

## AISLAMIENTO DE LA ROTENONA E IDENTIFICACIÓN DE ESTEROLES EN LAS HOJAS DE YAWAR PANGA (*Aristolochia cf. Cauliflora Ule. o Aristolochia Didyma*)

Luis Rojas Rodriguez<sup>1</sup>, Elena Córdor Cuyubamba<sup>1</sup>, Victor Reyna Pinedo<sup>1\*</sup>

### RESUMEN

Las plantas con propiedades terapéuticas son utilizadas comúnmente en medicina tradicional, tal es el caso del Yawar Panga, *Aristolochia cf. Cauliflora Ule*. En la bibliografía no se han publicado estudios relativos a la composición química de las hojas de Yawar Panga, ni de ninguna otra parte de la planta. A partir de los extractos de éter de petróleo y diclorometano de las hojas de Yawar panga, colectadas en el Jardín Botánico del Centro Takiwasi (Tarapoto, región San Martín, Amazonia peruana), se identificaron tres esterole,  $\gamma$ -sitosterol, estigmasterol y campesterol, los cuales fueron analizados mediante cromatografía de gases e identificados mediante sus espectros de masas (CG-EM). Así mismo, del extracto etanólico se aisló la rotenona (con 93,4% de pureza), que fue identificada mediante CG-EM, resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C (RMN <sup>1</sup>H y RMN <sup>13</sup>C) y por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

Además, se realizó el análisis cualitativo de sus metabolitos secundarios.

**Palabras clave:** Yawar Panga, esteroles, flavonoides, rotenona.

## ROTENONE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF STEROLS IN THE HOME OF YAWAR PANGA (*Aristolochia cf. Cauliflora Ule. or Aristolochia Didyma*)

### ABSTRACT

Plants with therapeutic properties are commonly used in traditional medicine, such is the case of Yawar Panga, *Aristolochia cf. Cauliflora Ule*. No studies on the chemical composition of Yawar Panga leaves, or any other part of the plant, have been published in the literature. From the petroleum ether and dichloromethane extracts of the leaves of Yawar panga, collected in the Botanical Garden of the Takiwasi Center (Tarapoto, San Martín region, Peruvian Amazon), three sterols,  $\gamma$ -sitosterol, stigmasterol and campesterol, were identified, which

---

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería  
\* vrey26@yahoo.es

were analyzed by gas chromatography and identified through their spectra of masses (CG-EM). Likewise, rotenone (with 93.4% purity) was isolated from the ethanolic extract, which was identified by CG-EM,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance (RMN  $^1\text{H}$  and RMN  $^{13}\text{C}$ ) and by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR).

In addition, the qualitative analysis of its secondary metabolites was carried out.

**Key words:** Yawar Panga, sterol, flavonoid, rotenone.

## INTRODUCCIÓN

El Perú es considerado uno de los países megadiversos del mundo, pues cuenta con más de 60 ecosistemas diferentes, en donde crecen cerca de 25000 plantas diferentes<sup>1</sup>, las cuales son utilizadas con fines decorativos, alimenticios y medicinales. Tal es el caso del Yawar Panga (*Aristolochia cf. Cauliflora Ule. o Aristolochia Didyma*)<sup>2</sup>, cuyo nombre proviene de dos palabras en quechua, “yawar” que significa sangre y “panga” que es hoja ancha, cuya traducción del quechua al español es hoja ancha de sangre, debido a que al cortarse sus ramas liberan un líquido rojizo, similar a la sangre.

La familia a la cual pertenece el Yawar Panga, Aristolochiaceae, cuenta con 7 géneros y 625 especies diferentes<sup>3</sup>.

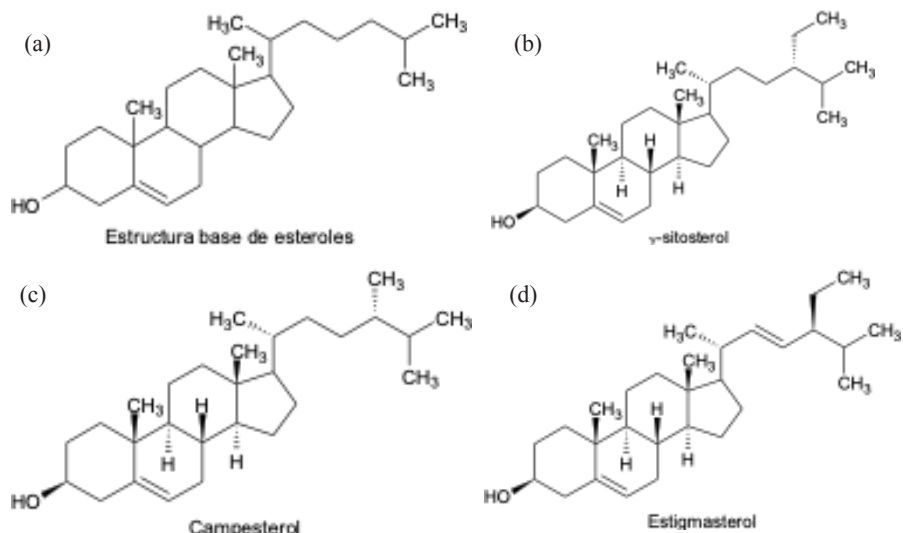
En esta familia de plantas se presenta comúnmente el alcaloide denominado ácido aristolóquico, el cual posee actividad antitumoral y antimicrobiana<sup>4</sup>, pero que genera problemas renales al ser consumido<sup>5</sup>.

El Yawar Panga actualmente se usa en medicina tradicional en razón a sus propiedades eméticas. Así, en el Centro Takiwasi (Tarpoto, Perú) la utilizan para la etapa inicial de desintoxicación de sus pacientes, mediante la ingesta de la decocción acuosa de sus hojas<sup>2</sup>.

En la bibliografía no se ha publicado estudios relativos a la composición química de las hojas de Yawar Panga, ni de ninguna otra parte de la planta.

Por ello teniendo en cuenta los resultados del análisis cualitativo, decidimos estudiar los esteroides y flavonoides presentes en las hojas de Yawar panga.

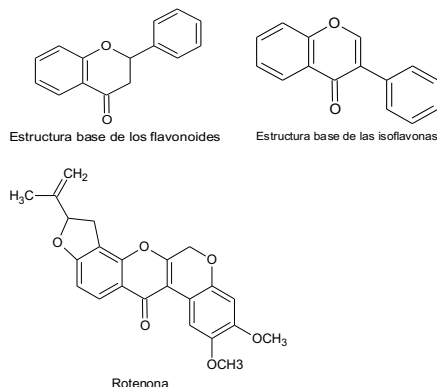
Los esteroides, Figura 1, son un tipo de metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en las plantas, siendo el  $\beta$ -sitosterol, el principal esteroide presente en plantas, junto con el estigmasterol y el campesterol. El  $\gamma$ -sitosterol es un  $24\beta$ -epímero del  $\beta$ -sitosterol<sup>6</sup> y se ha publicado muy poco acerca de él. Los sitosteroides se diferencian del estigmasterol solo en que la cadena lateral del sitosterol es saturada<sup>7</sup>.



**Figura 1.** Estructura base de esteroides (a),  $\gamma$ -sitosterol (b), campesterol (c) y estigmasterol (d).

Los esteroides de origen vegetal presentan varias propiedades farmacológicas. Su consumo favorece la reducción de los niveles de colesterol<sup>8</sup>. El  $\gamma$ -sitosterol exhibe un amplio rango de actividad citotóxica frente a células cancerosas<sup>9</sup>. El estigmasterol inhibe marcadamente los tumores en carcinogénesis en ratas y se ha verificado que posee potenciales propiedades antiinflamatorias<sup>10</sup>.

Los flavonoides, Figura 2, constituyen los compuestos de mayor distribución en las plantas, encontrándose principalmente en forma de agliconas. Durante mucho tiempo se emplearon como colorantes, y actualmente como conservantes por sus propiedades antioxidantes. Además, poseen características antiinflamatorias y antibacterianas<sup>11</sup>. Los flavonoides se clasifican en flavonas, isoflavonas, chalconas y auronas, Figura 2. Uno de los ejemplos más conocidos de isoflavonas es la rotenona, un flavonoide que se extrajo por primera vez de las raíces de las plantas de los géneros *Lonchocarpus* y *Derris*<sup>12</sup>. Desde 1985 se utilizó como pesticida e insecticida natural eficaz contra chinches y acaros<sup>13</sup>, hasta que en 2007 fue catalogado como toxina ambiental.



**Figura 2.** Estructura base de flavonoides (a), isoflavonas (b) y rotenona (c).

A continuaci6n, se describe el estudio qu6mico cualitativo y el an6lisis mediante cromatograf6a de gases acoplada con espectrometr6a de masas (CG-EM) que permiti6 la identificaci6n de tres esteroides presentes en las hojas de Yawar panga,  $\gamma$ -sitosterol, campesterol y estigmasterol. Adem6s, se aisl6 el flavonoide rotenona y su estructura fue confirmada por resonancia magn6tica nuclear de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$ ), por espectrometr6a de masas (CG-EM) y por espectroscop6a infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

## PARTE EXPERIMENTAL

### Materiales y equipos

Para las cromatograf6as en capa fina (CCF) se utilizaron placas de silica kieselgel 60 F254 de 0,2 mm de espesor, con base de aluminio (Riedel de Ha6n). Las cromatograf6as en columna (CC) y la columna flash (CF) se realizaron sobre silica gel de un poro de 60 Å y un tama6o de part6cula de 40-63  $\mu\text{m}$  (Sigma Aldrich), as6 como tambi6n se utiliz6 sephadex LH-20 (GE Healthcare). Las placas preparativas (PP) fueron PLC Silica Gel 60 F25 de 2 mm de espesor, con base de vidrio de 20 x20 cm Merck Millipore.

Los an6lisis de identificaci6n de esteroides y de la rotenona se realizaron por CG-EM SHIMADZU, GC-2010 Plus, con automuestreador AOC-6000, y detector de espectrometr6a de masas SHIMADZU, GCMS-QP210 Ultra.

Adem6s, para la identificaci6n estructural de la rotenona se obtuvieron los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$ , que se registraron en la plataforma de RMN del Institut de Chimie de Toulouse - Francia, con un espectr6metro Bruker Avance de 300 MHz y el espectro FTIR por un IR marca Perkin Elmer modelo Spectrum 400IR/NIR.

### **Material vegetal**

Las hojas de Yawar Panga (*Aristolochia cf. Cauliflora Ule*) se recolectaron en el Jardín Botánico del Centro de Rehabilitación de Adicciones y de Investigación de Medicinas Tradicionales – Takiwasi, el 11 de febrero de 2014, bajo lluvia, por el Dr. Víctor Reyna P. y fueron identificados por el Blgo. Severo Baldeon (Herbario San Marcos, Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos).

La muestra vegetal se secó a 40 °C y se guardó en recipientes herméticos (febrero 2014), siendo nuevamente puestas a secar a 40 °C durante 5 días y pulverizadas en un molino doméstico previo al inicio del trabajo químico (noviembre 2018).

### **Análisis cualitativo**

El análisis cualitativo (marcha fitoquímica) se realizó por duplicado según el procedimiento adaptado de Rondina & Coussio<sup>14</sup>.

### **Aislamiento de rotenona e identificación de esteroides**

#### ***Extracción***

Las hojas secas y pulverizadas (500 g) de Yawar Panga se extrajeron por maceración a temperatura ambiente con éter de petróleo durante periodos de 1, 2, 3 y 4 días, respectivamente, juntándose los extractos obtenidos.

El extracto líquido se concentró en rotavapor a 40°C y se obtuvo 4,54 g del extracto bruto orgánico de éter de petróleo (EBO/éter).

A continuación, el material sólido se extrajo por maceración, a temperatura ambiente, con diclorometano y, luego, con etanol, obteniéndose los extractos brutos orgánicos de diclorometano (10,82 g) y etanol (4,37 g), EBO/diclorometano y EBO/etanol, respectivamente.

#### ***Separación y purificación de esteroides mediante cromatografía de EBO/éter y EBO/diclorometano***

El extracto de EBO/éter (4,54 g) se sometió a dos CC, una tras otra, utilizando como eluyentes mezclas de éter de petróleo, acetato de etilo, cloroformo y metanol. Las fracciones obtenidas en cada CC se analizaron por cromatografía de capa fina (CCF) frente a un patrón de ergosterol, lo cual permitió agrupar aquellas que tenían un comportamiento similar al ergosterol, obteniéndose 168 mg de una muestra, que denominamos muestra E, de cristales blancos con impureza amarilla.

El extracto de EBO/diclorometano (10,82 g) se separó por columna flash (CF), utilizando como eluyentes mezclas de éter de petróleo, acetato de etilo, cloroformo y metanol. Aquellas fracciones con comportamiento similar al ergosterol en CCF, se juntaron y volvieron a separar esta vez por CC utilizando como eluyentes combinaciones de los solventes ya mencionados. Nuevamente, se juntaron las fracciones con comportamiento similar al ergosterol en CCF. Finalmente, se purificaron por placa preparativa (PP), realizando tres veces la elución con una mezcla de éter de petróleo y acetato de etilo (relación nueve a uno); se reveló con luz UV a 265 nm y se colectó la sílica gel donde se observaba bandas coloreadas similares al

ergosterol, la cual se extrajo con diclorometano, obteni6ndose 120 mg de cristales blancos (muestra D).

#### ***Identificaci6n de esteroides mediante CG-EM***

Se analizaron las muestras D y E (ricos en esteroides). Para ello, se disolvi6 1 mg/1 mL de la muestra en diclorometano. 1  $\mu$ L de cada muestra se inyect6 utilizando un Split de 10:1, con un flujo de 1 mL/min, con una temperatura del inyector, de la interfase y del detector, iguales a 250  $^{\circ}$ C, 220  $^{\circ}$ C y 200  $^{\circ}$ C, la temperatura de la columna vari6 de 240  $^{\circ}$ C hasta 265  $^{\circ}$ C a una velocidad de 10  $^{\circ}$ C/min., permaneciendo en 265  $^{\circ}$ C durante 40 min.

#### ***Purificaci6n de rotenona a partir del EBO/etanol***

El EBO/etanol (4,37 g) se someti6 a partici6n l6quido-l6quido (PLL) con butanol, cloroformo y agua, obteni6ndose tres fracciones, uno por cada solvente: Gbutanol (0,9 g), Gcloroformo (2,4 g), y Gagua (0,9 g). La fracci6n de Gcloroformo (2,4 g) se proces6 mediante una columna de sephadex, con 6ter de petr6leo, diclorometano y metanol, obteni6ndose fracciones por cada solvente utilizado, las cuales al ser concentradas en rotavapor a 40  $^{\circ}$ C proporcionaron las fracciones Ge (1,2 g), Gd (0,6 g) y Gm (0,3 g). Gd (0,6 g) presentaba cristales con impurezas crema, motivo por el cual se realiz6 su purificaci6n mediante CC, utilizando como eluyentes combinaciones de 6ter de petr6leo, acetato de etilo, cloroformo y metanol. Las fracciones obtenidas se analizaron por CCF y se obtuvo 159 mg (muestra R) de un s6lido-polvo de color crema con una sola mancha en CCF.

#### ***Identificaci6n de rotenona por CG-EM y FTIR***

Se disolvi6 1 mg de la muestra R en 1 mL de diclorometano. 3  $\mu$ L de la disoluci6n se inyectaron con un Split de 20:1, con un flujo de 3 mL/min, con una temperatura del inyector, de la interfase y del detector, iguales a 250  $^{\circ}$ C, 220  $^{\circ}$ C y 200  $^{\circ}$ C, respectivamente, la temperatura de la columna vari6 de 190  $^{\circ}$ C hasta 250  $^{\circ}$ C a una velocidad de 10  $^{\circ}$ C/min., permaneciendo en 250  $^{\circ}$ C durante 5 min. Luego aument6 hasta 280  $^{\circ}$ C a una velocidad de 15  $^{\circ}$ C/min., permaneciendo en 280  $^{\circ}$ C durante 47 min. Adem6s, obtuvimos su espectro de FTIR.

#### ***Identificaci6n de rotenona por RMN $^1$ H y RMN $^{13}$ C***

La muestra R (20 mg) se envi6 a Toulouse-Francia para la obtenci6n de sus espectros de RMN  $^1$ H y RMN  $^{13}$ C.

## **RESULTADOS Y DISCUSI6N**

### **An6lisis cualitativo**

El an6lisis cualitativo mostr6 que las hojas del Yawar Panga (*Aristolochia* cf. *Cauliflora* Ule) contienen aminogrupos primarios y/o secundarios, grupos fen6licos, triptenos y esteroides, catequinas, flavonoides, quinonas, antronas y antranoles. Adem6s, se verific6 la ausencia de taninos, alcaloides, leucoantocianidinas y saponinas. Como el 6cido aristol6quico es considerado un alcaloide<sup>4</sup> y las pruebas cualitativas para alcaloides resultaron negativas, descartamos la presencia del 6cido aristol6quico en las hojas de Yawar Panga.

### Identificación de esteroides por CG-EM

Las muestras D y E presentan los mismos (tres) esteroides:  $\gamma$ -sitosterol (mayoritario), estigmasterol y campesterol, Figuras 3 y 4.

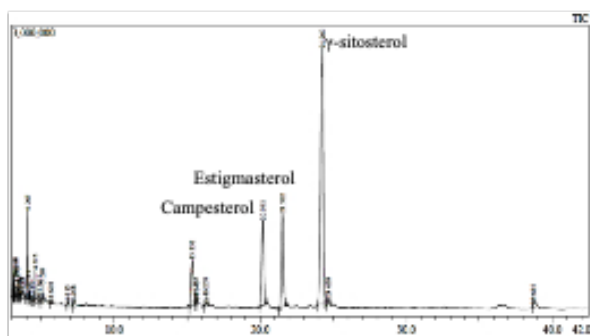


Figura 3. Cromatograma de iones totales (TIC) de la fracción E.

La muestra E, Figura 3, presenta un total de 78,42 % de esteroides, el porcentaje restante está distribuido en compuestos identificados como impurezas y algunas como grasas que se extrajeron con el éter de petróleo.

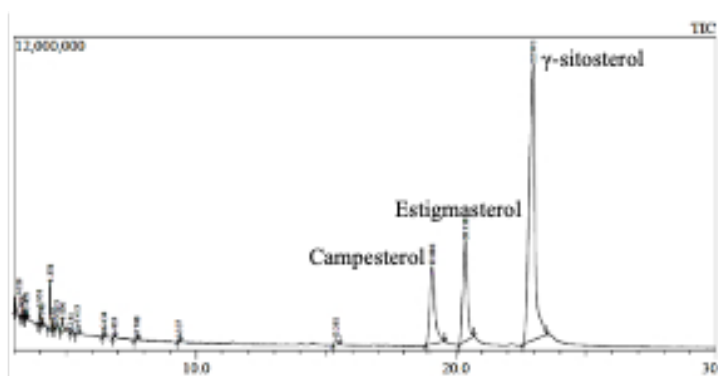


Figura 4. Cromatograma de iones totales (TIC) de la fracción D.

Por su parte la muestra D, Figura 4, están conformada por 94.5% de esteroides, siendo el  $\gamma$ -sitosterol el mayoritario. Los demás picos observados en el cromatograma de iones totales no alcanzan el 1% de composición.

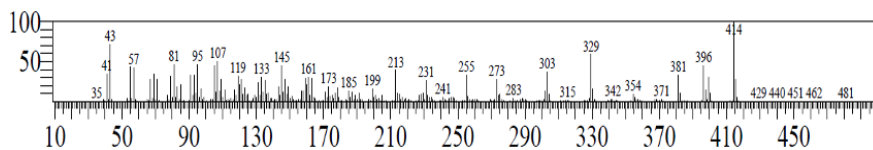
En la Tabla 1 se muestra el porcentaje de tres esteroides presentes en las muestras E y D obtenidos de las hojas del Yawar Panga: campesterol, estigmasterol y  $\gamma$ -sitosterol.

El equipo CG-EM proporciona los espectros de masas que corresponde a cada compuesto analizado (según su tiempo de retención) y proporciona los espectros de masas de las sustancias de referencia que están registrados en la base de espectros del equipo, resultando positiva la identificación de los tres esteroides.

**Tabla 1.** Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcoh6lico del fruto de tres variedades de *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller "tuna".

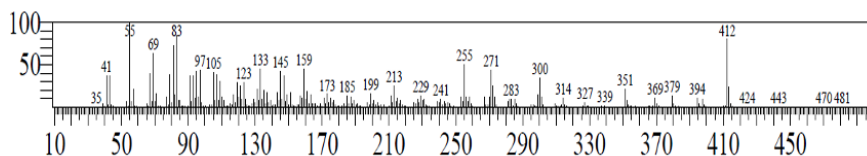
Muestra	Compuesto	Tiempo de retenci6n (min.)	6rea (%)
E	Campesterol	20,191	14,63
	Estigmasterol	21,522	14,83
	$\gamma$ -sitosterol	24,260	48,96
D	Campesterol	19,086	12,69
	Estigmasterol	20,358	16,51
	$\gamma$ -sitosterol	22,970	65,30

El espectro de masas del compuesto mayoritario (figura 5) result6 similar al espectro del  $\gamma$ -sitosterol (registrado en la base de espectros del equipo), ambos con el pico ion molecular de 414.

**Figura 5.** Espectro de masas del  $\gamma$ -sitosterol extraido de las hojas de Yawar Panga.

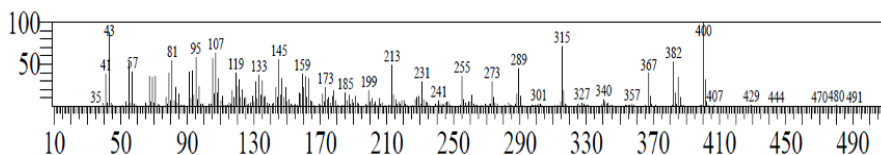
Adem6s, este espectro de masas es similar al publicado por Grovas et al. (2018)<sup>6</sup> e identificado como  $\gamma$ -sitosterol.

El espectro de masas del segundo esteroles (figura 6) result6 similar al espectro del estigmasterol (registrado en la base de espectros del equipo), ambos con el pico ion molecular de 412.

**Figura 6.** Espectro de masas del estigmasterol extraido de las hojas de Yawar Panga.



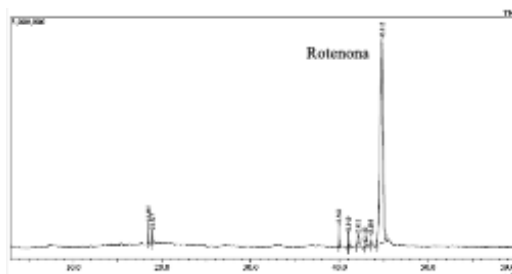
El espectro de masas del tercer esteroide (Figura 7) resultó similar al espectro del campesterol (registrado en la base de espectros del equipo), ambos con el pico ión molecular de 400.



**Figura 7.** Espectro de masas del campesterol extraído de las hojas de Yawar Panga.

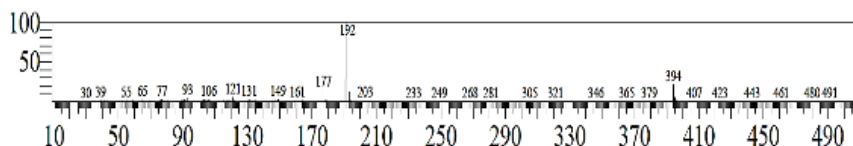
### Identificación de rotenona por CG-EM, FTIR y RMN $^1\text{H}$ y RMN $^{13}\text{C}$

La muestra R analizada mediante CG-EM (Figura 8) proporcionó rotenona con un 93,42 % de pureza. Los demás compuestos tienen menos del 1% de presencia en la muestra R. El color crema de nuestro producto, diferente al blanco reportado anteriormente para la rotenona, podría deberse a impurezas aún presentes en la muestra R.



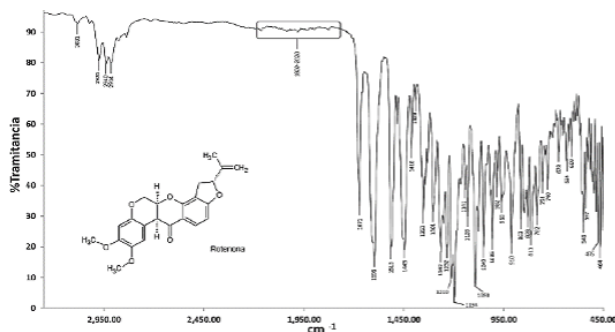
**Figura 8.** Cromatograma de iones totales (TIC) de la muestra R.

El equipo CG-EM proporcionó el espectro de masas (Figura 9), que resultó similar al espectro de la rotenona patrón (registrada en la base de espectros del equipo CG-EM), con los picos característicos a 394 (ión molecular) y 192 (pico base). Además, este espectro es similar al publicado por De Souza (2007)<sup>12</sup> de la rotenona obtenida de las raíces de *Derris urucur*.



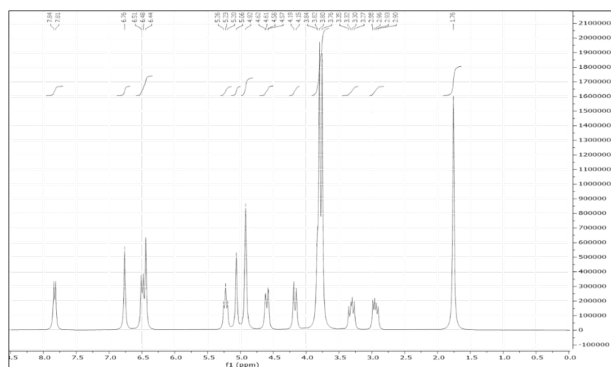
**Figura 9.** Espectro de masas de la rotenona aislada de las hojas de Yawar Panga.

Para confirmar ello, se registr6 el espectro FTIR (Figura 10), que result6 similar al reportado por Othman et al. (2018)<sup>15</sup> para una muestra patr6n de rotenona.

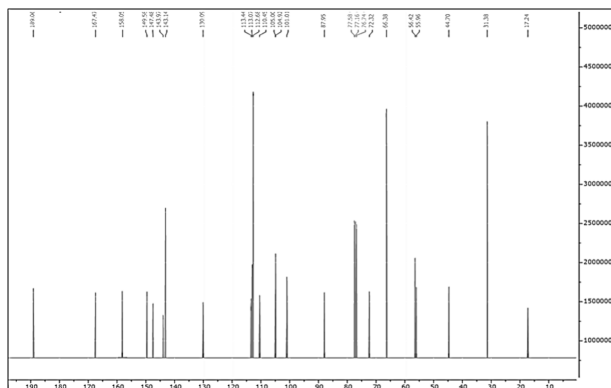


**Figura 10.** Espectro FTIR de la rotenona aislada de las hojas de Yawar Panga.

Para complementar el an6lisis estructural de la rotenona aislada de las hojas de Yawar panga se registraron los espectros de RMN<sup>1</sup>H (Figura 11) y de RMN<sup>13</sup>C (Figura 12):



**Figura 11.** Espectro RMN <sup>1</sup>H de la rotenona aislada de las hojas de Yawar Panga.



**Figura 12.** Espectro RMN <sup>13</sup>C de la rotenona aislada de las hojas de Yawar Panga.

Ambos espectros resultaron similares con aquellos publicados por de Souza (2007)<sup>12</sup>, tal como se ilustra en la comparación de los desplazamientos químicos  $\delta_H$  obtenidos para ambos espectros (Tabla 2 y Tabla 3, respectivamente):

**Tabla 2.** Desplazamientos químicos ( $\delta_H$  en ppm) de RMN<sup>1</sup>H a 300MHz de la rotenona en CDCl<sub>3</sub> (Figura 11), y aquellos reportados en bibliografía<sup>12</sup>.

Número de H	Integración	Acoplamiento	$\delta_H$ obtenido experimentalmente	$\delta_H$ (De Souza, 2007) <sup>12</sup>
1	3H	s	1,76	1,77
2	1H	m	2,96	2,97
3	1H	m	3,30	3,31
4a	3H	s	3,76	3,76
4b	3H	s	3,80	3,81
4c	1H	s	3,83	3,84
5	1H	d	4,17	4,18
6	1H	d	4,60	4,61
7a	1H	s	4,92	4,93
7b	1H	s	4,92	4,93
8	1H	s	5,06	5,07
9	1H	t	5,23	5,24
10a	1H	s	6,44	6,45
10b	1H	d	6,49	6,50
11	1H	s	6,76	6,77
12	1H	d	7,83	7,84

**Tabla 3.** Desplazamientos qu3micos ( $\delta$ H en ppm) de RMN<sup>13</sup>C a 75MHz de la rotenona en CDC<sup>13</sup> (Figura 11), y aquellos reportados en bibliograf3a<sup>12</sup>.

N3mero de C	Tipo de C	$\delta$ c obtenido experimentalmente	$\delta$ c (De Souza, 2007) <sup>7</sup>
1	CH <sub>3</sub>	17,24	17,09
2	CH <sub>2</sub>	31,38	31,24
3	CH	44,70	44,57
4	OCH <sub>3</sub>	55,96	55,82
5	OCH <sub>3</sub>	56,42	56,42
6	CH <sub>2</sub>	66,38	66,24
7	CH	72,32	72,19
8	CH	87,95	87,80
9	CH-arom.	101,01	100,88
10	C-arom.	104,92	104,79
11	CH-arom.	105,00	104,86
12	CH-arom.	110,45	110,34
13	CH <sub>2</sub>	112,68	112,53
14	C -arom.	113,07	112,93
15	C -arom.	113,44	113,30
16	CH-arom.	130,09	129,95
17	C	143,14	143,00
18	C -arom.	143,97	143,85
19	C-arom.	147,48	147,34
20	C-arom.	149,58	149,46
21	C-arom.	158,05	157,90
22	C-arom.	167,47	167,33
23	C-arom.	189,06	188,91

Los espectros obtenidos del compuesto aislado de las hojas de Yawar panga, y su correspondencia con los espectros publicados en la bibliografía para la rotenona, nos llevan a concluir que el compuesto aislado es la rotenona.

## CONCLUSIONES

A partir de los extractos de éter de petróleo y diclorometano de las hojas de Yawar Panga, colectadas en el Jardín Botánico del Centro Takiwasi (Tarapoto, región San Martín, Amazonia peruana) se identificaron, mediante CG-EM, tres esteroides,  $\gamma$ -sitosterol, estigmasterol y campesterol.

Así mismo, del extracto etanólico se aisló la rotenona (con 93,4% de pureza), que fue identificada mediante CG-EM, FTIR, RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$

Además, en el análisis fitoquímico de las hojas de Yawar Panga se verificó la presencia de aminogrupos primarios y/o secundarios, grupos fenólicos, triptenos y esteroides, catequinas, flavonoides, quinonas, antronas y antranoles.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jacques Mabit, Presidente Ejecutivo y al Dr. Fernando Mendive, Director Científico, del Centro de Rehabilitación de Adicciones y de Investigación de Medicinas Tradicionales – Takiwasi (Tarapoto, Perú) por las facilidades brindadas para la recolección de la muestra vegetal en el Jardín Botánico del Centro Takiwasi. A la PhD. Valérie Jullian, UMR 152 Pharmadev, Université de Toulouse, IRD, Francia, por el registro de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y RMN  $^{13}\text{C}$ . Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional de Ingeniería por la subvención otorgada para la realización de la presente investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles de Perú. Cusco: centro de Estudios regionales Andinos “Bartolomé de las Casas”; 1999.
2. Politi M, Friso F, Mabit J. Plant based assisted therapy for the treatment of substance use disorders - part 1. The case of Takiwasi Center and other similar experiences. Revista Cultura y Droga. 2018; 23(26): 99–126.
3. Mulder CH. Aristolochiaceae. Rev Palaeobot Palynol. 2003; 123: 47-55.
4. Agrawal P, Laddha K. Development of validated high-performance thin layer chromatography for quantification of aristolochic acid in different species of the Aristolochiaceae family. J Food Drug Anal. 2017; 25(2): 425–429.

5. Heinrich M, Chan J, Wanke S, Neinhuis C, Simmonds MS. Local uses of *Aristolochia* species and content of nephrotoxic aristolochic acid 1 and 2--a global assessment based on bibliographic sources. *J Ethnopharmacol.* 2009;125(1):108-44.
6. Grovas Llamocca JE, Cándor Cuyubamba EA, Collantes Díaz IE, Reyna Pinedo VM. Esteroles presentes en el extracto apolar de las raíces de ajo sacha *Mansoa alliacea*. *Rev Soc Quím Perú.* 2018; 84(4): 513-521.
7. Sheng Y, Chen X-B. Isolation and identification of an isomer of  $\beta$ -sitosterol by HPLC and GC-MS. *Health.* 2009; 1(3): 203-206.
8. Pascual Fuster V. Utilidad de los esteroides vegetales en el tratamiento de la hipercolesterolemia. *Nutr Hosp.* 2017; 34: 62-67.
9. Luo H, Cai Y, Peng Z, Liu T, Yang S. Chemical composition and in vitro evaluation of the cytotoxic and antioxidant activities of supercritical carbon dioxide extracts of pitaya (dragon fruit) pee. *Chem Cent J.* 2014;8(1):1. doi: 10.1186/1752-153X-8-1.
10. Gabay O, Sanchez C, Salvat C, Chevy F, Breton M, Nourissat G, et al. Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010; 18(1):106–116.
11. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales, Lima: Departamento de Ciencias-Pontificia Universidad Católica del Perú; 2018. pág. 109.
12. De Souza M. Modificações estruturais e avaliação da citotoxicidade de rotenóides isolados e modificados da espécie *Darris urucu*. [Tesis de maestría]. Campos dos Goytacazes-RJ, Brasil: Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; 2007. .
13. Viteri Basantes JM. Estudio de factibilidad para la implementación de una planta de producción de un plaguicida biodegradable de baja toxicidad en base a la rotenona de barbasco *Lonchocarpus utilis*, en la provincia de Tungurahua. [Tesis de bachiller en Ingeniería Bioquímica]. Ambato: Universidad Técnica de Ambato; 2021.
14. Reyna V. Marcha Fitoquímica, Práctica de Laboratorio (Separata). Lima: Curso de Química de Productos Naturales – CQ046, Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería (UNI); 2012.
15. Othman ZS, Koketsu M, Abd Karim NH, Zubairi SI, Hassan NH. Interaction study of binary solvent systems ionic liquid and deep eutectic solvent with rotenone. *Sains Malays.* 2018; 47(7): 1473–1482.