



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

Purificación y elucidación estructural de un lipotetrasacárido de
Operculina hamiltonii

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

PAOLA ALEJANDRA RAMÍREZ RODRÍGUEZ



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2022



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:

PRESIDENTE: Profesor: Pereda Miranda Rogelio Gregorio

VOCAL: Profesora: Rivero Cruz Blanca Estela

SECRETARIO: Profesor: Figueroa Saldívar Mario Alberto

1er. SUPLENTE: Profesora: Hernández Garciadiego Lucia

2° SUPLENTE: Profesora: Fragoso Serrano Mabel Clara

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

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

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda

SUPERVISORA TÉCNICA:

Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano

SUSTENTANTE:

Paola Alejandra Ramírez Rodríguez

Agradecimientos

A la Dirección General de Asuntos de Personal Académico (DGAPA) por el financiamiento parcial de esta investigación otorgado a través del proyecto IN208019.

Al personal de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química, por la obtención de los espectros de RMN.

Al personal del Laboratorio Nacional de Ciencias para la investigación y Conservación del Patrimonio Cultural (LANCIC) del Instituto de Química, por la obtención de los espectros de EM.

Al Dr. Rogelio Pereda Miranda por permitirme formar parte de su equipo de trabajo, por las observaciones y por los conocimientos transmitidos, así también, por su asesoría, paciencia y apoyo brindados para llevar a cabo esta investigación.

A la Dra. Mabel Frago Serrano por brindarme la oportunidad de trabajar en el laboratorio 123, por el tiempo, dedicación y apoyo compartido, por su constante interés y por guiarme durante la realización del presente trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por la formación profesional que me han brindado.

ÍNDICE

ÍNDICE	I
RESUMEN	III
LISTA DE ABREVIATURAS	IV
LISTA DE CUADROS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Familia Convolvulaceae	3
2.2 Género <i>Ipomoea</i>	5
2.3 La raíz de jalapa en México y Brasil.....	6
2.3.1 Especies endémicas de México.....	6
2.3.2 Especies endémicas de Brasil	10
2.4 <i>Operculina hamiltonii</i>	12
2.4.1 Descripción taxonómica y botánica.....	12
2.4.2 Sinonimia y nombres vernáculos	14
2.4.3 Usos medicinales de la raíz de jalapa.....	14
2.5 Metabolitos secundarios de la familia Convolvulaceae	16
2.5.1 Resinas glicosídicas	17
2.5.2 Composición estructural	17
2.5.3 Composición química.....	18
2.5.4 Resinas glicosídicas presentes en el género <i>Operculina</i>	20
2.6 Técnicas utilizadas para el aislamiento y purificación de resinas	24
2.6.1 Métodos de separación.....	24
2.7 Elucidación estructural	28
2.7.1 Métodos químicos degradativos	28
2.7.2 Métodos no degradativos.....	28
3. JUSTIFICACIÓN	30
4. OBJETIVOS	31
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	32
5.1 Métodos cromatográficos.....	32
5.2 Materia vegetal.....	32

5.3 Extracción	33
5.4 Fraccionamiento primario.....	33
5.5 Aislamiento y purificación.....	34
5.5.1 HPLC a escala analítica.....	34
5.5.2 Purificación	35
5.6 Determinación de constantes físicas y propiedades espectroscópicas.....	36
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
6.1 Extracción	37
6.2 Fraccionamiento primario del extracto orgánico.....	37
6.3 Aislamiento y purificación de las resinas mediante HPLC	39
6.3.1 Análisis por HPLC a escala analítica	39
6.3.2 Análisis por HPLC a escala preparativa.....	40
6.3.3 Purificación del pico F9P8	40
6.4 Elucidación estructural del componente mayoritario	42
6.4.1 Elucidación del núcleo oligosacárido	43
6.4.2 Elucidación de los constituyentes intactos.....	48
7. CONCLUSIONES.....	54
8. REFERENCIAS	55
9. ANEXOS	59

RESUMEN

Operculina hamiltonii (G. Don) D.F. Austin & Staples es una enredadera de flores amarillas sucedánea de la auténtica jalapa de Brasil (*Operculina macrocarpa*), común en el norte del territorio brasileño, donde sus raíces son motivo de un extenso comercio para fines terapéuticos. Las propiedades medicinales están asociadas a la presencia de resinas glicosídicas, metabolitos característicos de la familia Convolvulaceae, cuya estructura corresponde a un ácido graso mono o dihidroxilado, generalmente de 14 a 18 átomos de carbono, enlazado a un núcleo oligosacárido, lo que le brinda a estos compuestos propiedades anfipáticas.

El presente trabajo describe el estudio químico de la raíz comercial de jalapa brasileña (*Operculina hamiltonii*) y abarca el aislamiento, la purificación y la caracterización estructural de una resina novedosa presente en el extracto orgánico obtenido de las raíces pulverizadas de la droga cruda en estudio. El aislamiento se llevó a cabo mediante HPLC en fase reversa, empleando las técnicas de corte y rasurado de núcleo. De estas fracciones aisladas se logró purificar un tetrasacárido del ácido jalapínico (11-hidroxihexadecanoico) a través de la técnica de reciclaje.

La elucidación estructural se realizó haciendo uso de las técnicas de RMN en 1D y 2D (homonuclear y heteronuclear), donde se determinó la secuencia de glicosilación del núcleo tetrasacárido para el compuesto intacto, constituido por tres unidades de L-ramnosa y una de D-fucosa y esterificado en la posición C-2 de la segunda unidad de ramnosa por una unidad del ácido *n*-dodecanoico. De igual manera, se determinó que la aglicona forma una macrolactona al esterificar la posición C-3 de la primera unidad de ramnosa.

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
[M + Na] ⁺	Catión de la molécula protonada
[M – H] ⁻	Anión de la molécula desprotonada
1D	Una dimensión
2D	Dos dimensiones
C ₆ H ₁₄	Hexano
CCA	Cromatografía en Columna Abierta
CCF	Cromatografía en Capa Fina
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CH ₃ CN	Acetonitrilo
cm	Centímetro
COSY	Espectroscopía de Correlación Homonuclear
d	Doblete
dd	Doble de doble
dq	Doble cuarteto
EM	Espectrometría de Masas
Fuc	Fucosa
g	Gramos
H ₂ O	Agua
HMBC	Correlación Heteronuclear a Múltiples Enlaces
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
HRESIMS	Espectrometría de Masas de Ionización por “electrospray” de Alta Resolución

HSQC	Correlación Heteronuclear de Sistemas Cuánticos Simples
Hz	Hertz
IR	Índice de refracción
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
Me ₂ CO	Acetona
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
MHz	Mega Hertz
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NOESY	Espectroscopia de Mejoramiento Nuclear de Overhauser
Piridina- <i>d</i> ₅	Piridina deuterada
Ram	Ramnosa
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
ROESY	Espectroscopia de Mejoramiento de Overhauser de Marco Giratorio
t	Triplete
TOCSY	Espectroscopía de Correlación Total
t _R	Tiempo de retención
δ	Desplazamiento químico
μL	Microlitro
μm	Micrómetro

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Información taxonómica de <i>Operculina hamiltonii</i> (G. Don) Austin & Staples.....	12
Cuadro 2. Sinonimias de <i>Operculina hamiltonii</i> (G. Don) Austin & Staples	14
Cuadro 3. Fraccionamiento primario del extracto total de <i>Operculina hamiltonii</i> ..	34
Cuadro 4. Rendimientos del fraccionamiento primario del extracto total	37
Cuadro 5. Constantes espectroscópicas en la RMN ^1H (500 MHz) y ^{13}C (100 MHz) del compuesto F9P8.....	52
Cuadro 6. Constantes espectroscópicas en la RMN ^1H (500 MHz) y ^{13}C (100 MHz) del ácido operculínico C (Ono M et al., 1989).	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Ipomoea purpurea</i> (L.) Roth (Convolvulaceae)	3
Figura 2. <i>Ipomoea purga</i> (Wender) Hayne	4
Figura 3. <i>Ipomoea pes-caprae</i> (L.) R. Br	6
Figura 4. Ilustración del Folium 32 rectum del Manuscrito de la Cruz-Badiano; enredadera " <i>Uelicpahtli</i> "	8
Figura 5. La raíz de jalapa en los tratados europeos de historia natural	9
Figura 6. Raíces de jalapas secas en rodajas a la venta en mercados de plantas medicinales de la Ciudad de México	10
Figura 7. Distribución del complejo de plantas medicinales de la raíz de jalapa brasileña	11
Figura 8. <i>Operculina hamiltonii</i> (G. Don) Austin & Staples	13
Figura 9. Raíz de jalapa brasileña droga cruda, droga cruda pulverizada y fitofármacos.....	16
Figura 10. Estructura general de un glicolípido constituyente de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas.....	18
Figura 11. Unidades monosacáridas presentes en las resinas glicosídicas.....	19
Figura 12. Resinas glicosídicas aisladas de <i>O. macrocarpa</i>	21
Figura 13. Estructura de ácidos operculínicos aislados de <i>O. macrocarpa</i>	22
Figura 14. Estructuras de los ácidos turpéticos A - C, aislados a partir de <i>O. turpethum</i>	23
Figura 15. Estructura de los ácidos operculínicos H - J aislados de <i>O. macrocarpa</i>	23
Figura 16. Núcleos oligosacáridos constitutivos de las resinas glicosídicas de <i>O. hamiltonii</i>	24
Figura 17. Reciclaje en HPLC y purificación mediante corte de núcleo y rasurado de pico.....	27
Figura 18. Muestra comercial de raíces pulverizadas de jalapa brasileña	33
Figura 19. Placa cromatográfica de las fracciones F1-F12, usando como referencia a la tricolorina A.....	38
Figura 20. Espectro de RMN ¹ H de la fracción 9 (400 MHz, piridina- <i>d</i> ₅)	39

Figura 21. Cromatograma de HPLC a escala analítica correspondiente a la fracción 9.....	39
Figura 22. Perfil cromatográfico a escala preparativa que muestra los picos aislados mediante la técnica de “corte de núcleo” de la fracción 9	40
Figura 23. Purificación del pico mayoritario correspondiente a los 27.7 minutos de la fracción F9P8, utilizando la técnica de “corte y rasurado de pico”	41
Figura 24. Purificación del componente mayoritario de la fracción con clave F9P828, utilizando la técnica de “reciclaje de pico”	42
Figura 25. Espectro RMN ¹ H del compuesto F9P8 (500 MHz, piridina- <i>d</i> ₅).....	44
Figura 26. Espectro COSY para las unidades sacáridas del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina- <i>d</i> ₅).....	45
Figura 27. Espectro TOCSY de la porción oligosacárida del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina- <i>d</i> ₅).....	46
Figura 28. Espectro HSQC de la porción oligosacárida del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina- <i>d</i> ₅).....	47
Figura 29. Espectro HMBC indicando la secuencia de glicosilación del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina- <i>d</i> ₅).....	47
Figura 30. Estructura del ácido operculínico C	48
Figura 31. Comparativo entre espectros de RMN ¹³ C del compuesto F9P8 (trazo superior) y el compuesto F4P7 (trazo inferior).	49
Figura 32. Estructura del compuesto purificado F4P7.....	49
Figura 33. Espectro RMN ¹ H del compuesto F9P8 (500 MHz, piridina- <i>d</i> ₅).....	50
Figura 34. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto F9P8 (100 MHz, piridina- <i>d</i> ₅)	51
Figura 35. Estructura del compuesto F9P8	51

1. INTRODUCCIÓN

La terapia basada en plantas data de los orígenes de las civilizaciones, y su papel ha sido importante en la salud de la humanidad a lo largo del tiempo. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, las plantas medicinales representan la mejor fuente para obtener medicamentos (Paganotte et al., 2016).

Actualmente, la mayoría de las poblaciones utilizan fitomedicamentos como tratamientos medicinales, aunque un número reducido de especies han sido estudiadas desde el punto de vista químico y farmacológico (Paganotte et al., 2016). En este sentido, las plantas medicinales son una fuente importante de compuestos denominados metabolitos secundarios, los cuales presentan estructuras químicas únicas, que resultan de interés farmacológico. Tal es el caso de las resinas glicosídicas, que se encuentran de manera característica en especies de la familia Convolvulaceae, especies que han sido utilizadas en la preparación de remedios herbolarios desde la antigüedad (Galvão et al., 2014). En específico, las resinas glicosídicas forman parte del grupo de metabolitos conocidos como glicolípidos, cuyo origen biosintético es mixto, presentan un alto peso molecular y una elevada complejidad estructural.

Hasta la fecha, cientos de estos metabolitos se han aislado a partir de diferentes géneros de la familia Convolvulaceae. Numerosas actividades biológicas y farmacológicas de algunas especies pertenecientes a esta familia, tales como citotoxicidad, reversión de la resistencia a múltiples fármacos, actividades inhibitoras del crecimiento, así como efectos sobre el sistema nervioso central (Song et al., 2015), se atribuyen a su contenido rico en resinas glicosídicas.

Aunque las investigaciones químicas de las resinas iniciaron durante la segunda mitad del siglo XIX, la estructura de estos principios activos sigue siendo poco conocida. No fue hasta mediados del siglo XX que las técnicas modernas de aislamiento analítico utilizadas en conjunto con métodos espectroscópicos facilitaron la elucidación de los constituyentes intactos de las resinas glicosídicas (Pereda-Miranda et al., 2010).

De esta manera, en el presente trabajo se describe el estudio químico de la raíz comercial de jalapa brasileña (*Operculina hamiltonii*) y abarca el aislamiento, la purificación y la caracterización estructural de una resina novedosa presente en el extracto orgánico obtenido de las raíces pulverizadas de la droga cruda en estudio.

2. ANTECEDENTES

2.1 Familia Convolvulaceae

Las convolvuláceas, también conocidas como campanillas, manto de la virgen o quiebraplatos, pertenecen al grupo de las angiospermas. Esta familia consta de unos 55-60 géneros con aproximadamente 1600-1700 especies cosmopolitas, distribuidas en regiones tropicales y subtropicales (Xu & Chang, 2017).



Figura 1. *Ipomoea purpurea* (L.) Roth (Convolvulaceae) es una especie que se desarrolla en las zonas tropicales de ambos hemisferios. Por el atractivo de sus flores pertenece al grupo conocido como “quiebraplatos”, especies empleadas en rituales mágico-religiosos y popularmente como alucinógenos, analgésicos, antiinflamatorios y purgantes (Monsalvo et al., 2018).

El nombre Convolvulaceae deriva del latín *convolvere*, que significa entrelazado, y se refiere al crecimiento característico de la familia, que incluye a especies herbáceas, trepadoras, arbustivas y arbóreas bajas, que entrelazadas se envuelven alrededor de un soporte. Desde el punto de vista morfológico (Fig. 1), estas plantas presentan hojas enteras, simples y alternas (Fig. 1.1); los tallos son generalmente trepadores (Fig. 1.2) y también erectos; sus flores son grandes y vistosas con cinco sépalos libres (Fig. 1.3); la corola con cinco pétalos soldados en forma de embudo radial y simétrico (Fig. 1.4); y sus frutos son cápsulas con semillas que algunas veces están cubiertas por vellosidades (Pereda-Miranda et al., 2010; Lira-Ricárdez, 2019).

Dentro de las características anatómicas más importantes de esta familia es la presencia de células que secretan resinas glicosídicas en sus tejidos foliares y florales, las semillas y el peridermo de las raíces tuberosas. Estas resinas representan un importante marcador químico de la familia y son las responsables de la actividad purgante que tienen los tubérculos de las especies productoras (Fig. 2), la cual ha sido de utilidad en la medicina tradicional alrededor de todo el mundo (Meira et al., 2012; Pereda-Miranda et al., 2010), como las raíces de las jalapas mexicana (*Ipomoea purga*), hindú (*Operculina turpethum*) y brasileña (*Operculina macrocarpa*) (Montiel-Ayala et al., 2021).



Figura 2. *Ipomoea purga* (Wender) Hayne es una enredadera perenne nativa de México pero que se encuentra sólo en las laderas orientales de la Sierra Madre Oriental en los estados de Hidalgo, Puebla y Veracruz. Es una de las especies del género *Ipomoea* del Nuevo Mundo que forman el complejo de plantas medicinales conocido como la “raíz de jalapa” que también incluye a las especies *I. jalapa*, *I. orizabensis* e *I. simulans*, entre otras. Esta planta es la especie característica (“Official Jalapae Radix”) y se ha utilizado en medicina tradicional como un purgante suave desde la época prehispánica (Castañeda-Gómez & Pereda-Miranda, 2011).

2.2 Género *Ipomoea*

El género *Ipomoea* es uno de los más grandes y diversos de la familia Convolvulaceae, pues contiene entre 600 y 700 especies (Nimmakayala et al., 2011). La mayor parte de las especies pertenecientes a este género se distribuyen a lo largo de África y Asia tropical y por el continente americano, principalmente en países de América del Sur y Central, incluyendo México (Moreno-Velasco, 2019). La mayoría de los estudios, principalmente de tipo farmacológico y químico sobre dicha familia, se centran en este género (Pereda-Miranda et al., 2010).

Su nombre proviene de las raíces griegas “*ips*” o “*ipos*” y “*homoios*”, que significan “gusano” y “similar a” o “semejante a”, respectivamente, y esto hace referencia a los hábitos de crecimiento voluble de la mayoría de sus miembros (Fig. 1); estas plantas, se presentan como enredaderas con tallos enroscados que alcanzan de 1 a 5 m (Pereda-Miranda et al., 2010; Castañeda-Gómez & Pereda-Miranda, 2011).

Las especies de *Ipomoea* pueden ser anuales o perennes, herbáceas o leñosas, entrelazadas, erectas, decumbentes o postradas (Wood et al., 2020). Existen algunas especies como *I. phillomega* e *I. santillanii*, que se presentan como lianas tropicales y alcanzan alturas de hasta 15 m. Especies como *I. purga* crecen hasta 7 m de largo, se tienden sobre el suelo y se enredan en otras plantas (Fig. 2). Otras especies, han perdido su capacidad de enroscarse, como son *I. imperata* e *I. pescaprae*, así que crecen tendidas sobre dunas en arenas costeras (Fig. 3). *I. stans*, *I. duranguensis* e *I. sescossiana* crecen hasta 1 m, mientras que *I. carnea* crece hasta 4 m, estas se presentan como arbustos perennes leñosos y herbáceos. Las especies *I. arborescens* e *I. mururoides* crecen de 3 a 9 m de altura como árboles de madera suave (Castañeda-Gómez, 2012).

Varias de las especies son de considerable importancia económica por su uso continuo como plantas medicinales (*I. purga*, *I. pesca-prae*, *I. stans*, entre otras), alimenticias y nutricionales, tal es el caso del camote (*I. batatas*) y el xonequi (*I. dumosa*), ornamentales por sus flores vistosas (*I. corymbosa*, *I. violaceae* e *I. purpurea*), incluso, algunas son utilizadas para el control de plagas como cultivos de cobertura en la agricultura tradicional (*I. tricolor*) (Lotina-Hennsen et al., 2013). En la medicina tradicional, las especies de este género han sido empleadas para el

tratamiento de una amplia variedad de afecciones patológicas; se usan principalmente por su efecto purgante (*I. purga*), antimicrobiano (*I. murucoides*), anticancerígeno (*I. orizabensis*) y antiinflamatorio (*I. pes-caprae*).



Figura 3. *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br., una enredadera herbácea pantropical, comúnmente llamada bejuco de playa, batatilla y riñonina, coloniza las dunas de arena. La forma de su hoja en forma de huella de cabra es la característica anatómica descriptiva que nombra a la especie. Las flores rosadas en forma de embudo de color lavanda (2 a 3 pulgadas de ancho) florecen durante todo el verano y el otoño. En México, se emplea en infusiones para malestares renales y en decocciones para tratar trastornos digestivos funcionales, cólicos, dolor interno y externo, disentería y afecciones inflamatorias. Las decocciones de la planta tienen un uso mundial en baños medicinales para tratar la fatiga, la tensión, la artritis y el reumatismo. Las infusiones se utilizan para tratar la hipertensión y la escrófula. Las raíces se emplean por sus acciones diuréticas y laxantes suaves (Pereda-Miranda et al., 2005).

2.3 La raíz de jalapa en México y Brasil

2.3.1 Especies endémicas de México

En México, se registran alrededor de 160 especies del género *Ipomoea*, las cuales representan cerca del 50% del total de los miembros de la familia, siendo así, uno de los conjuntos de plantas más numerosos en el país. De esta manera, las especies del género *Ipomoea* están relacionadas con la historia y tradición cultural de nuestro país desde tiempos prehispánicos (González, 2011).

Dentro de la herbolaria mesoamericana, destaca el uso de remedios purgantes, conocidos por los aztecas como “*cacamolli tlanquiloni*”, que consisten en diversos tipos de raíces en forma de tubérculo, diferenciables en cuanto a sus características

morfológicas, hábitat y potencia de sus efectos fisiológicos (Pereda-Miranda et al., 2006). Este grupo de enredaderas herbáceas con raíces catárticas llamó la atención de los españoles, ya que sus propiedades purgantes eran importantes para la medicina europea (Pereda-Miranda et al., 2010).

Estas raíces fueron aceptadas como un sustituto del tratamiento purgante de la raíz de escamonea (*Convolvulus scammonia*), por lo que se distribuyeron y comercializaron en Europa desde el siglo XVI, siendo *I. purga* la principal especie purgante en la medicina prehispánica (Lira-Ricárdez, 2019). Investigaciones contemporáneas han identificado a estas especies como las raíces de jalapa; siendo *I. purga* la jalapa verdadera, y las falsas jalapas las especies *I. orizabensis*, *I. stans*, *I. jalapa*, *I. batatas* e *I. simulans*. Cabe mencionar, que algunos de estos tratamientos se preservaron en distintos manuscritos novohispanos, tal es el caso del *Códice de la Cruz-Badiano (Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis, 1552)*, en el cual se señala a estas raíces, como el camote (*I. batatas*), empleado para “el calor del corazón”, el tumbavaqueros (*I. stans*), empleado para la sordera, y especialmente, la raíz de jalapa (*I. purga*), cuyo uso está registrado para “purgar el vientre” (Fig. 4) mediante un preparado de raíz molida en agua caliente (Lira-Ricárdez, 2019).

Debido a la introducción de las jalapas a Europa en el siglo XVI, se generaron vínculos económicos importantes entre América y Europa, siendo el principal la exportación de la llamada “raíz de Michoacán” (Fig. 5), nombre que deriva de la provincia occidental de Nueva España donde se encontró por primera vez, posteriormente, en reconocimiento a sus beneficios, los españoles le otorgaron el nombre de “Jalapa”, pues es en esta zona del estado de Veracruz donde abundaba (Pereda-Miranda & Hernández-Carlos, 2002).

Quauhilla huizquilill.

Uelicpahtli.



Ventris frigiditas.

Ventris alger expellitur potione sumpta ex radicibus
 herbarum cepali yae xuh-tonlli; tlancexhixuh-tonlli, chidec
 xihuitl & quauhilla huizquilill centris. addite vino
 Indico.

Purgatio ventris.

Com venter fuerit pituitosus, eijcies pus, si infirmus
 ante prandium in aqua calida biberit potionem
 ex radice trita herbe nomine uelicpahtli. Ictus
 vero vel locus ubi iacet eger, thuris odore adolebitur,
 que nexius aer expellatur.

Figura 4. Una de las ilustraciones del Folium 32 rectum del Manuscrito de la Cruz-Badiano representa a la enredadera "Uelicpahtli" (náhuatl, *uelic* = sabroso, *pahtli* = medicina/medicinal) y que fue identificada como la auténtica raíz de la jalapa, el remedio purgante de la medicina prehispánica (Libellus de Medicinalibus Indorum Herbis, 1552). La descripción para purgar el estómago en latín (*Purgatio ventris*) además de las características anatómicas de la enredadera con raíces tuberosas, flores campanuladas de color rojo y hojas lanceoladas facilitó la identificación taxonómica como *Ipomoea purga*.

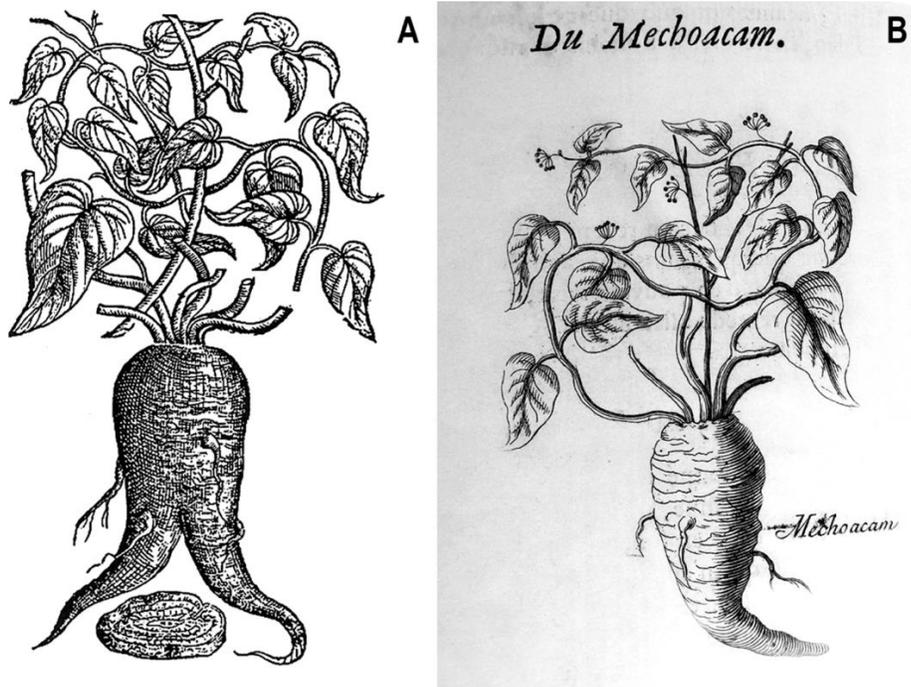


Figura 5. La raíz de jalapa en los tratados europeos de historia natural. A) Ilustración del famoso tratado del naturalista inglés John Gerard que representa la raíz de Michoacán (*Ipomoea jalapa*) como remedio sustituto de la escamonea (Gerald's Herbal. Londres, Londres. J. Norton, 1597). B) La raíz de Michoacán se describió entre las plantas medicinales americanas por el naturalista francés Pierre Pomet na Histoire Générale des Drogues, Traitant de Plantes, des Animaux, & des desux Mineraux (1694).

La gran demanda comercial de esta raíz ocasionó la adulteración de las drogas crudas y sus preparados con las raíces de las falsas jalapas, que se han utilizado como sustituto de la jalapa verdadera modificando su efecto terapéutico (Fig. 6). En la década de 1940, *I. purga* había sido una fuente de ingresos para la región de Xico, en Veracruz; donde se cultivaba y exportaba cerca de 40 toneladas de raíz seca a Estados Unidos por año, manteniéndose hasta la década de 1990, posteriormente, su exportación se redujo a casi cero (Linajes et al., 1994). Una vez que la demanda de estas raíces disminuyó, aumentó la obtención de diversos purgantes, algunos derivados de las cáscaras de las semillas de *Psyllium plantago* y hojas de *Cassia angustifolia*, y otros, fueron introducidos; como las raíces del género *Operculina*, originalmente clasificadas como miembros de *Ipomoea*: jalapa de la India (*O. turpethum*), y la jalapa brasileña (*O. hamiltonii* y *O. macrocarpa*), esto en el mercado mundial por comerciantes italianos y alemanes (Pereda-Miranda et al., 2006).

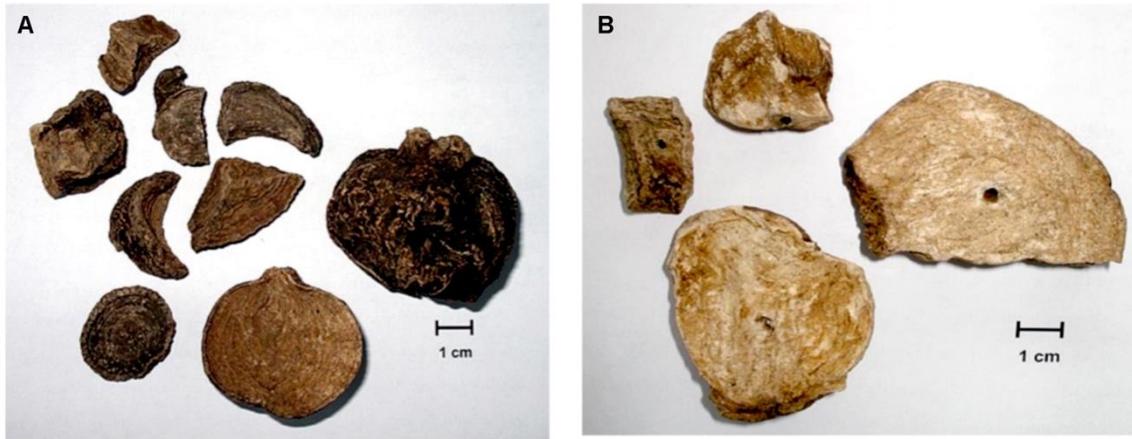


Figura 6. Raíces de jalapas secas en rodajas a la venta en mercados de plantas medicinales de la Ciudad de México. A) Raíz de jalapa (*I. purga*), B) Raíz de la escamonea mexicana o falsa jalapa (*I. orizabensis*) (Pereda-Miranda et al., 2006).

2.3.2 Especies endémicas de Brasil

De la misma forma como se popularizó el uso medicinal de las raíces de las jalapas mexicanas como un sucedáneo de la escamonea en el imperio español, también se favoreció la aprobación de las especies congéneres purgantes y depurativas en las prácticas médicas del imperio portugués. De esta manera, los colonizadores portugueses introdujeron la medicina galénica utilizada en Europa durante el siglo XVI, donde, los remedios purgantes gozaban de gran importancia terapéutica (Moreno-Velasco, 2019).

Así, las poblaciones brasileñas reconocieron las bondades medicinales de especies endémicas de la familia de las convolvuláceas, tal es el caso del complejo medicinal de la raíz de jalapa brasileña (Fig. 7). Este complejo de plantas está conformado por especies pertenecientes al género *Operculina*: *Operculina macrocarpa* (L.) Urban, y *Operculina hamiltonii* (G. Don) Austin & Staples (Lira-Ricárdez et al., 2019), las cuales se encuentran en regiones tropicales y subtropicales entre las Antillas y Brasil, son conocidas popularmente en el norte y noreste de Brasil como “batata de purga”, “jalapa” y “batatão” (Cunha et al., 2011; Montiel-Ayala et al., 2021).

Actualmente, la identificación precisa de la raíz purgante conocida como “jalapa brasileña” corresponde a *Operculina macrocarpa*, una enredadera de raíz tuberosa y flores blancas, con beneficios terapéuticos similares a los de la raíz de jalapa mexicana, motivo por el cual, los colonizadores de Sudamérica le otorgaron el nombre de “jalapa de Brasil” a esta especie del noreste y sureste del territorio brasileño (Gomes et al, 2009). Por otro lado, *Operculina hamiltonii*, una enredadera de flores amarillas es sucedánea de la auténtica jalapa de Brasil, además, es común en el norte del territorio brasileño, y sus raíces son motivo de comercio para fines terapéuticos (Montiel-Ayala et al., 2021).

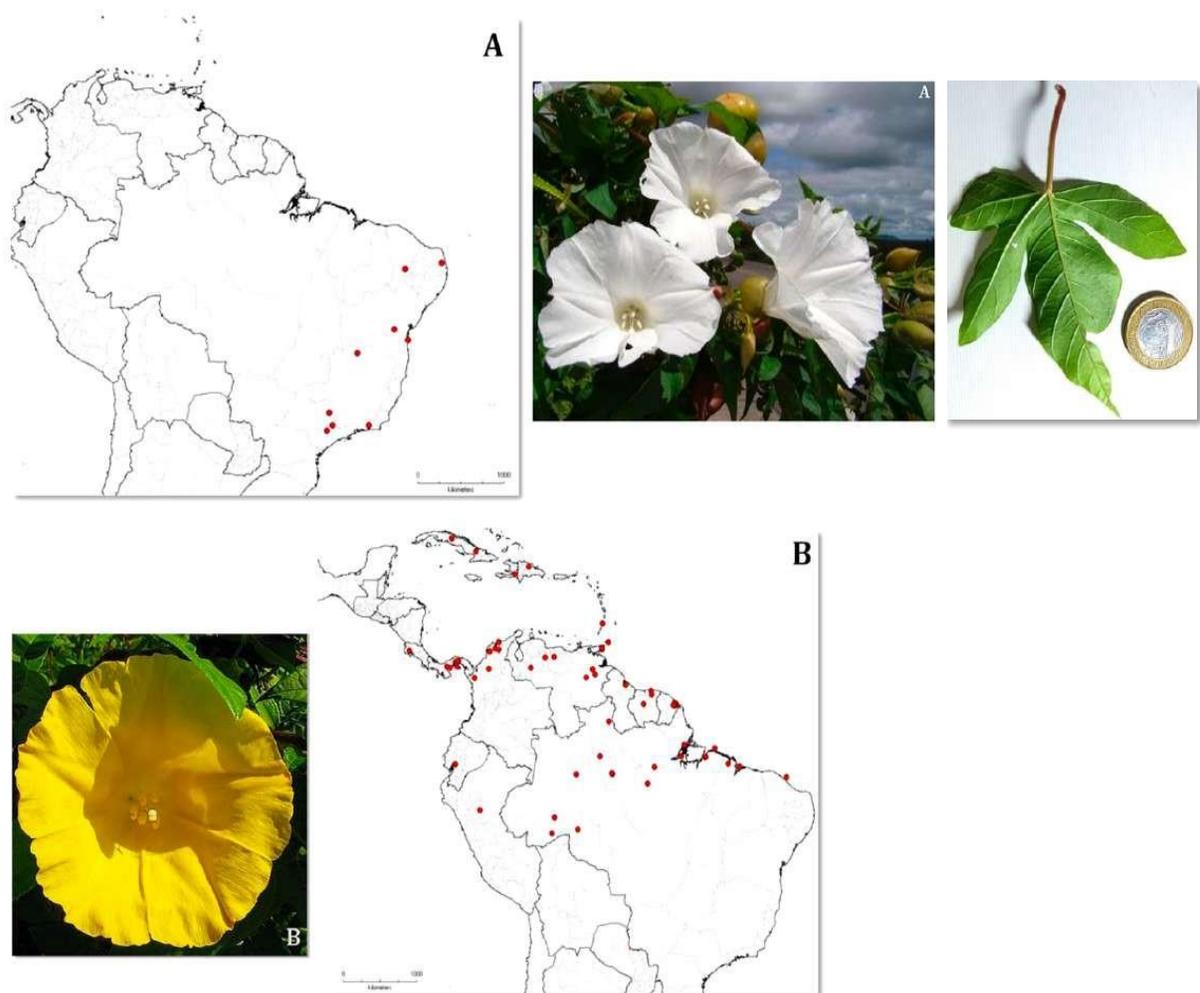


Figura 7. Distribución del complejo de plantas medicinales de la raíz de jalapa brasileña: *Operculina macrocarpa* con flores blancas (A) y *Operculina hamiltonii* con flores amarillas (B). Fuente: Fondo Mundial de Información sobre Diversidad Biológica; *Convolvulaceae* 19-10-2018 (Montiel-Ayala, et al., 2021).

2.4 *Operculina hamiltonii*

2.4.1 Descripción taxonómica y botánica

2.4.1.1 Clasificación

La información taxonómica de esta especie se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Información taxonómica de *Operculina hamiltonii* (G. Don) Austin & Staples

Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Clase	Equisetopsida
Subclase	Magnoliopsida
Orden	Solanales
Familia	Convolvulaceae
Género	<i>Operculina</i> Silva Manso
Epíteto específico	<i>hamiltonii</i>
Especie (Nombre científico)	<i>Operculina hamiltonii</i> (G. Don) Austin & Staples

2.4.1.2 Descripción anatómica

Operculina hamiltonii es un enredadera glabra, es decir, sin vellosidades en hojas y tallos (Fig. 8) con una raíz tuberosa. El tubo de la corola campanulado (3.8–4.3 cm) y con anteras retorcidas. La cápsula operculada del fruto es un carácter único en la familia. Esta especie es un arbusto trepador con pedúnculos cortos sin alas, con hojas simples de láminas estrechas a anchamente cordadas, cáliz seco marrón rojizo y flores de color amarillo brillante; en contraste con las hojas palmeadas con pedúnculos alados y flores blancas presentes en *Operculina macrocarpa* (Fig. 7).



Figura 8. La especie *Operculina hamiltonii* (G. Don) Austin & Staples es una trepadora anual con flores amarillas, distribuida principalmente en los matorrales de las regiones tropicales del norte y noreste del territorio brasileño, donde es conocida como "batata de purga", "jalapa" y "batatão". Las raíces son ampliamente utilizadas como un remedio purgante y comercializadas en diversas comunidades de la cuenca del río Amazonas, en los estados de Amazonía, Pará, Maranhão, Piauí y Ceará, entre otros. (A) Raíz y partes aéreas con hojas y frutos inmaduros y maduros para la muestra; (B) Flor; (C) Fruto maduro con cáliz de color marrón rojizo (Montiel-Ayala et al., 2021).

2.4.2 Sinonimia y nombres vernáculos

Se conocen diversos nombres populares para la especie *Operculina hamiltonii* (G. Don) Austin & Staples (Staples et al., 2020). Brasil: batata-de-purga, batata-rana, batatão, batatão-da-mata, flor-de-pau, jalapa-amarela, jalapa-da-terra, purga-do-cipo, unha de gato, batata-amarela, batatarana. Cuba: bejuco de Michoacán. Panamá: batatilla. Trinidad y Tobago: wild morning glory. La lista de especies vegetales creadas por el programa “2002-2010 Global Strategy for Plant Conservation (GSPC)” y conocida como The Plant List (<http://www.theplantlist.org/>) reconoce ocho sinonimias adicionales para *Operculina hamiltonii* (G. Don) y se enumeran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Sinonimias de *Operculina hamiltonii* (G. Don) Austin & Staples

<i>Convolvulus triqueter</i> Vahl	<i>Ipomoea alulata</i> Miq
<i>Ipomoea pterodes</i> Choisy	<i>Ipomoea triquetra</i> (Vahl) Roem. & Schult.
<i>Operculina alata</i> Urb.	<i>Operculina altissima</i> Meisn.
<i>Operculina pterodes</i> (Choisy) Meisn.	<i>Operculina triquetra</i> (Vahl) Hallier f.

2.4.3 Usos medicinales de la raíz de jalapa

Históricamente, las especies pertenecientes al complejo medicinal de la raíz de jalapa mexicana y brasileña, se han empleado, principalmente, por su acción purgante, la cual influenció de manera importante la investigación fitoquímica y el descubrimiento de sus principios bioactivos. Algunas especies de la familia Convolvulaceae han mostrado actividades antimicrobianas, analgésicas, espasmolíticas, espasmogénicas, hipotensivas, psicomiméticas y anticancerígenas (Meira et al., 2012).

Además de su uso histórico, la raíz de las jalapas mexicanas y brasileñas han sido muy apreciadas como un purgante hidragogo para expulsar parásitos. Los usos contemporáneos son paralelos a los del pasado, pero también incluyen aplicaciones tradicionales; estas raíces son empleadas en el tratamiento de la gastritis y la

inflamación abdominal, trastornos biliares, disentería, enteromeningitis, hidrocefalia y ulceración de la piel (Castañeda-Gómez & Pereda-Miranda, 2011; Montiel-Ayala et al., 2021).

2.4.3.1 Productos fitofarmacéuticos de la raíz de jalapa brasileña

En la actualidad, existe una amplia variedad de productos que contienen la raíz de jalapa brasileña (Fig. 9). En los mercados municipales y al aire libre, así como en las tiendas de productos naturistas ubicadas en el norte y noreste del territorio brasileño, estos fitofármacos se comercializan en la forma de raíces en rodajas o pulverizadas, tinturas, jarabes de hierbas, harinas y píldoras. Las tinturas, los jarabes de hierbas y los polvos se adquieren fácilmente a través de Internet.

Las raíces de jalapa brasileña en forma de secciones circulares transversales con un promedio de aproximadamente 1-2 pulgadas de diámetro y aproximadamente 1/4 de pulgada de grosor, marcadas con varios anillos concéntricos y un color marrón grisáceo pálido a oscuro, tienen un parecido considerable con la raíz de jalapa (*I. purga*). Una decocción de esta raíz se prepara normalmente en un litro de agua; la recomendación habitual para el consumo de este y otros productos es: Beber una taza de la decocción fría antes de acostarse. Una cucharadita de la raíz, cortada pequeña o granulada, en una taza de agua hirviendo como dosis segura para los niños. La dosis recomendada de las tinturas, para una acción purgante, es de 30-45 mL disueltos en agua azucarada, una vez al día durante no más de 7 días. Para una acción laxante, se recomiendan 15 mL o 1 cucharada disuelta en agua azucarada (Montiel-Ayala et al., 2021).

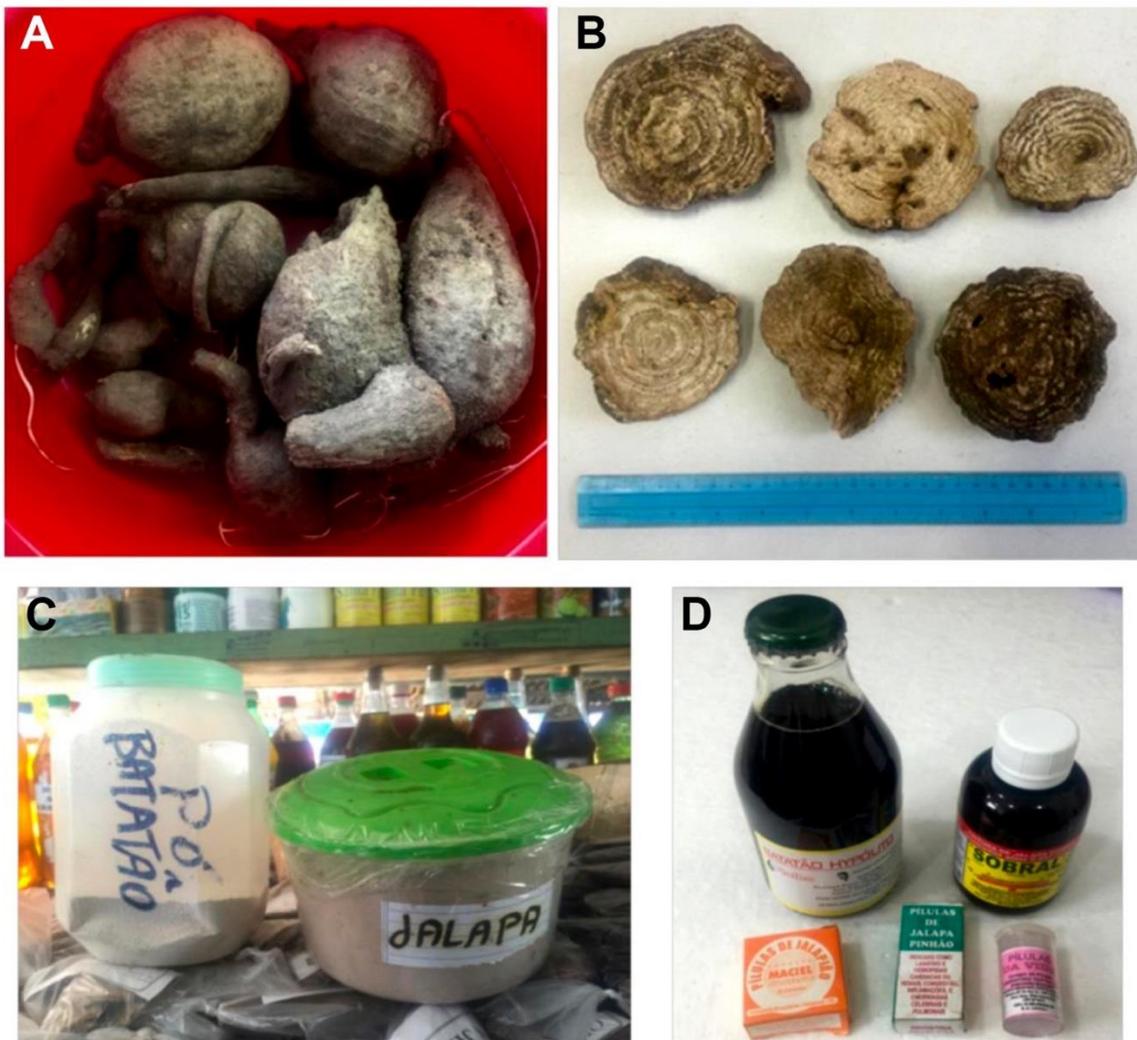


Figura 9. Raíz de jalapa brasileña: droga cruda, droga cruda pulverizada y fitofármacos: A) Raíces frescas; B) Raíces secas cortadas en rodajas; C) Droga cruda pulverizada y comercializada como "batatão" y "jalapa" en un mercado público; D) Extractos hidroalcohólicos (Tintura de Jalapa Sobral), tabletas (Píldoras de jalapião Maciel y Pelulas de Jalapa penhão) y jarabes de batatão (Tiro Seguro e Hypolito). Todos los productos fueron comprados en el Mercado 2000, Santarém, Pará, Brasil en septiembre de 2015 (Montiel-Ayala et al., 2021).

2.5 Metabolitos secundarios de la familia Convolvulaceae

Las actividades biológicas que han mostrado algunas especies se deben a que la química de la familia es muy diversa. Entre los componentes biológicamente activos más comunes en estas plantas se encuentran los alcaloides del ergot, alcaloides indolizidínicos, alcaloides nortropanos, compuestos fenólicos, cumarinas, terpenoides, isocumarinas, flavonoides, antocianidinas, lignanos, triterpenos y resinas glicosídicas (Meira et al., 2012). Dentro de estos compuestos, destacan dos

grupos importantes de metabolitos secundarios, los cuales constituyen importantes marcadores químicos en la familia (Meira et al., 2012): los alcaloides de tipo ergolina, cuya biosíntesis se asocia a la presencia de hongos endófitos del género *Periglandula* y que cohabitan de modo simbiótico en los tejidos de las especies vegetales de esta familia conocidas por sus propiedades alucinógenas (Castañeda-Gómez, 2012; Lira-Ricárdez, 2019; Steiner & Leistner, 2018) y las resinas glicosídicas, que representan compuestos únicos que caracterizan a las convolvuláceas (Pereda-Miranda et al., 2010). Las resinas glicosídicas, pueden considerarse como los compuestos más específicos del metabolismo secundario, ya que ocurren con frecuencia en esta familia y muestran una amplia distribución. La historia de su descubrimiento estuvo influenciada principalmente por el hecho de que muestran efectos farmacológicos importantes, especialmente como remedios purgantes drásticos (Eich, 2008).

2.5.1 Resinas glicosídicas

Las resinas glicosídicas son parte de una extensa familia de metabolitos secundarios conocidos como glicolípidos y representan compuestos únicos en el reino vegetal confinados a la familia de las convolvuláceas (Cruz-Morales et al., 2016).

2.5.2 Composición estructural

Las resinas glicosídicas constituyen un conjunto de glicolípidos de alto peso molecular. Estos compuestos con un origen biosintético mixto contienen una porción hidrofílica representada por un núcleo oligosacárido y una porción hidrofóbica compuesta por una aglicona, caracterizada por ácidos grasos monohidroxilados o dihidroxilados de C₁₄ a C₁₈ átomos de carbono unidos a través de un éster cíclico intramolecular con el núcleo sacárido (Montiel-Ayala et al., 2021). La mayoría de las veces, el núcleo oligosacárido se encuentra esterificado por ácidos grasos saturados con diferentes longitudes de cadena (Fig. 10) (Castañeda-Gómez et al., 2013).

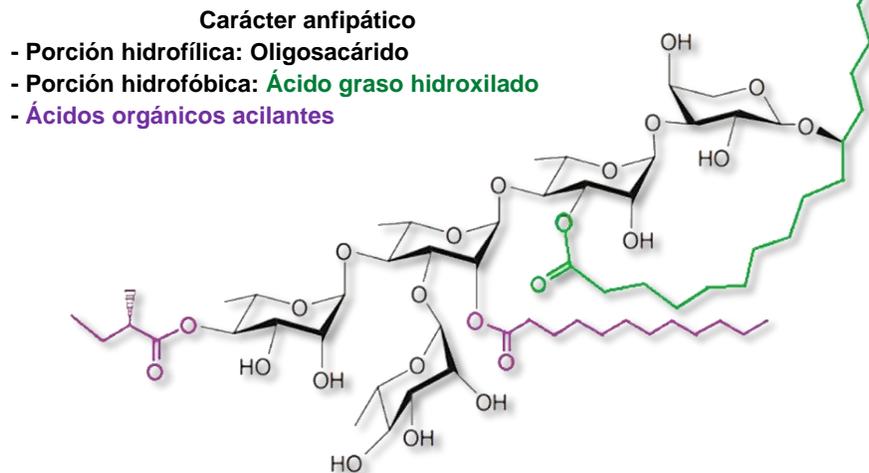


Figura 10. Estructura general de un glicolípido constituyente de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas (Castañeda-Gómez et al., 2013).

Se ha establecido la presencia de glicósidos de resina en las plantas de la familia Convolvulaceae a través de dos enfoques. El primero fue por medio de un razonamiento etnomedicinal asociado con las propiedades laxantes de las drogas. El segundo, corresponde al aislamiento de las resinas y la identificación de sus productos de hidrólisis, principalmente a través del aislamiento del ácido glicosídico producido bajo saponificación (Montiel-Ayala et al., 2021). Los glicósidos de resina se clasificaron en dos grupos según su solubilidad en éter: jalapina (o fracción no polar) y convolvulina (o fracción polar) (Pereda-Miranda et al., 2010; 2006). El grupo jalapina comparte la estructura común de una macrolactona compuesta por un ácido glicosídico acilado. Mientras que, los miembros del grupo de las convolvulinas poseen pesos moleculares mayores, que podrían ser el resultado de ser oligómeros de ácidos glicosídicos (Lira-Ricárdez et al., 2019).

2.5.3 Composición química

Las estructuras de estos compuestos son poco comunes porque son metabolitos anfipáticos, lo que significa que su estructura contiene una porción hidrofóbica (agliconas que corresponden a ácidos grasos), y una parte hidrofílica (núcleo oligosacárido o glicona). La parte sacárida está compuesta por un esqueleto de no más de siete unidades monosacáridas; las unidades de azúcar presentes son la D-glucosa y epímeros de pentosas (L-ramnosa, D-fucosa, D-quinovosa y D-xilosa) en sus formas de piranosa (Fig. 11) (Pereda-Miranda et al., 2010).

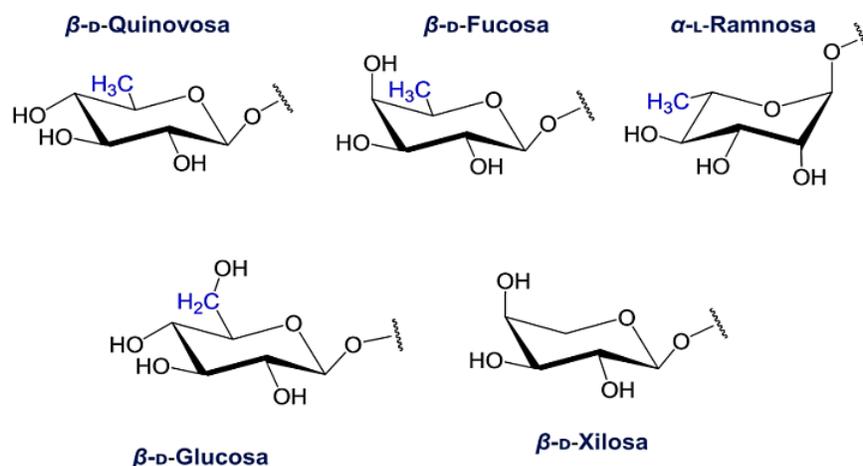


Figura 11. Unidades monosacáridas presentes en las resinas glicosídicas (Castañeda-Gómez et al., 2013).

El enlace O-glicosídico es el único tipo de enlace que conecta los residuos de monosacáridos entre sí con la aglicona; también se ha observado que hay unidades disacáridas altamente conservadas, como son L-Ram-(1→2)-D-Fuc, L-Ram-(1→4)-L-Ram, y D-Glc-(1→2)-D-Fuc. De esta manera, la complejidad estructural de estos metabolitos radica en la semejanza estructural de los constituyentes individuales debido a que representan una mezcla de isómeros que involucran variaciones entre los azúcares constitutivos, los ácidos orgánicos esterificantes y los sitios de acilación. Así, la diversidad estructural de estos compuestos surge de las variaciones en el número y tipo de unidades sacáridas que componen el núcleo oligosacárido, en la secuencia de glicosilación, en la posición de lactonización y en el tipo, número y posición de los ácidos que se encuentran acilando al núcleo. De esta forma, se han logrado identificar desde disacáridos hasta heptasacáridos y dímeros tipo éster constituidos por tres hasta cinco azúcares en cada unidad oligomérica (Rosas-Ramírez et al., 2011; Castañeda-Gómez et al., 2013).

Entre los sustituyentes de tipo éster más comunes que se encuentran unidos a las cadenas sacáridas se encuentran los ácidos alifáticos de cadena corta: acético (*ac*), propiónico (*pa*), n-butírico (*ba*), isobutírico (*iba*), (2*S*)-metilbutírico (*mba*), 3-metilbutírico (3-*mba*), (-)-(2*R*, 3*R*)-3-hidroxi-2-metilbutírico (ácido nílico, *nla*) y tíglico (*tga*); los ácidos arilalquílicos; (*E*)-cinámico (*ca*); y los ácidos grasos saturados con

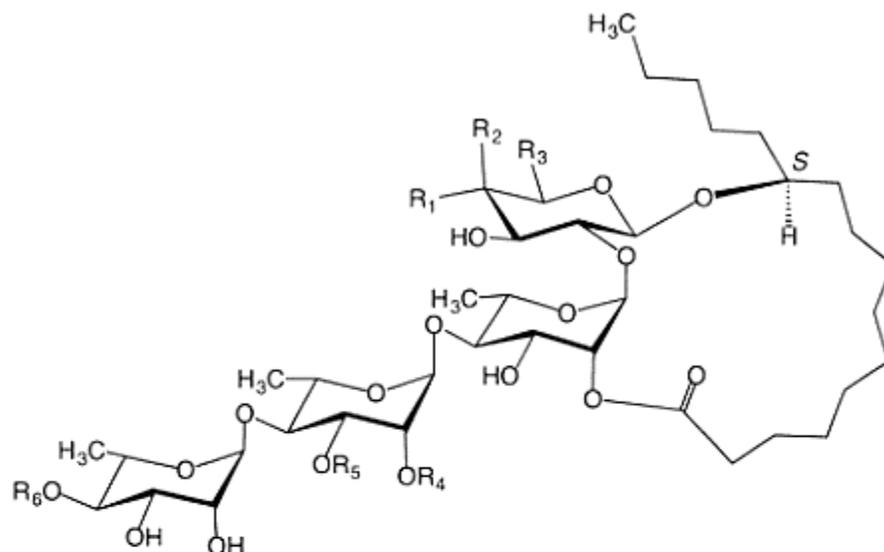
diferente largo de cadena: ácido n-hexanoico (*hexa*) o caproico, n-octanoico (*octa*) o caprílico, n-decanoico (*deca*) o cáprico, n-dodecanoico (*dodeca*) o láurico, n-hexadecanoico (*hexadeca*) o palmítico, n-octadecanoico (*octadeca*) o esteárico, y n-eicosanoico (*eicosa*) o araquídico, estos, son algunos de los sustituyentes que más frecuentemente se encuentran esterificando a los núcleos oligosacáridos (Pereda-Miranda et al., 2010).

La mayoría de estos núcleos contienen como agliconas a los ácidos (11*S*)-hidroxihexadecanoico (ácido jalapínolico) y el (11*S*)-hidroxitetradecanoico (ácido convolvulinólico), que se encuentran en forma de macrolactona, abarcando dos o más unidades sacáridas de los esqueletos oligosacáridos, y es precisamente esta característica la que le confiere a este tipo de moléculas una mayor diversidad estructural al haber varios posibles sitios de unión en un mismo núcleo (Pereda-Miranda et al., 2010).

Cabe mencionar que los constituyentes individuales que componen las resinas glicosídicas de una misma especie comparten, en la mayoría de los casos, un mismo núcleo oligosacárido. Por lo tanto, los núcleos oligosacáridos de las resinas glicosídicas pueden ser identificados a través de métodos de degradación, permitiendo la obtención de los ácidos glicosídicos que son distintivos de las especies que los biosintetizan (Pereda-Miranda et al., 2010).

2.5.4 Resinas glicosídicas presentes en el género *Operculina*

Las primeras resinas intactas aisladas de este género, denominadas como operculinas I-XVIII (Fig. 12), se obtuvieron en 1989 a partir de la especie *Operculina macrocarpa*, dentro de las cuáles existen diferencias estructurales en la posición de lactonización en la primera unidad de ramnosa (entre las posiciones C-2 y C-3) y en las posiciones de esterificación de sus núcleos pentasacáridos y tetrasacáridos. La hidrólisis alcalina de estos productos naturales generó los denominados ácidos operculínicos A-F (Fig. 13), y se describieron como los componentes principales de *O. macrocarpa*, la jalapa brasileña de flores blancas (Ono et al., 1989; Montiel-Ayala et al., 2021).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
operculin I	H	OH	CH ₃	Dodeca	Glc	Dodeca
operculin II	H	OH	CH ₃	Deca	Glc	Deca
operculin III	OH	H	CH ₂ OH	Dodeca	Glc	Dodeca
operculin IV	OH	H	CH ₂ OH	Deca	Glc	Deca
operculin VI	H	OH	CH ₃	Dodeca	H	Dodeca
operculin VII	H	OH	CH ₃	Dodeca	Glc	Deca
operculin VIII	H	OH	CH ₃	Deca	Glc	Dodeca
operculin IX	OH	H	CH ₂ OH	Dodeca	Glc	Deca
operculin X	OH	H	CH ₂ OH	Deca	Glc	Dodeca
operculin XIII	H	OH	CH ₃	Dodeca	Glc	H
operculin XIV	H	OH	CH ₃	Deca	Glc	H
operculin XV	H	OH	CH ₃	H	Glc	Dodeca
operculin XVI	OH	H	CH ₂ OH	Dodeca	Glc	H
operculin XVII	OH	H	CH ₂ OH	Deca	Glc	H
operculin XVIII	OH	H	CH ₂ OH	H	Glc	Dodeca

Figura 12. Resinas glicosídicas aisladas de *O. macrocarpa* (Moreno-Velasco, 2019).

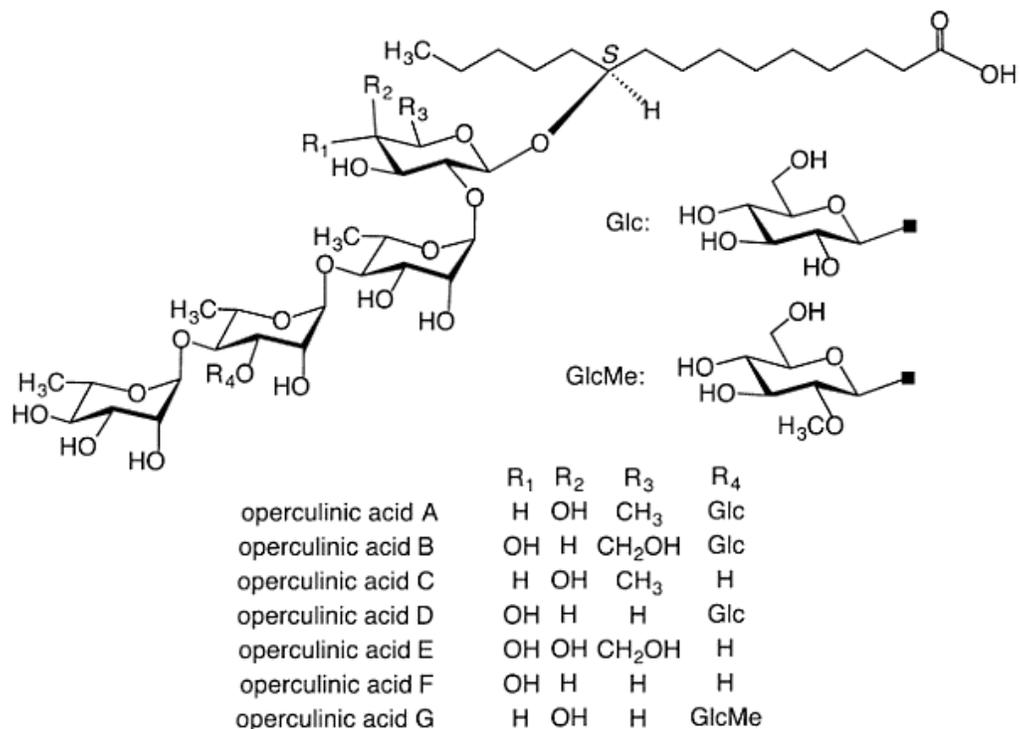


Figura 13. Estructura de ácidos operculínicos aislados de *O. macrocarpa* (Moreno-Velasco, 2019).

Las especies de *Operculina* también contienen diversos ácidos grasos mono y dihidroxilados adicionales como agliconas (Montiel-Ayala et al, 2021). Por ejemplo, a partir de la jalapa de la India, *O. turpethum* (L.) Silva Manso, se han aislado tres pentasacáridos derivados del ácido operculínico A, como los ácidos turpéticos A-C (Fig. 14), cuya única diferencia radica en el largo de la cadena alifática de la aglicona con cadenas de C₁₅ a C₁₇ átomos de carbono (Ding et al., 2012; Montiel-Ayala et al., 2021). Por otro lado, de las raíces de *O. macrocarpa*, se aisló también el ácido operculínico H, un hexasacárido del ácido 3S, 12S-dihidroxihexadecanoico (Ono et al., 2009), además de los ácidos operculínicos I y J, cuya base oligosacárida corresponde a la del ácido operculínico H (Fig. 15) y divergen en sus agliconas, los ácidos 12S-hidroxihexadecanoico y 11S-hidroxihexadecanoico, respectivamente (Lira-Ricárdez et al., 2019).

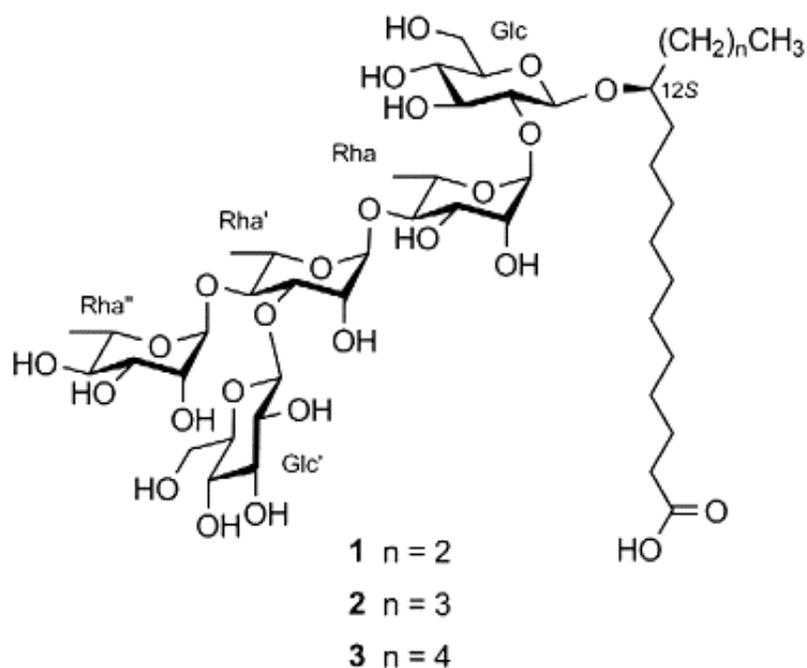


Figura 14. Estructuras de los ácidos turpéticos A-C, aislados a partir de *O. turpethum* (Moreno-Velasco, 2019).

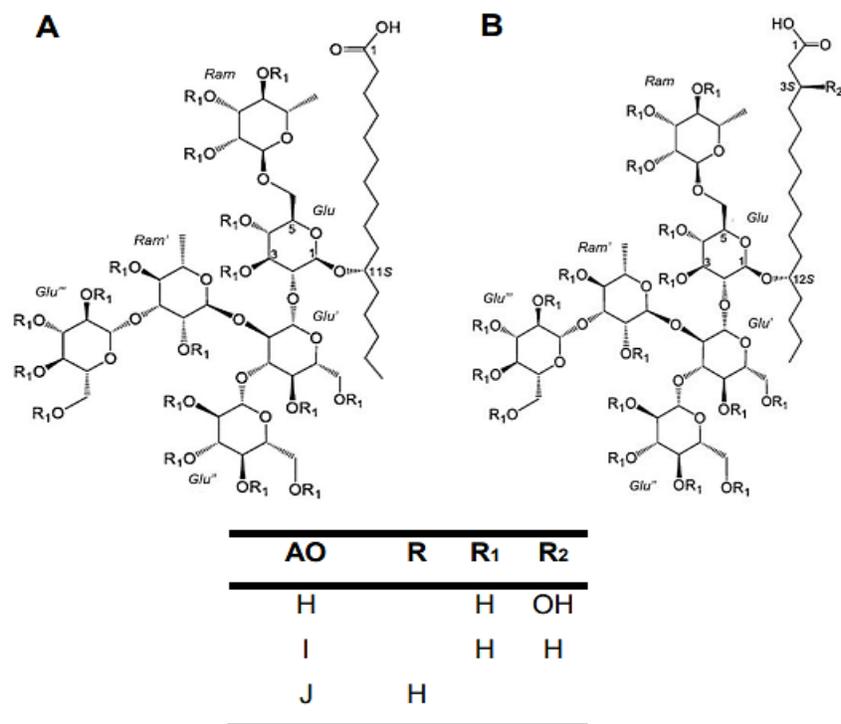


Figura 15. A) Estructura del ácido operculínico J aislado de *O. macrocarpa*; (B) Estructura de ácido operculínico H y ácido operculínico I aislados de *O. macrocarpa*. AO, ácido operculínico; R, sustituyente. (Lira-Ricárdez et al., 2019).

En cuanto a la especie *O. hamiltonii*, se han identificado núcleos pentasacáridos inéditos derivados de los ácidos 11S y 12S hidroxilados. A partir del extracto saponificado, se han aislado tres ácidos glicosídicos conocidos; los ácidos operculínicos A y B (pentasacáridos del ácido 11S-hidroxihexadecanoico) y el ácido turpético C (pentasacárido del ácido 12S-hidroxiheptadecanoico). También, se obtuvieron y caracterizaron tres ácidos glicosídicos novedosos mediante el empleo de las técnicas RMN y EM. El análisis estructural permitió identificar la misma secuencia de glicosilación descrita para los ácidos operculínicos A y C, pero con un largo diferente para su aglicona (C₁₇ y C₁₈) (Fig. 16) (Moreno-Velasco, 2019; Montiel-Ayala et al., 2021).

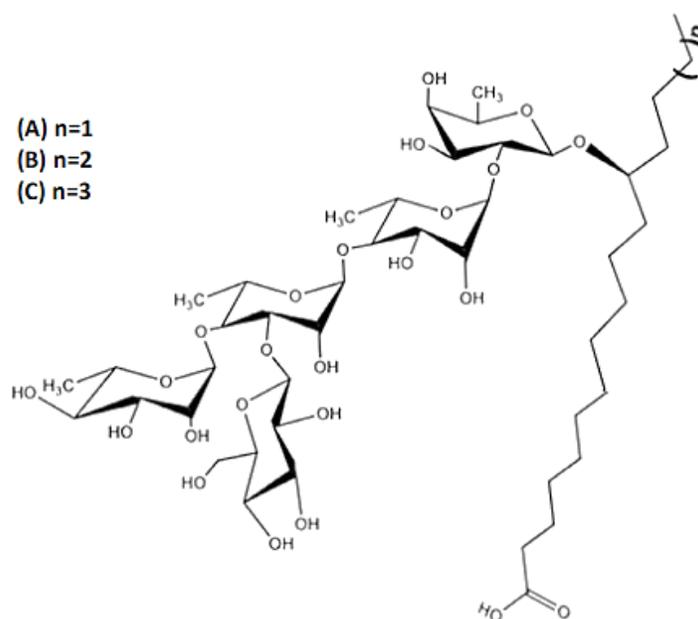


Figura 16. Núcleos oligosacáridos constitutivos de las resinas glicosídicas de *O. hamiltonii*, donde las agliconas corresponden al: ácido 12S-hidroxihexadecanoico (A); ácido 12S-hidroxihexadecanoico (B); ácido 12S-hidroxiheptadecanoico (C) (Moreno-Velasco, 2019).

2.6 Técnicas utilizadas para el aislamiento y purificación de resinas

2.6.1 Métodos de separación

De acuerdo con la naturaleza química de las resinas glicosídicas que las hace moléculas anfipáticas, el aislamiento y la purificación de estas no es tan simple, ya que siempre están presentes en forma de mezclas complejas de homólogos que

tienen el mismo núcleo oligosacárido, pero con ciertas diferencias, ya sea en el largo de la cadena de las porciones alifáticas esterificantes o en los sitios de acilación en el núcleo oligosacárido (Pereda-Miranda et al., 2010).

Por este motivo, los métodos tradicionales para el aislamiento y la purificación de productos de origen natural, tales como la partición líquido-líquido, la cromatografía en capa fina y cromatografía en columna usando gel de sílice, Sephadex, intercambio iónico, y filtración en gel, resultan ser técnicas poco útiles para la purificación exitosa de estos constituyentes (Pereda-Miranda et al., 2010).

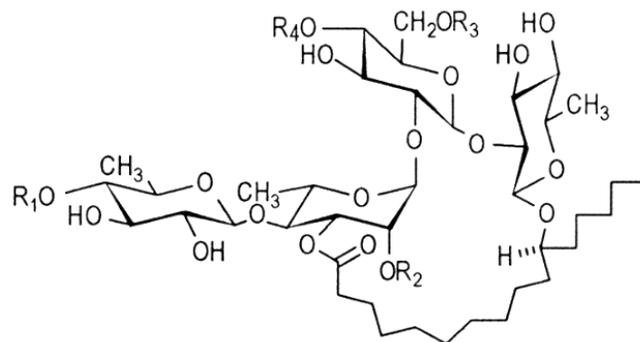
Al final de la década de 1980, la aplicación de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) condujo al aislamiento de las primeras resinas glicosídicas intactas y con una alta pureza (>95%), lo que permitió su elucidación estructural mediante la aplicación de las técnicas de espectrometría de masas (EM) y resonancia magnética nuclear (RMN) (Noda et al., 1987). Esta investigación demostró que, debido a la complejidad estructural de las resinas glicosídicas, se requiere del empleo de técnicas cromatográficas y métodos espectroscópicos modernos de alta resolución para lograr la purificación individual y la caracterización estructural de los constituyentes de estas matrices complejas (Pereda-Miranda et al., 2010).

La técnica de HPLC permite la máxima resolución en la separación de los componentes de una mezcla compleja en un tiempo de análisis corto debido a la disponibilidad de fases estacionarias de partículas pequeñas (<25 μm , en forma irregular o esférica), y con tamaño de poro que va desde los 60 – 130 Å, y una gran variedad de fases móviles modificadas (Pereda-Miranda et al., 2010).

Algunos de los retos técnicos para lograr la purificación individual de los constituyentes presentes en las mezclas complejas de resinas glicosídicas, son el desarrollo de un método analítico en donde se encuentren los factores más favorables, tales como la fase móvil, el modo de elución (isocrático o en gradiente) y la concentración máxima de muestra que ingresa al equipo, y luego escalarlos a condiciones semi-preparativas y preparativas sin perder la resolución. Las columnas de fase normal y fase reversa como la C-8, C-18, ciano, fenilo y amino, han demostrado ser fases estacionarias adecuadas para el aislamiento y purificación de

este tipo de moléculas (Castañeda-Gómez & Pereda-Miranda, 2011; Pereda-Miranda et al., 2010).

El éxito en la purificación de las resinas glicosídicas con el empleo de HPLC en el modo de reciclaje de muestra se debe principalmente a las técnicas conocidas como “corte de núcleo” y “rasurado de pico” usadas solas o en combinación (Fig. 17) (Pereda-Miranda & Hernández-Carlos, 2002). Esta técnica necesita el empleo de un aditamento instrumental llamado válvula de reciclaje, que permite una vez que la muestra ha sido registrada por el detector, enviarla de vuelta a la bomba con el “loop” cerrado a través de la línea de paso al inyector, y posteriormente, a la columna y al detector nuevamente mediante el corte del núcleo. Con este procedimiento, se aumenta el número de platos teóricos de la fase estacionaria, permitiendo la resolución de los componentes traslapados, finalizando con el registro de una señal como un pico de comportamiento Gaussiano, sin la presencia de picos minoritarios como indicativos de impurezas que se eliminan mediante el rasurado (Pereda-Miranda & Hernández-Carlos, 2002). El uso de estas técnicas conocidas como “corte de núcleo” seguida del “reciclaje de pico”, han permitido la purificación de numerosos oligosacáridos de resinas glicosídicas, por ejemplo, las tricolorinas, las intrapilosinas, las orizabinas (Fig. 17), los batatinósidos, las murucoidinas, las pescapreínas, los purginósidos y las purginas, entre otros (Pereda-Miranda et al., 2010).



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	tga	nla(-)	iba	H
2	tga	nla(+)	iba	H
3	tga	iba	nla(-)	H
4	tga	iba	nla(+)	H

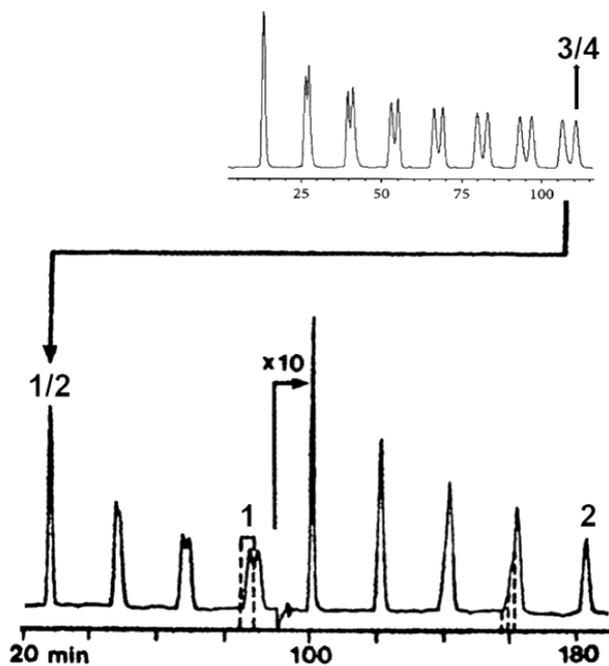
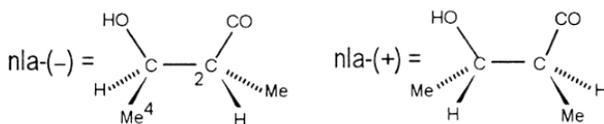


Figura 17. Reciclaje en HPLC y purificación mediante corte de núcleo y rasurado de pico de dos mezclas de pares de ésteres de niloilo diastereoméricos (nla), 1/2 y 3/4 (orizabinas X/XI y XII/XIII, respectivamente). La sensibilidad del refractómetro se incrementó (x10) para optimizar la detección de picos. Columna: 150 x 19 mm, μ Bondapak-amino, 10 μ m; fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$, 95:5; flujo: 4.0 mL/min; inyección de muestra: 10 mg/500 μ l. Abreviaturas: *tga*, tiglioilo; *iba*, isobutiroilo (Pereda-Miranda & Hernández-Carlos, 2002).

2.7 Elucidación estructural

Para lograr la caracterización completa de este tipo de moléculas complejas, se requiere del empleo de reacciones químicas degradativas individuales o en combinación con la aplicación de técnicas espectroscópicas y espectrométricas de alta resolución (Pereda-Miranda et al., 2010; Castañeda-Gómez et al., 2013).

2.7.1 Métodos químicos degradativos

Los métodos degradativos consisten en el uso de reacciones químicas que fragmentan de manera paulatina, la estructura compleja de las moléculas, generando a su vez moléculas más pequeñas, simplificando así la identificación de las diferentes porciones (Pereda-Miranda et al., 2010).

Dentro de las reacciones más empleadas para la ruptura de polisacáridos, se encuentra la hidrólisis alcalina (saponificación) del material crudo, que permite obtener los ácidos orgánicos que esterifican al núcleo oligosacárido y la apertura, si corresponde, del ciclo que forma la lactona (Montiel-Ayala et al., 2021). Los ácidos obtenidos se someten a una segunda reacción de hidrólisis en medio ácido, obteniendo así cada uno de los carbohidratos individuales libres y la aglicona correspondiente al fragmento que forma la macrolactona en las resinas glicosídicas. Los ácidos orgánicos libres, así como sus derivados metilados o etil ésteres pueden ser analizados por cromatografía de gases (CG) acoplada a espectrometría de masas (EM) (Pereda-Miranda et al., 2010; Montiel-Ayala et al., 2021).

2.7.2 Métodos no degradativos

El empleo de técnicas espectroscópicas como RMN y espectrométricas como EM son herramientas muy efectivas para la elucidación estructural completa de los constituyentes individuales de las resinas glicosídicas sin utilizar métodos que degraden al producto natural.

A partir de la obtención de los espectros de RMN de protón (RMN ^1H) y carbono (RMN ^{13}C) de los productos intactos y de sus ácidos glicosídicos, se obtiene la información general acerca de la estructura de los lipooligosacáridos, tal como el número y tipo de unidades sacáridas que forman al núcleo oligosacárido

constitutivo. Al recurrir a las técnicas bidimensionales homonucleares (COSY, TOCSY, ROESY y NOESY), y heteronucleares (HSQC y HMBC), se asigna la conectividad de cada uno de los constituyentes dentro de este tipo de moléculas complejas (Pereda-Miranda et al., 2010).

3. JUSTIFICACIÓN

Algunas especies de la familia de las convolvuláceas empleadas en la medicina tradicional representan una fuente importante de resinas glicosídicas, las cuales pueden servir como nuevos agentes terapéuticos y agroquímicos debido a sus propiedades purgantes, citotóxicas e inhibidoras del crecimiento vegetal. Tal es el caso del complejo medicinal de la raíz de jalapa brasileña (*O. macrocarpa* y *O. hamiltonii*), cuyo uso tradicional se asocia con la presencia de dichos compuestos en sus extractos (Lira-Ricárdez, 2019).

Dada la complejidad estructural que presentan estos metabolitos se ha dificultado la caracterización de los constituyentes individuales, por ello se requiere del uso de técnicas acopladas a sistemas de separación que permitan una alta eficiencia al aislar y purificar estos compuestos para permitir a su vez, la diferenciación entre las especies que conforman este complejo de plantas medicinales. De esta manera, se pretende enriquecer el conocimiento sobre la diversidad estructural de las posibles entidades químicas presentes en las resinas glicosídicas de la especie de estudio (*Operculina hamiltonii* (G. Don) D.F. Austin & Staples). Así, la presente disertación forma parte de la investigación química de las especies que constituyen el complejo medicinal de la raíz de jalapa brasileña.

4. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Realizar el aislamiento, purificación y caracterización estructural del producto mayoritario presente en una fracción del extracto orgánico de las raíces pulverizadas de la jalapa brasileña *O. hamiltonii*.

Objetivos específicos:

- Obtener el extracto orgánico total a partir de las raíces pulverizadas de la raíz de jalapa brasileña.
- Establecer las condiciones instrumentales en HPLC a escala analítica para la obtención de perfiles cromatográficos de la fracción que contiene al componente mayoritario.
- Extrapolar las condiciones analíticas a escala preparativa en HPLC para aislar y purificar al componente mayoritario.
- Elucidar la estructura molecular del producto purificado haciendo uso de técnicas espectroscópicas como RMN (1D y 2D).

5. DESARROLLO EXPERIMENTAL

5.1 Métodos cromatográficos

A través de la técnica de CCA se llevó a cabo el fraccionamiento primario del extracto orgánico; para ello, se empleó una columna de vidrio con dimensiones de 60 cm de largo por 15 cm de diámetro, la cual, se empacó con gel de sílice 60, de tamaño de partícula de 0.063 - 0.200 mm (Merck). Como fase móvil, se emplearon disolventes de polaridad creciente; hexano (C₆H₁₄), diclorometano (CH₂Cl₂), acetona (Me₂CO), metanol (MeOH) y mezclas proporcionales de éstos para garantizar el aumento en la polaridad.

Las fracciones obtenidas se analizaron mediante CCF para establecer la complejidad preliminar de cada una; como fase estacionaria, se emplearon placas de aluminio recubiertas con gel de sílice 60 F₂₅₄ (Merck) y, como sistema de elución, una mezcla CH₂Cl₂-MeOH (9:1). Para detectar los constituyentes presentes, se utilizó una solución de sulfato cérico diluido en ácido sulfúrico como agente cromógeno, y para revelar las placas, éstas se calentaron a una temperatura de 80 °C.

Para llevar a cabo la separación y purificación de los compuestos de interés, se utilizó la técnica de HPLC. Se empleó un equipo cromatográfico que consta de un sistema de liberación de disolventes 600 E (Waters) con una válvula de recirculación de muestra, y un detector de índice de refracción modelo 2410 (Waters) integrado a un equipo de cómputo (OptiPlex 466, Dell). El control del equipo, la adquisición y el procesamiento de la información cromatográfica se realizaron a través del software Empower 2 (Waters).

5.2 Materia vegetal

El material vegetal corresponde a una muestra comercial de raíces pulverizadas de *Operculina hamiltonii*, descrita como “Batata purga – Jalapa em pó – *Convolvulus operculata*” (Fig. 18), comercializada como un remedio purgante en los mercados de Brasil bajo la marca “Mercadão Natural” (Lote: 1111010010473).



Figura 18. Muestra comercial de raíces pulverizadas de jalapa brasileña, “batatão” “batata purga”, “Jalapa em pó”, “*Convolvulus operculata*”. Producto adquirido en el Mercado 2000, Santarém, Pará, Brasil.

5.3 Extracción

De la muestra adquirida, se pesaron un total de 900 g, los cuales se sometieron a varios procesos de maceración exhaustiva haciendo uso de mezclas de disolventes compuestas por C_6H_{14} , CH_2Cl_2 y MeOH, en un gradiente de polaridad. El producto resultante se filtró y concentró a sequedad a presión reducida para su posterior tratamiento.

5.4 Fraccionamiento primario

Con el fin de aislar la mayor cantidad de resina posible, y tras haber analizado cada extracto con herramientas cromatográficas y espectrométricas, se reunieron los extractos hexánico y diclorometánico para su fraccionamiento.

El fraccionamiento primario del extracto reunido (48 g) se llevó a cabo a través del uso de la técnica de CCA. Como fase estacionaria se utilizó una columna empacada con 500 g de gel de sílice, y como fase móvil se emplearon diversas mezclas de disolventes, las cuales se describen en el Cuadro 3.

El sistema de elución inició con hexano como fase móvil, obteniéndose 5 eluatos de aproximadamente 200 mL cada uno. Posteriormente, se fue incrementando la polaridad utilizando mezclas en diferentes proporciones de CH₂Cl₂-Me₂CO y Me₂CO-MeOH, finalizando con MeOH. Cada fracción obtenida se analizó mediante CCF con el fin de monitorear la elución de la columna y proceder a reunir los eluatos tomando en cuenta su homogeneidad cromatográfica.

Cuadro 3. Fraccionamiento primario del extracto total de *Operculina hamiltonii*

Eluato	Disolvente	Proporción
1	Hexano	100
2	CH ₂ Cl ₂ – Me ₂ CO	8:2
3	CH ₂ Cl ₂ – Me ₂ CO	1:1
4	CH ₂ Cl ₂ – Me ₂ CO	2:8
5	Me ₂ CO	100
6	Me ₂ CO – MeOH	8:2
7	Me ₂ CO – MeOH	1:1
8	Me ₂ CO – MeOH	2:8
9	MeOH	100

5.5 Aislamiento y purificación

5.5.1 HPLC a escala analítica

Mediante el uso de CCF, se seleccionaron aquellas fracciones donde, de acuerdo con su coloración y polaridad, podrían encontrarse los compuestos de interés.

Se empleó la técnica HPLC en fase reversa con un sistema de elución isocrático a escalas analíticas con el fin de establecer las condiciones experimentales que

permitieran la óptima separación y purificación de los componentes presentes en la muestra, siendo éstas:

- Columna: Analítica C-18, fase reversa, Mod. Symmetry® C18 (4.6 × 250 mm; 5 μm) (Waters)
- Fase móvil: Mezcla CH₃CN:H₂O (85:15)
- Vehículo de muestra: CH₃CN:MeOH (1:1)
- Flujo: 0.4 mL/min
- Concentración de muestra: 1 mg/10 μL
- Volumen de inyección: 20 μL
- Temperatura interna del equipo: 40 °C
- Detector: Índice de refracción (sensibilidad 1024)

5.5.2 Purificación

Una vez establecidas las condiciones que mostraban la mejor resolución de los componentes a escala analítica, se extrapolaron a condiciones preparativas para realizar el aislamiento y purificación de la mayor cantidad de muestra posible. Este escalamiento se efectuó a partir de la siguiente ecuación:

$$F_p = F_a \left(\frac{L_p}{L_a} \right) \left(\frac{d_p^2}{d_a^2} \right)$$

Donde: F_p = Flujo a nivel preparativo; F_a = Flujo a nivel analítico; L_p = Longitud de la columna preparativa; L_a = Longitud de la columna analítica; d_p = Diámetro interno de la columna preparativa; d_a = diámetro interno de la columna analítica.

Se hizo uso de la técnica de “corte de núcleo” con base en el cromatograma generado para obtener mezclas de menor complejidad y, posteriormente, la técnica de “reciclaje” para purificar los compuestos mayoritarios de éstas.

Las condiciones utilizadas para llevar a cabo estos procedimientos fueron las siguientes:

- Columna: Analítica C-18, fase reversa, Mod. SymmetryPrep™ C18 (19 × 300 mm; 7 μm) (Waters)
- Fase móvil: Mezcla CH₃CN:H₂O (85:15)
- Vehículo de muestra: CH₃CN:MeOH (1:1)
- Flujo: 8.0 mL/min
- Concentración de muestra: 1 mg/10 μL
- Volumen de inyección: 500 μL
- Temperatura interna del equipo: 40 °C
- Detector: Índice de refracción (sensibilidad 1024)

5.6 Determinación de constantes físicas y propiedades espectroscópicas

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de Fisher-Jones sin corrección. Los experimentos de RMN ¹H y ¹³C se registraron en un equipo Varian Innova operando a una frecuencia de 400 MHz para ¹H y 100 MHz para ¹³C. Se empleó piridina deuterada (piridina-*d*₅) como disolvente y los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en ppm utilizando como referencia interna la señal de tetrametilsilano (TMS).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Extracción

A partir de 900 g de raíz de jalapa brasileña pulverizada y, tras haber reunido los extractos hexánico y diclorometánico, se obtuvo un extracto total de 48 g.

6.2 Fraccionamiento primario del extracto orgánico

Del fraccionamiento primario se obtuvieron doce fracciones de interés. Los rendimientos y claves de cada una de estas se resumen en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Rendimientos del fraccionamiento primario del extracto total

Clave	Peso (g)
F1	0.0372
F2	1.7073
F3	2.1766
F4	1.5755
F5	0.6982
F6	2.6729
F7	2.9309
F8	3.5340
F9	7.000
F10	-
F11	-
F12	2.6026

Cada fracción obtenida se eluyó en una placa de aluminio recubierta con gel de sílice, usando como fase móvil una mezcla CH₂Cl₂-MeOH en una proporción 9:1. Como referencia se utilizó una muestra auténtica de tricolorina A (Castañeda-Gómez et al., 2019), y el extracto total para su comparación con las fracciones (Fig. 19).

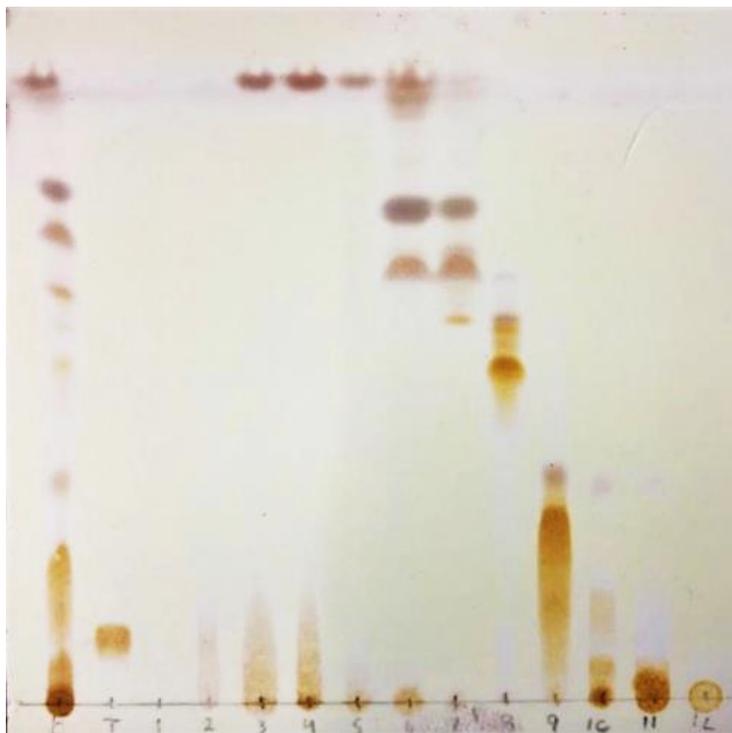


Figura 19. Placa cromatográfica de las fracciones F1-F12, usando como referencia a la tricolorina A.

La CCF permitió detectar a las fracciones ricas en resinas glicosídicas de acuerdo con la coloración marrón-amarillenta generada mediante la aplicación del agente cromógeno. Por otro lado, se obtuvieron los espectros de RMN ¹H para el análisis de las señales características de la estructura de las moléculas en estudio. Estos análisis llevaron a la conclusión de que la **fracción 9** tiene un alto contenido de resinas glicosídicas con base en el resultado de la CCF y a las señales identificadas en el espectro de RMN ¹H (Fig. 20).

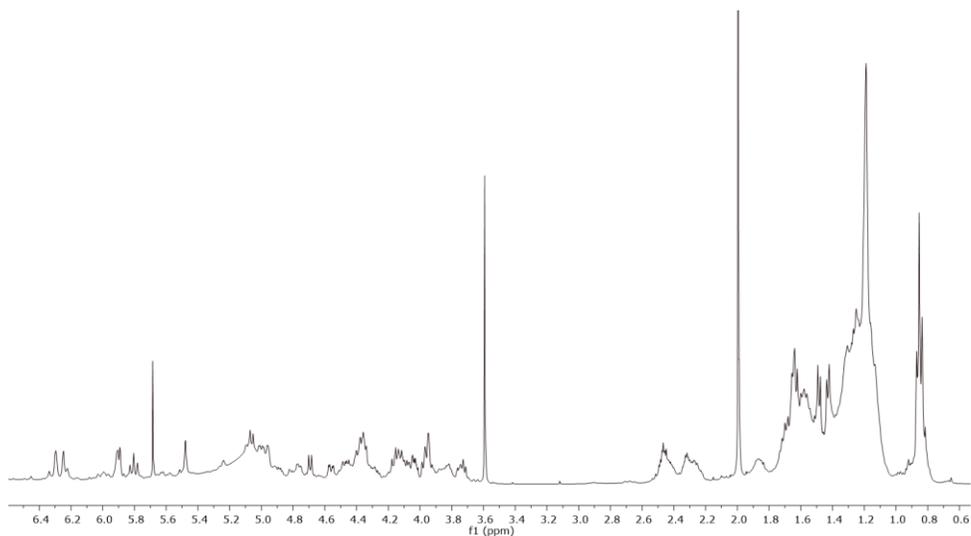


Figura 20. Espectro de RMN ^1H de la fracción 9 (400 MHz, piridina- d_5).

6.3 Aislamiento y purificación de las resinas mediante HPLC

6.3.1 Análisis por HPLC a escala analítica

La fracción 9 se sometió a un análisis mediante HPLC con la intención de obtener el perfil cromatográfico que permitiera la óptima separación de las resinas glicosídicas presentes en la mezcla. El perfil que mostró una mejor resolución de las señales se obtuvo con las condiciones establecidas en la sección 5.5.1 (Fig. 21):

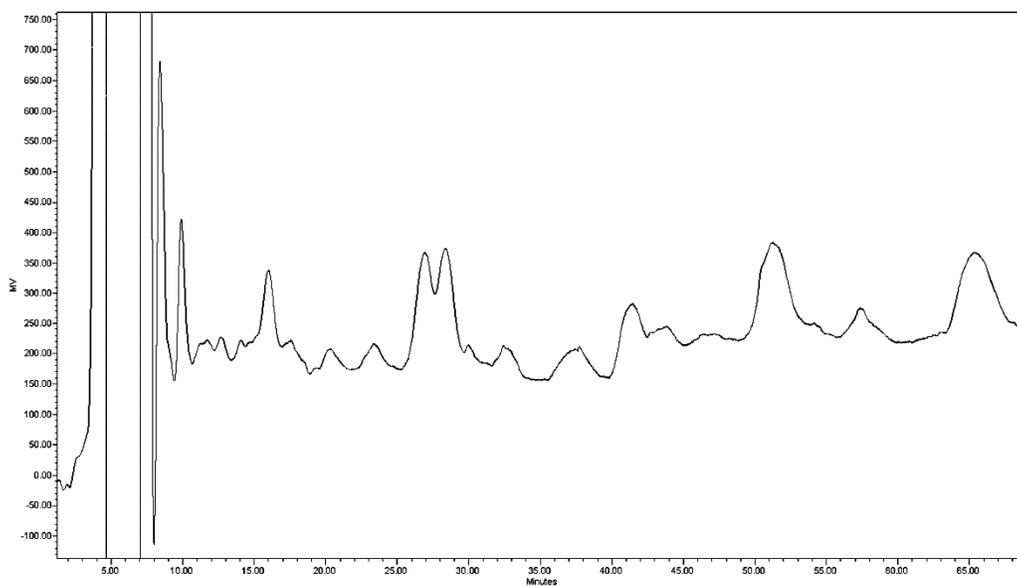


Figura 21. Cromatograma de HPLC a escala analítica correspondiente a la fracción 9.

6.3.2 Análisis por HPLC a escala preparativa

Las condiciones instrumentales analíticas que resultaron óptimas para la resolución del perfil cromatográfico de la muestra se escalaron a condiciones preparativas para aislar los componentes individuales que se encontraban en esta fracción (Sección 5.5.2).

Al realizar 20 inyecciones (500 μ L) de la fracción 9 y cortar cada uno de los picos que se muestran en el cromatograma de la Figura 22, se lograron obtener diez fracciones de menor complejidad.

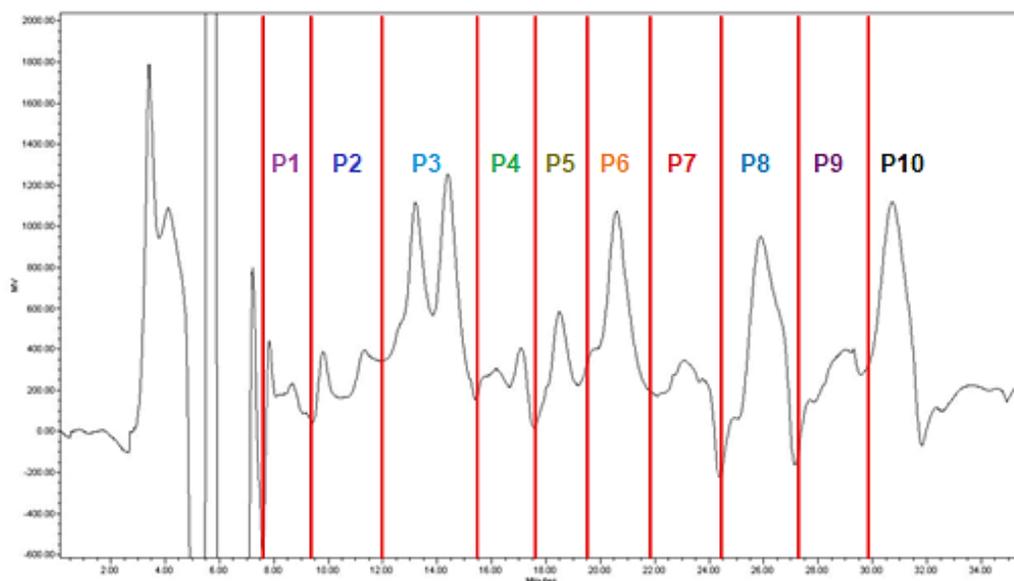


Figura 22. Perfil cromatográfico a escala preparativa que muestra los picos aislados mediante la técnica de “corte de núcleo” de la fracción 9.

6.3.3 Purificación del pico F9P8

De las fracciones obtenidas, la fracción 8 (F9P8: 40.1 mg) se sometió a las técnicas ya descritas con la intención de aislar y purificar al componente mayoritario. Este proceso se llevó a cabo mediante HPLC a nivel semi-preparativo bajo las siguientes condiciones:

- Columna: Analítica C-18, fase reversa, Mod. SymmetryPrep® C18 (19 × 150 mm; 7 μm) (Waters)
- Fase móvil: Mezcla CH₃CN:H₂O (85:15)
- Vehículo de muestra: CH₃CN:MeOH (1:1)
- Flujo: 4.0 mL/min
- Concentración de muestra: 1 mg/10 μL
- Volumen de inyección: 500 μL
- Temperatura interna del equipo: 40 °C
- Detector: Índice de refracción (sensibilidad 1024)

Al obtener el perfil cromatográfico a nivel semi-preparativo de la fracción 8 (F9P8), se observaron dos picos mayoritarios (Fig. 23). Se seleccionó el pico del minuto 27.7 debido a que visualmente tiene un escaso nivel de complejidad, lo que permite optimizar su purificación. Así, para obtener la mayor cantidad de este pico se utilizó la técnica de “corte y rasurado de pico” con la que se logró eliminar a los homólogos que se encuentran en menor proporción.

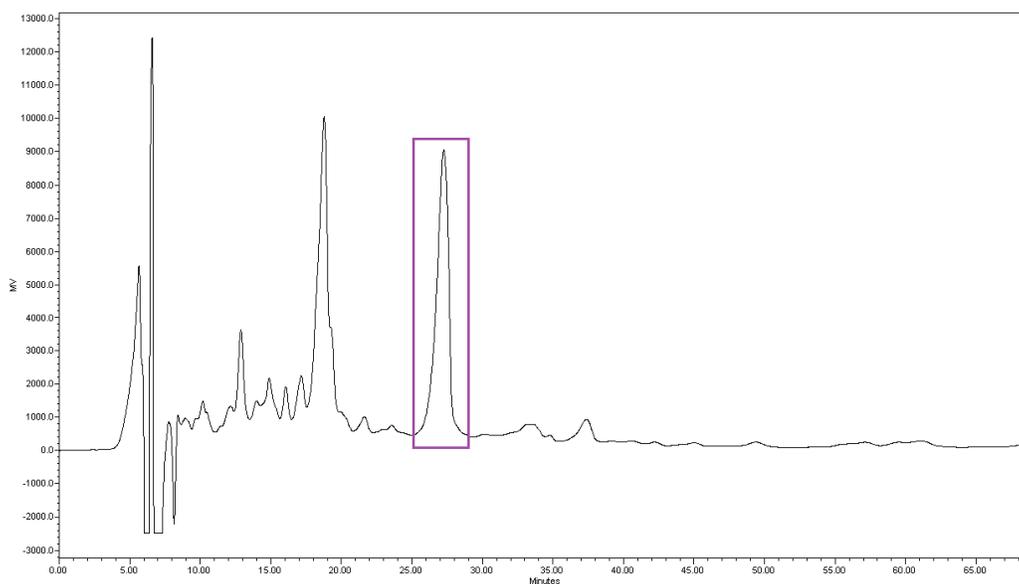


Figura 23. Purificación del pico mayoritario correspondiente a los 27.7 minutos de la fracción F9P8, utilizando la técnica de “corte y rasurado de pico”.

Tras llevar a cabo la técnica de “corte y rasurado de pico” para la fracción 8, se procedió a purificar el pico identificado como F9P828 bajo la técnica de “reciclaje”, de esta manera, fue posible eliminar las impurezas presentes. La Figura 24 muestra este proceso, en donde se realizaron un total de ocho ciclos de reciclaje para la purificación del pico F9P828. El acoplamiento *off-line* de la cromatografía de líquidos con un espectrómetro de masas en la modalidad de ionización FAB negativo permitió detectar al anión correspondiente a la molécula desprotonada $[M - H]^-$ en un valor de $m/z = 1019$ Da.

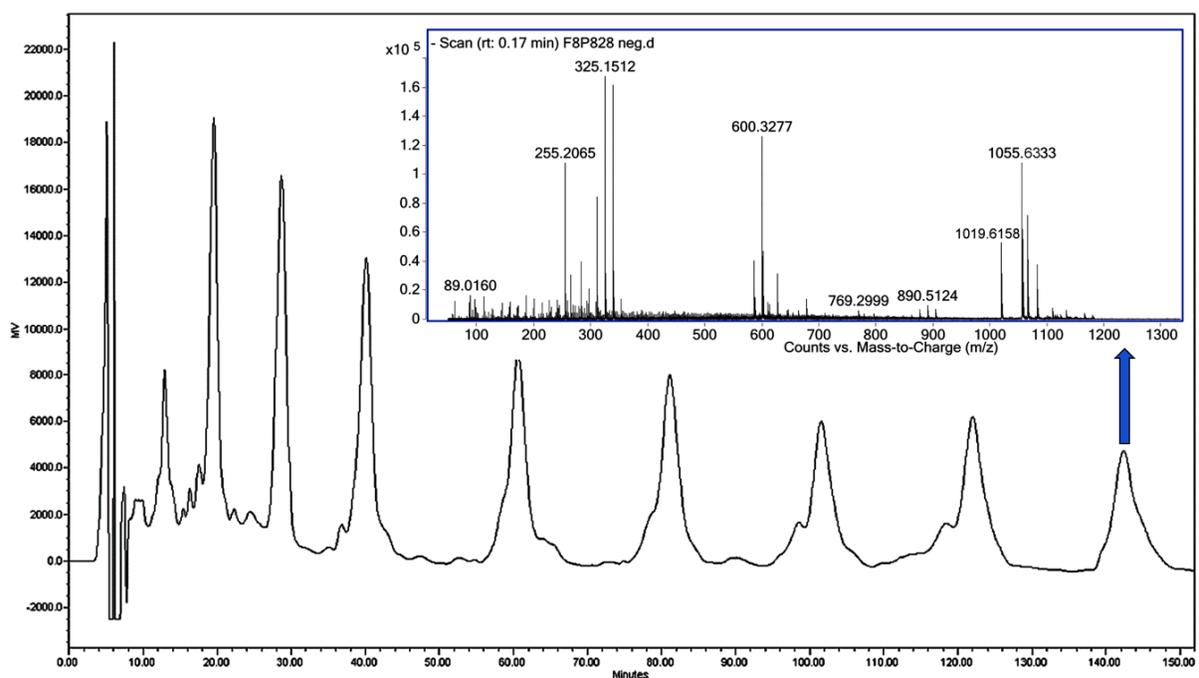


Figura 24. Purificación del componente mayoritario de la fracción con clave F9P828, utilizando la técnica de “reciclaje de pico”.

Estos procedimientos condujeron a la separación y la purificación del componente mayoritario de la fracción analizada F9P8, obteniéndose 7.7 mg de un sólido blanco con tiempo de retención = 28 min (F9P828): p.f. 105–106 °C; ORD (c 0.6, MeOH) $[\alpha]^{22}_{589} -46.0$, $[\alpha]_{578} -50.0$, $[\alpha]_{546} -56.7$, $[\alpha]_{436} -91.7$, $[\alpha]_{365} -133.3$. HRESIMS modo negativo (Fig. 24) m/z 1019.6158 $[M - H]^-$ (calcd. for $C_{52}H_{91}O_{19}$ requires 1019.6160 $\delta = -0.2$ ppm); m/z 1055.6333 $[M - H + 2H_2O]^-$ (calcd. for $C_{52}H_{95}O_{21}$ requires 1055.6371 $\delta = -3.6$ ppm); HRESIMS modo positivo m/z 1043.6132 $[M + Na]^+$.

6.4 Elucidación estructural del componente mayoritario

6.4.1 Elucidación del núcleo oligosacárido

El análisis de los espectros unidimensionales RMN ^1H (Fig. 25) y RMN ^{13}C (Fig. 34) de la fracción F9P8 permitió obtener información general acerca de la estructura del núcleo oligosacárido constitutivo de la resina. En la Figura 25 se ilustra la región entre δ_{H} 3.81 – 6.38 que corresponde a la región oligosacárida de la molécula F9P8.

De esta manera, el análisis espectroscópico unidimensional del espectro de RMN ^1H reveló la presencia de cuatro señales correspondientes a los protones anoméricos de cada unidad sacárida, identificadas en la región de δ_{H} 4.77 - 6.38 (Fig. 25), que se encuentran correlacionando con cuatro señales de carbono entre δ_{C} 100.50 - 103.70, confirmadas por la técnica de correlación heteronuclear ($^1\text{J}_{\text{C-H}}$) HSQC (Fig. 28); con este análisis se determinó que el núcleo oligosacárido de la molécula se encuentra formado por cuatro unidades monosacáridas.

La primera señal anomérica registrada a campos altos se encuentra centrada en δ_{H} 4.77 y δ_{C} 102.0, y posee un patrón de acoplamiento como un doblete ($J = 7.8$ Hz), característico de la D-fucosa. Adicionalmente, las señales centradas en δ_{H} 5.73, 5.91 y 6.38, corresponden a singuletes anchos de protones anoméricos para las tres unidades de L-ramnosa (Pereda-Miranda et al., 2010). Estas señales correlacionaron con los carbonos anoméricos centrados en δ_{C} 103.7, 102.7, 100.5, respectivamente (Fig. 28). En la región δ_{H} 1.51 - 1.59, se observan cuatro dobletes que corroboraron la presencia de cuatro metilpentosas, las cuales corresponden a las tres unidades de L-ramnosa y una de D-fucosa.

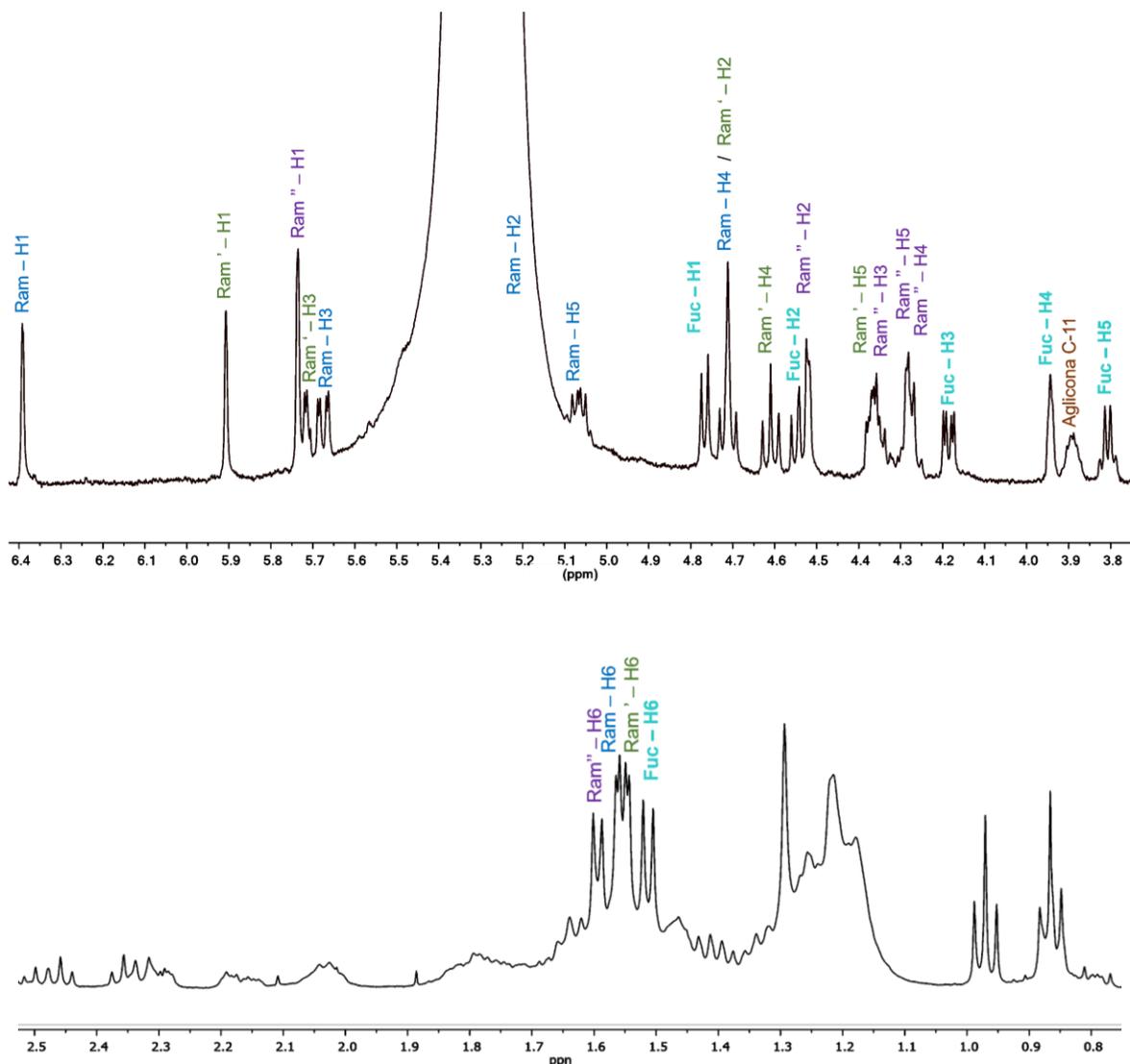


Figura 25. Espectro RMN ^1H del compuesto F9P8 (500 MHz, piridina- d_5).

El análisis del espectro COSY permitió la estimación de cada una de las unidades sacáridas. Para ello, se utilizó como criterio el valor de las constantes de acoplamiento vecinales, generadas de acuerdo con el ángulo diedro existente entre los protones (Flores-Tafoya, 2020). De esta manera, a partir de la identificación de señales anoméricas (H-1) se inició el análisis de cada una y su correlación con las señales H-2 al trazar los cuadros de conectividad para cada señal que forma el núcleo oligosacárido como se muestra en la Figura 26. Así, se establecieron las correlaciones vecinales entre los protones restantes: H2-H3, H3-H4, y H4-H5 en cada unidad sacárida. Por ejemplo, a partir de la señal del protón anomérico Ram H-1 (δ_{H} 6.38) y su interacción con la señal Ram H-2 (δ_{H} 5.24) se generó el primer

cuadro de conectividad (líneas color azul), a su vez, esta señal para Ram H-2 (δ_H 5.24) mostró una correlación con la señal Ram H-3 (δ_H 5.68) generando un nuevo cuadro de conectividad (líneas color azul). Las correlaciones restantes observadas se ilustran en la Figura 26. Estas conectividades se verificaron en el experimento TOCSY (Fig. 27) que mostró la interacción del protón anomérico con el sistema de espín completo conformado por las señales restantes (H1-H6) de cada unidad de carbohidrato (Flores-Tafoya, 2020).

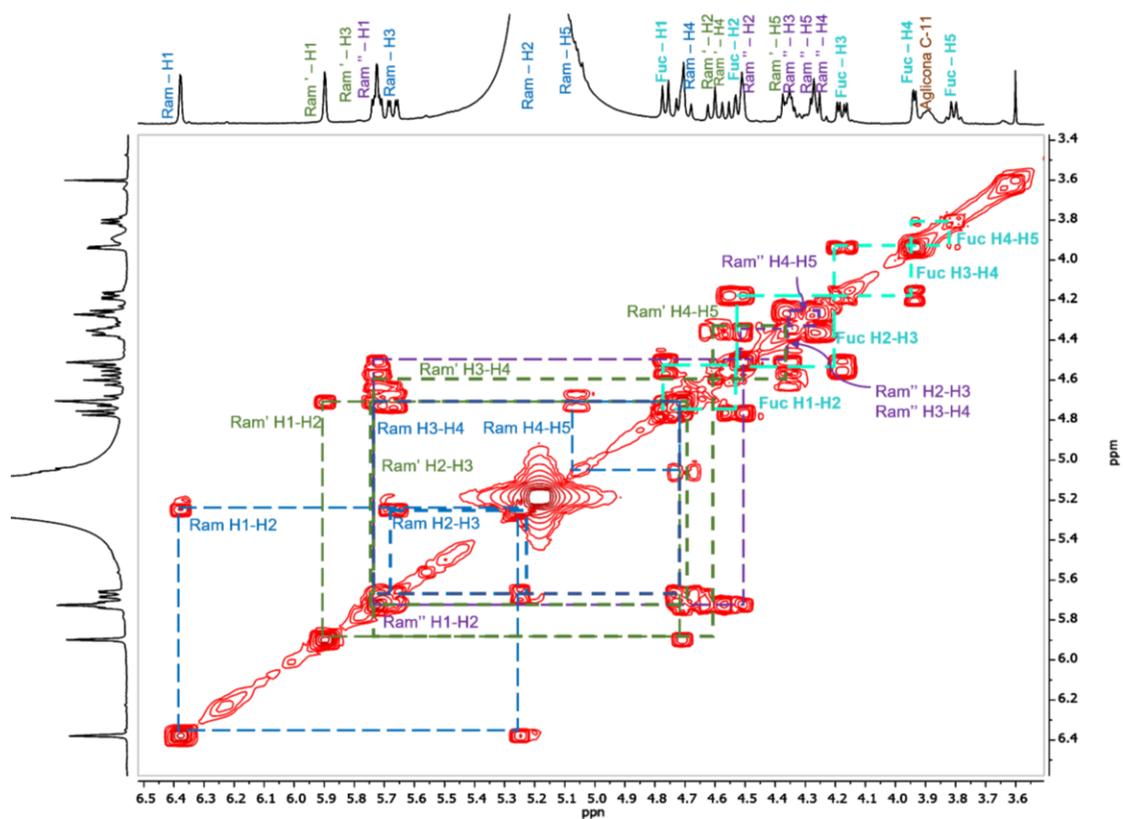


Figura 26. Espectro COSY para las unidades sacáridas del compuesto F9P8. Las correlaciones se muestran a través de cuadros de conectividad en distinto color (400 MHz, piridina- d_5).

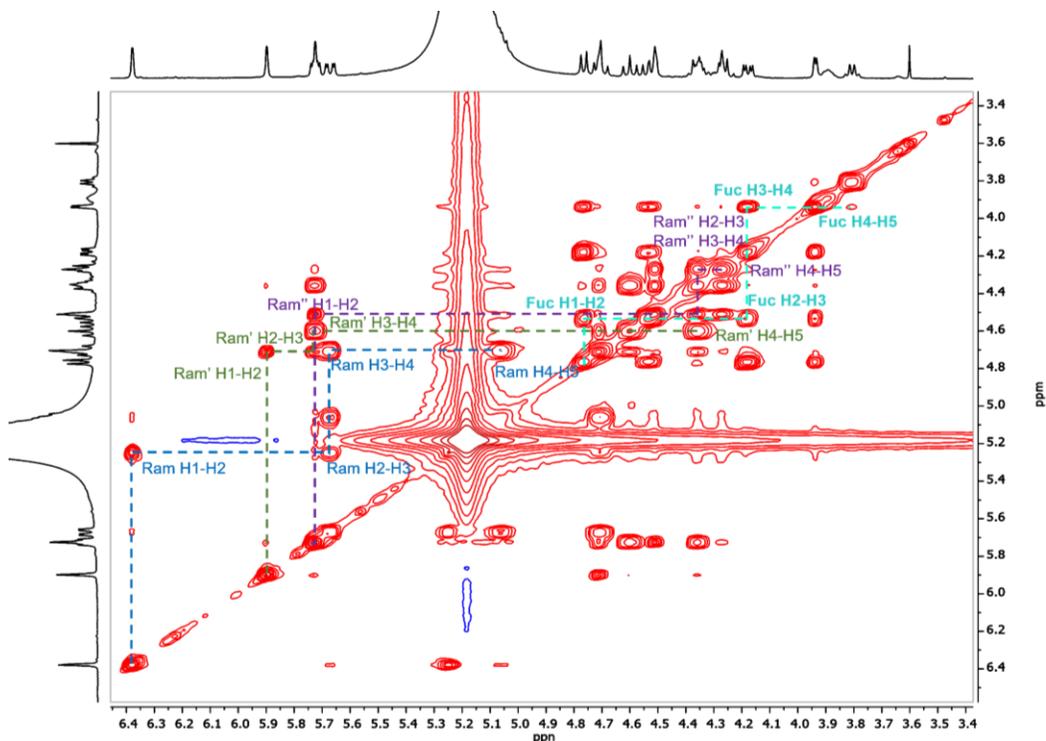


Figura 27. Espectro TOCSY de la porción oligosacárida del compuesto F9P8. Las correlaciones se muestran a través de líneas punteadas en distinto color (400 MHz, piridina- d_5).

Las relaciones heteronucleares entre cada hidrógeno y su átomo de carbono geminal se realizó a través de la técnica de ($^1J_{C-H}$) HSQC (Fig. 28). Una vez identificadas las señales de cada unidad sacárida (Cuadro 5), se estableció la secuencia de glicosilación del núcleo del producto mediante el análisis de las interacciones $^{2,3}J_{C-H}$ en el experimento HMBC (Fig. 29) a partir de las siguientes conectividades: Fuc H1 (δ_H 4.77) / aglicona C-11 (δ_C 80.0); Ram H1 (δ_H 6.38) / Fuc C2 (δ_C 73.3); Ram' H1 (δ_H 5.91) / Ram C4 (δ_C 76.1); Ram'' H1 (δ_H 5.73) / Ram' C4 (δ_C 77.6).

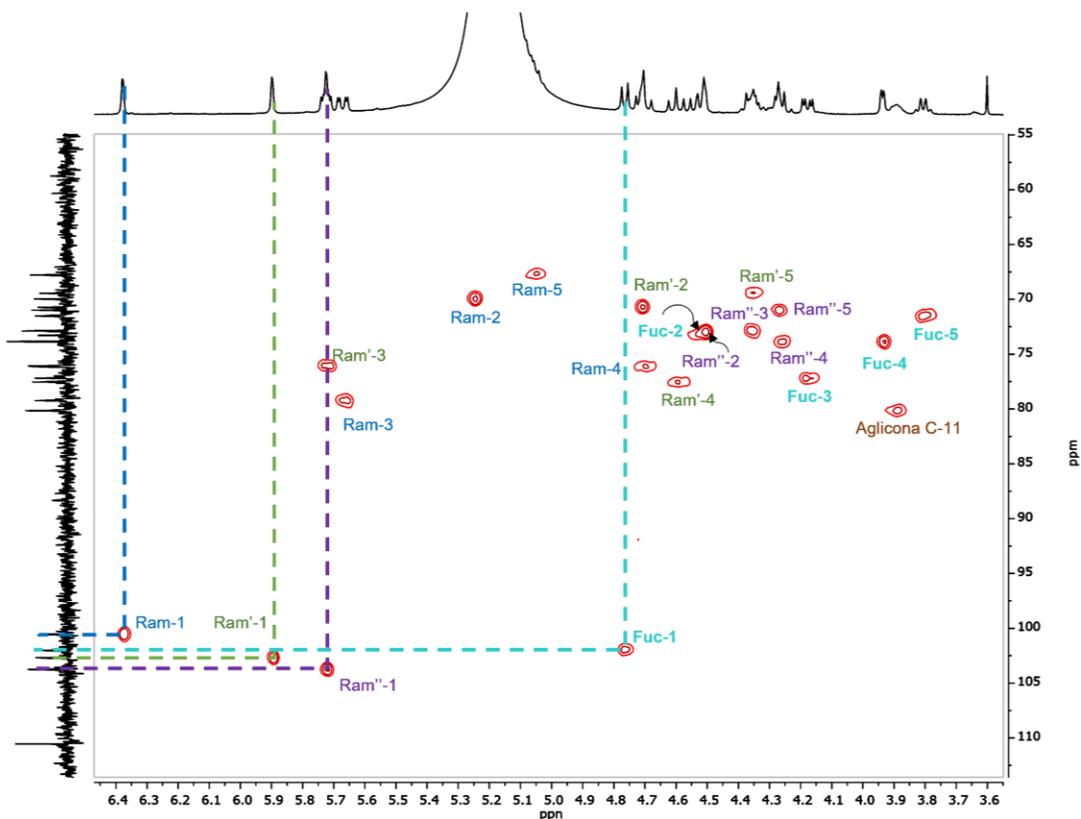


Figura 28. Espectro HSQC de la porción oligosacárida del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina-d₅).

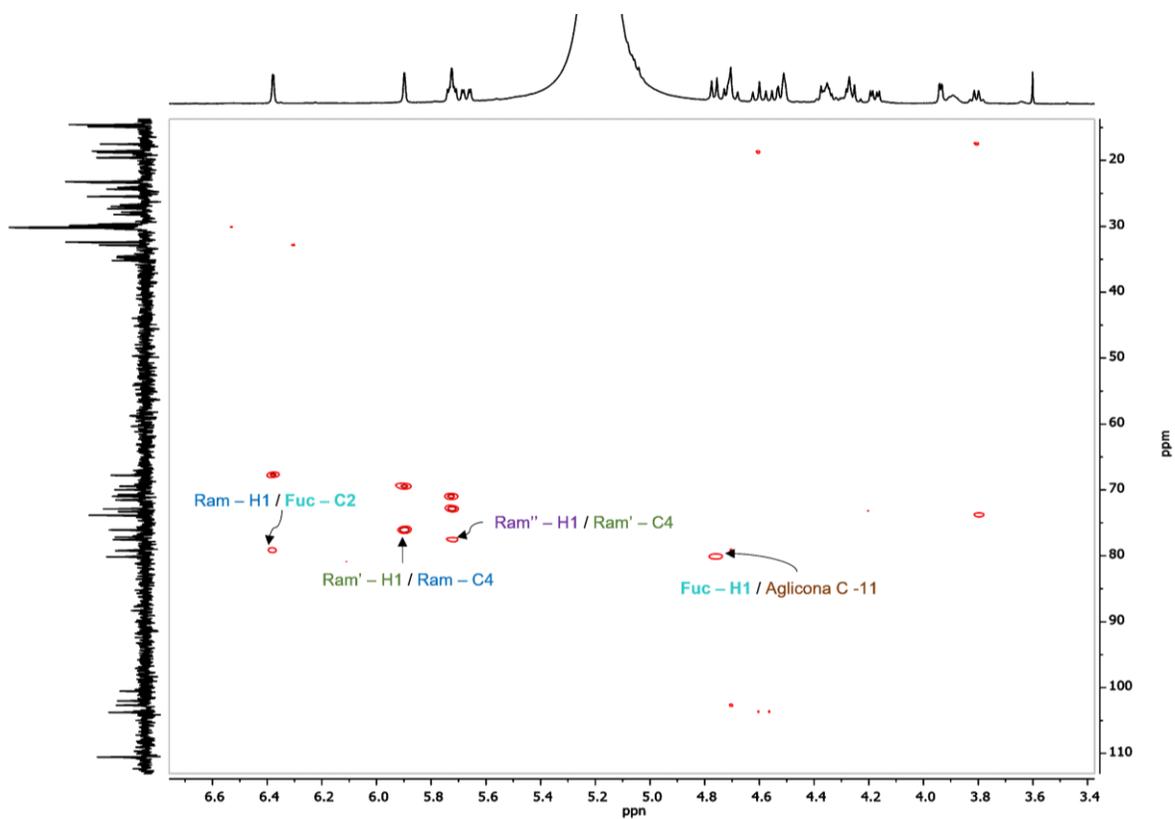


Figura 29. Espectro HMBC indicando la secuencia de glicosilación del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina-d₅).

Al establecerse la secuencia de glicosilación y al comparar las constantes espectroscópicas obtenidas con lo previamente descrito en la literatura (Cuadro 6), se pudo determinar que la estructura molecular del núcleo oligosacárido presente en la fracción F9P8 corresponde a la base estructural del ácido operculínico C (Fig. 30) descrito por Ono y colaboradores (1989).

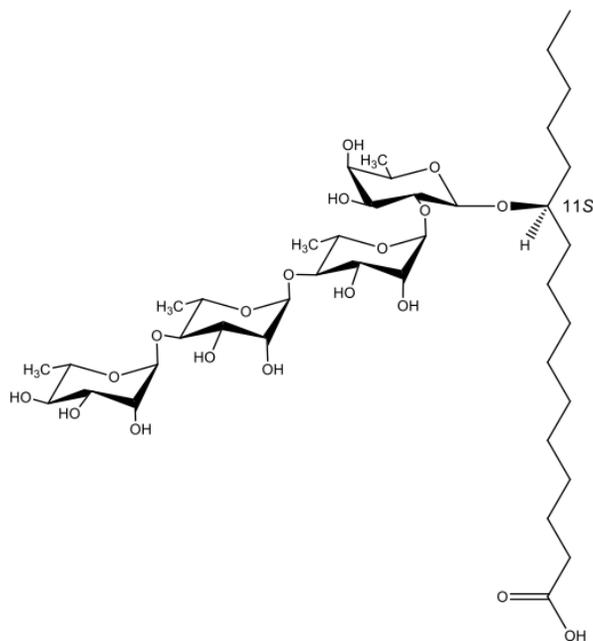


Figura 30. Estructura del Ácido operculínico C.

El Cuadro 5 resume los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento correspondientes a los protones y los carbonos de cada unidad que constituye la porción oligosacárida. Este análisis preliminar también permitió identificar la naturaleza de la aglicona que corresponde al ácido (11S)-hidroxihexadecanoico (ácido jalapinólico), el ácido graso que con mayor frecuencia se encuentra en las resinas glicosídicas (Pereda-Miranda et al., 2010).

6.4.2 Elucidación de los constituyentes intactos

El análisis de los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C reveló información crucial para la elucidación de la estructura del componente purificado.

El largo de la cadena del ácido acilante del compuesto F9P8 se determinó al realizar la comparación entre los espectros de RMN ^{13}C (Fig. 31) de éste con el del

compuesto F4P7 (Fig. 32) descrito por Moreno-Velasco (2019) a partir de la zona centrada entre δ_c 14 – 36; en esta región se observaron 23 señales para metilenos de las cuales 13 corresponden al núcleo oligosacárido de la aglicona (11-hidroxihecadenoilo) y 10 señales restantes corresponden a los metinos del ácido orgánico acilante; de esta manera, se determinó que la porción esterificante se trataba del mismo ácido *n*-dodecanoico en ambos compuestos.

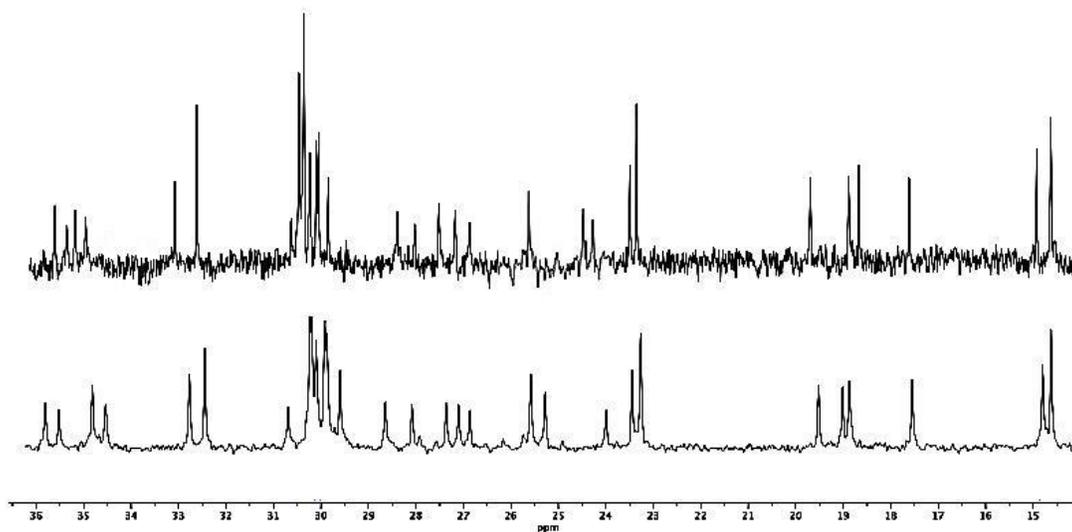


Figura 31. Comparativo entre espectros de RMN ^{13}C del compuesto F9P8 (trazo superior) y el compuesto F4P7 (trazo inferior).

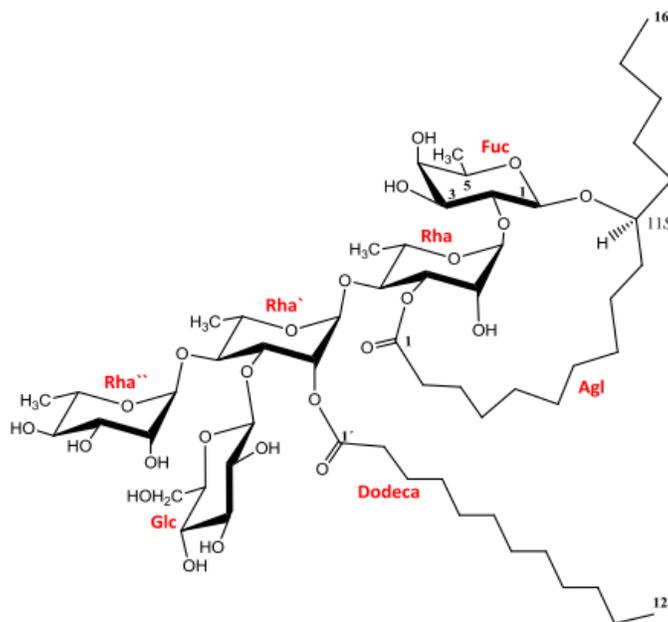


Figura 32. Estructura del compuesto purificado F4P7.

En el caso del espectro de RMN ^1H (Fig. 33), en la región comprendida entre δ_{H} 0.8 – 1.0, se encuentran dos tripletes que corresponden a los metilos de la macrolactona y del éster acilante, mientras que, en la región comprendida entre δ_{H} 1.4 – 1.7, se observan cuatro dobletes que permiten confirmar que este compuesto contiene cuatro metilpentosas que pertenecen a tres unidades de L-ramnosa y una de D-fucosa, y coinciden con la estructura del núcleo oligosacárido, el ácido operculínico C.

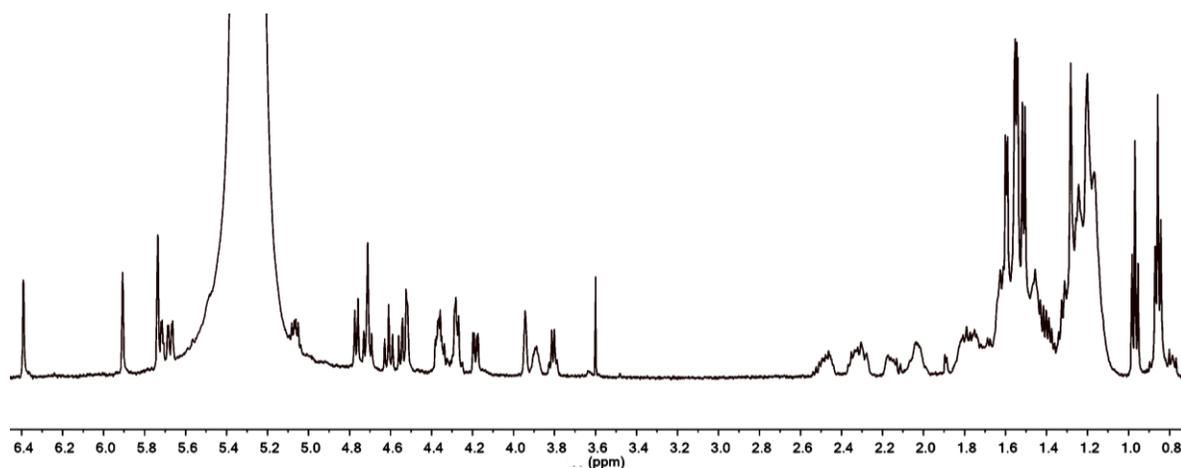


Figura 33. Espectro RMN ^1H del compuesto F9P8 (500 MHz, piridina- d_5).

En el espectro RMN ^{13}C (Fig. 34), en la zona de δ_{C} 10 – 40 se observaron las señales que corresponden a los carbonos alifáticos, tanto de la macrolactona como del éster alifático; en seguida, se identificaron en los valores de δ_{C} 60 – 80 las señales correspondientes a los metinos oxigenados que conforman las unidades de los carbohidratos. Al observar la zona a campos bajos en el rango de desplazamiento químico δ_{C} 100 – 110, se registran las señales atribuibles a los carbonos anoméricos de cada unidad sacárida. Las dos señales más desplazadas corresponden a los carbonos de los grupos carbonilo pertenecientes a la macrolactona (δ_{C} 174.2) y al éster (δ_{C} 172.4).

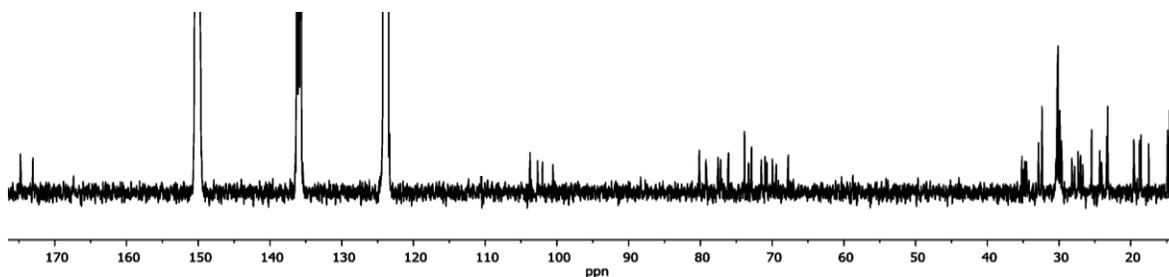


Figura 34. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto F9P8 (100 MHz, piridina- d_5).

De este análisis espectroscópico se puede concluir que el compuesto F9P8, posee como núcleo oligosacárido la base estructural del ácido operculínico C previamente reportado, y que la diferencia entre ambos radica en que este compuesto está esterificado en la posición C-2 de la segunda unidad de ramnosa (Ram' C-2) por una unidad de ácido dodecanoico, y a su vez, la aglicona forma una macrolactona al esterificar la posición C-3 de la primera unidad de ramnosa (Ram C-3). De esta manera, se propone como estructura del compuesto puro F9P8 la que se muestra en la Figura 35.

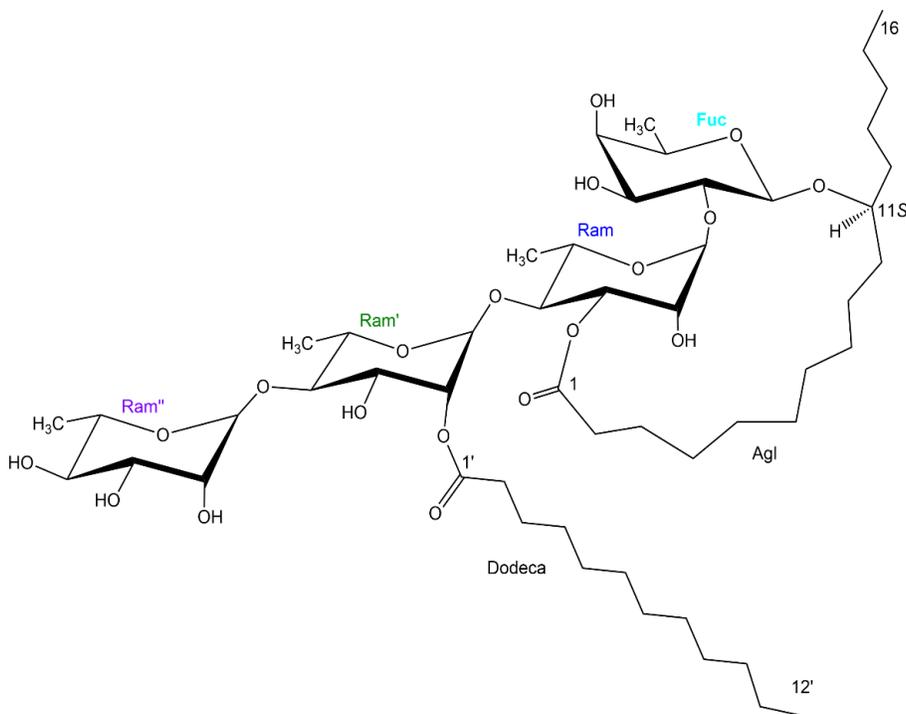


Figura 35. Estructura del compuesto F9P8.

Cuadro 5. Constantes espectroscópicas en la RMN ^1H (500 MHz) y ^{13}C (100 MHz) del compuesto F9P8

Posición	δ - ^1H	δ - ^{13}C
Fuc-1	4.77 d (7.8)	102.0
2	4.53 dd (10.6, 7.8)	73.3
3	4.18 dd (10.6, 3.8)	77.2
4	3.94 d (3.8)	73.8
5	3.81 dq (6.3)	71.5
6	1.51 d (6.3)	17.5
Ram-1	6.38 d (1.3)	100.5
2	5.24**	70.0
3	5.68 dd (10.0, 2.8)	79.2
4	4.70 dd (10.0, 10.0) *	76.1
5	5.06 dq (10.0, 6.2)	67.8
6	1.56 d (6.2) *	19.6
Ram ' -1	5.91 d (1.1)	102.7
2	4.70-4.71 dd *	70.7
3	5.72 dd (10.0, 3.0) *	76.1
4	4.61 dd (10.0, 10.0)	77.6
5	4.33-4.38 m*	69.4
6	1.55 d (6.1)	18.8
Ram''-1	5.73 d (1.1) *	103.7
2	4.52 dd (4.4, 1.1)	72.9
3	4.33-4.38 m *	72.8
4	4.26 dd (10.0, 10.0)	73.8
5	4.29 dq (10.0, 5.7)	71.0 *

6	1.59 d (5.7)	18.6
Aglic - 1		174.2
2a	2.17 m	34.9
2b	2.29 m	
11	3.90 m	80.0
16	0.97 t (7.1)	14.9
Dodecanoico -1		172.4
2a	2.33 m	34.7
2b	2.48 m	
12	0.87 t (7.0)	14.6

* Señales intercambiables

** Sobrepuesta con la humedad

7. CONCLUSIONES

1. Se preparó el extracto orgánico a partir del producto comercial de raíces pulverizadas de jalapa brasileña y se fraccionó a través de CCA obteniéndose doce fracciones primarias.
2. Se optimizó un método analítico en HPLC con una columna C-18 en fase reversa para la separación eficiente de los componentes mayoritarios presentes en una de las fracciones primarias.
3. Las condiciones instrumentales en HPLC a escala analítica se extrapolaron a escala preparativa para el aislamiento y la purificación del compuesto mayoritario presente en la fracción F9P8 mediante las técnicas de “corte de núcleo” y “rasurado de pico”.
4. Se empleó la técnica de “rasurado de pico” en conjunto con la técnica de “reciclaje” a escala semi-preparativa para la purificación del compuesto mayoritario de esta fracción.
5. Haciendo uso de las técnicas de RMN en 1D y 2D (homonuclear y heteronuclear), se caracterizó la estructura molecular del constituyente mayoritario de la fracción F9P8.
6. Se identificó una resina glicosídica novedosa, la cual tiene como núcleo constitutivo el ácido operculínico C macrolactonizado en la posición C-3 de la primera unidad de ramnosa, además de presentar un ácido orgánico que esterifica al núcleo en la posición C-2 de la segunda unidad de ramnosa, es decir, el ácido dodecanoico.

8. REFERENCIAS

Castañeda-Gómez, J., Lavias-Hernández, P., Fragoso-Serrano, M., Lorence, A., & Pereda-Miranda, R. (2019). Acylsugar diversity in the resin glycosides from *Ipomoea tricolor* seeds as chemosensitizers in breast cancer cells. *Phytochemistry Letters*, 32(May), 77–82.

Castañeda-Gómez, J., Charry-Sánchez, P. A. & Pereda-Miranda, R. (2013). Empleo de métodos analíticos modernos para el aislamiento y la identificación de Resinas Glicosídicas de la Familia Convolvulaceae. *Revista de Investigaciones. Universidad del Quindío*, 24(1), 19–29.

Castañeda-Gómez J. (2012) *Caracterización de la composición química de las resinas glicosídicas de Ipomoea purga*. Tesis de Doctorado. Facultad de Química, UNAM, México.

Castañeda-Gómez J. & Pereda-Miranda R. (2011). Resin Glycosides from the Herbal Drug Jalap (*Ipomoea purga*). *Journal of Natural Products*, 74(5), 1148–1153.

Cruz-Morales, S., Castañeda-Gómez, J., Rosas-Ramírez, D., Fragoso-Serrano, M., Figueroa-González, G., Lorence, A., & Pereda-Miranda, R. (2016). Resin Glycosides from *Ipomoea alba* Seeds as Potential Chemosensitizers in Breast Carcinoma Cells. *Journal of Natural Products*, 79(12), 3093–3104.

Cunha, G. H., Fachine, F. V., Santos, L. K. X., Pontes, A. V., Oliveira, J. C., Moraes, M. O., Bezerra, F. A. F., & Moraes, M. E. A. (2011). Efficacy of the tincture of jalapa in the treatment of functional constipation: A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Contemporary Clinical Trials*, 32(2), 153–159.

Ding, W., Jiang, Z. H., Wu, P., Xu, L., & Wei, X. (2012). Resin glycosides from the aerial parts of *Operculina turpethum*. *Phytochemistry*, 81, 165–174.

Eich, E. (2008). Secondary Metabolites Derived from Fatty Acids and Carbohydrates. In *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites: Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance (A Handbook)* (pp. 525–582). Springer Berlin Heidelberg.

Flores-Tafoya, P. (2020). *Purificación mediante HPLC y caracterización estructural de un lipotetrasacárido constitutivo de las resinas glicosídicas de Operculina hamiltonii*. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM, México.

Galvão, M. A. M., Ferreira, M. R. A., Nunes, B. M., Santana, A. S. C. O., Randau, K. P., & Soares, L. A. L. (2014). Validation of a spectrophotometric methodology for the quantification of polysaccharides from roots of *Operculina macrocarpa* (jalapa). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24(6), 683–690.

Gomes, A. M. M., da Silva, P. L., Soares, S. de A., da Silva, C. E. M., Gallão, M. I., Germani, R., & Ricardo, N. M. P. S. (2009). Isolation and physico-chemical and rheological characterisation of the Brazilian jalap starch (*Operculina tuberosa* Meisn.). *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 885–890.

González, E. C. (2011). *Ipomoea macdonaldii* (Convolvulaceae), una especie nueva del estado de Oaxaca, México. *Brittonia*, 63(1), 66–69.

Linajes, A., Rico-Gray, V., & Carrión, G. (1994). Traditional production system of the root of jalapa, *Ipomoea purga* (convolvulaceae), in Central Veracruz, Mexico. *Economic Botany*, 48(1), 84–89.

Lira-Ricárdez, J. (2019). *Ácidos glicosídicos constitutivos de las resinas de Operculina macrocarpa: elucidación estructural y evaluación de su potencial modulador sobre la resistencia a fármacos*. Tesis de Doctorado. Facultad de Química, UNAM, México.

Lira-Ricárdez, J., Pereda-Miranda, R., Castañeda-Gómez, J., Fragoso-Serrano, M., Simas, R. C., & Leitão, S. G. (2019). Resin Glycosides from the Roots of *Operculina macrocarpa* (Brazilian Jalap) with Purgative Activity. *Journal of Natural Products*, 82(6), 1664–1677.

Lotina-Hennsen, B., King-Díaz, B., & Pereda-Miranda, R. (2013). Tricolorin A as a natural herbicide. *Molecules*, 18(1), 778–788.

Meira, M., da Silva, E. P., David, J. M., & David, J. P. (2012). Review of the genus *Ipomoea*: Traditional uses, chemistry and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(3), 682–713.

Michelin, D. C., & Salgado, H. R. N. (2004). Avaliação da atividade laxante de *Operculina macrocarpa* L. Urban (Convolvulaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 14(2), 105–109.

Monsalvo, M., Fortunato, R., Wagner, M., & Ricco, R. (2018). Estudio farmacobotánico de *Ipomoea purpurea* (L) Roth (Convolvulaceae). *Dominguezia*, 34(2), 21–29

Montiel-Ayala, M. E., Jiménez-Bárceñas, N. R., Castañeda-Gómez, J., Moreno-Velasco, A., Lira-Ricárdez, J., Fragoso-Serrano, M., Leitão, S. G., & Pereda-Miranda, R. (2021). Glycosidic Acid Content from the Roots of *Operculina hamiltonii* (Brazilian Jalap) and Some of Their Phytopharmaceuticals with Purgative Activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31(5), 698–708.

Moreno-Velasco, A. (2019). *Aplicación de técnicas analíticas de alta resolución para la purificación (HPLC) y la caracterización estructural (RMN y EM) de las resinas glicosídicas de Ipomoea alulata*. Tesis de Maestría. Facultad de Química, UNAM, México.

Nimmakayala, P., Vajja, G., & Reddy, U. K. (2011). *Ipomoea*. In: C. Kole (Ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources: Industrial Crops* (pp. 123–132). Springer Berlin Heidelberg.

Noda N, Ono M, Miyahara K, Kawasaki T, Okabe M (1987) Resin glycosides. I. isolation and structure elucidation of orizabin-I. II. III and IV, genuine resin glycosides from the root of *Ipomoea orizabensis*. *Tetrahedron* 43:3889-3902.

Ono, M., Nishioka, H., Fukushima, T., Kunimatsu, H., Mine, A., Kubo, H., & Miyahara, K. (2009). Components of ether-insoluble resin glycoside (Rhamnoconvulvin) from rhizoma jalapae braziliensis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57(3), 262–268.

Ono M, Kawasaki T, Miyahara K (1989) Resin glycosides V: identification and characterization of the component organic and glycosidic acids of the ether-soluble crude resin glycosides (“jalapin”) from Rhizoma Jalapae Braziliensis (roots of *Ipomoea operculata*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 37:3209–3213.

Paganotte, D. M., Sannomiya, M., Rinaldo, D., Vilegas, W., & Salgado, H. R. N. (2016). *Operculina macrocarpa*: Chemical and intestinal motility effect in mice. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(4), 427–432.

Pereda-Miranda R, Rosas-Ramírez D, Castañeda-Gómez J (2010) Resin glycosides from the morning glory family. In: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Springer-Verlag: New York, Vol. 92, Chapter 2, pp 77–152.

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(10), 1460–1466.

Pereda-Miranda, R., Escalante-Sánchez, E., & Escobedo-Martínez, C. (2005). Characterization of lipophilic pentasaccharides from beach morning glory (*Ipomoea pes-caprae*). *Journal of Natural Products*, 68(2), 226–230.

Pereda-Miranda, R., & Hernández-Carlos, B. (2002). HPLC Isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from Mexican scammony root. *Tetrahedron*, 58(16), 3145–3154.

Rosas-Ramírez, D., Escalante-Sánchez, E., & Pereda-Miranda, R. (2011). Batatins III-VI, glycolipid ester-type dimers from *Ipomoea batatas*. *Phytochemistry*, 72(8), 773–780.

Song, W. Bin, Wang, W. Q., Zhang, S. W., & Xuan, L. J. (2015). Multidrug resistance-reversal effects of resin glycosides from *Dichondra repens*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 25(4), 795–798.

Staples, G. W., Simões, A. R., & Austin[†], D. F. (2020). A Monograph of *Operculina* (Convolvulaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 105(1), 64–138.

Steiner, U., & Leistner, E. (2018). Ergot Alkaloids and their Hallucinogenic Potential in Morning Glories. *Planta Medica*. 84(11), 751–758.

Wood, J. R. I., Muñoz-Rodríguez, P., Williams, B. R. M., & Scotland, R. W. (2020). A foundation monograph of *Ipomoea* (Convolvulaceae) in the new world. *PhytoKeys*, 143, 1–823.

Xu Z., Chang L. (2017) Convolvulaceae. In: *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3*. Springer, Singapore.

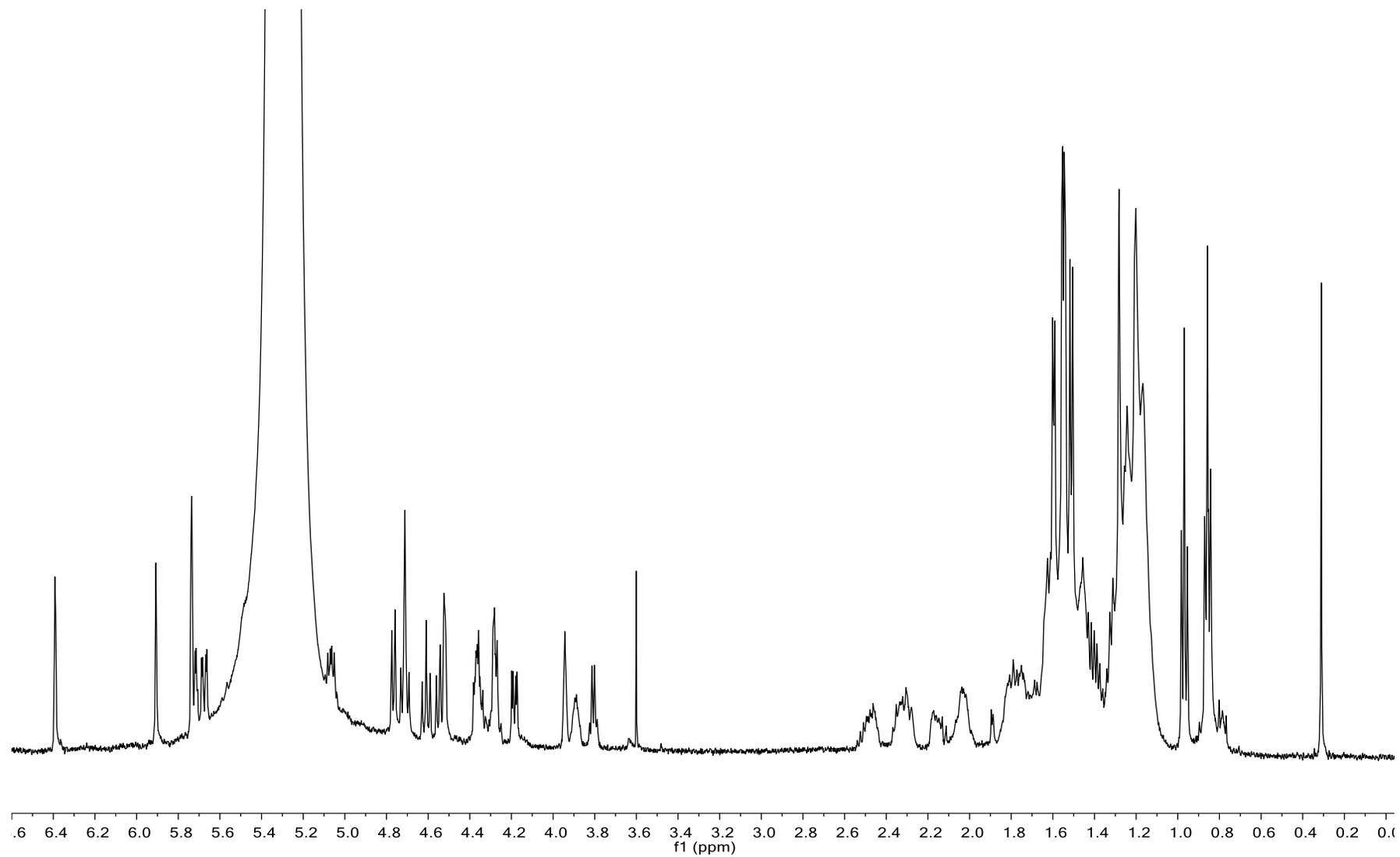
9. ANEXOS

Cuadro 6. Constantes espectroscópicas en la RMN ^1H (500 MHz) y ^{13}C (100 MHz) del ácido operculínico C (Ono M et al., 1989).

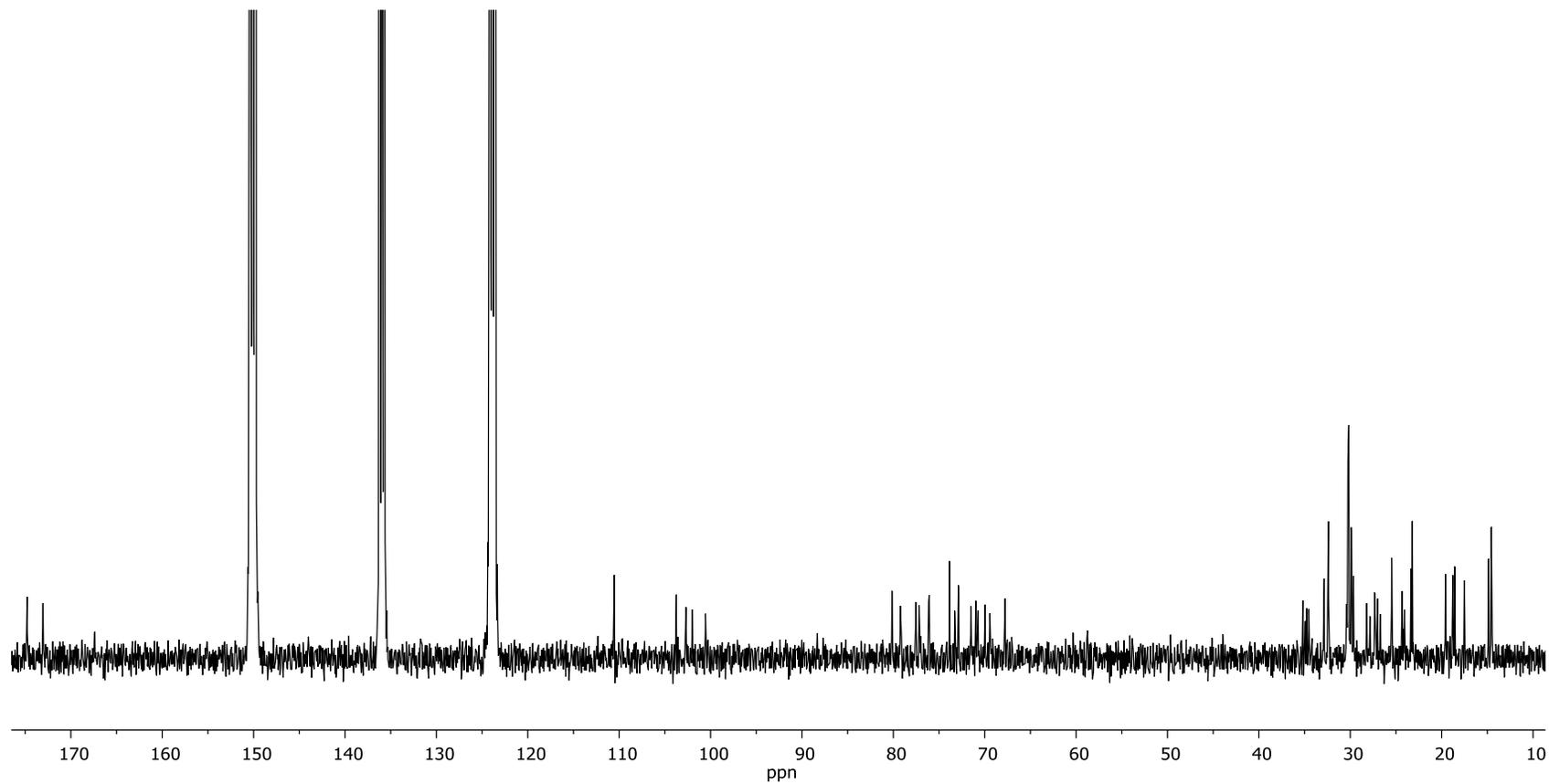
Posición	δ - ^1H	δ - ^{13}C
Fuc-1	4.74 d (7.9)	101.5
2	4.46 dd (7.9, 9.4)	75.1
3	4.11 dd (9.4, 3.4)	76.6
4	3.92 d (3.4)	73.4
5	3.76 q (6.4)	71.2
6	1.50 d (6.4)	17.2
Ram-1	6.21 d (1.2)	101.5
2	4.63 dd (1.2, 3.4)	72.7
3	4.58 dd (3.4, 9.1)	73.2
4	4.28 dd (9.1, 9.1)	80.6
5	4.82 dq (9.1, 5.8)	67.2
6	1.56 d (5.8)	19.0
Ram¹-1	6.18 d (1.8)	102.9
2	4.74 dd (1.8, 3.3)	73.1
3	4.53 dd (3.3, 8.9)	73.4
4	4.39 dd (8.9, 8.9)	79.6
5	4.32 dq (8.9, 6.1)	68.3
6	1.56 d (6.1)	18.8
Ram²-1	6.26 d (1.5)	103.3
2	4.78 dd (1.5, 3.0)	72.4
3	4.43 dd (3.0, 9.1)	72.8
4	4.23 dd (9.1, 9.1)	73.9
5	4.32 dq (9.1, 6.1)	70.2
6	1.58 d (6.1)	18.4
Aglic - 1		
11	3.92 m	78.1
16	0.92 t (6.8)	

9.1 Espectros RMN en 1D y 2D del compuesto F9P8

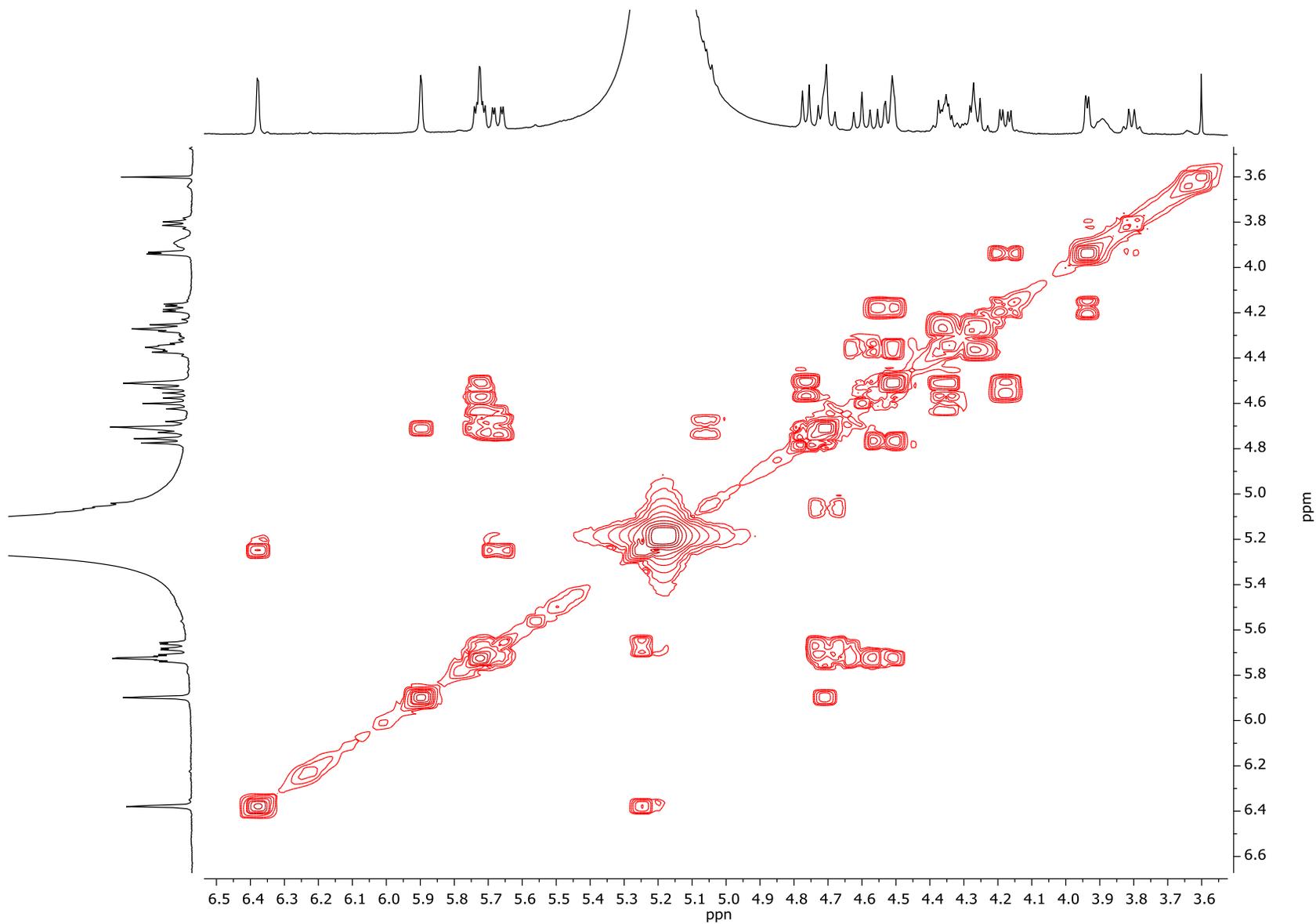
Espectro RMN ^1H del compuesto F9P8 (500 MHz, piridina- d_5)



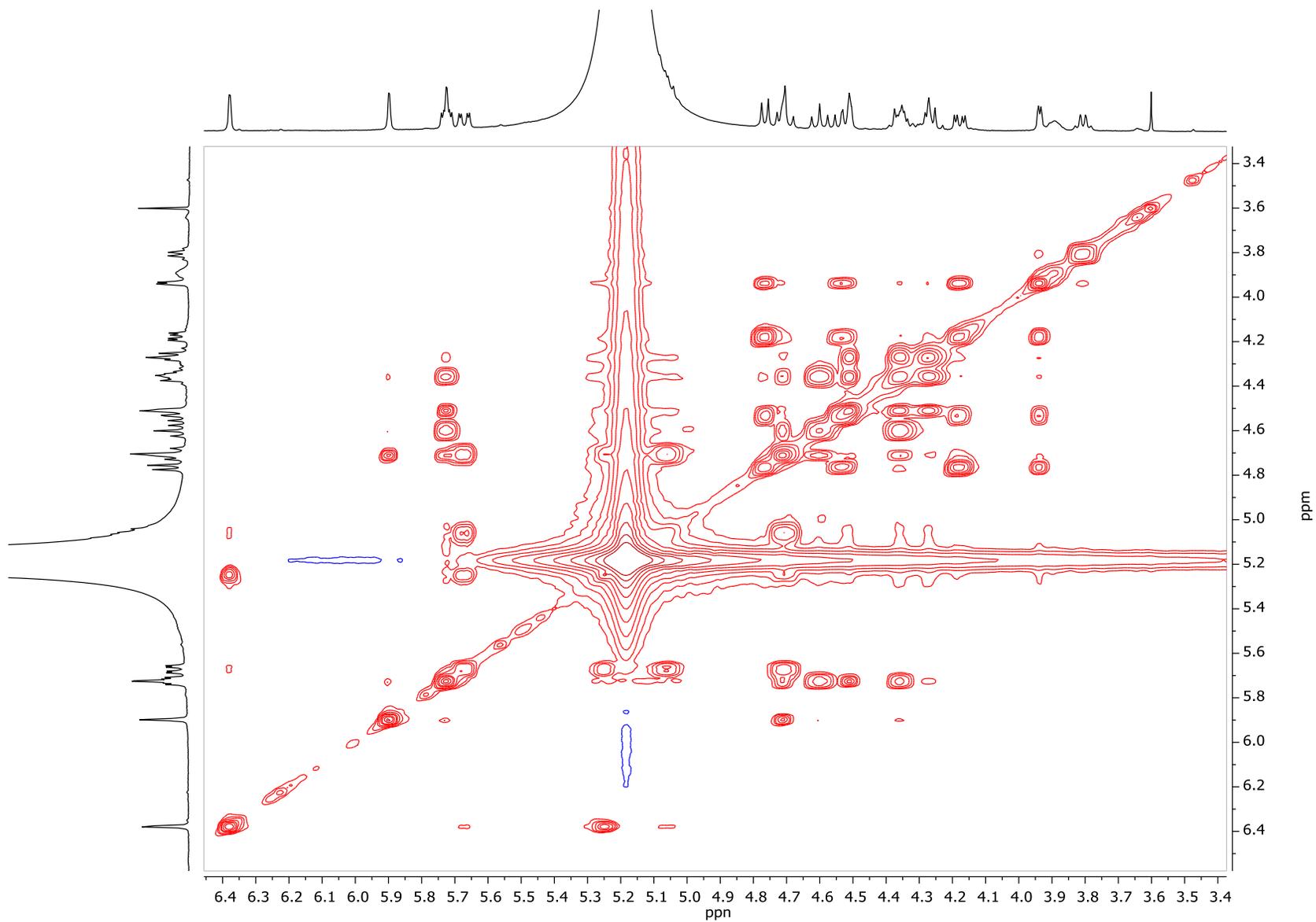
Espectro RMN ^{13}C del compuesto F9P8 (100 MHz, piridina- d_5)



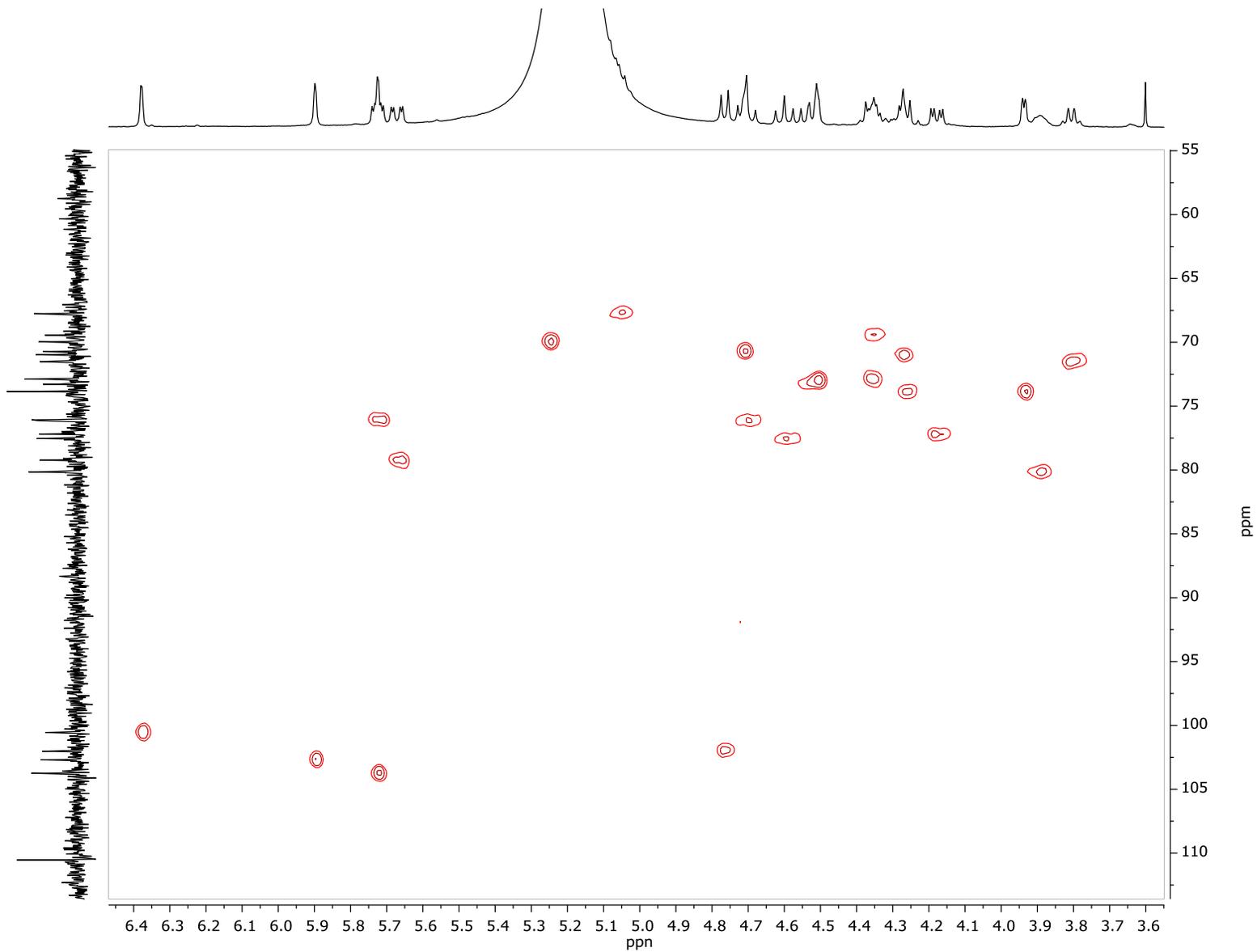
Espectro COSY del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina-*d*₅)



Espectro TOCSY del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina-*d*₅)



Espectro HSQC del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina-*d*₅)



Espectro HMBC del compuesto F9P8 (400 MHz, piridina-d₅)

