



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

“ESTUDIO QUÍMICO DE LA EPÍFITA *Tillandsia recurvata*”

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

ARIEL IVÁN CARREÑO MONTERO



TUTOR: DR. LEOVIGILDO QUIJANO
AÑO: 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

- A mis padres y mi hermana por apoyarme siempre y compartir conmigo tristezas y alegrías.
- Al Dr. Leovigildo Quijano por su paciencia y por compartir conmigo su conocimiento.
- Al Dr. Tirso Ríos Castillo por su sencillez y alegría de vivir.
- A los técnicos de resonancia del Instituto de Química por las facilidades otorgadas para el desarrollo de este trabajo.
- A mi jurado de tesis: Dr. Alfonso de Vivar Romo, Dr. Rogelio Pereda Miranda, Dra. María Yolanda Ríos Gómez, Dr. Andrés Navarrete Castro y M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez, por su tiempo y dedicación.
- A mis compañeros y amigos del laboratorio 2-6 por todas las risas, preocupaciones y enojos durante estos años.
- A mi mejor amiga, compañera y novia: María del Carmen Rodríguez Ramírez por estar a mi lado y ayudarme a salir adelante. Por hacerme ver las cosas siempre desde otro punto de vista y por iluminar mi vida.
- A mi amigo: Alfonso Xotlanihua Flores, gracias por tu amistad y la ayuda que me has dado desde que llegué al D.F. y desde que nos conocemos. Hasta el fin compañero.
- Al CONACYT por la beca que me permitió realizar estos estudios. No. de becario 235545.
- A mis amigas Lizbeth Triana y Brenda Lorena Sánchez por ayudarme a sacar adelante mis materias y orientarme en los tortuosos trámites escolares.
- A la UNAM por brindarme la oportunidad de realizar estos estudios.
- A Dios: tú ya sabes por qué.

JURADO ASIGNADO

Presidente Dr. Alfonso de Vivar Romo
Vocal Dr. Rogelio Pereda Miranda
Vocal Dra. María Yolanda Ríos Gómez
Vocal Dr. Andrés Navarrete Castro
Secretario M. en C. Baldomero Esquivel Rodríguez

Alumno Ariel Iván Carreño Montero

Tutor Dr. Leovigildo Quijano

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de productos naturales. Laboratorio 2-6 del Instituto de Química. UNAM

Este trabajo fue presentado en el simposio interno del Instituto de Química el 5 de
Diciembre de 2011.

ÍNDICE	Pág.
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. PARTE TEÓRICA	
2.1 Antecedentes	3
2.2 Justificación	4
2.3 Objetivos	4
2.4 Triterpenos	5
2.5 Flavonoides	6
2.6 Esteres	9
2.7 Ácidos grasos	11
3. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 Material vegetal	12
3.2 Análisis cromatográficos	12
3.3 Determinación de las constantes físicas, espectroscópicas, espectrométricas y equipo utilizado.	12
3.4 Obtención de los extractos	13
3.5 Fraccionamiento del extracto de acetato de etilo	13
3.6 Metanólisis de la fracción Aca	18
3.7 Síntesis de los diacil glicerolés II y Ila	19

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 5,7,3'-Trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona	21
4.2 1,3-Di-o-cinamoil glicerol	27
4.3 1,2-Di-o-cinamoil glicerol	29
4.4 1-O-cinamoil-3-o-feruulglicerol	31
4.5 24-Metilencicloartanona	35
4.6 Ésteres grasos del 24-metilencicloartanol	39
4.7 Ciclobranol	40
4.8 β -Sitosterol	40
4.9 Estigmasterol	40

5. CONCLUSIONES	41
------------------------	-----------

6. BIBLIOGRAFIA	42
------------------------	-----------

7. ANEXO	44
-----------------	-----------

RESUMEN.

Tillandsia recurvata es una epífita de la familia de las Bromeliaceas que crece en las regiones tropicales y subtropicales de América conocida comúnmente como “ball moss” o “clavel del aire”. A diferencia del “spanish moss” (*Tillandsia usneoides*) es una especie para la cual no se conocen aplicaciones en medicina tradicional y de la que se encuentran relativamente pocos artículos científicos, siendo los únicos, dos estudios químicos donde se reporta la presencia de compuestos triterpénicos del tipo del cicloartano, un diéster derivado del glicerol y un flavonoide.

Utilizando técnicas cromatográficas convencionales, se aislaron tres compuestos no descritos en la literatura química: la 5,7,3'- Trihidroxi- 6,8,4'- trimetoxiflavanona (**I**) y dos di-ésteres del glicerol, el 1,2- di-O-cinamoil glicerol (**II**) y el 1- cinamoil-3-feruil glicerol (**III**), cuyas estructuras fueron establecidas de acuerdo con sus datos espectroscópicos, principalmente de RMN ¹H y RMN ¹³C, incluidos experimentos 1D y 2D (DEPT, COSY, HSQC y HMBC) y espectrometría de masas. También se identificó una mezcla de ésteres grasos del 24-metilencicloartanol (**V**) no reportados para ésta especie, que fueron identificados como hexadecanoato, octadecanoato, eicosanoato y docosanoato de 24-metilencicloartanol, mediante el análisis por CG-EM de los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos por metanolisis.

Se obtuvieron además el 1,3 di-O-cinamoilglicerol (**II**), la 24-metilencicloartanona (**IV**), reportados previamente de la misma especie y una mezcla de fitoesteres conformada por β-sitosterol y estigmasterol (**VII, VIIa**).

Así mismo, se realizó la síntesis del 1,2- Di-O-cinamoil glicerol (**II**) y del 1,3- Di-O- Cinamoil glicerol (**IIa**), esto con el fin de realizar la comparación espectroscópica entre los compuestos sintéticos y los obtenidos de la planta.

INTRODUCCIÓN.

La familia de las bromeliáceas se introdujo a Europa a partir del año 1493, en forma de ejemplares de la piña (*Ananas comosus*) llevadas a España por Cristóbal Colón luego de su segundo viaje a América. La familia Bromeliaceae comprende unos 50 géneros, abarcando aproximadamente unas 1500 especies que se reparten por las zonas tropicales y subtropicales de América. Fue el botánico sueco Carl Linneus quien en 1750 estableció el nombre de la familia Bromeliaceae en honor al científico sueco Olaf Bromelius. Familia que tiene entre sus miembros más conocidos a la piña (*Ananas comosus*), la puya (*Puya raimondii*) y el musgo español (*Tillandsia usneoides*) también conocido como heno o pasle en nuestro país.

Entre los miembros de la familia de las bromeliáceas se encuentra el género *Tillandsia*, dedicado al botánico sueco Elias Tillands. *Tillandsia* es uno de los géneros con una distribución geográfica más amplia y el que mayor número de especies posee. Dentro del género existen especies que son terrestres y otras epífitas, las hay desérticas y también existen aquellas especies que se desarrollan en zonas tropicales.

Entre las especies más comunes de este género encontramos la *Tillandsia fasciculata*, *T. capillaris*, *T. usneoides* y la *T. recurvata*. La *Tillandsia recurvata* es una planta epífita, esto es, que crece sobre otros organismos utilizándolos solamente como soporte estructural, sin parasitarlas, puesto que obtiene el agua y nutrientes del aire y las partículas que colecta mediante sus tricomas. Recientemente, se ha solicitado la patente de un extracto de *Tillandsia recurvata* que ha demostrado poseer actividad antitumoral.¹ También se sabe de usos medicinales de otras especies del género, como la *Tillandsia usneoides*, la cual, además de su aplicación como hipoglucemiante, es utilizada para tratar enfermedades coronarias y edema; *Tillandsia capillaris* en ciertas regiones de Sudamérica tiene también usos en medicina tradicional para tratar la tos, tuberculosis y cefaleas.²

En México, se han descrito un buen número de especies del género *Tillandsia* distribuidas por todo el país, además de nuevas especies que se vienen descubriendo. Recientemente, se publicó la descripción de dos nuevas especies, la *Tillandsia grossispicata* y la *Tillandsia inopicata*,³ que vienen a contribuir con la extensa variedad de flora que enriquece el ecosistema de nuestro territorio. Es en esta riqueza, donde se encuentra una gama inmensa de metabolitos que por sus diferentes propiedades pueden tener múltiples aplicaciones y un gran impacto en nuestra vida diaria. Es por ello fundamental que a través de la ciencia se pueda seguir descubriendo el complejo mundo de los productos naturales, para entender lo mejor posible el modo en el que podemos utilizarlos de manera óptima, pero teniendo a la vez cuidado de no caer en la sobreexplotación de estos recursos.

ANTECEDENTES

Entre las especies más estudiadas del género *Tillandsia*, se encuentra la *Tillandsia usneoides* conocida como "spanish moss", la cual es utilizada como hipoglucemiante,⁴ antirreumática y contra infecciones del hígado.⁵ Diferentes estudios de esta especie han conducido al aislamiento e identificación de triterpenos⁶ y esteroides, tanto en su forma libre como esterificados⁷, compuestos flavonoides⁸, diferentes ácidos (como el cítrico y el succínico) y compuestos glicosilados⁹.

Otras especies del género que han sido estudiadas desde el punto de vista químico son: *Tillandsia streptocarpa*, de la cual se aislaron triterpenos, compuestos flavonoides¹⁰ y ésteres fenilpropanoides derivados del glicerol.¹¹

Tillandsia brachycaulos, en la cual se encontraron compuestos triterpenoides derivados del lanostano con la cadena lateral alquilada de tipo 24-Isopropenil lanostanoides.¹²

Tillandsia fasciculata, conteniendo compuestos triterpenoides libres y esterificados.¹³

Tillandsia purpurea, de la cual fueron aislados una serie de flavonoles.¹⁴



FIGURA 1. *Tillandsia recurvata*

Tillandsia recurvata es una de las especies del género menos estudiada desde el punto de vista químico. Sin embargo existen algunas publicaciones sobre ésta, en las cuales se reporta el aislamiento e identificación de compuestos similares a los aislados de otras especies como son: triterpenoides del tipo del cicloartano, hidroperoxicicloartanos,⁶ un éster fenilpropanoide derivado del glicerol y flavonoides como componentes principales.⁵

JUSTIFICACIÓN

Un estudio preliminar del extracto metanólico de la planta *Tillandsia recurvata* muestra la presencia de compuestos que aún no han sido reportados en los estudios químicos realizados previamente a ésta especie.

OBJETIVOS.

Aislar, purificar e identificar metabolitos presentes en la epífita *Tillandsia recurvata*.

TRITERPENOS

Los triterpenos son compuestos de 30 átomos de carbono estructuralmente formados por unidades de isopreno y cuyo origen biosintético es el escualeno. Generalmente son sólidos incoloros con altos puntos de fusión y se encuentran distribuidos comúnmente entre la resina, corteza y epidermis de los organismos vegetales.¹⁵ Las diferentes actividades biológicas de los triterpenos han sido estudiadas con bastante interés encontrándose que muchos de ellos poseen propiedades antifúngicas,¹⁶ antibacterianas¹⁷ y antitumorales¹⁸ ; así como también posibles aplicaciones para el tratamiento de enfermedades como el Alzheimer¹⁹ e incluso el cáncer.²⁰

Existen muchos grupos importantes de triterpenoides, entre los cuales, por mencionar algunos, tenemos a los esteroides, esterol, saponinas y glicósidos cardiotónicos. Cada uno de estos grupos a su vez, presentan una variedad de compuestos cuyas diferencias estructurales son determinantes del potencial y tipo de actividad biológica del compuesto.

Existe abundante evidencia de que en las plantas se lleva a cabo la ciclización del 2,3(S)-epoxi-escualeno²¹ dando lugar a la formación de cicloartenol, compuesto fundamental en la biosíntesis de esterol y que es análogo al lanosterol que los animales utilizan como precursor en la biosíntesis del colesterol. Los triterpenos del tipo de los cicloartanos se encuentran ampliamente distribuidos por todo el reino vegetal y son los precursores de los llamados fitosterol, sustancias de relevante importancia en las plantas, ya que actúan como reguladores de la fluidez de la membrana celular y desempeñan también otras funciones fisiológicas asociadas con la biología vegetal. Se han encontrado en una gran variedad de plantas más de 250 diferentes fitosterol y compuestos relacionados, de los cuales los identificados con más frecuencia son el β -sitosterol, campesterol y el estigmasterol.²²

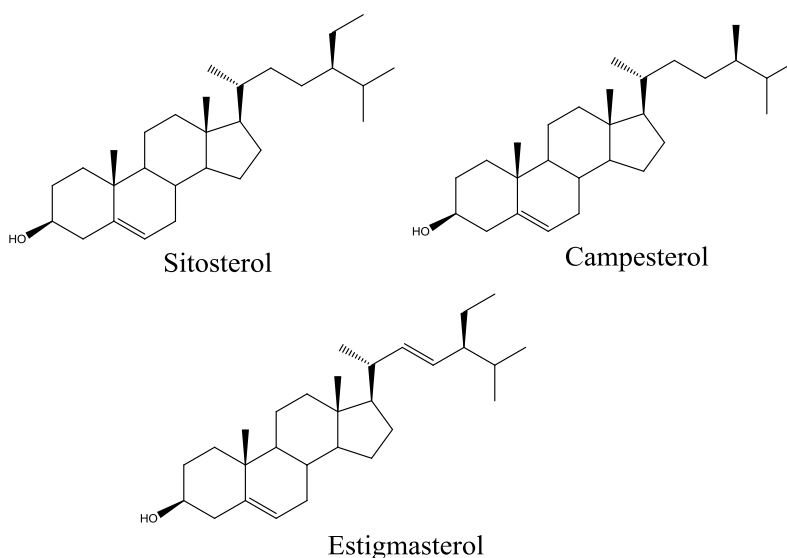


FIGURA 2. Compuestos triterpenoides de mayor incidencia en las plantas.

FLAVONOIDES

Los flavonoides son metabolitos producidos por las plantas, cuya estructura fundamental ($C_6-C_3-C_6$) está constituida por dos anillos aromáticos (A y B) separados por una unidad (C_3), es decir, que son derivados del 1,3-difenilpropano, estructura fundamental de las chalconas y dihidrochalconas²³. Las chalconas se consideran comúnmente precursores de los flavonoides tricíclicos al formar un heterociclo con un átomo de oxígeno (anillo C), para formar el núcleo fundamental de los demás flavonoides, el 2-fenilbenzopirano o 2-fenilcromano. Estos incluyen las flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles y antocianinas.

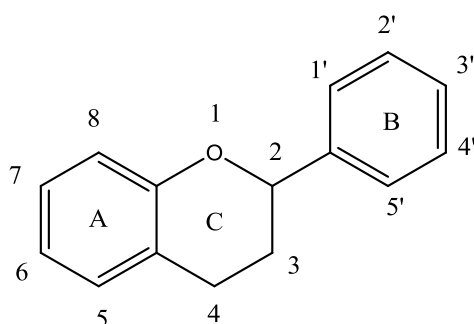
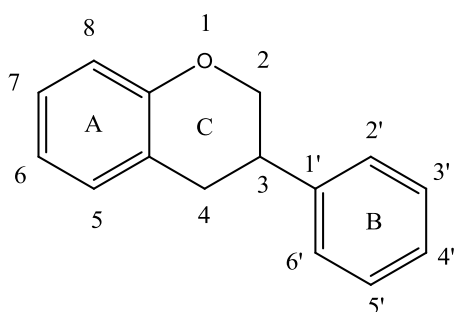


FIGURA 3. 2-Fenilbenzopirano o 2-fenilcromano. Estructura fundamental de los flavonoides.

Otro tipo fundamental de flavonoides son los derivados del 3-fenilcromano o isoflavonoides en los que se incluyen las isoflavonas e isoflavanonas. Finalmente, los derivados del 4-fenilcromano como las 4-fenilcumarinas, que se conocen como neoflavonoides.

A)



B)

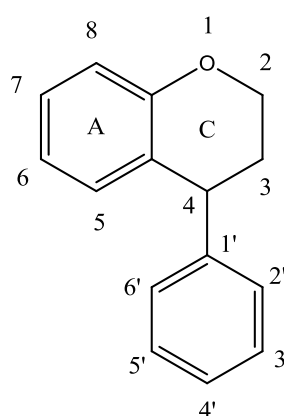


FIGURA 4. A) 3-Fenilcromano, B) 4-Fenilcromano.

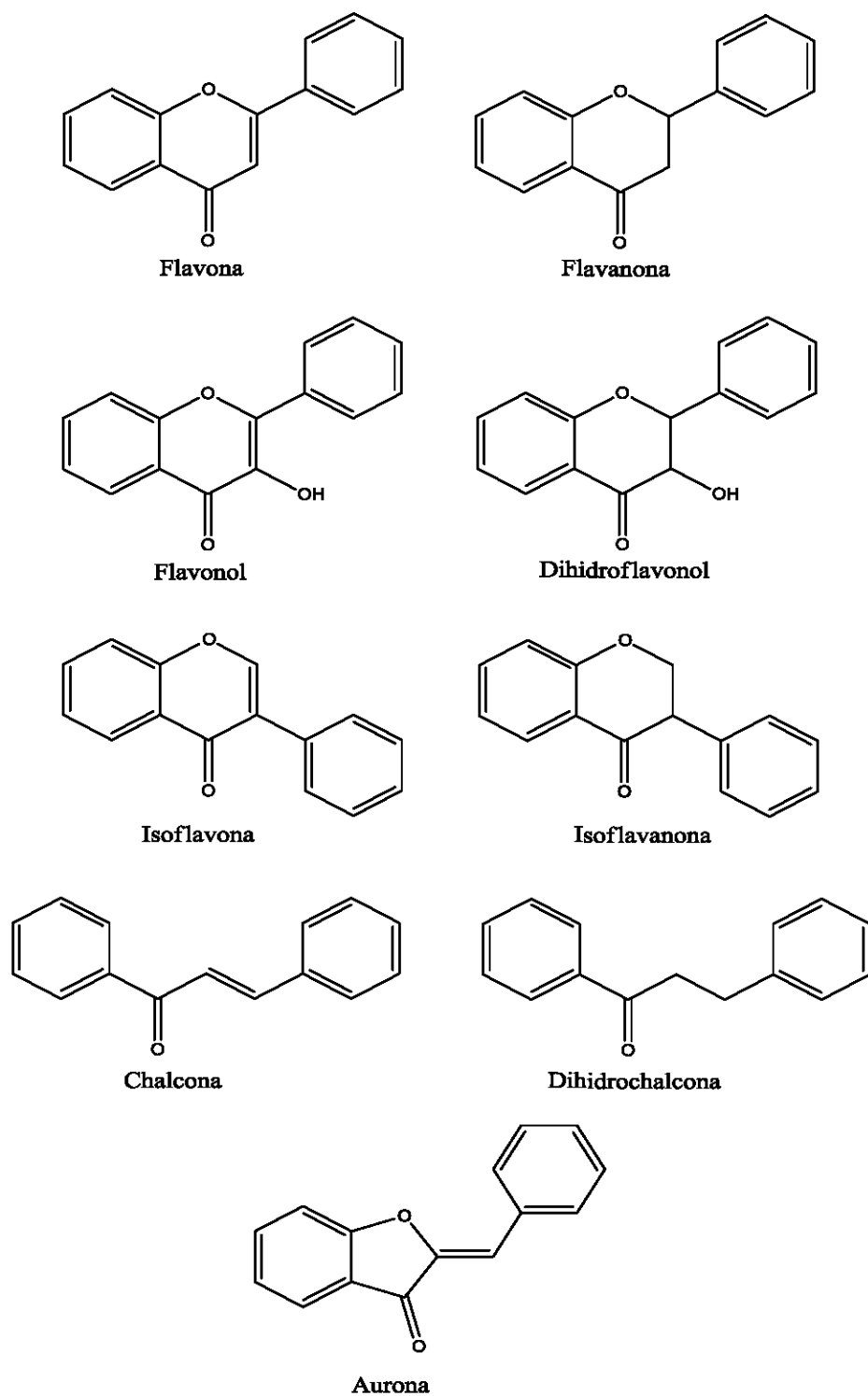


FIGURA 5. Estructuras fundamentales de los diferentes tipos de flavonoides.

El nombre de flavonoide proviene del latín “*flavus*” que significa amarillo y son los responsables de las diferentes coloraciones que observamos en las plantas. Comúnmente se encuentran en las plantas en forma de glicósidos, lo que puede complicar su determinación estructural. Las flavonas y los flavonoles son los compuestos fenólicos que más frecuentemente se encuentran en las plantas.

Este tipo de compuestos despertaron gran interés debido a su actividad antioxidante, la cual es resultado de sus propiedades quelatantes de metales como el hierro y secuestradoras de radicales libres, así como de la inhibición de oxidasaes tales como la lipoxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y la xantina oxidasa. Quizá el más conocido de estos compuestos es la quercetina, flavonoide presente en numerosas plantas y actualmente muy popular debido a sus propiedades benéficas para la salud.²⁴

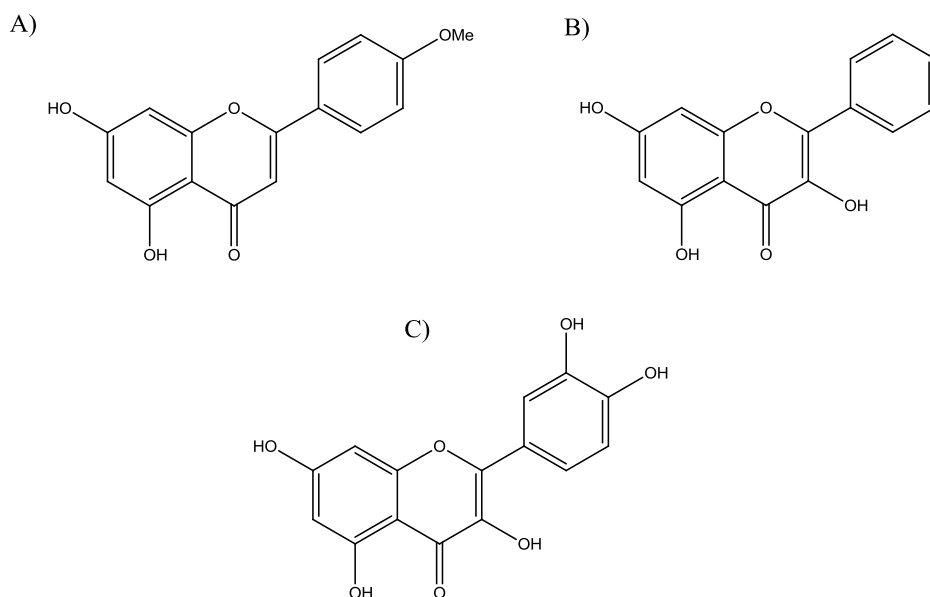


FIGURA 6. Estructuras de algunos compuestos flavonoides: A) acetina, B) galangina y C) quercetina.

Algunos flavonoides presentan también otro tipo de propiedades, como en el caso de la acetina, aislada de la *Robinia pseudoacacia*, que muestra actividad antiinflamatoria y la galangina, flavonol procedente de las raíces de *Alpina officinarum* que presenta actividad antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos.²⁵

ÉSTERES

Los ésteres son compuestos estructuralmente relacionados con los ácidos carboxílicos, son producto de la reacción química de éstos con alcoholes. Algunos ésteres de bajo peso molecular son volátiles y se caracterizan por poseer aromas fuertes y muchas veces agradables y característicos,²⁶ como por ejemplo el acetato de isoamilo y el valerato de etilo que despiden aromas a plátano y a manzana, respectivamente.

Entre los compuestos de este tipo que se encuentran comúnmente en la naturaleza tenemos las ceras (ésteres de ácidos y alcoholes grasos) y los productos de condensación de ácidos grasos y glicerol (mono-, di- y triglicéridos), así como también algunos glicéridos de fenilpropanoides, que son ésteres de ácidos como el cinámico, ferúlico, caféico o sinápico por ejemplo. Algunos de éstos últimos poseen propiedades antitumorales, antimicrobianas, analgésicas y antiinflamatorias.²⁷ Dichas actividades biológicas, al igual que las propiedades químicas, dependen del tipo de estructura del fenilpropanoide en cuestión. Los ésteres derivados del ácido cinámico se utilizan comúnmente como filtros orgánicos de la luz ultravioleta en bloqueadores solares y en cosméticos, siendo los más utilizados el 4-metoxicinamato de 2-etilhexilo (metoxicinamato de octilo, OMC) y el 4-metoxicinamato de isopentilo.²⁸

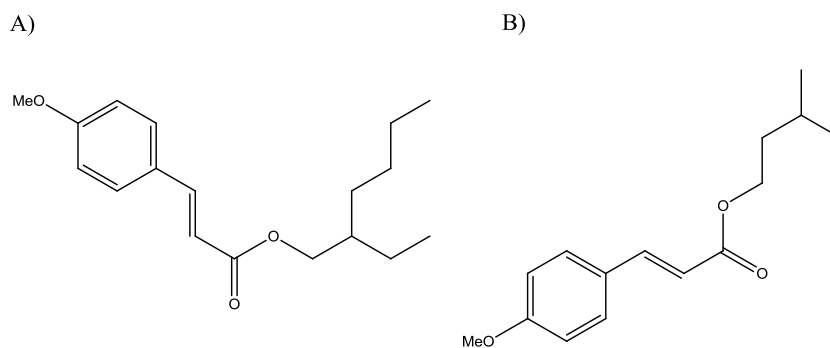


FIGURA 7. A) 4-metoxicinamato de 2-etilhexilo (OMC), B) 4-metoxicinamato de isopentilo.

La función que desempeñan en las plantas los glicéridos de los fenilpropanoides consiste en evitar la pérdida de agua del organismo, actuando como un impermeabilizante debido al comportamiento hidrófobo que presentan, además de ser componentes principales del material resinoso de los árboles y de sustancias como el propóleo, poderoso antibiótico y antifúngico procesado por las abejas a partir de las resinas arbóreas antes citadas.

Entre otros ejemplos de ésteres podemos mencionar al p-coumaril diacetato, aislado de la *Alpina galanga*, el cual, presenta actividad biológica contra la leishmaniasis (enfermedad causada por protozoarios del género *Leishmania*),²⁹ al cafeato de feniletilo (CAPE) compuesto identificado como el principal agente antibacteriano y antifúngico del propóleo³⁰ o las lasiocarpinas, compuestos aislados de las yemas de *Populus lasiocarpa* como la lasiocarpina A, las cuales poseen estructuras que a pesar de no ser tan complejas (Ver figura 8) son muy poco comunes y la presencia de las mismas está limitada a un pequeño grupo de plantas superiores.³¹

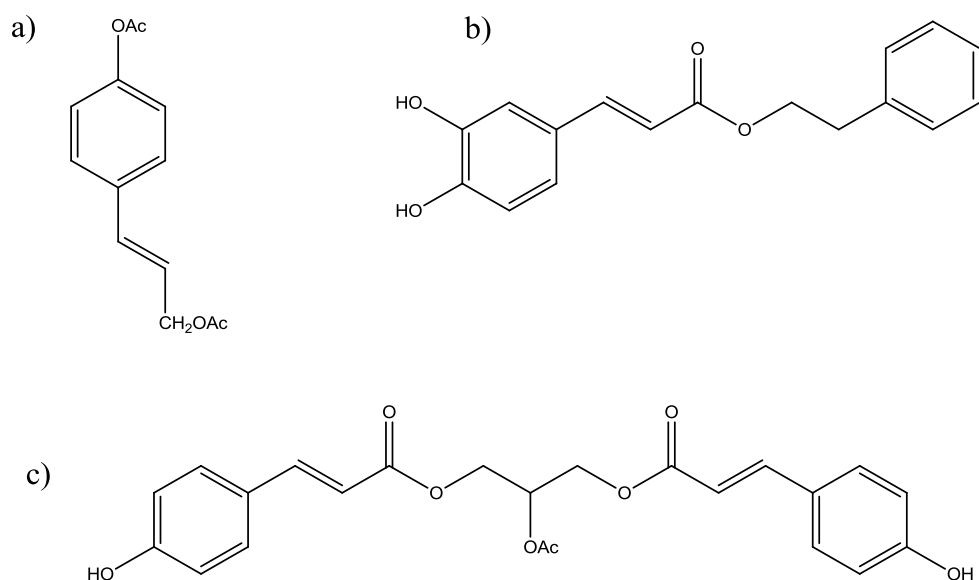


FIGURA 8. Estructuras de algunos fenilpropanoides: a) p-Coumaril Diacetato, b) cafeato de feniletilo y c) lasiocarpina A.

ÁCIDOS GRASOS.

Los ácidos grasos son los lípidos más simples y se caracterizan por tener una región hidrofílica (cabeza) conectada a una larga región hidrofóbica (cola). Son utilizados como reserva energética y para la formación de las membranas lipoprotéicas.

Existen muchos ácidos grasos, de los cuales, los más comunes en las plantas son el ácido oleico y el ácido palmítico. La cadena hidrocarbonada que forma la cola de estos ácidos puede estar saturada como en el palmítico o insaturada como en el oleico. Los ácidos grasos difieren entre sí principalmente en la longitud de la cadena hidrocarbonada y las insaturaciones presentes en la misma.

A pesar de que los ácidos grasos son utilizados como los bloques estructurales que componen los lípidos saponificables, en su forma ácida libre sólo tienen ocurrencia a nivel de trazas en los tejidos y células. Normalmente, se encuentran formando parte de otro tipo de compuestos comprendiendo poco más de un 7% en peso en material vegetal seco. Encontramos entre estos compuestos ésteres de alcoholes de cadenas largas (ceras), triacilgliceroles, así como también glicerofosfolípidos y esfingolípidos.³²

Nombre trivial	Átomos de carbono	Dobles enlaces	Nombre IUPAC	Procedencia
Ácido butírico.	4	0	Ácido butanoico	Mantequilla
Ácido caproico.	6	0	Ácido hexanoico	Mantequilla
Ácido caprílico.	8	0	Ácido octanoico	Aceite de coco
Ácido cáprico.	10	0	Ácido decanoico	Aceite de coco
Ácido láurico.	12	0	Ácido dodecanoico	Aceite de coco
Ácido mirístico.	14	0	Ácido tetradecanoico	Semilla de palma
Ácido palmítico.	16	0	Ácido hexadecanoico	Aceite de palma
Ácido palmitoléico.	16	1	Ácido 9- hexadecenoico	Grasas animales
Ácido estéarico.	18	0	Ácido octadecanoico	Grasas animales
Ácido oleico.	18	1	Ácido 9- octadecenoico	Aceite de oliva
Ácido araquídico.	20	0	Ácido eicosanoico	Aceite de cacahuete
Ácido araquidónico.	20	4	Ácido 5,8,11,14- eicosatetraenoico	Grasas hepáticas
Ácido behénico.	22	0	Ácido docosanoico	Aceite de canola
Ácido lignocérico.	24	0	Ácido tetracosanoico	Casi en todas las grasas

TABLA 1. Algunos ácidos grasos y su procedencia.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIAL VEGETAL

La colecta de *Tillandsia recurvata* se llevó a cabo del 14 al 17 de Septiembre del 2009 en el campus de Ciudad Universitaria en el Distrito Federal, México. La identidad del material fue verificada en el Herbario Nacional de México (MEXU) por comparación con el espécimen de folio 652206. El material se dejó secar a temperatura ambiente a la sombra y una vez seco, se cortó en pequeños trozos utilizando tijeras para dejarlo macerando en metanol.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

Para el aislamiento, la separación y la purificación de los componentes de la planta, se utilizaron métodos cromatográficos convencionales como: cromatografía en columna (CC), cromatografía en placa fina analítica (CCFa) y cromatografía en placa fina preparativa (CCFp)

Los análisis cromatográficos en capa fina analítica (CCFa) se efectuaron de acuerdo con las técnicas convencionales, utilizando placas de aluminio recubiertas de gel de sílice (Alugram Sil G/UV₂₅₄ for TLC, Macherey-Nagel) de 0.20 mm de espesor.

Para las cromatografías en capa fina preparativa (CCFp) se utilizaron placas de vidrio de 20X20 cm, recubiertas de gel sílice (DC- Fergitplatten SIL G UV₂₅₄ Macherey-Nagel) de 2.0, 1.0, 0.5 y 0.25 mm de espesor según el caso.

La visualización de las placas se llevó a cabo mediante una lámpara de luz UV Spectroline modelo CX-20 a longitudes de onda de 254 y 365 nm. Se utilizaron en algunos casos soluciones reveladoras cromógenas seguido de calentamiento en parrilla durante 1 minuto a 100°C aproximadamente.

Las cromatografías en columna abierta (CC) se realizaron en columnas de vidrio empacadas con gel de sílice para cromatografía en capa fina.

DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES FÍSICAS, ESPECTROSCÓPICAS, ESPECTROMÉTRICAS Y EQUIPO UTILIZADO

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jonhs en grados Celsius (°C) y las temperaturas no están corregidas. Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer modelo 343. Para las espectrometrías de masas se utilizó un espectrómetro de masas Jeol, SX 102 A y el cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, Jeol GCMate II. La espectroscopía de infrarojo se realizó en un espectrofotómetro IR Brucker Tensor 27. Los espectros de RMN se determinaron en un Varian, Gemini 200 MHz y en un Bruker Avance III 400 MHz.

OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

El material vegetal *Tillandsia recurvata* seca (321 g) se limpió manualmente retirando la basura y material vegetal que no pertenecía a la especie, para después macerar en metanol durante cuatro días. Posteriormente, se filtró y se concentró el extracto metanólico (4 L) en un rotavapor para reducir el volumen a 500 ml aproximadamente. Posteriormente se le realizó un reparto líquido-líquido utilizando acetato de etilo con lo que se obtuvieron una fase orgánica y una acuosa. La fase orgánica se concentró en el rotavapor y se obtuvo un total de 10.65 g de material.

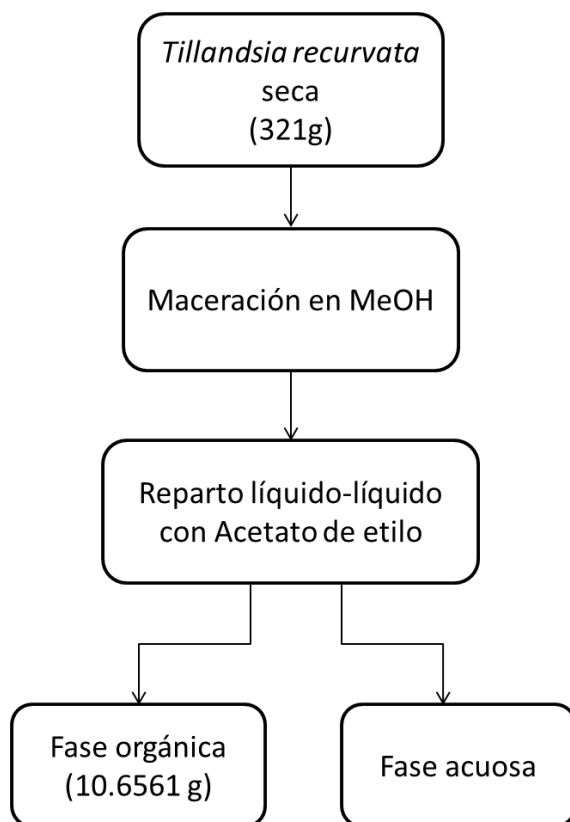


FIGURA 9. Diagrama de flujo de la extracción de la *Tillandsia recurvata*

FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO DE ACETATO DE ETILO.

El residuo de la fracción de AcOEt (10.65 g) de la partición líquido/líquido del extracto metanólico se separó por cromatografía en columna utilizando 200 g de gel de sílice como adsorbente y eluyendo con los siguientes sistemas: Hexano/diclorometano (1:1), diclorometano, diclorometano/acetona (9:1) y acetona. Se obtuvieron 72 fracciones, las cuales se compararon por CCFa y se reunieron tomando en cuenta su similitud cromatográfica, quedando finalmente 7 fracciones primarias (A- G).

FRACCIÓN	PESO (g)
A	0.7797
B	0.8390
C	0.1685
D	0.9242
E	2.6212
F	0.8080
G	0.2526

TABLA 2. Peso de las fracciones obtenidas de la cromatografía en columna del extracto metanólico

CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA DE LA FRACCIÓN A.

La fracción A (0.78 g) se recromatografió en una columna de 16 g de gel de sílice eluyendo con: hexano, hexano/diclorometano (9:1), hexano/diclorometano (4:1), hexano/diclorometano (7:3), hexano/diclorometano (3:2) y hexano/diclorometano (1:1). Se obtuvieron 33 fracciones, las cuales se reunieron de acuerdo con su similitud en CCFa quedando finalmente 7 fracciones (AA- AG). Los espectros de RMN ¹H (200 MHz) mostraron principalmente la presencia de grasas y cicloartanos en las diferentes fracciones.

FRACCIÓN	COMPOSICIÓN
AA	Grasas (Se desechó)
AB	Grasas (Se desechó)
AC	Grasas y cicloartanos
AD	Grasas y cicloartanos
AE	Grasas y cicloartanos
AF	Grasas y cicloartanos
AG	Grasas y cicloartanos

TABLA 3. Composición de las fracciones obtenidas por CC de la fracción A.

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN AC

Una muestra de la fracción AC (47 mg) se separó por cromatografía en placa preparativa de 0.5 mm de espesor, utilizando como eluyente una mezcla de hexano/acetona (19:1) obteniendo 5 bandas: ACa-ACe. El espectro de RMN ¹H (200 MHz) de la fracción ACa mostró la presencia de las señales características de cicloartanos y ácidos grasos, por lo que analizó por RMN 400 MHz, siendo identificada como una mezcla de ésteres del 24-metilencicloartanol (V).³⁸

Otra muestra de 100 mg de la fracción AC se sometió a cromatografía en columna, utilizando 45 g de sílice y eluyendo con: Hexano, hexano/DCM 9:1, hexano/DCM 1:1, DCM 100%, DCM/acetato de etilo 9:1, DCM/acetato de etilo 1:1, acetato de etilo 100% y acetona 100%. Se obtuvieron 77 fracciones las cuales se analizaron aleatoriamente e identificaron por RMN ¹H 200 MHz como mezclas de cicloartanos, ésteres y grasas.

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN AD.

La fracción AD (35 mg) se separó utilizando una placa preparativa de 20x20 cm y 0.5 mm de espesor y eluyendo con un sistema de hexano/diclorometano 7:3. Se obtuvieron 8 fracciones (ADa-ADh) las cuales se analizaron por RMN ¹H 200 MHz resultando ser mezclas de cicloartanos y ácidos grasos principalmente en las fracciones a, f y g. El análisis por RMN y EM de las fracciones ADf y ADg indicó la presencia de la 24-metilencicloartanona (IV) previamente reportada en esta especie.⁶

CROMATOGRAFÍA DE LAS FRACCIONES PRIMARIAS B Y C.

Ambas fracciones mostraron la presencia de esteroides al compararse por CCFa con un estándar de sitosterol. Se tomó una muestra de 0.110 g de la fracción B y se separaron por medio de placa preparativa de 2.0 mm de espesor y eluyendo tres veces con un sistema hexano/acetona 9:1 obteniéndose 5 fracciones: Ba- Be. La fracción Bd se identificó espectroscópicamente y por comparación con una muestra auténtica, como β-sitosterol (VII).

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN PRIMARIA E.

La fracción E, con un peso de 2.62 g, se fraccionó nuevamente por CC utilizando 50 g de sílice como adsorbente y utilizando como eluyentes diclorometano 100%, diclorometano/ acetona (4:1), acetona 100%, acetato de etilo 100% y metanol 100%, se obtuvieron 8 fracciones: EA- EH.

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN EE.

La fracción EE se recromatografió en columna utilizando Sephadex LH-20 y eluyendo con una mezcla ternaria de hexano/diclorometano/metanol (2:1:1). Se colectaron fracciones de 25 ml, las cuales se reunieron de acuerdo a su similitud, obteniéndose 7 fracciones: EEA- EEG, las cuales se analizaron por RMN¹H 200 MHz.

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN EEA.

La fracción EEA (1.32 g) se recromatografió nuevamente sobre una columna de Sephadex LH-20TM utilizando como eluyente hexano- diclorometano-metanol (2:1:1) obteniéndose 33 fracciones de 5 ml. Las fracciones 12, 19 y 21 se purificaron mediante CCFp, utilizando placas de 1 mm de espesor y diclorometano-metanol 19:1 como eluyente. De las fracciones 12 y 19 se obtuvieron las fracciones EEA12a y EEA19c, las cuales se identificaron como el 1,3-di-O-cinamoil glicerol (**IIa**) y el 1,2-di-O-cinamoil glicerol (**II**) respectivamente, de acuerdo con sus datos espectroscópicos de RMN ¹H y ¹³C.

1,3 DI-O-CINAMOIL GLICEROL (IIa)

IR λ_{\max} (solución), cm^{-1} : 3592, 3043, 2999, 2956, 1713, 1637, 1451, 1309, 1255, 1166.

EMIE m/z (%): 353, 335, 279, 205, 191, 161, 131 (100), 103, 77.

RMN (Ver tablas 7 y 8).

1,2-DI-O-CINNAMOIL GLICEROL (II).

IR λ_{\max} (película), cm^{-1} : 3514, 3031, 3011, 2958, 1714, 1637, 1330, 1256, 1162.

EMIE m/z (%): 352, 335, 279, 205, 191, 161, 131 (100), 103, 77.

RMN (Ver tablas 7 y 8).

$[\alpha]_D = -5$

FRACCIÓN EEB.

El análisis de la fracción EEB por RMN ¹H indicó la presencia principalmente de grasas y de pequeñas cantidades de los diacilgliceroles **II** y **IIa**.

FRACCIÓN EEC.

La fracción EEC, se identificó de acuerdo con sus datos espectroscópicos de RMN (1D, 2D) y EM como el 1-O-cinamoil-3-O-feruiglicerol (III).

EMIE m/z (%): 398 $[M]^+$, 250, 237, 205, 194, 177, 131 (BP 100%), 103, 77.

RMN (Ver tabla 6).

$[\alpha]_D = -1.6$

FRACCIÓN EED.

La fracción EED (50 mg) se separó por CCFp utilizando una placa de silicagel de 20 × 20 cm y 0.5 mm de espesor y eluyendo con una mezcla de diclorometano/metanol (79:1). La placa se eluyó 4 veces (4×) y se obtuvieron 6 fracciones, las cuales de acuerdo con los espectros de RMN 1H de 200 MHz, resultaron ser aun mezclas complejas.

FRACCIÓN EEE.

La fracción EEE, se separó por CCFp, utilizando una placa de silicagel de 1 mm de espesor y eluyendo la placa 3 veces con una mezcla (39:1) de diclorometano-metanol. La fracción EEEb se purificó nuevamente por placa preparativa utilizando hexano-acetato de etilo (1:1) obteniendo 4 fracciones, las cuales se analizaron por RMN 1H 200 MHz. La fracción EEEbd (6 mg) se identificó espectroscópicamente por RMN (DEPT, COSY, HMBC y HSQC) y EM como la 5,7,3'-trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona (I).

IR λ_{max} (solución), cm^{-1} : 3682, 3541, 3494, 3032, 3012, 1638, 1514, 1462, 1340, 1276, 1199, 1013.

EMIE m/z (%): 362 $[M]^+$, 319, 305, 212

RMN (Ver tabla 5)

$[\alpha]_D = -5.2$

FRACCIÓN EEF.

La fracción EEF se separó por CCFp en una placa de 1 mm de espesor y utilizando un sistema de diclorometano- metanol (39:1). Se obtuvieron 5 fracciones, las cuales se analizaron por RMN ¹H 200 MHz resultando ser mezclas de flavonoides y grasas, las cuales no fue posible separar.

FRACCIÓN EEG.

La fracción EEG se separó por CCF preparativa, en una placa de silicagel de 0.25 mm de espesor, eluyendo con diclorometano- metanol (39:1). Se obtuvieron 5 fracciones que se analizaron por RMN ¹H. Las fracciones EEGa y EEGc resultaron, como en el caso anterior, mezclas de flavonoides que no fueron identificados debido a la poca cantidad aislada del producto (1 mg).

CROMATOGRAFÍA DE LA FRACCIÓN F Y G.

Estas fracciones son mezclas complejas de clorofilas y grasas, por lo que no fueron analizadas.

ANÁLISIS Y CROMATOGRFÍAS DE LAS FRACCIONES RESTANTES.

Las fracciones restantes resultaron ser clorofilas, ácidos grasos, además de mezclas de flavonoides y cicloartanos que no fue posible separar por ningún sistema binario de disolventes.

METANOLISIS DE LA FRACCION ACa.

Una muestra de la fracción ACa (9.8 mg) en un matraz balón de 250 ml se disolvió en 10 ml de metanol, se le agregaron 0.2 ml de ácido sulfúrico y se mantuvo en reflujo durante 8 horas. La reacción fue monitoreada cada 2 horas por CCF y se detuvo cuando ya no se observaron cambios en los productos, los cuales se separaron por placa preparativa obteniéndose dos fracciones: ACaa y ACab. La fracción ACaa se analizó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y se identificó como una mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos palmítico, esteárico, araquídico y behénico. La fracción ACab se analizó por RMN ¹H 400 MHz mostrando señales del triterpeno llamado ciclobranol (**VI**).

SINTESIS DE LOS DIACIL GLICEROLES II y IIa.

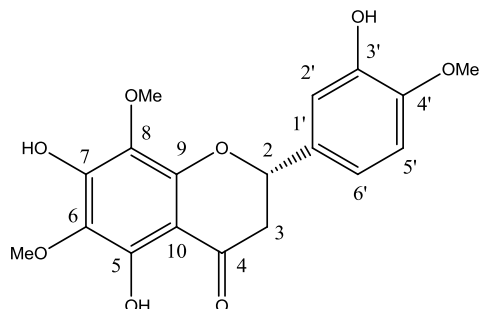
Para la síntesis del 1,2-dicinamoilglicerol (**II**) y el 1,3 dicinamoil-glicerol (**IIa**) se siguió el procedimiento descrito por Holser.²⁸ Se disolvieron en 100 ml de tolueno, 2.0 g de glicerol, 2 g de ácido cinámico y 100 mg de ácido paratoluensulfónico como catalizador. La solución se mantuvo a reflujo y con agitación a 110° C durante 22 horas, utilizando una trampa Dean-Stark para eliminar el agua que se forma en la reacción. Posteriormente, la mezcla de reacción se separó por CC, utilizando las fracciones 31 y 32, que fueron donde se observaron por RM 200 MHz la mayor cantidad de los compuestos **II** y **IIa**. Los productos se purificaron por medio de CCFp utilizando placas de gel de sílice de 1 mm de espesor y diclorometano/ metanol (19:1) como eluyente. Los compuestos **II** (150 mg) y **IIa** (76 mg) obtenidos fueron caracterizados mediante espectrometría (EIMS) y espectroscopía (RMN 400 MHz ¹H, ¹³C, HMBC, HSQC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El estudio químico del extracto orgánico de *Tillandsia recurvata* recolectada en los terrenos de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en la Ciudad de México dio como resultado el aislamiento y elucidación estructural de 3 nuevos componentes de la especie: un flavonoide cuya estructura fue establecida como la 5,7,3'-trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona (**I**) y dos acil gliceroles, que fueron identificados como el 1,2-di-O-cinamoil-glicerol (**II**) y el 1-O-cinamoil-3-O-ferruil-glicerol (**III**). Se aislaron además el 1,3-di-O-cinamoil glicerol (**IIa**), 24-metilencicloartanona (**IV**), una mezcla de ésteres grasos del 24-metilencicloartenol (**IVa**) la cual fue sometida a una metanolisis que permitió la identificación mediante CG-MS de los ésteres metílicos de los ácidos palmítico, esteárico, araquídico, behénico y al ciclobranol como producto de la isomerización del 24- metilencicloartenol. También, el β -sitosterol (**V**) fue aislado e identificado en mezcla con el estigmasterol (**Va**).

La identificación de los compuestos conocidos y la elucidación estructural de los compuestos no descritos en la literatura química se llevó a cabo por medio de métodos espectroscópicos, principalmente resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C , incluidos experimentos en una y dos dimensiones (DEPT, COSY, HSQC, HMBC), así como espectrometría de masas (EM).

5,7,3'-TRIHIDROXI-6,8,4'-TRIMETOXIFLAVANONA (I).



El compuesto I se obtuvo de la fracción EEE como un aceite viscoso de color ámbar después de separaciones sucesivas por CCFp. No se encontraron reportes de la presencia de este compuesto en *Tillandsia recurvata* ni en alguna otra planta. En su espectro de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) se observaron señales características de los flavonoides como la señal simple en 11.9 ppm, que corresponde al protón del OH en C-5 que se encuentra formando puente de hidrógeno con el carbonilo en la posición 4 del núcleo flavonoide. En la región de aromáticos son observables 3 señales en δ 6.88 d ($J = 8.4$ Hz), 6.94 dd ($J = 8.4, 2.0$ Hz) y 7.05 d ($J = 2.0$), las cuales, debido a su multiplicidad y constantes de acoplamiento nos indican la presencia de un anillo aromático con una sustitución en las posiciones 1,3 y 4. Tres señales simples en δ 3.85, 3.92 y 3.93 nos indican la presencia de tres metoxilos en la estructura. Se observan además las señales características de los protones del metileno ($\text{H-3}_{\text{axial}}$, $\text{H-3}_{\text{ecuatorial}}$) y el metino (H-2) de una flavanona. Estos protones originan un sistema ABX conformado por las dos señales dobles de dobles en δ 2.8 ($J = 12.6, 3.1$ Hz) y 3.0 ($J = 12.6, 3.1$ Hz) que corresponden a H-3 y por la señal doble de dobles en δ 5.3 ($J = 12.6, 3.1$ Hz) que corresponde a H-2. La constante de acoplamiento ($J_{2,3} = 12.6$ Hz) entre los protones de las posiciones 2 y 3 nos indican un acoplamiento de tipo axial-axial y que el anillo B se encuentra en posición ecuatorial, por lo que se le asignó la configuración S al centro quiral del carbono 2, tomando en cuenta también la rotación óptica negativa del compuesto.³⁷

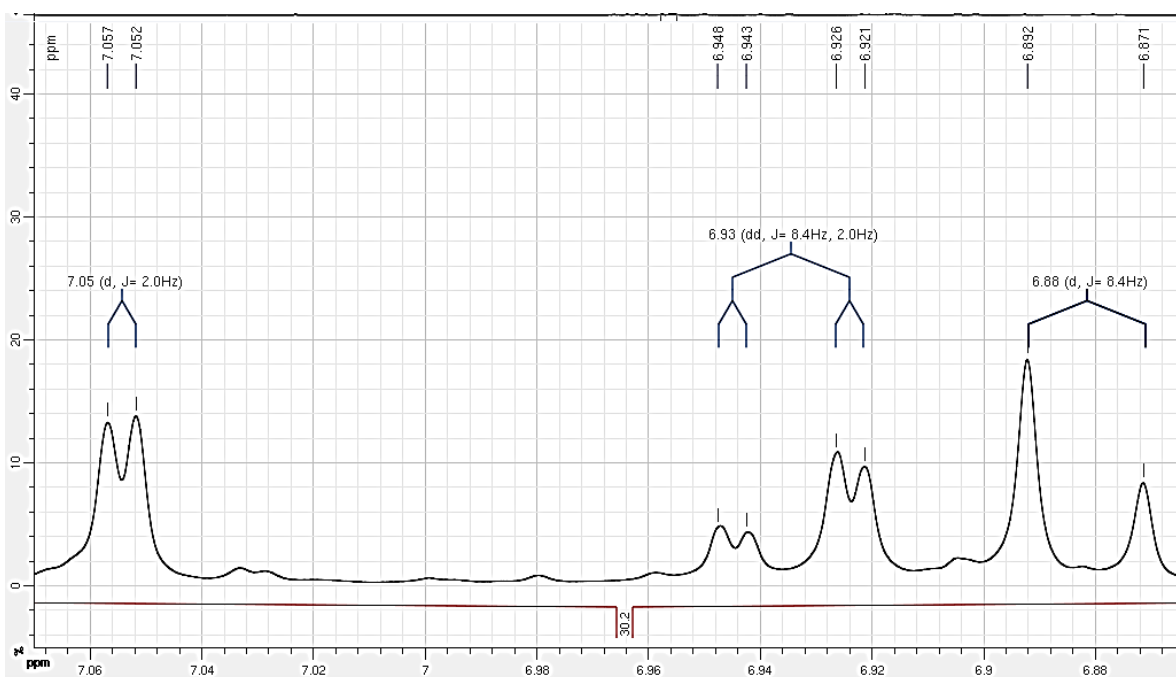


FIGURA 10. Multiplicidad y constantes de acoplamiento del anillo B del compuesto (I).

En el espectro de ^{13}C se observó la presencia de 18 señales, las cuales de acuerdo con los experimentos DEPT 90° y 135° corresponden a 3 metilos, 1 metileno, 4 metinos y 10 carbonos totalmente sustituidos. La presencia de 3 metilos (δ 51.0, 61.0 y 61.5), cuyas señales muestran acoplamiento con las señales a δ 3.85, 3.92 y 3.93 en el experimento HSQC, confirman la presencia de 3 metoxilos en la molécula. En este mismo experimento, se observó el acoplamiento entre las señales de C-3 (CH_2 , δ 43.5) y C-2 (CH , δ 79.2) con las señales del sistema ABX de los protones H-3 (δ 2.8, 3.0) y H-2 (δ 5.3) de la flavanona. Los metinos restantes corresponden a los carbonos aromáticos C-2', 5' y 6' (δ 112.5, 110.6, 118.0) que muestran acoplamiento con las señales respectivas de H-2', 5' y 6' (δ 7.05, 6.88, 6.93). La señal a δ 196.0 corresponde al carbonilo (C-4), mientras que las señales a δ (102.2, 127.9, 130.5, 131.5, 145.9, 146.9, 149.8, 151.3, 151.4, 196.5) corresponden a los carbonos cuaternarios y fueron asignadas de acuerdo con el experimento HMBC (Ver Tabla 4). Las asignaciones de los protones del sistema ABX y de los protones de los metoxilos con sus respectivos carbonos se realizaron mediante el experimento HSQC (Ver figura 11).

EXPERIMENTO HMBC	
^1H	^{13}C
2.83	102, 196
3.07	79,196
3.86	128
3.92	129,147
3.93	151
5.35	112,1128,131.5
6.8	146.9,131.5
6.9	79,112.5
7.05	79,118,146,147
11.9	102.1129.0,151.3

TABLA 4. Correlaciones observadas en el experimento HMBC del compuesto **I**.

Los desplazamientos de las señales tanto de ^1H como de ^{13}C del compuesto **I** fueron comparados con los de la 5,3' dihidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavanona (**1A**) aislada previamente de la *Tillandsia recurvata*,⁵ siendo la única diferencia la ausencia de la señal de un metoxilo en el caso de **I**.

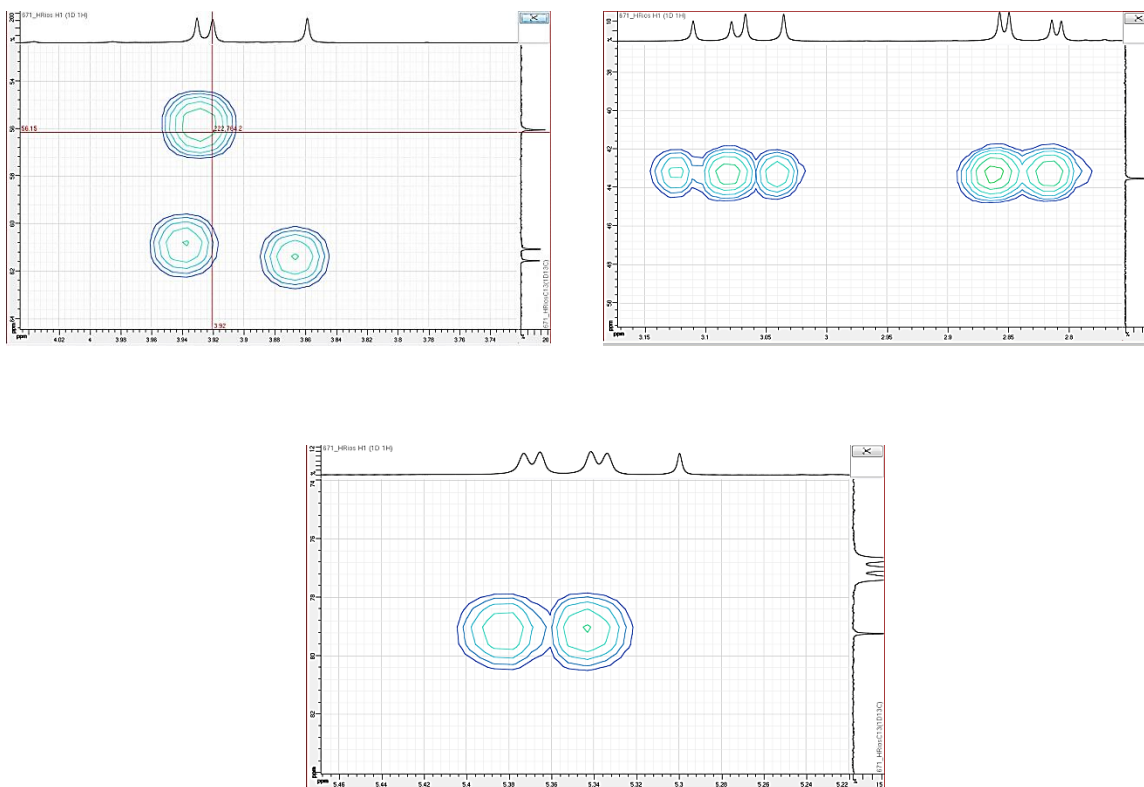


FIGURA 11. Correlaciones observadas en el experimento HSQC.

El espectro de masas del compuesto aislado mostró un ion molecular de $m/z = 362$, que está de acuerdo con un compuesto de fórmula molecular de $C_{18}H_{18}O_8$. Una fragmentación de tipo retro Diels- Alder en el anillo C origina el pico base en $m/z = 212$ y el pico en $m/z = 150$, confirmando la presencia de dos hidroxilos y dos metoxilos en el anillo A, y de un hidroxilo y un metoxilo en el anillo B, respectivamente.

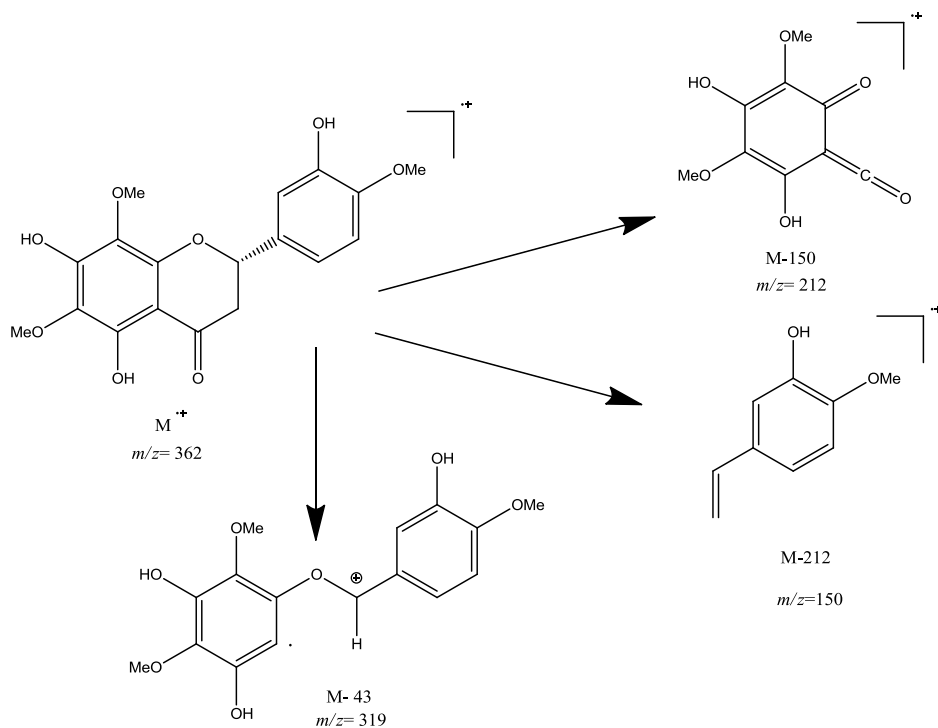


FIGURA 12. Patrón de fragmentación de la 5,7,3'-Trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona (I).

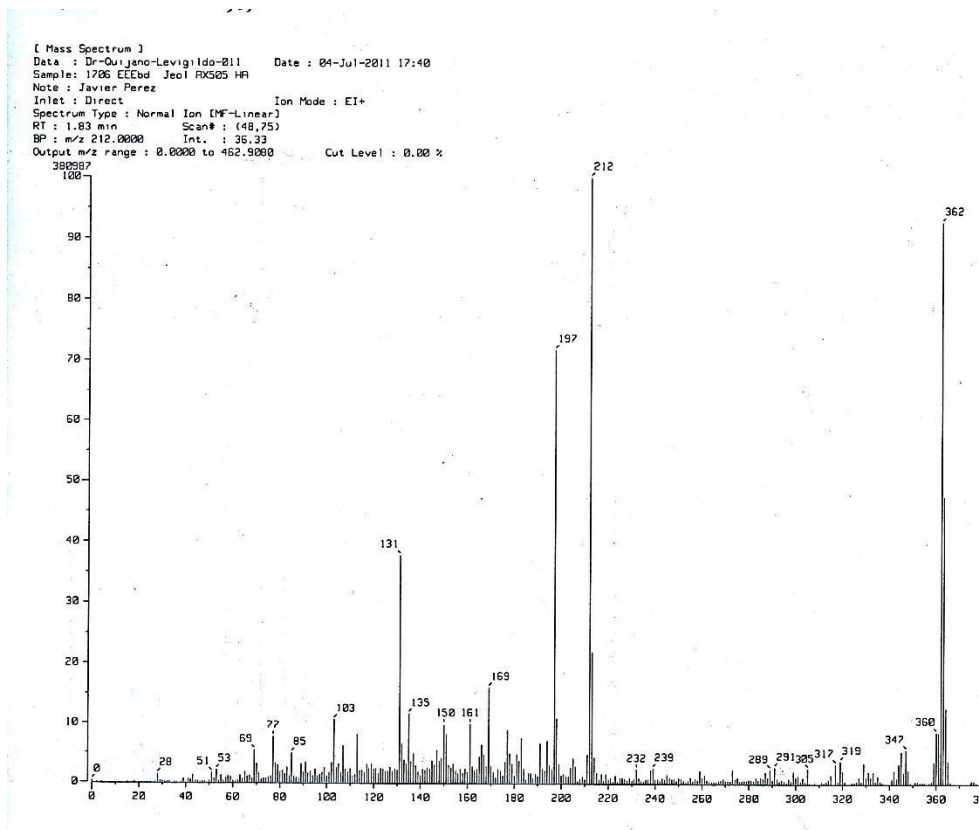


FIGURA 13. Espectro de masas de la 5,7,3'-trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona (**I**).

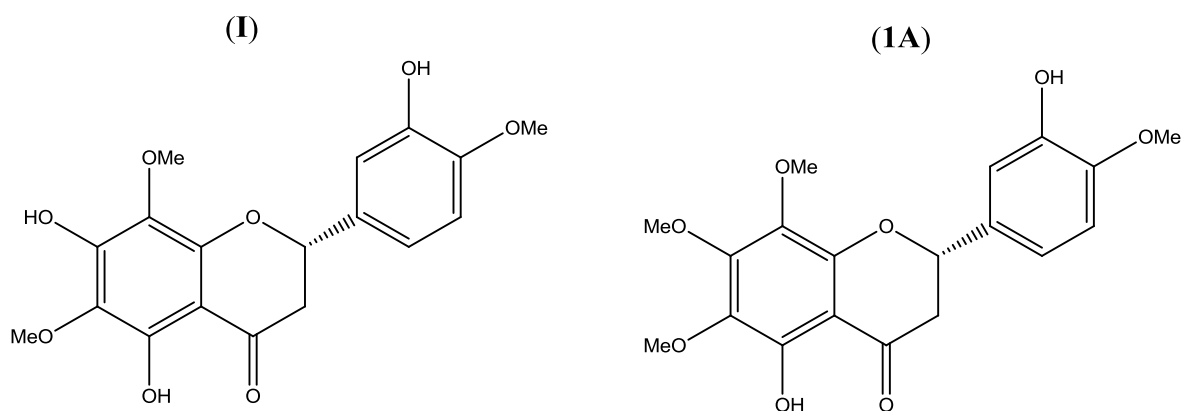
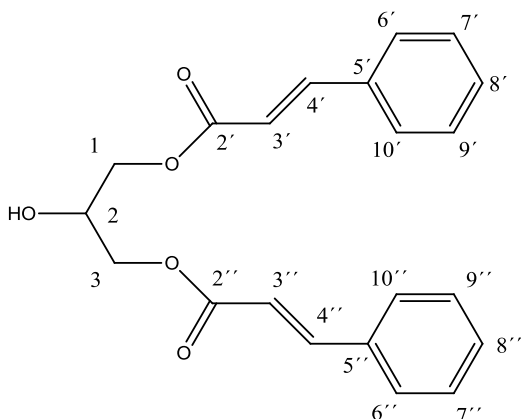


FIGURA 14. Estructuras de la 5,7,3'-trihidroxi-6,8,4'-trimetoxiflavanona (**I**) y de la 3'-dihidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavanona (**1A**)

Pos.	δ_c (1A)	δ_H (1A)	δ_c (I)	δ_H (I)
2	79.2	5.33 (1H, dd, J 3.1, 12.6 Hz)	79.2	5.35 (1H, dd, J 3.1, 12.6 Hz)
3ec	43.7	2.84 (1H, dd, J 3.1, 12.2 Hz)	43.5	2.83 (1H, dd, J 3.1, 12.2 Hz)
3ax		3.06 (1H, dd, J 12.6, 17.2 Hz)		3.07 (1H, dd, J 12.6, 17.2 Hz)
4	197.4	-----	196.7	-----
5	155.7	11.76 (1H, s, 5-OH)	151.3	11.98 (1H, s, 5-OH)
6	134.2	-----	128.6	-----
7	152.0	-----	151.4	-----
8	133.4	-----	127.9	-----
9	150.7	-----	149.8	-----
10	104.4	-----	102.2	-----
1'	131.6	-----	131.5	-----
2'	112.8	7.04 (1H, d, J 1.9 Hz)	112.5	7.05 (1H, d, J 1.9 Hz)
3'	146.0	-----	145.9	-----
4'	147.2	-----	146.9	-----
5'	110.9	6.86 (1H, d, J 8.3 Hz)	110.6	6.88 (1H, d, J 8.3 Hz)
6'	118.2	6.92 (1H, dd, J 1.9, 8.3 Hz)	118.0	6.93 (1H, dd, J 1.9, 8.3 Hz)
6-OMe	61.7	4.07 (3H, s)	61.03	3.93 (3H, s)
7-OMe	61.6	3.85 (3H, s)	-----	-----
8-OMe	61.3	3.78 (3H, s)	61.52	3.86 (3H, s)
4'-OMe	56.2	3.89 (3H, s)	56.02	3.92 (3H, s)

TABLA 5. Comparación de los desplazamientos de las señales de ^1H 400 MHz entre el compuesto I y la flavanona **1A**.

1,3-DI-O-CINAMOIL GLICEROL (IIa).



El 1,3-dicinnamoilglicerol (**IIa**), se aisló como una sustancia aceitosa que presenta un color amarillento. Su espectro de RMN ^1H muestra un perfil similar al ácido cinámico. En la región de los protones aromáticos se observan dos señales múltiples características de un anillo bencénico monosustituido en 7.5 y 7.3 ppm; asimismo, son claramente observables dos señales dobles de un sistema AX en 7.7 y 6.4 ppm con un acoplamiento de 16 Hz, asignables a dos protones vinílicos con acoplamiento *trans*. La absorción a 1713 cm^{-1} en su espectro en el IR confirmó la presencia de un éster α,β -insaturado en la molécula, además de grupos oxhidrilo (3500 cm^{-1}). Se observa además la presencia de un quinteto en 4.26 ppm y de dos dobles de dobles centrados en 4.3 ppm, que integran para uno y cuatro protones respectivamente, las cuales en el experimento HSQC muestran acoplamientos con las señales correspondientes a un metino y un metileno (δ 65 y 68), respectivamente, sugieren que el compuesto aislado debe de ser el 1,3-dicinnamoilglicerol (**I**), aislado previamente de la misma especie.⁵ En el espectro de RMN ^{13}C observamos solamente presencia de 9 señales para 21 carbonos debido a la simetría de la molécula, las cuales son asignables a 1 metileno, 6 metinos y 2 carbonos cuaternarios de acuerdo con los experimentos DEPT. Los carbonos en las posiciones 6 y 10, así como los de las posiciones 7 y 9, presentan equivalencia por lo que sólo son observables en el espectro como dos señales en 128.1 y 128.9 ppm.

El espectro de masas está de acuerdo con la estructura propuesta; en él se observa el ión correspondiente al $[\text{M}+\text{H}]$ de $m/z = 353$, así como el pico de $m/z = 131$ correspondiente al pico base del espectro, el cual se debe al catión cinamoilo (ver figura 16) que es bastante estable debido a la conjugación de dobles enlaces que presenta. Se observan además los picos de m/z 161 y 191 provenientes de la ruptura del enlace C1-C2.

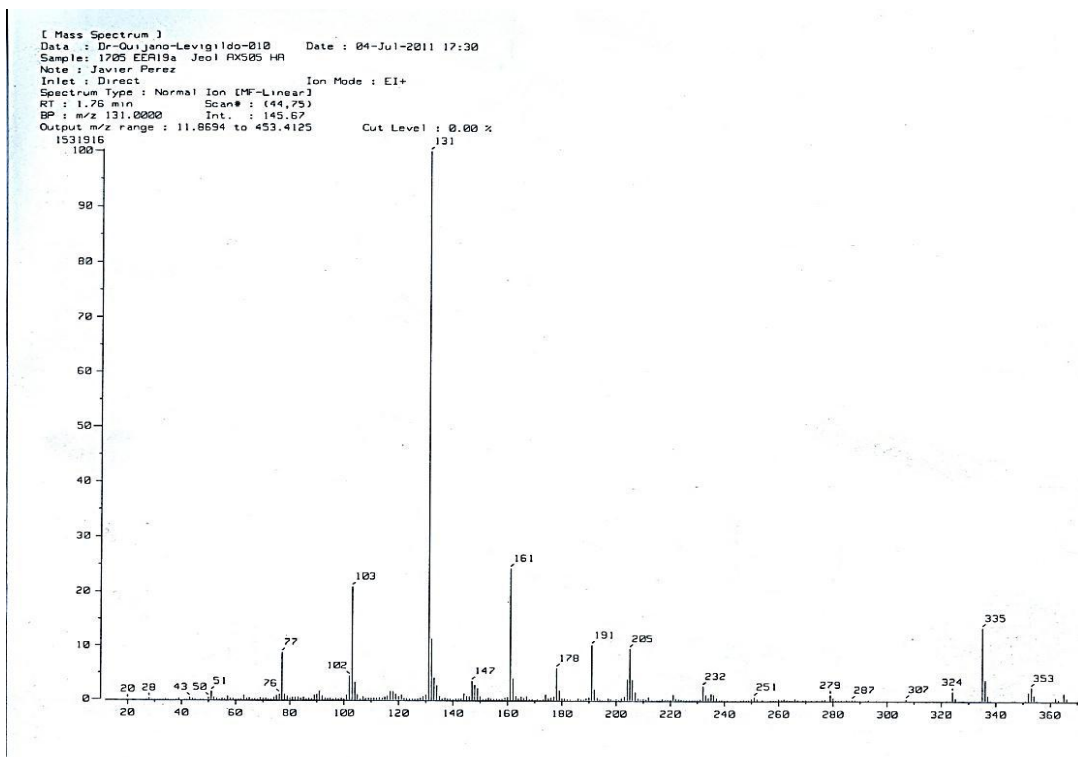


FIGURA 15. Espectro de masas del 1,3-di-O-cinamoil glicerol (IIa).

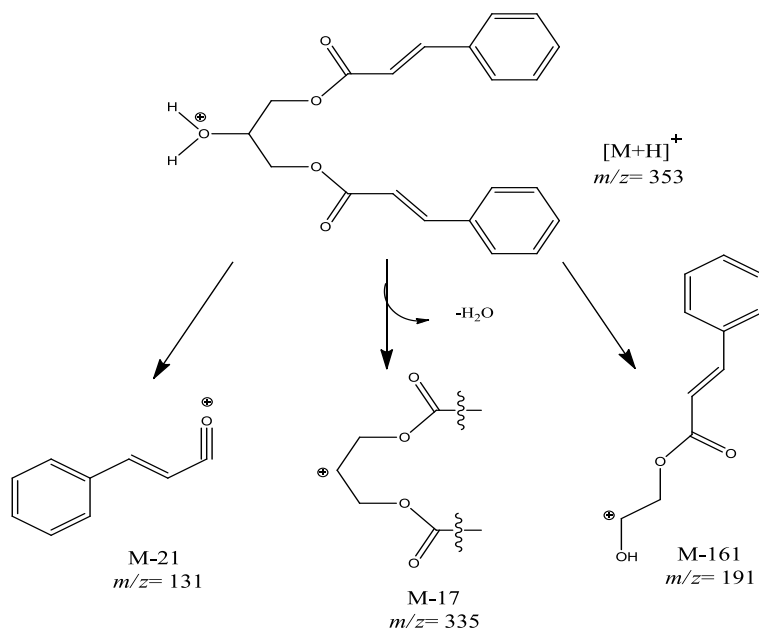
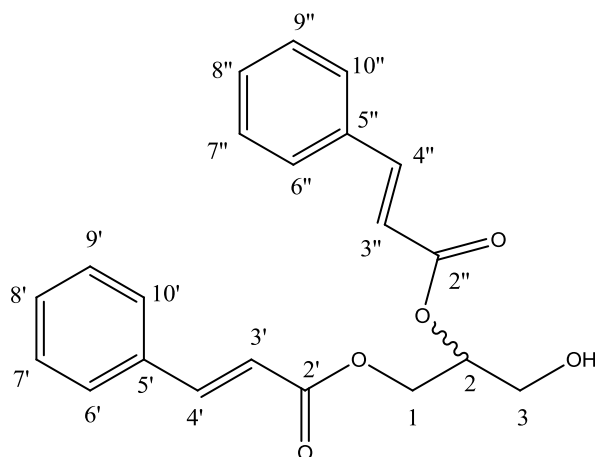


FIGURA 16. Patrón de fragmentación del 1,3-Di-O-cinamoil glicerol.

1,2-DI-O-CINAMOIL GLICEROL (II).



El 1,2-di-O-cinamoilglicerol (**II**), se aisló como un aceite viscoso de color ligeramente amarillo. Su espectro de RMN ^1H presenta señales similares que el compuesto **Ia**, que sugieren que se trata de un compuesto similar conteniendo grupos cinamoilo. Sin embargo, a diferencia del compuesto **Ia**, en este espectro se observan señales para 4 protones vinílicos que sugieren la presencia de dos grupos cinamoilo, lo cual es congruente con una esterificación asimétrica del grupo glicerol, lo que estaría de acuerdo para el 1,2-dicinamato **II**. Congruentemente con lo anterior, se observa un desplazamiento del quinteto correspondiente al protón del carbono 2 a frecuencias más bajas lo cual nos indica una mayor desprotección de este carbono en el compuesto **II** que en la estructura del compuesto **Ia**, mientras que las señales para los metilenos 1 y 3 se observan como dos dobles δ 3.86 ($J= 4.9$ Hz) y 4.5 ($J= 4.9$ Hz), las cuales muestran acoplamiento con las señales de un metino y dos metilenos (δ 61.3, 62.3) en el espectro HSQC.

En el espectro de RMN ^{13}C , las señales correspondientes a los carbonos olefínicos y los carbonilos se observan duplicadas: δ 117.1, 117.3, 145.92, 145.99 para carbonos olefínicos y δ 166.5, 166.9 para carbonilos, lo que está de acuerdo con la asimetría de la molécula.

El espectro de masas mostró un patrón de fragmentación (ver figura 18) similar al compuesto **Ia** en el cual se observa el pico base de $m/z = 131$ que corresponde al catión cinamoilo. También observamos el pico de $m/z = 335$ resultado de la pérdida del grupo OH y los fragmentos de $m/z = 161$ y 191 resultado de la ruptura del enlace C1-C2.

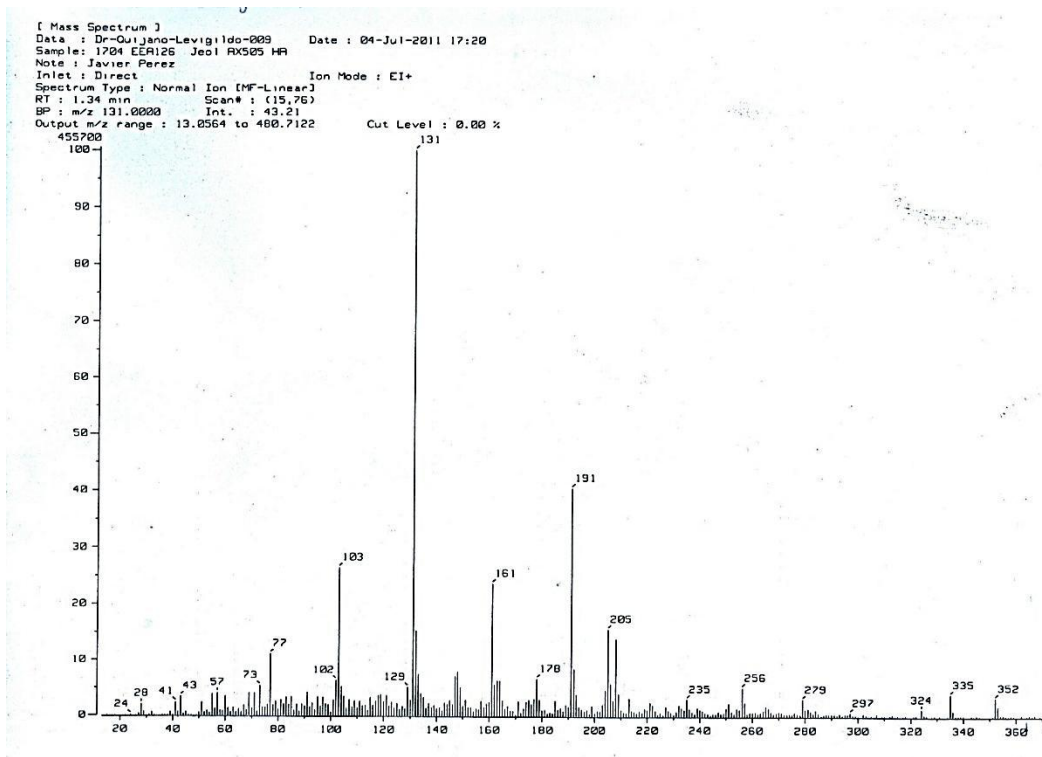


FIGURA 17. Espectro de masas del 1,2-di-O-cinamoil glicerol (VII).

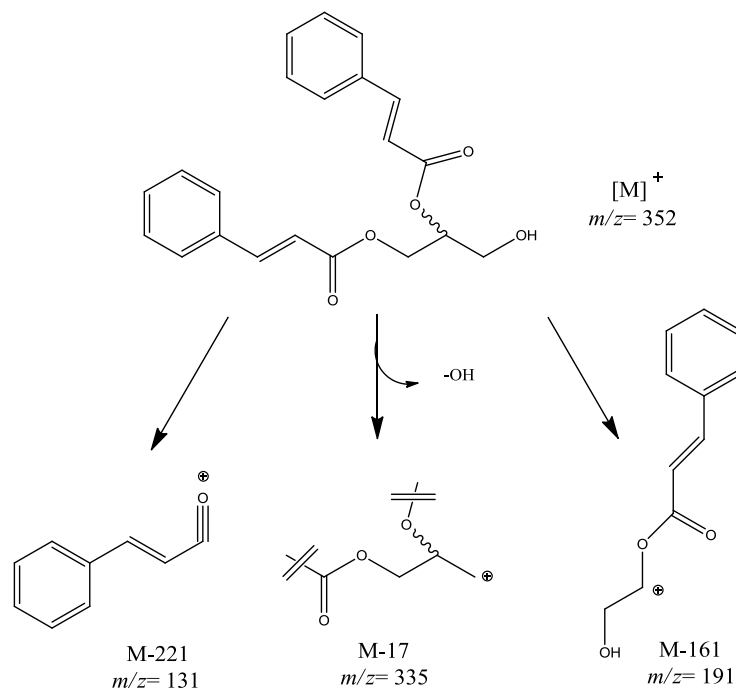
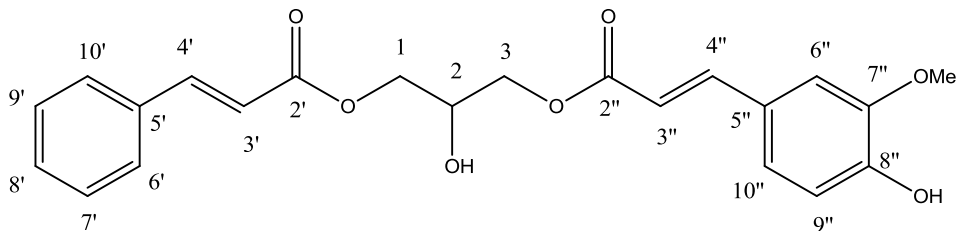


FIGURA 18. Patrón de fragmentación del 1,2- di-O-cinamoil glicerol.

1-O-CINAMOIL-3-O-FERUILGLICEROL (III).



El 1-O-cinamoil-3-O-feruilglicerol (III), se aisló como un aceite viscoso cuyo espectro de RMN ^1H muestra similitudes con el del compuesto II; en él se observó la presencia de 4 señales dobles (δ 6.3, 6.4, 7.6, 7.7 J = 16 Hz) asignables a 4 protones vinílicos de dos sistemas AX diferentes. Se observan además como en el compuesto II, las dos señales múltiples características del grupo fenilo (δ 7.5, 7.3) y las señales correspondientes a los dos grupos metileno (δ 4.3, 4.4) y el metino (4.2) del grupo glicerilo.

Las diferencias notables en el espectro de III con respecto al del compuesto II se deben a la presencia de una señal simple aguda que integra para 3 protones en 3.9 ppm, que sugieren la presencia de un grupo metoxilo en la molécula, así como, en la región de los aromáticos las señales características de un anillo trisustituido con un patrón de sustitución 1,3,4, lo cual está de acuerdo con la multiplicidad y las constantes de acoplamiento de las señales observadas, ya que el espectro mostró una señal doble con acoplamiento *orto* (δ 6.9 J = 8.2Hz), una señal doble de dobles con acoplamientos *orto* y *meta* (δ 7.08 J = 8, 1.9 Hz) y una señal doble con acoplamiento *meta* (δ 7.03 J = 1.9 Hz).

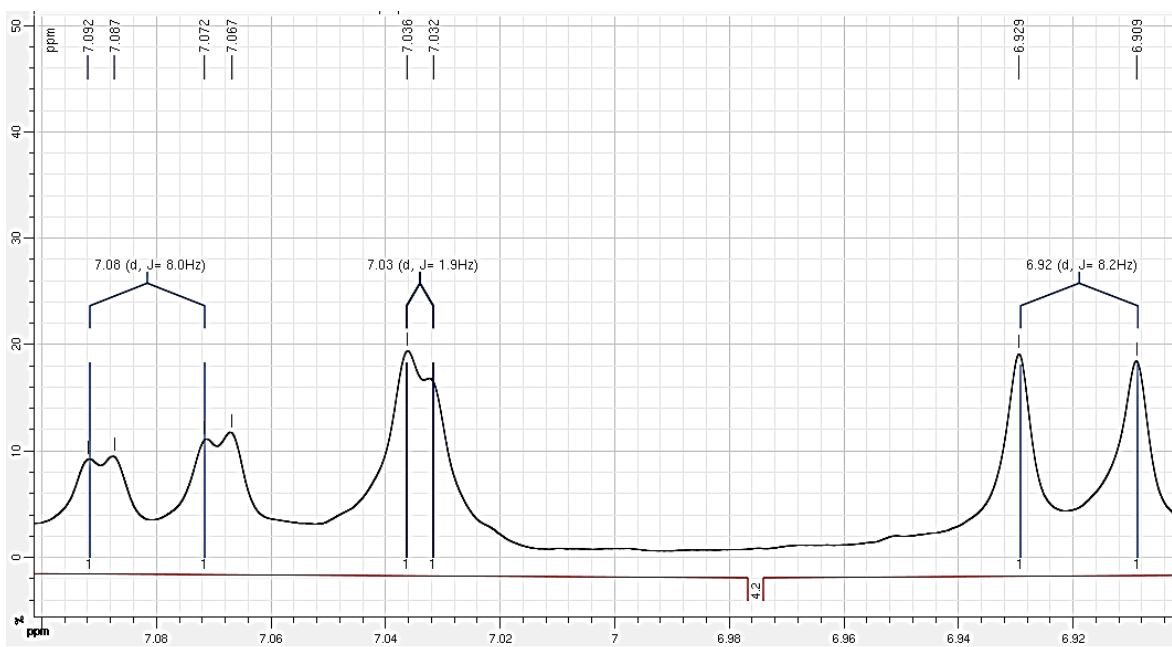


FIGURA 19. Multiplicidad y constantes de acoplamiento del anillo aromático trisustituido del compuesto **III**.

El espectro de RMN ^{13}C muestra la presencia de 20 señales para los 22 carbonos en la molécula debido a la equivalencia de los protones en el anillo monosustituido, de las cuales dos se encuentran en la región de carbonilos (δ 167.0 y 167.3), catorce se encuentran en la región que corresponde a carbonos aromáticos y/o vinílicos, y 4 corresponden a carbonos alifáticos que soportan funciones oxigenadas (δ 55.9, 65.3, 65.5, 68.6), una de las cuales corresponde a un grupo metoxilo (δ_{C} 55.9 δ_{H} 3.92). Por medio de los experimentos DEPT de 90° y 135° se confirmó que 10 de las 14 señales presentes en la región de aromáticos y vinílicos son de metinos (CH) mientras que las otras 4 pertenecen a carbonos cuaternarios. En cuanto a los carbonos alifáticos, uno corresponde a un metino (CH), dos a metilenos (CH_2) y uno a un metilo (CH_3).

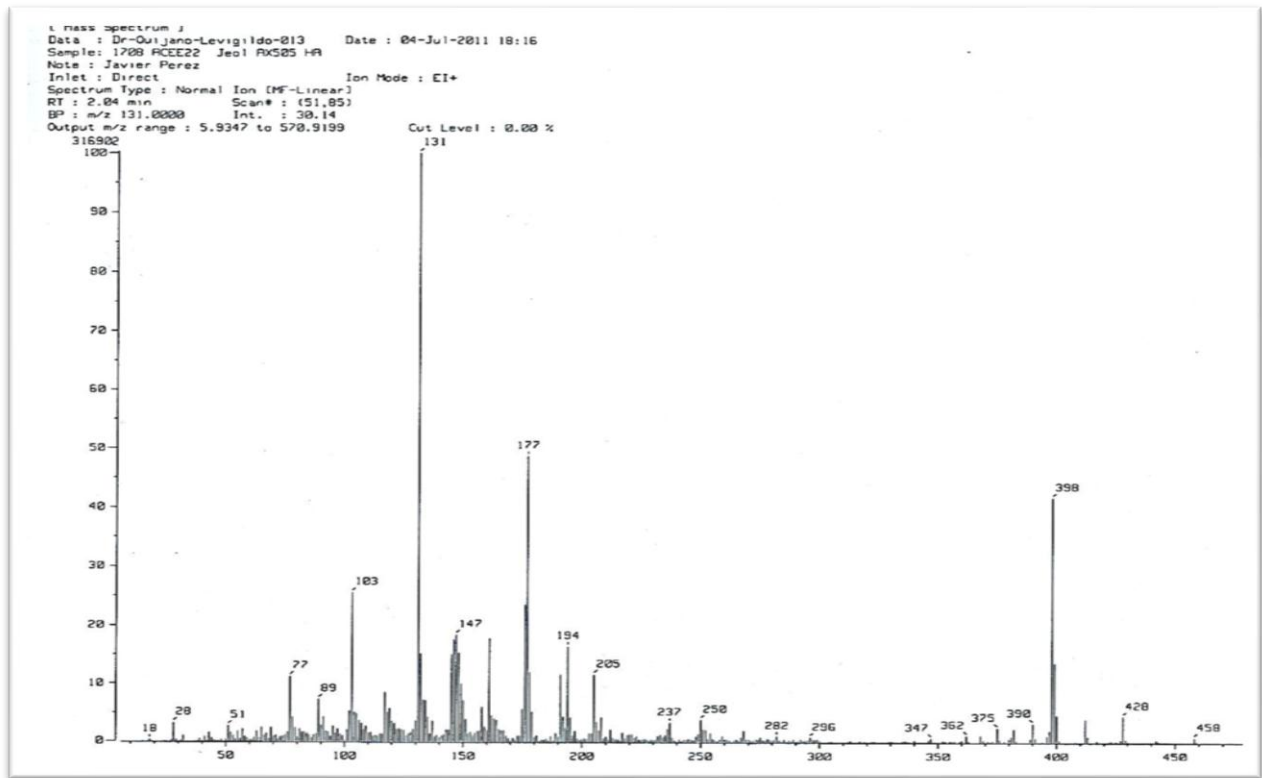


FIGURA 20. Espectro de masas del 1-O-cinamoil-3-O-feruilgicerol (III).

El espectro de masas mostró un patrón de fragmentación (ver figura 21) en el cual se observa el pico base de $m/z = 131$ que corresponde al catión cinamoilo y el pico de 177 que corresponde al catión feruilo.

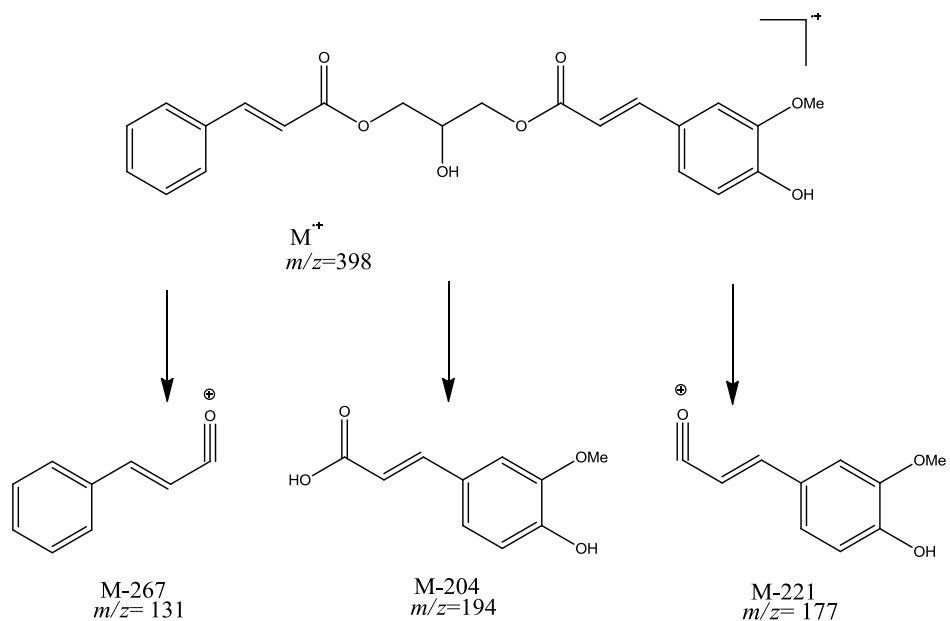
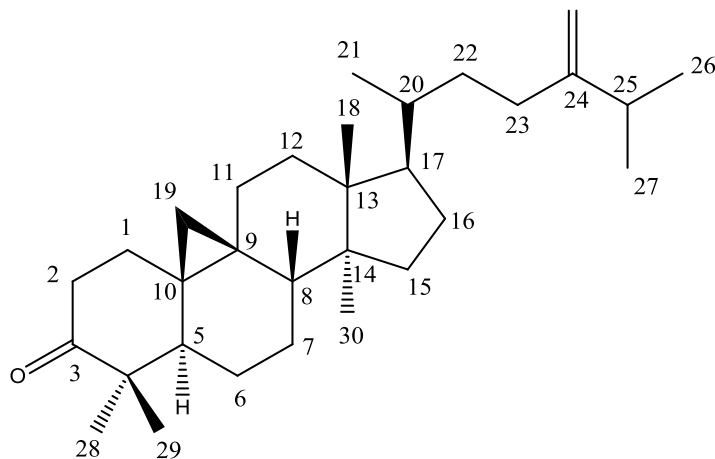


FIGURA 21. Patrón de fragmentación del 1-O-Cinamoil-3-O-feruil glicerol.

δ_C (III)	δ_H (III)
55.9	4.25 <i>q</i>
65.3	4.37 <i>dd</i> $J=11, 5.8$
65.5	4.40 <i>dd</i> $J=11, 5.8$
68.6	6.33 <i>d</i> $J=16$
109.5	6.49 <i>d</i> $J=16$
114.5	6.92 <i>d</i> $J=8$
114.8	7.03 <i>d</i> $J=1.9$
117.2	7.08 <i>dd</i> $J=8, 1.9$
123.3	7.39 <i>m</i>
126.8	7.53 <i>m</i>
128.1	7.67 <i>d</i> $J=16$
128.9	7.74 <i>d</i> $J=16$
130.5	
134.2	
145.8	
145.9	
146.8	
148.1	
167.0	
167.3	

TABLA 6. Valores de los desplazamientos de 1H y ^{13}C para el compuesto (III).

24-METILENCICLOARTANONA (IV).



El compuesto **IV** se identificó como la 24-metilencicloartanona, de acuerdo con sus datos espectroscópicos de RMN y EM, así como por comparación con los reportados previamente en la literatura (ver tabla 7).^{33,34.}

En el espectro de RMN ^1H se observó la presencia de dos señales dobles en 0.57 y 0.79 ppm, las cuales son características de los hidrógenos no equivalentes del metileno 19 que forma parte del ciclopropano característico de un triterpeno del tipo de los cicloartanos. En la región de los protones vinílicos, se observan dos señales simples anchas en 4.6 y 4.7 ppm lo cual nos indica la presencia de un metileno terminal en la estructura del compuesto. La señal en triple de dobles en 2.71 ppm ($J = 13.9, 6.4$ Hz), es característica de triterpenos con un grupo carbonilo en C-3, como la cicloartenona y corresponde al protón axial del metileno de la posición 2, cuya multiplicidad se explica debido al acoplamiento geminal y a los acoplamientos vecinales con los protones axial y ecuatorial del carbono 1.

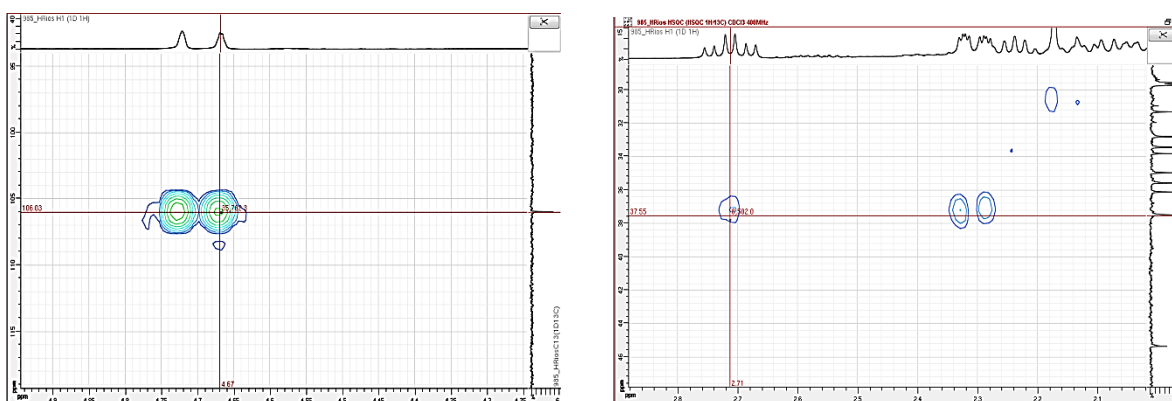


FIGURA 22. Correlaciones observadas en el experimento HSQC

En el espectro de RMN ^{13}C fueron claramente observables 31 señales, las cuales corresponden de acuerdo con los experimentos DEPT de 90° Y 135° a 5 grupos metino (CH), 12 metilenos (CH_2), 7 metilos (CH_3) y 7 carbonos cuaternarios (las cuales son las ausentes en los experimentos DEPT). De acuerdo con los desplazamientos químicos (δ) de las señales, podemos identificar la presencia de un carbonilo en 216.2 ppm (C-3) y de dos carbonos vinílicos en 105.9 y 156.4 ppm, las cuales corresponden a un metileno y un carbón cuaternario (C-24 y C-31 respectivamente), de acuerdo con los experimentos DEPT. Lo anterior es apoyado por el experimento HSQC en el cual se aprecia la correlación entre la señal en 105.9 y las señales simples anchas en 4.6 y 4.7 ppm (ver figura 22). De igual forma, podemos observar la correlación entre la señal de 37.5 ppm con las señales dobles de dobles en 2.71 y 2.3 ppm lo cual nos indica que pertenecen al metileno de la posición 2.

El espectro de masas (ver figura 23) mostró un ión molecular de m/z 438 $[\text{M}]^+$ (20), además de picos correspondientes a los iones de m/z 423(12), 313(21), 300(9), 175(20), que están de acuerdo con lo reportado en la literatura (ver tabla 8).³⁵ Todos los datos anteriores están de acuerdo con la estructura de la 24-metilencicloartanona cuya presencia ya había sido descrita en la *Tillandsia recurvata*.³⁶

[Mass Spectrum]
 Data : Dr-Dujano-Leovigildo-073 Date : 17-Apr-2011 18:27
 Sample : 1031 AC14-18f IE4 JeolAX505HR
 Note : Javier Perez
 Inlet : Direct Ion Mode : EI+
 Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]
 RT : 1.16 min Scan# : (8,71)
 BP : m/z 28.0000 Int. : 57.18
 Output m/z range : 22.5519 to 500.4154 Cut Level : 0.00 %

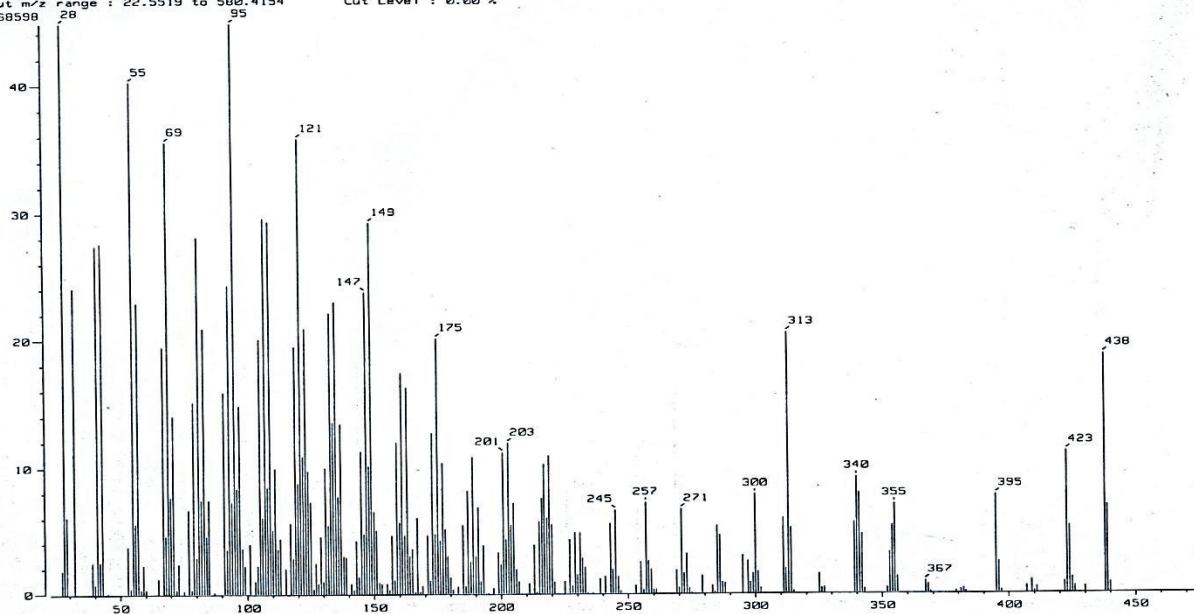


FIGURA 23. Espectro de masas de la 24-metilencicloartanona (IV).

H	δ_H Referencia	δ_H (IV)	δ_C Referencia	δ_C (IV)
1 α	1.86, <i>dddd</i>	1.86, <i>dddd</i>	33.4	33.4
1 β	1.54, <i>ddd</i>	1.54, <i>ddd</i>		
2 α	2.30, <i>ddd</i>	2.30, <i>ddd</i>	37.4	37.5
2 β	2.71, <i>ddd</i>	2.71, <i>ddd</i>		
3			216.2	216.6
4			50.2	50.2
5 α	1.72, <i>dd</i>	1.72, <i>dd</i>	48.4	48.4
6 α	1.56, <i>dddd</i>	1.56, <i>dddd</i>		
6 β	0.95, <i>dddd</i>	0.95, <i>dddd</i>	28.1	28.1
7 α	1.14, <i>dddd</i>	1.14, <i>dddd</i>		
7 β	1.38, <i>dddd</i>	1.38, <i>dddd</i>		
8 β	1.59, <i>dd</i>	1.59, <i>dd</i>	47.9	47.9
9			21.1	21.1
10			25.9	25.9
11 α	2.05, <i>ddd</i>	2.05, <i>ddd</i>	26.0	25.8
11 β	1.17, <i>ddd</i>	1.17, <i>ddd</i>		
12	1.65, <i>t</i>	1.65, <i>t</i>	32.9	32.8
13			45.4	45.3
14			48.8	48.7

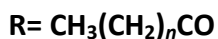
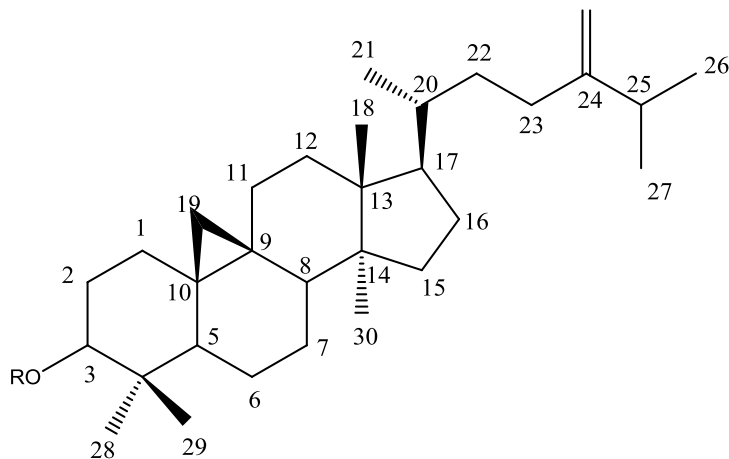
15	1.32, <i>m</i>	1.32, <i>m</i>	36.6	35.58
16 α	1.94, <i>m</i>	1.94, <i>m</i>	26.6	26.7
16 β	1.36, <i>m</i>	1.36, <i>m</i>		
17	1.60, <i>m</i>	1.61, <i>m</i>	52.3	52.3
18	0.99, <i>s</i>	1.00, <i>s</i>	19.3	19.3
19-exo	0.57, <i>d</i>	0.57, <i>d</i>	29.5	29.5
19-endo	0.79, <i>d</i>	0.79, <i>d</i>		
20	1.40, <i>m</i>	1.40, <i>m</i>	36.1	36.1
21	0.87, <i>d</i>	0.87, <i>d</i>	18.1	18.1
22	1.24, 1.78, <i>m</i>	1.24, 1.78, <i>m</i>	34.1	34.9
23	2.39 <i>ddd</i> 2.49 <i>ddd</i>	1.19, <i>ddd</i> 2.56, <i>ddd</i>	31.3	31.3
24			156.4	156.8
25	2.26 <i>sept</i>	2.26 <i>sept</i>	33.8	33.8
26	1.03 <i>d</i>	1.03 <i>d</i>	21.9	21.9
27	1.03 <i>d</i>	1.03 <i>d</i>	21.9	22.0
28	0.95 <i>s</i>	0.95 <i>s</i>	18.3	18.3
29	0.88 <i>s</i>	0.88 <i>s</i>	25.9	25.8
30	0.91 <i>s</i>	0.91 <i>s</i>	20.7	20.7
31	4.66 <i>br d</i> 4.71 <i>br s</i>	4.66 <i>br d</i> 4.72 <i>br s</i>	105.9	105.9

TABLA 7. Comparación de los desplazamientos de las señales de ^{13}C 400 MHz del producto obtenido de la fracción AD y la 24-metilencicloartanona previamente reportada.

Compuesto	M^+		M-43		M-83		M-84		M-125	
	<i>m/e</i>	(%)	<i>m/e</i>	(%)	<i>m/e</i>	(%)	<i>m/e</i>	(%)	<i>m/e</i>	(%)
Referencia	438	100	395	19	355	17	354	17	313	44
IV	438	90	395	36	355	34	354	19	313	100

TABLA 8. Comparación de los patrones de fragmentación entre la 24-metilencicloartanona (**IV**) aislada en el presente estudio con los reportados previamente.

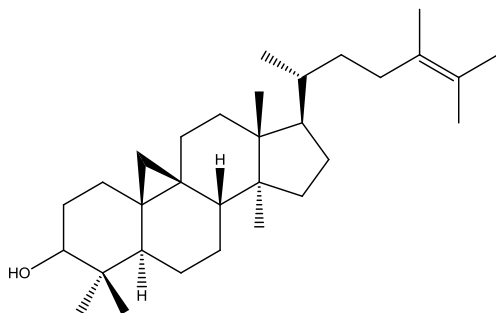
ESTERES GRASOS DEL 24-METILENCICLOARTANOL (V).



De la fracción AC se obtuvo un producto de la consistencia de una grasa, cuyo espectro de RMN ^1H mostró el perfil característico de un triterpeno del tipo del cicloartanol, semejante a la 24-metilcicloartanona (IV) descrita anteriormente. En él se observaron las señales de los protones del anillo del ciclopropano característico de este tipo de compuestos y las señales correspondientes al metileno terminal sobre C-24. Sin embargo, la presencia en el espectro de las señales características de ácidos grasos, así como el desplazamiento químico de la señal típica del protón H-3 base del grupo OH en este tipo de compuestos, la cual se observa a 4.5 ppm, sugiere que se trata de una mezcla de ésteres grasos del 24-metilcicloartanol (V).

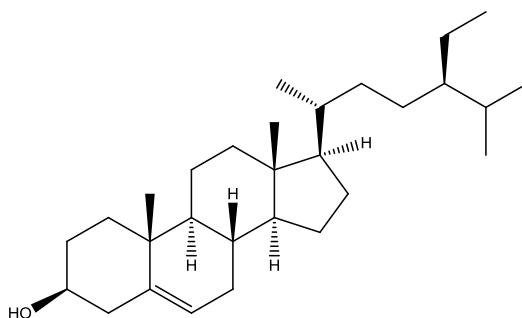
Con el objetivo de identificar los ácidos grasos que se encuentran esterificando al triterpeno, la mezcla (V) se trató con metanol en medio ácido a reflujo, obteniéndose un compuesto que se identificó espectroscópicamente como el ciclobranol (VI), producto de la isomerización del doble enlace disustituido al doble enlace tetrasustituido. Se obtuvo además, la mezcla de ésteres metílicos de los ácidos grasos, los cuales fueron analizados por CG-EM. El resultado de este análisis permitió la identificación de los ácidos palmítico, esteárico, araquídico y behénico en forma de sus ésteres metílicos.

CICLOBRANOL (VI).



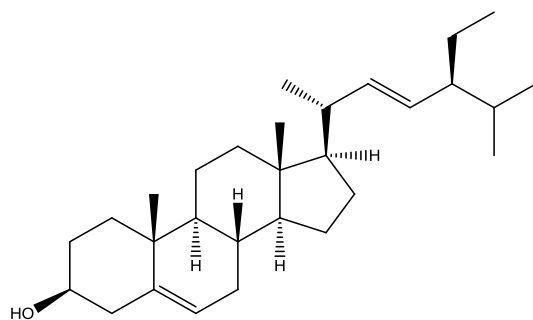
Cicloartano identificado mediante RMN 400 MHz como la fracción ACab. Se obtuvo a partir de la isomerización del 24-metilencicloartanol durante la metanólisis de sus ésteres grasos (V)

β -SITOSTEROL (VII).



El β -Sitosterol (VII) es el fitoesterol más común en plantas, el cual se obtuvo de la fracción B en mezcla con el estigmasterol (VIIa). Se identificó espectroscópicamente por RMN ^1H y comparación con una muestra auténtica.

ESTIGMASTEROL (VIIa).



CONCLUSIONES.

De la planta epífita *Tillandsia recurvata*, recolectada en terrenos de la Ciudad Universitaria de la UNAM se obtuvieron una nueva flavanona (**I**) y dos nuevos di-ésteres del glicerol (**II** y **III**), cuyas estructuras se establecieron de acuerdo con sus datos espectroscópicos, principalmente de RMN ¹H y RMN ¹³C, incluidos experimentos 1D y 2D (DEPT, COSY, HSQC y HMBC) y EM, como:

- 5,7,3'- Trihidroxi- 6,8,4'- trimetoxiflavanona (**I**)
- 1,3- Di-O-cinamoil glicerol (**IIa**)
- 1- Cinamoil-3-feruil glicerol (**III**)

Se obtuvieron además, el 1,2- di-O-cinamoil glicerol (**II**), la 24-metilencicloartanona (**IV**), reportados previamente de la misma especie, una mezcla de ésteres grasos del 24-metilencicloartanol (**V**) que se identificaron como hexadecanoato, octadecanoato, eicosanoato y docosanoato de 24-metilencicloartanilo, mediante el análisis por CG-EM de los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos por metanolisis de la mezcla, así como el ciclobranol (**VI**) y la mezcla de fitoesteres conformada por β -sitosterol y estigmasterol (**VII, VIIa**).

Así mismo, se obtuvieron por medio de síntesis los siguientes compuestos: 1,2- Di-O-cinamoil glicerol (**II**) y 1,3- Di-O- Cinamoil glicerol (**IIa**).

BIBLIOGRAFÍA.

1. Lowe, Henry. Anti-tumor and anti-inflammatory extracts of plant biomass of Jamaican Ball Moss (*Tillandsia recurvata*) and their uses. U.S. Pat.Appl.Publ. (2008), pp.22.
2. Sánchez de Van der Oordt Zoila. *Estudio bibliográfico de Tillandsias*. Lima, Perú (2005).
3. Espejo, A., Till, W. Dos nuevas especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en México. *Acta Botanica Mexicana* (2008), **85**, pp.45-62
4. Braga R. Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. Fortaleza: Ed. Imprensa Nacional, (1976), pp.439
5. Queiroga, M.A. de. Andrade, L.M. de. Chemical constituents of *Tillandsia recurvata*. *Fitoterapia* (2004), **75**, pp. 423-425.
6. Cabrera G., Gallo M. *J. Nat. Prod.* (1996), **59**, pp.343-347
7. Atallah A., Nicholas J. *Pytochemistry*, (1971), **10**, pp. 3139-3145
8. Lewis, S., Mabry, T. *Pytochemistry*, (1977), **16**, pp.1114-1115
9. Whiterup, K., McLaughlin, J. *J. Nat. Prod.*, (1995), **58**, pp. 1285-1290
10. Delaporte, R. *Journal of Ethnopharmacology*, (2004), **95**, pp. 229-233
11. Delaporte, R. *Biochemical Systematics and Ecology*, (2006), **34**, pp. 599-602
12. Cantillo-Ciau, Z., Quijano, L. Z. *Naturforsch*, (2003), **58c**, pp.649-654
13. Cantillo-Ciau, Z., Quijano, L. *J. Nat. Prod.* (2001), **64**, pp.953-955
14. Arslanian, R. *J. Nat. Prod.* (1986), **49**, pp. 1177-1178.
15. Cseke, L. Kirakosyan, A. (2006) *Natural products from plants*. United States of America: CRC Press. pp. 17.
16. Song, Qiu-Yan; Qi, Wei-Yan; Li, Zheng-Ming; Zhao, Jie; Chen, Jian-Jun; Gao, Kun. Antifungal activities of triterpenoids from the roots of *Astilbe myriantha* Diels. *Food chemistry* (2011), **128** (2), pp.495-499.
17. Liao, Yifan, Jiang, Zheqiu; Liu, Jun; Li, Jing; Bing, Feihong. Triterpenoid saponins useful in the treatment of cancer and dementia and their preparation. Repub. Korean KongKae Taeho Kongbo (2011), pp.15.
18. Zhang, Yuan; Zhang, Xinwen; Chen, Guangying. Advances in studies of antitumor activities of pentacyclic triterpenoids. (2011), **24** (1), pp.92-95.

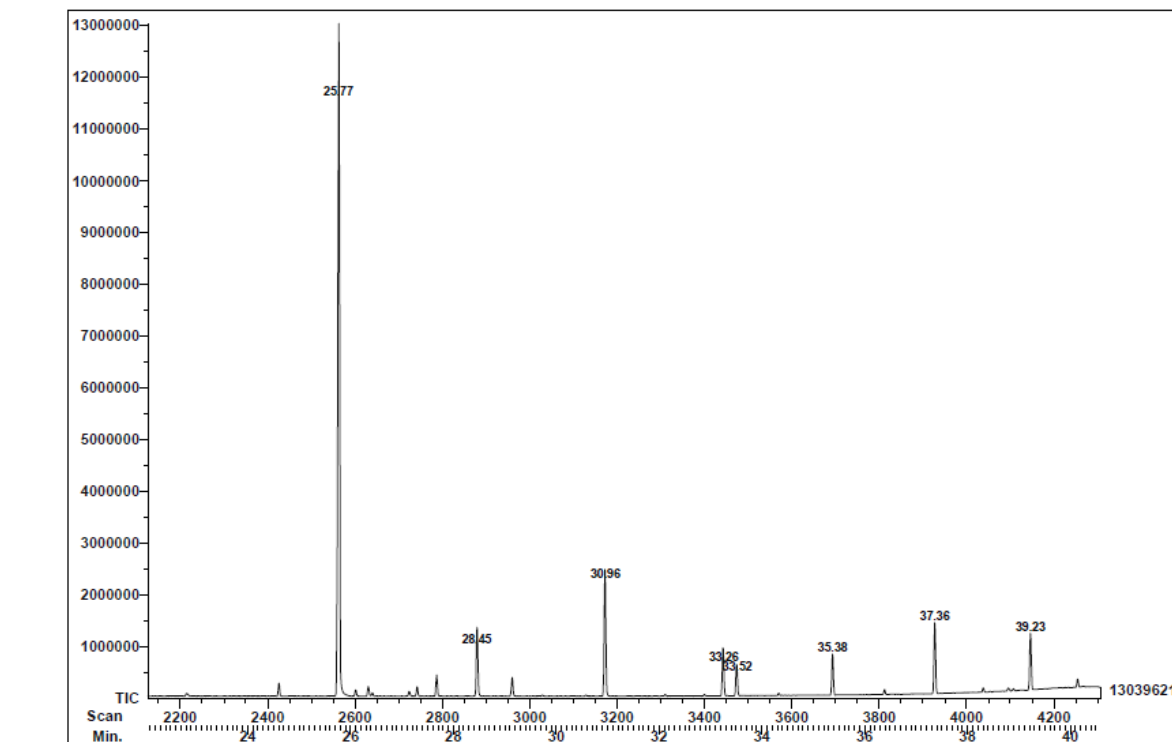
19. A. C. Allison, R. Cacabelos, V. R. M. Lombardi, X. A. Alvarez and C. Vigo, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, (2001), **25**, pp.1341.
20. Allouche Y. Warleta F. *J.Agric. Food Chem.* (2011), **59**, pp.121-130.
21. Milon A., Nakatani Y. *Helvética Chimica Acta.*(1989), **72**.pp.1-13.
22. Piironen V. Lindsay D. *Journal of the science of food and agriculture* (2000), **80**, pp.939-966.
23. Cseke, L. Kirakosyan, A. (2006) *Natural products from plants*. United States of America: CRC Press. P. 22.
24. Bentz, Alexandra B. A Review of Quercetin: Chemistry, Antioxidant Properties, and Bioavailability. *The Journal of Young Investigators.*(2009), **19**.
25. Cseke, L. Kirakosyan, A. (2006) *Natural products from plants*. United States of America: CRC Press, pp.23.
26. Cseke, L. Kirakosyan, A. (2006) *Natural products from plants*. United States of America: CRC Press. P. 8.
27. Bankova, V., Popov, S. *Phytochemistry*, (1989) **28**, No. 3, pp. 871-873.
28. Holser, R. Kinetics of cinnamoyl glycerol formation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* (2008), **85**, pp.221-225.
29. Kaur, A., Sinhg, R. Antileishmanial phenylpropanoids from *Alpina galanga*. *Indian Journal of experimental biology* (2010), **48**, pp.314-317.
30. Bankova, V. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* (2009), **1** (2), pp.23 – 28.
31. Asakawa, Y. Tsunematsu, T., *Phytochemistry* (1977), **16**, pp. 1791-1795.
32. Cseke, L. Kirakosyan, A. *Natural products from plants*. (2006) United States of America: CRC Press. P.9.
33. Anjaneyulu, V. Satyanarayana, P. *Phytochemistry* (1999), **50**, pp. 1229-1236.
34. Ohtsu, H. Tanaka, R., *Phytochemistry* (1998), **49**, No.6, pp 1761-1768.
35. Aplin, R. Hornby, G., *J. Chem. Soc.* (1966), (**B**), pp.1078,
36. Cabrera GM, Seldes AM. *J.Nat. Prod.* (1995), **58**, pp. 1920.
37. Gaffield, W. *Tetrahedron* (1970), **23**, pp. 4093-4108.

ANEXO
ESPECTROS

File: 1234 AC9-13aa
Sample: Dr-Quijano-Leovigildo
Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Date Run: 05-19-2011 (Time Run: 17:32:01)

Ionization mode: EI+

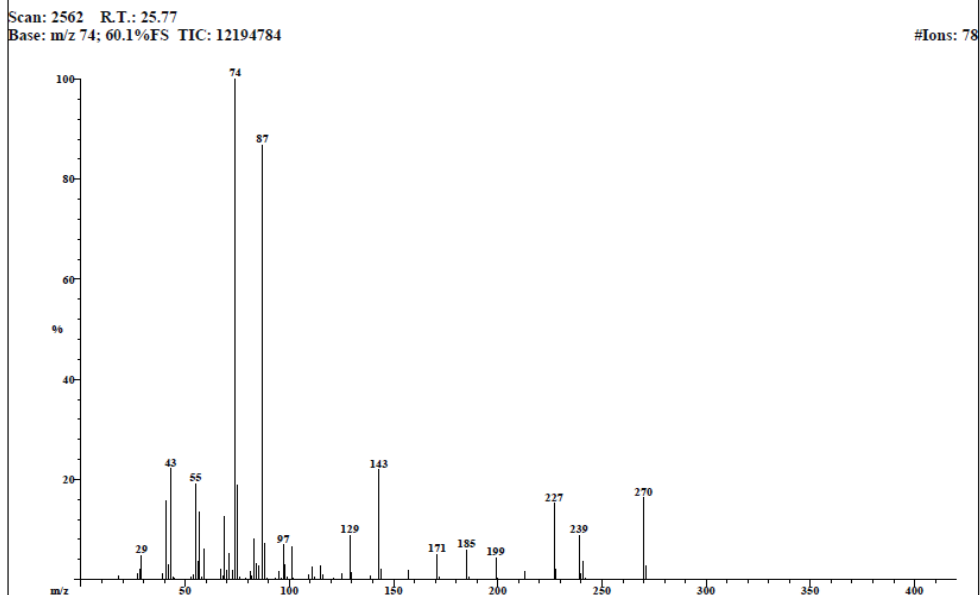


CROMATOGRAMA DE LA FRACCIÓN ACaa.

File: 1234 AC9-13aa
Sample: Dr-Quijano-Leovigildo
Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Date Run: 05-19-2011 (Time Run: 17:32:01)

Ionization mode: EI+

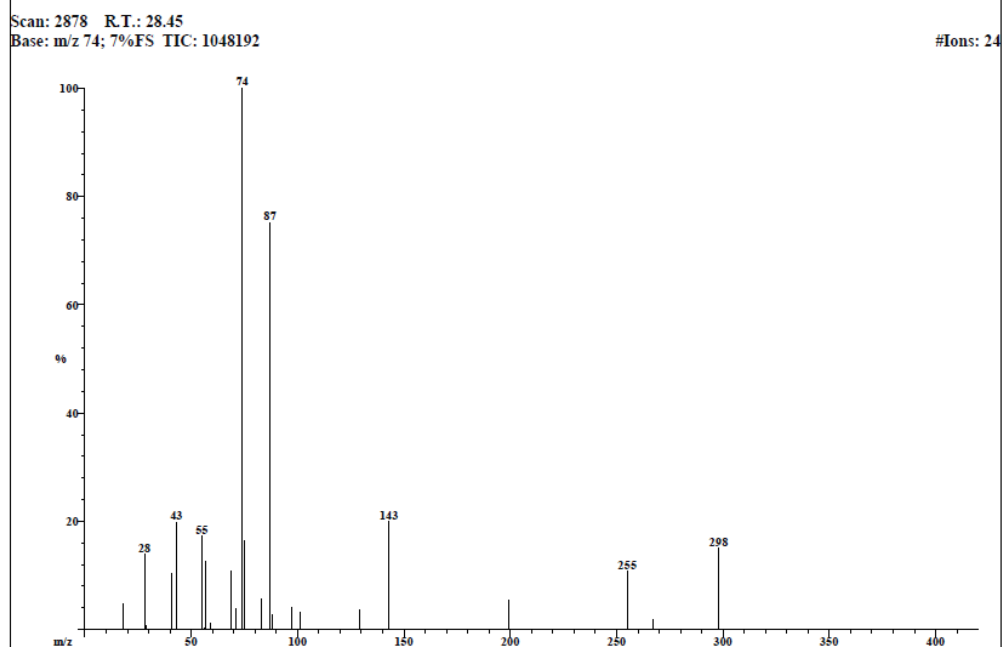


EPECTRO DE MASAS DEL HEXADECANOATO DE METILO.

File: 1234 AC9-13aa
Sample: Dr-Quijano-Leovigildo
Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Date Run: 05-19-2011 (Time Run: 17:32:01)

Ionization mode: EI+

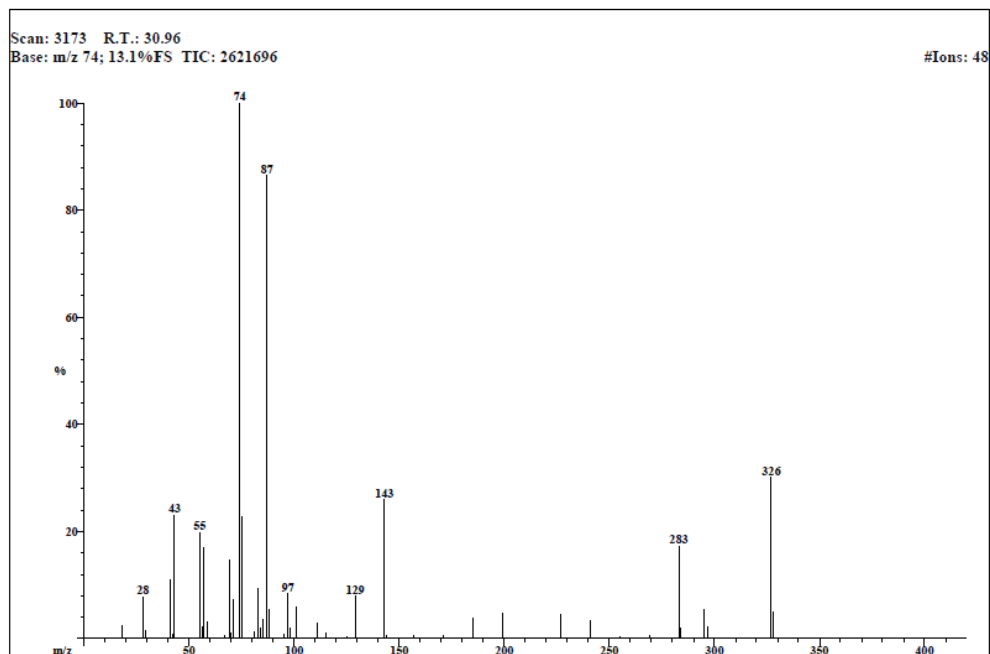


EPECTRO DE MASAS DEL OCTADECANOATO DE METILO.

File: 1234 AC9-13aa
Sample: Dr-Quijano-Leovigildo
Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Date Run: 05-19-2011 (Time Run: 17:32:01)

Ionization mode: EI+

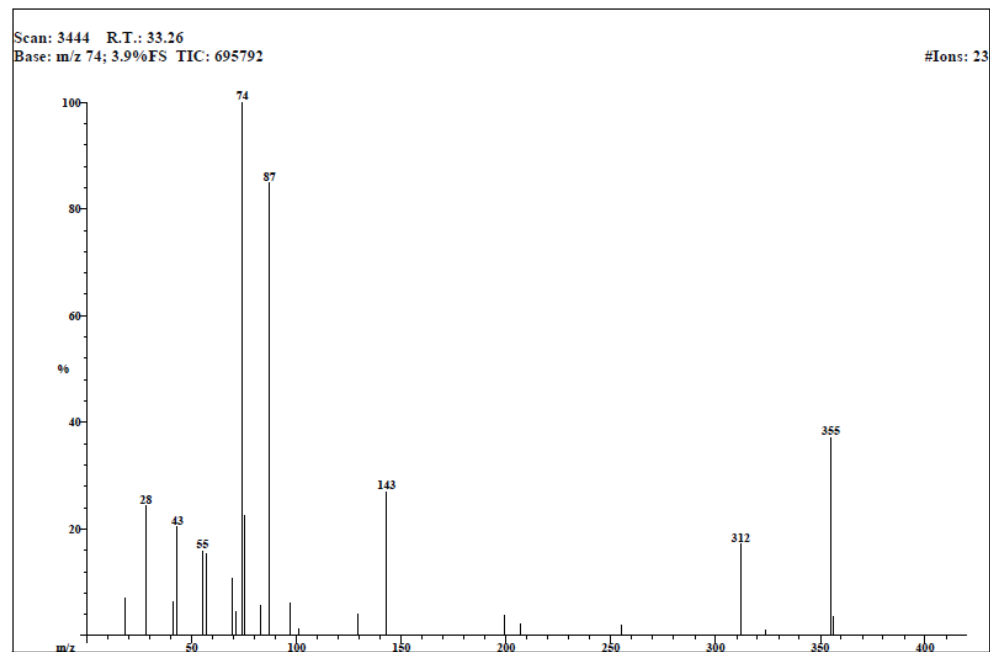


ESPECTRO DE MASAS DEL EICOSANOATO DE METILO.

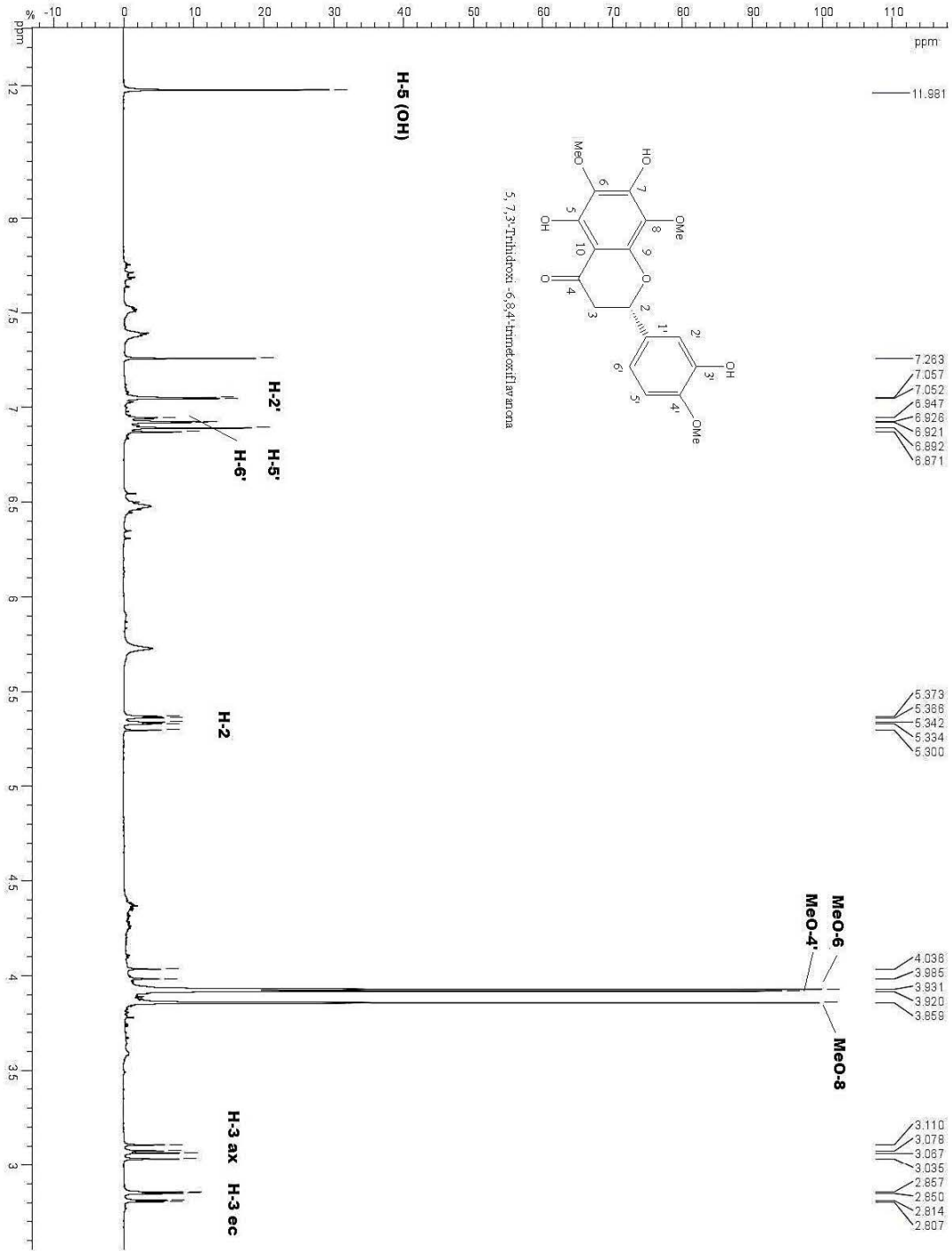
File: 1234 AC9-13aa
Sample: Dr-Quijano-Leovigildo
Instrument: JEOL GCmate
Inlet: GC

Date Run: 05-19-2011 (Time Run: 17:32:01)

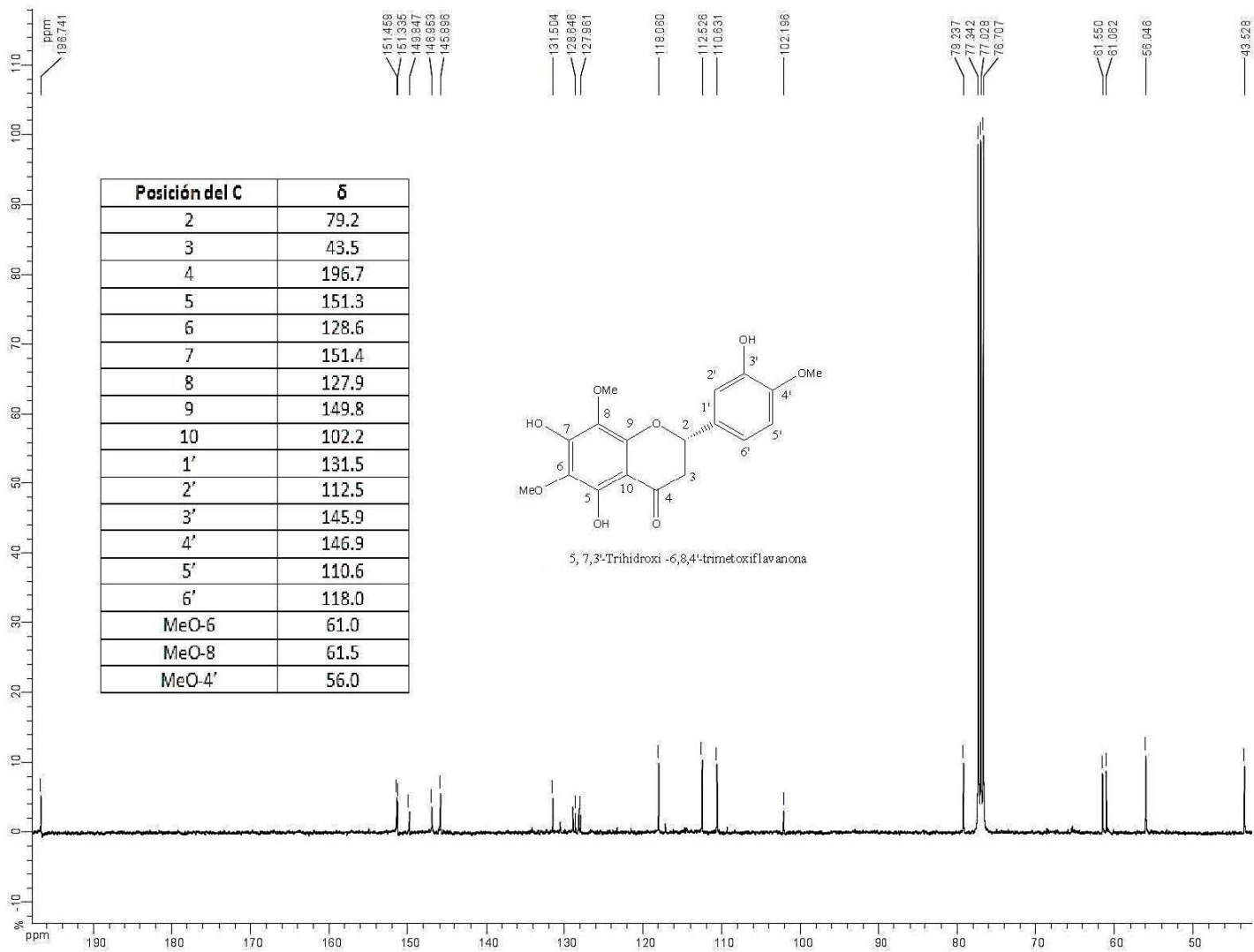
Ionization mode: EI+

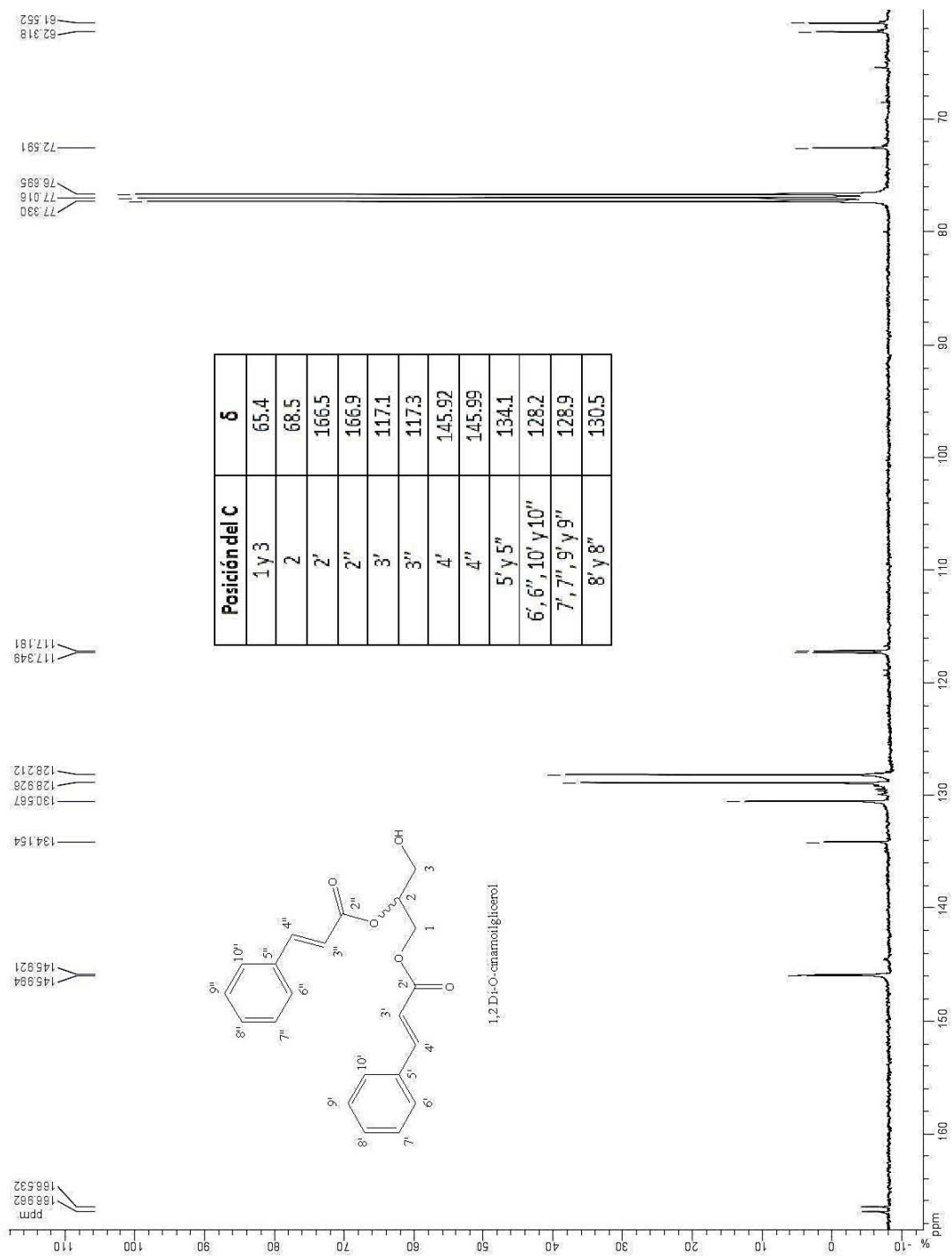


ESPECTRO DE MASAS DEL DOCOSANOATO DE METILO.

ESPECTRO DE ^1H 400 MHZ DE LA 5,7,3'-TRIHIDROXI-6,8,4'-TRIMETOXIFLAVANONA (I).

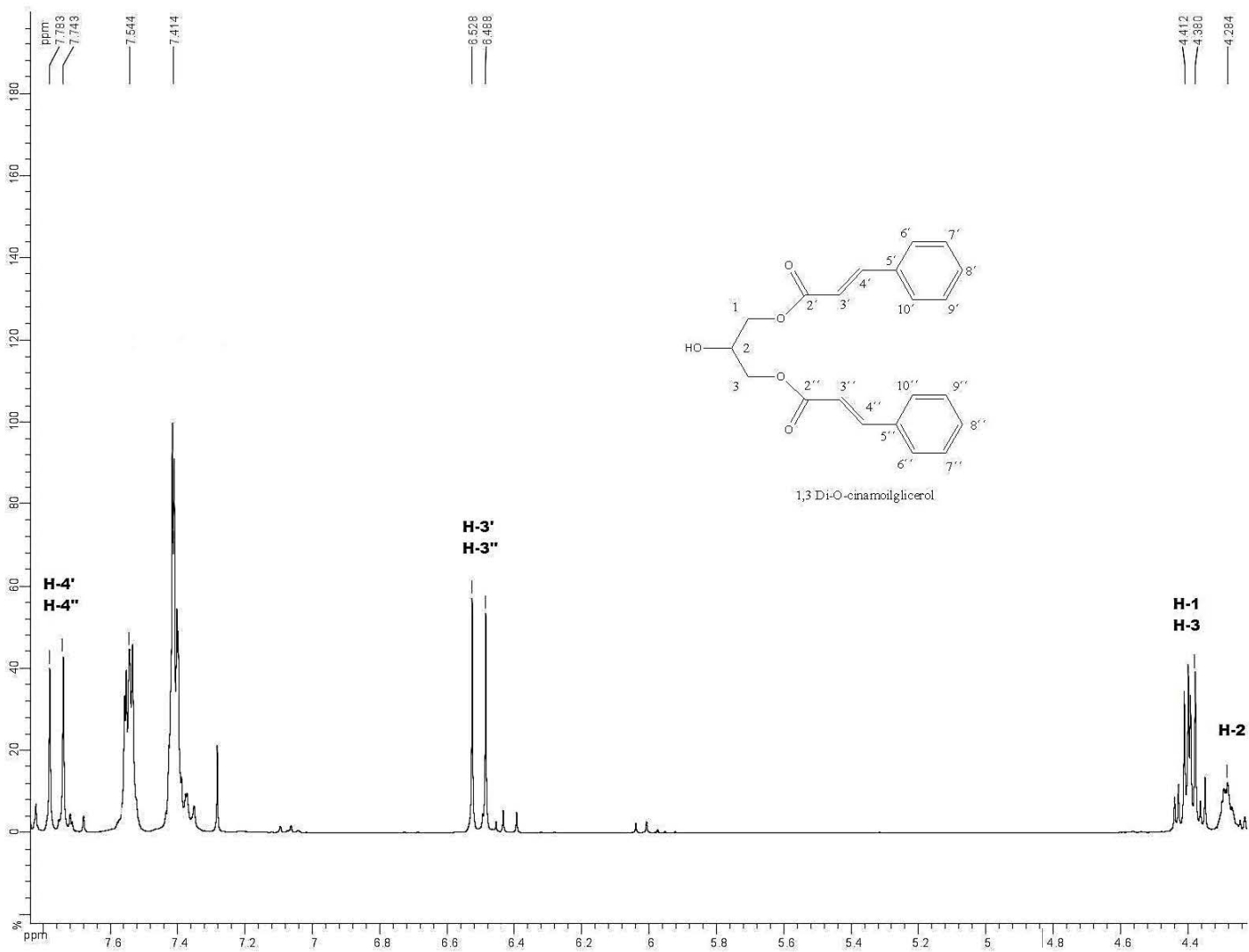
ESPECTRO DE ^{13}C DE LA 5,7,3'-TRIHIDROXI-6,8,4'-TRIMETOXIFLAVANONA (I).



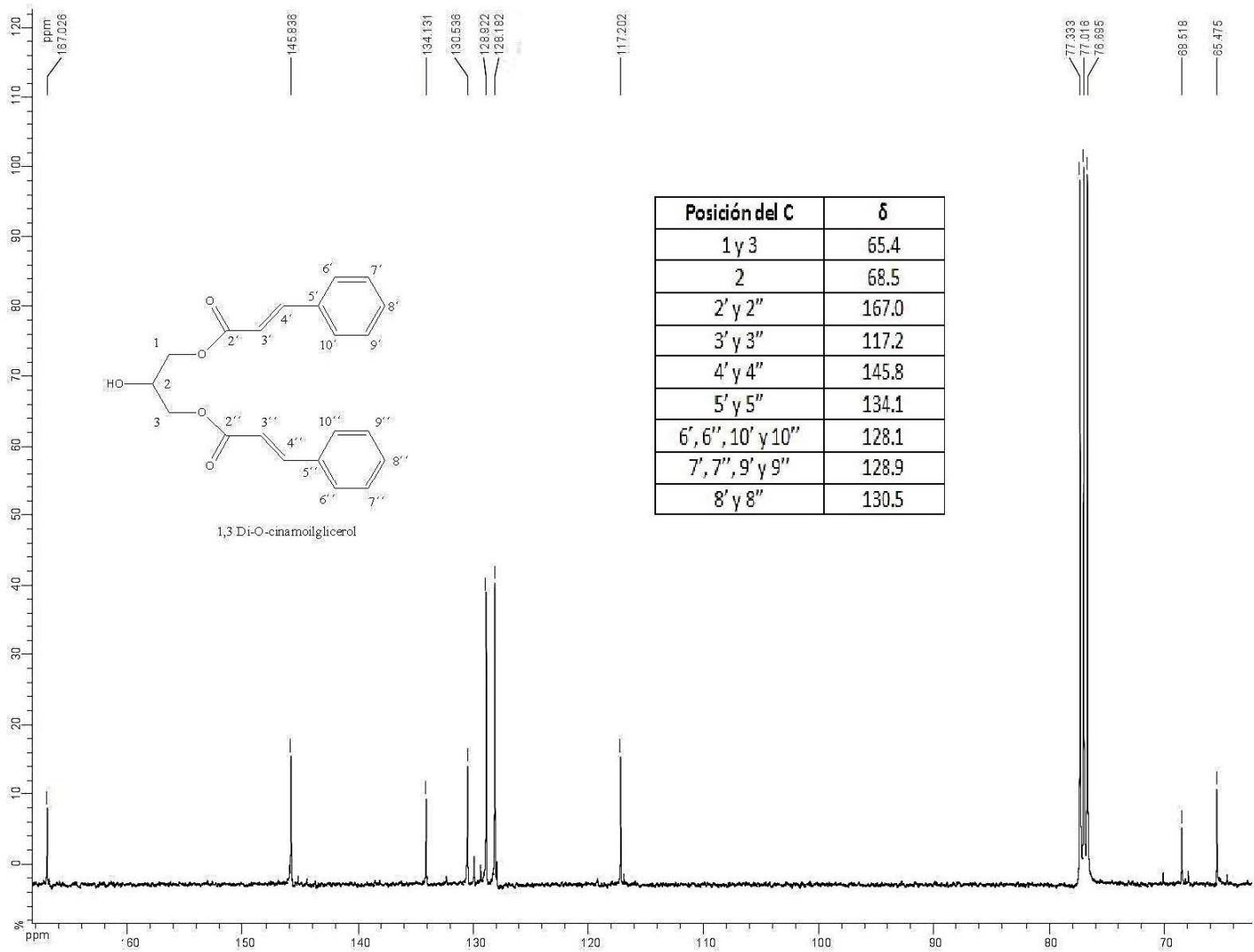


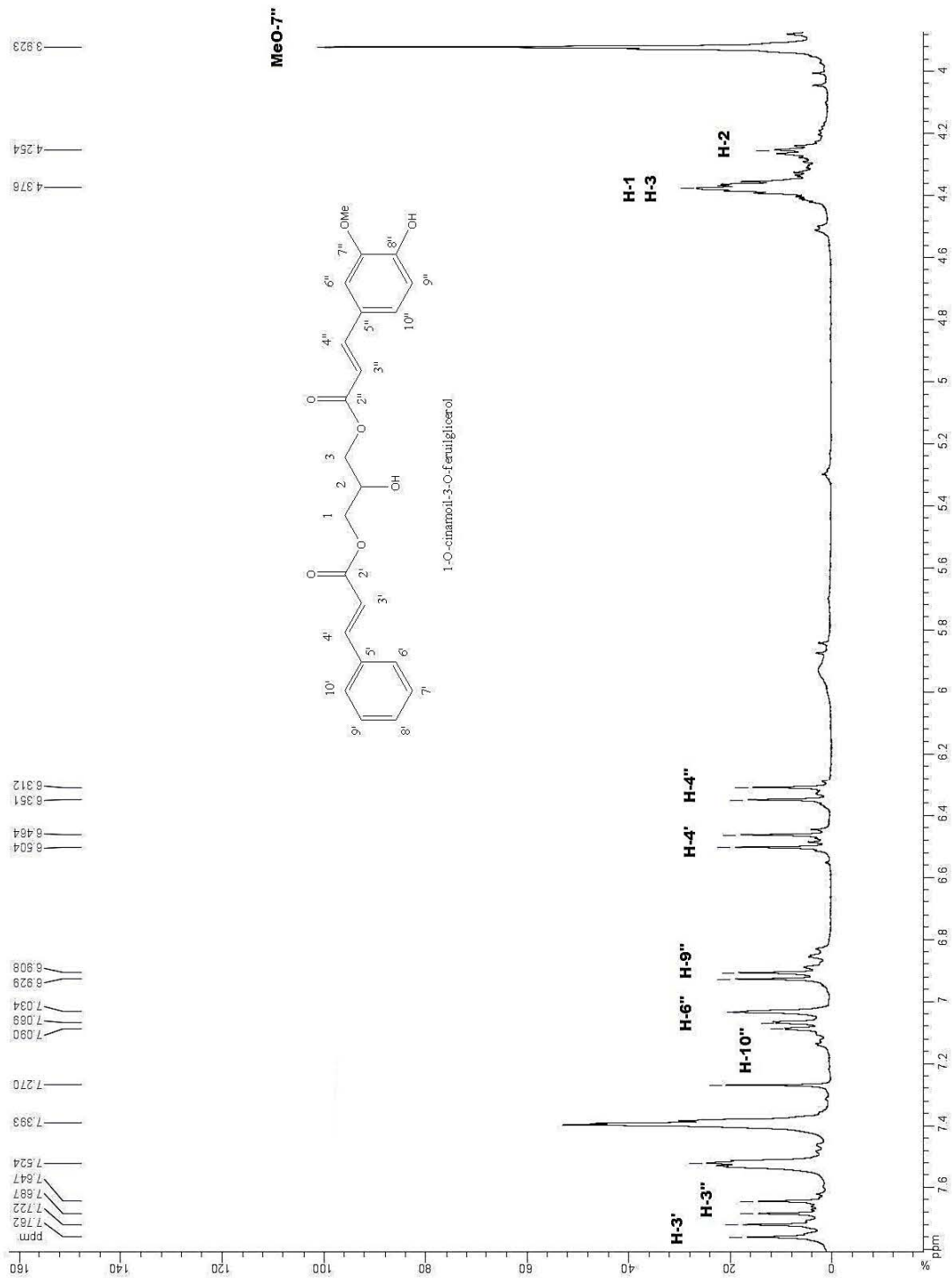
ESPECTRO DE ^{13}C DEL 1,2-DI-O-CINAMOILGLICEROL (II)

ESPECTRO DE ^1H 400 MHz DEL 1,3-DI-O-CINAMOILGLICEROL (IIa)

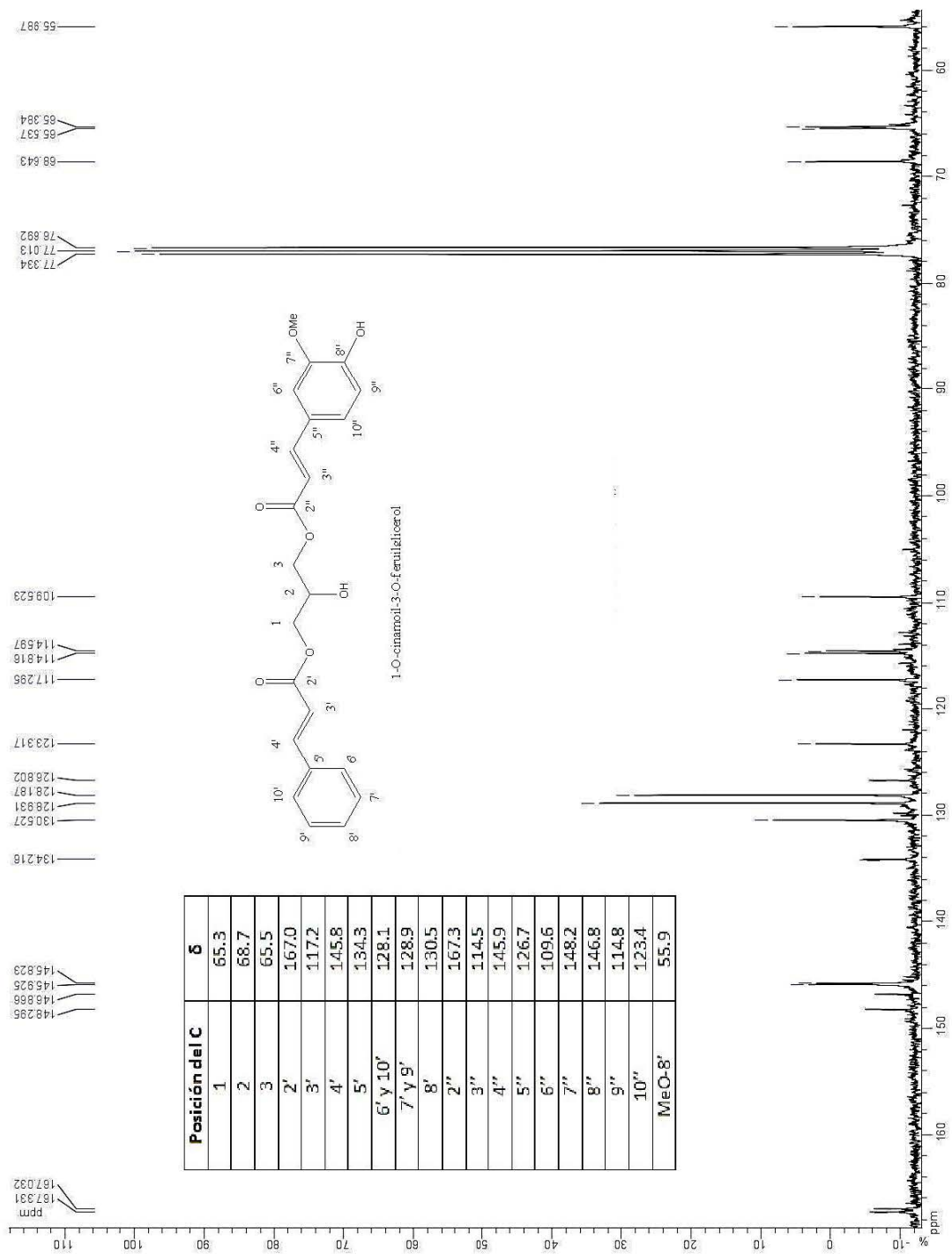


ESPECTRO DE ¹³C DEL 1,3-DI-O-CINAMOILGLICEROL (IIa)



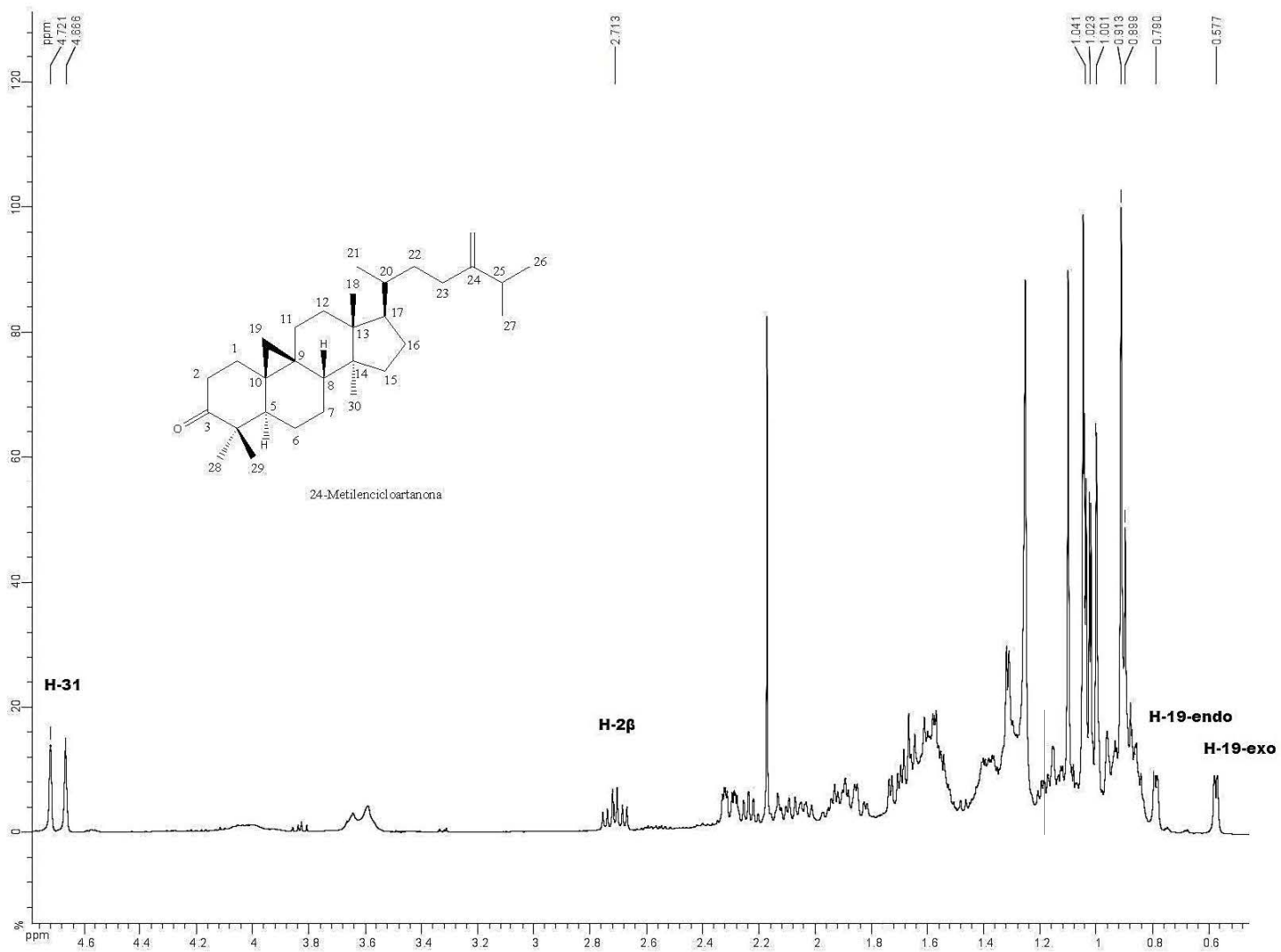


ESPECTRO DE ^1H 400 MHz DEL 1-O-CINAMOIL-3-O-FERUILGLICEROL (III)



ESPECTRO DE ^{13}C DEL 1-O-CINAMOIL-3-O-FERUILGLICEROL (III)

ESPECTRO DE ^1H 400 MHz DE LA 24-METILENCICLOARTANONA (IV)



ESPECTRO DE ^{13}C DE LA 24-METILENICICLOARTANONA (IV)

