



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO QUÍMICO Y BIOLÓGICO DE LAS ESPECIES
Cordia dodecandra y *Cordia dentata*

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q.F.B. ROCÍO AGUILAR VÁZQUEZ

DR. LEOVIGILDO QUIJANO
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.
NOVIEMBRE 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. Manuel Jiménez Estrada

Vocal: Dr. Ricardo Reyes Chilpa

Vocal: Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda

Vocal: Dra. Laura Patricia Álvarez Berber

Secretario: Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar

Este trabajo fue realizado en el laboratorio 2-6 del Instituto de Química de la UNAM, bajo la tutoría del Dr. Leovigildo Quijano.

Los resultados derivados del presente trabajo se presentaron en:

- 12 Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Compuestos químicos del extracto metanólico de tallos de *Cordia dodecandra*”, 18 a 20 de Mayo del 2016, Xalapa Veracruz.
- Simposio Anual del Instituto de Química “Structural determination of components from *Cordia dodecandra*”, 08 de abril del 2016, CDMX.
- 13 Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Compuestos químicos del extracto metanólico en hojas de *Cordia dentata*”, 17 al 20 de mayo del 2017, Morelia Michoacán.
- Simposio Interno del Instituto de Química “Compuestos químicos del extracto metanólico en hojas de *Cordia dentata*”, 15 y 16 de Junio del 2017, CDMX.
- 14 Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales “Evaluación de la capacidad antioxidante, Quelante y antiinflamatoria de *Cordia dodecandra* y *C. dentata*”, 23 al 26 de mayo de 2018, Cuernavaca Morelos.
- Simposio Interno del Instituto de Química “Evaluación de la capacidad antioxidante, Quelante y antiinflamatoria de *Cordia dodecandra* y *C. dentata*”, 13 al 15 de Junio del 2018, CDMX.

AGRADECIMIENTOS

- Agradezco profundamente al Dr. Leovigildo Quijano por la dirección de este trabajo. Muchas gracias por todo el apoyo y enseñanzas brindadas en mí y por haberme alentado a superarme profesionalmente.
- A los miembros del Jurado: Dr. Manuel Jiménez Estrada, Dr. Ricardo Reyes Chilpa, Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda, Dra. Laura Patricia Álvarez Berber y al Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar por la revisión, comentarios y correcciones realizadas al presente trabajo.
- Al programa de Posgrado de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.
- Agradezco a CONACYT el apoyo de beca No.603678 otorgada para la realización de este trabajo.
- Laboratorio Universitario de Resonancia Magnética Nuclear (LURMN) del Instituto de Química-UNAM, fundado por CONACYT-México (proyecto 0224747).
- A los técnicos académicos del Instituto de Química por su asesoría y ayuda en la realización de las diferentes técnicas del presente trabajo:

Resonancia Magnética Nuclear: M. en C. Elizabeth Huerta, M. en C. María de los Ángeles Peña González, M. en C. Héctor Ríos Olivares y Dra. Isabel Chávez Uribe, Dra. Beatriz Quiroz García y Dra. Nuria Esturau Escofet.

Pruebas Biológicas: M. en C. Antonio Nieto Camacho

Resonancia Paramagnética Electrónica: M. en C. Virginia Gómez Vidales.

Espectroscopía y Polarimetría: Q.F.B. María del Rocío Patiño Maya y Quím. María de la Paz Orta Pérez.

Cromatografía: M. en C. Lucía del Carmen Márquez Alonso, Quím. Eréndira García Ríos y M. en C. Lucero Mayra Ríos Ruiz.

Espectrometría de Masas: Dr. Francisco Javier Pérez Flores, I.Q. Luis Velasco Ibarra y Dra. María del Carmen García González.

Rayos X: M. en C. Simón Hernández-Ortega

- A los compañeros y amigos presentes en estos años del laboratorio 2-6 y otros laboratorios:

Freddy Muñoz, Verónica García, Iván Ramírez, Ricardo Gómez, Mariana López, Eduardo Moreno, Enrique Serrano, Elizabeth Hernández, Valeria Vázquez, Celia Bustos, Yesenia Guizar, Andrea Vásquez, Alberto Colín, Victoria Vergara, Olivia Pérez, Adriana Cedillo, Fabián Cuétara, Karla Ramírez, Tania Rojo, Elizabeth Reyes, Esteban López, Miguel Cuevas, Silvestre, Ariel Careño, Aldahir Ramos, Luis Fernando, Víctor H. Pino, Rosa Ma. Chávez, Brenda L. Sánchez, Karina Zarco, Christian Pérez, Oscar Palomino.

CONTENIDO

ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE CUADROS

1. INTRODUCCIÓN	1-2
2. ANTECEDENTES	3
2.1 Generalidades de la familia Boraginaceae	4
2.2 Generalidades del género <i>Cordia</i>	5
2.2.1 Taxonomía del género <i>Cordia</i>	5
2.2.2 <i>Cordia dodecandra</i>	6
2.2.3 <i>Cordia dentata</i>	6
2.3 El género <i>Cordia</i> en la medicina tradicional	7
2.3.1 <i>Cordia dodecandra</i> en la medicina tradicional	7
2.3.2 <i>Cordia dentata</i> en la medicina tradicional	7
2.4 Actividad biológica de especies del género <i>Cordia</i>	8-9
2.4.1 Inflamación	10
2.4.2 Capacidad antioxidante	10
2.4.3 Metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria y antioxidante.....	10
2.4.4 Capacidad quelante.....	11
2.4.4.1 Resonancia Paramagnética Electrónica	11-12
2.5 Compuestos químicos aislados del género <i>Cordia</i>	13-15
2.5.1 Compuestos químicos aislados de la especie <i>C. dodecandra</i>	16-17

3. OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo general.....	19
3.2 Objetivos específicos.....	19
4. EXPERIMENTAL.....	20
4.1 Procedimientos generales	21-22
4.2 Material vegetal	23
4.3 Extracción	23
4.4 Aislamiento de los metabolitos presentes en el extracto metanólico de los tallos de la especie <i>C. dodecandra</i>	24
4.4.1 Fracción A	24-25
4.4.2 Fracción B	25
4.4.3 Fracción D	25
4.5 Aislamiento de los metabolitos presentes en el extracto metanólico de las las hojas de la especie <i>C. dentata</i>	26
4.5.1 Fracción D	26-27
4.5.2 Fracción G	27
4.5.3 Fracción I	27
4.5.4 Cuantificación del ácido rosmarínico (5) en el extracto metanólico de hojas de <i>C. dentata</i>	28
4.5.4.1 Estándares y reactivos	28
4.5.4.2 Análisis por HPLC	28
4.6 Aislamiento de los metabolitos presentes en el extracto de diclorometano de los tallos de la especie <i>C. denatata</i>	29
4.6.1 Fracción A	29
4.6.2 Fracción E	29

4.7 Evaluación de actividad biológica	30
4.7.1 Actividad anti-inflamatoria en oreja de ratón	30-31
4.7.2 Actividad antioxidante	31
4.7.2.1 Inhibición de la oxidación lipídica por la técnica de TBARS	32-33
4.7.2.2 Actividad captadora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo	33-34
4.7.3 Actividad quelante	34
4.8 Determinación del perfil químico de los extractos acuoso y metanólico de tallos de <i>C. dodecandra</i>	35
4.8.1 Estándares y reactivos	35
4.8.2 Análisis por HPLC	35
5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	36
5.1 Metabolitos identificados de los tallos del extracto metanólico de <i>C. dodecandra</i> . 37	
5.1.1 Compuesto 1: (-)- <i>R</i> -alantoína (1)	37-38
5.1.2 Compuesto 2: (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2)	39-41
5.1.3 Compuesto 3: <i>E</i> -siringina (3)	41-42
5.1.4 Compuesto 4: manghaslina (4)	43-46
5.1.5 Compuesto 5: ácido rosmarínico (5)	47
5.1.6 Compuesto 6: ácido salvianólico B (6)	48-54
5.1.7 Resumen de los compuestos químicos aislados del extracto metanólico de los tallos de <i>C. dodecandra</i>	55
5.2 Metabolitos identificados en las hojas del extracto metanólico de <i>C. dentata</i>	56
5.2.1 Compuesto 7: ácido 4-(<i>S</i>)-hidroxi-2-(<i>S</i>)-pipecólico (7)	56-57
5.2.2 Compuesto 8: glucósido del alcohol bencílico (8)	58-59
5.2.3 Compuesto 9:(+)-bornesitol (9)	59-60
5.2.4 Otros compuestos	61
5.2.5 Resumen de los compuestos químicos aislados del extracto metanólico de las hojas de <i>C. dentata</i>	62

5.3 Metabolitos identificados en los tallos del extracto de diclorometano de <i>C. dentata</i>	63
5.3.1 Compuestos 10: mezcla de nonil-ferulato (10a), undecil-ferulato (10b) y pentil- <i>cis</i> -ferulamida (10c)	63-65
5.3.2 Compuesto 11: aldehído ferúlico (11).	66
5.3.3 Resumen de los compuestos químicos aislados del extracto de diclorometano de los tallos de <i>Cordia dentata</i>	67
5.4 Actividad antiinflamatoria y antioxidante	68-69
5.5 Actividad quelante	70-71
6. CONCLUSIONES	72-73
7. REFERENCIAS	74-83
8. ANEXOS	84
8.1 ÍNDICE DE FIGURAS A	85
8.2 ÍNDICE DE FIGURAS B	89-91
8.3 ÍNDICE DE FIGURAS C	132-133

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
$A_{280-205}$	Absorbancia a 280-205
A_{\parallel}	A paralela (constante de acoplamiento hiperfino)
A_{\perp}	A perpendicular (constante de acoplamiento hiperfino)
ATR	Attenued total reflection (Reflexión total atenuada)
AcOH	Ácido acético
AcOEt	Acetato de etilo
ATB	Ácido tiobarbitúrico
BHT	Butil hidroxil tolueno
BuOH	Butanol
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
^{13}C	Carbono 13
CC	Cromatografía en columna
CC-flash	Cromatografía en columna flash
CCFa	Cromatografía en capa fina analítica
CCFp	Cromatografía en capa fina preparativa
Cd	Cadmio
CDCl_3	Cloroformo deuterado
CD_3OD	Metanol deuterado
$(\text{CD}_3)_2\text{SO}$	Dimetil sulfóxido
$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	Piridina deuterada
CH_2Cl_2	Diclorometano
Cl_{50}	Concentración inhibitoria media
cm	Centímetro
cm^{-1}	Centímetro a la menos uno
Co	Cobalto
COSY	CORrelation Spectroscopy (Espectroscopía de Correlación ^1H - ^1H en dos dimensiones)
CO_2	Dióxido de Carbono
Cr	Cromo
Cu	Cobre
Cu^{+2}	Catión cobre con estado de oxidación +2
Cu^{+1}	Catión cobre con estado de oxidación +1
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sulfato de cobre pentahidratado
D_2O	Óxido de deuterio
<i>d</i>	Señal doble
<i>da</i>	Señal doble ancha
<i>dd</i>	Señal doble de dobles

Abreviatura	Significado
<i>ddd</i>	Señal doble de doble de dobles
DCE	Dicroísmo circular electrónico
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Incremento de señal sin distorsión por transferencia de polarización)
DO	Densidad óptica
DPPH	2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazyl (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)
EM-DART-AR	Mass Spectrometry - Direct Analysis in Real Time- high resolution (Espectrometría de masas - análisis directo en tiempo real de alta resolución)
EM-ESI ⁺	Espectrometría de masas (Electrospray Ionization) de ionización por electro spray modo positivo
EM-ESI ⁻	Espectrometría de masas, (Electrospray Ionization) de ionización por electro spray modo negativo
ERO's	Especies reactivas de oxígeno
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
Fe	Hierro
FeSO ₄	Sulfato de hierro
g	Constante giromagnética
g	g paralela
g _⊥	g perpendicular
g	Gramo
GHz	Giga hertz
HCOOH	Ácido fórmico
H ₂ O	Agua
H ₂ O/H ⁺	Agua ácida
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation (Correlación heteronuclear ¹³ C- ¹ H a larga distancia)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía de líquidos de alta eficiencia)
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation (Correlación heteronuclear ¹³ C- ¹ H a un enlace)
i.p	Intraperitoneal
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
K	Kelvin
kg	kilogramo
<i>m</i>	Señal múltiple
m	Metro
MDA	Malondialdehído

Abreviatura	Significado
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
Me ₂ CO	Acetona
mg	Miligramo
MHz	Mega hertz
min	Minutos
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro por minuto
mm	Milímetro
mM	Mili molar
Mn	Manganeso
Mo	Molibdeno
mT	Mili teslas
µg	Microgramo
µL	Microlitro
µm	Micrometro
µM	Micromolar
mult.	multiplicidad
<i>m/z</i>	Relación masa-carga
nm	Nanómetros
nmoles	Nanomoles
NOM	Norma Oficial Mexicana
OH·	Radical hidroxil
OOH·	Radical hidroperoxil
ODC	Octadecilsilicio
p/v	Peso/volumen
pf	Punto de fusion
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
PrOH	Propanol
RO	Rotación óptica
RPE	Resonancia paramagnética electrónica
rpm	Revoluciones por minuto
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de hidrógeno 1
s	Señal simple
sa	Señal simple ancha

Abreviatura	Significado
t	Señal triple
TBARS	Tiobarbituric acid Reactive Substances (Especies reactivas del ácido tiobarbitúrico)
TMP	Tetra-metoxi-propano
TOCSY	TOTal Correlated Spectroscopy (Espectroscopía de correlación total ^1H - ^1H en dos dimensiones)
TPA	12-O-TetradecanoylPhorbol-13-Acetate (13-O-acetil-12-O-tetradecaoilforbol)
UV-Vis	Ultravioleta – visible
V	Vanadio
δ	Desplazamiento químico en ppm
ϵ	Coficiente de extinción molar
$\lambda_{\text{máx}}$	Longitud de onda máxima
%	porcentaje

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Principales enfermedades y padecimientos para los que se emplean plantas medicinales.

Figura 2: Taxonomía del género *Cordia*.

Figura 3: Árbol de *C. dodecandra*.

Figura 4: Flores de *C. dodecandra*.

Figura 5: Ilustración de la especie *C. dentata*.

Figura 6: Comparación de los espectros de RMN-¹H (CD₃OD, 300 MHz) de la rutina (**V**) y el compuesto **4**.

Figura 7: Comparación de los espectros de RMN-¹³C (CD₃OD) de la rutina (**V**, 75 MHz) y el compuesto **4** (100 MHz).

Figura 8: Comparación de los espectros de RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD) del ácido rosmarínico (**5**) y el compuesto **6**.

Figura 9: Estructura plana del compuesto **6**.

Figura 10: Expansión del espectro COSY (500 MHz, C₅D₅N, δ_H 6.9-7.6) del compuesto **6**.

Figura 11: Expansión del espectro COSY (500 MHz, C₅D₅N, δ_H 3.4-5.9) del compuesto **6**.

Figura 12: Correlaciones HMBC (¹H→¹³C) del compuesto **6**.

Figura 13: Comparación de los espectros de RMN ¹H (CD₃OD) del extracto metanólico de las hojas de *C. dentata* (400 MHz) y el ácido rosmarínico (**5**) (300 MHz).

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1: Actividad biológica detectada en especies del género *Cordia*.

Cuadro 2: Compuestos aislados de las diferentes especies del género *Cordia*.

Cuadro 3: Estructuras de algunos fitoconstituyentes de diferentes especies del género *Cordia*.

Cuadro 4: Compuestos aislados de la especie *C. dodecandra*

Cuadro 5: Estructuras de algunos fitoconstituyentes de la especie *C. dodecandra*.

Cuadro 6: Fraccionamiento primario del extracto metanólico de los tallos de *C. dodecandra*.

Cuadro 7: Cromatografía de la fracción D.

Cuadro 8: Cromatografía del extracto de diclorometano de los tallos de la especie *C. dentata*.

Cuadro 9: Desplazamientos de RMN-¹H del compuesto **2** y el (-)-5-*epi*-litospermósido.

Cuadro 10: Desplazamientos de RMN-¹³C del compuesto **2** y el (-)-5-*epi*-litospermósido.

Cuadro 11: Datos de RMN del compuesto **4** (400 MHz, CD₃OD).

Cuadro 12: Datos de RMN-¹H y -¹³C (500 MHz, C₅D₅N) del compuesto **6**

Cuadro 13: Datos de RMN-¹H y -¹³C (500 MHz, CDCl₃) del nonil-ferulato y el undecil-ferulato (**10a** y **10b**) y el pentil-*cis*-ferulamida (**10c**).

Cuadro 14: Resultados de la actividad antiinflamatoria, antioxidante y quelante de los extractos polares de *C. dodecandra* y *C. dentata*.

1.INTRODUCCIÓN

Los productos naturales han sido utilizados desde la antigüedad en la medicina tradicional de muchas culturas, siendo las plantas el principal recurso disponible para el hombre.¹ Por ejemplo, en el continente americano, las plantas se han utilizado desde tiempos precolombinos por diferentes culturas, como la maya para aliviar diferentes padecimientos.²

Durante las últimas décadas se ha observado un creciente interés de la población en el uso de plantas como medicina complementaria o alternativa para prevenir o mejorar muchos padecimientos³ como cutáneos, gastrointestinales, respiratorios, renales, diabéticos y dolorosos, etc.²

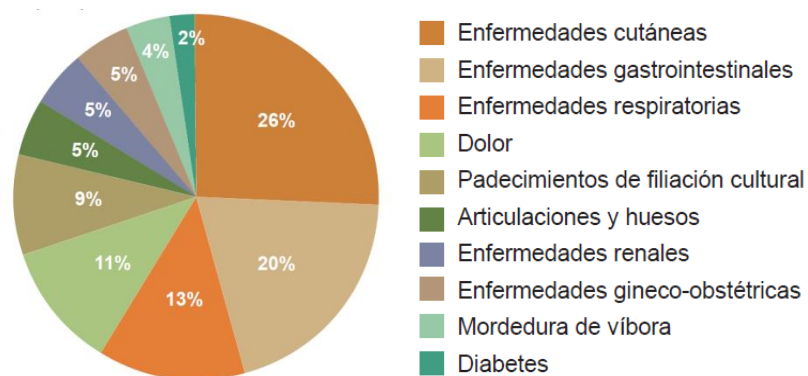


Figura 6: Principales enfermedades y padecimientos para los que se emplean plantas medicinales.

De acuerdo con lo anterior, hoy en día, las plantas constituyen un amplio campo de investigación en la búsqueda de nuevas moléculas con actividad biológica.¹

2.ANTECEDENTES

2.1 Generalidades de la familia Boraginaceae

La familia Boraginaceae comprende 2740 especies y 148 géneros distribuidos en zonas tropicales y templadas de Europa, Asia, África, Australia y América.⁴ Entre los géneros más estudiados de la familia Boraginaceae se encuentran: *Borago*, *Cordia*, *Cynoglossum*, *Hackelia*, *Heliotropium*, *Moritzia*, *Myosotis* y *Tournefortia*,⁵ siendo el género *Cordia* el más representativo de esta familia con más de 300 especies.³

La familia Boraginaceae se ha dividido en cuatro subfamilias basándose en las características de su fruto, y cuatro de éstas se encuentran en el continente americano:

- Cordioidae Link
- Ehretioidae (Mart. Ex Lindl.) Arn.
- Heliotropioidae (Schrad) Arn.
- Boraginoideae Arn.⁶

Algunas especies son de importancia económica,⁵ principalmente como:

- Plantas medicinales: diuréticas, desinfectantes, hemostáticas, etc.
- Ornamentales
- Maderables
- Frutos comestibles

2.2 Generalidades del género *Cordia*

El género *Cordia* está conformado por aproximadamente 300 especies que comprenden principalmente arbustos y árboles que se distribuyen en regiones cálidas, como *C. dodecandra* y *C. dentata*.³

2.2.1 Taxonomía del género *Cordia*⁶

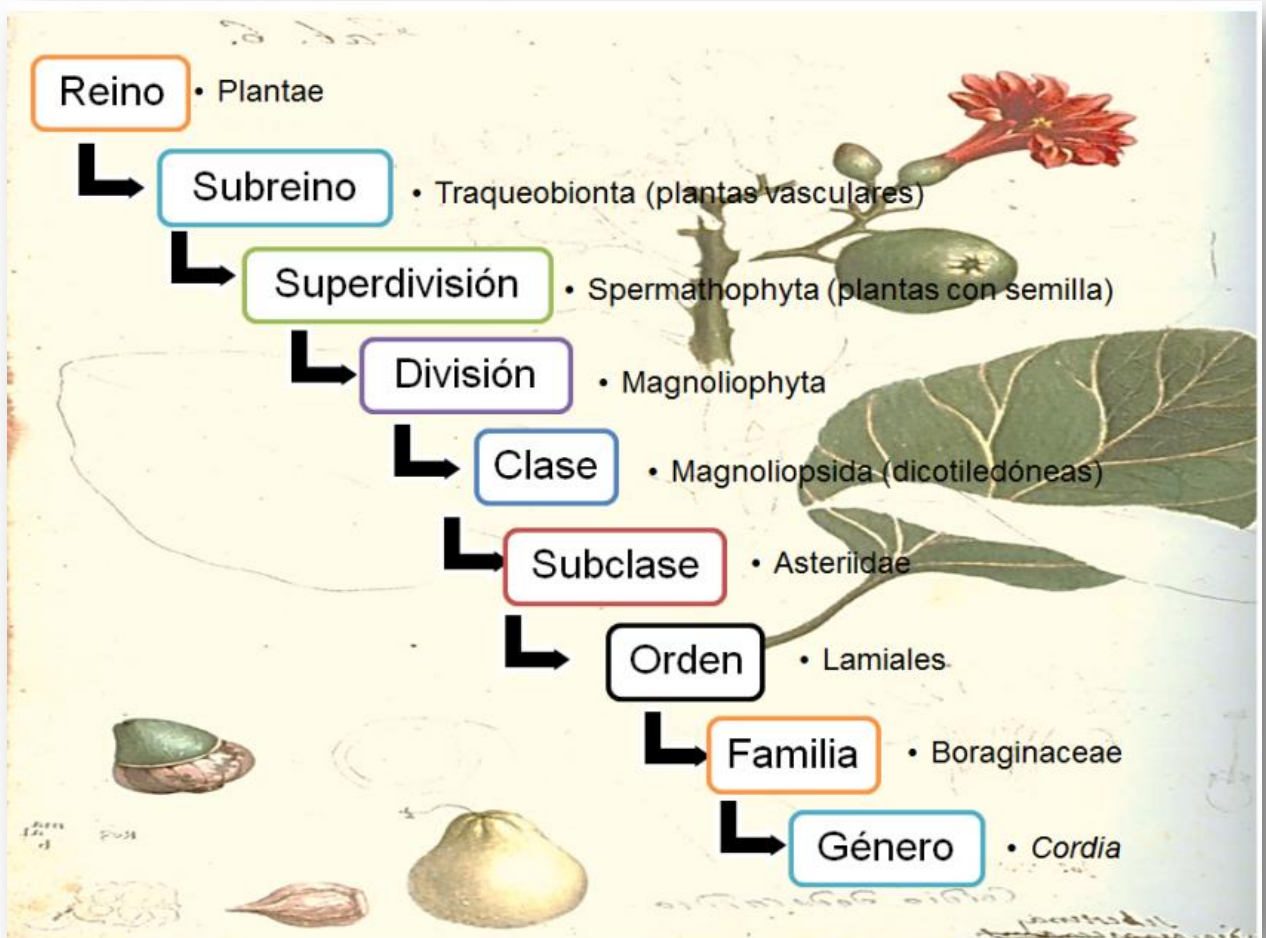


Figura 7: Taxonomía del género *Cordia*.

2.2.2 *Cordia dodecandra*

Cordia dodecandra DC (ciricote) es un árbol de hoja caduca que llega a medir hasta 10 m de altura, sus flores son hermafroditas, de color rojo-naranja y tipo gamopétala con 11 a 18 lóbulos.⁷ Es una especie de distribución restringida que crece principalmente en los estados de Veracruz, Chiapas, la Península Yucatán, Guatemala y Belice.⁸



FigurFigura 9: Flores de *C. dodecandra*.

2.2.3 *Cordia dentata*

Cordia dentata (zazamil, gulabere o uavos) es un árbol que llega a medir hasta 7 m de altura, y su corteza es de color gris a pardo; las hojas son simples, elípticas de color verde oscuro, de 3 a 18 cm de largo y de 3 a 11 cm de ancho; las flores son de color amarillo. *Cordia dentata* es nativa de México y se encuentra distribuida hasta Panamá, Colombia y Venezuela.⁹



Figura 10: Ilustración de la especie *C. dentata*.¹⁰

2.3 El género *Cordia* en la medicina tradicional

Muchas especies de la familia Boraginacea se han utilizado tradicionalmente por sus propiedades diuréticas, anti-inflamatorias, diaforéticas y sedantes, así como para el tratamiento de la tos, bronquitis e infecciones de garganta, para aliviar el dolor reumático y como cataplasma en quemaduras.¹¹

Así mismo, diferentes especies de este género como *C. dichotoma*, *C. myxa*, *C. obliqua*, *C. verbeacea*, *C. martinicensis*, *C. salicifolia*, *C. spinescens*, *C. latifolia* y *C. ulmifolia* se han utilizado también por sus propiedades como cicatrizantes, astringentes, antiinflamatorias, antihelmínticas, anti maláricas, diuréticas, febrífugas, supresoras del apetito, supresoras de la tos y contra infecciones en el tracto urinario, pulmonares y lepra.³

2.3.1 *Cordia dodecandra* en la medicina tradicional.

Cordia dodecandra en el sureste de la República Mexicana se emplea popularmente como una decocción o un jarabe de las hojas para tratar la tos, el catarro y los escalofríos.⁸

2.3.2 *Cordia dentata* en la medicina tradicional

Cordia dentata se usa en el oriente del país como infusión de las hojas la cual se aplica como tónico para el tratamiento de enfermedades pulmonares. En Perú, se emplea como cicatrizante mediante el uso de cataplasmas de la decocción de las hojas.⁶

2.4 Actividad biológica de especies del género *Cordia*.

Diferentes actividades farmacológicas han sido evaluadas en varias especies del género *Cordia*, principalmente aquellas relacionadas con el dolor y la inflamación, como se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Actividad biológica detectada en especies del género *Cordia*.

Actividad	Especie	Parte estudiada
Analgésica ³	<i>C. francisci</i> Ten.	hojas
	<i>C. martinicensis</i> (Jacq.) Roem & Schult.	hojas
	<i>C. myxa</i> L.	hojas
	<i>C. serratifolia</i> Kunth.	hojas
	<i>C. ulmifolia</i> Juss. Ex Dum. Cours.	hojas
	<i>C. verbenaceae</i> DC.	hojas
Antiandrogénica ³	<i>C. multispicata</i> Cham.	hojas
Antiartrítica ³	<i>C. myxa</i> L.	hojas
Antibacteriana ³	<i>C. corymbosa</i> Willd. Ex Roem & Schult.	frutos
	<i>C. curassavica</i> (Jacq.) Roem & Schult.	raíces
	<i>C. cylindrostachya</i> Roem & Schult.	-----
	<i>C. monosperma</i> (Jacq.) Roem & Schult.	parte aérea
	<i>C. myxa</i> L.	frutos / hojas
	<i>C. verbenaceae</i> DC.	partes aéreas
Antifertilidad ³	<i>C. dichotoma</i> G. Forst.	hojas
	<i>C. myxa</i> L.	corteza
Antifúngica ³	<i>C. alliodora</i> (Ruiz & Pav.) Oken.	corteza de tallos
	<i>C. curassavica</i> (Jacq.) Roem & Schult.	raíces
	<i>C. goetzei</i> Gürke.	corteza de tallo
	<i>C. linnaei</i> Stearn.	raíces
Antihelmíntica ³	<i>C. dichotoma</i> G. Forst.	frutos
	<i>C. myxa</i> L.	frutos
Antihistamínica ³	<i>C. latiflora</i> Roxb.	frutos maduros
	<i>C. myxa</i> L.	corteza

Continuación Cuadro 1: Actividad biológica detectada en especies del género *Cordia*.

Actividad	Especie	Parte estudiada
Antiinflamatoria ³	<i>C. cylindrostachya</i> Roem & Schult.	-----
	<i>C. francisci</i> Ten.	hojas
	<i>C. martinicensis</i> (Jacq.) Roem & Schult.	hojas
	<i>C. myxa</i> L.	hojas
	<i>C. obliqua</i> Willd.	semillas
	<i>C. serratifolia</i> Kunth.	hojas
	<i>C. ulmifolia</i> Juss. Ex Dum. Cours.	hojas
	<i>C. verbenaceae</i> DC.	hojas
Antitumoral ³	<i>C. myxa</i> L.	corteza
	<i>C. sinensis</i> Lam.	hojas
	<i>C. corymbosa</i> Willd. Ex Roem & Schult.	frutos
Antiulcerosa ³	<i>C. latiflora</i> Roxb.	frutos maduros
Anti VIH ³	<i>C. spinescens</i> L.	hojas
Antiviral ³	<i>C. saliciflora</i> Cham.	toda la planta
	<i>C. spinescens</i> L.	hojas
Astringente ³	<i>C. myxa</i> L.	frutos
Cicatrizante ³	<i>C. dichotoma</i> G. Forst.	frutos
Citotóxica ³	<i>C. corymbosa</i> Willd. Ex Roem & Schult.	frutos
	<i>C. globosa</i> (Jacq.) Kunth.	raíces
	<i>C. martinicensis</i> (Jacq.) Roem & Schult.	Hojas
	<i>C. myxa</i> L.	Hojas
	<i>C. ulmifolia</i> Juss. Ex Dum. Cours.	Hojas
Demulcente y diurética ³	<i>C. myxa</i> L.	Frutos
Ionotrópica ³	<i>C. saliciflora</i> Cham.	toda la planta
Espasmolítica ³	<i>C. globosa</i> (Jacq.) Kunth.	Hojas
Hepatotóxica ³	<i>C. martinicensis</i> (Jacq.) Roem & Schult.	Hojas
	<i>C. ulmifolia</i> Juss. Ex Dum. Cours.	Hojas
Larvicida ³	<i>C. alliodora</i> (Ruiz & Pav.) Oken.	corteza de tallos
	<i>C. curassavica</i> (Jacq.) Roem & Schult.	Raíces
	<i>C. linnaei</i> Stearn.	Raíces
	<i>C. plauhiensins</i> Fresen.	----
Leishmanicida ³	<i>C. fragrantissima</i> Kurz.	Madera
Vasodilatadora ³	<i>C. globosa</i> (Jacq.) Kunth.	Hojas

2.4.1 Inflamación

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico al daño causado a células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos o por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Cuando la inflamación es crónica, se pueden desencadenar enfermedades degenerativas como la artritis, la arteriosclerosis o incluso cáncer.¹³

2.4.2 Capacidad antioxidante

Dentro del proceso inflamatorio se encuentra involucrado el estrés oxidativo, siendo este el balance entre la producción y la eliminación de diferentes especies oxidantes como: radicales libres o especies reactivas de oxígeno; la regulación de este proceso se da por especies llamadas antioxidantes.¹⁴

2.4.3 Metabolitos secundarios con actividad antiinflamatoria y antioxidante.

Se ha comprobado que una gran cantidad de compuestos de tipo terpenoides, flavonoides, alcaloides, entre otros, se encuentran involucrados en la disminución de la producción de radicales libres, teniendo como respuesta la inhibición de los procesos inflamatorios. Muchos de estos compuestos, principalmente de tipo lignanos y cumarinas, actúan como:

- Captadores de radicales libres
- Agentes quelantes de metales de transición (hierro y cobre)
- Inhibidores de la peroxidación
- Reparadores de daños provocados en la célula.¹⁵

2.4.4 Capacidad quelante

Ciertos iones de metales de transición como el V, Cr, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo y Cd son esenciales en los procesos biológicos; sin embargo, su excesiva exposición puede resultar en daño oxidativo de membranas y biomoléculas debido a la formación de radicales hidroxilo al interactuar con el peróxido de hidrógeno¹⁶, además de toxicidad por envenenamiento con metales.¹⁷

En el caso de intoxicación por exceso de metales como el cobre, se pueden desencadenar padecimientos como la enfermedad de Wilson. Los complejos de coordinación en el campo médico-farmacológico con fines terapéuticos se han utilizado en casos de envenenamiento por metales, ya que estos pueden formar complejos estables, solubles y no tóxicos.¹⁷

2.4.4.1 Resonancia Paramagnética Electrónica

La espectroscopía de Resonancia paramagnética electrónica (RPE) es una técnica importante para el estudio de iones y/o moléculas que contienen uno o más electrones no apareados (sistemas paramagnéticos).¹⁸ Esta técnica se basa en el efecto Zeeman electrónico que consiste en el desdoblamiento de los estados de espín del electrón desapareado por aplicación de un campo magnético estático externo, y la aplicación de radiación electromagnética (i.e. energía) del orden de frecuencia de las microondas (300 MHz – 30 GHz).¹⁹

Así la aplicación de esta técnica espectroscópica permite obtener una amplia gama de información sobre las especies paramagnéticas, como son:

- Presencia de electrones desapareados en sistemas orgánicos e información sobre la estructura del radical.
- Determinación de intermediarios radicales.
- Determinación del estado de oxidación de metales de transición (Cu, Fe, Mo, Mn, Co).
- Determinación de la geometría local del sistema paramagnético.
- Detección e identificación de especies reactivas de oxígeno (ERO) y nitrógeno (ERN), especies radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y radicales hidroperóxido ($\text{OOH}\cdot$).
- Actividad quelante de metales como Cu^{+2}
- Propiedades oxidantes y antioxidantes de cualquier tipo de sustancia.¹⁸

Como resultado del análisis se obtiene un gráfico que representa intensidad de campo magnético (energía) Vs la intensidad de la absorción. La información que se nos presenta en este espectro se expresa como el valor de g (constante giromagnética), la cual es representativa del ambiente magnético de cada electrón detectado, y en algunos casos, la constante de acoplamiento hiperfina la cual indica la interacción del electrón con el espín nuclear I del núcleo asociado al electrón.

En un espectro de RPE se obtiene la medida de la constante giromagnética (g) paralela (g_{\parallel}) y perpendicular (g_{\perp}), así como las correspondientes constantes de acoplamiento hiperfinas paralela (A_{\parallel}) y perpendicular (A_{\perp}).¹⁸

2.5 Compuestos químicos aislados del género *Cordia*


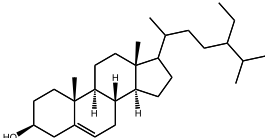
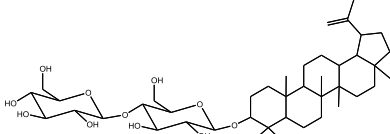
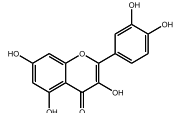
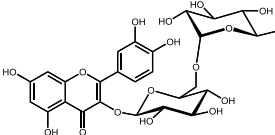
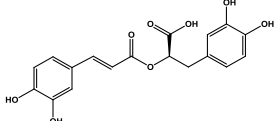
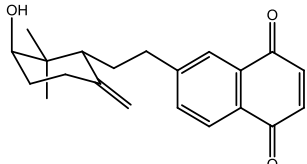
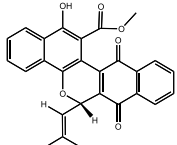
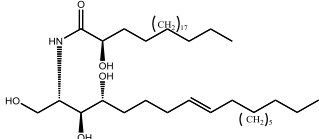
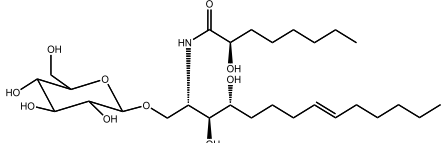
De las especies estudiadas del género *Cordia* se han aislado diferentes tipos de compuestos como: terpenos, flavonoides, fenilpropanoides, alcaloides, polisacáridos, entre otros. En el Cuadro 2 se enlistan los diferentes metabolitos secundarios que se han descrito en diferentes especies del género *Cordia*.³

Cuadro 2: Compuestos aislados de diferentes especies del género *Cordia*.

Especie	Compuestos aislados	Parte estudiada
<i>C. abyssinica</i> R. Br.	Polisacáridos y gomas ³	Frutos
<i>C. alliodora</i> (Ruiz & Pav.) Oken.	Alliodorina ³	Raíces
<i>C. corymbosa</i> Willd. Ex Roem & S.	Cordiaquinonas A, B, C y D ³	Raíces
<i>C. cylindrostachya</i> Roem & S.	α -Pino (I), canfeno, triciclono ³	----
<i>C. decandra</i> Hook & Arn.	Menisdaurina, <i>p</i> -hidroxi-benzaldehído ³	Hojas
<i>C. dentata</i> Poir.	Ácido rosmarínico (VI) y rutina (V). ³ Ácido cafeico, ácido-4-hidroxi-láctico, rutina (V), ácido rosmarínico (VI). ⁶³	Flores Hojas
<i>C. dichotoma</i> G. Forst.	Arabinoglucano, D-glucosa, L-arabinosa ³ ácido γ -linolénico ³	Frutos
	Quercetina (IV), quercitina ³	Semillas
	α -Amirina, betulina, octacosanol, lupeol-3- ramnósido, β -sitosterol-3-glucósido, hentriacontanol, hentriacontano, taxilfolina-3,5-diramnósido y hesperitina-7-ramnósido. ²⁷	Hojas
	Alantoína, α -amirina, apigenina, β -sitosterol (II), lupeol y rutina (V). ²⁸	Corteza
<i>C. elaeagnoides</i> D.C.	Geranil hidroquinona, eleagina, alliodorina, alliodorol, cordallinol, cordiacromeno A ²⁰	Madera
<i>C. globifera</i> W.W.Sm.	Meroterpenos, cordiarimida A y B ²³	Madera
<i>C. globosa</i> (Jacq.) Kunth.	7-Metoxi-flavona, 5,7,3',4'-metoxi-flavona y benzoquinonas ³	Hojas
	microphyllaquinona (VIII). ²²	Corteza

Continuación Cuadro 2: Compuestos aislados de diferentes especies del género <i>Cordia</i>.		
Especie	Compuestos aislados	Parte estudiada
<i>C. goetzei</i> Gürke.	Cordigona, cordigol, benzofuranos ³	Corteza de tallos
<i>C. linnaei</i> Stearn.	Meroterpenos, naftoquinona, naftoxireno ³	Raíces
<i>C. leucocephala</i> Moric.	Cordiaquinona L (VII) y M ²¹	Raíces
<i>C. macleodii</i> Hoof f. & Thom.	Acido p-hidroxi fenil láctico ³ quercetina (IV) ³	Hojas Flores
<i>C. milleni</i> Baker.	Cordiacromos A-F. ²⁹	Corteza
<i>C. multispicata</i> Cham.	cordinol A, cordialina A ³ 5-hidroxi-3',4',7'-trimetoxi-flavanona, quercetina (IV), rutina (V), ácido ascórbico y α -tocoferol. ²⁶	Hojas
<i>C. myxa</i> L.	Quercetina (IV), rutina (V), carotenoides, alcaloides de la pirrolizidina ³	Hojas
	Acido oleico, β -sitosterol (II) ³	Semillas
	Saponinas ³	Corteza
<i>C. obliqua</i> Willd.	Hesperetina-7-ramnósido, lupan-20,29-eno-2-O- β -D-maltósido ³	Corteza
	Toxifolina-3,5-diramnosido ³	Semillas
<i>C. platythyrsa</i> Baker.	Cerebrósidos, esfingolípidos ³ (IX y X) cordiacromos A-F ³	Corteza de tallos Madera
<i>C. plauhiensis</i> Fresen.	Saponinas (III) ³	Corteza
<i>C. rufescens</i> A. DC.	Rufescenólido, β -sitosterol (II), estigmasterol, siringaldehído, 3- β -O-D-glucopyranosil-sitosterol, metil cafeato, ácido 4-metoxi-protocatehuico y metil rosmarinato. ²⁵	Tallos
<i>C. rothii</i> Roem & Schult.	Ácido linoleico, β -sitosterol (II) ³	Hojas
<i>C. sebestena</i> L.	Sebestenoides 1-4, ácido cafeico, nepteoidina A y B, ácido rosmarínico (VI) y éster metílico del ácido rosmarínico. ²⁴	Frutos
<i>C. spinescens</i> L.	Litospermato de magnesio, rosmarinato de magnesio y calcio ³	Hojas
<i>C. trichotoma</i> (Vell) Arráb. ex St.	α -Cadinol, α -murolol, epi- α -murolol ³	Madera
<i>C. verbenaceae</i> DC.	α -Pino (I), trans cariofileno, aloaromadendreno, cordialina A y B, ácido rosmarínico (VI), flavonoles, artemetina ³	Hojas

Cuadro 3: Estructuras de algunos fitoconstituyentes de diferentes especies del género *Cordia*

Nombre	Estructura
α -Pinoeno (I)	
β -Sitosterol (II)	
Lupan-20, 29-ene-3-O- β -D-diglucoído (III)	
Quercetina (IV)	
Rutina (V)	
Ácido rosmarínico (VI)	
Cordiaquinona L (VII)	
Microfilaquinona (VIII)	
(2S, 3S, 4R, 8E)-2N-[(2'R)-2'-Hidroxi-tetracosanoil]-8(E)-octadeceno-1,3,4-triol (IX)	
1-O-(β -D-glucopiranosil)-(2S, 3S, 4R, 8E)-2N-[(2'R)-2'-Hidroxi-tetracosanoil]-8(E)-octadeceno-1,3,4-triol (X)	

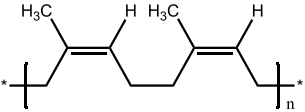
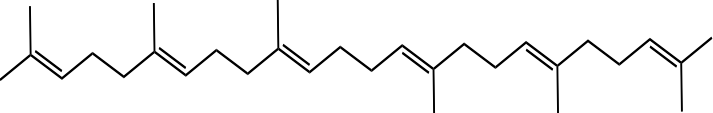
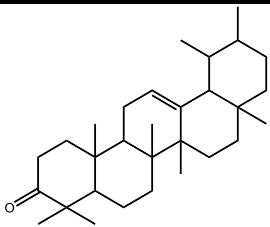
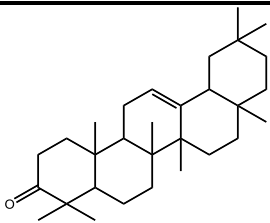
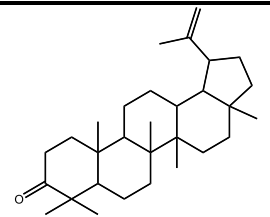
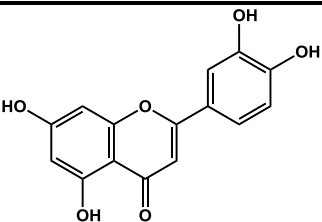
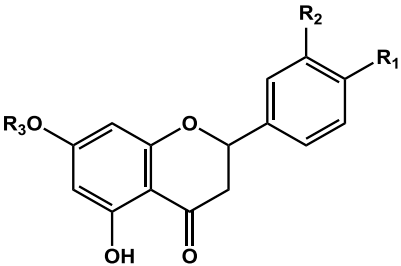
2.5.1 Compuestos químicos aislados de la especie *C. dodecandra*.

En un estudio previo de las hojas y tallos de la especie *C. dodecandra*, se identificó la presencia de hidrocarburos, ácidos grasos, alcoholes de peso molecular elevado, poliisopreno, triterpenos, esteroides y flavonoides. En el Cuadro 4 se enlistan los metabolitos aislados de los diferentes extractos de hojas y tallos de *C. dodecandra*.³⁰

Cuadro 4: Compuestos aislados de la especie *C. dodecandra*.³⁰

Parte estudiada	Extracto	Compuestos
Hojas	Hexano	<i>cis</i> -Poliisopreno (XI) Hentriacontano Escualeno (XII) α y β Amirinona (XIII, XIV), lupenona (XV) Octacosanol β -sitosterol (II) y estigmasterol
	DCM	Octacosanol y triacontanol 13-Z-Docosenamida Ácido hexadecanoico
Tallos	Hexano	Hentriacontano Octacosanol β -Sitosterol (II) y estigmasterol mezcla de ésteres de α y β Amirina
	DCM	Naringenina (XVI)
	MeOH	Rutina (V) Eriodictiol-7-O-glucósido (XVII) Naringenina-7-O-glucósido (XVIII) Eriodictiol (XIX) Naringenina (XVI) Luteolina (XX)

Cuadro 5: Estructuras de algunos fitoconstituyentes de la especie *C. dodecandra*.

Nombre	Estructura
<i>cis</i> -Poliisopreno (XI)	
Escualeno (XII)	
α Amirinona (XIII)	
β Amirinona (XIV)	
Lupenona (XV)	
Luteolina (XX)	
<p>$R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = H$: Naringenina (XVI) $R_1 = OH, R_2 = OH, R_3 = H$: Eriodictiol (XIX)</p> <p>$R_1 = OH, R_2 = H, R_3 = \text{glucosa}$: Naringenina-7-O-glucósido (XVIII)</p> <p>$R_1 = OH, R_2 = OH, R_3 = \text{glucosa}$: Eriodictiol-7-O-glucósido (XVII)</p>	

3.OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Contribuir al conocimiento químico y biológico del género *Cordia*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Aislar y purificar mediante el empleo de técnicas cromatográficas convencionales los diferentes componentes presentes en los extractos polares de las especies *C. dodecandra* y *C. dentata*.

Identificar los metabolitos aislados de ambas especies mediante técnicas espectroscópicas (resonancia magnética nuclear, infrarrojo, ultravioleta-visible, dicroísmo circular electrónico) y técnicas espectrométricas mediante diferentes formas de ionización (ESI, DART). Si la naturaleza del compuesto lo permite, determinar su estructura mediante difracción de Rayos -X.

Evaluar la actividad antiinflamatoria, antioxidante y quelante de los extractos polares (metanólico y acuoso) de las especies *C. dodecandra* y *C. dentata*.

4. EXPERIMENTAL

4.1 Procedimientos generales

Los espectros en el ultravioleta (UV) e infrarrojo (IR) se determinaron en un espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu-U160 y un espectrofotómetro de transformada de Fourier Bruker Tensor 27, respectivamente.

La determinación de la rotación óptica (RO) se realizó en un polarímetro Perkin Elmer 343 provisto de una lámpara de sodio ($\lambda=589$ nm). Los espectros de dicroísmo circular electrónico (DCE) se determinaron en un espectro-polarímetro Jasco J-720.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se adquirieron en los espectrómetros a 300 MHz (Bruker Avance), 400 MHz (Bruker Avance III), 500 MHz (Varian, Unity Inova y Bruker Avance) y 700 MHz (Bruker Avance III HD). Se determinaron espectros monodimensionales (1D) (^1H , ^{13}C y DEPT) y bidimensionales (2D) (COSY, TOCSY, HSQC y HMBC). Como referencia interna se utilizaron las señales de los disolventes residuales (CDCl_3 -Sigma δ_{H} 7.26, δ_{C} 77.16; CD_3OD -Cambridge Isotope δ_{H} 3.31, δ_{C} 49.00; D_2O -Cambridge Isotope δ_{H} 4.79; $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ -Cambridge Isotope δ_{H} 2.50, δ_{C} 39.52; y $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ -Cambridge Isotope δ_{H} 7.58, δ_{C} 135.91).

Los espectros de masas de ionización por electrospray (EM-ESI) fueron determinados en un espectrómetro de masas Bruker Esquire 6000 con trampa de iones y por introducción directa, mientras que los espectros de masas de ionización a presión atmosférica por la técnica DART (Direct Analysis in Real Time) (EM-DART) se realizaron en un espectrómetro de masas Jeol, AccuTOF JMS-T100LC.

Los métodos convencionales de cromatografía usados fueron: cromatografía en columna-abierta (CC) sobre sílice gel 230-400 μ m, octadecilsilicio (ODC)-Sigma Aldrich o sephadex LH-20 Biotech-Pharmaceutical, cromatografía en columna-flash (CC-flash) en un sistema cromatográfico Sepacore® Easy Purification Systems (BÜCHI), utilizando columnas de: 3 \times 60 cm y 5 \times 20 cm; cromatografía en capa fina preparativa (CCFp) en cromatoplasmas de sílica gel-Kiesegel 0.25; 0.50 y 1.00 mm; y cromatografía en capa fina analítica (CCFa) utilizada para el monitoreo cromatográfico y procedimientos de purificación en cromatofolios de sílica gel-Kiesegel 0.22 mm, (para su visualización se utilizó una lámpara UV a 254 nm y como reveladores químicos soluciones de ácido acético-ácido sulfúrico, sulfato cérico-ácido sulfúrico y ninhidrina).

4.2 Material vegetal

Los tallos de la especie vegetal *C. dodecandra* fueron recolectados en la Ciudad de Mérida, Yucatán, de un espécimen cultivado en un predio particular por el Dr. Leovigildo Quijano.

Las hojas y tallos de la especie *C. dentata* fueron colectadas al sur del poblado de San Jerónimo de Juárez, Guerrero, por el Prof. José A. Marcial de la Universidad Autónoma de Guerrero.

4.3 Extracción

El material vegetal se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente, se molió en un molino de cuchillas, obteniéndose 250 g de tallos secos y molidos de *C. dodecandra* y 550 g de hojas, y 204 g de tallos de *C. dentata*. El material vegetal se extrajo por percolación en una columna de vidrio utilizando disolventes de polaridad ascendente: hexano (Hex), diclorometano (CH_2Cl_2) y metanol (MeOH).

Por otra parte, se prepararon los extractos acuosos (infusiones) de los tallos de ambas especies, para lo cual se calentó un litro de agua destilada a ebullición y se le adicionó 100 g del material vegetal dejándose reposar y enfriar, y posteriormente se filtró y eliminó el agua mediante liofilización.

4.4 Aislamiento de metabolitos presentes en el extracto metanólico de los tallos de la especie *C. dodecandra*.

El extracto metanólico de los tallos (19.6 g) se disolvió en metanol, obteniéndose 405.7 mg de un precipitado con punto de fusión: 238-243°C, que se filtró y se nombró compuesto **1** (-*R*-alantoína). El filtrado se concentró y se fraccionó por CC utilizando Sephadex-LH20 y metanol como eluyente; se colectaron 25 fracciones de 125 mL, las cuales se reunieron en 5 fracciones primarias (A-E) de acuerdo con su perfil cromatográfico (Cuadro 6).

Cuadro 6: Fraccionamiento primario del extracto metanólico de los tallos de *C. dodecandra*.

Fracción primaria	Fracciones reunidas	Peso (g)
A	1-8	9.9
B	9-11	1.76
C	12-16	0.614
D	17-20	0.375
E	21-25	0.250

4.4.1 Fracción A

La fracción A (9.9 g) se recromatografió sobre Sephadex LH20 obteniéndose cuatro fracciones secundarias (AA-AD). La fracción AB (1.3 g) se sometió a CC-flash utilizando ODS, y como eluyente agua a un flujo constante de 2.5 mL/min. De la fracción AB3 se obtuvo 8.0 mg del compuesto **2** ((-)-5-*epi*-litospermósido) y de la fracción AB13 se obtuvieron 11.0 mg del compuesto **3** (*E*-siringina).

La fracción AC se recromatografió en condiciones similares a la anterior obteniéndose seis fracciones terciarias (ACA-ACF). La fracción terciaria ACB, se purificó por cromatografía en CCPp utilizando una placa de sílica gel de 20 × 20 cm y 1 mm de espesor; como sistema de elución se utilizó una mezcla de AcOEt:H₂O:H-COOH:AcOH (100:26:11:11)³⁵. La fracción ACBg se purificó mediante CCFp de ODS usando como fase móvil mezcla de H₂O:MeOH:MeCN (7:2:1). De la fracción ACBga se obtuvieron 12.0 mg del compuesto **4** (manghaslina).

4.4.2 Fracción B

La fracción B (1.50 g) se recromatografió por CC de exclusión molecular reuniéndose ocho fracciones secundarias (BA-BH). La fracción BF (85.5 mg) se sometió a CCFp fase normal usando una mezcla de BuOH:PrOH:H₂O:AcOH (48:17:17:18) como fase móvil. Las fracciones BFa y BFb, fueron identificadas como los compuestos **4** (manghaslina) y **5** (ácido rosmarínico), respectivamente.

4.4.3 Fracción D

La fracción primaria D (375.8 mg) se separó por CC-flash usando como fase móvil mezclas de H₂O (conteniendo 1% de ácido fórmico): MeOH (8:2, 6:4, 4:6, 6:8). Se obtuvieron nueve fracciones secundarias reunidas de acuerdo a su perfil cromatográfico (DA-DI). La fracción DH (71.0 mg), se purificó por CCFp de ODS para obtener la fracción DHa (10.0 mg) que se nombró como compuesto **6** (ácido salvianólico B).

4.5 Aislamiento de metabolitos presentes en el extracto metanólico de las hojas de la especie *C. dentata*.

El extracto metanólico (9.3 g) de las hojas de *C. dentata*, se fraccionó por CC utilizando Sephadex-LH20 como fase estacionaria y como eluyente MeOH:CH₂Cl₂ (1:1); se colectaron diez fracciones de 50 mL las cuales se nombraron como A – J.

4.5.1 Fracción D

La fracción D (1.5 g) se separó por CC utilizando sílice gel como adsorbente y como eluyente mezclas de CH₂Cl₂:Me₂CO, obteniéndose siete fracciones secundarias (DA-DG) como se muestra en el Cuadro 7.

Cuadro 7: Cromatografía de la fracción D.

Fracción	Mezcla de eluyente	Proporción	Fracciones reunidas	Fracciones secundarias
1-8	CH ₂ Cl ₂ :Me ₂ CO	90:10	7	DA
9-11	CH ₂ Cl ₂ :Me ₂ CO	80:20	8-11	DB
12-14	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	80:20	12	DC
15	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	50:50	13	DD
16	MeOH	100	14	DE
			15	DF
			16	DG

La fracción DG (30 mg) se redisolvió con MeOH obteniéndose un precipitado blanco con punto de fusión de 290°C, compuesto **7** (ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico).

4.5.2 Fracción G

La fracción G (850 mg) se separó por CC sobre sílica gel, utilizando mezclas de CH₂Cl₂:Me₂CO (90:10), CH₂Cl₂:MeOH (90:10) y finalmente MeOH. Se reunieron de acuerdo con su perfil cromatográfico nueve fracciones (GA-GI).

La fracción GH (500.1 mg) se sometió a CC de exclusión molecular usando MeOH como eluyente, se obtuvieron 24 fracciones de 50 mL y se reunieron en tres fracciones: GHA, GHB, y GHC. La fracción GHB se purificó mediante CCFp de ODS, utilizando una placa de 20 × 20 cm y 0.20 mm de espesor, y como eluyente H₂O:MeOH (90:10), obteniéndose 5.0 mg del compuesto **8** (glucósido del alcohol bencílico).

En la fracción GI (180.8 mg) se obtuvo el compuesto **9** (+ bornesitol) por cristalización espontánea, como un sólido cristalino, con punto de 190-200°C.

4.5.3 Fracción I

De la fracción I se obtuvieron cantidades adicionales (50 mg) del compuesto **1** (alantoína).

4.5.4 Cuantificación del ácido rosmarínico en el extracto metanólico de las hojas de *C. dentata*.

4.5.4.1 Estándares y reactivos

El ácido rosmarínico (**5**) aislado del extracto metanólico de los tallos de *C. dodecandra* se utilizó como estándar de referencia para los ensayos de cuantificación. Para estos experimentos se emplearon los disolventes acetonitrilo (grado HPLC, Sigma-Aldrich), agua desionizada y ácido fórmico (Sigma-Aldrich).

4.5.4.2 Análisis de HPLC

El sistema cromatográfico consistió en un cromatógrafo de líquidos Agilent Modelo 1200 equipado con un detector UV de arreglo de diodos (Waters 2996).

El análisis del extracto metanólico de las hojas de *C. dentata* se realizó en una columna C-18 Phenomenex Luna (100 × 2 mm, 3 μm) con un gradiente lineal que inició con 20% de MeCN (B) en agua acidulada (H-COOH, 0.1%) (A), 0-5 min; posteriormente 100% (A) 6-30 min., y finalmente, se regresó a las condiciones iniciales de 30 a 31 min. El flujo utilizado fue de 0.2 mL/min con inyecciones de 10 μL. Las lecturas se realizaron a 325 nm.

La curva de calibración se realizó con el estándar de ácido rosmarínico (**5**). Para ello, se preparó una solución metanólica de 6.3 mg/25 mL y se realizaron tres inyecciones por triplicado de 5.0, 10.0 y 20.0 μL de esta solución. El extracto a cuantificar se preparó en MeOH a una concentración de 0.64 mg/mL.

4.6 Aislamiento de metabolitos presentes en el extracto de diclorometano de los tallos de la especie *C. dentata*.

El extracto de CH₂Cl₂ de los tallos de *C. dentata* (200 mg) se fraccionó por cromatografía en columna CC-flash. Se colectaron 90 fracciones las cuales se reunieron en siete fracciones primarias (A-G) como se muestra en el Cuadro 8.

Cuadro 8: Cromatografía del extracto de CH₂Cl₂ de tallos de la especie *C. dentata*.

Fracción	Eluyente	Proporción	Fracciones reunidas	Fracciones primarias
1-12	CH ₂ Cl ₂ :MeOH	99:1	1-4	A
13-63		97:3	5	B
64-85		90:10	6-20	C
86-88		50:50	21-30	D
89-90	MeOH	100	31-40	E
			41-86	F
			87-90	G

4.6.1 Fracción A

La fracción A (52.0 mg) se purificó mediante CCFp en una placa de gel de sílice de 20 × 10 cm y 0.50 mm de espesor, y un sistema de elución Hex:Me₂CO (95:5). La fracción Ac se identificó como una mezcla de tres compuestos, **10a** (nonil-ferulato), **10b** (undecil-ferulato) y **10c** (pentil-*cis*-ferulamida).

4.6.2 Fracción E

La fracción E se separó por CCFp en una placa gel de sílice de 20 × 10cm, y 0.50 mm de espesor, utilizando Hex:Me₂CO 80:20. Posteriormente, la fracción Ed se purificó de manera similar en una placa de 10 × 10cm y 0.50 mm, y la fracción Edb se identificó como el compuesto **11** (aldehído ferúlico).

4.7 Evaluación de actividad biológica

4.7.1 Actividad anti-inflamatoria en oreja de ratón

La evaluación de la actividad anti-inflamatoria se llevó a cabo mediante la prueba de reducción del edema inducido por el 13-O-acetil-12-O-tetradecanoilforbol (TPA, Sigma Aldrich) en oreja de ratón, de acuerdo con lo descrito en la literatura.^{31,32}

Se utilizaron ratones machos de la cepa CD-1 suministrados por el bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Los experimentos se realizaron de acuerdo con la norma oficial NOM-062-ZOO-1999. Los animales con peso entre 25-30 g se mantuvieron en un ambiente controlado (temperatura 22±1 °C; humedad 50-60%, ciclos de luz/oscuridad de 12 horas) y se tuvieron con acceso *ad libitum* de agua y dieta estándar de laboratorio.

Se usaron seis ratones por ensayo, se inició con el marcado y pesado para posteriormente anestésarlos por vía *i.p.* con pentobarbital (Sedalforte®) a una dosis de 31.5 mg/kg. Una vez anestésados, se indujo el edema auricular con una solución de TPA (Sigma-Aldrich) (0.25 µg/µL en etanol), aplicándose tópicamente sobre la superficie interna y externa de ambas orejas del ratón (5 µL por oreja).

Posteriormente, se administraron 20 μL de la solución de los extractos en la oreja derecha del ratón. Se probaron concentraciones de 0.05 $\text{mg}/\mu\text{L}$ y 0.0018 $\text{mg}/\mu\text{L}$ de los extractos (T, tratado). Como control positivo, se utilizó indometacina (0.0018 $\text{mg}/\mu\text{L}$). Como control negativo se administró 20 μL de metanol la oreja izquierda (NT, no tratado).

Se dejó transcurrir cuatro horas el ensayo y, posteriormente, se sacrificaron los ratones con CO_2 . Se tomaron secciones circulares de siete mm de diámetro de ambas orejas y se pesaron. Finalmente se determinó el porcentaje de inhibición del edema utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición del edema: } \left(\frac{(p_T - p_{NT})_{\text{control}} - (p_T - p_{NT})_{\text{tratamiento}}}{(p_T - p_{NT})_{\text{control}}} \times 100 \right)$$

4.7.2 Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante de extractos y compuestos puros se evaluó mediante la prueba de inhibición de la oxidación de lípidos por TBARS (ThioBarbituric Acid Reactive Substances)³³ y la actividad captadora de radicales libres y/o especies reactivas de oxígeno (ROS) por el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)³⁴, así como la evaluación de la reducción de $\text{Cu}^{+2} \rightarrow \text{Cu}^{+1}$ determinada por resonancia paramagnética electrónica (RPE).¹²

4.7.2.1 Inhibición de la oxidación lipídica por la técnica de TBARS

En primer lugar, se preparó una solución de ácidos grasos de cerebro de rata para lo cual, éste se homogenizó con una solución amortiguadora de fosfatos (9.5 mM, pH 7.4), se centrifugó a 3000 rpm por 10 min en una centrífuga Fischer Scientific 228. Posteriormente, se determinó el contenido de ácidos grasos poliinsaturados en el sobrenadante por el método $A_{280-205}$ ajustándose a una concentración de 2.3529 mg/mL.

Para el ensayo de inhibición de la oxidación lipídica, se preparó una mezcla de la solución de ácidos grasos (425 μ L) y 25 μ L de la muestra a probar (1.0, 10 y 100 μ g/mL). Esta mezcla se incubó con agitación por 30 min a 37°C; como control positivo se utilizaron 25 μ L de una solución de butil hidroxil tolueno (BHT) a 100 μ g/mL. Transcurrido el tiempo de incubación, se añadieron 50 μ L de una solución de FeSO_4 (10 μ M) y se incubó nuevamente por una hora; luego se añadieron 500 μ L de una solución de ácido tiobarbitúrico (TBA 30 %) y ácido tricloroacético (1%) en proporción 1:1, y se dejó 30 min en un baño de agua a 90°C. Finalmente, se enfriaron los tubos en un baño de hielo y se centrifugaron a 10,000 rpm por 10 min. A partir del sobrenadante se tomó una muestra y se colocó sobre una microplaca para medir la absorbancia a 532 nm en un lector de microplacas Bio-Tek, ELx.808. El valor obtenido se interpoló en una curva estándar del tetrametoxi propano (TMP, Sigma), precursor del malondialdehído (MDA). El contenido de TBARS se expresa en nmoles de TBARS/mg de ácidos grasos y se transforma en % de inhibición usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición: } \frac{n\text{Moles TBARS}_{control} - n\text{Moles TBARS}_{extracto}}{n\text{Moles TBARS}_{control}} * 100$$

4.7.2.2 Actividad captadora del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.

La actividad antioxidante de los extractos se realizó siguiendo la metodología previamente descrita,³⁴ y midiendo de manera indirecta la reducción del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH, Sigma Aldrich) mediante una técnica espectrofotométrica.

Brevemente, se tomaron muestras por triplicado de 50 μL de la solución problema a diferentes concentraciones (1.0, 10 y 100 $\mu\text{g/mL}$) y se depositaron en una microplaca; posteriormente se agregaron 150 μL de una solución metanólica de DPPH (100 μM). Se realizó el mismo procedimiento con el control positivo, α -tocoferol (100 $\mu\text{g/mL}$). La mezcla se protegió de la luz y se agitó durante 30 ± 2 minutos a 37 ± 2 $^{\circ}\text{C}$ en una incubadora-ESCO. Finalmente se determinó la densidad óptica (DO) a 515 nm en lector de microplacas Bio-Tek, ELx.808. La actividad sobre el DPPH se expresa como porcentaje de reducción y se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de reducción} = \left(\frac{DO_{control} - DO_{muestra}}{DO_{control}} \right) * 100$$

La curva dosis-respuesta para cada compuesto/extracto se construyó con las variables de la concentración (eje X) y el porcentaje de reducción (eje Y). La concentración inhibitoria 50 (CI₅₀) se determinó a partir de los datos significativos de las curvas que mostraron un efecto dependiente de la concentración dosis y un valor de % de reducción mayor al 50% en la última concentración del ensayo.

4.7.3 Actividad quelante

Se determinó la capacidad quelante de los extractos metanólicos de las especies *C. dodecandra* y *C. dentata* sobre Cu⁺², así como la capacidad reductora mediante RPE. Las determinaciones se llevaron a cabo en un espectrofotómetro Jeol, JES-TE300, en tubos de cuarzo a 77K. Las soluciones de los extractos a probar de las especies *C. dodecandra* y *C. dentata* (4.0 mM, relativo a 4 equivalentes de quercetina) se prepararon con mezclas de MeOH:H₂O (1:1); como control positivo se empleó quercetina (**IV**) (Sigma Aldrich, 4.0 mM); y control negativo metanol. El agente quelante empleado fue el sulfato de cobre pentahidratado (CuSO₄.5H₂O 2.0 mM, Sigma Aldrich).

La adquisición y simulación espectral se realizó utilizando el software Anisimu/FA versión 2.4.0. Los espectros de RPE se registraron como una primera derivada, y se tomaron los parámetros principales, como los valores del factor g y A.

4.8 Determinación del perfil químico de los extractos acuoso y metanólico de tallos de *C. dodecandra*.

4.8.1 Estándares y reactivos.

Se usaron como estándares de referencia los compuestos aislados del extracto metanólico de los tallos de *C. dodecandra*: alantoína (**1**), manghaslina (**4**), rutina (**V**), ácido rosmarínico (**5**), eriodictiol-7-O-glucósido (**XVIII**), naringenina-7-O-glucósido (**XVII**), eriodictiol (**XIX**) y naringenina (**XVI**). Los disolventes empleados fueron metanol (grado HPLC, Sigma-Aldrich), agua desionizada y ácido acético (Sigma-Aldrich).

4.8.2 Análisis por HPLC

El sistema de cromatografía consistió en un cromatógrafo de líquidos Agilent 1260 Infinity equipado con un automuestreador, un detector UV con arreglo de diodos (360nm) y acoplado a un detector de masas Accurate-Mass-Q-ToF 6157 con ionización por ESI.

El análisis de los extractos y estándares se realizó sobre una columna C-18 Phenomenex Luna (100 × 2 mm, 3 μm), utilizando un gradiente lineal 0-60 min., 30% de MeOH (B) en H₂O con ácido acético (Ac-OH, 0.1%) (A), 0-50 min y posteriormente de 50 a 60 min., se regresaron a las condiciones iniciales. El flujo fue de 0.2mL/min y el volumen de inyección de 10μL.

5.DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Metabolitos identificados de los tallos del extracto metanólico de *C. dodecandra*

De los tallos de *C. dodecandra* se aislaron mediante técnicas cromatográficas convencionales 6 metabolitos secundarios: el alcaloide (-)-*R*-alantoina (**1**); el glucósido no cianogénico 5-*epi*-litospermosido (**2**); los fenilpropanoides *E*-siringina (**3**), ácido rosmarínico (**5**) y ácido salvianólico (**6**); y el flavonoide glicosilado manghaslina (**4**).

La identificación de los compuestos aislados se realizó mediante técnicas espectroscópicas (RMN) y espectrometría de masas.

5.1.1 Compuesto 1: (-)-*R*-alantoína (**1**)

El compuesto **1** se obtuvo como un sólido cristalino de punto de fusión 218-220°C, el cual se identificó espectroscópicamente como la (-)-*R*-alantoina (**1**).

Su espectro en el infrarrojo determinado por la técnica de ATR (Anexos, Figura B-3) mostró picos de absorción en 3438; 3340; 3187 y 3050 cm^{-1} que corresponden a vibraciones N-H, y en 1778, y 1654, cm^{-1} correspondientes al alargamiento del enlace C=O.³⁶

El espectro de resonancia magnética nuclear de ^1H (RMN ^1H) determinado a 300 MHz (Anexos, Figura B-1) mostró dos señales simples en δ_{H} 10.54 y 8.06 que corresponden a los protones de tipo amida H-1 y H-3; las señales de un

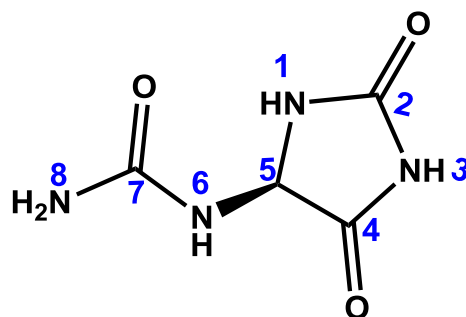
sistema AX en δ_H 6.89 y 5.24 ($J = 8.2$ Hz) fueron asignados a H-6 y H-5 respectivamente; finalmente, una señal simple en δ_H 5.80 que integra para dos protones y correspondientes a los protones del $-\text{NH}_2$ terminal.

En el espectro de ^{13}C (Anexos, Figura B-2) se observan tres señales que corresponden a los carbonilos en δ_C 173.6, 157.3 y 156.7 (C-4, C-7 y C-2, respectivamente) y en δ_C 62.4 una señal correspondiente al metino (CH-5).³⁷

La fórmula molecular de este compuesto, $\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$, se confirmó por espectrometría de masas en modo positivo DART⁺ (m/z 159 $[\text{M}+\text{H}]^+$; Anexos, Figura B-4).

Los datos anteriores, la determinación de su RO (Anexos, Figura B-5) y DCE (Anexos, Figura B-6) permitieron la identificación del compuesto **1** como la (-)-*R*-alantoína, de acuerdo con los datos reportados en la literatura.^{38,39}

La estructura y configuración absoluta del compuesto **1**, se confirmó por medio de difracción de rayos X (Anexos, Figura B-7).



(-)-*R*-alantoína (**1**)

5.1.2 Compuesto 2: (-)-5-*epi*-litospermósido (2)

El compuesto **2** se identificó como un ciano-glucósido, cuyo espectro en el IR (Anexos, Figura B-14), indicó la presencia de grupos OH en 3259 cm^{-1} , y en 2220 cm^{-1} , una banda característica para triples enlaces. En su espectro de masas ESI⁺ (Anexos, Figura B-15) se observaron iones de dos aductos en m/z 352.1 [M+Na]⁺ y 681.2 [2M+Na]⁺, que corresponden a una fórmula molecular C₁₄H₁₉NO₈.

En el espectro de RMN¹H (Anexos, Figura B-8) se observa un sistema ABX en δ_{H} 6.38, 6.08 y 4.53 ($J = 10.1$ y 2.0 Hz) asignable a un doble enlace de tipo *cis* acoplado con un metino (CH-4). Una señal simple en δ_{H} 5.66 atribuible a un protón vinílico, señales para dos metinos base de funciones oxigenadas (δ_{H} 5.00 y 4.32), una señal doble en δ_{H} 4.76 ($J = 7.6$ Hz), y un grupo de señales en δ_{H} 3.45 – 3.96 correspondientes a una unidad glicosídica. En el espectro de RMN ¹³C (Anexos, Figura B-10), se observan 14 señales asignables a 11 metinos, un metileno y dos carbonos cuaternarios, que fueron confirmados con los experimentos DEPT y HSQC (Anexos, Figura B-10 y Figura B-12).

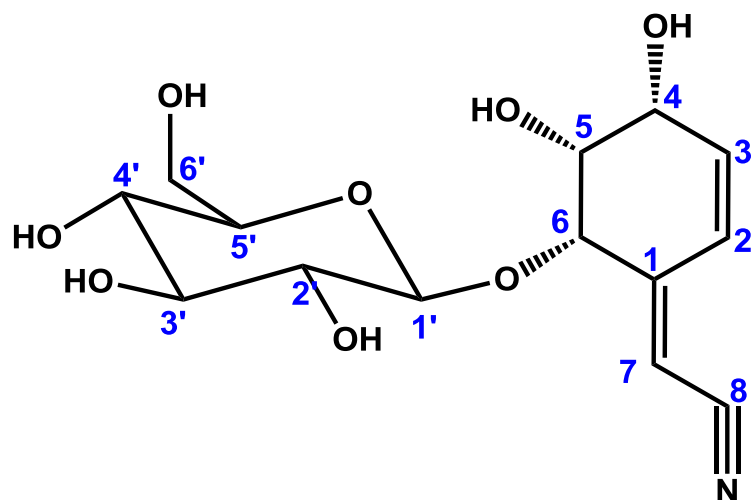
Así, la comparación de los datos espectroscópicos de RMN ¹H y ¹³C (Cuadro 9 y 10) permitieron la identificación del compuesto **2** el 5-*epi*-litospermósido (**2**), un ciano-glucósido aislado previamente de *Wigandia urens*⁴⁰ y *Phacelia tanacetiflora*.⁴¹

Cuadro 9: Desplazamientos de RMN-¹H del compuesto **2** y el (-)-5-*epi*-litospermósido.

	Compuesto 2 (400 MHz, D ₂ O)	(-)-5- <i>epi</i> -litospermósido ⁴⁰ (400 MHz, D ₂ O)	(-)-5- <i>epi</i> -litospermósido ⁴¹ (300 MHz, D ₂ O)
	δ H mult.(J en Hz)	δ H mult.(J en Hz) Δ^1 H	δ H mult.(J en Hz) Δ^1 H
1	-	-	-
2	6.38 dd (10.1, 2.0)	6.36 dd (10.0, 1.6) 0.02	6.36 dd, (10.1, 2.0) 0.02
3	6.08 dd (10.4, 2.0)	6.06 dd (10.0, 2.0) 0.02	6.06 dd (9.9, 2.8) 0.02
4	4.53 qa (3.6)	4.52 m 0.01	4.51 q (3.0) 0.02
5	4.32 ta, (2.8)	4.30 sa 0.02	4.30 t (3.0) 0.02
6	5.00 t (2.1)	4.98 t (2.4) 0.02	4.98 t (2.2) 0.02
7	5.67 sa	5.65 sa 0.02	5.65 s 0.02
CN	-	-	-
1'	4.76 d (7.6)	4.74 d (7.6) 0.02	4.74 d (7.5) 0.02
2'			
3'	3.45-3.47 m	3.43-3.47 m 0.02	3.42-3.48 m 0.03
4'			
5'	3.54-3.56 m	3.52-3.56 m 0.00	3.51-3.56 m 0.01
6'a	3.93 dd (12.8, 1.2)	3.92 dd (12.4, 1.6) 0.02	3.91 dd (12.3, 1.4) 0.03
6'b	3.76 dd (12.4,5.2)	3.75 dd (12.4, 5.6) 0.01	3.74 dd (12.4, 2.7) 0.00

Cuadro 10: Desplazamientos de RMN-¹³C del compuesto **2** y el (-)-5-*epi*-litospermósido.

	Compuesto 2 (100 MHz, D ₂ O)	(-)-5- <i>epi</i> -litospermósido ⁴⁰ (100 MHz, D ₂ O)	(-)-5- <i>epi</i> -litospermósido ⁴¹ (75 MHz, D ₂ O)
	δ C	δ C	δ C Δ^{13} C
1	155.57	155.57	154.69 0.88
2	128.22	128.22	127.34 0.88
3	137.03	137.03	136.13 0.9
4	68.39	68.39	67.53 0.86
5	70.09	70.09	69.21 0.88
6	76.71	76.71	75.85 0.86
7	97.85	97.85	96.96 0.89
CN	118.73	118.73	117.84 0.89
1'	101.17	101.17	100.30 0.87
2'	73.51	73.51	72.62 0.89
3'	76.98	76.98	75.72 1.26
4'	76.60	76.60	76.11 0.49
5'	70.49	70.49	69.60 0.89
6'	61.58	61.58	60.69 0.89



5-*epi*-litospermósido (2)

5.1.3 Compuesto 3: *E*-siringina (3)

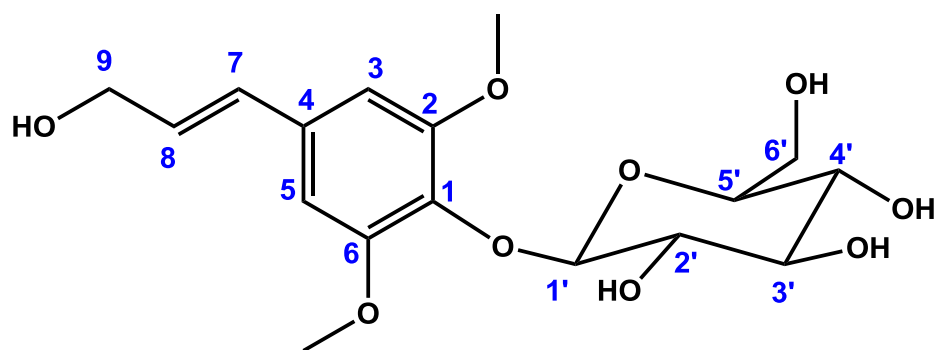
El compuesto **3** se aisló como un sólido amarillo. El espectro de RMN-1H en CD₃OD (Anexos, Figura B-16) mostró señales asignables a dos protones aromáticos (δ_{H} 6.75, s); dos protones vinílicos (δ_{H} 6.55 da, $J = 15.9$ Hz, δ_{H} 6.30 dt, $J = 15.9, 5.59$ Hz); dos protones de metileno alílico (δ_{H} 4.23 dd, $J = 5.5, 1.3$ Hz); dos grupos metoxilo (δ_{H} 3.86 s), y señales entre δ_{H} 3.15 y 3.9, asociadas con la presencia de una unidad glucosídica.

El espectro de masas de este compuesto (Anexos, Figura B-21) mostró una molécula cationizada de m/z 395 $[M+\text{Na}]^+$ que está de acuerdo con una fórmula molecular de C₁₇H₂₄O₉Na.

En el espectro de RMN-¹³C (Anexos, Figura B-17) se observan 14 señales indicando la presencia de tres carbonos simétricamente equivalentes en la molécula. Por otra parte los experimentos DEPT 90 y 135 (Anexos, Figura B-18) confirmaron que las señales corresponden a dos metilos, dos metilenos, nueve metinos y cuatro carbonos cuaternarios.

En el espectro HMBC (Anexos, Figura B-20) se observa la correlación entre el protón anomérico (H-1', δ_H 4.8) de la entidad glicosídica y el carbono cuaternario unido a oxígeno (δ_C 135.8, C-4), lo que indica que la estructura del compuesto 3 debe corresponder a la *E*-siringina (3).

La comparación de los datos obtenidos con los reportados para la *E*-siringina aislada de *C. rothii*, confirmaron lo anterior.^{42,43}



E-siringina (3)

5.1.4 Compuesto 4: manghaslina (4)

El compuesto **4** fue identificado como un flavonoide glicosilado, cuyo espectro de RMN-¹H muestra señales típicas del patrón de sustitución de la quercetina (**IV**), y con desplazamientos químicos similares a los de la rutina (**V**) (Figura 6 y 7).³⁰

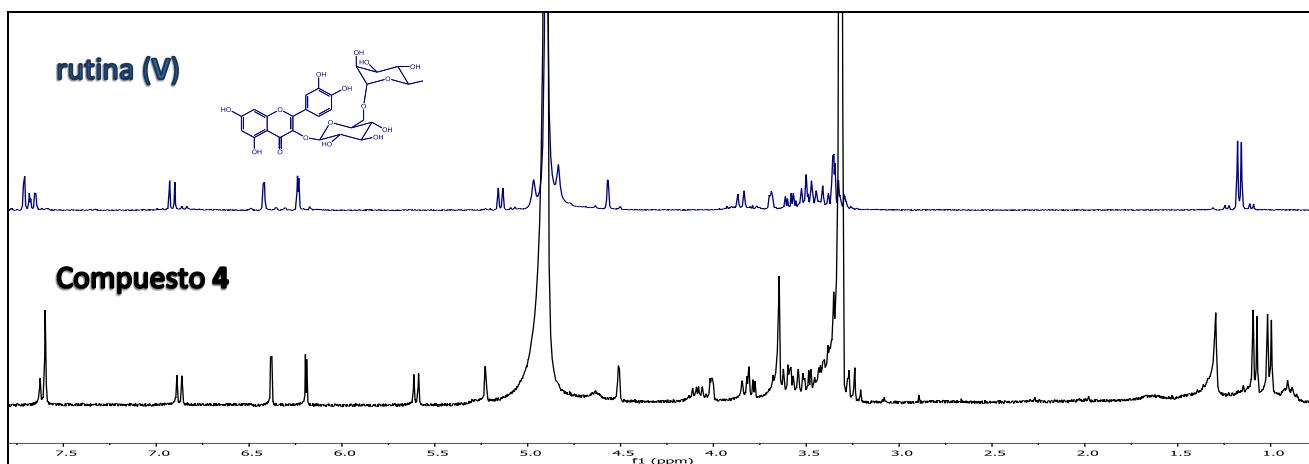


Figura 6: Comparación de espectros de RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD) de la rutina (**V**) y el compuesto **4**.

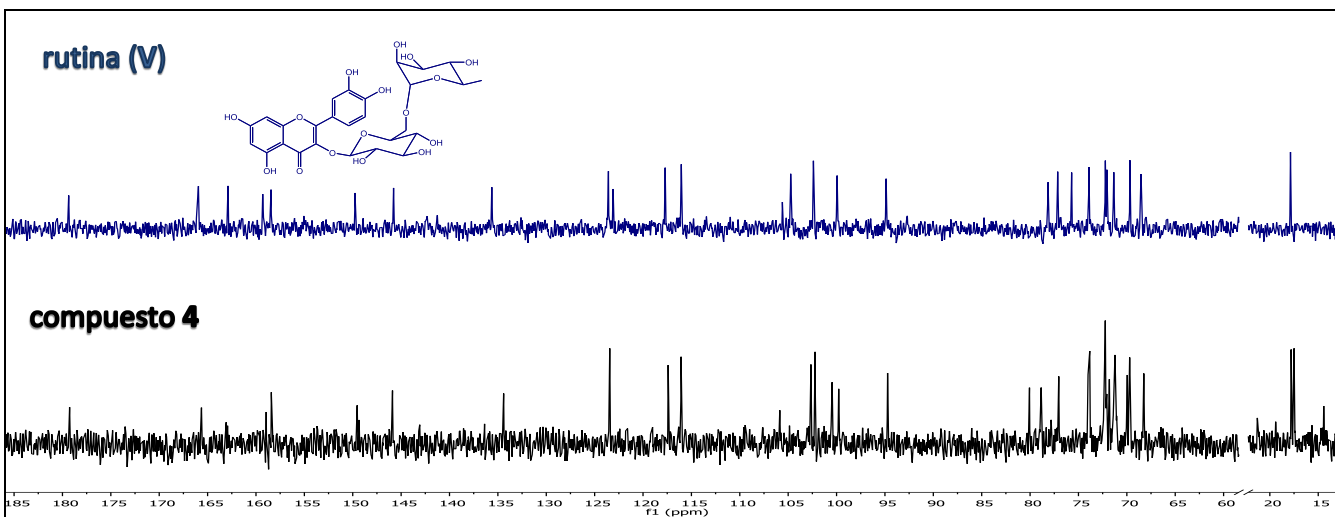


Figura 7: Comparación de espectros de RMN-¹³C (CD₃OD) de la rutina (**V**, 75 MHz) y el compuesto **4** (100MHz).

En la región de los protones aromáticos (Anexos, Figura B-22), se observan las señales correspondientes al anillo B de la aglicona como un sistema ABX, con señales superpuestas en $\delta_H \sim 7.6$ para H-2',6' y en $\delta_H 6.8$ una señal doble ($J = 8.9$ Hz) para H-5', mientras que las señales para el anillo A se observan como un sistema AX, $\delta_H 6.39$ y 6.20 ($J = 2.1$ Hz), para los protones H-6 y H-7.

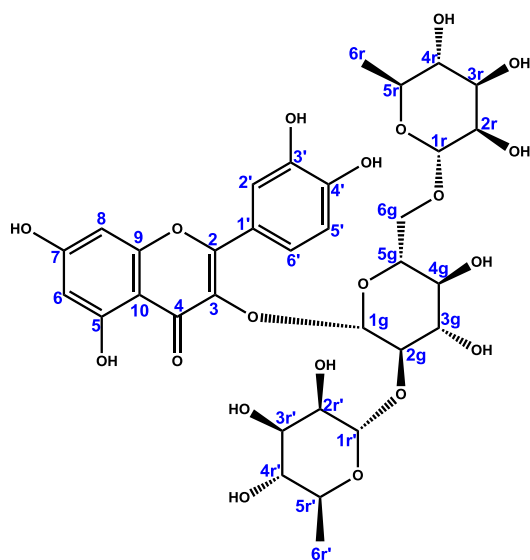
Por otra parte, mientras que el espectro de la rutina (**V**) muestra señales para dos protones anoméricos, el compuesto **4**, muestra tres señales asignables a protones anoméricos ($\delta_{H/C}$ 5.58/100.6, 5.22/102.8, 4.51/102.3), que fueron confirmadas con el experimento HSQC, Anexos Figura B-26), lo que indica que se trata de un triósido conformado probablemente por una hexosa (glucosa) y dos metil-pentosas (ramnosas), como lo sugieren las señales dobles en $\delta_H 1.01$ y $\delta_H 1.07$ ($J = 6.3$ y 6.2 Hz).

En el experimento TOCSY (Anexos, Figura B-28), la señal del protón anomérico de la glucosa, $\delta_H 5.58$ d, $J = 7.6$ Hz, H-1g, mostró correlaciones con las señales en $\delta_H 3.65$, 3.55 , 3.28 , mientras que la señal del metileno en $\delta_H 3.82$ (H-6ga) mostró correlaciones con las señales a $\delta_H 3.33$ y 3.28 . En el mismo experimento, la señal doble ($J = 1.2$) en $\delta_H 5.22$ (H-1r'), mostró correlaciones con las señales en $\delta_H 4.01$ y 3.80 mientras que los protones de metilo en $\delta_H 1.0$ ($J = 6.4$ Hz) mostró picos de correlación con las señales en $\delta_H 3.36$, 3.80 y 4.08 . Así mismo, la señal doble ($J = 1.4$ Hz) en $\delta_H 4.50$ (H-1r) mostro picos de correlación con las señales en $\delta_H 3.59$ y 3.49 , mientras que el metilo en $\delta_H 1.08$ ($J = 6.4$ Hz) mostró picos de correlación con $\delta_H 3.24$, 3.41 y 3.49 . Con base en lo antes

mencionado, le logró asignar inequívocamente las señales correspondientes a cada una de las unidades glicosídicas en el compuesto.

En el espectro HMBC (Anexos, Figura B-27) se observaron correlaciones entre el protón anomérico de la glucosa en δ_H 5.58 y el carbono C-3 de la aglicona en δ_C 134.5; entre el protón anomérico de una metil pentosa en δ_H 4.50 (H-1r') y el carbono del metileno de la glucosa (C-6g) en δ_C 68.4; y entre el protón anomérico de la otra pentosa en δ_H 5.20 y el carbono 2 de la glucosa (C-2g) en δ_C 80.2. De esta manera se estableció la posición relativa y las uniones interglicosídicas en el triósido.

La asignación de las señales de cada unidad, así como de las uniones glicosídicas se confirmó con los datos obtenidos de los experimentos COSY (Anexos, Figura B-25), TOCSY (Anexos, Figura B-28), HSQC (Anexos, Figura B-26) y HMBC (Anexos, Figura B-27). En el Cuadro 11 se muestra la asignación completa de las señales para el compuesto **4**.



Manghaslina (**4**)

Cuadro 11: Datos de RMN del compuesto **4** (400 MHz, CD₃OD).

Aglicona						
	δH mult. (J en Hz)		δ C			
1	-		-			
2	-		159.1			
3	-		134.5			
4	-		179.4			
5	6.19 d (2.0)		163.2			
6	-		99.9			
7	6.38 d (2.0)		165.7			
8	-		94.8			
9	-		158.5			
10	-		105.0			
1'	-		123.6			
2'	7.59 as		117.5			
3'	-		146.0			
4'	-		149.6			
5'	6.88 d (9.2)		116.2			
6'	7.61 dd (8.0,2.0)		123.6			
	Glucosa		Ramnosa		Ramnosa	
	δ H mult. (J en Hz)	δ C	δ H mult. (J en Hz)	δ C	δ H mult. (J en Hz)	δ C
1	5.58 d (7.6)	100.6	4.50 d (1.2)	102.3	5.20 d (0.8)	102.8
2	3.65 m	80.2	3.59 dd (3.6, 2.0)	72.2	4.01 dd (3.2, 1.6)	72.5
3	3.56 m	79.0	3.49 m	72.3	3.80 m	72.3
4	3.28 m	71.9	3.24 m	73.9	3.36 m	74.1
5	3.33 m	77.1	3.41 m	69.8	4.08 dd (9.6, 6.4)	70.1
6	3.82 dd (9.2, 6.0) 3.40 m	68.4	1.07 d (6.4)	17.9	1.01 d (6.4)	17.6

De acuerdo con los datos espectroscópicos de RMN y la comparación con los reportados en la literatura⁴⁴, el compuesto **4** fue identificado como la manghaslina (**4**), aislada anteriormente de *Clitoria ternatea*.⁴⁴

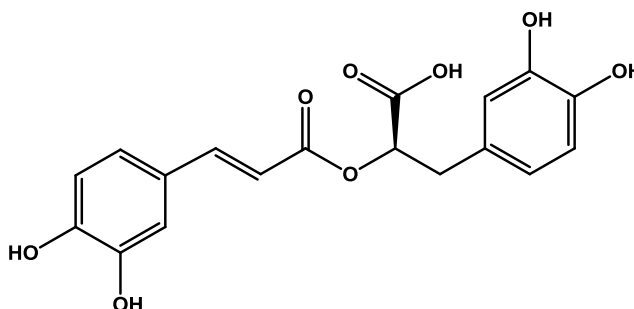
El peso molecular determinado por EM-ESI (Anexos, Figura B-29) en los modos positivo y negativo mostro cationes aducto de m/z 779 [M+Na]⁺ y 795 [M+K]⁺ y un anión m/z 755 [M-H]⁻, respectivamente, y fueron congruentes para el peso de la manghaslina (**4**).

5.1.5 Compuesto 5: ácido rosmarínico (5).

El compuesto **5** se aisló como un sólido amarillo. En el espectro de RMN-¹H (Anexos, Figura B-30) se observaron dos sistemas ABX en la zona de δ_H 6.50 a 7.00 para los protones de dos anillos aromáticos trisustituídos; un sistema AX que corresponde a un doble enlace *trans* con una constante de acoplamiento de 15.90 Hz; y un sistema ABX asignado a un metileno en δ_H 3.10 ($J = 14.3, 4.0$ Hz) y δ_H 2.98 ($J = 14.2, 8.8$ Hz), acoplado con un metino en δ_H 5.16 ($J = 8.7, 4.0$ Hz).

El espectro de RMN-¹³C (Anexos, Figura B-31) mostró 18 señales que corresponden a nueve metinos, un metileno y ocho carbonos cuaternarios (incluidos seis carbonos aromáticos y dos carbonilos), de acuerdo con los datos de los espectros DEPT 135 y 90 (Anexos, Figura B-32).

La comparación de los datos de RMN-¹H y -¹³C con los reportados en la literatura^{45,46}, así como el peso molecular determinado por espectrometría de masas (ESI en modo positivo m/z 383 $[M+Na]^+$ y 743 $[2M+Na]^+$), confirmaron la identidad del compuesto **5** como el ácido rosmarínico (**5**).



Ácido rosmarínico (**5**)

5.1.6 Compuesto 6: ácido salvianólico B (6)

El espectro de RMN-¹H del compuesto **6** determinado en CD₃OD mostró una gran similitud al del ácido rosmarínico (**5**) (Figura 8); la diferencia principal se debió a la presencia de cuatro, en vez de dos, unidades fenil-propanoides (C₉) derivadas del ácido cafeico en la molécula. Lo anterior se dedujo debido a la presencia de señales atribuibles a tres sistemas ABX en la región de protones aromáticos, uno de ellos (I) claramente distinguible en δ_H 6.52 d ($J = 8.1$), 6.47 d ($J = 2.0$) y 6.28 dd ($J = 8.1, 2.0$) y otros dos (II y III) con señales superpuestas entre δ_H 6.8 y 6.6, así como un sistema AX (IV) en δ_H 7.12 y 6.81 ($J = 8.5$).

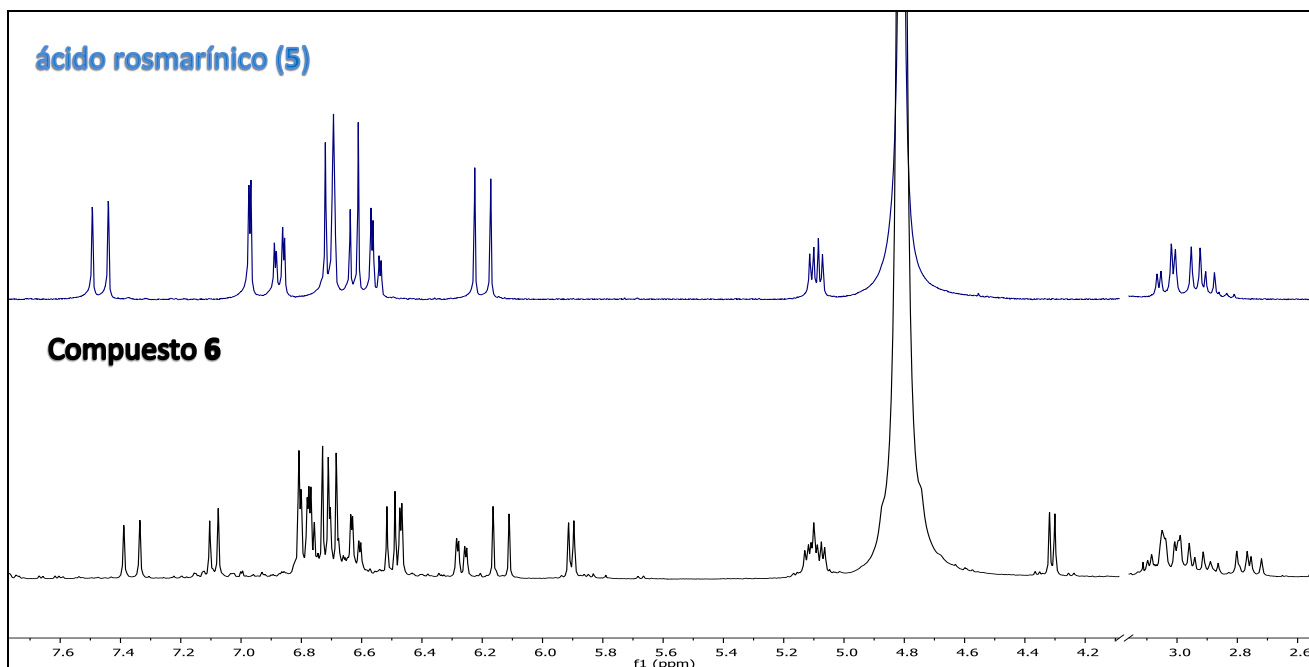


Figura 8: Comparación de espectros de RMN-¹H (300 MHz, CD₃OD) del ácido rosmarínico (**5**) y el compuesto **6**.

Por otra parte, el espectro de RMN-¹H de **6** se determinó en C₅D₅N (Anexos, Figura B-37), mostró una mejor resolución de las señales de los tres sistemas ABX en la región de los aromáticos, cuyas señales se observaron en: (I) δ_H 7.05 dd (*J* = 8.1, 2.1), 7.21 d (*J* = 8.0) y 7.44 d (*J* = 2.1); (II) δ_H 7.09 dd (*J* = 8.0, 2.0), 7.25 d (*J* = 8.0) y 7.52 d (*J* = 2.0) y (III) δ_H 6.92 dd (*J* = 8.0, 2.0), 7.20 d (*J* = 7.9) y 7.34 d (*J* = 2.0); mientras que el sistema AX (IV) se observó en δ_H 7.23 d y 7.12 d (*J* = 8.5) (Figura 10, expansión δ_H 6.9 – 7.6 del espectro COSY).

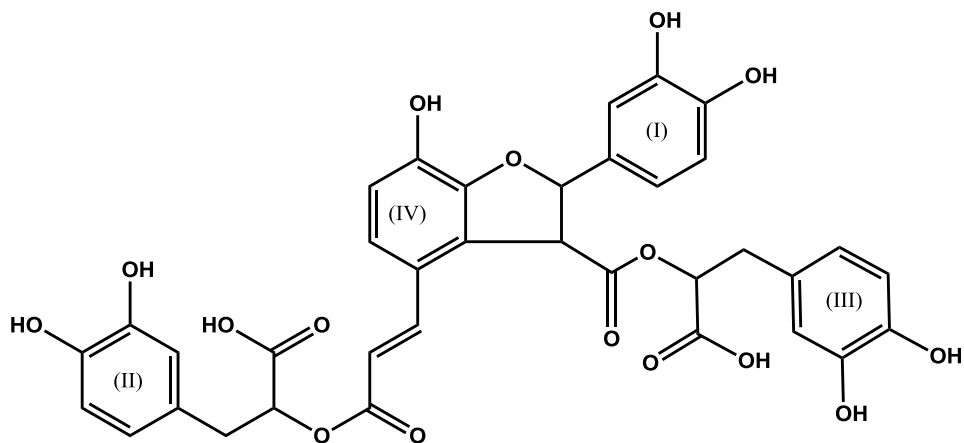


Figura 9: Estructura plana del compuesto **6**.

La presencia de dos sistemas AX con señales en δ_H 8.31 y 6.71 (*J* = 16.0 Hz) y δ_H 6.53 y 4.96 (*J* = 4.0 Hz), sugiere que una de las unidades fenil propanoides conserva el doble enlace *trans* conjugado, como en el ácido rosmarínico (**5**), mientras que la otra se encuentra formando parte de un grupo benzo-dihidrofuranoide.

En la región de los protones alifáticos del espectro de RMN ^1H (Anexos, Figura B-37), se observan además señales asignables a otros dos sistemas ABX con señales en δ_{H} 5.93 (dd, $J = 8.3, 4.3$ Hz) y 5.88 (dd, $J = 9.2, 3.9$ Hz) (partes X), las cuales muestran acoplamientos con las señales de sus correspondientes partes AB en δ_{H} 3.60 (dd, $J = 14.3, 4.3$ Hz) y 3.52 (dd, $J = 14.0, 8.2$ Hz) y en δ_{H} 3.50 (dd, $J = 14.1, 3.6$ Hz) y 3.39 (dd, $J = 14.3, 9.3$ Hz), de acuerdo con el experimento COSY (Figura 11). Estas señales fueron asignadas a dos unidades fenil propanoides (C_9) derivadas del ácido 8-hidroxi-dihidrocafeico que deben encontrarse esterificando a las otras dos unidades (C_9). Los datos anteriores sugieren que el compuesto **6** podría ser el ácido salvianólico B, aislado previamente de *Salvia miltiorrhiza*⁴⁸ y *S. officinalis*⁴⁷, o alguno de sus estereoisómeros (**6.1** o **6.2**).

En el espectro de masas determinado por la técnica EM-ESI⁺ (Anexos, Figura B-43) se observó un ión molecular sodiado de m/z 741 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ que corresponde a la fórmula molecular $\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$, y está de acuerdo con la propuesta anterior.

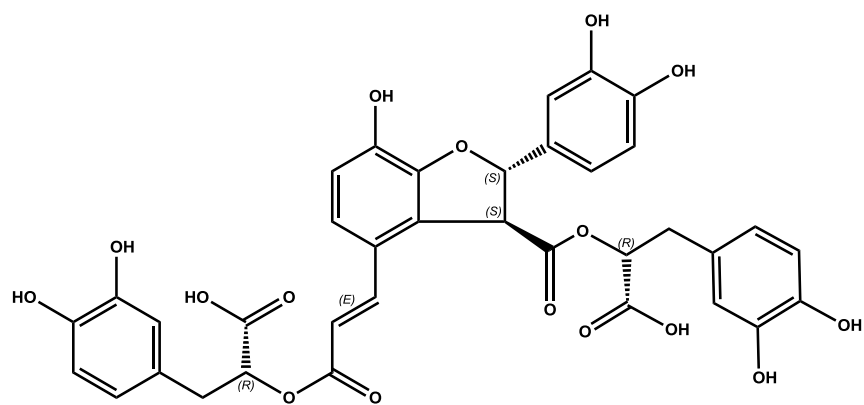
En el experimento HMBC (Anexos, Figura B-42) se observaron acoplamientos a larga distancia entre las señales del doble enlace conjugado δ_{H} 8.32 (H-7') y las señales de los carbonos δ_{C} 116.8 (C-8'), 121.8 (C-6'), 126.4 (C-2') y 167.6 (C-9'), y la señal en δ_{H} 6.71 (H-8') con las señales δ_{C} 124.3 (C-1') y 167.6 (C-9'). Por otra parte, las señales involucradas en la unidad furanoide en δ_{H} 6.53 (H-7) mostraron acoplamientos con δ_{C} 113.9 (C-2), 118.2 (C-6), 126.4 (C-2'),

149.3 (C-3') y 172.0 (C-9) y en δ_H 4.96 (H-8) con δ_C 126.5 (C-2'), 133.4 (C-1), 149.3 (C-3') y 172.0 (C-9).

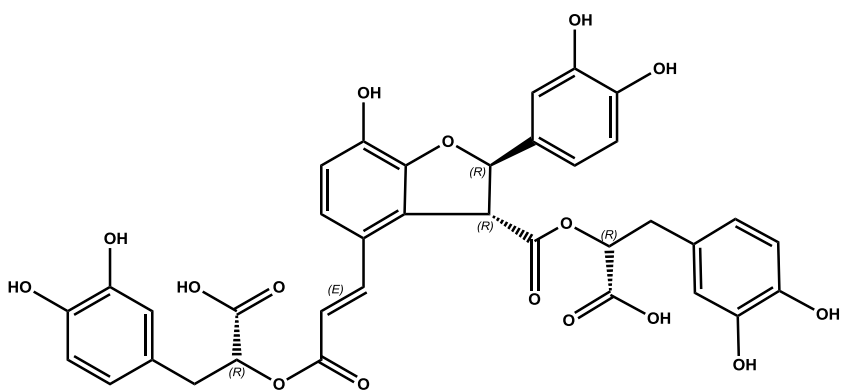
De los sistemas ABX no aromáticos se pudieron observar acoplamientos entre las señales en δ_H 5.93 (H-8''), δ_C 75.3) con las señales en δ_C 38.2 (C-7''), 129.5 (C-1'') y 173.7 (C-9'') y entre δ_H 5.83 (H-8'''), δ_C 76.3) con las señales en 37.8 (C-7''') y 172.9 (C-9'''). De esta manera se estableció la posición relativa y las uniones de las unidades de ácido cafeico como se observa en la Figura 12.

La asignación de las señales de cada unidad, así como la conectividad entre ellas, se llevó a cabo con el análisis detallado de los espectros COSY (Anexos, Figura B-40), HSQC (Anexos, Figura B-41) y HMBC (Anexos, Figura B-42). En el Cuadro 12 se muestra la asignación completa de las señales para el compuesto **6**.

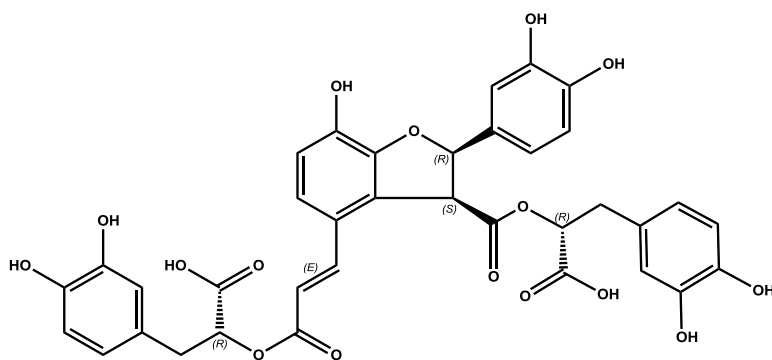
La revisión de la literatura mostró la existencia de tres diaesteroides del compuesto **6**. Los isómeros 7,8 *trans*, que corresponden a los ácidos salvianólico B (7*S*,8*S*) (**6**)⁴⁸ y monárdico B (7*R*,8*R*) (**6.1**)⁴⁹, y el isómero *cis*, conocido como ácido salvianólico Y (7*R*,8*S*) (**6.2**)⁴⁷. La constante de acoplamiento ($J_{7,8} = 4.1$ Hz), así como la rotación óptica ($[\alpha]_D^{23} +31.6^\circ$) (Anexos, Figura B-44) permitieron la identificación del compuesto **6** como el ácido salvianólico B, el cual ha sido aislado de *Salvia miltiorrhiza*.⁴⁸



Ácido salvianólico B (6)



Ácido monárdico B (6.1)



Ácido salvianólico Y (6.2)

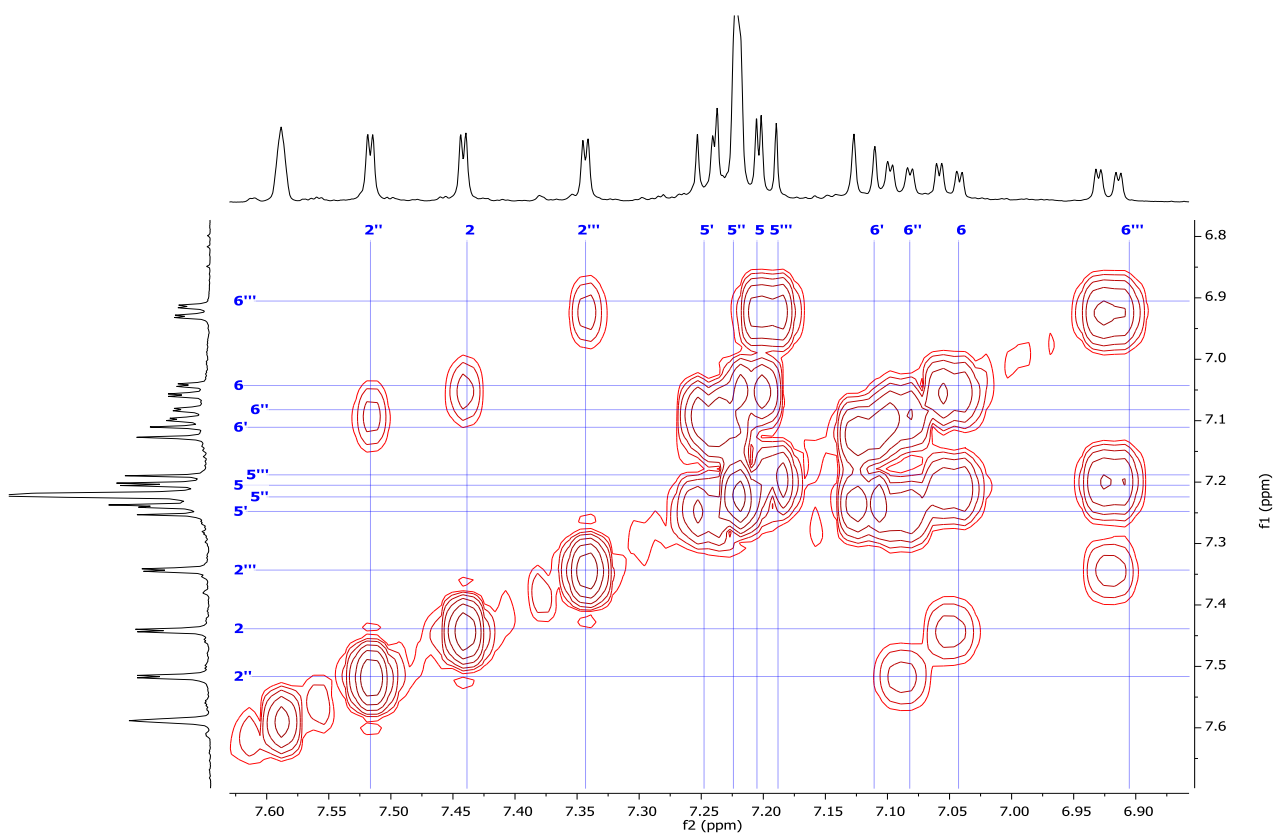


Figura 10: Expansión espectro COSY (C_5D_5N , 500 MHz, δ_H 6.9 - 7.6) del compuesto 6.

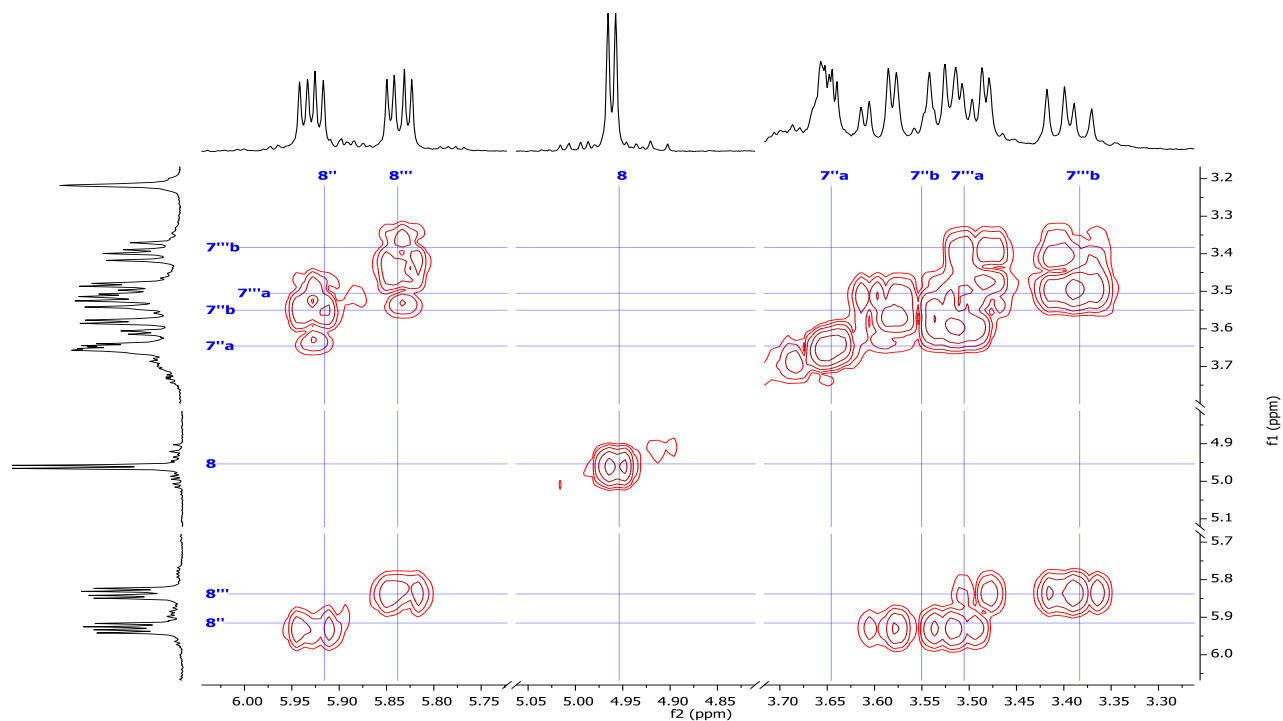


Figura 11: Expansión espectro COSY (C_5D_5N , 500 MHz, δ_H 3.4 - 5.9) del compuesto 6.

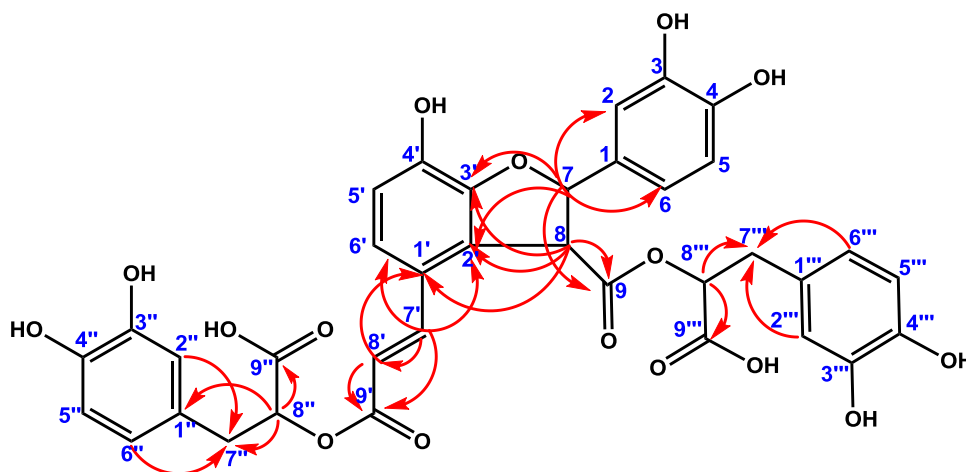
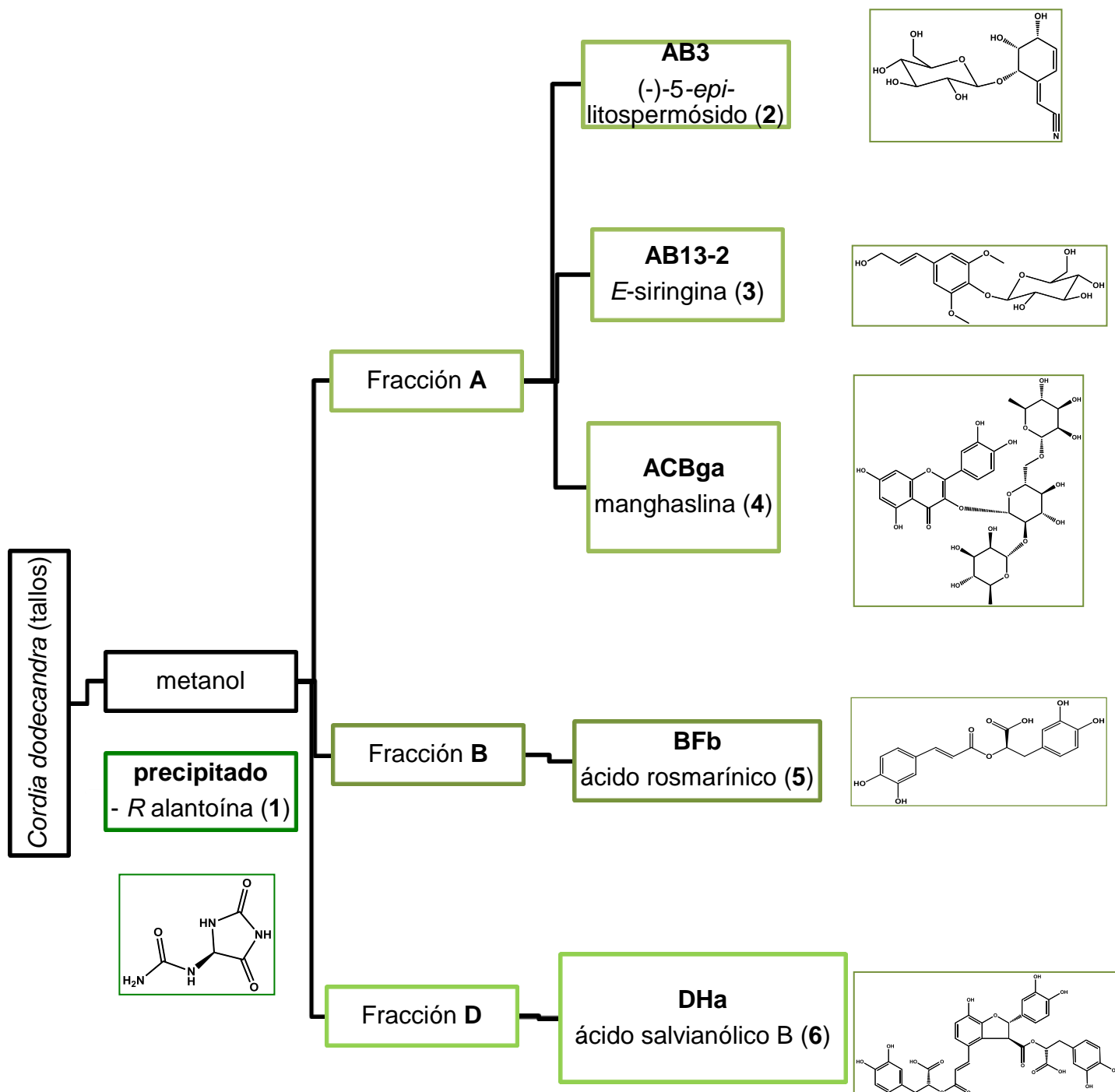


Figura 12: Correlaciones HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$) del compuesto **6**

Cuadro 12: Datos de RMN- ^1H y ^{13}C (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) del compuesto **6**

δ H mult. (J en Hz)		δ C	δ H mult. (J en Hz)		δ C
1	-	133.4	1''	-	129.5
2	7.43 d (2.0)	113.9	2''	7.51 d (2.0)	118.3
3	-	147.6	3''	-	146.3
4	-	148.1	4''	-	146.5
5	7.20 d (8.0)	117.0	5''	7.24 d (8.0)	118.9
6	7.04 dd (8.0, 2.0)	118.2	6''	7.08 dd (8.0, 2.0)	121.6
7	6.53 d (4.0)	87.9	7''a	3.60 dd (14.3, 4.3)	38.2
8	4.96 d (4.0)	57.3	7''b	3.52 dd (14.0, 8.0)	75.3
9	-	172.0	8''	5.92 dd (8.3, 4.3)	75.3
			9''	-	173.7
1'	-	124.3	1'''	-	129.2
2'	-	126.4	2'''	7.33 d (2.0)	118.2
3'	-	149.3	3'''	-	147.3
4'	-	145.8	4'''	-	146.5
5'	7.22 d (8.0)	118.8	5'''	7.19 d (8.0)	116.9
6'	7.12 d (8.4)	121.8	6'''	6.91 dd (8.0, 2.0)	121.5
7'	8.31 d (16.0)	144.4	7'''a	3.50 dd (14.3, 3.6)	37.8
8'	6.71 d (16.0)	116.9	7'''b	3.39 dd (14.5, 9.5)	76.3
9'	-	167.6	8'''	5.83 dd (9.2, 3.9)	76.3
			9'''	-	172.9

5.1.7 Resumen de los compuestos químicos aislados del extracto metanólico de los tallos de *Cordia dodecandra*.

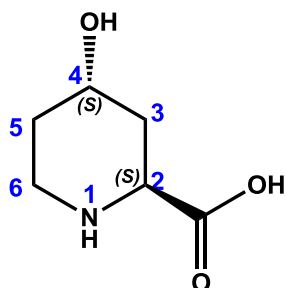


5.2 Metabolitos identificados en el extracto metanólico de las hojas de *C. dentata*.

Del extracto metanólico de las hojas de *C. dentata* se obtuvieron dos alcaloides, el ácido-4-(*S*)-hidroxi-(*S*)-pípecólico (**7**) y la alantoína (**1**); el glucósido del alcohol bencílico (**8**), el cilitol: (+) bornesitol (**9**) y el ácido rosmarínico (**5**).

5.2.1 Compuesto 7: Ácido-4-(*S*)-hidroxi-2-(*S*)-pípecólico (**7**)

El compuesto **7** se obtuvo como un sólido blanco soluble en agua, con un punto de fusión de 290°C y una rotación óptica $[\alpha]_D^{23} -12.0^\circ$. Este producto fue identificado de acuerdo con sus constantes físicas y sus datos de RMN como el ácido 4-(*S*)-hidroxi-(*S*)- pípecólico (**7**)⁵⁰.



Ácido 4-(*S*)-hidroxi-2-(*S*)-pípecólico (**7**)

En el espectro de RMN-¹H (Anexos, Figura B-46) se observaron ocho señales en δ_H 4.23 (ddd, $J = 4.7, 4.5, 2.2$, Hz), 3.92 (dd, $J = 11.7, 3.7$ Hz), 3.32 (d, $J = 3.9$ Hz), 3.30 (dd, $J = 3.8, 2.9$ Hz), 2.22 (ddd, $J = 14.8, 4.5, 3.8$ Hz), 1.97 (ddd, $J = 14.4, 11.7, 2.5$ Hz), 1.89 (m) y 1.86 (m).

En el espectro COSY (Anexos, Figura B-49) se observan las correlaciones entre el protón en δ_H 4.23 (H-4) con los protones δ_H 2.22 (H-3a), 1.97 (H-3b), 1.86 y 1.89 (H-5a y H-5b), entre el protón en δ_H 3.92 (H-2) con los protones δ_H 2.22 (H-3a), 1.97 (H-3b) y entre los protones en δ_H 3.30, 3.32 (H-6a y H-6b) con δ_H 1.89 (H-5a y H-5b).

En el espectro de ¹³C (Anexos, Figura B-47) se observan seis señales que corresponden a tres metilenos (δ_C 28.6, 33.4 y 39.2), dos metinos (δ_C 54.6 y 62.5) y un carbón cuaternario (δ_C 174.2) lo cual fue confirmada con los experimentos DEPT 90 y 135 (Anexos, Figura B-48).

El peso molecular del compuesto fue determinado por espectrometría de masas ESI⁺ (Anexos, Figura B-52) y mostró iones con m/z 146.1 m/z [M+ H]⁺, m/z 168.0 [M+Na]⁺ y m/z 184.0 [M+K]⁺, que están de acuerdo con la estructura propuesta (7).

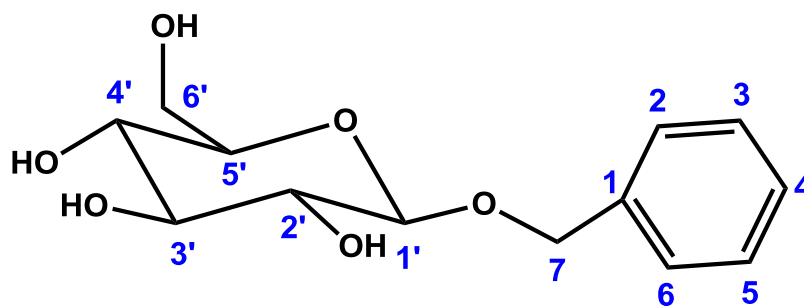
5.2.2 Compuesto 8: Glucósido del alcohol bencílico (8)

El compuesto **8** se aisló como un sólido amarillo y se identificó espectroscópicamente como el glucósido del alcohol bencílico (**8**)^{51,52}. Su espectro de masas (Anexos, Figura B-60) mostró un *pseudo* ion molecular de m/z 293.1 $[M+Na]^+$, que está de acuerdo con una fórmula molecular de $C_{13}H_{18}O_6Na$.

El espectro de RMN-¹H determinado en CD₃OD (Anexos, Figura B-54) mostró una señal múltiple en δ_H 7.30 asignable a cinco protones aromáticos, en δ_H 4.9 y 4.6 se observan señales de un sistema AB, y entre δ_H 3.92 y 3.20 se observan señales de protones asociados con la presencia de una unidad glicosídica en la molécula.

En el espectro de RMN-¹³C (Anexos, Figura B-55) se observaron 11 señales para 13 carbonos correspondientes a diez metinos, dos metilenos (δ_C 71.7 y 62.8) y un carbón cuaternario (δ_C 128.6).

En el experimento HMBC (Anexos, Figura B-59) se observó el acoplamiento entre el protón anomérico (δ_H 4.3, H-1') de la entidad glicosídica y el metileno bencílico (δ_C 71.7, C-7) lo que indica que la estructura del compuesto **8** corresponde al glucósido del alcohol bencílico (**8**), aislado anteriormente de *Carica papaya*.⁵¹



Glucósido del alcohol bencílico (**8**)

5.2.3 Compuesto 9: (+) bornesitol (**9**)

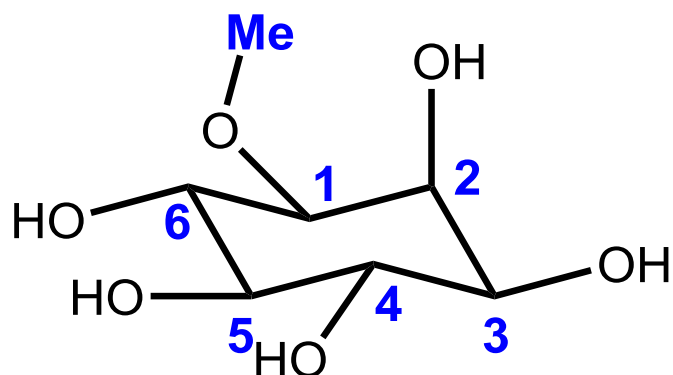
El compuesto **9** se obtuvo como un sólido cristalino de punto de fusión 288-290°C y una rotación óptica de $[\alpha]_D^{23} +17.5^\circ$ (Anexos, Figura B-68). Este compuesto se identificó espectroscópicamente como el 1-metoxi-*L*-myo-inositol, conocido también como (+) bornesitol (**9**).⁵³

En el espectro de RMN-¹H (Anexos, Figura B-62) se observaron tres señales triples en δ_H 3.65, 3.31 y 3.68 con una constante de acoplamiento $J = 9.4$ Hz correspondiente a los acoplamientos axial-axial-axial asignados a los protones H-4, H-5 y H-6 respectivamente. A menor frecuencia, se observaron dos señales

dobles de dobles en δ_H 3.24 y 3.53 ($J = 10.0, 2.90$ Hz, H-1 y H-3 respectivamente) y en δ_H 4.34 una señal triple con constante de acoplamiento $J = 2.9$ Hz para el protón H-2. En el espectro también se observó una señal simple en δ_H 3.47 que integra para tres protones y la cual corresponde al metoxilo presente en la molécula.

El espectro de RMN ^{13}C (Anexos, Figura B-63) mostró 7 señales correspondientes a seis metinos y un metilo, y fue confirmado con los experimentos DEPT. En el experimento HMBC se observó el acoplamiento a larga distancia entre los protones del grupo metoxilo (δ_H 3.47) y C-1 (δ_C 80.5) (Anexos, Figura B-66).

El espectro de masas determinado por medio de la técnica DART (Anexos, Figura B-67) mostró un *pseudo* ión molecular de m/z 195.0 $[M+H]^+$, que está de acuerdo con la estructura propuesta.⁶³ La estructura del compuesto **9**, así como su configuración absoluta, fueron confirmadas por difracción de rayos X (Anexos, Figura B-69).^{53,54}



(+) bornesitol (**9**)

5.2.4 Otros compuestos

En el extracto metanólico de las hojas de *C. dentata*, como en el caso de *C. dodencandra*, también se identificó la presencia de alantoína (1) y de ácido rosmarínico (5). La comparación del espectro de RMN ^1H del extracto metanólico crudo de las hojas y del ácido rosmarínico (5), mostró que uno de los constituyentes principales en el extracto es éste ácido (Figura 13). La cuantificación en el extracto por medio de HPLC, reveló la presencia de 390 mg de ácido rosmarínico (5) por gramo de extracto (i.e. 39% del ácido) (Anexos, Figura C-30, Gráfico 1, Cuadro I y Ecuación 1)

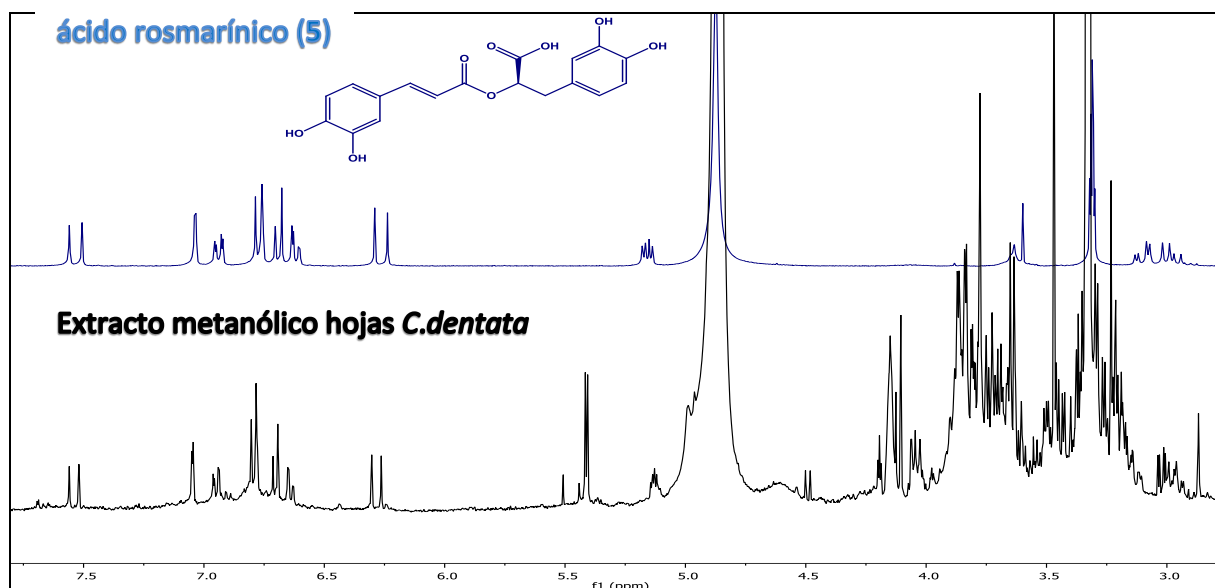
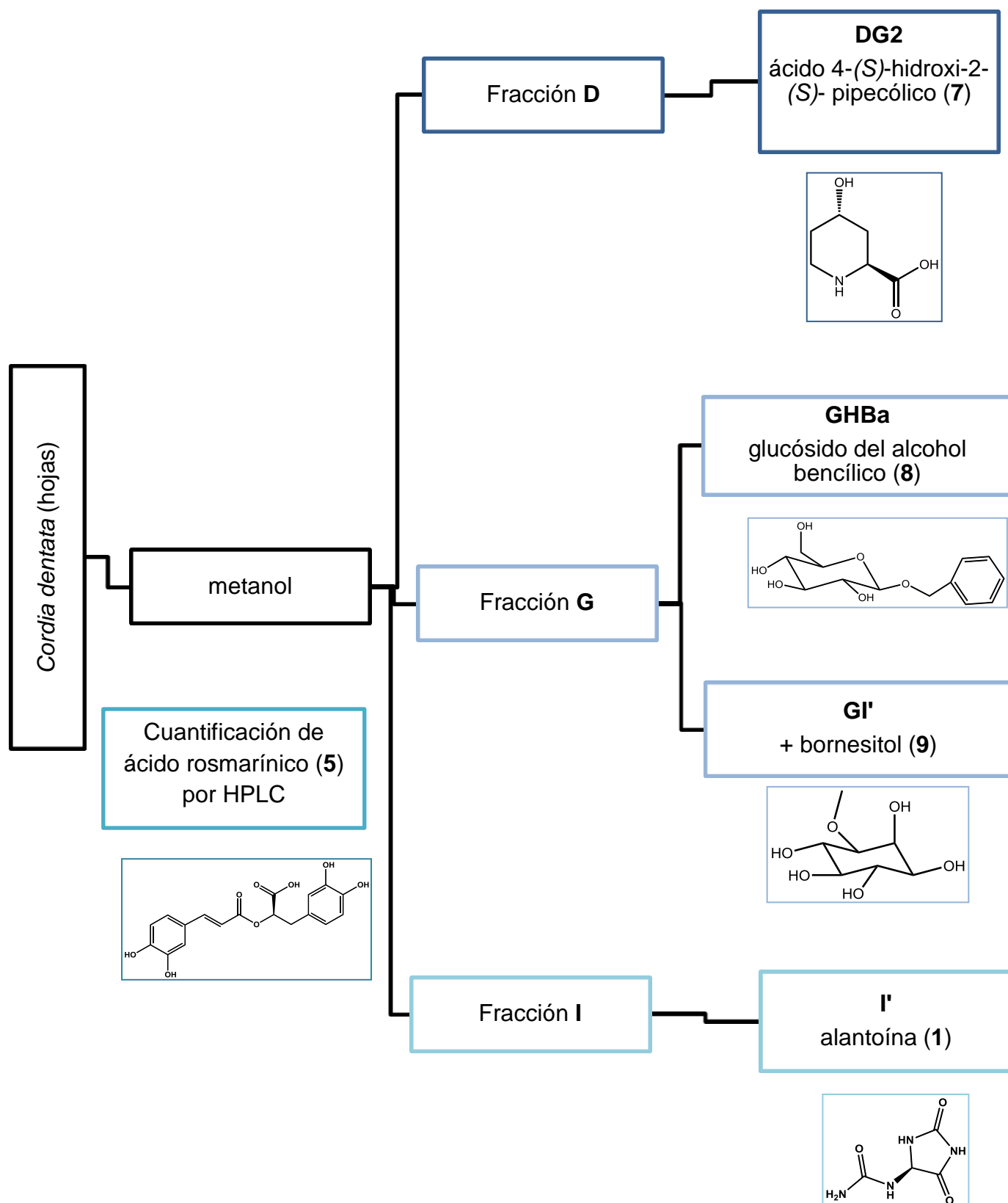


Figura 13: Comparación del espectro de RMN ^1H (CD_3OD) del extracto metanólico de las hojas de *C. dentata* (400 MHz) y ácido rosmarínico (5) (300 MHz).

5.2.5. Resumen de los compuestos químicos aislados del extracto metanólico de las hojas de *Cordia dentata*.



5.3 Metabolitos aislados del extracto de diclorometano de los tallos de *C. dentata*.

Del extracto de diclorometano de los tallos de *C. dentata* se obtuvieron cuatro fenil propanoides derivados del ácido ferúlico, los cuales fueron identificados como el nonil- y undecil-ferulato (**10a**, **10b**) y la pentil-*cis*-ferulamida (**10c**), además del aldehído ferúlico (**11**).

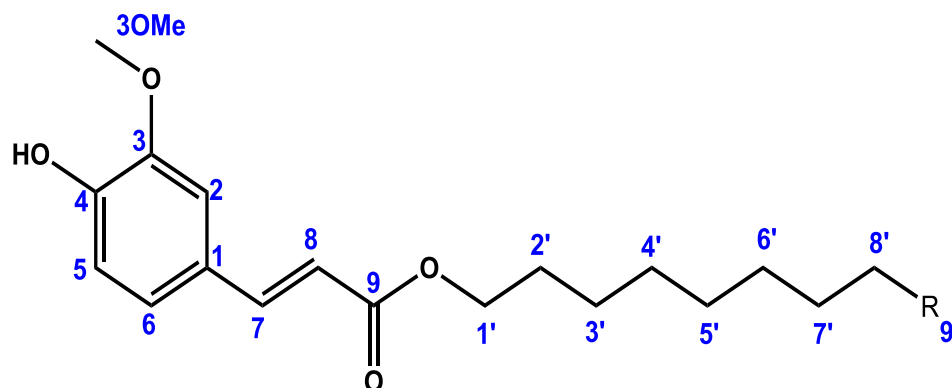
5.3.1 Compuestos 10: Nonil-ferulato (**10a**), undecil-ferulato (**10b**) y pentil-*cis*-ferulamida (**10c**).

De la fracción menos polar del fraccionamiento del extracto orgánico se obtuvo por CCFp una mezcla de derivados del ácido ferúlico, que se identificaron mediante cromatografía de líquidos de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas (HPLC-ESI) y RMN. El cromatograma (Anexos, Figura C-3) mostró tres picos que fueron identificados como nonil-ferulato (**10a**) (TR: 20.6 min., $[M+Na]^+$: 343 m/z , 36%), pentil-*cis*-ferulamida (**10c**) (TR: 16.7 min., $[M+H]^+$: 264.2 m/z , 14%) y undecil-ferulato (**10b**) (TR: 23.9 min., $[M+Na]^+$: 371.14 m/z , 10%), de acuerdo con su masa molecular esperada y los datos de RMN. El compuesto mayoritario se identificó como el nonil-ferulato (**10a**)⁵⁵. El espectro de RMN 1H (Anexos, Figura B-70) de la mezcla, mostró en la zona de los protones aromáticos y olefínicos, un sistema ABX (δ_H 7.07, 7.03 y 6.91) y un sistema AB para un doble

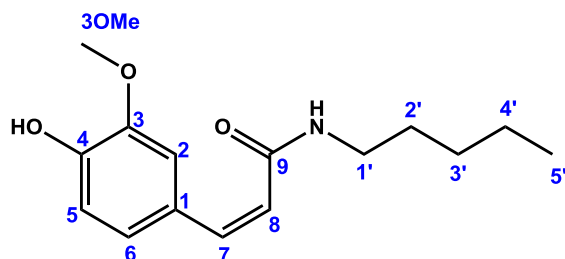
enlace *trans* (δ_{H} 7.60 y 6.29) con una constante de acoplamiento de $J = 15.9$ Hz, mientras que en la zona de los protones alifáticos se observan las señales características de una cadena hidrocarbonada (δ_{H} 1.25), el metilo terminal en δ_{H} 0.87 y un metileno α un oxígeno como una señal triple en δ_{H} 4.18.

En el caso de la pentil-*cis*-ferulamida (**10c**), el espectro de RMN ^1H , como para el compuesto anterior, se observó un sistema AB (δ_{H} 5.81 y 6.79) debido a la presencia de un doble enlace con una constante de acoplamiento $J = 12.7$ Hz, indicativo de una geometría *cis*. Se observaron además una señal en δ_{H} 5.84 correspondiente al protón de la amida y un metileno α a la amida en δ_{H} 4.11.

En el Cuadro 16 se resumen los datos de RMN- ^1H y ^{13}C , de **10a**, **10b** y **10c**, confirmando la asignación con los experimentos COSY (Anexos, Figura B-72), HSQC (Anexos, Figura B-73) y HMBC (Anexos, Figura B-74).



R = Me Nonil-ferulato (**10a**)
R = Et Undecil ferulato (**10b**)



Pentil-*cis*-ferulamida (**10c**)

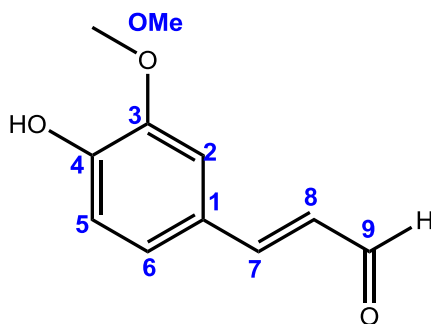
Cuadro 13: Datos de RMN-¹H y -¹³C (500 MHz, CDCl₃) del nonil-ferulato y undecil-ferulato (**10a** y **10b**) y la pentil-*cis*-ferulamida (**10c**).

	Nonil-ferulato (10a) Undecil-ferulato (10b)		Pentil- <i>cis</i> -ferulamida (10c)		
	δ C	δ H mult. (J en Hz)	δ C	δ H mult. (J en Hz)	
1	127.2	-	127.4	-	
2	109.4	7.03 d (1.7)	112.8	7.77 d (1.8)	
3	148.0	-	147.1	-	
4	146.8	-	147.5	-	
5	114.8	6.91 d (8.9)	113.9	6.88 d (8.2)	
6	123.1	7.07 dd (8.1, 1.7)	125.7	7.10 dd (8.2, 1.7)	
7	144.7	6.29 d (15.9)	143.7	5.81 d (12.7)	
8	115.8	7.60 d (15.9)	117.0	6.79 d (12.8)	
9	167.5	-	166.8	-	
OMe	56.0	3.92 s	56.0	3.92 s	
NH	-	-	-	5.84 s	
1'	64.7	4.18 t (6.7)	64.6	4.11 t (6.7)	
2'	28.6	1.69 m	25.1	1.61 m	
3' -9'	32.0; 29.8; 28.9; 26.1	1.25 m	3' -4'	32.0; 29.8; 28.9; 26.1	1.25 m
10'	14.27	0.87 t (6.9)	5'	14.27	0.87 t (6.9)

5.3.2 Compuesto 11: Aldehído ferúlico (11).

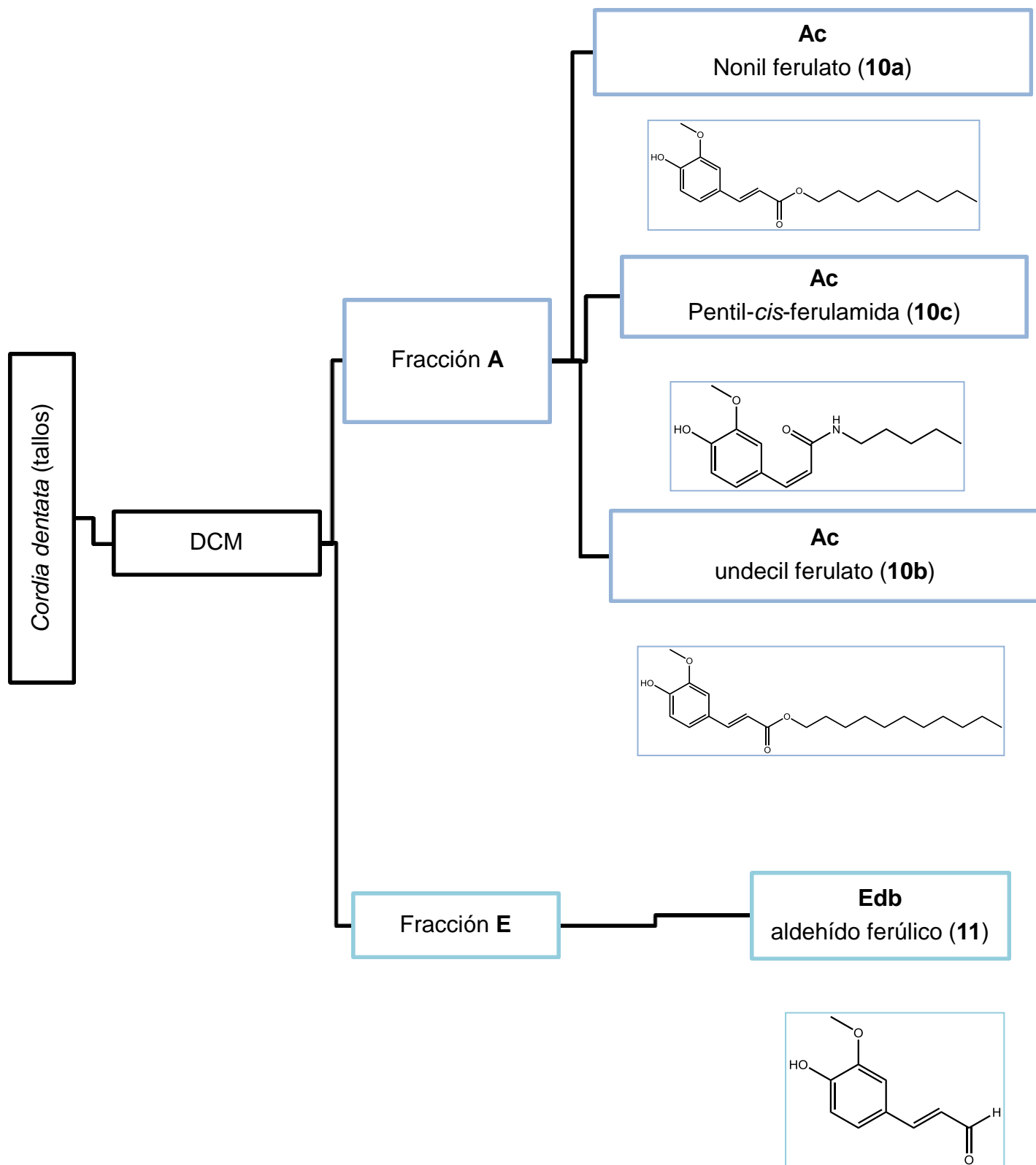
El compuesto **11** se aisló como un sólido amarillo de peso molecular 178 una (EM-DART, m/z 179.07130 $[M+H]^+$) (Anexos, Figura B-79) que corresponde a la fórmula molecular $C_{10}H_{10}O_3$. En el espectro de RMN¹H (Anexos, Figura B-75), se observaron señales en δ_H 9.6 como una señal doble ($J = 7.7$ Hz) correspondientes a un protón de aldehído (H-9) y señales de un doble enlace conjugado en δ_H 7.4 (da, $J = 16.1$ Hz, H-7) y 6.5 (dd, $J = 15.7, 7.7$ Hz, H-8). Los protones del anillo aromático se observaron como un sistema ABX (δ_H 7.12 dd, $J = 8.16, 1.8$ Hz; 7.07 d, $J = 1.7$ Hz; y 6.96 d, $J = 8.15$ Hz) y en δ_H 3.9 los protones del grupo metoxilo.

Los datos de EM y RMN, así como la comparación con los datos reportados en la literatura⁵⁶, permitieron la identificación del compuesto **11**, como el aldehído ferúlico (**11**).



Aldehído ferúlico (**11**)

5.3.4 Resumen de los compuestos químicos aislados del extracto de DCM de los tallos de *Cordia dentata*.



5.4 Actividad anti-inflamatoria y antioxidante

Con base en la información etnobotánica acerca de las especies del género estudiadas, se decidió realizar una serie de bioensayos convencionales para evaluar la capacidad antiinflamatoria y antioxidante de los extractos polares de las especies (Cuadro 14).

El extracto metanólico de las hojas de *C. dentata* mostró una moderada capacidad antiinflamatoria y una buena capacidad antioxidante, con un 89.5% de inhibición de la lipoperoxidación.

En el caso de *C. dodecandra*, ésta mostró una buena capacidad antioxidante comparable con los controles, inhibiendo un 93.4% la peroxidación lipídica, así como una buena capacidad captadora de radicales libres a una concentración de 27.66 µg/mL, actividad que se le atribuye a presencia de los compuestos polifenólicos en el extracto.

De acuerdo con la medicina tradicional, las infusiones son los preparados más utilizados dentro de la herbolaria⁵⁷, por lo que el extracto acuoso de los tallos de la especie *C. dodecandra* se evaluó en cuanto a su capacidad antiinflamatoria y antioxidante, los resultados revelaron que ambas actividades disminuyen, en comparación con el extracto metanólico, sugiriendo que la capacidad antioxidante y antiinflamatoria depende de los componentes en el extracto.

Con miras a un estudio comparativo de la producción de los metabolitos aislados dependiendo de la época de recolección y/o con otras especies del género, se llevó a cabo un estudio preliminar para establecer las condiciones óptimas para su determinación por HPLC-UV-MS. Se determinaron los TR para cada uno de metabolitos aislados y posteriormente se identificaron en el extracto crudo (Anexos, Tabla II). Dicho análisis indicó que en ambos extractos se encuentra como constituyente común el ácido rosmarínico (5).

Existen informes en los cuales se ha demostrado que los compuestos fenólicos como los flavonoides pueden actuar como compuestos antioxidantes y/o prooxidantes. Como antioxidantes, son capaces de secuestrar radicales libres, inhibir enzimas (oxidasas) y quelar metales de transición⁶⁰; como prooxidantes, son capaces de reducir metales de transición por autooxidación mediante procesos redox⁶⁰ y una vez reducidos influyen en la producción de radicales libres.⁶¹

De acuerdo con lo anterior, se llevó a cabo un estudio preliminar de la actividad antioxidante (quelante) y prooxidante (reducción de metales como $\text{Cu}^{+2} \rightarrow \text{Cu}^{+1}$) de los extractos polares de las especies estudiadas por medio de RPE.

5.5 Actividad quelante

La actividad quelante (antioxidante) de los extractos se determinó mediante la formación de complejos utilizando Cu^{+2} como sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Anexos, Figura A-1).

En el espectro de RPE se observó un valor de $g_{\parallel} = 2.420$ para el CuSO_4 . Los valores de g_{\parallel} de los extractos probados (Anexos, Figura A-4 a Figura A-7) se enlistan en la Cuadro 14.

Los resultados obtenidos sugieren que los extractos también poseen capacidad reductora (Cuadro 14) del Cu^{+2} a Cu^{+1} , sugiriendo que algunos componentes presentes los extractos tienen capacidad prooxidante.⁶¹

Cuadro 14: Resultados de la actividad antiinflamatoria, antioxidante y quelante de los extractos polares de *C. dodecandra* y *C. dentata*.

Extractos	Antiinflamatoria (% inhibición)	Antioxidante		Quelante	
		TBARS (% inhibición)	DPPH (CI ₅₀ , µg/mL)	Formación de complejos con Cu ⁺²	Reducción de Cobre (%)
<i>C. dodecandra</i> (tallos)					
Extracto metanólico	14.66	93.40	27.66±0.35	gII = 2.315 All = 14.85	16.47
Extracto acuoso	12.32	54.99	66.86±6.36	--	--
<i>C. dentata</i> (hojas)					
Extracto metanólico	24.64	89.52	40.29±0.47	gII = 2.247 All = 17.14	18.91
<i>C. dentata</i> (tallos)					
Extracto metanólico	1.36	--	>100.00	gII = 2.309 All=15.400	37.92
Extracto acuoso	22.09	-0.14	>100.00	gII = 2.309 All=15.400	17.01
Estándares					
Indometacina (0.3 mg/oreja)	78.76±7.68				
Butil Hidroxi Tolueno BHT (100µg/mL)		92.8			
α-Tocoferol (100µg/mL)			13.67±0.45		
Sulfato de cobre pentahidratado (CuSO ₄ ·5H ₂ O)				gII = 2.420 All = 11.650	
Quercetina (4mM)				gII = 2.425 All = 11.450	44.95

6.CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico de los extractos de tallos y hojas de las especies *Cordia dodecandra* y *C. dentata* condujo al aislamiento de trece metabolitos secundarios (**1-9**, **10a**, **10b** y **10c**, **11**). De estos, los compuestos **1**, **3** y **5** han sido aislados anteriormente de especies del mismo género (*C. dodecandra*, *C. dentata*, *C. sebestena*, *C. verbenacea*, *C. ruthii*), mientras que en el caso de los compuestos **2**, **4**, **6** – **11**, este es el primer reporte de su presencia en especies del género *Cordia*.

Los ensayos de actividad antiinflamatoria mostraron que el extracto metanólico de las hojas de *C. dentata* tiene una moderada capacidad antiinflamatoria, la cual puede deberse a la presencia del ácido rosmarínico (**5**), el cual anteriormente ha mostrado ser un buen agente antiinflamatorio.^{58,59} La cuantificación por HPLC demostró que el extracto metanólico de *C. dentata* contiene 390 mg/g de extracto (aprox. 39%) del compuesto **5**.

Los resultados de la actividad antioxidante indican que los extractos metanólicos de las especies *C. dodecandra* (tallos) y *C. dentata* (hojas) actúan como antioxidantes preventivos⁶² mostrando inhibición de la peroxidación lipídica (TBARS) así como la formación de complejos con cobre (Cu^{+2}); y como antioxidantes captadores de radicales libres⁶² de acuerdo con los resultados positivos en el ensayo de captación de radicales libres por DPPH.

La capacidad antioxidante del extracto metanólico y del extracto acuoso de los tallos de *C. dodecandra* varía de acuerdo con su composición química, teniendo mayor actividad el extracto metanólico debido a que contiene mayoritariamente compuestos polifenólicos, como los flavonoides.

7.REFERENCIAS

1. Claramunt R. M., Farrán M.A., López C., Pérez M. & Santa María D. (2013). *Química bioorgánica y Productos Naturales*. Editorial UNED.
2. Méndez-González, M. E., Durán-García, R., Campos-Bobadilla, S. M., & Dorantes-Euán, A. (2010). Flora medicinal. *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán*, 349-352. Noviembre 25, 2017, de Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY). Sitio web: <http://www.cicy.mx/sitios/biodiversidad-y-desarrollo-humano-en-yucatan>
3. Thirupathi K., Sathesh Kumar S., Raju V.S., Ravikumar B., Krishna D. R. and Krishna Mohan G. (2008). A review of medicinal plants of the genus *Cordia*: their chemistry and pharmacological uses. *Journal of Natural Remedies*, 8 (1), 1-10.
4. Costa, J. F. O., David, J. P., David, J. M., Giulietti, A. M., Queiroz, L. P., Santos, R. R., & Soares, M. B. P. (2008). Immunomodulatory activity of extracts from *Cordia superba* Cham. and *Cordia rufescens* A. DC. (Boraginaceae), plant species native from Brazilian Semi-arid. *Revista Brasileira Farmacognosia*, 18 (1), 11-15.
5. Barajas-Meneses, F., Fernández-Alonso, J. L., & Galindo-Tarazona, R. (2005). Diversidad y composición de la familia Boraginaceae en el Departamento de Santander (Colombia). *Caldasia*, 27 (2), 151-172.
6. Espinoza S. (2008). Género *Cordia*: Etnobotánica, fitoquímica y actividades biológicas. (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, FES-Iztacala, México.
7. Canché-Collí, C., & Canto, A. (2014). Distylous traits in *Cordia dodecandra* and *Cordia sebestena* (Boraginaceae) from the Yucatan Peninsula. *Botanical Sciences*, 92 (2), 289-297.

8. Granados, E. (2012). Árboles de centroamérica.(483-488). Agosto 12; 2015, de Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Sitio web: http://www.arbolesdecentroamerica.info/index.php/es/species/item/download/76_979f763edf8c88cbef6b64ab387eed26.
9. Barrance A.; Beer J; Boshier D.H.; Chamberlain J.; Cordero J.; Detlefsen G.; Finegan B.; Galloway G.; Gómez M.; Gordon J.; Hands M.; Hellin J.; Hughes C.; Ibrahim M.; Leakey R.; Mesén F.; Montero M; Rivas C.; Somarriba E. and Stewart J. *Árbol de Tihuilote (Cordia dentata)*. (479-482). Octubre 12; 2016, de Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Sitio web: <http://www.fundesyram.info/biblioteca.php?id=2388>.
10. Moziño J.M. y Sessé M. (2010). *La real expedición Botánica a Nueva España*: (No. 580.97203 R4).
11. Ferreres F.; Vinholes J.; Gil-Izquierdo A.; Valetao P.; Gonclaves R. F. and Andrade P. B. (2013). *In vitro* studies of α -glucosidase inhibitors and antiradical constituents of *Glandora diffusa* (Lag.) D.C Thomas infusion. *Food Chemistry*, 136 (3-4), 1390-1398.
12. Rodríguez, J. L., Gómez, V., Coballase, E., Ortega, D., & Delgado, G. (2016). *Heterotheca inuloides* (Mexican arnica) metabolites protect *Caenorhabditis elegans* from oxidative damage and inhibit nitric oxide production. *RSC Advances*, 6 (15), 12032-12041.
13. García P. (2008). Inflamación. *Real Academia de Ciencias Exactas Físicas y Naturales*, 102 (1): 91-159.

14. Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology and Medicine*, 49 (11), 1603-1616.
15. Domínguez M. (2007). Actividad Antiinflamatoria y antioxidante de las especies *Barkleyanthus salicifolius* Kunth. Y *Penstemon gentianoides* H.B.K. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Química. México.
16. Rodríguez J. L. (2015). Aislamiento, determinación de la estructura molecular, bioevaluación y análisis de la relación entre la estructura molecular y la actividad biológica de los compuestos naturales presentes en *Heterotheca inulolides* (Cass). (Tesis de doctorado). Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Química. México.
17. López L. (2016). Estudio de complejos metálicos con ligandos de interés biológico. (Tesis de doctorado). Universidad Nacional de la Plata. Facultad de ciencias exactas. Argentina.
18. Machi L. (1992). Síntesis de complejos de cobre con viológeno y estudios sobre su estructura mediante espectroscopía electrónica y fotoelectrón de rayos X. (Tesis de Maestría). Universidad de Sonora, Centro de Investigación en Polímeros y Materiales, México.
19. Solano A. (2018). Espectroscopía de Resonancia Paramagnética electrónica (RPE). Abril 4, 2018, de Universidad Nacional Autónoma de México. Sitio web: http://asesorias.cuautitlan2.unam.mx/inorganica/profes/asp/apuntes/epr_usai_esp2.pdf.
20. Manners, G. D. (1983). The hydroquinone terpenoids of *Cordia elaeagnoides*. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 39-43.

21. Diniz, J. C., Viana, F. A., Oliveira, O. F., Maciel, M. A. M., Torres, M. D. C. D. M., Braz-Filho, R., Silveira E. R. & Pessoa, O. D. L. (2009). ^1H and ^{13}C NMR assignments for two new cordiaquinones from roots of *Cordia leucocephala*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 47 (2), 190-193.
22. De Menezes, J. E. S. A., Lemos, T. L. G., Pessoa, O. D. L., Braz-Filho, R., Montenegro, R. C., Wilke, D. V., Costa-Lotufo L.V., Pessoa C., Odorico de Moraes M. & Silveira, E. R. (2005). A cytotoxic meroterpenoid benzoquinone from roots of *Cordia globosa*. *Planta medica*, 71 (1), 54-58.
23. Parks, J., Gyeltshen, T., Prachyawarakorn, V., Mahidol, C., Ruchirawat, S., & Kittakoop, P. (2010). Glutarimide alkaloids and a terpenoid benzoquinone from *Cordia globifera*. *Journal of natural products*, 73 (5), 992-994.
24. Dai, J., Sorribas, A., Yoshida, W. Y., & Williams, P. G. (2010). Sebestenoids A–D, BACE1 inhibitors from *Cordia sebestena*. *Phytochemistry*, 71 (17-18), 2168-2173.
25. Do Vale, A. E., David, J. M., Dos Santos, E. O., David, J. P., e Silva, L. C., Bahia, M. V., & Brandão, H. N. (2012). An unusual caffeic acid derived bicyclic [2.2. 2] octane lignan and other constituents from *Cordia rufescens*. *Phytochemistry*, 76, 158-161.
26. Correia Da Silva, T. B., Souza, V. K. T., Da Silva, A. P. F., Lyra Lemos, R. P., & Conserva, L. M. (2010). Determination of the phenolic content and antioxidant potential of crude extracts and isolated compounds from leaves of *Cordia multispicata* and *Tournefortia bicolor*. *Pharmaceutical biology*, 48 (1), 63-69.
27. Nariya, P. B., Bhalodia, N. R., Shukla, V. J., Acharya, R., & Nariya, M. B. (2013). *In vitro* evaluation of antioxidant activity of *Cordia dichotoma* (Forst F.) bark. *Ayu*, 34 (1), 124.

28. Jamkhande, P. G., Barde, S. R., Patwekar, S. L., & Tidke, P. S. (2013). Plant profile, phytochemistry and pharmacology of *Cordia dichotoma* (Indian cherry): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3 (12), 1009-1012.
29. Moir, M., & Thomson, R. H. (1973). Naturally occurring quinones. Part XXII. Terpenoid quinones in *Cordia* spp. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 1352-1357.
30. Aguilar R. (2015). Aislamiento e identificación de metabolitos aislados de hojas y tallos de *C. dodecandra*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de La Salle. Instituto de Química. México.
31. De Young, L. M., Kheifets, J. B., Ballaron, S. J., & Young, J. M. (1989). Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. *Agents and actions*, 26 (3-4), 335-341.
32. Oviedo-Chávez, I., Ramirez-Apan, T., Soto-Hernández, M., & Martínez-Vázquez, M. (2004). Principles of the bark of *Amphipterygium adstringens* (Julianaceae) with anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 11 (5), 436-445.
33. De las Heras B., Slowing K., Benedi J., Carretero E., Ortega T., Toledo C., Bermejo P., Iglesias I. & Abad M. (1998). Anti-inflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. *Journal of Ethnopharmacology*, 61, 161-166.
34. Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127 (1), 183-198.
35. Waksmundzka-Hajnos, M., Kowalska, T., & Sherma, J. (2008). *Thin layer chromatography in phytochemistry*. CRC Press.

36. Puszyńska-Tuszkano, M., Grabowski, T., Daszkiewicz, M., Wietrzyk, J., Filip, B., Maciejewska, G. & Cieślak-Golonka, M. (2011). Silver (I) complexes with hydantoins and allantoin: Synthesis, crystal and molecular structure, cytotoxicity and pharmacokinetics. *Journal of inorganic biochemistry*, 105 (1), 17-22.
37. Yin, F., Hu, L. & Pan, R. (2004). Novel dammarane-type glycosides from *Gynostemma pentaphyllum*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 52 (12), 1440-1444.
38. Ding, S., Jia, L., Durandin, A., Crean, C., Kolbanovskiy, A., Shafirovich, V., Broyde, S. & Geacintov, N. E. (2009). Absolute configurations of spiroiminodihydantoin and allantoin stereoisomers: comparison of computed and measured electronic circular dichroism spectra. *Chemical research in toxicology*, 22 (6), 1189-1193.
39. French, J. B., Neau, D. B. & Ealick, S. E. (2011). Characterization of the structure and function of *Klebsiella pneumoniae* allantoin racemase. *Journal of Molecular Biology*, 410 (3), 447-460.
40. Vargas C. (2014). Estudio fitoquímico de *Wigandia urens* (Hydrophyllaceae). (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
41. Kuś, P. M., Włodarczyk, M., & Tuberoso, C. I. (2018). Nitrogen compounds in *Phacelia tanacetifolia* Benth. honey: First time report on occurrence of (-)-5-*epi*-lithospermoside, uridine, adenine and xanthine in honey. *Food chemistry*, 255, 332-339.
42. Della Greca, M., Ferrara, M., Fiorentino, A., Monaco, P., & Previtiera, L. (1998). Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica*. *Phytochemistry*, 49 (5), 1299-1304.

43. Firdous, S., Khan, K., Zikr-Ur-Rehman, S., Ali, Z., Soomro, S., Ahmad, V. U., Rasheed, M., Mesaik, M. A. & Faizi, S. (2014). Isolation of phytochemicals from *Cordia rothii* (Boraginaceae) and evaluation of their immunomodulatory properties. *Records of Natural Products*, 8 (1), 51.
44. Kazuma, K., Noda, N., & Suzuki, M. (2003). Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*. *Phytochemistry*, 62 (2), 229-237.
45. Al-Musayeib, N., Perveen, S., Fatima, I., Nasir, M., & Hussain, A. (2011). Antioxidant, anti-glycation and anti-inflammatory activities of phenolic constituents from *Cordia sinensis*. *Molecules*, 16 (12), 10214-10226.
46. Le Claire, E., Schwaiger, S., Banaigs, B., Stuppner, H., & Gafner, F. (2005). Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other Apiaceae. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53 (11), 4367-4372.
47. Gong, J., Ju, A., Zhou, D., Li, D., Zhou, W., Geng, W., Li B., Li L., Liu Y., He Y., Song M., Wang Y., Ye Z. & Lin R. (2015). Salvianolic acid Y: a new protector of PC12 cells against hydrogen peroxide-induced injury from *Salvia officinalis*. *Molecules*, 20 (1), 683-692.
48. Ai, C. B., & Li, L. N. (1988). Stereostructure of salvianolic acid B and isolation of salvianolic acid C from *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Natural Products*, 51 (1), 145-149.
49. Murata, T., Oyama, K., Fujiyama, M., Oobayashi, B., Umehara, K., Miyase, T., & Yoshizaki, F. (2013). Diastereomers of lithospermic acid and lithospermic acid B from *Monarda fistulosa* and *Lithospermum erythrorhizon*. *Fitoterapia*, 91, 51-59.
50. Molnár, T., Visy, J., Simon, Á., Moldvai, I., Temesvári-Major, E., Dörnyei, G., Fekete E. K. & Kardos, J. (2008). Validation of high-affinity binding sites for succinic acid through distinguishable binding of gamma-hydroxybutyric acid receptor-specific NCS 382 antipodes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18 (23), 6290-6292.

51. Seigler, D. S., Pauli, G. F., Nahrstedt, A., & Leen, R. (2002). Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya*. *Phytochemistry*, 60 (8), 873-882.
52. Yoneda, Y., Krainz, K., Liebner, F., Potthast, A., Rosenau, T., Karakawa, M., & Nakatsubo, F. (2008). "Furan Endwise Peeling" of Celluloses: Mechanistic Studies and Application Perspectives of a Novel Reaction. *European Journal of Organic Chemistry*, 2008 (3), 475-484.
53. Ichimura, K., Kohata, K., Mukasa, Y., Yamaguchi, Y., Goto, R., & Suto, K. (1999). Identification of L-bornesitol and changes in its content during flower bud development in sweet pea (*Lathyrus odoratus* L.). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 63 (1), 189-191.
54. Hema, R., Parthasarathi, V., Ravikumar, K., Nallu, M., & Sarkunam, K. (2015). *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* ISSN 1600-5368.
55. Ruan, H. L., Zhou, X. F., Zhang, Y. H., Pi, H. F., Wu, J. Z., & Sun, H. D. (2007). Ferulic acid esters from *Euphorbia hylonoma*. *Fitoterapia*, 78 (1), 72–73
56. Carpinella, M. C., Giorda, L. M., Ferrayoli, C. G., & Palacios, S. M. (2003). Antifungal effects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated active components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (9), 2506-2511.
57. Chevallier, A. (1997). *Enciclopedia de plantas medicinales*. Acento.
58. Osakabe, N., Takano, H., Sanbongi, C., Yasuda, A., Yanagisawa, R., Inoue, K. I., & Yoshikawa, T. (2004). Anti-inflammatory and anti-allergic effect of rosmarinic acid (RA); inhibition of seasonal allergic rhinoconjunctivitis (SAR) and its mechanism. *Biofactors*, 21 (1-4), 127-131.

59. Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., & Yoshikawa, T. (2004). Rosmarinic acid inhibits epidermal inflammatory responses: anticarcinogenic effect of *Perilla frutescens* extract in the murine two-stage skin model. *Carcinogenesis*, 25 (4), 549-557.
60. Pérez, G. (2003). Los Flavonoides: Antioxidantes o prooxidantes. *Rev Cub Invest Biomed*, 22 (1), 48-57.
61. Dabrowska, C., & Moya, M. (2009). Vitaminas y antioxidantes. *Madrid: Sanidad y Ediciones*, 2-34.
62. Ruiz, B. (2009). Propiedades antioxidantes de los productos de reacción de Millard y su influencia en la absorción de Hierro y Cobre. Relación con la capacidad quelante de metales. (Tesis de doctorado). Universidad de Granada, Departamento de Fisiología-Facultad de Farmacia.
63. Marini, G., Graikou, K., Zengin, G., Karikas, G. A., Gupta, M. P., & Chinou, I. (2018). Phytochemical analysis and biological evaluation of three selected *Cordia* species from Panama. *Industrial Crops and Products*, 120, 84-89.

8. ANEXOS

8.1 ÍNDICE DE FIGURAS A

Figura A- 4: Espectro de RPE sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).....	86
Figura A- 5: Espectro de RPE $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ con glicerol.	86
Figura A- 6: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + glicerol.....	86
Figura A- 7: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y quercetina.....	87
Figura A- 8: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y <i>C. dodecandra</i> tallos-MeOH87	
Figura A- 9: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y <i>C. dentata</i> hojas-MeOH	88
Figura A- 10: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y <i>C. dentata</i> tallos-MeOH...	88
Figura A- 11: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y <i>C. dentata</i> tallos-acuoso.	88

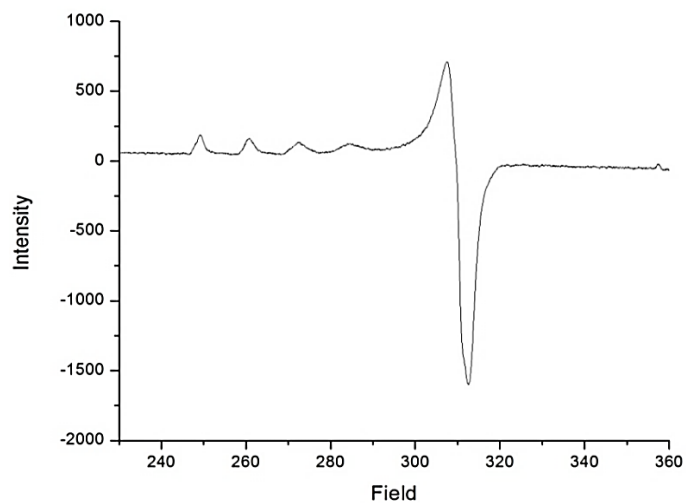


Figura A- 1: Espectro de RPE sulfato de cobre pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

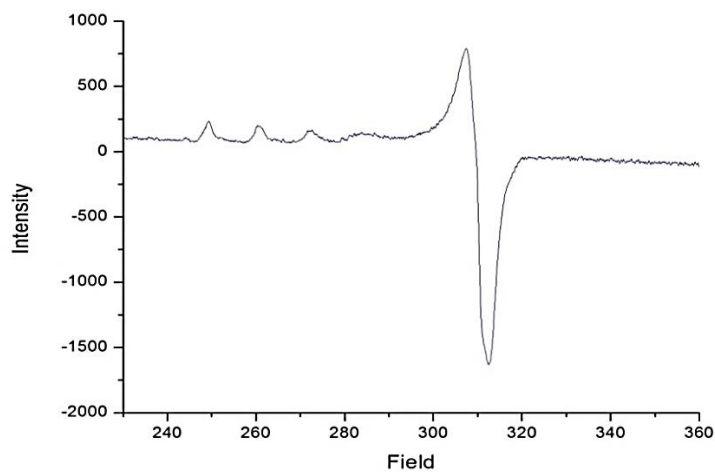


Figura A- 2: Espectro de RPE $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ con glicerol.

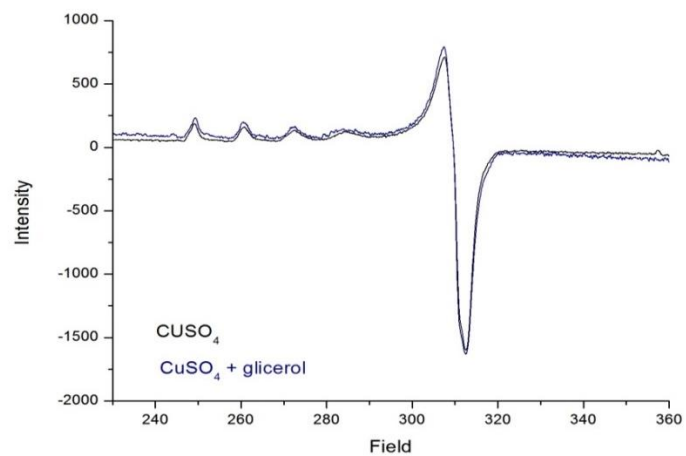


Figura A- 3: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{glicerol}$.

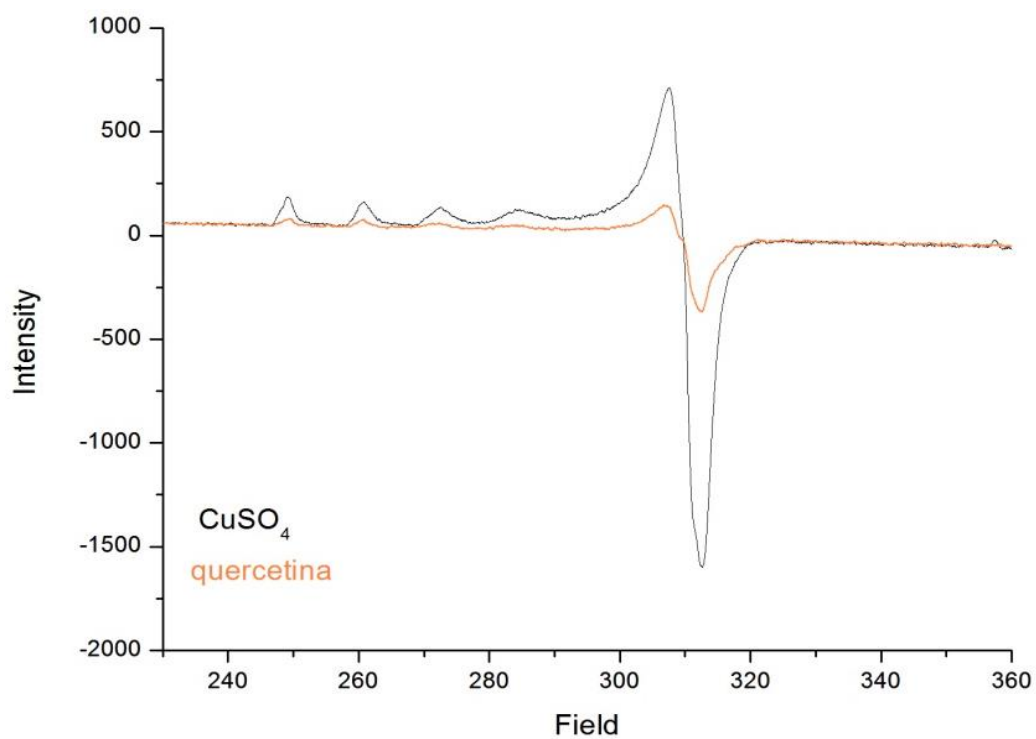


Figura A- 4: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y quercetina.

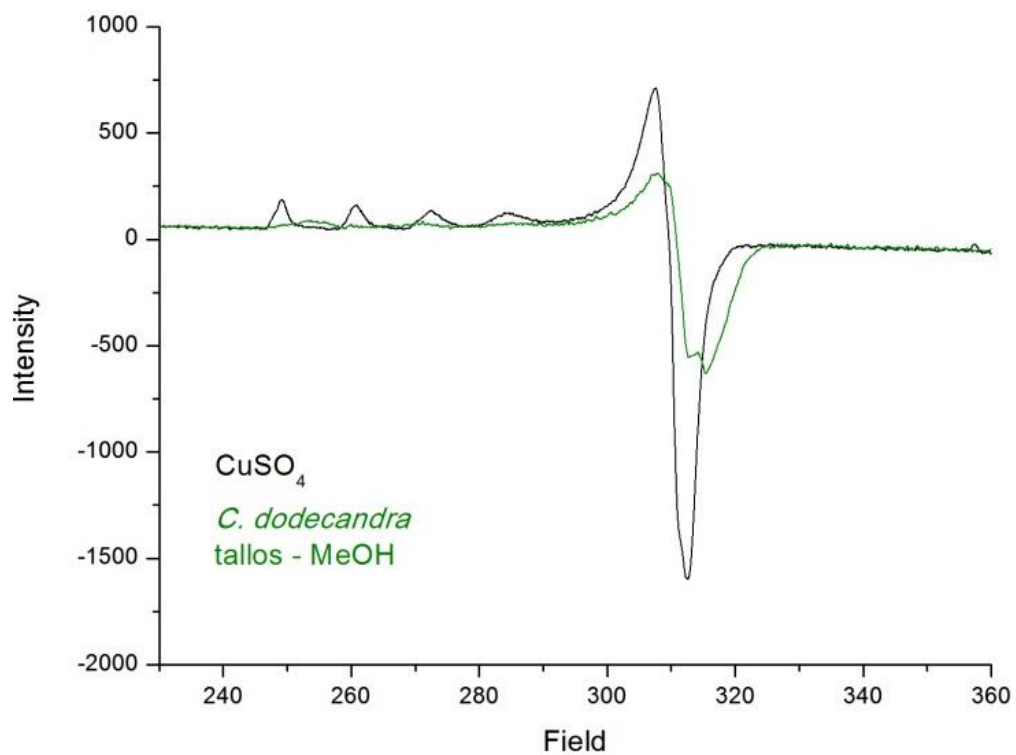


Figura A- 5: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y *C. dodecandra* tallos-MeOH

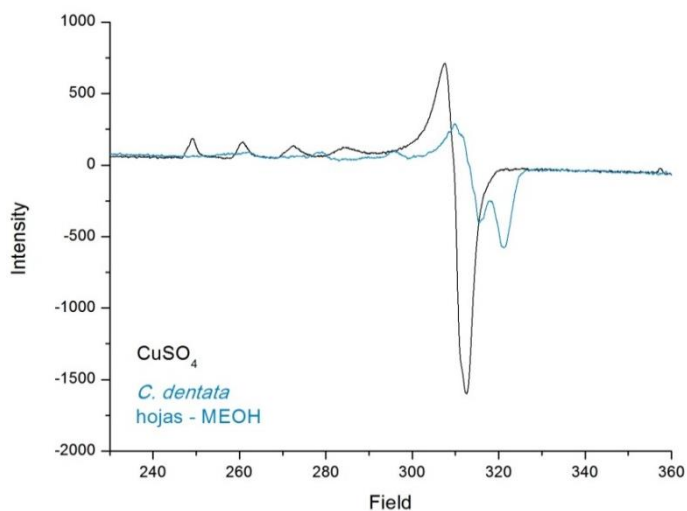


Figura A- 6: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y *C. dentata* hojas-MeOH

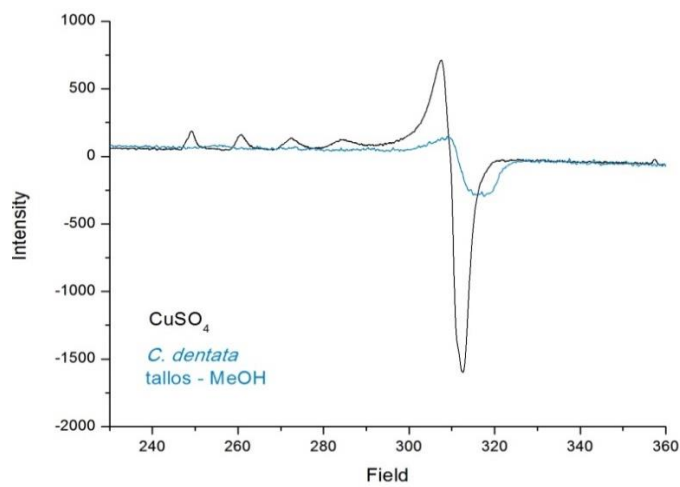


Figura A- 7: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y *C. dentata* tallos-MeOH

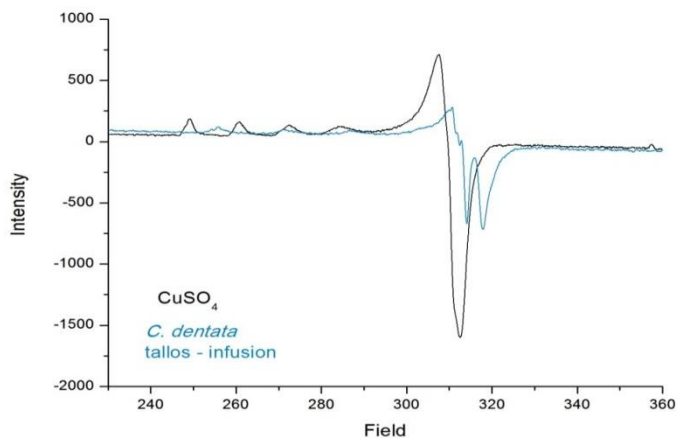


Figura A- 8: Superposición de espectros $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y *C. dentata* tallos-acuoso

8.2 ÍNDICE DE FIGURAS B

Figura B- 1: Espectro de RMN- ¹ H [300 MHz, DMSO-d ₆] de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).	92
Figura B- 2: Espectro de RMN- ¹³ C [75 MHz, DMSO-d ₆] de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).....	92
Figura B- 3: Espectro de IR [ATR] de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).	93
Figura B- 4: Espectro de masas [EM-DART] ⁺ de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).....	93
Figura B- 5: Dato polarimétrico [RO, H ₂ O] de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).....	94
Figura B- 6: Espectro de dicroísmo circular (DC, H ₂ O) de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).....	94
Figura B- 7: Estructura de Rayos X de (-)- <i>R</i> -alantoína (1).	95
Figura B- 8: Espectro de RMN- ¹ H [400 MHz, D ₂ O] de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).	95
Figura B- 9: Espectro de RMN- ¹³ C [100 MHz, D ₂ O] de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).....	96
Figura B- 10: Apilado de espectros de ¹³ C, DEPT 135 y 90 de (-)-5- <i>epi</i> - litospermósido (2).....	96
Figura B- 11: Espectro COSY de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).	97
Figura B- 12: Espectro HSQC-ed de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).....	97
Figura B- 13: Espectro HMBC de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).....	98
Figura B- 14: Espectro de IR [KBr] de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).....	98
Figura B- 15: Espectros de masas [EM-ESI ⁺] de (-)-5- <i>epi</i> -litospermósido (2).	99
Figura B- 16: Espectro de RMN- ¹ H [400 MHz, CD ₃ OD] de <i>E</i> -siringina (3).....	99
Figura B- 17: Espectro de RMN- ¹³ C [100 MHz, CD ₃ OD] de <i>E</i> -siringina (3).....	100
Figura B- 18: Apilado de espectros de ¹³ C, DEPT 135 y 90 de <i>E</i> -siringina (3).	100
Figura B- 19: Espectro HSQC de <i>E</i> -siringina (3).....	101
Figura B- 20: Espectro HMBC de <i>E</i> -siringina (3).....	101
Figura B- 21: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de <i>E</i> -siringina (3).....	102
Figura B- 22: Espectro de RMN- ¹ H [400 MHz, CD ₃ OD] de manghaslina(4)	102
Figura B- 23: Espectro de RMN- ¹³ C [100 MHz, CD ₃ OD] de manghaslina(4).....	103
Figura B-24: Apilado de espectros de ¹³ C, DEPT 135 y 90 de manghaslina(4).....	103
Figura B- 25: Espectro COSY de manghaslina (4).....	104
Figura B- 26: Espectro HSQC de manghaslina (4).....	104
Figura B- 27: Espectro HMBC de manghaslina (4).	105
Figura B- 28: Espectro TOCSY de manghaslina (4).	105
Figura B- 29: Espectros de masas [EM-ESI ⁻] y [EM-ESI ⁺] de manghaslina (4).....	106

Figura B- 30: Espectro de RMN- ¹ H [300 MHz, CD ₃ OD] de ácido rosmarínico (5).....	106
Figura B- 31: Espectro de RMN- ¹³ C [75 MHz, CD ₃ OD] de ácido rosmarínico (5).	107
Figura B- 32: Apilado de espectros de ¹³ C, DEPT 135 y 90 de ácido rosmarínico (5). ..	107
Figura B- 33: Espectro COSY de ácido rosmarínico (5).....	108
Figura B- 34: Espectro HSQC de ácido rosmarínico (5).	108
Figura B- 35: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de ácido rosmarínico (5).....	109
Figura B- 36: Dato polarimétrico [RO, MeOH] de ácido rosmarínico (5).	109

Figura B- 37: Espectro de RMN-1H [500 MHz, C ₅ D ₅ N] de ácido salvianólico B (6)	1106
Figura B- 38: Espectro de RMN-1H [125 MHz, C ₅ D ₅ N] de ácido salvianólico (6).....	107
Figura B- 39: Apilado de espectros de ¹³ C, DEPT 135 y 90 de ácido salvianólico B (6)	107
Figura B- 40: Espectro COSY de ácido salvianólico B(6).	108
Figura B- 41: Espectro HSQC de ácido salvianólico B (6).	108
Figura B- 42: Espectro HMBC de ácido salvianólico B (6).....	109
Figura B- 43: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de ácido salvianólico B (6).	109
Figura B- 44: Dato polarimétrico [RO, MeOH] de ácido salvianólico B (6)	106
Figura B- 45: Espectro de IR [KBr] de ácido salvianólico B (6)	107

Figura B- 46: Espectro de RMN- ¹ H [400 MHz, D ₂ O] de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7)	114
Figura B- 47: Espectro de RMN- ¹³ C [100 MHz, D ₂ O] de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7).	115
Figura B- 48: Apilado de espectros de ¹³ C, DEPT 135 y 90 de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7).	115
Figura B- 49: Espectro COSY de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7).	116
Figura B- 50: Espectro HSQC de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7).	116
Figura B- 51: Espectro HMBC de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7).....	117
Figura B- 52: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7).	117
Figura B- 53: Dato polarimétrico [RO, H ₂ O] de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-pipecólico (7)	118

Figura B- 54: Espectro de RMN- ¹ H [300, CD ₃ OD] de glucósido del alcohol bencílico (8).....	118
Figura B- 55: Espectro de RMN- ¹³ C [100 MHz, CD ₃ OD] de glucósido del alcohol bencílico (8)	119
Figura B- 56: Apilado de espectros de ¹³ C y DEPT 135 de glucósido del alcohol bencílico (8).....	119
Figura B- 57: Espectro COSY de glucósido del alcohol bencílico (8).....	120
Figura B- 58: Espectro HSQC de glucósido del alcohol bencílico (8).	120
Figura B- 59: Espectro HMBC de glucósido del alcohol bencílico (8).	121
Figura B- 60: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de glucósido del alcohol bencílico (8).....	121
Figura B- 61: Dato polarimétrico [RO, Metanol] de glucósido del alcohol bencílico (8)..	122
Figura B- 62: Espectro de RMN- ¹ H [500 MHz, D ₂ O] de (+)-bornesitol (9).....	122
Figura B- 63: Espectro de RMN- ¹³ C [125 MHz, D ₂ O] de (+)-bornesitol (9).	123
Figura B- 64: Espectro COSY de (+)-bornesitol (9).....	123
Figura B- 65: Espectro HSQC de (+)-bornesitol (9).....	124
Figura B- 66: Espectro HMBC (+)-bornesitol (9).	124
Figura B- 67: Espectro de masas [EM-DART ⁺] de (+)-bornesitol (9).....	125
Figura B- 68: Dato polarimétrico [RO, H ₂ O] de (+)-bornesitol (9).....	125
Figura B- 69: Estructura de rayos X de (+)-bornesitol (9).....	126
Figura B- 70: Espectro de RMN- ¹ H [500 MHz, CDCl ₃] de nonil ferulato (10a).	126
Figura B- 71: Espectro de RMN- ¹³ C [125 MHz, CDCl ₃] de nonil ferulato (10a).....	127
Figura B- 72: Espectro COSY de nonil ferulato (10a).	127
Figura B- 73: Espectro HSQC-ed de nonil ferulato (10a).	128
Figura B- 74: Espectro HMBC de nonil ferulato (10a).	128
Figura B- 75: Espectro de RMN- ¹ H [700 MHz, CDCl ₃] de aldehído ferúlico (11).	129
Figura B- 76: Espectro de RMN- ¹³ C [175 MHz, CDCl ₃] de aldehído ferúlico (11).	129
Figura B- 77: Espectro COSY de aldehído ferúlico (11).....	130
Figura B- 78: Espectro HSQC de aldehído ferúlico (11).	130
Figura B- 79: Espectro de masas [EM-DART ⁺] de aldehído ferúlico (11).....	131

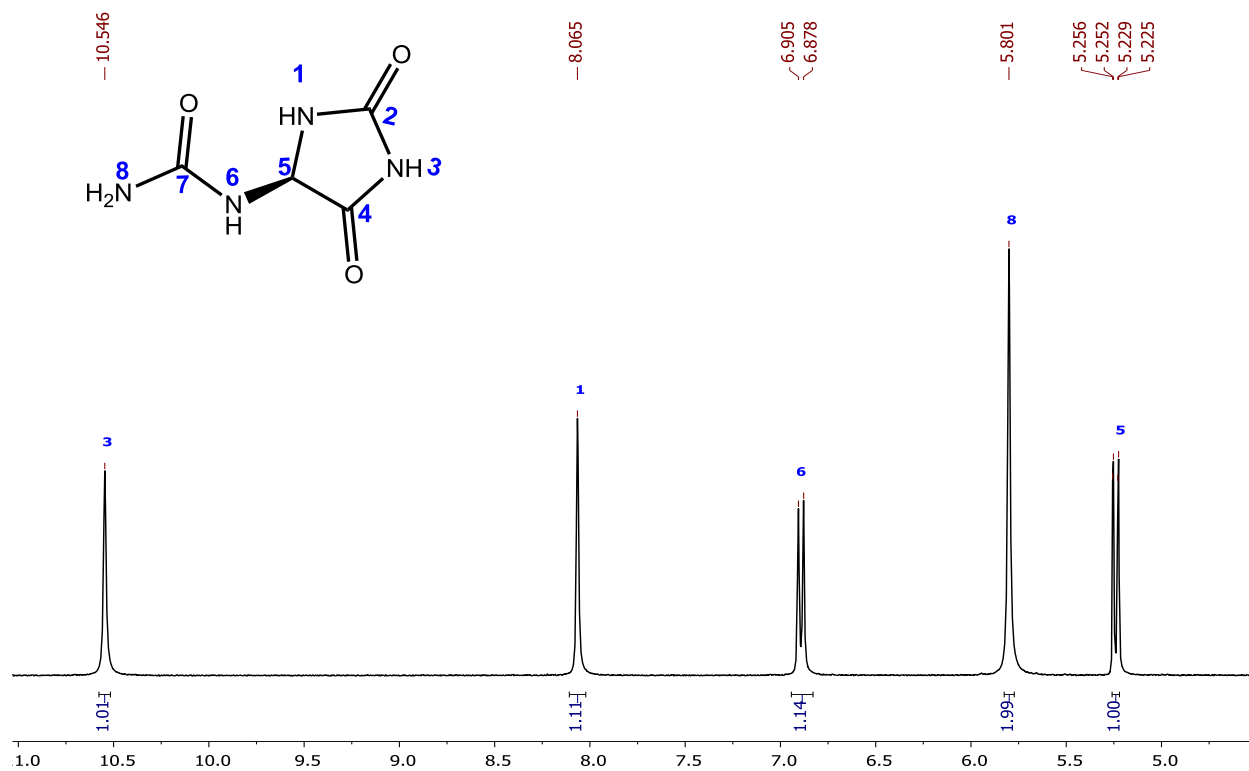


Figura B- 1: Espectro de RMN- ^1H [300 MHz, DMSO- d_6] de (-)-*R*-alantoína (1).

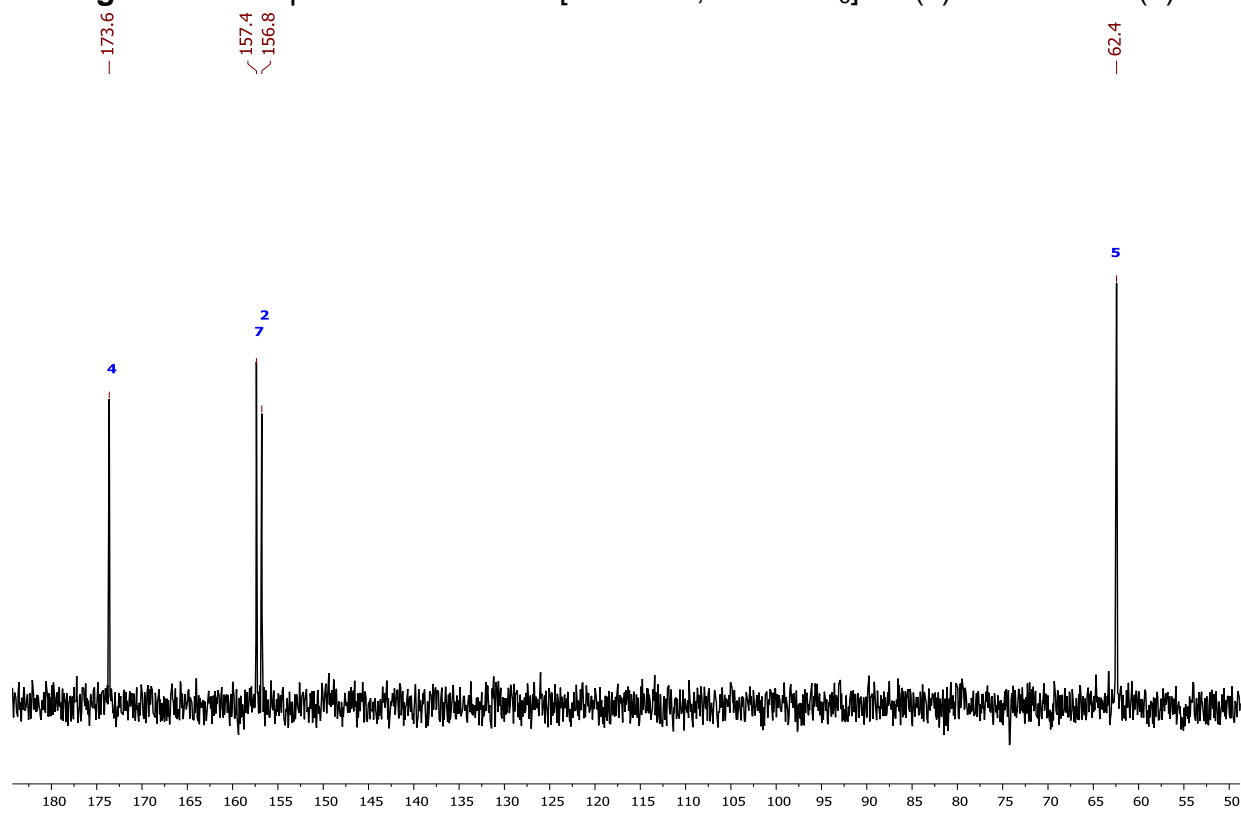


Figura B- 2: Espectro de RMN- ^{13}C [75 MHz, DMSO- d_6] de (-)-*R*-alantoína (1).

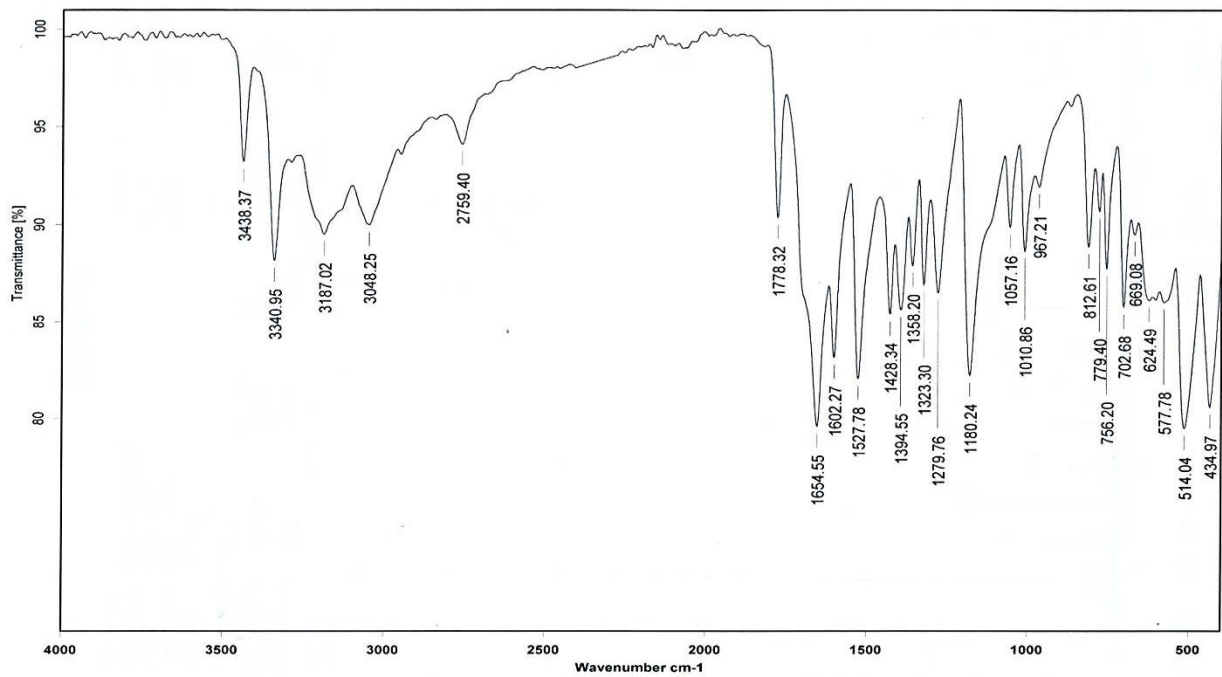


Figura B- 3: Espectro de IR [ATR] de (-)-*R*-alantoína (1).

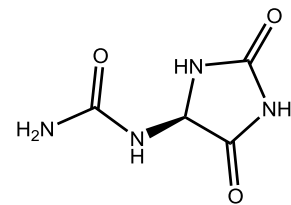
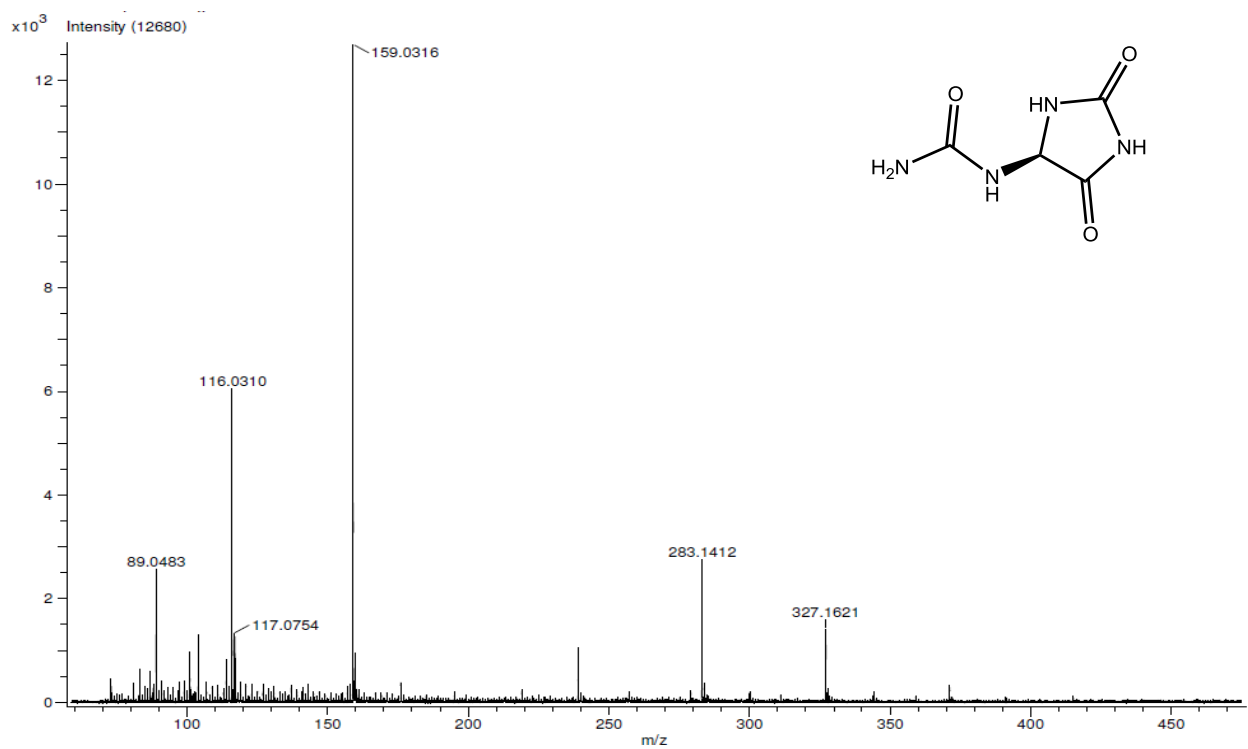
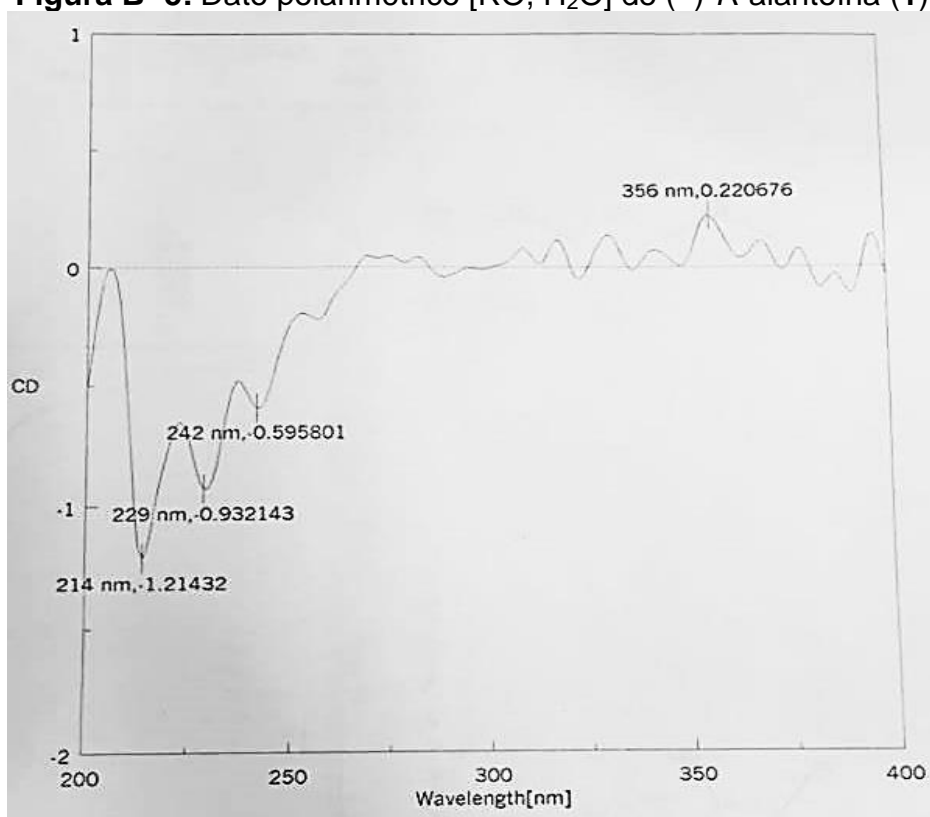


Figura B- 4: Espectro de masas [EM-DART]⁺ de (-)-*R*-alantoína (1).

Muestra: RA-CDT-MeOH-9Investigador : Dr. L. QuijanoDisolvente: AguaConcentración: 1 mg/mLLongitud de celda: 1 dmTiempo de Integración: 5 s α : -0.019 a 589 nm (Na)

Observaciones: _____

Operador: Rocio Patiño MayaNo. de registro: 237Fecha: 29/01/2015**Figura B- 5:** Dato polarimétrico [RO, H₂O] de (-)-*R*-alantoína (1).**Figura B- 6:** Espectro de dicroísmo circular (DC, H₂O) de (-)-*R*-alantoína (1).

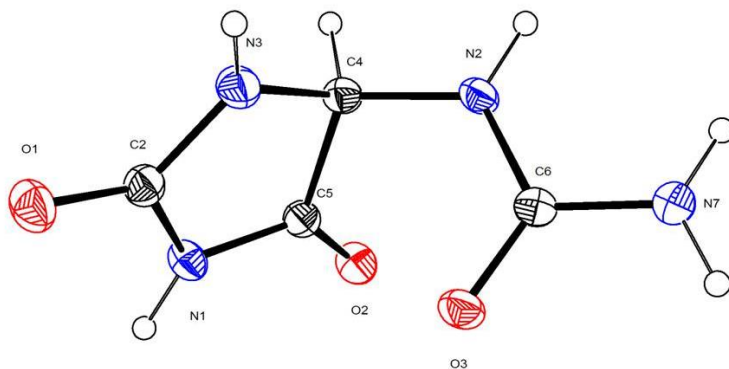


Figura B- 7: Estructura de Rayos X de (-)-*R*-alantoína (1).

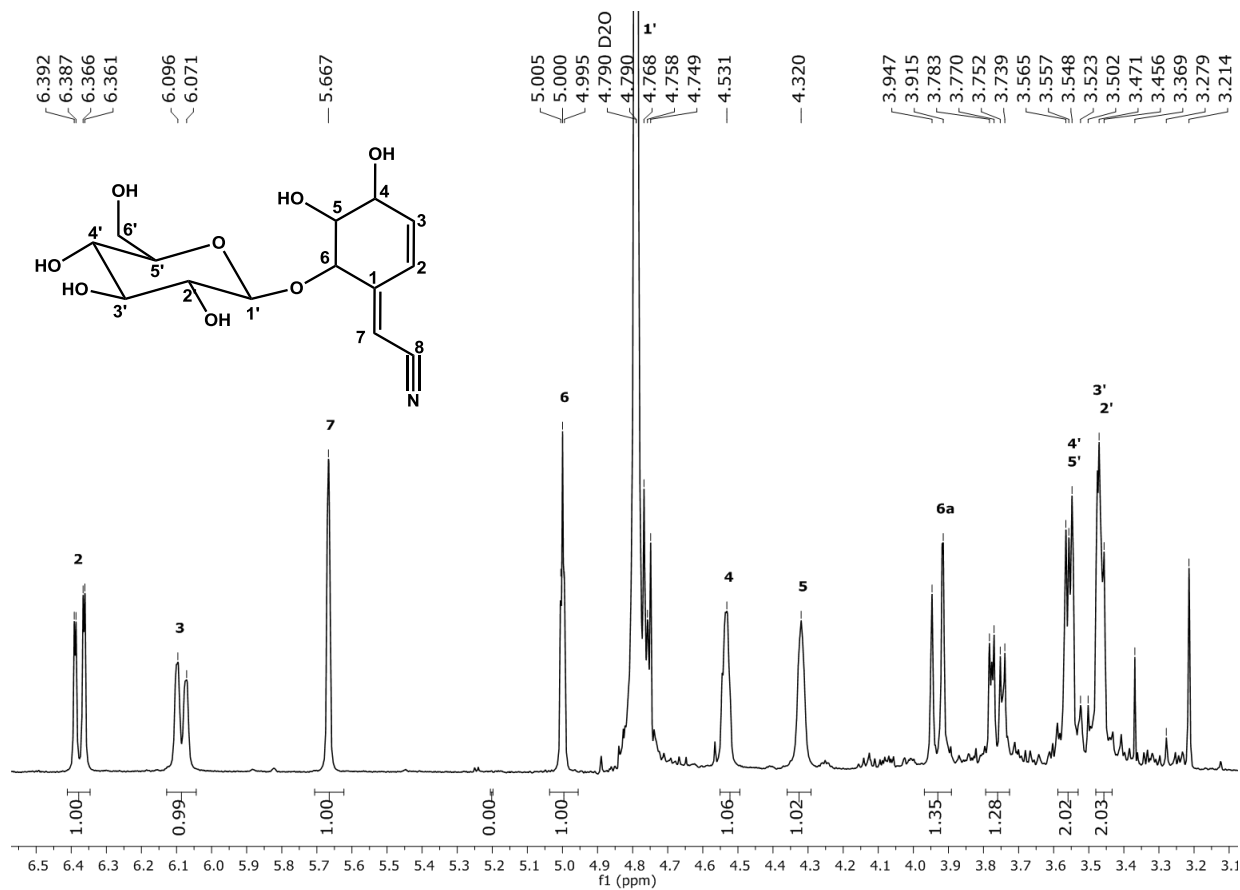


Figura B- 8: Espectro de RMN-¹H [400 MHz, D₂O] de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

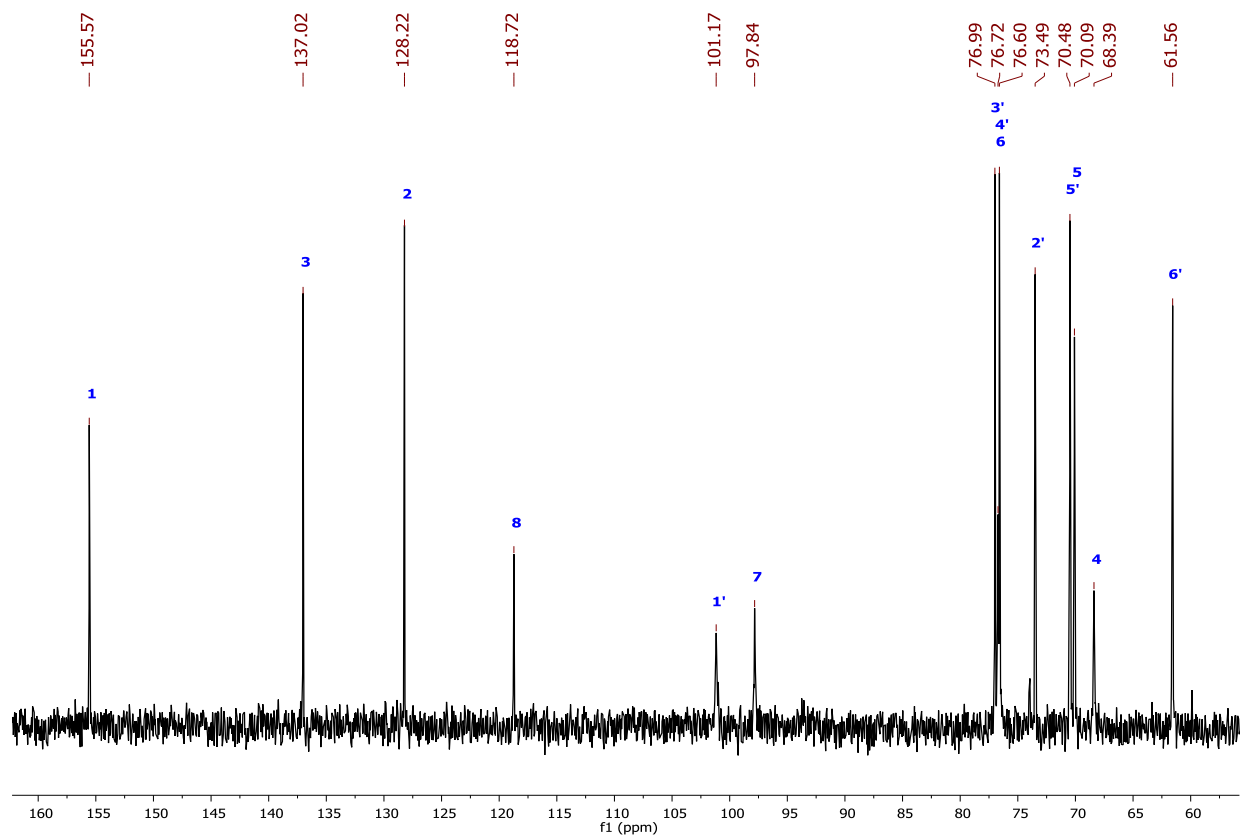


Figura B- 9: Espectro de RMN- ^{13}C [100 MHz, D_2O] de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

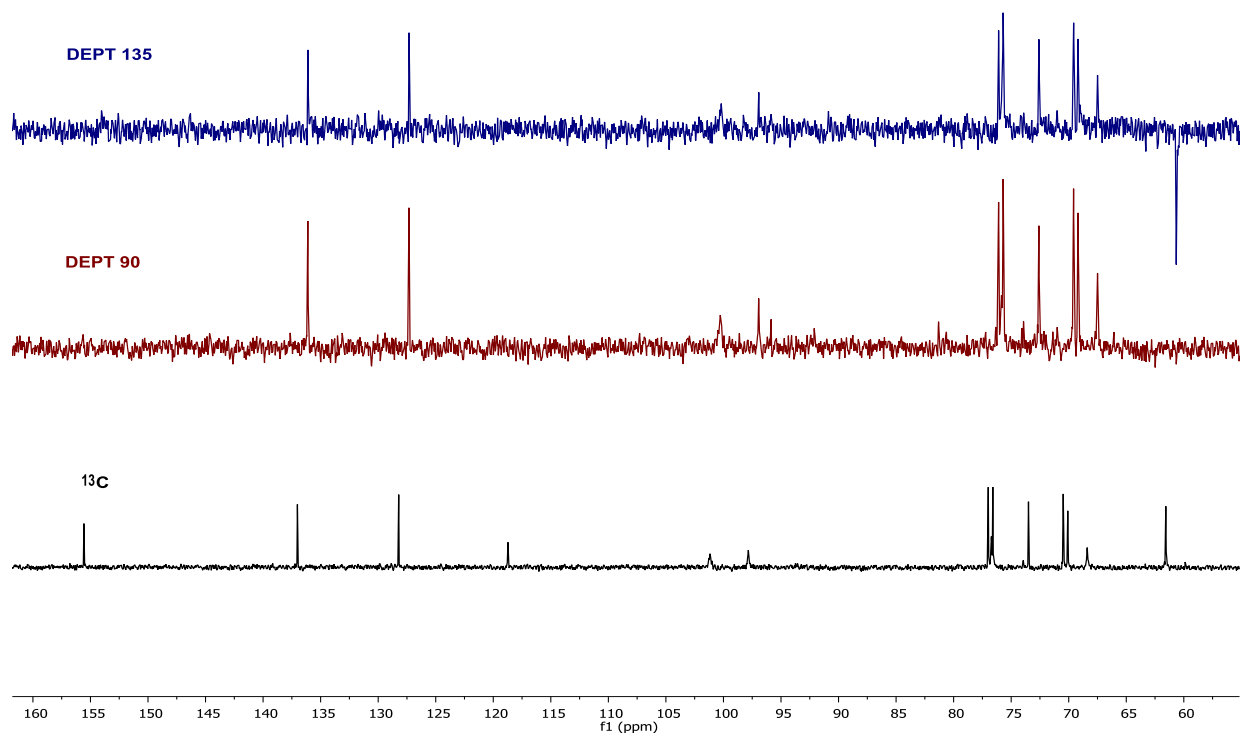


Figura B- 10: Apilado de espectros de ^{13}C , DEPT 135 y 90 de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

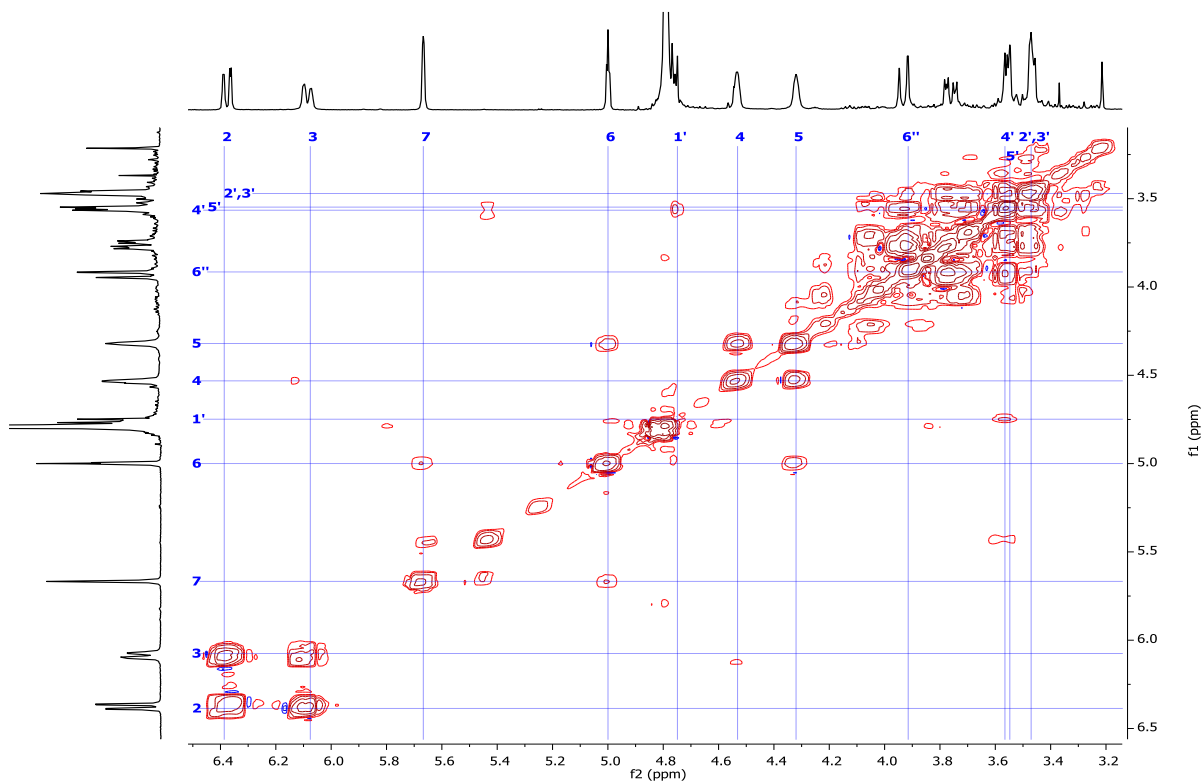


Figura B- 11: Espectro COSY de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

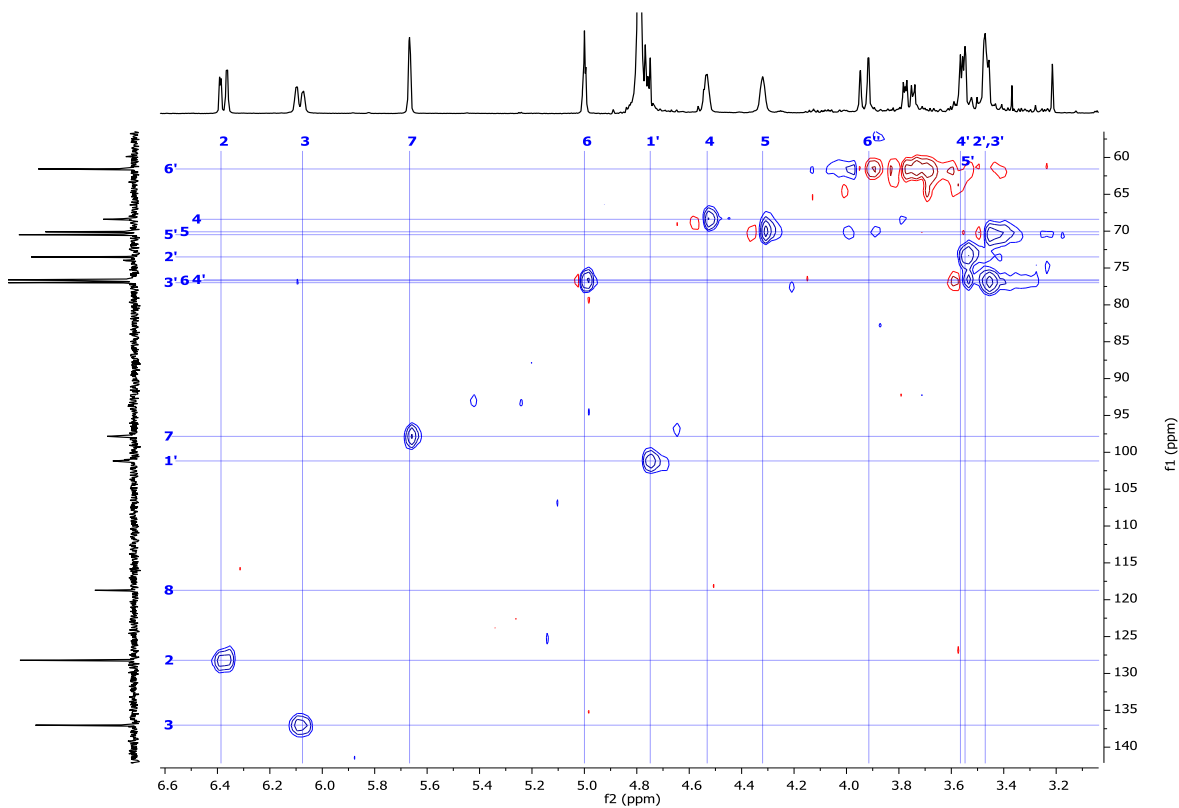


Figura B- 12: Espectro HSQC-ed de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

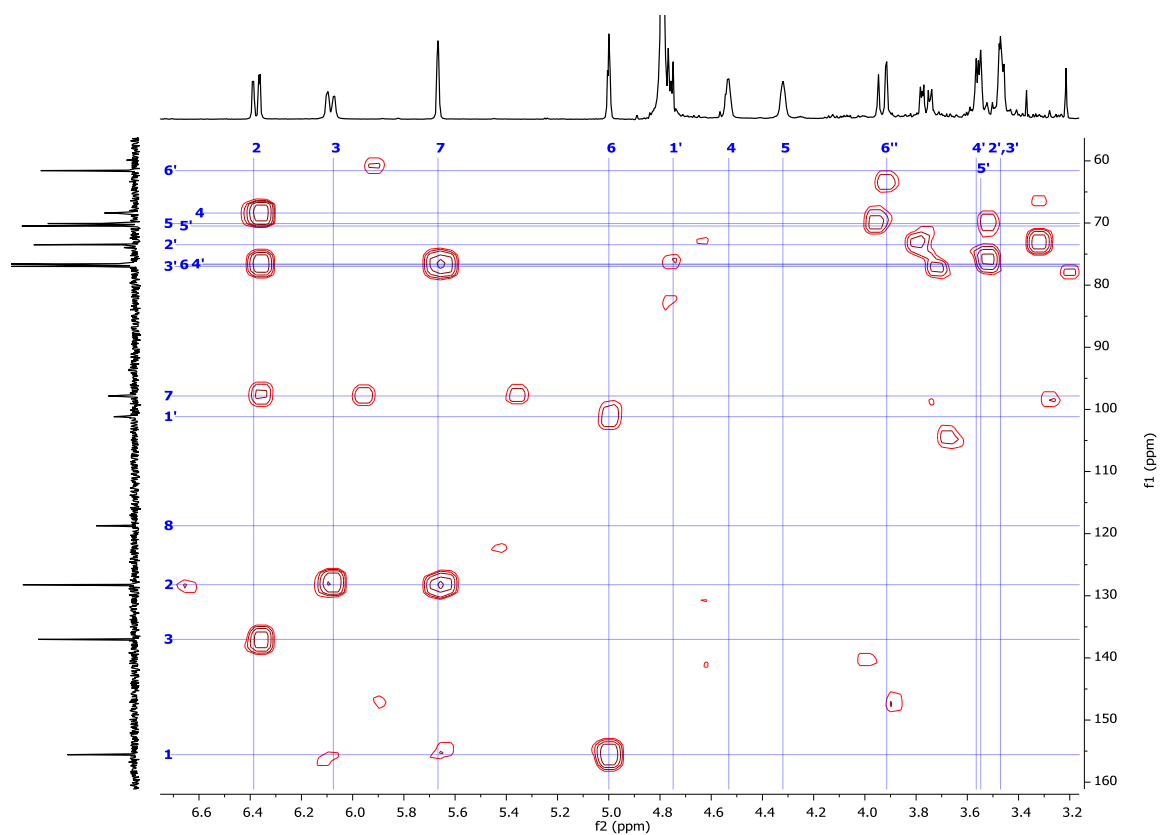


Figura B- 13: Espectro HMBC de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

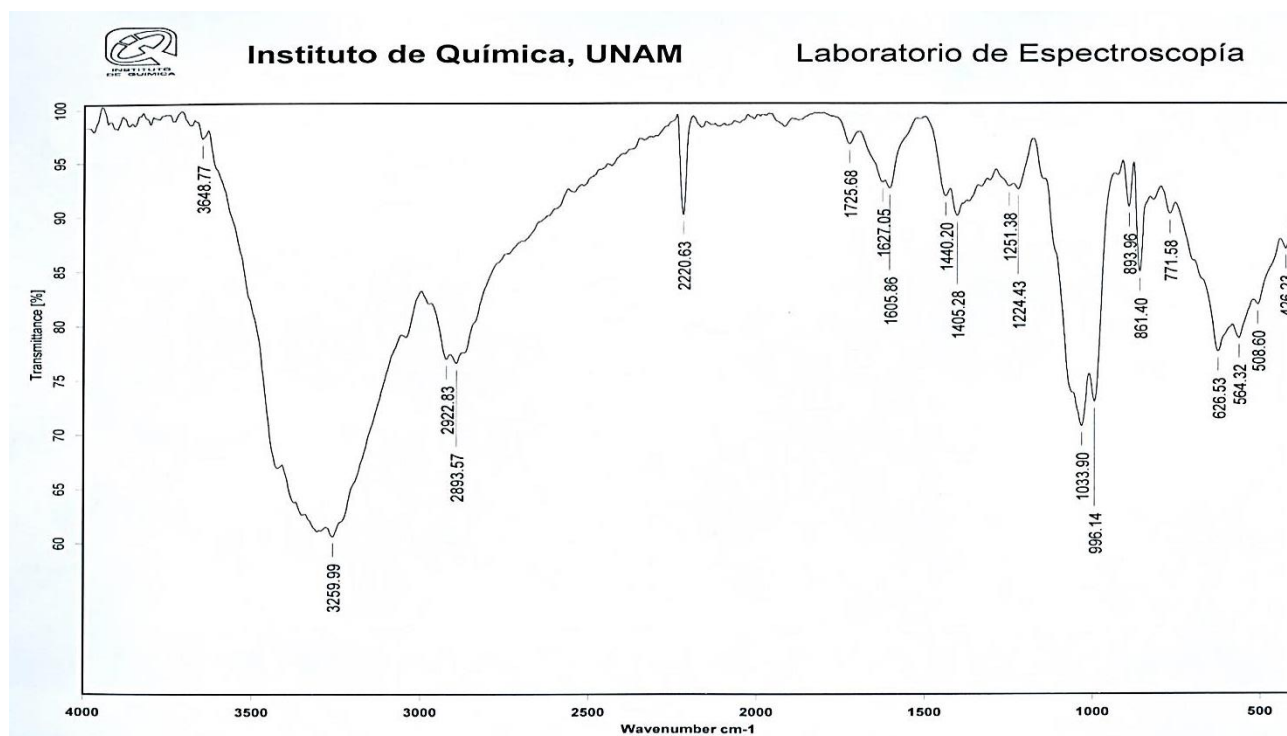


Figura B- 14: Espectro de IR [KBr] de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

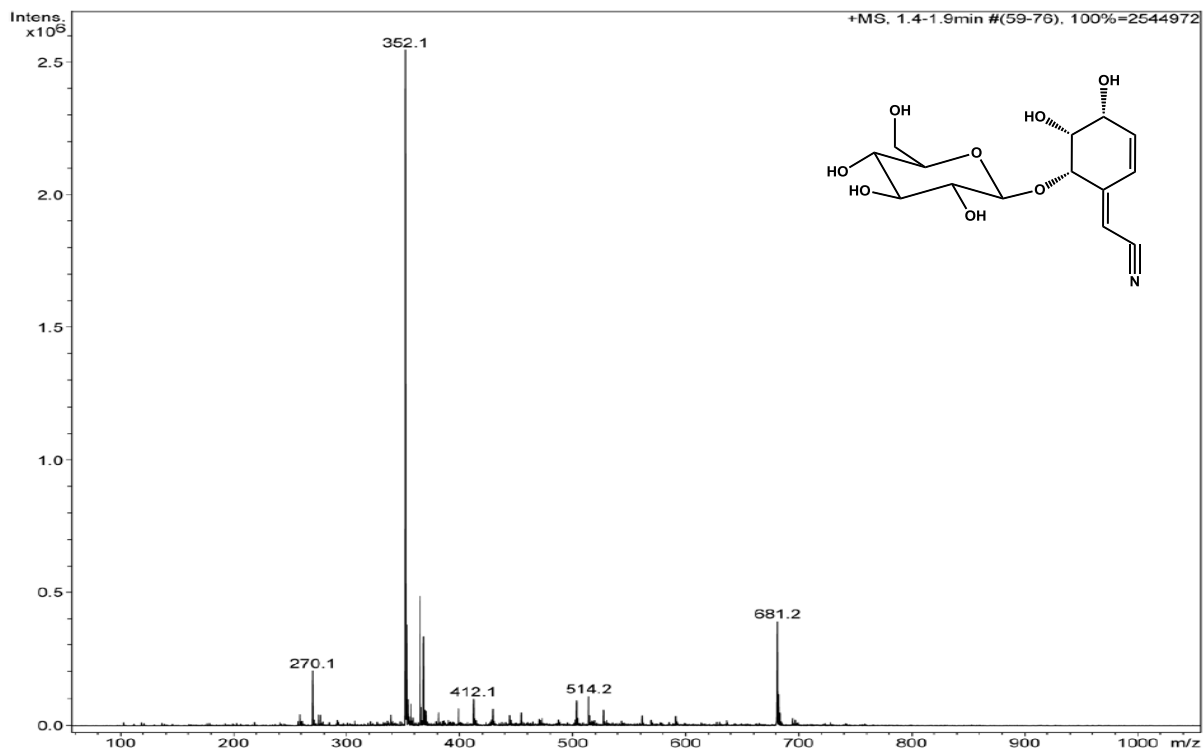


Figura B- 15: Espectros de masas [EM-ESI⁺] de (-)-5-*epi*-litospermósido (2).

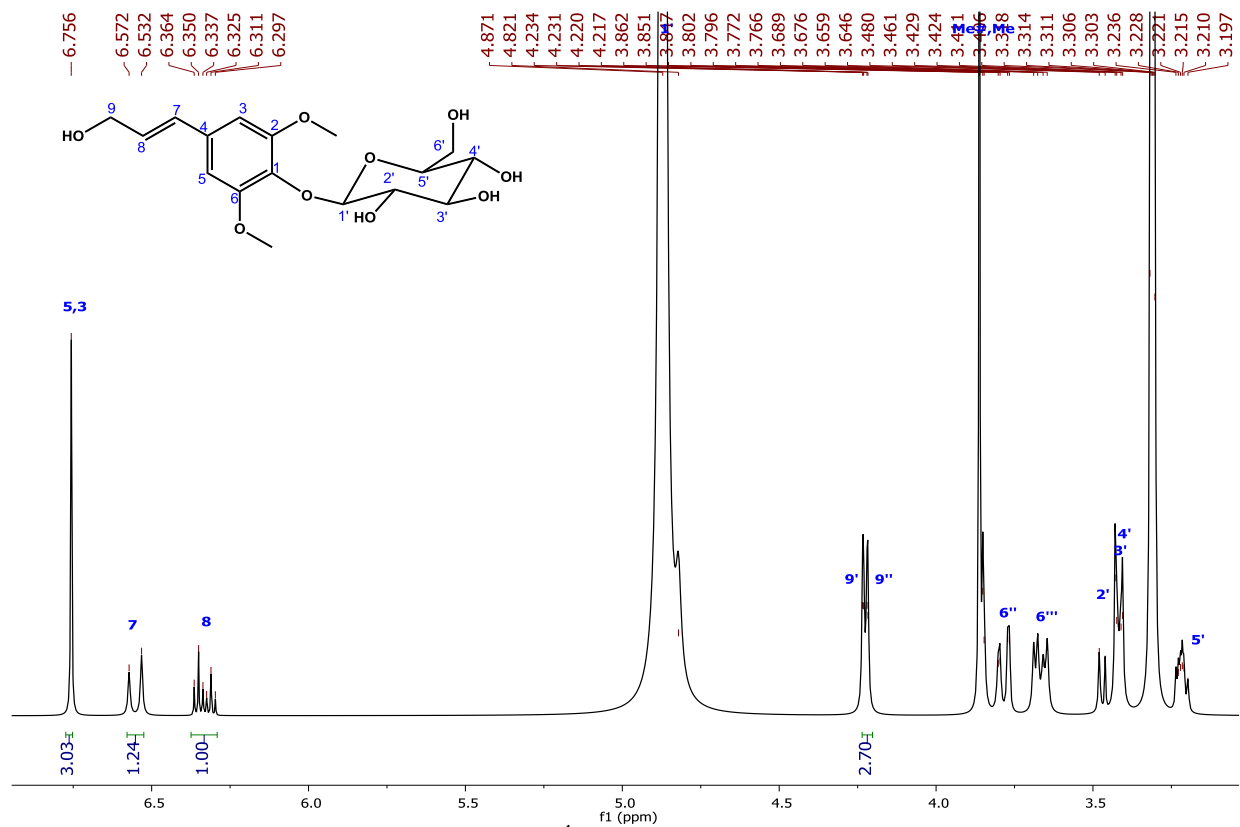


Figura B- 5: Espectro de RMN-¹H [400 MHz, CD₃OD] de *E*-siringina (3).

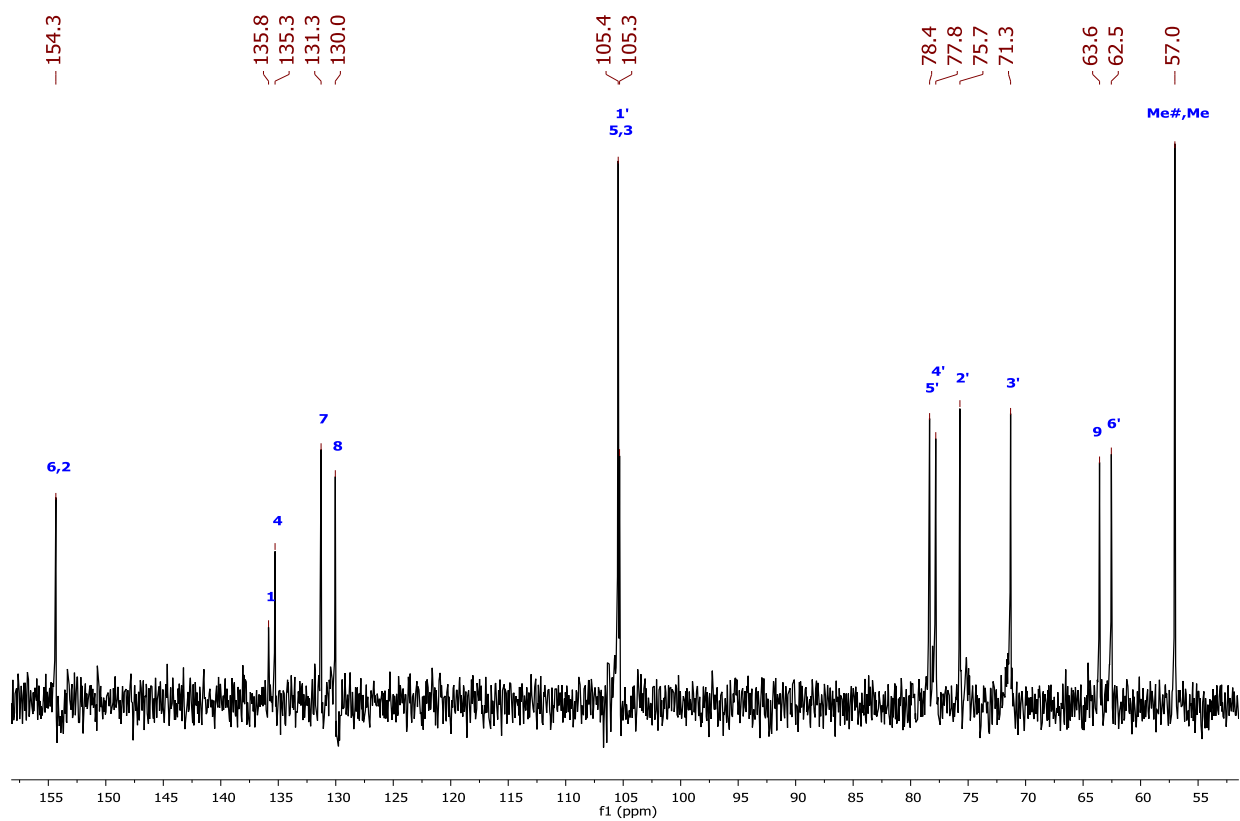


Figura B- 6: Espectro de RMN-¹³C [100 MHz, CD₃OD] de *E*-siringina (3).

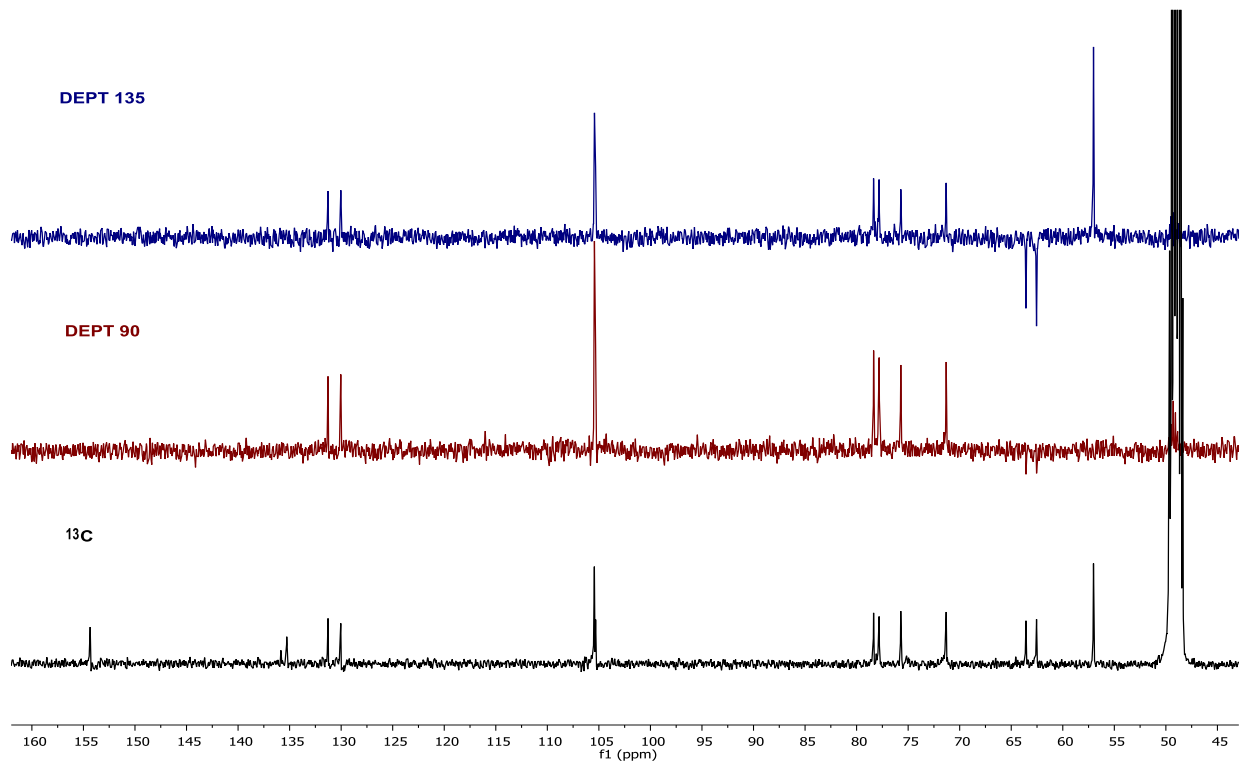


Figura B- 7: Apilado de espectros de ¹³C, DEPT 135 y 90 de *E*-siringina (3).

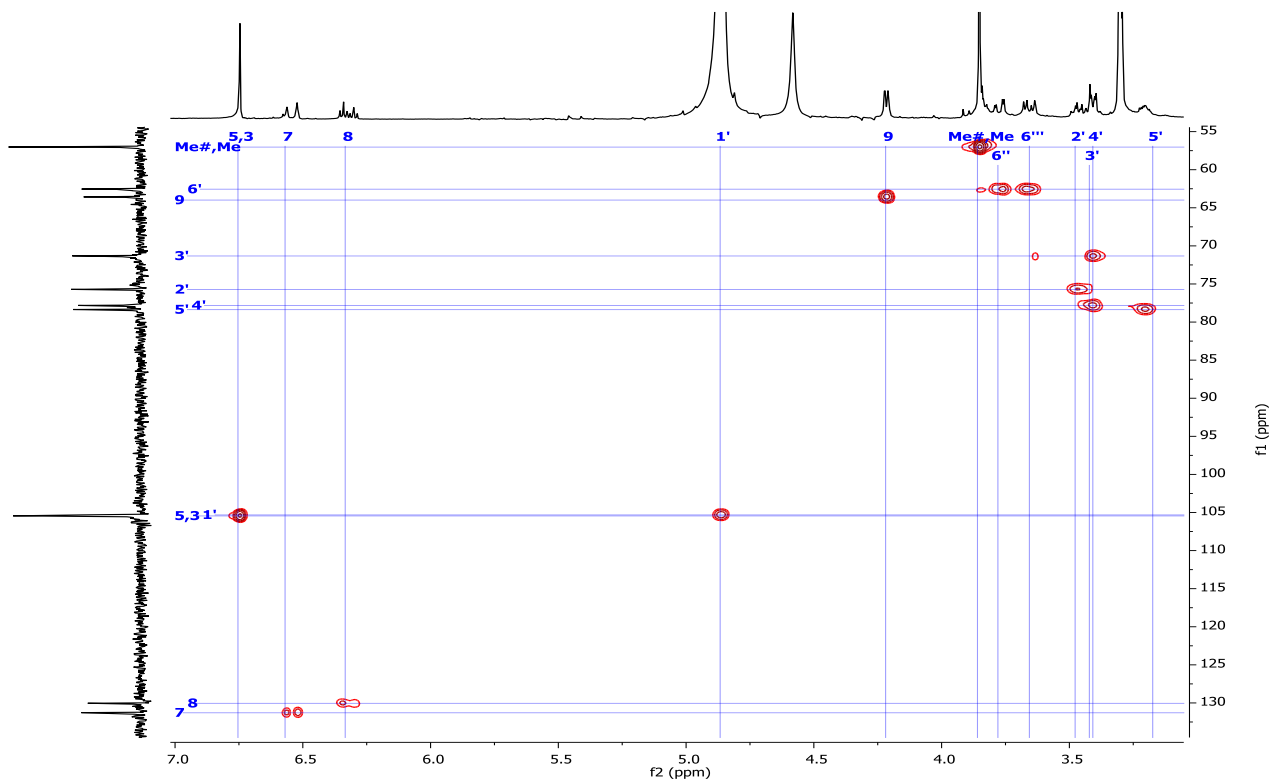


Figura B- 19: Espectro HSQC de *E*-siringina (3).

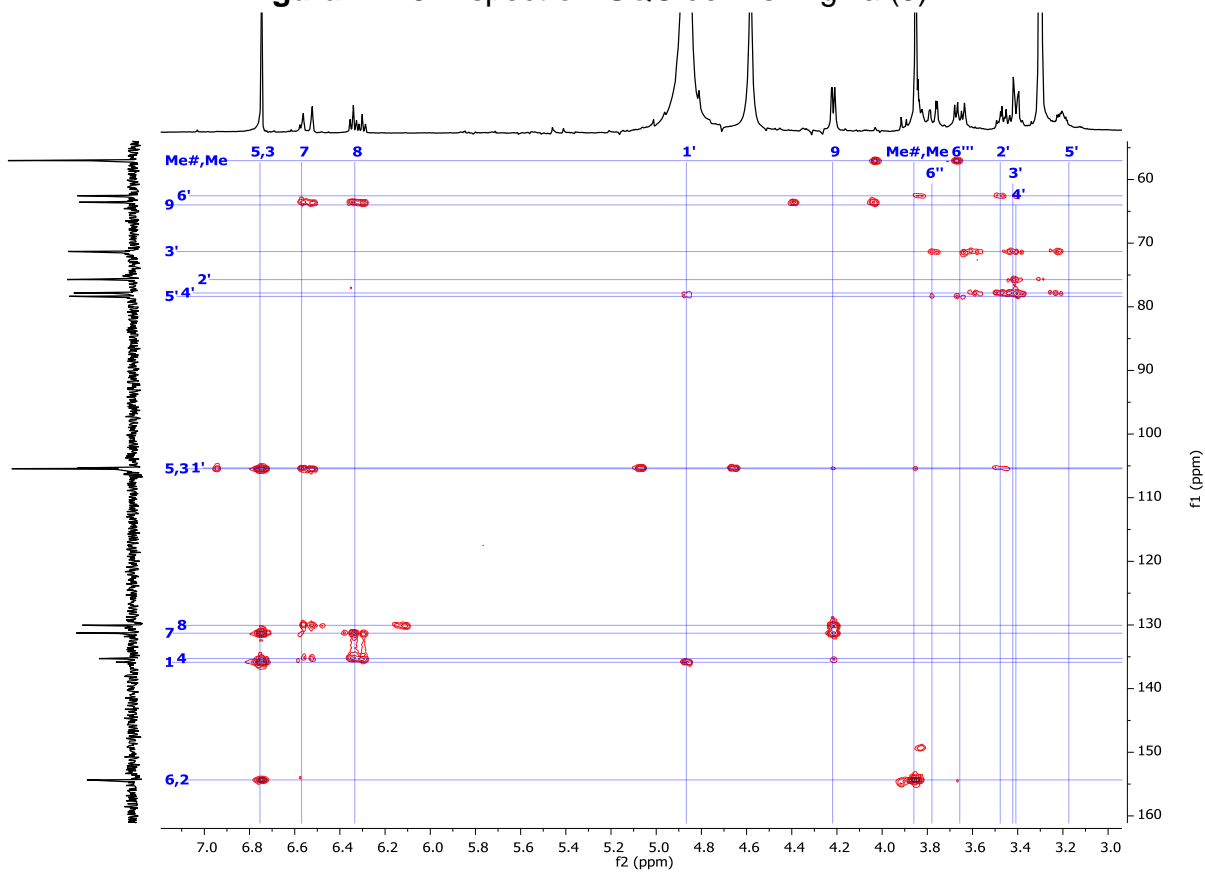


Figura B- 8: Espectro HMBC de *E*-siringina (3).

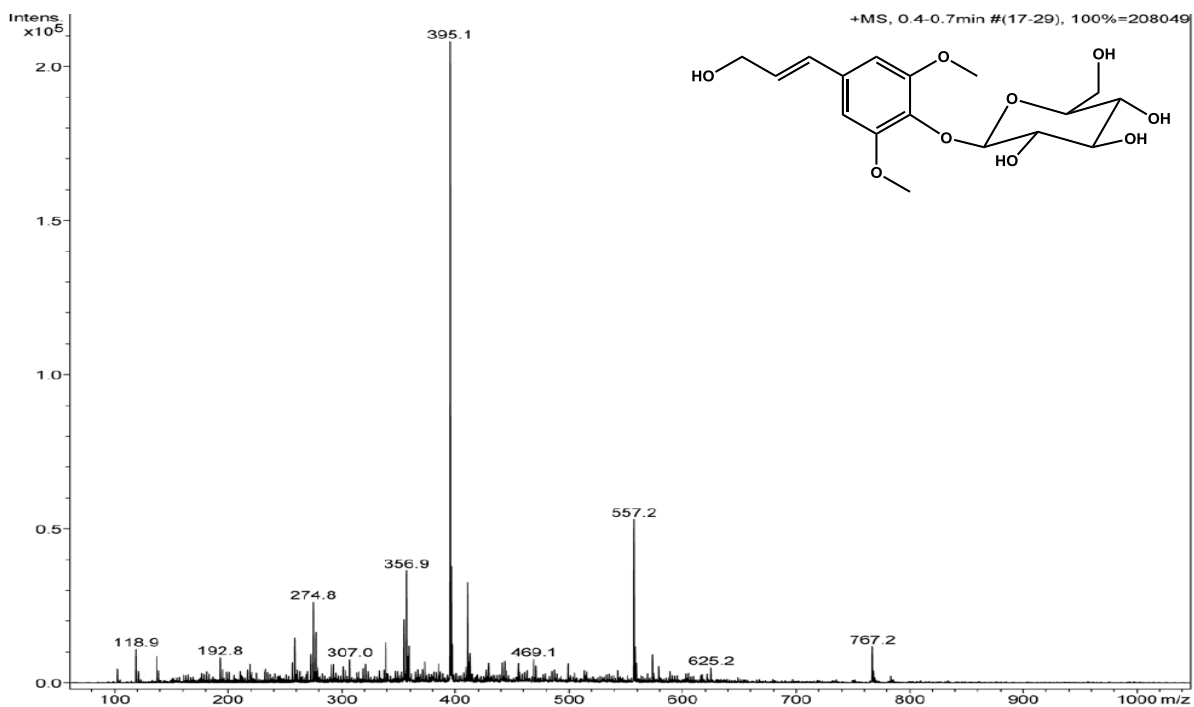


Figura B- 9: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de *E*-siringina (3).

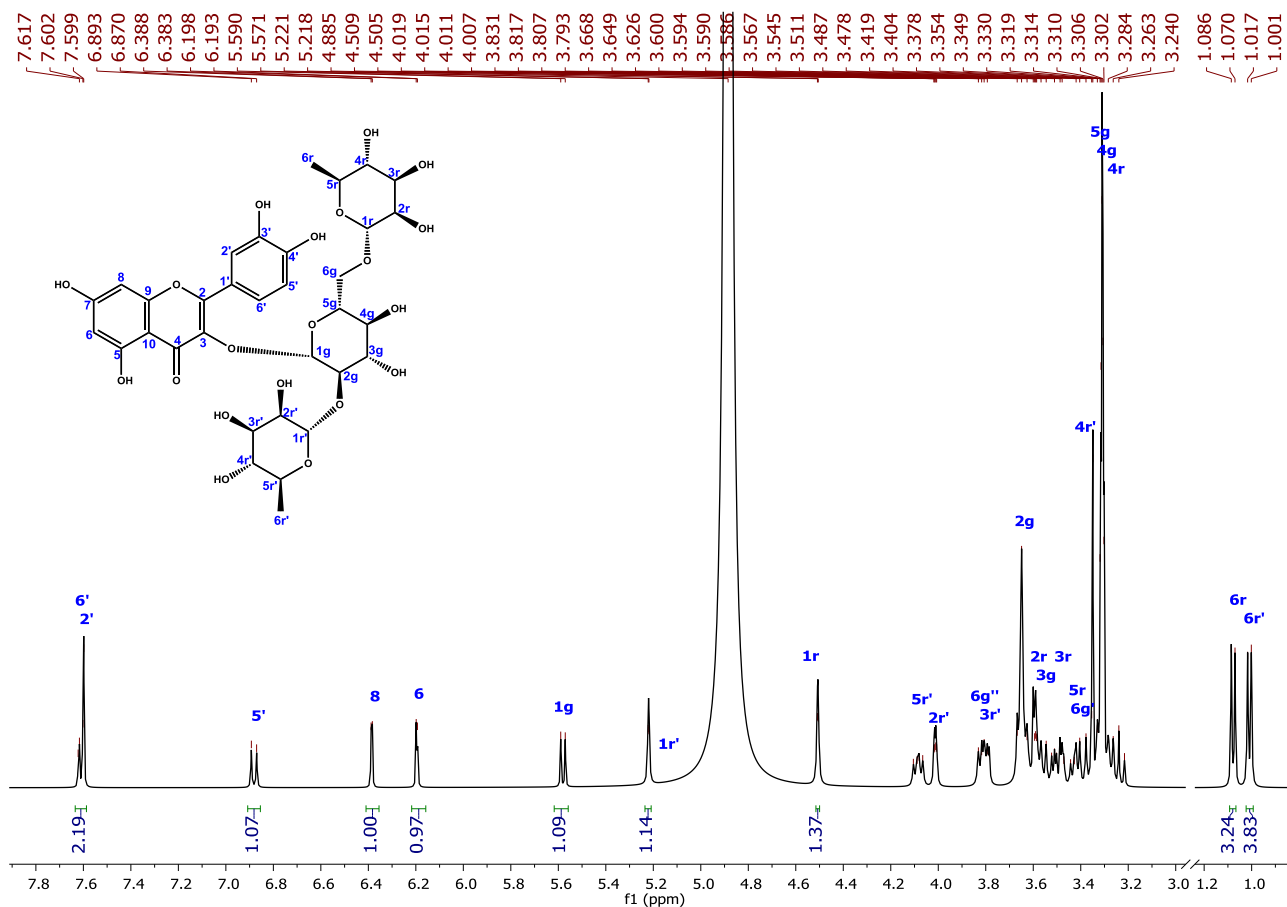


Figura B- 10: Espectro de RMN-¹H [400 MHz, CD₃OD] de manghaslina (4).

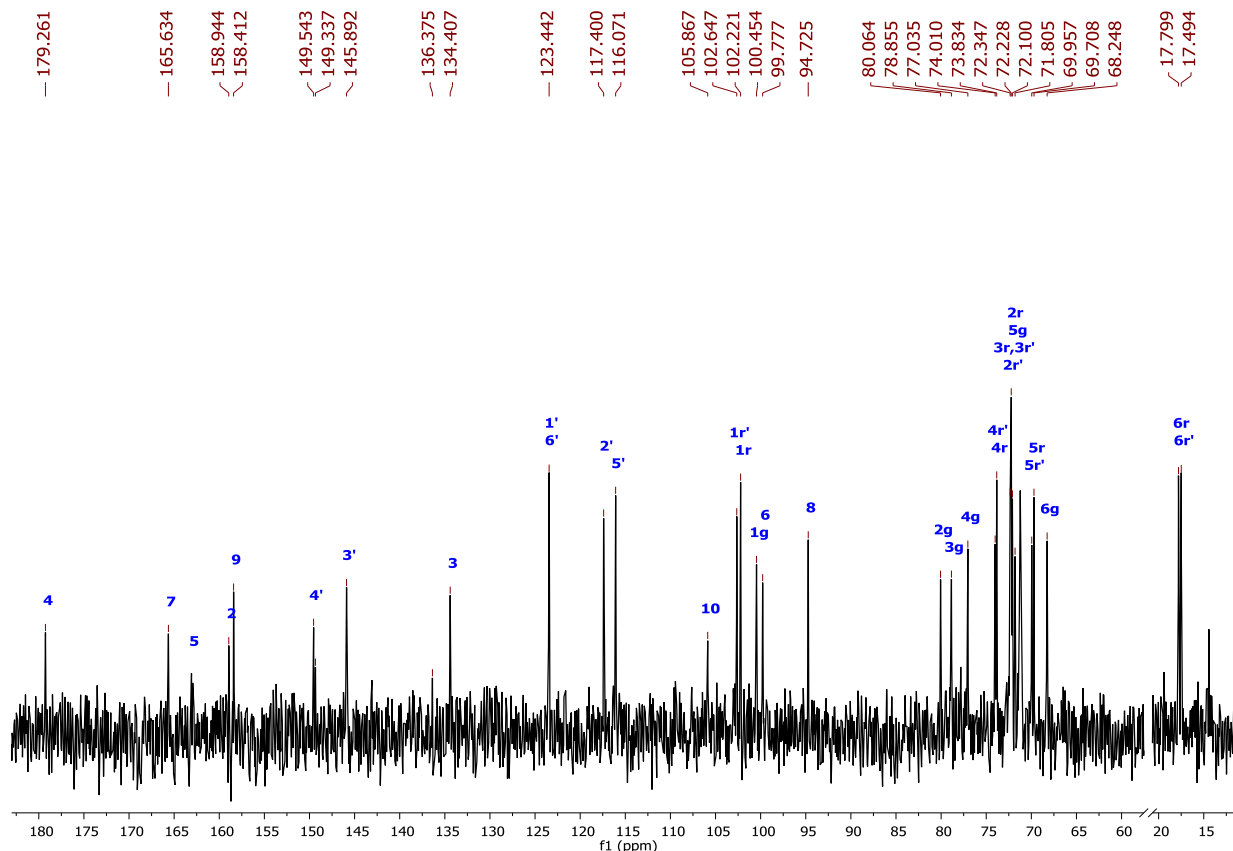


Figura B- 11: Espectro de RMN- ^{13}C [100 MHz, CD_3OD] de manghaslina (4).

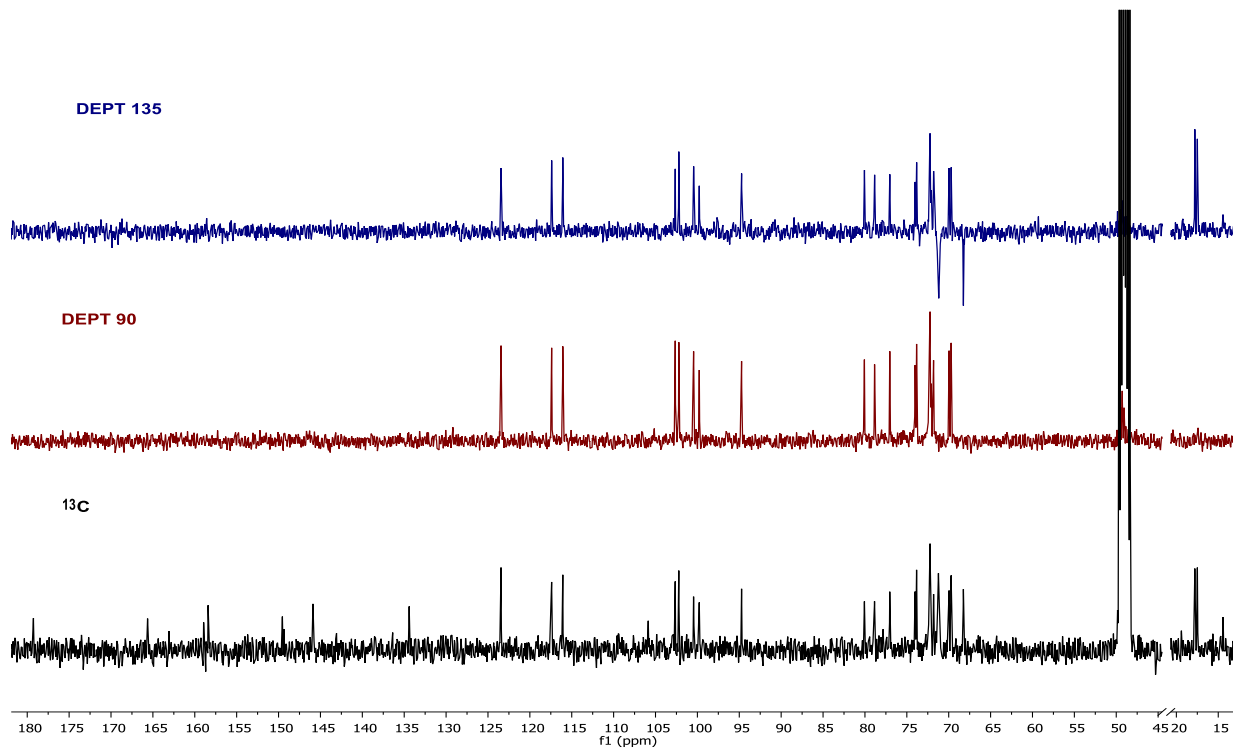


Figura B- 12: Apilado de espectros de ^{13}C , DEPT 135 y 90 de manghaslina (4).

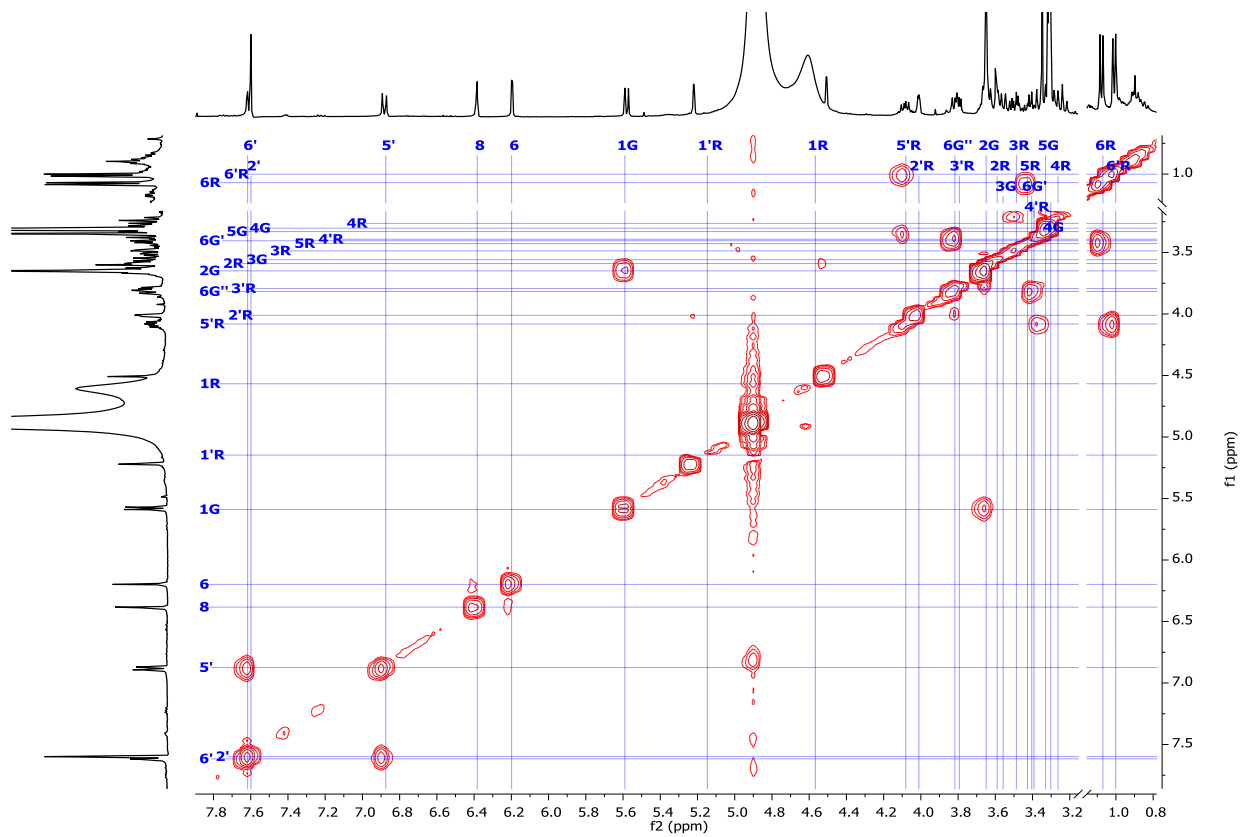


Figura B- 13: Espectro COSY de manghaslina (4).

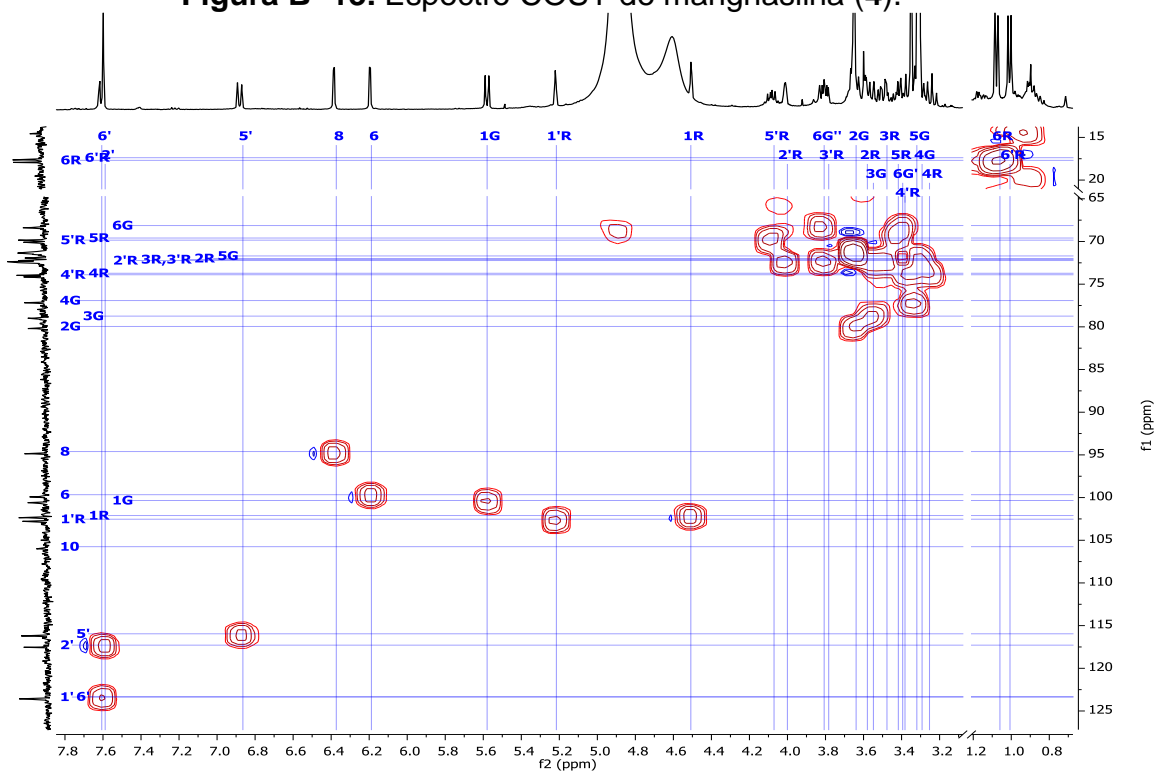


Figura B- 14: Espectro HSQC de manghaslina (4).

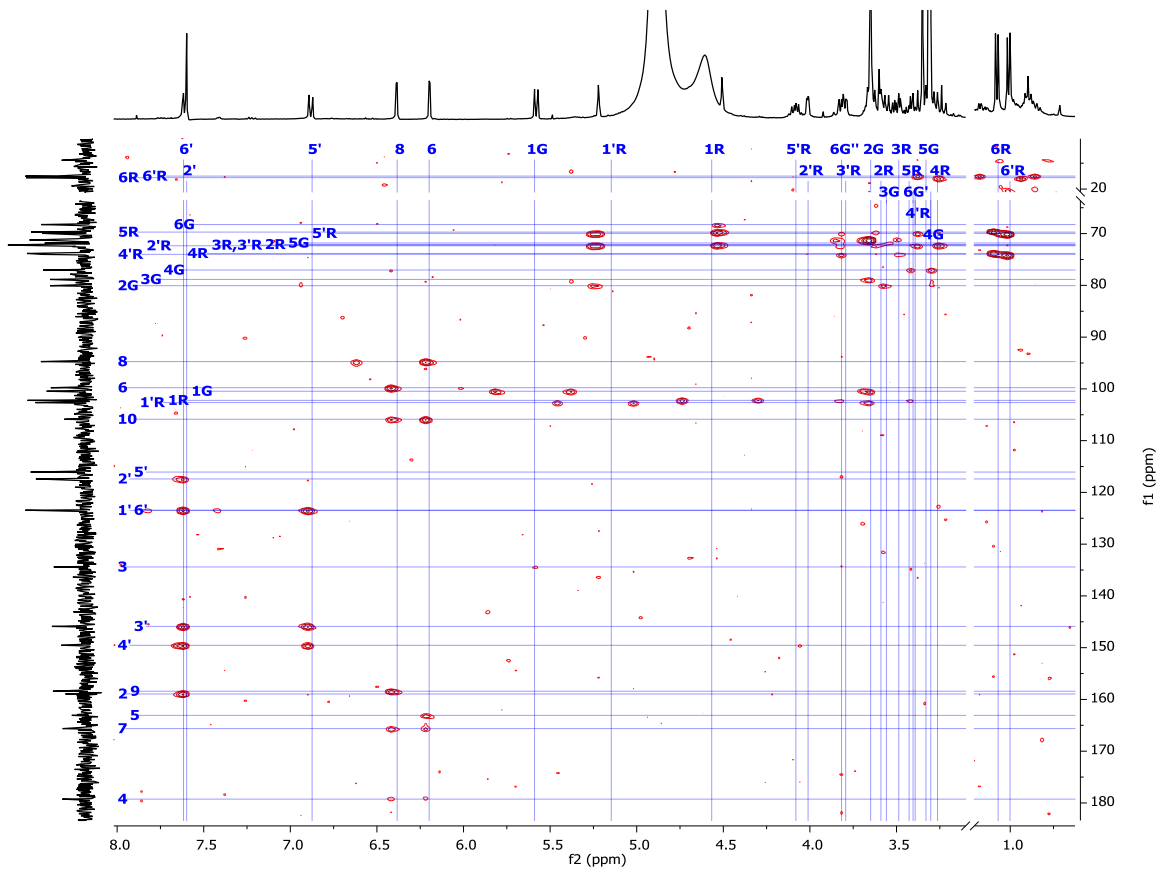


Figura B- 15: Espectro HMBC de manghaslina (4).

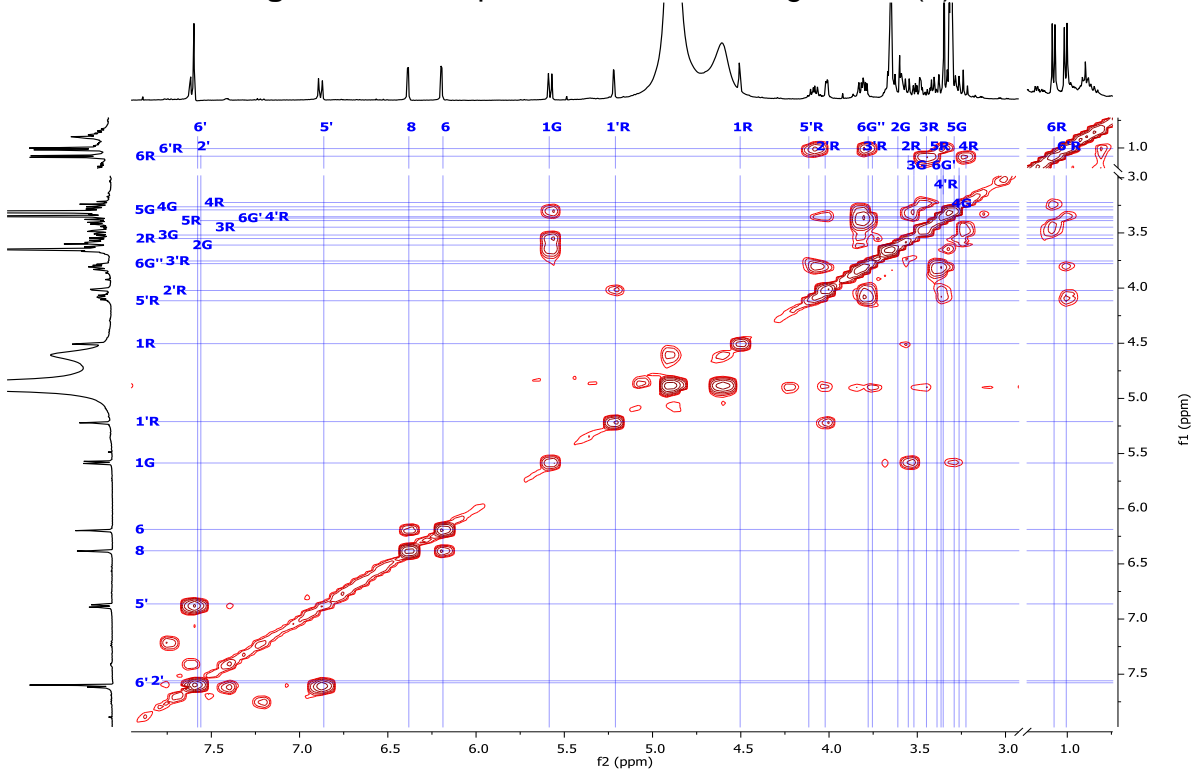


Figura B- 16: Espectro TOCSY de manghaslina (4).

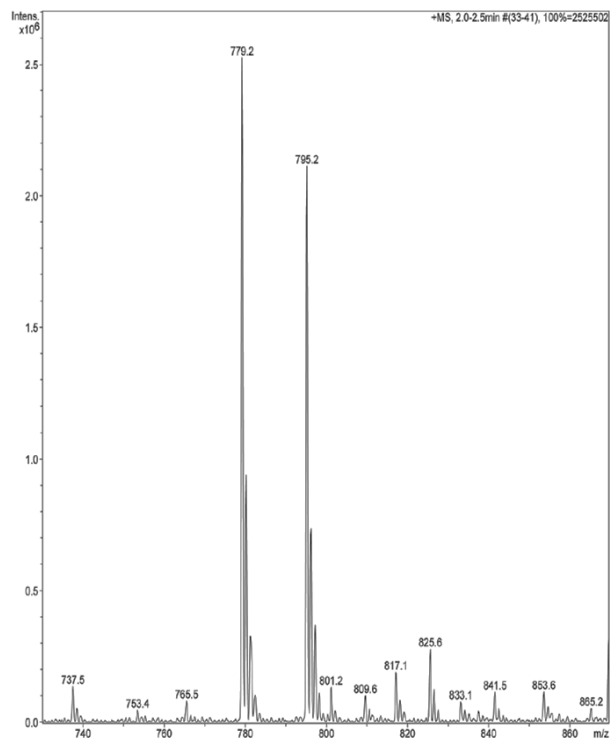
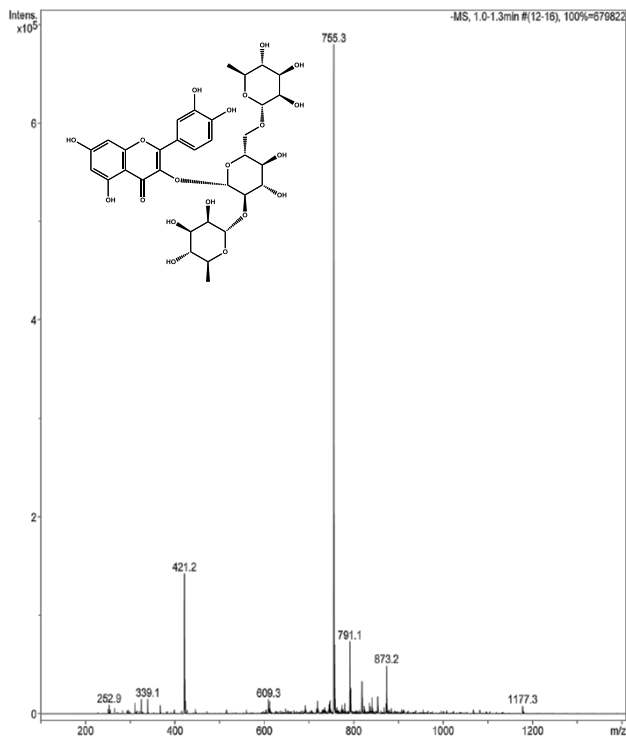


Figura B- 29: Espectros de masas [EM-ESI] y [EM-ESI⁺] de manghaslina (4).

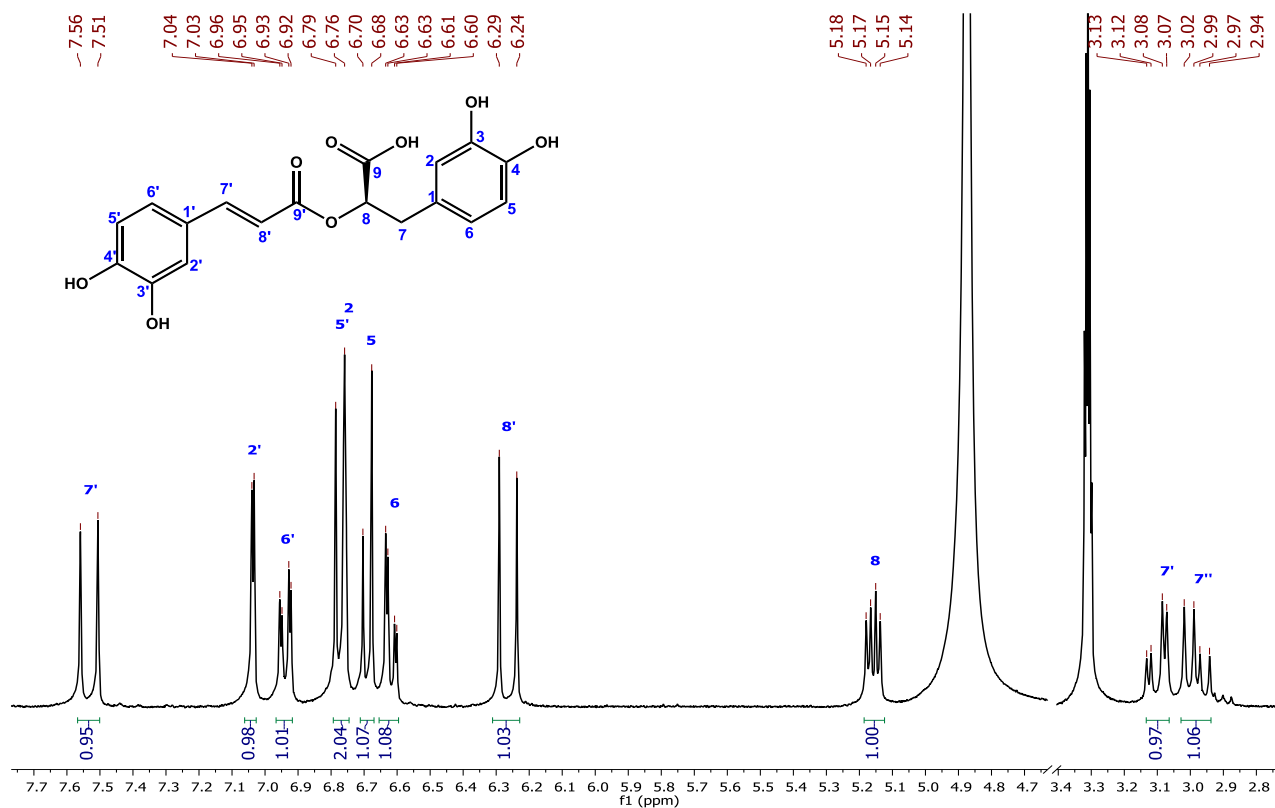


Figura B- 30: Espectro de RMN-¹H [300 MHz, CD₃OD] de ácido rosmarínico (5).

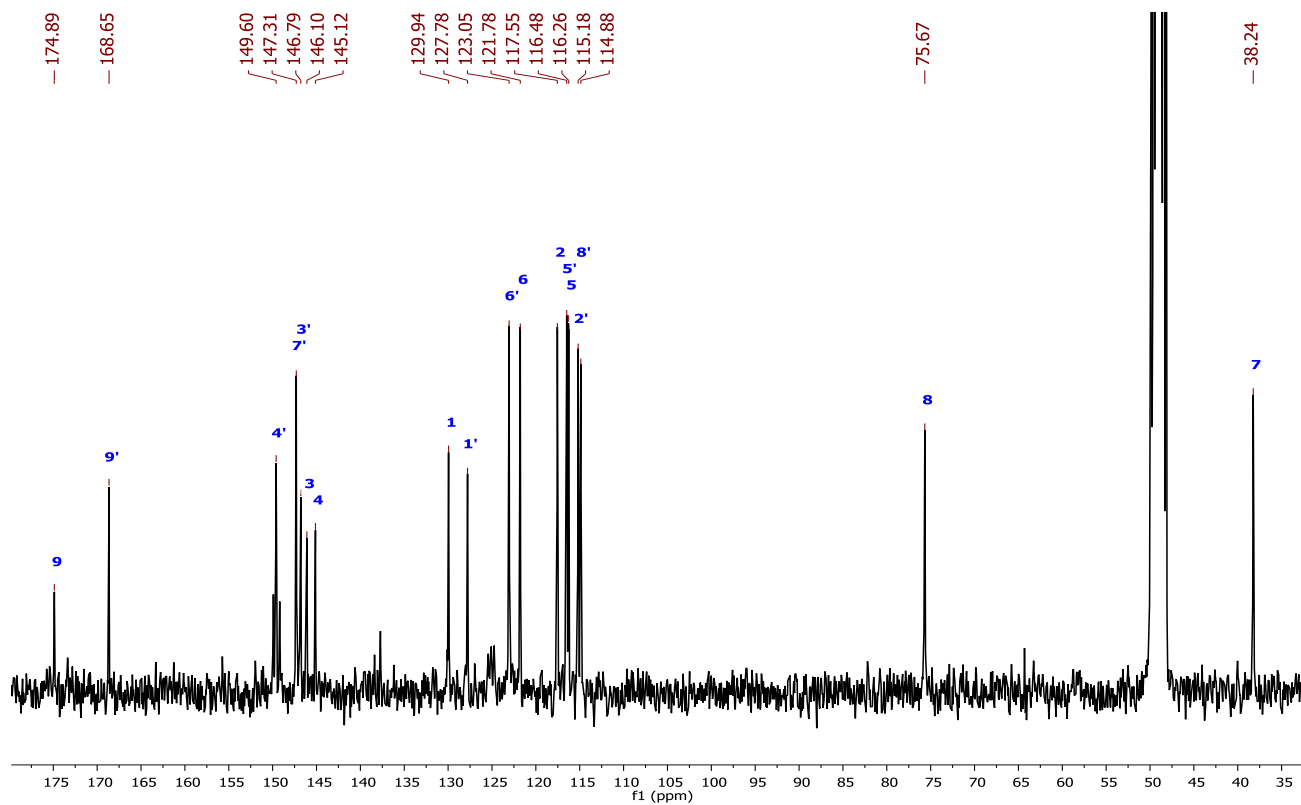


Figura B- 31: Espectro de RMN- ^{13}C [75 MHz, CD_3OD] de ácido rosmarínico (5).

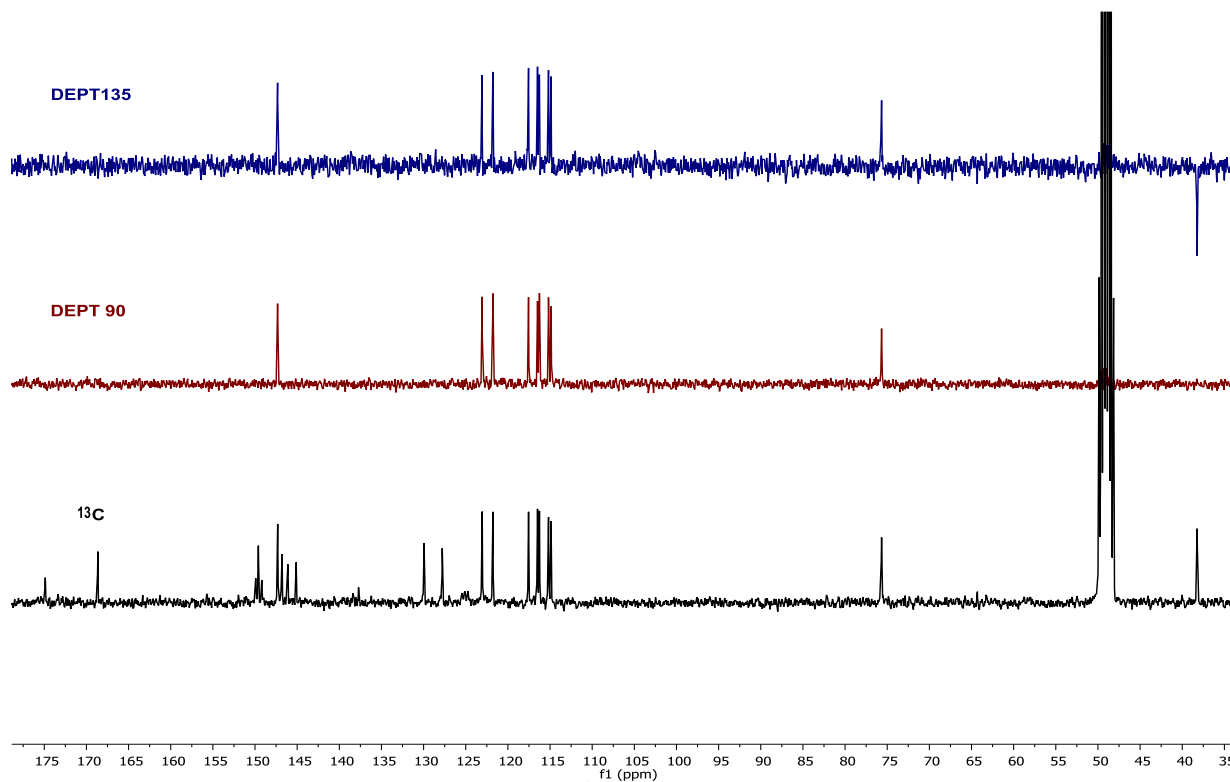


Figura B- 32: Apilado de espectros de ^{13}C , DEPT 135 y 90 de ácido rosmarínico (5).

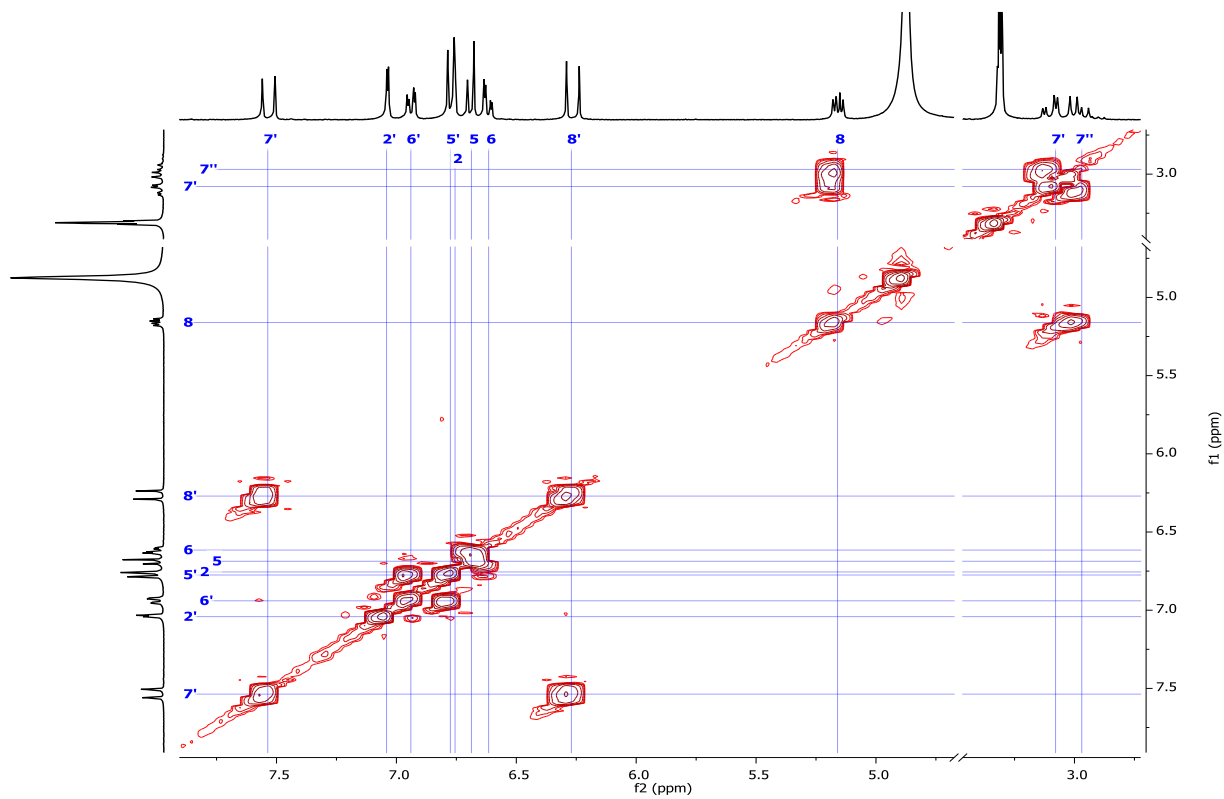


Figura B- 33: Espectro COSY de ácido rosmarínico (5).

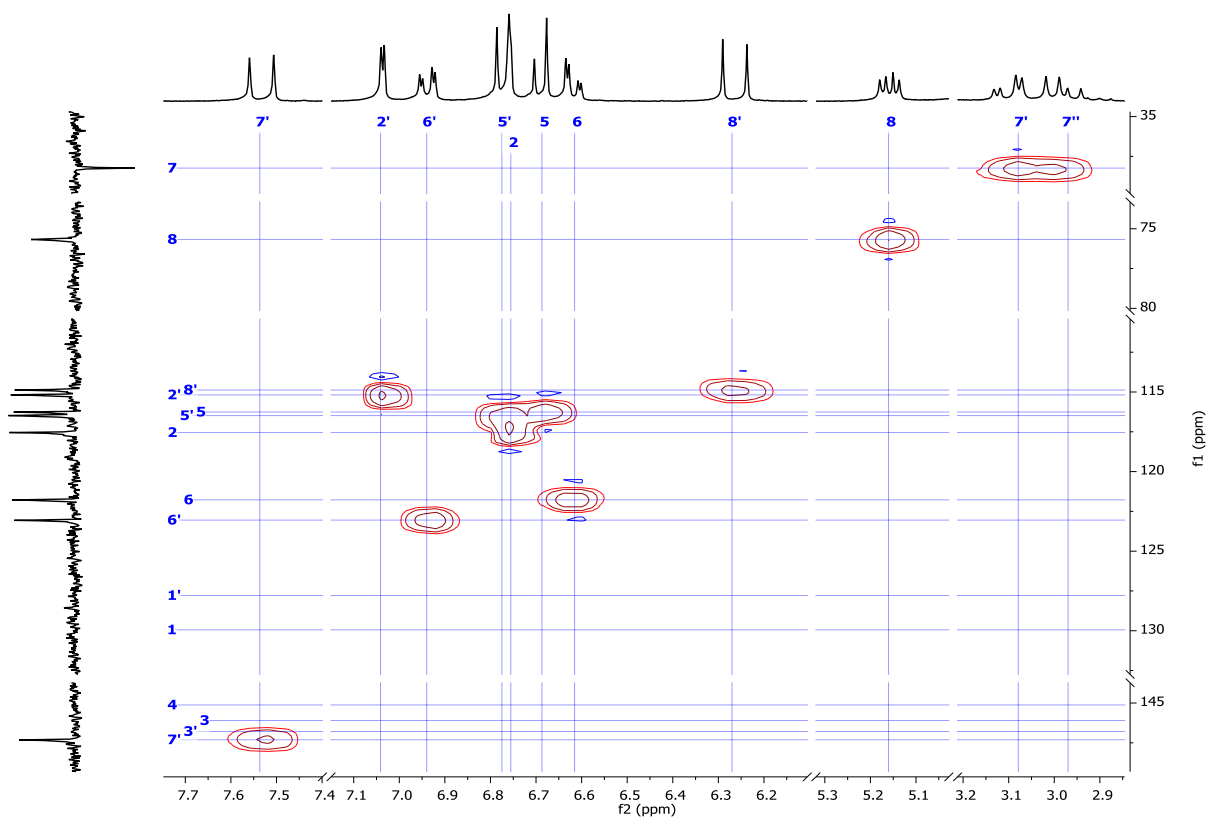


Figura B- 34: Espectro HSQC de ácido rosmarínico (5).

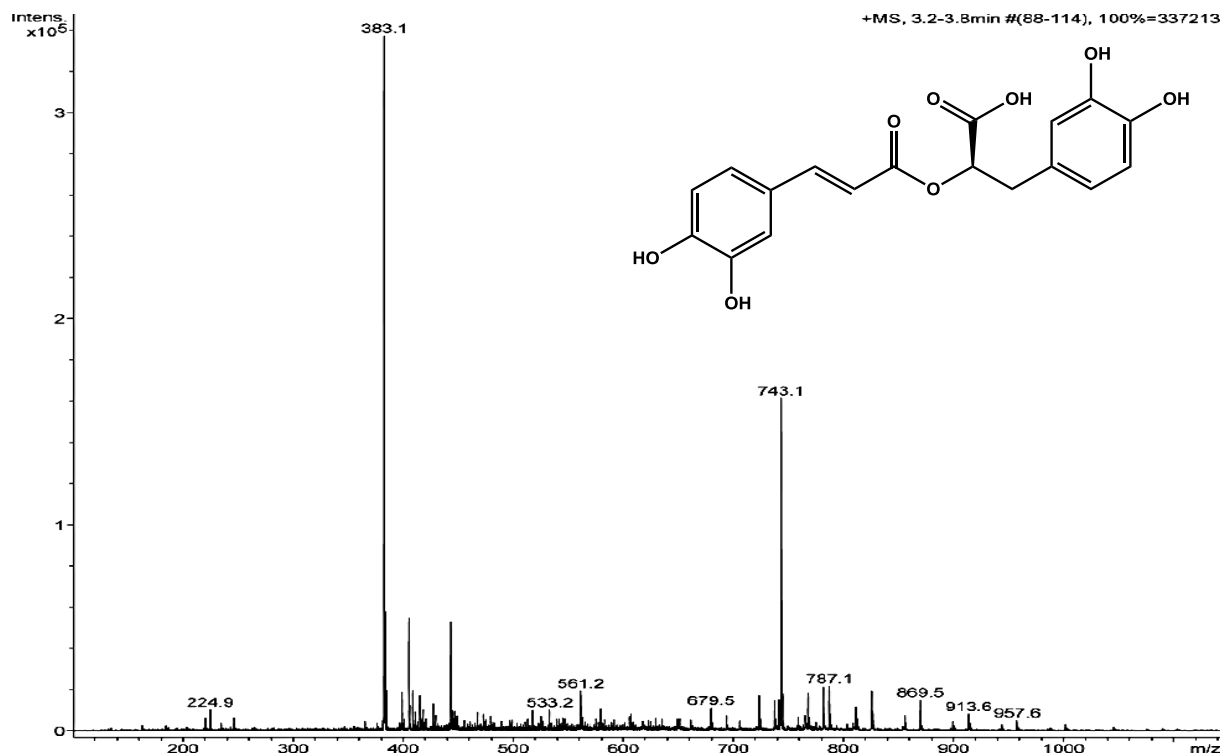


Figura B- 35: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de ácido rosmarínico (5).



INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

POLARIMETRÍA

Muestra: <u>RA-a.rosmarinico</u>	Investigador : <u>Dr. L. Quijano</u>
Disolvente: <u>MeOH</u>	
Concentración: <u>2.2</u> mg/2 mL	α : <u>+0.029</u> a 589 nm (Na)
Longitud de celda: <u>1</u> dm	
Tiempo de Integración: <u>5</u> s	
Observaciones: _____	Operador: <u>Rocío Patiño Maya</u>
_____	No. de registro: <u>1185</u>
_____	Fecha: <u>27/06/2017</u>

Figura B- 36: Dato polarimétrico [RO, MeOH] de ácido rosmarínico (5).

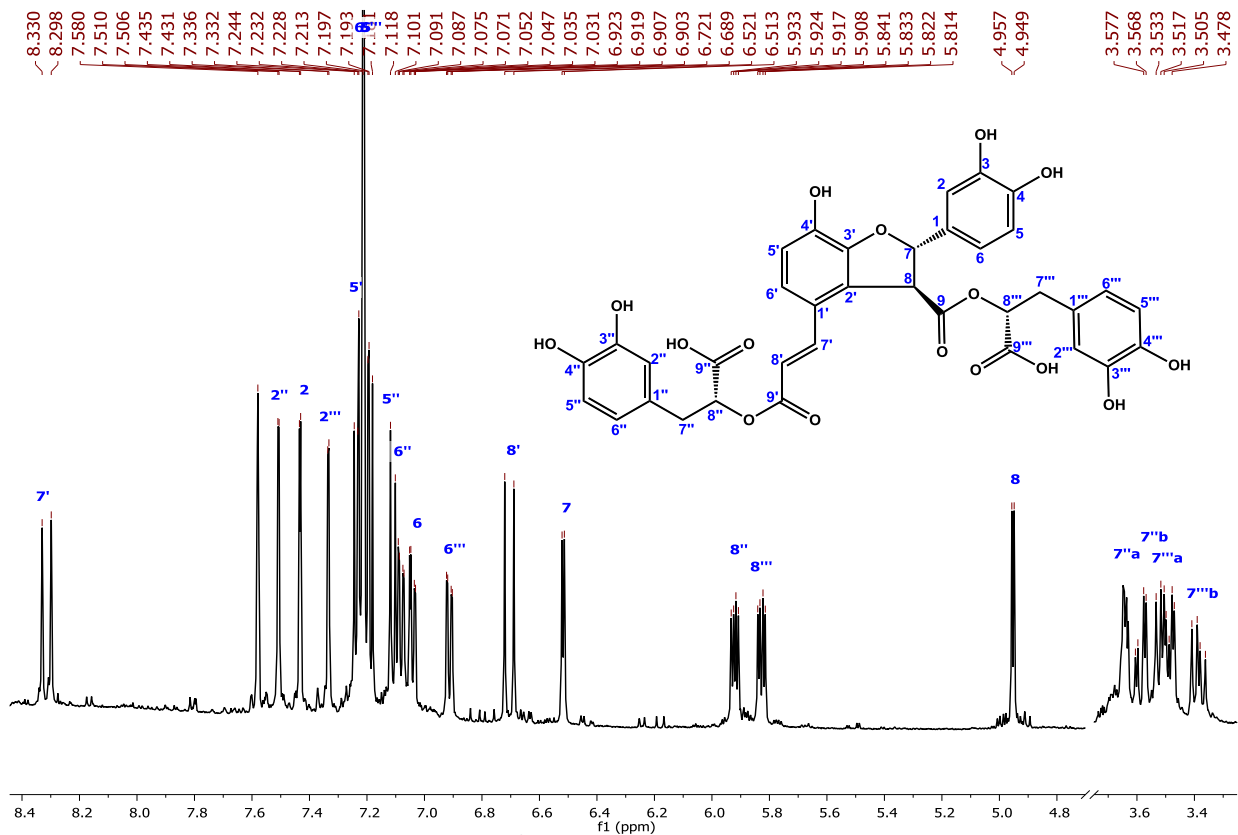


Figura B- 37: Espectro de RMN-¹H [500 MHz, C₅D₅N] de ácido salvianólico B (6)

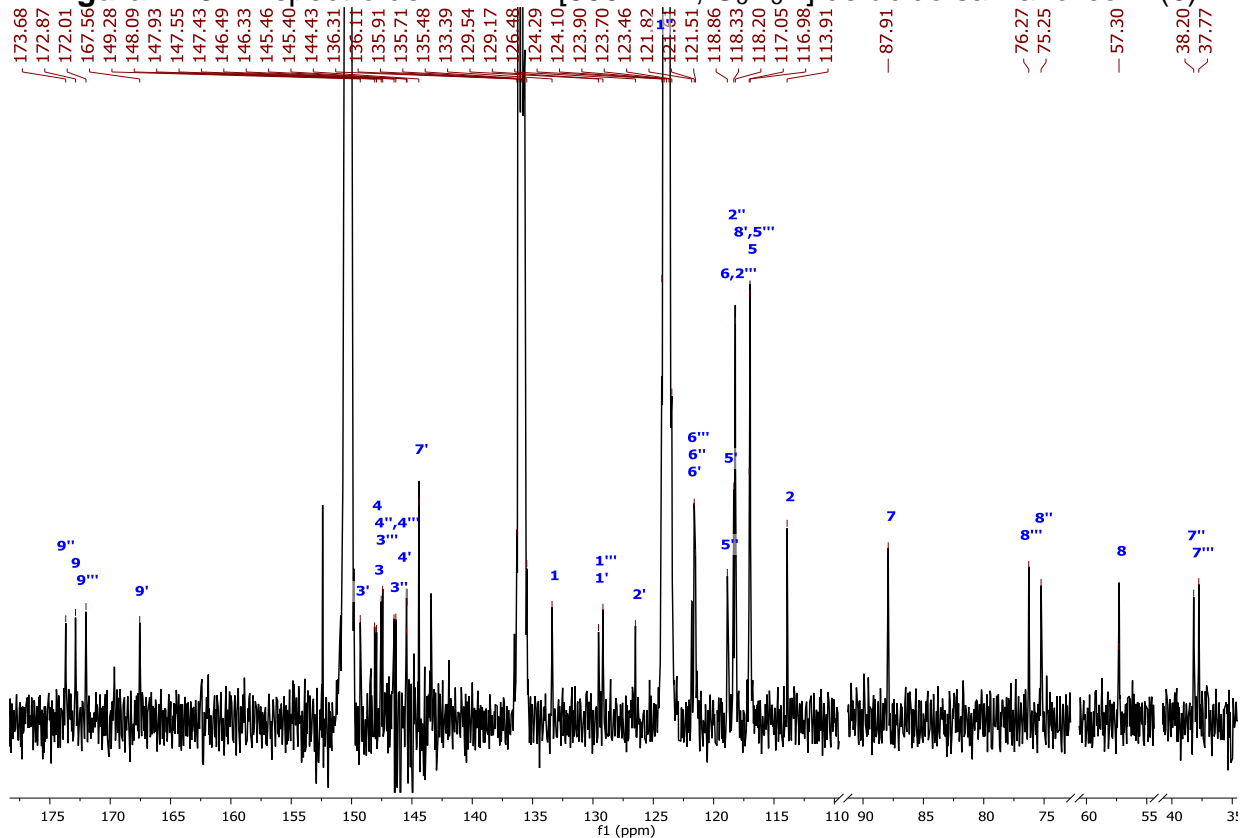


Figura B- 38: Espectro de RMN-¹³C [125 MHz, C₅D₅N] de ácido salvianólico B (6).

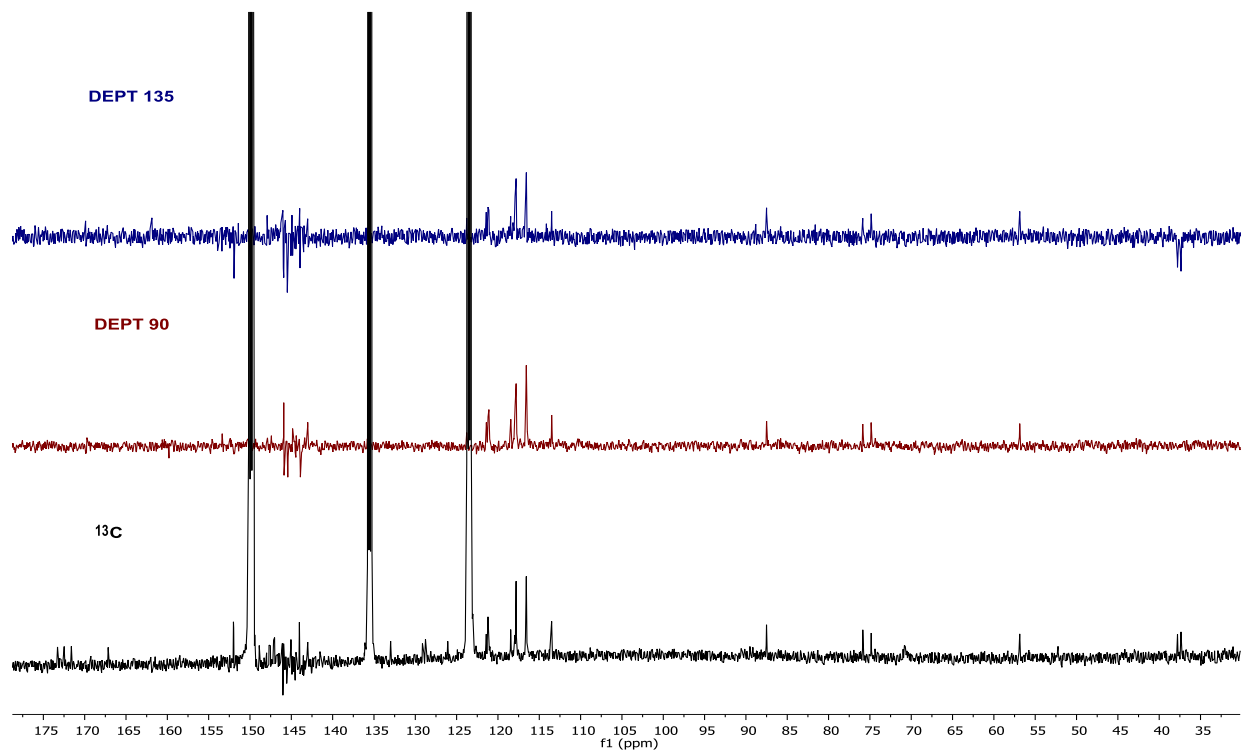


Figura B- 39: Apilado de espectros de ^{13}C , DEPT 135 y 90 de ácido salviánico B (6).

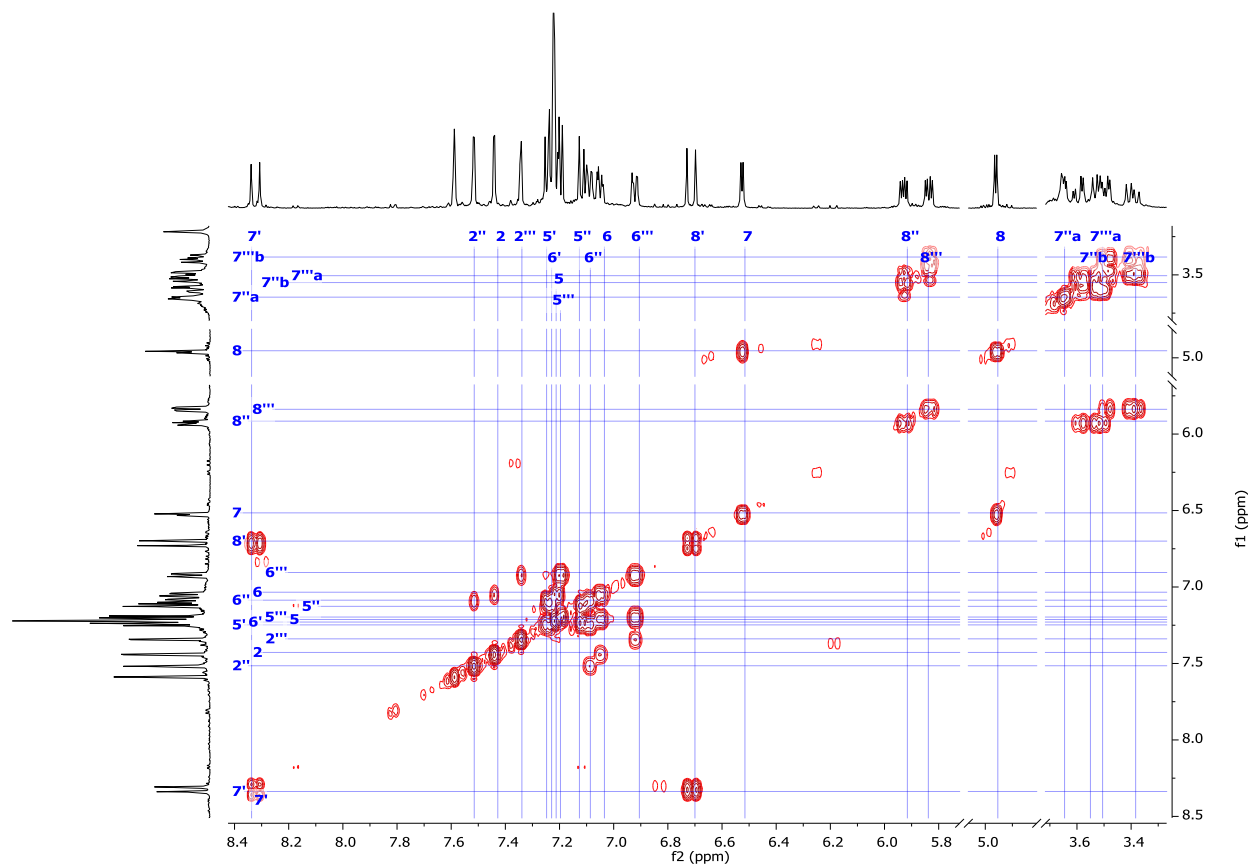


Figura B- 40: Espectro COSY de ácido salviánico B (6).

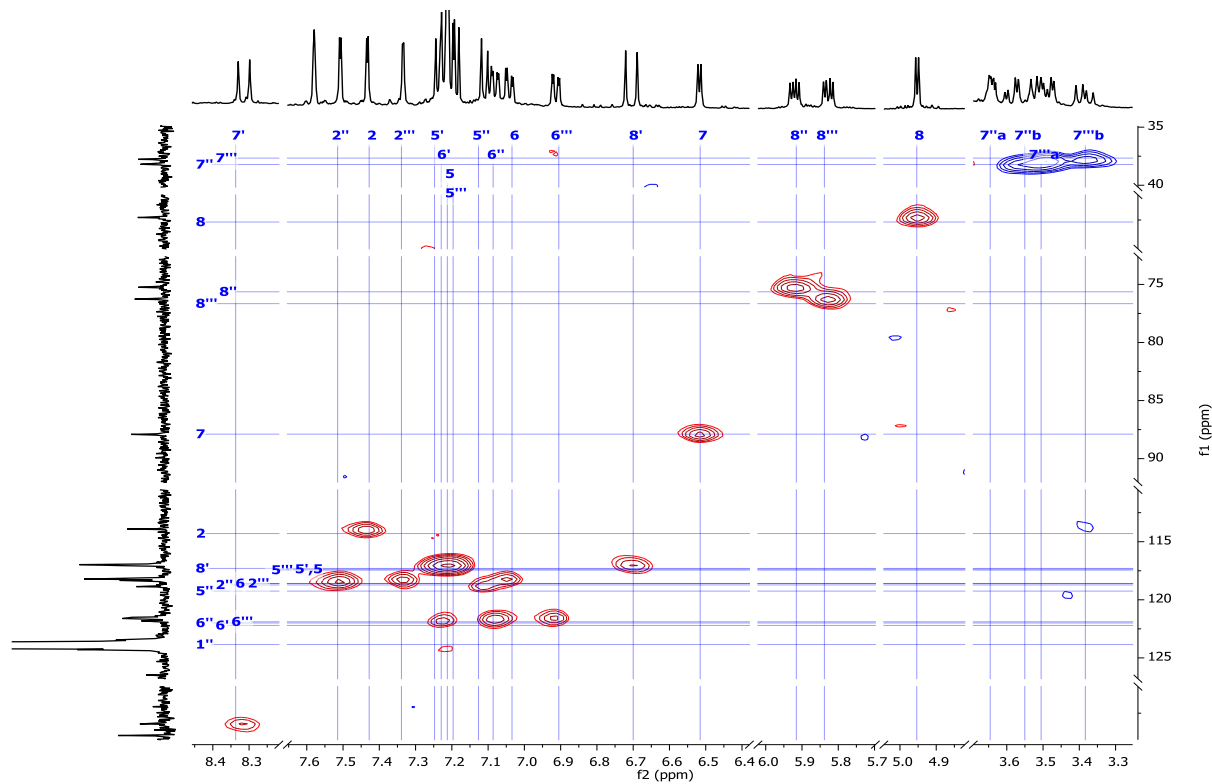


Figura B- 41: Espectro HSQC-ed de ácido salvanólico B (6).

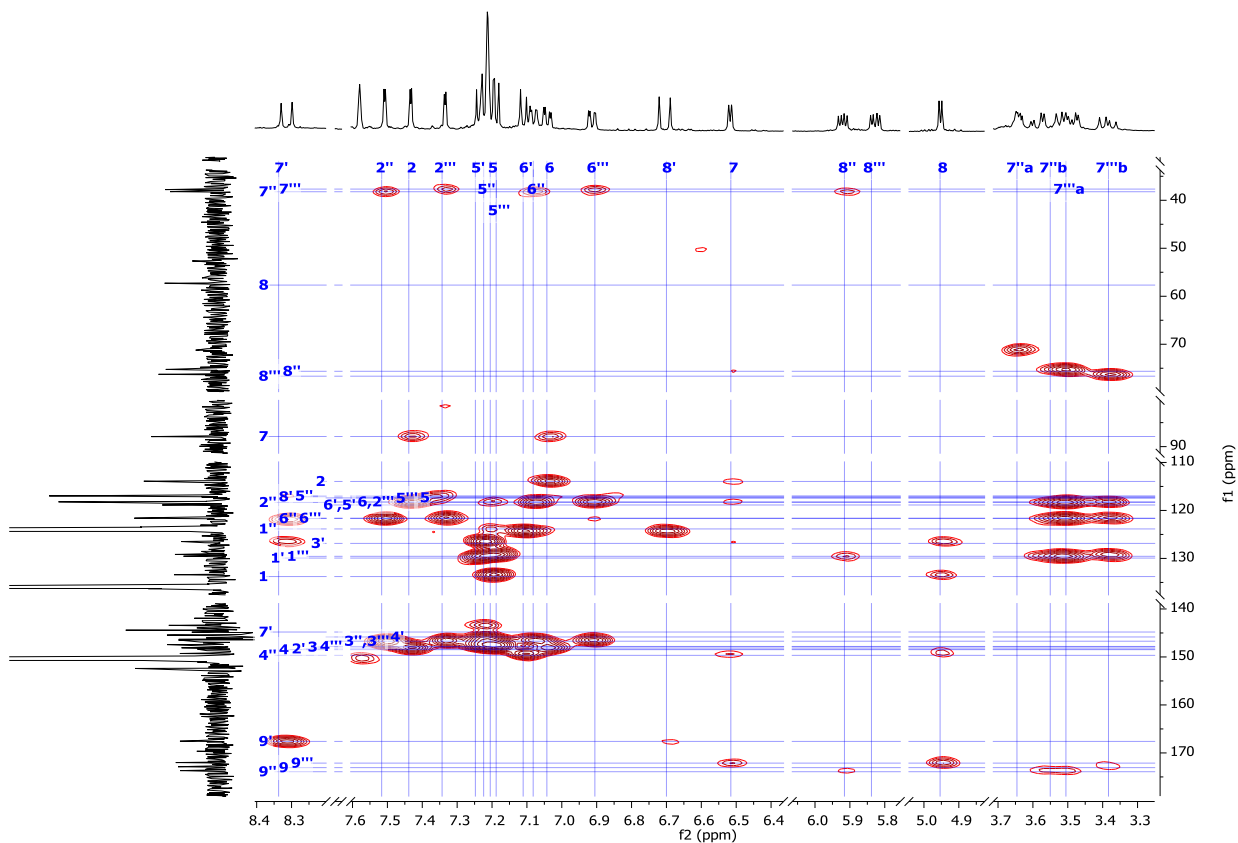


Figura B- 42: Espectro HMBC de ácido salvanólico B (6).

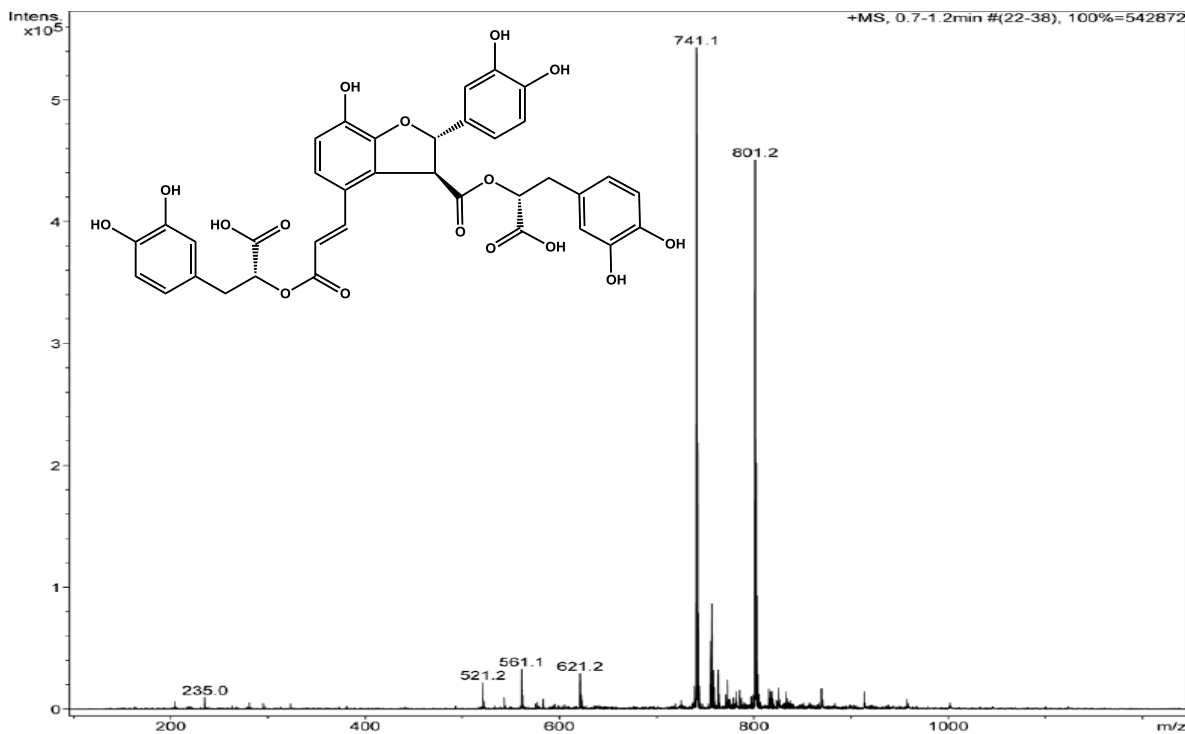


Figura B- 43: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de ácido salvianólico B (6).



INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

POLARIMETRÍA

Muestra: DHa

Investigador : Dr. L. Quijano

Disolvente: MeOH

Concentración: 1.2 mg/mL

Longitud de celda: 1 dm

Tiempo de Integración: 5 s

α : +0.038 a 589 nm (Na)

Observaciones: _____

Operador: Rocío Patiño Maya

No. de registro: 1381

Fecha: 18/06/2015

Figura B- 44: Dato polarimétrico [RO, MeOH] de ácido salvianólico B (6).

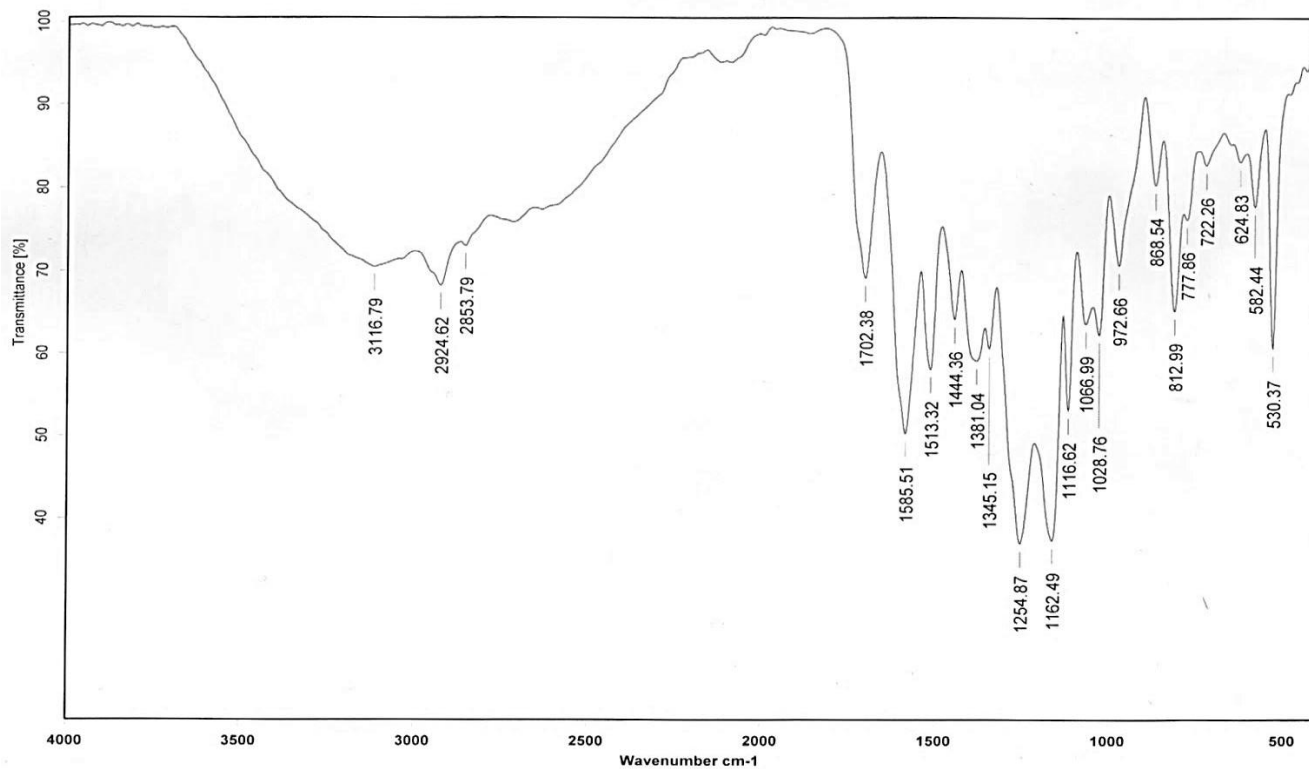


Figura B- 45: Espectro de IR [KBr] de ácido salvanólico B (6).

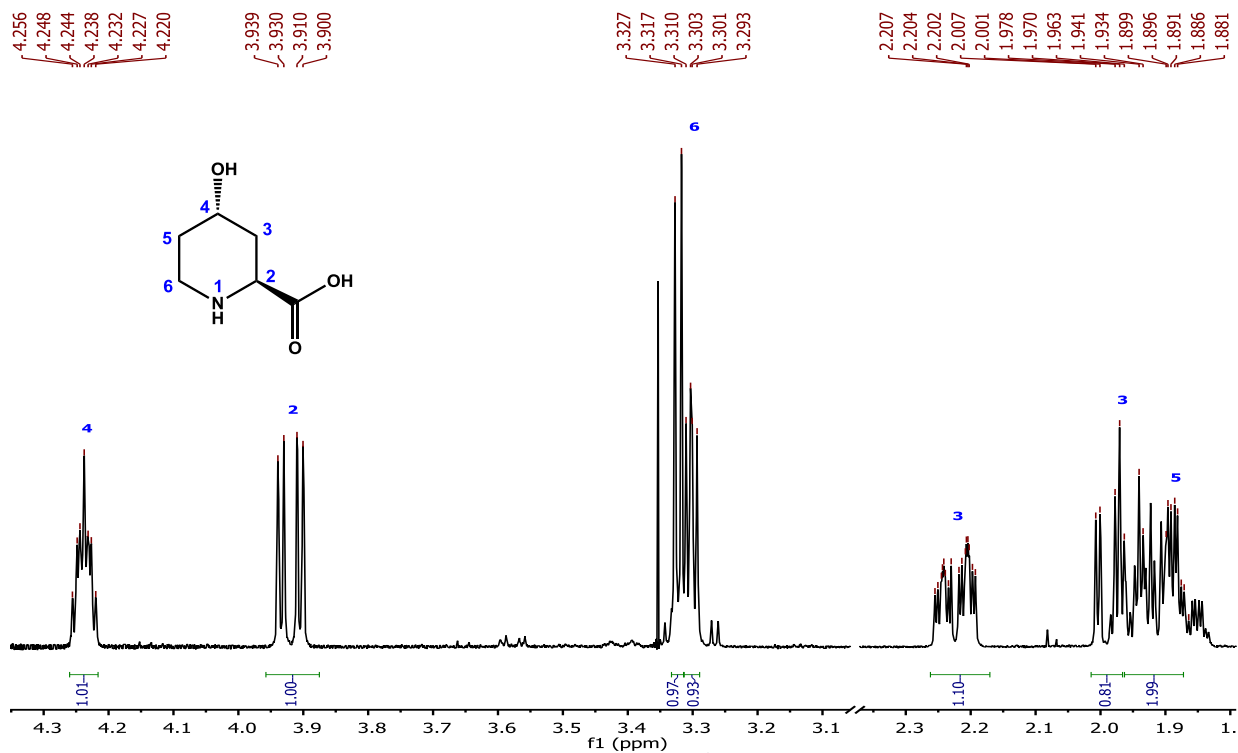


Figura B- 46: Espectro de RMN-¹H [400 MHz, D₂O] de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-piperídico (7).

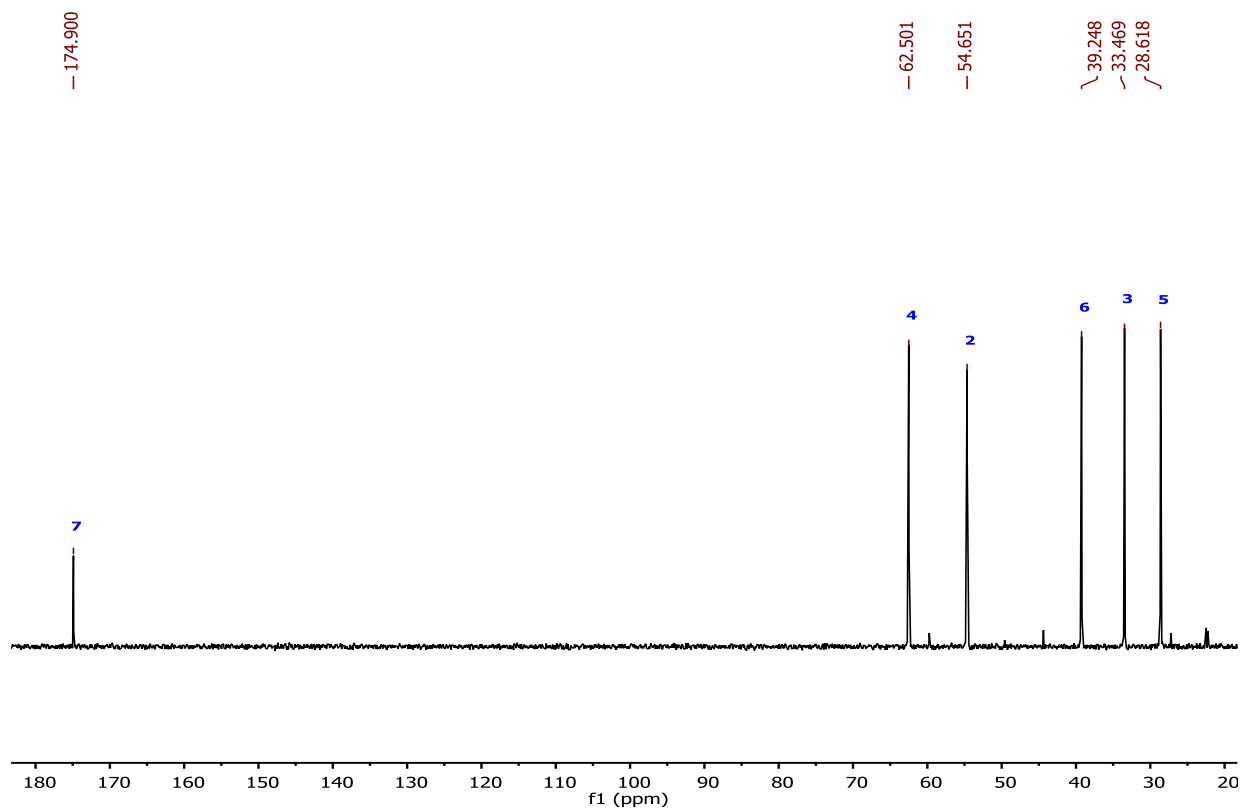


Figura B- 47: Espectro de RMN- ^{13}C [100 MHz, D_2O] de ácido-4-(*S*)-hidroxi-2-(*S*)-piperídico (**7**).

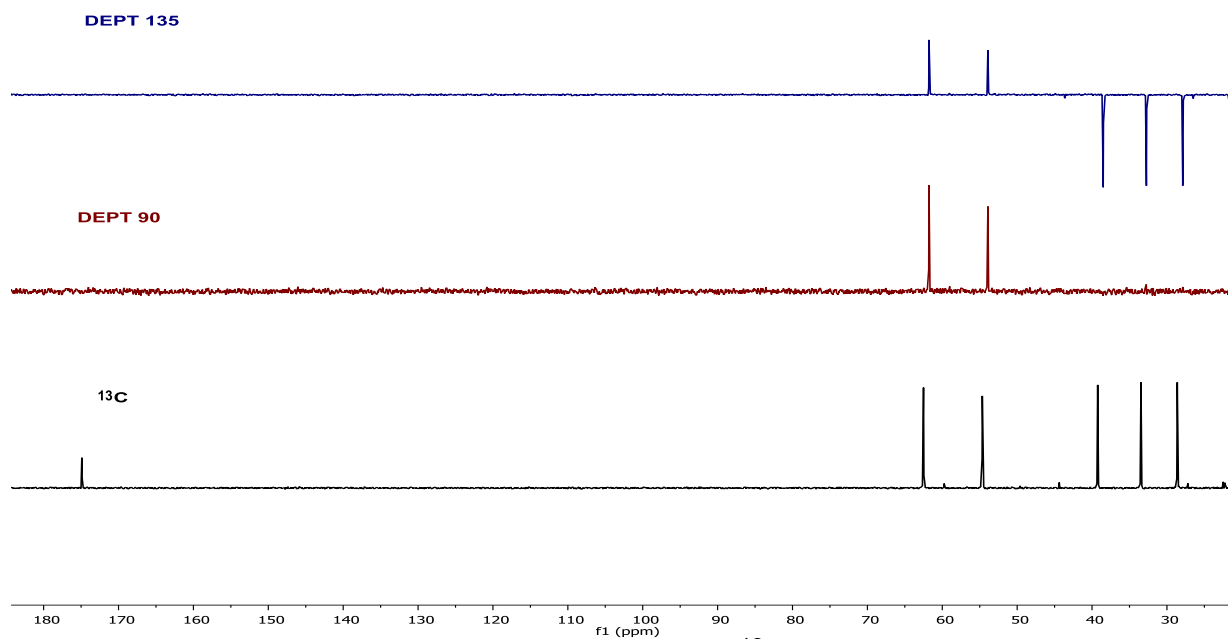


Figura B- 48: Apilado de espectros de ^{13}C , DEPT 135 y 90 de ácido-4-(*S*)-hidroxi-2-(*S*)-piperídico (**7**).

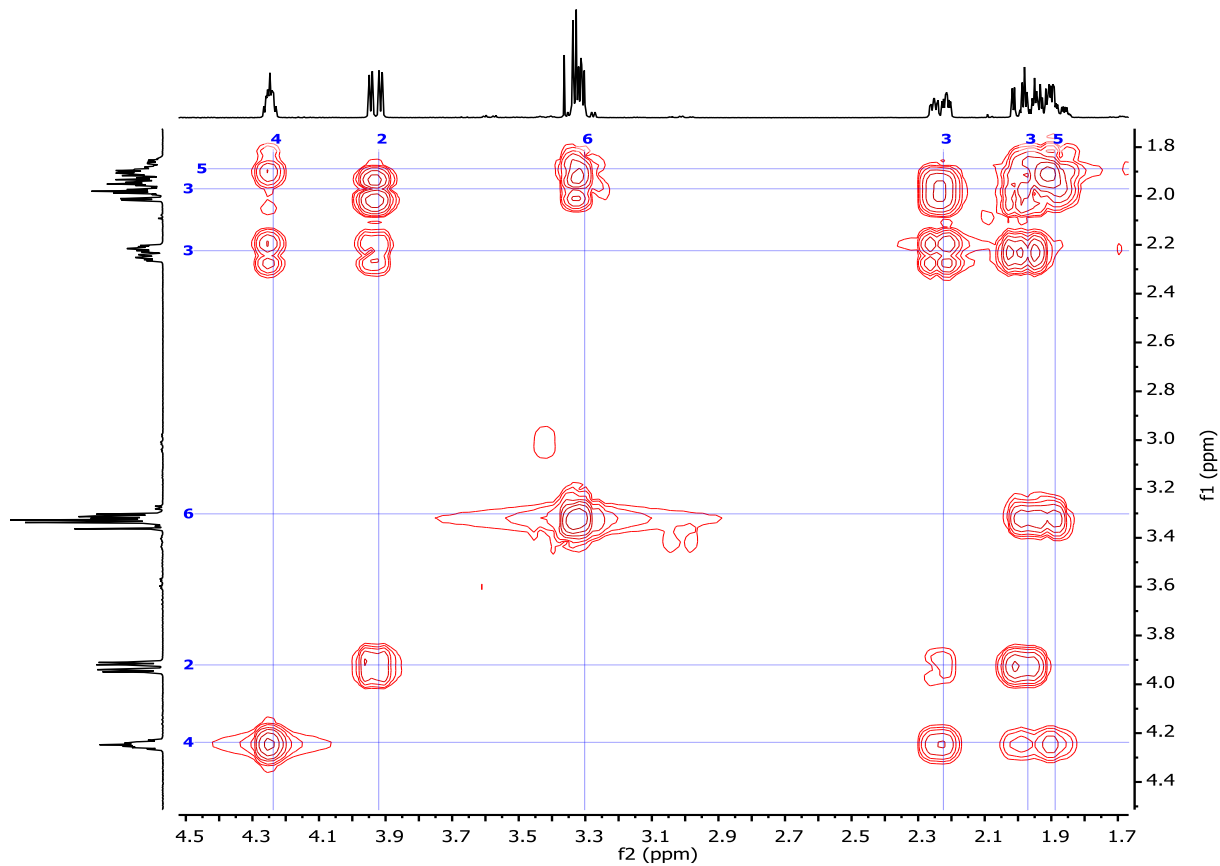


Figura B- 49: Espectro COSY de ácido-4-(*S*)-hidroxi-2-(*S*)-piperidico (7).

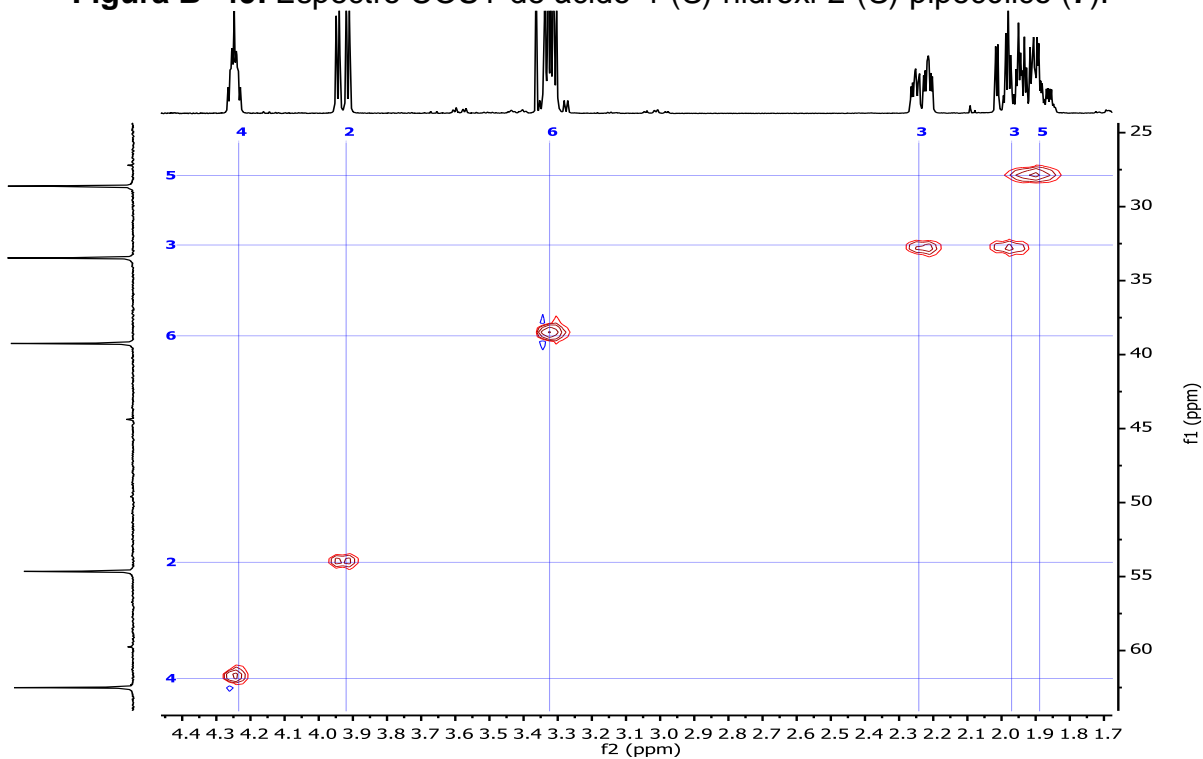


Figura B- 17: Espectro HSQC de ácido-4-(*S*)-hidroxi-2-(*S*)-piperidico (7).

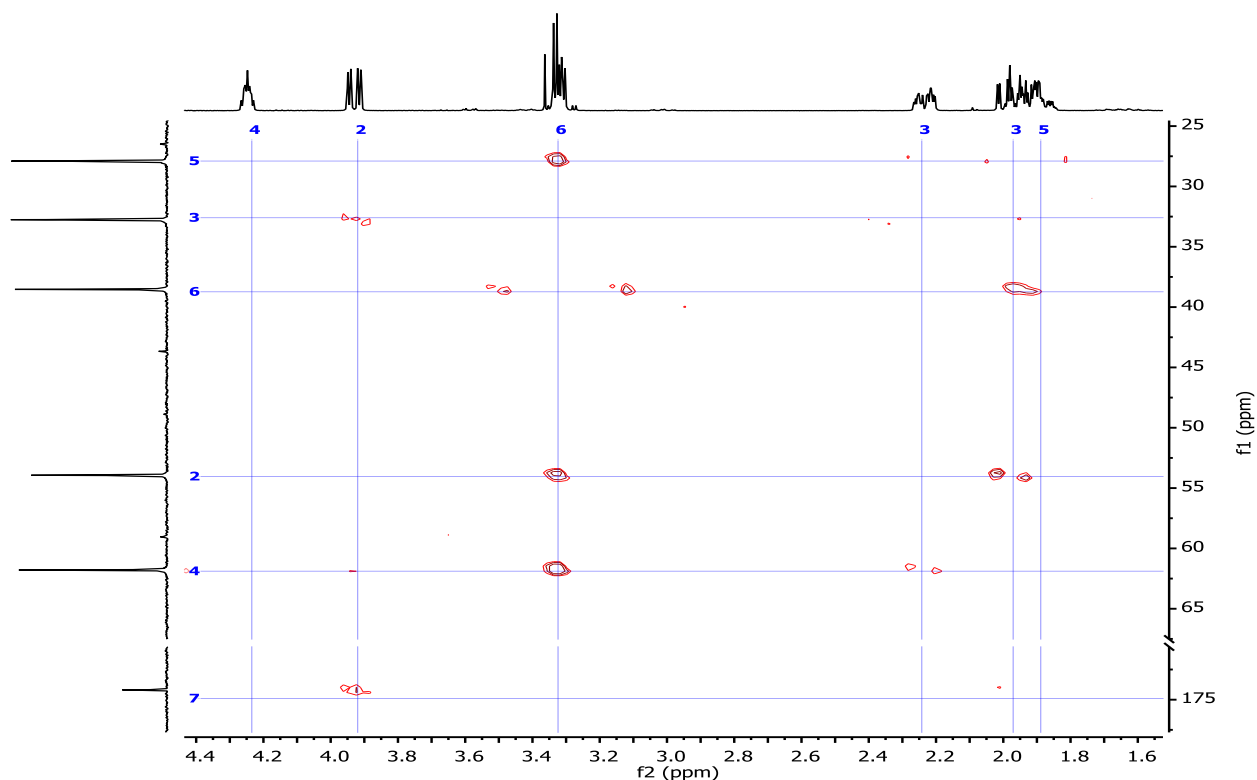


Figura B- 18: Espectro HMBC de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-piperólico (7).

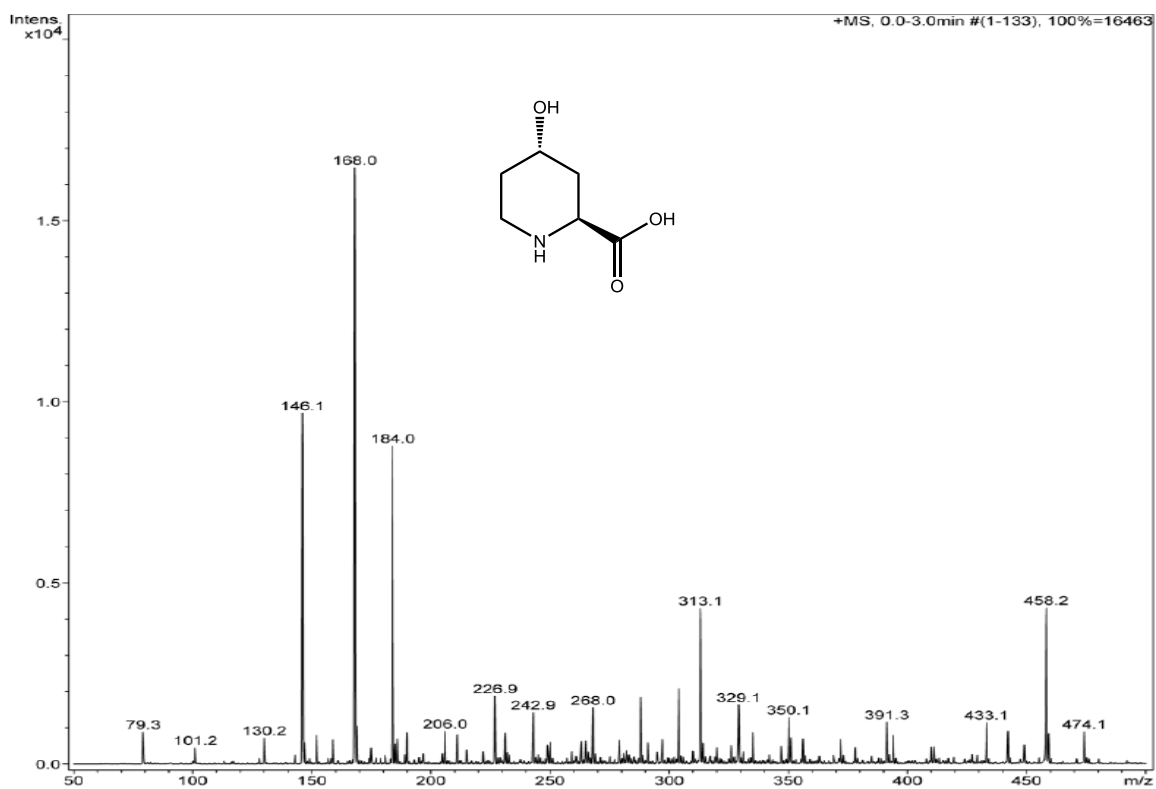


Figura B- 19: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de ácido-4-(S)-hidroxi-2-(S)-piperólico (7).

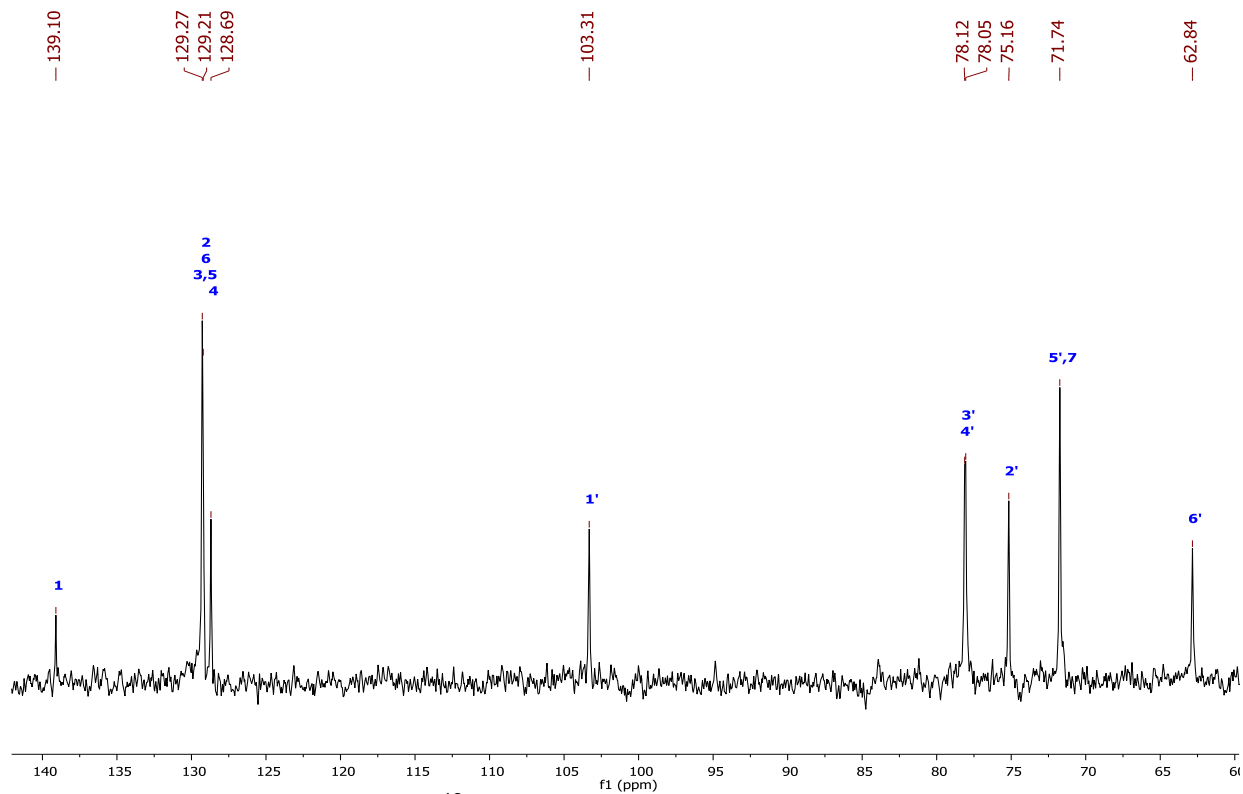


Figura B- 22: Espectro de RMN- ^{13}C [100 MHz, CD_3OD] de glucósido del alcohol bencílico (**8**).

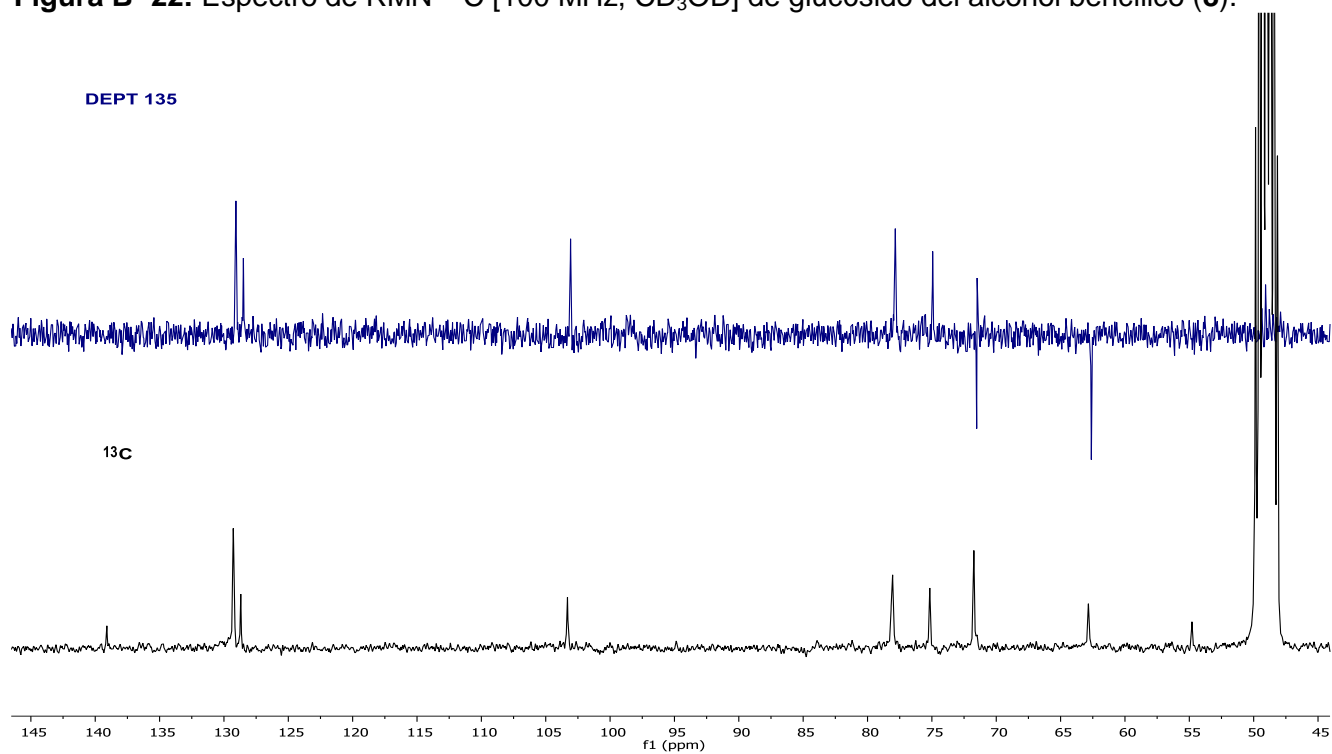


Figura B- 23: Apilado de espectros de ^{13}C y DEPT 135 de glucósido del alcohol bencílico (**8**).

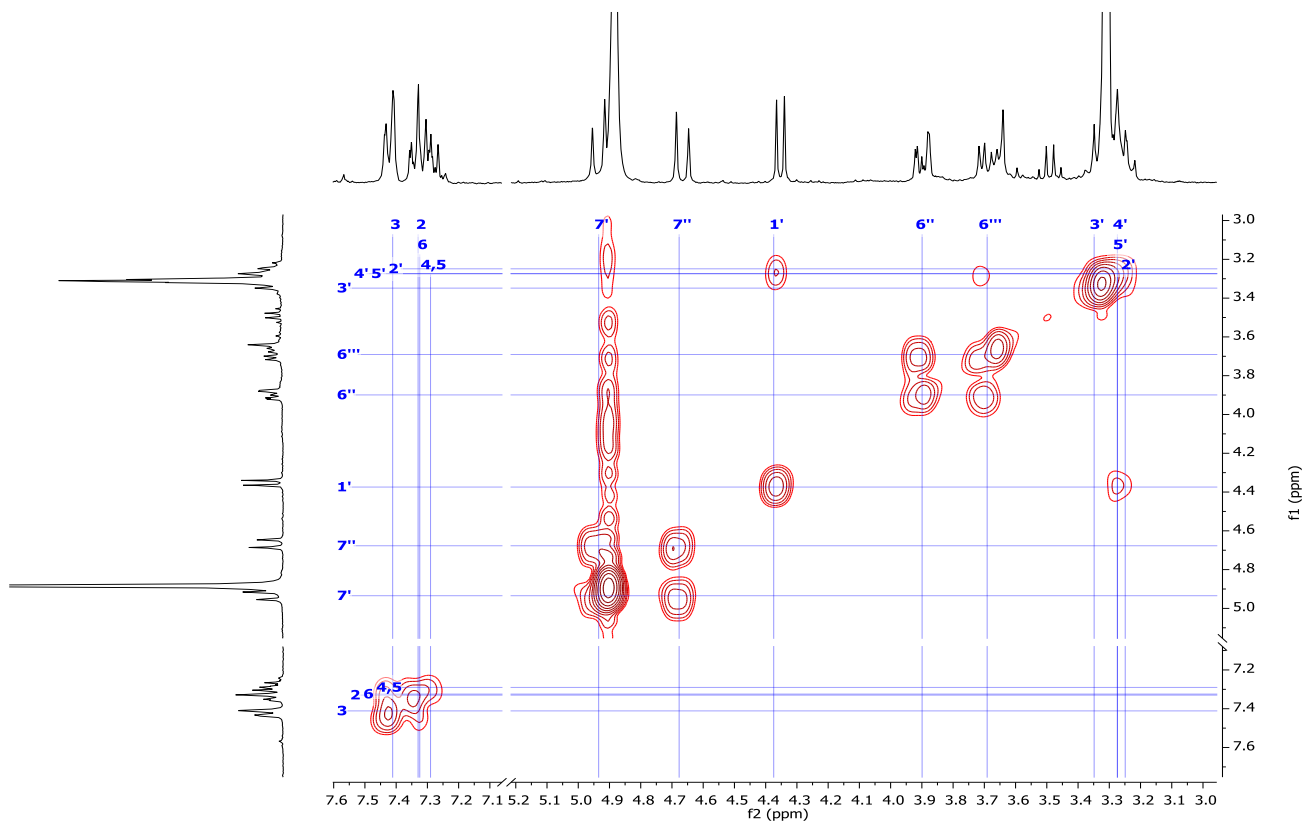


Figura B- 24: Espectro COSY de glucósido del alcohol bencílico (8).

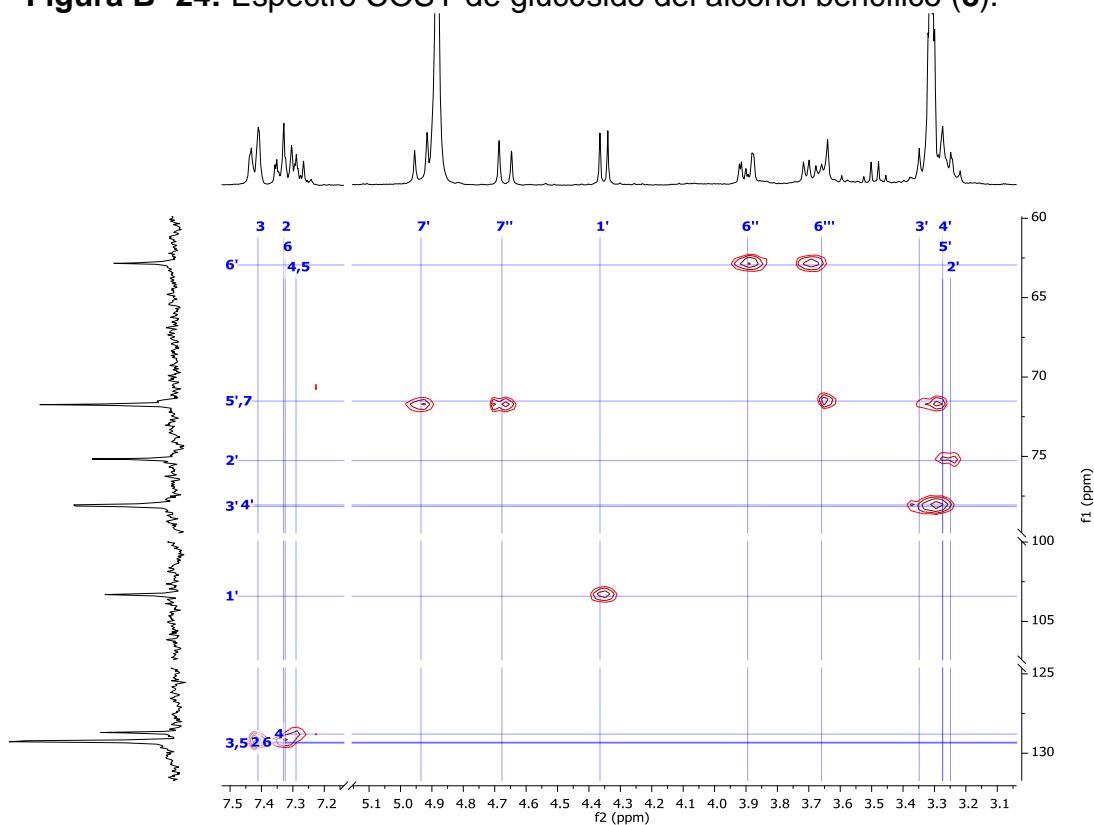


Figura B- 25: Espectro HSQC de glucósido del alcohol bencílico (8).

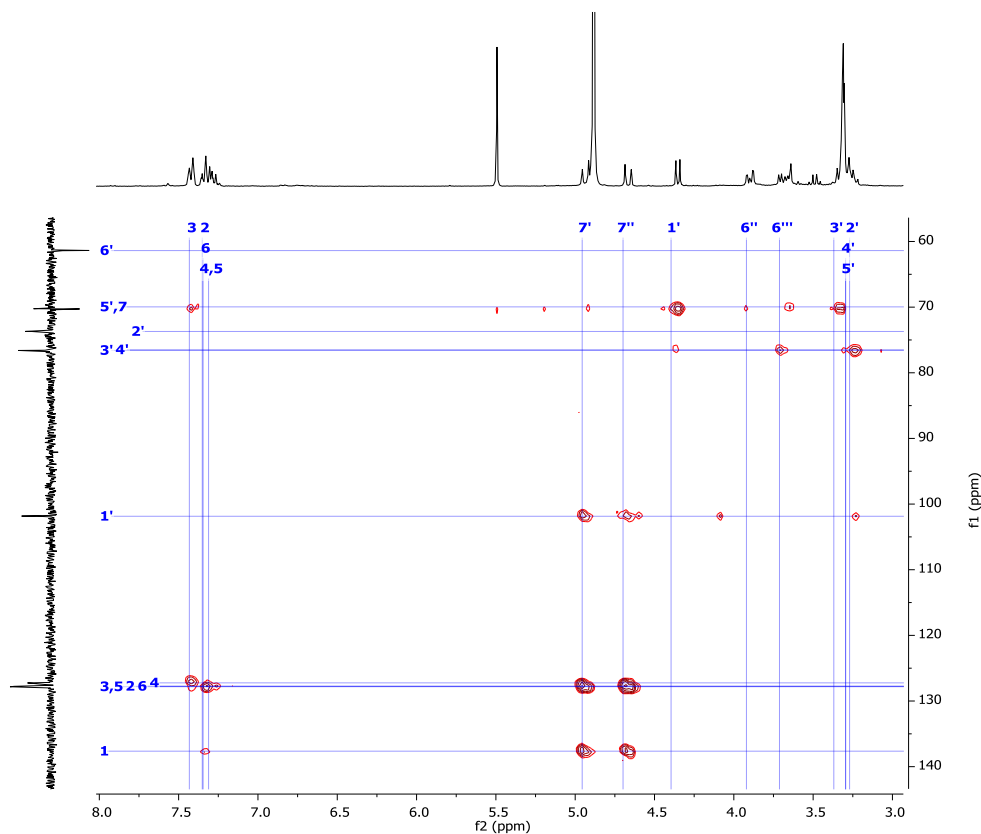


Figura B- 59: Espectro HMBC de glucósido del alcohol bencílico (8).

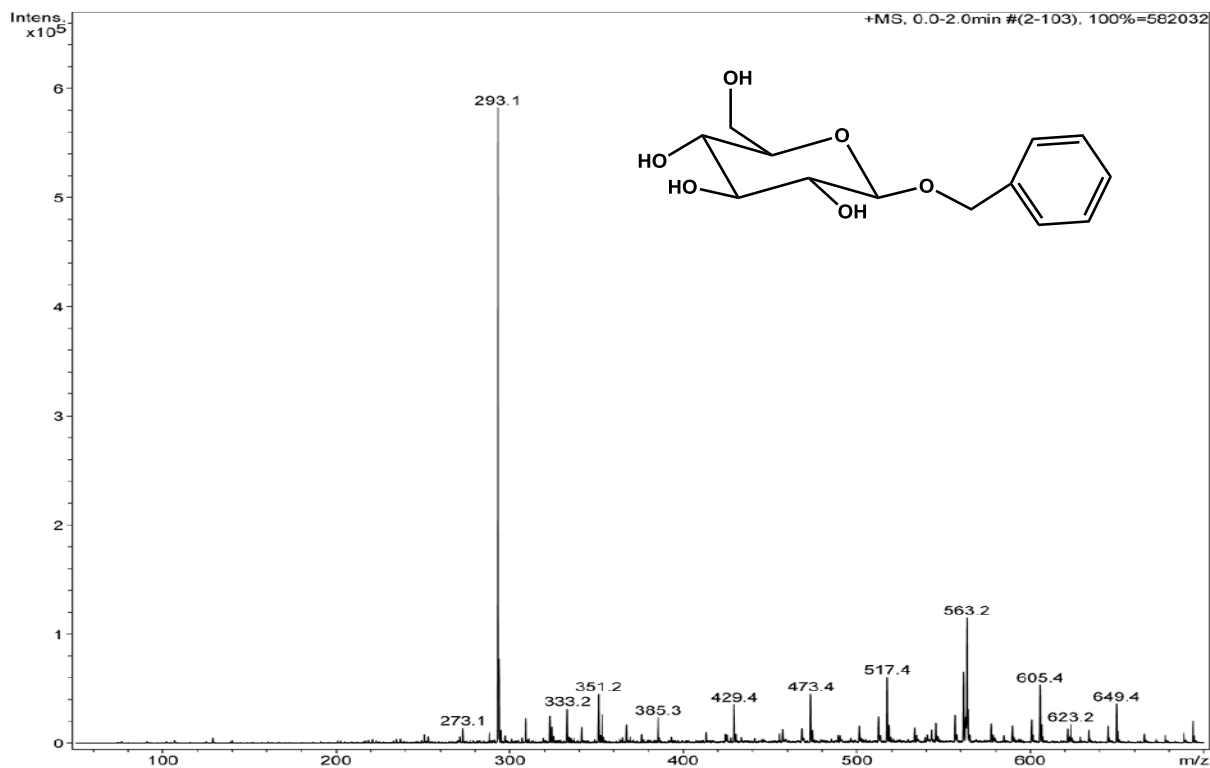


Figura B- 60: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de glucósido del alcohol bencílico (8).



Muestra: GHBa Investigador : Dr. L. Quijano

Disolvente: MeOH
Concentración: 1.2 mg/mL α : -0.025 a 589 nm (Na)
Longitud de celda: 1 dm
Tiempo de Integración: 5 s

Observaciones: _____

Operador: Rocío Patiño Maya
No. de registro: 1089
Fecha: 2/06/2016

Figura B- 26: Dato polarimétrico [RO, MeOH] de glucósido del alcohol bencílico (8).

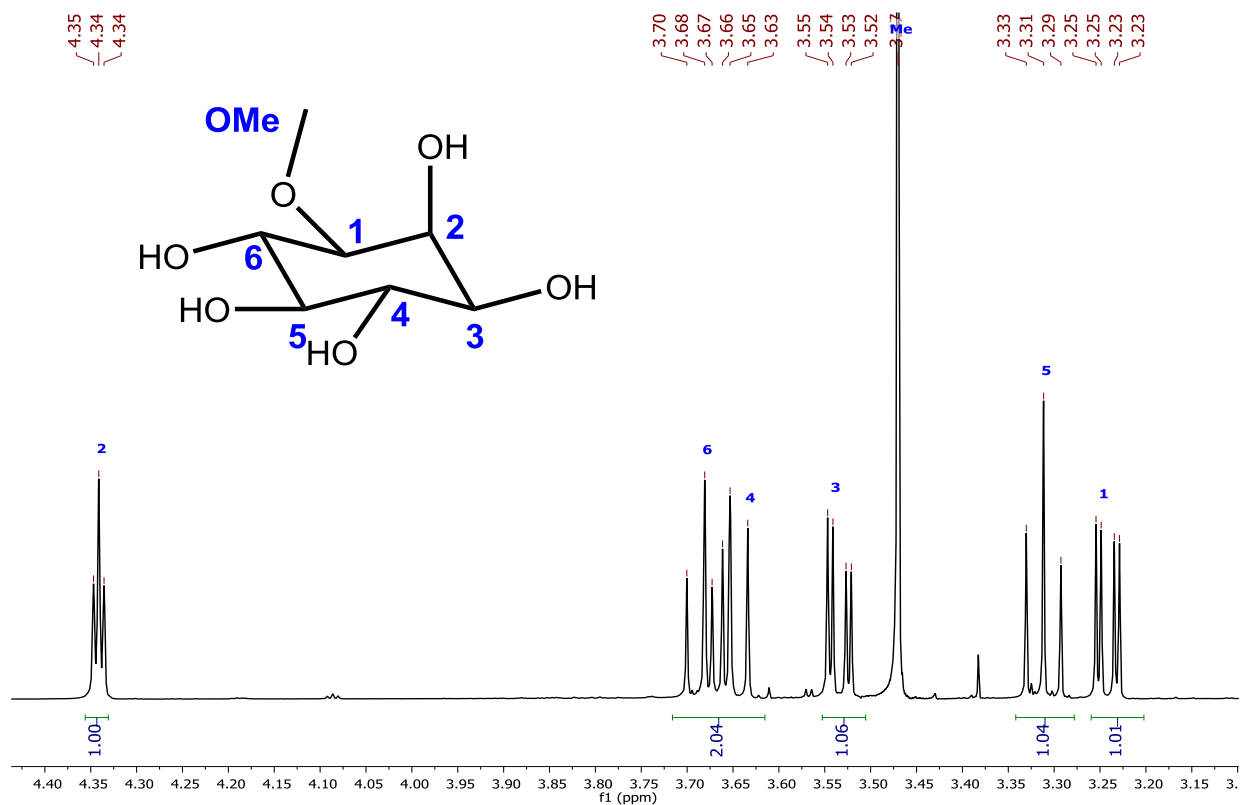


Figura B- 27: Espectro de RMN-¹H [500 MHz, D₂O] de (+)-bornesitol (9).

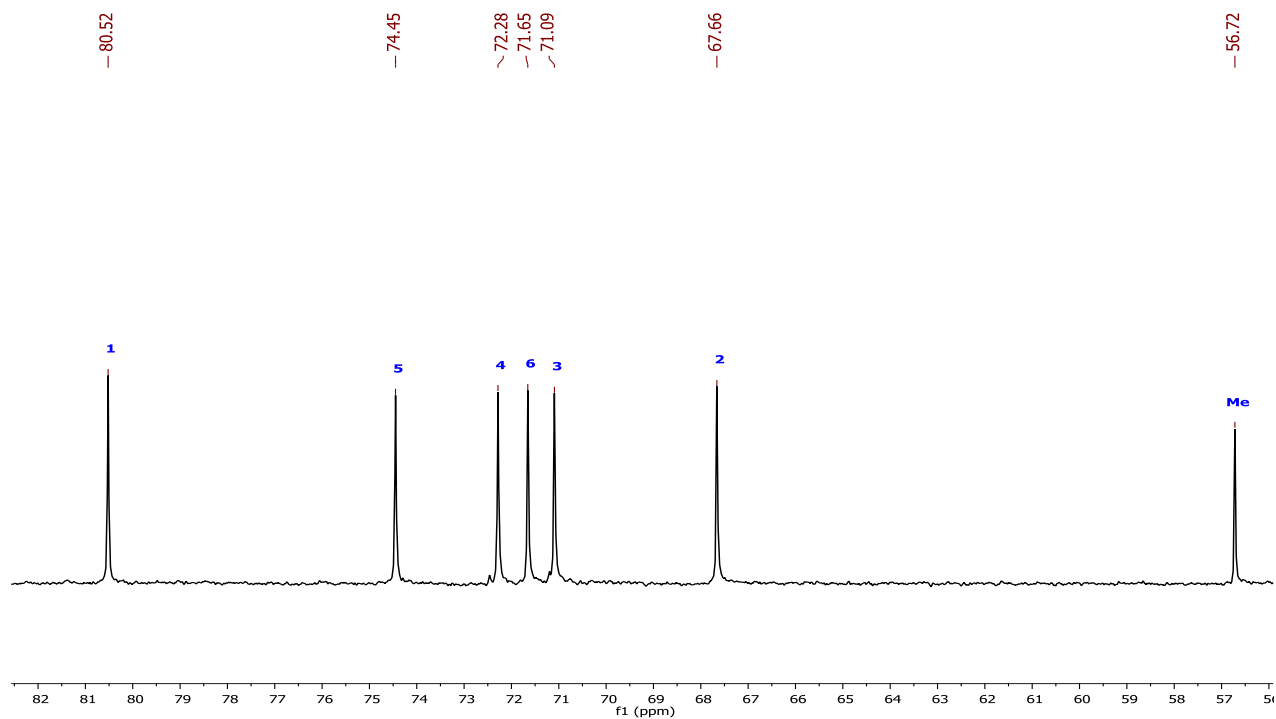


Figura B- 28: Espectro de RMN- ^{13}C [100 MHz, D_2O] de (+)-bornesitol (**9**).

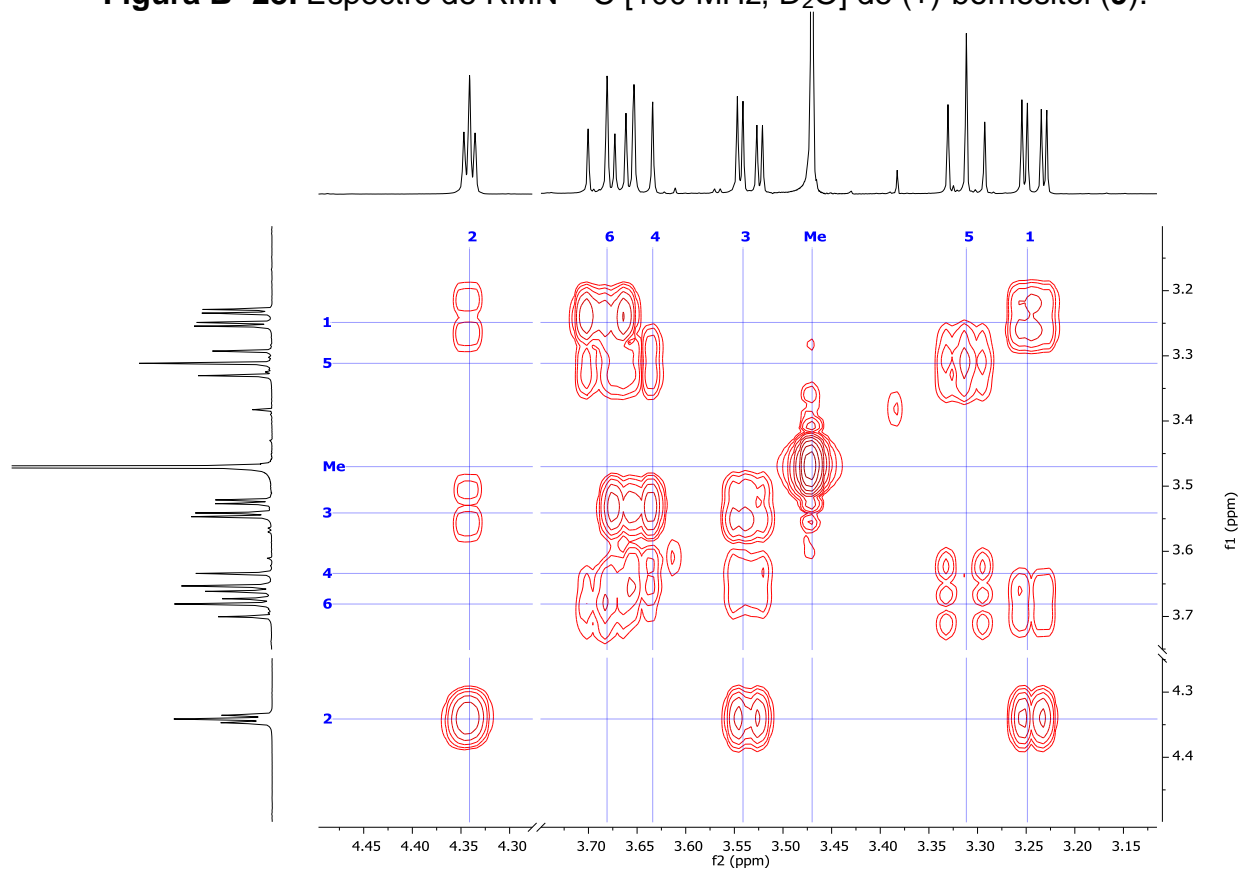


Figura B- 29: Espectro COSY de (+)-bornesitol (**9**).

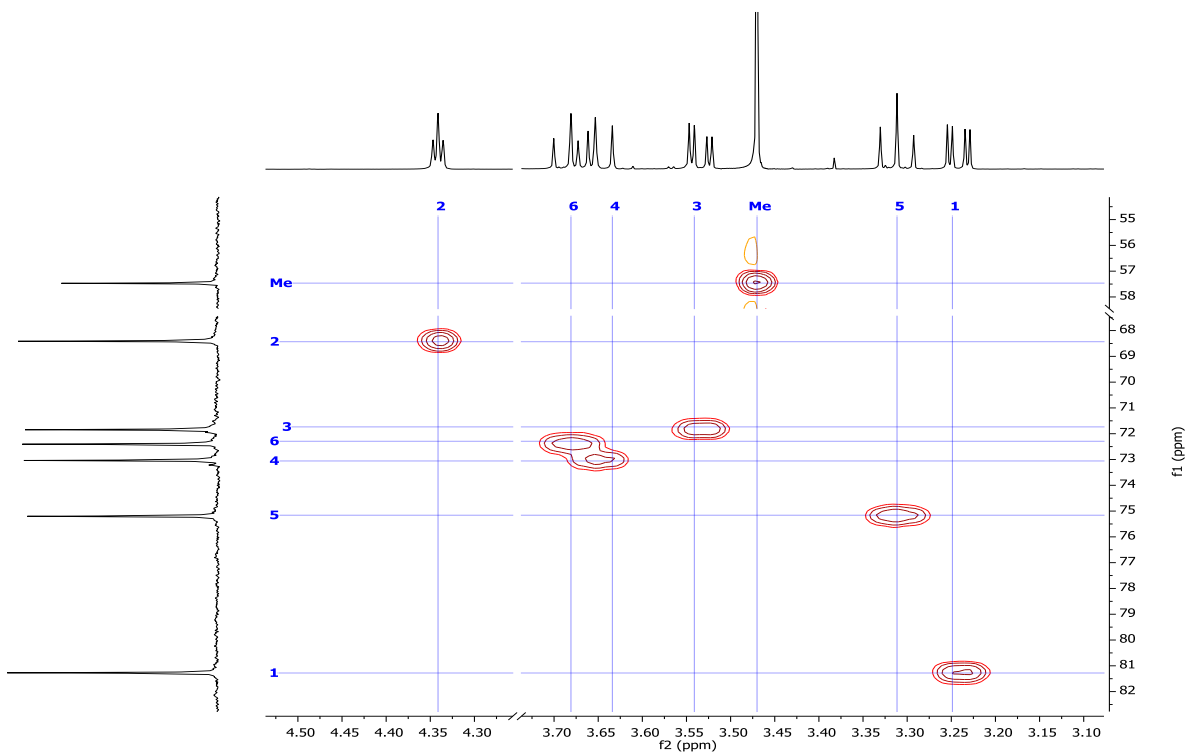


Figura B- 30: Espectro HSQC de (+)-bornesitol (9).

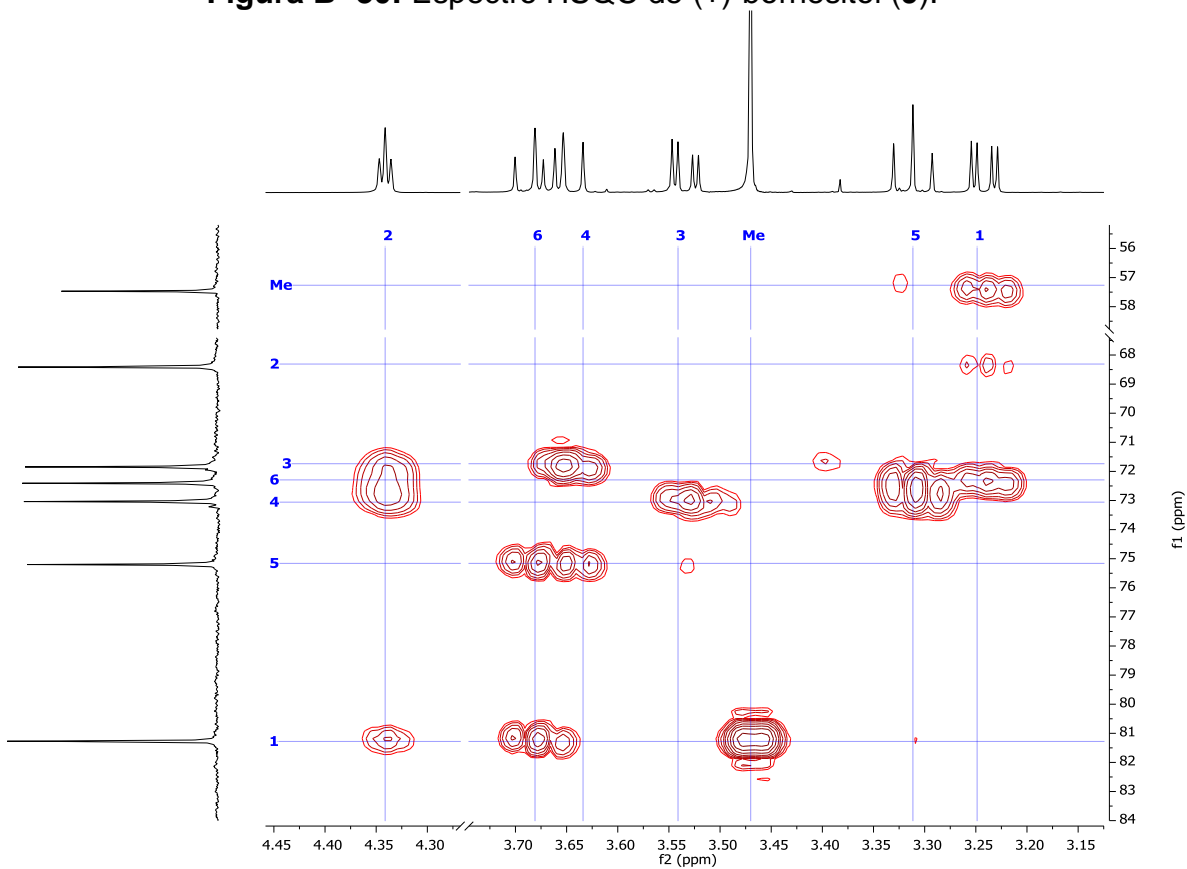
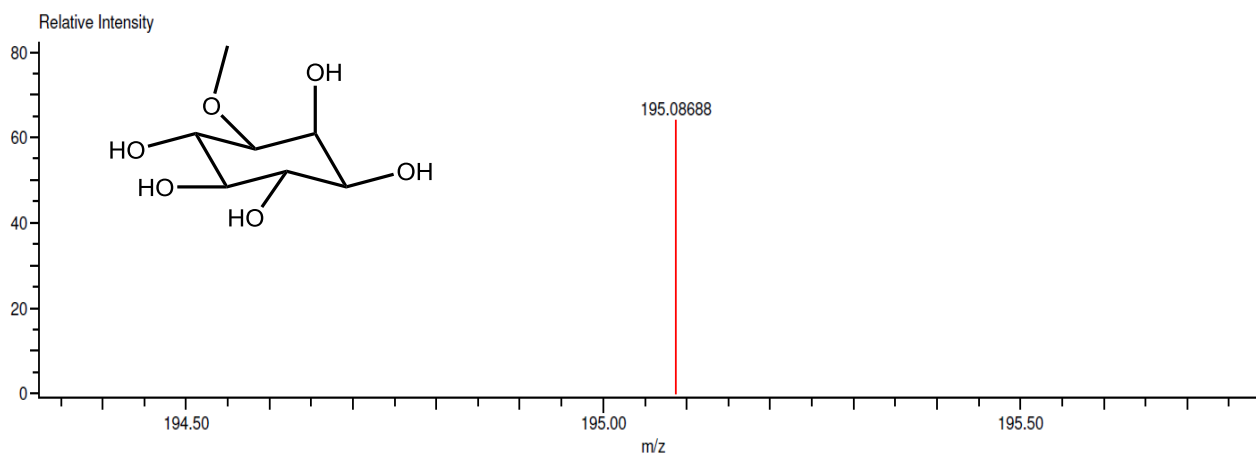


Figura B- 31: Espectro HMBC (+)-bornesitol (9).

Charge number:1
Element:¹²C:0 .. 40, ¹H:0 .. 40, ¹⁶O:0 .. 10

Tolerance:3.00(mmu)

Unsaturation Number:0.0 .. 20.0 (Fraction:Both)



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
195.08688	6247.71	195.08686	0.02	0.08	¹² C ₇ ¹ H ₁₅ ¹⁶ O ₆	0.5

Figura B- 32: Espectro de masas [EM-DART⁺] de (+)-bornesitol (9).



INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

POLARIMETRÍA

Muestra: GI'

Investigador : Dr. L. Quijano

Disolvente: Agua

Concentración: 1.6 mg/ mL

Longitud de celda: 1 dm

Tiempo de Integración: 5 s

α : +0.028 a 589 nm (Na)

Observaciones: _____

Operador: Rocío Patiño Maya

No. de registro: 607

Fecha: 18/03/2016

Figura B- 33: Dato polarimétrico [RO, H₂O] de (+)-bornesitol (9).

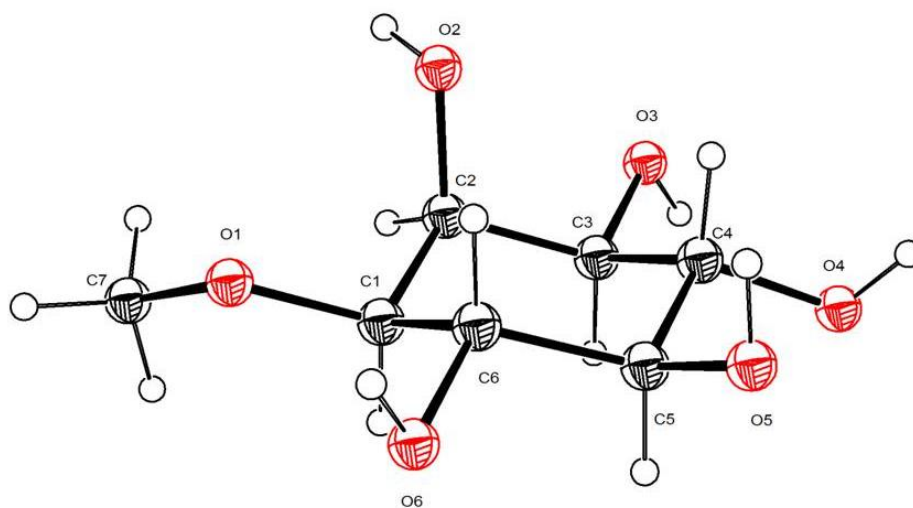


Figura B- 69: Estructura de rayos X de (+)-bornesitol (9).

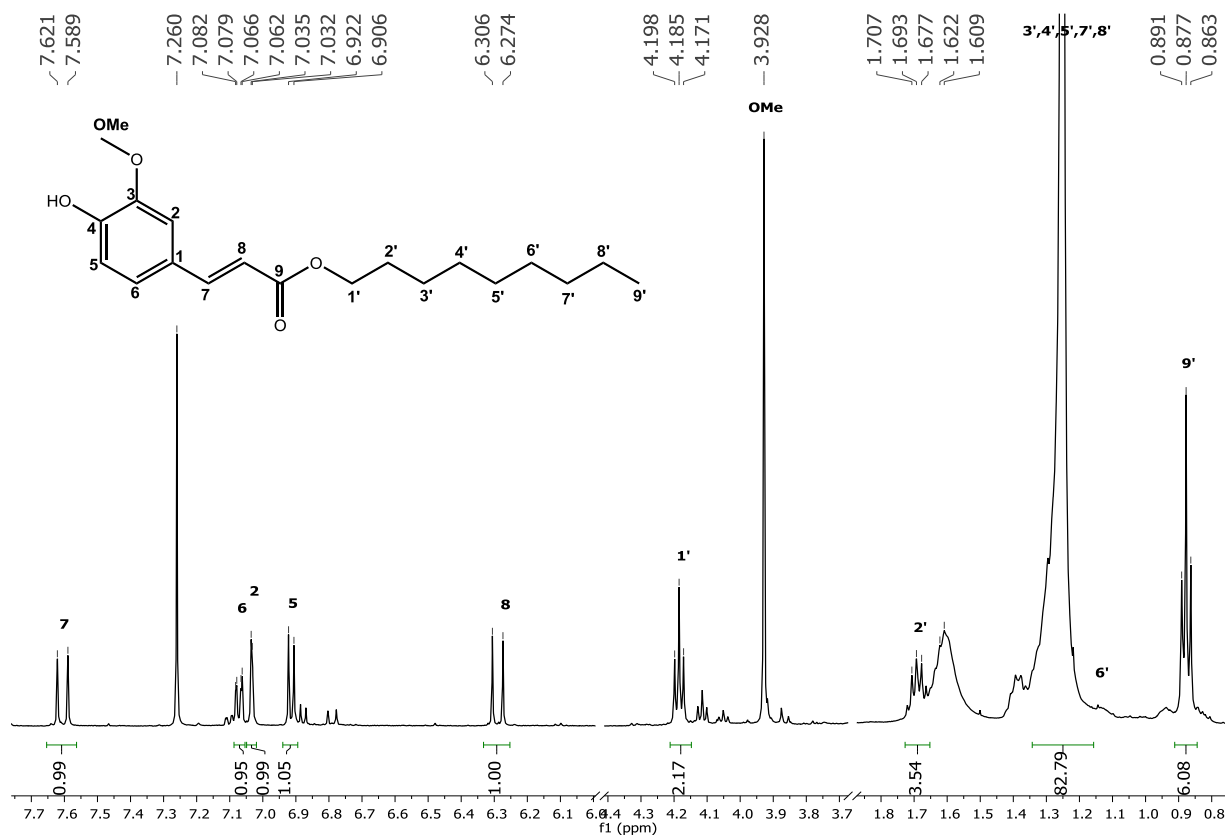


Figura B- 34: Espectro de RMN-¹H [500 MHz, CDCl₃] de nonil ferulato (10a).

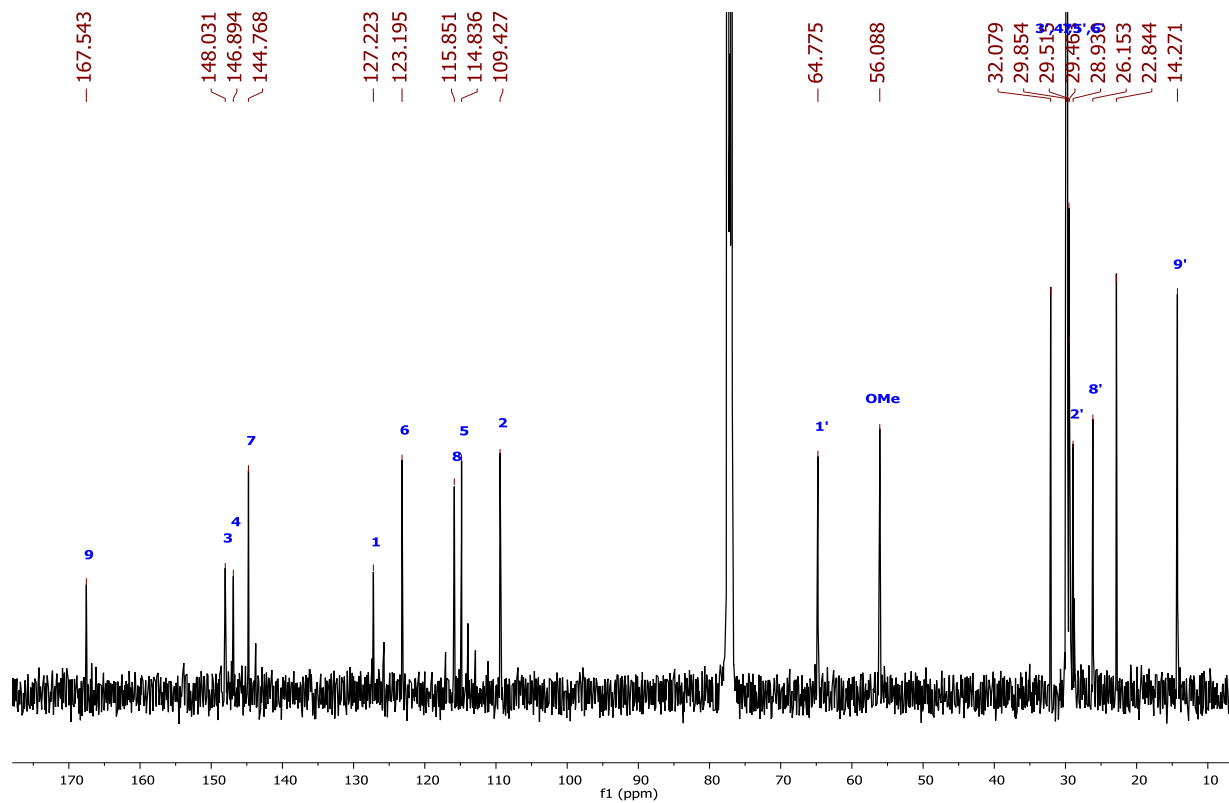


Figura B- 35: Espectro de RMN-¹³C [125 MHz, CDCl₃] de nonil ferulato (10a).

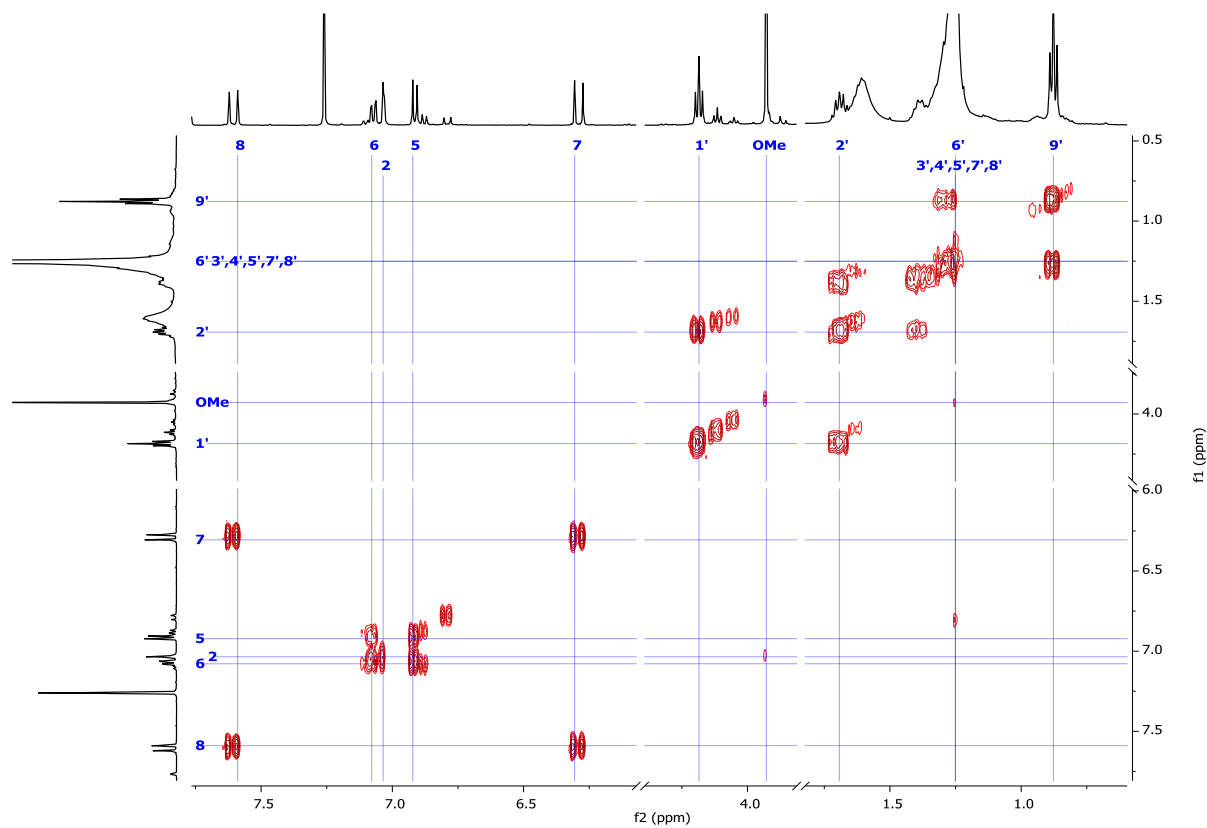


Figura B- 36: Espectro COSY de nonil ferulato (10a).

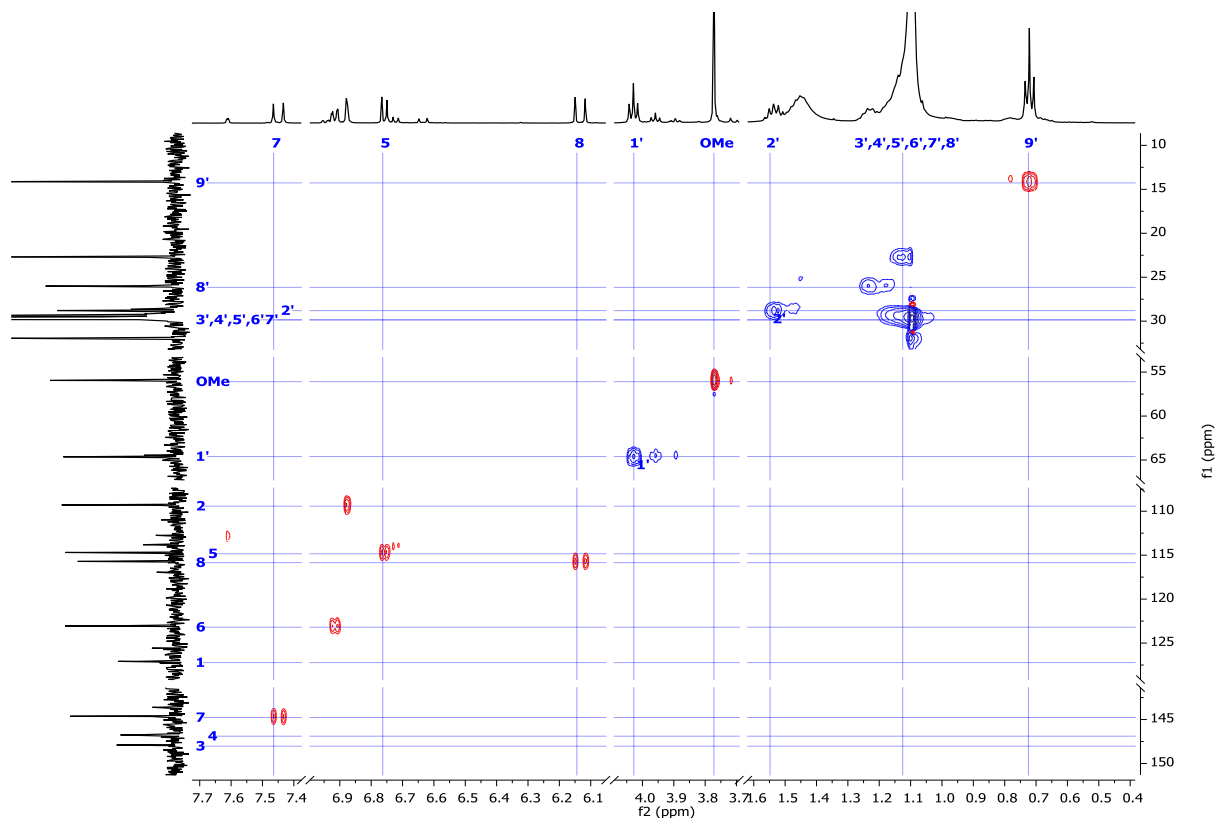


Figura B- 37: Espectro HSQC-ed de nonil ferulato (10a).

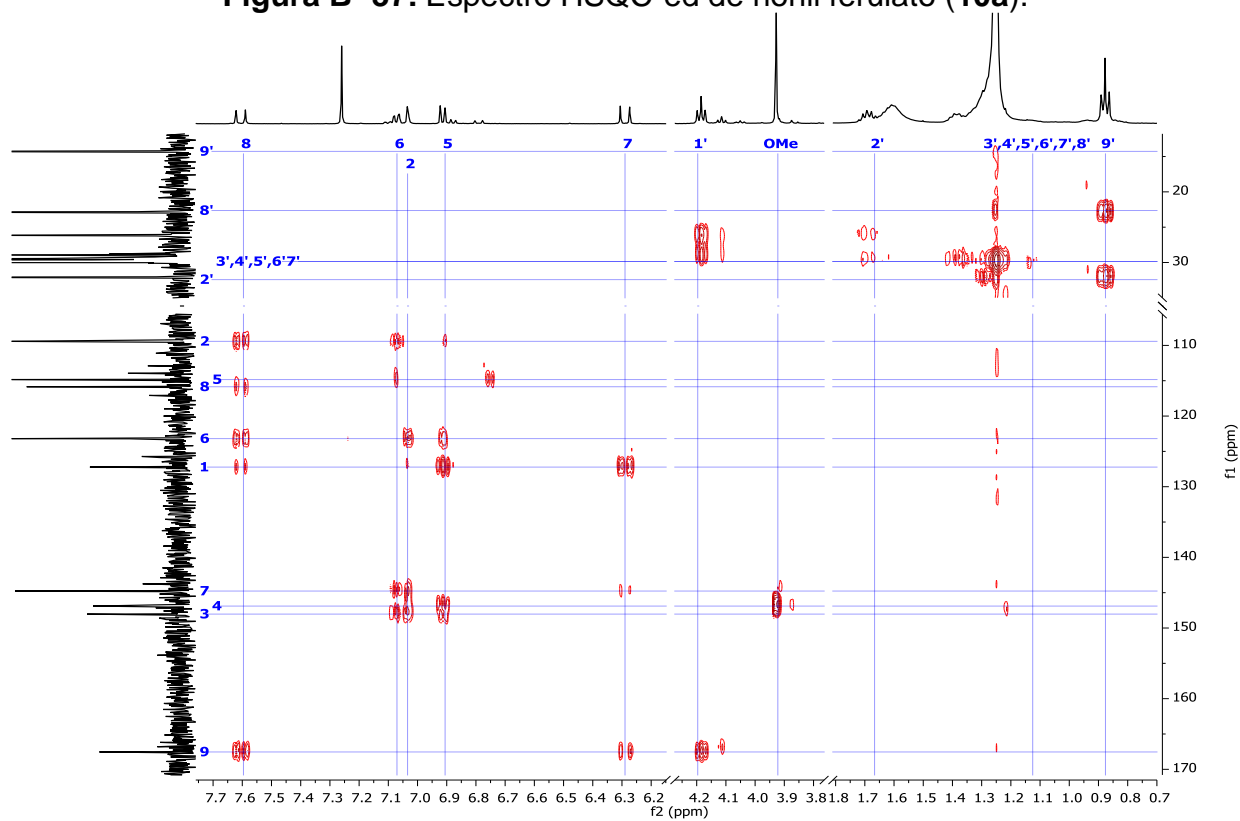


Figura B- 38: Espectro HMBC de nonil ferulato (10a).

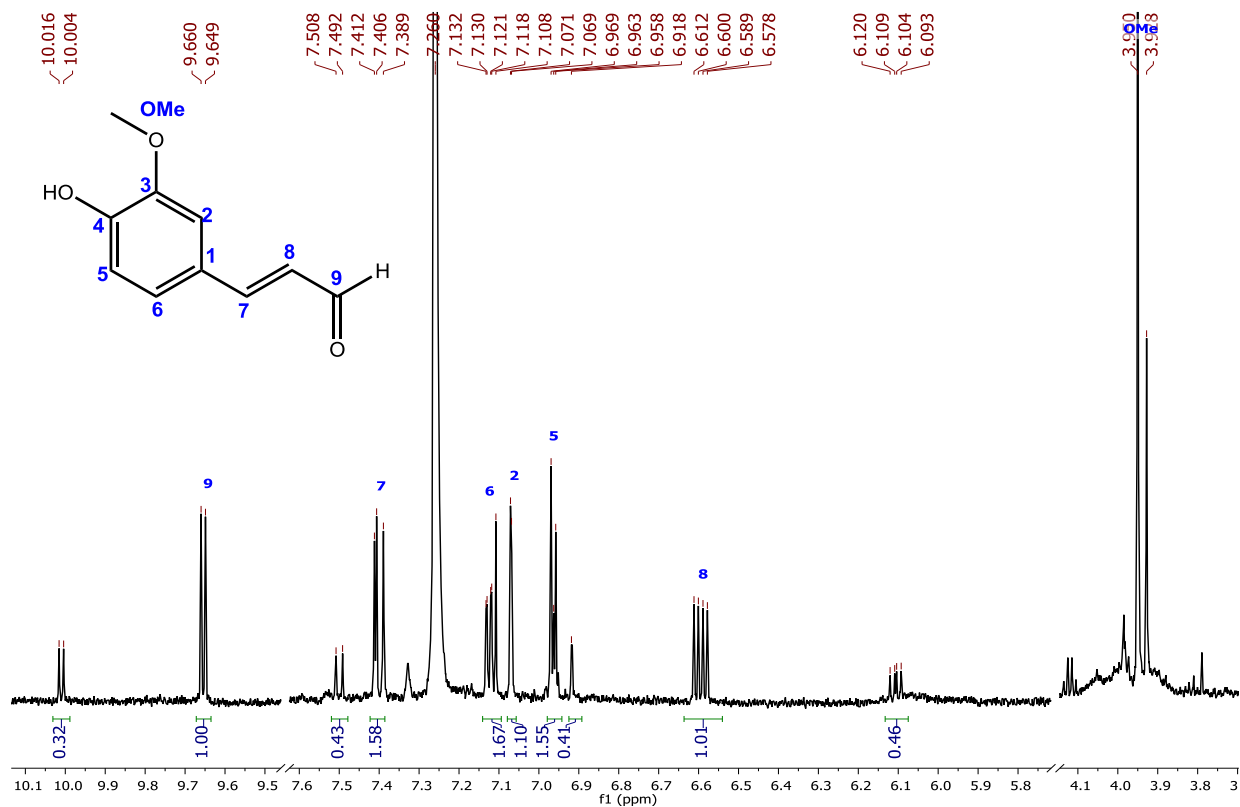


Figura B- 39: Espectro de RMN-¹H [700 MHz, CDCl₃] de aldeído ferúlico (11).

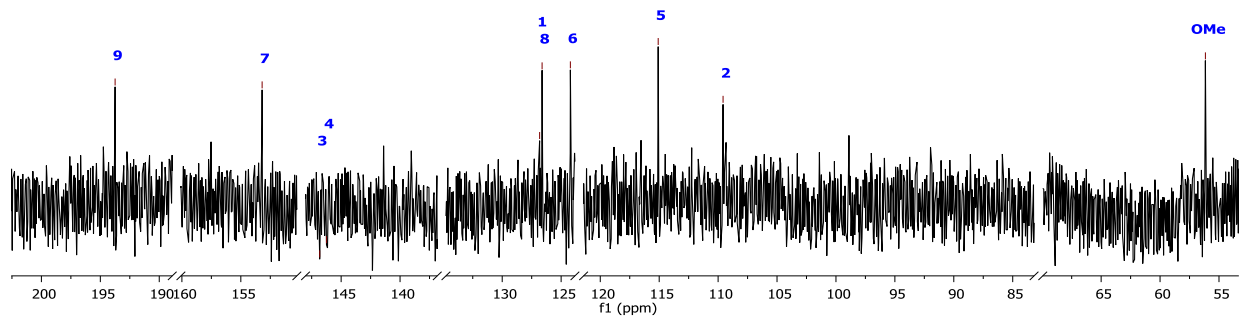


Figura B- 40: Espectro de RMN-¹³C [175 MHz, CDCl₃] de aldeído ferúlico (11).

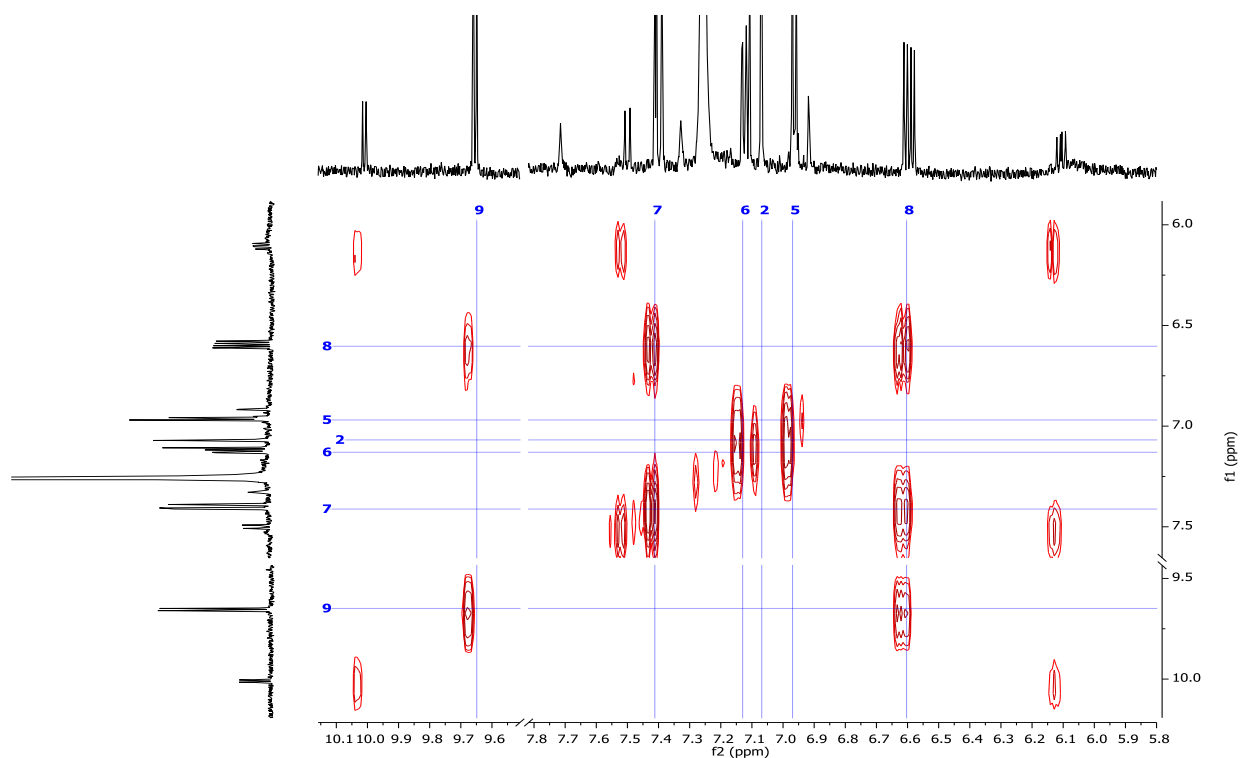


Figura B- 41: Espectro COSY de aldehído ferúlico (11).

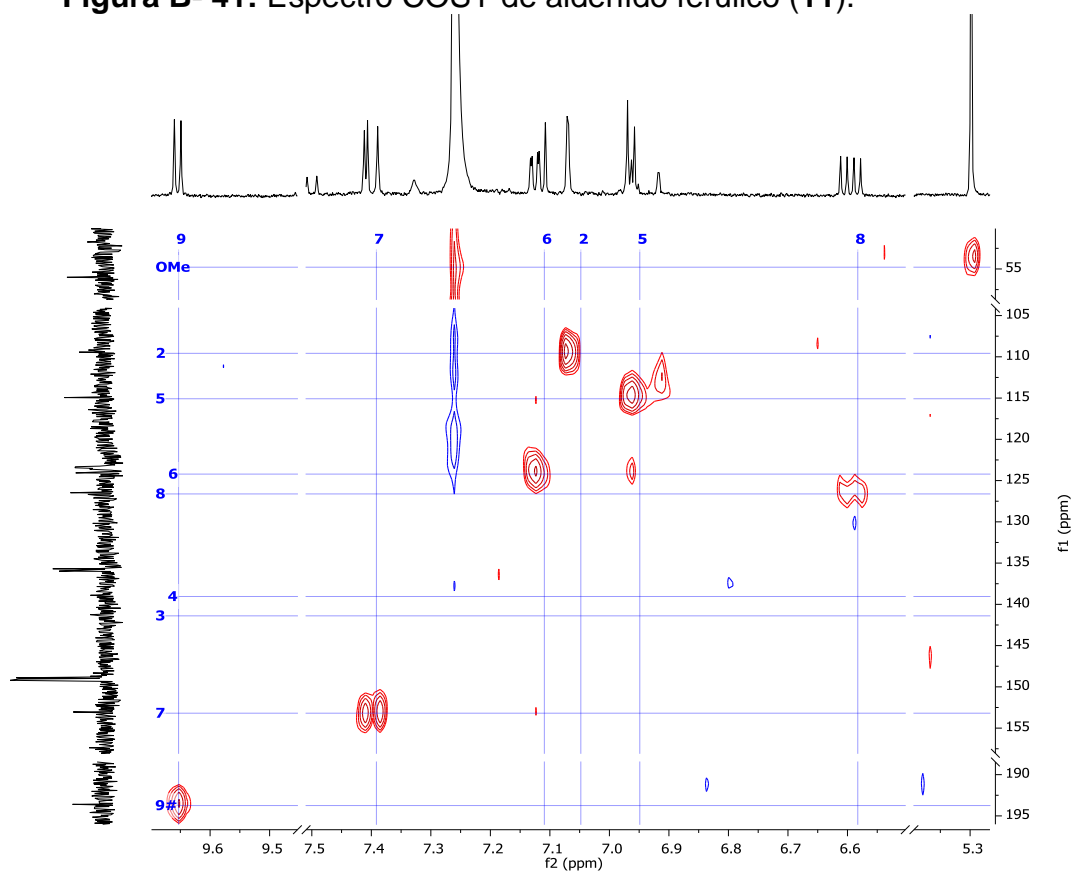
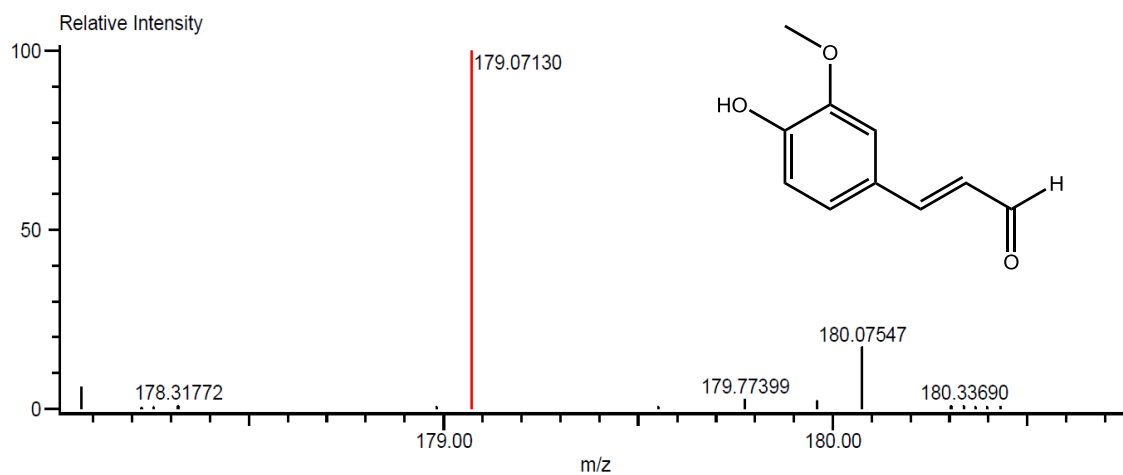


Figura B- 42: Espectro HSQC de aldehído ferúlico (11).



Mass	Intensity	Calc. Mass	Mass Difference (mmu)	Mass Difference (ppm)	Possible Formula	Unsaturation Number
179.07130	5817.38	179.07082	0.48	2.68	$^{12}\text{C}_{10}^{1}\text{H}_{11}^{16}\text{O}_3$	5.5

Figura B- 79: Espectro de masas [EM-DART⁺] de aldehído ferúlico (11).

8.3 ÍNDICE DE FIGURAS C

Figura C- 1: Cromatograma del extracto metanólico de hojas de <i>C. dentata</i>	134
Gráfico 1: Curva patrón de la cuantificación de ácido rosmarínico (5)	134
Ecuación 1	134
Tabla 1: Resultados de la curva patrón de ácido rosmarínico (5)	134

Figura C- 2: Condiciones de separación de los compuestos nonil ferulato (10a), pentil-cis-ferulamida (10c) y undecil ferulato (10b).....	135
Figura C- 3: Cromatograma de los compuestos nonil ferulato (10a), pentil-cis-ferulamida (10c) y undecil ferulato (10b).....	135
Figura C- 4: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de pentil-cis-ferulamida (10c).....	145
Figura C- 5: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de nonil ferulato (10a).....	145
Figura C- 6: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de undecil ferulato (10b).....	145

Figura C- 7: Cromatograma del extracto metanólico de los tallos de <i>C.dodecandra</i> (1) = alantoína, (4) = manghalsina, (V) = rutina, (5) = ácido rosmarínico, (XVIII) = eriodictiol-7-O-glucósido, (XVII) = naringenina-7-O-glucósido, (XIX) = eriodictiol, (XVI) = naringenina	137
Figura C- 8: Cromatograma del extracto acuoso de los tallos de <i>C.dodecandra</i> . (5) = ácido rosmarínico.....	137
Tabla II : Iones observados em los espectros de masas (EM-ESI ⁺) de cada estándar	137

Figura C- 9: Cromatograma de alantoína (1), TR: 2.04.....	138
Figura C- 10: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de alantoína (1).....	138
Figura C- 11: Espectro UV (DAD) de alantoína (1).....	138
Figura C- 12: Cromatograma de manghaslina (4), TR: 11.78.....	139
Figura C- 13: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de manghaslina (4).....	139
Figura C- 14: Espectro UV (DAD) de manghaslina (4).....	139
Figura C- 15: Cromatograma de rutina (V), TR: 16.78.....	140
Figura C- 16: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de rutina (V).....	140
Figura C- 17: Espectro UV (DAD) de rutina (V).....	140
Figura C- 18: Cromatograma de ácido rosmarínico (5), TR: 18.50.....	141
Figura C- 19: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de ácido rosmarínico (5).....	141
Figura C- 20: Espectro UV (DAD) de ácido rosmarínico (5).....	141
Figura C- 21: Cromatograma de eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII), TR: 18.55.....	142
Figura C- 22: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII).....	142
Figura C- 23: Espectro UV (DAD) de eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII).....	142
Figura C- 24: Cromatograma de naringenina-7-O-glucósido (XVII), TR: 23.92.....	143
Figura C- 25: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de naringenina-7-O-glucósido (XVII).....	143
Figura C- 26: Espectro UV (DAD) de naringenina-7-O-glucósido (XVII).....	143
Figura C- 27: Cromatograma de eriodictiol (XIX), TR: 26.67.....	144
Figura C- 28: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de eriodictiol (XIX).....	144
Figura C- 29: Espectro UV (DAD) de eriodictiol (XIX).....	144
Figura C- 30: Cromatograma de naringenina (XVI), TR: 29.46.....	145
Figura C- 31: Espectro de masas [EM-ESI ⁺] de naringenina (XVI).....	145
Figura C- 32: Espectro UV (DAD) de naringenina (XVI).....	145

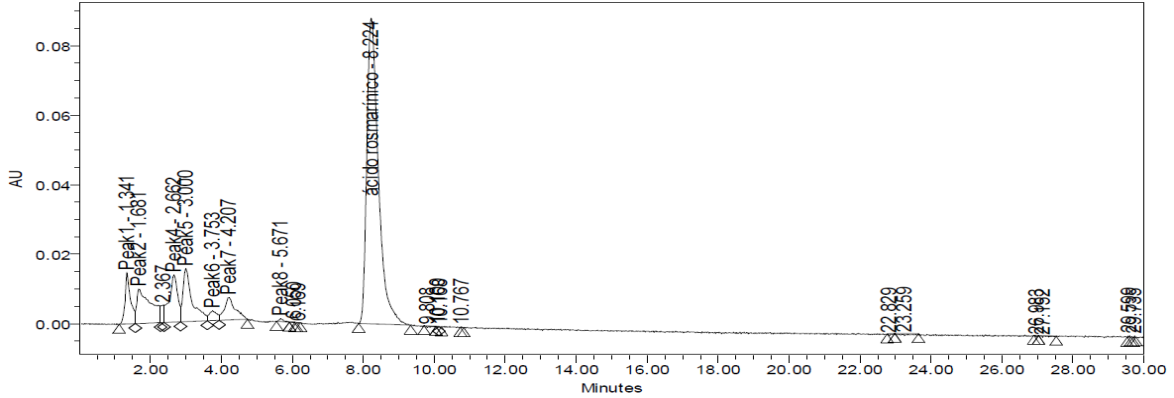


Figura C-1: Cromatograma del extracto metanólico de las hojas de *C. dentata*.

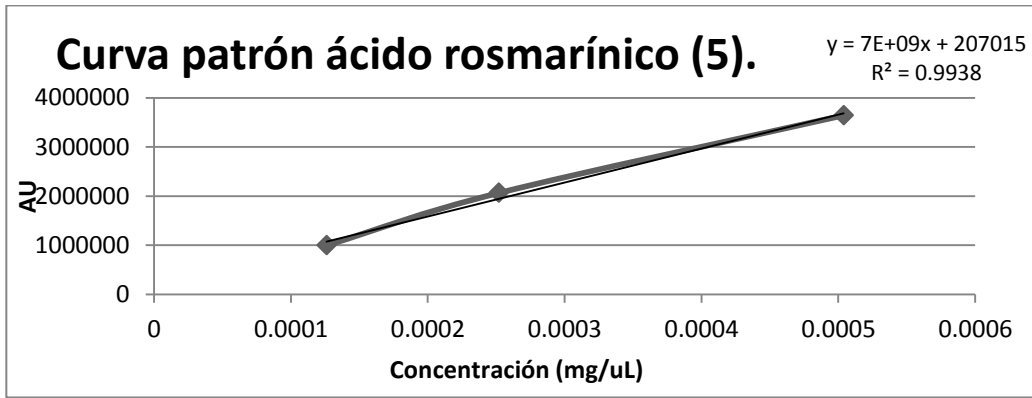


Gráfico 1: Curva patrón de la cuantificación de ácido rosmarínico (5).

Ecuación 1: $y = mx + b * \left(\text{factor de dilución} = \frac{\text{volumen } (\mu\text{L})}{\text{cantidad de extracto}(\text{mg})} \right)$

$$x = \left(\frac{1983206 - 207015}{7000000000} \right) * \left(\frac{616 \mu\text{L}}{0.4 \text{ mg de extracto}} \right) \mathbf{x} = \frac{0.390 \text{ mg de ácido rosmarínico}}{\text{mg de extracto}}$$

Cuadro I: Resultados de la curva patrón de ácido rosmarínico (5).

	Unidad de Absorbancia (UA)	Concentración (mg/ μL)	
ácido rosmarínico (5)	996814.383	126 x10 ⁻⁶	
	2063786.168	252 x10 ⁻⁶	
	3643385.935	504 x10 ⁻⁶	
Respuesta analítica extracto	1983206	m (mg/ μL)	7E+09
r	0.9938	b	207015

Muestra: RA-DCM-AC 171023-ql-01

Cromatógrafo de Líquidos Agilent 1200 Series Binary SL
Espectrómetro de Masas Bruker Esquire 6000
ESI
Nebulizador 22 psi

Detector Gas de Secado 7 l/min
Temperatura de Secado 300 °C
Scan 100-1500 m/z
Target 500 m/z

Columna Eclipse Plus C18 3.5 µm 100 x 2.1 mm

Eluyente	Acetonitrilo	Agua
inicial	10	90
40 min	100	0

Flujo 0.2 mL/min
Disolvente de la muestra Diclorometano
Fecha 30-11-17
Analizó: Lucero Rios
Revisó: Eréndira García

Figura C- 2: Condiciones de separación de los compuestos nonil ferulato (**10a**), pentil-*cis*-ferulamida (**10c**) y undecil ferulato (**10b**).

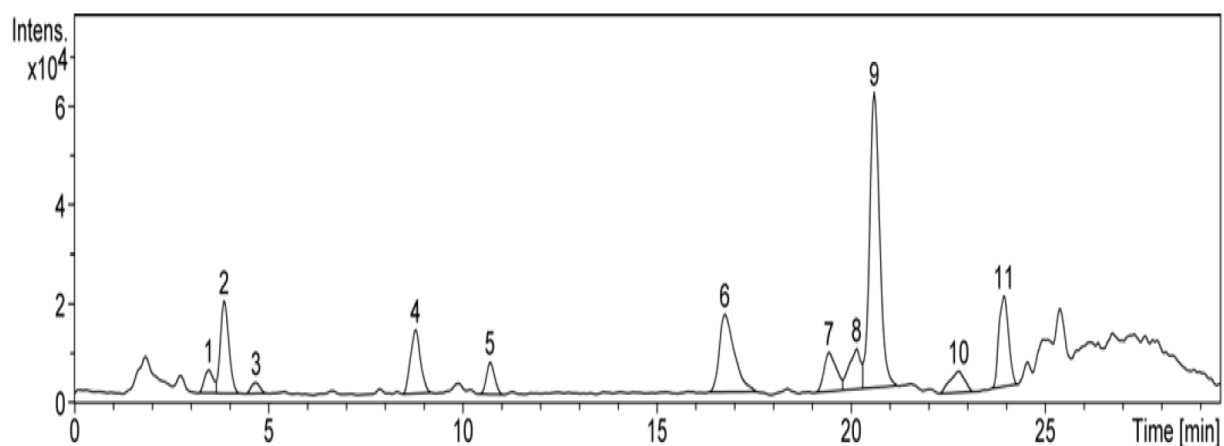


Figura C- 3: Cromatograma de los compuestos nonil ferulato (**10a**), pentil-*cis*-ferulamida (**10c**) y undecil ferulato (**10b**).

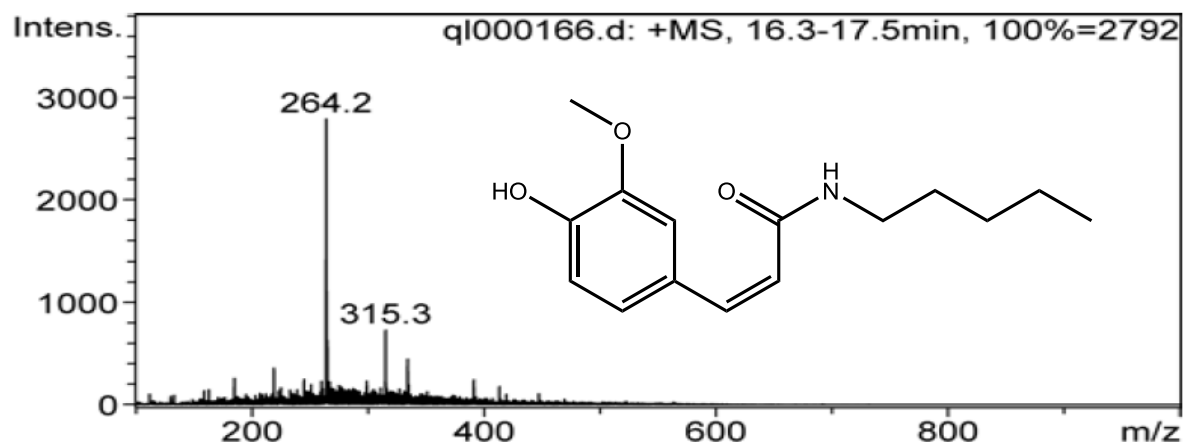


Figura C- 4: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de pentil-*cis*-ferulamida (10c).

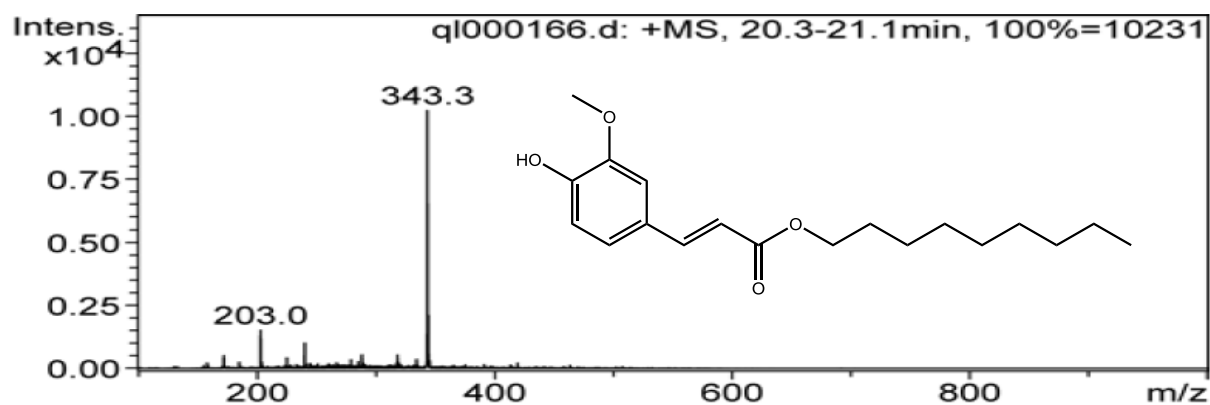


Figura C- 5: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de nonil ferulato (10a).

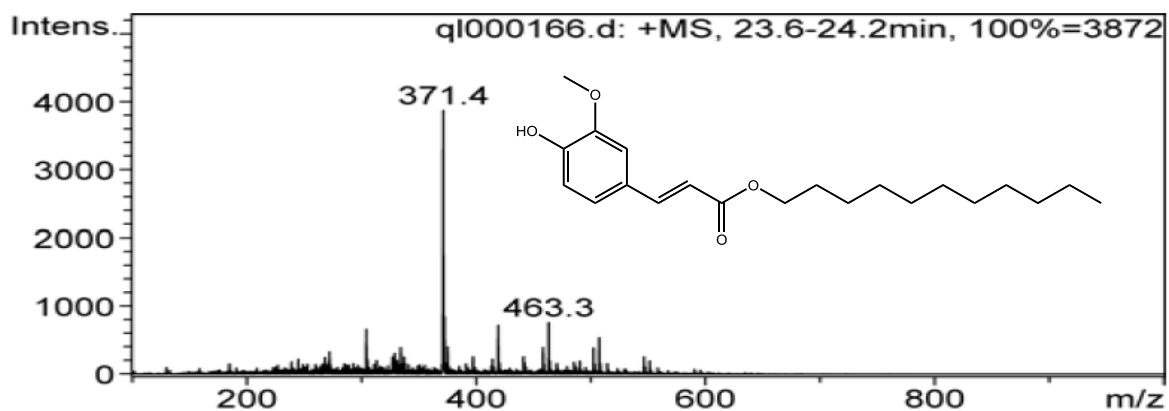


Figura C- 6: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de undecil ferulato (10b).

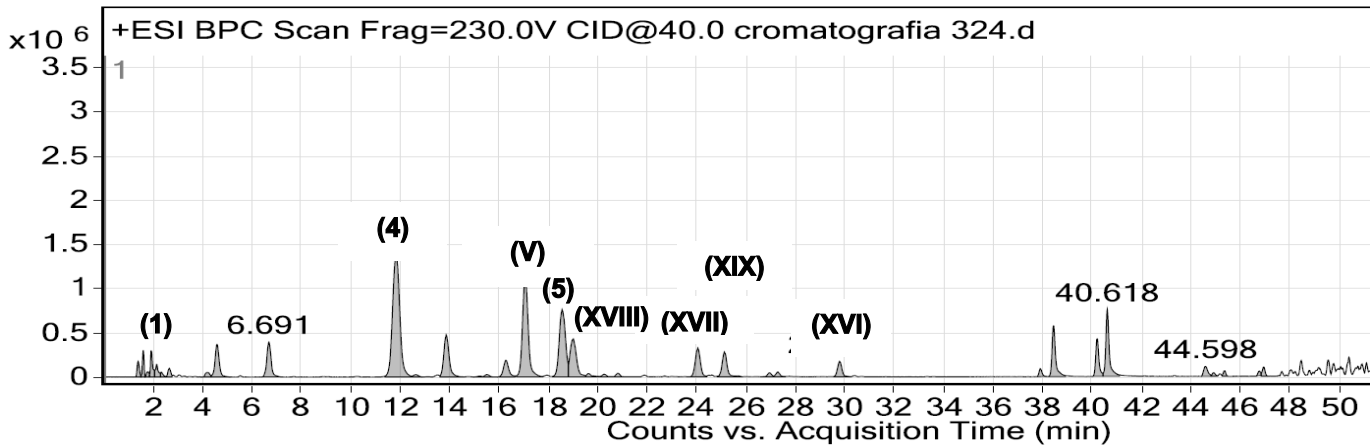


Figura C-7: Cromatograma del extracto metanólico de los tallos de *C. dodecandra*. (1) = alantoína, (4) = manghaslina, (V) = rutina, (5) = ácido rosmarínico, (XVIII) = eriodictiol-7-O-glucósido, (XVII) = naringenina-7-O-glucósido, (XIX) = eriodictiol, (XVI) = naringenina.

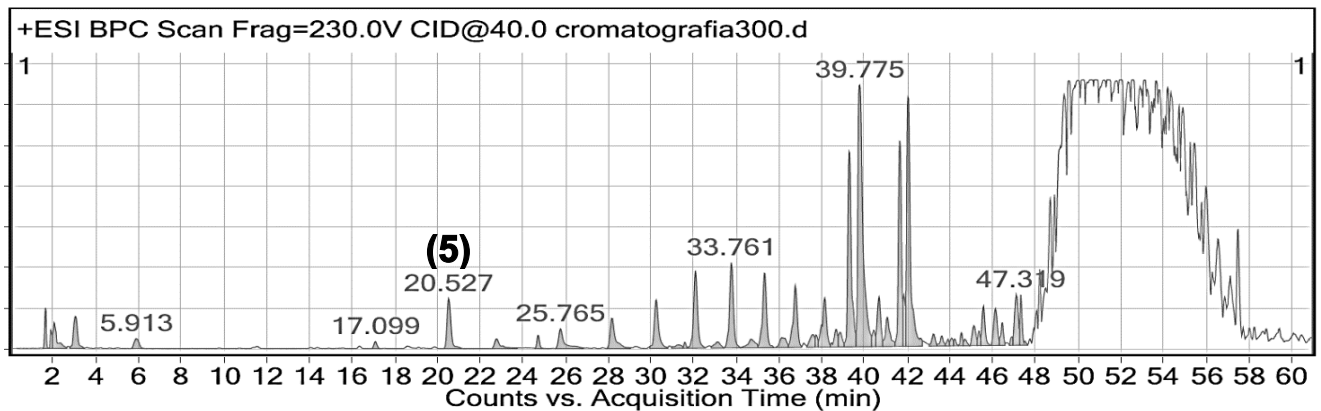


Figura C-8: Cromatograma del extracto acuoso de los tallos de *C. dodecandra*. (5) = ácido rosmarínico.

Cuadro II: Iones observados en los espectros de masas (EM-ESI⁺) de cada estándar.

Nombre	Tiempo de retención (TR, min.)	Peso molecular	Iones (m/z)
alantoína (1)	2.04	158.12	181.12 [M+Na] ⁺
manghaslina (4)	11.78	756.66	779.6 [M+Na] ⁺ , 633.14 ¹ , 303.05 ²
rutina (V)	16.78	610.52	633.15 [M+Na] ⁺ , 303.05 ²
ácido rosmarínico (5)	18.50	360.32	383.06 [M+Na] ⁺ , 163.03 ³
eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII)	18.55	450.40	473.11 [M+Na] ⁺ , 289.07 ⁴ , 153.02 ⁵
naringenina-7-O-glucósido (XVII)	23.91	434.40	457.11 [M+Na] ⁺ , 311.02 ⁴ , 153.02 ⁵
eriodictiol (XIX)	24.67	288.26	327.02 [M+K] ⁺ , 153.02 ⁶
naringenina (XVI)	29.46	272.26	311.02 [M+K] ⁺ , 153.02 ⁶

¹ = [M-ramnosa], ² = [M-glucosa-ramnosa], ³ = [M-C₉H₉O₅], ⁴ = [M-glucosa], ⁵ = [4- C₈H₈O₂], ⁶ = [M-C₈H₈O₂]

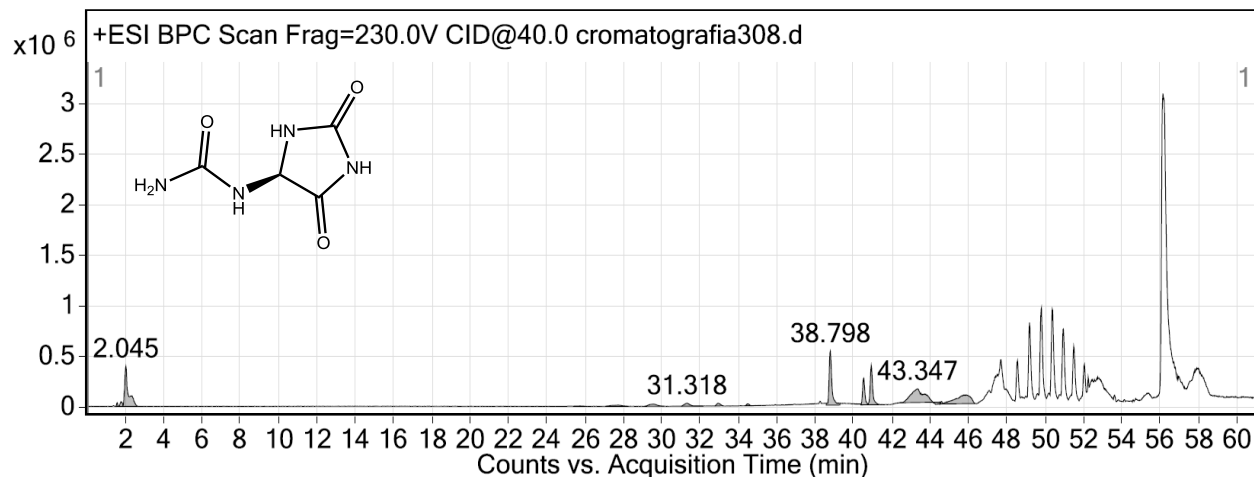


Figura C- 9: Cromatograma de alantoína (1), TR: 2.04.

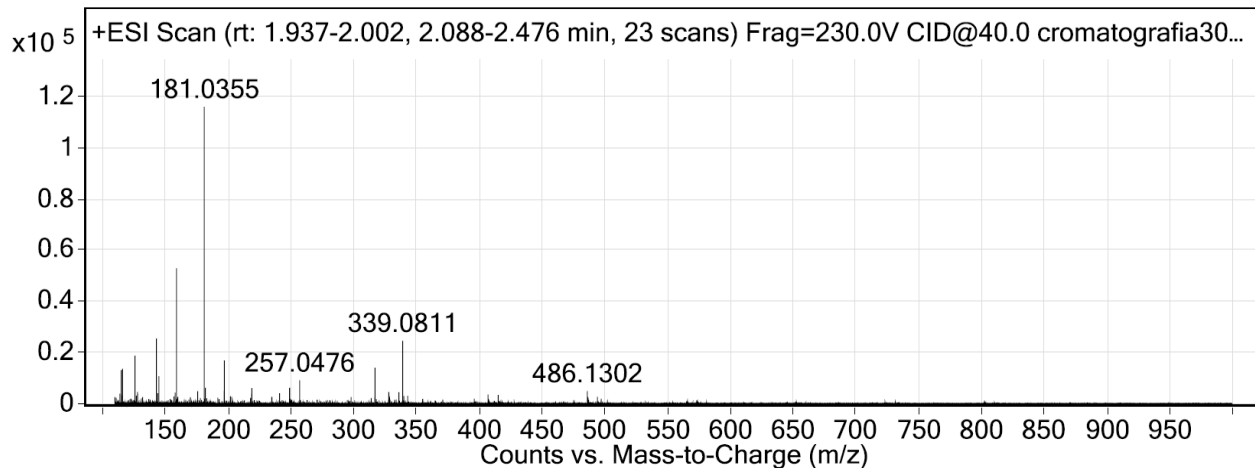


Figura C- 10: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de alantoína (1).

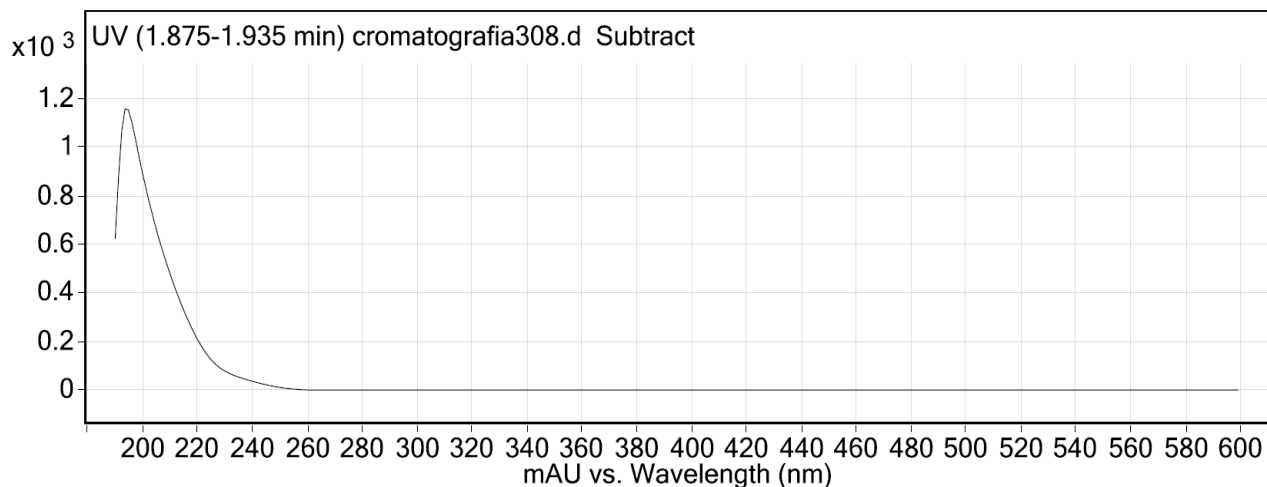


Figura C-11: Espectro UV (DAD) de alantoína (1).

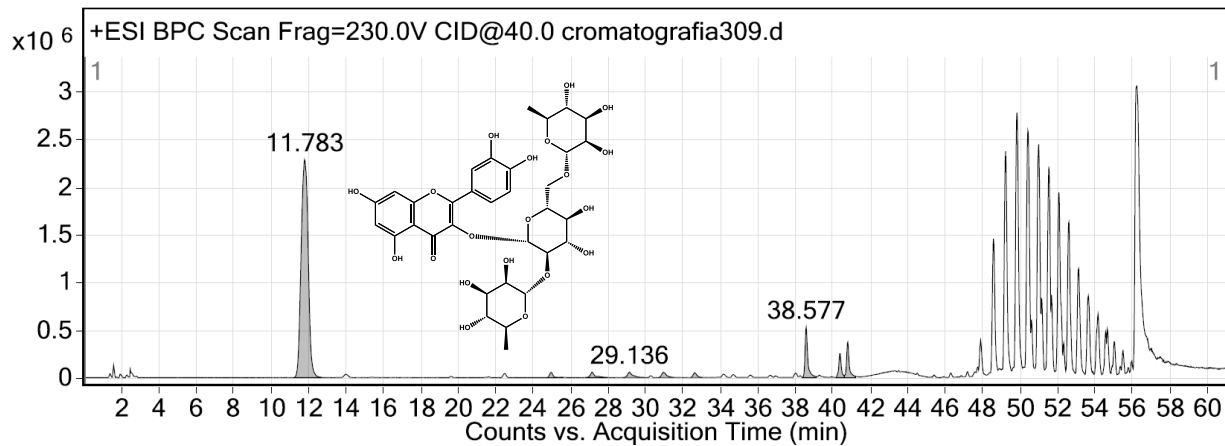


Figura C- 12: Cromatograma de manghaslina (4), TR: 11.78.

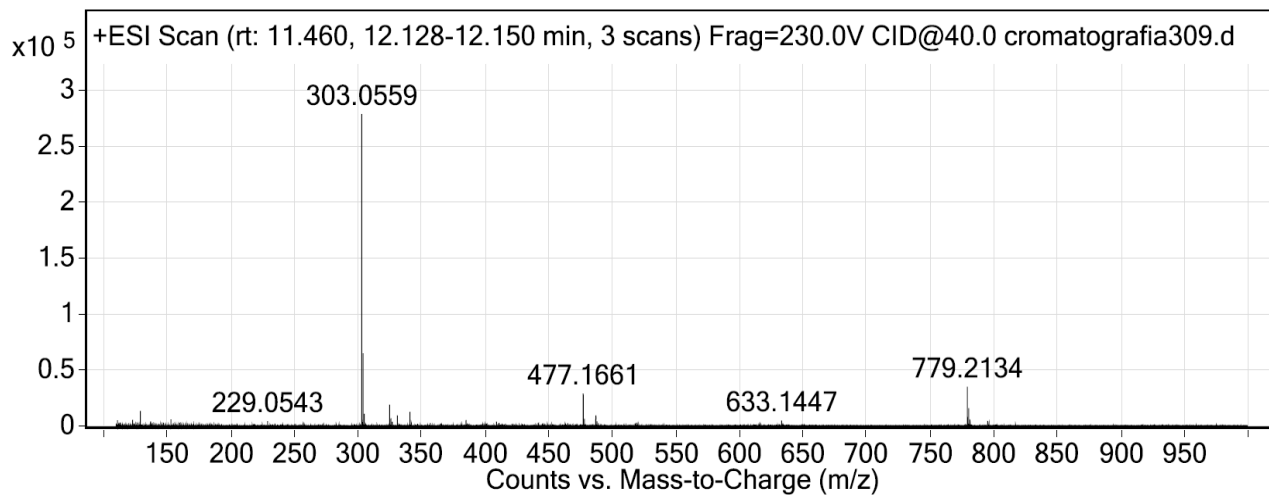


Figura C- 13: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de manghaslina (4).

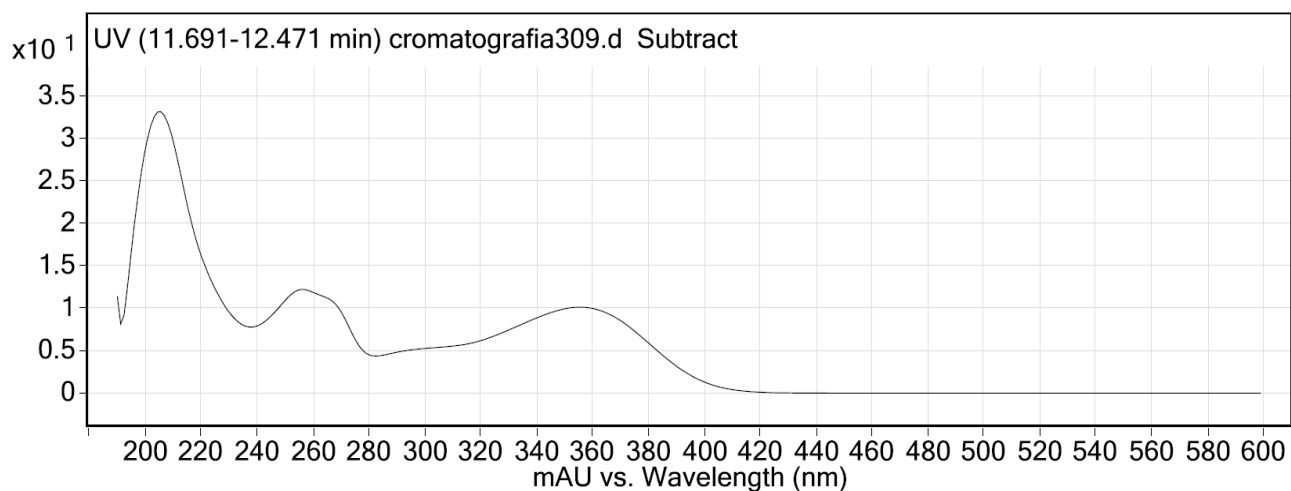


Figura C- 14: Espectro UV (DAD) de manghaslina (4).

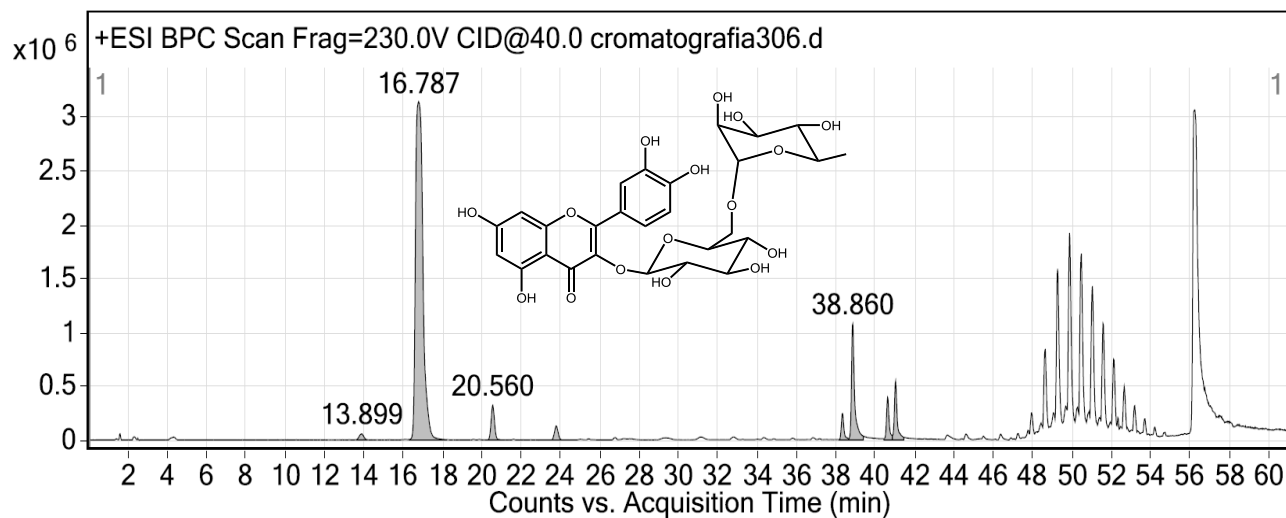


Figura C-15: Cromatograma de rutina (V), TR: 16.78.

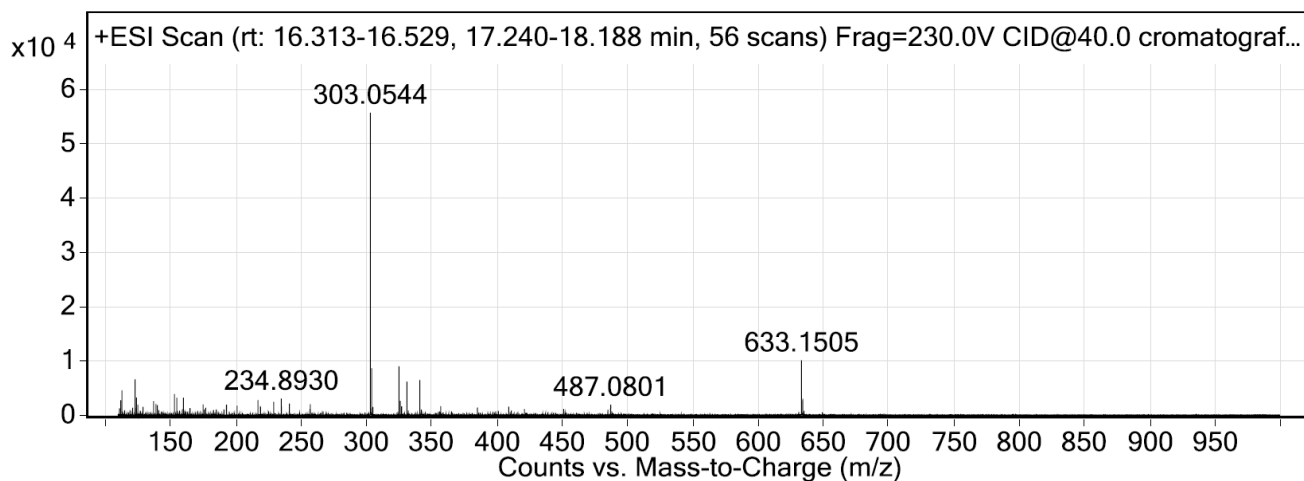


Figura C-16: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de rutina (V).

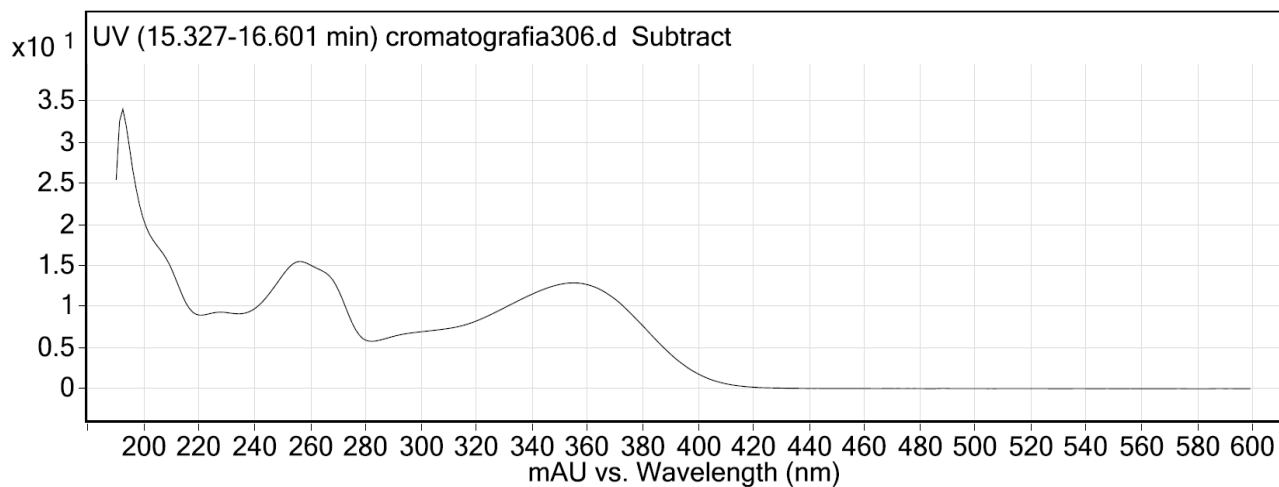


Figura C-17: Espectro UV (DAD) de rutina (V).

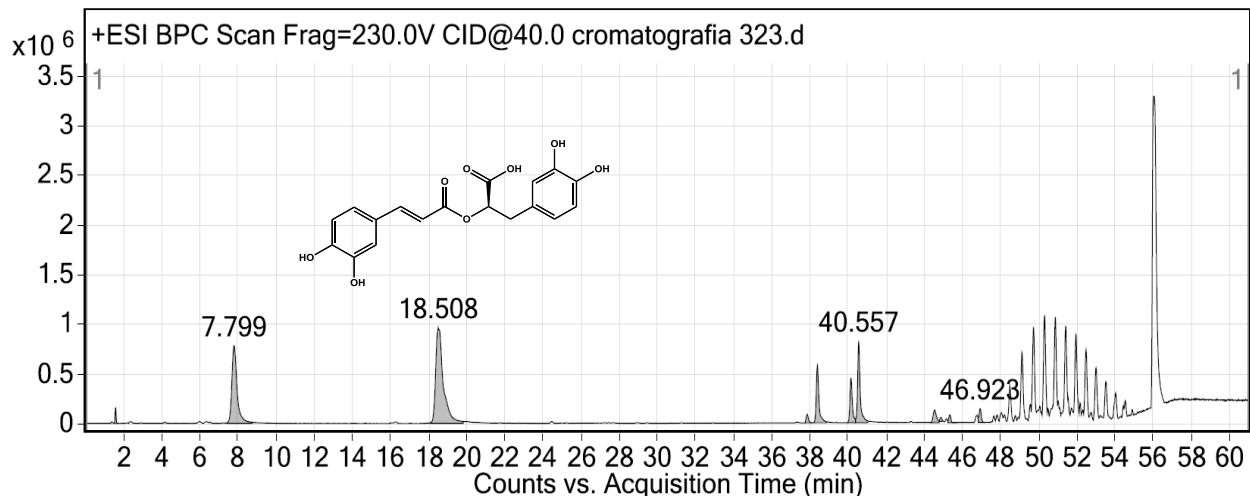


Figura C-18: Cromatograma de ácido rosmarínico (5), TR: 18.50.

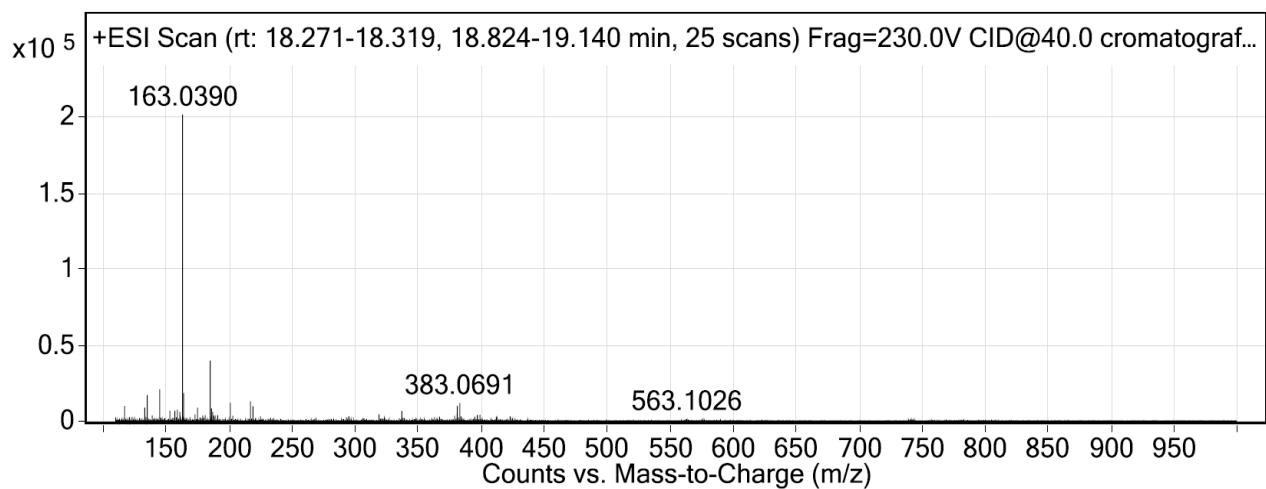


Figura C-19: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de ácido rosmarínico (5).

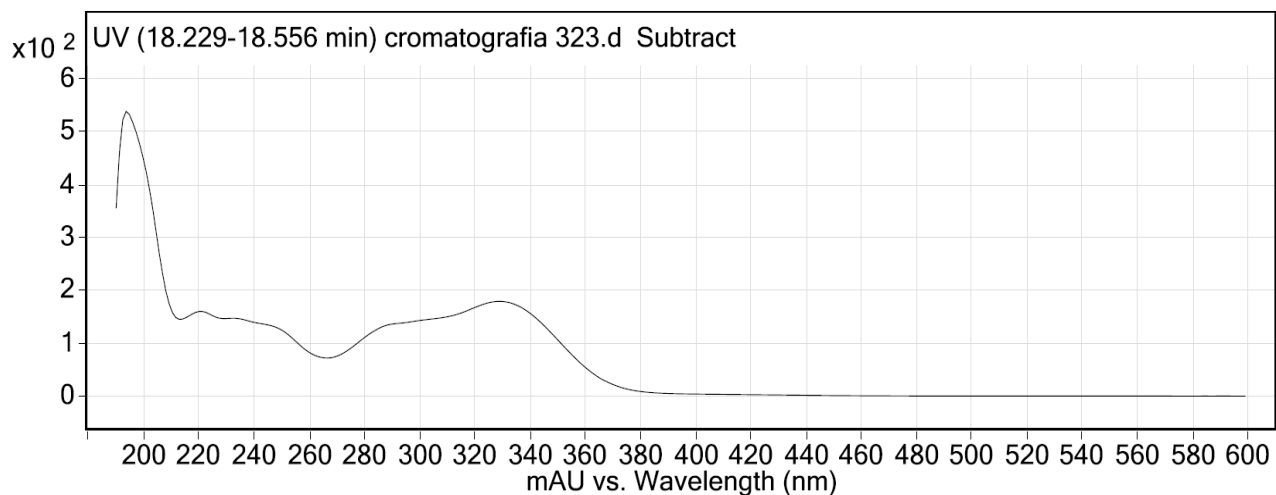


Figura C- 1: Espectro UV (DAD) de ácido rosmarínico (5).

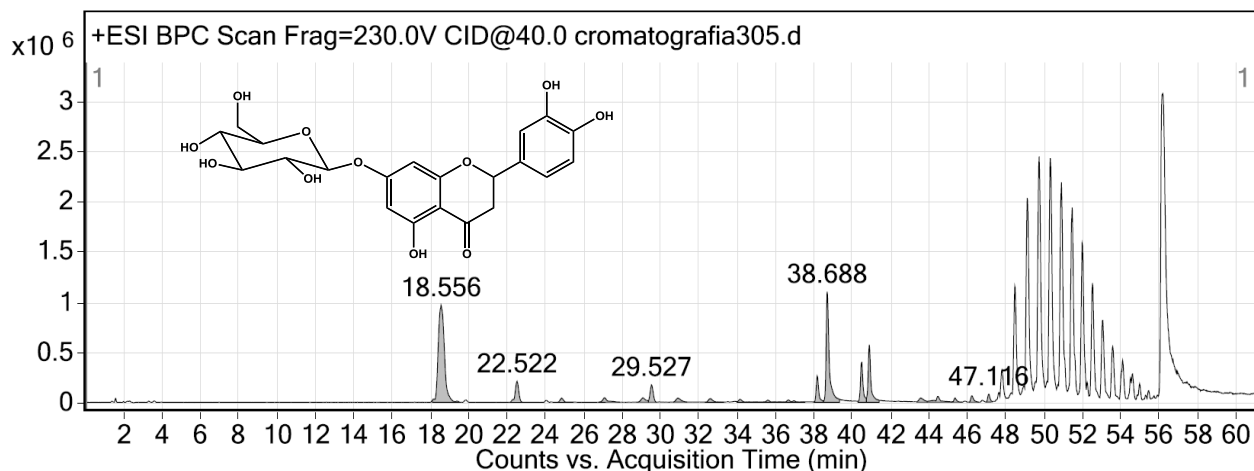


Figura C-21: Cromatograma de eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII), TR: 18.55.

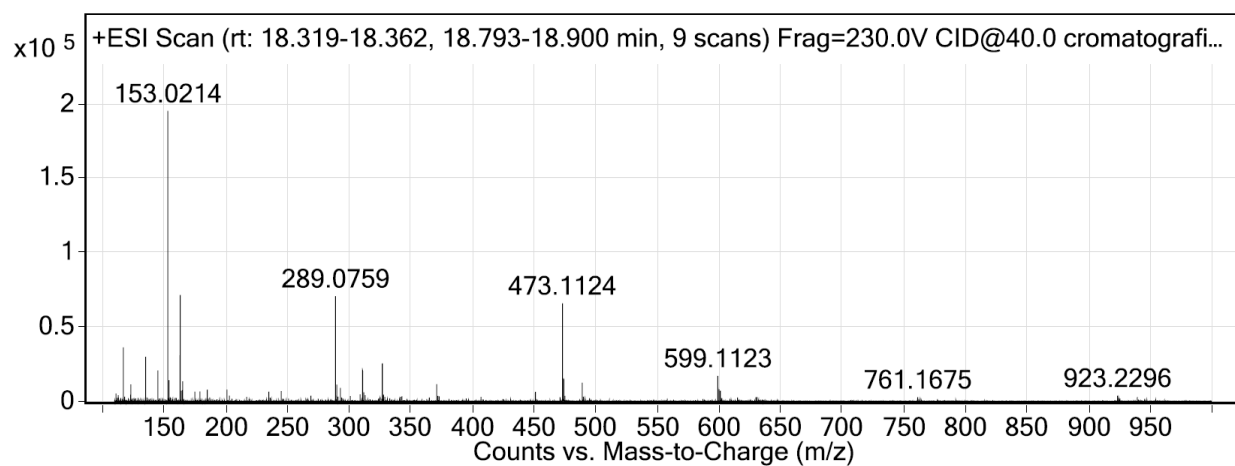


Figura C-22: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII).

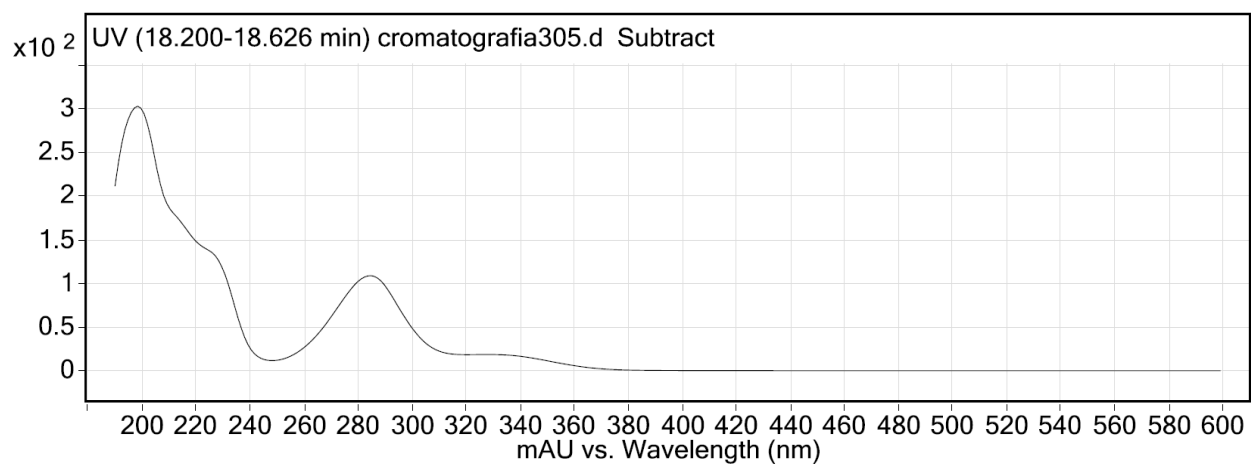


Figura C- 23: Espectro UV (DAD) de eriodictiol-7-O-glucósido (XVIII).

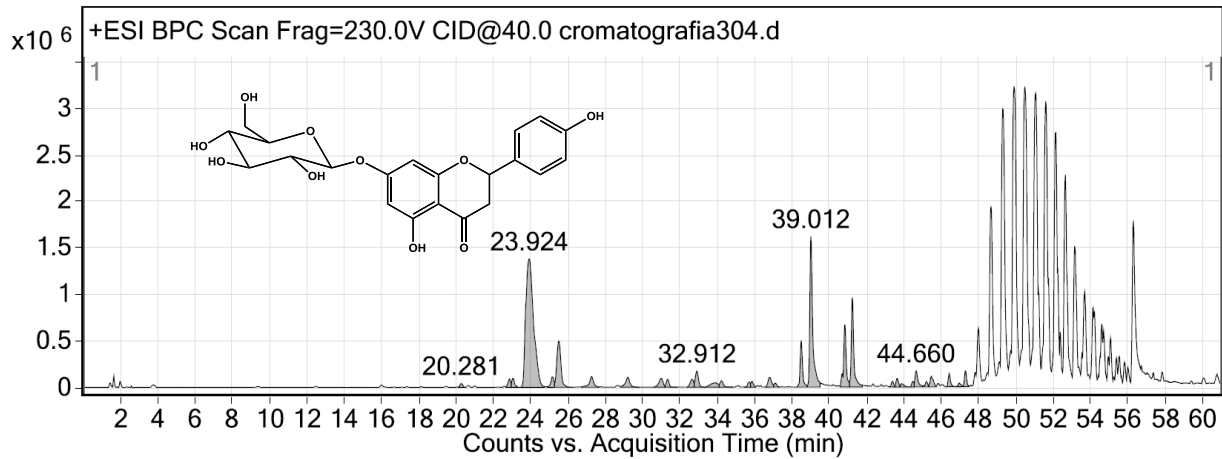


Figura C- 24: Cromatograma de naringenina-7-O-glucósido (XVII), TR: 23.92.

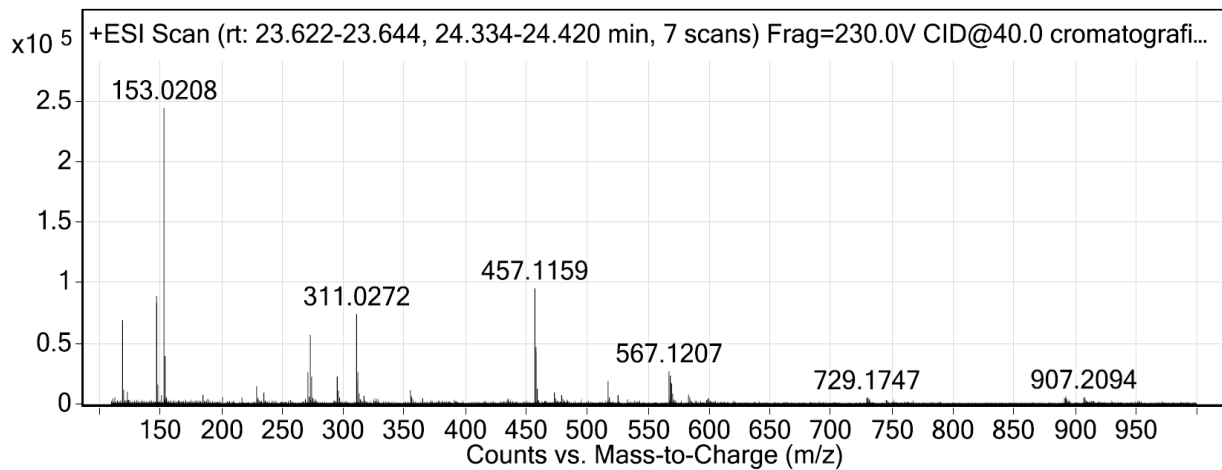


Figura C- 25: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de naringenina-7-O-glucósido (XVII).

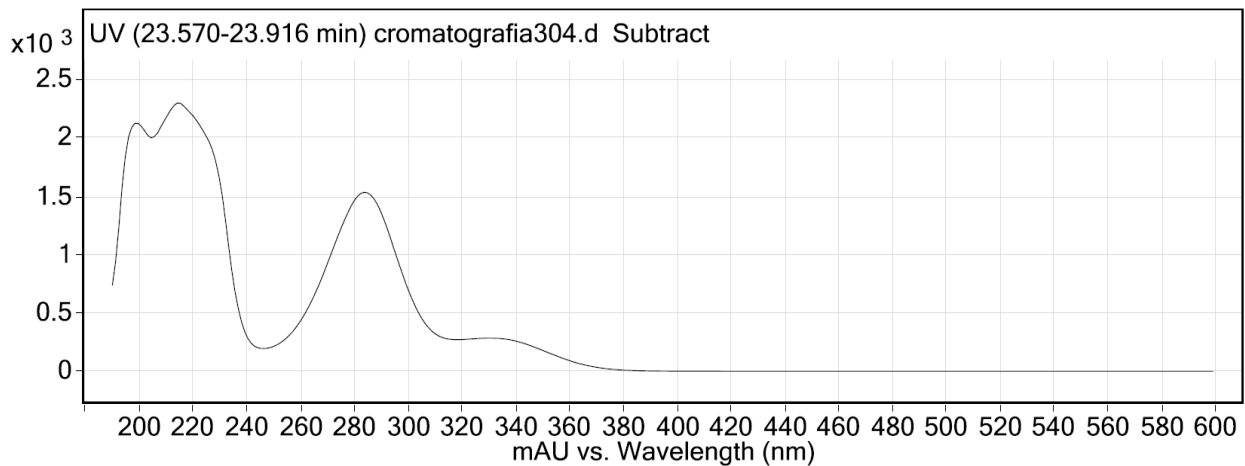


Figura C- 26: Espectro UV (DAD) de naringenina-7-O-glucósido (XVII).

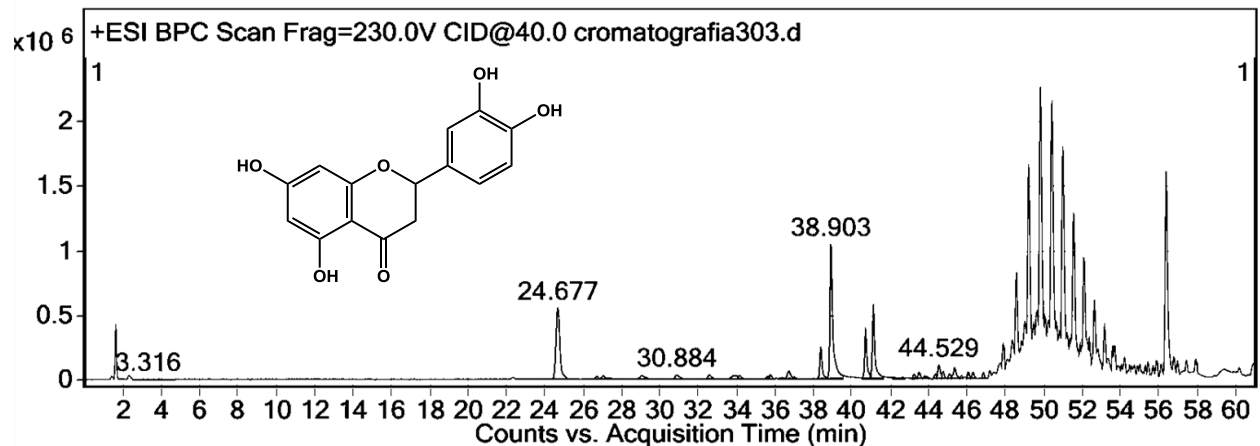


Figura C-27: Cromatograma de eriodictiol (XIX), TR: 26.67.

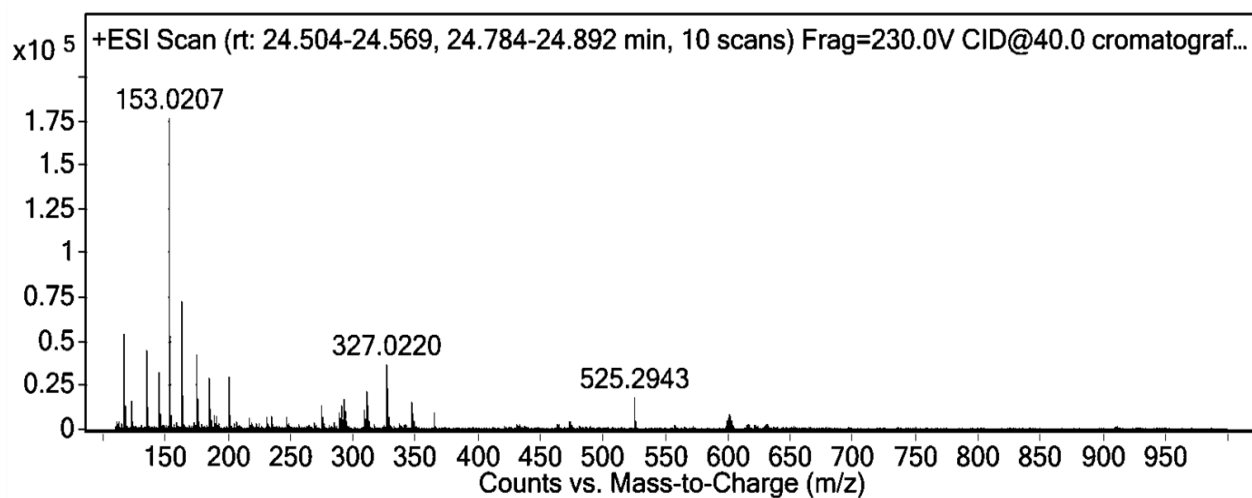


Figura C-28: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de eriodictiol (XIX).

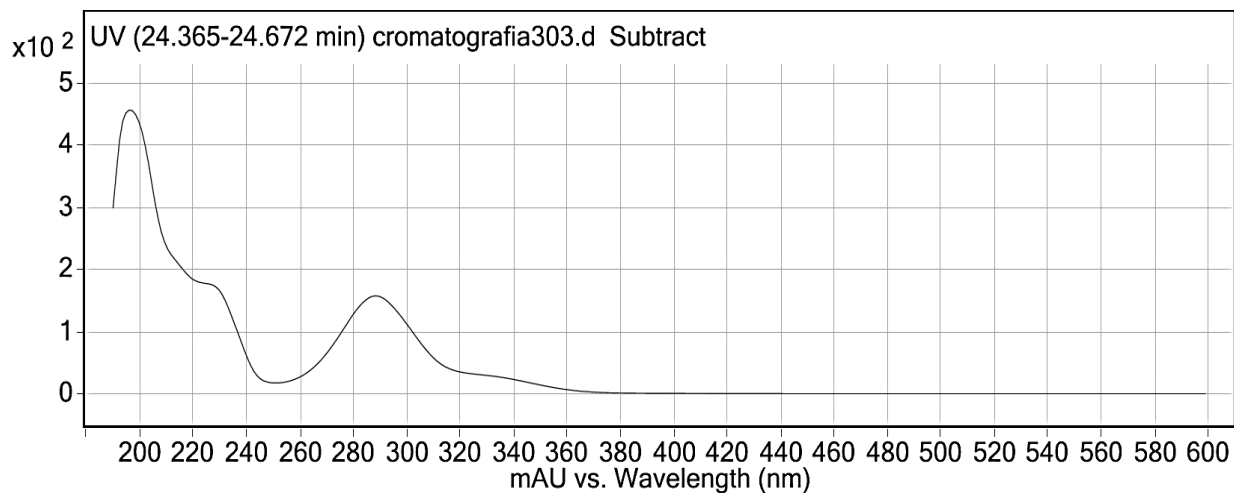


Figura C-29: Espectro UV (DAD) de eriodictiol (XIX).

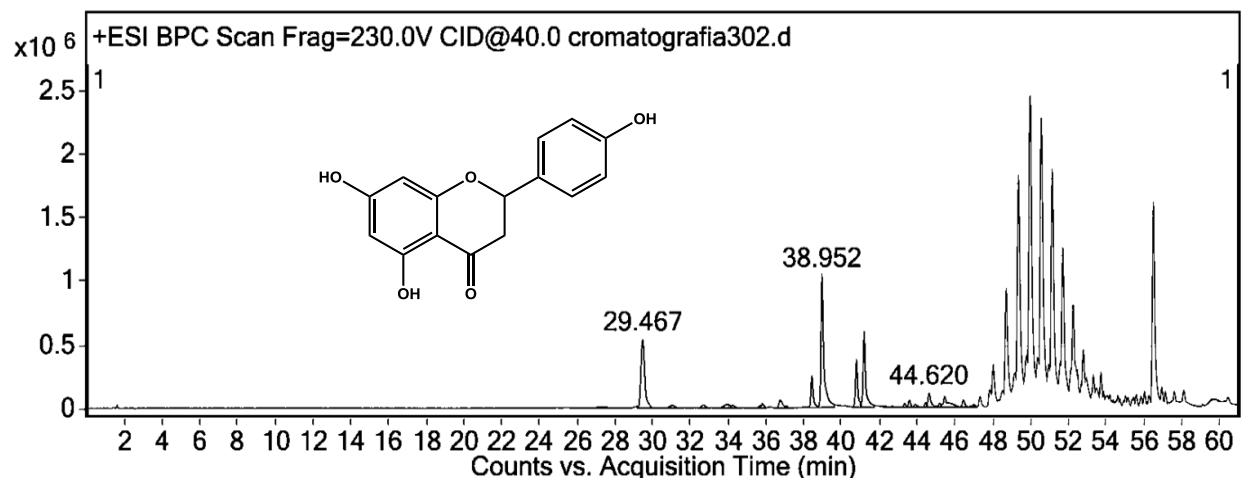


Figura C-30: Cromatograma de naringenina (XVI), TR: 29.46.

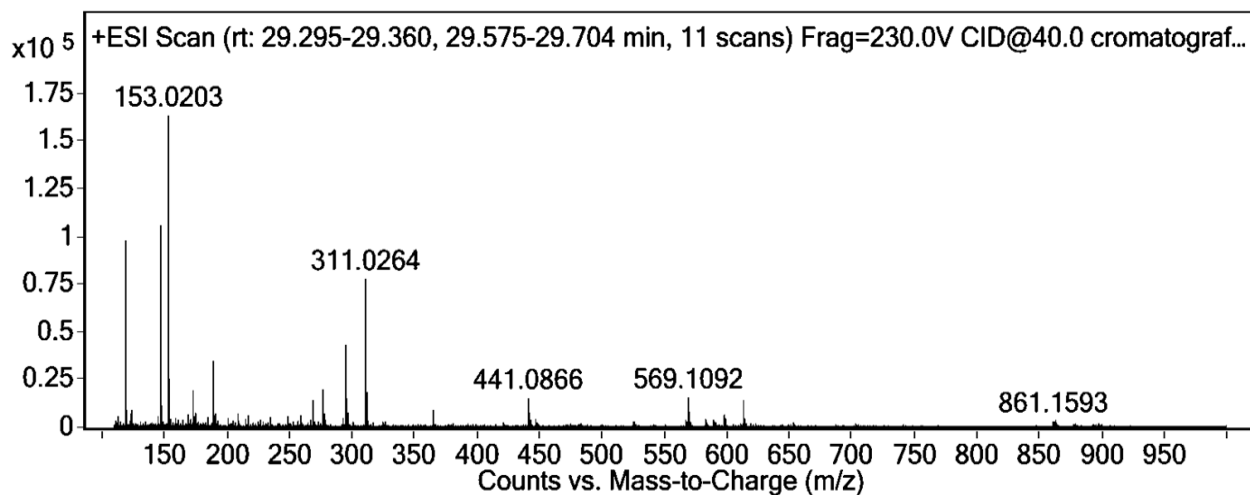


Figura C- 3: Espectro de masas [EM-ESI⁺] de naringenina (XVI).

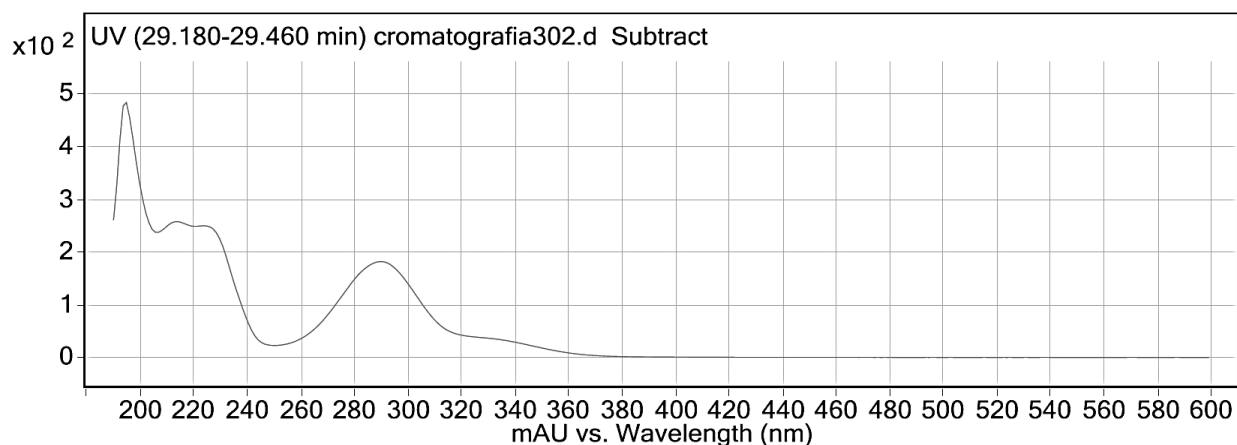


Figura C-32: Espectro UV (DAD) de naringenina (XVI).