



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

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

**ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO (HPLC) Y ESPECTROMÉTRICO (EM) DEL CONTENIDO DE  
RESINAS GLICOSÍDICAS DE LA RAÍZ DE JALAPA BRASILEÑA (*Operculina hamiltonii*)  
Y ALGUNOS DE SUS PREPARADOS FITOFARMACÉUTICOS.**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS**

PRESENTA

**Q. MARÍA EMMA MONTIEL AYALA**

TUTOR: DR. ROGELIO GREGORIO PEREDA MIRANDA

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, ENERO DE 2019.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **JURADO ASIGNADO**

<b>Presidente</b>	Dr. Ricardo Reyes Chilpa
<b>Vocal</b>	Dra. María Isabel Aguilar Laurents
<b>Vocal</b>	Dra. Martha Lydia Macías Rubalcava
<b>Vocal</b>	Dr. Mamadou Moustapha Bah
<b>Secretario</b>	Dr. José Fausto Rivero Cruz

### **Sitio donde se desarrolló el tema:**

Departamento de Farmacia, Laboratorio 123, Conjunto E, Facultad de Química,  
Universidad Nacional Autónoma de México.

Este trabajo se realizó en el laboratorio 123 de la Facultad de Química de la UNAM, bajo la asesoría del Dr. Rogelio Pereda Miranda.

Los resultados derivados de esta investigación se presentaron en:

54<sup>th</sup> Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America. "Same Glycosidation Sequence in the Resin Glycosides from the Mexican and Brazilian Jalaps", 04 al 08 de agosto de 2018, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de formar parte de ésta gran comunidad y poner a mi alcance las herramientas necesarias para continuar con mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Proyecto CB220535) por el financiamiento parcial de la investigación y la beca otorgada (Número de becario: 622245) durante el periodo enero 2017-enero 2019.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (IN215016; IN208019) por el financiamiento parcial de esta investigación.

Al Dr. Rogelio Pereda Miranda por aceptarme como miembro de su equipo de colaboración y por los conocimientos transmitidos.

A la Dra. Mabel Frago Serrano por su invaluable ayuda brindada a lo largo de la realización del presente trabajo de investigación.

Al personal de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria, USAII (Facultad de Química) por los servicios prestado, en forma especial, a la Q.F.B. Margarita Guzmán Villanueva por su apoyo para la obtención de los cromatogramas generados mediante la técnica de HPLC-ESIMS.

A los miembros del jurado quienes, con observaciones objetivas y asertivas, contribuyeron al enriquecimiento de este escrito.

## RESUMEN

Diversos productos herbolarios preparados a partir de la droga cruda o de las resinas glicosídicas de la raíz de jalapa, popularmente conocida en el norte y noreste del territorio brasileño como “batata de purga”, “jalapa” y “batatão”, se utilizan como remedios purgantes. La tintura de *Operculina hamiltonii*, conocida como “tintura de jalapa”, se emplea para tratar la constipación intestinal y el accidente vascular encefálico. Esta tintura tiene un bajo costo, así como diversas presentaciones, y se utiliza ampliamente en forma indiscriminada por personas con estreñimiento. En los mercados municipales y en diversos establecimientos herbolarios se ofrecen para su comercialización desde tubérculos -completos, en rodajas o pulverizados-, hasta formulaciones hidroalcohólicas y píldoras, elaboradas en algunos casos por laboratorios farmacéuticos establecidos.

Estudios en HPLC, utilizando el índice de refracción como detector, de quince muestras comerciales que incluyen: 1) drogas crudas enteras y recolectas en sitios ubicados a lo largo del Río Amazonas; 2) drogas crudas enteras adquiridas en mercados populares; 3) drogas crudas pulverizadas; y 4) productos herbolarios comerciales (harinas, tinturas y píldoras) permitieron la generación de perfiles cromatográficos distintivos para cada uno de sus productos de saponificación y peracetilación. Cinco ácidos glicosídicos constitutivos derivatizados y aislados a partir de la muestra comercial pulverizada de la raíz de jalapa se utilizaron como picos diagnósticos para su identificación cualitativa mediante los tiempos de retención ( $R_t$ , min) y valores de masa ( $m/z$ ) en la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-ESIMS).

Se identificaron diferencias de tipo cualitativo significativas en el contenido de los ácidos glicosídicos entre los diferentes productos comerciales y las drogas crudas analizadas; sin embargo, todas las muestras contienen al ácido operculínico A, constituyente mayoritario de las resinas glicosídicas de *O. hamiltonii*.

## ABSTRACT

Various herbal products prepared from the crude drug or the resin glycoside content of the root of Jalapa, popularly known in the north and northeast of the Brazilian territory as “batata de purga”, “jalapa” y “batatão “, are used as purgative remedies. The tincture of *Operculina hamiltonii*, popularly known as the “tincture of jalapa”, is used to treat intestinal constipation and cerebral vascular accident. This remedy, sold in various presentations, has a low cost and is indiscriminately used by people who suffer from constipation. In municipal markets and in various herbal establishments, these remedies (whole or sliced roots, pulverized crude drugs, hydro-alcoholic formulations, and pills) are offered for commercialization, which in some cases are presentations manufactured by established pharmaceutical industries.

HPLC analysis, using a refractive index detector, of fifteen commercial samples, including: 1) whole crude drugs collected in sites located along the Amazon River; 2) whole or sliced crude drugs purchased in popular markets; 3) powdered crude drugs; and 4) commercial herbal products (flours, tinctures, and pills) led to the generation of distinctive chromatographic profiles for each derivatized formulation, as hydrolyzed and peracetylated mixtures. Five glycosidic acid constituents isolated from the pulverized commercial sample of the Jalap root were used as diagnostic peaks for qualitative identification through retention times ( $R_t$ , min) and mass values ( $m/z$ ) in liquid chromatography coupled to mass spectrometry (HPLC-ESIMS).

Significant qualitative differences in the glycosidic acid constituents, between the analyzed commercial products and crude drugs, were identified. However, all samples contain operculinic acid A as the major glycosidic acid constituent of the resin glycosides of *O. hamiltonii*.

## ÍNDICE

RESUMEN .....	5
ÍNDICE .....	7
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE CUADROS.....	14
INTRODUCCIÓN .....	15
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	19
Batata de purga: Taxonomía, sinonimia y nombres populares.....	19
Descripción botánica de <i>O. macrocarpa</i> y <i>O. hamiltonii</i> .....	20
Hábitat.....	23
Colecta de la jalapa (“batata de purga”). .....	27
Productos fitoterápicos comerciales .....	30
OBJETIVOS .....	36
Objetivo general.....	36
Objetivos particulares. ....	36
CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	37
Adquisición de las muestras analizadas.....	37
Derivatización de las muestras.....	40
Perfiles cromatográficos en HPLC. ....	41
Análisis por HPLC-ESIMS. ....	42
Análisis espectrométrico.....	43
CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	44

Extractos orgánicos y derivatización. ....	<b>44</b>
Cromatografía en capa fina (CCF).....	<b>45</b>
Perfiles cromatográficos. ....	<b>46</b>
Fraccionamiento de la Muestra 6.....	<b>51</b>
Análisis por HPLC-ESIMS .....	<b>53</b>
CONCLUSIONES.....	<b>63</b>
ANEXO A. Cromatogramas HPLC-IR a nivel analítico, obtenidos a partir de drogas crudas (rodajas y pulverizadas) y drogas auténticas.....	<b>64</b>
ANEXO B. Cromatogramas HPLC-ESIMS obtenidos a partir de las quince muestras analizadas.....	<b>75</b>
REFERENCIAS.....	<b>80</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Crecimiento típico de la familia de las Convolvuláceas. **15**
- Figura 2.** Morfología general de la familia de las convolvuláceas (A) *Ipomoea purga*, conocida como la auténtica raíz de Jalapa (B). **16**
- Figura 3.** Estructura general de un glicolípido constituyente de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas. **17**
- Figura 4.** Ilustraciones de la raíz de Michoacán en libros de herbolaria europeos. **18**
- Figura 5.** *Operculina macrocarpa* en fotografía. **21**
- Figura 6.** *Operculina hamiltonii* en fotografía. Tubérculo (A), flor (B) y fruto (C). **22**
- Figura 7.** *Operculina macrocarpa* en su hábitat, los matorrales del bosque tropical **23**
- Figura 8.** Ubicación geográfica de *Operculina macrocarpa* (A) y *Operculina hamiltonii* con su variación *mucronata* (B). **24**
- Figura 9.** Mapa de la región norte de Brasil, donde se encuentran los Estados de Pará, Amapá, Roraima y Amazonas, entre otros. **25**
- Figura 10.** Quilombo de Varre-Vento, municipalidad de Oriximiná, Pará, Brasil. **26**
- Figura 11.** Matriarca del quilombo de Varre-Vento (Doña Ana María Santos Souza) haciendo una demostración de la inhalación del humo que se genera por calentamiento de las oleorresinas (brea) obtenidas a partir de diversas especies de burseráceas. **27**
- Figura 12.** Matriarca del quilombo de Varre-Vento mostrando la raíz de jalapa, “batatão” (*Operculina hamiltonii*), colectada en los matorrales del bosque tropical que rodean a su comunidad a orillas del río Trombetas. **28**

- Figura 13.** Las entrevistas con los informantes quilombolas se realizaron en la escuela primaria de la comunidad. En la foto, el Dr. Danilo Ribeiro de Oliveira, miembro científico de la expedición. **29**
- Figura 14.** Locales expendedores de hierbas, raíces, productos medicinales de origen vegetal y “mandingas” (pócimas de plantas) en el Mercado Municipal “Ver-o-Peso” de Belém, Estado de Pará, Brasil. **30**
- Figura 15.** Carteles promocionales de antiguos medicamentos fitoterápicos brasileños que originaron a numerosos productos que se comercializan en la actualidad. **31**
- Figura 16.** Raíz de jalapa brasileña: droga cruda, polvos y fitofármacos. **33**
- Figura 17.** Locales comerciales expendedores de plantas medicinales en el Mercado Municipal “Ver-o-Peso” de Belém, Pará, Brasil. **37**
- Figura 18.** Mercado 2000, Santarém, Pará, Brasil. **38**
- Figura 19.** Mercado Oriximiná, Oriximiná, Pará, Brasil. **38**
- Figura 20.** HPLC-MS con analizador de masa triple cuadrupolo, Modelo Agilent 6410. **43**
- Figura 21.** Análisis mediante cromatografía en capa fina de la fracción saponificada y peracetilada de las resinas glicosídicas obtenidas a partir de algunos de los productos comerciales y de las drogas crudas enteras y pulverizadas. **46**
- Figura 22.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 5 (Droga cruda proporcionada por la Industria Sobral) y tiempos de retención. **47**
- Figura 23.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como jalapa) y tiempos de retención. **48**
- Figura 24.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 11 (droga cruda en rodajas adquiridas en Mercado Mpal. de Oriximiná) y tiempos de retención. **49**

- Figura 25.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 13 (Tintura de jalapa Sobral®, preparación herbolaria comercial) y tiempos de retención. **50**
- Figura 26.** Cromatograma de líquidos a nivel preparativo de la mezcla de ácidos glicosídicos peracetilados, obtenida a partir de la muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como “jalapa”) y tiempos de retención obtenidos. **52**
- Figura 27.** Ácidos glicosídicos constitutivos mayoritarios de las resinas glicosídicas de la jalapa brasileña (*O. Hamiltonii*: Muestra 6, jalapa pulverizada; Mercado Municipal 2000, Santarém, Pará). **53**
- Figura 28.** Cromatograma de líquidos de la Muestra 6 (A) y de la Muestra 11 (B), obtenidos mediante HPLC-MS. **55**
- Figura 29.** Espectro de masas generado a partir de la fracción F1 con un tiempo de retención de 15.80 min. **56**
- Figura 30.** Espectro de masas generado a partir de la fracción F2 con un tiempo de retención de 16.90 min. **57**
- Figura 31.** Espectro de masas generado a partir de la fracción F3 con un tiempo de retención de 17.60 min. **57**
- Figura 32.** Espectro de masas generado a partir de la fracción F4 con un tiempo de retención de 18.10 min. **58**
- Figura 33.** Espectro de masas generado a partir del pico 5, con un tiempo de retención de 19.20 min. **58**
- Figura 34.** Cromatogramas obtenidos a partir de muestras derivatizadas de “tapioca de batatão” (A) y droga cruda Sobral” (B) mediante HPLC-MS. **59**
- Figura 35.** Cromatograma de la muestra de *O. macrocarpa* auténtica (A) y espectro de masas generado del pico con tiempo de retención de 14.20 min (B) mediante HPLC-MS. **60**

- Figura 36.** Cromatogramas de la Muestra 12, Pímulas Maciel® (A), Muestra 13, tintura de jalapa Sobral® (B), Muestra 14, Tintura Tiro Seguro® (C) y de la Muestra 15, Tintura Batatão Hypólito® (D) generados mediante HPLC-MS. **62**
- Figura 37.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 1 peracetilada (tapioca de batatão) y tiempos de retención. **64**
- Figura 38.** Cromatograma de líquidos obtenido de la Muestra 2 peracetilada (Pó batatão) y tiempos de retención. **65**
- Figura 39.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 3 peracetilada (Quilombos, Varre - Vento) y tiempos de retención. **66**
- Figura 40.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 5 (Droga cruda proporcionada por la Industria Sobral) y tiempos de retención. **67**
- Figura 41.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como jalapa) y tiempos de retención. **68**
- Figura 42.** Cromatograma de líquidos obtenido de la Muestra 7 peracetilada (Rurópolis) y tiempos de retención. **69**
- Figura 43.** Cromatograma de líquidos obtenido de la Muestra 8 peracetilada (Fortaleza) y tiempos de retención. **70**
- Figura 44.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 9 peracetilada (JAD Florianópolis) y tiempos de retención. **71**
- Figura 45.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 10 peracetilada y tiempos de retención. **72**
- Figura 46.** Cromatograma de líquidos obtenido de la Muestra 11 peracetilada (Oriximiná) y tiempos de retención. **73**

**Figura 47.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 14 peracetilada y tiempos de retención. **74**

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Información taxonómica de <i>Operculina macrocarpa</i> y <i>Operculina hamiltonii</i> , ambas conocidas como batata de purga.	<b>19</b>
<b>Cuadro 2.</b> Lista de sinonimias más conocidas para las especies <i>O. macrocarpa</i> y <i>O. hamiltonii</i> , ambas conocidas como batata de purga.	<b>20</b>
<b>Cuadro 3.</b> Productos fitoterápicos comerciales utilizados en el presente trabajo.	<b>34</b>
<b>Cuadro 4.</b> Muestras comerciales y drogas crudas analizadas mediante HPLC.	<b>39</b>
<b>Cuadro 5.</b> Condiciones Instrumentales para el análisis mediante HPLC.	<b>41</b>
<b>Cuadro 6.</b> Cantidades obtenidas en los procesos de derivatización a partir de las muestras analizadas.	<b>44</b>
<b>Cuadro 7.</b> HPLC acoplado fuera de línea con ESIMS.	<b>52</b>
<b>Cuadro 8.</b> Relación de valores $m/z$ obtenida en HPLC-ESIMS para cada fracción.	<b>56</b>
<b>Cuadro 9.</b> Determinación cualitativa de los ácidos glicosídicos constitutivos de las resinas glicosídicas de la raíz de jalapa ( <i>Operculina hamiltonii</i> ) en diversos preparados fitofarmacéuticos.	<b>61</b>

## INTRODUCCIÓN

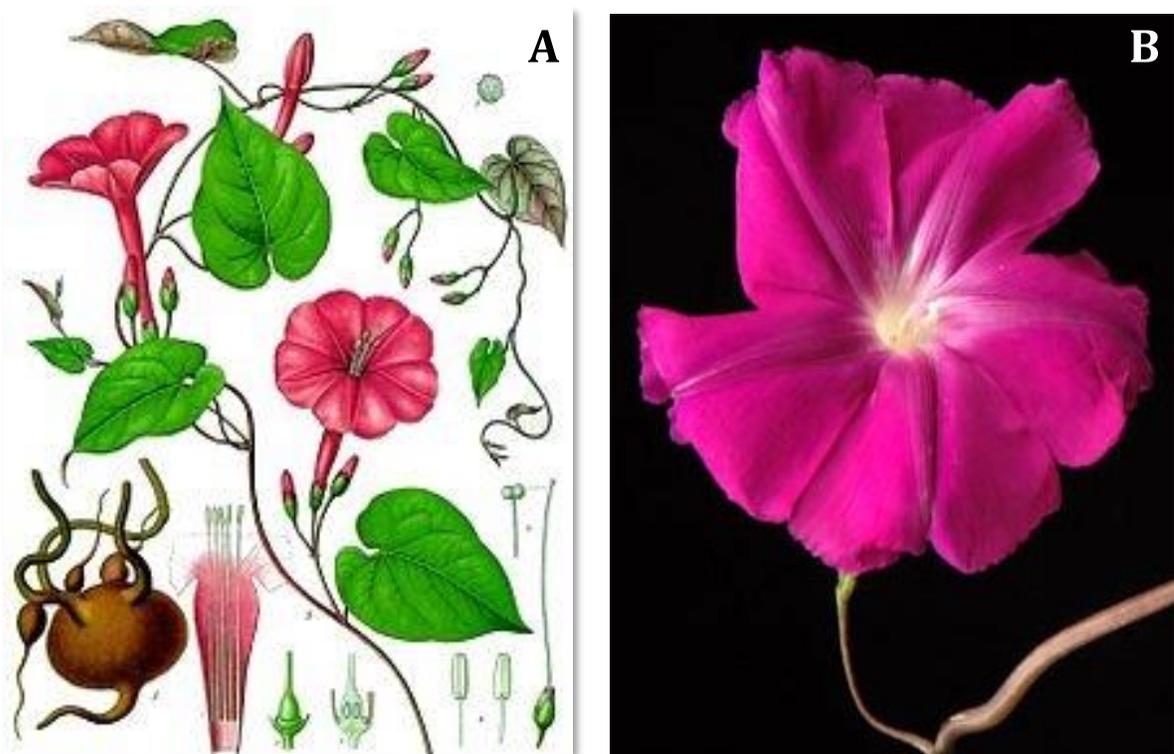
Desde tiempos ancestrales, los seres humanos han usado plantas para tratar diversas enfermedades o malestares. Actualmente, numerosas investigaciones científicas han demostrado la eficacia terapéutica de las plantas en el tratamiento de diferentes enfermedades a lo largo del tiempo, incluidas las infecciosas de los sistemas respiratorio, gastrointestinal, urinario y biliar, entre otros.<sup>1</sup> La medicina tradicional es una fuente importante de compuestos nuevos y potencialmente útiles para el desarrollo de agentes terapéuticos. El primer paso hacia este objetivo es la identificación de las plantas utilizadas en la medicina popular.<sup>2</sup>

Tal es el caso de la familia *Convolvulaceae*, cuyo nombre proviene del latín *convolvere*, que significa entrelazar o envolver (**Figura 1**), término que hace referencia al crecimiento de dichas plantas en forma de enredaderas.<sup>3</sup> La característica principal de esta familia es la presencia de células secretoras de resinas glicosídicas en semillas, raíces tuberosas, así como en tejido foliar y floral.



**Figura 1. Crecimiento típico de la familia de las Convolvuláceas.**

El conocimiento etnofarmacológico de dichas plantas influenció de manera importante la investigación fitoquímica y el descubrimiento de sus principios bioactivos. Algunos remedios purgantes mesoamericanos, conocidos por los aztecas como “*cacamotli tlanoquiloni*”, consistían en diversos tubérculos, diferenciables por sus características morfológicas (Figura 2-A), el hábitat en donde se distribuyen y la potencia de sus efectos purgantes. Investigaciones recientes han identificado que, dichas raíces, pertenecen a diversas plantas del género *Ipomoea*, conocidas como *I. purga*<sup>a</sup> (Figura 2-B), *I. orizabensis*, *I. stans* e *I. jalapa*, entre otras.<sup>4</sup>

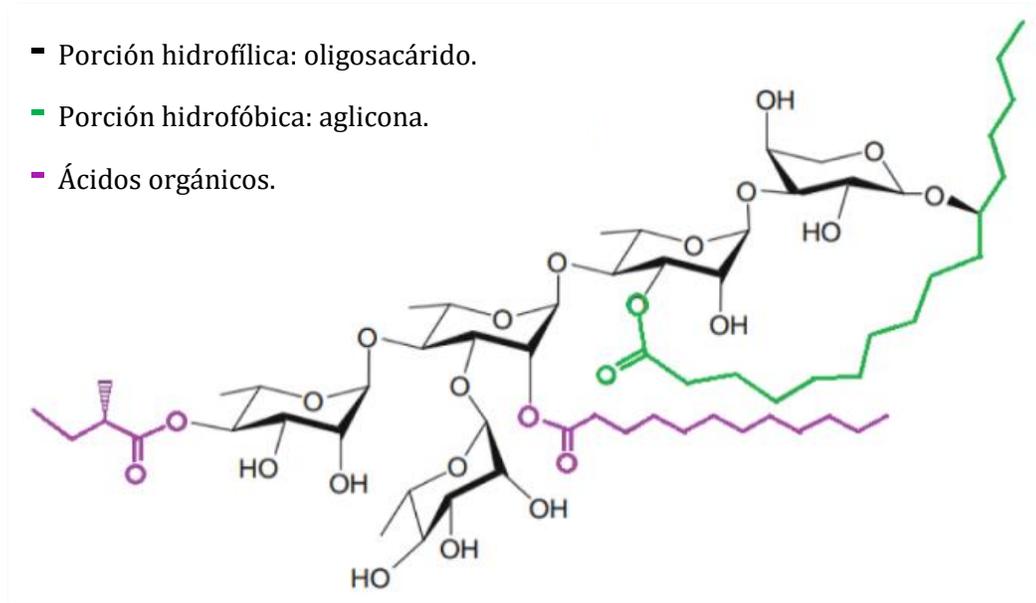


**Figura 2. Morfología general de la familia de las convolvuláceas (A). *Ipomoea purga*, conocida como la auténtica raíz de Jalapa (B).**

---

<sup>a</sup> La *I. purga* es conocida también como raíz de jalapa (Figura 2-B), nombre popular derivado del lugar donde se colectó la planta (Veracruz, México) para ser exportada a Europa, debido a sus efectos laxantes; las resinas glicosídicas obtenidas de dicho material vegetal se conocen como resinas de la jalapa.

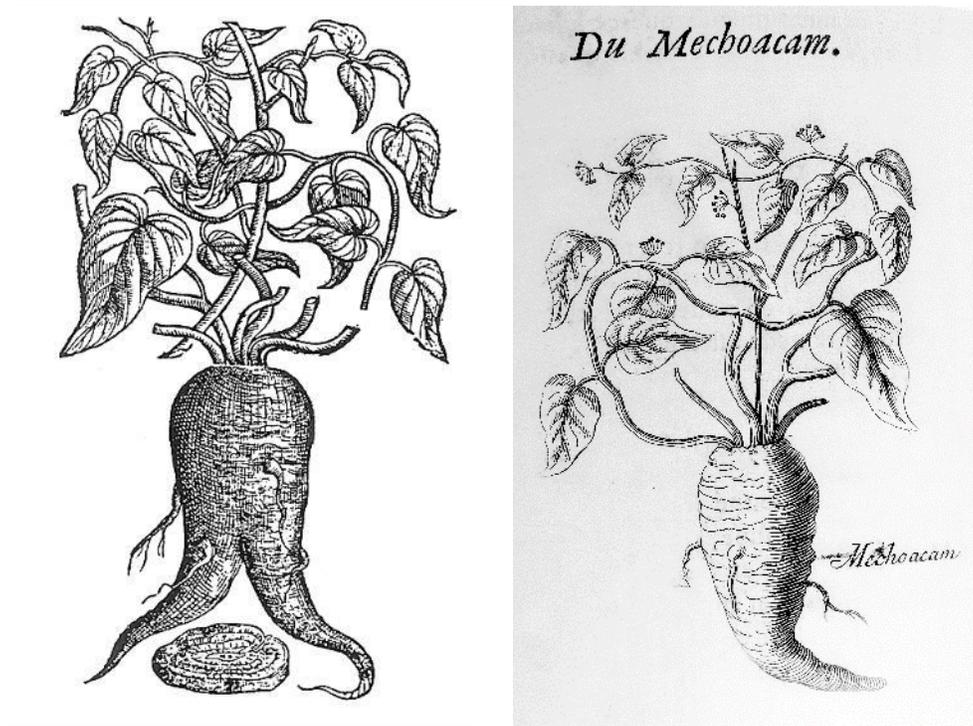
Las resinas glicosídicas se clasifican en dos grupos de acuerdo a su solubilidad en éter: la jalapina (soluble) y la convolvulina (insoluble). Estas resinas son una mezcla de ácidos glicosídicos, que son metabolitos secundarios de origen biosintético mixto y alto peso molecular, de complejidad estructural elevada y con un carácter anfipático (**Figura 3**): una porción hidrofóbica (aglicona) y otra hidrofílica (oligosacáridos).<sup>4</sup>



**Figura 3. Estructura general de un glicolípido constituyente de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas.**

A la fecha, cientos de ácidos glicosídicos han sido aislados a partir de diferentes géneros de la familia *Convolvulaceae*. Estos principios activos son los responsables de la acción farmacológica de todas las especies más representativas de esta familia, utilizadas en la medicina tradicional alrededor del mundo.<sup>5</sup> El efecto catártico de estas drogas se debe al aumento en los movimientos peristálticos provocados en el intestino delgado; algunos de estos compuestos han sido evaluados en diversos bioensayos, encaminados a la identificación de agentes antifúngicos específicos, establecer su potencial citotóxico y antimicrobiano, entre otros.<sup>4</sup>

La especie *Operculina macrocarpa* (L.) Urb., popularmente conocida en Brasil como “batata de purga” y originaria del norte y noreste del territorio brasileño, se usa considerablemente en la medicina tradicional brasileña como purgante.<sup>6</sup> En reconocimiento a los beneficios terapéuticos similares a los de la raíz de jalapa (*I. purga*) o de Michoacán (*I. jalapa*). Los colonizadores de Sudamérica le otorgaron el nombre vulgar de “jalapa de Brasil” o “mechoacam” (**Figura 4**).<sup>7</sup> Sin embargo, la especie *Operculina hamiltonii*, común en el norte del territorio brasileño y cuyas raíces tuberosas son motivo de un extenso comercio para fines medicinales, se conoce también como “batata de purga” o “batatão”, hecho que causa confusión entre ambas especies al ser comercializadas como drogas crudas pulverizadas o formulaciones como las tinturas y extractos hidroalcohólicos.



**Figura 4. Ilustraciones de la raíz de Michoacán en libros de herbolaria europeos. Izquierda:** La raíz de Michoacán (*Ipomoea jalapa*) que debido a la suavidad de sus efectos llegó a ser popular en la medicina herbolaria como un sustituto del nuevo mundo de la escamonea, purgante drástico (*Gerald's Herbal*. London. J. Norton, 1597). **Derecha:** La raíz de Michoacán (“Mechoacam”) se describe entre las plantas medicinales brasileñas por el naturalista francés Pierre Pomet en su obra *Histoire Générale des Drogues, Traitant de Plantes, des Animaux des Mineraux* (1694). En la *Coleção Descritiva das Plantas da Capitania do Ceará* publicado por J. S. Feijó en 1799, el uso de raíz de jalapa es indicado por el nombre vernáculo de “mechoacam”; así, esta referencia es uno de la más antiguas sobre la utilización tradicional de la “batata de purga” en el noreste brasileño.

## CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

Debido a la importancia y alta demanda de la llamada jalapa mexicana o auténtica jalapa, se han utilizado numerosos tubérculos obtenidos de otras especies; tal es el caso de las especies *I. purga*, *I. orizabensis*, *Convolvulus scammonia*, *O. macrocarpa* y *O. hamiltonii*, consideradas como las drogas vegetales crudas más representativas de los últimos dos siglos que contienen resinas glicosídicas.<sup>8</sup> Dos de estas especies, *O. macrocarpa* y *O. hamiltonii*, se utilizan en el territorio brasileño en el ámbito fitoterápico. En la actualidad, la identificación precisa de la raíz purgante conocida como “jalapa de Brasil”, corresponde a la primera; sin embargo, el nombre popular de “batata de purga” se usa para designar a ambas. A continuación, se describirá la información concerniente a la distribución geográfica, taxonomía y descripción botánica de ambas especies.

### **Batata de purga: Taxonomía, sinonimia y nombres populares.**

Debido a que ambas especies pertenecen al mismo género, su información taxonómica se presenta en el Cuadro 1, de manera condensada.

**Cuadro 1. Información taxonómica de *Operculina macrocarpa* y *Operculina hamiltonii*, ambas conocidas como batata de purga.<sup>9</sup>**

	<i>O. macrocarpa</i>	<i>O. hamiltonii</i>
<b>Reino</b>	Plantae	
<b>Phylum</b>	Magnoliophyta	
<b>Clase</b>	Magnoliopsida	
<b>Orden</b>	Solanales	
<b>Familia</b>	Convolvulaceae	
<b>Género</b>	<i>Operculina</i> Silva Manso	
<b>Epíteto específico</b>	<i>macrocarpa</i>	<i>hamiltonii</i>
<b>Especie (Nombre científico)</b>	<i>Operculina macrocarpa</i> (L.) Urban.	<i>Operculina hamiltonii</i> (G. Don) D. F. Austin & Staples

Dichas especies son conocidas a lo largo del territorio brasileño bajo diversas denominaciones populares, compartiendo algunas, como son: “batata de purga” y “jalapa”. Existen también nombres particulares que hacen referencia al color de sus flores: “batatão amarelo” en el caso de *O. hamiltonii* y “batatão branco” para *O. macrocarpa*; esta última es conocida también como “jalapa de São Paulo” y “purga de Amaro Leite”.<sup>b</sup> Sin embargo, en el ámbito científico existen diversas clasificaciones taxonómicas que hacen referencia a ellas, por lo que se presenta en el Cuadro 2, una lista con las sinonimias más utilizadas para ambas especies.

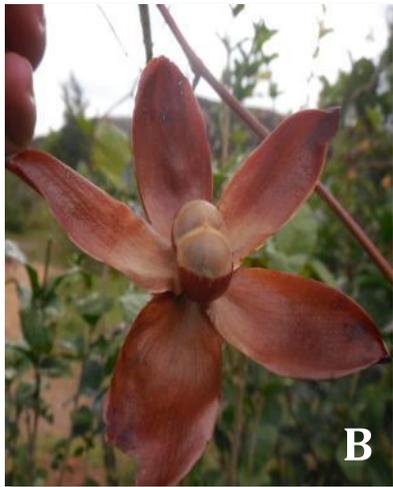
**Cuadro 2. Lista de sinonimias para las especies *O. macrocarpa* y *O. hamiltonii*, ambas conocidas como batata de purga.<sup>10</sup>**

<i>Operculina macrocarpa</i> (L.) Urban	<i>Operculina hamiltonii</i> (G. Don) D. F. Austin & Staples
<i>Operculina altissima</i> (Martius ex Choisy) Meisn.	<i>Operculina alata</i> (Ham.) Urb.
<i>Operculina pteroides</i> (Choisy) Meisn.	<i>Merremia tuberosa</i> (L.) Rendle
<i>Convolvulus macrocarpus</i> L.	<i>Ipomoea tuberosa</i> L.
<i>Operculina convolvulus</i> (Silva Manso).	<i>Operculina tuberosa</i> Meisn.
<i>Ipomoea operculata</i> Mart. & Spix.	<i>Ipomoea hamiltonii</i> G. Don

### **Descripción botánica de *O. macrocarpa* y *O. hamiltonii*.**

La *O. macrocarpa* es una trepadora de aspecto ornamental, de tronco cuadrangular rojizo y sin vellosidades. Las hojas son pecioladas, alargadas y grandes; las flores de color blanco, infundibuliformes, solitarias y cáliz persistente; en tanto que sus raíces son tuberosas (tubérculos) y resiníferas (**Figura 5**). Es una especie bianual y, a pesar de sus características silvestres, se propaga con facilidad mediante semillas o con el mismo tubérculo.<sup>11</sup> En cambio, la especie *O. hamiltonii*, es una trepadora anual, de flores amarillas, hojas enteras y frutos de forma estrellada, con un aspecto de flor seca y oscura (**Figura 6**). El tubérculo y el tallo son similares a los de la raíz de jalapa blanca.<sup>9,11</sup>

<sup>b</sup> Dominio popular.



**Figura 5. *Operculina macrocarpa* en fotografía. Flor (A), fruto (B), hoja (C) y tubérculo (D). Fuente: Reserva Mãe-da-Lua, Itapajé-CE (28/05/2018).**



**Figura 6. *Operculina hamiltonii* en fotografía. Tubérculo (A), flor (B) y fruto (C).  
Fotografías: Rogelio Pereda Miranda, 2015 (A y C) y Alex Popovkin, 2018 (B).**

## Hábitat

La especie *O. macrocarpa* es una convolvulácea anual nativa de Brasil, con hábitos de trepadera (**Figura 7**), distribuida principalmente en los matorrales de las regiones tropicales y subtropicales del bosque atlántico (“mata atlántica”). Se distribuye en el noreste y sureste de Brasil y fue introducida en África occidental,<sup>7</sup> probablemente por esclavistas, dando las semillas a cambio de algún producto comercial y, en la actualidad, se utiliza con fines ornamentales. En la **Figura 8 A**, se ilustra dicha distribución.



**Figura 7. *Operculina macrocarpa* en su hábitat, los matorrales del bosque tropical (“mata atlántica”). Fotografía: Rogelio Pereda Miranda.**

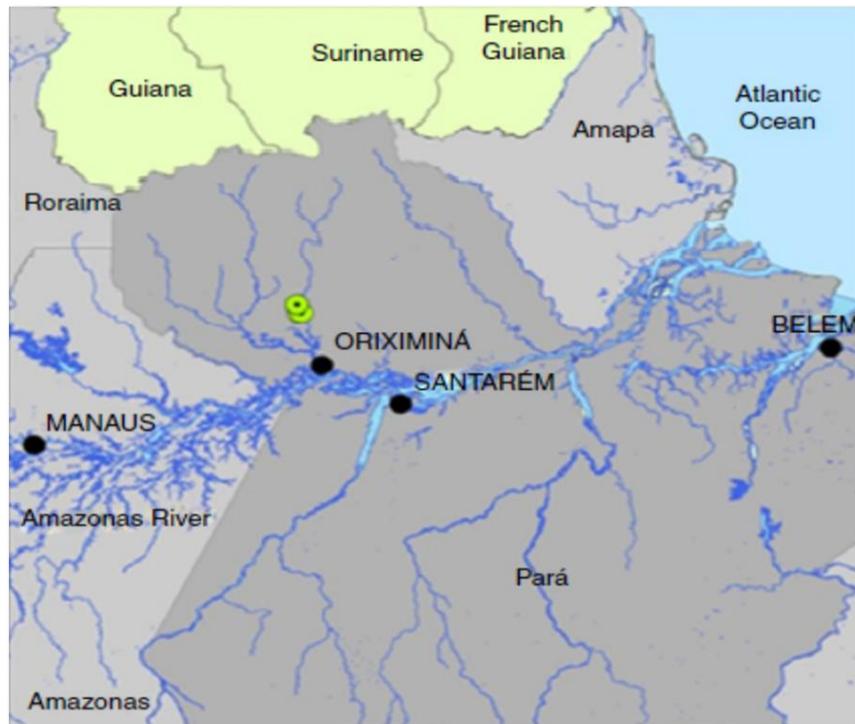
En el caso de la *O. hamiltonii*, ésta se encuentra distribuida a lo largo de Centroamérica, en las Antillas y parte de Sudamérica, principalmente en el norte del territorio brasileño. En la **Figura 8 B**, es posible observar que su distribución es superior respecto a la de la especie *O. macrocarpa*, haciéndola de más fácil acceso a las diversas comunidades de la cuenca del Río Amazonas, en los estados del Amazonas, Pará, Maranhão Piauí y Ceará, entre otros.



**Figura 8. Ubicación geográfica de *Operculina macrocarpa* (A) y *Operculina hamiltonii* con su variación *mucronata* (B). Fuentes: Global Biodiversity Information Facility; *Convolvulaceae* Unlimited; 19-10-2018.**

Entre dichas localidades se encuentran varios quilombos, comunidades rurales en su mayoría situadas en los márgenes de diversos ríos y fundadas por los descendientes de los esclavos que, en el siglo XIX, huyeron de los señores de Óbidos, Santarém, Alenquer y Belém;<sup>12</sup> así, los quilombolas construyeron una vida a partir de la explotación eficaz del bosque, prevaleciendo en esos territorios hasta nuestros días, incluso después de la abolición oficial de la esclavitud.<sup>13</sup>

En la parte norte, a lo largo de los Ríos Trombetas, Erepecuru, Cuminán y Acapu, que son afluentes de la Cuenca del Río Amazonas, se albergan varios quilombos, entre los cuales se encuentran Boa-vista y Varre Vento (**Figura 9**), comunidades que pertenecen a la municipalidad de Oriximiná,<sup>14</sup> donde se realizaron las colectas del material vegetal utilizado para la realización de este trabajo.



**Figura 9. Mapa de la región norte de Brasil, donde se encuentran los Estados de Pará, Amapá, Roraima y Amazonas, entre otros. Los puntos verdes indican los sitios en que se recolectó el material vegetal.**

Oriximiná es un municipio localizado en el estado de Pará; colinda al norte con Surinam, Guyana y la Guyana Francesa, al sur y este con las ciudades de Faro, Juruti y Óbidos, y con los estados de Amazonas y Roraima al oeste. Tiene un área de 107,603 km<sup>2</sup> y es la segunda municipalidad más grande en extensión en Brasil. Esta municipalidad ampara treinta y tres comunidades quilombolas conocidas hasta ahora, mismas que se dividen en ocho territorios (Agua Fría, Boa Vista, Trombetas, Erepecuru, Alto Trombetas, Jamari/Último Quilombo, Moura y Ariramba), que albergan a más de 600,000 habitantes.<sup>15</sup>



**Figura 10. Quilombo de Varre-Vento, municipalidad de Oriziminá, Pará, Brasil.  
Fotografía: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**

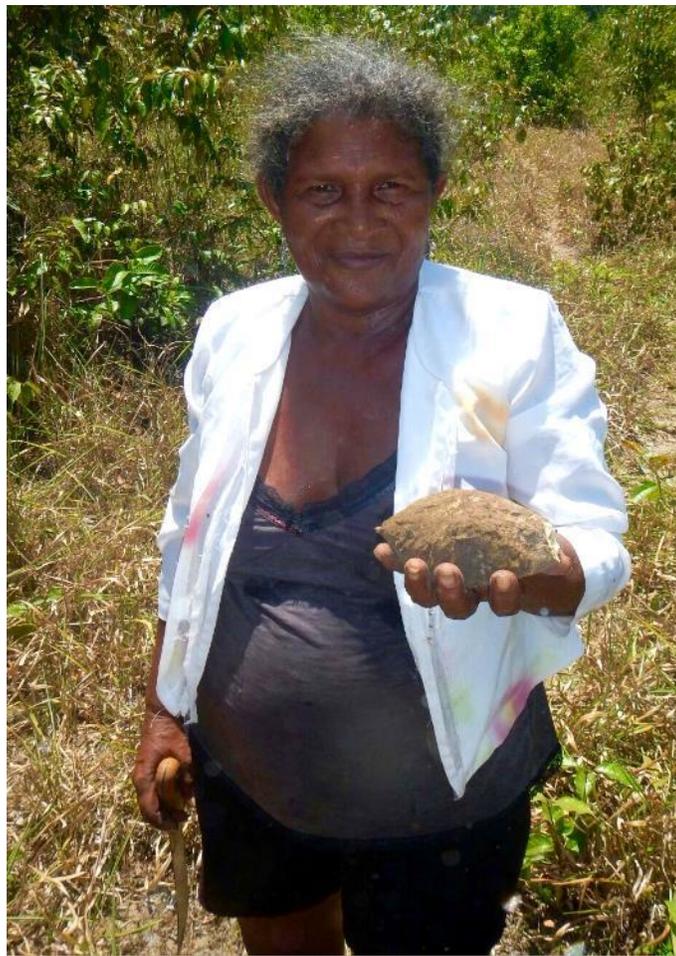
Muchas de estas comunidades quilombolas siguen en pleno contacto con la biodiversidad natural de la región amazónica, lejos del área urbana de Oriximiná (**Figura 10**). Su estrecho contacto con la naturaleza durante siglos, el conocimiento formado por un conjunto de tradiciones indígenas, africanas y europeas (portuguesas) y su aislamiento geográfico, han permitido la acumulación de un vasto conocimiento de las plantas medicinales a los miembros de estas comunidades;<sup>15,16</sup> dichos conocimientos son preservados y llevados a la práctica por las matriarcas quilombolas (**Figura 11**), quienes tienen un importante papel en la difusión y cumplimiento de las costumbres en la comunidad, así como en los aspectos religiosos y de la salud.



**Figura 11. Matriarca del quilombo de Varre-Vento (Doña Ana María Santos Souza) haciendo una demostración de la inhalación del humo que se genera por calentamiento de las oleorresinas (brea) obtenidas a partir de diversas especies de burseráceas. Fotografía: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**

### **Colecta de la jalapa (“batata de purga”).**

El temor de los lugareños al abuso de la explotación forestal a gran escala, propicia cierto grado de hermetismo de las comunidades quilombolas, hecho que se ve reflejado en la implementación de diversas políticas que gestionan aspectos territoriales y ecológicos, que limitan el acceso a diversos productos naturales (entre ellos, la castaña, la brea y la “batata de purga”); por otro lado, dichas comunidades no son de fácil acceso, solamente a través de transporte fluvial, lo que supone cierto aislamiento geográfico.



**Figura 12. Matriarca del quilombo de Varre-Vento mostrando la raíz de jalapa, “batatão” (*Operculina hamiltonii*), colectada en los matorrales del bosque tropical que rodean a su comunidad a orillas del río Trombetas. Fotografía: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**

Para mantener una economía que propicie el aislamiento a la entrada de extraños a sus comunidades, la compra-venta de diversos artículos de consumo y productos naturales se realiza en la Ciudad de Oriximiná, donde sucede el encuentro de diferentes localidades ribereñas y otros grupos étnicos.<sup>13</sup> En el caso particular de esta investigación, se emprendió la búsqueda de informantes que fueran respetados por los miembros de la comunidad (**Figura 12**), tales como coordinadores, agentes de salud, matriarcas y/o personas especialistas en el uso de plantas medicinales e infusiones (parteras, curanderos, etc.), quienes compartieron sus conocimientos y brindaron su ayuda para la recolecta de las muestras vegetales e identificación de las mismas por su nombre popular y sus usos medicinales, a través de entrevistas organizadas por los miembros de la expedición con los informantes quilombolas (**Figura 13**).



**Figura 13. Las entrevistas con los informantes quilombolas se realizaron en la escuela primaria de la comunidad. En la foto, el Dr. Danilo Ribeiro de Oliveira, miembro científico de la expedición. Fotografía: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**

## Productos fitoterápicos comerciales.

Los mercados populares, ya sea al aire libre o en establecimientos comerciales, consisten en varios locales que incluyen uno o más negocios dedicados a la venta de plantas y productos medicinales. A menudo, la gente asiste no sólo a comprar, sino a socializar e intercambiar información respecto al uso ornamental y medicinal de diversos productos vegetales, especialmente de plantas medicinales por el bajo costo de ellas respecto a los medicamentos de patente, aunado a la idea errónea de que los productos herbolarios no causan efectos secundarios. Esto representa una actividad de suma importancia para las diversas comunidades ribereñas, dadas las dificultades que tienen para acceder a los sistemas de salud.<sup>17</sup> Las comunidades del norte y noreste de Brasil no son la excepción, pues las interacciones en la venta de plantas medicinales en los mercados conforman un sistema de salud informal, abierto y dinámico (**Figura 14**), en el que el conocimiento empírico referente al uso de estos productos proviene de varias fuentes y cuya transmisión ocurre en forma oral principalmente, perpetuando esta valiosa información cultural y biológica de la comunidad.<sup>18</sup>



**Figura 14. Locales expendedores de hierbas, raíces, productos medicinales de origen vegetal y “mandingas” (pócimas de plantas), ubicados en el Mercado Municipal “Ver-o-Peso” en Belém, Edo. de Pará, Brasil. Fotografías: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**

Muchos productos fitoterápicos se conocen y utilizan ampliamente en la cultura brasileña y cuentan con una larga historia de uso. Tal es el caso de las Píldoras de Vida del Dr. Ross y las Píldoras de Mattos (Fortaleza), cuya propaganda garantizaba la mitigación del dolor de cabeza y nerviosismo, además de curar diversas afecciones estomacales (**Figura 15-A**). De acuerdo con los fabricantes, las píldoras eran hechas a partir de jalapa, “batata de purga”, como su principal principio fitoterapéutico.<sup>19</sup> Actualmente, ambas empresas han cerrado sus puertas; sin embargo, siguen a la venta algunas versiones de éstas. Otra formulación es Tiro Seguro (1936) que, según el fabricante, tiene acción vermífuga, siendo eficaz en la eliminación de lombrices intestinales y otros parásitos (**Figura 15-B**).<sup>20</sup>



**Figura 15. Carteles promocionales de antiguos medicamentos fitoterápicos brasileños que originaron a numerosos productos que se comercializan en la actualidad.**

En la actualidad, existe una amplia variedad de productos comerciales fitoterapéuticos que afirman contener la jalapa de Brasil en sus formulaciones (**Figura 16**). En los mercados municipales y en diversos establecimientos herbolarios ubicados al norte del territorio brasileño, se ofrecen para su comercialización desde tubérculos -completos, en rodajas o pulverizados-, hasta formulaciones hidroalcohólicas y píldoras, a partir de la droga pulverizada y comprimida o de sus resinas, elaboradas en algunos casos por laboratorios farmacéuticos establecidos.

La tintura de *O. hamiltonii*, popularmente conocida como la “tintura de jalapa”, se emplea en el noreste de Brasil para tratar la constipación intestinal y el accidente vascular encefálico. Esta tintura tiene un bajo costo y diversas presentaciones (Cuadro 3) que se utilizan ampliamente en forma indiscriminada por personas con estreñimiento. Estudios preclínicos examinaron la acción laxante de la tintura de jalapa comercializada por la Industria Farmacéutica Sobral en ratones mediante la prueba de motilidad intestinal, confirmando la actividad farmacológica en el modelo utilizado.<sup>21</sup> En un estudio de toxicidad crónica posterior, se observó que el extracto hidroalcohólico es seguro cuando se administra oralmente (13 días), ya que no afectó los perfiles bioquímicos y hematológicos en ratas Wistar.<sup>22</sup> Un estudio clínico reciente evaluó la toxicidad de la tintura Sobral en pacientes con constipación intestinal funcional. Esta investigación consistió en un ensayo clínico de doble ciego, aleatorio y controlado por un placebo. El estudio se realizó en tres fases: pretratamiento, tratamiento y postratamiento; cada fase con una duración de siete días. Se monitoreó la presión arterial, la frecuencia cardíaca, el peso corporal, las reacciones adversas y las funciones hematológica, metabólica, hepática y renal. Cuarenta pacientes fueron seleccionados en forma aleatoria para recibir la tintura y 43 pacientes para recibir el placebo. Se encontraron diferencias estadísticas en los resultados clínicos entre los grupos, pero a pesar de esto, estas variaciones no se consideraron clínicamente significativas. Las reacciones adversas se consideraron de poca importancia, especialmente, la cefalea, el mareo, el dolor abdominal y la náusea. Este ensayo clínico confirmó la inocuidad de la tintura Sobral en la forma farmacéutica y dosificación recomendada por la industria fabricante (Ver Cuadro 3).<sup>23,24</sup>



**Figura 16. Raíz de jalapa brasileña: droga cruda, polvos y fitofármacos. A) Tubérculos completos; B) Tubérculos secos en rodajas; C) polvos de "batatão" y "jalapa", de venta en un mercado local; D) jarabes y extractos hidroalcohólicos; E) Píldoras. Todos los productos fueron adquiridos en el Mercado Municipal 2000, Santarém, Pará, Brasil en septiembre de 2015 (Fotografías: Rogelio Pereda Miranda).**

En el presente proyecto de investigación, se trabajó con diversos productos comerciales, incluyendo formulaciones que consisten en extractos hidroalcohólicos y píldoras. En cada caso, el fabricante respectivo informa el contenido del producto, así como la dosis recomendada para lograr el efecto deseado. En el Cuadro 3, se presenta la información relacionada con cada uno de los productos, incluyendo las muestras de las drogas crudas (en rodajas o pulverizada), así como una imagen de las presentaciones comerciales adquiridas para su análisis cromatográficos.

**Cuadro 3. Productos fitoterápicos comerciales utilizados en el presente trabajo.**

Producto	Contenido	Dosis	Efecto
<p><b>Droga cruda</b></p> 	<p>“Batata de purga” en rodajas (<i>O. hamiltonii</i>)</p>	<p>5 g disueltos en 1 taza de agua), 2 veces al día.</p> <p>10 g disueltos en 1 taza de agua)</p>	<p>Laxante, hemostático.</p> <p>Purgante drástico</p>
<p><b>Batata de purga pulverizada</b></p> 	<p>“Batata de purga” en polvo Tapioca de batatão</p>	<p>2 g disueltos en una taza de agua</p> <p>2 cucharadas disueltas en una taza de agua</p> <p>1 cucharada disuelta en una taza de agua (antes de acostarse)</p>	<p>Purgante</p> <p>Purgante drástico en caso de hidropesía cardíaca o renal, congestión, inflamación, hemorragia cerebral y pulmonar.</p> <p>Laxante</p>

<p><b>Píldoras Maciel</b></p> 	<p>Jalapa (72.6 mg)  <i>Aloe ferox</i> (36.14 mg)  <i>Rheum palmatum</i> (1.08 mg)  Excipiente c.b.p. (120.0 mg)</p>	<p>1-3 años, 1 píldora  4-12 años, 2 píldoras  Adultos, 3 - 5 píldoras</p>	<p>Laxante  Laxante  Laxante - Purgante</p>
<p><b>Tintura de Jalapa Sobral</b></p> 	<p>Tintura de jalapa  (<i>O. hamiltonii</i>)</p>	<p>Sólo adultos:  15 mL  30-45 mL</p>	<p>Laxante  Purgante</p>
<p><b>Tiro Seguro</b></p> 	<p>“Batata de purga”  “Sumo de mastruz”  (<i>Dysphania ambrosioides</i>)  “Sumo de mastruz indiano”  (<i>Lepidium virginicum</i>)  “Melão de São Caetano”  (<i>Momordica charantia</i>)  “Hortelã miúdo”  (<i>Mentha piperita</i>)  Propóleo y miel</p>	<p>Después de la comida:  Niños, 15 mL  Adultos, 30 mL</p>	<p>Vermífugo</p>
<p><b>Batató Hypólito</b></p> 	<p>Goma de “batata de purga”  Yoduro de potasio  “Laranja-amarga”  (<i>Citrus aurantium</i>)  “Caroba” (<i>Jacaranda procera</i>)</p>	<p>Niños, 15mL (mañana y noche)  Adultos, 30 mL (mañana y noche).</p>	<p>Indicado para depurar la sangre, disentería, diarrea, para efecto purgante, reumatismo y problemas de piel. Auxiliar en problemas ginecológicos.</p>

## OBJETIVOS

### Objetivo general.

Obtener el perfil cromatográfico de diversas preparaciones fitofarmacéuticas preparadas a partir de la “batata de purga” o “raíz de jalapa brasileña”, así como muestras de material auténtico (drogas crudas) recolectadas en la zona norte de Brasil, mediante la utilización de la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-ESIMS) como la técnica analítica para la determinación cualitativa de la identidad fitoquímica del contenido presente en cada una de las muestras analizadas.

### Objetivos particulares.

1. Realizar la derivatización de las quince muestras que se utilizaron en el presente análisis, proceso que consiste en la hidrólisis básica de éstas, seguida de la peracetilación de cada una de ellas.
2. Obtener el perfil cromatográfico mediante HPLC y monitoreado por índice de refracción a nivel analítico de las quince muestras de estudio, con la finalidad de realizar una observación preliminar de la existencia de los ácidos glicosídicos constitutivos de las resinas glicosídicas.
3. Obtención del espectro de masas de baja resolución de cada una de las fracciones, utilizando variaciones en el voltaje para detectar las especies  $[M + Na]^+$  y los patrones de fragmentación característicos para la selección de iones diagnósticos.
4. Realizar el análisis en la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas (HPLC-ESIMS) de cada una de las muestras derivatizadas y, mediante la comparación de su perfil cromatográfico e iones diagnósticos, realizar la identificación cualitativa del material vegetal (droga cruda) presente en cada una de ellas.

## CAPÍTULO II. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### Adquisición de las muestras analizadas.

El presente trabajo consistió en el estudio cromatográfico (HPLC) de quince muestras, todas adquiridas en el mes de septiembre de 2015.

Los preparados herbolarios (tinturas y píldoras) y las muestras comerciales pulverizadas de raíces (jalapa, “pó de batatão” y “tapioca de batatão”), se adquirieron en tres diferentes Mercados Municipales del estado de Pará, Brasil, ubicados en:

- 1) Belém (**Figuras 17**);
- 2) Santarém (**Figura 18**);
- 3) Oriximiná (**Figura 19**).

Las drogas crudas se colectaron en tres lugares diferentes del norte de Brasil:

- 1) Varre-Vento, Oriximiná, Pará (comunidad quilombola);
- 2) Rurópolis, Pará (adquirida en mercados locales);
- 3) Floriano, Piauí (proporcionada por la Industria Farmacéutica Sobral).



**Figura 17. Locales comerciales expendedores de plantas medicinales en el Mercado Municipal “Ver-o-Peso” de Belém, Pará, Brasil. Fotografías: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**



**Figura 18. Mercado 2000, Santarém, Pará, Brasil.  
Fotografias: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**



**Figura 19. Mercado Oriximiná, Oriximiná, Pará, Brasil.  
Fotografias: Rogelio Pereda Miranda, 2015.**

Las muestras auténticas de *O. hamiltonii* fueron proporcionadas por la Industria Farmacéutica Sobral. El Cuadro 4 contiene la lista de los productos analizados y una breve descripción de los mismos, así como la clave con la cual se identificó a cada uno de ellos.

**Cuadro 4. Muestras comerciales y drogas crudas analizadas mediante HPLC.**

<b>Muestra</b>	<b>Nombre de la muestra</b>	<b>Descripción</b>
<b>1</b>	“Tapioca de batatão”	Material pulverizado comercializado
<b>2</b>	“Pó de batatão”	Material pulverizado comercializado
<b>3</b>	Quilombos	Muestra colectada en el campo
<b>4</b>	Jalapa auténtica Río	Material vegetal auténtico pulverizado
<b>5</b>	Droga cruda Sobral	Raíz proporcionada por la Industria Sobral
<b>6</b>	Jalapa 2000	Material pulverizado comercializado
<b>7</b>	Rurópolis	Muestra colectada en el campo
<b>8</b>	Fortaleza	Droga cruda en rodajas
<b>9</b>	JAD Florianópolis	Extracto lipofílico de droga cruda
<b>10</b>	JAD Río	Extracto lipofílico de droga cruda
<b>11</b>	Oriximiná	Droga cruda en rodajas
<b>12</b>	“Pímulas” Maciel	Píldoras
<b>13</b>	Tintura de jalapa Sobral	Extracto hidroalcohólico comercial
<b>14</b>	Tiro Seguro	Extracto hidroalcohólico comercial
<b>15</b>	“Batatão Hypólito”	Extracto hidroalcohólico comercial

### **Extractos orgánicos.**

En el caso de las muestras vegetales, se realizó una maceración exhaustiva con una mezcla de diclorometano-etanol en proporción 1:1. El producto de extracción se filtró y concentró a sequedad a una temperatura menor a 40 °C y presión reducida. Las muestras líquidas y las píldoras trituradas se utilizaron de manera directa en los procesos de derivatización.

## **Derivatización de las muestras.**

La derivatización de las resinas glicosídicas contenidas en cada uno de los extractos se inició con la hidrólisis básica, seguida de una peracetilación, con la finalidad de facilitar la separación y completa resolución de las mezclas en HPLC.<sup>7</sup> A continuación, se describen brevemente ambos procedimientos:

### a) Hidrólisis básica.

Para los extractos hidroalcohólicos, se tomaron 30 mL de muestra y se adicionaron 1.5 g de hidróxido de potasio. En el caso de las muestras sólidas, se agregó un volumen determinado de una solución de KOH 5%. Dicha mezcla de reacción, se mantuvo en reflujo a una temperatura de 96 °C y con agitación constante durante cuatro horas. Posteriormente, se ajustó a 5 el pH de la mezcla de reacción, mediante la adición de una solución de ácido clorhídrico 4 M y se realizaron tres extracciones con diclorometano. Se reservó la fase orgánica y se llevó a cabo una segunda serie extractiva con *n*-butanol; la fase butanólica se lavó por duplicado con agua desionizada, con la finalidad de eliminar las sales formadas y se llevó a sequedad, obteniendo así la mezcla de ácidos glicosídicos presentes en cada una de las muestras.

### b) Peracetilación.

Al producto de hidrólisis obtenido, se agregó la cantidad necesaria de una mezcla de piridina/anhídrido acético en proporción 2:1. La mezcla de reacción se dejó en agitación constante durante 48 horas; posteriormente, se agregó un volumen equivalente de agua helada. Para el aislamiento del producto peracetilado, se realizó una serie de tres extracciones con acetato de etilo como disolvente extractivo y se reservó la fase orgánica. Acto seguido, dicha fase se lavó por duplicado con una disolución de ácido clorhídrico 1M; para neutralizar, se realizaron dos lavados con una solución saturada de bicarbonato de sodio y, para la eliminación de las sales formadas, se lavó por duplicado con agua desionizada. Por último, se secó con sulfato de sodio anhidro y se llevó a sequedad, obteniendo así el producto de peracetilación. Posteriormente, se analizaron las mezclas de reacción obtenidas después

de la derivatización para cada uno de las muestras analizadas mediante cromatografía en capa fina.

### Perfiles cromatográficos en HPLC.

Se realizaron diversos ensayos encaminados a la determinación de las condiciones adecuadas de trabajo, tales como la selección del vehículo de inyección (de acuerdo con solubilidad), la concentración de la muestra y la preparación de fase móvil (proporción acetonitrilo-agua). En el Cuadro 5, se muestran los parámetros de trabajo utilizados para la obtención de todos los perfiles cromatográficos analizados.

**Cuadro 5. Condiciones instrumentales para el análisis mediante HPLC.**

<b>Parámetro</b>	<b>Especificaciones</b>
<b>Equipo</b>	Detector de índice de refracción, Mod. RI-4030; Bomba Mod. PU-4086; Marca Jasco.
<b>Columna</b>	Analítica C-18, fase reversa (octadecilsilano), Marca Shiseido, Mod. MGII.
<b>Fase móvil</b>	Mezcla acetonitrilo-agua (9:1)
<b>Vehículo de muestra</b>	Metanol.
<b>Flujo</b>	0.400 mL/min
<b>Concentración de muestra</b>	1 mg/20 $\mu$ L
<b>Volumen de inyección</b>	20 $\mu$ L
<b>Tiempo de análisis</b>	60 minutos, ensayos por triplicado.
<b>Temperatura interna del equipo</b>	40 °C
<b>Elución</b>	Isocrática.

Por otro lado, cabe destacar que el perfil cromatográfico de cada muestra se realizó por triplicado, por lo que los tiempos de retención descritos hacen referencia a un promedio de dichos ensayos, así como una desviación estándar asociada al mismo. Estas condiciones

cromatográficas permitieron la resolución de la muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como “jalapa” en el Mercado Municipal 2000, Santarém, Pará) a nivel preparativo para contar con los derivados peracetilados correspondientes a los ácidos glicosídicos mayoritarios que pudieran utilizarse como controles para el análisis de todas las muestras comerciales. Las condiciones instrumentales de trabajo a nivel preparativo consistieron en los siguientes parámetros: columna C-18 (19 × 300 mm, 7 μ); fase móvil: CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O (9:1), flujo: 8.0 mL/min; detector: IR; volumen de inyección de la muestra: 500 μL (50 mg/500 μL).

### **Análisis por HPLC-ESIMS.**

Cada una de las muestras problema se analizaron por HPLC-MS. Se empleó la técnica de ionización mediante electrospray en un equipo Agilent Technologies, equipado con una bomba binaria de la serie 1260 Modelo G1312B9 acoplada a un espectrómetro de masas tipo triple cuadrupolo Modelo Agilent 6410 (**Figura 20**), ajustado para coleccionar datos de  $m/z$  50 a 1650. El voltaje para la ionización en modo positivo fue de 100 V, con nitrógeno como gas nebulizador a 50 psi con un flujo de 12 L/min, temperatura 350 °C, voltaje del capilar, 4 kV. Para el segmento de cromatografía de líquidos, se utilizó una columna Agilent C-8 Modelo G1316A (3.0 × 150 mm × 3.5 μm); la velocidad de flujo se llevó a 0.3 mL/min con fase móvil que consistió en CH<sub>3</sub>CN-H<sub>2</sub>O previamente acidificada con ácido fórmico 0.1%, comenzando con un 60% de CH<sub>3</sub>CN hasta incrementarlo linealmente a 100% en un lapso de 30 minutos. Para la preparación de la muestra, ésta se disolvió en MeOH acidificado con ácido fórmico 0.1%, para obtener una concentración final de 3 mg/mL y se inyectó un volumen de 150 μL. Se determinó la presencia de los ácidos glicosídicos utilizados como muestras auténticas mediante la comparación de los tiempos de retención, valores de  $m/z$  para la molécula cationizada [M+Na]<sup>+</sup> y el patrón de fragmentación en el espectro de masas generado.<sup>21</sup>

## Análisis espectrométrico.

Para los espectros de baja resolución se utilizó un equipo LC/MSMSn LCQ Fleet (Thermo Scientific) equipado con una bomba cuaternaria de la serie LPG (Modelo 3400RS) acoplada a un espectrómetro de masas tipo trampa iónica (modelo LCFleet) ajustado a una detección de  $m/z$  de 15 a 4000 a una resolución máxima de 12,500 a la  $m/z$  50-2000. Se utilizó un equipo LQT XL Orbitrap (Thermo Fisher) en el modo de inyección directa para registrar los valores de  $m/z$  para cada uno de los ácidos glicosídicos purificados de la muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada adquirida en el Mercado 2000): voltaje de nebulización, 6 KV; temperatura del capilar, 350 °C; voltaje del capilar, 35 V. Cada muestra (1 mg) se disolvió en 1 mL de MeOH y 250  $\mu$ L se diluyeron con 100  $\mu$ L de una mezcla MeOH-H<sub>2</sub>O (9:1, v/v) acidificada con ácido fórmico 0.1% para facilitar el proceso de ionización y se inyectaron directamente en la fuente de ESI. Cada muestra se analizó en un escaneo continuo, en un rango de  $m/z$  de 100–3000, bajo las siguientes condiciones experimentales: tiempo de inyección máximo de 500 ms, un micro escaneo cada 1.9 s, resolución máxima de 100, 000 a la  $m/z$  400, temperatura de capilar de 270 °C y voltaje de 37 V, nitrógeno como gas nebulizador a un flujo de 5 unidades arbitrarias y un voltaje aplicado a la aguja de 3.5 kV.



**Figura 20. HPLC-MS con analizador de masa triple cuadrupolo, Modelo Agilent 6410.**

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Extractos orgánicos y derivatización.

Las muestras fueron sometidas a un proceso de derivatización y, en el Cuadro 6, se presentan las cantidades del material de partida, así como de los productos de hidrólisis básica (saponificación) y peracetilación de cada una de las muestras.

**Cuadro 6. Cantidades obtenidas en los procesos de derivatización a partir de las muestras analizadas.**

Muestra	Cantidad de partida (g)	Cantidad saponificada (g)	Producto hidrolizado (mg)	Cantidad acetilada (mg)	Producto acetilado (mg)
1	7.90	4.32	560.3	196.9	279.3
2	1.26	0.53	32.8	24.6	29.5
3	80.50	1.06	70.0	65.6	46.5
4	50	2.0	29.2	29.2	25.6
5	211.30	2.40	90.4	65.0	110.7
6	48.80	2.83	1072	996.0	1231
7	222.20	2.24	97.1	323.0	63.7
8	1.65	1.00	94.4	30.6	32.6
9	100	100	4.2	4.2	2.1
10	110	110	6.2	6.2	3.8
11	131.30	1.75	281.9	174.4	132.9
12	3.64	3.64	8.6	8.6	6.7
13	30 (mL)*	30 (mL)	29.2	29.2	18.5
14	30 (mL)*	30 (mL)	5.7	5.7	4.9
15	30 (mL)*	30 (mL)	67.7	67.7	50.5

### **Cromatografía en capa fina (CCF).**

Con la finalidad de realizar una comparación preliminar de cada una de las muestras que corresponden a las drogas crudas (colectada y productos pulverizados comercializados), se utilizaron los productos derivatizados y se compararon mediante CCF fase normal, con una muestra auténtica de la raíz de jalapa (*O. macrocarpa*) también saponificada y peracetilada, mediante un sistema de elución  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  en proporción 95:5. La identidad de cada una de las muestras, de acuerdo al orden utilizado en la cromatografía, se describe a continuación (Figura 21):

1. Raíz de jalapa pulverizada y comercializada como la “tapioca de batatão”;
2. Raíz de jalapa pulverizada y comercializada como el “Pô batatão”;
3. Material vegetal (*O. hamiltonii*) colectado en Varre-Vento, Oriximiná, Pará, Brasil;
4. Material vegetal auténtico de *O. macrocarpa* obtenido del Dispensario de la Colección Farmacognóstica de Drogas y Productos Herbolarios, Universidad Federal de Río de Janeiro;
5. Muestra auténtica de *O. hamiltonii*, proporcionada por la Industria Farmacéutica Sobral;
6. Raíz de jalapa pulverizada y comercializada como “jalapa” en el Mercado Municipal 2000, Santarém, Pará;
7. Material vegetal (*O. hamiltonii*) colectado en Rurópolis, Pará.

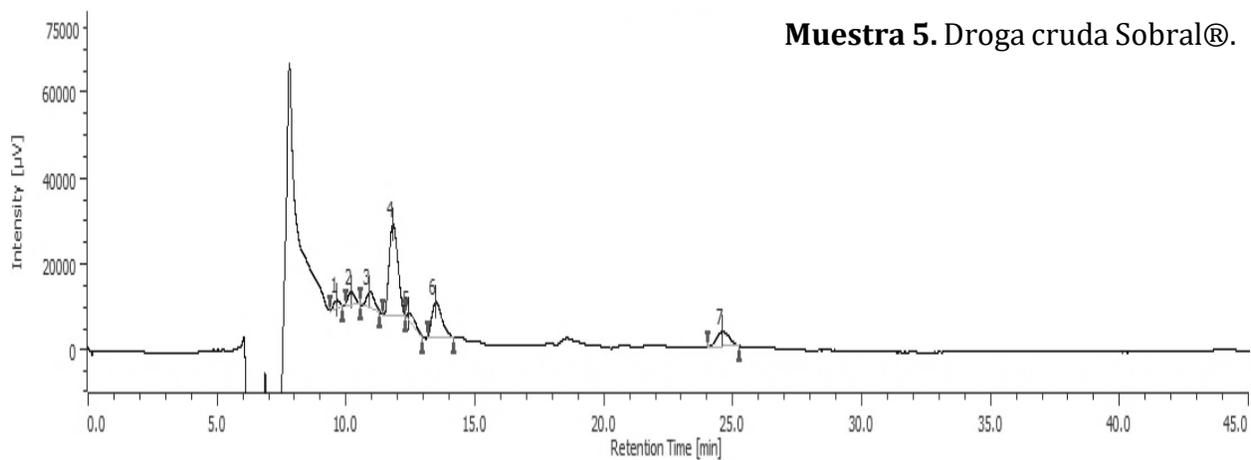
Este análisis demostró que todas las muestras contienen componentes con valores cercanos de Rf. Este resultado sugiere una similitud entre ellas en la composición de sus ácidos glicosídicos; sin embargo, es posible diferenciar variaciones en la polaridad de los componentes mayoritarios entre las Muestras 6 y 4, por lo que puede inferirse que esta última presenta núcleos oligosacáridos de mayor polaridad en la composición de sus resinas glicosídicas.



**Figura 21. Análisis mediante cromatografía en capa fina de la fracción saponificada y peracetilada de las resinas glicosídicas obtenidas a partir de algunos de los productos comerciales y de las drogas crudas enteras y pulverizadas.**

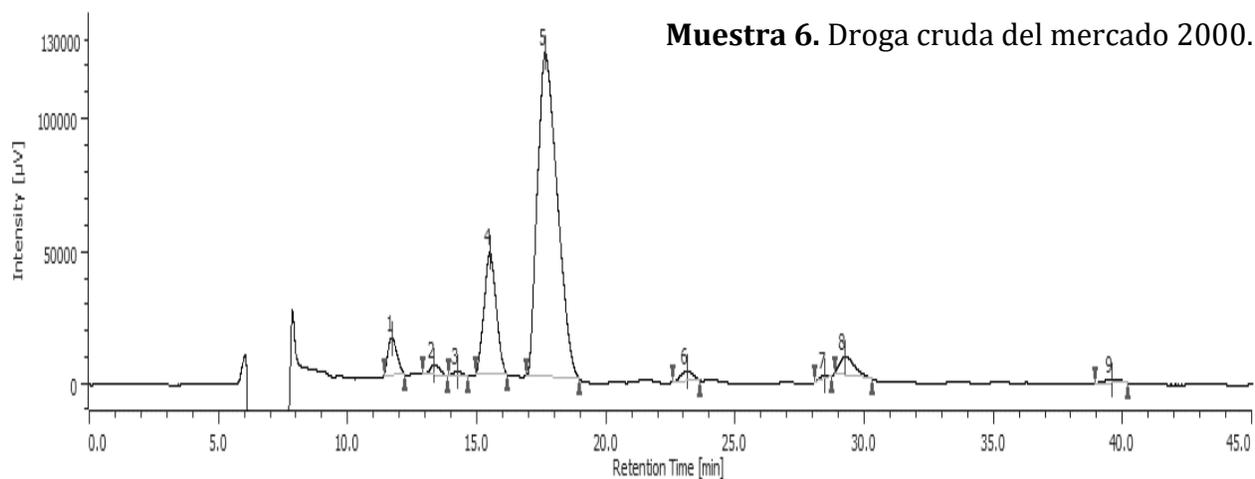
### **Perfiles cromatográficos en HPLC.**

Se obtuvo el perfil cromatográfico a nivel analítico de todas las muestras por triplicado, con la finalidad de comprobar la reproducibilidad de los resultados. A continuación, se ilustran los cromatogramas de líquidos obtenidos para cinco muestras representativas (**Figuras 22 - 25**), donde se indican los picos mayoritarios observados; para cada tiempo de retención ( $t_R$ ), se calculó el valor promedio, así como la desviación estándar asociada a dichos valores (ver Anexo A).



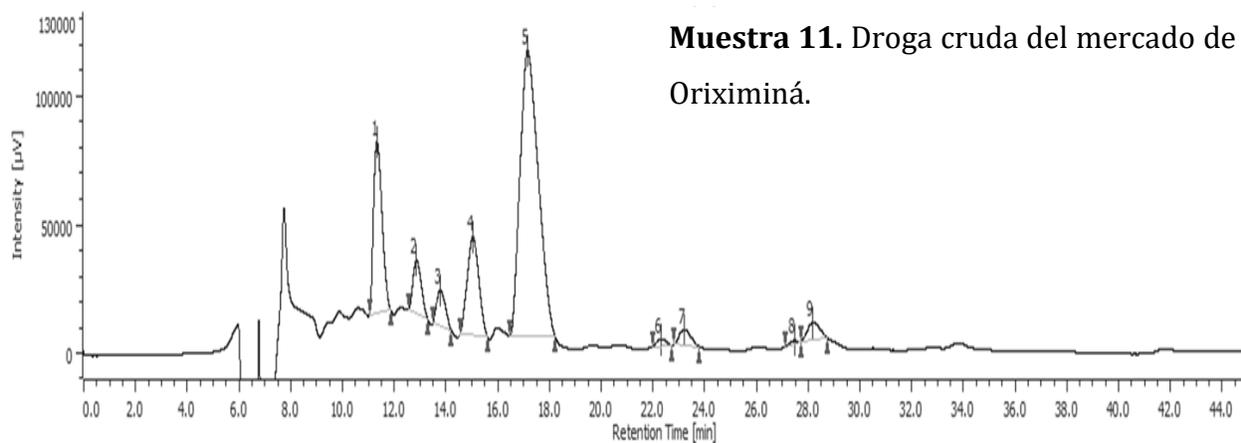
NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	9.6	9.6	9.6	9.6 ± 0.0
2	10.1	10.2	10.2	10.2 ± 0.1
3	10.9	10.9	10.9	10.9 ± 0.0
4	11.8	11.8	11.8	11.8 ± 0.0
5	12.4	12.5	12.4	12.4 ± 0.1
6	13.4	13.5	13.5	13.5 ± 0.1
7	24.7	24.6	24.6	24.6 ± 0.1

**Figura 22. Cromatograma de líquidos obtenida a partir de la Muestra 5 (droga cruda proporcionada por la Industria Sobral®) y tiempos de retención.**



NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	11.8	11.7	11.8	11.8 ± 0.1
2	13.4	13.3	13.5	13.4 ± 0.1
3	14.4	14.3	14.4	14.4 ± 0.1
4	15.6	15.5	15.6	15.6 ± 0.1
5	17.8	17.6	17.8	17.7 ± 0.1
6	23.3	23.1	23.4	23.3 ± 0.2
7	28.7	28.5	28.8	28.7 ± 0.2
8	29.4	29.2	29.5	29.4 ± 0.2
9	39.7	39.5	39.9	39.7 ± 0.2

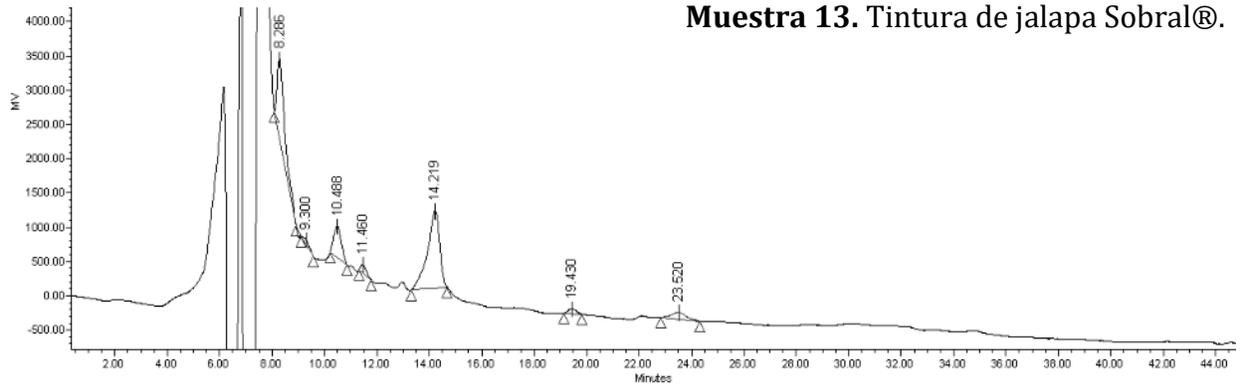
**Figura 23. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como jalapa) y tiempos de retención.**



NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
<b>1</b>	11.2	11.3	11.4	11.3 ± 0.1
<b>2</b>	12.6	12.9	12.9	12.8 ± 0.2
<b>3</b>	13.5	13.8	13.9	13.7 ± 0.2
<b>4</b>	14.8	15.0	15.1	15.0 ± 0.2
<b>5</b>	16.9	17.1	17.3	17.1 ± 0.2
<b>6</b>	21.8	22.3	22.6	22.2 ± 0.4
<b>7</b>	22.4	23.2	23.5	23.0 ± 0.6
<b>8</b>	26.8	27.5	27.8	27.4 ± 0.5
<b>9</b>	27.4	28.2	28.6	28.1 ± 0.6

**Figura 24.** Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 11 (droga cruda en rodajas) y tiempos de retención.

**Muestra 13. Tintura de jalapa Sobral®.**



NP	t <sub>R1</sub>	t <sub>R2</sub>	t <sub>R3</sub>	t <sub>R</sub> promedio
1	8.285	8.286	8.287	8.3 ± 0.0
2	9.217	9.300	9.217	9.2 ± 0.0
3	10.813	10.488	10.422	10.6 ± 0.2
4	11.668	11.460	11.394	11.5 ± 0.1
5	14.254	14.219	14.155	14.2 ± 0.1
6	19.318	19.430	19.396	19.4 ± 0.1
7	24.005	23.520	23.129	23.6 ± 0.4

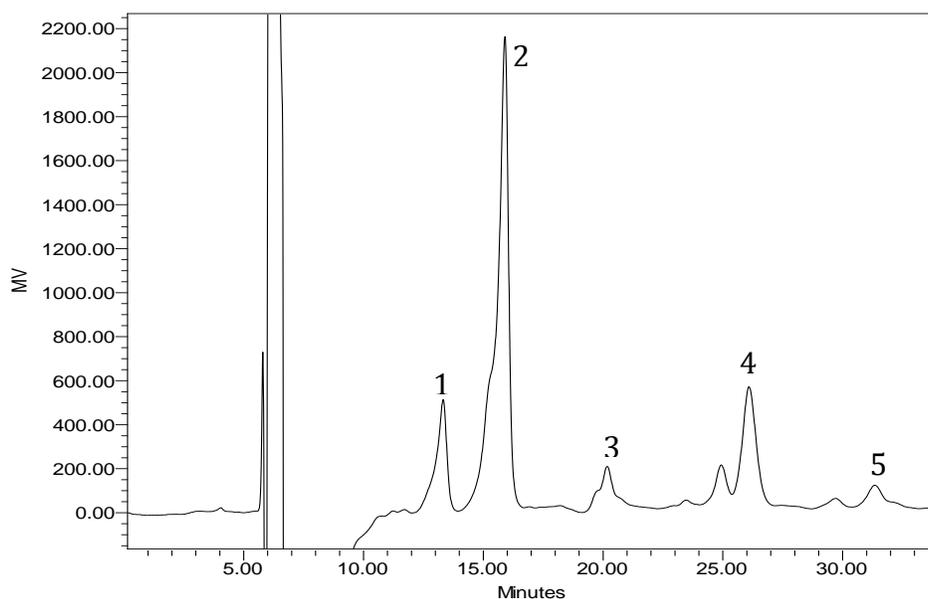
**Figura 25. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 13 (Tintura de Jalapa Sobral®, preparación herbolaria comercial) y tiempos de retención.**

## Fraccionamiento de la Muestra 6.

Tras realizar una comparación de los cromatogramas obtenidos, se observó que la jalapa del Mercado 2000, identificada como Muestra 6, guarda una menor complejidad y una similitud cromatográfica con la mayoría de las muestras analizadas en la composición de sus ácidos glicosídicos de menor polaridad. Estudios preliminares permitieron la caracterización de los cinco constituyentes mayoritarios.<sup>25-27</sup> El fraccionamiento se realizó mediante HPLC-índice de refracción a nivel preparativo, con el propósito de resolver la mezcla de ácidos glicosídicos en forma de derivados peracetilados (**Figura 26**) mediante la técnica de corte de núcleo. Como resultado de este fraccionamiento, se logró aislar cinco fracciones de menor complejidad (F1-F5), a partir de las cuales, se purificaron los constituyentes mayoritarios mediante reciclaje de muestra.

Estudios de RMN permitieron confirmar la identidad química de cada uno de los picos, entre los cuales se encuentran los ácidos operculínicos A (fracción F2) y B (fracción F1).<sup>25</sup> El ácido operculínico A está compuesto de una unidad de D-fucosa, una unidad de D-glucosa y tres unidades de L-ramnosa y representa el núcleo oligosacárido que con mayor frecuencia se ha descrito en las resinas de las convolvuláceas, como un constituyente de las especies *Operculina macrocarpa*, *I. intrapilosa*, *I. stolonifera*, *I. leptophylla*, *Quamoclit pennata*, *Merremia hungaiensis* y *Merremia mammosa*.<sup>4</sup> La diferencia con el ácido operculínico B es la presencia de una unidad de D-glucosa en lugar de la D-fucosa presente en los glicolípidos derivados del ácido operculínico A. El análisis de los espectros de RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de los picos restantes permitió obtener información general acerca de la estructura de los constituyentes mayoritarios, indicando que la fracción F3 presenta el mismo núcleo oligosacárido que el ácido operculínico B. La comparación de los espectros RMN <sup>13</sup>C en la región alifática entre el compuesto mayoritario de la fracción 6 y el ácido operculínico A peracetilado, este último con una aglicona que corresponde al ácido jalapínico (11S-hidroxi-hexadecanoico), comprobó que el ácido glicosídico peracetilado purificado a partir de la fracción F3 presenta una aglicona diferente, ya que consta de una cadena hidrocarbonada de 17 átomos de carbono (**Figura 27**).<sup>26</sup> Esta información concuerda con la fórmula molecular calculada mediante el valor de *m/z* para el catión [M+Na]<sup>+</sup> de esta fracción. En el Cuadro 7, se resume

la información obtenida mediante espectrometría de masas en el modo de ionización por electrospray para cada una de las fracciones. Para las fracciones F4 y F5 se procedió de la misma forma y las evidencias espectroscópicas (RMN) y espectrométricas (Cuadro 7) confirmaron que ambos constituyentes también comparten el mismo núcleo oligosacárido del ácido operculínico peracetilado y su única diferencia radica en la longitud de la cadena alifática de la aglicona, es decir, una cadena hidrocarbonada de 17 átomos de carbono para la fracción F4 y una de 18 átomos para la fracción F5.<sup>27</sup>



**Figura 26. Cromatograma de líquidos a nivel preparativo de la mezcla de ácidos glicosídicos peracetilados, obtenida a partir de la muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como “jalapa”).**

**Cuadro 7. HPLC acoplado fuera de línea con ESIMS.**

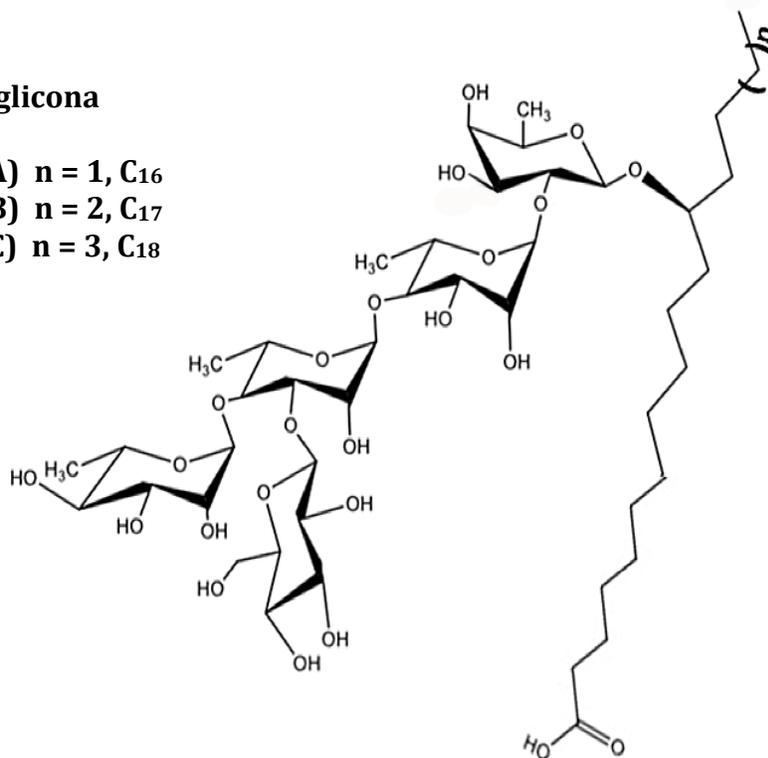
$t_R$ (min)	ESIMS $[M+Na]^+$ $m/z$	Derivado peracetilado: Fórmula Molecular
<b>(F1)</b> 13.0	1603.64565	Ácido operculínico B: $C_{72}H_{108}O_{38}$
<b>(F2)</b> 15.5	1545.63928	Ácido operculínico A: $C_{70}H_{106}O_{36}$
<b>(F3)</b> 20.5	1617.65308	Ácido operculínico B + $CH_2$ : $C_{73}H_{110}O_{38}$
<b>(F4)</b> 26.2	1559.65173	Ácido operculínico A + $CH_2$ : $C_{71}H_{108}O_{36}$
<b>(F5)</b> 31.5	1573.66748	Ácido operculínico A + $2CH_2$ : $C_{72}H_{110}O_{36}$

### Aglicona

(A)  $n = 1$ , C<sub>16</sub>

(B)  $n = 2$ , C<sub>17</sub>

(C)  $n = 3$ , C<sub>18</sub>



**Figura 27. Ácidos glicosídicos constitutivos mayoritarios de las resinas glicosídicas de la jalapa brasileña (*O. Hamiltonii*: Muestra 6, jalapa pulverizada; Mercado Municipal 2000, Santarém, Pará) donde: A) la fracción F2 presenta una aglicona de C<sub>16</sub> (ácido 12S-hidroxihexadecanoico); B) la fracción F4 presenta una cadena de C<sub>17</sub> (ácido 12S-hidroxiheptadecanoico); y C) la fracción F5 una aglicona de C<sub>18</sub> (ácido 12S-hidroxiocadecanoico).**

### Análisis por HPLC-ESIMS.

En un estudio previo, se utilizó la cromatografía de líquidos para la generación de perfiles cromatográficos que permitieron la identificación de los ácidos glicosídicos constitutivos de las tres principales especies que constituyen el complejo de plantas purgantes de la raíz de jalapa mexicana.<sup>7</sup> La saponificación de los extractos totales preparados a partir de las drogas crudas fue la estrategia utilizada y los cromatogramas generados distinguieron las tres jalapas mexicanas con mayor uso en la medicina tradicional de nuestro país: *I. purga*, la auténtica “raíz jalapa”, produjo dos nuevos hexasacáridos de los ácidos convolvulinólico (ácido 11S-hidroxitetradecanoico) y jalapínolico (ácido 11S-hidroxihexadecanoico), los ácidos púrgicos A y B, respectivamente. El ácido escamónico, un tetrasacárido del ácido jalapínolico, se identificó en *I. orizabensis* conocida como la escamonea mexicana o falsa

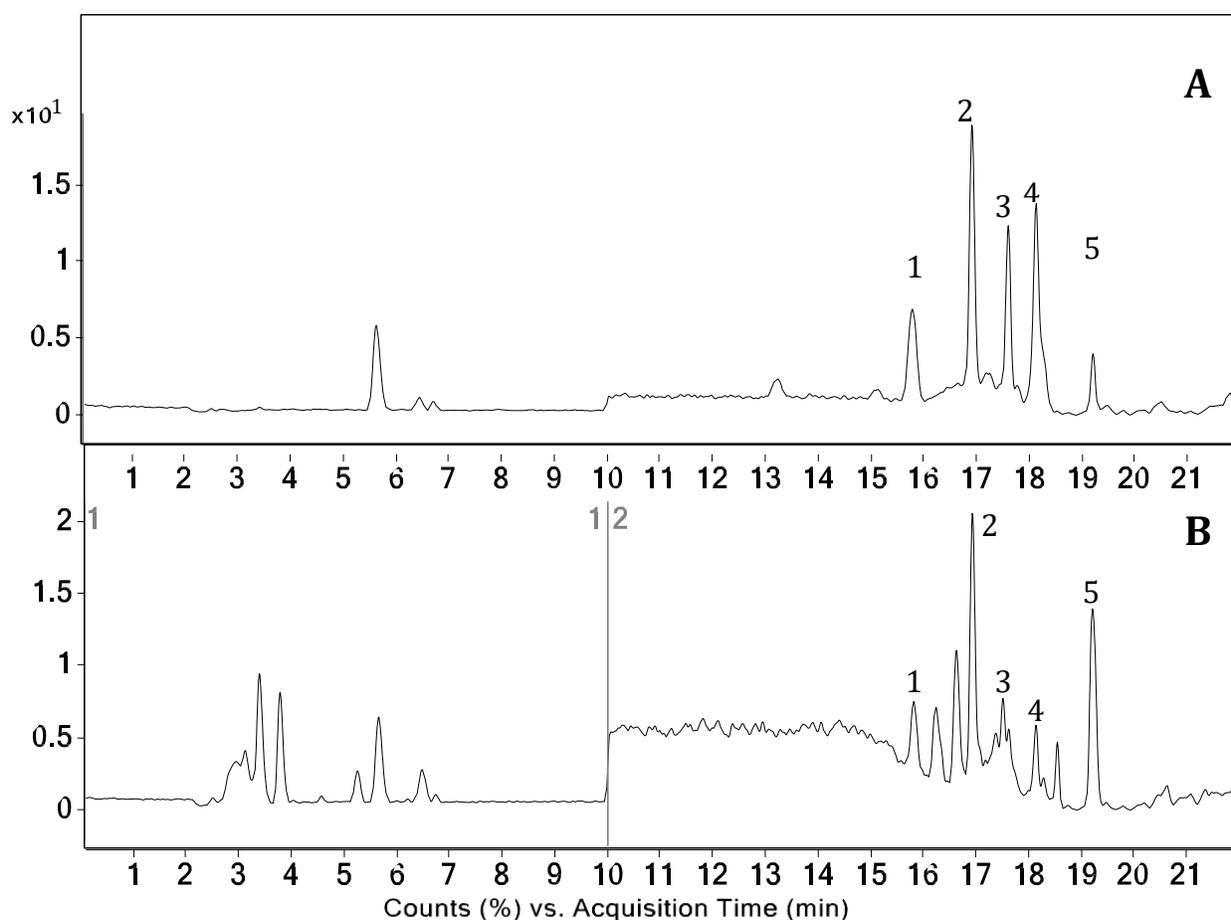
jalapa y el ácido operculínico B, se identificó en *I. stans*.<sup>7</sup> Esta aproximación, utilizando la saponificación para la simplificación de las complejas mezclas de resinas glicosídicas mediante la obtención del ácido glicosídico mayoritario o los ácidos glicosídicos constitutivos, también permitió en la presente investigación identificar a los derivados peracetilados que sirvieron como marcadores (muestras de control) para el control de calidad de los preparados fitofarmacéuticos a base de la droga cruda de la especie *O. hamiltonii*, la raíz de jalapa brasileña.

Previamente, también se utilizó como método analítico a la cromatografía de líquidos acoplada fuera de línea a la espectrometría de masas HPLC-MS (FAB y ESI) para la identificación de nuevos constituyentes de las resinas glicosídicas obtenidas del extracto metanólico de la especie *I. alba*.<sup>28</sup> En esta ocasión, se demostró que el cambio en el voltaje para la ionización de las resinas glicosídicas, permitía la detección de las especies protonadas  $[M + H]^+$  y cationizadas  $[M + Na]^+$  de los analitos a voltajes bajos, en tanto que el empleo de voltajes altos generaba una fragmentación profusa que permitió la detección de fragmentos de bajo peso ( $m/z$ ) fácilmente registrables por sus elevadas abundancias relativas en la corriente iónica total.

Con base en dichos resultados de nuestro grupo de investigación, los perfiles cromatográficos realizados mediante la técnica analítica acoplada de HPLC-IR permitieron distinguir múltiples similitudes entre las muestras; sin embargo, no fue posible asegurar que los picos con tiempo de retención semejantes, correspondieran a los ácidos glicosídicos encontrados en la Muestra 6. Por lo anterior, se realizó un estudio mediante HPLC-ESIMS pues, a través de los espectros de masas sería posible identificar cada uno de los constituyentes mayoritarios, debido a que se disponía de las muestras auténticas de los ácidos glicosídicos constitutivos de la jalapa brasileña con flores amarillas (Muestra 6).

El cromatograma generado mediante HPLC-ESIMS se ilustra en la **Figura 28-A**, mismo que mostró una estrecha similitud con el obtenido mediante HPLC-IR a nivel analítico (**Figura 23**) y preparativo (Figura 26), aun cuando los tiempos de retención no son los mismos pues, en este caso, la elución no se realizó en modo isocrático, aunado a las diferencias en los

soportes utilizados para las fases estacionarias en cada análisis. Esta modificación en la elución al emplear un gradiente permitió una excelente resolución en un tiempo relativamente corto (20 min). Para cada una de las muestras analizadas, se realizó el mismo procedimiento; sin embargo, debido a que el equipo utilizado con un analizador de masas triple cuadrupolo de baja resolución operado con una resolución de masa unitaria sólo permitió el registro de datos de  $m/z$  en el intervalo de 50 a 1650 unidades de masa/carga, se utilizó un voltaje de ionización alto para inducir la fragmentación de los iones  $[M+Na]^+$  y obtener iones de  $m/z$  pequeños y con una abundancia relativa del 100 %, a partir de los cuales fue posible identificar cada uno de los picos mayoritarios generados en dicha muestra, mismos que se consideraron como fragmentos diagnósticos. En la **Figura 28**, se muestran los tiempos de retención correspondientes a los mencionados fragmentos (**A**), así como la detección de éstos en una de las muestras de material vegetal crudo (**B**).

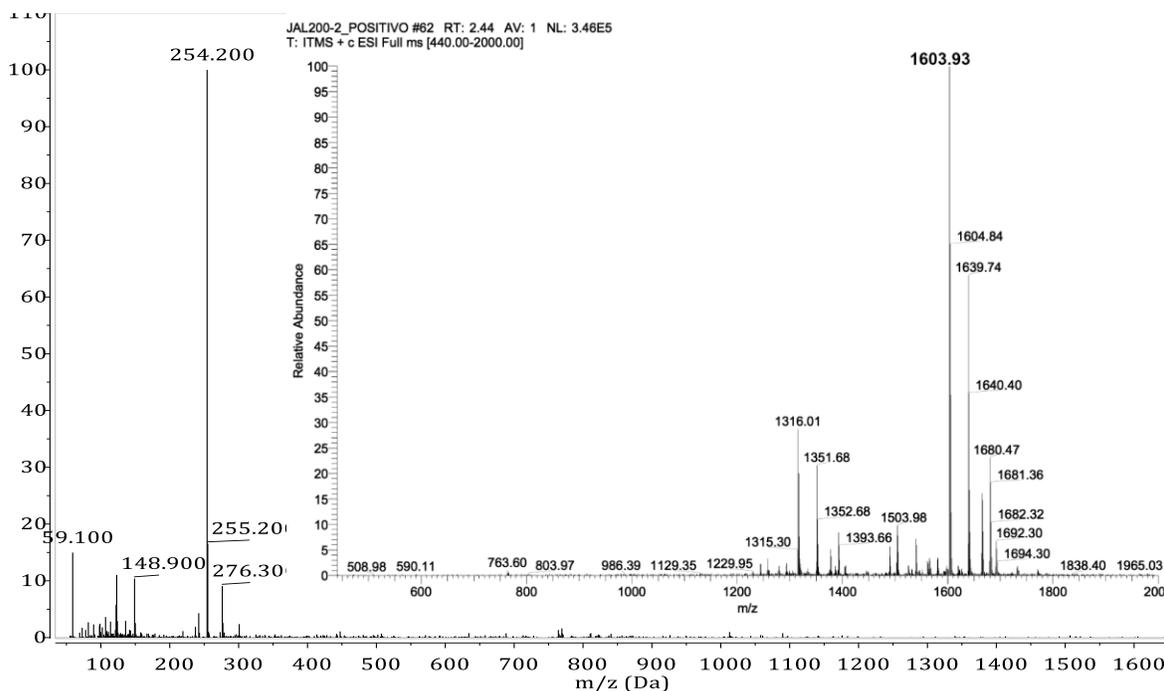


**Figura 28. Cromatograma de líquidos de la Muestra 6 (A) y de la Muestra 11 (B), obtenidos mediante HPLC-MS.**

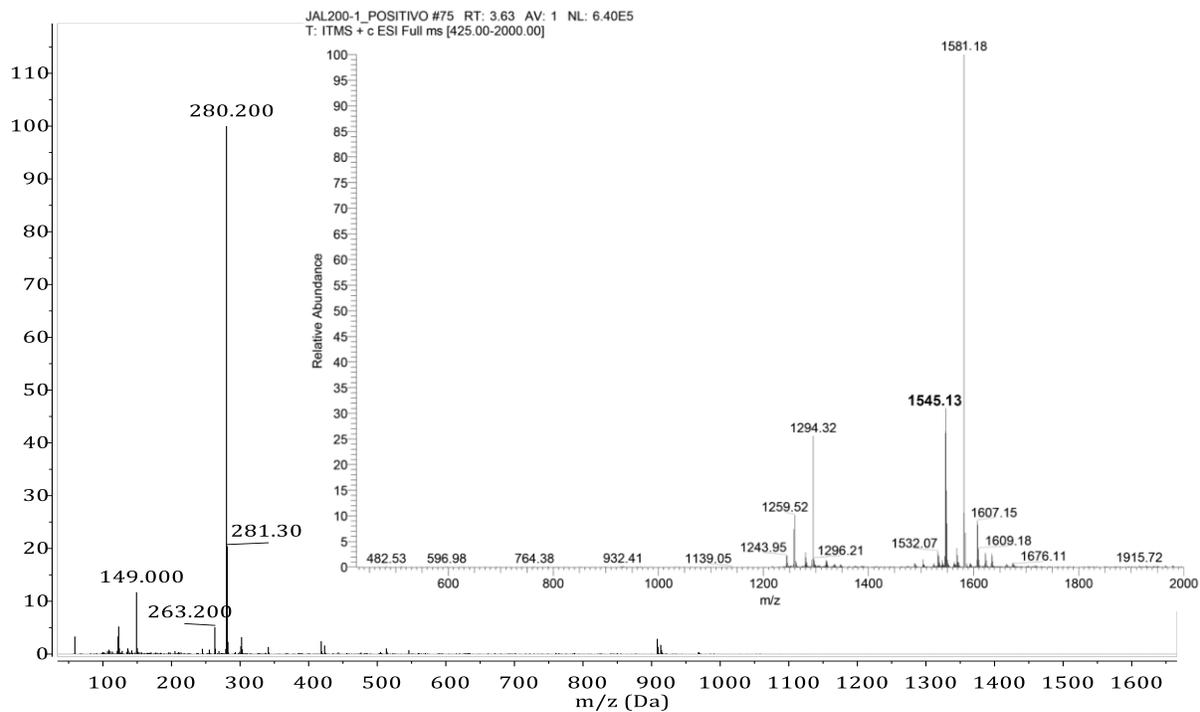
A continuación, se presentan los valores de masa/carga detectados para la molécula cationizada  $[M+Na]^+$  (MS trampa iónica mediante aspersión directa) y los fragmentos diagnósticos (HPLC-MS cuadrupolo, baja resolución) asociados a cada una de las fracciones identificadas en la Muestra 6 (**Figuras 29–33**), así como la relación  $m/z$  obtenida en cada método respecto a los nuevos tiempos de retención (Cuadro 8).

**Cuadro 8. Relación de valores  $m/z$  obtenida en HPLC-ESIMS para cada fracción.**

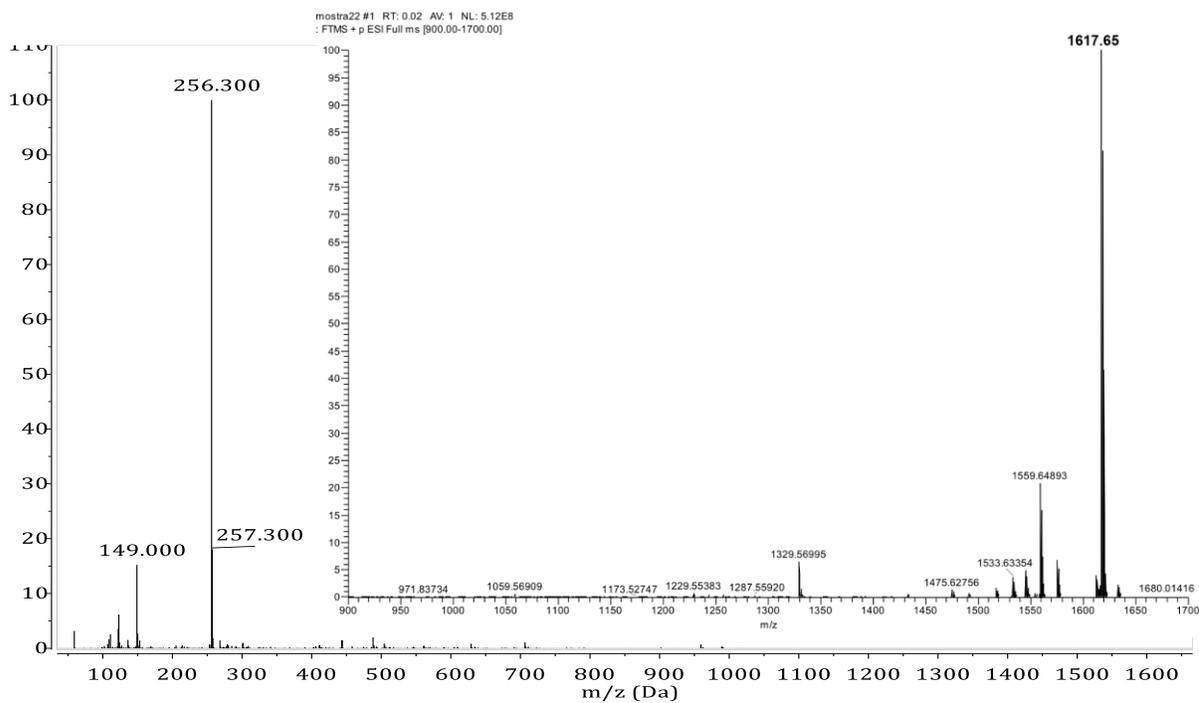
Fracción	$t_R$ (min)	$m/z$ $[M+Na]^+$ (trampa iónica)	$m/z$ (triple cuadrupolo)
F1	15.80	1603.93	254.20
F2	16.90	1545.13	280.20
F3	17.60	1617.65	256.30
F4	18.10	1559.64	282.30
F5	19.20	1573.67	486.30



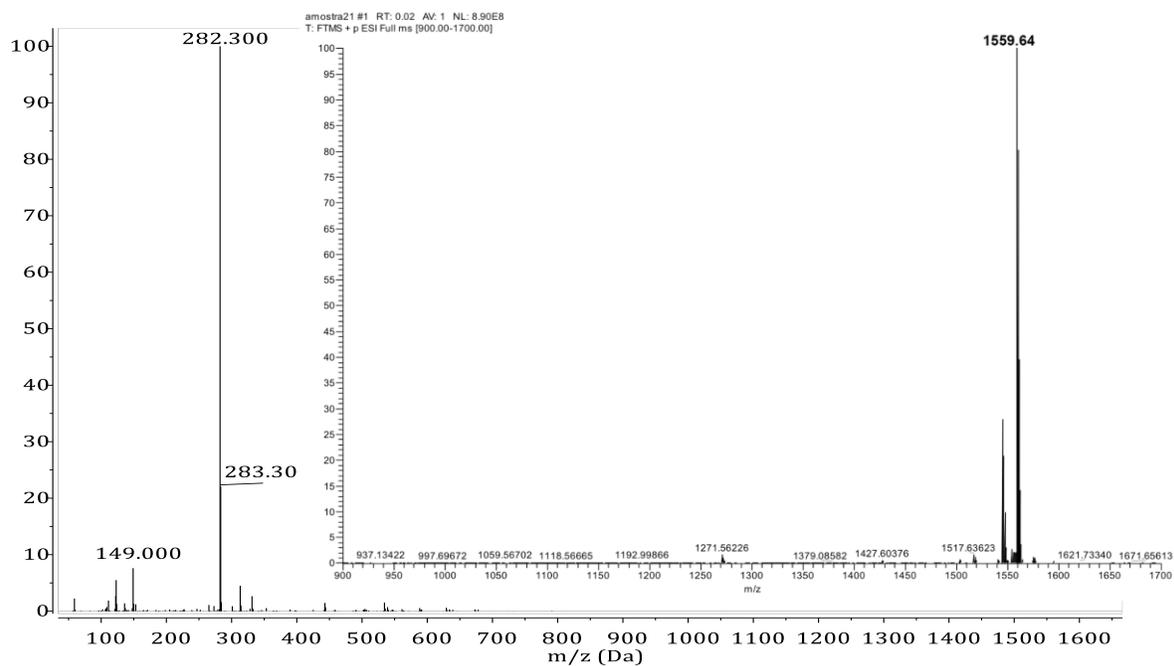
**Figura 29. Espectro de masas generado a partir de la fracción F1 con un tiempo de retención de 15.80 min.**



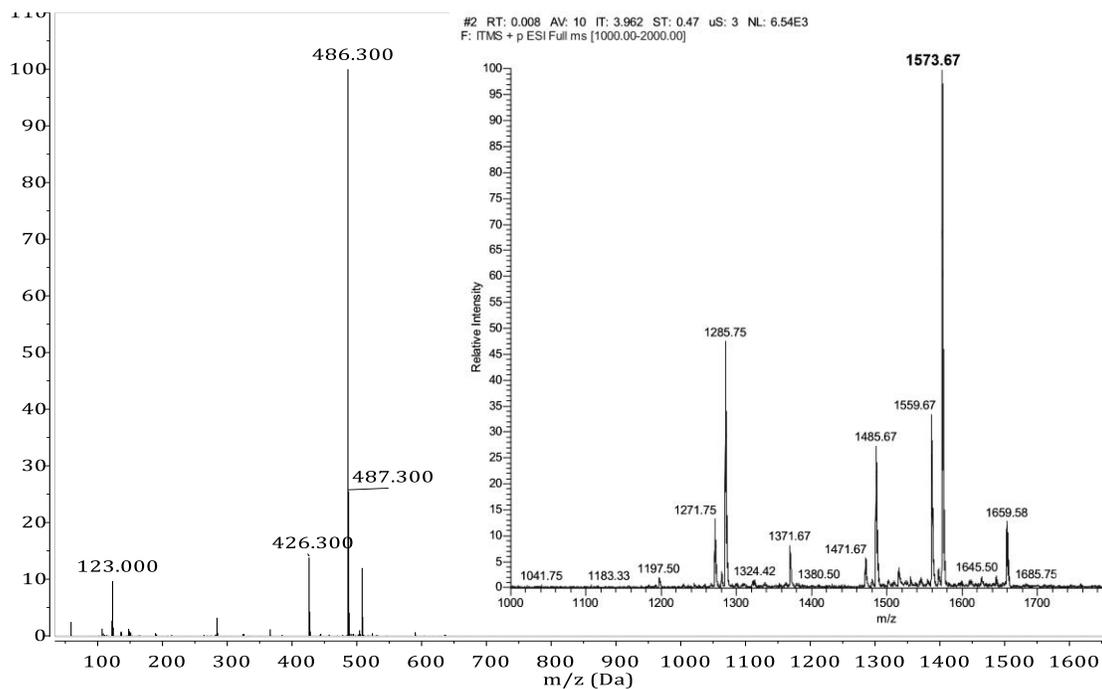
**Figura 30. Espectro de masas generado a partir de la fracción F2 con un tiempo de retención de 16.90 min.**



**Figura 31. Espectro de masas generado a partir de la fracción F3 con un tiempo de retención de 17.60 min.**

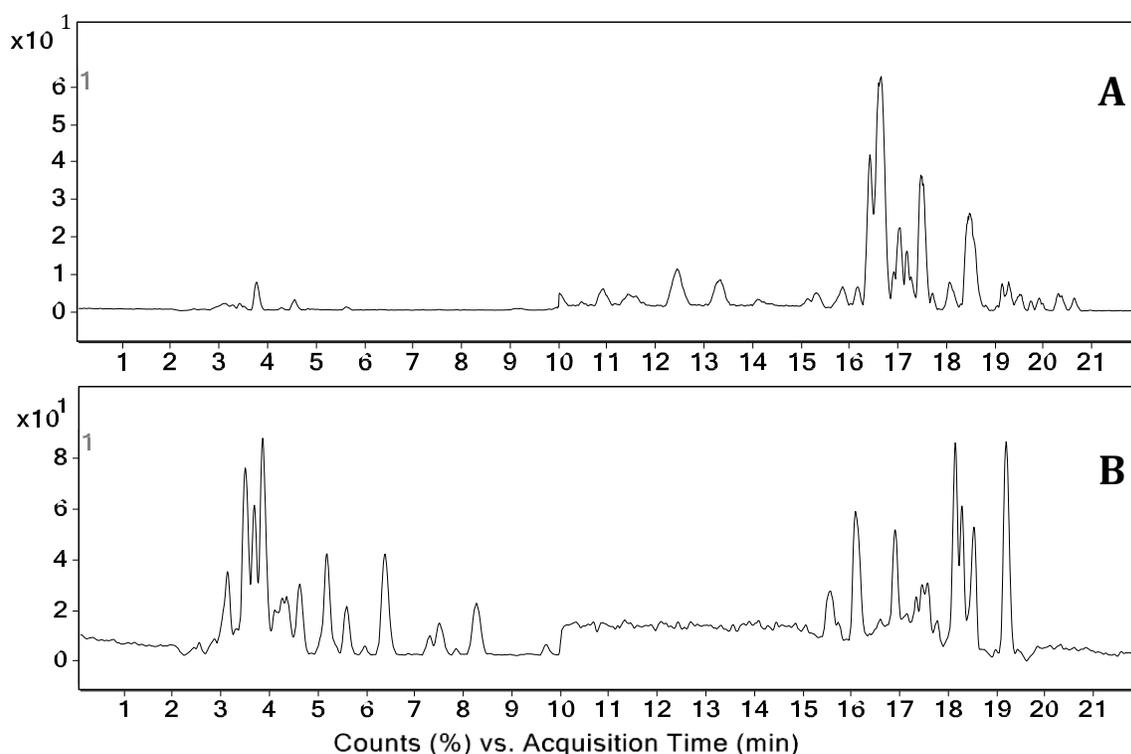


**Figura 32. Espectro de masas generado a partir de la fracción F4 con un tiempo de retención de 18.10 min.**



**Figura 33. Espectro de masas generado a partir del pico 5, con un tiempo de retención de 19.20 min.**

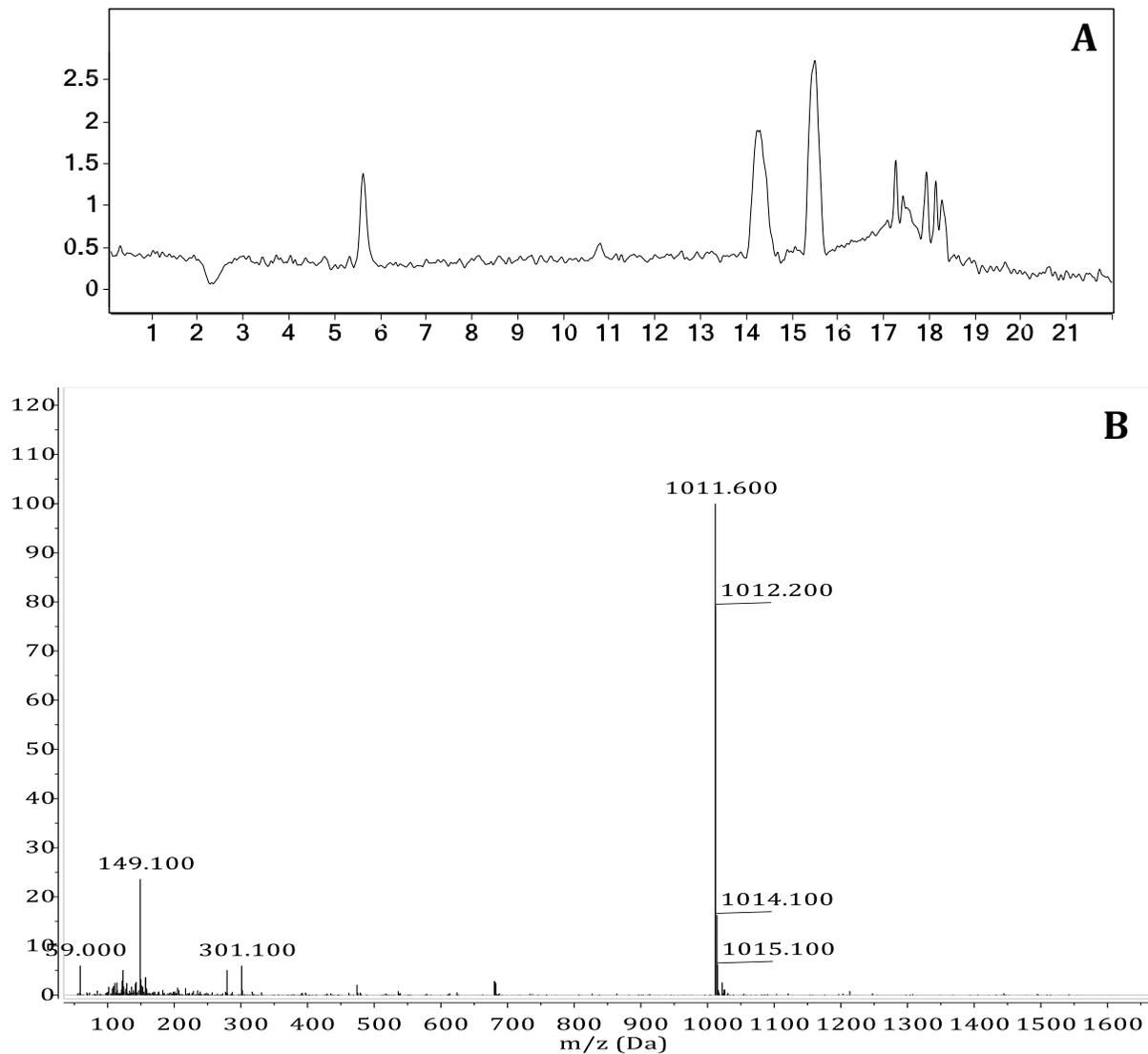
De esta forma, se analizó el patrón de fragmentación de los picos obtenidos en cada una de las muestras y se compararon con los iones diagnóstico detectados a partir de la Muestra 6. En el caso de las muestras derivadas de las drogas vegetales crudas, no sólo se observan los picos diagnósticos, sino que también se detectó una mayor complejidad en la elución cromatográfica (15-20 min) que refleja una hiperdiversidad estructural en cuanto a las resinas glicosídicas de la especie en estudio (**Figura 34-B**).<sup>29</sup> También, se observaron abundantes componentes de mayor polaridad (2 a 9 min) quizá correspondientes a sacáridos simples. Esto puede deberse a que no recibieron ningún tratamiento previo a su derivatización, conservando dichos componentes. En cambio, en el caso del polvo llamado “tapioca de batatão” (Muestra 1), que se obtiene mediante un proceso<sup>c</sup> similar al usado para la preparación de la “harina de la yuca”, se observa prácticamente una ausencia de los azúcares simples (**Figura 34-A**).



**Figura 34. Cromatogramas obtenidos a partir de muestras derivatizadas de “tapioca de batatão” (A) y droga cruda Sobral (B) mediante HPLC-MS.**

<sup>c</sup> Para la obtención de la “tapioca de batatão”, se retira la capa que cubre el tubérculo; posteriormente, éste se muele con suficiente agua. De la mezcla resultante, se filtra el sobrenadante con un trapo limpio y, mediante compresión, se quita el exceso de agua. Dicho sobrenadante se deja secar y se cierne con un colador.

En el caso de la Muestra 4 (**Figura 35**), que corresponde a la muestra auténtica de *O. macrocarpa*, ésta presentó un perfil cromatográfico disímil (14-16 min) al obtenido para la Muestra 6 y las drogas crudas analizadas, aun cuando tiene pequeñas cantidades de los compuestos marcadores (16-20 min), lo cierto es que contiene picos mayoritarios que no se observan en la droga cruda de la jalapa (*O. hamiltonii*), hecho que denota la diferencia esperada entre ambas especies vegetales por la presencia de hexasacáridos<sup>30</sup> como los constituyentes mayoritarios de las resinas de *O. macrocarpa*.



**Figura 35. Cromatograma de la muestra de *O. macrocarpa* auténtica (A) y espectro de masas generado a partir del pico con tiempo de retención de 14.20 min (B) mediante HPLC-MS.**

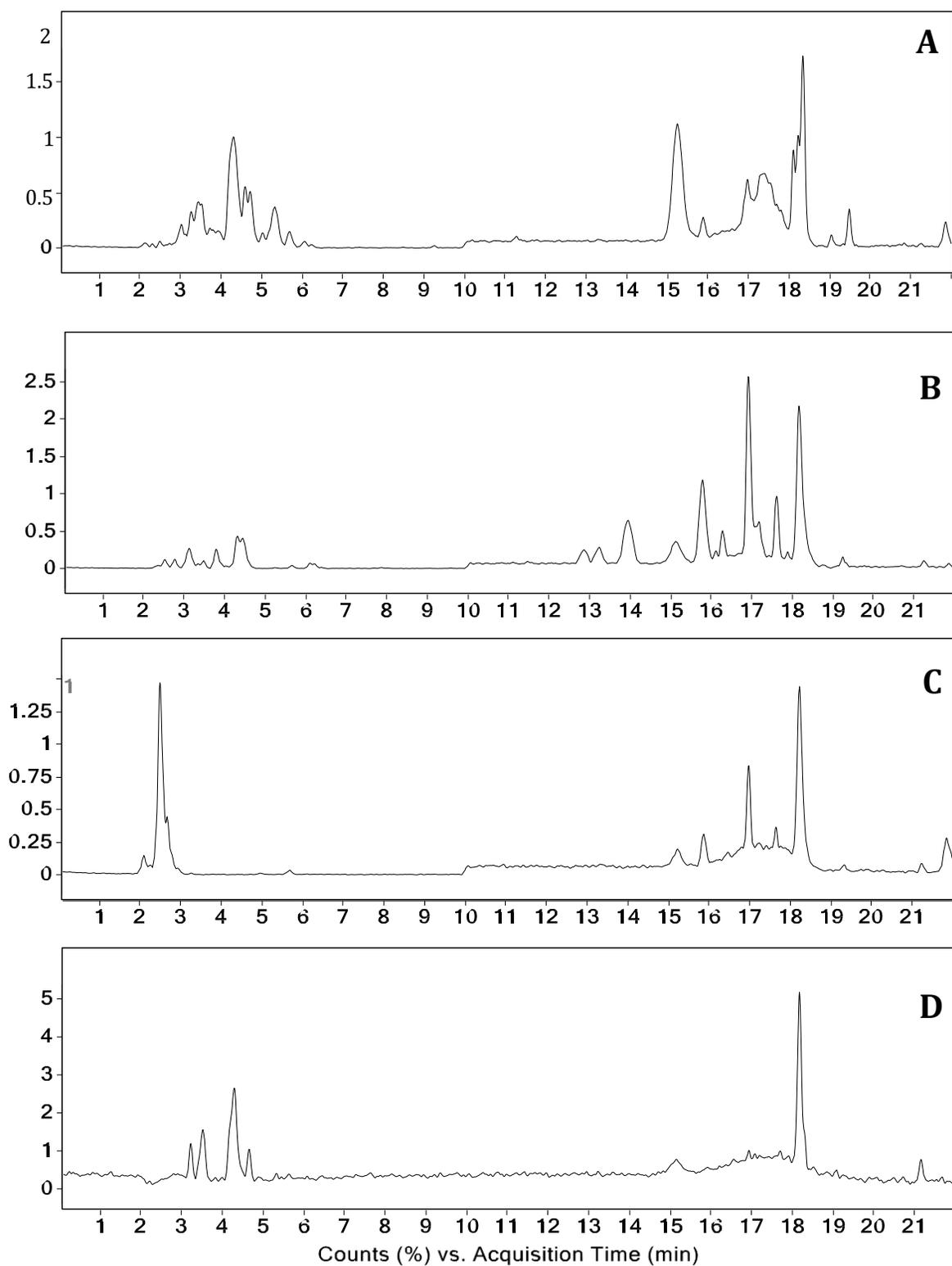
En el caso de los preparados fitoterápicos, todos presentaron la mayoría de las señales características para los ácidos glicosídicos constitutivos de las resinas glicosídicas de *O. hamiltonii* (**Figura 36**). En el Cuadro 9, se presenta un listado de dichas señales para las Muestras 12-15. Todos estos preparados presentaron las señales diagnósticas y, por lo tanto, éstos pueden servir como herramientas analíticas para la identificación y el control de calidad de estos preparados fitofarmacéuticos purgantes elaborados a partir de la raíz de jalapa de flores amarillas y que se comercializan ampliamente en el territorio brasileño.

**Cuadro 9. Determinación cualitativa de los ácidos glicosídicos constitutivos de las resinas glicosídicas de la raíz de jalapa (*Operculina hamiltonii*) en diversos preparados fitofarmacéuticos.**

Muestra	15.80 min	16.90 min	17.60 min	18.10 min	19.20 min
12	•	••	••	•••	•
13	•••	•••••	••	••••	•
14	••	•••	••	•••••	•
15	–	•	•	•••••	•

La anotación • hace referencia a la intensidad relativa observada de tipo cualitativo para cada pico en las muestras comparadas; e.g., (•) escaso, (•••) moderado y (•••••) profuso.

En los países en desarrollo que buscan promover el uso racional de las hierbas medicinales, la identificación correcta de las plantas medicinales es de primordial importancia para garantizar la calidad de las drogas crudas, ya que muy pocas hierbas medicinales son cultivadas y casi toda la materia prima se obtiene a través de la recolección. Consecuentemente, la identificación errónea o la adulteración pueden ocurrir fácilmente. La combinación de HPLC mediante la generación de “perfiles cromatográficos” y la detección mediante el acoplamiento con ESIMS añade un valor a los métodos botánicos convencionales utilizados en el control de calidad de las hierbas medicinales que se utilizan para la elaboración de los productos comerciales, como quedó demostrado en la presente investigación para la droga cruda de la raíz de jalapa y sus preparados fitofarmacéuticos.



**Figura 36. Cromatogramas de la Muestra 12, Pímulas Maciel® (A), Muestra 13, tintura de jalapa Sobral® (B), Muestra 14, Tintura Tiro Seguro® (C) y de la Muestra 15, Tintura Batatão Hypólito® (D) generados mediante HPLC-MS generados mediante HPLC-ESIMS.**

## CONCLUSIONES

1.- La generación de perfiles cromatográficos en HPLC-ESIMS constituye una herramienta analítica (“huella digital”) para la identificación y el control de calidad de los preparados fitofarmacéuticos a base de la raíz de jalapa.

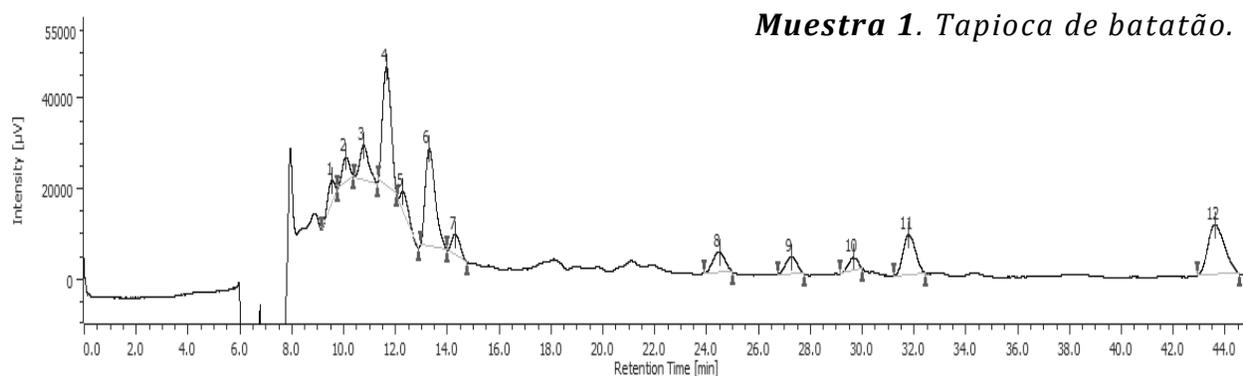
2.- El empleo de la metodología analítica mediante la cromatografía de líquidos acoplada a la espectrometría de masas (ESI) permitió identificar en los perfiles cromatográficos diferencias significativas en la composición química de las especies que conforman el complejo medicinal de la raíz de jalapa brasileña; es decir, entre la raíz de jalapa de flores blancas (*O. macrocarpa*) y la de flores amarillas (*O. hamiltonii*).

3.- En el presente estudio, las condiciones de HPLC-ESIMS se optimizaron para la determinación cualitativa de cinco ácidos glicosídicos constitutivos de la raíz de jalapa. El método de identificación es rápido y permitió determinar que las drogas crudas adquiridas en diferentes locales comerciales del norte de Brasil, corresponden a la raíz de jalapa. Se identificaron diferencias significativas de tipo cualitativo en el contenido de los ácidos glicosídicos entre los diferentes tipos de productos comerciales y las drogas crudas analizadas; sin embargo, todos contienen al ácido operculínico A, constituyente mayoritario de las resinas glicosídicas de *O. hamiltonii*.

4.- Los resultados confirmaron la importancia de realizar un control de calidad de los productos comerciales y se espera que este método de HPLC, a través de la derivatización química, proporcione una nueva base para la evaluación de muestras complejas en su contenido de glicolípidos individuales de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas.

5.- La aplicación de métodos analíticos y farmacéuticos para el control de calidad, la evaluación de la seguridad y la eficacia de los medicamentos tradicionales constituye el primer paso en el proceso de transferir la aplicación terapéutica tradicional al campo de la investigación clínica para su aplicación en el ámbito médico.

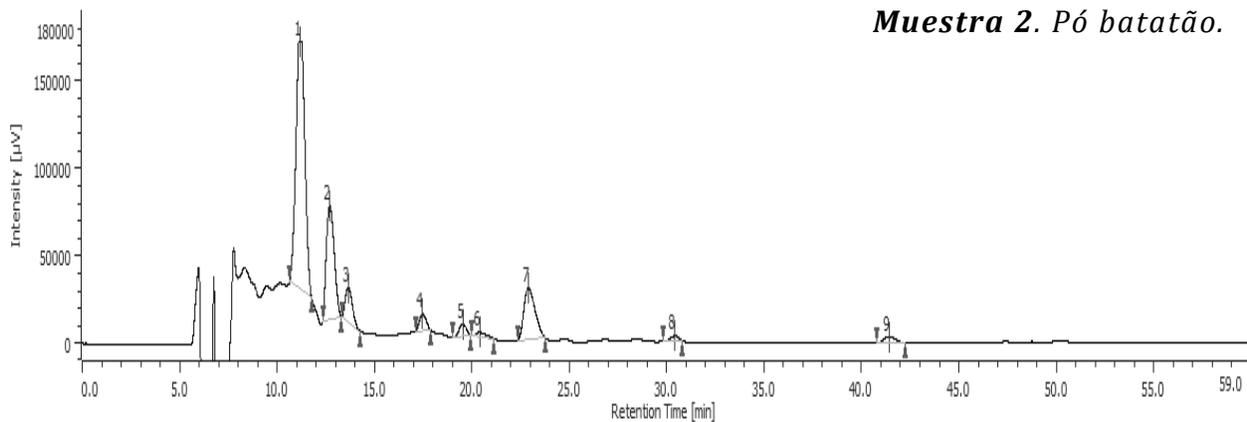
**ANEXO A. Cromatogramas HPLC-IR a nivel analítico, obtenidos a partir de drogas crudas (rodajas y pulverizadas) y drogas auténticas.**



NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	9.4	9.4	9.6	9.4 ± 0.1
2	9.9	9.9	10.1	9.9 ± 0.1
3	10.5	10.5	10.8	10.6 ± 0.2
4	11.3	11.3	11.6	11.4 ± 0.2
5	12.0	11.9	12.3	12.1 ± 0.2
6	12.8	12.8	13.3	13.0 ± 0.3
7	13.7	13.8	14.3	13.9 ± 0.3
8	23.1	23.2	24.5	23.6 ± 0.8
9	26.1	26.2	27.3	26.5 ± 0.7
10	28.3	28.3	29.6	28.7 ± 0.8
11	30.2	30.3	31.8	30.8 ± 0.9
12	41.0	41.1	43.6	41.9 ± 1.5

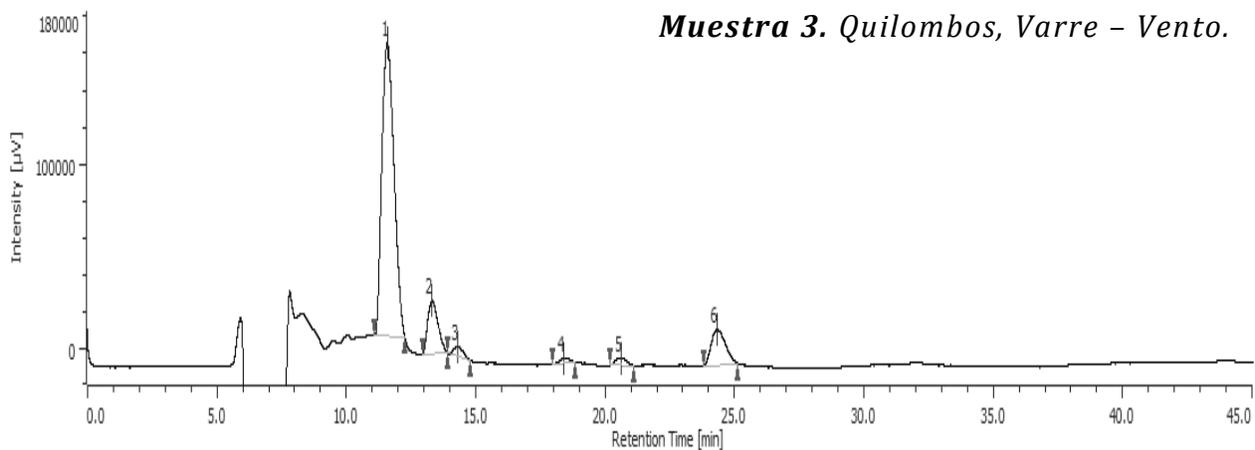
**Figura 37. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 1 peracetilada (tapioca de batatão) y tiempos de retención.**

**Muestra 2. Pó batatão.**



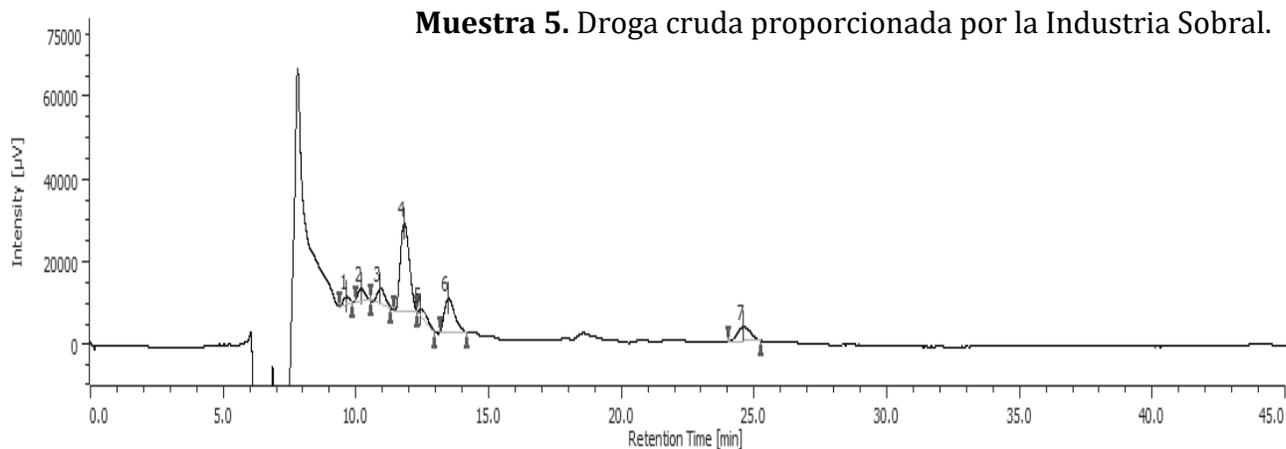
NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	11.4	11.3	11.2	11.3 ± 0.1
2	12.9	12.8	12.7	12.8 ± 0.1
3	13.9	13.8	13.6	13.8 ± 0.2
4	17.8	17.7	17.5	17.7 ± 0.2
5	19.9	19.8	19.5	19.7 ± 0.2
6	20.8	20.7	20.4	20.6 ± 0.2
7	23.4	23.2	22.9	23.2 ± 0.3
8	31.0	30.7	30.4	30.7 ± 0.3
9	42.4	41.8	41.4	41.9 ± 0.5

**Figura 38. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 2 peracetilada (Pó batatão) y tiempos de retención.**



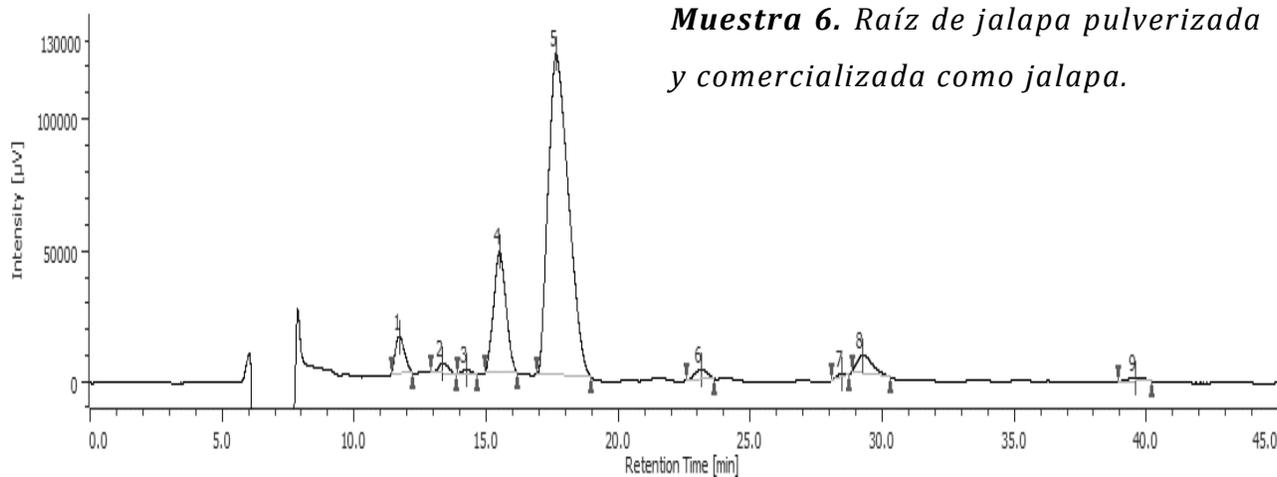
<b>NP</b>	<b>tr1</b>	<b>tr2</b>	<b>tr3</b>	<b>tr promedio</b>
<b>1</b>	11.2	11.6	11.4	11.4 ± 0.2
<b>2</b>	12.8	13.3	13.3	13.1 ± 0.3
<b>3</b>	13.7	14.3	14.3	14.1 ± 0.3
<b>4</b>	17.4	18.4	18.4	18.1 ± 0.6
<b>5</b>	19.4	20.6	20.6	20.2 ± 0.7
<b>6</b>	22.8	24.3	24.2	23.8 ± 0.8

**Figura 39. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 3 peracetilada (Quilombos, Varre - Vento) y tiempos de retención.**



NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	9.6	9.6	9.6	9.6 ± 0.0
2	10.1	10.2	10.2	10.2 ± 0.1
3	10.9	10.9	10.9	10.9 ± 0.0
4	11.8	11.8	11.8	11.8 ± 0.0
5	12.4	12.5	12.4	12.4 ± 0.1
6	13.4	13.5	13.5	13.5 ± 0.1
7	24.7	24.6	24.6	24.6 ± 0.1

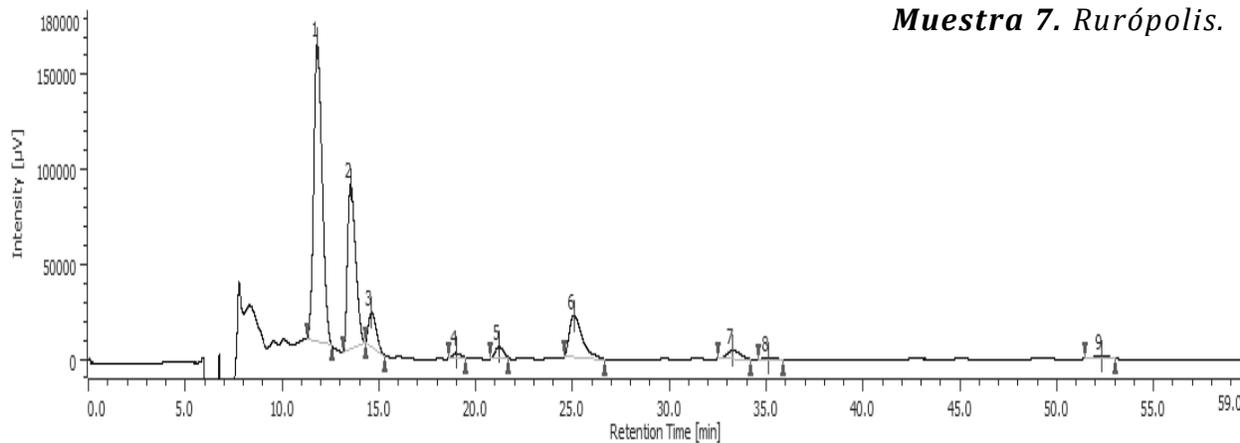
**Figura 40. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 5 (droga cruda proporcionada por la Industria Sobral) y tiempos de retención.**



NP	t <sub>R1</sub>	t <sub>R2</sub>	t <sub>R3</sub>	t <sub>R promedio</sub>
1	11.8	11.7	11.8	11.8 ± 0.1
2	13.4	13.3	13.5	13.4 ± 0.1
3	14.4	14.3	14.4	14.4 ± 0.1
4	15.6	15.5	15.6	15.6 ± 0.1
5	17.8	17.6	17.8	17.7 ± 0.1
6	23.3	23.1	23.4	23.3 ± 0.2
7	28.7	28.5	28.8	28.7 ± 0.2
8	29.4	29.2	29.5	29.4 ± 0.2
9	39.7	39.5	39.9	39.7 ± 0.2
10	52.1	52.1	52.5	52.2 ± 0.2
11	54.2	54.4	54.6	54.4 ± 0.2
12	56.4	56.6	56.8	56.6 ± 0.2

**Figura 41. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 6 (raíz de jalapa pulverizada y comercializada como jalapa) y tiempos de retención.**

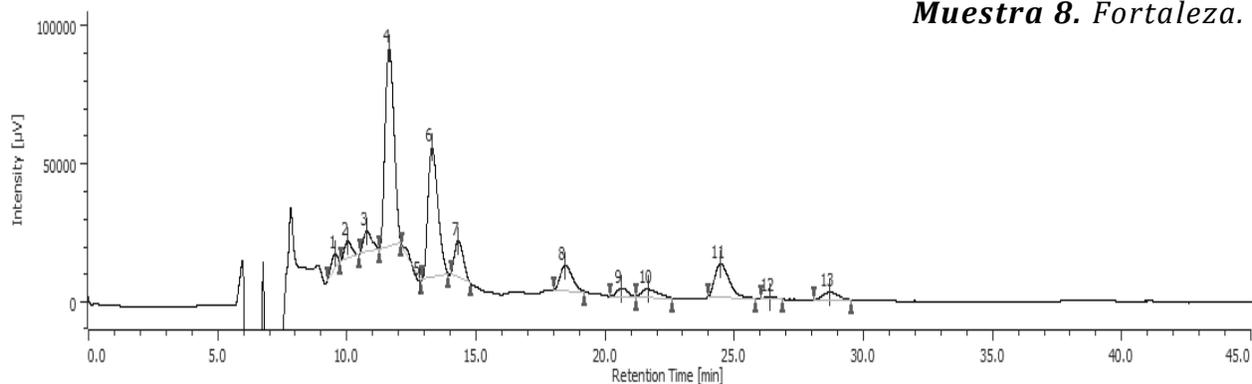
**Muestra 7. Rurópolis.**



NP	t <sub>R1</sub>	t <sub>R2</sub>	t <sub>R3</sub>	t <sub>R promedio</sub>
1	11.9	11.8	11.8	11.8 ± 0.1
2	13.6	13.5	13.5	13.5 ± 0.1
3	14.7	14.6	14.6	14.6 ± 0.1
4	19.0	19.0	18.9	19.0 ± 0.1
5	21.3	21.2	21.1	21.2 ± 0.1
6	25.3	25.1	25.0	25.1 ± 0.2
7	33.6	33.3	33.2	33.4 ± 0.2
8	35.2	35.1	35.0	35.1 ± 0.1
9	52.6	52.3	52.1	52.3 ± 0.3

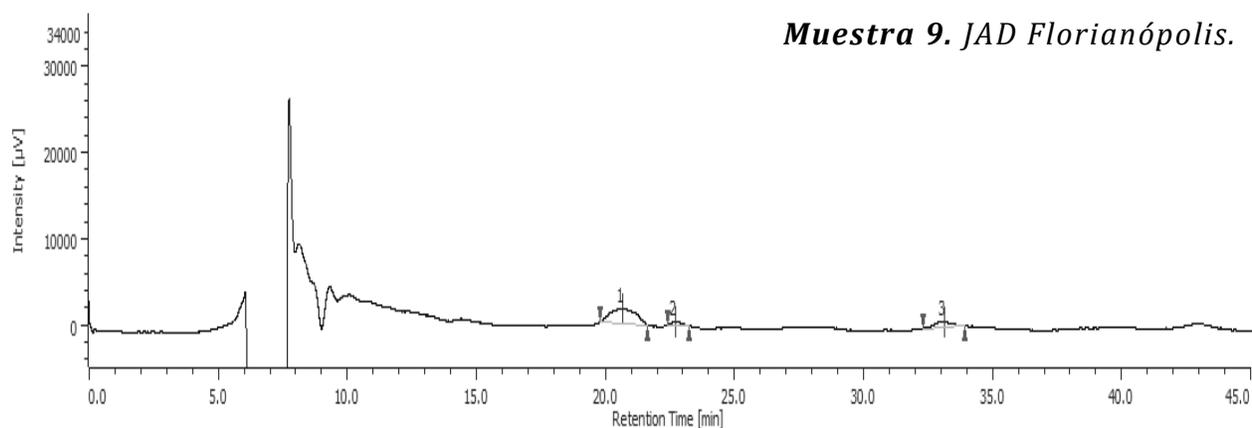
**Figura 42. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 7 peracetilada (Rurópolis) y tiempos de retención.**

**Muestra 8. Fortaleza.**



NP	t <sub>R1</sub>	t <sub>R2</sub>	t <sub>R3</sub>	t <sub>R promedio</sub>
1	9.6	9.5	9.5	9.5 ± 0.0
2	10.1	10.0	10.0	10.0 ± 0.1
3	10.8	10.8	10.7	10.8 ± 0.1
4	11.7	11.6	11.6	11.6 ± 0.1
5	12.4	12.8	12.2	12.5 ± 0.3
6	13.4	13.3	13.2	13.3 ± 0.1
7	14.4	14.3	14.2	14.3 ± 0.1
8	18.7	18.4	18.0	18.4 ± 0.4
9	20.9	20.6	20.1	20.5 ± 0.4
10	21.9	21.6	21.0	21.5 ± 0.5
11	24.8	24.4	23.6	24.3 ± 0.6
12	26.8	26.3	25.4	26.2 ± 0.7
13	29.2	28.7	27.6	28.5 ± 0.8

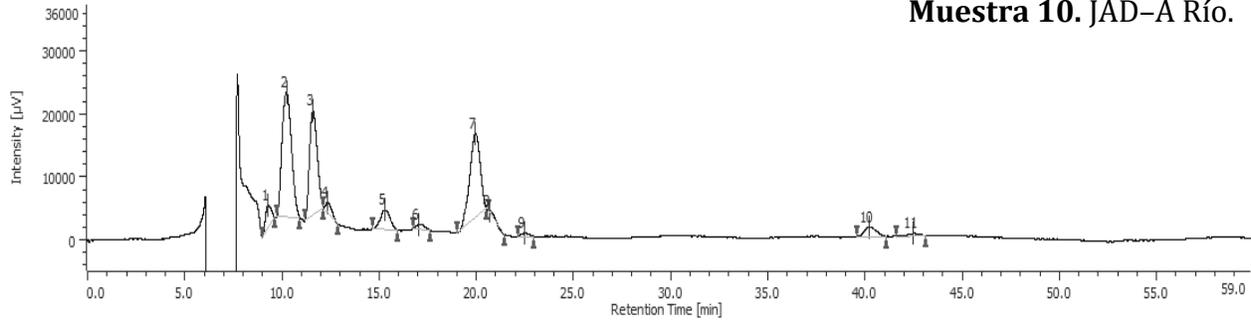
**Figura 43. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 8 peracetilada (Fortaleza) y tiempos de retención.**



NP	t <sub>R1</sub>	t <sub>R2</sub>	t <sub>R3</sub>	t <sub>R promedio</sub>
1	20.2	20.1	20.6	20.3 ± 0.3
2	22.9	22.8	22.7	22.8 ± 0.1
3	33.3	33.0	33.1	33.1 ± 0.2

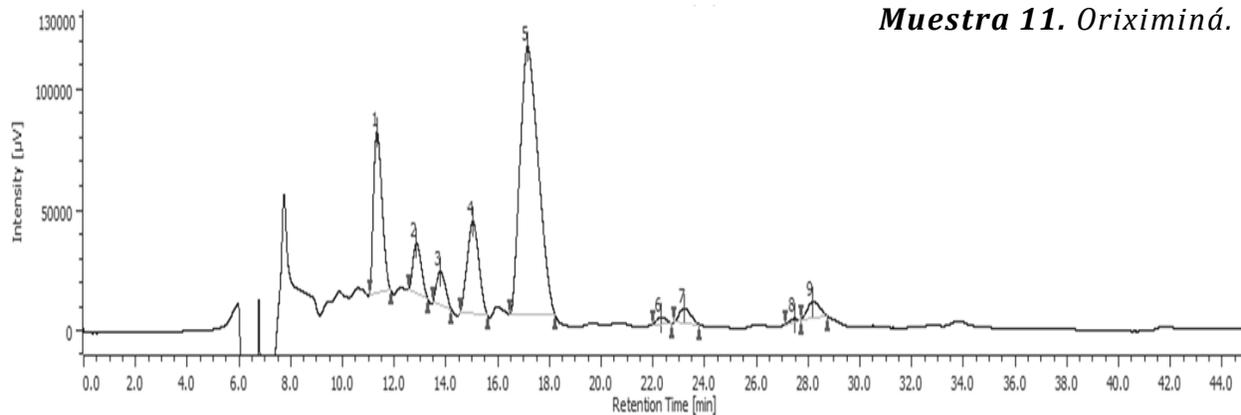
**Figura 44. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 9 peracetilada (JAD Florianópolis) y tiempos de retención.**

**Muestra 10. JAD-A Río.**



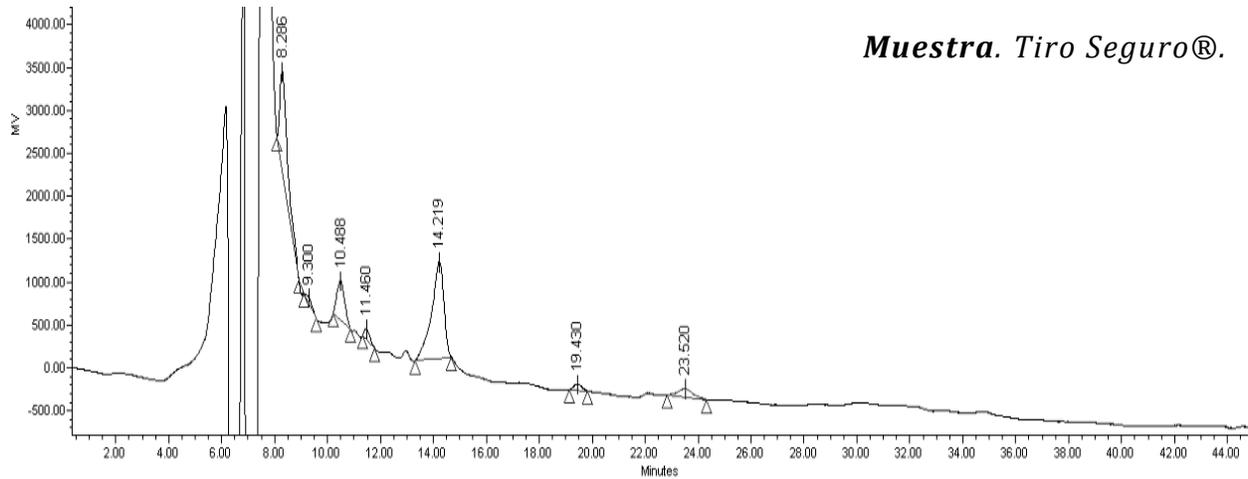
NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio		
1	9.3	9.3	9.3	9.3	±	0.0
2	10.2	10.2	10.2	10.2	±	0.0
3	11.6	11.6	11.6	11.6	±	0.0
4	12.4	12.3	12.3	12.3	±	0.1
5	15.4	15.3	15.3	15.3	±	0.1
6	17.2	17.0	17.0	17.1	±	0.1
7	20.1	19.9	19.9	20.0	±	0.1
8	20.9	20.6	20.6	20.7	±	0.2
9	22.6	22.5	22.5	22.5	±	0.1
10	40.7	40.2	40.0	40.3	±	0.4
11	43.1	42.5	42.2	42.6	±	0.5

**Figura 45. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 10 peracetilada (JAD-A Río) y tiempos de retención.**



NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	11.2	11.3	11.4	11.3 ± 0.1
2	12.6	12.9	12.9	12.8 ± 0.2
3	13.5	13.8	13.9	13.7 ± 0.2
4	14.8	15.0	15.1	15.0 ± 0.2
5	16.9	17.1	17.3	17.1 ± 0.2
6	21.8	22.3	22.6	22.2 ± 0.4
7	22.4	23.2	23.5	23.0 ± 0.6
8	26.8	27.5	27.8	27.4 ± 0.5
9	27.4	28.2	28.6	28.1 ± 0.6

**Figura 46 Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 11 peracetilada (Oriximiná) y tiempos de retención.**



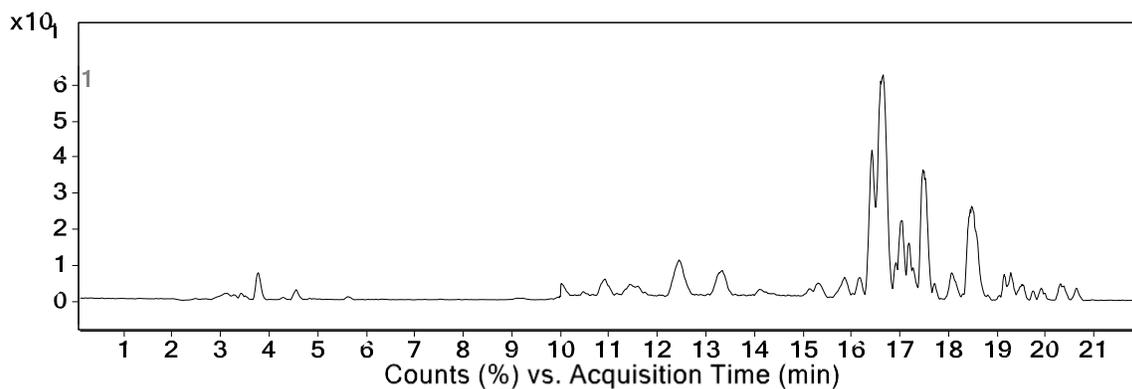
*Muestra. Tiro Seguro®.*

NP	tr1	tr2	tr3	tr promedio
1	8.285	8.286	8.287	8.3 ± 0.0
2	9.217	9.300	9.217	9.2 ± 0.0
3	10.813	10.488	10.422	10.6 ± 0.2
4	11.668	11.460	11.394	11.5 ± 0.1
5	14.254	14.219	14.155	14.2 ± 0.1
6	19.318	19.430	19.396	19.4 ± 0.1
7	24.005	23.520	23.129	23.6 ± 0.4

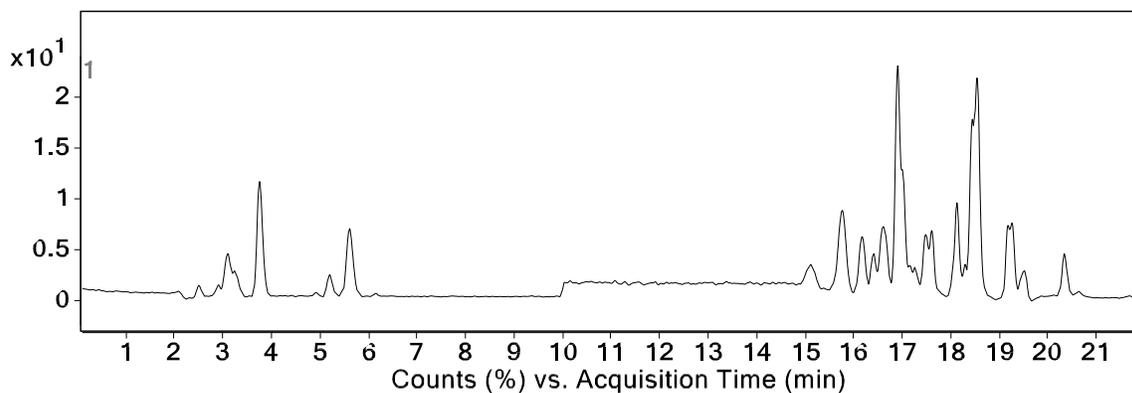
**Figura 47. Cromatograma de líquidos obtenido a partir de la Muestra 14 peracetilada (Tiro Seguro®) y tiempos de retención.**

## ANEXO B. Cromatogramas HPLC-ESIMS obtenidos a partir de las quince muestras analizadas.

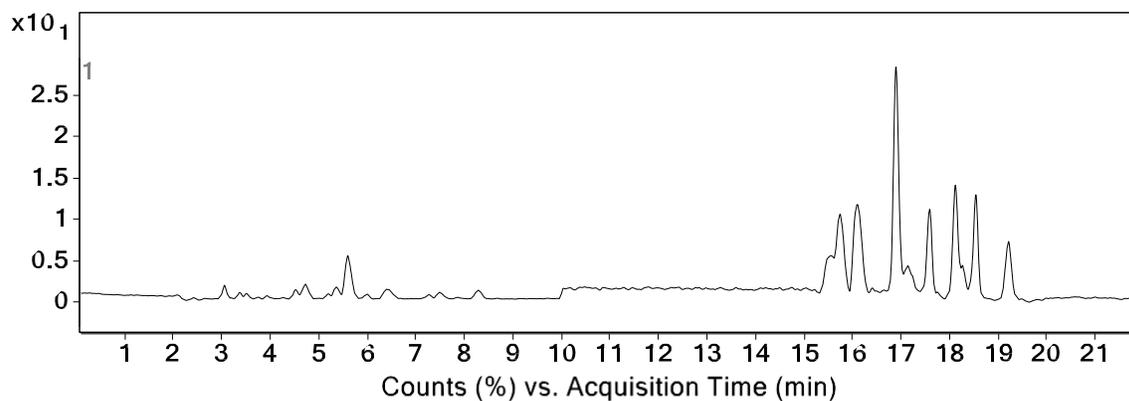
**Muestra 1.** Tapioca de batatão.



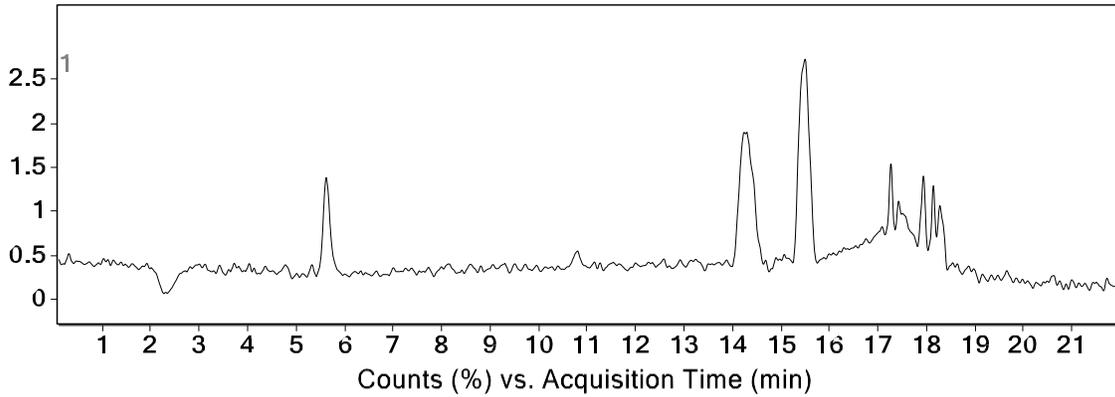
**Muestra 2.** Pó batatão.



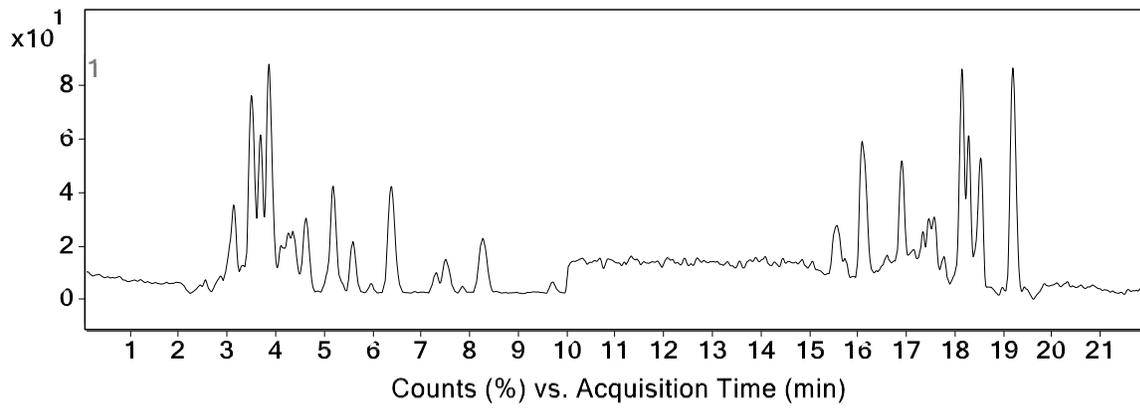
**Muestra 3.** Quilombos (Varre-Vento).



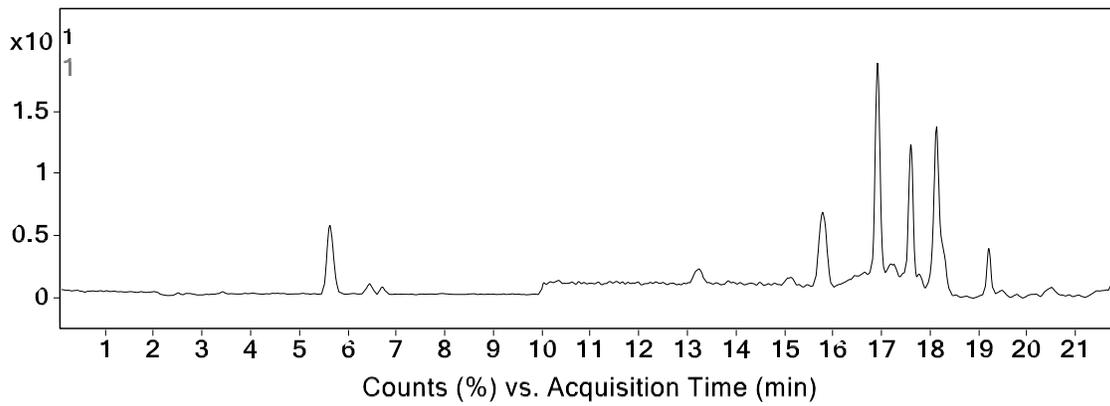
**Muestra 4. Jalapa auténtica Río.**



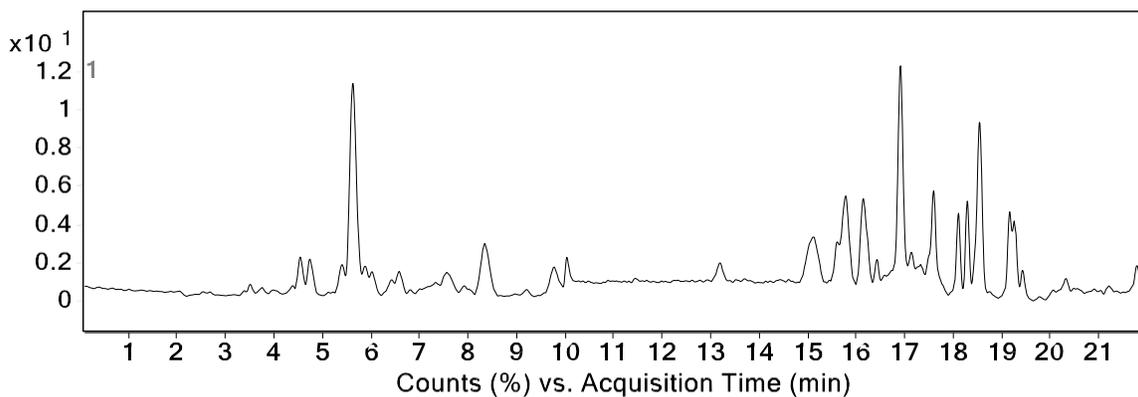
**Muestra 5. Droga cruda Sobral.**



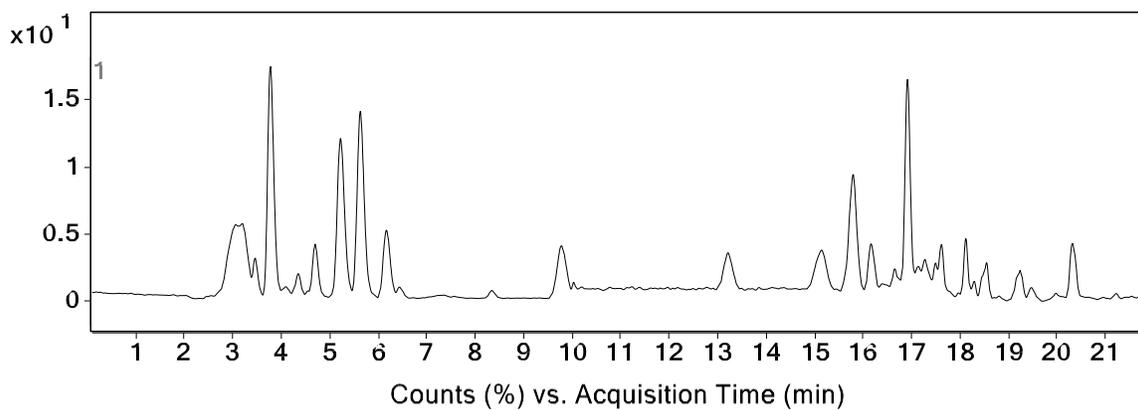
**Muestra 6. Jalapa 2000.**



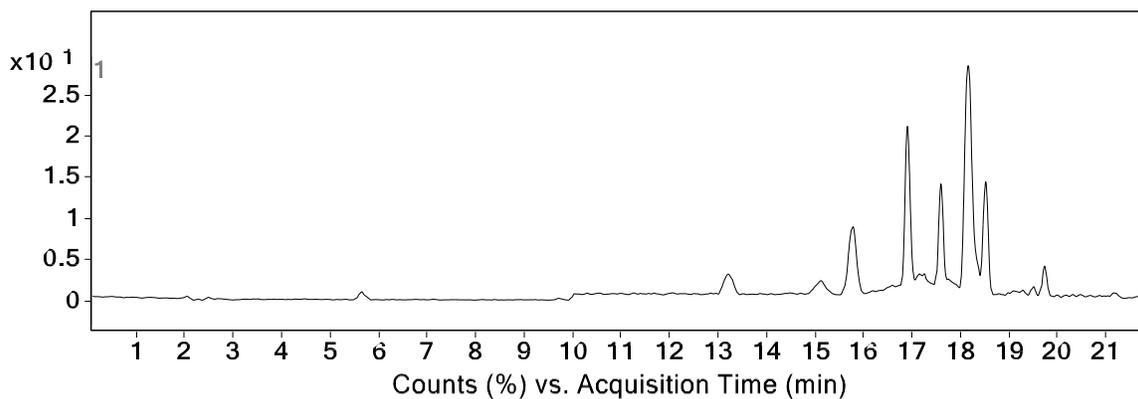
**Muestra 7. Rurópolis.**



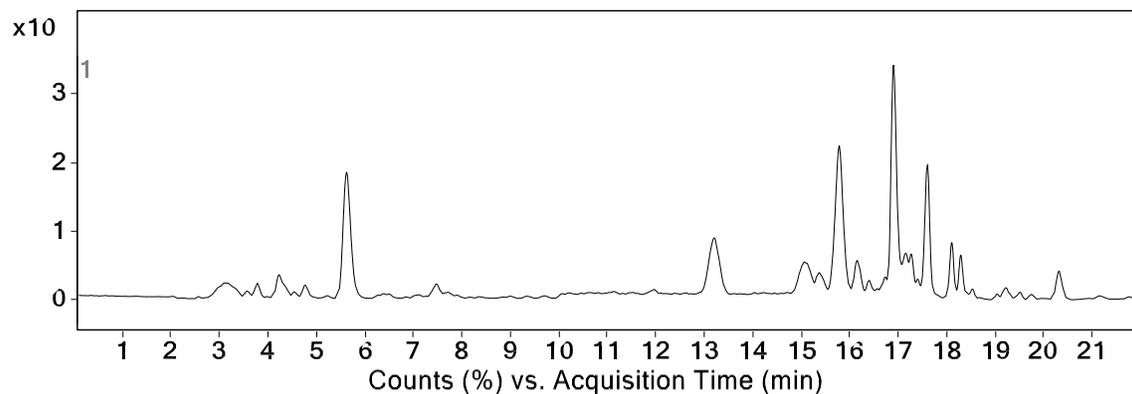
**Muestra 8. Fortaleza.**



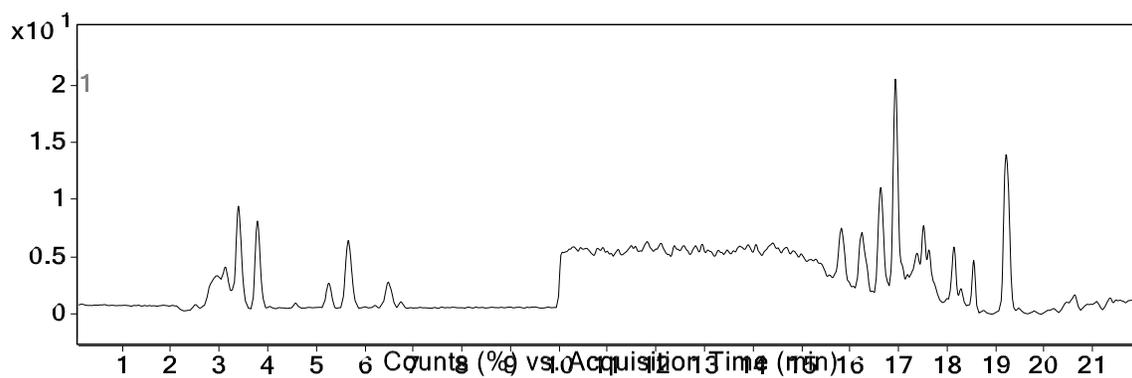
**Muestra 9. JAD Florianópolis.**



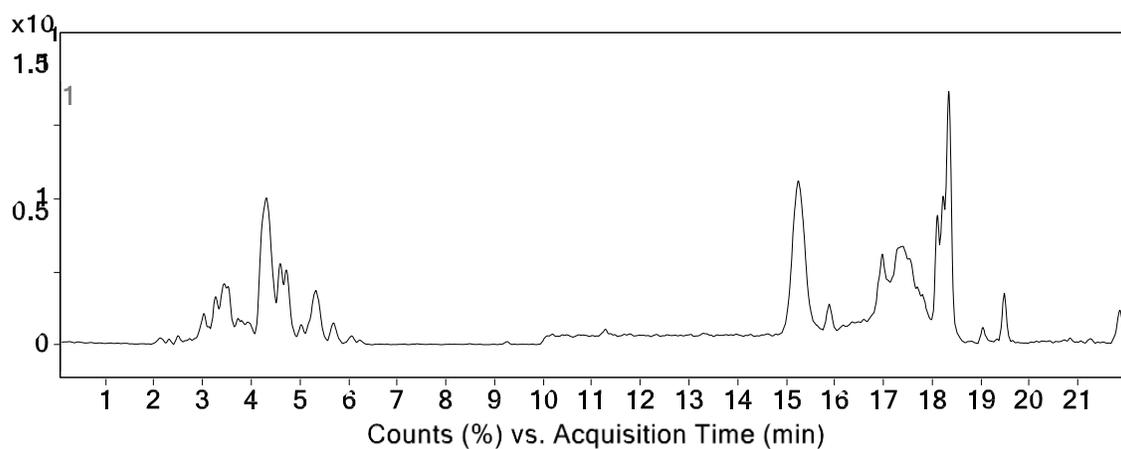
**Muestra 10. JAD Río.**



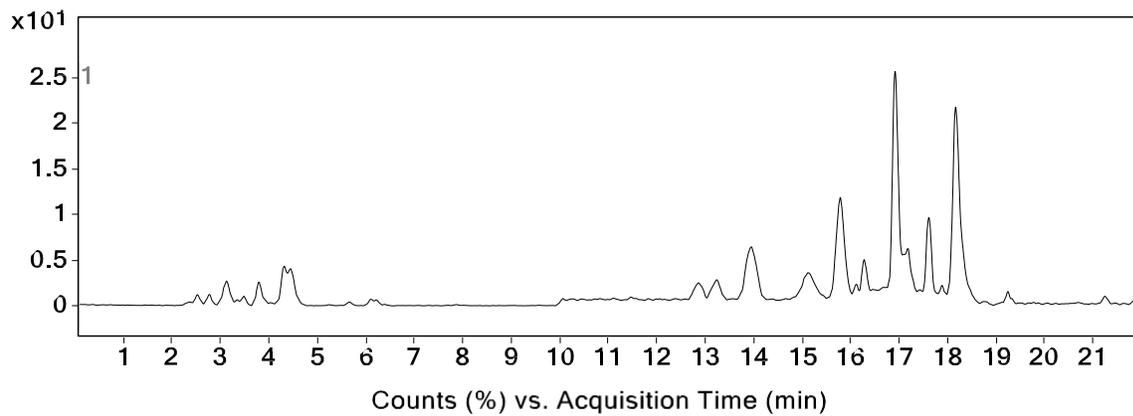
**Muestra 11. Oriximiná.**



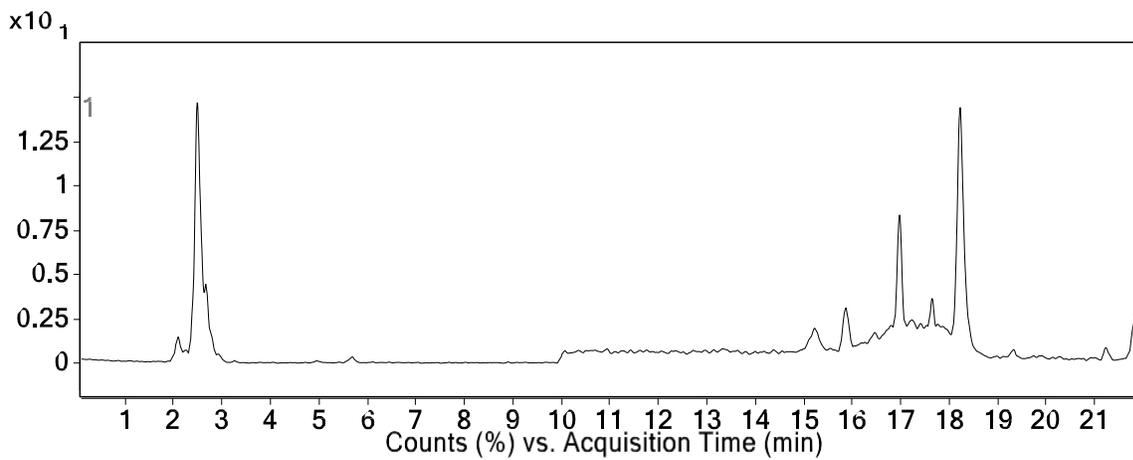
**Muestra 12. Pímulas Maciel.**



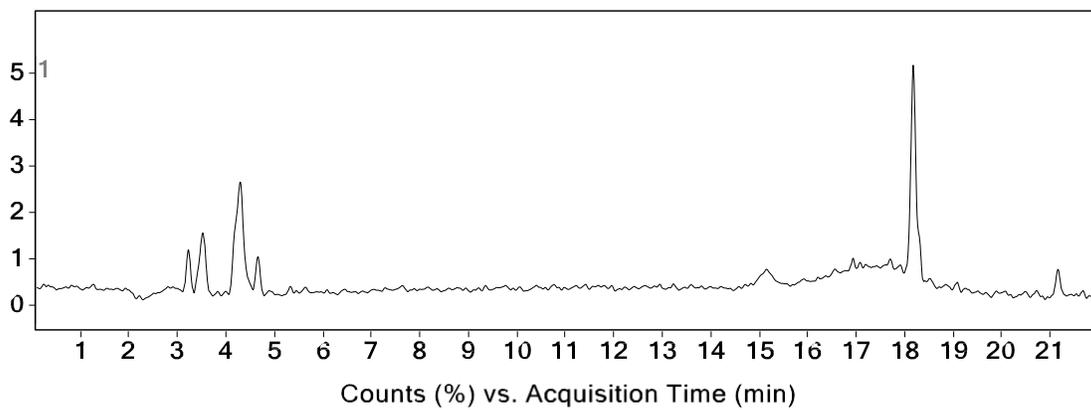
**Muestra 13. Tintura de jalapa Sobral.**



**Muestra 14. Tiro Seguro.**



**Muestra 15. Batatão Hypólito.**



## REFERENCIAS

1. Sharma, A., del Carmen Flores-Vallejo, R., Cardoso-Taketa, A., Villarreal, M. L. (2017). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 208, pp. 264-329.
2. Olano, I., Alonso, P., Cerdeiras, M. P., Fernandez, J., Ferreira, F., Moyna, P., Bassagoda, M. J. (1996). Screening of Uruguayan medicinal plants for antimicrobial activity. Part II. *Journal of Ethnopharmacology*, 53, pp. 111-115.
3. Felger, R. S., Austin, D. F., Van Devender, T. R., Sánchez-Escalante, J. J., Costea, M. (2012). *Convolvulaceae* of Sonora, Mexico. I. *Convolvulus*, *Cressa*, *Dichondra*, *Evolvulus*, *Ipomoea*, *Jacquemontia*, *Merremia*, and *Operculina*. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, pp. 459-527.
4. Pereda-Miranda, R., Rosas-Ramírez, D., Castañeda-Gómez, J. (2010). Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Vol. 92. (ed. Kinghorn, A. Douglas, Falk H, K. J.) pp. 77-153 (Springer Verlag).
5. Song, W. B., Wang, W. Q., Zhang, S. W., & Xuan, L. J. (2015). Multidrug resistance-reversal effects of resin glycosides from *Dichondra repens*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25, pp. 795-798.
6. Galvao, M. A. M., Ferreira, M., Nunez, B., Santana, A., Randau, K., Soares, L. (2014). Validation of a spectrophotometric methodology for the quantification of polysaccharides from roots of *Operculina macrocarpa* (jalapa). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 24, pp. 683-690.
7. Pereda-Miranda, R., Fragoso-Serrano, M., Escalante-Sánchez, E., Hernández-Carlos, B., Linares, E., Bye, R. (2006). Profiling of the resin glycoside content of Mexican jalap roots with purgative activity. *Journal of Natural Products*, 69, pp. 1460-1466.

8. Eich, E. (2008). *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites: Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance (A Handbook)*. Springer Science & Business Media. 637 pp.
9. Instituto de Biología. *Operculina hamiltonii* (G. Don) D.F. Austin & Staples – IBUNAM, UNIBIO (2010). Colecciones biológicas. Consultado en: <http://unibio.unam.mx/> (18/10/2018).
10. Austin, D. F., Huáman, Z. (1996). A synopsis of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the Americas. *Taxon*, pp. 3-38.
11. Bunn, K. (2012). *Glossário da Medicina de Samael Aun Weor (1ª Ed.)*. Editorial EDISAW: Paraná, Brasil, 499 pp.
12. Comissão Pró-Índio de São Paulo. (2018). Comissão Pró-Índio de São Paulo: Consultado en: CPISP.: <http://cpisp.org.br/> (09/11/2018).
13. O'Dwyer, E. C. (2002). *Quilombos. Identidade étnica y territorialidade*. Editora FGV: Rio de Janeiro, Brasil, pp. 256-257.
14. Leitão, F., Fonseca-Kruel, V. S. D., Silva, I. M., Reinert, F. (2009). Urban ethnobotany in Petrópolis and Nova Friburgo (Rio de Janeiro, Brazil). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(1B), pp. 333-342.
15. Oliveira, D. R., Krettli, A. U., Aguiar, A. C. C., Leitão, G. G., Vieira, M. N., Martins, K. S., Leitão, S. G. (2015). Ethnopharmacological evaluation of medicinal plants used against malaria by quilombola communities from Oriximiná, Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 173, pp. 424-434.
16. Silva, E. R. D., Oliveira, D. R. D., Melo, M. D. F. F., Bizzo, H. R., Leitão, S. G. (2016). Report on the Malungo expedition to the Erepecuru river, Oriximiná, Brazil. Part I: Is there a difference between black and white breu? *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, pp. 647-656.

17. Bitu, V. C. N., Matias, E. F. F., Ribeiro-Filho, J., Vega, C., Coronel, C., Rolón, M., Menezes, I. R. A. (2017). Chemical profile, cytotoxic and antiparasitic activity of *Operculina hamiltonii*. South African Journal of Botany, 112, pp. 447-451.
18. Baldauf, C., Kubo, R. R., Silva, F., Irgang, B. E. (2009). Ferveu, queimou o ser da erva: conhecimentos de especialistas locais sobre plantas medicinais na região Sul do Brasil. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, 11, pp. 282-329.
19. Hortencio, L. (2016). As pilulas de vida do Dr. Ross e as pilulas purgativas do Cirurgião Mattos | GGN. Consultado em: <https://jornalggn.com.br/blog/lucianohortencio/as-pilulas-de-vida-do-dr-ross-e-as-pilulas-purgativas-do-cirurgiao-mattos> (20/11/2018).
20. Remedio Tiro Seguro, 1932 (2018). Propagandas históricas. Consultado em: <https://www.propagandashistoricas.com.br/2013/02/remedio-tiro-seguro-1932.html> (25/11/2018).
21. Michelin, D. C., Salgado, H. R. N. (2004). Evaluation of the laxative activity of *Operculina macrocarpa* L. Urban (*Convolvulaceae*). Revista Brasileira de Farmacognosia, 14, pp. 105-109.
22. Gonçalves, E. S., Silva, E. J. R., Aguiar, F. J. S., Dimech, G. S., Rolim-Neto, P. J., Fraga, M. C. C. (2007). Chronic toxicological evaluation of the hydroalcoholic extract of *Operculina alata* (Ham.) Urban on biochemical and hematological parameters in female rats Wistar. Lat. Am. J. Pharm., 26, pp. 369-74.
23. Cunha, G. H., Fachine, F. V., Santos, L. K., Pontes, A. V., Oliveira, J. C., Moraes, M. O., Moraes, M. E. (2011). Efficacy of the tincture of jalapa in the treatment of functional constipation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. Contemporary Clinical Trials, 32, pp. 153-159.
24. Santos, L.K.X.D., Cunha, G.H.D., Fachine, F.V., Pontes, A.V., Oliveira, J.C.D., Bezerra, F.A.F., Moraes, M.O.D. and Moraes, M.E.A.D. (2012). Toxicology and safety of the tincture of

*Operculina alata* in patients with functional constipation. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 48, pp. 469-476.

25. Flores Salazar, D. D. (2016). Caracterización del núcleo oligosacárido constitutivo de la resina de *Ipomoea alulata*, un remedio purgante. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
26. Bárcenas Jiménez, N. R. (2018). "Aplicación de la cromatografía de líquidos en la resolución de los ácidos glicosídicos mayoritarios de la jalapa brasileña". Tesis de Maestría. Programa en Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México.
27. González Pozos, L. (2018). Purificación mediante HPLC y elucidación estructural de un pentasacárido del ácido 12-hidroxiocetadecanoico de la jalapa brasileña (*Ipomoea hamiltonii*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.
28. Castañeda-Gómez, J., Rosas-Ramírez, D., Cruz-Morales, S., Fragoso-Serrano, M., Pereda-Miranda, R. (2017). HPLC-MS profiling of the multidrug-resistance modifying resin glycoside content of *Ipomoea alba* seeds. Revista Brasileira de Farmacognosia, 27(4), pp. 434-439.
29. Moghe, G. D., Leong, B. J., Hurney, S. M., Jones, A. D., & Last, R. L. (2017). Evolutionary routes to biochemical innovation revealed by integrative analysis of a plant-defense related specialized metabolic pathway. eLife, 6, p. e28468.
30. Ono, M., Nishioka, H., Fukushima, T., Kunimatsu, H., Mine, A., Kubo, H., Miyahara, K. (2009). Components of ether-insoluble resin glycoside (Rhamnoconvolvulin) from Rhizoma Jalapae braziliensis. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 57, pp. 262-268.