

Conference Paper

Main Polar Metabolites from Leaves of the Native Andean Species *Jungia rugosa* Less (Asteraceae)

Principales Metabolitos Polares de las Hojas de la Especie Nativa Andina *Jungia rugosa* Less (Asteraceae)

V. Verdugo^{1,2}, K. Calvopiña^{1,3}, O. Malagón¹, and G. Gilardoni^{1*}

IX CONGRESO
INTERNACIONAL DE
INVESTIGACIÓN DE LA RED
ECUATORIANA DE
UNIVERSIDADES Y
ESCUELAS POLITÉCNICAS Y
IX CONGRESO
INTERNACIONAL DE
CIENCIA TECNOLOGÍA
EMPRENDIMIENTO E
INNOVACIÓN
SECTEI-ESPOCH 2022

Corresponding Author: G.
Gilardoni; email:
ggilardoni@utpl.edu.ec

Published: 9 November 2023

Production and Hosting by
Knowledge E

© V. Verdugo et al. This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](#), which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

¹Departamento de Química, Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador

²Unidad Educativa Ambrosio Andrade Palacios-Suscal, Suscal, Ecuador

³Carrera de Ingeniería Química, Facultad de Ingenierías, Universidad Técnica "Luis Vargas Torres" de Esmeraldas, Esmeraldas, Ecuador

ORCID

G. Gilardoni: <http://orcid.org/0000-0003-0915-9416>

Abstract

The ethanolic extract of *Jungia rugosa* Less, a popular Andean species belonging to the family Asteraceae, was characterized chemically. The extract was deprived of chlorophyll by solid-phase extraction, using Diaion Hp-20 resin as solid phase, and eluting with a mixture of EtOH/H₂O according to a decreasing polarity gradient. The chlorophyll-free extract was then repeatedly fractionated by open column chromatography in normal phase and preparative thin layer chromatography. Two main metabolites were finally purified and identified through structure elucidation. Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) and electrospray ionization-mass spectrometry (ESI-MS) were the 2 techniques used for analysis. The identified metabolites were coumarins: (1) umbelliferone and (2) coumarin-5-methyl-4 α -glucoside. Compound **1** is known in the literature for having anti-inflammatory, antihyperglycemic, and antitumor activities. Compound **2** has not been described before for this botanical genus and its pharmacological effects are still uninvestigated.

Keywords: *Jungia rugosa*, umbelliferone, coumarin-5-methyl-4 α -glucoside, NMR, ESI-MS, Ecuador.

Resumen

Se caracterizó químicamente el extracto etanólico de *Jungia rugosa* Less, una popular especie andina perteneciente a la familia Asteraceae. Se eliminó las clorofilas al extracto mediante extracción en fase sólida, utilizando como fase sólida resina de Diaion Hp-20 y eluyendo con una mezcla de EtOH/H₂O según un gradiente de polaridad decreciente. El extracto libre de clorofila se fraccionó repetidamente mediante cromatografía en columna abierta en fase normal y cromatografía en capa fina preparativa. Finalmente, se purificaron e identificaron dos metabolitos principales mediante la elucidación de la estructura. Se utilizaron espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) y espectrometría de masas de ionización por aspersión de electrones (ESI-MS). Los metabolitos identificados fueron las cumarinas: umbeliferona (**1**) y cumarina-5-metil-4 α -glucósido (**2**). El compuesto **1** es conocido en la literatura por tener actividad antiinflamatoria, antihiper glucémica y antitumoral. El compuesto **2** no se ha descrito antes para este género botánico y sus efectos farmacológicos aún no se han investigado.

Palabras Clave: *Jungia rugosa*, umbeliferona, cumarina-5-metil-4 α -glucósido, RMN, ESI-MS, Ecuador.

 OPEN ACCESS



1. Introducción

La medicina tradicional y los preparados a base de plantas representan, en muchas ocasiones, una alternativa práctica y asequible como fuente de productos para el cuidado de la salud. En el Ecuador, las plantas medicinales son ampliamente utilizadas, especialmente por las culturas indígenas [1], que disponen de una impresionante biodiversidad botánica. De hecho, este país suele definirse como “megadiverso”, debido a su extensa riqueza tanto en especies de flora como de fauna [2]. Por ello, actualmente se puede observar un creciente interés por la fitoquímica y etnobotánica de la flora ecuatoriana, junto con una creciente producción de literatura científica [2,3]. Sin embargo, un gran número de especies botánicas continúan siendo parcialmente estudiadas o incluso completamente sin investigar, tanto desde el punto de vista farmacológico como químico.

Una de las plantas utilizadas en la medicina tradicional por sus potenciales efectos curativos es la *Jungia rugosa* Less, distribuida en las regiones andinas de Ecuador, Perú y Bolivia. Esta especie es conocida popularmente como “Carne Humana” en Ecuador o “Matico de puma” en Perú y pertenece a la familia Asteraceae [4]. El uso tradicional de esta especie nativa es bastante extenso, siendo las hojas la parte principal de la planta, que se emplean en infusión para tratar gastritis, úlceras gástricas, riñones, afecciones bronquiales como expectorante y antitusivo [5]. También se utiliza como cataplasma para el tratamiento de heridas y golpes [6].

La especie *J. rugosa* fue descubierta y caracterizada botánicamente en 1830 por Christian Friedrich Lessing, médico y botánico alemán [6]. Se desarrolla en altitudes de 2.900 a 3.800 metros sobre el nivel del mar, creciendo en suelos provistos de materia orgánica, en ambientes húmedos fríos y helados [7]. Esta especie parece un arbusto trepador, con muchas raíces distribuidas en un sistema radicular poco profundo. Los tallos son delgados, lisos, leñosos, duros, verdes y sin estrías longitudinales que alcanzan longitudes de hasta 5 metros. Las hojas son lobuladas con tamaños variados entre 3 y 5 cm a 10 y 12 cm, las hojas son alternas y cubiertas de vellosidades con lóbulos muy marcados y hasta en número de ocho, las hojas también tienen una nervadura antiparalela marcada y son pecioladas. El haz es rugoso y de color verde intenso, y el envés es de color verde pálido. Las flores son homógamas, numerosas, bilabiadas, de color blanco-morado. Las semillas son negras y muy pequeñas [4,7].

La información fitoquímica de esta planta es muy limitada, aunque recientemente se ha publicado un análisis del aceite esencial (AE) destilado de sus hojas. Sus componentes principales fueron γ -curcumene y β -sesquiphellandrene, junto con dos sesquiterpenos oxigenados indeterminados. El AE mostró una débil actividad de



inhibición de la acetilcolinesterasa [8]. Según el mejor conocimiento de los autores, esta es la primera investigación sobre los principales componentes no volátiles de *Jungia rugosa* Less.

A pesar de que existe poca información sobre la fitoquímica de *J. rugosa*, otras especies del mismo género han sido investigadas químicamente [9-10]. Se han descrito isocedreno [11], guaieno, ciperano, trixano, óxido de cariofileno, transcariofileno y abi-etano diterpenoides.

Este estudio es un aporte a la investigación química de la familia Asteraceae en la región sur del Ecuador.

2. Materiales y Métodos

2.1. Información General

El extracto alcohólico se obtuvo mediante maceración dinámica, utilizando etanol como solvente en un equipo de extracción MAXI P-RLT100, adquirido a TecnoLab (Todi, Italia). La evaporación del disolvente se llevó a cabo en un evaporador rotatorio Buchi de 20 litros, modelo R220 PRO (Saint Gall, Suiza). Las clorofilas se eliminaron del extracto mediante extracción en fase sólida (SPE), sobre resina Diaion Hp-20 (partículas esféricas de 0,5 mm), proporcionada por Espectrocrom (Saint Louis, EE. UU.). El extracto libre de clorofila se fraccionó por cromatografía en columna abierta (CC) preparativa, a través de gel de sílice en fase estacionaria SG 60 (0,063-0,200 mm / 70-230 mesh ASTM) proporcionado por Espectrocrom (Saint Louis, EE. UU.). El TCL analítico y preparativo se llevó a cabo utilizando Gel de sílice en lámina de aluminio TCL de 20x20 cm LxAnch con un espesor de capa de 200 μm y un tamaño de partícula de 8,0-12,0 μm (Espectrocrom, Saint Louis, EE. UU.).

La elucidación de estructuras se realizó mediante espectroscopía de RMN, con un instrumento de 500 MHz Serie MSC 10201, de Bruker (Berlín, Alemania). Todos los experimentos de RMN se realizaron utilizando metanol deuterado (CD_3OD) como disolvente. En los espectros de RMN, los desplazamientos químicos (δ) se expresaron como partes por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) se informaron en Hz. En los experimentos de RMN de ^1H , la multiplicidad de la señal se indica mediante las abreviaturas: (s) singlete, (d) doblete y (m) multiplete.

Los análisis de HPLC-MS se realizaron en un espectrómetro de masas de velocidad Bruker Amazon (Berlín, Alemania), mediante inyección directa e ionización por aspersion de electrones (ESI). El nitrógeno era el gas portador.



2.2. Material vegetal y extracción por solventes

Las hojas de *J. rugosa* (5,0 Kg) se colectaron en el sector Citacar, perteneciente a la ciudad y provincia de Cañar. El punto de recolección se ubicó en 2°35'22.78" S y 78°56'18.87" O, a una altitud de 3370 m sobre el nivel del mar. Después de la recolección, las hojas se lavaron con agua destilada y luego se secaron en condiciones controladas (40°C y 35% de humedad) durante 5 días.

Las hojas secas (3,7 kg) se extrajeron con 150 litros de etanol al 95%. Se realizaron una serie de 10 ciclos de extracción (30 minutos cada uno), a una temperatura de 35°C, seguidos de destilación al vacío con disolvente hasta sequedad.

2.3. Eliminación de clorofila

Para la SPE preparativa, se aplicaron 80,0 g de extracto seco a 500 g de resina Diaion. La elución se realizó con una mezcla de etanol (EtOH) y agua, según un gradiente de polaridad decreciente de EtOH/H₂O 60:40 a 90:10. Se utilizaron unos 40 litros de etanol. El extracto libre de clorofila se obtuvo finalmente mediante evaporación al vacío de etanol, seguido de liofilización del agua residual.

2.4. Fraccionamiento preparativo y purificación de metabolitos.

Los metabolitos secundarios se purificaron a partir de 1 g del extracto libre de clorofila mediante CC abierto, utilizando una columna de vidrio de 600 mm de largo y 30 mm de diámetro. La columna se llenó manualmente con 100 g de gel de sílice, con el apoyo de una bomba de aire débil. La elución se realizó según gradiente de polaridad creciente, utilizando como fase móvil una mezcla de acetato de etilo (AcOEt), metanol (MeOH) y agua. El gradiente se realizó de AcOEt/MeOH/H₂O 86.7:7.5:5.8 a MeOH 100%, recolectando 199 fracciones de 10 ml de volumen cada una. Se empleó la cromatografía en capa fina (TCL) para agrupar las fracciones, según la similitud en la composición cualitativa [12], obteniendo finalmente 6 fracciones. Posteriormente se realizó un segundo fraccionamiento de CC sobre la fracción 4-9 (150 mg), siendo la más abundante. Una columna de vidrio de 30 cm de largo y 20 mm de diámetro se rellenó con 15 g de gel de sílice. La elución se realizó según gradiente de polaridad creciente, utilizando mezclas de hexano (hex), AcOEt, MeOH y agua. El gradiente se realizó desde Hex/AcOEt 50:50 hasta MeOH 100%, recogiendo 96 fracciones de 10 ml de volumen cada una. Nuevamente, se usó TCL para agrupar las fracciones, de acuerdo con la similitud en la composición cualitativa, obteniendo 58 subfracciones



finales. La purificación final de los principales metabolitos se llevó a cabo mediante dos TCL preparativas de gel de sílice (placas de 10 x 10 cm y 20 x 20 cm). Las fases móviles fueron hex/AcOEt 30:70 y CHCl₃/MeOH/H₂O 82,5:12,5:2,5, para las subfracciones 7 y 39 respectivamente.

3. Resultados

3.1. Contenido de agua y rendimientos de extracción

De acuerdo con la diferencia de peso del material vegetal fresco y seco, el contenido de agua de *J. rugosa* se calculó en un 26%, valor bastante superior a lo reportado en la Farmacopea Española y otra literatura para plantas aromáticas [9,10]. Después de la eliminación completa del solvente, la extracción con etanol proporcionó 753,3 g de extracto total, lo que corresponde a 19,9 % en peso con respecto al material vegetal seco. Posteriormente, se sometieron a SPE 80,0 g del extracto total como se describió anteriormente, obteniéndose 26,7 g de un extracto libre de clorofila [11,12], que correspondió al 33,4 % en peso (6,8 % respecto al material vegetal seco).

3.2. Fraccionamiento del extracto libre de clorofila

El extracto libre de clorofila se fraccionó posteriormente en tres procesos preparativos, como se describe en la sección 2.4. Todas las fracciones se detallan en la Tabla 1.

3.3. Caracterización de metabolitos puros

Las subfracciones 7 y 39 correspondieron a dos derivados cumarínicos puros: umbeliferona (**1**) y cumarina-5-metil-4 α -glucósido (**2**). Las estructuras respectivas se representan en la Figura 1.

Umbeliferona (**1**). Sólido amorfo blanco. RMN ¹H (δ ppm, CD₃OD, 500 MHz): consulte la Tabla 2.

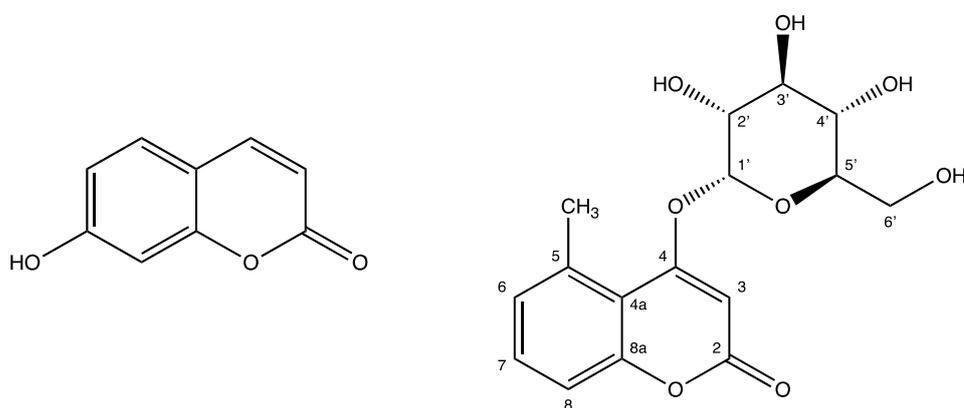
Cumarina-5-metil-4 α -glucósido (**2**). C₁₆H₁₈O₈; PM 338,31; sólido amorfo blanco. Los resultados de ¹H NMR (δ ppm, CD₃OD, 500 MHz), ¹³C NMR (δ ppm, CD₃OD, 100 MHz) y DEPT-135 se detallan en la Tabla 2. Los resultados de HMQC y HMBC se muestran en la Figura 2. ESI-MS (ionización negativa, *m/z*): 338 [M]⁻

4. Discusión

Tabla 1

Masa de fracciones del extracto libre de clorofila.

Extracto libre de clorofila		fracción 4-9		fracción 7		fracción 39	
Nombre Fracción	Masa Fracción (mg)	Nombre Fracción	Masa Fracción (mg)	Nombre Subfracción	Masa Fracción (mg)	Nombre Fracción	Masa Fracción (mg)
1-3	80.9	1	5.3	7a	0.5	39a	0.8
4-9	150.6	5	12	7b	0.5	39b	0.5
10-12	31.6	7	1.9	7c	0.3	39c	0.2
13-14	34.5	9	15.9	7d	0.5	39d	0.6
15-16	138.1	12	10	Total	1.8mg	39e	0.8
17	384	16	12.4			39f	0.5
Total	819.7mg	23	10.6			39g	0.7
		26	6.6			39h	0.5
		30	9.8			39i	1
		33	7.5			39j	2.1
		36	9.1			39k	1.5
		39	18			Total	9.2mg
		43	10.8				
		47	9.5				
		51	9.5				
		58	0.7				
		Total	149.6				

**Figura 1**

Umbeliferona (1) y cumarina-5-metil-4 α -glucósido (2).

4.1. Consideraciones biológicas y etnofarmacológicas

La umbeliferona es una cumarina, cuya fórmula molecular es C₉H₆O₃, también se le conoce como 7-hidroxicumarina, hidrangina, esquimetina y β -umbeliferona [13]. Generalmente, las cumarinas son metabolitos secundarios característicos de las familias

Tabla 2

Resultados de ^1H NMR, ^{13}C NMR y DEPT-135 para los compuestos **1** and **2**.

Posición	1		2		^{13}C (ppm)	DEPT-135
	^1H (ppm)	J (Hz)	^1H (ppm)	J (Hz)		
2	-	-	-	-	167.61	C
3	6.18, d	9.5	5.98, s	-	92.69	CH
4	7.84, d	9.5	-	-	163.51	C
4a	-	-	-	-	113.98	C
5	7.45, d	8.5	-	-	137.59	C
6	6.79, dd	8.5, 2.5	7.13, d	8.0	127.78	CH
7	-	-	7.46, t ancho	8.0	131.77	CH
8	6.71, d	2.0	7.19, d	8.0	114.66	CH
8a	-	-	-	-	154.70	C
CH ₃	-	-	2.76, s	-	22.43	CH ₃
1'	-	-	5.24, d	7.5	99.87	CH
2'	-	-	3.62, dd	7.5, 9.0	73.18	CH
3'	-	-	3.52, t	9.0	76.89	CH
4'	-	-	3.44, asimétrico	t 9.0	69.46	CH
5'	-	-	3.56, dd	2.2, 5.4	77.24	CH
6'	-	-	3.92, 3.93, dd	2.2, 12.2 5.4, 12.2	60.79	CH ₂

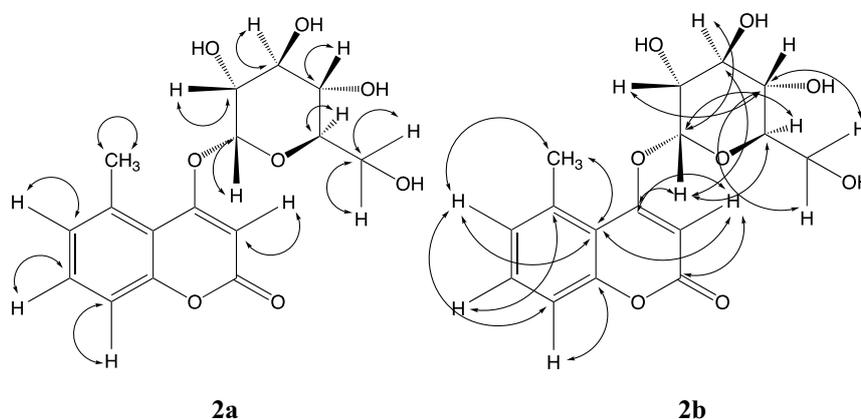


Figura 2

Acoplamiento de HMQC (**2a**) y HMBC (**2b**) observado para el compuesto **2**.

Apiaceae, Rutaceae, Asteraceae y Fabaceae [14]. El nombre común de umbeliferona deriva de su aislamiento de plantas de la familia Apiaceae (Umbelliferae) [14–16]. Aunque en la familia Asteraceae se ha reportado la existencia de umbeliferona para *Matricaria*



chamomilla, no existe información sobre la presencia de este metabolito en el género *Jungia* [17].

En cuanto a sus aplicaciones, la umbeliferona absorbe energía ultravioleta a 300, 305 y 325 nm, lo que la convierte en un potencial agente de protección solar [16,18]. Según Ojala et al. [19] se han demostrado actividades antibacterianas muy débiles para este metabolito, excepto contra *E. aerogenes* y *B. fulva* donde es notoria su acción antibacteriana. Además, la actividad antifúngica es nula [16, 17].

Aunque el principal uso tradicional de *J. rugosa* se asocia con propiedades antiinflamatorias, se ha informado que la umbeliferona es un inhibidor del indicador de inflamación de la lipoxigenasa de la soja [20]. Por lo tanto, la presencia de umbeliferona es consistente con el uso de *J. rugosa* como planta antiinflamatoria, además de las actividades antioxidantes dependientes de la dosis de hidroxilo reportadas por Kanimozhi et al. [21] para esta cumarina. Aunque las comunidades andinas no asocian el uso de *J. rugosa* con propiedades antihiper glucémicas o anticancerígenas, Ramesh & Pugalendi [22] han reportado que la umbeliferona, a dosis de 30 mg/kg de peso corporal, tiene un efecto antihiper glucemiante comparable al de glibenclamida (fármaco de primera elección para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo II).

Además, Muthu et al. [23] describieron la eficacia anticancerígena de la umbeliferona, sola o en actividad sinérgica con 5-fluorouracilo, como agente quimioterapéutico eficaz y potencial contra la carcinogénesis de colon inducida por 1,2-dimetilhidrazina. Walasek et al. [24] señalan una actividad anticancerígena contra las células de cáncer de laringe (RK33 LCC) al reducir su viabilidad y migración celular.

Yu et al. [20] han afirmado que la umbeliferona, aislada de *Ferula communis*, exhibió actividad antitumoral contra líneas de células hepatocelulares hepáticas.

La información bibliográfica disponible sobre el compuesto **2** es particularmente escasa. Se han realizado investigaciones describiendo metabolitos relacionados, como el caso de Dupuy et al. [25] quienes aislaron estos metabolitos de especies pertenecientes a la familia Asteraceae, específicamente de *Mutisia orbignyana*. En este ensayo se mostraron interesantes resultados sobre la actividad antioxidante mediante el test ABTS (radical monobásico), junto con un efecto no proliferativo sobre las células de cáncer de colon (CaCo2). La presencia de este metabolito también ha sido reportada en las especies *Gerbera jamesonii* y *Perezia hebeclada* [26,27].

Según el conocimiento del autor, esta es la primera investigación que informa la presencia del compuesto **2** en el género *Jungia*. La información limitada de esta sustancia dificulta la identificación de una posible actividad farmacológica conocida, lo que respalda el uso tradicional de esta planta.



Cabe hacer una consideración interesante sobre la biosíntesis de estas moléculas. De hecho, el compuesto **1** presenta el patrón de sustitución típico de los derivados del ácido shikímico, lo que es perfectamente razonable para un metabolito de cumarina. Sin embargo, en el compuesto **2**, la presencia del grupo metilo en la posición 5 no es consistente con tal vía. De hecho, si revisamos la literatura para el compuesto **2**, se sugiere la vía del acetato [28,29]. Con base en esta evidencia, habrá la presencia de dos rutas biosintéticas diferentes para la misma clase de moléculas en esta especie botánica.

4.2. Interpretación de datos espectrales

La estructura del compuesto **1** se ha determinado observando el espectro de RMN de ^1H . El sistema AB típico de un éster α,β -insaturado se puede observar como dos dobletes acoplados a 7,84 y 6,18 ppm, con una constante de acoplamiento de 9,5 ppm. También está presente un anillo aromático 1,2,4-tres sustituido, como lo indican las señales a 7,45, 6,71 y 6,79 ppm, cuyas multiplicidades y constantes de acoplamiento son perfectamente coherentes con la estructura propuesta de la umbeliferona. Todos estos datos son idénticos a los reportados en la literatura para el mismo compuesto [29].

Por lo que respecta al compuesto **2**, se podrían realizar más experimentos de RMN, lo que confirma la estructura propuesta. En particular, podemos observar las mismas señales de un sistema de cumarina pero con multiplicidad y constantes de acoplamiento típicas del anillo aromático 1,2,3-tres sustituidos (7,49, 7,22 y 7,14 ppm). Además, el éster α,β -insaturado se puede observar en el espectro ^{13}C (166,6 y 93,0 ppm) pero, en el experimento ^1H , solo un protón aislado ocupa la posición 3 (singlete a 5,97 ppm). Este patrón sugeriría la presencia de un resto de azúcar en la posición 4 y de un grupo metilo en la posición 5. El resto de azúcar se confirma con la señal típica a 5,19 ppm (doblete de un protón anomérico) y todas las señales entre 4,00 y 3,40 ppm, mientras que el grupo metilo aromático corresponde al singlete a 2,69 ppm, integrándose para tres protones. El espectro ESI-MS confirmó el peso molecular de la estructura propuesta. Todos los experimentos bidimensionales confirmaron la posición de los sustituyentes. En particular, el experimento HMBC confirmó la presencia del grupo metilo en la posición 5 y el resto de azúcar en la posición 4. Todas las señales, tanto para los experimentos de RMN de ^1H como de ^{13}C , son muy consistentes con las reportadas en la literatura para el glucósido de 5-metilcumarina, excepto las señales correspondientes a la posición anomérica. Dado que en la literatura se describe el anómero β , sugerimos que esta



molécula sea el isómero α (cumarina-5-metil-4 α -glucósido en lugar de cumarina-5-metil-4 β -glucósido) [27,30].

5. Conclusiones

Se ha realizado la primera investigación fitoquímica de los principales metabolitos polares, presentes en las hojas de *J. rugosa*. Mediante cromatografía líquida y espectroscopia de RMN se han obtenido dos compuestos cumarínicos principales: la umbeliferona (**1**) y la cumarina-5-metil-4 α -glucósido (**2**). A pesar de que el compuesto **1** es bien conocido, actualmente no se investiga el potencial farmacológico del compuesto **2**. Este hecho sugiere el interés de continuar la investigación sobre *J. rugosa* y sus propiedades biológicas, principalmente en lo que se refiere al compuesto **2** y sus posibles relaciones con el uso etnobotánico de esta planta.

Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) por apoyar esta investigación (financiamiento de la segunda convocatoria TFT, abril-agosto de 2020) Convocatoria TFT, abril-agosto de 2020 y publicación de acceso abierto.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

References

- [1] Gallegos M. Las plantas med1. Gallegos M. Las plantas medicinales: usos y efectos en el estado de salud de la población rural de Ecuador. 2017.
- [2] Cuesta F, Peralvo M, Merino-Viteri A, Bustamante M, Baquero F, Freile JF, et al. Priority areas for biodiversity conservation in mainland Ecuador [Internet]. Neotropical Biodiversity. 2017;3(1):93–106.
- [3] Aguirre Mendoza Z. Biodiversidad de la provincia de Loja, Ecuador [Internet]. Araldoa. 2017 Dec;24(2):523–542. [cited 2022 Feb 6] Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992017000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es



- [4] Valdes A, Cazar M. Actividad antibacteriana de extractos orgánicos y aceite esencial de *Jungia rugosa* Less. Universidad del Azuay. 2013;1–14.
- [5] Enciso E, Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *An la Fac Med* [Internet]. 2013 [cited 2022 Feb 18];72(4):231. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832011000400002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- [6] Criollo Sumba K, Molina Fernandez N, León F. Evaluacion de la Estabilidad de Extractatos obtenidos a partir de distintos procesos de secado de *Jungia Rugosa*. [Internet]. 2016. Available from: [http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26236/1/PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.pdf](http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/26236/1/PROYECTO_DE_INVESTIGACIÓN.pdf)
- [7] Campoverde Lupercio J de L. Verdugo Pillaga VM. Determinación del efecto cicatrizante de las hojas de carne humana (*Jungia cf. rugosa*) [Internet]. 2008. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/20266>
- [8] Calvopiña K, Malagón O, Capetti F, Sgorbini B, Verdugo V, Gilardoni G. A new sesquiterpene essential oil from the native andean species *Jungia rugosa* Less (Asteraceae): chemical analysis, enantiomeric evaluation, and cholinergic activity [Internet]. *Plants*. 2021 Oct;10(10):2102. [cited 2022 Feb 6] Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/10/2102/htm>
- [9] Torre Pascual I. Producción biotecnológica de ácido D-Láctico a partir de residuos de naranja. *Univ Complut Madrid* [Internet]. 2019;219. Available from: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/58053/1/T41519.pdf>
- [10] Azeved L, Faqueti L, Kritsanida M, Efstathiou A, Smirlis D, Franchi GC, et al. Three new trixane glycosides obtained from the leaves of *Jungia sellowii* Less. using centrifugal partition chromatography. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* [Internet]. 2016 Apr 12 [cited 2022 Feb 6];12:674. Available from: [/pmc/articles/PMC4902082/](https://www.beilstein-journals.org/beilstein/article/view/10.1177/095632020501600404)
- [11] Duschatzky CB, Possetto ML, Talarico LB, García CC, Michis F, Almeida NV, et al. Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants [Internet]. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*. 2005;16(4):247–251. [cited 2022 Feb 6] Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/095632020501600404>
- [12] Carrión A, García C. “Preparación De Extractos Vegetales: Determinación De Eficiencia De Metódica. University of Cuenca [Internet]. 2010;(Tesis previa a la obtención del título de Bioquímica y Farmecéutica):27–31. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>



- [13] Younas KA, Khan A, Shehzad O, Seo EK, Onder A, Khan S. Anti-allergic activities of Umbelliferone against histamine- and Picryl chloride-induced ear edema by targeting Nrf2/iNOS signaling in mice [Internet]. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2021 Aug;21(1):215. [cited 2022 Feb 18] Available from: <https://bmccomplementmedtherapies.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-021-03384-1>
- [14] Cruz LF, Figueiredo GF, Pedro LP, Amarin YM, Andrade JT, Passos TF, et al. Umbelliferone (7-hydroxycoumarin): A non-toxic antidiarrheal and antiulcerogenic coumarin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2020 Sep;129:110432.
- [15] Chu LL, Pandey RP, Lim HN, Jung HJ, Thuan NH, Kim TS, et al. Synthesis of umbelliferone derivatives in *Escherichia coli* and their biological activities. *Journal of Biological Engineering* [Internet]. 2017 Apr 5 [cited 2022 Feb 18];11(1). Available from: </pmc/articles/PMC5382406/>
- [16] Mazimba O. Umbelliferone: Sources, chemistry and bioactivities review [Internet]. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. 2017;55(2):223–232.
- [17] Singh R, Singh B, Singh S, Kumar N, Kumar S, Arora S. Umbelliferone - An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd Ex Del *Food Chemistry* [Internet]. 2010 [cited 2022 Feb 6];120(3):825–830. Available from: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/476>
- [18] Singh R, Singh B, Singh S, Kumar N, Kumar S, Arora S. Umbelliferone - An antioxidant isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd Ex Del *Food Chemistry* [Internet]. 2010 [cited 2022 Feb 6];120(3):825–30. Available from: <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/99723>
- [19] Ojala T, Remes S, Haansuu P, Vuorela H, Hiltunen R, Haahtela K, et al. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*. 2000 Nov;73(1-2):299–305.
- [20] Yu SM, Hu DH, Zhang JJ. Umbelliferone exhibits anticancer activity via the induction of apoptosis and cell cycle arrest in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. *Molecular Medicine Reports* 2015 Sep;12(3):3869–3873.
- [21] Kanimozhi G, Prasad NR, Ramachandran S, Pugalendi KV. Umbelliferone modulates gamma-radiation induced reactive oxygen species generation and subsequent oxidative damage in human blood lymphocytes [Internet]. *European Journal of Pharmacology*. 2011 Dec;672(1-3):20–29. [cited 2022 Feb 6] Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21946110/>
- [22] Ramesh B, Pugalendi KV. Antihyperglycemic effect of umbelliferone in streptozotocin-diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*. 2006;9(4):562–566.



- [23] Muthu R, Thangavel P, Selvaraj N, Ramalingam R, Vaiyapuri M. Synergistic and individual effects of umbelliferone with 5-fluorouracil on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against 1, 2-dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Biomedicine & Preventive Nutrition* [Internet]. 2013 Jan [cited 2022 Feb 6];3(1):74–82. Available from: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-668f539d-c83e-3a21-9791-b85085c2ee81>
- [24] Walasek M, Grzegorzczak A, Malm A, Skalicka-Woźniak K. Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiaceae) fruits by high-performance counter-current chromatography. *Food Chemistry*. 2015 Nov;186:133–138.
- [25] Dupuy OA, Murillo R, Bonilla JA. Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW [Internet]. *Revista de Biología Tropical*. 2008 Sep;56(3):1063–1073. [cited 2022 Feb 6] Available from: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442008000300008&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- [26] Seaman FC. Sesquiterpene lactones as taxonomic. 1982;48(2):121–592. *The Botanical Review*. Available from: <https://scihub.se/https://link.springer.com/article/10.1007/BF02919190#article-info>
- [27] Flores Y, Rodrigo G, Mollinedo P, Akesson B, Sterner O, Almanza GR. 5-Methylcoumarin Glucoside and a Coumestan Derivative from *Mutisia orbignyana*. *Revista Boliviana de Química* [Internet]. 2009 [cited 2022 Feb 6];26(1):21–26. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602009000100003&lng=es&nrm=iso&tlng=en
- [28] Inoue T, Toyonaga T, Nagumo S, Nagai M. Biosynthesis of 4-hydroxy-5-methylcoumarin in a *Gerbera jamesonii* hybrid. *Phytochemistry*. 1989;28(9):2329–2330.
- [29] Mazimba O. Umbelliferone: Sources, chemistry and bioactivities review. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*. 2017 Dec;55(2):223–232.
- [30] Fattori J, Rodrigues FH, Pontes JG, Paula Espíndola A, Tasic L. Monitoring Intermolecular and Intramolecular Interactions by NMR Spectroscopy. *Applications of NMR Spectroscopy*. Bentham Science Publishers; 2015;180–266.