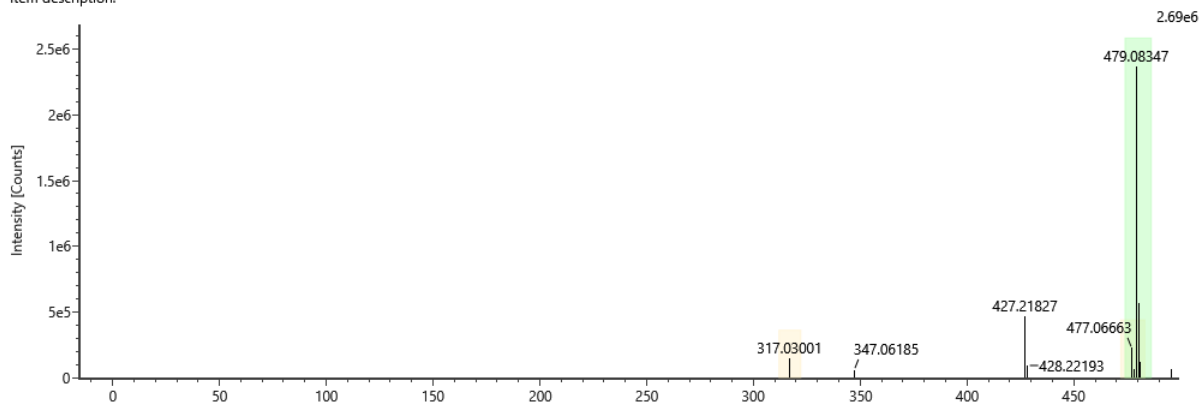
## Miricetina-3-O-galactósido

Item name: HIF  
Channel name: Myricetin-3-O-galactoside [-H] : (24.7 PPM) 479.0835



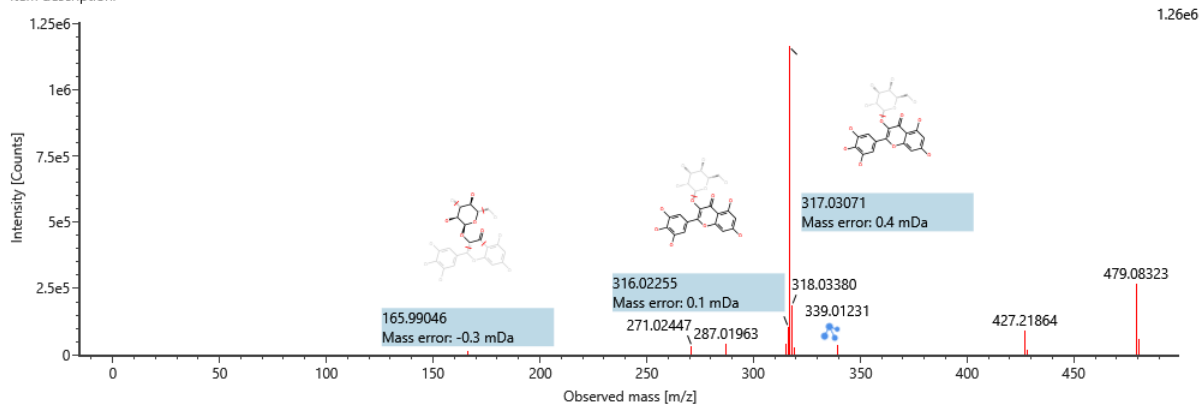
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 5.4968 +/- 0.0591 minutes



Item name: HIF  
Item description:

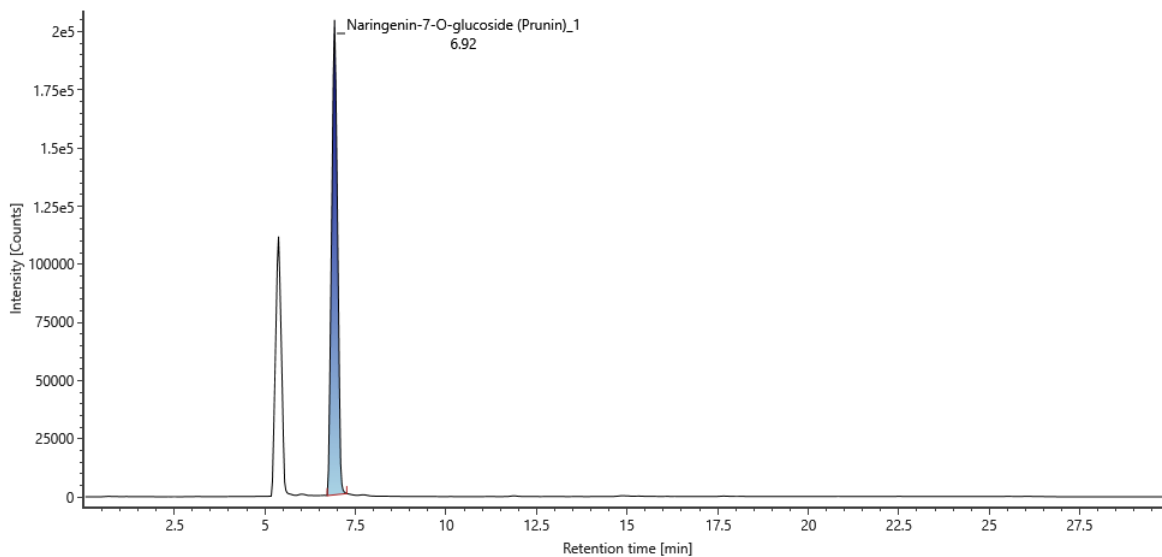
Channel name: High energy : Time 5.4968 +/- 0.0591 minutes



# Naringenina-7-O-glucósido

Item name: HIF

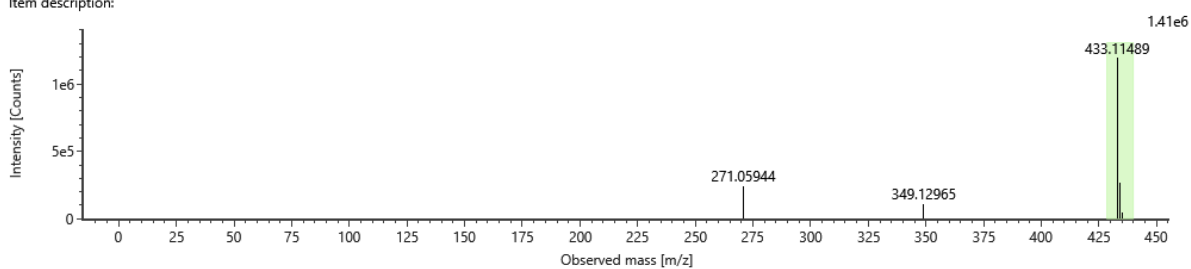
Channel name: Naringenin-7-O-glucoside [-H] : Naringenin-7-O-glucoside (Prunin)\_1 [-H] : (24.7 PPM) 433.1149



Item name: HIF

Item description:

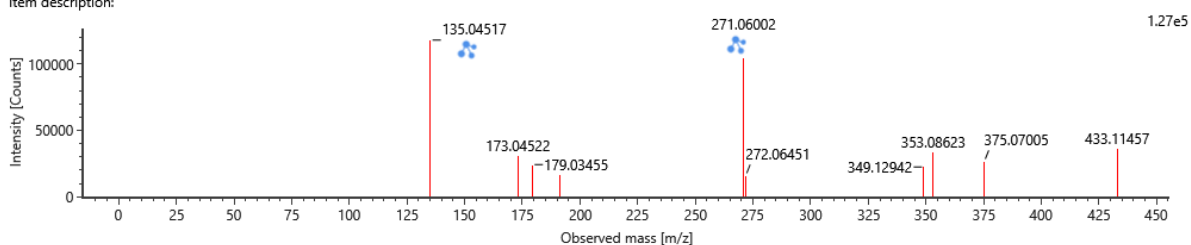
Channel name: Low energy : Time 6.9280 +/- 0.0591 minutes



Item name: HIF

Item description:

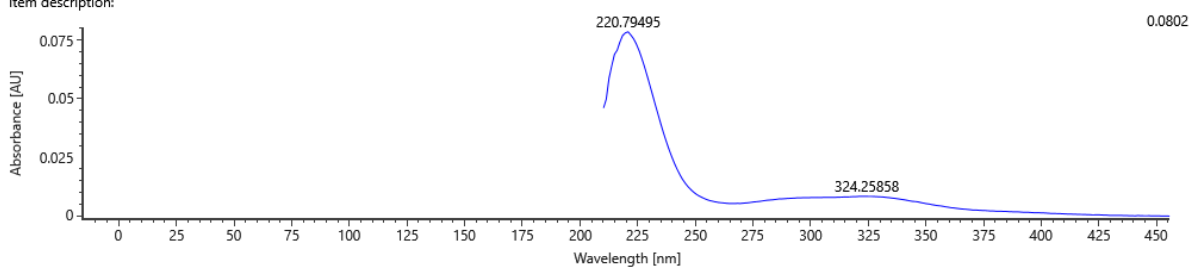
Channel name: High energy : Time 6.9280 +/- 0.0591 minutes



Item name: HIF

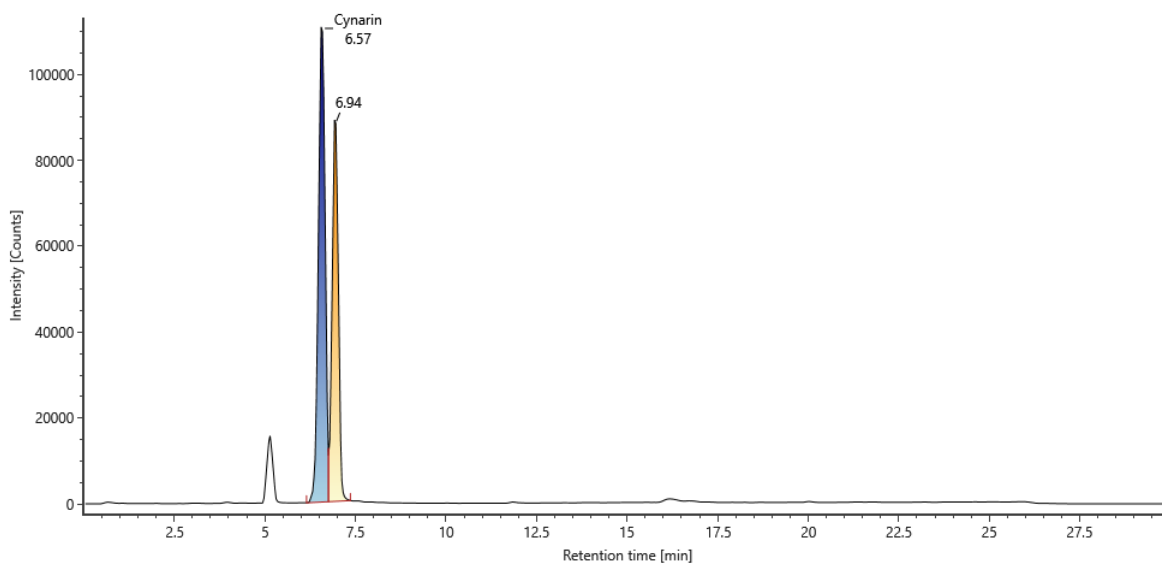
Item description:

Channel name: Time 6.9280 min : PDA (210-600)



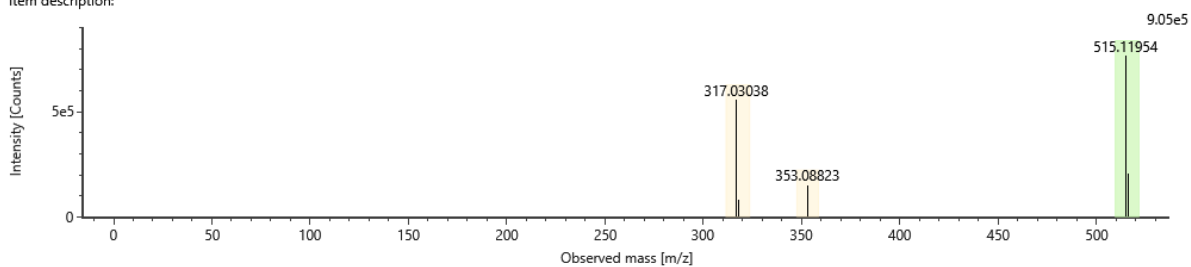
# Cinarina

Item name: HIF  
Channel name: 1,5-Dicaffeoylquinic acid [-H] : Cynarin [-H] : (24.7 PPM) 515.1195



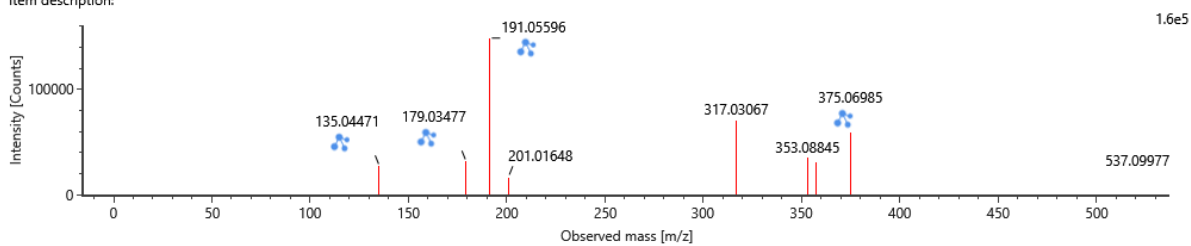
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5804 +/- 0.0591 minutes



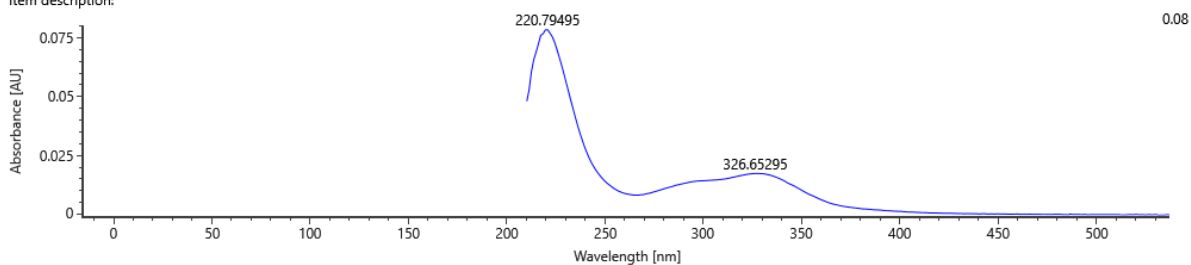
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 6.5804 +/- 0.0591 minutes



Item name: HIF  
Item description:

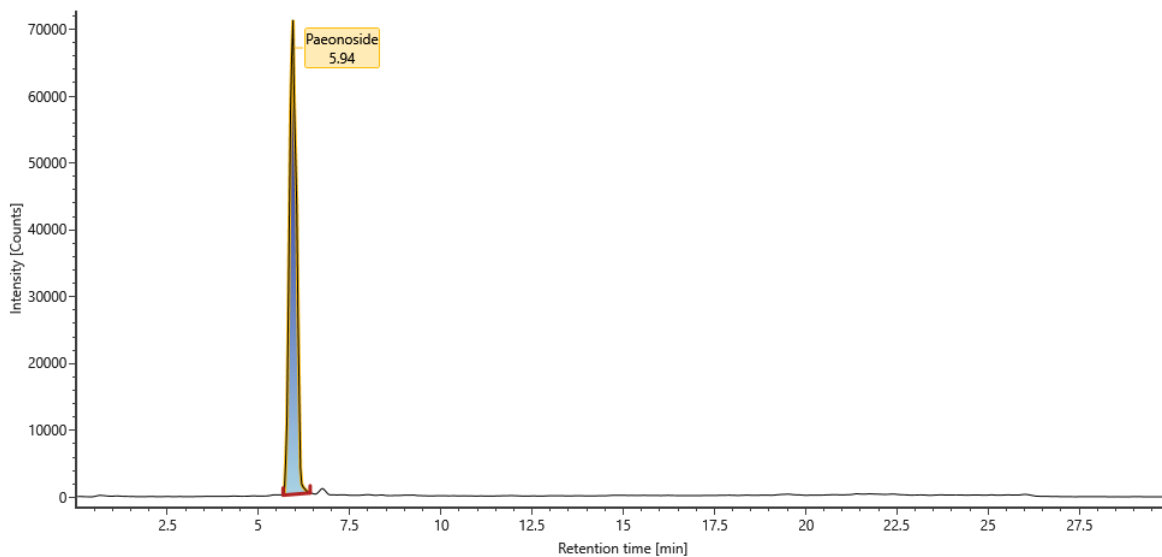
Channel name: Time 6.5804 min : PDA (210-600)



# Paeonósido

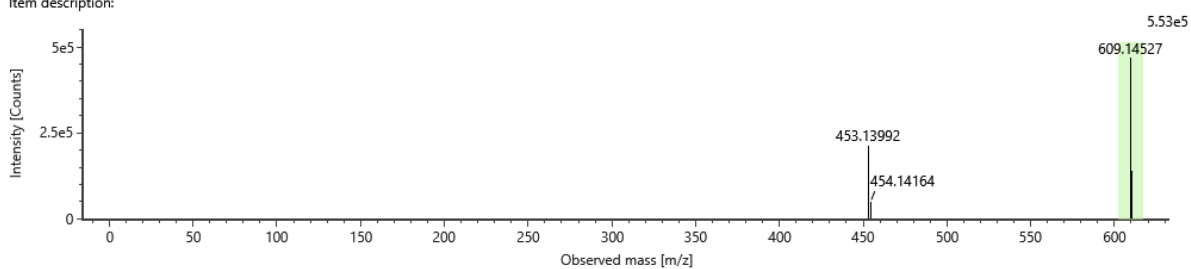
Item name: HIF

Channel name: Antoside [-H] : Paeonoside [-H] : (24.7 PPM) 609.1453



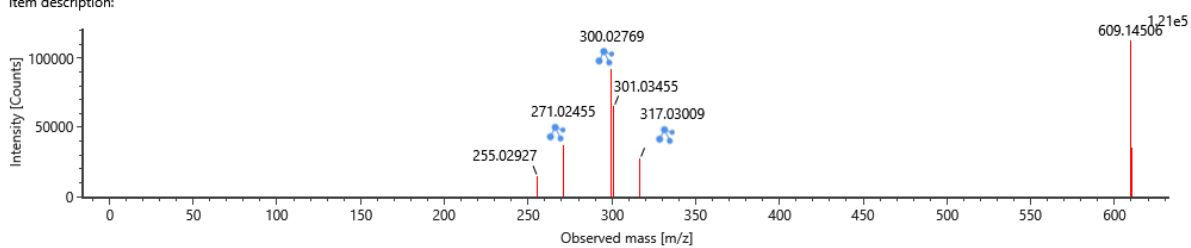
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 5.9428 +/- 0.0591 minutes



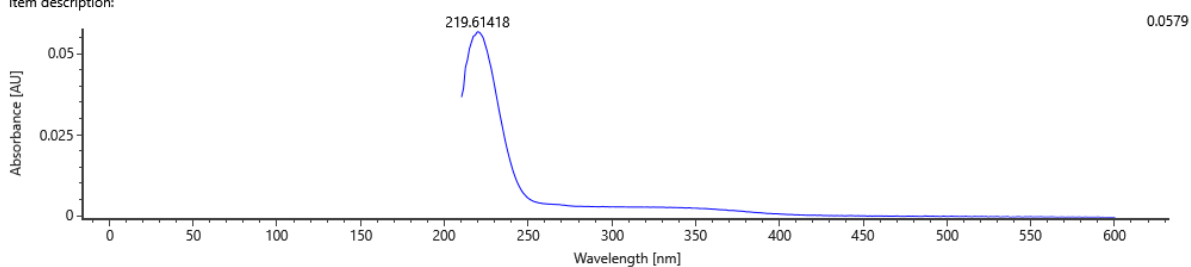
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 5.9428 +/- 0.0591 minutes



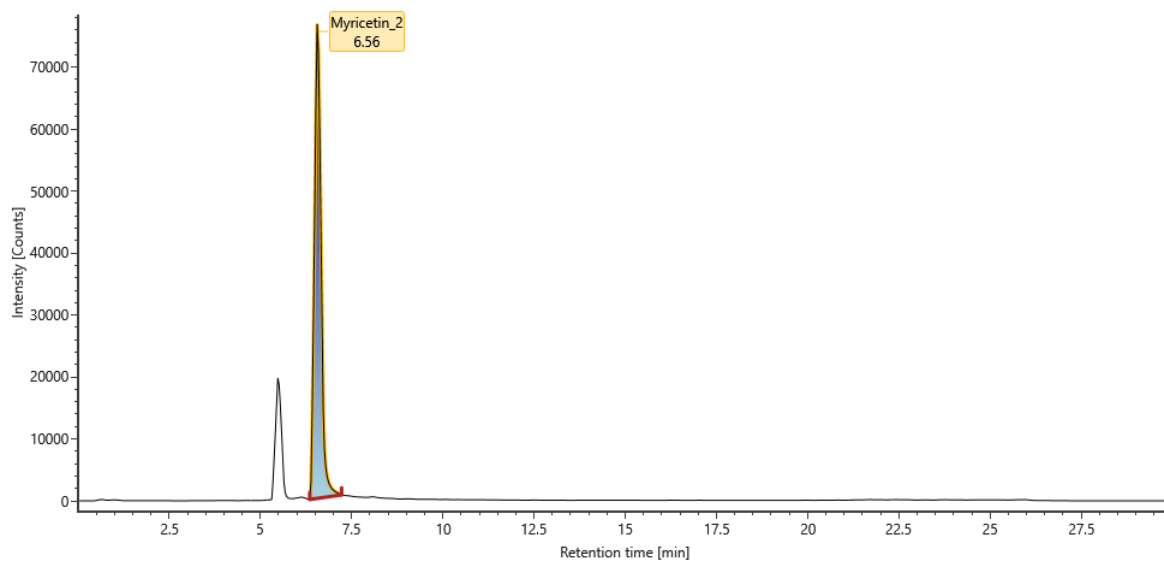
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Time 5.9428 min : PDA (210-600)



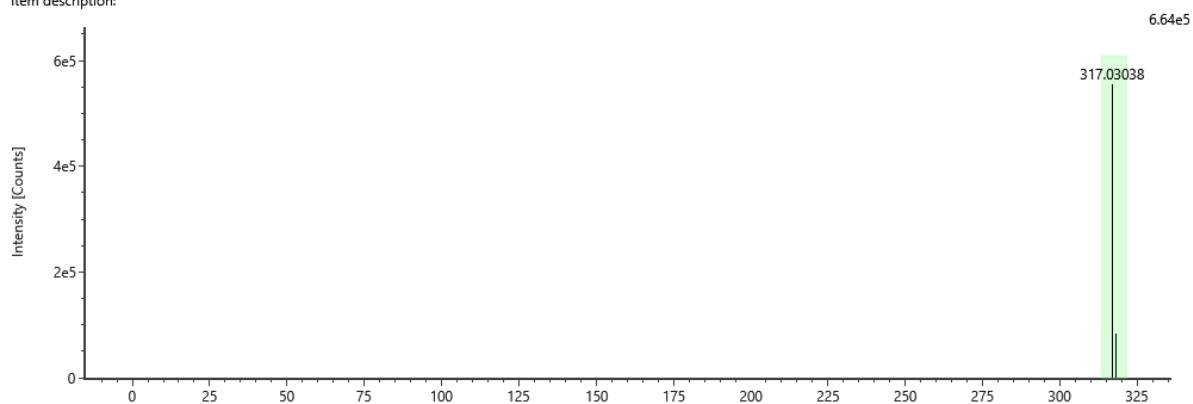
# Miricetina

Item name: HIF  
Channel name: Myricetin\_2 [-H] : (24.7 PPM) 317.0304



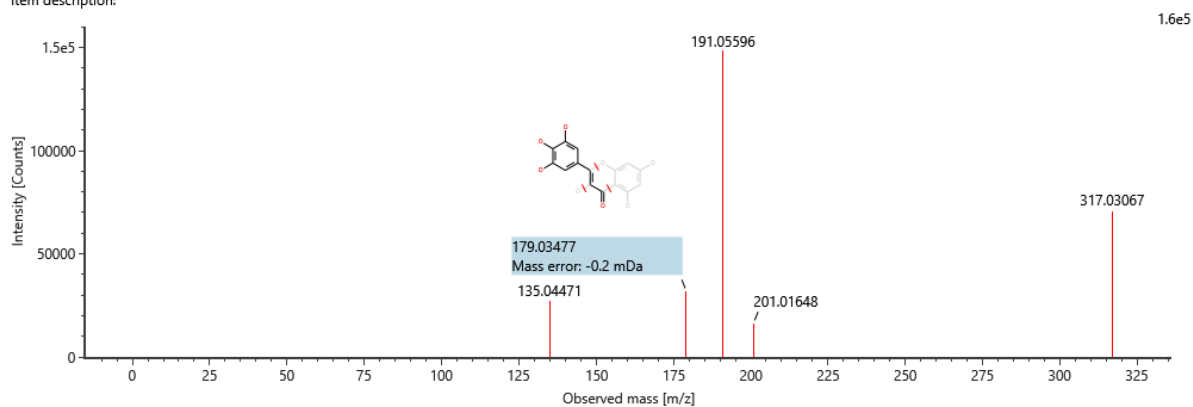
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5681 +/- 0.0591 minutes



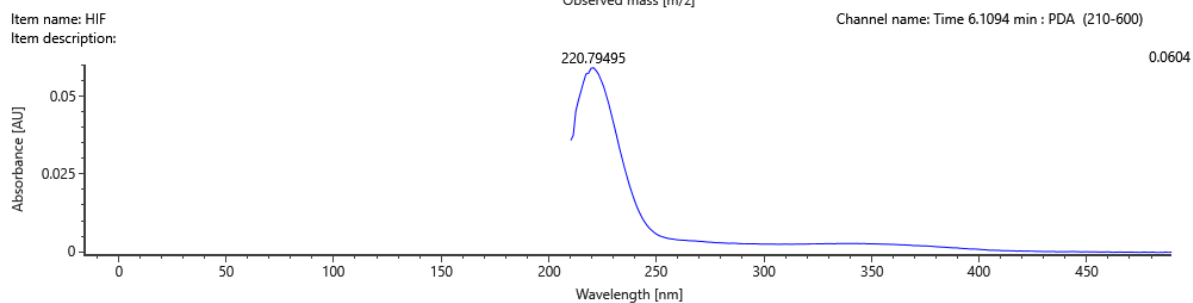
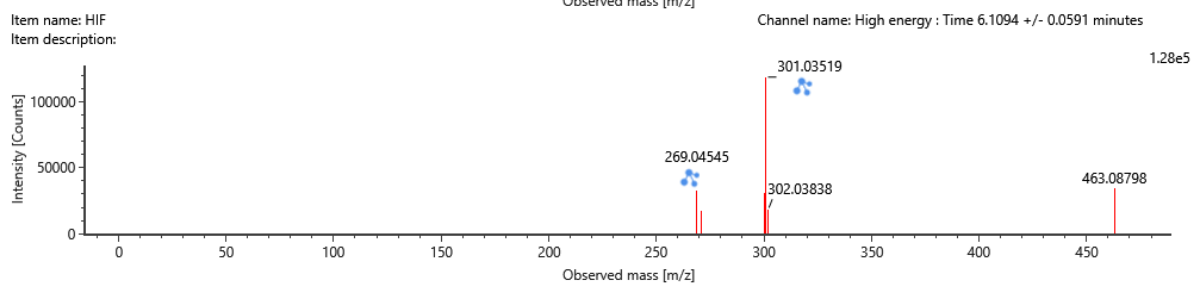
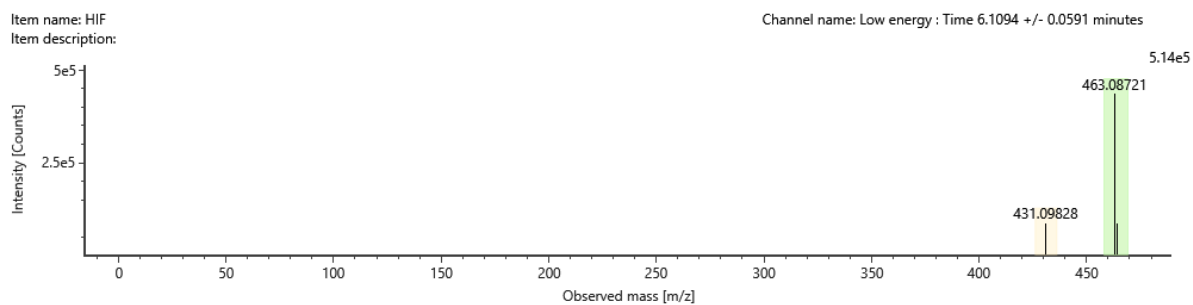
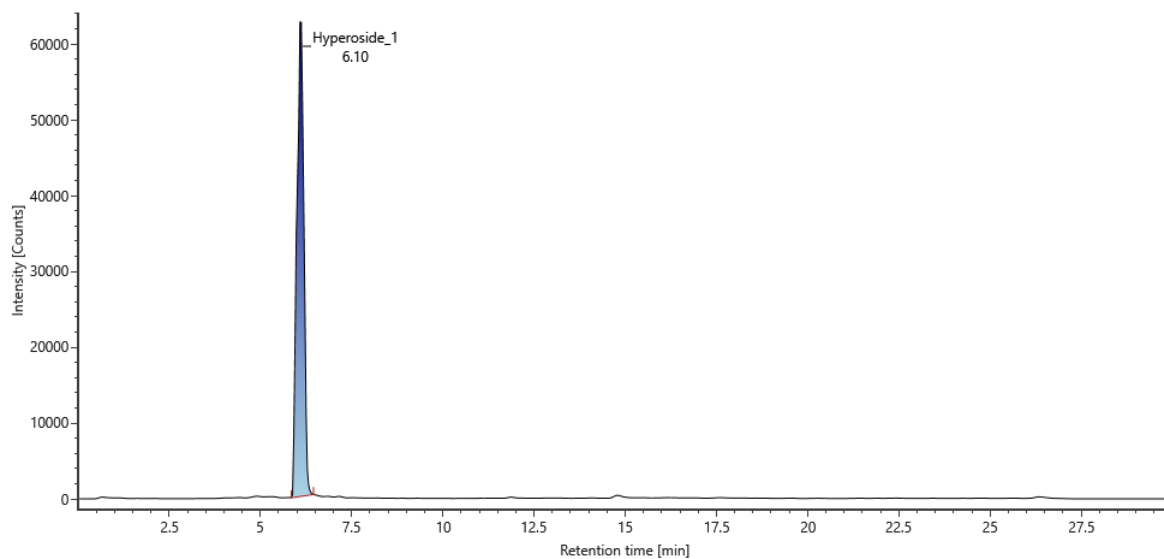
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 6.5681 +/- 0.0591 minutes



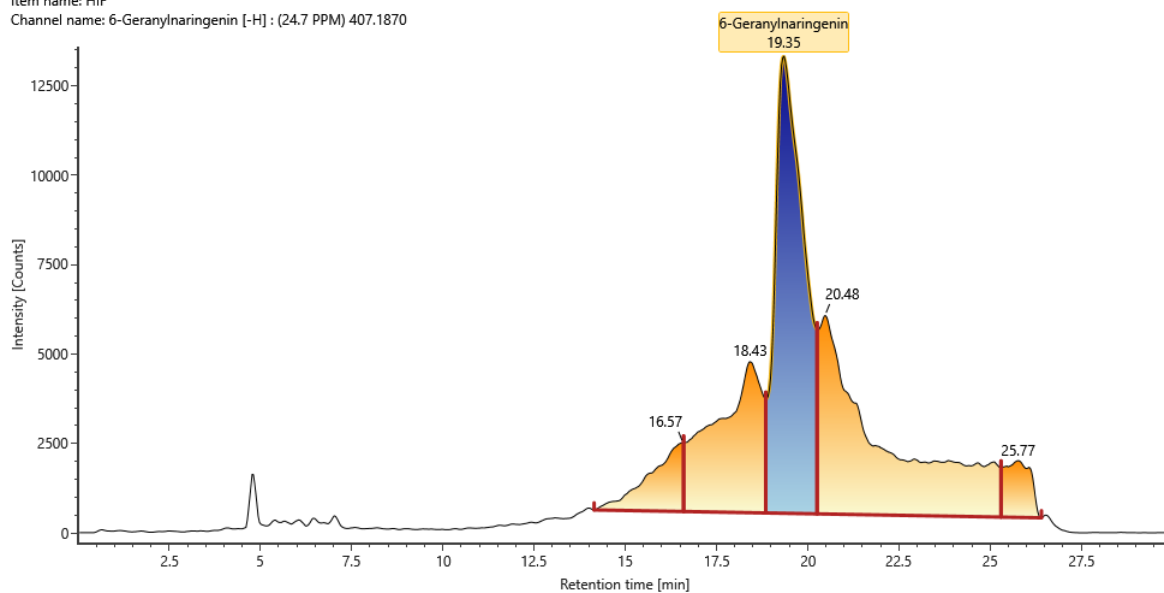
# Hiperósido

Item name: HIF  
Channel name: 3-O- $\beta$ -D-glycofuranosyl quercetin [-H] : Hyperoside\_1 [-H] : (24.7 PPM) 463.0872



# 6-Geranylneringenina

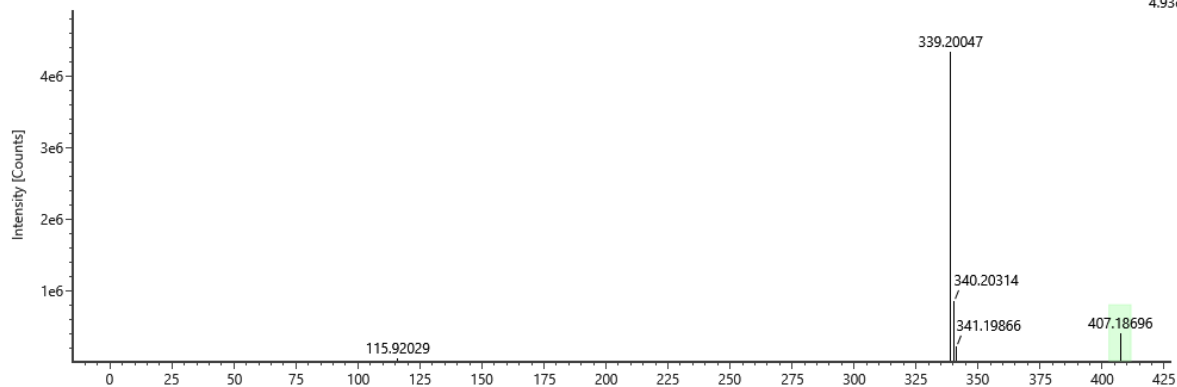
Item name: HIF  
Channel name: 6-Geranylneringenin [-H] : (24.7 PPM) 407.1870



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 19.2700 +/- 0.0591 minutes

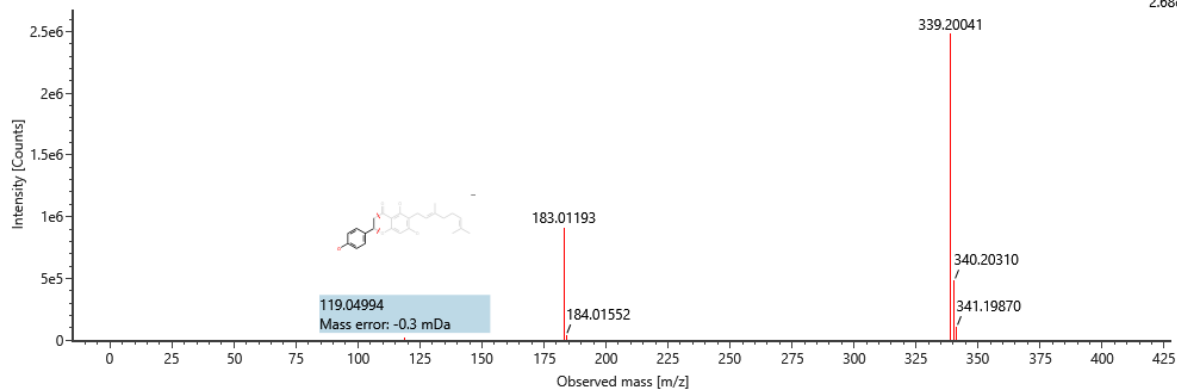
4.93e6



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 19.2700 +/- 0.0591 minutes

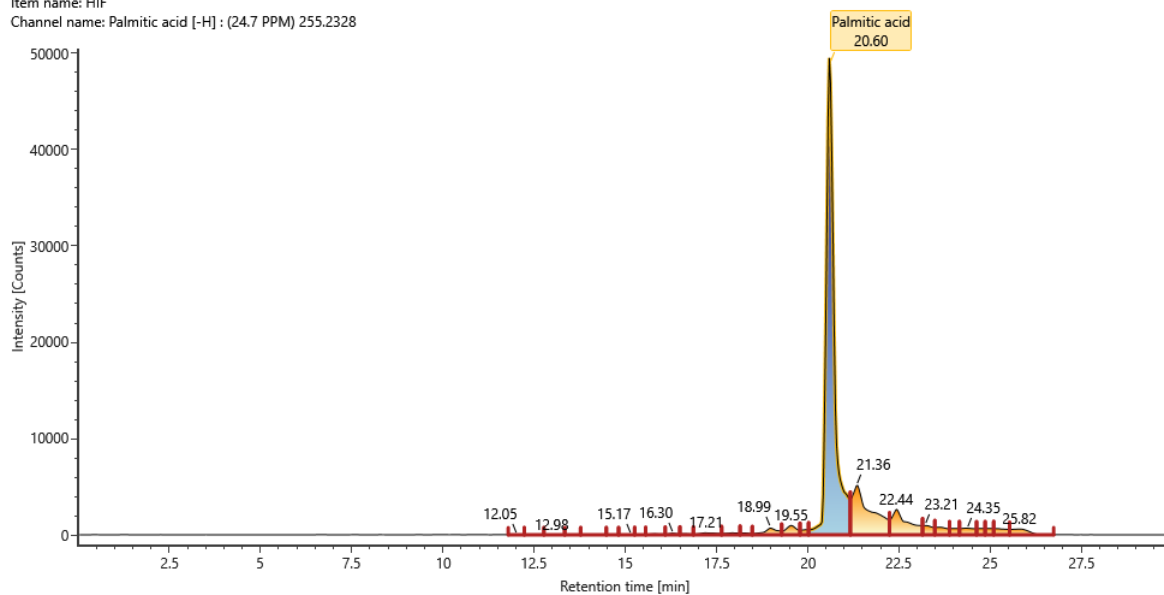
2.68e6





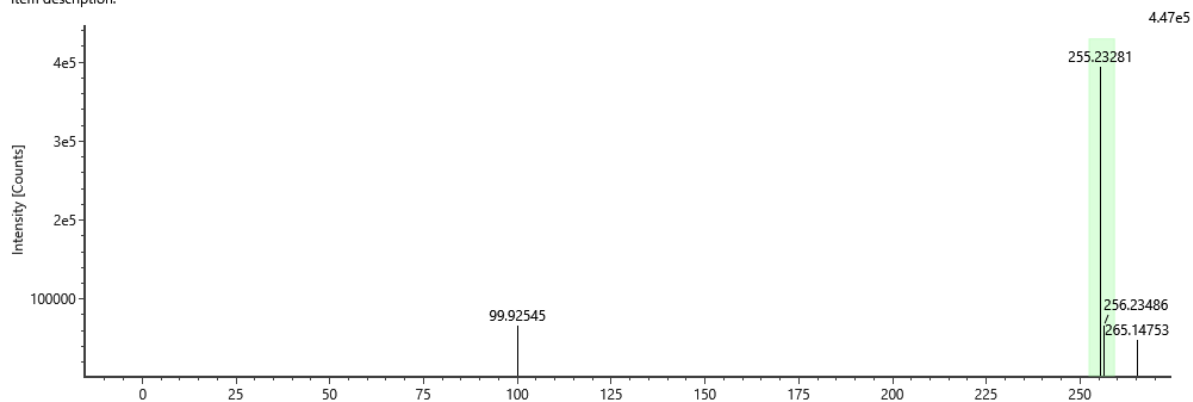
# Ácido palmítico

Item name: HIF  
Channel name: Palmitic acid [-H] : (24.7 PPM) 255.2328



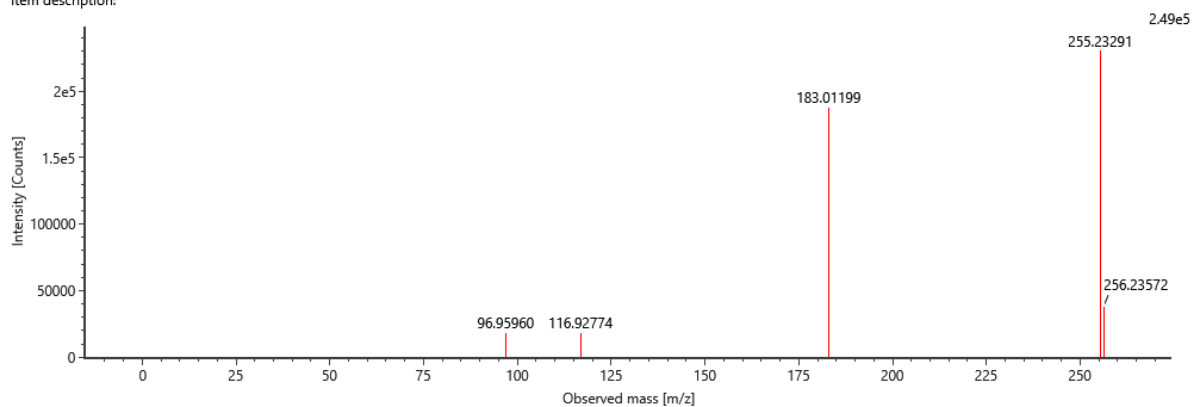
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 20.6068 +/- 0.0591 minutes



Item name: HIF  
Item description:

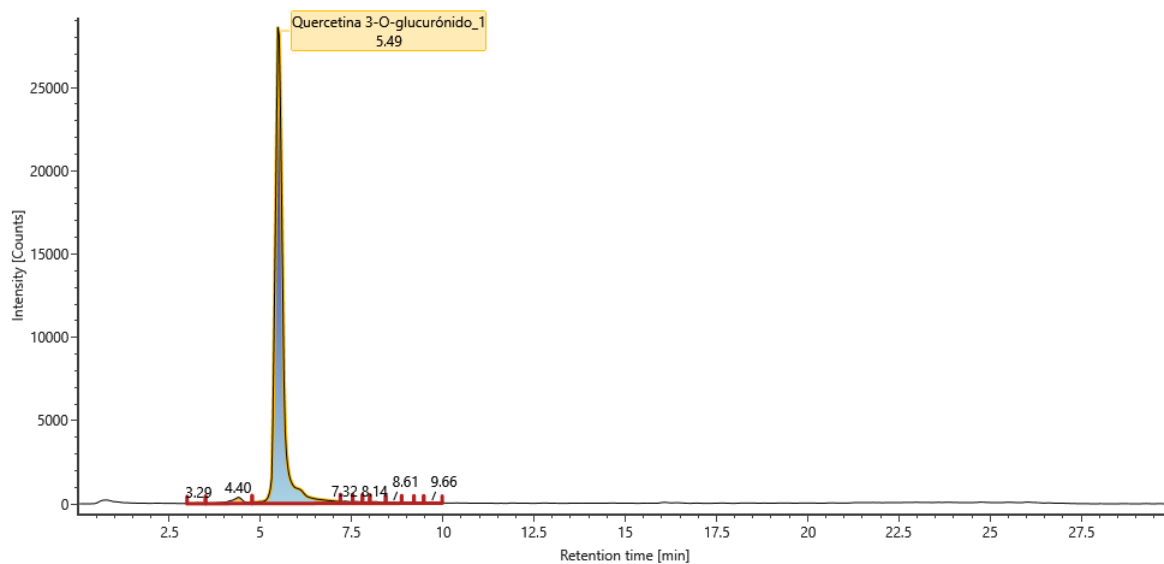
Channel name: High energy : Time 20.6068 +/- 0.0591 minutes



# Quercetina 3-O-glucurónico

Item name: HIF

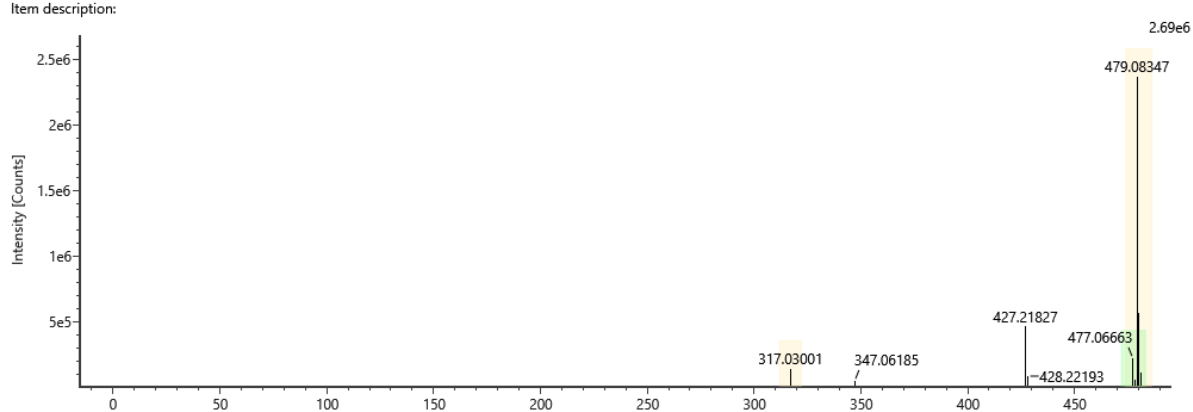
Channel name: Quercetina 3-O-glucurónico\_1 [-H] : (24.7 PPM) 477.0666



Item name: HIF

Item description:

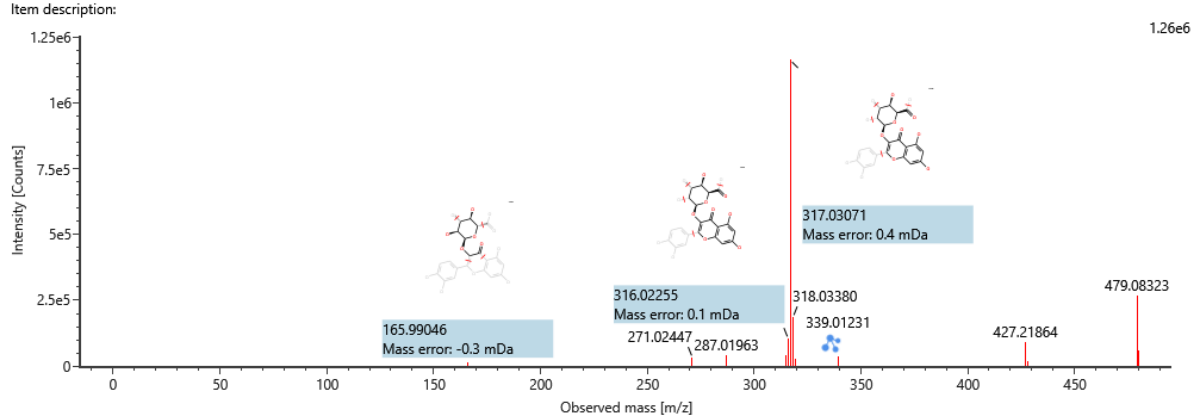
Channel name: Low energy : Time 5.4990 +/- 0.0591 minutes



Item name: HIF

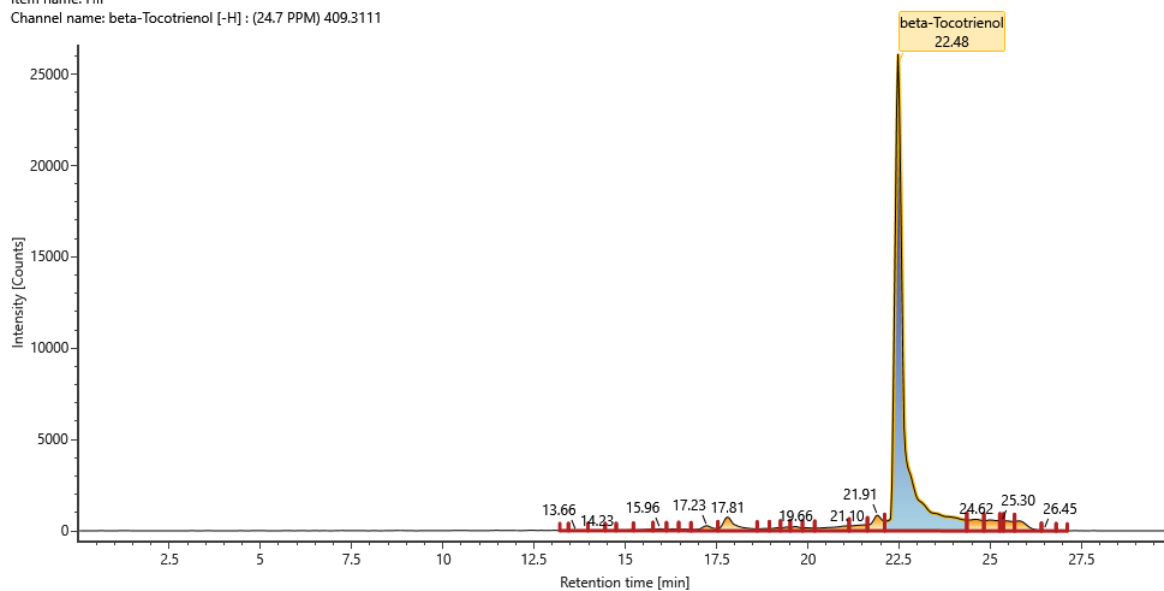
Item description:

Channel name: High energy : Time 5.4990 +/- 0.0591 minutes



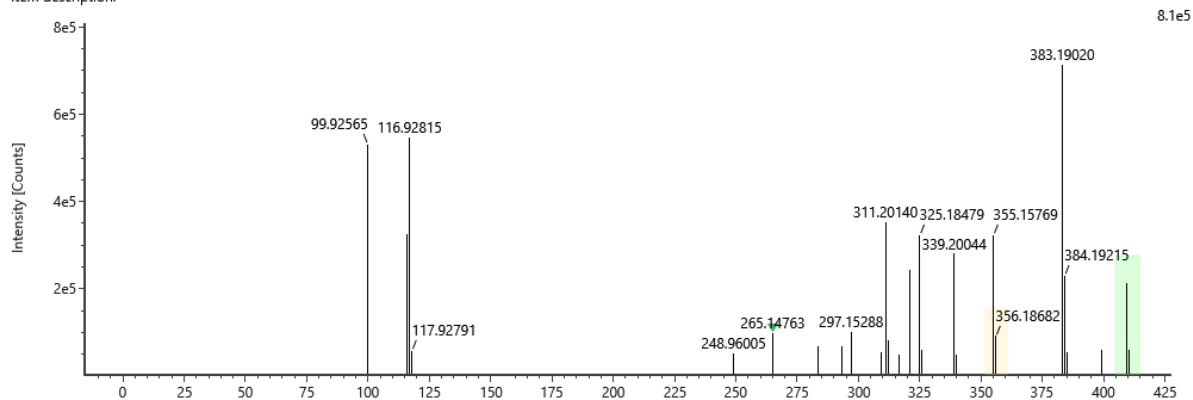
# $\beta$ -tocotrienol

Item name: HIF  
Channel name: beta-Tocotrienol [-H] : (24.7 PPM) 409.3111



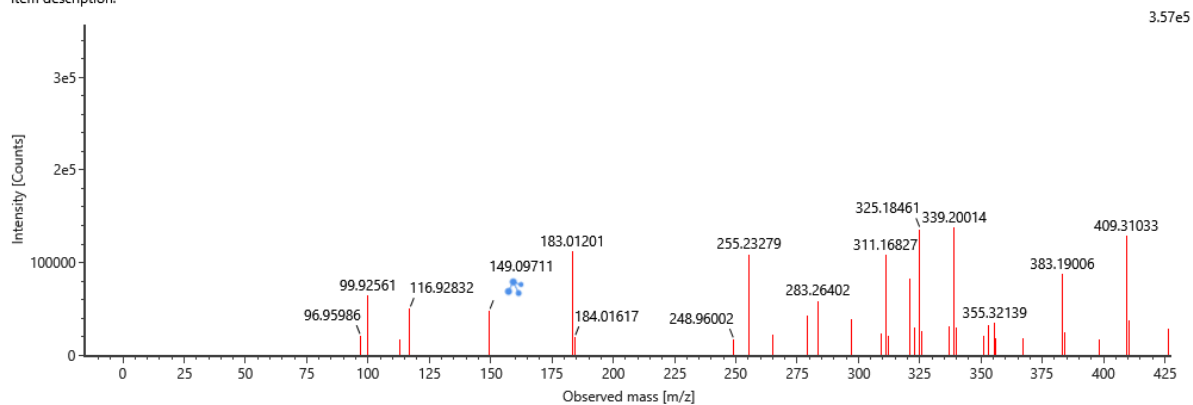
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 22.4828 +/- 0.0591 minutes



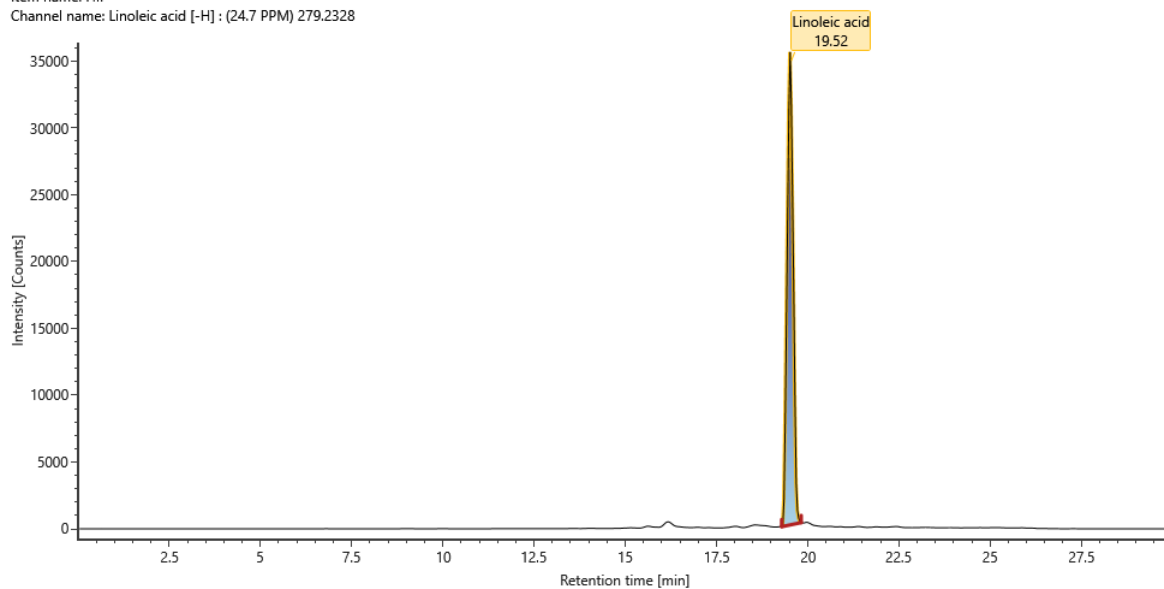
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 22.4828 +/- 0.0591 minutes



# Ácido linoleico

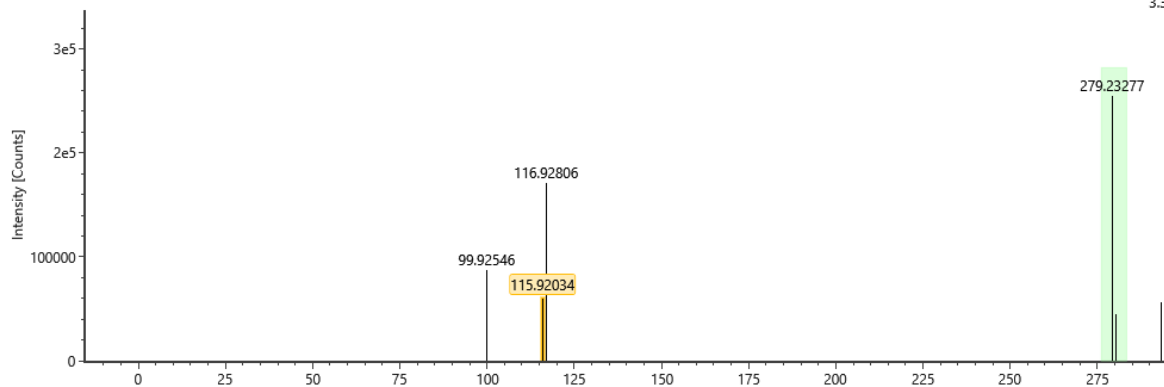
Item name: HIF  
Channel name: Linoleic acid [-H] : (24.7 PPM) 279.2328



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 19.5292 +/- 0.0591 minutes

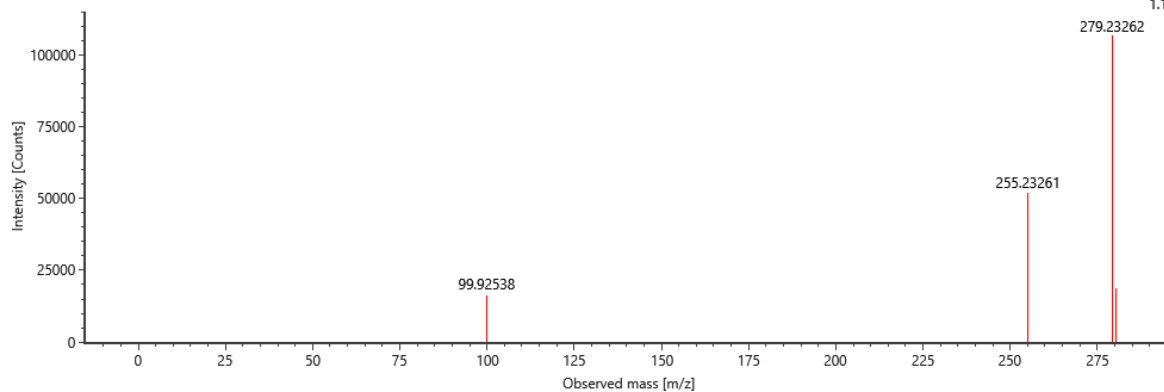
3.38e5



Item name: HIF  
Item description:

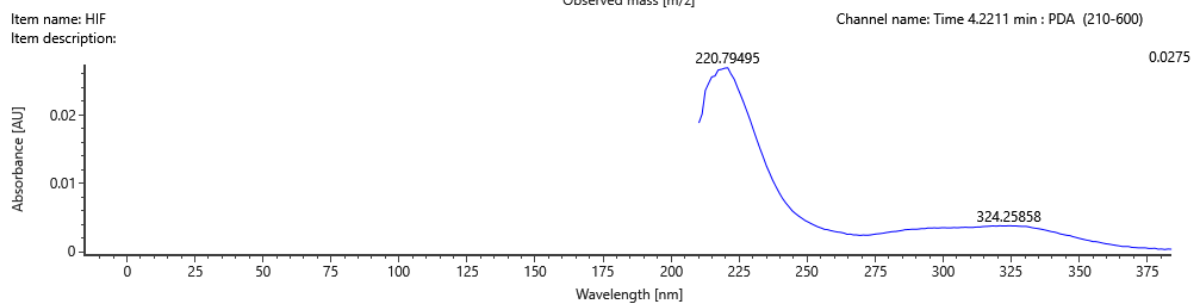
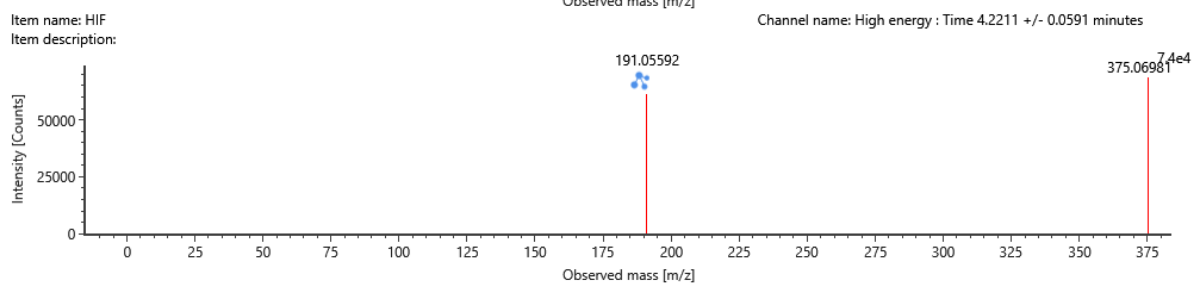
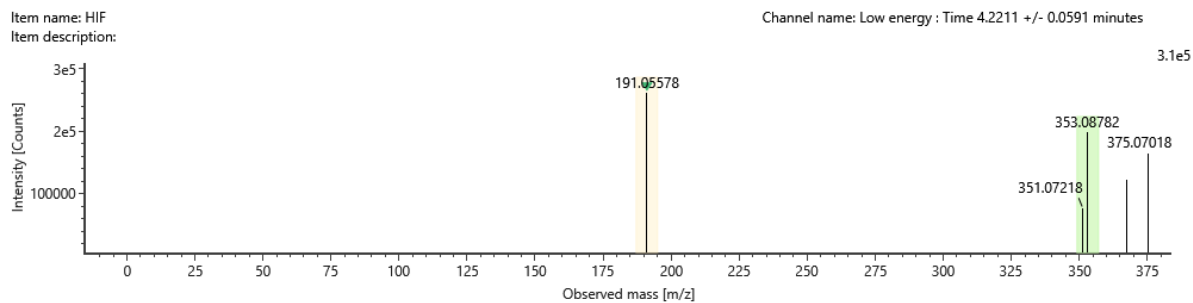
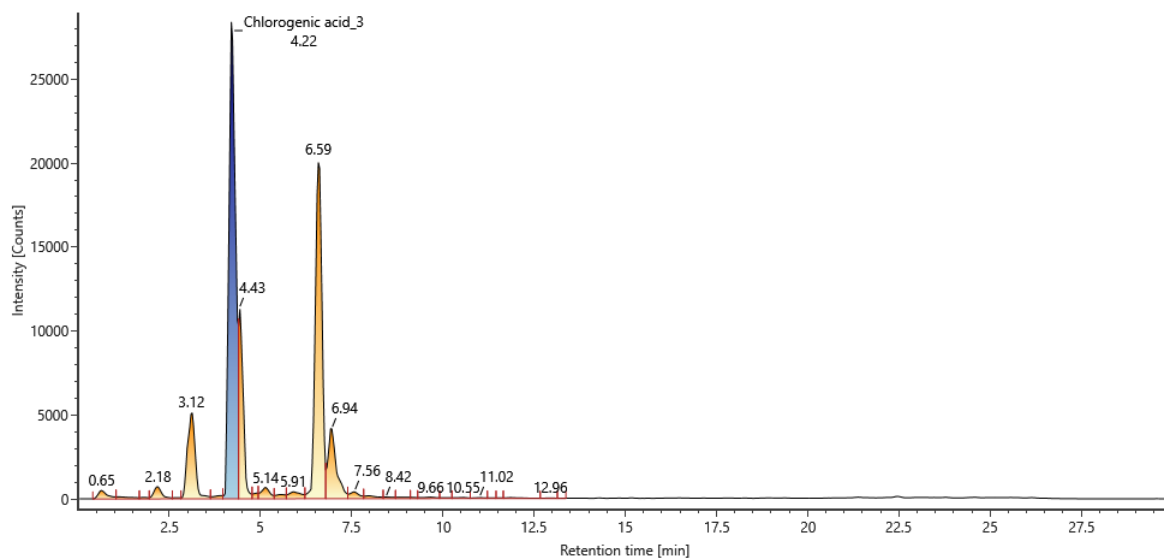
Channel name: High energy : Time 19.5292 +/- 0.0591 minutes

1.15e5



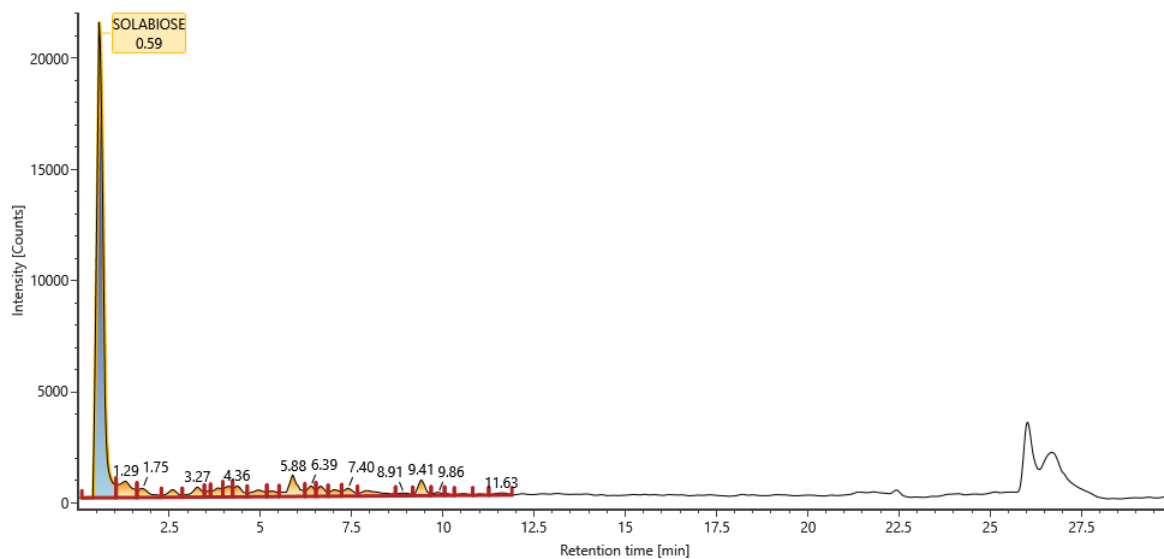
# Ácido clorogénico

Item name: HIF  
Channel name: 1-Caffeoylquinic acid [-H] : Chlorogenic acid\_3 [-H] : (24.7 PPM) 353.0878



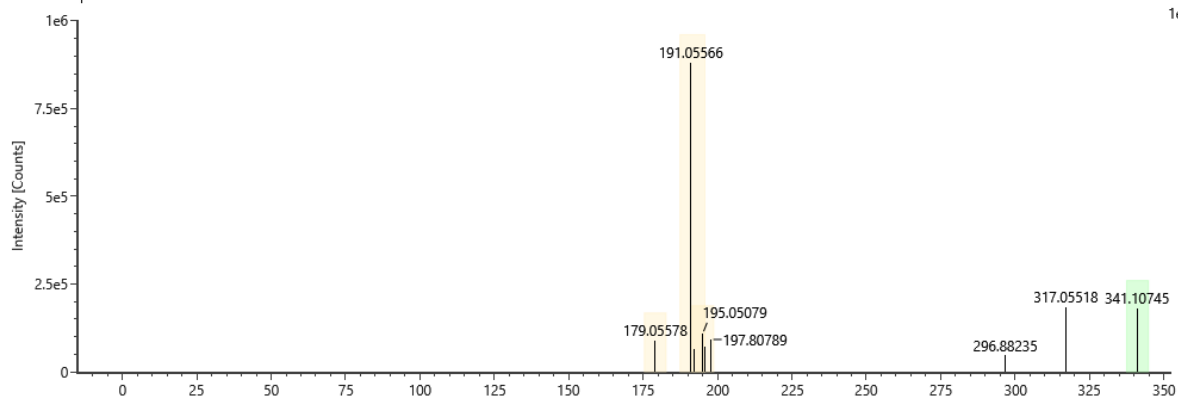
# Solabiosa

Item name: HIF  
Channel name: SOLABIOSE [-H] : (24.7 PPM) 341.1075



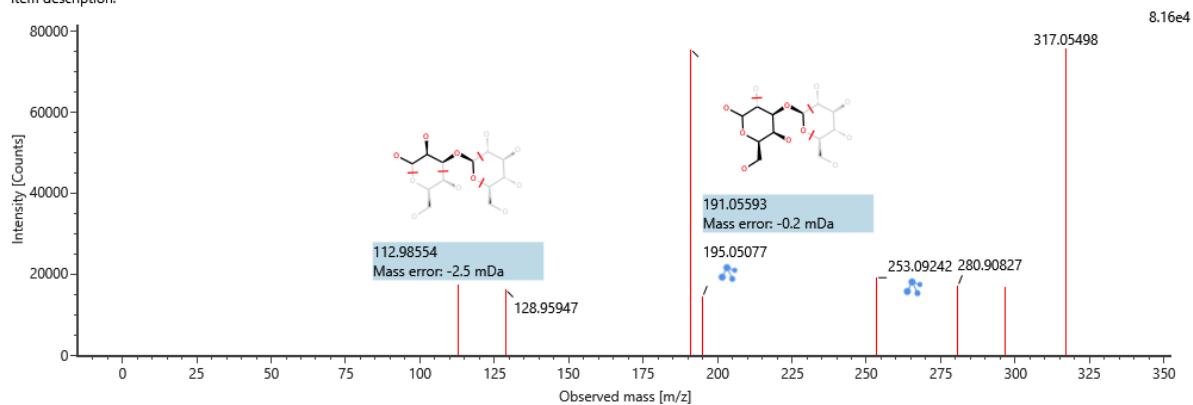
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 0.5937 +/- 0.0591 minutes



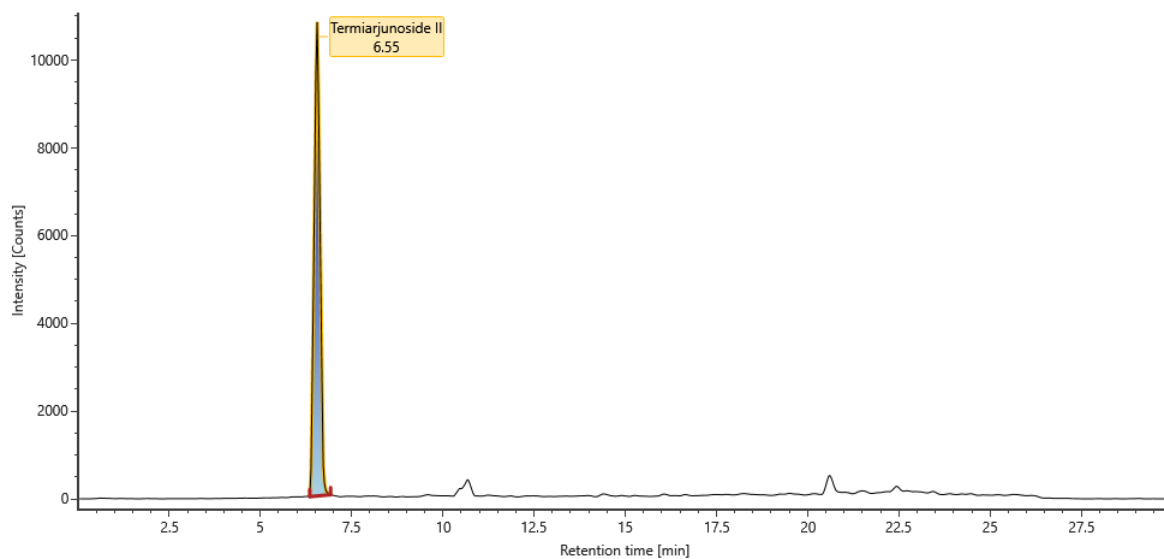
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 0.5937 +/- 0.0591 minutes



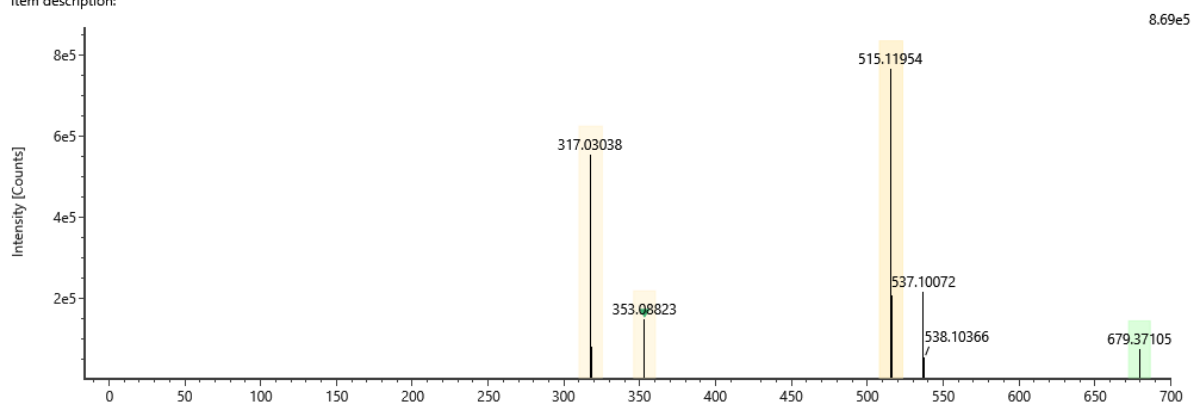
# Termiarjunosido II

Item name: HIF  
Channel name: Termiarjunosido II [-H] : (24.7 PPM) 679.3711



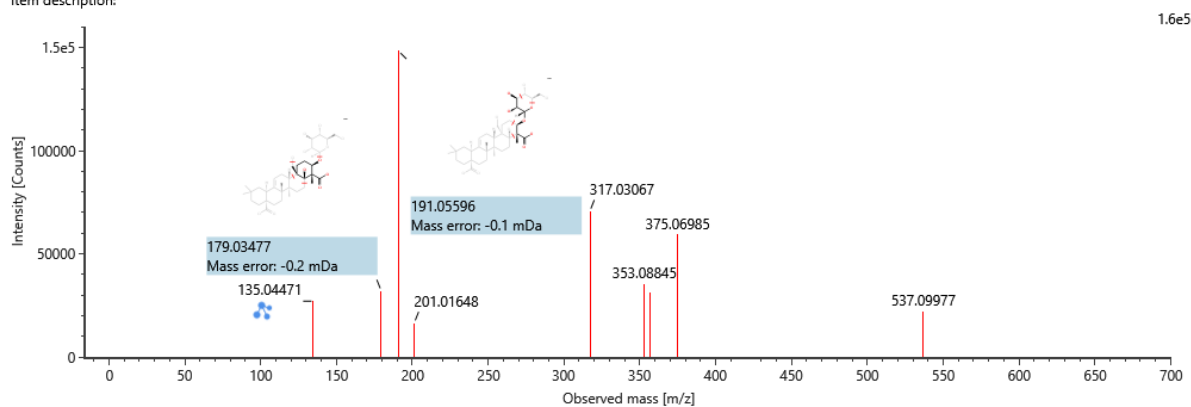
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.5582 +/- 0.0591 minutes



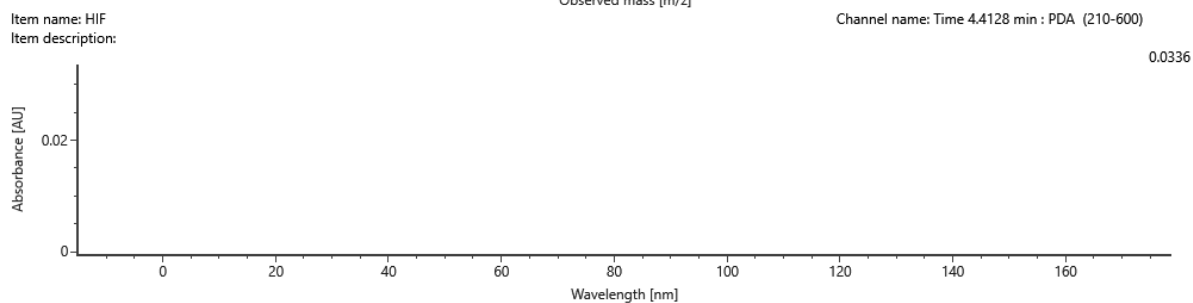
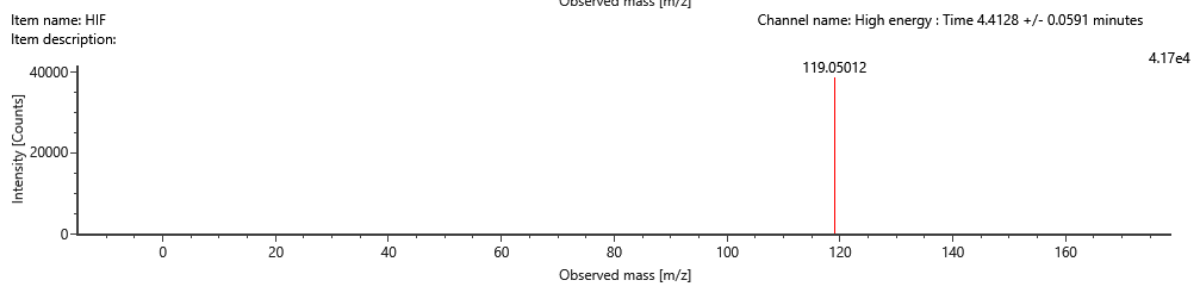
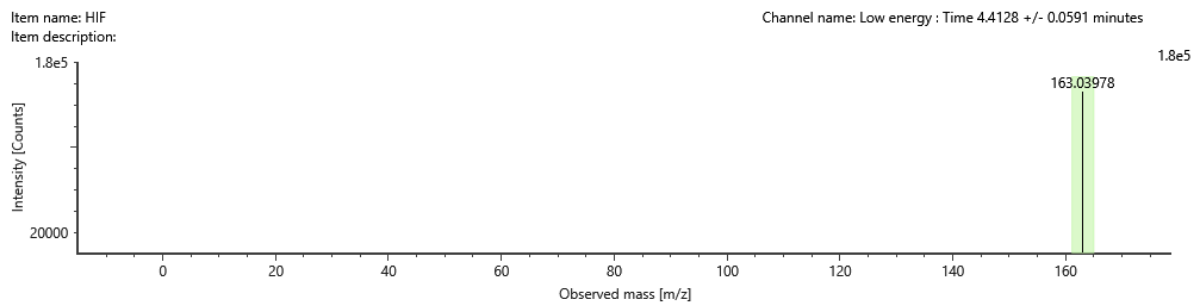
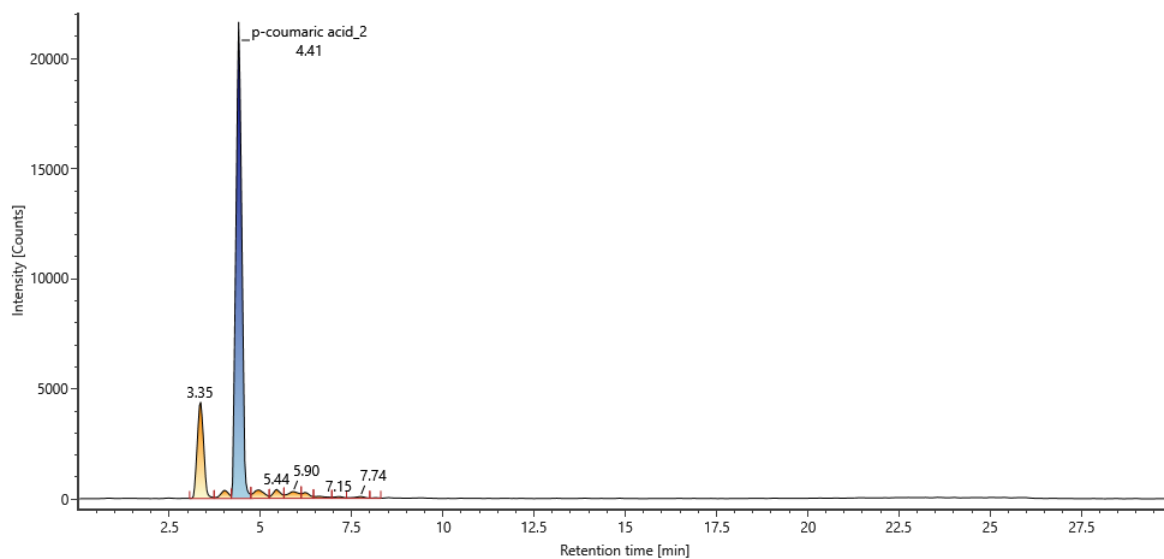
Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 6.5582 +/- 0.0591 minutes



# Ácido p-cumárico

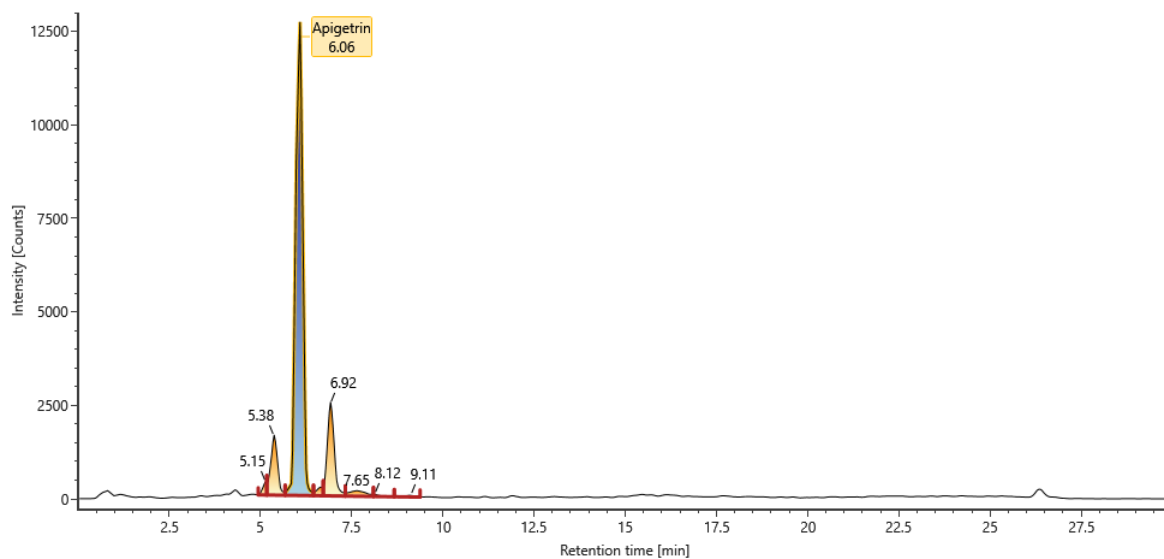
Item name: HIF  
Channel name: 4-Hydroxycinnamic acid [-H] : p-coumaric acid\_2 [-H] : (24.7 PPM) 163.0398





# Apigetrina

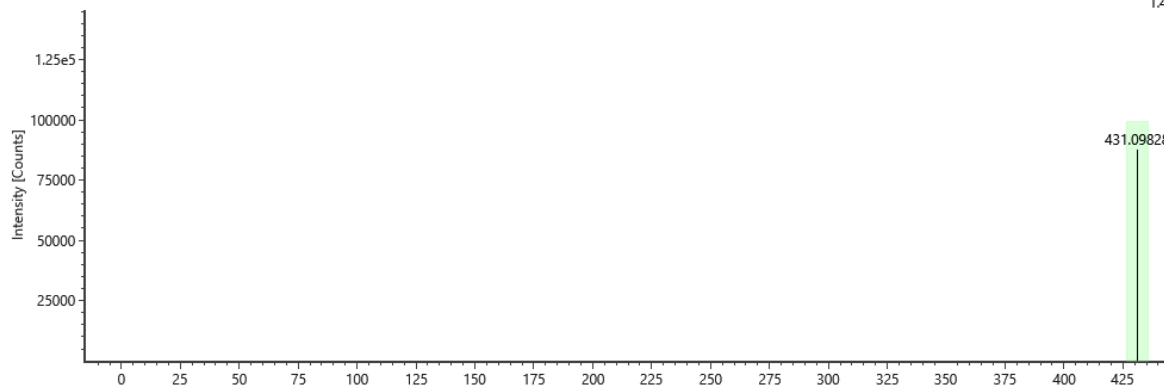
Item name: HIF  
Channel name: Apigetrin [-H] : (24.7 PPM) 431.0983



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 6.0807 +/- 0.0591 minutes

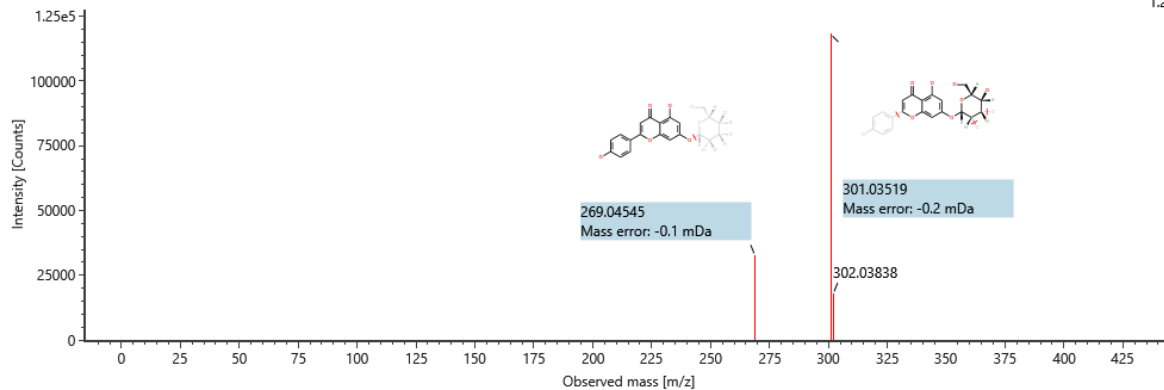
1.46e5



Item name: HIF  
Item description:

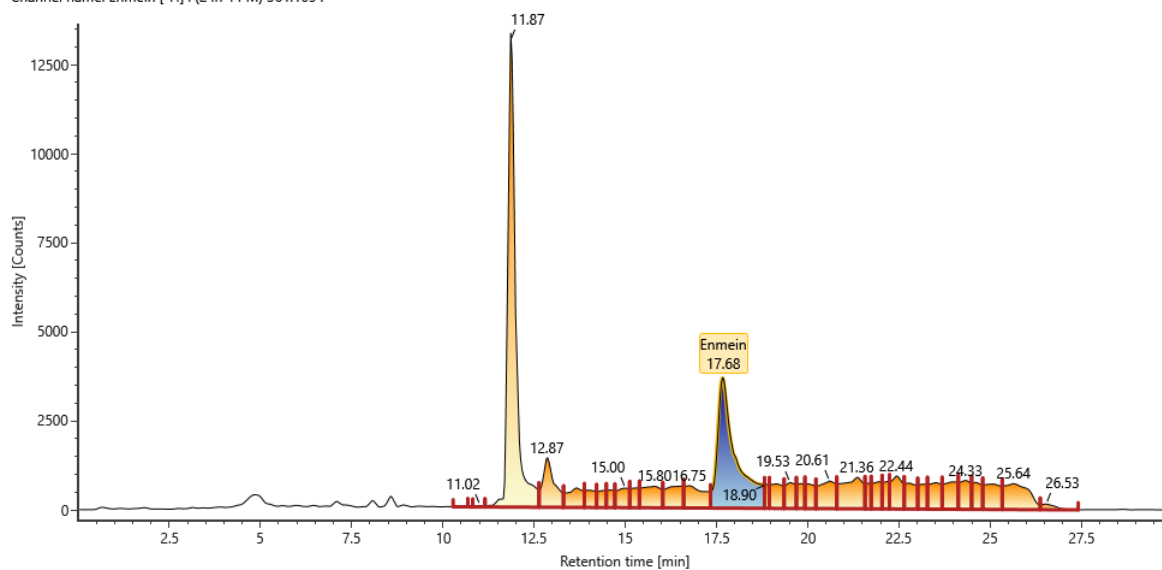
Channel name: High energy : Time 6.0807 +/- 0.0591 minutes

1.28e5



# Enmein

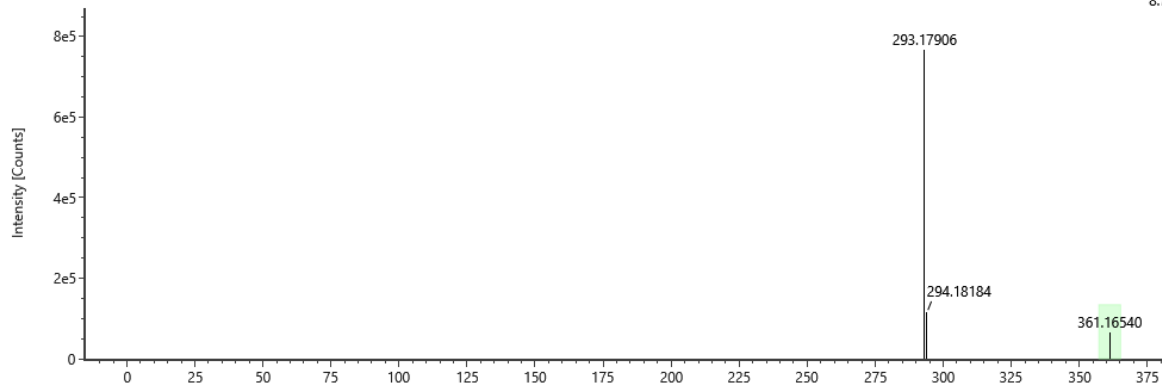
Item name: HIF  
Channel name: Enmein [-H] : (24.7 PPM) 361.1654



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 17.6592 +/- 0.0591 minutes

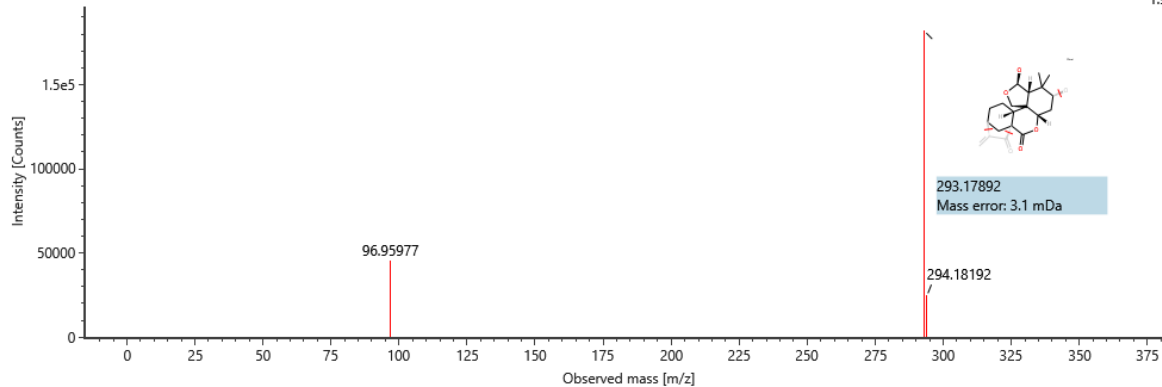
8.71e5



Item name: HIF  
Item description:

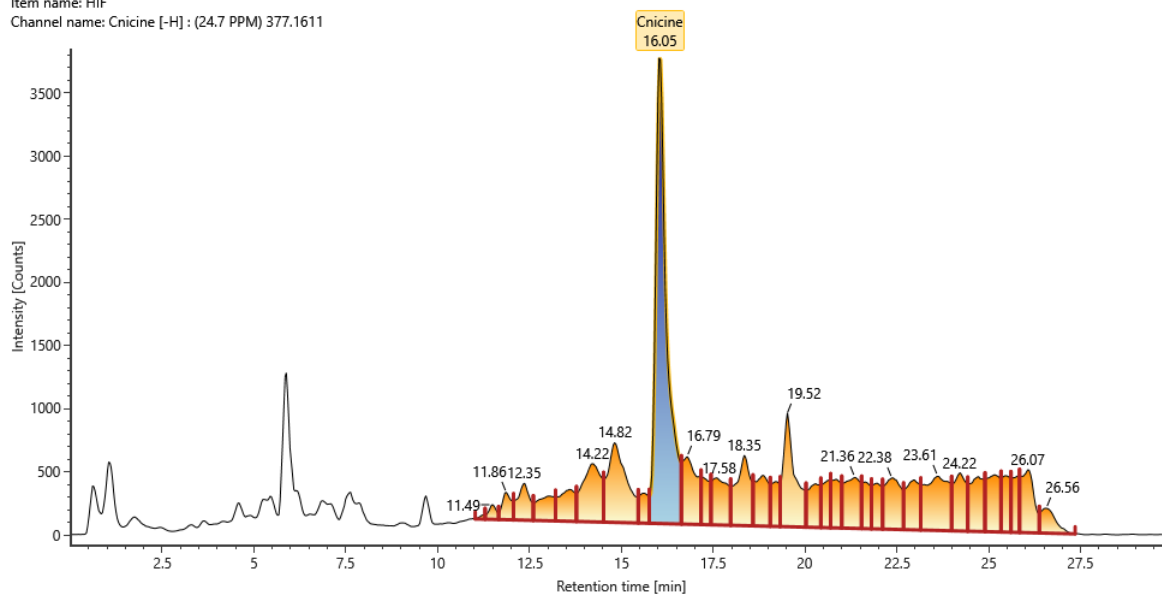
Channel name: High energy : Time 17.6592 +/- 0.0591 minutes

1.97e5



# Cnicina

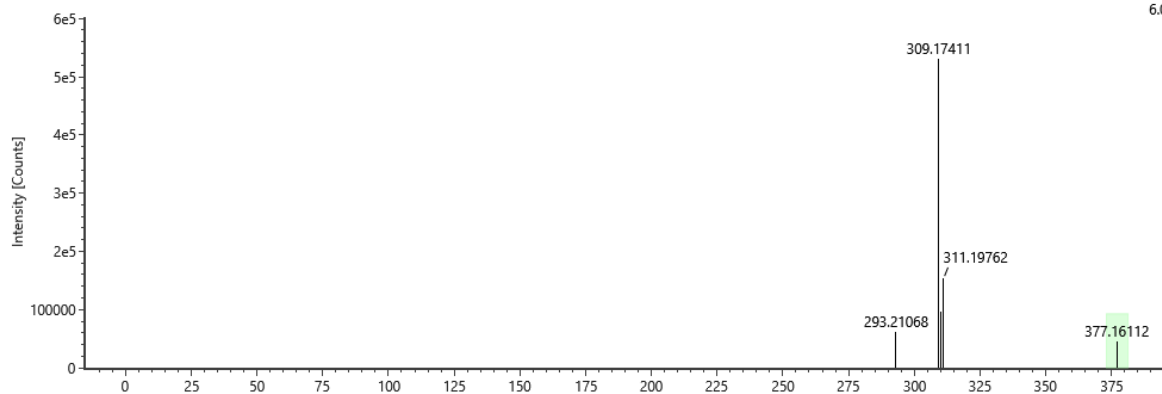
Item name: HIF  
Channel name: Cnicine [-H] : (24.7 PPM) 377.1611



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: Low energy : Time 16.0380 +/- 0.0591 minutes

6.03e5



Item name: HIF  
Item description:

Channel name: High energy : Time 16.0380 +/- 0.0591 minutes

2.19e5

