



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Campus Tuxtepec

Estudio fitoquímico del extracto metanólico de
las partes aéreas de *Aristolochia orbicularis*

Tesis

Para obtener el título de Licenciado en
Ciencias Químicas presenta:

Ana Karen Díaz Mora

Asesor: Dr. Lemuel Pérez Picaso

Co Asesor: Dra. María Yolanda Ríos Gómez

Junio 2016

ÍNDICE

	Pág.
Abreviaturas y símbolos	3
Índice de figuras	5
Índice de espectros	7
Índice de tablas	9
Resumen	10
1. INTRODUCCIÓN	12
2. ANTECEDENTES	14
3. JUSTIFICACIÓN	31
4. HIPÓTESIS	31
5. OBJETIVOS	31
6. PARTE EXPERIMENTAL	32
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
8. CONCLUSIONES	80
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

FTIR	Fourier transform infrared spectroscopy
RMN	Resonancia magnética nuclear
¹H RMN	Resonancia magnética de protón
¹³C RMN	Resonancia magnética de carbono 13
IR	Infrarrojo
TMS	Tetrametilsilano
UV	Ultravioleta
CCF	Cromatografía en capa fina
COSY	correlation spectroscopy
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Spectrum Quantum Correlation</i>
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i>
CDCl₃	Cloroformo deuterado
D₂O	Agua deuterada
MHz	Megahertz (Megahercio)
SDBS	Spectral Database for Organic Compounds
Hz	Hertz (Hercio)
CD₃OD	Metanol deuterado
ppm	Partes por millón
δ	Desplazamiento químico en RMN
HMF	Hidroximetilfurfural
ν	Frecuencia en IR

cm	Centímetros
g	Gramos
ml	Mililitros
mm	Milímetros
d	Doble
dd	Doble de dobles
s	Simple
t	Triple
m	Multiplete
dh	Doble de heptupletes
h	Heptuplete
R_f	Factor de retardo
5-P	5-fosfato
CoA	Coenzima A
AcOEt	Acetato de etilo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento en RMN

ÍNDICE DE FIGURAS

Núm. de figura	Título	Pág.
1	Unidades básicas de construcción para metabolitos.	13
2	Ácidos aristolóquicos y ésteres para especies de <i>Aristolochia</i> .	17
3	Aristolactamas de especies de <i>Aristolochias</i> .	18
4	Aporfinas para especies de <i>Aristolochias</i> .	19
5	Protoberberinas para especies de <i>Aristolochias</i> .	21
6	Isoquinolinas para especies de <i>Aristolochias</i> .	21
7	Bencilisoquinolina para especies de <i>Aristolochias</i> .	22
8	Amidas para especies de <i>Aristolochias</i> .	23
9	Flavonoides para especies de <i>Aristolochias</i> .	24
10	Lignanós para especies de <i>Aristolochias</i> .	25
11	Terpenoides para especies de <i>Aristolochias</i> .	27
12	Bifenil éteres para especies de <i>Aristolochias</i> .	27
13	Cumarinas para especies de <i>Aristolochias</i> .	28
14	Bencenoides para especies de <i>Aristolochias</i> .	29
15	Esteroides y otros compuestos para especies de <i>Aristolochias</i> .	29
16	Hojas, flores, raíz y frutos de <i>Aristolochia orbicularis</i> .	30

17	Eje de rotación C² para el compuesto 1	45
18	Compuesto 1	47
19	Interacciones entre los núcleos de ¹H y ¹³C en el HMBC.	49
20	Esqueleto básico de las aristolactamas	62
21	Compuesto 5	64
22	5-hidroximetilfurfural	69
23	Compuesto 7	74

ÍNDICE DE ESPECTROS

Núm. De Espectro	Título	Pág.
1	Espectro de ^1H del compuesto 1	44
2	Arriba espectro de DEPT; abajo espectro de ^{13}C del compuesto 1	46
3	Espectro HSQC del compuesto 1	47
4	Espectro HMBC del compuesto 1	48
5	Expansión del espectro HMBC del compuesto 1	49
6	Espectro de RMN del ^1H del compuesto 2	51
7	Expansión del espectro de ^{13}C del compuesto 2	52
8	Espectro de ^1H del compuesto 3	54
9	Espectro COSY del compuesto 3	54
10	Espectro de DEPT del compuesto 3	55
11	Espectro de ^{13}C del compuesto 3	55
12	Espectro de ^1H del compuesto 4	58
13	Espectro de ^{13}C del compuesto 4	59
14	Espectro de ^1H del compuesto 5	62
15	Expansión del espectro de ^1H del compuesto 5	63
16	Espectro de ^{13}C del compuesto 5	64

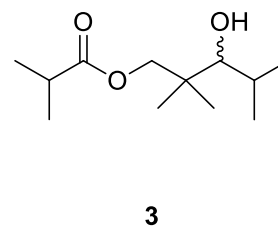
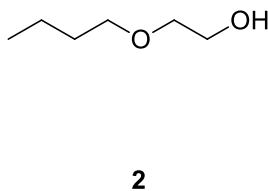
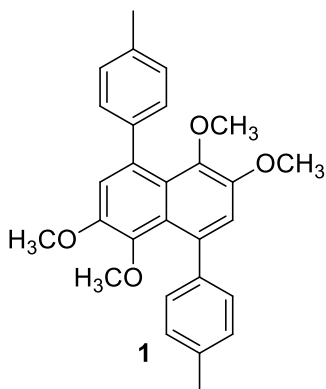
17	Espectro COSY del compuesto 5	66
18	Espectro HSQC del compuesto 5	66
19	Espectro HMBC del compuesto 5	67
20	Espectro IR del compuesto 5	68
21	Espectro de ^1H del compuesto 6	70
22	Espectro de ^{13}C del compuesto 6	70
23	Espectro HSQC del compuesto 6	71
24	Espectro IR del compuesto 6	71
25	Espectro de ^1H del compuesto 7	73
26	Espectro de ^{13}C del compuesto 7	74
27	Espectro de ^1H del compuesto 8	77
28	Espectro de ^{13}C del compuesto 8	77
29	Espectro de COSY del compuesto 8	78
30	Espectro de HSQC del compuesto 8	78

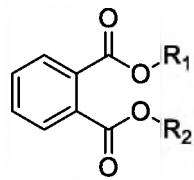
ÍNDICE DE TABLAS

Núm. de tabla	Título	Pág
1	Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 1	45
2	Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 2	51
3	Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 3	56
4	Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 4.	60
5	Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 5.	65
6	Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 6	72
7	Desplazamientos en RMN de ^{13}C del compuesto 7	75
8	Desplazamientos en RMN de ^{13}C del compuesto 8	79

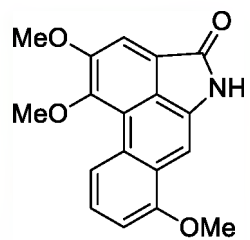
I. RESUMEN

El estudio químico de plantas medicinales ha sido una interesante fuente de estructuras novedosas bioactivas con aplicación en fármacos, lo cual se puede deber al tamizaje evolutivo que presentan las moléculas aisladas de una fuente natural. En el presente trabajo de tesis se describe la purificación y elucidación estructural de cuatro metabolitos secundarios aislados del extracto metanólico de las hojas de la planta *Aristolochia orbicularis*. Se usaron como métodos de purificación las cromatografías en columna y en placa preparativa. Del extracto metanólico se aisló; un diarilnaftaleno novedoso (**1**), taliscanina (**5**), sacarosa (**7**) e hidroximetilfurfural (**1**). Además se caracterizaron cuatro impurezas comunes en los disolventes utilizados. Para la caracterización y elucidación estructural de los compuestos purificados se emplearon principalmente técnicas espectroscópicas de FTIR y RMN en una y dos dimensiones.

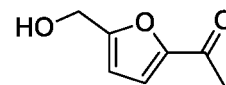




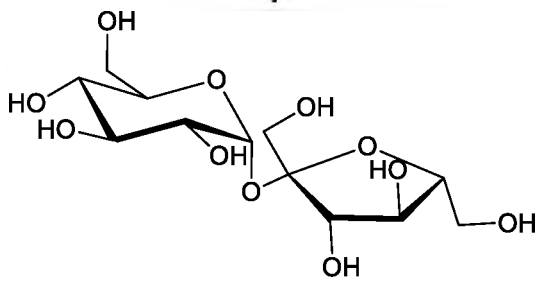
4



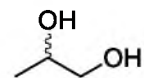
5



6



7



8

II. INTRODUCCIÓN

El estudio de los productos naturales tiene sus orígenes en la inherente curiosidad que a lo largo de la historia ha tenido el hombre acerca de su medio ambiente y en la urgencia de utilizar los recursos a su alcance para cubrir sus necesidades de alimentación, vestido y protección. Con el tiempo, el hombre adquirió habilidades para reconocer diferentes especies de flores, plantas e insectos, de cuyos extractos aisló compuestos coloridos y aromáticos que fueron usados para varios propósitos, entre ellos, la atención primaria de su salud. Los antiguos egipcios describieron varios extractos para uso medicinal como el opio y el aceite de castor. Además, usaron el “pan podrido” para tratar infecciones. Dioscórides, físico romano, estudio el uso medicinal de cientos de plantas y escribió el primer material médico sistemático durante el primer siglo. También describió las propiedades medicinales del vino.¹

El uso de remedios medicinales provenientes de fuentes naturales es una práctica común en algunos países asiáticos y africanos donde el 80% de la población los utiliza y entre 70% y 80% de la población de muchos países desarrollados ha recurrido al menos una vez al uso de la medicina alternativa o complementaria.²

II.I Producto natural

El término de producto natural es aplicado a cualquier compuesto orgánico que es producido por los organismos vivos (plantas, animales, microorganismos, etc.). Los organismos varían ampliamente en su capacidad para sintetizar y transformar químicamente a los compuestos orgánicos. Las plantas son muy eficientes para sintetizar compuestos vía fotosíntesis de materiales inorgánicos encontrados en su medio ambiente, mientras que los demás organismos obtienen sus materias primas principalmente en su dieta por el consumo de plantas. Estos organismos son las fábricas bioquímicas para la biosíntesis de metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos secundarios juegan un papel de suma importancia para la supervivencia de estos organismos. Muchos productos naturales, tal como las hormonas de plantas, tienen un rol regulatorio mientras que otras funcionan como una defensa química

contra pestes. El rol de ciertos compuestos es actuar como mensajeros químicos, tal como atrayentes sexuales (feromonas) en insectos, animales terrestres y marinos, y humanos.

II.II Metabolismo secundario

Los más importantes bloques de construcción en la biosíntesis de metabolitos secundarios son derivados de los intermediarios de acetil-CoA, ácido shikímico, ácido mevalónico, y deoxixilulosa 5-P (figura 1). Estos son utilizados respectivamente en las rutas del acetato, shikimato, mevalonato, y fosfato deoxixilulosa.

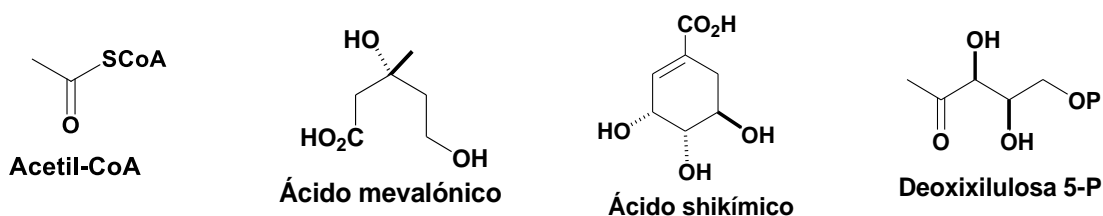


Figura 1. Unidades básicas de construcción para metabolitos secundarios.

Algunos metabolitos secundarios importantes que se forman de la ruta del acetato incluyen fenoles, prostaglandinas y antibióticos macrocíclicos, además de ácidos grasos. Por la ruta del shikimato se obtienen una variedad de fenoles, derivados del ácido cinámico, lignanos y alcaloides. Las rutas del mevalonato y el fosfato deoxixilulosa son conjuntamente responsables para la biosíntesis de un vasto arreglo de metabolitos de terpenoides y esteroides.³

Los metabolitos secundarios incluyen alcaloides, esteroides, terpenoides, aminoácidos, nucleótidos, lípidos, ácidos nucleicos, vitaminas, etc.⁴ La importancia de los productos naturales radica en la propia función biológica para la que son biosintetizados. Pueden ser útiles por sus posibilidades directas como agentes terapéuticos, además de servir como modelos para la preparación de sustancias bioactivas, como materia prima para la síntesis de sustancias de interés farmacológico y/o interés industrial como estructuras privilegiadas usando el concepto de

farmacología para aquellos productos que son capaces de interactuar con diversas proteínas y realizar acciones útiles para la salud en procesos patológicos. Sin lugar a dudas los productos naturales son estructuras biológicamente validadas a través de la co-evolución con el resto de los seres vivos.⁵

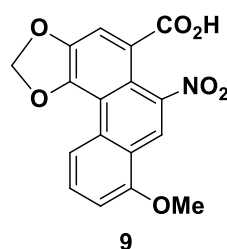
III. ANTECEDENTES

El género *Aristolochia* comprende más de 500 especies de plantas herbáceas perennes que se encuentran distribuidas por todo el mundo en diferentes zonas climáticas. Los arbustos contienen aceites esenciales y se extienden a través del Asia tropical, África, y Sudamérica. Algunas especies de *Aristolochia* se han cultivado para su uso en la medicina tradicional y como plantas ornamentales.^{6,7} El uso de las especies *Aristolochia* en la medicina tradicional tiene una larga historia, principalmente en China. Varias especies se han utilizado como medicamentos y tónicos. Los frutos maduros de *A. debilis*, son usados en China para tratar las mordeduras de serpientes, la tuberculosis y además se usan como agentes antihipertensivos. Las raíces secas de *A. indica* se usan en la medicina tradicional India como anticonceptivo o abortivo. La especie *A. albida*, una planta nativa del oeste de África se ha usado en la medicina tradicional para tratar enfermedades de la piel, disentería, cólicos gastrointestinales y mordeduras de serpientes. Las raíces de *A. argentina*, conocida popularmente como “Charrua”, se usa en Argentina en la medicina tradicional como un anticonceptivo y para tratar la artritis, envenenamiento y prurito. Los tubérculos de *A. brevipes*, comúnmente conocido como “Guaco”, se usa por los tarascos en México para tratar la artritis, diarrea y también para las mordeduras de serpientes. Otra de las especies que se usa en México es *A. grandiflorare*, se dice que las partes aéreas de tienen propiedades antimicrobianas, uterotónicas y citotóxicas. Las raíces y frutos *A. mollissima* se emplean en China como analgésicos, anticancerígenos, antimaláricos y como agentes antiinflamatorios y para tratar el dolor abdominal y el reumatismo.^{6 y referencias ahí citadas}

Con respecto a las actividades biológicas de los miembros de *Aristolochia*, existen varias publicaciones con reportes de su actividad. Extractos de *A. grandiflora* muestran

una moderada actividad contra los efectos hemorrágicos de *Bothrops atrox* venom.⁸ El aceite esencial de *A. indica* presenta actividad antibacterial.⁹ El extracto metanólico de *A. macroura* muestra actividad citotóxica contra carcinoma humano hepatocelular.¹⁰

En los últimos 80 años se han llevado a cabo muchas investigaciones estructurales de los metabolitos presentes en las especies de *Aristolochia*. En los estudios fitoquímicos del género se han aislado una variedad de compuestos, siendo los derivados de ácidos aristolóquicos y terpenoides los más ampliamente distribuidos en casi todas las especies de estas plantas. Sin embargo, ahora se conoce que el ácido aristolóquico (**9**) es nefrotóxico, además de que causa fallas renales, cáncer del tracto urinario superior y cáncer hepático. Es una de las sustancias más cancerígenas que se halla descubierto hasta ahora. Por lo que el uso de especies *Aristolochia* en medicinas herbales está prohibido en varios países.^{11, 12}



Lo anterior ha motivado que se incrementen las investigaciones para determinar los metabolitos presentes en las especies de *Aristolochia* y continuar los estudios farmacológicos de extractos y aceites esenciales de especies de este género que presentan diversas actividades biológicas (antibacteriana, antiespasmódica y antiviral, entre otras).^{6,7}

El interés que despiertan las *Aristolochias* está directamente relacionado con la gran variedad de compuestos que se han encontrado: terpenos, alcaloides, esteroides, porfirinas, entre otros. Los compuestos más atractivos son las aristolactamas, las 4,5-dioxoaporfirinas y los derivados del ácido aristolóquico. Estos compuestos se han encontrado en casi todas las especies de *Aristolochias*.

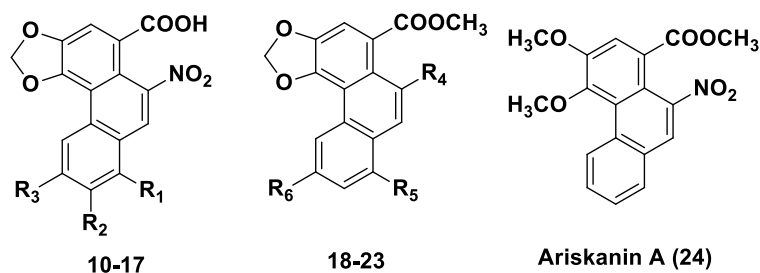
Los metabolitos secundarios de las especies de *Aristolochia* cubren 16 grupos clasificados por sus estructuras químicas, incluyendo ácidos y ésteres aristolóquicos, aristolactamas, aporfirinas, protoberberinas, isoquinolinas, bencilisoquinolinas, amidas,

flavonoides, lignanos, ésteres de bifenilo, cumarinas, tetralonas, terpenoides, benzenoides, esteroides y otros.

Ácidos y ésteres aristolóquicos

Los ácidos aristolóquicos poseen el esqueleto del ácido 3,4-metilendioxi-10-nitrofenantrenico (**9**) y son los responsables de las diversas actividades biológicas de las especies *Aristolochia*. En la figura 2 se enlistan los ocho derivados que se han encontrado en *Aristolochia*. El ácido aristolóquico (**9**) se ha encontrado en casi todas las especies estudiadas. Sin embargo, el interés principal de los estudios recientes se ha enfocado en los aspectos negativos del ácido **9** debido a los reportes que existen sobre su actividad nefrotóxica.¹³ La Agencia Europea para la Evaluación de Productos Medicinales prohibió todos los suplementos alimenticios que contienen **9** y que usan principalmente en los tratamientos de reducción de peso.

Además, se han reportado siete ésteres metílicos del ácido aristolóquico (**18-24**) y sólo uno de estos, el ariskanin A (**24**), no posee el patrón de sustitución 3,4-metilendioxi. Cabe destacar que algunos de los ésteres del ácido aristolóquico, incluyendo al metil éster del ácido aristólico (**22**) y el metil éster del ácido 6-metoxiaristólico (**23**), no poseen el grupo nitro en la posición C-10. La mayoría de estos ácidos denitroaristolóquicos se encontraron en la especie *A. manshuriensis*.¹⁴

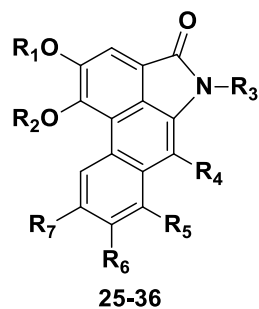


	R ₁	R ₂	R ₃		R ₄	R ₅	R ₆
10	OCH ₃	H	H	18	NO ₂	OCH ₃	OCH ₃
11	H	H	OH	19	NO ₂	OCH ₃	H
12	OCH ₃	OH	H	20	NO ₂	OCH ₃	OH
13	H	H	H	21	NO ₂	OH	H
14	OCH ₃	H	OH	22	H	OCH ₃	OCH ₃
15	OCH ₃	Glc	H	23	H	OCH ₃	H
16	H	OH	H				
17	OH	H	OH				

Figura 2. Ácidos y ésteres aristolóquicos de las especies de *Aristolochia*.

Aristolactamas

Las aristolactamas son consideradas como intermediarios en la ruta biosintética de los ácidos aristolóquicos. Se han reportado doce aristolactamas en las especies de *Aristolochia* (figura 3), seis de estas aristolactamas tienen los grupos de sustitución 3,4-metilendioxi. La aristolactama I (**25**), aristolactama AII (**26**), y aristolactama Ia N-β-D-glucósido (**33**) se encontraron frecuentemente en las especies *Aristolochia*. La aristolactama II (**26**) se encontró en varias especies de *Aristolochia* como una simple aristolactama sin sustituyentes en los anillos B y C. Las aristolactamas 9-oxigenadas son raras en la *Aristolochia* con sólo dos compuestos reportados, **32** y **36**. El compuesto **36** es un ejemplo de aristolactama 9-oxigenada con la sustitución de diglucósidos.⁷



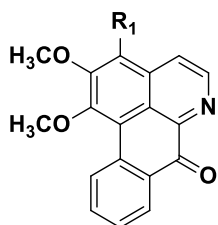
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
25		CH ₂	H	H	OCH ₃	H	H
26	CH ₃	H	H	H	H	H	H
27	CH ₃	CH ₃	H	H	H	H	H
28	H	CH ₃	H	H	OH	OCH ₃	H
29	CH ₃	H	H	H	H	H	OGlc
30	H	CH ₃	H	H	H	H	H
31	CH ₃	H	H	H	H	H	OH
32		CH ₂	Glc	OCH ₃	OCH ₃	H	OH
33		CH ₂	Glc	H	OH	H	H
34		CH ₂	H	H	Glc	H	H
35		CH ₂	H	H	H	H	OH
36		CH ₂	H	OGlc- Glc	OCH ₃	H	H

Figura 3. Aristolactamas de las especies de *Aristolochias*.

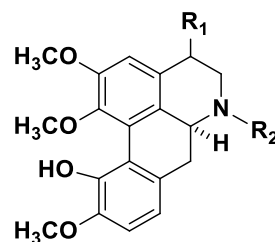
Aporfinas

Se han caracterizado diecisiete aporfinas para especies de *Aristolochia*, en la figura 4 se encuentran 15 de estas estructuras. Las aporfinas N-formil, 6 α ,7-dehidro-N-ormilnornantenina (**49**) y N-formilnornantenina (**50**), se reportaron de *A. brevipes*.¹⁵ La aporfinas cuaternarias magnoflorina (**47**) se encontró en *A. elegans* y *A. gigantea*. La

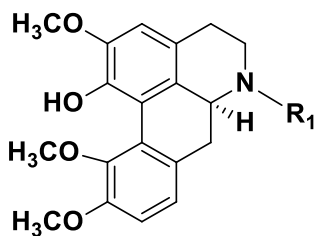
4,5-dioxoaporfina es un pequeño grupo de aporfinas alcaloides y se encuentran en la familia de *Aristolochia ceeae* y se consideran como posibles intermediarios de los precursores de aristolactamas y ácidos aristolóquicos en las plantas. La 4,5-dioxodehidro-asimilobina (**48**) sólo se ha reportado en *A. elegans*.¹⁶ La mayoría de las aporfinas encontradas en las especies de *Aristolochia* poseen el esqueleto básico 4,5-tetrahidro.



	R ₁
37	H
38	OH



	R ₁	R ₂
39	H	— CH ₃
40	H	····· CH ₃
41	H	H
42	— OH	····· CH ₃



	43	44	45	46
R ₁		— CH ₃		

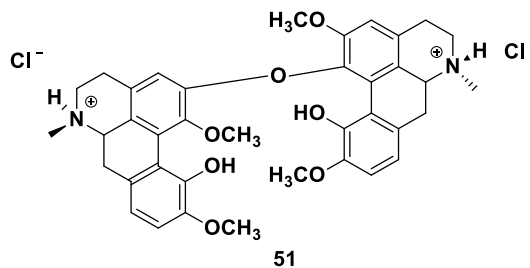
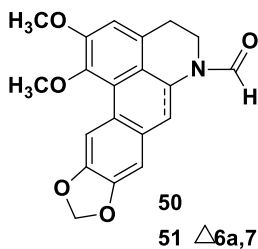
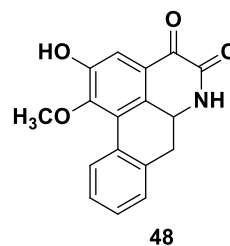
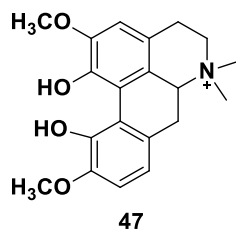


Figura 4. Aporfinas de las especies de *Aristolochias*.

Protoberberinas

Los alcaloides protoberberinas son raros en *Aristolochias*, estos compuestos sólo se han reportado en *A. constricta* (Figura 5).¹⁷ El alcaloide tipo 8-Benciltetrahidroprotoberberina (**52**) se ha obtenido por la introducción del grupo bencil en C-8 de la berberina dando como resultado este inusual esqueleto carbonado.

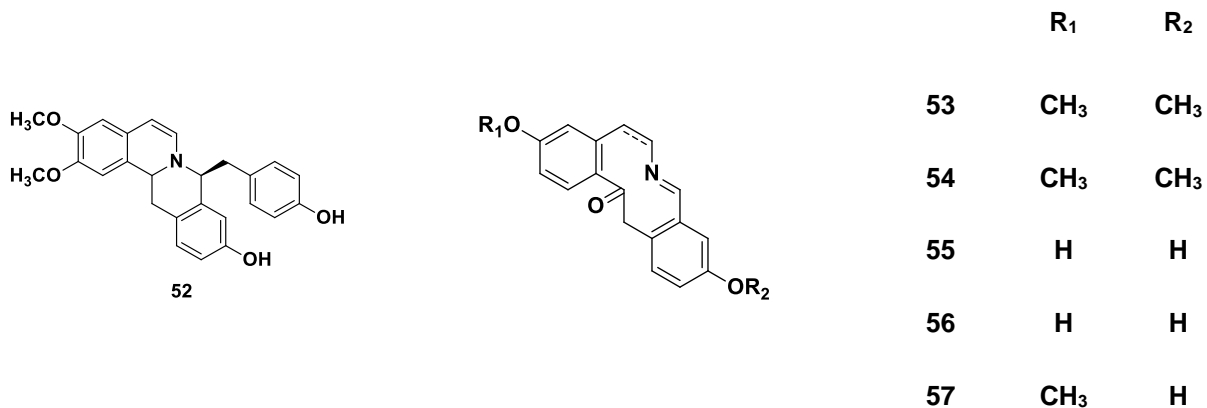
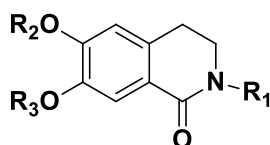


Figura 5. Protoberberinas de las especies de *Aristolochias*.

Isoquinolinas

La presencia de los alcaloides Isoquinolinas **58-62** en el género *Aristolochias* está limitado para *Aristolochia elegans* (figura 6). Todos estos alcaloides reportados poseen el esqueleto básico de tetrahydroisoquinolona. Los alcaloides Isoquinolinas se consideran como intermediarios biogénéticos en el proceso catabólico de los alcaloides bisbenciltetrahydroisoquinolina.¹⁶



	R ₁	R ₂	R ₃
58	H	H	H
59	H	H	CH ₃
60	CH ₃	H	CH ₃
61	H	CH ₃	H
62	CH ₃	CH ₃	CH ₃

Figura 6. Isoquinolinas de las especies de *Aristolochias*.

Bencilisoquinolina

La ocurrencia de bencilisoquinolinas tipo alcaloides, aristoquinolinas A-C (**63-65**) constituyen los primeros reportes de alcaloides N-óxido benzoil benciltetrahydroisoquinolina éter de especies de *Aristolochia* (Figura 7). Estos compuestos proveen la evidencia natural para el proceso catabólico de bisbenciltetrahydroisoquinolinas. Las isoquinolonas, bencilisoquinolinas, bifenil éteres, y alcaloides N-óxido benzil benciltetrahydroisoquinolina éter son derivados biogénéticos de bisbencilisoquinolinas, metabolitos comunes de las especies de *Aristolochia*, en general del proceso catabólico de alcaloides.¹⁶

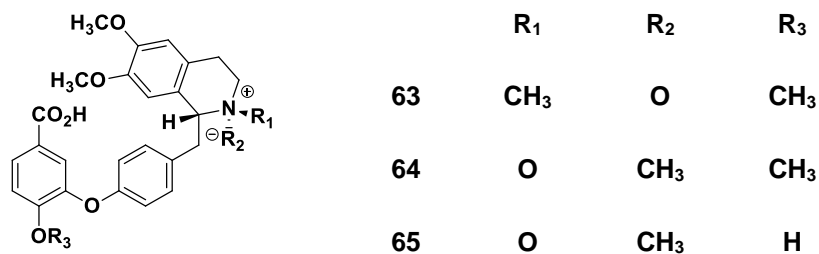
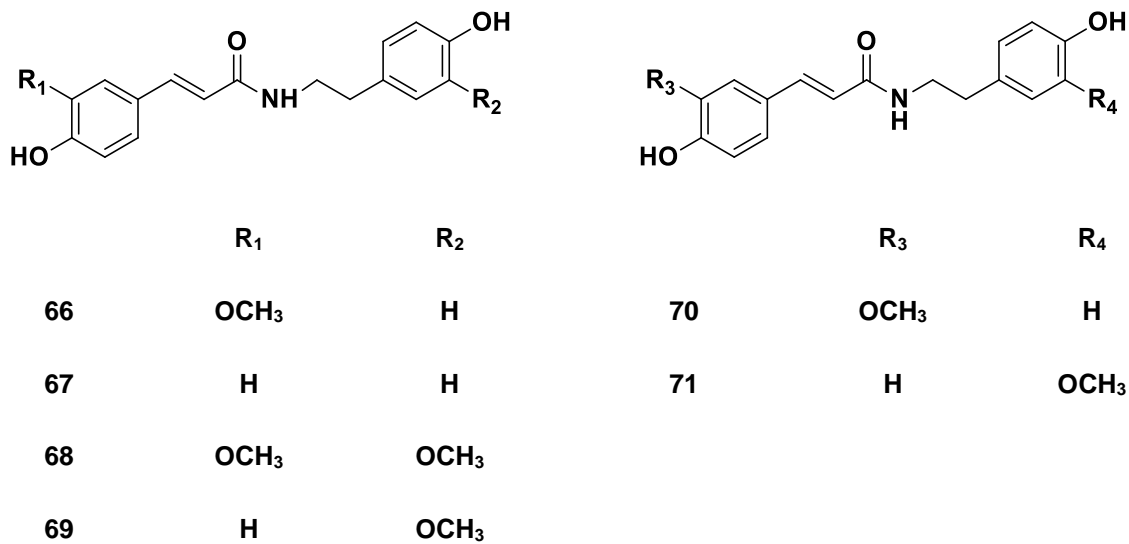


Figura 7. Bencilisoquinolinas para especies de *Aristolochias*.

Amidas

Las amidas son otro tipo de compuestos aislados de varias especies de plantas del género de *Aristolochia* (Figura 8). Una clase de estas amidas contiene una unidad de tiramina conectada a ácidos fenólicos, ácidos cis- o trans-cumáricos y ferúlicos. La aristolamida (**74**) y aristolamida II (**75**) aisladas de *A. manshuriensis* contienen el grupo –CONH₂ en C-1 el cual posee el esqueleto básico del fenantreno, otra clase de amidas reportadas para las especies *Aristolochia*.¹⁴



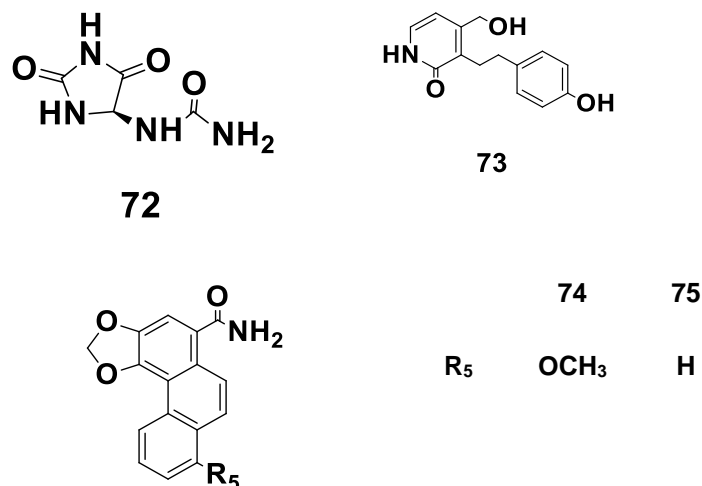
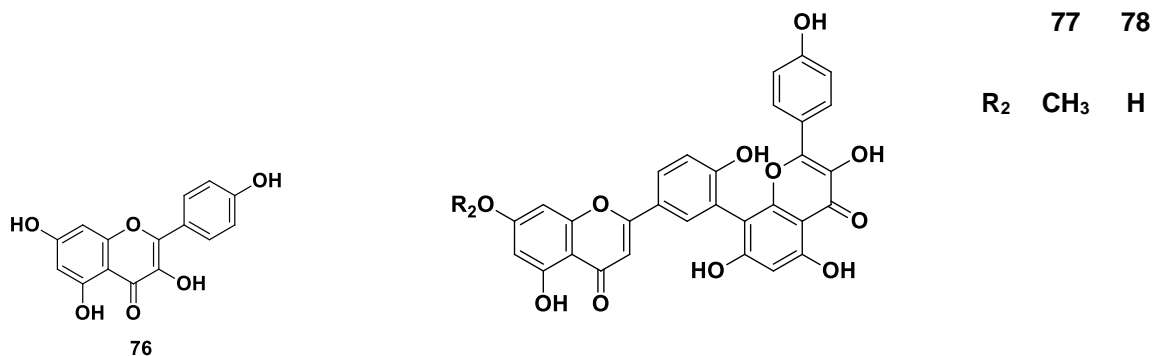


Figura 8. Amidas de las especies de *Aristolochias*.

Flavonoides

Los flavonoides son de mucho interés debido a su diversidad estructural y a su importancia biológica y ecológica. Los flavonoides afectan las interacciones de las plantas con sus microsimbiontes, insectos predadores y polinizadores, y también tienen una función en la pigmentación, además de que actúan como protectores contra la irradiación UV. La mayoría de las plantas superiores producen flavonoides, sin embargo, algunos de ellos son compuestos específicos que son acumulados durante el crecimiento y desarrollo de las plantas.

Seis bisflavonas, un dímero inusual chalconaflavona y dos tetrámeros fueron caracterizados de *A. ridícula* (Figure 8).¹⁸



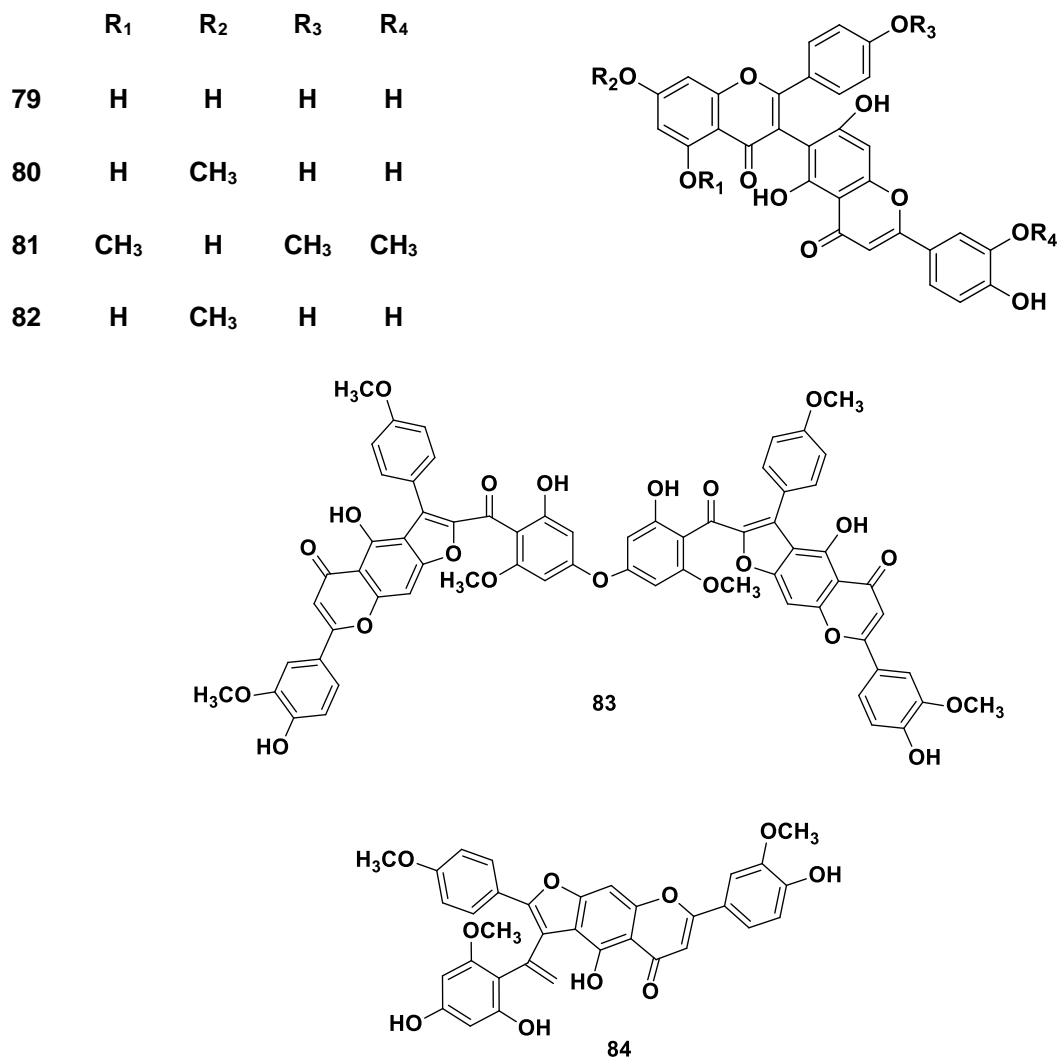


Figura 9. Flavonoides de las especies de *Aristolochias*.

Lignanós

Los lignanos son otro tipo importante de metabolitos que se encuentran en varias especies de *Aristolochia*. Hay cinco esqueletos básicos de neolignanós y lignanos con una amplia diversidad estructural (Figura 10), los diarildimetiltetrahidrofuranoides, dibencilbutanoides, benzofuranos, y bisepoxilignanós. Los 2,5-diaril-3,4-dimetiltetrahidrofuranoides **85-91** fueron caracterizados de las raíz de *A. arcuata*.¹⁹ Los dibencilbutano tipo lignanos son los más comunes en las especies de *Aristolochia*. Los benzofurano tipo lignano sólo se han reportados de *A. taliscana*. El otro tipo de lignanos

que se encuentran en *las especies de Aristolochia* son los bisepoxilignanos reportados de *A. cymbifera*, *A. elegans*, *A. gigantea*, and *A. malmeana*.²⁰

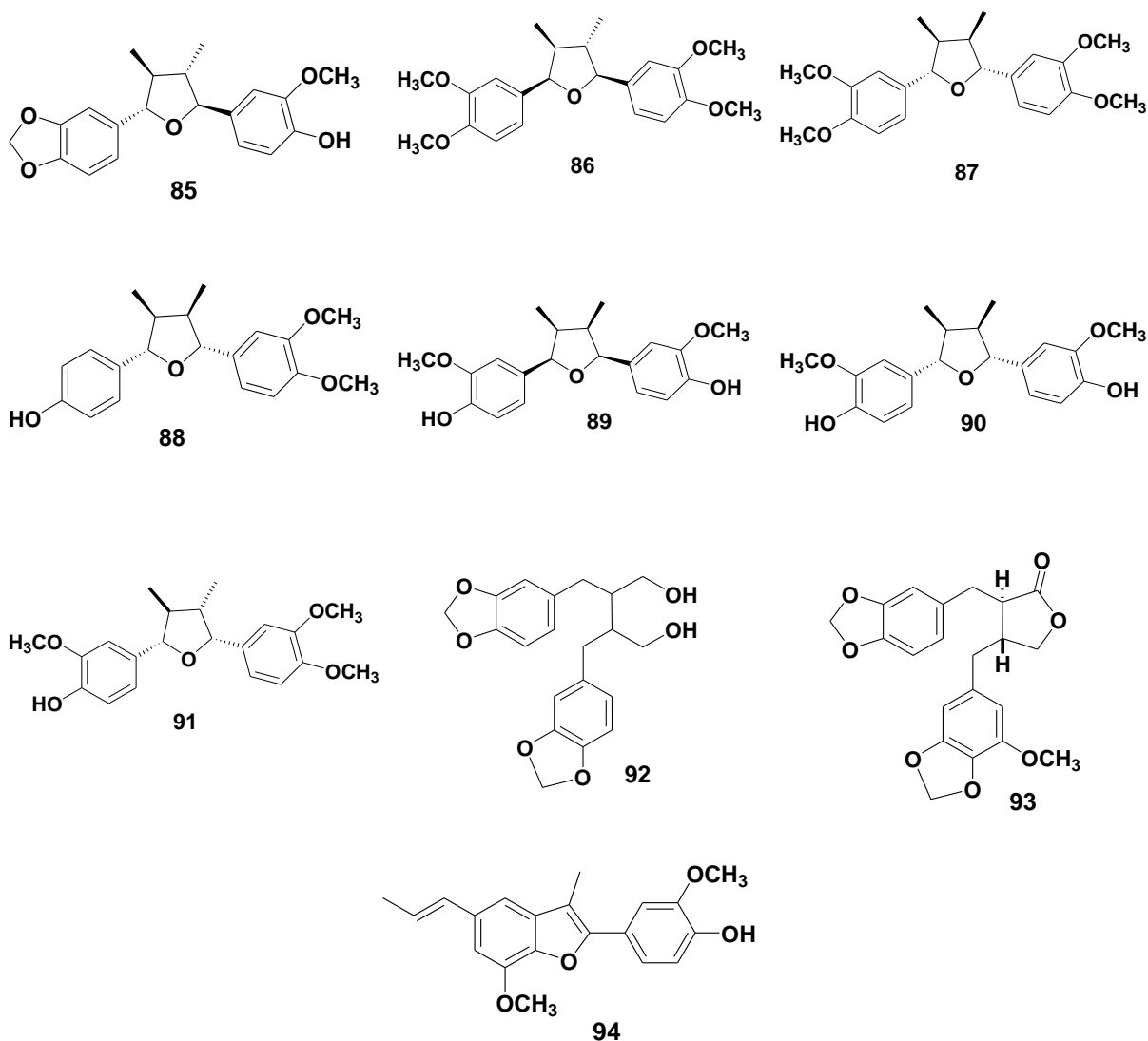


Figura 10. Lignanos de las especies de *Aristolochias*.

Terpenoides

Hay muchos terpenoides caracterizados para las especies de *Aristolochia*,¹¹ en la figura 11 aparecen algunos de los encontrados en el periodo 2004-2011. Sólo el monoterpeno 3-hidroxi- α -terpineol (**95**), se identificó de las raíces de *A. brevipes*.¹⁵ Tres Sesquiterpenoides, cadaleno (**96**), aristololida (**97**), y E-nerolidol (**98**) tienen los

esqueletos básicos del cadinano, bourbonanos, y farnesano respectivamente.^{16, 21} Los diterpenoides con tres tipos de esqueletos de C₂₀ constituyen el grupo más grande de metabolitos terpenoides en *Aristolochia*.

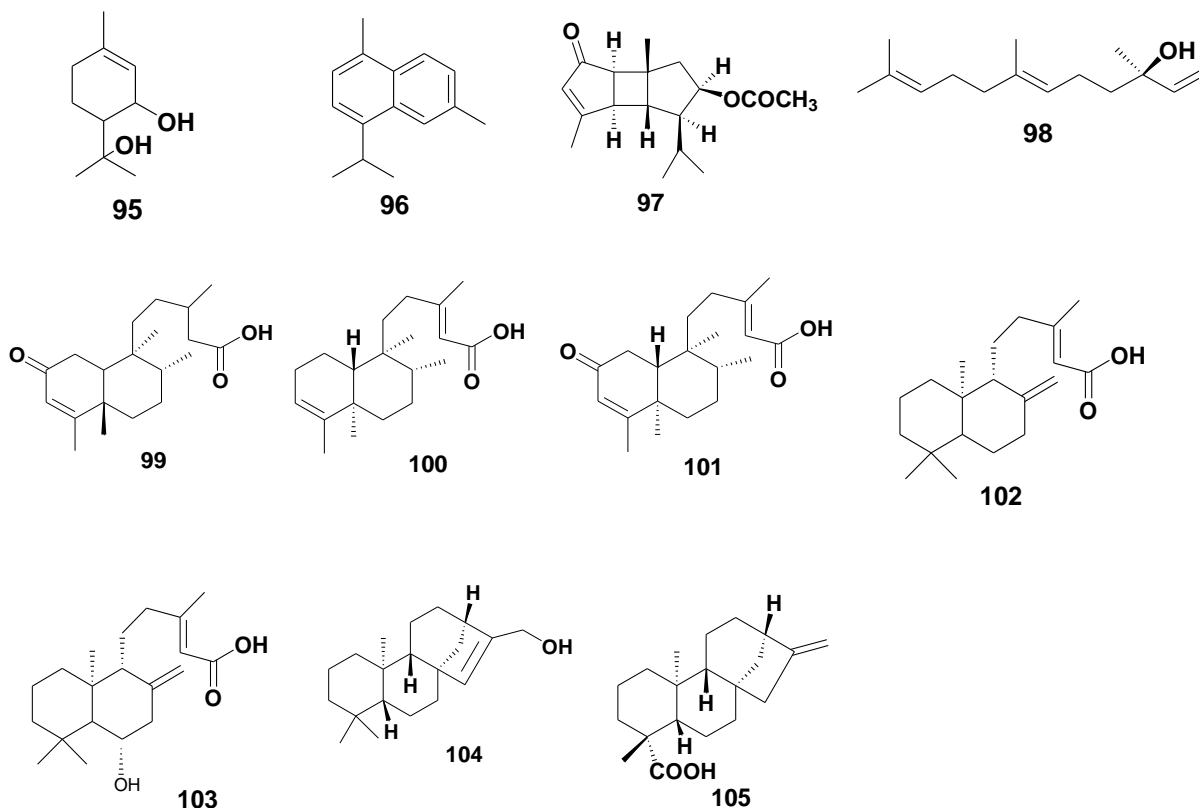


Figura 11. Terpenoides de las especies de *Aristolochias*.

Bifenil éteres

Se han reportado siete bifenil éteres, incluyen las aristoginas **106-111** y el ácido 4-metoxi-3,4-oxidibenzoico (**112**), todos estos compuestos sólo se han reportado en *Aristolochia elegans* (Figura 12). Son considerados uno de los productos finales en el proceso catabólico de alcaloides bisbencilisoquinolinas.¹⁶

	R ₁	R ₂	R ₃	
106	CH ₃	CO ₂ H	CO ₂ OH	
107	CH ₃	CHO	CO ₂ CH ₃	
108	CH ₃	CO ₂ CH ₃	CHO	
109	CH ₃	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	
110	H	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	
111	CH ₃	CO ₂ CH ₃	CO ₂ CH ₃	

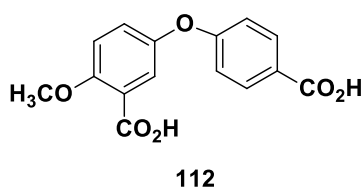


Figura 12. Bifenil éteres de las especies de *Aristolochias*.

Cumarinas

Aunque sólo dos cumarinas se han caracterizado, 7,9-dimetoxitariacuripirona (**113**) y 9-metoxitariacuripironeno (**114**) de las raíces de *Aristolochia brevipes*, estos constituyentes tienen una significativa actividad fisiológica (figura 13).¹⁵



Figura 13. Cumarinas de las especies de *Aristolochias*.

Bencenoides

De las especies de *Aristolochia* se han aislado derivados de bencenoides que incluyen fenilmetanoides y Fenilpropanoides (figura 14). Cuatro derivados simples de bencenoide, **115-118**, se aislaron de las hojas y raíces de *A. elegans*.¹⁶ Ocho Fenilpropanoides, entre ellas las agliconas **119-122** se aislaron de *A. elegans*.

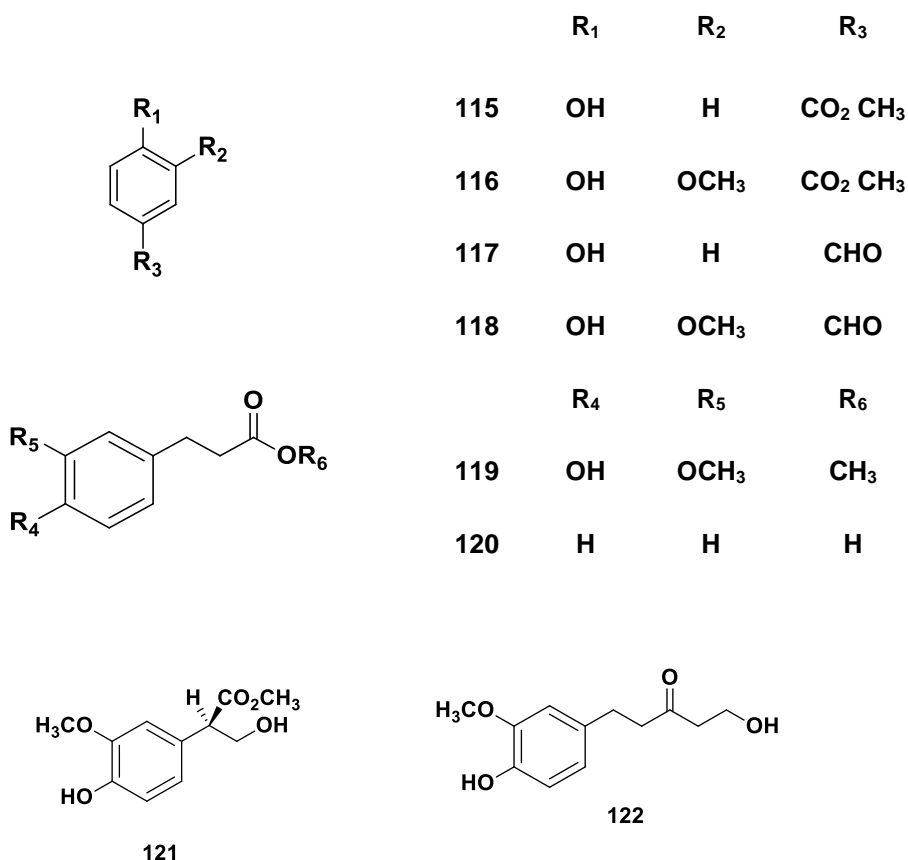
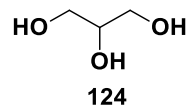
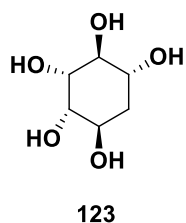


Figura 14. Bencenoides de las especies de *Aristolochias*.

Esteroides y Otros

Los esteroides se encuentran usualmente en fuentes naturales, y aquellos presentes en las especies de *Aristolochias* derivan del β -sitosterol (**125**) y stigmasterol (**126**) (Figura 15). Además se encuentran presentes una gran variedad de compuestos incluyendo el glicerol (**124**) y el proto-quercitol (**123**) que también están reportadas para especies de *Aristolochias*.⁷



	R
125	H
126	H $\Delta^{22,23}$
127	Glc

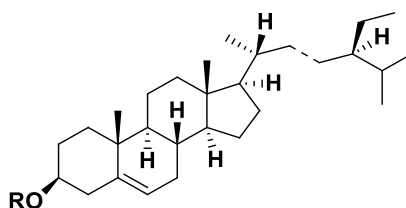


Figura 15. Esteroides y otros compuestos de las especies de *Aristolochias*.

Aristolochia orbicularis

Descripción

Es una enredadera con hojas suborbiculares, emarginadas a redondeadas en el ápice. Con flores solitarias en axilas foliares bractéolas, rectilíneas de color verde amarillo y púrpura oscuro. Su fruto es elipsoide, de 14 mm de largo, y 11 mm de ancho (Figura 16). Florece mayormente en los meses de verano.²²

Antecedentes etnomédicos

El guaco (*Aristolochia orbicularis*) se utiliza para tratar mordeduras de serpiente, picaduras de alacrán, cólicos gastrointestinales, artritis y tos. Además, se ha descrito su actividad repelente contra *Sitophilus zeamais* (Coleoptera), un insecto que destruye los granos de maíz almacenados.²³ Esta planta se conoce comúnmente como “hierba

amarga”, “mata culebra”, “raíz de mato” y “guaco” (Figura 16). Es de importancia medicinal en la familia *Aristolochiaceae*.



Figura 16. Hojas, flores, raíz y frutos de *Aristolochia orbicularis*.

IV. JUSTIFICACIÓN

Las plantas que pertenecen al género *Aristolochia* exhiben propiedades biológicas interesantes debidas a la presencia de terpenoides, ácidos aristolóquicos, neolignanós, etc.; éstas plantas se han utilizado ampliamente en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades. Durante las últimas dos décadas, las especies de plantas de este género han atraído mucho interés por las actividades biológicas que presentan y se han realizado estudios químicos y farmacológicos para corroborar su uso en la medicina tradicional. Sin embargo, todavía faltan por estudiar especies pertenecientes a este género e identificar la totalidad de los metabolitos secundarios responsables de las actividades biológicas reportadas.

V. HIPÓTESIS

El estudio fitoquímico de la fracción metanólica de las partes aéreas de *Aristolochia orbicularis* permitirá el aislamiento y elucidación estructural tanto de metabolitos secundarios reportados como de nuevos compuestos que podrían estar relacionados a las actividades biológicas reportadas para esta especie.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general.

Aislar y elucidar a los compuestos presentes en el extracto metanólico de las partes aéreas de *Aristolochia orbicularis*.

Objetivos particulares.

1. Purificar mediante técnicas cromatográficas a los compuestos que están presentes en el extracto metanólico *Aristolochia orbicularis*.
2. Efectuar la elucidación estructural de los compuestos aislados, mediante técnicas de resonancia magnética nuclear en una y dos dimensiones e infrarrojo.

VII. PARTE EXPERIMENTAL

EQUIPOS Y TÉCNICAS UTILIZADAS

Puntos de Fusión

Los puntos de fusión fueron determinados por la técnica de capilar abierto en un equipo automatizado Stanford Research Systems EZ-Melt MPA 120, utilizando la escala de grados Celsius y no fueron corregidos.

Resonancia Magnética Nuclear

Los Espectros de Resonancia Magnética Nuclear se adquirieron con un aparato VARIAN MR, a 400 MHz para espectros de ^1H y a 100 MHz para los espectros de ^{13}C . Se utilizaron cloroformo deuterado (CDCl_3) y metanol deuterado (CD_3OD) como disolventes y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ), las constantes de acoplamiento (J) se expresan en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales de los diferentes espectros de ^1H está referida como: “s” para una señal simple; “d” para una señal doble; “t” para una señal triple; “dd” para una señal doble de doble; “ddd” para una señal doble de doble de doble; “dc” para una señal doble de cuartetos, “a” para una señal ancha, “sa” para una señal simple ancha, “m” para una señal múltiple y “ma” para una señal múltiple ancha.

Espectroscopía de Infrarrojo

Se utilizó un Espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier e Interferómetro Dynascan Perkin Elmer Spectrum 100. Los datos se expresan en números de onda (cm^{-1}).

Cromatografía

Para la cromatografía en capa fina (CCF) se utilizaron placas comerciales de gel de sílice grado 60 de 0.2 mm de espesor ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄ de Macherey-Nagel, Alemania y como fase móvil sistemas de elución de hexano-acetato de etilo. Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UVG-

11) y onda larga (365 nm, lámpara de UVG-11) y por calcinación de las placas, previo tratamiento con ácido sulfúrico al 50% y sulfato cérico amoniacal.

Para la cromatografía en columna, se empleó gel de sílice de 230-400 mallas MN Kieselgel 60 de Macherey-Nagel, Alemania, utilizando como fase móvil mezclas de acetato de etilo-hexano y agua-metanol en diversas proporciones.

DISOLVENTES Y MATERIAS PRIMAS

Se utilizó como materia prima, 15 g de extracto metanólico de la planta *Aristolochia orbicularis*, la cual se recolectó en el estado de Morelos (extracto cedido por la Dra. Yolanda Ríos Gómez, CIQ, UAEM). Todos los disolventes utilizados en las cromatografías se purificaron por destilación simple.

Purificación cromatográfica del crudo metanólico de *Aristolochia orbicularis*.

Previo a la separación cromatográfica en columna flash,²⁴ al extracto metanólico se le hicieron análisis por cromatografía en placa fina (CCF) para determinar el número de compuestos presentes en el extracto, la placa cromatográfica se reveló al UV (254 y 365 nm) y por calcinación con tratamiento en sulfato cérico amoniacal y/o ácido sulfúrico al 50%, después del revelado se observaron al menos 15 compuestos de polaridad y concentración variada.

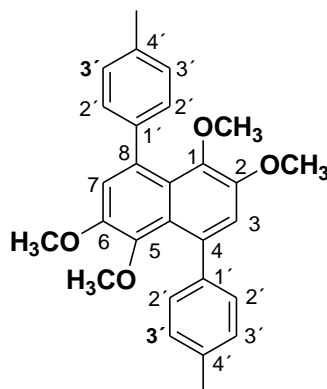
Dada la cantidad de compuestos presentes en el extracto, se decidió hacer una primera columna cromatográfica para agrupar a los compuestos por su polaridad y posteriormente realizar una segunda separación cromatográfica con más detalle. Para ello, el extracto metanólico de *Aristolochia orbicularis* se soportó en sílica gel (SiO₂). En tanto, una columna cromatográfica fue empacada con sílica gel y hexano, posteriormente la mezcla homogénea del extracto-SiO₂ se colocó en la columna y se realizó su separación usando como fase móvil una mezcla inicial de hexano-AcOEt en una proporción 9:1, se recolectaron fracciones de 100 ml. A medida que la polaridad de los compuestos arrastrados fue cambiando, también se cambió la polaridad de la fase móvil hasta llegar a un sistema hexano-AcOEt 4:6. Con el sistema hexano- AcOEt

se recolectaron 100 fracciones. Para arrastrar de la columna a los compuestos más polares se utilizó acetato de etilo (8 fracciones de 100 ml) y metanol (11 fracciones de 100 ml), en total se recolectaron 119 fracciones que fueron concentradas y colocadas en viales ámbar de 10 ml.

Una vez que se aislaron las 119 fracciones, se realizaron cromatografías en capa fina de todas las fracciones usando una mezcla de hexano- AcOEt como fase móvil. Las placas cromatográficas se revelaron por calcinación con tratamiento previo de sulfato cérico amoniacal, se usó como referencia el crudo del extracto metanólico.

Con las CCF de las fracciones se pudo decidir sobre las fracciones que debían reunirse para una segunda cromatografía en columna. A continuación se presentan los resultados y la elucidación de las muestras aisladas.

Purificación cromatográfica del 1,2,5,6-tetrametoxi-4,8-bis (4-metilbenceno)-naftaleno (1).



Las fracciones 9 a la 15 de la columna primaria se reunieron y se soportaron en sílica gel. La mezcla se colocó en una columna cromatográfica empacada con sílica gel. Se utilizó una mezcla de hexano- AcOEt como fase móvil y se tomaron fracciones de 10 ml. Para las CCF se utilizó un sistema hexano-AcOEt como fase móvil se revelaron al UV y por calcinación. Después del análisis de las placas cromatográficas se reunieron las fracciones 50-54, las cuales revelaron un compuesto puro con un $R_f = 0.4$ (Hexano-AcOEt 8:2), dichas fracciones se llevaron a sequedad en el rotavapor. Se obtuvieron 94 mg de un sólido blanco. Después de los análisis de RMN, el compuesto aislado se caracterizó como el 1,2,5,6-tetrametoxi-4,8-bis-(4-metilbenceno)-naftaleno (1).

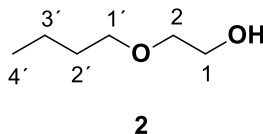
^1H RMN

δ ^1H (CDCl_3): 7.8 (2H, s, H-3, H-7), 7.32 (4H, d, $J = 8.1$ Hz, H-2'), 7.18 (4H, d, $J = 8.1$ Hz, H-3'), 3.85 (6H, s, (-OCH₃) -2, (-OCH₃) -6), 3.84 (6H, s, (-OCH₃) -1, (-OCH₃) -5), 2.3 (6H, s, CH₃-4').

^{13}C RMN

δ ^{13}C (CDCl_3): 167.55 (C-2, C-6), 164.79 (C-1, C-5), 143.15 (C-3 y C-7), 141.51 (C-1'), 130.03 (C-4'), 129.80 (C-3'), 129.65 (C-2'), 124.43 (C-8), 52.84 ((-OCH₃)-2, (-OCH₃)-6), 52.77 ((-OCH₃)-1 y (-OCH₃)-5), 21.65 (CH₃-4).

Purificación cromatográfica del 2-Butoxietanol (2).



De la misma columna de la que se aisló el compuesto **1**, y posterior a la mezcla de hexano-AcOEt con que se separó, se utilizó sólo acetato de etilo para separar los compuestos más polares. La CCF de las fracciones polares revelaron un compuesto puro al UV (365 nm) con un $R_f = 0.2$ (Hexano-AcOEt 4:6), el compuesto aislado se llevó a sequedad en el rotavapor. Se obtuvieron unos pocos miligramos (6 mg) de una laca incolora. Después de los análisis de RMN, el compuesto aislado se caracterizó como 2-butoxietanol (**2**).

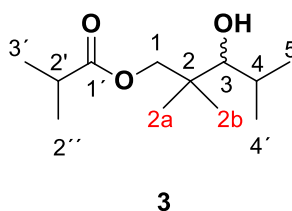
RMN ^1H

δ ^1H (CDCl_3): 3.72 (2H, t, $J = 4.5$ Hz, H-1), 3.53 (2H, t, $J = 5.0$ Hz, H-2), 3.48 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-1'), 1.58 (2H, m, H-2'), 1.37 (2H, m, H-3') 0.92 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, CH_3).

RMN ^{13}C

δ ^{13}C (CDCl_3): 71.98 (C-1), 71.11 (C-2), 61.70 (C-1'), 31.71 (C-2'), 19.21 (C-3'), 13.96 (C-4').

Purificación cromatográfica del 2-metilpropanoato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentilo (3).



La fracción 16 de la columna primaria se soportó en silica gel. La mezcla se colocó en una columna cromatográfica empacada con silica gel. Se utilizó una mezcla de hexano-AcOEt como fase móvil y se tomaron fracciones de 10 ml. Para las CCF se utilizó un sistema hexano-AcOEt como fase móvil se revelaron al UV (254 nm) y por calcinación previo tratamiento con sulfato cérico amoniacal. Después del análisis de las placas cromatográficas se reunieron las fracciones 32-324 y se llevaron a sequedad en el rotavapor. Se obtuvieron unos pocos miligramos de un líquido incoloro. Después de los análisis de RMN de ^1H , ^{13}C , y DEPT el compuesto aislado se caracterizó como 2-metilpropanoato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentilo (3).

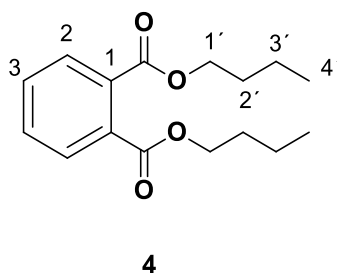
RMN ^1H

δ ^1H (CDCl_3): 4.12 (1H, d, $J= 10.9$ Hz, H-1^a), 3.77 (1H, d, $J= 10.9$ Hz, H-1^b), 3.25 (1H, dd, $J= 6$ Hz, $J= 2.4$ Hz, H-3), 2.58 (1H, h, $J= 7$ Hz, H-2'), 2.04 (1H, d, $J= 6$ Hz, O-H), 1.92 (1H, dh, $J= 7$ Hz, $J= 2.4$ Hz, H-4), 1.19 (3H, d, $J= 7$ Hz, H-2'') 1.18 ((3H, d, $J= 7$ Hz, H-3'), 1.09 (3H, d, $J= 7$ Hz, H-4') 0.97 (3H, s, H-2a), 0.96 (3H, s, H-2b), 0.93 (3H, d, $J= 7$ Hz, H-5).

RMN ^{13}C

δ ^{13}C (CDCl_3): 177.49 (C=O), 79.52 (C-3), 71.57 (C-1), 39.46 (C-2), 34.34 (C-2'), 28.28 (C-4), 23.74 (C-4'), 22.21 (C-2a), 20.61 (C-2b), 19.23 (C-5) 19.18 (C-2'') 16.87 (C-5).

Purificación cromatográfica del dibutilftalato (4).



En diferentes fracciones de dos de las columnas realizadas se identificó un compuesto puro con $R_f = 0.5$ (hexano-AcOEt 6:4) que reveló al UV (254 nm). El compuesto aislado se llevó a sequedad en el rotavapor. Se obtuvieron unos pocos miligramos (10 mg) de un líquido incoloro. Después de los análisis de RMN de ^1H y ^{13}C , el compuesto aislado se caracterizó como dibutilftalato (4).

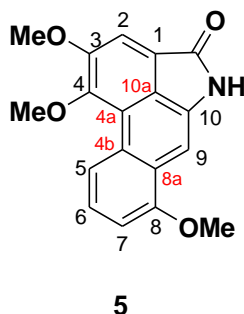
RMN ^1H

δ ^1H (CDCl_3): 7.65 (1H, m, H-2), 7.55 (1H, m, H-3), 4.31 (2H, t, $J = 7$ Hz, H-1'), 1.73 (2H, m, H-2'), 1.44 (2H, m, H-3'), 0.98 (3H, t, $J = 7$ Hz, H-4').

RMN ^{13}C

δ ^{13}C (CDCl_3): 167.87 (C=O), 133.43 (C-1), 131.94 (C-3), 128.87 (C-2), 66.22 (C-1'), 30.64 (C-2'), 20.03 (C-3'), 13.89 (C-4').

Purificación cromatográfica de la Taliscanina (5).



Se juntaron las fracciones 63-71 de la columna primaria y se soportaron sobre SiO₂ para una segunda purificación por cromatografía. Como fase móvil se utilizó un sistema de disolventes hexano- AcOEt en una proporción 95:5 y posteriormente se aumento la polaridad del sistema, se recolectaron fracciones de 10 ml. Para las CCF se utilizó un sistema hexano-AcOEt como fase móvil y se revelaron con lámpara de UV y por calcinación. Después del revelado de las CCF se identificó un compuesto puro en las fracciones 63-68 (R_f = 0.3; Hexano-AcOEt 8:2). Estas fracciones de concentraron en el rotavapor y se llevaron a sequedad, se aislaron 500 mg de un sólido blanco con un p. f. = 232.9 °C. Después de los análisis de RMN y FTIR, el compuesto aislado se caracterizó como la taliscanina (4).

¹H RMN

δ ¹H (DMSO): 10.83 (1H, s, N-H), 8.75 (1H, d, J=8.3 Hz, H-7), 7.88 1H, s, H-2), 7.52 (1H, t, J=8.1 Hz, H-6), 7.43 (1H, s, H-9), 7.22 (1H, d, J=7.8 Hz H-5), 4.05 (3H, s, -OCH₃-3), 4.02 (3H, s, -OCH₃-4), 3.99 (3H, s, -OCH₃-8).

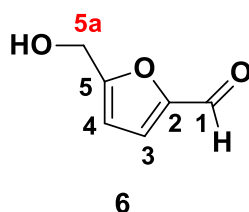
¹³C RMN

δ¹³C (DMSO): 110.32 (C-2), 108.27 (C-5), 125.74 (C-6), 119.27 (C-7), 97.93 (C-9), 59.98 (-OCH₃-3), 57.00 (-OCH₃-4), 55.91 (-OCH₃-8), 134.68 (C-10), 168.33 (C=O), 155.31 (C-8), 154.31 (C-4), 150.61 (C-3), 119.94 -8 C-4^a), 122.74 (C-10^a), 126.72 (C-4^b), 124.80 (C-8^a), 121.61 (C-1).

IR

(cm⁻¹): 3200, 2917, 2842, 1680, 1651, 1541, 1461, 1050, 1254, 643.

Purificación cromatográfica del 5-(hidroximetil)-furfural (6).



Las fracciones 110 a la 115 de la columna primaria se reunieron y se soportaron en silica gel. La mezcla se colocó en una columna cromatográfica para su purificación. Como fase móvil se utilizó una mezcla de AcOEt-MeOH en una proporción 7:3 y se tomaron fracciones de 10 ml. Para las CCF se utilizó un sistema AcOEt-MeOH y se revelaron al UV y por calcinación con sulfato cérico amoniacal. Después de las CCF, se reunieron las fracciones 13-15 y se llevaron a sequedad en el rotavapor. Se obtuvieron 30 mg de un sólido ámbar, el compuesto aislado se caracterizó como el 5-(hidroximetil)-furfural (6).

¹H RMN

δ ¹H (CDCl₃): 9.58 (1H, s, -CHO), 7.23 (1H, d, $J=2.27$ Hz, H-3), 6.53 (1H, d, $J=2$ Hz, H-4), 4.72 (H-5^a), 3.01 (O-H).

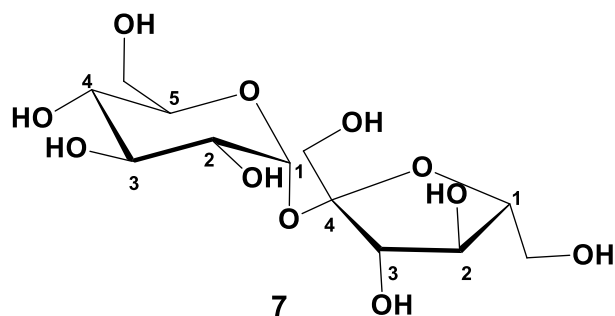
¹³C RMN

δ ¹³C (CDCl₃): 152.44 (C-2), 123.25 (C-3), 110.18 (C-4), 160.95 (C-5), 57.70 (C-5^a), 177.90 (C=O).

IR

(cm⁻¹): 3372, 2929, 2854, 1690, 1518, 1187, 1021, 767.

Purificación cromatográfica de la Sacarosa (7).



De la misma columna de la que se aisló el compuesto **6**, pero en fracciones más polares (22-24), reveló un compuesto puro al UV (380 nm) que después de llevarlo a sequedad en el rotavapor se aislaron 50 mg de un sólido blanco. Después de los análisis de RMN en CD₃OD el compuesto aislado se identificó como sacarosa (**6**)

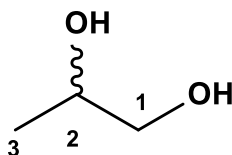
¹H RMN

δ ¹H (CDCl₃): 3.39 (1H, d, *J*=3.8 Hz, H-1anomerico), 4.01 (1H, d, *J*=8.2 Hz), señales múltiples entre 3.85 y 3.30.

RMN ¹³C

δ ¹³C (MeO-d): 105.37 (C-1), 93.71 (C-2), 83.80 (C-3), 79.44 (C-4), 75.77 (C-5), 74.69 (C-6), 74.46 (C-7), 73.25 (C-8), 71.40 (C-9), 64.13 (C-10), 63.45 (C-11), 62.28 (C-12).

Purificación cromatográfica del propilenglicol (8).



8

Las fracciones más polares de la columna primaria (116-119) se juntaron y se concentraron en el rotavapor, debido a la poca cantidad que se observó en el matraz se decidió hacer una placa preparativa usando como fase móvil un sistema AcOEt-MeOH en una proporción 1:1, después de correr la placa tres veces se observó una banda tenue al UV (254 nm). La banda fue raspada de la placa y filtrada con la mezcla AcOEt-MeOH. Después de evaporar el disolvente se pudieron ver trazas de un compuesto en el matraz de bola. Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C permitieron identificar al compuesto como el propilenglicol (8).

RMN ^1H

δ ^1H (CDCl_3): 3.61 (1H, dd, H-1^a), 3.38 (1H, dd, H-1^b) 3.89 (1H, m, H-2), 1.11 (3H, d, H-3).

RMN ^{13}C

δ ^{13}C (CDCl_3): 68.04 (C-1), 68.26 (C-2), 18.84 (C-3).

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Caracterización del compuesto 1, 2, 5, 6-tetrametoxi-4,8-bis (4-metilbenceno)-naftaleno (1).

Al extracto metanólico de *Aristolochia orbicularis* se le realizó una primera separación por cromatografía en columna y se obtuvieron 119 fracciones, de las cuales se juntaron las fracciones 9-15 para una purificación a detalle por cromatografía en columna. De esta separación cromatográfica se aisló un compuesto puro con apariencia aceitosa y con un r_f de 0.4 (Hexano/AcOEt, 8:2), reveló al UV (254 nm) y por calcinación con tratamiento previo de sulfato cérico amoniacal.

Una vez que se aisló el compuesto puro y se secó al alto vacío, se procedió a realizar los experimentos por resonancia magnética nuclear (RMN) que a continuación se discuten.

En el espectro de RMN de ^1H se pueden apreciar 6 señales, una de las cuales aparece en 7.8 ppm como una señal simple que integra para dos protones, el desplazamiento químico, la multiplicidad y la integración de esta señal, sugieren la presencia de un compuesto aromático y simétrico. Por otra parte, en 7.32 y 7.18 ppm se encuentran dos señales dobles que integran cada una para cuatro protones y que tienen una $J=8$ Hz cada una, este sistema es característico para un anillo aromático di-sustituido en *para*. Además, en 2.3 ppm se encuentra una señal simple que integra para seis protones, este desplazamiento químico es característico para los protones bencílicos, es decir, sobre un sistema aromático principal se encuentran dos metilbencenos. Por último, en 3.85 y 3.84 ppm se encuentran dos señales simples que integran para seis protones cada una (Espectro 1), el desplazamiento químico corresponde a protones base de oxígeno, la molécula tiene cuatro grupos metoxilo (-OCH₃). La señal simple en 7.8 ppm sólo puede corresponder a un sistema aromático de dos anillos (naftaleno) puesto que un anillo simple no puede soportar seis sustituyentes y mostrar una señal en ^1H . Se propusieron diferentes estructuras pero sólo una de ellas corresponde con el número de señales, el desplazamiento químico, el patrón de multiplicidad y la integración, el 1, 2, 5, 6-tetrametoxi-4,8-bis-(4-metilbenceno)-naftaleno (1). Como se

puede apreciar, la molécula tiene un eje de simetría (C_2), lo que significa que los protones H-3 y H-7 son químicamente equivalentes, lo mismo sucede con los protones de los metoxilos en C-1 y C-5 y los metoxilos en C-2 y C-6. Los grupos *p*-tolilo en C-4 y C-6 presentan el mismo comportamiento al ser químicamente equivalentes debido al eje de rotación (C_2) (figura 17).

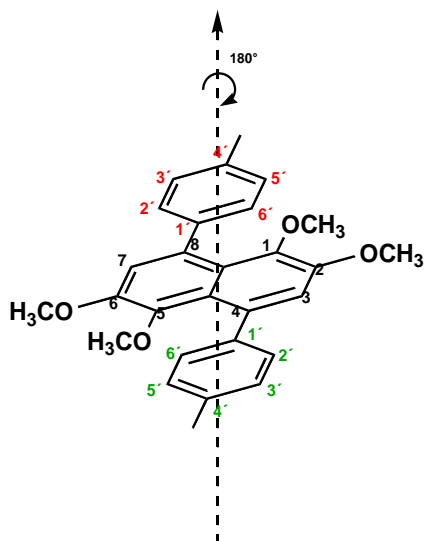
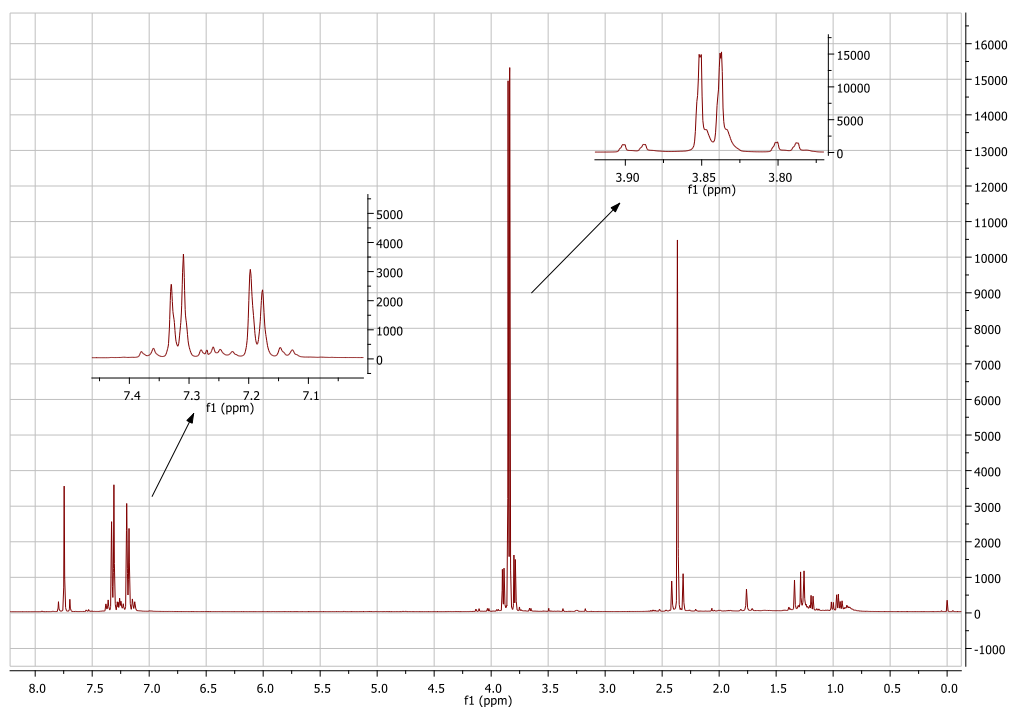


Figura 17. Eje de rotación C_2 para el compuesto 1.



Espectro 1. Espectro de ¹H de 1.

Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
7.8	H-3 y H-7	167.55	C-2 y C-6
7.32	H-2'	164.79	C-1 y C-5
7.18	H-3'	143.15	C-3 y C-7
3.85	(-OCH ₃)-2 y (-OCH ₃)-6	52.84	(-OCH ₃)-2 y (-OCH ₃)-6
3.84	(-OCH ₃)-1 y (-OCH ₃)-5	52.77	(-OCH ₃)-1 y (-OCH ₃)-5
2.3	CH ₃ -Ar	21.65	C-Ar
----	---	129.65	C-2'
---	---	124.43	C-8
---	---	141.51	C-1''
---	---	130.03	C-4'
---	---	129.80	C-3'
		Traslapado con C 2'	C-Fusionado

Tabla 1. Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 1.

Los datos del espectro de RMN de ^1H ayudaron a proponer la estructura del 1, 2, 5, 6-tetrametoxi-4,8-bis (4-metilbenceno)-naftaleno (1), los espectros de RMN de ^{13}C , DEPT y experimentos bidimensionales confirmaron la estructura propuesta (tabla 1). En el espectro de ^{13}C se observan 11 señales (la señal para los carbonos de fusión están traslapados en 129.65 ppm con C 2'), mismas que coinciden con el número de señales esperadas para el compuesto 1 (Espectro 2).

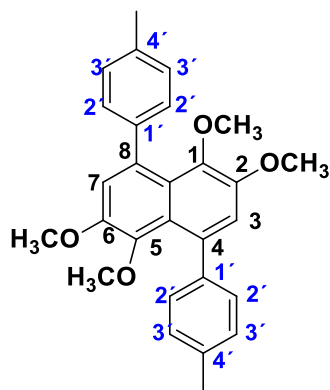
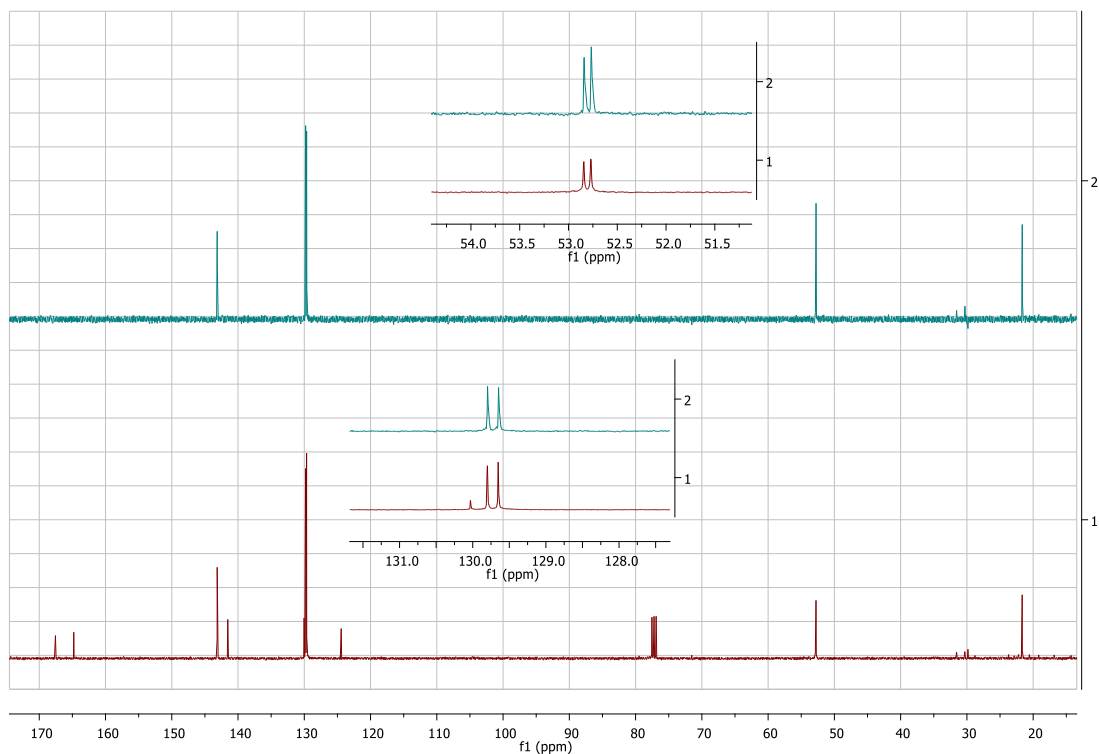


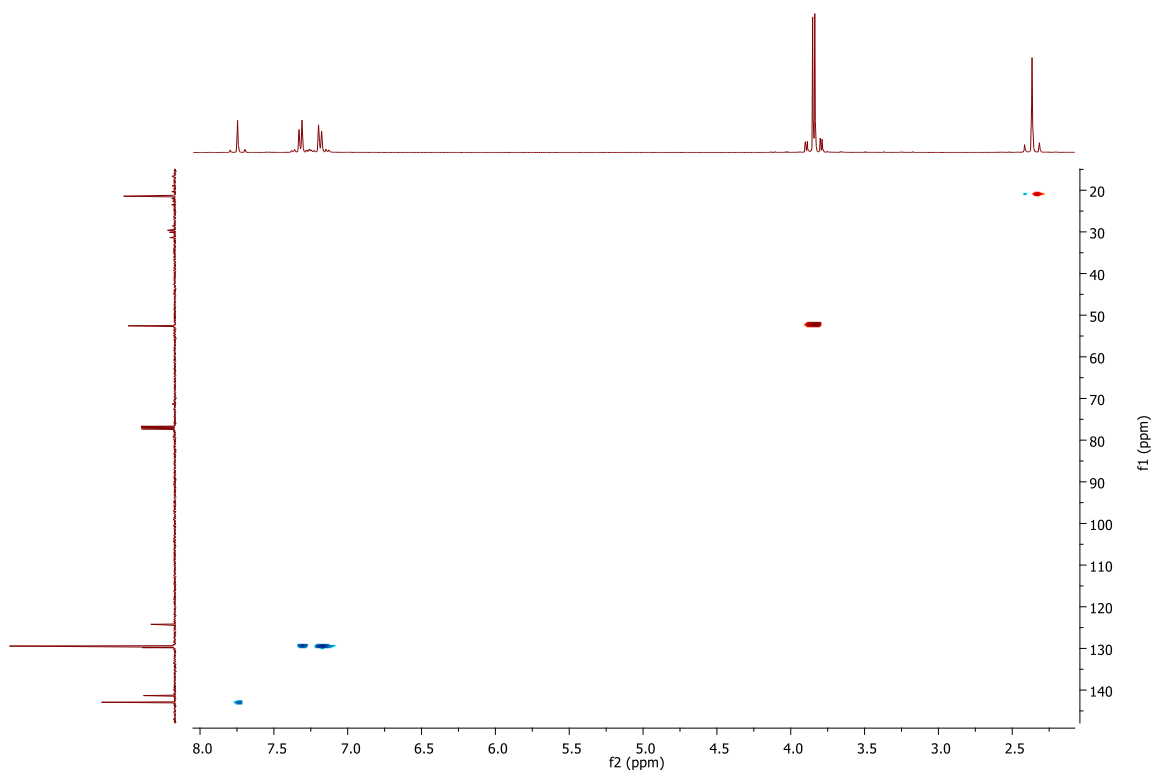
Figura 18. Compuesto 1

De las once señales, cinco corresponden a carbonos cuaternarios (C-5, C-6, C-8, C1' y C-4') y seis señales corresponden a metinos (C-7, C-2' y C-3') y metilos en C-4' y metoxilos en C-5, C-6.



Espectro 2. Arriba espectro de DEPT; abajo espectro de ^{13}C del compuesto 1.

En los experimentos bidimensionales HSQC y HMBC se pueden apreciar las correlaciones heteronucleares entre ^1H y ^{13}C a diferentes distancias de enlace, por ejemplo, en el HSQC se observan correlaciones a un enlace, y con ello se puede identificar que protón está unido a cada carbono, por ejemplo la señal del protón en 2.3 ppm correlaciona con la señal de carbono en 21.65 ppm, por otra parte las señales en 3.84 y 3.85 ppm correlacionan con la señal de carbono en 52.77 y 52.84 ppm, finalmente las señales en 7.18 y 7.32 ppm tienen correlación con las señales de



Espectro 3. Espectro HSQC del compuesto 1.

Carbono en 129.65 y 129.80 ppm (Espectro 3), como es de esperarse, en este experimento no se observa ninguna correlación de los carbonos cuaternarios (previamente identificados en el experimento DEPT).

Mientras que en el HSQC se observan correlaciones a un enlace, en el HMBC es posible ver correlaciones protón-carbono a dos, tres, cuatro y hasta cinco enlaces de distancia, esto es muy importante ya que permite establecer la conectividad de la molécula, por ejemplo, a través de un seguimiento de las correlaciones de H-2' es posible identificar a los carbonos C-3', C-1' y C-7 (Espectro 4 y 5).

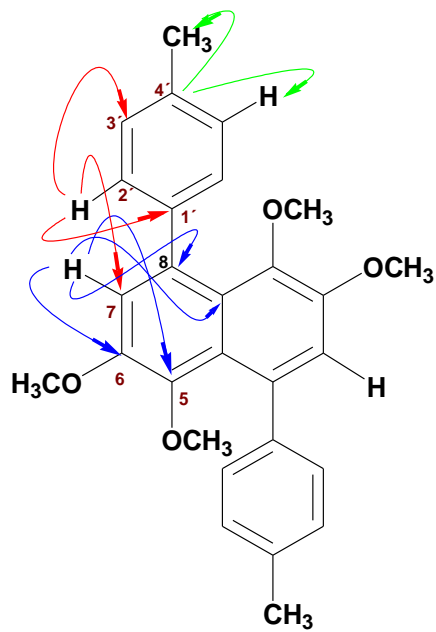
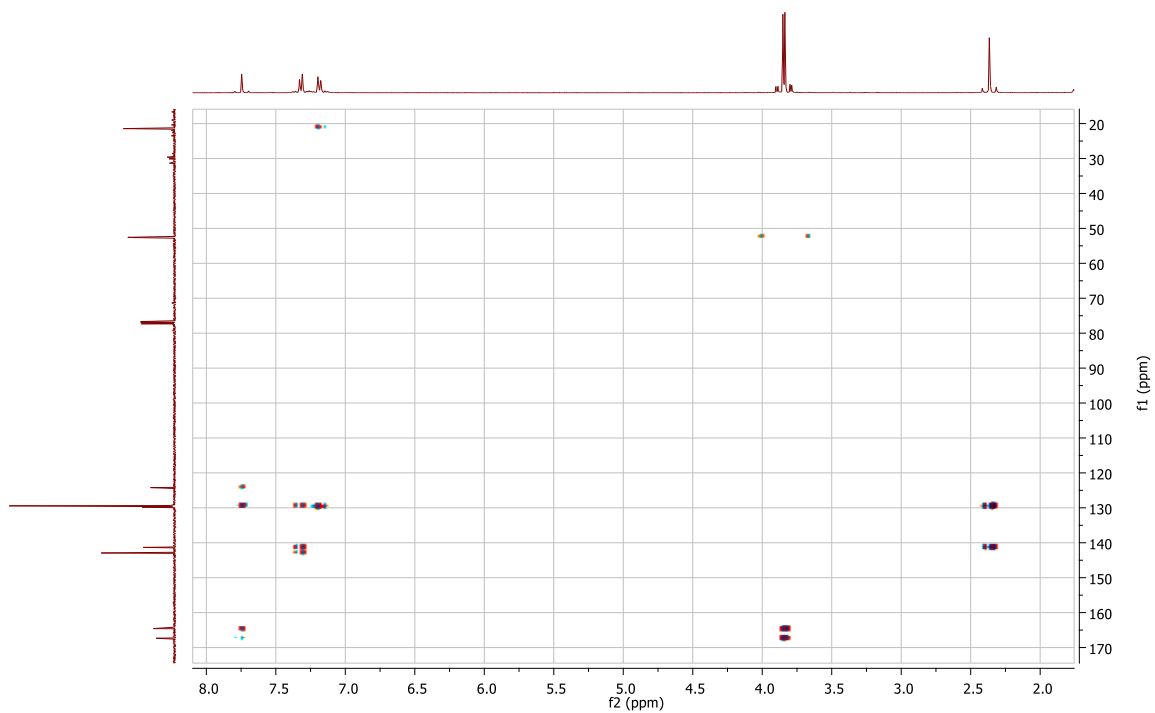
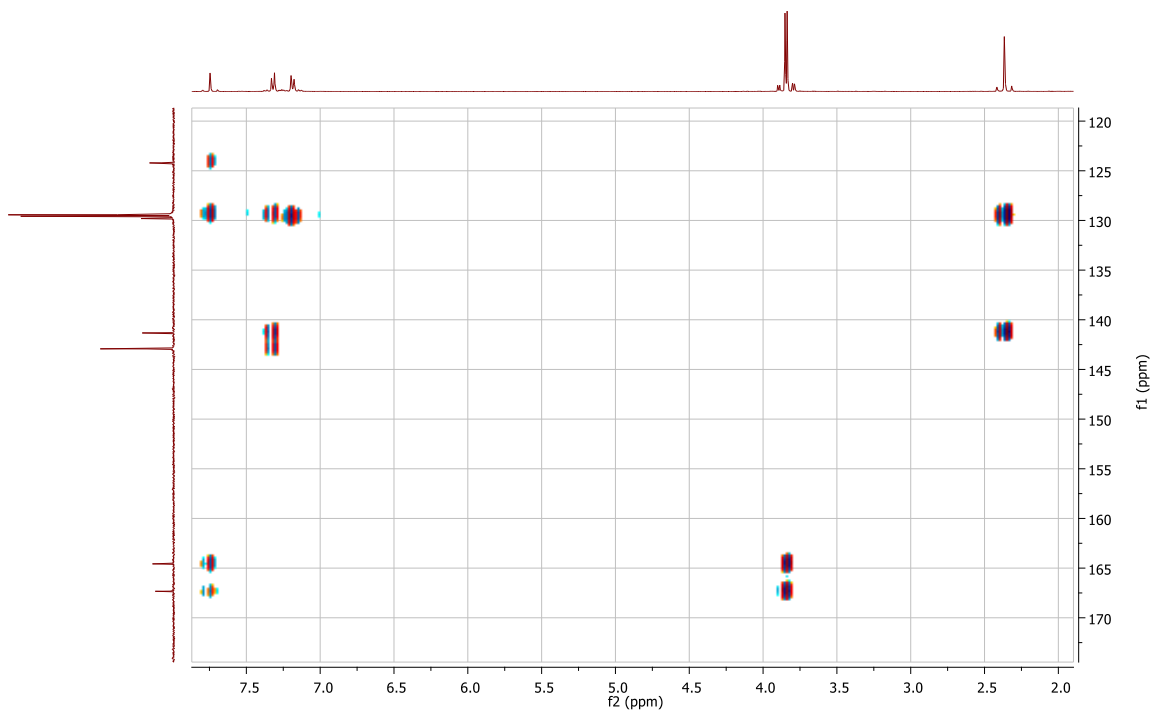


Figura 19. Interacciones entre los núcleos de ¹H y ¹³C en el HMBC.



Espectro 4. Espectro HMBC del compuesto 1.



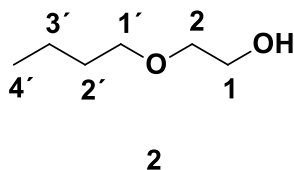
Espectro 5. Expansión del espectro HMBC del compuesto **1**.

A la fecha, no se han encontrado reportes en la literatura de esta molécula, lo que sugiere que se trata de una nueva molécula aislada de *Aristolochia orbicularis*.

Caracterización del compuesto 2-butoxietanol (2).

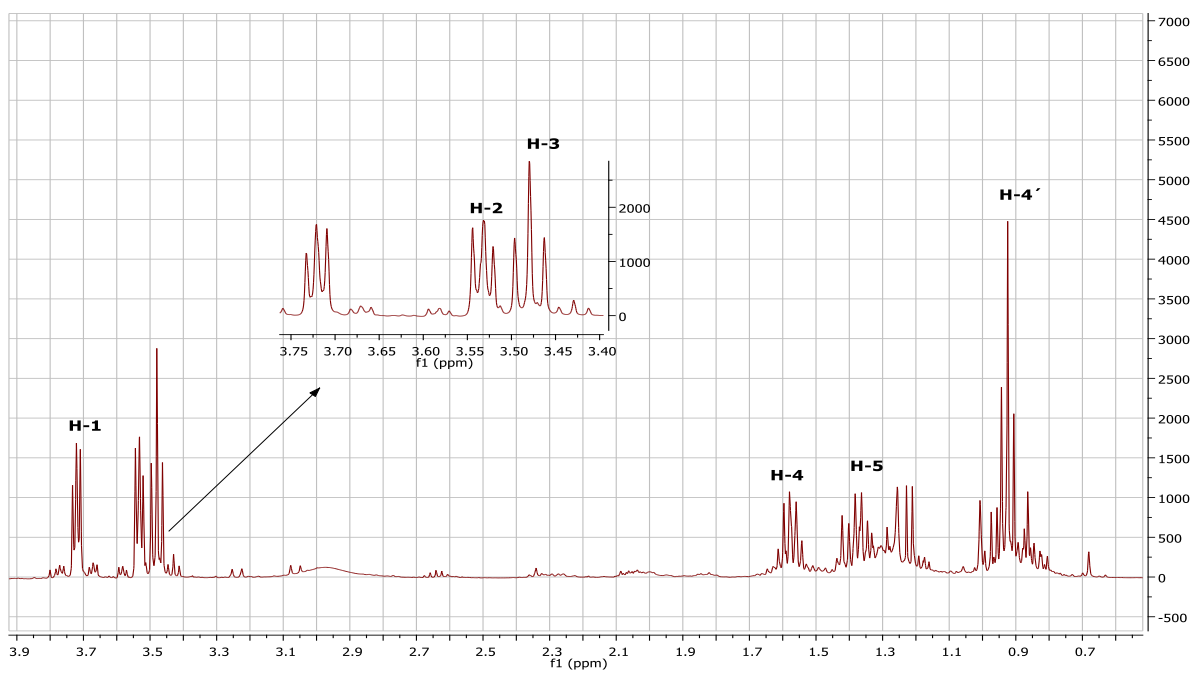
En la segunda cromatografía en columna de las fracciones 9-15 se aisló un compuesto polar que fue arrastrado con acetato de etilo. Cabe destacar que debido a la poca cantidad que se aisló, en los espectros de RMN se aprecian algunas impurezas, no obstante, se pudo realizar la caracterización del compuesto aislado.

En el espectro de RMN de ^1H se observan tres señales triples que tienen el mismo valor de integración en 3.72, 3.53 y 3.48 ppm, lo anterior es importante porque indican que se trata de protones base de oxígeno, además, el patrón de multiplicidad indica que son vecinos a metilenos. Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C se observan seis señales, tres de estos carbonos aparecen en 61.70, 71.11 y 71.98 ppm, desplazamientos característicos para carbonos base de oxígeno, confirmando lo observado en el experimento de protón. Además de los protones base de oxígeno, se puede apreciar una señal triple que integra para tres protones en 0.92 ppm, es decir, el compuesto tiene un metilo terminal. Los datos de los espectros de RMN permitieron proponer la estructura del 2-butoxietanol (2). Cabe destacar que estos datos coinciden con los reportados en Sigma-Aldrich.²⁵

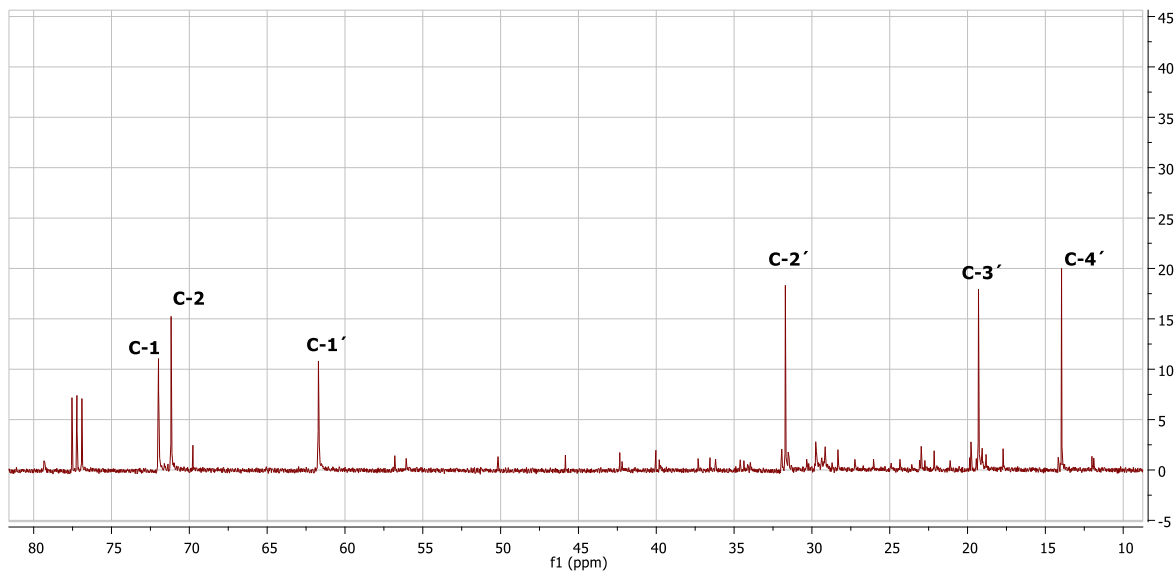


Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
3.72	H-1	71.98	C-1
3.53	H-2	71.11	C-2
3.48	H-1'	61.70	C-1'
1.58	H-2'	31.71	C-2'
1.37	H-3'	19.21	C-3'
0.92	CH_3	13.96	C-4'

Tabla 2. Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 2.



Espectro 6. Espectro de RMN del ^1H del compuesto 2.



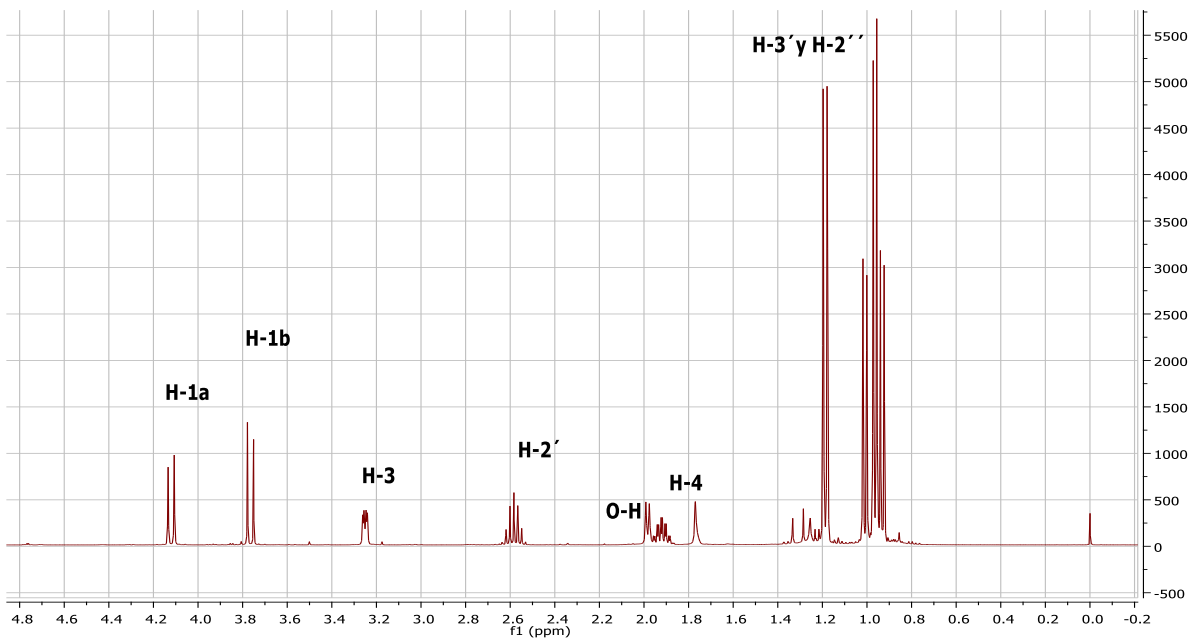
Espectro 7. Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **2**.

De acuerdo a lo encontrado en la literatura, el 2-butoxietanol es un líquido incoloro y se utiliza fundamentalmente como disolvente en pinturas para superficies, como lacas, esmaltes o pinturas de látex. También se utiliza en productos para limpiar metales y en productos de limpieza doméstica.²⁶

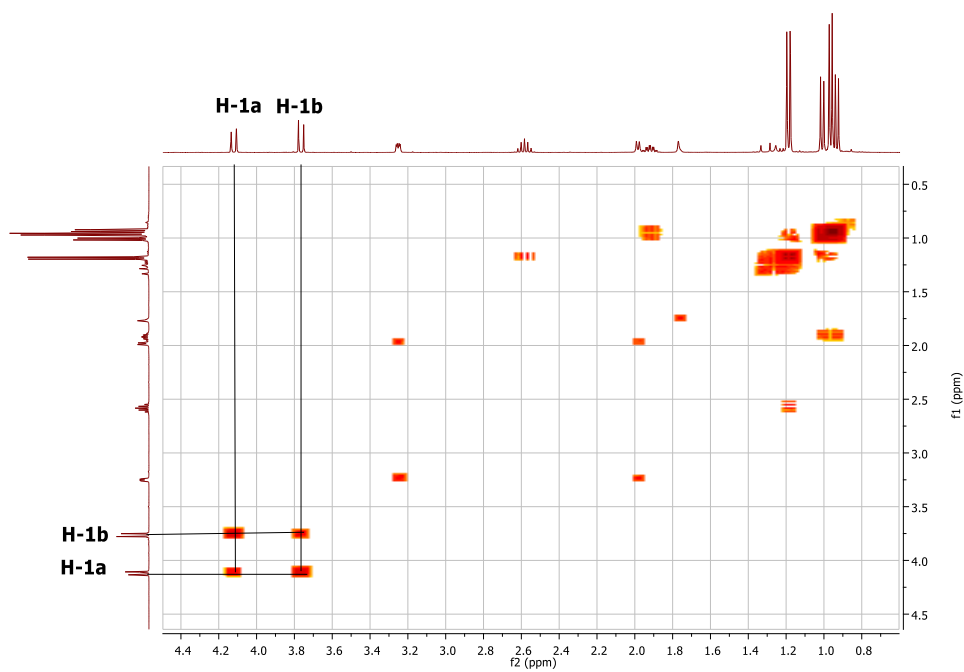
La información descrita en la literatura para el 2-butoxietanol (**2**) refiere que este compuesto no forma parte de los metabolitos en plantas. Hay una alta probabilidad de que el compuesto **2** esté presente en los disolventes empleados en la cromatografía. Cabe mencionar que en el laboratorio de Orgánica se emplean disolventes grado técnico y que aunque son destilados antes de su uso en las cromatografías, es evidente que no siempre se logran eliminar todas las impurezas ya sea por contaminación de los frascos utilizados, por una mala destilación o simplemente porque los puntos de ebullición son muy cercanos que por destilación simple no pueden separarse.

Caracterización del compuesto 2-metilpropanoato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentilo (3)

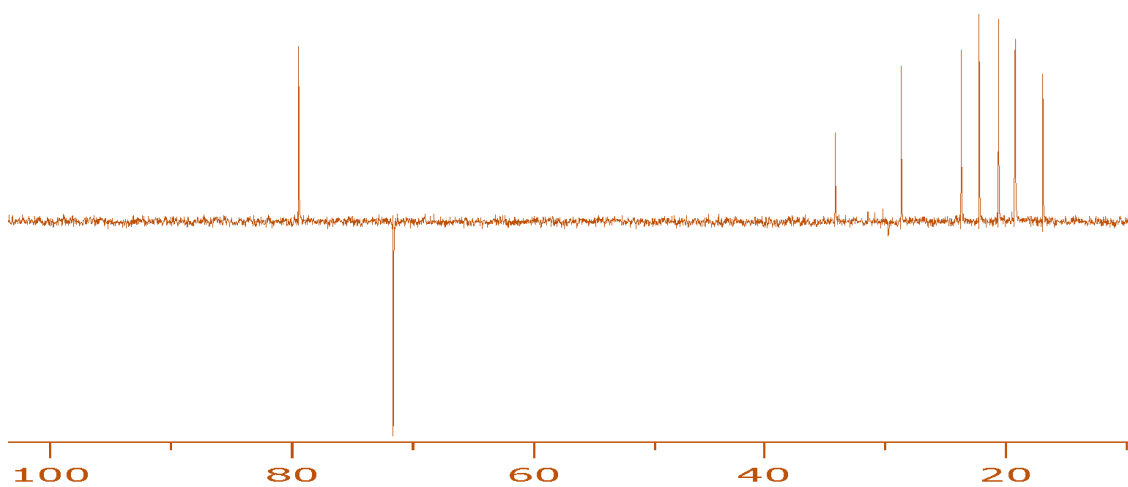
De las 119 fracciones que se obtuvieron en la primera separación cromatográfica del extracto metanólico de *Aristolochia orbicularis*, en la fracción 16 se aisló un compuesto líquido que reveló al UV (365 nm). En el experimento de RMN de ^1H se observan en 4.12 y 3.77 ppm dos señales dobles que integran para un protón cada una, ambas señales presentan una constante de acoplamiento geminal de 11 Hz y en el experimento COSY muestran correlación, lo anterior indica que se trata de dos protones diasterotópicos y por el desplazamiento químico corresponden a protones base de oxígeno. En 3.25 ppm aparece una señal doble de dobles ($J = 2.3$ y 6.1 Hz) que integra para un protón, el desplazamiento químico corresponde a un protón base de oxígeno y en el experimento COSY se observa una correlación con una señal doble en 2.04 ppm, esta última señal corresponde a un protón de O-H. Cabe destacar que por lo general no se observan acoplamientos entre protones unidos a oxígeno con protones unidos a carbono, debido a la acidez de los protones de O-H. En 2.58 ppm se observa una señal septuple que integra para un protón, en el experimento COSY se observa que la señal en 2.58 ppm correlaciona con una señal doble en 1.19 ppm que integra para seis protones, con esta información se puede identificar el fragmento 2-metilpropanoato. En el experimento de ^{13}C se observa una señal para carbono de carbonilo de éster en 177.44 ppm lo que confirma el fragmento 2-metilpropanoato. En 1.92 ppm del experimento de ^1H se observa una señal doble de septupletes que integra para un protón, en el COSY, esta señal correlaciona con la señal del protón base del O-H (3.25 ppm) y con las señales dobles que integran para tres protones cada una en 0.97 y 0.96. Los protones diasterotópicos y la diferencia de desplazamiento de los dos metilos dobles en 0.97 y 0.96 indican que el carbono que soporta al O-H es asimétrico. El número de señales en ^{13}C (12 señales, dos de ellas base de oxígeno) y la señal del metileno en el experimento DEPT (71.57 ppm) confirman la propuesta del 2-metilpropanoato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentilo ó texanol (3).



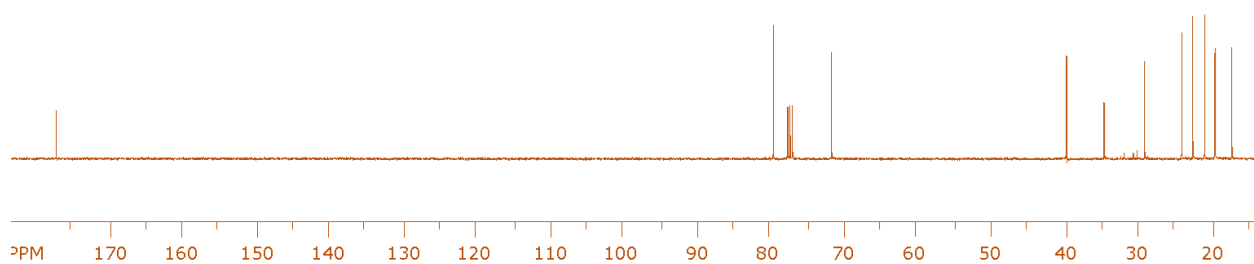
Espectro 8. Espectro de ^1H del compuesto 3.



Espectro 9. Espectro COSY del compuesto 3.



Espectro 10. Espectro de DEPT del compuesto **3**.



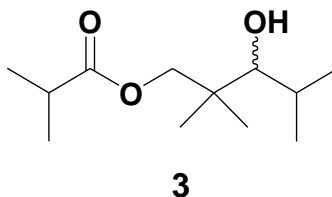
Espectro 11. Espectro de ^{13}C del compuesto **3**.

Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
4.12	H-1 ^a	177.44	C=O
3.77	H-1 ^b	79.52	C-3
3.25	H-3	71.57	C-1
2.58	H-2'	39.46	C-2
2.04	O-H	---	---
1.92	H-4	34.34	C-2'
1.19	H-2''	28.28	C-4
1,18	H-3'	23.74	C-4'
1.09	H-4'	22.21	C-2a
0.97	H-2a	20.61	C-2b
0.96	H-2b	19.23	C-2''
0.93	H-5	19.18	C-3'
---	---	16.87	C-5

Tabla 3. Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto **3**.

Aproximadamente el 84% de **3** se usa como coalescente dirigido a las pinturas de látex en donde está presente al 3% de concentración. Aproximadamente el 14% de este material se usa como intermediario químico en sustancias usadas como plastificantes. Cerca del 2% del material se utiliza para hacer colorantes, adhesivos, agentes en Materiales de construcción, agentes limpiadores, fertilizantes, agentes para el tratamiento de superficies, o como solventes.²⁷

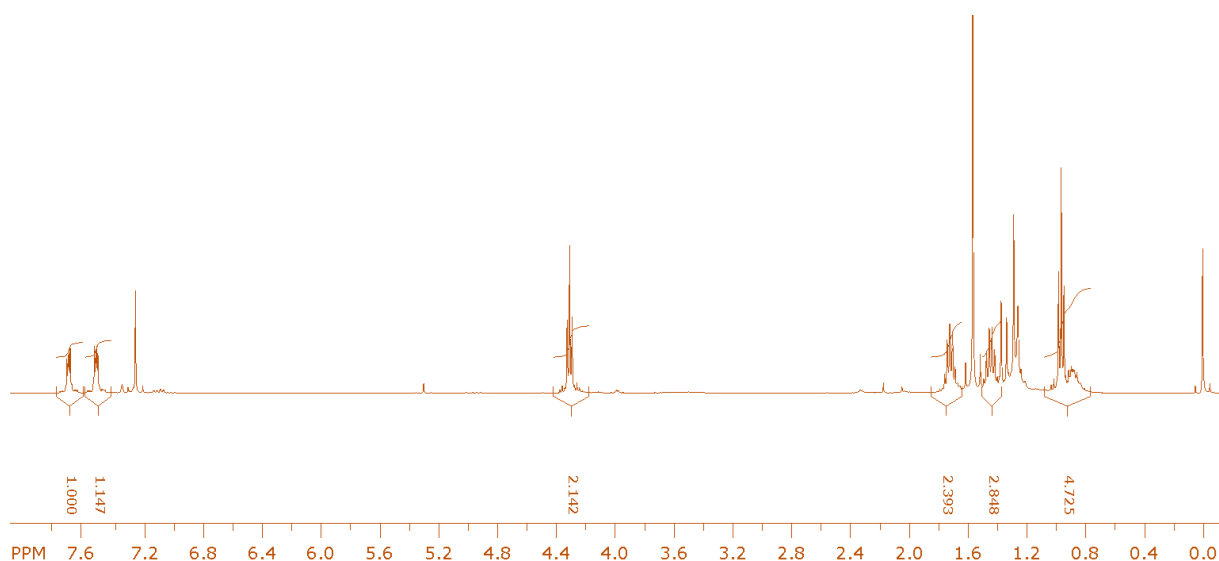
De acuerdo a la información encontrada en la literatura, es poco probable que el texanol (**3**) sea un metabolito de la *Aristolochia orbicularis*. En cambio, hay una alta probabilidad de que haya estado como contaminante en el disolvente utilizado en las cromatografías.



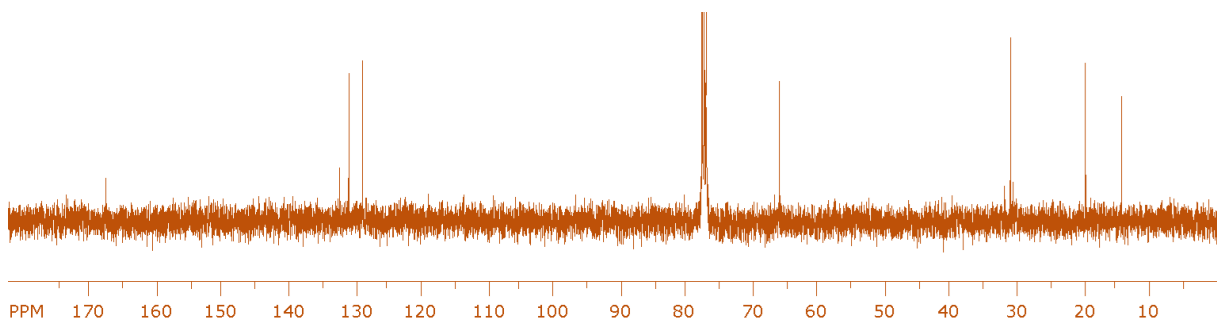
Caracterización del compuesto dibutilftalato (4).

En todas las columnas cromatográficas que se habían realizado hasta ese momento, consistentemente aparecía un compuesto al UV (254 nm) con un $R_f = 0.5$ (hexano-AcOEt 6:4) que no se había podido aislar en cantidades suficientes para su análisis por RMN. Después de juntar la cantidad suficiente se le realizaron los experimentos de RMN de ^1H y ^{13}C . Los datos de este compuesto revelaron que se trataba de un éster del ácido ftálico, el dibutilftalato (4).

En el experimento de RMN de ^1H se observa que alrededor de 7.6 ppm se encuentran dos señales que integran para la mitad respecto a la señal triple que se encuentra en 4.35 ppm. Por su parte, en el experimento de RMN de ^{13}C se pueden apreciar tres señales para carbono en la región de aromáticos (~130 ppm), lo anterior indica que se trata de un anillo aromático disustituido en *orto* y que los sustituyentes son idénticos, otro patrón de sustitución o sustituyentes diferentes darían mas señales para el anillo aromático. La señal alrededor de 165 ppm fue clave para proponer la molécula del ftalato y el número de señales entre 10 y 70 ppm (4 señales) ayudó a proponer la longitud de la cadena hidrocarbonada. Los patrones de desdoblamiento en ^1H son consistentes para el ftalato 4. Los datos espectroscópicos coinciden con los reportados en la literatura.²⁸



Espectro 12. Espectro de ^1H del compuesto 4.



Espectro 13. Espectro de ^{13}C del compuesto **4**.

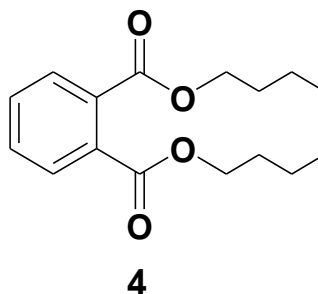
Se sabe que los ftalatos o ésteres de ácido ftálico son un grupo de compuestos químicos que cuando son añadidas a los plásticos incrementan su flexibilidad. Uno de sus usos más comunes es la conversión del PVC de un plástico duro a uno flexible. Los ftalatos presentan una baja solubilidad en agua y alta en aceites, así como una baja volatilidad. Los ftalatos se usan también con frecuencia en los esmaltes de uñas, adhesivos, masillas, juguetes de niños y en la mayoría de los juguetes sexuales.

Si bien no ha sido posible crear un diseño experimental en un grupo control que esté expuesto a los niveles de ftalatos que contienen los juguetes infantiles, en uso constante, algunos estudios en animales han descrito efectos de tiroides, los ovarios, los riñones y la sangre. El departamento de salud y servicios humanos (DHHS) ha determinado que es razonable predecir que los ftalatos son carcinogénos en seres humanos.²⁹

En un reporte de la literatura³⁰ se describe al dibutilftalato (**4**) como uno de los componentes aislados de un extracto de *Torreya grandis*, una especie de conífera en la familia de Taxaceae.

Dado que el compuesto **4** se encontró en varias de las columnas realizadas y aparentemente sin relación, llevó a pensar que se trataba de algún contaminante y no de un metabolito de la planta. Se realizó un análisis cuidadoso de los disolventes empleados y se encontró que en la destilación del hexano se estaba usando una manguera de plástico para la transferencia del destilado a los frascos de disolventes. Para corroborar que la manguera era la fuente de contaminación de los ftalatos, se cortó un pedazo de manguera y se colocó en un tubo de RMN, se le adicionó CDCl_3 y posteriormente se le realizó un experimento de ^1H , el experimento de protón reveló el

mismo espectro del dibutilftalato (**4**) encontrado en la columna. Se eliminó la manguera del destilador y con ello la fuente de contaminación de los ftalatos. Lo anterior demuestra que en el trabajo diario se pueden cometer errores que lleven a contaminar las muestras y a realizar un mal análisis.



Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
7.65	H-2	167.87	C=O
7.55	H-3	133.43	C-1
4.31	H-1'	131.94	C-3
1.73	H-2'	128.87	C-2
1.44	H-3'	66.22	C-1'
0.98	H-4'	30.64	C-2'
----	----	20.03	C-3'
----	----	13.89	C-4'

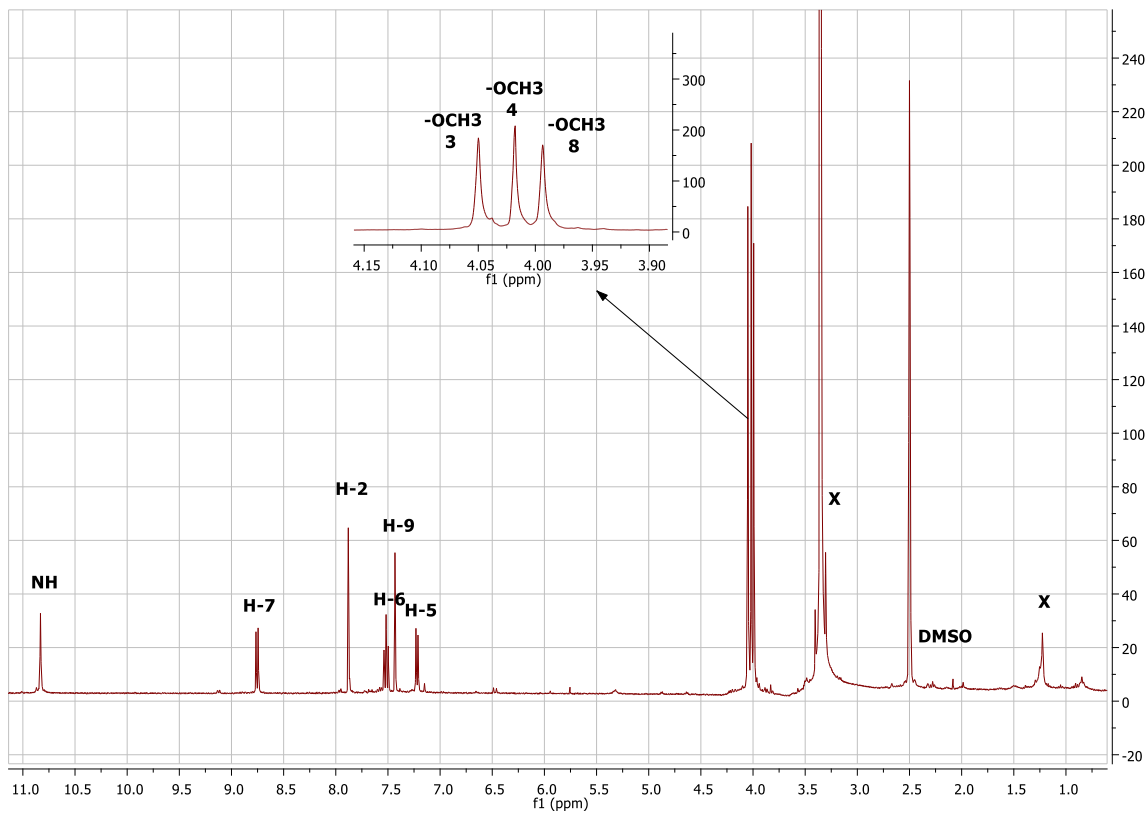
Tabla 4. Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto **4**.

Caracterización del compuesto 10-amino-3,4,8-trimetoxifenantreno ó taliscanina (5).

De las 119 fracciones que se obtuvieron en la primera separación cromatográfica del extracto metanólico de *Aristolochia orbicularis*, se juntaron las fracciones 63-71 para una segunda purificación por cromatografía en columna. Después de la separación cromatográfica, se aisló un compuesto de color amarillo con un punto de fusión de 272° C, que reveló al UV (380 nm) y por calcinación con sulfato cérico amoniacal. Cabe destacar que las soluciones de este compuesto muestran fluorescencia en la cámara de ultravioleta. Una vez aislado el compuesto puro, se concentró a alto vacío y se procedió a realizar su caracterización por resonancia magnética nuclear (RMN) e infrarrojo (IR).

En el espectro de RMN de ^1H (DMSO, 400 MHz) se observan nueve señales (Espectro#), una de las cuales aparece en 10.83 ppm como una señal simple que integra para un protón, el desplazamiento químico, la multiplicidad y la integración sugieren que se trate de un protón ácido, probablemente unido a nitrógeno (N-H). Por otra parte, las cinco señales que se observan en 8.75, 7.88, 7.52, 7.43 y 7.22 ppm, presentan desplazamientos característicos de protones aromáticos, cada una de estas señales integran para un protón. Por último, en 4.05, 4.02 y 3.99 ppm se encuentran tres señales simples que integran para 3 protones cada una, el desplazamiento químico corresponde a protones base de oxígeno, es decir, la molécula tiene 3 grupos metoxilo (-OCH₃).

Trabajos previos en extractos de la familia de las *Aristolochias* han identificado un pequeño grupo de aporfinoídes que contienen un cromóforo fenantreno y que se identifican como aristolactamas. A la fecha, se han identificado 45 aristolactamas y pueden estar di, tri, tetra y penta sustituidas (figura20).³¹



Espectro 14: Espectro de ^1H del compuesto 5.

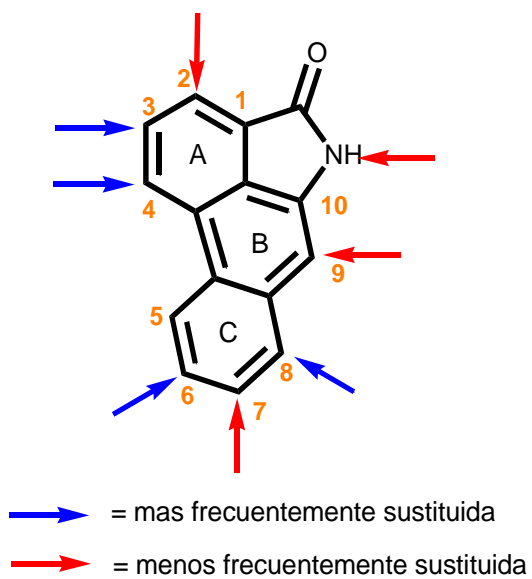
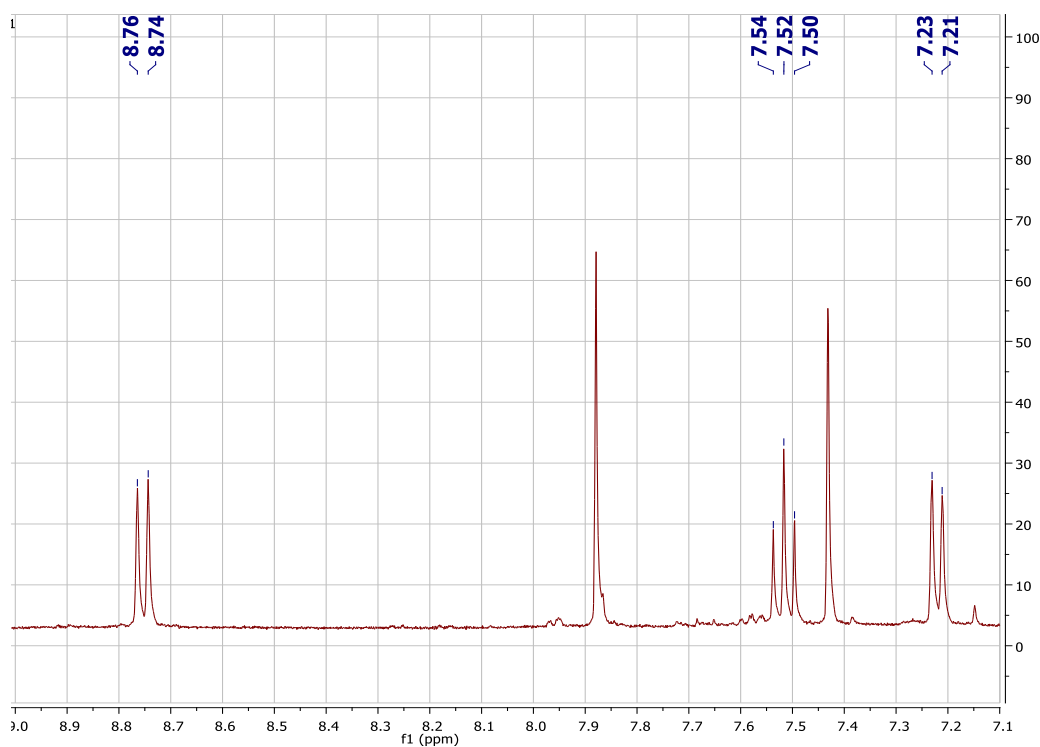


Figura 20. Esqueleto básico de las aristolactamas.

Con lo reportado en la literatura y con los datos de los espectros de RMN fue posible proponer la estructura de una Aristolactama, la lactama 10-amino-3,4,8-trimetoxifenantreno (**5**).

Los patrones de multiplicidad de los protones aromáticos fueron determinantes en la propuesta de la estructura (figura 21). La señal en 7.52 ppm (H-6) presenta una multiplicidad de doble de dobles con constantes de acoplamiento características para protones en *orto* (8 Hz), esta multiplicidad se debe a los acoplamientos con los protones H-5 y H-7. Estos acoplamientos se pueden observar en el experimento COSY (Espectro 17), el protón H-5 muestra una interacción con H-6 y a su vez, H-6 muestra una interacción con H-7.



Espectro 15: Expansión del espectro de ^1H del compuesto **5**.

Los espectros de RMN de ^{13}C y los experimentos bidimensionales e IR confirmaron la estructura (tabla 5). En el espectro de RMN de ^{13}C se observan 18 señales, mismas

que coinciden con el número de señales esperadas para el compuesto **5** (Espectro 16).

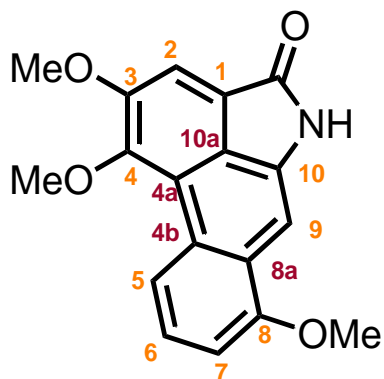
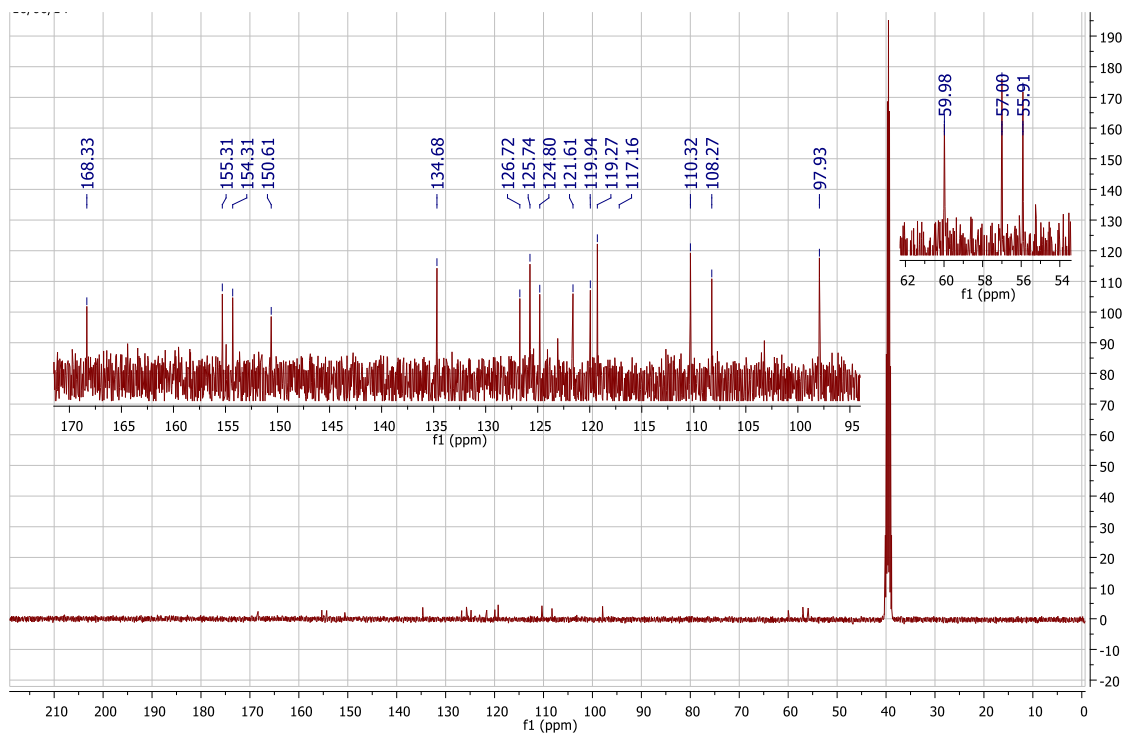


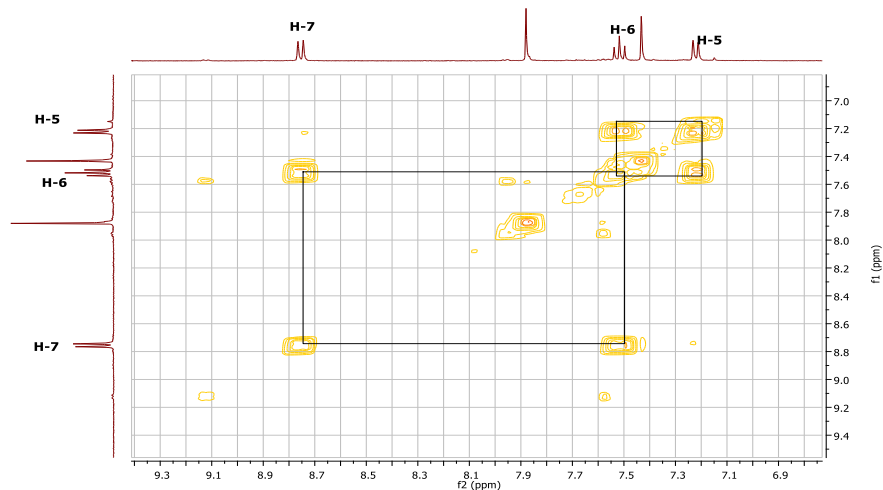
Figura 21. Compuesto 5



Espectro 16: Espectro de ^{13}C del compuesto 5.

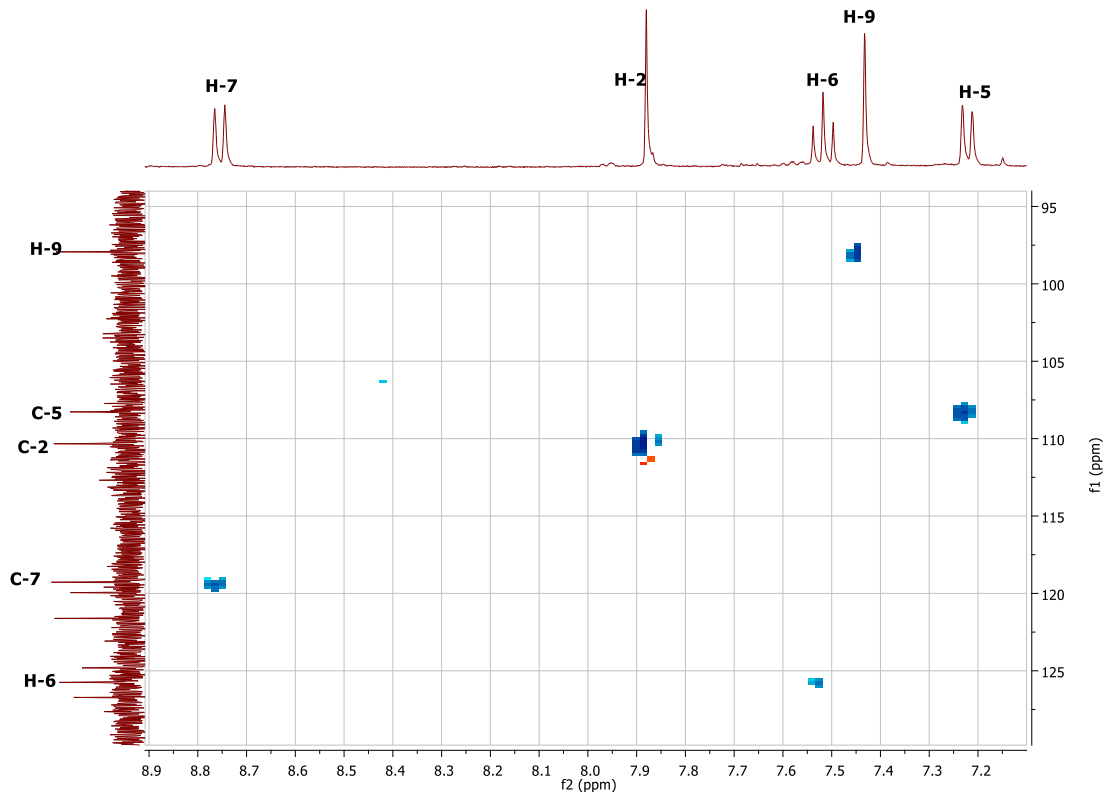
Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
DMSO- d_6		DMSO- d_6	
7.88	H-2	110.32	C-2
7.22	H-5	108.27	C-5
7.52	H-6	125.74	C-6
8.75	H-7	119.27	C-7
7.43	H-9	97.93	C-9
4.05	-OCH ₃ -3	59.98	-OCH ₃ -3
4.02	-OCH ₃ -4	57.00	-OCH ₃ -4
3.99	-OCH ₃ -8	55.91	-OCH ₃ -8
10.83	NH-10	134.68	C-10
---	---	168.33	C=O
---	---	155.31	C-8
---	---	154.31	C-4
---	---	150.61	C-3
---	---	119.94	C-4 ^a
---	---	122.74	C-10 a
---	---	126.72	C-4 ^b
---	---	124.80	C-8 ^a
---	---	121-61	C-1

Tabla 5. Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 5.



Experimento 17. Espectro COSY del compuesto 5.

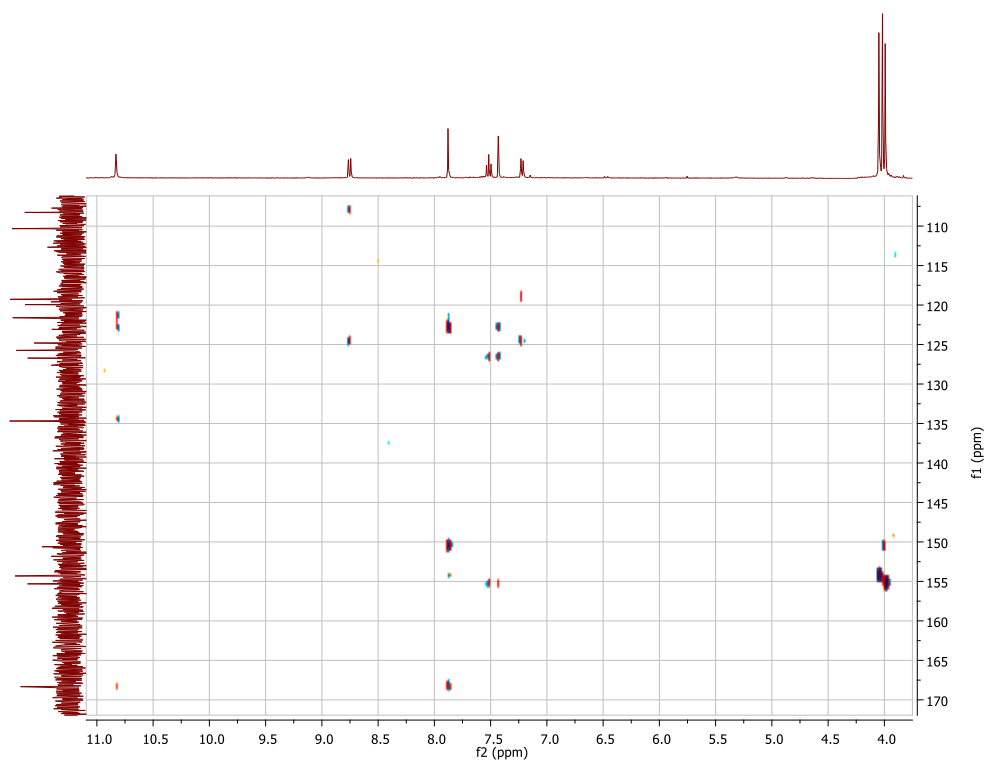
Una vez que los experimentos de ^1H y COSY permitieron identificar a los protones H-5, H-6 y H-7, con el experimento HSQC (Espectro 18) fue posible asignar a los carbonos unidos a estos protones. Además, este experimento permitió identificar a los carbonos cuaternarios.



Espectro 18: Espectro HSQC del compuesto 5.

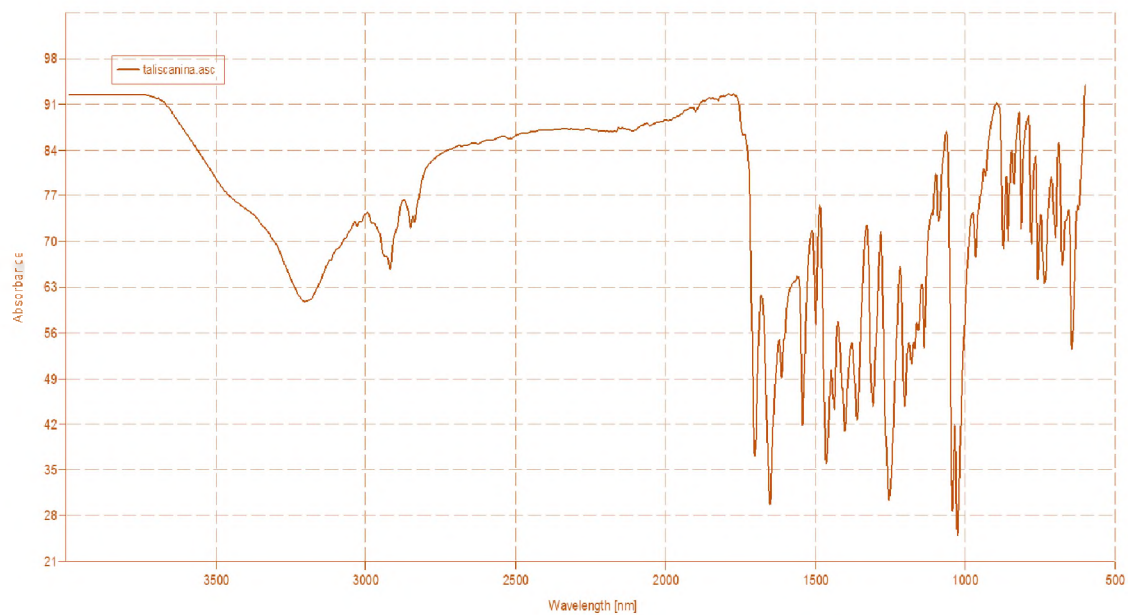
A través del experimento HMBC fue posible asignar la totalidad de las señales de carbono, por ejemplo, la señal simple en 7.88 ppm de ^1H presenta correlación con la señal en 168.33 ppm de ^{13}C y que corresponde al carbono del carbonilo de la amida, de esta manera es posible asignar la señal en 7.88 ppm al protón H-2.

Cabe destacar que aunque la molécula de la taliscanina está reportada en la literatura, no fue posible comparar los desplazamientos químicos de la molécula aislada debido a que estos desplazamientos no fueron encontrados en las referencias citadas. Sin embargo, con los datos de los experimentos de RMN fue posible proponer con certeza la estructura de la taliscanina.



Espectro 19: Espectro HMBC del compuesto 5.

El espectro de infrarrojo para la taliscanina muestra las bandas de vibración características para los enlaces N-H en 3200 cm^{-1} y C=O de la amida en 1680 cm^{-1} , también es posible observar la banda característica para éteres C-O-C en 1050 cm^{-1} .



Espectro 20: Espectro IR del compuesto 5.

Caracterización del compuesto 5-(hidroximetil)-furfural (6).

En el crudo metanólico de *Aristolochia orbicularis* se obtuvo un residuo de consistencia pastosa de color café, a este residuo se le realizó una purificación por cromatografía en columna. En las fracciones 13-15 de la columna cromatográfica se aislaron 30 mg de un compuesto color naranja, que reveló al UV (254 nm) y por calcinación con sulfato cérico amoniacal. Una vez que se aisló el compuesto puro se llevó al alto vacío y se procedió a realizar su caracterización por las espectroscopias de resonancia magnética nuclear e infrarrojo.

En el espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) se observan cinco señales (espectro 21), una de las cuales aparece en 9.58 ppm como una señal simple que integra para un protón y que en el experimento HSQC muestra una correlación con el carbono en 178 ppm, es decir, se trata de un aldehído (-CHO). Por otra parte, las dos señales dobles en 7.23 y 6.53 ppm ($J = 2.5$ Hz) y que integran cada una para un protón son características de protones aromáticos de furano, lo anterior concuerda con las cuatro señales entre 110 y 160 ppm en el experimento de ^{13}C . La señal simple que se encuentra en 4.72 ppm integra para dos protones; este desplazamiento es característico para protón base de oxígeno y en el experimento HSQC correlaciona con un carbono de metileno. Con esta información es posible proponer la estructura del 5-(hidroximetil)-furfural.

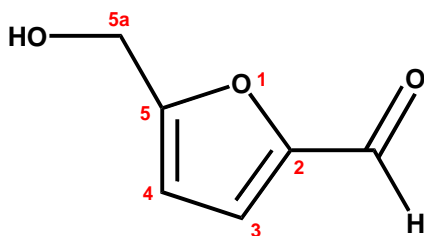
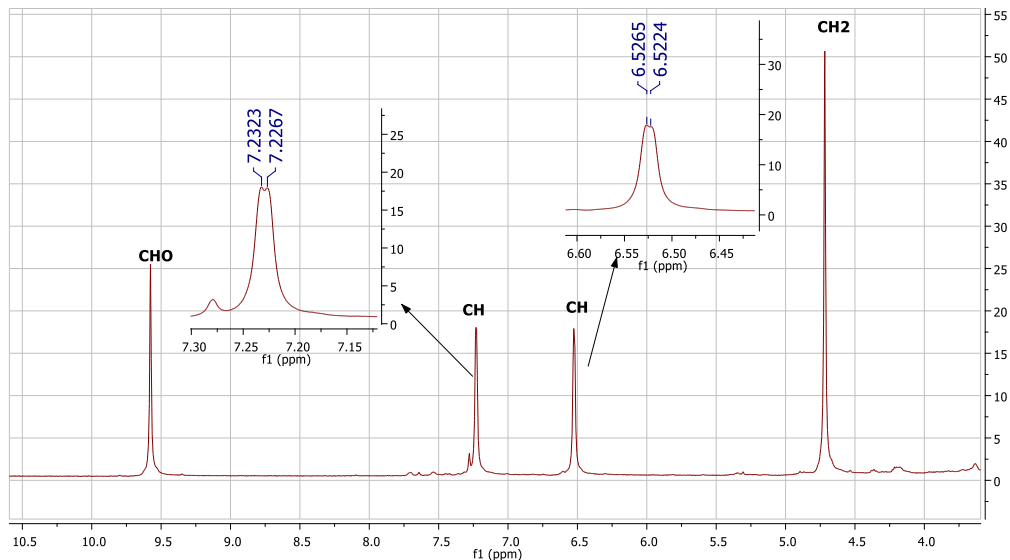
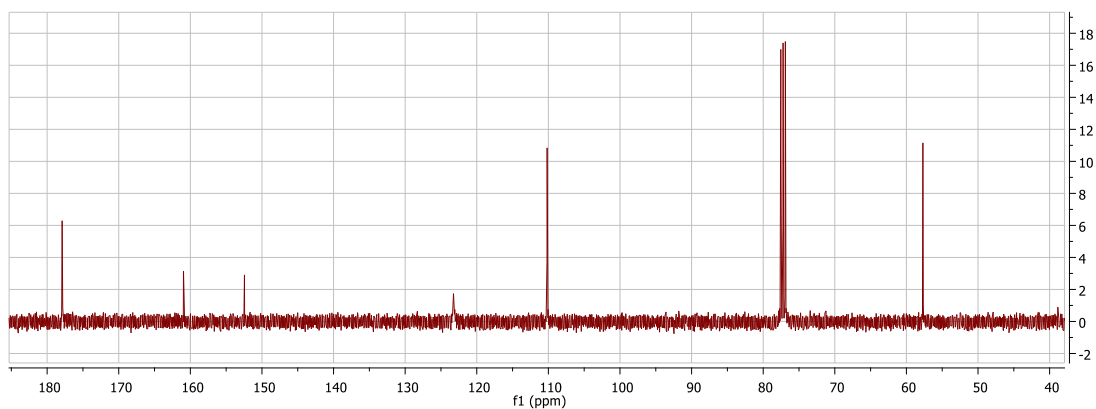


Figura 22. 5-(hidroximetil)-furfural

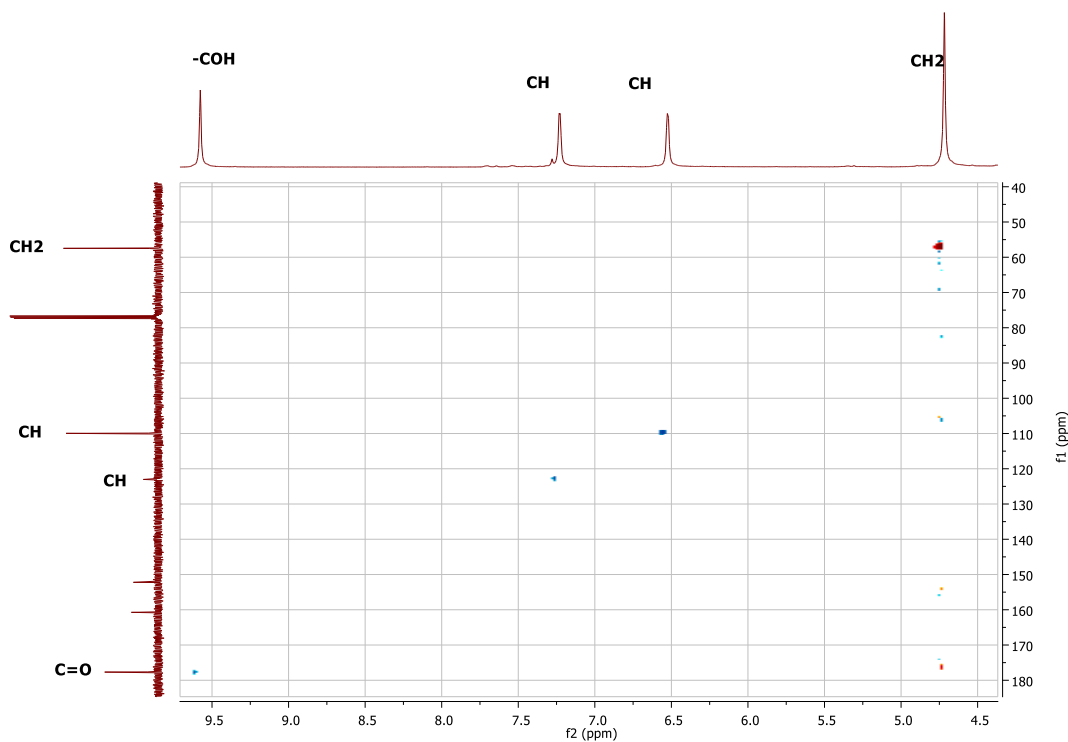


Espectro 21. Espectro de ^1H del compuesto **6**.

Los espectros de RMN de ^{13}C , HSQC e IR confirmaron la estructura del 5-hidroximetilfurfural (**6**) (tabla 6). En el espectro de RMN de ^{13}C se observan seis señales, mismas que coinciden con el número de señales esperadas para este compuesto (Espectro 22) y con el experimento HSQC (Espectro 23) fue posible asignar a los carbonos C-3, C-4, C-5a y al carbono del aldehído por las correlaciones con sus protones, además se identificaron a los carbonos cuaternarios C-5 y C-2.

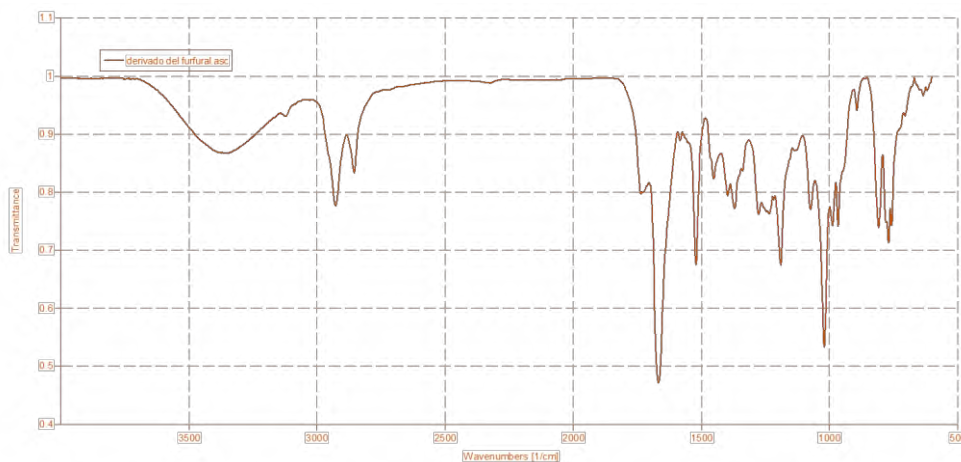


Espectro 22. Espectro de ^{13}C del compuesto **6**.



Espectro 23. Espectro HSQC del compuesto **6**.

En el espectro de IR es posible observar las bandas de vibración para los enlaces O-H en 3300 cm^{-1} y C=O en 1690 cm^{-1} , característico para aldehídos aromáticos. Cabe destacar que el espectro de infrarrojo para este compuesto concuerda con el reportado en la literatura ^x.



Espectro 24. Espectro IR del compuesto **6**.

Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
7.23	H-3	152.44	C-2
6.53	H-4	123.25	C-3
4.72	H-5 ^a	110.18	C-4
9.58	-CHO	160.95	C-5
3.01	-OH	57.70	C-5 ^a
		177.90	C=O

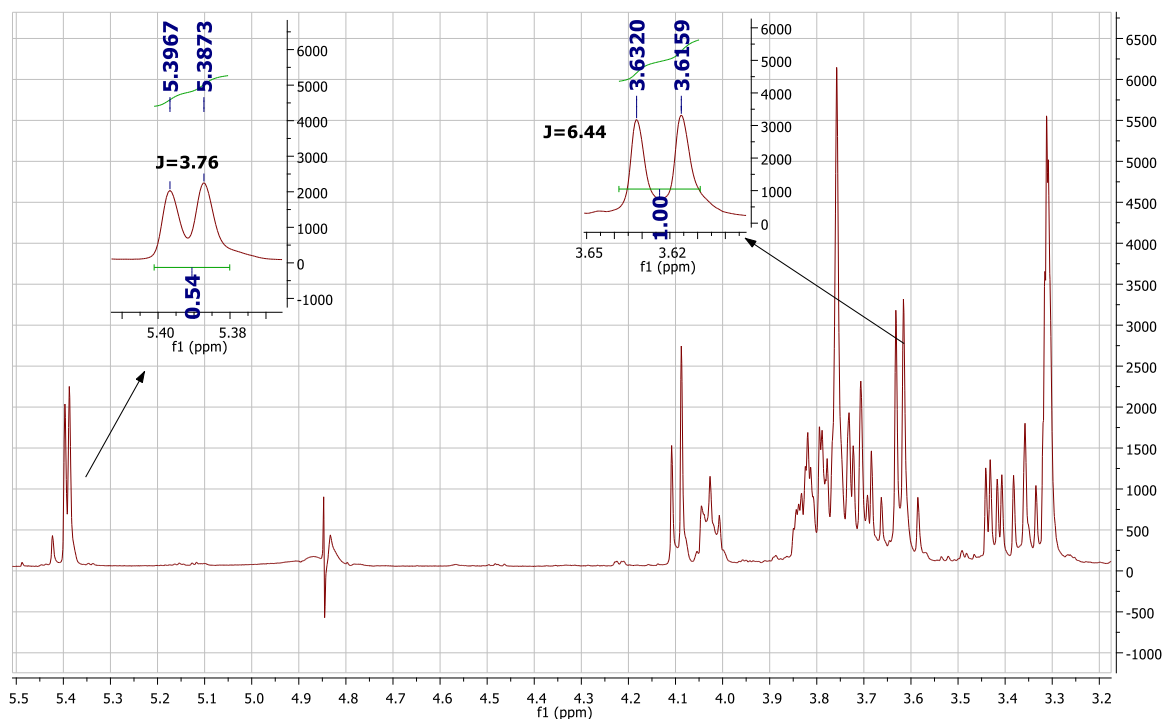
Tabla 6. Desplazamientos en RMN del ^1H y ^{13}C del compuesto 6.

Al 5-(hidroximetil)-furfural se le conoce comúnmente como HMF o hidroximetilfurfural, es un compuesto formado durante la descomposición térmica de los glúcidos. El HMF se ha encontrado en alimentos procesados, leche, jugos de frutas, bebidas alcohólicas, miel, etc.³² Además, reportes recientes indican que el HMF también se encuentra en los cigarrillos y que es carcinógeno.

Caracterización de la sacarosa (7).

Del mismo residuo del que se aisló al HMF, y en una segunda cromatografía de las fracciones 3-8 se aisló un compuesto de color ámbar que reveló al UV y por calcinación con sulfato cérico amoniacal. Una vez aislado el compuesto puro, se llevó al alto vacío y se procedió a realizar su caracterización por resonancia magnética nuclear (RMN).

Los datos obtenidos de los experimentos de ^1H y ^{13}C indican que se trata de la sacarosa, ya que presentan los patrones característicos para este glucido (azúcar). En el espectro de RMN de ^1H (CD_3OD , 400 MHz) destaca la señal doble ($J= 3.8$ Hz) que integra para un protón en 5.39 ppm y que corresponde al protón cetálico de la fracción de la glucosa (Espectro 25). Los glúcidos son biomoléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, que generalmente tienen sabor dulce. En particular, la sacarosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y una de fructosa, que se obtiene principalmente de las plantas (caña de azúcar o de la remolacha azucarera).³³



Espectro 25. Espectro de ^1H del compuesto 7.

En la RMN de ^{13}C se observan las 12 señales de carbono que se esperan para la sacarosa, de las cuales con la ayuda del experimento DEPT se asignaron los carbonos

de los acetales en 105.37 ppm y 93.71 ppm, el primero de ellos corresponde al acetal de la fracción fructuosa y el segundo al carbono del acetal de la fracción glucosa (Espectro 26).

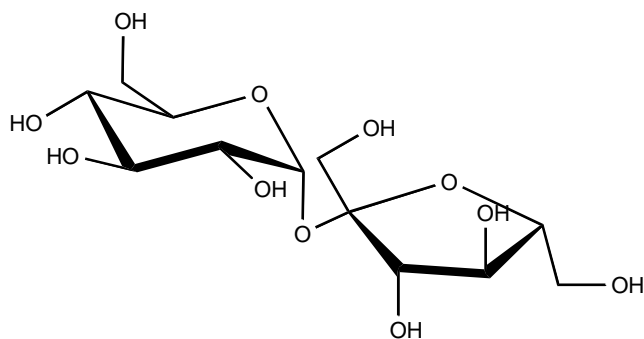
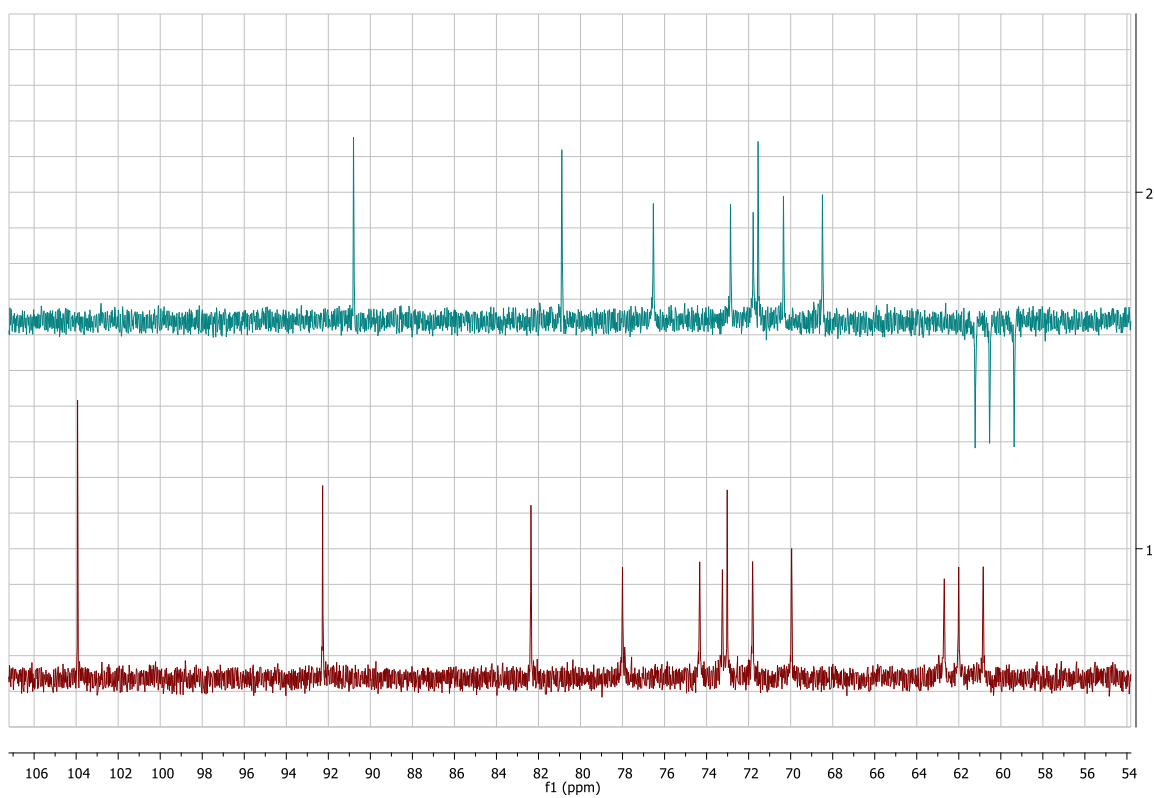


Figura 23: Compuesto 7



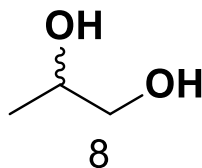
Espectro 26. Espectro de ^{13}C del compuesto 7.

En la Tabla 7 se muestra una comparación de los desplazamientos químicos de ^{13}C experimentales con los reportados en la base de datos SDBS. Las pequeñas diferencias en los desplazamientos químicos se deben a los disolventes deuterados empleados.

Número de carbono	Desplazamiento químico de la base de datos SDBS/ppm	Desplazamiento experimental/ppm
	$\text{D}_2\text{O}/400\text{MHz}$	$\text{CD}_3\text{OD}/400\text{MHz}$
C-1	104.71	105.37
C-2	93.20	93.71
C-3	82.42	83.80
C-4	77.51	79.44
C-5	75.09	75.77
C-6	73.68	74.69
C-7	73.44	74.46
C-8	72.14	73.25
C-9	70.31	71.40
C-10	63.44	64.13
C-11	62.46	63.45
C-12	61.24	62.28

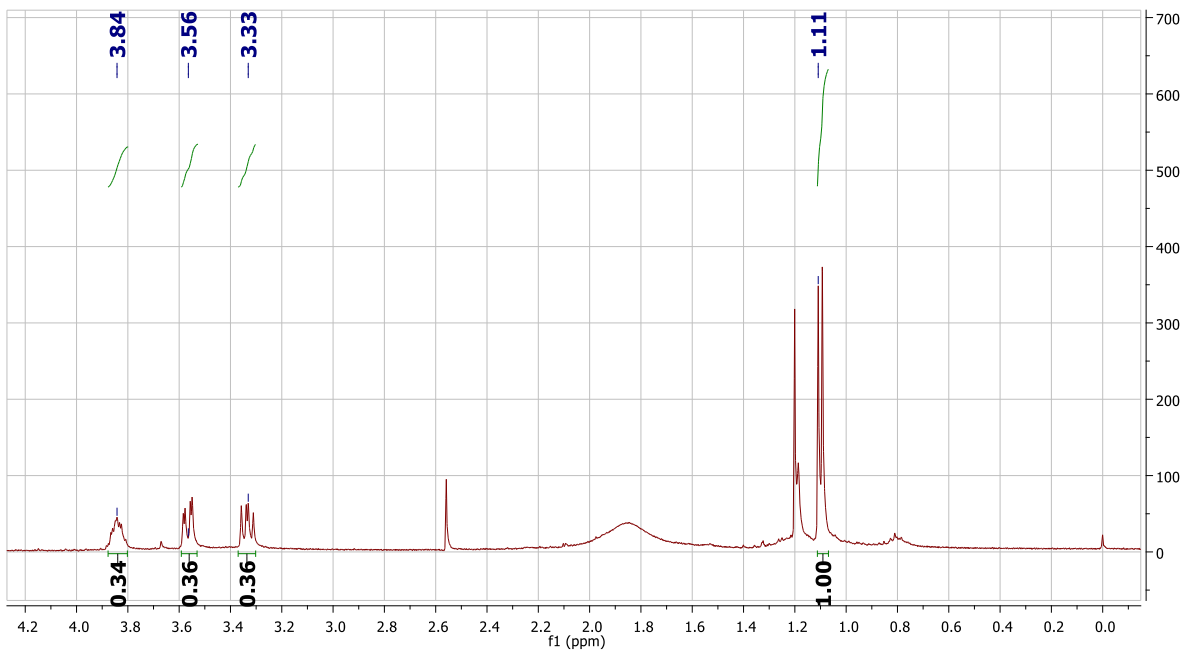
Tabla 7. Desplazamientos en RMN de ^{13}C del compuesto **7**.

Elucidación estructural del propilenglicol (8).

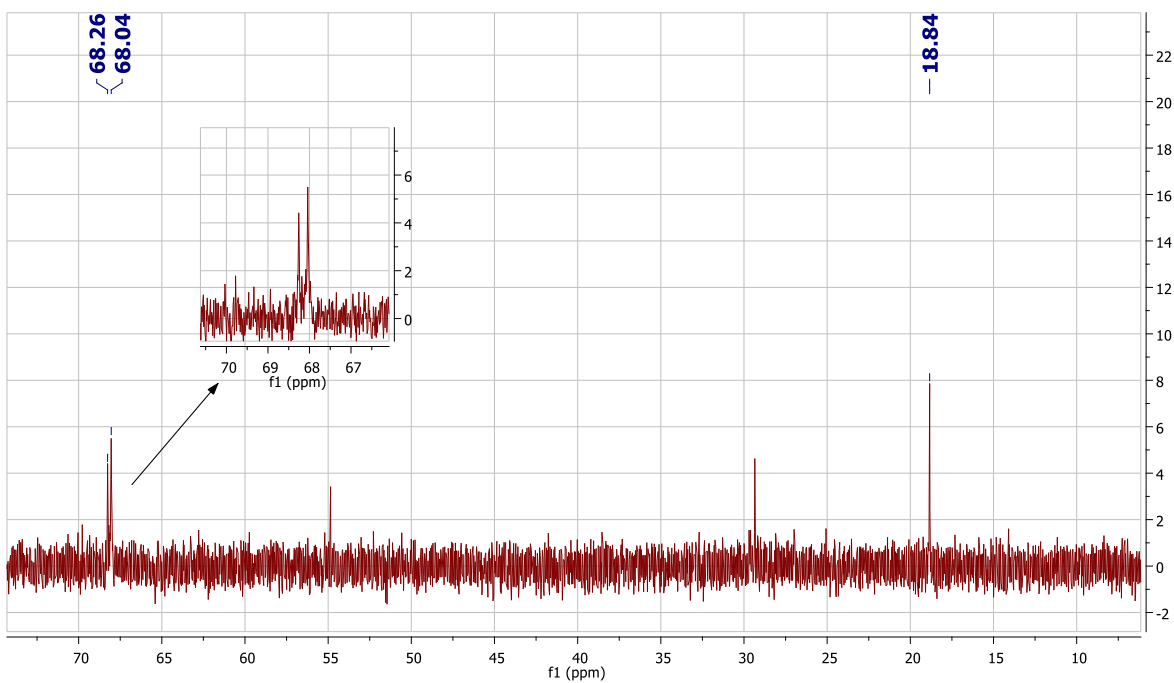


En las últimas fracciones polares se aisló un compuesto que de acuerdo a los espectros de RMN de ^1H , ^{13}C y experimentos bidimensionales se identificó como el propilenglicol (8). En el espectro de ^1H se aprecian cuatro señales, destaca la señal doble que integra para tres protones en 1.11 ppm con una $J=4\text{ Hz}$, y que corresponde al metilo, esta multiplicidad se debe a los acoplamiento con los protones H-3 y H-2. Estos acoplamiento se pueden observar en el experimento COSY (Espectro 29), el protón H-2 muestra una interacción con los protones H-1^a y H-1^b y a su vez, H-2 muestra una interacción con H-3. El protón del metino se observa como una señal múltiple en 3.89 ppm y los protones diasterotópicos del metileno aparecen en 3.61 y 3.38 ppm. En el espectro de ^{13}C se observan tres señales, dos de ellas corresponden a los carbonos base de oxígeno se encuentran en 68.26 y 68.04 ppm, la señal correspondiente al metilo aparece en 18.84 ppm. Las dos señales que se observan de más en el espectro corresponden a impurezas presentes en esta muestra.

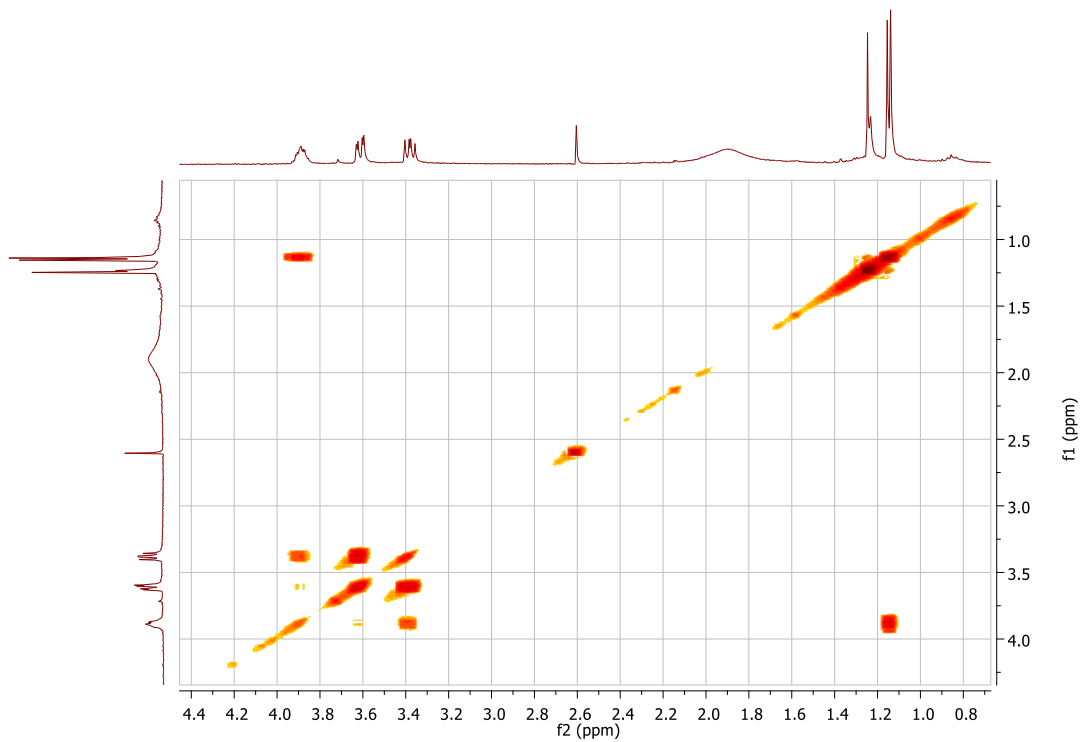
A través de un seguimiento mediante HSQC es posible identificar a los carbonos C-1, C-2 y C-3. En la tabla 8 se muestran los desplazamientos químicos del ^1H y ^{13}C para este compuesto. Cabe destacar que los datos espectroscópicos coinciden con lo reportado en la literatura.³⁴



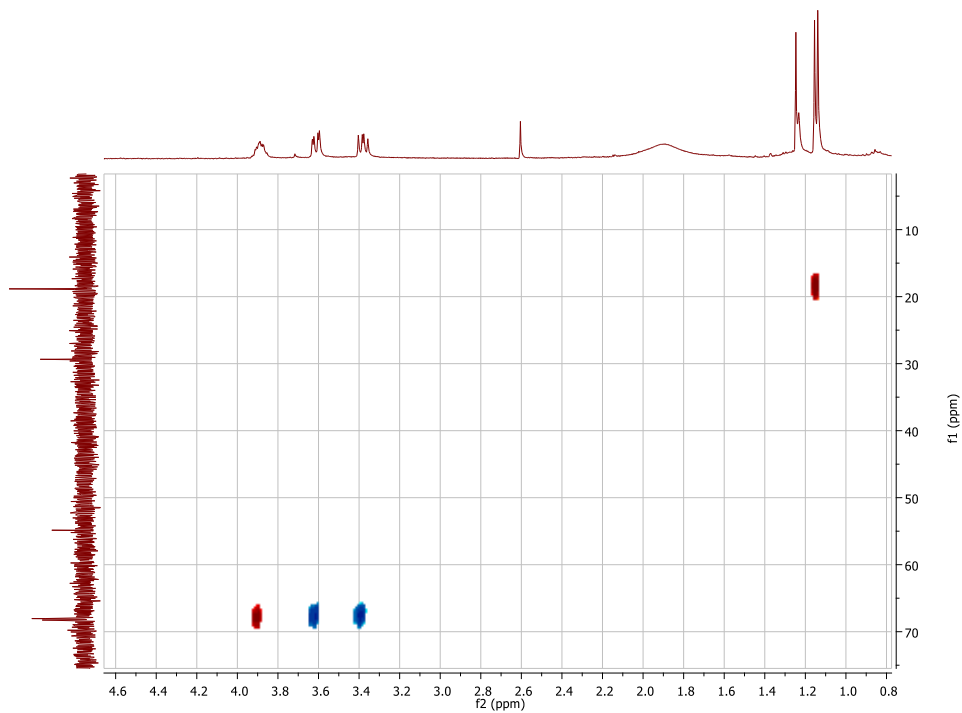
Espectro 27. Espectro de ^1H del compuesto **8**.



Espectro 28. Espectro de ^{13}C del compuesto **8**.



Espectro 29. Espectro de COSY del compuesto **8**.



Espectro 30. Espectro de HSQC del compuesto **8**.

Desplazamiento químico ^1H (δ)	Número de Protón	Desplazamiento químico ^{13}C (δ)	Número de carbono
3.61	H-1 ^a	68.04	C-1
3.38	H-1 ^b	68.26	C-2
3.89	H-2	18.84	C-3
1.11	H-3	---	---

Tabla 8 . Desplazamientos en RMN de ^{13}C del compuesto **8**.

De acuerdo a la literatura, ³⁵ El propilenglicol conocido también como el 1,2-dihidroxiopropano es un líquido aceitoso, incoloro, insípido e inodoro, completamente miscible con agua, se obtiene por hidratación del óxido de propileno y no presenta riesgo a la salud humana. Entre sus aplicaciones más comunes se encuentra que es estabilizador de espumas en cremas de afeitarse, solventes para tintas de impresión, agente humectante para resinas naturales, importante solvente para aromas en la industria de saborizantes concentrados y alimentos, agente de acoplamiento para la elaboración de filtros solares, champús, cremas para afeitarse y otros productos similares, entre otras aplicaciones.

El propilenglicol también ha demostrado ser un tratamiento muy efectivo para el control de la cetosis en el ganado³⁶, y ha sido aprobado por la FDA para esta aplicación, también posee actividad antimicrobiana.

No hay reportes en la literatura acerca de que el propilenglicol (**8**) sea un metabolito en plantas. Es factible considerar que el compuesto **8** sea un contaminante presente en los disolventes empleados.

IX. CONCLUSIONES

- El fraccionamiento del extracto metanólico de *Aristolochia orbicularis*, permitió el aislamiento de 8 compuestos, de los cuales 4 son metabolitos secundarios pertenecientes a la especie vegetal.
- Los metabolitos mayoritarios encontrados en el extracto de *Aristolochia orbicularis* son: un disacárido; sacarosa y una aporfina; taliscanina.
- Con la utilización de las técnicas de RMN de ^1H y ^{13}C se lograron elucidar las estructuras químicas de los 8 compuestos de los cuales 1 es novedoso.
- La aportación más relevante de este trabajo es el aislamiento del diarilnaftaleno (**1**) que no ha sido descrito en la literatura, y este es el primer trabajo que describe su estructura molecular.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Ikan, R., *Selected Topics in the Chemistry of Natural Products*; World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.: London, 2008; Chapter 1.
2. Organización Mundial de la Salud. 2002 Estrategia de la OMS Sobre Medicina Tradicional 2002-2005. Ginebra: Organización Mundial de la Salud (Documento de referencia WHO/EDM/TRM 2002.1).
3. Dewick, P.M. *Medicinal Natural Products, a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons. West Sussex, England, **1997**.
4. Bhat, S. V.; Nagasampagi, B. A.; Sivakumar, M. *Chemistry of Natural Products*, 1ª. Ed., NAROSA, **2005**.
5. Gutiérrez, R. A.; Estévez, B. A. Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el s. xxi. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas Física Natural* **2009**, *103*, 409-419.
6. Wu, T. S.; Damu, A. G.; Su, C. R.; Kuo, P. C. Terpenoids of *Aristolochia* and their biological activities. *Natural Product Reports* **2004**, *21*, 594-624.
7. Kuo, P. C.; Li, Y. C.; Wu, T. S. Chemical Constituents and Pharmacology of the *Aristolochia* species *Journal of Traditional and Complementary Medicine* **2**, **2012**, 249-266.
8. Otero, R.; Nuñez, V.; Barona, J.; Fonnegra, R.; Jiménez, S. L.; Osorio, R. G.; Saldarriaga, M.; Díaz, A. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part III: neutralization of the haemorrhagic effect of *Bothrops atrox* venom. *Journal Ethnopharmacol.*, **2000**, *73*, 233-41.
9. Shafi, P. M.; Rosamma, M. K.; Kaiser, J.; Reddy, P. S. Antibacterial activity of the essential oil from *Aristolochia indica*. *Fitoterapia*, **2002**, *73*, 439-41.
10. Ruffa, M. J.; Ferraro, G.; Wagner, M. L.; Calcagno, M. L.; Campos, R. H.; Cavallaro, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. *J. Ethnopharmacol.*, **2002**, *79*, 335-9.
11. Wu, T. S.; Damu, A. G.; Su, C. R.; Kuo, P. C. Chemical constituents and pharmacology of *Aristolochia* Species, in: Attaur-Rahman, ed., *Studies in natural product chemistry, bioactive natural products*, **2005**, Vol. 32, 855-1018.
12. Hoang, M. L.; Chen, C. H.; Sidorenko, V. S.; Dickman, K. G.; Yun, B. H.; Moriya, M. Mutational Signature of Aristolochic Acid Exposure as Revealed by Whole-Exome Sequencing. *Science Translational Medicine*, **2013**, *7*;5 (197): 197-102.
13. Cosyns, J. P. Aristolochic acid and 'Chinese herbs nephropathy': a review of the evidence to date. *Drug Safety*, **2003**, *26*, 33-48.
14. Chung, Y. M.; Chang, F. R.; Tseng, T. F.; Hwang, T. L.; Chen, L. C.; Wu, S. F.; Lee, C. L.; Lin, Z. Y.; Chuang, L. Y.; Su, J. H.; Wu, Y. C. A novel alkaloid, aristopyridinone A and anti-inflammatory phenanthrenes isolated from *Aristolochia manshuriensis*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, *21*, 1792-1794.

-
15. Navarro G. V. M.; Luna H. J.; Rojas B. M. G.; Álvarez F. P.; Ríos, M. Y. Antibacterial activity of *Aristolochia brevipes* against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Molecules*, **2011**, 16, 7357–7364.
16. Shi, L. S.; Kuo, P. C.; Tsai, Y. L.; Damu, A. G.; Wu, T. S. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2004**, 12, 439–446.
17. Capasso, A.; Piacente, S.; Tommasi, N. D.; Rastrelli, L.; Pizza, C. The effect of isoquinoline alkaloids on opiate withdrawal. *Current Medicinal Chemistry*, **2006**, 13, 807–812.
18. a) Machado, M. B.; Lopes, L. M. X. Chalcone-flavone tetramer and biflavones from *Aristolochia ridicula*. *Phytochemistry*, **2005**, 66, 669–674. b) Machado, M. B.; Lopes, L. M. X. Tetraflavonoid and biflavonoids from *Aristolochia ridicula*. *Phytochemistry*, **2008**, 69, 3095–3102.
19. a) Zhai, H.; Nakatsukasa, M.; Mitsumoto, Y.; Fukuyama, Y. Neurotrophic effects of talaumidin, a neolignan from *Aristolochia arcuata*, in primary cultured rat cortical neurons. *Planta Medica*, **2004**, 70, 598–602. b) Zhai, H.; Inoue, T.; Moriyama, M.; Esumi, T.; Mitsumoto, Y.; Fukuyama, Y. Europrotective effects of 2,5-diaryl-3,4-dimethyltetrahydrofuran neolignans. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2005**, 28, 289–293.
20. León, D. R.; Meckes, M.; Said, F., S.; Molina, S. G. M.; Vargas, V. J.; Torres, J.; Luna, H. J.; Jiménez, A. A. Antimycobacterial neolignans isolated from *Aristolochia taliscana*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* **2010**, 105, 45–51. B) de Pascoli, I. C.; Nascimento, I.R.; Lopes, L. M. X. Configurational analysis of cubebins and bicubebin from *Aristolochia lagesiana* and *Aristolochia pubescens*. *Phytochemistry*, 2006, 67, 735–742.
21. Holzbach, J. C.; Lopes, L. M. X. Aristolactams and alkaloids of *Aristolochia gigantea*. *Molecules* **2010**, 15, 9462–9472.
22. Guillem, T. R. M.; Osuna, F. H. R.; Lagunas, H. G.; Gómez, C. A. Estudio estructural e histoquímico de la semilla de *Aristolochia orbicularis* Tlacopaltli. *Memorias del congreso de histología XXVIII. UNAM-I* **2004**.
23. Rauscher, J.; Guillén, R. M.; Albores, V. M.; González, G.; Vostrowsky, O.; Bestmann, H. J. The Repellence of *Aristolochia aff. orbicularis* Roots against the Corn Borer *Sitophilus zeamais*. *Zeitschrift fur Naturforsch, C: Journal Biosciences*, **2001**. 56c, 575-580.
24. Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. "Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution" *Journal of Organic Chemistry*, **1978**, 43, 2923-2925.
25. <http://www.sigmaaldrich.com/spectra/fnmr/FNMR004554.PDF>.
26. Instituto nacional de seguridad e higiene en el trabajo, documentación toxicológica para establecimiento del límite de exposición profesional del 2-butoxi-etanol.
27. www.inchem.org, Texanol, CAS N°: 25265-77-4, International Programme on Chemical Safety, OECD/SIDS; Screening Information Data Set of OECD High Production Volume Chemical Programme, **1994**.
28. www.chemicalbook.com, Dibutyl phthalate (84-74-2) ¹HNMR

-
29. Susan, M. D.; Narendra, P. S.; Manori, J. S.; Dana, B. B.; John, W. B.; Louise, R.; Robert, F. H.; David, C.; Christiani y Russ Hauser. La relación entre la exposición ambiental a los ftalatos y el daño al ADN en el espermatozoides humano. *Environmental Health Perspectives*, **2003**, 111: 1164-1169.
30. Khalid, S. M.; Deng, Y.; Parveen Z.; Dai, R.; Ahmad, W.; Yu, Y. "Studies on the Chemical Constituents of *Torreya grandis* fort. Ex Lindl. *Journal of applied Sciences*, **2007**, 7, 269-273
- 31 Urzua, A.; Espinoza, J.; Olgúin, Á.; Santander, R. Phenolic aristolactams from leaves and stems of *Aristolochia chilensis*, *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 12, núm. 5, **2013**, 537-542.
- 32 Rada, M. M.; Olano, A.; Villamiel, M. Determination of hydroxymethylfurfural in commercial jams and in fruit based infant foods. *Food Chem*, **2002**, 79: 513-516.
- 33 Mollinedo, P. M. A.; Benavides, C. G. L. *Revista de Actualización Clínica*, Vol. 41, **2014**
34. http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi.
35. Dow Propilenglicol USP/EP. The Dow Chemical Company.PDF
36. Emery R.S.; Burg, N.; Brown, L.D.; Blank, G.N. "Detection, Occurrence, and Prophylactic Treatment of Borderline Ketosis with Propylene Glycol Feeding," *Journal of Dairy Science*, **1964**, Vol 47, No. 10: 1074-1079.