



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Campus TUXTEPEC

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Caracterización estructural de los compuestos presentes en el extracto metanólico de las hojas de *Tradescantia spathacea*.

T E S I S

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS

Presenta

YUNUEN ERANDY TORRES ZAMUDIO

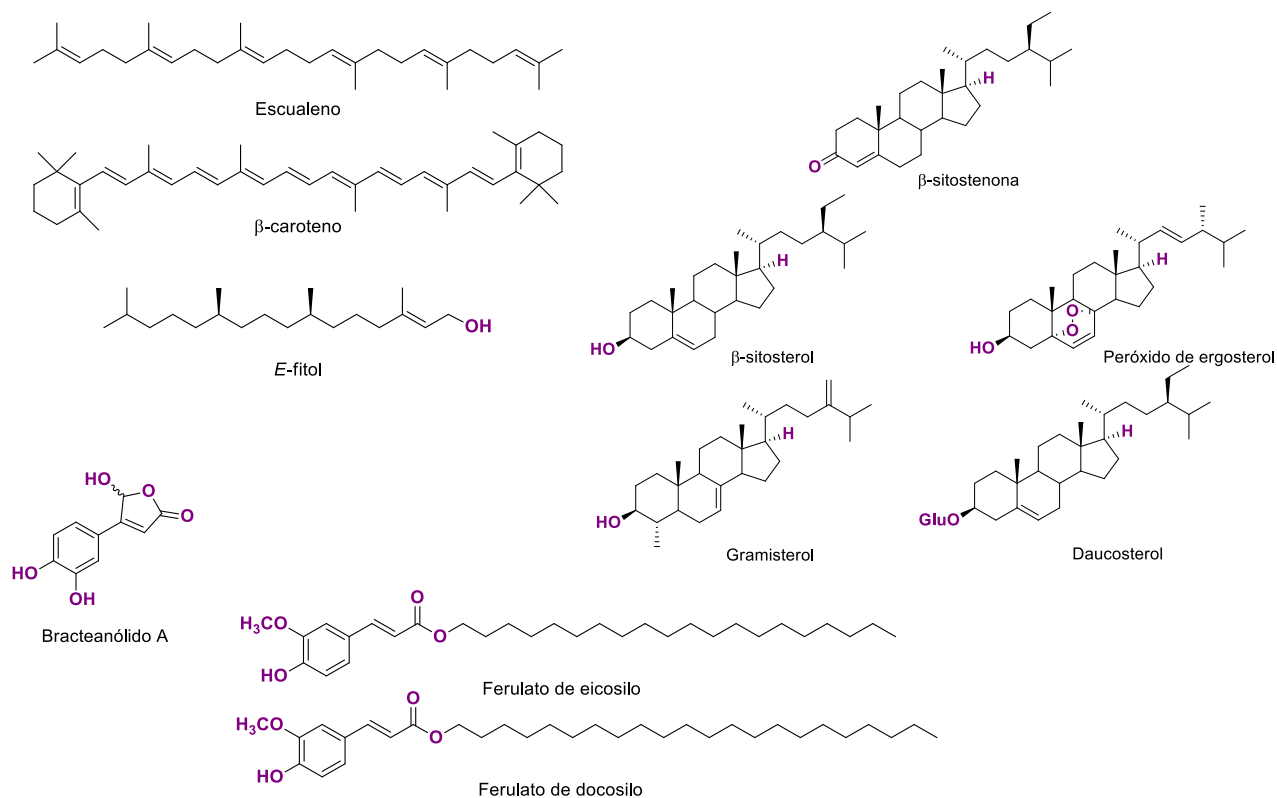
Director de Tesis

Dr. Lemuel Pérez Picaso

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México, 2019.

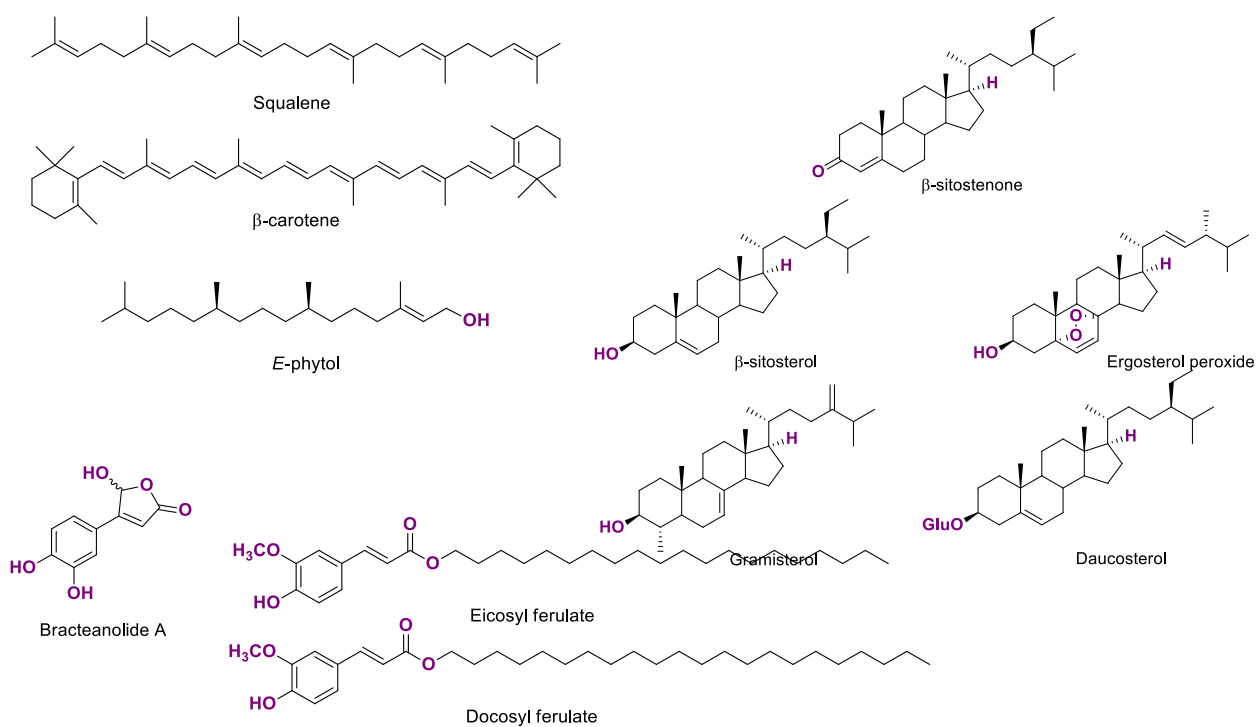
RESUMEN

La planta *Tradescantia spathacea*, conocida frecuentemente como maguey morado, es utilizada en la medicina tradicional mexicana, las hojas secas o soasadas se emplean para el tratamiento de diversas enfermedades (cáncer, tétanos, etc.) o como agente cicatrizante, antiséptico y antimicrobiano. A partir del extracto metanólico de las hojas de la planta, se aislaron 11 metabolitos secundarios; cinco esteroides (β -sitosterol, β -sitostenona, gramisterol, peróxido de ergosterol y daucosterol), tres terpenos (*E*-fitol, β -caroteno y escualeno), dos fenilpropanoides (ferulato de eicosilo y ferulato de docosilo) y un derivado de la butirolactona (bracteanólido A), a excepción de la butirolactona, esta es la primera vez que se reportan estos metabolitos en las hojas de la especie.



ABSTRACT

Tradescantia spathacea plant is known as purple maguey, it is used in traditional Mexican medicine, the dried leaves or slightly roasted are used to treat various diseases or as a wound healing, antiseptic and antimicrobial agent. From the methanolic extract of the leaves, 11 secondary metabolites were isolated; five steroids (β -sitosterol, β -sitostenone, gramisterol, ergosterol peroxide and daucosterol), three terpenes (*E*-phytol, β -carotene and squalene), two phenylpropanoids (eicosyl ferulate and docosyl ferulate) and a derivative of butyrolactone (bracteanolide A). All compounds, except butyrolactone, are reported in the leaves of the species for the first time.





UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

OFICIO	DEP/2018/MCQ/058
ASUNTO	Revisión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, a 4 de diciembre de 2018

C. YUNUEN ERANDY TORRES ZAMUDIO
 ESTUDIANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS
 UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN


Por este medio le informo que el jurado de su examen para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas estará integrado por los siguientes investigadores.

Dra. Nelda Xanath Martínez Galero	UNPA	Presidente
Dra. Norma Francenia Santos Sánchez	UTM	Vocal
Dr. José Antonio Morales Serna	UNPA	Secretario
Dr. Omar Viñas Bravo	UNPA	1er Suplente
Dra. Roxana Martínez Pascual	UNPA	2do Suplente


Sin más por el momento, le envío saludos cordiales.

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
 Bou Lo-tama, chí jí jú



Dr. Adolfo López Torres
 Jefe de la División de Estudios de Posgrado
 DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



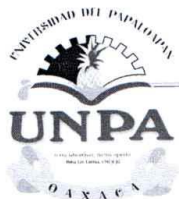
M. en C. Héctor López Anjona
 Vice-rector Académico
 Vo. Bo. VICE-RECTORIA ACADEMICA

C.c.p. Dr. Lemuel Pérez Picaso, Dra. Jacqueline Capataz Tafur – Director y Co-directora de tesis.
 C.c.p. L. P. Yesenia Barrientos Arenal – Jefe de Servicios Escolares.
 C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC
 C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.
 C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
 Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA
 Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
 C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
 Tel. 01(281)8729230



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO	DEP/2018/119
ASUNTO	Autorización de impresión de tesis

San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, México a 4 de diciembre de 2018

L. P. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Sirva la presente para informarle que el jurado del examen para obtener el grado de Maestra en Ciencias Químicas de la **C. Yunuen Erandy Torres Zamudio**, matrícula **16130006**, ha autorizado la impresión del manuscrito que lleva por título "**Caracterización estructural de los compuestos presentes en el extracto metanólico de las hojas de Tradescantia spathacea**" para su posterior presentación y defensa por parte del sustentante.

De antemano agradezco su atención, sin más que agregar, quedo a sus órdenes.

Atentamente

terra uberrima, mens aperta
Bou Lo-tama, chí jí jú

~~Dr. Adolfo Lopez Torres~~
Jefe de la División de Estudios de Posgrado



C.c.p. C. Yunuen Erandy Torres Zamudio
C.c.p. Archivo

CAMPUS TUXTEPEC
C. Circuito central No. 200, Col. Parque Industrial.
C.P. 38301, Tuxtepec, Oax.
Tel. 01(287)8759240

www.unpa.edu.mx

CAMPUS LOMA BONITA
Av. Ferrocarril S/N, Ciudad universitaria.
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax.
Tel. 01(281)8729230

El presente trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Química orgánica de la Universidad del Papaloapan, *campus* Tuxtepec, bajo la dirección del Dr. Lemuel Pérez Picaso. Se agradece a CONACYT por la beca **458288** otorgada; al proyecto CB-2011/169593 “Síntesis de epiditiodicetopiperazinas y su evaluación biológica” por el financiamiento y a LINAN-UNPA (INFRA-2015-01-252013).

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi madre por su amor, su apoyo incondicional, su comprensión, su empatía y por siempre creer en mí. A mi padre por sus enseñanzas, por el apoyo brindado y por siempre impulsarme a dar lo mejor de mí.

A mi hermano Xavier “el adoptado”, por sus palabras de aliento, por siempre darme apoyo y porque sé que siempre en las buenas y en las malas, ahí estará.

Dr. Lemuel, gracias por aceptarme nuevamente como su tesista, por siempre brindarme su apoyo, su paciencia, sus consejos, su tiempo, por el conocimiento transmitido y por su disposición ante todos los percances.

Gracias a mis revisores de tesis: Dra. Nelda Xanath Martínez Galero, Dra. Norma Francenia Santos Sánchez, Dr. José Antonio Morales Serna, Dr. Omar viñas Bravo y a la Dra. Roxana Martínez Pascual, por sus observaciones y aportaciones para hacer de éste un mejor trabajo.

Agradezco al Vicerrector M.C. Héctor López Arjona por su valioso apoyo, a la Lic. Yesenia Barrientos y a todo el personal de Servicios Escolares por su apoyo y amabilidad. A la química Lety y a Bety por su apoyo y facilitación para proporcionarme el material requerido para este trabajo.

Agradezco al Dr. Adolfo por apoyarme en la realización algunos de mis experimentos, por su amable disposición, así mismo por la enseñanza y conocimiento brindado.

Agradezco al Dr. Omar por su asesoramiento, por el tiempo extra dedicado y por todos los conocimientos brindados a través de toda mi formación.

A mi persona Sam, gracias por tu apoyo, comprensión, paciencia, por darme y sobre todo por tu amor y ternura. Gracias por seguir siendo parte de este viaje amor. Te amo.

permanecer a mi lado en toda esta segunda etapa de mi formación académica. Te amo.

A mis dos mejores amigas Yure y May, que saben perfectamente que no se me dan mucho las palabras pero...lo intentaré...Gracias Yure, mi amiga (hermana), gracias por todo tu apoyo, paciencia y por todas las aventuras juntas, ha sido un placer compartir contigo una de las etapas más importantes de nuestras vidas. Para May, que siempre recuerdes que la verdadera amistad no radica en la cantidad de horas que estamos juntos, sino en el poder estar separados sin que nada cambie, siempre las llevaré en mi corazón, sé que podré contar con ustedes, así como ustedes conmigo, ya que en la vida creamos vínculos que no se pueden romper. Las quiero mucho.

A mis compañeros de generación, Yure, Brenda (Brenduski), Crisanto Tere, Michel, Edgar y Ana Karen, gracias por todos los consejos, los momentos compartidos y palabras de aliento. Los quiero

A mis amigos de laboratorio Bren, Cecy, Aby, Gaby y Flavio, que incluso en los momentos sombríos siempre nos alegrábamos los días, gracias por su amistad, por los divertidísimos momentos, las locuras, y las canciones extrañas.

Bren, a través de la vida, es difícil encontrar buenas personas, así como buenos amigos, gracias por permitirme compartir de todo tipo de momentos contigo y por dejarme ser parte de tu vida en este pequeño viaje, siempre podrás contar conmigo. Te quiero Brenduski mi amigota (porque dice que yo soy su amiguita).

Y finalmente a mi alma mater UNPA.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado principalmente a la persona que me impulsó, me alentó en cada etapa en la que estuvo presente en mi vida, que me enseñó que con dedicación y perseverancia se pueden llegar a hacer grandes cosas y por ser el ejemplo para salir adelante. Uno de mis ángeles: mi abuelita Marce[†].

A mi abuelito Michael[†] siempre te llevare en mis recuerdos y mi corazón.

A mi abuelito Ignacio por sus consejos, sus palabras de aliento y por su amor.

Y a todas aquellas personas que han creído en mí, me han brindado su cariño y han participado en mi formación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN II

ABSTRACT III

ÍNDICE DE FIGURAS XIII

ÍNDICE DE TABLAS XIV

ÍNDICE DE ESPECTROS XV

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS XVI

I. INTRODUCCIÓN..... 1

II. MARCO TEÓRICO 2

2.1 Características generales de los metabolitos secundarios 2

2.2 Familia Commelinaceae 3

2.3 *Tradescantia spathacea* 3

 2.3.1 Clasificación botánica 4

 2.3.2 Uso tradicional 4

III. ANTECEDENTES..... 6

3.1 Estudio fitoquímico de *Tradescantia spathacea* 6

3.2 Estudio fitoquímico del género *Tradescantia* 12

 3.2.1 *Tradescantia zebrina* 12

 3.2.2 *Tradescantia albiflora* 13

 3.2.3 *Tradescantia virginiana* 14

 3.2.4 *Tradescantia pallida* 14

IV. JUSTIFICACIÓN..... 16

V. HIPÓTESIS 17

VI. OBJETIVOS 18

6.1 Objetivo general 18

6.2 Objetivos específicos	18
VII. METODOLOGÍA.....	19
7.1 Recolección de la planta.	19
7.2 Depósito en el herbario.....	20
7.3 Tratamiento del material vegetal	20
7.4 Obtención del extracto alcohólico asistida por ultrasonido.....	20
7.4.1 Extracciones líquido-líquido con disolventes de diferentes polaridades.....	20
7.5 Perfil fitoquímico preliminar	21
7.6 Identificación de los sistemas de la fase móvil de los diferentes extractos mediante cromatografía en capa fina.....	23
7.7 Aislamiento y purificación de los metabolitos mediante cromatografía en columna.	23
7.8 Elucidación estructural de los metabolitos aislados en los diferentes extractos.	24
7.8.1 Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear.	24
7.8.2 Espectrometría de Masas.....	25
7.8.3 Espectroscopia de Infrarrojo.....	25
7.8.4 Espectrofotometría de UV-Vis	25
VIII.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
8.1 Perfil fitoquímico preliminar.	26
8.2 Aislamiento de metabolitos secundarios por CC de los extractos de hexano, CH ₂ Cl ₂ y AcOEt.....	26
Purificación y caracterización de escualeno (49).....	28
Purificación y caracterización de β-caroteno (50).....	29
Purificación y caracterización de β-sitostenona (51).....	31
Purificación y caracterización del <i>E</i> -fitol (52).....	33
Purificación y caracterización de β-sitosterol (1)	35
Purificación y caracterización del gramisterol (53).....	37

Purificación y caracterización del peróxido de ergosterol (54)	39
Purificación y caracterización de los ferulatos de eicosilo (55) y docosilo (56)	41
Purificación y caracterización del bracteanólido A (19)	48
Purificación y caracterización del glucósido de β -sitosterol (57)	51
Comparación de los esteroides aislados	53
IX. CONCLUSIONES	55
X. ANEXOS.....	56
XI. REFERENCIAS	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Compuestos aislados de los tallos de <i>T. spathacea</i>	6
Figura 2. Estructuras de los metabolitos identificados.	8
Figura 3. Estructuras de los 16 compuestos aislados de <i>T. spathacea</i>	9
Figura 4. Estructura de los compuestos identificados mediante HPLC.	11
Figura 5. Compuestos identificados de la fracción MF1.	12
Figura 6. Compuestos aislados de <i>Tradescantia zebrina</i>	13
Figura 7. Compuestos aislados de <i>Tradescantia albiflora</i>	14
Figura 8. Estructura de la antocianina virginianina.	14
Figura 9. Estructura de la antocianina setcreasina.	15
Figura 10. Metodología de trabajo.	19
Figura 11. Extracciones líquido-líquido del extracto crudo de MeOH.	21
Figura 12. Metabolitos aislados de las hojas de <i>T. spathacea</i>	27
Figura 13. OH de C-3 en a) ecuatorial, b) en axial y c) constantes de acoplamiento en el ciclohexano.	54
Figura 14. Multiplicidad de ^1H del H-3 de los fitoesteroides a) 1 , b) 54 y c) 53	54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Usos del maguey morado en la medicina tradicional mexicana.	5
Tabla 2. Procedimiento de perfil fitoquímico preliminar para metabolitos secundarios.	22
Tabla 3. Resultados del perfil fitoquímico preliminar.	26
Tabla 4. Desplazamientos químicos de ^{13}C del escualeno (49).	28
Tabla 5. Desplazamientos químicos de la β -sitostenona (51).	32
Tabla 6. Desplazamientos químicos de ^{13}C del <i>E</i> -fitol (52).	34
Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del β -sitosterol (1).	36
Tabla 8. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C de gramisterol (53).	38
Tabla 9. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del peróxido de ergosterol (54).	40
Tabla 10. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del alquil ferulato (55).	43
Tabla 11. Comparación de los desplazamientos de ^{13}C obtenidos contra los descritos en la literatura.	45
Tabla 12. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del bracteanólido A (19).	49
Tabla 13. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del glucósido de β -sitosterol (57).	52

ÍNDICE DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de UV-Vis del compuesto 50 en hexano.....	30
Espectro 2. ESI-MS del compuesto 51	33
Espectro 3. ESI-MS del compuesto 54	41
Espectro 4. Correlaciones de <i>g</i> HMBC de protones aromáticos de 55 y 56	43
Espectro 5. Correlaciones de <i>g</i> HMBC de protones: a) vinílicos y b) protón alifático 1' y 2' de 55 y 56	44
Espectro 6. Correlaciones de <i>g</i> HMBC del metoxilo del compuesto 55 y 56	45
Espectro 7. Correlaciones de <i>g</i> HSQC de los compuestos 55 y 56	46
Espectro 8. Correlaciones de <i>g</i> COSY de los compuestos 55 y 56	46
Espectro 9. ESI-MS de los compuestos 55 y 56	47
Espectro 10. Correlacion de <i>g</i> COSY del compuesto 19	49
Espectro 11. Correlaciones de <i>g</i> HMBC del bracteanólido A (19).	50
Espectro 12. ESI-MS del compuesto 19	50
Espectro 13. Correlación de <i>g</i> HMBC del compuesto 57	53

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

δ	Desplazamiento químico
λ	Longitud de onda
(CD ₃) ₂ CO	Acetona deuterada
(CH ₃ CO) ₂ O	Anhídrido acético
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
COSY	Correlación Homonuclear Espectroscópica
d	Doble
dd	Doble de doble
dddd	Doble de doble de doble de doble
ESI-MS	Espectrometría de masas con ionización por electrospray
HSQC	Correlación Cuántica Heteronuclear Simple
HMBC	Correlación Heteronuclear a través de Múltiples Enlaces
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Múltiple
MS	Metabolitos secundarios
MTT	Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
R _f	Factor de retención
RFC	Fuerza centrífuga relativa
s	singulete
sa	singulete amplio
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
UV-Vis	Ultravioleta visible

I. INTRODUCCIÓN

México posee una flora medicinal muy extensa, es considerado un país megadiverso debido a su variedad biológica y a su ubicación geográfica, se localiza en la zona neártica y neotropical, lo cual favorece la existencia de diferentes ecosistemas y por ende el desarrollo de muchas especies.¹ La medicina tradicional surge con el conocimiento de las propiedades curativas de los productos naturales (plantas, hongos, animales, etc.) utilizados por las comunidades autóctonas como remedios medicinales y que se ha transmitido por generaciones para curar sus enfermedades.

La medicina tradicional ha sido fundamental en el tratamiento de diversas patologías principalmente en los países en vías de desarrollo. Actualmente más de 100 millones de europeos la utilizan; una quinta parte de ellos recurre regularmente a ella, y una proporción similar prefiere atención sanitaria que la incluya. El número de usuarios de la medicina tradicional es mucho mayor en África, Asia, Australia y América del Norte.² Este hecho puede ser considerado una buena evidencia de su eficacia, y por tanto, la información proporcionada por la medicina tradicional acerca de las propiedades terapéuticas de las plantas ha tomado un papel significativo, particularmente, en la búsqueda e investigación de especies empleadas en el tratamiento y prevención de enfermedades favoreciendo a innumerables investigaciones científicas, tanto nacionales como internacionales, con la finalidad de buscar compuestos bioactivos de plantas.

La especie *Tradescantia spathacea* es una planta endémica del sureste mexicano, también llamada “maguey morado”, empleada en la medicina tradicional para prevenir o tratar problemas de tipo infeccioso, cáncer, gangrena, várices, lavar heridas, tos, entre otros. Algunas sustancias químicas detectadas en la planta como: flavonoides, antocianinas, saponinas, carotenoides, ceras, terpenoides, compuestos cumarínicos y esteroides.³ En este trabajo se efectuó el estudio del extracto metanólico asistido por ultrasonido de las hojas de *T. spathacea*, del cual se derivaron fracciones solubles con disolventes de diferente polaridad con el objetivo de simplificar la complejidad del extracto para efectuar el aislamiento y purificación de los metabolitos secundarios.

II. MARCO TEÓRICO

Las plantas son fuentes de un gran número de productos de importancia comercial que se emplean en la industria química como; la farmacéutica, alimenticia, cosmética y como fuentes de numerosas sustancias de interés agroquímico.⁴

Las plantas han generado diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico. Para defenderse del daño ocasionado por insectos o microorganismos patógenos, las plantas sintetizan enzimas que degradan la pared celular de microorganismos o que tienen la capacidad de inactivar los metabolitos tóxicos de origen microbiano. La pared celular vegetal cambia tanto en su composición como en la estructura, formando una barrera más rígida y menos digerible para insectos. Estas respuestas de defensa a su vez se combinan con el desarrollo de estructuras contra sus depredadores, tales como las espinas, las espigas, los tricomas y los pelos glandulares. Otra estrategia generada por las plantas como parte de la protección química debido al estrés, es la producción de metabolitos secundarios (MS) con actividad antimicrobiana o antioxidante. Los MS son compuestos de bajo peso molecular que no sólo presentan una gran importancia ecológica debido a su participación en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente como, el establecimiento de la simbiosis con otros organismos, en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, se generan como una respuesta al ser expuestas a condiciones adversas como, a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos (virus, bacterias y hongos), c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico.⁵

2.1 Características generales de los metabolitos secundarios

Se conocen aproximadamente 20,000 estructuras de metabolitos secundarios (MS) que por su composición química son clasificados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los MS que contienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. Los MS no nitrogenados se dividen en terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides. La amplia variedad estructural dentro de un mismo grupo de MS es ocasionada por modificaciones químicas a

una estructura básica, originadas por reacciones químicas como: la hidroxilación, metilación, epoxidación, malonilación, esterificación y la glucosilación.⁶

2.2 Familia Commelinaceae

La familia Commelinaceae se compone de 650 especies, pertenece a una de las 5 familias del orden Commelinales de monocotiledóneas que crecen como maleza en muchos lugares.⁷ Se cree que se originaron en los trópicos del viejo mundo, a pesar de ello ahora están ampliamente distribuidas a lo largo de los sub-trópicos y trópicos de ambos hemisferios, junto con algunas especies que sobreviven incluso en climas más templados. Debido a sus hojas vistosas azuladas o violáceas y/o flores, estas plantas suelen ser cultivadas para fines ornamentales, pero también se sabe que se utilizan etnobotánicamente para el tratamiento de muchas enfermedades como las infecciones micóticas, enfermedades venéreas, heridas, trastornos gastrointestinales y cáncer, lo que podría estar relacionado con sus propiedades antibacterianas y antioxidantes. Las plantas de esta familia son una rica fuente de compuestos bioactivos renovables, ya que son generalmente siempre verdes, perennes, resistentes y prolíficos. Al igual que otras familias de plantas que acumulan silicio, como las Gramineae (arroz/trigo) y Cucurbitaceae (calabaza), las Commelinaceae, son menos propensas a las alteraciones del crecimiento, desarrollo y reproducción que las plantas con acumulación de silicio. Diversas especies de Commelinaceae son consideradas maleza debido a su rápido crecimiento, resistencia y capacidad de raíz en los nodos. También son resistentes a la mayoría de los herbicidas, y capaces de regenerarse rápidamente. Estos rasgos las convierten en un recurso ideal renovable y abundante para la obtención de compuestos bioactivos.⁸

2.3 *Tradescantia spathacea*

La especie *Tradescantia spathacea*, cuyos sinónimos taxonómicos aceptados son *Rhoeo spathacea*, *Rhoeo discolor*, entre otros, también es conocida comúnmente como "maguey morado", es un miembro de la familia *Commelinaceae*.⁹ Esta planta se encuentra comúnmente a lo largo de los trópicos del Golfo de México, el Caribe y las costas de América Central.¹⁰ En las culturas regionales las hojas de la planta se consumen en infusiones o como un tratamiento directo sobre la piel, también han sido empleadas para tratar la rinitis

alérgica, micosis superficial, úlceras, como agente antiinflamatorio y dermatológico y su uso más importante es en el tratamiento del cáncer.¹¹

2.3.1 Clasificación botánica

A continuación, se describe la clasificación botánica de *T. spathacea*.¹²

Reino: Plantae
Subreino: Fanerógamas
Subdivisión: Angiospermophytina
Clase: Monocotiledónea
Subclase: Commelinidae
Orden: Commelinales
Familia: Commelinaceae
Género: *Tradescantia*
Especie: *spathacea*



Descripción botánica: Es una hierba perenne con tallo corto y fuerte, casi oculto por las bases de las hojas que se solapan. Forma aglomeraciones por ramas de raíz carnosa. Las hojas se extienden erguidas y se solapan estrechamente en patrón de espiral. Posee cuchillas ampliamente lineales, de punta afilada, cerosas, rígidas, algo carnudas, de 15-30 cm de largo y 2.5-8 cm de ancho. Las superficies superiores son de color verde oscuro o verde con rayas amarillo pálido. Las superficies inferiores son usualmente púrpuras. Las flores son pequeñas de color blanco y se agrupan dentro de una bráctea plegada (en forma de barco) de 3-4 cm de largo, localizadas en las axilas de las hojas, presentan tres pétalos y seis estambres con tallos peludos. Produce una fruta con una cápsula que contiene dos semillas, en racimos dentro de la bráctea.

2.3.2 Uso tradicional

Son diversas las aplicaciones medicinales que esta planta tiene en diferentes estados de la República Mexicana (Tabla 1).

Tabla 1. Usos del maguey morado en la medicina tradicional mexicana.

Estado	Finalidad		Modo de empleo
Chiapas ¹³	Curación de llagas y heridas.	Cocción de las hojas	Se lava la zona afectada con el líquido obtenido durante tres veces al día o hasta que sane.
Puebla ¹³	Tratamiento del cáncer.	Trituración de las hojas secas	Se espolvorean en el área dañada. Además se hace un té con las hojas y se toma diariamente en ayunas una taza.
	Disentería.	No se especifica	No se especifica.
Tabasco ¹³	Desinfectante, desinflamatorio y contra el tétanos.	Cocción de las hojas o las hojas soasadas	Con el líquido se lavan las partes afectadas, al igual que las heridas; o se exprimen las hojas soasadas sobre estas zonas y luego se espolvorea sal en donde se ha aplicado el jugo.
	Cefalea.	Hojas soasadas	Se aplican en la cabeza las hojas untadas con vaporub, y se amarran con un trapo.
	Tos y el asma.	Hojas soasadas	Se bebe el jugo de las hojas con miel o limón.
	Infecciones, dolores intestinales, dolor de riñón o para aliviar la inflamación interna causada por golpes.	Hojas soasadas o infusión de las hojas	Se bebe el jugo de las hojas.
	Gripe.	Infusión de las hojas	A la infusión se le agrega cebollín (<i>Allium hermetii</i>) y hierbabuena.
	Dolor de espasmo y tétanos en las mujeres recién paridas.	Infusión de las hojas	Se administra durante un mes junto con manzanilla (<i>Malvaviscus arboreus</i>), romero, alucema, nuez moscada y miel del monte.
Veracruz ¹³	Antiinflamatorio, para tratar el cáncer, la gangrena y para lavar heridas.	No se especifica	No se especifica.
Yucatán ¹³	Antiséptico.	No se especifica	No se especifica.
Campeche ¹⁴	Curación de llagas y heridas, antiséptico; desinfectante, desinflamatorio, tétanos, para tratar el cáncer, la gangrena y para lavar heridas; limpieza del vientre en mujeres recién paridas.	Cocción de las hojas	En cocimiento combinado con orégano, jengibre, limón y miel, se bebe el agua
Oaxaca*	Curación de llagas y heridas (cicatrizante), antiséptico y desinflamatorio.	Hojas soasadas	Se exprime el jugo de las hojas sobre la zona afectada.

*Datos obtenidos en Tuxtepec, Oaxaca.

III. ANTECEDENTES

3.1 Estudio fitoquímico de *Tradescantia spathacea*

Las interesantes propiedades medicinales que se le atribuyen a *T. spathacea* han propiciado el estudio fitoquímico y farmacológico de los extractos obtenidos de las hojas de esta planta.

En el estudio del extracto de AcOEt del tallo de *T. spathacea* en 2002; se aislaron y elucidaron 3 metabolitos. Dos esteroides; β -sitosterol (**1**), estigmasterol (**2**) y un derivado de la butirolactona; 4-(2',4'-dihidroxifenil)-5-hidroxifuran-2(5H)-ona (**3**; Figura 1).¹²

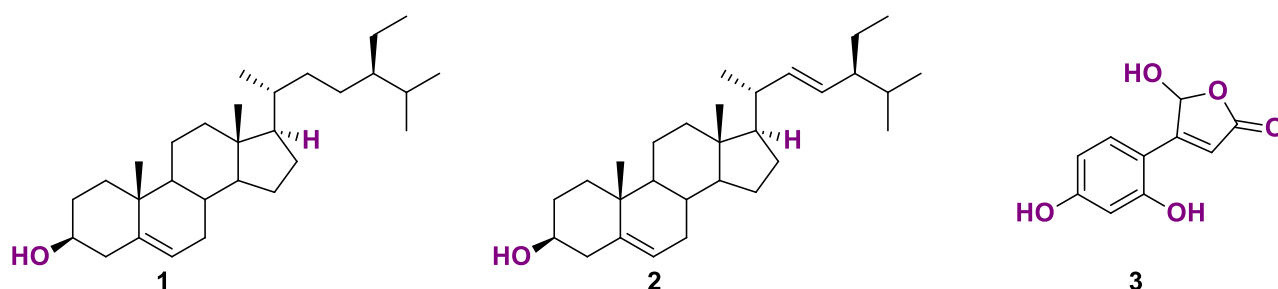


Figura 1. Compuestos aislados de los tallos de *T. spathacea*.

En 2003, se evaluaron las propiedades antioxidantes, antígenotóxicas y antimutagénicas del extracto etanólico de las hojas de *T. spathacea* obtenido por maceración. La capacidad antioxidante se evaluó mediante el ensayo de DPPH frente a tres antioxidantes comerciales (quercetina, ácido ascórbico y α -tocoferol), el extracto mostró menos efecto de eliminación de radicales que la quercetina, pero es similar al α -tocoferol y más que el ácido ascórbico, esto es debido a que se conoce que *T. spathacea* contiene carotenos, polifenoles de tipo flavonoide y compuestos cumarínicos.¹¹

A partir del estudio de un extracto acuoso obtenido por decocción de las hojas de la planta en 2008, el extracto exhibió un efecto protector contra el cáncer de hígado de rata, empleando el modelo de hepatocitos resistentes, para prevenir una inducción completa de lesiones preneoplásicas hepáticas provocadas por un tratamiento carcinogénico.¹⁰ En ese mismo año, se estudiaron los extractos obtenidos mediante extracción sucesiva por maceración con disolventes de diferente polaridad; éter de petróleo, benceno, CHCl_3 , MeOH y H_2O . A partir de un perfil fitoquímico preliminar, los extractos revelaron la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, esteroides, saponinas, glucósidos

cardíacos y terpenoides. Además, se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos frente a tres bacterias *Gram* positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus citreus* y *Bacillus subtilis*) y cinco bacterias *Gram* negativas (*Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia sp.*, *Proteus vulgaris*) utilizando el método de Kyrbi-Bauer, mostrando buenos resultados en los halos de inhibición en todas las cepas probadas.¹⁵

En 2011, en el estudio de cuatro extractos obtenidos mediante diferentes técnicas de extracción (presurización, destilación, fermentación aeróbica, fermentación anaeróbica) se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos frente al hongo del cacao *Moniliophthora roreri* empleando un bioensayo al 50% (v/v) mediante el método de medio de cultivo envenenado. Los resultados indicaron que los extractos obtenidos mediante destilación y presurización inhibieron el crecimiento del patógeno en un 100 y 83.7% respectivamente.¹⁶

A partir del estudio de los extractos acuosos y de MeOH de las hojas de la planta obtenidos mediante decocción e infusión en 2013, se evaluaron las actividades antioxidantes y antibacterianas de los extractos para establecer su viabilidad como una bebida. El contenido de antioxidantes de los extractos se evaluó a través de la determinación de fenoles totales y flavonoides totales. Las actividades antioxidantes se midieron mediante la eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracilo), la potencia reductora férrica y la actividad quelante de iones ferrosos. Los extractos obtenidos por decocción e infusión mostraron actividad antibacteriana contra seis especies de bacterias *Gram* positivo y cuatro especies de bacterias *Gram* negativas, en el que hubo una notable inhibición frente a *Staphylococcus aureus* resistente a la metilicina y *Neisseria gonorrhoeae*. Un total de cuatro diferentes compuestos fenólicos conocidos fueron identificados por HPLC-MS (Figura 2), tres de los cuales no se habían descrito para esta planta como son la rutina también llamada rutósido (4), epigalocatequina (5) y peltatósido (6). Además, se corroboró la presencia de la roneonina (7), ésta última es una antocianina que es la responsable del color morado presente en las hojas de las plantas.¹⁷

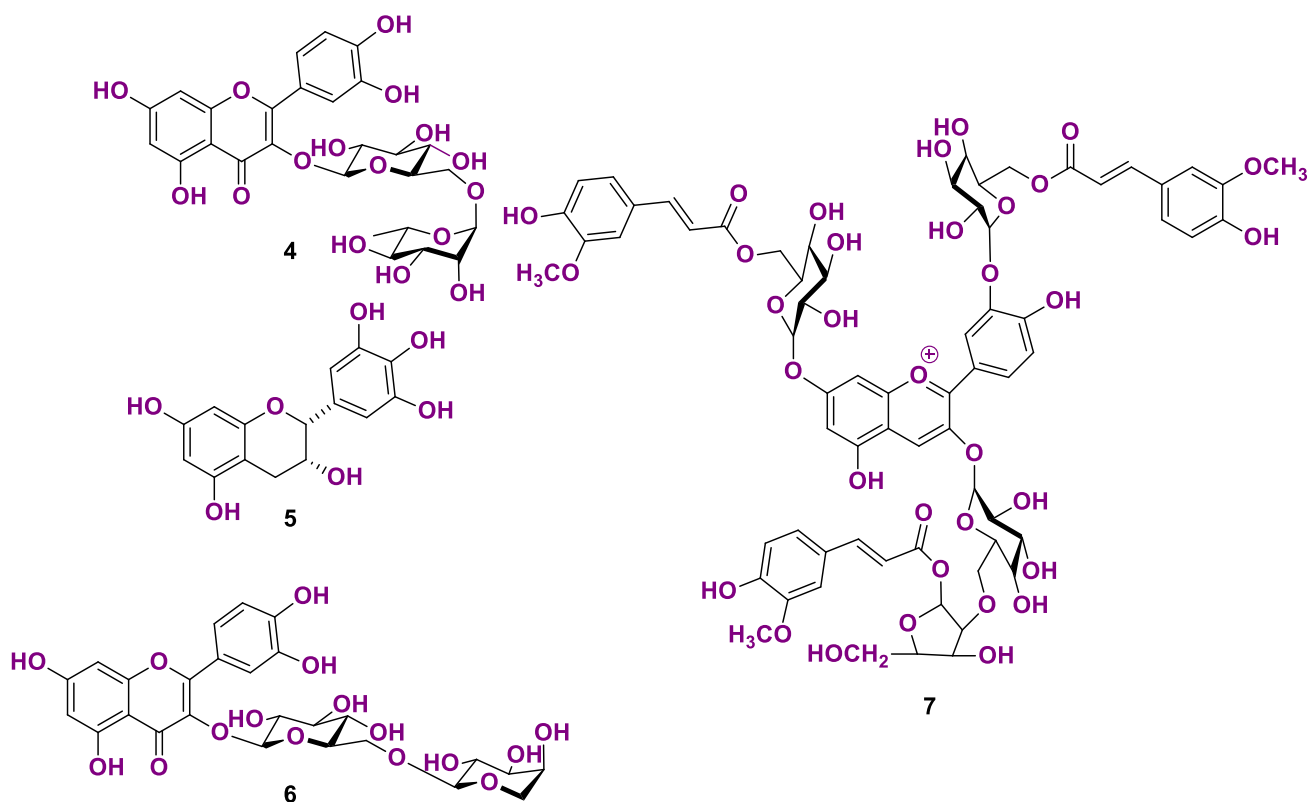


Figura 2. Estructuras de los metabolitos identificados.

En 2014, se obtuvieron tres extractos a partir de las hojas de la planta, empleando un equipo Soxhlet mediante extracciones sucesivas con disolventes de diferente polaridad (hexano, AcOEt y MeOH); se evaluó la expresión aberrante de los extractos contra la proteína β -catenina en la línea celular de adenocarcinoma de mama humano (MCF-7). Las actividades citotóxicas se ensayaron con el procedimiento colorimétrico de MTT. Los extractos mostraron casi un 50% de inhibición en la línea celular MCF-7.¹⁸ Por otra parte, en el mismo año; se determinó la estabilidad del color púrpura-rojo del extracto de las hojas de la planta obtenido con acetona (70%) y ácido fórmico (1%) en un rango de pH de 1 a 11.5, almacenado en condiciones refrigeradas y a temperatura ambiente, en presencia y ausencia de luz durante un periodo de 60 días. La estabilidad del color se monitoreó empleando un modelo de alimento sólido (jalea) y un modelo de alimento líquido (agua de cebada) durante un mes. Se descubrió que el color era notablemente estable a un pH ácido y completamente estable en los modelos alimenticios. La antocianina primaria en las hojas de *R. spathacea* fue aislada e identificada por RMN como rhoeonina (**7**). Además se evaluó la toxicidad del

extracto administrándolo por vía oral en ratas, los resultados obtenidos lo ubican en la Clase 5 (prácticamente no tóxica) de acuerdo a la escala de Hodge y Sterner.¹⁹

En el estudio del extracto MeOH de las hojas de la planta obtenido mediante decocción y su fraccionamiento con disolventes de diferente polaridad (CH₂Cl₂, AcOEt y *n*-BuOH) en 2015. Se reunieron las fracciones de AcOEt y *n*-BuOH de las cuales se lograron aislar 16 compuestos (Figura 3); nueve compuestos fenólicos: ácido protocatéquico (**8**), 1-(3',4'-dihidroxifenil)-2-hidroxietanona (**9**), hidroxitirosol (**10**), oresbiusina A (**11**), ácido (S)-2-hidroxi-3-(4'-hidroxifenil)propanoico (**12**), ácido (R)-2-hidroxi-3-(4'-hidroxifenil)propanoico (**13**), latifolicinina C (**14**), latifolicinina B (**15**) y latifolicinina A (**16**), tres derivados de butirolactona; (2*R*,3*R*)-2,3-dihidroxi-2-metilbutirolactona (**17**), 4-(3',4'-dihidroxifenil)furan-2(5*H*)-ona, (**18**) y bracteanólido A (**19**); un flavonoide; kaempferol (**22**), un glucósido; (6*S*,9*R*)-roseósido (**23**) y dos compuestos nuevos; tradescantósido (**20**) y (±)-tradescantina (**21**).²⁰

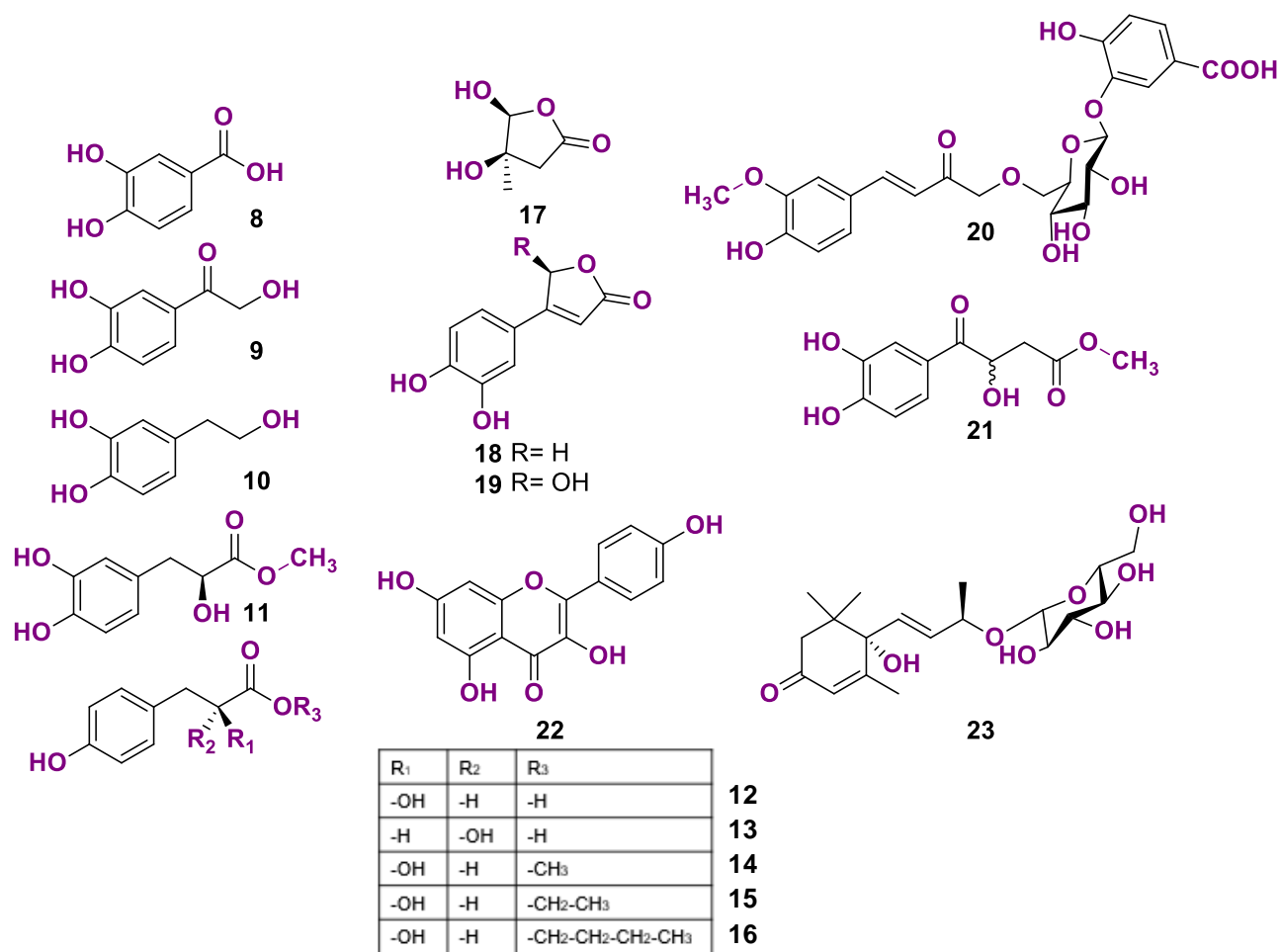


Figura 3. Estructuras de los 16 compuestos aislados de *T. spathacea*.

A partir de las hojas de la planta en 2015, se estudiaron diez extractos; tres diferentes extractos acuosos (mediante decocción y maceración) y siete obtenidos mediante maceración con disolventes orgánicos (MeOH, EtOH, AcOEt, acetona, éter de petróleo, CHCl₃ y hexano). Se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos ricos en fenoles frente a microorganismos midiendo su susceptibilidad a través del ensayo de difusión en agar y citometría de flujo. Se emplearon bacterias Gram positivas (*Listeria innocua* y *Streptococcus mutans*), Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) y un hongo patógeno (*Candida albicans*). Se probaron los diez extractos en ocho diferentes dosis contra todos los microorganismos. Tanto el ensayo de difusión en agar como los resultados de citometría de flujo demostraron que *Pseudomonas aeruginosa* fue la menos afectada por la exposición a los extractos, sin embargo, a dosis bajas de estos extractos (predominantemente polares), en un rango de 1 a 4 µg/mL, se produjo un efecto bacteriostático y bactericida estadísticamente significativo sobre el resto de los microorganismos.²¹

En 2016, en el estudio de diez extractos a partir de las hojas de la planta; tres diferentes extractos acuosos (mediante decocción y maceración) y siete obtenidos mediante maceración con disolventes orgánicos (MeOH, EtOH, AcOEt, acetona, éter de petróleo, CHCl₃ y hexano), se evaluó el efecto citotóxico específico de los extractos frente a líneas celulares de cáncer humano; HT-29 (cáncer de colon), Hep-G2 (cáncer de hígado) y PC-3 (cáncer de próstata), así como una línea celular de control NIH3T3 (fibroblastos), utilizando el ensayo colorimétrico de MTT. Los extractos que mostraron los mejores resultados fueron los extraídos con los disolventes más polares (H₂O, MeOH y EtOH). Además, los estudios revelaron que las concentraciones bajas de estos extractos bioactivos en crudo (10 µg/mL) y sus fracciones (50 µg/mL) fueron eficaces como citoquinas citotóxicas específicas contra el cáncer, ya que causaban una inhibición significativa de la proliferación en las líneas celulares de cáncer; hasta un 94.2% en HT-29, 92.9% en Hep-G2 y 61.8% en el PC-3 por inducción de apoptosis, con poco daño a la línea celular de control con una inducción no mayor a 28.3%. Mediante HPLC y MS se pudo corroborar la presencia de la rhoeonina (**7**) y otra antocianina conocida como monodecaffeoilzebrinina (**24**) reportada para *Tradescantia zebrina*⁹ y *Tradescantia virginiana*²², del mismo modo se pudieron identificar en el

cromatograma la presencia de los ácidos; ferúlico (**25**), vanílico (**26**), vanílico glicosilado (**27**), clorogénico (**28**) y *p*-cumarínico (**29**; Figura 4).²³

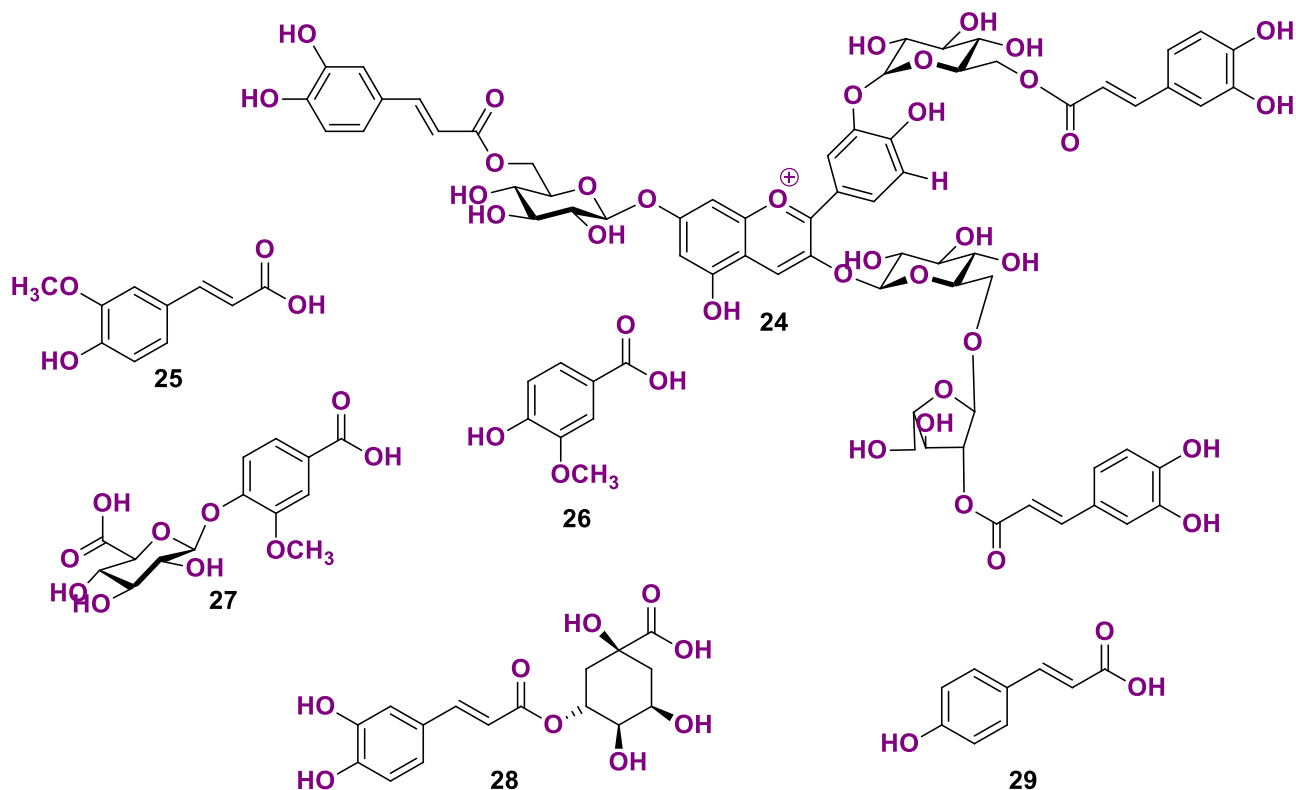


Figura 4. Estructura de los compuestos identificados mediante HPLC.

En 2017, se evaluó el efecto antiviral *in vitro* del extracto de MeOH de las hojas de la planta frente al virus de influenza A (H1N1). El extracto se separó a través de una placa preparativa obteniendo seis fracciones, de las cuales la fracción MF1 presentó la mejor actividad *in vitro* contra el virus H1N1 ($CC_{50} = 0.90 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$; $IC_{50} = 0.30 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$). Además, por medio de un estudio fitoquímico preliminar se detectó la presencia de cumarinas, saponinas y taninos. Mediante cromatografía de líquidos de alta resolución, acoplada a espectrometría de masas con ionización por electrospray (HPLC-ESI-MS) se identificaron cinco flavonoides de la primera fracción: rutina (**4**), kaempferol (**22**), 7-glucósido de luteolina (**30**), isoquercetina (**31**), quercetina (**32**), los cuales pueden ser los compuestos responsables de la actividad antiviral (Figura 5).²⁴ Por otra parte, en el mismo año; a partir de dos extractos acuosos obtenidos por maceración y combinados con bajas concentraciones de sorbato de potasio, se evaluó la actividad antibacteriana frente a *Listeria monocytogenes* en queso

panela, obteniendo resultados significativos con un posible uso potencial como conservador natural y nutracéutico.²⁵

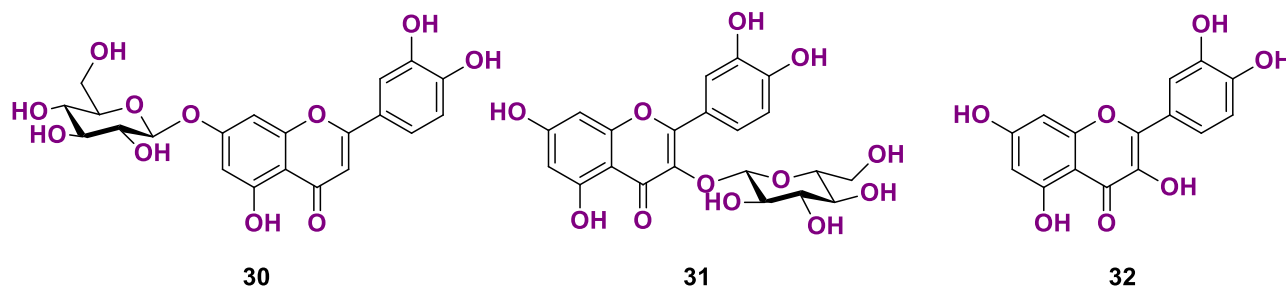


Figura 5. Compuestos identificados de la fracción MF1.

3.2 Estudio fitoquímico del género *Tradescantia*

3.2.1 *Tradescantia zebrina*

En 1987, se aislaron de las hojas de la planta dos antocianinas que fueron identificadas por HPLC como monodecaffeoilzebrinina (**24**) y zebrinina (**33**) a partir de un extracto metanólico acidificado con HCl al 1% (Figura 6).⁹

En 1992, se aislaron tres compuestos (**1**, **34** y **35**) producidos por esta especie (Figura 6) y se evaluó la actividad antineoplásica que posee cada uno expresado en porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral; 91% para β -sitosterol (**1**), 98% para 3β , 5α , 6β -trihidroxiestigmastano (**34**) y 43% para ácido succínico (**35**), con una relación de 100 mg, 100 mg y 160 mg por kg de peso del ratón, respectivamente. Dicha actividad se determinó a través de una prueba en células de ascitis sarcoma-180 en ratones.²⁶

En el estudio de *Tradescantia zebrina* (también conocida como *Zebrina pendula*) en 1996, se aisló y elucidó a la ecdisona (**36**), que en algunos animales elimina la arritmia inducida por la aconitina (Figura 6).²⁷

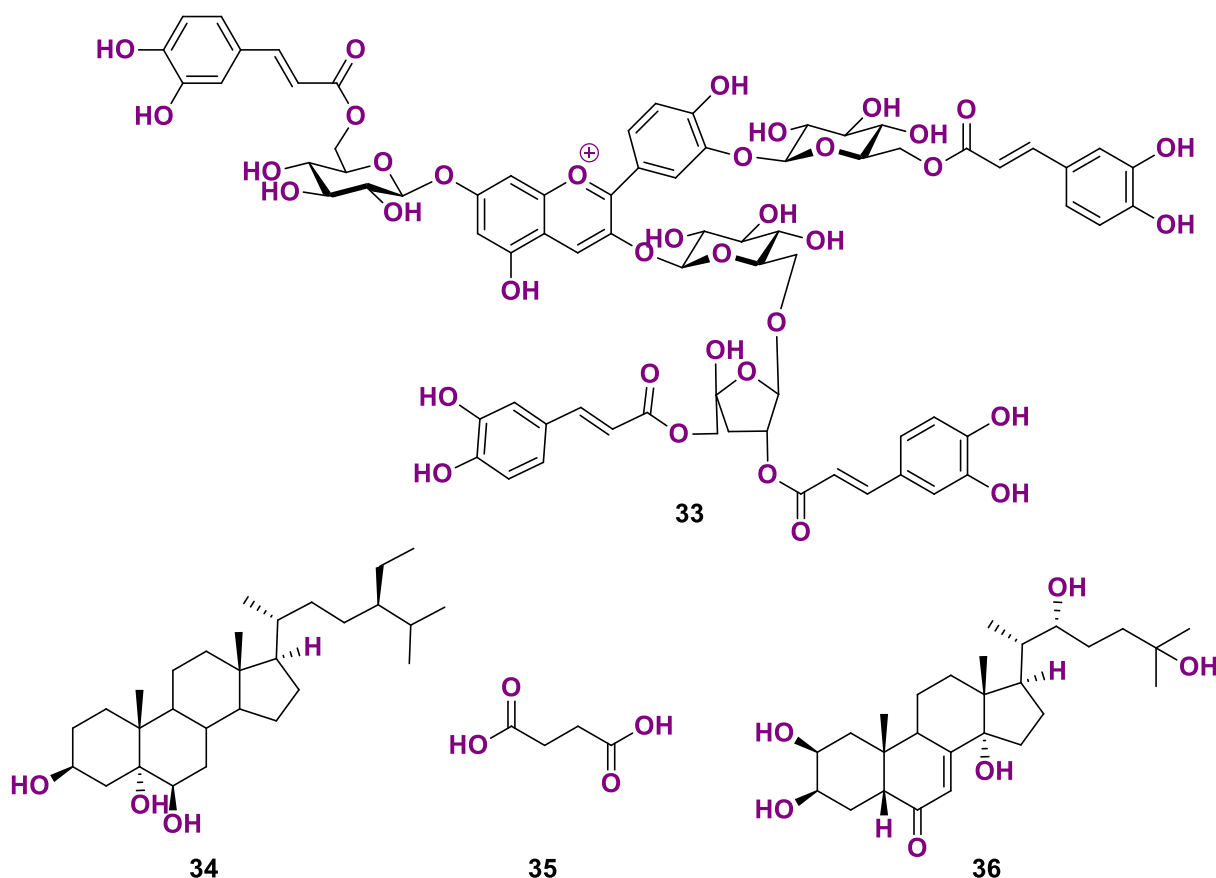


Figura 6. Compuestos aislados de *Tradescantia zebrina*.

3.2.2 *Tradescantia albiflora*

En 2016, se estudió un extracto metanólico obtenido por maceración, el cual se fraccionó con disolventes de diferente polaridad mediante extracciones líquido-líquido (Hexano, AcOEt y *n*-BuOH). De la fracción de AcOEt se aislaron e identificaron mediante ESI-MS y RMN 12 compuestos; 3-(3,4-dihidroxifenil)butenólido (**18**), bractenólido A (**19**), 1H-indol-3-carbaldehído (**37**), 2-fenilacetamida (**38**), tirosol (**39**), *p*-hidroxibenzaldehído (**40**), ácido *p*-hidroxibenzoico (**41**), ácido protocatequínico (**42**), 3,5-dihidroxibenzoato de metilo (**43**), hidroxitirosol (**44**), 2-hidroxi-3,4-dihidroxiacetofenona (**45**) y bracteanólido B (**46**; Figura 7). Además, se evaluó la actividad inhibitoria de la enzima xantina oxidasa (enzima asociada a desórdenes metabólicos como hiperuricemia y gota) de los compuestos aislados mostrando buenos resultados.²⁸

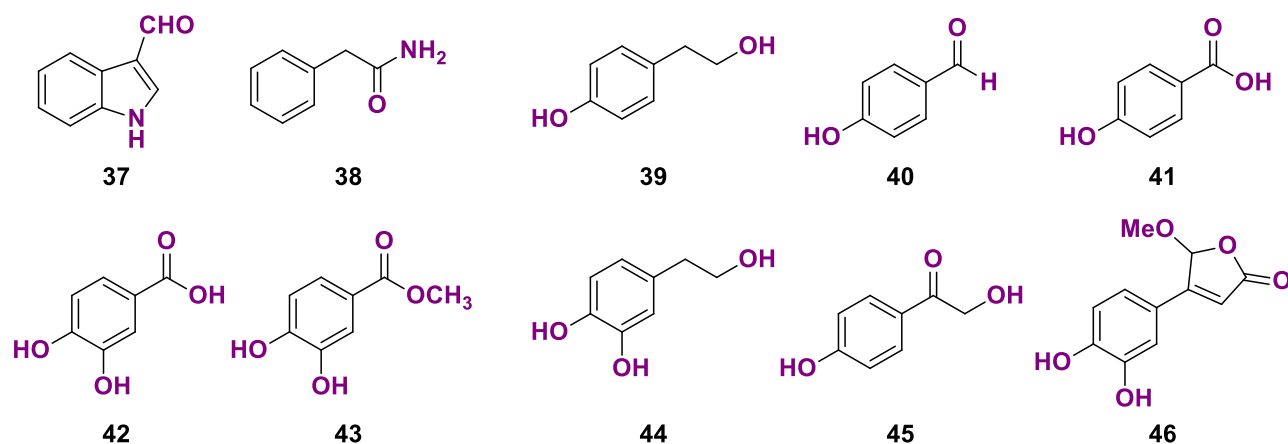


Figura 7. Compuestos aislados de *Tradescantia albiflora*.

3.2.3 *Tradescantia virginiana*

En el estudio del extracto obtenido mediante maceración con CH_3COOH al 5% de las flores trabajado en 2010, se aislaron y elucidaron dos antocianinas: monodecaffeoilzebrinina (**24**) y virginianina (**47**; Figura 8).²²

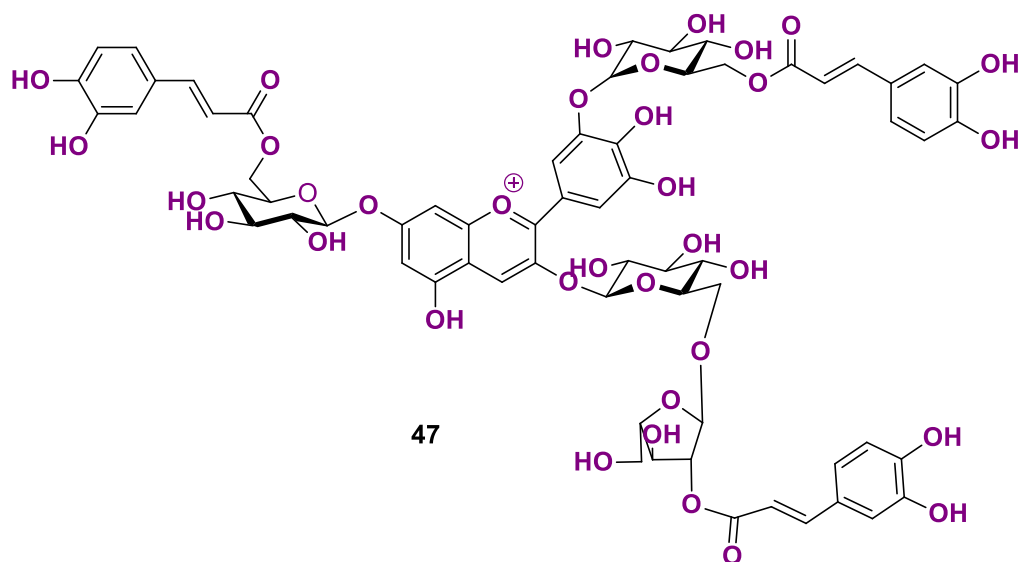


Figura 8. Estructura de la antocianina virginianina.

3.2.4 *Tradescantia pallida*

En 1987, a partir un extracto metanólico con HCl (1%) de las hojas de la planta de *Tradescantia pallida* (conocida como *Setcreasea purpurea*) se aisló y elucidó la antocianina llamada setcreasina (**48**; Figura 9).⁹

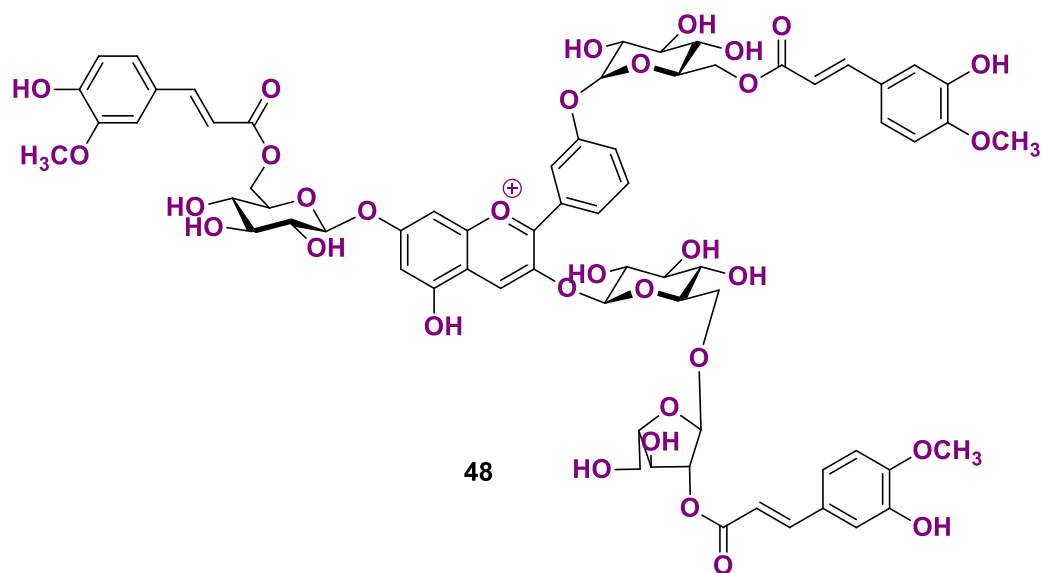


Figura 9. Estructura de la antocianina setcreasina.

IV. JUSTIFICACIÓN

La planta *T. spathacea* se emplea en la medicina tradicional de nuestro país y presenta estudios químicos y farmacológicos que corroboran su uso medicinal. Sin embargo, el análisis químico de la planta es incipiente, por lo que su investigación permitirá el aislamiento y caracterización de metabolitos secundarios con estructuras nuevas o conocidas que contribuyan al conocimiento químico de esta especie.

Hasta la fecha existen cinco artículos especializados acerca del estudio químico de las hojas de *T. spathacea*, de los cuales solo en uno se ha efectuado el aislamiento y elucidación de metabolitos secundarios. La mayoría de las actividades biológicas descritas para esta planta han sido a partir de extractos polares, es por ello que se optó por emplear un extracto metanólico en este trabajo. Además, se utilizó una extracción asistida por ultrasonido con la finalidad de agilizar tiempos de obtención, minimizar la cantidad de disolvente y mejorar la extracción de los metabolitos a partir del material vegetal.

V. HIPÓTESIS

El estudio químico del extracto metanólico de las hojas de *T. spathacea* conducirá a la caracterización de metabolitos secundarios con estructuras novedosas o compuestos conocidos que no han sido descritos para esta especie con anterioridad.

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Efectuar la caracterización estructural de los metabolitos presentes en el extracto metanólico de las hojas de *Tradescantia spathacea*.

6.2 Objetivos específicos

1. Realizar un perfil fitoquímico preliminar a los extractos obtenidos por bipartición.
2. Purificar mediante técnicas cromatográficas los compuestos presentes en el extracto metanólico.
3. Efectuar la elucidación estructural de los compuestos aislados mediante FTIR, RMN y espectrometría de masas.

VII. METODOLOGÍA

La metodología de trabajo que se llevó a cabo para el análisis del extracto alcohólico de las hojas de *Tradescantia spathacea* se divide en tres secciones: la obtención del extracto crudo metanólico del cual se obtienen por bipartición cinco fracciones solubles. A cada una de las fracciones se le efectuó una purificación mediante cromatografía en columna hasta la obtención de compuestos puros para así elucidarlos con las diferentes técnicas espectroscópicas (Figura 10):

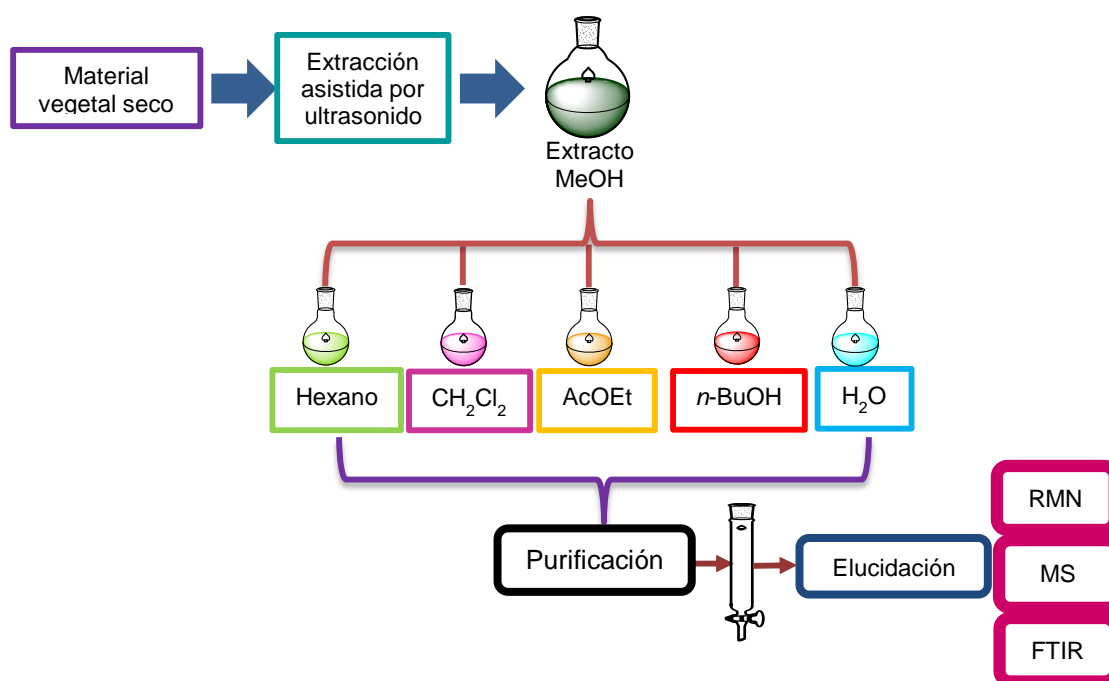


Figura 10. Metodología de trabajo.

7.1 Recolección de la planta

La recolección del material vegetal se realizó el 19 de agosto de 2017, en la localidad del Papaloapan, Oaxaca (coordenadas: 18° 9' 33" N, 96° 5' 41" W). Se revisó que la planta no tuviera alguna enfermedad o plaga. Se separaron las hojas del resto del material vegetal y se enjuagaron con agua para remover la tierra, de las cuales se colectó 7.12 kg de material vegetal fresco.

7.2 Depósito en el herbario

De la recolección se seleccionaron ejemplares completos de la planta (hojas, tallos y flores). Estos se colocaron entre papel periódico y se recubrieron con cartón, posteriormente se prensó firmemente entre dos tablas de madera para mantener un mejor contacto del ejemplar con el periódico.

7.3 Tratamiento del material vegetal

A las hojas se les realizó un secado en sombra a temperatura ambiente y en un horno Blinder a 40°C, con el fin de evitar la posible modificación de los metabolitos presentes en la planta. Posteriormente, las hojas secas se trituraron en una licuadora industrial comercial Waring y se pesaron en una báscula Tecnocor obteniendo un peso final de 610 g.

7.4 Obtención del extracto alcohólico asistida por ultrasonido

A partir 610 g de las hojas secas y trituradas, se realizó la extracción con MeOH (4 L) en un baño de ultrasonido marca Branson 1510r-mth durante 20 min (x3) en 2 ciclos de 10 min para evitar el sobrecalentamiento del material vegetal, el sobrenadante se filtró a través de algodón y el disolvente se eliminó en un rotavapor Büchi R-300 a presión reducida, obteniendo 52.99 g de extracto con un rendimiento de 8.68%.

7.4.1 Extracciones líquido-líquido con disolventes de diferentes polaridades

Al extracto crudo metanólico libre de disolvente (52.99 g) se le realizaron extracciones líquido-líquido sucesivas con disolventes de diferente polaridad; hexano, CH₂Cl₂, AcOEt y *n*-BuOH (Figura 11). El extracto crudo se suspendió en 150 mL de H₂O, a la fase acuosa se le realizó la extracción líquido-líquido con 200 mL de cada disolvente orgánico (x3). Las fases orgánicas de cada disolvente se evaporaron en un rotavapor a presión reducida. De la fracción hexánica se obtuvieron 17.834 g con un rendimiento de 33.652%; de la fracción de CH₂Cl₂ 0.469 g con un rendimiento de 0.886%; de la fracción de AcOEt 0.414 g con un rendimiento de 0.781%; de la fracción de *n*-BuOH 5.457 g con un rendimiento de 10.297%; por último, la fracción acuosa residual se llevó a sequedad y se obtuvo 28.821 g con un rendimiento de 54.384%.

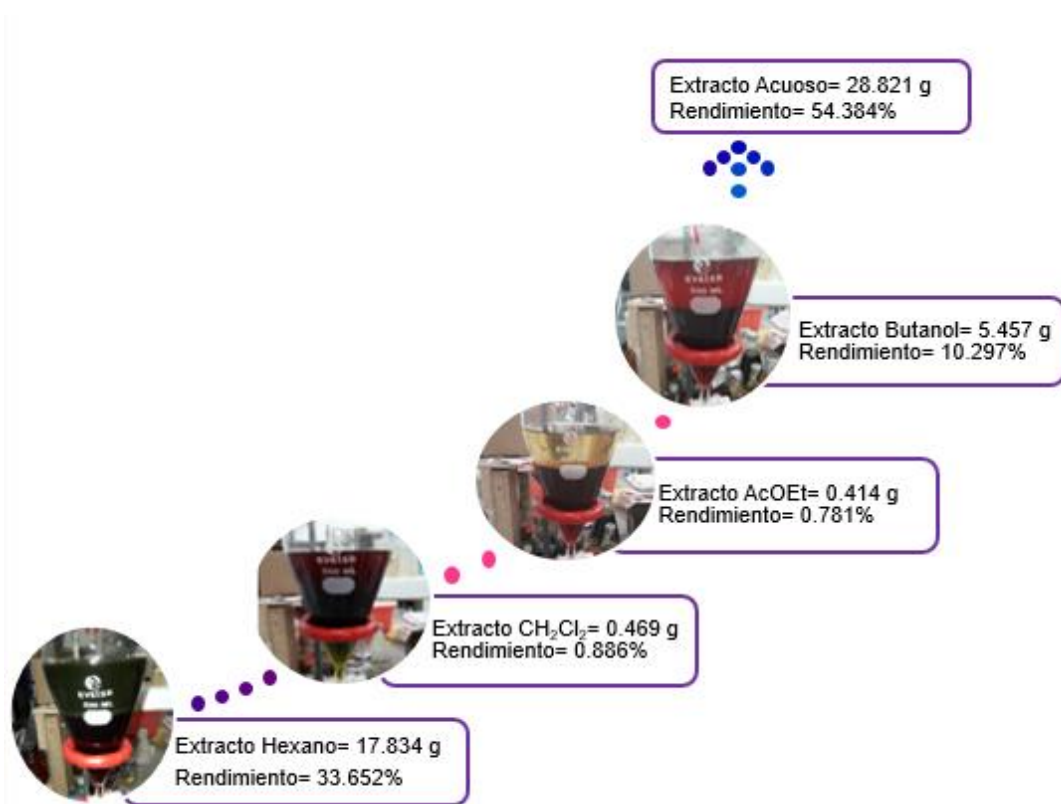


Figura 11. Extracciones líquido-líquido del extracto crudo de MeOH.

7.5 Perfil fitoquímico preliminar

Se realizó un análisis fitoquímico preliminar cualitativo para detectar la presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, esteroides, triterpenos, carbohidratos, antraquinonas, proteínas, emodinas, glucósidos, taninos, saponinas y cumarinas (Tabla 2).²⁹

Tabla 2. Procedimiento de perfil fitoquímico preliminar para metabolitos secundarios.

Metabolitos	Condiciones	Observación
Terpenoides	2 mL del extracto se disuelven en 2 mL (CH ₃ CO) ₂ O y se añaden de 2-3 gotas de H ₂ SO ₄ (conc.).	<i>El color rojo oscuro indica la presencia de terpenoides.</i>
Esteroides	2 mL del extracto se disuelven en 2 mL de CHCl ₃ y se añaden 2 mL de H ₂ SO ₄ (conc.).	<i>La formación de un anillo color rojizo indica la presencia de esteroides.</i>
Taninos	2 mL de extracto se disuelven en 2 mL de H ₂ O y se añaden de 2-3 gotas de FeCl ₃ al 5 %.	<i>La formación de un precipitado verde indica la presencia de taninos</i>
Saponinas	5 mL de extracto se le adicionan 20 mL de H ₂ O destilada y se agitan durante 15 min.	<i>La formación de espuma indica la presencia de saponinas.</i>
Flavonoides	1 mL de extracto se le añade 1 mL de Pb(OAc) ₄ al 10 %.	<i>La observación de una coloración amarilla indica la presencia de flavonoides.</i>
Carbohidratos	A 2 mL del extracto se le añaden 10 mL de H ₂ O, se le adicionan 2 gotas de α-naftol etanólico al 20 % y se le añaden 2 mL de H ₂ SO ₄ conc.	<i>La formación del anillo de color violeta rojizo indica presencia de carbohidratos.</i>
Proteínas	1 mL de extracto se le añade 1 mL de H ₂ SO ₄ (conc.).	<i>La formación de un precipitado blanco indica la presencia de proteínas.</i>
Cumarinas	2 mL del extracto se añaden 3 mL de NaOH al 10 %.	<i>La coloración amarilla indica la presencia de cumarinas.</i>
Alcaloides	2 mL del extracto se le añaden unas pocas gotas del reactivo de Hager.	<i>La formación de un precipitado de color amarillo indica la presencia de alcaloides.</i>
Emodinas	2 mL del extracto se añaden 2 mL de NH ₄ OH y 3 mL de benceno.	<i>La coloración rojo indica la presencia de emodinas.</i>
Antraquinonas	3 mL del extracto se añaden 3 mL de benceno y 5 mL de NH ₃ al 10 %.	<i>La formación de una capa con coloración rosa, rojo o violeta indica la presencia de antraquinonas.</i>
Glucósidos	2 mL de extracto se añaden CHCl ₃ y 2 mL de CH ₃ COOH.	<i>La coloración de violeta, azul y verde indica la presencia de glucósidos.</i>

7.6 Identificación de los sistemas de la fase móvil de los diferentes extractos mediante cromatografía en capa fina

Se utilizaron placas precortadas provistas de fase estacionaria de gel de sílice (SiO₂) grado 60 de 0.2 mm de espesor ALUGRAM Xtra SIL G/UV₂₅₄ de Macherey-Nagel. Para elección de la fase móvil, se puntearon los diferentes extractos y se sometieron a diferentes sistemas de disolventes variando la polaridad con el fin de obtener una fase móvil apropiada que permitiera predecir el comportamiento los metabolitos en una columna cromatográfica para su aislamiento y purificación.

Para el revelado de las placas se utilizó una lámpara de luz ultravioleta UVG-11 de onda corta de 254 nm y de onda larga de 365 nm; una cámara de I₂; inmersión en H₂SO₄ al 50% para posteriormente someterlas a una parrilla de calentamiento a 100°C durante 5-10 minutos; inmersión en ácido *p*-toluensulfónico (TsOH) al 20% en EtOH para posteriormente someterlas a una parrilla de calentamiento a 100°C durante 5-10 minutos y observar la placa en UV a 365 nm para esteroides y FeCl₃ al 5% para compuestos fenólicos.

Para la determinación del factor de retención (R_f) de los metabolitos de cada extracto, se utilizó la siguiente ecuación:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

7.7 Aislamiento y purificación de los metabolitos mediante cromatografía en columna

Se empleó como fase estacionaria con gel de sílice de 230-400 mallas MN Kieselgel 60 de Macherey-Nagel y como fase móvil se utilizaron los sistemas de disolventes obtenidos en TLC para los diferentes extractos. Para la recolección de las fracciones de cada columna se utilizaron matraces, tubos de ensaye y viales.

7.8 Elucidación estructural de los metabolitos aislados en los diferentes extractos

7.8.1 Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear

La selección de los disolventes deuterados se efectuó de acuerdo a la solubilidad de los metabolitos aislados. Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se obtuvieron con un equipo VARIAN 400MR, a 400 MHz para medir los desplazamientos de ^1H y a 100 MHz para los de ^{13}C , la temperatura del *probe* fue de 25 °C.

Se colocaron de 4-20 mg de la muestra en un vial pequeño y se añadieron de 0.5-0.7 mL del disolvente deuterado. La disolución se transfirió a un tubo de RMN con ayuda de una pipeta Pasteur, se comprobó el nivel de la muestra y cuando fue necesario se agregaron gotas de disolvente para llevar la disolución al nivel recomendado para el análisis en el equipo. Para la manipulación de los FIDs se utilizó el software MestReNova versión 9.0.1

Los disolventes deuterados empleados fueron CDCl_3 (99.8% D), $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ($\geq 99.9\%$ D) y $\text{DMSO}-d_6$ (99.9% D) marca Aldrich.

La ventana espectral para ^1H fue de 6410.3 Hz con un número de 32 *scans*, un tiempo de adquisición de 2.556 s. Para ^{13}C la ventana espectral fue de 25510.2 Hz con un número de 10000 *scans*, un tiempo de adquisición de 1.285 s.

Las correlaciones $^1\text{H}-^1\text{H}$ se obtuvieron en experimentos *g*COSY (f_1 y f_2) con ventana espectral de 2729.3 Hz, con un número de 16 de escanes, un tiempo de adquisición de 0.150 s.

Las correlaciones $^1\text{H}-^{13}\text{C}$ se obtuvieron con experimentos de detección inversa *g*HSQC y *g*HMBC. Los experimentos de correlación heteronuclear cuántica simple (HSQC) sensibles a la fase se adquirieron con una ventana espectral de 17090.4 Hz para f_1 y 2490.0 Hz para f_2 , con un número de 16 *scans*, un tiempo de adquisición de 0.150 s y una constante de acoplamiento para $^1J(\text{C}-\text{H})$ de 146 Hz. Los experimentos de correlación heteronuclear a través de múltiples enlaces (HMBC) se obtuvieron con una ventana espectral de 24125.5 Hz para f_1 y 2530.4 Hz para f_2 con un número de 16 *scans*, un tiempo de adquisición de 0.150 s y una constante de acoplamiento a larga distancia $^nJ(\text{C}-\text{H})$ de 8 Hz.

7.8.2 Espectrometría de Masas

Aproximadamente 1 mg de todos los compuestos aislados se disolvieron en 1 mL de disolvente adecuado, posteriormente se centrifugaron a 1800 RFC a una temperatura de 4°C durante 20 min, se tomaron 100 μ L de sobrenadante el cual se diluyó en 900 μ L de disolvente adecuado 0.1% v/v de ácido fórmico o hidróxido de amonio y posteriormente se introdujeron las muestras al sistema de espectrometría.

La determinación de la masa molecular se realizó mediante inyección por infusión directa a un espectrómetro de masas SYNAPT G2-Si.

7.8.3 Espectroscopia de Infrarrojo

Se empleó un espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) e interferómetro Dynascan Perkin Elmer Spectrum 100. El espectro se adquirió con un número de 4 *scans* con resolución de 4 cm^{-1} y una ventana espectral de 4000-400 cm^{-1} . Los datos están expresados en números de onda (cm^{-1}). Las muestras se disolvieron en CH_2Cl_2 en un vial pequeño, la disolución se transfirió al porta muestras del equipo hasta cubrir toda la superficie.

7.8.4 Espectrofotometría de UV-Vis

Se realizó un barrido en un espectrofotómetro UV-Vis PerkinElmer Lambda 2S 1600-00BB de doble haz con software UV WINLAB con una ventana espectral de 350-700 nm. Para medir la λ_{max} del compuesto aislado la muestra se disolvió en hexano en un vial pequeño, la disolución se transfirió con ayuda de una pipeta Pasteur a una celda de vidrio.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Perfil fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico preliminar mostró la presencia de esteroides, flavonoides, terpenos y cumarinas en los diferentes extractos (Tabla 3), en todas las pruebas se utilizó como blanco H₂O destilada y se emplearon estándares en algunos casos. En la fracción de mayor polaridad (*n*-BuOH) se detectó la presencia de esteroides, terpenos, flavonoides y cumarinas, mientras que en el extracto de AcOEt solo se observaron flavonoides y cumarinas. Por otro lado en la fracción de CH₂Cl₂ se detectó la presencia de esteroides, cumarinas y flavonoides. Sin embargo, debido a la naturaleza de la fracción hexánica, el color intenso que presentaba no permitió distinguir el resultado de las pruebas.

Tabla 3. Resultados del perfil fitoquímico preliminar.

Metabolito	Extractos positivos	Estándar
Esteroides	CH ₂ Cl ₂ (+++) y <i>n</i> -BuOH (+)	Colesterol
Terpenos	<i>n</i> -BuOH	-----
Flavonoides	CH ₂ Cl ₂ (+++), AcOEt (+) y <i>n</i> -BuOH (+)	Quercetina
Cumarinas	CH ₂ Cl ₂ (+++), <i>n</i> -BuOH (+++), AcOEt (+) y H ₂ O (+)	Derivado de ácido cinámico

(+++)= fuerte, (++)= medio y (+)= poca presencia. La clasificación se basó en la observación de la intensidad de color

8.2 Aislamiento de metabolitos secundarios por CC de los extractos de hexano, CH₂Cl₂ y AcOEt

En el estudio químico del extracto de hexano se aislaron 2 metabolitos (Figura 12); escualeno (**49**) y β-caroteno (**50**). Las fracciones polares del extracto hexánico se reunieron con el extracto de CH₂Cl₂ (EHD) ya que se observó por TLC que compartían similitud cromatográfica y se aislaron y elucidaron las estructuras de 6 metabolitos (Figura 12); β-sitostenona (**51**), *E*-fitol (**52**), β-sitosterol (**1**), gramisterol (**53**), peróxido de ergosterol (**54**) y un ferulato de eicosilo (**55**) y ferulato de docosilo (**56**). En el extracto de AcOEt se aislaron y elucidaron 2 metabolitos (Figura 12); bracteanólido A (**19**) y el glucósido de β-sitosterol (**57**).

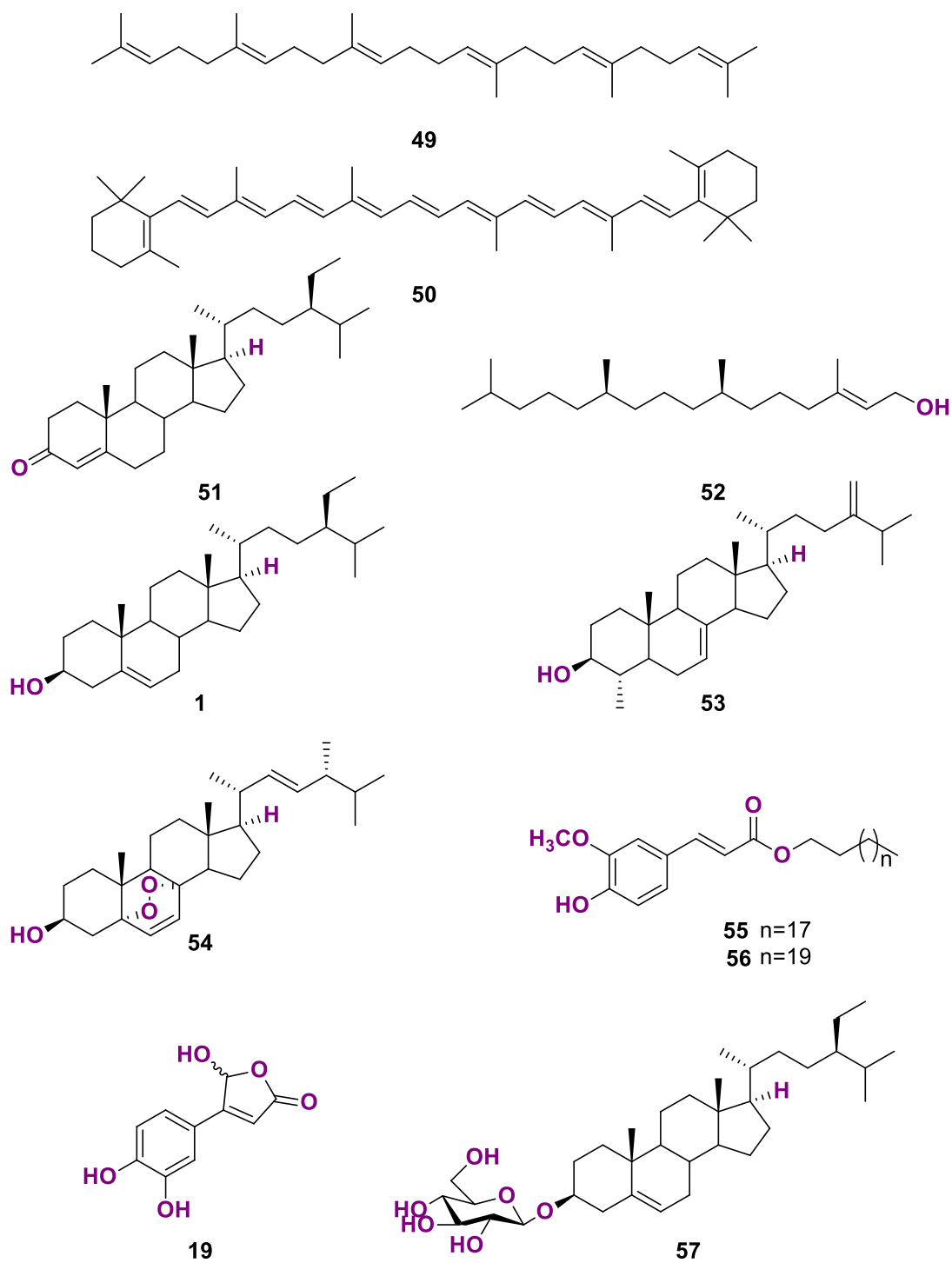
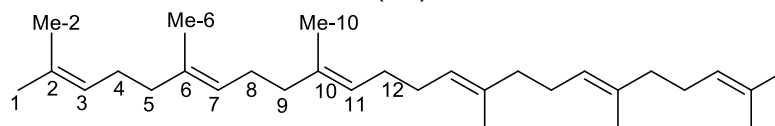


Figura 12. Metabolitos aislados de las hojas de *T. spathacea*.

Purificación y caracterización de escualeno (49)

Las fracciones poco polares del extracto hexánico (629 mg) se purificaron mediante columna flash empleando sílica-gel como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de Hexano/AcOEt (99.5:0.5), las fracciones 4-7 se reunieron y se obtuvo 15 mg del compuesto como un líquido incoloro. En la cromatografía en capa fina se empleó un sistema de elución Hexano/CHCl₃ (9:1), se reveló la placa cromatográfica con H₂SO₄ al 50% y se observó una mancha con una coloración marrón con R_f= 0.77.

En el espectro de RMN de ¹H (CDCl₃), se observan 4 señales; con un δ 5.17-5.1 (m, 6H) para los metinos (vinílicos), metilenos con δ 2.13-1.97 (m, 20H) y dos que pertenecen a los metilos con δ 1.7 (s, 6H) y 1.62 (s, 18H). Los desplazamientos de ¹H se corroboraron con los datos descritos en la literatura.³⁰

En el espectro de ¹³C (CDCl₃) se observan 15 señales para los carbonos pertenecientes a la estructura; tres señales para los carbonos cuaternarios con δ 135.3, 135.1 y 131.5; tres son carbonos vinílicos con δ 124.6, 124.5 y 124.5; cinco para los metilenos con δ 40, 39.9, 28.5, 27 y 26.9, y cuatro de metilos con δ 25.9, 17.9, 16.3 y 16.2. Estos desplazamientos de carbono obtenidos corresponden con los descritos en la literatura (Tabla 4).³¹

Tabla 4. Desplazamientos químicos de ¹³C del escualeno (49).

Posición	¹³ C δ	¹³ C * δ
1	25.9	25.6
2	131.5	131.0
Me 2	17.9	17.6
3	124.6	125.5
4	27.0	26.8
5	39.9	39.7
6	135.1	134.7
Me 6	16.2	15.9
7	124.5	124.3
8	26.9	26.7
9	40.0	39.8
10	135.3	134.9
Me 10	16.3	16.0
11	124.5	124.3
12	28.5	28.3

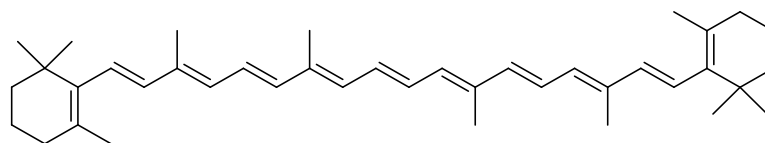
*Datos de la literatura.³¹

Con base en los datos espectroscópicos anteriores y a la comparación con los datos descritos en la literatura^{30,31} el compuesto **49** se asignó como escualeno.

El escualeno (**49**) pertenece a la familia de los terpenos, de acuerdo con las unidades isoprénicas que posee, se sitúa en la clasificación de los triterpenos (C₃₀). Se encuentra presente a altas concentraciones en el hígado de tiburón, así como en el aceite de olivo virgen.³⁰ Es un metabolito intermediario para el metabolismo del colesterol, dentro de las actividades biológicas reportadas para este compuesto; en una prueba *in vitro* demostró una capacidad como agente atrapador de especies reactivas de oxígeno y protege el ADN contra el daño oxidativo en células epiteliales mamarias humanas. Además, presenta una capacidad quimiopreventiva contra el cáncer de pulmón inducido químicamente.³² Recientemente el compuesto presentó actividad anti-proliferativa frente a diversas líneas celulares humanas como; cáncer de próstata (DU145), carcinoma hepatocelular hepático (Hep G2), carcinoma oral de células escamosas (SCC9), adenocarcinoma de pulmón (H441), cáncer gástrico humano (AGS), adenocarcinoma colorrectal (WiDr) y leucemia (K562) empleando el ensayo XTT.³³

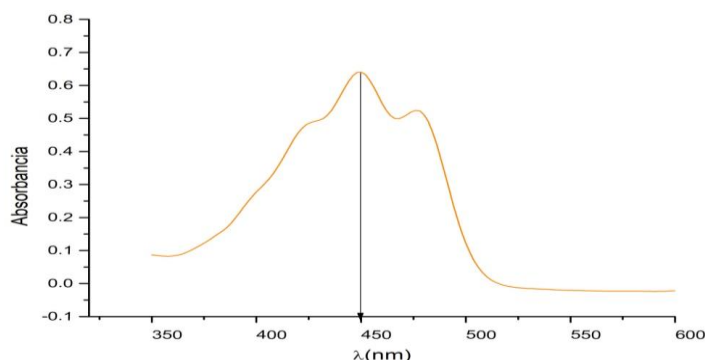
Se ha descrito la presencia de **49** en *Rhizophora mucronata* (Rhizophoraceae),³⁴ *Prunus cerasus* (Rosaceae),³⁵ en varias especies del género *Amarantus* (Amaranthaceae),³⁶ *Ficus mota* (Moraceae),³⁷ entre otras.

Purificación y caracterización de β -caroteno (**50**)



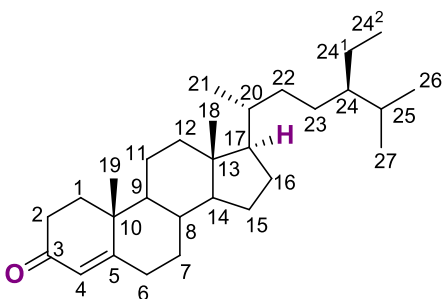
Comparando mediante TLC al extracto hexánico contra β -caroteno comercial, con un sistema de elución Hexano/AcOEt (9:1), se observó que la referencia coincidía con una de las bandas del extracto con un R_f = 0.9. La banda y el compuesto de referencia se observaban de color amarillo a luz visible y al revelar la placa con vapores de I₂, ambos puntos se tornaron a una coloración verde.

Las fracciones poco polares del extracto hexánico (629 mg) se purificaron mediante columna flash con un sistema de Hexano/AcOEt (99.5:0.5). De las fracciones 8-20 recolectadas, se obtuvieron 12.8 mg de un compuesto de aspecto sólido de color naranja. Una vez purificado el compuesto, se obtuvo el espectro de UV-Vis mostrando una $\lambda_{m\acute{a}x}^{hexano} = 450$ nm que coincide con los datos descritos en la literatura para el β -caroteno (Espectro 1).³⁸



Espectro 1. Espectro de UV-Vis del compuesto **50** en hexano.

El β -caroteno (**50**) pertenece a la familia de los terpenos, de acuerdo con las unidades isoprénicas que posee, se sitúa en la clasificación de los tetraterpenos (C_{40}), además, es un precursor de la vitamina A (retinol). Debido a que presenta un efecto en la supresión de la síntesis del colesterol celular y el aumento de la actividad de los receptores de LDL de los macrófagos, este carotenoide posee un efecto hipocolesterolémico.³⁹ Específicamente, presenta un comportamiento antioxidante de captura de radicales libres a ciertas presiones parciales de oxígeno significativamente menores a 150 torr (la presión del oxígeno en el aire normal) que se encuentran en la mayoría de los tejidos en condiciones fisiológicas. Sin embargo, a mayores presiones de oxígeno, el compuesto pierde la actividad antioxidante y presenta un efecto autocatalítico, pro-oxidante, particularmente a concentraciones relativamente altas.⁴⁰

Purificación y caracterización de β -sitostenona (51)

El extracto EHD (2.1874 g) se purificó mediante cromatografía en columna por gravedad empleando alúmina neutra como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de Hexano/AcOEt (95:5), las fracciones 32-37 se reunieron y se obtuvo 25.8 mg del compuesto que se observaba como un sólido verde. En TLC se empleó un sistema de elución Hexano/AcOEt (9:1), el compuesto **51** se observó en UV a 254 nm, por otra parte, al revelar la placa con TsOH y observarla en UV 365 nm se aprecia una banda fluorescente de color naranja/amarillo con un $R_f = 0.41$ y con un sistema Hexano/AcOEt (8:2) un $R_f = 0.58$. En IR se observan las bandas de absorción para un carbonilo α,β -insaturado en 1674.5 cm^{-1} y para el doble enlace en 1614.1 cm^{-1} .

En el espectro de ^1H (CDCl_3) se observaron las señales características del compuesto **51**, con un δ 5.72 (s, 1H) que corresponde al protón vinílico de la posición 4; δ 1.17 (s, 3H) y δ 0.7 (s, 3H) son desplazamiento característicos para metilos localizados en la posición 19 y 18 de un esteroide (Tabla 5).

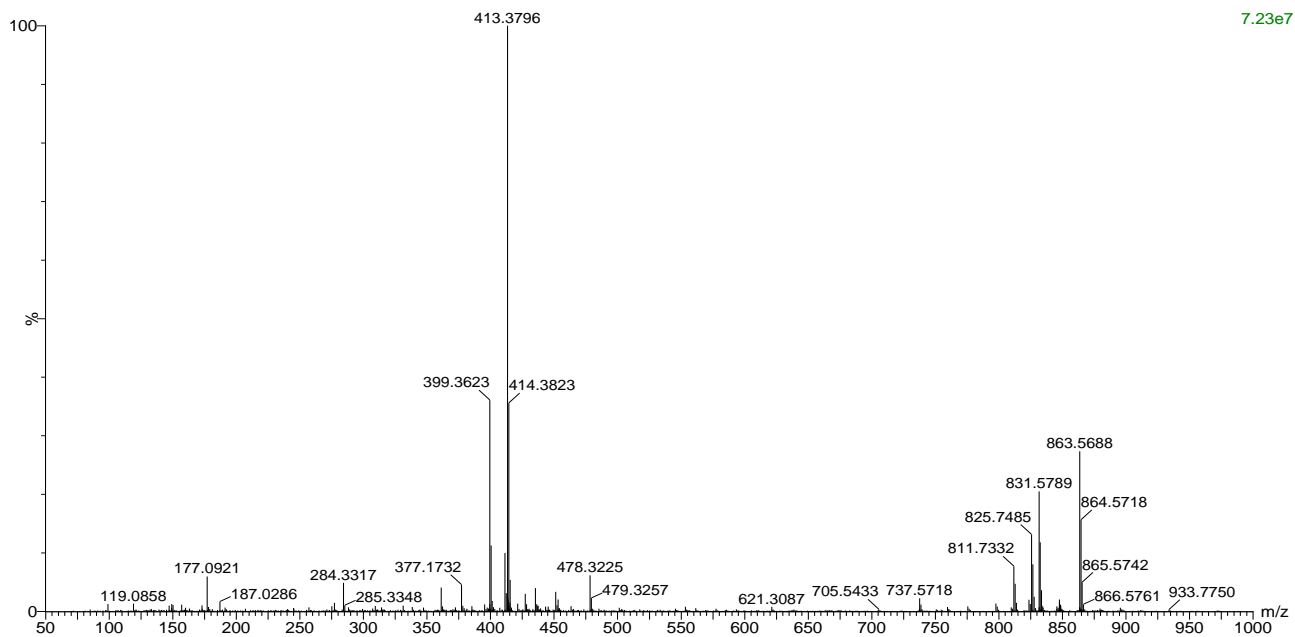
En el espectro de ^{13}C (CDCl_3) se observaron las 29 señales de carbono, lo que concuerda con el número de carbonos del compuesto **51**. De las cuales las más características son; δ 199.7 que pertenece al C=O de la posición 3, los carbonos vinílicos δ 171.7 y 123.7 situados en las posiciones 5 y 4, respectivamente (Tabla 5). Los desplazamientos químicos de los espectros obtenidos de ^1H y ^{13}C , se compararon con los datos descritos en la literatura.^{41,42}

Tabla 5. Desplazamientos químicos de la β -sitostenona (**51**).

Posición	$^1\text{H } \delta$	$^1\text{H } * \delta$	$^{13}\text{C } \delta$	$^{13}\text{C } * \delta$
1	2.0 (1H, ddd, $J=5.2, 5.1, 3.2$ Hz) 1.7 (1H, m)**		35.6	35.7
2	2.39 (m)** 1.33 (m)**		34.0	34.0
3	-		199.7	199.7
4	5.72 (1H, d, $J=1.7$ Hz)	5.72 (1H, s)	123.7	123.7
5	-		171.7	171.8
6	2.37 (m)** 2.28 (m)**		32.9	32.9
7	1.84 (m)** 1.0 (m)**		32.0	32.0
8	1.52 (m)**		35.6	35.6
9	0.9 (m)**		53.7	53.8
10	-		38.6	38.6
11	1.50 (m)** 1.43 (m)**		21.0	21.0
12	2.03 (1H, ddd, $J=5.3, 2.9, 2.9$ Hz) 1.15 (m)**		39.6	39.6
13	-		42.3	42.4
14	1.0 (m)**		55.8	55.8
15	1.6 (m)** 1.12 (m)**		24.2	24.2
16	1.86 (m)** 1.28 (m)**		28.2	28.2
17	1.10 (m)**		55.9	55.9
18	0.7 (3H, s)	0.71 (3H, s)	11.9	11.9
19	1.17 (3H, s)	1.18 (3H, s)	17.3	17.4
20	1.35 (m)**		36.1	36.1
21	0.91 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	0.92 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	18.7	18.7
22	2.38 (m)** 1.33 (m)**		33.8	33.8
23	1.16 (m)**		26.0	26.0
24	0.92 (m)**		45.8	45.8
25	1.67 (m)**		29.1	29.1
26	0.83 (3H, d, $J=7.1$ Hz)	0.83 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	19.8	19.8
27	0.81 (3H, d, $J=6.9$ Hz)	0.81 (3H, d, $J=6.8$ Hz)	19.0	19.0
24 ¹	1.26 (m)**		23.0	23.0
24 ²	0.86 (3H, t, $J=6.2$ Hz)	0.85 (3H, t, $J=6.7$ Hz)	11.9	11.9

*Datos de la literatura,^{41,42} **señales traslapadas.

Por otra parte, en el espectro de ESI-MS del compuesto **51** la masa obtenida en modo positivo es de m/z 413.3796 $[\text{M}+\text{H}]^+$ y la masa calculada es de 413.3783 (Espectro 2), así mismo se corroboró la fórmula molecular esperada para el compuesto **51**, que es de $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$. Por lo tanto, con base en estos datos el compuesto **51** corresponde a la estructura del esteroide β -sitostenona.

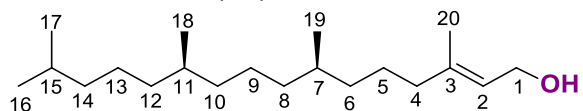


Espectro 2. ESI-MS del compuesto **51**.

La β -sitostenona (**51**) exhibe un efecto hipoglucémico,⁴³ antimicobacteriano (*Mycobacterium tuberculosis*),⁴⁴ así como una actividad anti-proliferativa frente a diversas líneas celulares humanas como; cáncer de próstata (DU145), carcinoma hepatocelular hepático (Hep G2), carcinoma oral de células escamosas (SCC9), adenocarcinoma de pulmón (H441), cáncer gástrico humano (AGS), adenocarcinoma colorrectal (WiDr) y leucemia (K562).³³

Se ha descrito la presencia de **51** en *Annona montana* (Annonaceae),⁴⁵ *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae),⁴⁶ además, se encuentra presente en la familia Commelinaceae en *Amischotolype hispida*.⁴⁷

Purificación y caracterización del E-fitol (**52**)



El extracto EHD (2.1874 g) se purificó mediante cromatografía en columna por gravedad empleando alúmina neutra como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de Hexano/AcOEt (95:5). A partir de la fracción 92 hasta la 140 se observó la presencia del compuesto **52**, de aspecto oleoso, del cual se obtuvo 31.3 mg. En TLC se empleó un sistema de elución Hexano/AcOEt (8:2) y se reveló con H₂SO₄ al 50% observándose una banda de color rosa/vino con un R_f= 0.57.

En el espectro de ^1H (CDCl_3) se observaron las señales características del compuesto **52** con un δ 5.41 (1H, m) perteneciente al protón vinílico en la posición 2 y para el metileno de la posición 1 un δ 4.15 (2H, d) con una $J=6.9$ Hz debido al acoplamiento con el H-2 (Tabla 6).

En el espectro de ^{13}C (CDCl_3) se observaron las señales características con un δ 140.4 y 123.0 para dos absorciones típicas de carbonos vinílicos que corresponden con las posiciones 3 y 2, respectivamente, con δ 59.4 se observó una señal característica del carbono base de oxígeno de la posición 1 (Tabla 6).

Tabla 6. Desplazamientos químicos de ^{13}C del *E*-fitol (**52**).

Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	^{13}C * δ
1	4.15 (2H, d, $J=6.9$ Hz)	4.15 (2H, d, $J=6.8$ Hz)	59.4	59.4
2	5.41 (1H, ttq, $J=7.1, 1.4, 1.4$ Hz)	5.39 (1H, dt, $J=7.0, 1.3$ Hz)	123.0	123.1
3	-	-	140.4	140.2
4	1.99 (2H, t, $J=7.4$ Hz)	1.97 (2H, t, $J=7.3$ Hz)	39.9	39.9
5			25.1	25.1
6			36.7	36.7
7			32.6	32.7
8			37.3	37.4
9			24.5	24.5
10			37.4	37.4
11			32.8	32.8
12			37.3	37.3
13			24.8	24.8
14			39.4	39.4
15	1.52 (1H, hept, $J=6.3$ Hz)	1.52 (1H, hept, $J=6.6$ Hz)	28.0	28
16	0.86 (6H, d, $J=6.4$ Hz)	0.86 (6H, d, $J=6.3$ Hz)	22.6	22.6
17			22.7	22.7
18			19.7	19.7
19			19.8	19.7
20	1.67 (3H, d, $J=1.3$ Hz)	1.67(3 H, d, $J=1.3$ Hz)	16.2	16.1

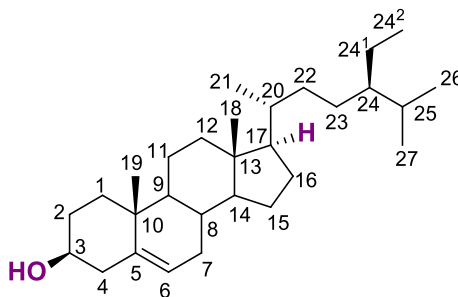
*Datos de la literatura.^{48,49}

Por lo tanto, con base en los datos espectroscópicos anteriores y a la comparación con los descritos en la literatura,^{48,49} el compuesto **52** se asignó como *E*-fitol.

El *E*-fitol (**52**) es un terpeno que contiene cuatro unidades isoprénicas por lo que se sitúa en la clasificación de los diterpenos (C_{20}). Es un compuesto muy común debido a que es un compuesto de degradación de la clorofila, se ha demostrado que este metabolito y sus derivados presentan diversas propiedades; antimicrobianas, antimutagénico, antiteratógeno, antidiabético, antiespasmódico, anticonvulsivo, antinociceptivo, antioxidante, antiinflamatorio, ansiolítico, antidepresivo, inmunoadyuvante, disminuye

lípidos en sangre, facilita el crecimiento del cabello, actúa como defensa contra la caída del cabello y presenta actividades anticáspsa.⁵⁰ Además, posee actividad citotóxica contra líneas celulares cancerígenas humanas: adenocarcinoma de mama (MCF-7 y MDA-MB-231), adenocarcinoma de próstata (PC-3), carcinoma epitelial de cuello uterino (HeLa), carcinoma pulmonar (A-549) y melanoma amelanótico cutáneo (Hs294T).⁵¹

Purificación y caracterización de β -sitosterol (1)



El extracto EHD (2.1874 g) se purificó mediante cromatografía en columna por gravedad empleando alúmina neutra como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de Hexano/AcOEt (95:5). A partir de la fracción 160 hasta la 252 se observó la presencia del compuesto **1**, el cual al dejar evaporar el disolvente cristalizó en forma de agujas finas e incoloras obteniéndose 138 mg. En TLC se empleó un sistema de elución Hexano/AcOEt (7:3), se utilizaron como reveladores UV (254 y 365 nm), H₂SO₄ al 50% y TsOH al 20% en EtOH. El compuesto no se apreció a ninguna de las dos longitudes de UV, sin embargo, al revelar la placa con H₂SO₄ al 50% se observó una banda morada/vino, mientras que al emplear el TsOH al 20% y observando la placa en UV a 365 nm se apreció una banda fluorescente naranja/amarillo con un R_f = 0.54. En IR se observaron los picos de absorción a 3365.4 cm⁻¹ (OH); 2936.4 cm⁻¹ y 2869.9 cm⁻¹ (C-H); 16414.3 cm⁻¹ (C=C) y 1462.9 cm⁻¹ (CH₂).

En el espectro de ¹H (CDCl₃) se observaron las señales características del compuesto **1** con δ 5.35 (m, 1H) que pertenece al protón vinílico en la posición 6; δ 3.53 (m, 1H) que corresponde a un metino oxigenado en la posición 3 y tres señales con δ 1.01 (s, 3H), 0.92 (d, 3H) y 0.68 (s, 3H) que son los metilos localizados en las posiciones 19, 21 y 18, respectivamente (Tabla 7).

En el espectro de ^{13}C (CDCl_3) se observaron las 29 señales de los carbonos que posee el compuesto **1**; las dos señales de los carbonos vinílicos δ 140.92 y 121.93 de las posiciones 5 y 6, respectivamente, una señal en δ 72 que es típica para un carbono base de oxígeno correspondiente al C-3 del esteroide (Tabla 7).

Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del β -sitosterol (**1**).

Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	^{13}C * δ
1			37.4	37.2
2			31.8	31.7
3	3.53 (1H, dddd, $J=$ 10.3, 10.3, 4.7, 4.7 Hz)	3.52 (tdd, 1H, $J=$ 4.5, 4.2, 3.8 Hz)	72	71.8
4			42.5	42.3
5			140.9	140.7
6	5.35 (1H, dt, $J=$ 5.4, 1.9 Hz)	5.36 (1H, m)	121.9	121.7
7			32.1	31.7
8			32.1	31.9
9			50.3	50.2
10			36.7	36.5
11			21.3	21.1
12			40.0	39.8
13			42.5	42.3
14			56.9	56.8
15			24.5	24.4
16			28.5	28.3
17			56.2	56.1
18	0.68 (3H, s)	0.68 (3H, s)	12.2	11.9
19	1.01 (3H, s)	1.02 (3H, s)	20.0	19.8
20			36.3	36.5
21	0.92 (3H, d, $J=$ 6.54 Hz)	0.93 (3H, d, $J=$ 6.5 Hz)	19.0	18.8
22			34.1	34
23			26.2	26.1
24			46	45.9
25			29.3	28.9
26			19.6	19.8
27			19.2	18.8
24 ¹			23.4	23.1
24 ²			12.1	12

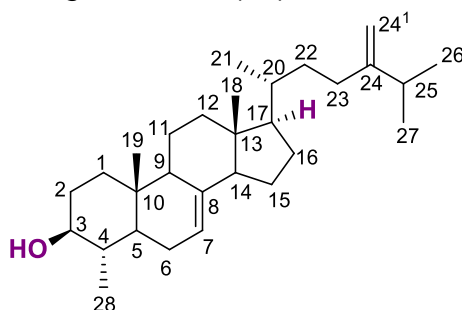
*Datos de la literatura.^{44, 52}

A partir de la información obtenida de los espectros de ^1H y ^{13}C descritos anteriormente y al compararlos con los datos descritos en la literatura (Tabla 7),^{52,44} se corroboró que la estructura propuesta corresponde al β -sitosterol (**1**).

Existen diversas propiedades descritas en la literatura del β -sitosterol donde se comprueba la actividad angiogénica en extractos ricos con este compuesto, la prevención del estrés oxidativo inducido por la glucosa oxidasa y la peroxidación lipídica y la reducción de los niveles de la glucosa debido a la administración de **1** en ratas diabéticas inducidas por

estreptozotocina. Además, aumenta el nivel de insulina, el efecto protector sobre el tejido pancreático con la mejora del antioxidante pancreático y un efecto valioso en trastornos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer.⁵⁴ Por otra parte se ha descrito su actividad anti-proliferativa frente a diversas líneas celulares humanas como; cáncer de próstata (DU145), carcinoma hepatocelular hepático (Hep G2), carcinoma oral de células escamosas (SCC9), adenocarcinoma de pulmón (H441), cáncer gástrico humano (AGS), adenocarcinoma colorrectal (WiDr) y leucemia (K562).³³ Además se ha evaluado la inhibición de células cancerígenas de ascitis tipo-180 sarcoma de ratones, en la que el esteroide **1** exhibió una tasa antitumoral de 91%.²⁶

Purificación y caracterización del gramisterol (**53**)



El extracto EHD (50.8 mg) se purificó mediante cromatografía en columna flash empleando sílica-gel como fase estacionaria y como fase móvil; un sistema de Hexano/AcOEt (98:2). Se recolectaron las fracciones 19-20 en las cuales se observó el compuesto, obteniendo 4.9 mg. En TLC se empleó un sistema de elución Hexano/AcOEt (8:2) y se reveló mediante UV (254 y 365 nm) con una solución de TsOH al 20% en EtOH. El compuesto aislado no se apreció a ninguna de las dos longitudes de UV, sin embargo, al revelar la placa con TsOH y observarla en UV-Vis se detectó una mancha de color café/marrón y en UV a 365 nm esa mancha se tornó fluorescente de color amarillo/naranja con un $R_f = 0.5$.

En el espectro de ^1H (CDCl_3) se observaron señales características del compuesto **53** con un δ 5.18 (dd, $J = 6, 2.3$ Hz, 1H) perteneciente al protón vinílico de la posición 7, la $J = 6$ Hz se debe al acoplamiento con H-6; δ 4.71 (s, 1H, a) y 4.65 (d, $J = 1.65$ Hz, 1H, b) que comprenden a los protones del metileno en la posición 24'; δ 3.12 (m, 1H) que corresponde a un metino en la posición 3 y que concuerda a un esteroide con un grupo OH; δ 1.03 (d, $J =$

6.82 Hz, 3H), 1.02 (d, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.98 (d, $J=6.31$ Hz, 3H) y 0.95 (d, $J=6.5$ Hz, 3H) que corresponden a los metilos 26, 27, 28 y 21, respectivamente (Tabla 8).

En el espectro de ^{13}C (CDCl_3) se observaron las 29 señales de los carbonos que contiene el compuesto **53**; las señales con δ 157.04, 139.3 y 117.7 que son los carbonos vinílicos de las posiciones 24, 8 y 7, respectivamente; δ 106.1 que correspondiente metileno en la posición 28 y δ 76.39 que es un desplazamiento típico para un carbono base de oxígeno en la posición 3 (Tabla 8).

Tabla 8. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C de gramisterol (**53**).

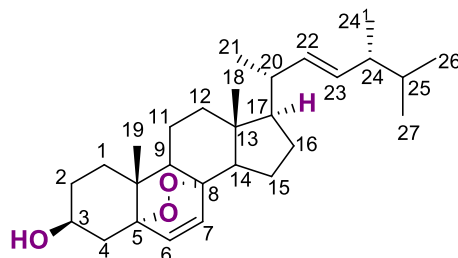
Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	^{13}C * δ
1	1.84 (m)**		37.2	37.1
2	1.80 (m)**		31.2	31.1
	1.49 (m)**			
3	3.12 (1H, ddd, $J=10.7, 10.4$ y 4.4 Hz)		76.4	76.2
4	1.33 (m)**		40.4	40.3
5	1.10 (m)**		46.8	46.7
6	2.10 (m)**		26.8	26.7
	1.60 (m)**			
7	5.18 (1H, dd, $J=6, 2.3$ Hz)	5.17 (1H, m)	117.7	117.5
8	-		139.3	139.1
9	1.62 (m)**		49.8	49.7
10	-		35.0	34.9
11	1.55 (m)**		21.6	21.4
12	1.35 (m)**		39.7	39.6
13	-		43.6	43.4
14	1.81(m)**		55.1	55.0
15	1.5 (m)**		23.1	22.9
	1.36 (m)**			
16	1.96 (m)**		28.2	28.0
17	1.24 (m)**		56.2	56.1
18	0.53 (3H, s)	0.53 (3H, s)	12.1	11.9
19	0.82 (3H, s)	0.82 (3H, s)	14.3	14.1
20	1.46 (m)**		36.4	36.2
21	0.95 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	0.95 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	19.0	18.7
22	1.54 (m)**		34.8	34.7
23	1.90 (m)**		31.2	31.0
24	-		157.1	156.8
25	2.22 (m)**		33.9	33.9
26	1.03 (3H, d, $J=6.8$ Hz)	1.03 (3H, d, $J=7$ Hz)	22.1	21.9
27	1.02 (3H, d, $J=6.9$ Hz)	1.02 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	22.2	22.0
24 ¹	4.65 (1H, d, $J=1.7$ Hz)	4.65 (1H, d, $J=1$ Hz)	106.1	106.0
	4.71(1H, s)	4.71 (1H, s)		
28	0.98 (3H, d, $J=6.3$ Hz)	0.98 (3H, d, $J=6$ Hz)	15.4	15.2

*Datos de la literatura,⁵⁵**señales traslapadas.

A partir de la información obtenida de los espectros de ^1H y ^{13}C descritos anteriormente se compararon con los datos descritos en la literatura (Tabla 8),⁵⁵ corroborando así la

estructura propuesta. El gramisterol (**53**) presenta un efecto anti-proliferativo frente a una línea celular de leucemia en ratón (WEHI-3).⁵⁶

Purificación y caracterización del peróxido de ergosterol (54)



Se purificó mediante cromatografía en columna flash empleando sílica-gel como fase estacionaria y como fase móvil; un sistema de Hexano/AcOEt (7:3). Se recolectaron las fracciones 3-5 en las cuales se observó el compuesto, obteniendo 9.8 mg. En TLC se empleó un sistema de elución Hexano/AcOEt (6:4) y se reveló mediante UV (254 y 365 nm) con una solución de TsOH al 20% en EtOH. El compuesto aislado no se apreció a ninguna de las dos longitudes de UV, sin embargo, al revelar la placa con TsOH y observándola en UV a 365 nm se apreció una banda fluorescente de color amarillo/naranja con un $R_f = 0.41$.

En el espectro de ^1H (CDCl_3) se observaron las señales características de un esteroide con un δ 6.51 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 6.25 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 5.23 (dd, 1H, $J = 15.2, 8.1$ Hz) y 5.15 (dd, 1H, $J = 15.2, 7.5$ Hz) correspondientes a los protones vinílicos de las posiciones 7, 6, 23 y 22, respectivamente, la constante de acoplamiento ($J = 8.5$ Hz) entre H-6 y H-7 es particular para protones vinílicos en *cis* mientras que la $J = 15.2$ Hz entre H-22 y H-23 es para protones en *trans*, además se observó el acoplamiento ($J = 8.1$ Hz) de H-23 con el H-24, así como el acoplamiento ($J = 7.5$ Hz) del H-22 con H-21; el δ 3.98 (m, 1H) corresponde al metino con un grupo OH en la posición 3 y los δ 0.89 (3H, s) y 0.82 (3H, s) que son típicas de los metilos 19 y 18, respectivamente (Tabla 9).

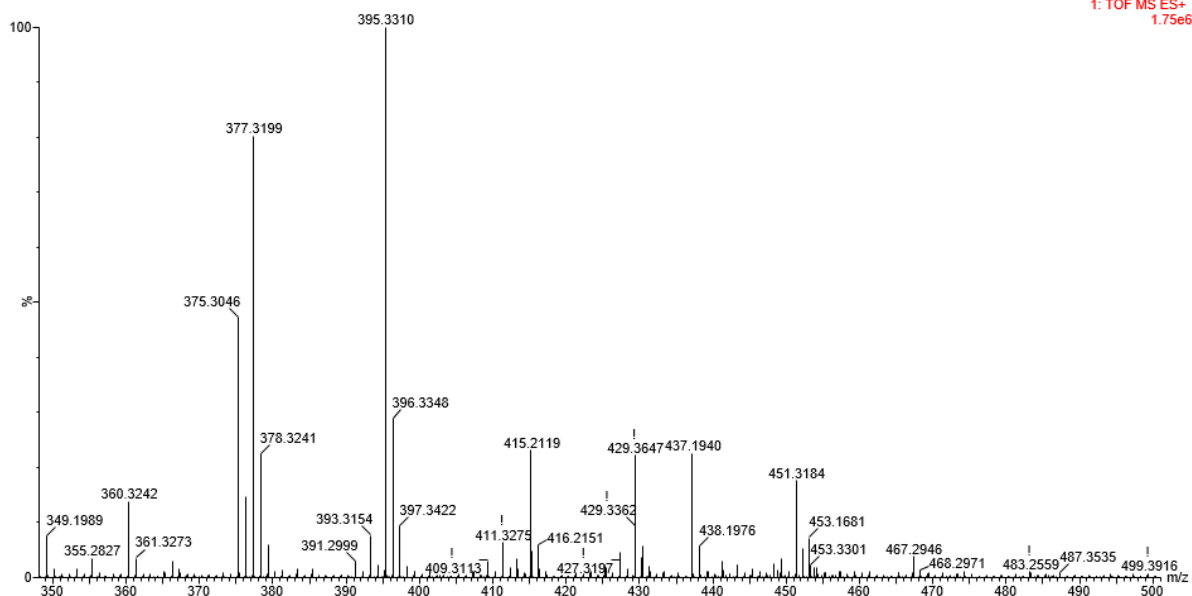
En el espectro ^{13}C (CDCl_3) se observaron 28 carbonos pertenecientes al compuesto **54** con δ 135.4 y 130.7 asignadas a los carbonos vinílicos de las posiciones 6 y 7, respectivamente; en δ 82.2, 79.4 y 66.4 se apreciaron dos señales típicas para carbono base de oxígeno que corresponden a los carbonos 5, 8 y 3, respectivamente (Tabla 9).

Tabla 9. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del peróxido de ergosterol (**54**).

Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	^{13}C * δ
1	1.95 (m)** 1.7 (1H, ddd, $J=8.6, 5.2, 2.8$ Hz)		34.7	34.7
2	1.84 (m)** 1.54 (m)**		30.1	30.1
3	3.98 (1H, dddd, $J=10.4, 10.4, 4.7, 4.7$ Hz)	3.93 (1H, m)	66.4	66.5
4	1.76 (1H, dd, $J=8.5, 3.9$ Hz) 1.4 (m)**		28.7	28.6
5	-		82.2	82.1
6	6.25 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	6.20 (1H, d, $J=8.40$ Hz)	135.4	135.4
7	6.51 (1H, d, $J=8.5$ Hz)	6.46 (1H, d, $J=8.40$ Hz)	130.7	130.7
8	-		79.4	79.4
9	1.58 (m)**		51.6	51.8
10	-		36.9	37
11	1.60 (m)** 1.40 (m)**		20.9	20.9
12	1.97 (m)** 1.23 (m)**		39.3	39.3
13	-		44.5	44.6
14	1.50 (m)**		51.0	51.7
15	1.52 (m)** 1.24 (m)**		23.4	23.4
16	1.84 (m)** 1.36 (m)**		29.7	29.7
17	1.24 (m)**		56.1	56.2
18	0.82 (3H, s)	0.77 (3H, s)	12.9	12.9
19	0.89 (3H, s)	0.84 (3H, s)	18.2	18.2
20	2.03 (m)**		39.7	39.7
21	1.01 (3H, d, $J=6.5$ Hz)	0.95 (3H, d, $J=6.4$ Hz)	19.6	19.6
22	5.15 (1H, dd, $J=15.2, 7.5$ Hz)	5.08 (1H, m)	135.2	135.2
23	5.23 (1H, dd, $J=15.2, 8.1$ Hz)	5.12 (1H, m)	132.3	132.3
24	1.86 (m)**		42.7	42.8
25	1.48 (m)**		33.0	33.1
26	0.82 (3H, d, $J=6.7$ Hz)	0.77 (3H, d, $J=6.8$ Hz)	19.9	20
27	0.90 (3H, d, $J=6.1$ Hz).	0.79 (3H, d, $J=6.4$ Hz)	20.6	20.6
24 ¹	0.92 (3H, d, $J=6.9$ Hz)	0.86 (3H, d, $J=6.8$ Hz)	17.6	17.5

*Datos de la literatura,^{57,58} **señales traslapadas.

En el espectro de ESI-MS del compuesto **54**, la masa obtenida en modo positivo es de m/z 451.3184 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ y la masa calculada para la fórmula molecular $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3\text{Na}$ es de 451.3183. (Espectro 3), dado que la fórmula del compuesto es $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$, se confirmó la estructura propuesta por RMN.



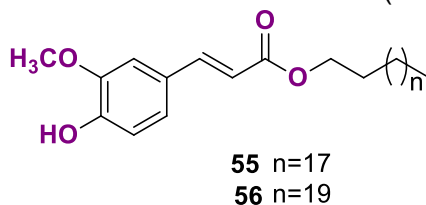
Espectro 3. ESI-MS del compuesto **54**.

A partir de la información obtenida de los espectros de ^1H , ^{13}C y ESI-MS se compararon con los datos descritos en la literatura (Tabla 9; Espectro 3).^{57,58} Con base en estos datos, el compuesto **54** corresponde a la estructura propuesta del esteroide peróxido de ergosterol.

El peróxido de ergosterol (**54**) ha demostrado que atenúa el crecimiento de células cancerígenas prostáticas (LNCaP y DU145) desencadenando un proceso apoptótico,⁵⁹ y además, muestra inhibición de la peroxidación lipídica y una actividad antioxidante mayor que α -tocoferol y tiourea.⁶⁰

Se ha descrito la presencia de **54** en *Erigeron annuus* (Asteraceae),⁶¹ *Ajuga remota* (Lamiaceae),⁶² *Melilotus messanensis* (Fabaceae),⁶³ además, se encuentra presente en la familia Commelinaceae en *Amischotolype hispida*.⁴⁷

Purificación y caracterización de los ferulatos de eicosilo (55) y docosilo (56)



El extracto EHD (15 mg) se purificó mediante cromatografía en columna flash empleando sílica-gel como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de Hexano/AcOEt (9:1). Se

recolectaron las fracciones 5-6 en las cuales se observó el compuesto obteniéndose 4.7 mg. En TLC se empleó un sistema de elución Hexano/AcOEt (9:1) y se utilizaron como reveladores UV (254 y 365 nm) y una solución de FeCl₃ al 5% en H₂O. El compuesto aislado se observó en ambas longitudes de onda; en UV a 365 nm se apreció la fluorescencia del mismo en un color azul, al revelar la placa con FeCl₃ se observó una banda verde oscuro/negro con un R_f= 0.5.


En el espectro de ¹H (CDCl₃) se observaron las señales características de un sistema aromático trisustituido con un δ 7.03 (1H, d, J = 2 Hz, H-2), 6.91 (1H, d, J = 8 Hz, H-5) y 7.07 (1H, dd, J = 8, 2 Hz, H-6); protones vinílicos con δ 7.60 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7) y 6.29 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8) que de acuerdo con la constante de acoplamiento éstos se encuentran en configuración *trans*. Además, la señal con δ 3.92 (3H, s, OCH₃) corresponde a un metoxilo localizado en la posición 3, y los protones de un metileno base de oxígeno con δ 4.18 (2H, t, J = 6.7 Hz, H-1'). Los desplazamientos de ¹H se compararon con los descritos en la literatura (Tabla 10).⁶⁴

En el espectro de ¹³C (CDCl₃) se observó una señal característica de un carbonilo de éster en δ 167.4 (C-9); 6 señales pertenecientes a los carbonos aromáticos con un δ 127.0 (C-1), 109.2 (C-2), 146.7 (C-3), 147.8 (C-4), 114.6 (C-5) y 123.0 (C-6); 2 carbonos vinílicos con un δ 144.6 (C-7) y 115.6 (C-8); una señal típica para carbonos base de oxígeno en δ 64.6 y la señal δ 14.1 perteneciente a un metilo terminal de la cadena alquílica del éster (Tabla 10).

En el experimento de gHMBC se observaron las correlaciones de H-7 (δ 7.60, J^{β}), H-8 (δ 6.29, J^{β}) y H-1' (δ 4.18, J^{β}) con el carbonilo del éster en C-9; H-2 (δ 7.03) correlaciona con dos carbonos del sistema aromático C-4 (carbono de hidroxilo, J^{β}) y C-6 (J^{β}), además correlaciona con C-7 (J^{β}) que es uno de los carbonos vinílicos; H-5 (δ 6.91) correlaciona con dos carbonos aromáticos C-1 (J^{β}) y C-3 (J^{β}); H-6 (δ 7.07) correlaciona con dos carbonos aromáticos C-2 (J^{β}) y C-4 (J^{β}), y con C-7 (J^{β}) que pertenece a uno de los carbonos vinílicos; H-7 (δ 7.60) correlaciona con dos carbonos aromáticos C-2 (J^{β}) y C-6 (J^{β}) y con C-8 (J^{β}) que es el otro carbono vinílico; H-8 (δ 6.2.9) correlaciona con el carbono C-1 (J^{β}); H-1' (δ 4.18) correlaciona con C-2' (J^{β}); H-2' (δ 1.68) correlaciona C-1' (J^{β}) y el OCH₃ (δ 3.92) correlaciona

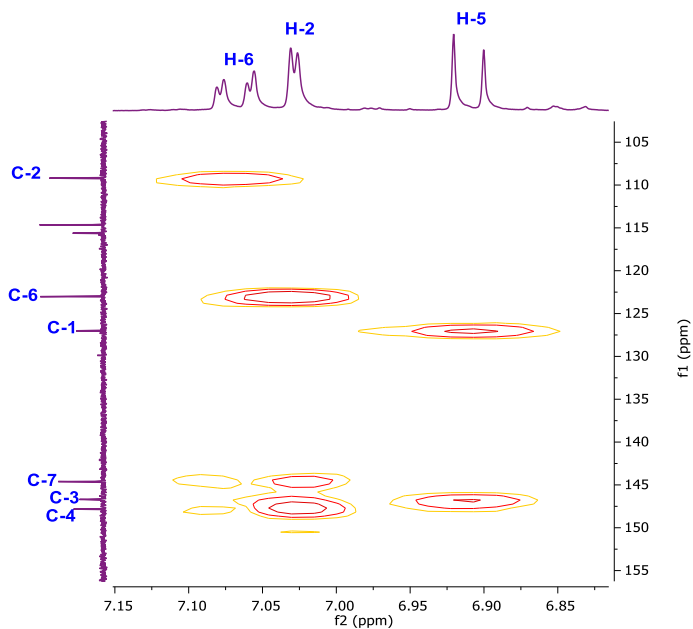
con el carbono al que está unido, corroborando que se encuentra localizado en C-3 (J^3 , Tabla 10, Espectro 4, 5 y 6).

Tabla 10. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del alquil ferulato (**55**).



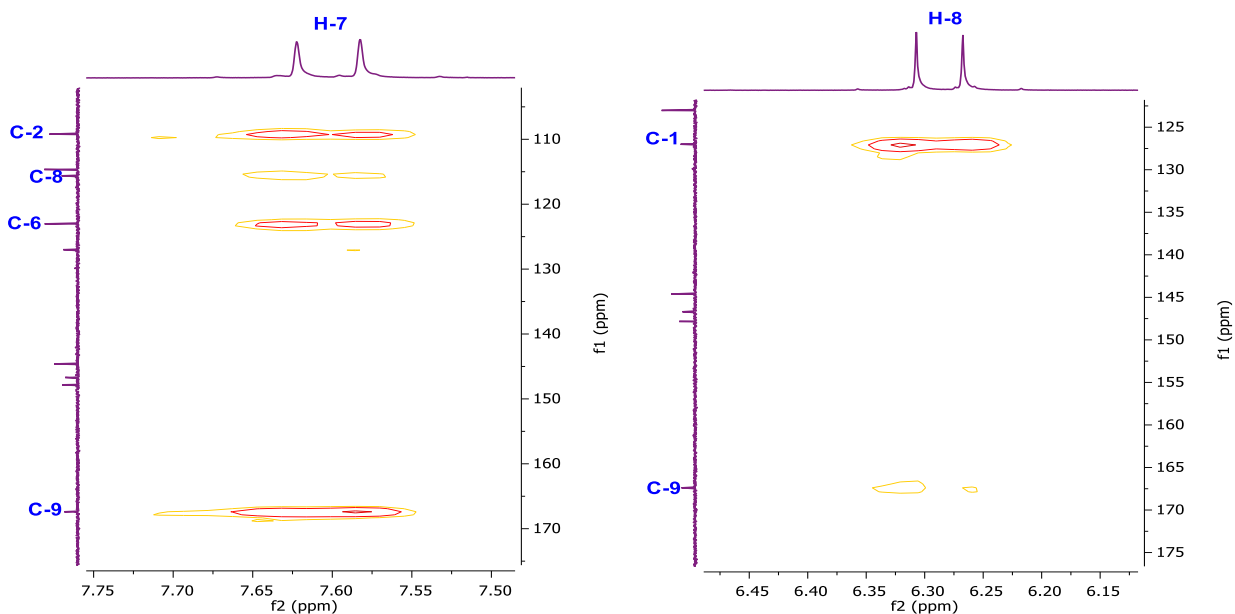
Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	gHMBC
1	-	-	127.0	
2	7.03 (1H, d, $J= 2$ Hz)	7.03 (1H)	109.2	4, 6, 7
3	-	-	146.7	
4	-	-	147.8	
5	6.91 (1H, d, $J= 8$ Hz)	6.92 (1H, d, $J= 8.5$ Hz)	114.6	1, 3
6	7.07 (1H, dd, $J= 8, 2$ Hz)	7.07 (1H, dd, $J= 1.0, 8.5$ Hz)	123.0	2, 7, 4
7	7.60 (1H, d, $J= 15.9$ Hz)	7.61 (1H, d, $J= 16.0$ Hz)	144.6	2, 6, 8, 9
8	6.29 (1H, d, $J= 15.9$ Hz)	6.29 (1H, d, $J= 15.5$ Hz)	115.6	1, 9
9	-	-	167.4	
1'	4.18 (2H, t, $J= 6.7$ Hz)	4.19 (2H, t, $J= 7.0$ Hz)	64.6	9, 2'
OH	5.86 (1H, s)	5.87 (1H)		
OCH ₃	3.92 (3H, s)	3.93 (3H)	55.9	3
2'	1.68 (2H, m)	1.70 (2H, m)	28.7	1'
(CH ₂ CH ₂ CH ₂) _n				
CH ₂ CH ₃			14.1	

*Datos de la literatura.⁶⁵

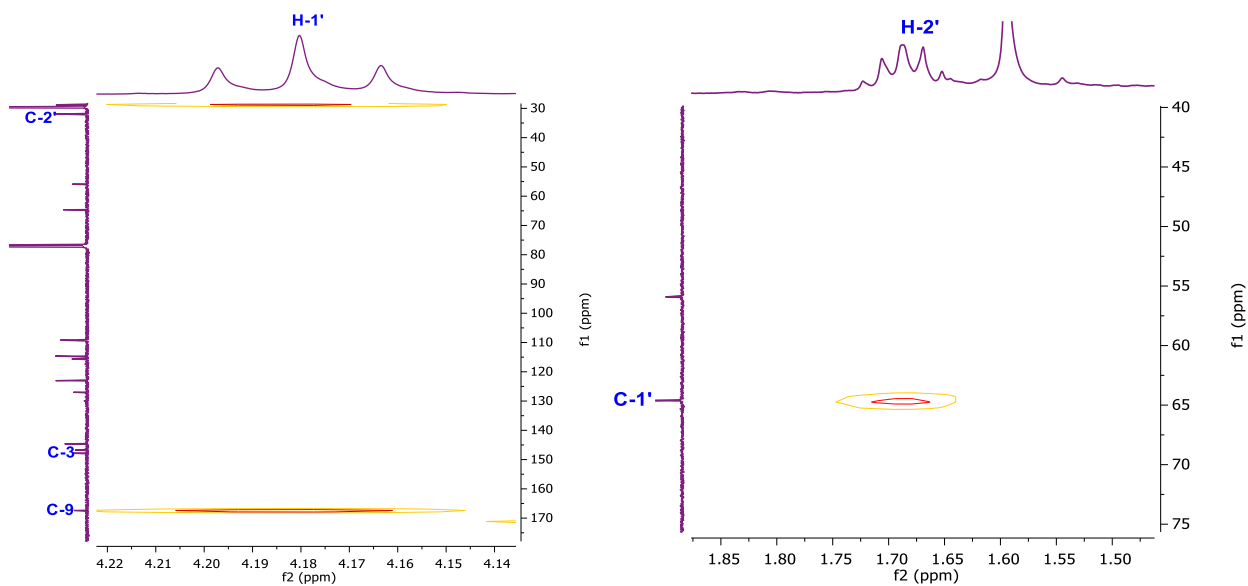


Espectro 4. Correlaciones de gHMBC de protones aromáticos de **55** y **56**.

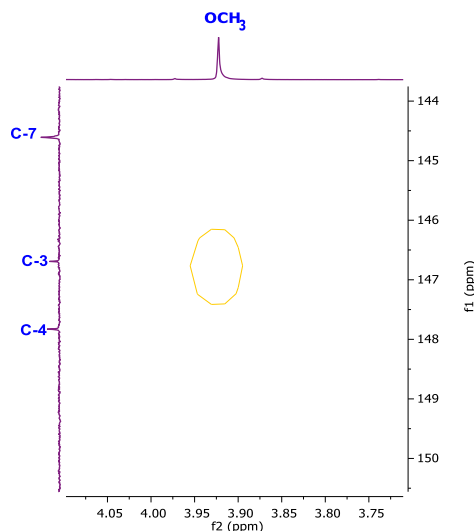
a)



b)



Espectro 5. Correlaciones de gHMBC de protones: a) vinílicos y b) protón alifático 1' y 2' de **55** y **56**.



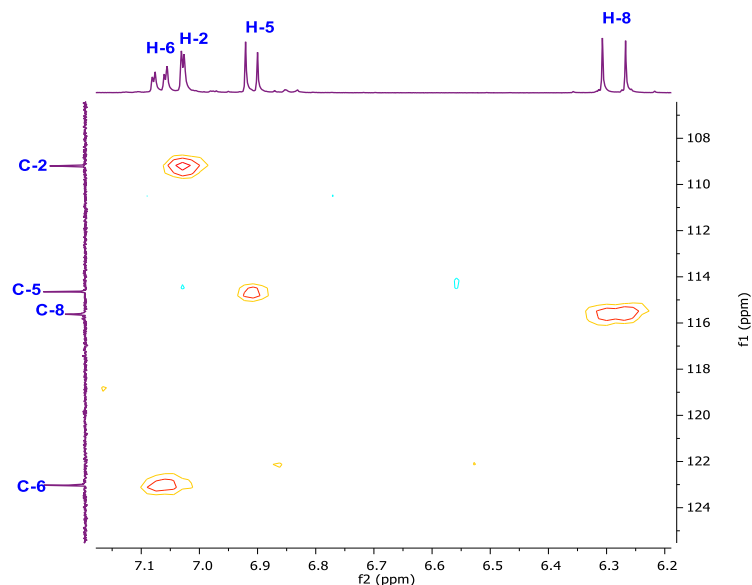
Espectro 6. Correlaciones de gHMBC del metoxilo del compuesto **55** y **56**.

Al comparar los datos obtenidos con los descritos en la literatura (Tabla 11), se observó que en RMN de ^{13}C había asignaciones erróneas. Estos errores se pueden corroborar a partir del experimento de gHSQC, al asignar los protones directamente unidos a los carbonos 2, 5, 6 y 8, los desplazamientos encontrados son 109.2, 114.6, 123.0 y 115.6 ppm, respectivamente (Espectro 7), los cuales no corresponden con los reportes de Kawanishi *et al.*, en 1990⁶⁶ y Liu *et al.*, en 2010.⁶⁵ La asignación correcta de C-3 y C-4 se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 11. Comparación de los desplazamientos de ^{13}C obtenidos y los descritos en la literatura de **55** y **56**.

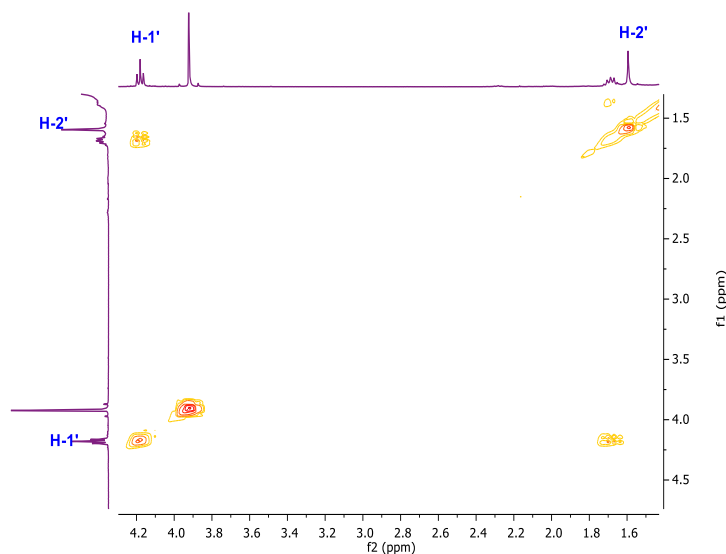
Posición	$^1\text{H } \delta$	$^{13}\text{C } \delta$	$^{13}\text{C } * \delta$			
			(1990) ⁶⁶	(1991) ⁶⁷	(1998) ⁶⁸	(2010) ⁶⁵
1	-	127.0	127.02	127.1	127.0	127
2	7.03 (1H, d, $J= 2$ Hz)	109.2	114.72	109.3	109.2	109.2
3	-	146.7	147.92	147.8	146.7	147.9
4	-	147.8	146.78	146.7	147.9	146.7
5	6.91 (1H, d, $J= 8$ Hz)	114.6	115.65	114.6	114.7	123.0
6	7.07 (1H, dd, $J= 8, 2$ Hz)	123.0	123.02	122.9	125.6	115.6
7	7.60 (1H, d, $J= 15.9$ Hz)	144.6	144.63	144.6	144.6	144.6
8	6.29 (1H, d, $J= 15.9$ Hz)	115.6	109.30	115.6	115.7	114.7
9	-	167.4	167.39	167.3	167.4	167.4
OCH ₃	3.92 (3H, s)	55.9	55.92	55.9	55.9	55.9
COOCH ₂ (1')	4.18 (2H, t, $J= 6.7$ Hz)	64.6	64.61	64.6	64.6	64.6
COOCH ₂ CH ₂ (2')	1.68 (2H, m)	28.7	31.93	31.8	31.9	22.7-
(CH ₂ CH ₂ CH ₂) _n				25.9-29.6		31.9
CH ₂ CH ₃		14.1	14.1	14.1	14.1	14.1

*Datos de la literatura, el color verde indica una asignamiento erróneo que se corroboró mediante gHSQC y el azul una mala asignación que se corroboró por gHMBC.



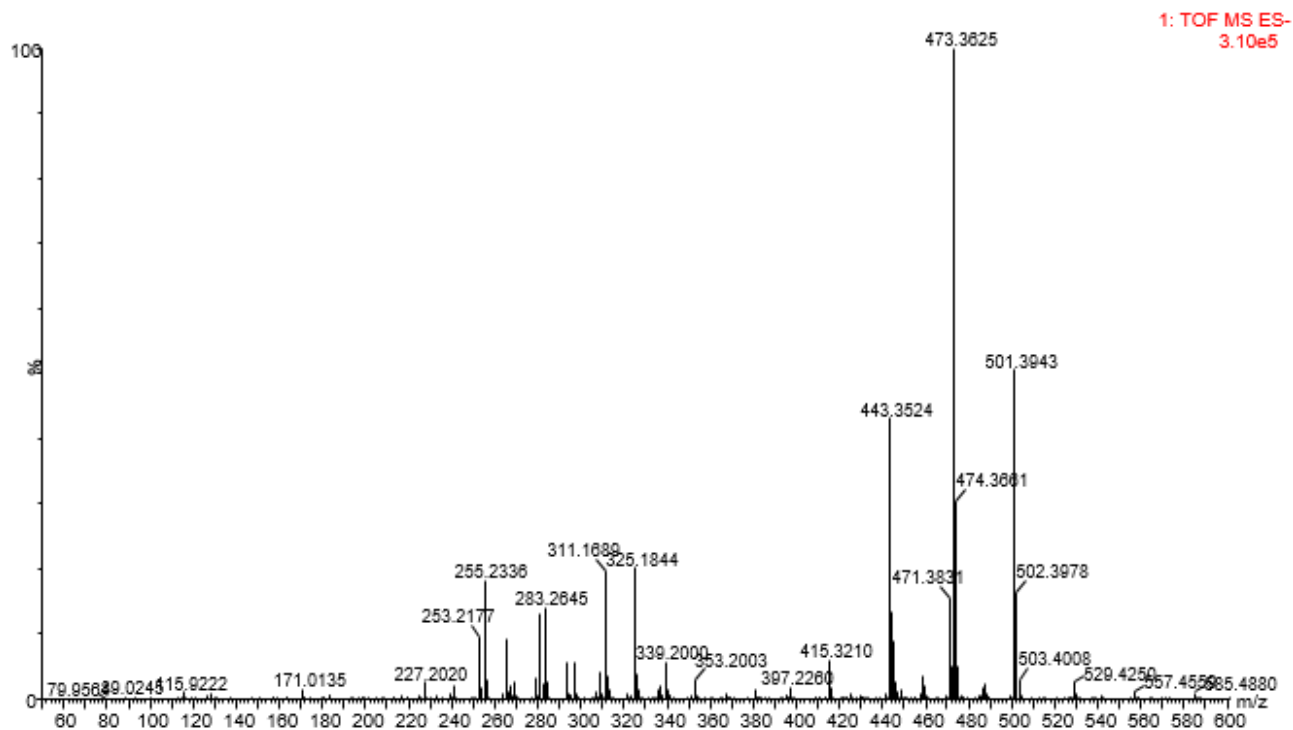
Espectro 7. Correlaciones de gHSQC de los compuestos **55** y **56**.

En el caso de la asignación para los C-3 y C-4, en el experimento de gHMBC se observó la correlación que tienen los protones pertenecientes al metoxilo (OCH₃) con el C-3 por lo que la asignación de ese carbono sólo coincide con lo descrito por Conserva *et al.*, en 1998.⁶⁸ El desplazamiento químico que presentó el C-2', se corroboró por las correlaciones existentes entre el H-1' y H-2' a partir de los experimentos gCOSY (Espectro 8) y gHMBC (Espectro 5b).



Espectro 8. Correlaciones de gCOSY de los compuestos **55** y **56**.

En el espectro de ESI-MS se observaron dos picos que en su fórmula molecular solo difieren en dos carbonos, las masas obtenidas en modo negativo de m/z 501.3943 $[M-H]^-$ y 473.3624 $[M-H]^-$ corresponden a las fórmulas moleculares $C_{32}H_{54}O_4$ y $C_{30}H_{50}O_4$ respectivamente (Espectro 9). A partir de la estructura conocida por RMN del ferulato ($C_{10}H_9O_3$) se puede inferir la longitud de la cadena alifática, la cual corresponde a 20 y 22 carbonos. Estos datos corresponden a los compuestos ferulato de docosilo (**56**, $C_{32}H_{54}O_4$) y ferulato de eicosilo (**55**, $C_{30}H_{50}O_4$).⁶⁹

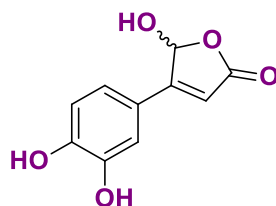


Espectro 9. ESI-MS de los compuestos **55** y **56**.

Los ferulatos de alquilo **55** y **56** presentan actividad antiinflamatoria por inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX-1) con un 35-45% de inhibición a 25 $\mu\text{g/mL}$,⁶⁹ poseen capacidad antioxidante que fue evaluada por los métodos de DPPH y por el poder reductor férrico (FRP) en los que se comparó la actividad del ácido ferúlico frente a diversos ferulatos de alquilo; los resultados del método de DPPH el ácido ferúlico tuvo la inhibición más alta del radical seguido por los ferulatos de alquilo de cadena larga y por último los ferulatos de alquilo de cadena corta, por otra parte en el FRP se observó que la actividad disminuía con el aumento de la longitud de la cadena de los ferulatos de alquilo.⁷⁰

La presencia de estos ferulatos de alquilo ha sido descrita en *Pavetta owariensis* (Rubiaceae),⁶⁷ *Solanum tuberosum* (Solanaceae),⁶⁴ *Typha domingensis* y *Typha latifolia* (Typhaceae),⁷¹ además el compuesto **55** ha sido descrito en *Platanus acerifolia* (Platanaceae)⁷² y el compuesto **56** en *Clausena harmandiana* (Rutaceae).⁷³

Purificación y caracterización del bracteanólido A (**19**)



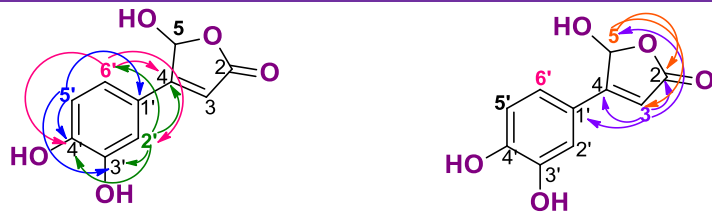
El extracto de AcOEt (380 mg) se purificó mediante cromatografía en columna flash empleando sílica-gel como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de CH₂Cl₂/MeOH (98:2). Se recolectó la fracción 16 en la que se observó el compuesto **19**, obteniéndose 4.8 mg. En TLC se empleó un sistema de elución CH₂Cl₂/MeOH (9:1) y se utilizaron como reveladores UV (254 y 365 nm) y una solución de FeCl₃ al 5% en H₂O. El compuesto aislado se observó en ambas longitudes de onda, en UV a 365 nm se apreció la fluorescencia del mismo en un color azul, al revelar la placa con FeCl₃ se observó una banda verde oscuro/negro con un R_f= 0.53.

En el espectro de ¹H ((CD₃)₂CO) se observaron cinco señales en total, de las cuales tres están ubicadas en la zona de protones aromáticos con un δ 7.32 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 7.27 (1H, dd, J = 8.3, 2.1 Hz, H-6') y 6.92 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'), lo que indica la presencia de un anillo aromático trisustituido. Además, las constantes de acoplamiento de las señales con un δ 7.27 y 6.92 indican que se encuentran en posición *orto*, mientras que la señal con un δ 7.32 se encuentra en posición *meta* con respecto a δ 7.27 (Tabla 12).

En el espectro de ¹³C ((CD₃)₂CO) se observan diez señales de las cuales, la absorción en δ 170.6 (C-2) es característica para un carbonilo de tipo éster; las que se presentan en δ 163.2 (C-4) y 111.6 (C-3) son representativas de carbonos vinílicos α,β -insaturados; con un δ 97.8 (C-5) que corresponde a un carbono base de oxígeno y las seis señales restantes que pertenecen a los carbonos del anillo aromático (Tabla 12).

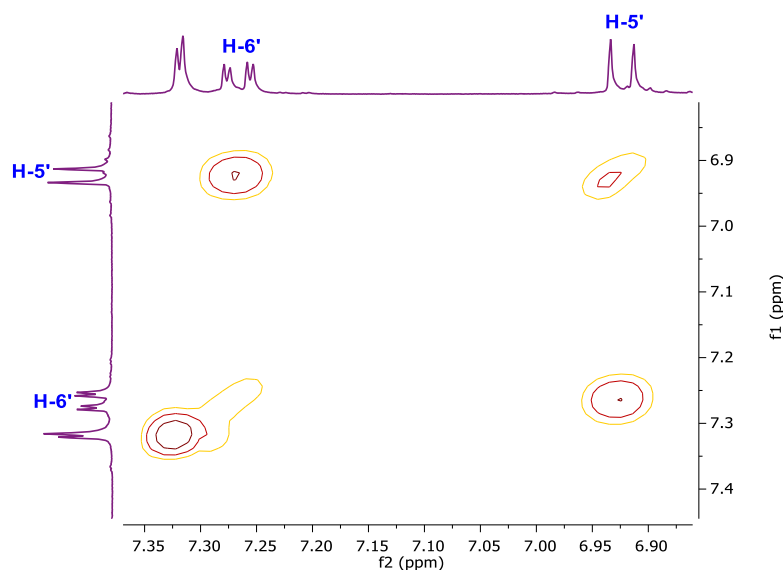
En el espectro de gCOSY se observan las correlaciones de los protones aromáticos δ 7.27 (H-6') y 6.92 (H-5') lo que confirma que estos se encuentran en relación *orto*. En el experimento de gHMBC se observan que los protones H-3 (δ 6.31; J^{β}) y H-5 (δ 6.56; J^{β}) correlacionan con el carbonilo del éster (δ 170.6, C-2); así mismo se aprecia la correlación entre los protones aromáticos; H-2' (δ 7.32) con C-6' (J^{β}), C-3' (J^{β}), C-4' (J^{β}) y C-4 (J^{β}); H-6' (δ 7.27) con C-2' (J^{β}), C-4' (J^{β}) y C-4 (J^{β}); H-5' con C-1' (J^{β}), C-3' (J^{β}) y C-4 (J^{β}); Espectro 10 y 11; Tabla 12).

Tabla 12. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del bracteanólido A (19).

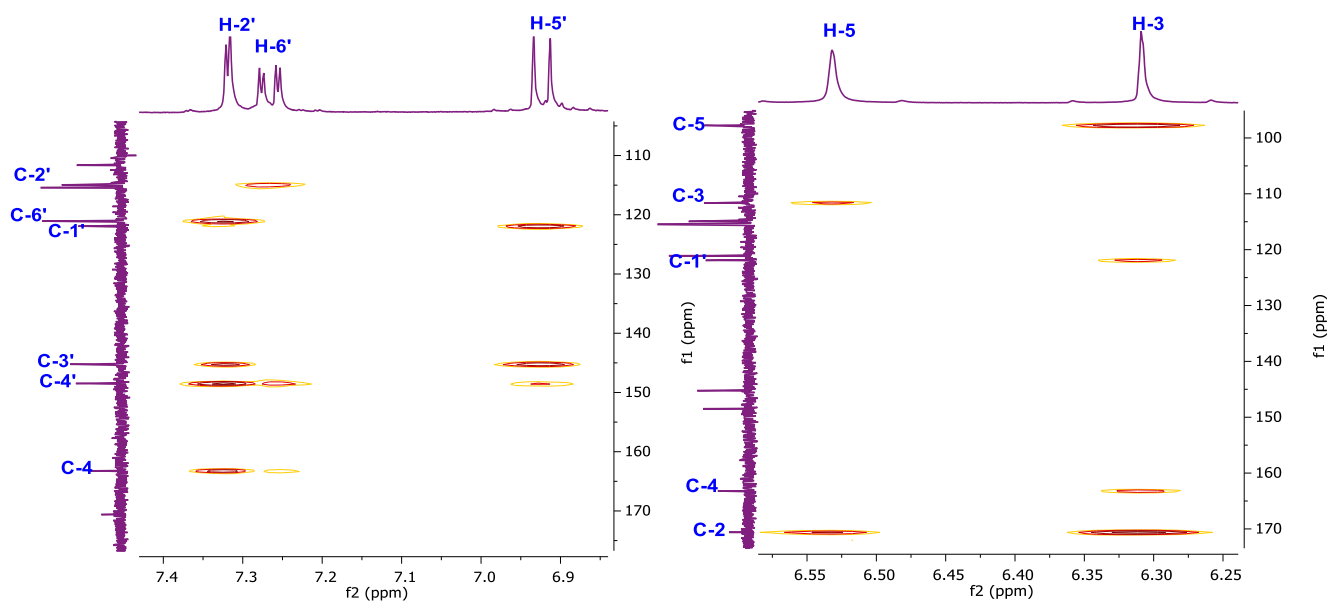


Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	^{13}C * δ	gHMBC
2	-	--	170.6	174.1	
3	6.31 (1H, sa)	6.23 (s)	111.6	111.8	2,4,5,1'
4	-	-	163.2	165.9	
5	6.53 (1H, sa)	6.45 (s)	97.8	99.9	2,3
1'	-	-	121.9	122.6	
2'	7.32 (1H, d, $J=2.2$ Hz)	7.20 (s)	114.9	116	4,3',4',6'
3'	-	-	145.2	146.7	
4'	-	-	148.5	150.5	
5'	6.92 (1H, d, $J=8.3$ Hz)	6.82 (d, $J=8.2$ Hz)	115.4	116.5	1',3',4'
6'	7.27 (1H, dd, $J=8.3, 2.1$ Hz)	7.18 (d, $J=8.2$ Hz)	121.1	122.3	4,2',4'

*Los datos de la literatura son en CD_3OD y los obtenidos en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.⁷⁴

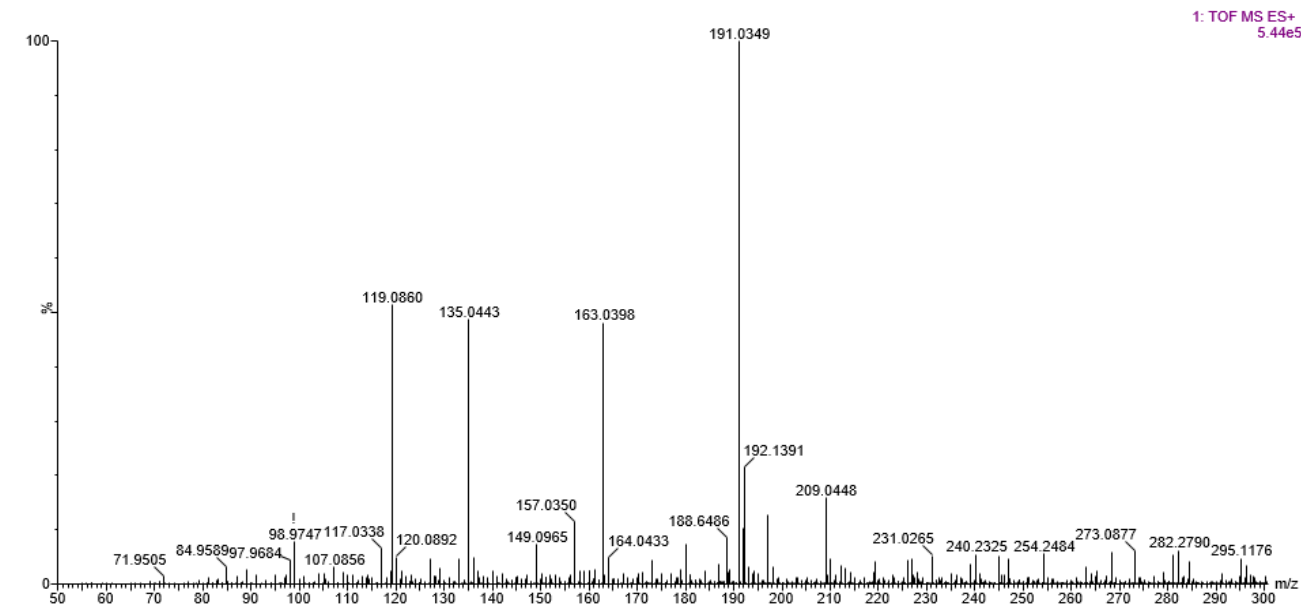


Espectro 10. Correlacion de gCOSY del compuesto 19.



Espectro 11. Correlaciones de gHMBC del bracteanólido A (**19**).

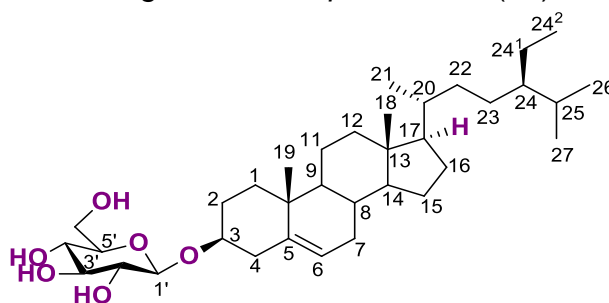
Por otra parte, en el espectro de ESI-MS del compuesto **19** la masa obtenida en modo positivo es de m/z 209.0448 $[M+H]^+$ y la masa calculada es de 209.0450 (Espectro 12). Además, se observa la pérdida de una molécula de agua corresponde al pico base con m/z 191.0349 $[M-H_2O+H]^+$. Esto datos corroboran que la fórmula molecular para el compuesto es de $C_{10}H_8O_5$.



Espectro 12. ESI-MS del compuesto **19**.

Los datos espectroscópicos obtenidos de la estructura propuesta coinciden con los descritos en la literatura para el bracteanólido A (Tabla 12),⁷⁴ además, este compuesto ya había sido aislado en las hojas de esta especie así como en *Tradescantia albiflora*.^{20,28} Este compuesto también se ha identificado en *Murdannia bracteata*⁷⁴ que es una planta perteneciente a la familia Comelinaceae y *Mentha canadensis* (Lamiaceae).⁷⁵ En una evaluación de la actividad inhibitoria de la enzima xantina oxidasa (enzima asociada a desordenes metabólicos como hiperuricemia y gota) de compuestos aislados de *T. albiflora*; el bracteanólido A (**19**) fue el que mostró la mejor actividad inhibitoria de la enzima ($IC_{50}=76.4 \mu\text{g/ml}$).²⁸

Purificación y caracterización del glucósido de β -sitosterol (**57**)



El extracto de AcOEt (380 mg) se purificó mediante cromatografía en columna flash empleando sílica-gel como fase estacionaria y como fase móvil un sistema de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (98:2). En TLC se empleó un sistema de elución $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1). El compuesto en TLC no se observó a ninguna de las dos longitudes de UV, sin embargo, al revelar la placa con H_2SO_4 al 50% se apreció una banda morada/vino con un $R_f=0.57$.

En el espectro de ^1H ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) se observan las señales características del β -sitosterol; en δ 5.31 (1H, m) que pertenece al protón vinílico en la posición 6; δ 3.45 (1H, m) que es un desplazamiento característico de un protón base de oxígeno en la posición 3; δ 0.65 (1H, s) y 0.95 (1H, s) que corresponden a los metilos 18 y 19 característicos de los esteroides. Además se observan señales con δ 4.22-2.9 (H-1'a H-6') que corresponden a una D-glucopiranososa con configuración β , esto basado en la constante de acoplamiento del protón anomérico de 4.22 (1H, d, $J=7.7$ Hz; Tabla 13).

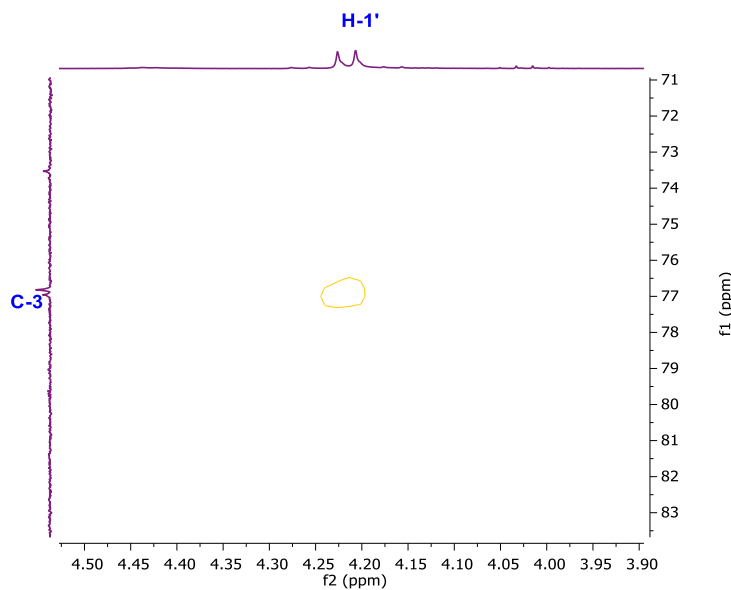
En el espectro ^{13}C ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) se observaron las señales de los carbonos que concuerdan con la estructura del β -sitosterol, las cuales se describen a continuación: los

desplazamientos típicos de carbonos vinílicos con un δ 140.5 (C-5) y 121.3 (C-6); δ 76.9 la cual corresponde al carbono base de oxígeno C-3 del esteroide y en δ 100.8, la señal característica de un carbono anomérico en la posición 1' perteneciente a la D-glucosa, que mediante el experimento de gHMBC se corroboró la unión entre los C-3 y C-1, debido a que el protón anomérico H-1' correlaciona con C-3 (Tabla 13, Espectro 13).

Tabla 13. Desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C del glucósido de β -sitosterol (57).

Posición	^1H δ	^1H * δ	^{13}C δ	^{13}C * δ
1	1.78 (m)** 0.99 (m)**		36.9	37.0
2	1.84 (m)** 1.48 (m)**		29.4	31.6
3	3.45 (1H, m)**	3.5 (1H, m)	76.9	78.9
4			38.4	39.5
5	-		140.5	141.6
6	5.31 (1H, m)**	5.3 (1H m)	121.3	121.9
7			31.4	31.6
8	1.42 (m)**		31.5	31.7
9	0.92 (m)**		49.7	50.0
10	-		36.3	36.5
11	1.52 (m)** 1.47 (m)**		20.7	20.8
12			39.4	38.5
13	-		41.9	42.1
14	1.02 (m)**		56.3	56.5
15	1.56 (m)**		23.9	24.5
16	1.83 (m)**		27.9	28.7
17	1.12 (m)**		55.5	55.8
18	0.65 (3H, s)	0.66 (3H, s)	11.7	12.0
19	0.95 (3H, s)	0.98 (3H, s)	19.2	19.0
20	1.36 (m)**		35.6	36.0
21	0.9 (3H, d, J= 6.7 Hz)	0.92 (3H, d, J= 7.2 Hz)	18.7	18.5
22			33.4	34.0
23	1.23 (m) **		25.5	28.0
24	0.96 (m)**		45.2	45.7
25	1.66 (m)**		28.8	28.9
26	0.81 (3H, d, J= 7.04 Hz)	0.81(6H, d, J= 7.2 Hz)	19.0	19.5
27	0.81 (3H, d, J= 6.81 Hz)		19.8	18.7
24 ¹	1.24 (m)**		22.7	22.8
24 ²	0.86 (m)**	0.86 (3H, t, J= 6.3 Hz)	11.8	12.0
1'	4.22 (1H, d, J= 7.7 Hz)	4.41 (d, J= 7.8 Hz)	100.8	100.9
2'	2.89 (1H, dt, J= 3.4, 8.3 Hz)	3.28 (m)	73.6	73.3
3'			76.8	76.2
4'	3.12-3.0 (3H, m)**	3.4-3.5 (m)	70.2	70.0
5'			3.31 (m)	76.8
6'	3.6 (1H, dd, J= 11.8, 5.7 Hz, Ha) 3.41 (1H, m, Hb)	3.86 (dd, J= 11, 5.5 Hz, Ha) 3.77 (dd, J= 11, 4.4 Hz, Hb)	61.8	61.7

*Datos de la literatura,^{76,77} **señales traslapadas.



Espectro 13. Correlación de gHMBC del compuesto **57**.

Los datos obtenidos se compararon con los descritos en la literatura,^{76,77} confirmando la estructura del compuesto **57** correspondiente a un glucósido de β -sitosterol (daucosterol).

El daucosterol (**57**) presenta un efecto de autofagia en líneas de cáncer humano de mama (MCF-7) y gástrico (BGC823 y MGC803),⁷⁸ que resulta en la inhibición de la proliferación de las células tumorales humanas. Además, muestra un efecto protector contra la candidiasis diseminada en ratones debido a la respuesta inmune CD4 + Th1.⁷⁹ El compuesto **57** se ha identificado en *Rabdosia leucophylla* (Lamiaceae),⁸⁰ *Morus multicaulis* (Moraceae), *Linum usitatissimum* (Linaceae)

Comparación de los esteroides aislados

Los desplazamientos característicos del H-3 de los fitoesteroides **1** y **54** se localizan en δ 3.53 y 3.98 respectivamente. Para estas señales la multiplicidad que se espera es un dddd debido al acoplamiento con los protones diasterotópicos de las posiciones 2 y 4 dado que el C-3 es un centro estereogénico. Cuando el H-3 se encuentra en la posición axial, el acoplamiento con los dos protones de las posiciones 2 y 4 que se esperan son dos acoplamientos ax-ax y dos ax-ec, sin embargo, cuando el H-3 se encuentra en posición ecuatorial el acoplamiento con los dos protones de las posiciones 2 y 4 que se esperan son dos acoplamientos ec-ax y dos ec-ec. A partir de la amplitud de la señal del H-3 se puede deducir la orientación α o β del grupo hidroxilo, debido a que la separación entre los picos

externos de la señal de un multiplete es la suma de las constantes de acoplamiento individuales. De esta forma cuando el H-3 se encuentra en posición ecuatorial (orientación α del OH), las constantes de acoplamiento son dos $J_{ec-ax} = 4$ Hz y dos $J_{ec-ec} = 4$ Hz, por lo tanto, la amplitud esperada es de aproximadamente 16 Hz, mientras que si el H-3 se encuentra en la posición axial (orientación β del OH), las constantes de acoplamiento son dos $J_{ax-ax} = 12$ Hz y dos $J_{ax-ec} = 4$ Hz de la cual se espera una amplitud de 32 Hz (Figura 13).

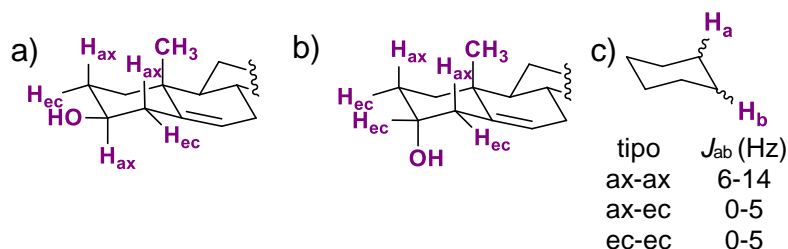


Figura 13. OH de C-3 en a) ecuatorial, b) en axial y c) constantes de acoplamientos en el ciclohexano.

En el compuesto **1** la amplitud de la señal es de 31.4 Hz y para el compuesto **54** es de 32.3 Hz confirmando la posición axial del H-3, lo que conlleva a que el OH se encuentre en orientación β (Figura 14). En el caso del fitoesterol **53**, debido a que el C-4 esta sustituido con un metilo, para la señal con un δ 3.12 se espera una señal ddd que corresponde al acoplamiento de H-3 con los dos hidrógenos diasterotópicos de la posición 2 y con un hidrógeno de la posición 4. En este compuesto para una orientación α del OH, se espera una amplitud de 12 Hz mientras que para la orientación β del OH se espera de 20 Hz, siendo la amplitud observada en el espectro de 25.3 Hz, lo que confirma que el H-3 se encuentra en posición axial (Figura 14).

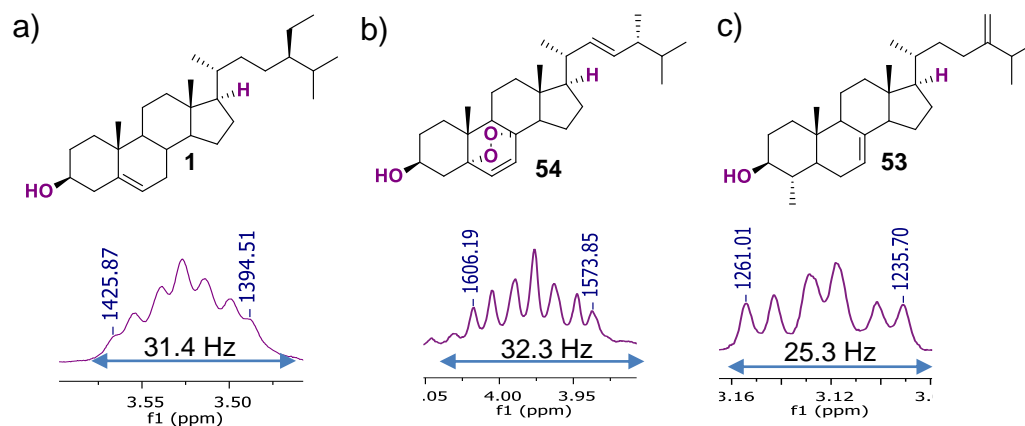


Figura 14. Multiplicidad de ^1H del H-3 de los fitoesteroles a) **1**, b) **54** y c) **53**.

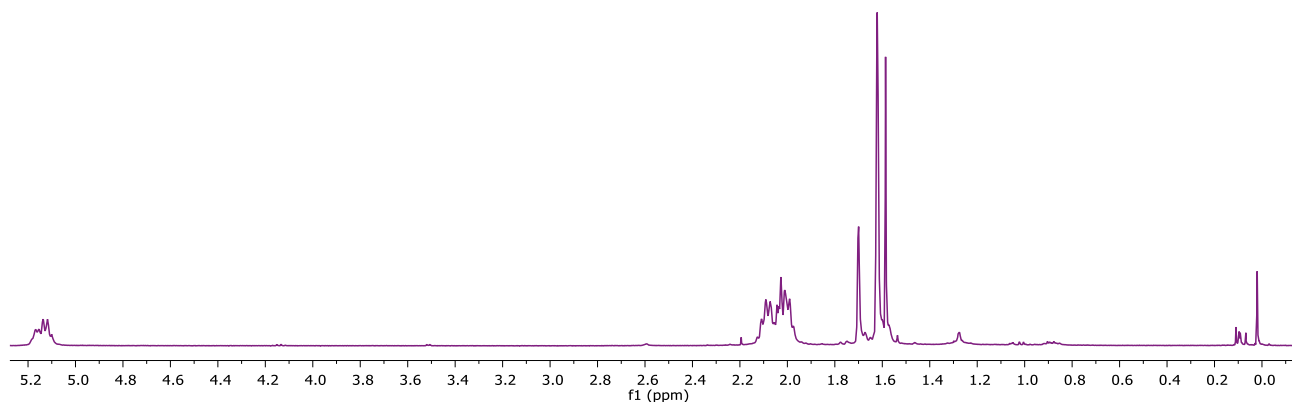
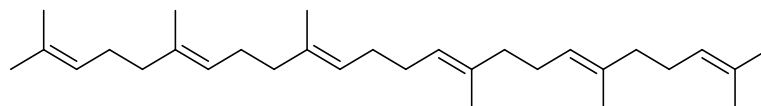
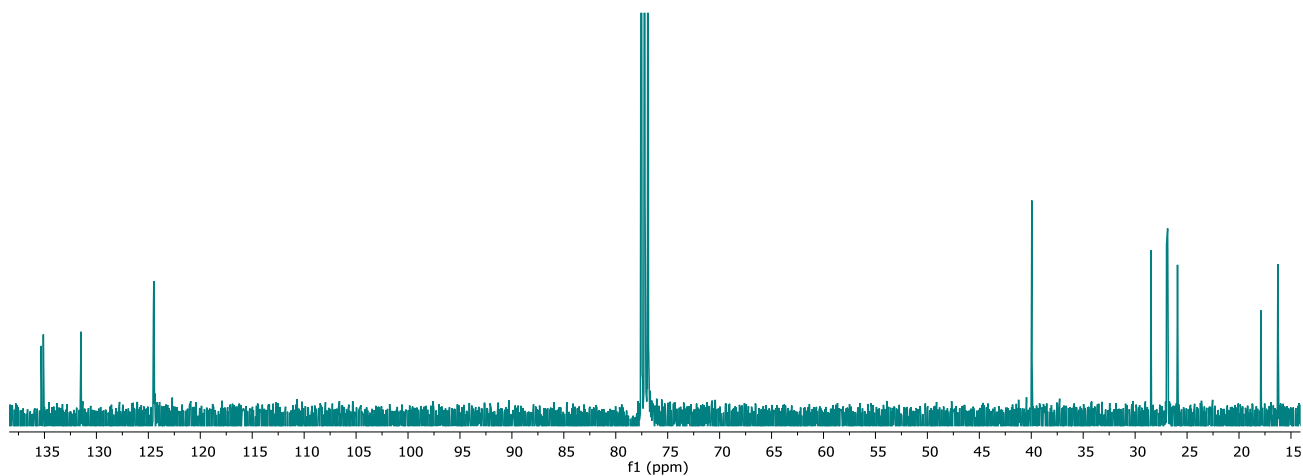
IX. CONCLUSIONES

En base a los resultados de la caracterización estructural de los metabolitos presentes en el extracto metanólico obtenido de las hojas de *T. spathacea*, se concluye que la hipótesis se cumplió tomando en cuenta lo siguiente:

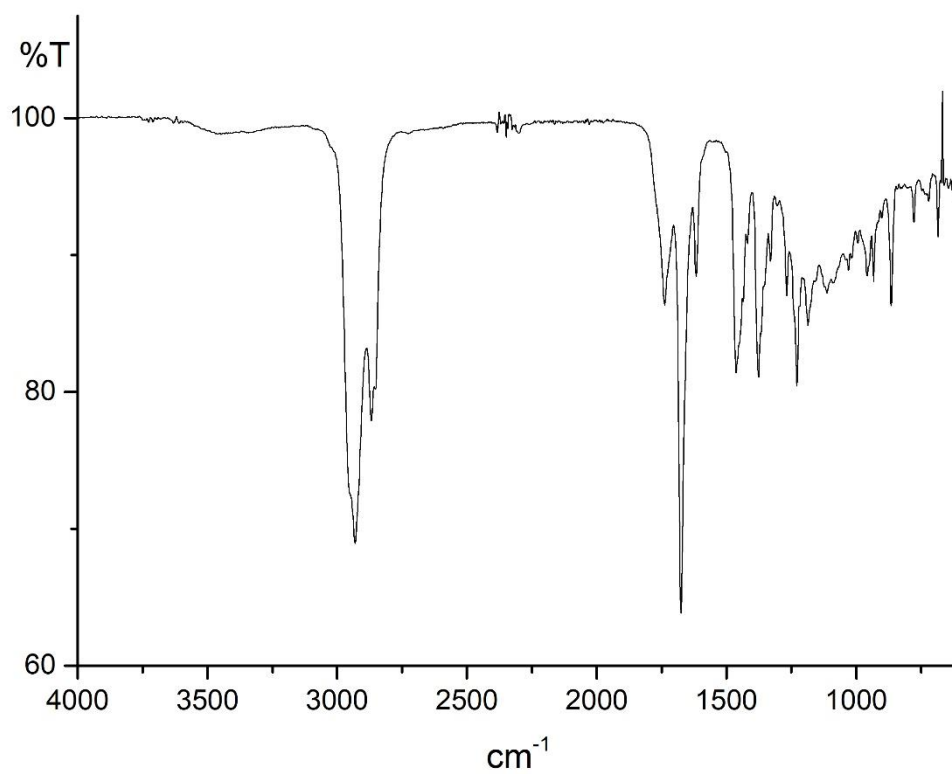
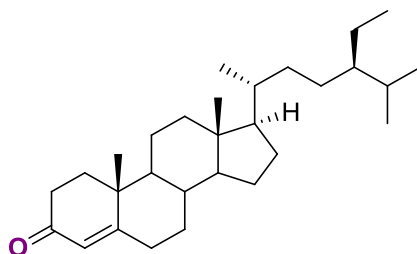
1. Mediante una extracción asistida por ultrasonido se obtuvo un extracto crudo metanólico con un 8.7% de rendimiento con respecto al material vegetal seco.
2. El fraccionamiento del extracto de MeOH con disolventes de diferente polaridad permitió disminuir su complejidad, siendo las fracciones polares y no polares las que presentaron los mayores rendimientos: 54.38%, 33.65% y 10.3% para las fracciones H₂O, hexano y *n*-BuOH, respectivamente.
3. Con el análisis del perfil fitoquímico preliminar se identificaron cuatro familias de metabolitos de las cuales dos, esteroides y terpenos, corresponden a los tipos de metabolitos aislados y caracterizados en el presente trabajo.
4. Se confirmó la presencia del β -sitosterol (**1**) y bracteanólido A (**19**). El fitosterol **1** se ha descrito en los tallos, sin embargo, esta es la primera vez que se ha aislado en las hojas de la planta.
5. Se lograron aislar nueve metabolitos secundarios desconocidos para la especie; escualeno (**49**), β -caroteno (**50**), β -sitostenona (**51**), *E*-fitol (**52**), gramisterol (**53**), peróxido de ergosterol (**54**), ferulato de eicosilo (**55**), ferulato de docosilo (**56**) y el glucósido de β -sitosterol (**57**).

X. ANEXOS

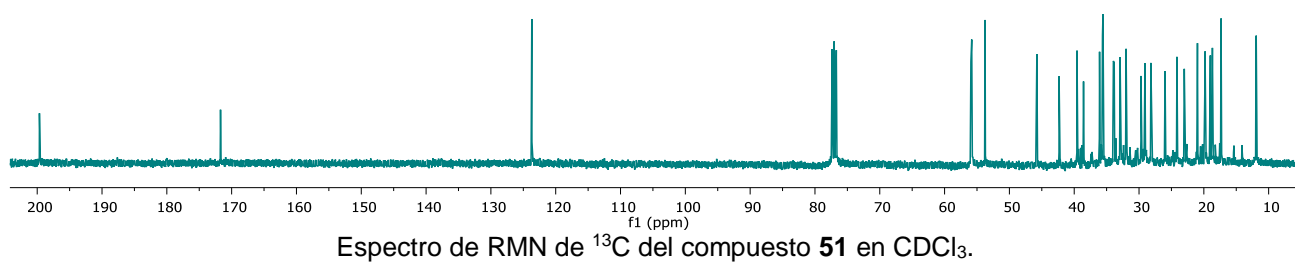
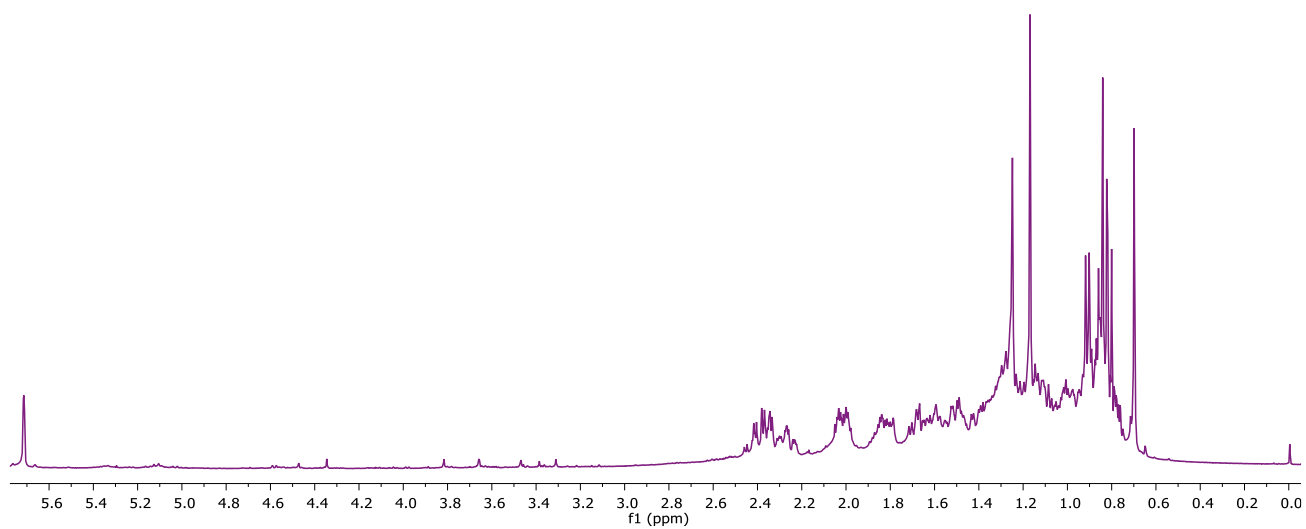
Escualeno (49)

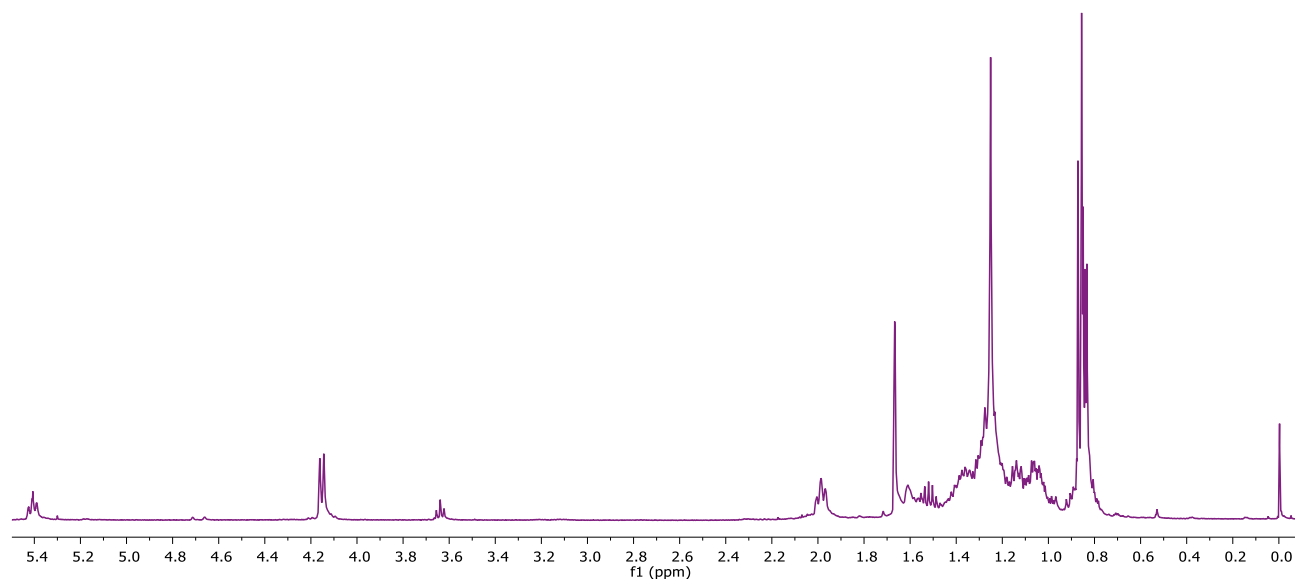
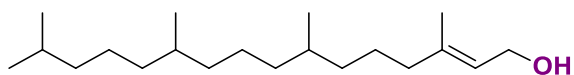
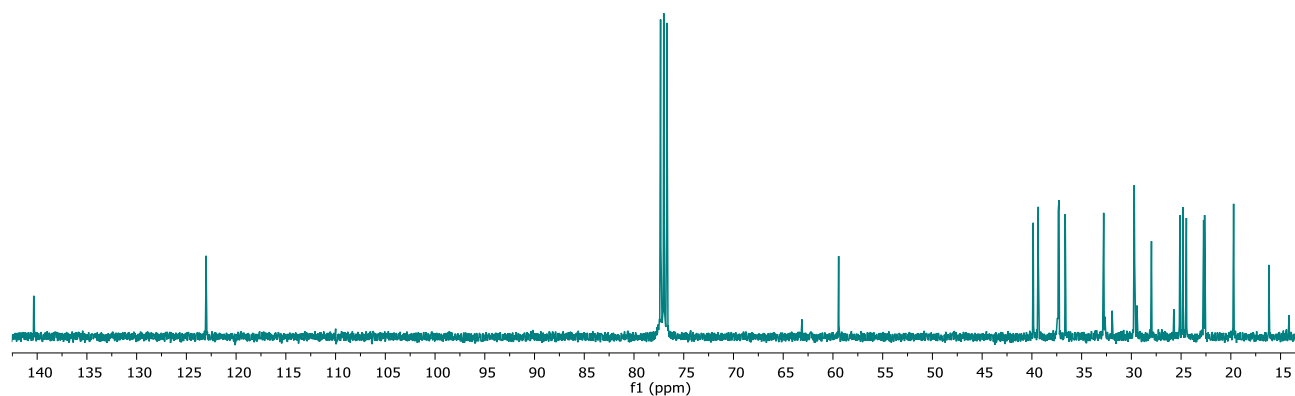
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **49** en CDCl_3 .Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **49** en CDCl_3 .

β -sitostenona (51)

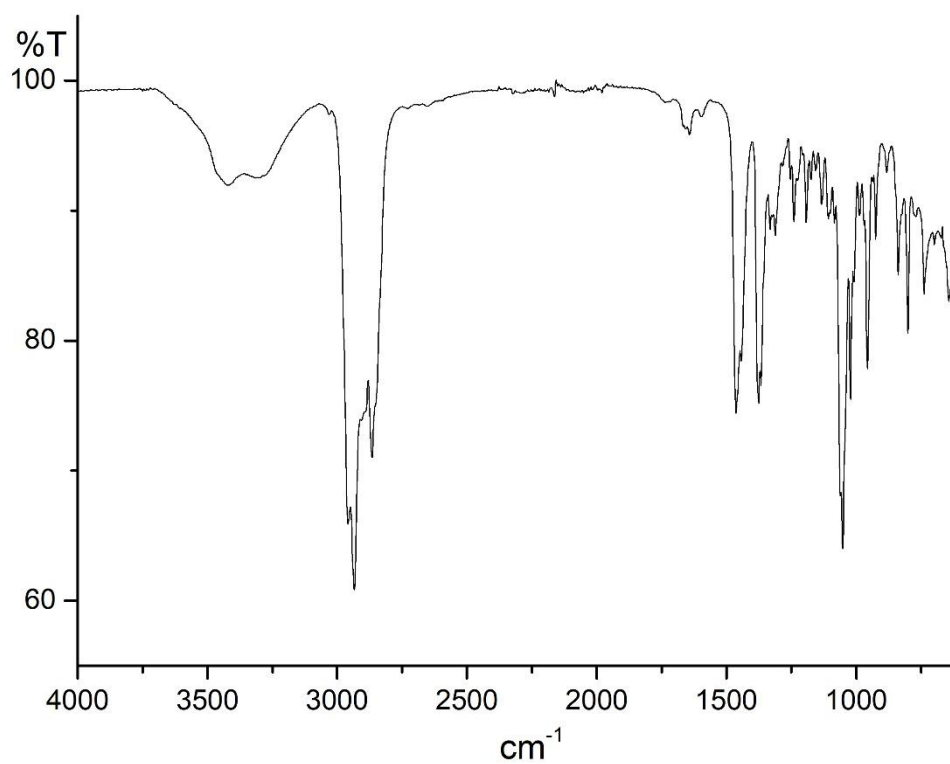
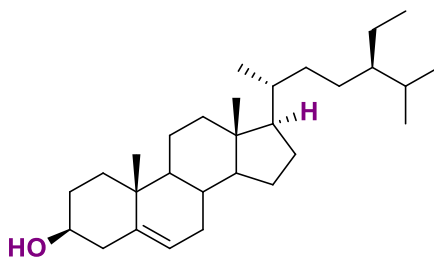


Espectro de IR del compuesto 51.

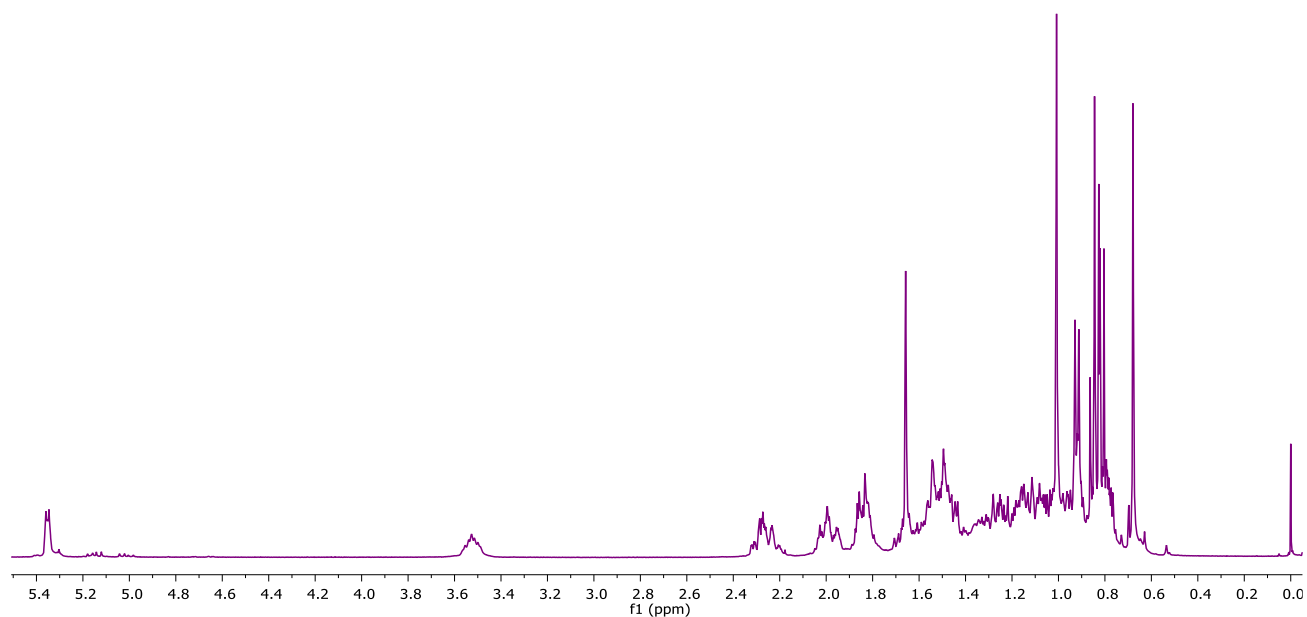
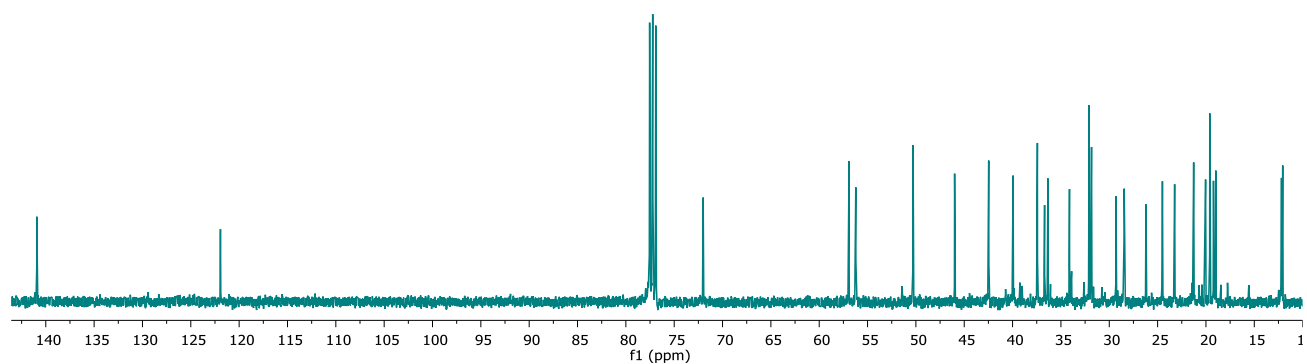


E-fitol (52)Espectro de RMN de ^1H del compuesto **52** en CDCl_3 .Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **52** en CDCl_3 .

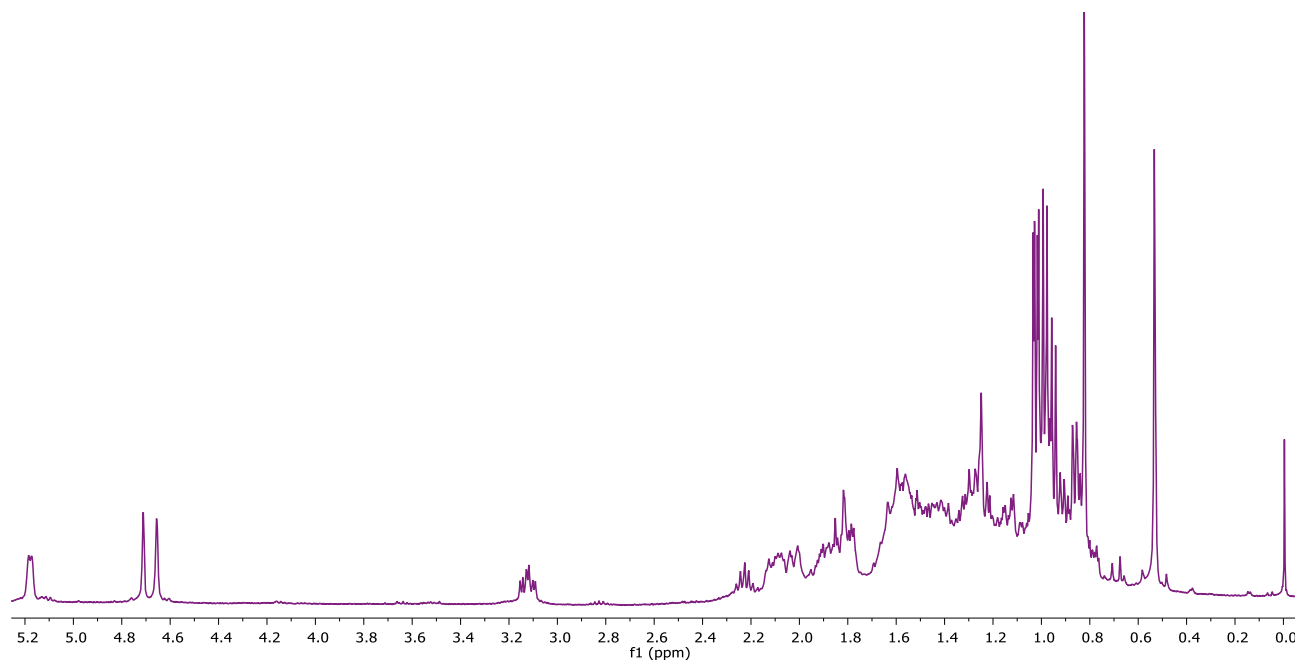
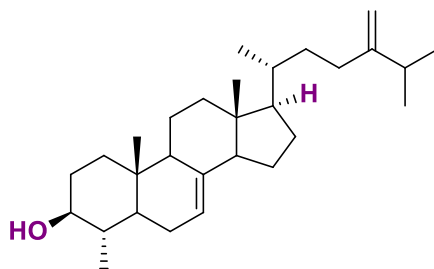
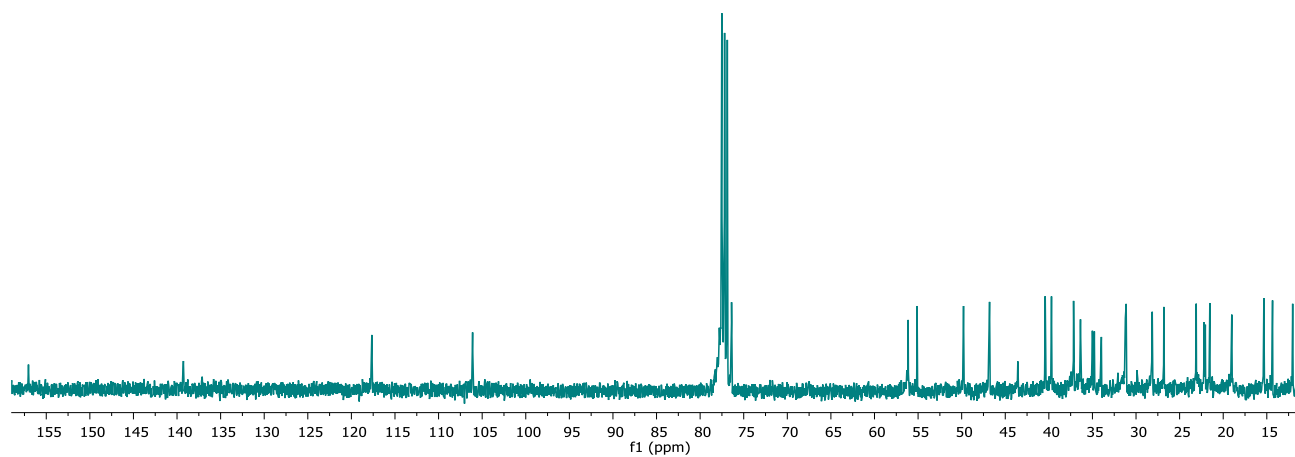
β -sitosterol (1)

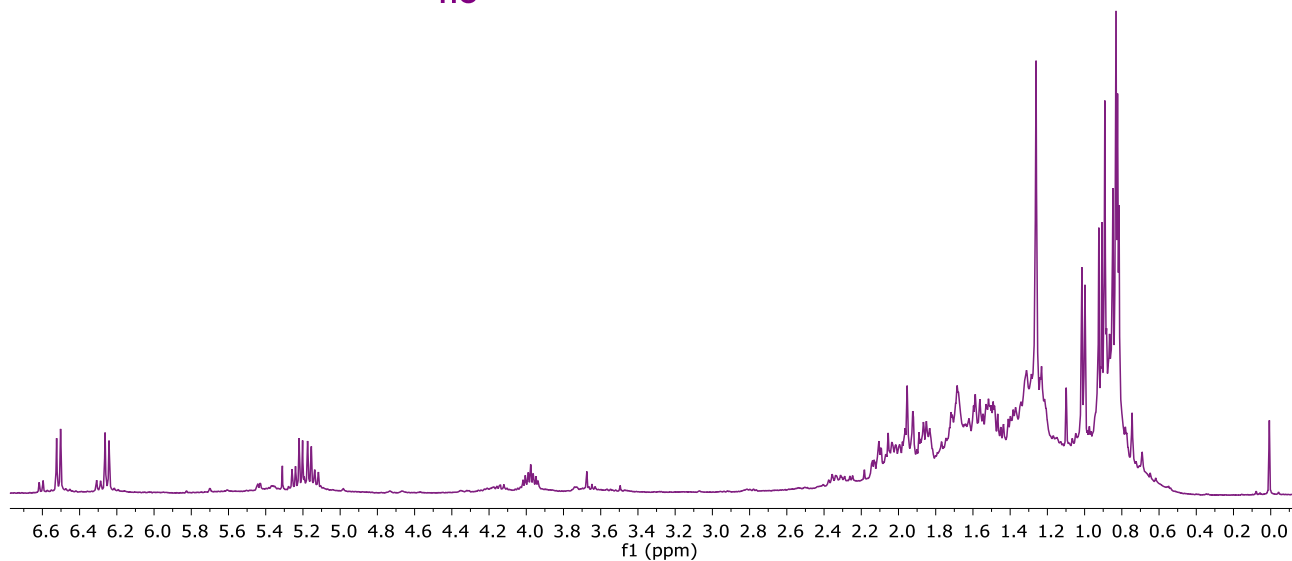
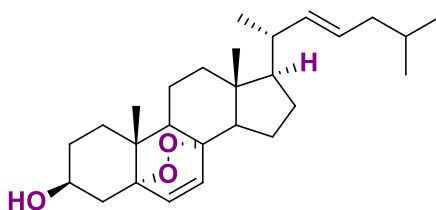
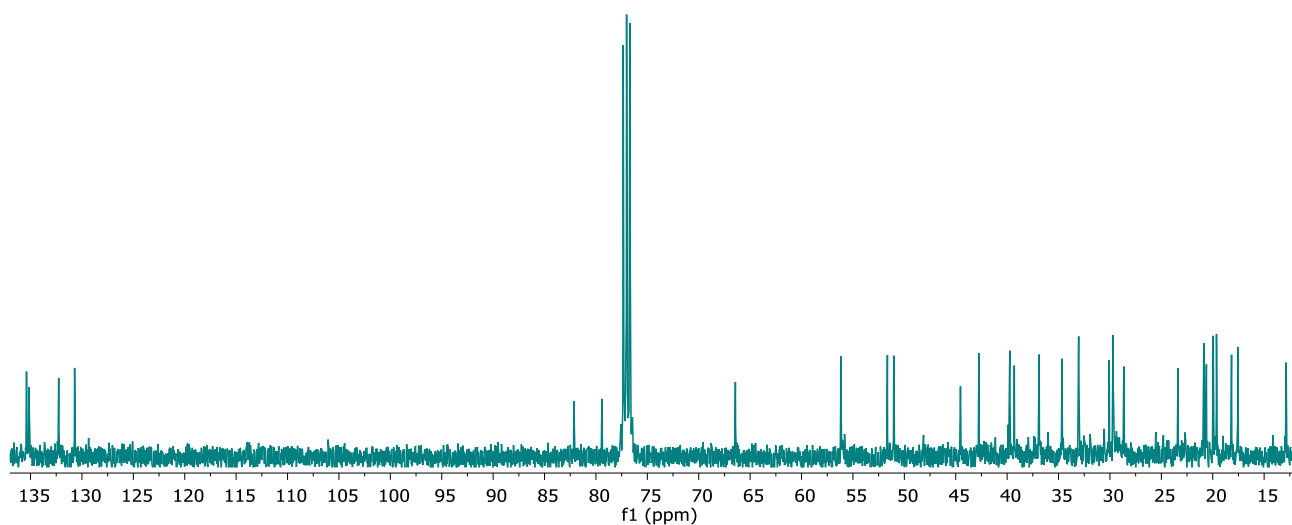


Espectro de IR del compuesto 1.

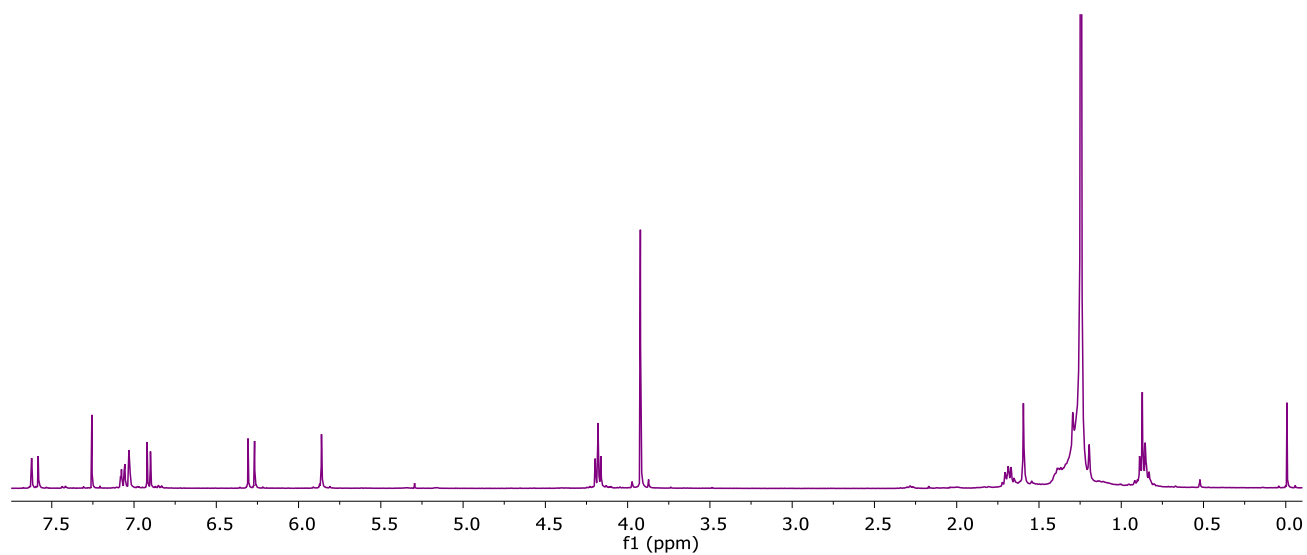
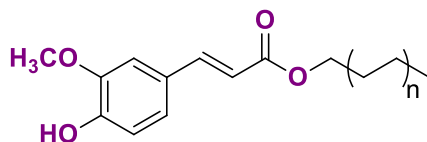
Espectro de RMN de ^1H del compuesto 1 en CDCl_3 .Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 1 en CDCl_3 .

Gramisterol (53)

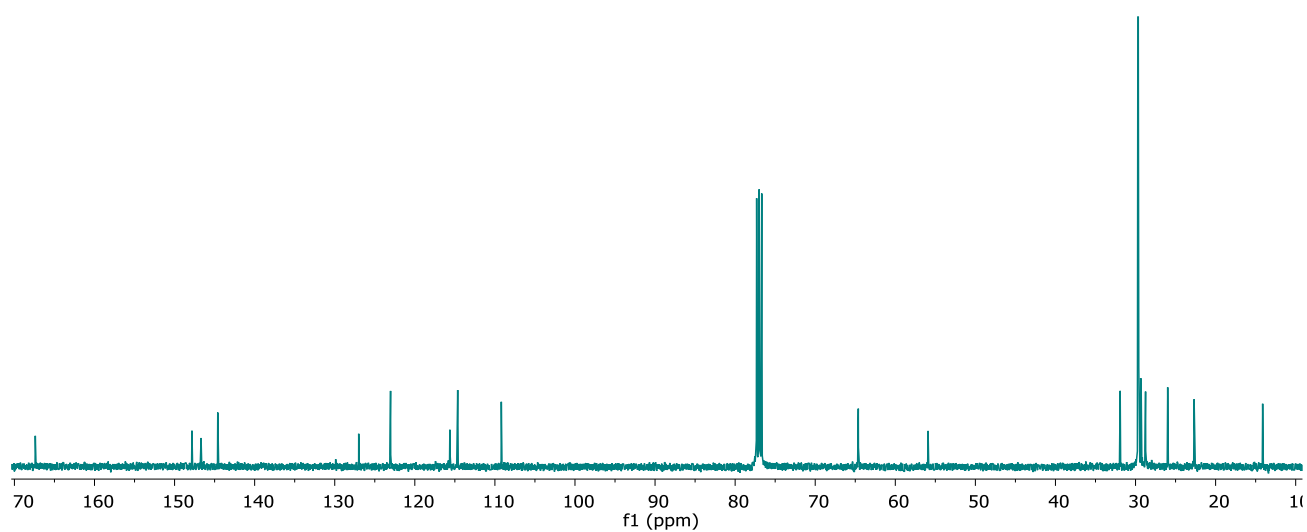
Espectro de RMN de ^1H del compuesto 53 en CDCl_3 .Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto 53 en CDCl_3 .

Peróxido de ergosterol (**54**)Espectro de RMN de ^1H del compuesto **54** en CDCl_3 .Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **54** en CDCl_3 .

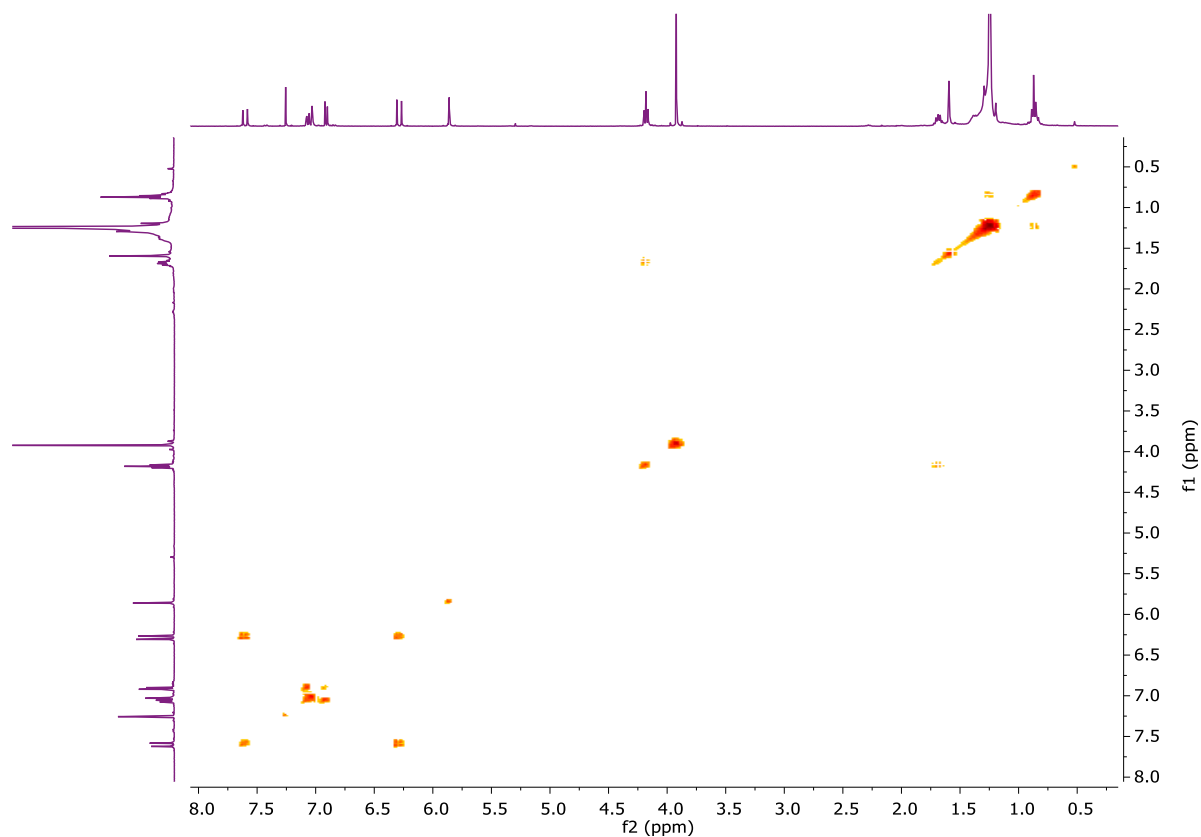
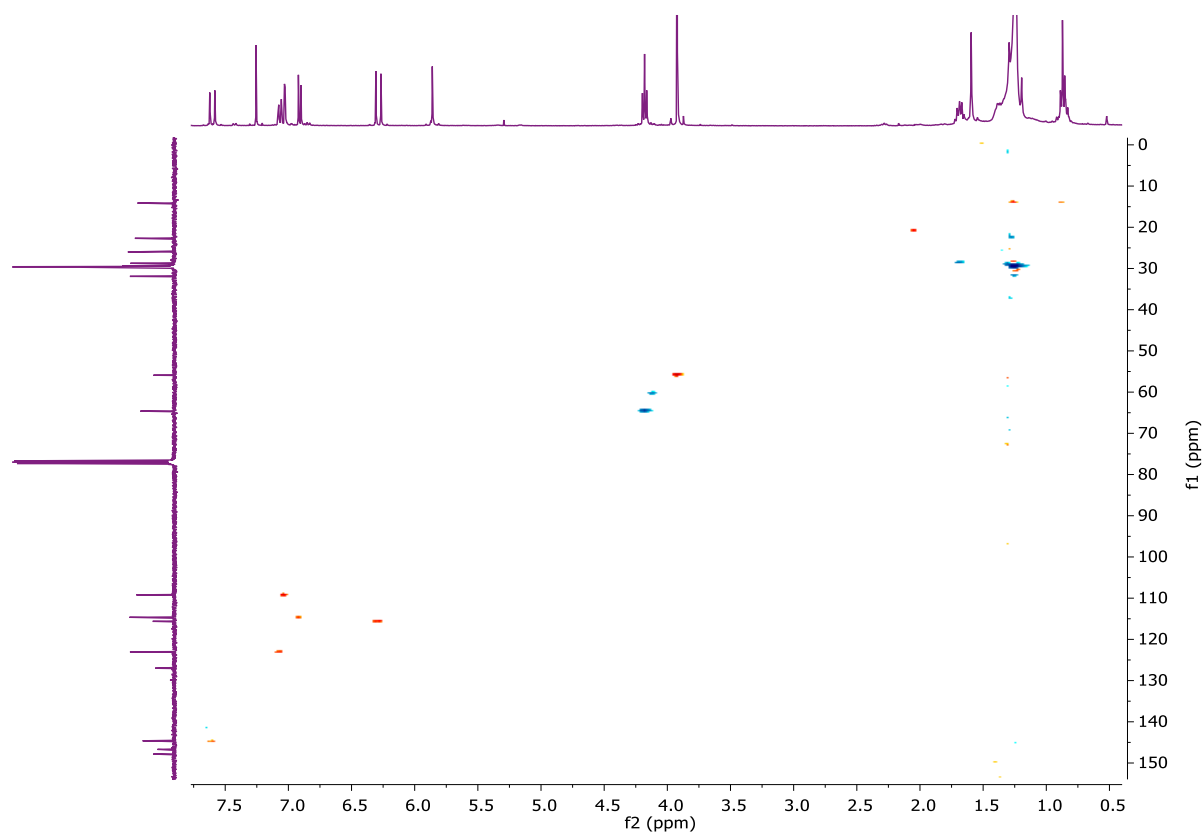
Alquil ferulato (**55** y **56**)

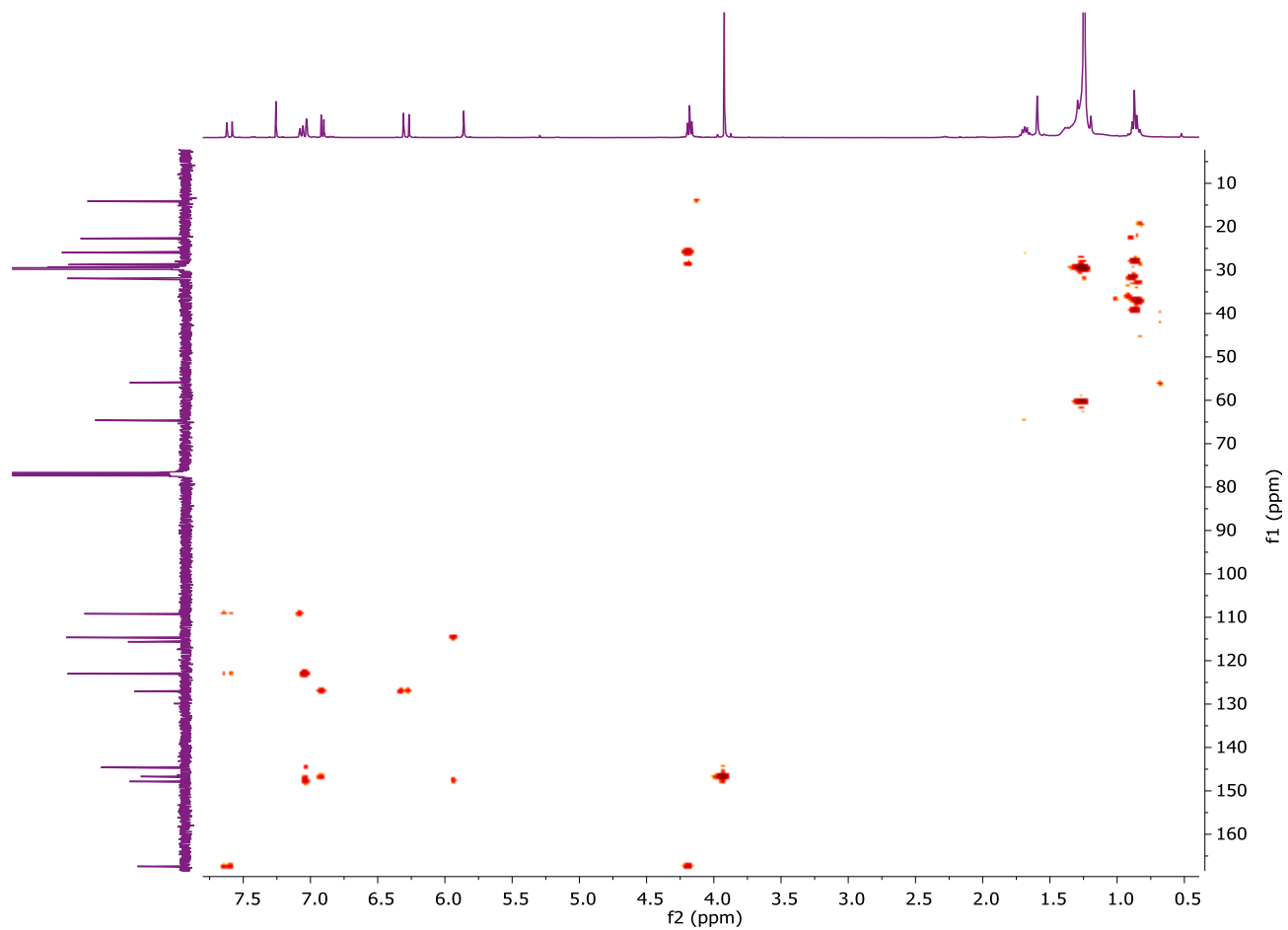


Espectro de RMN de ^1H de los compuestos **55** y **56** en CDCl_3 .



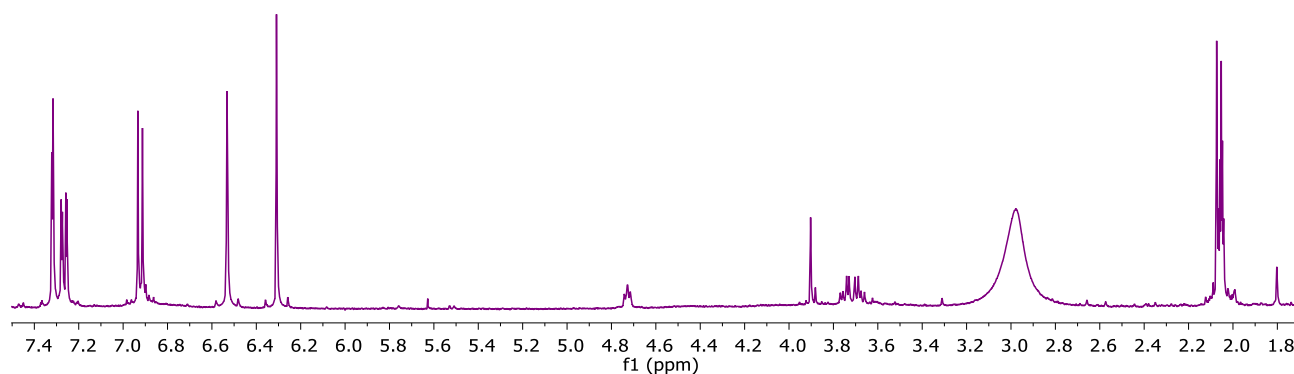
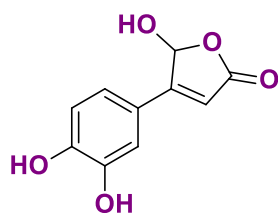
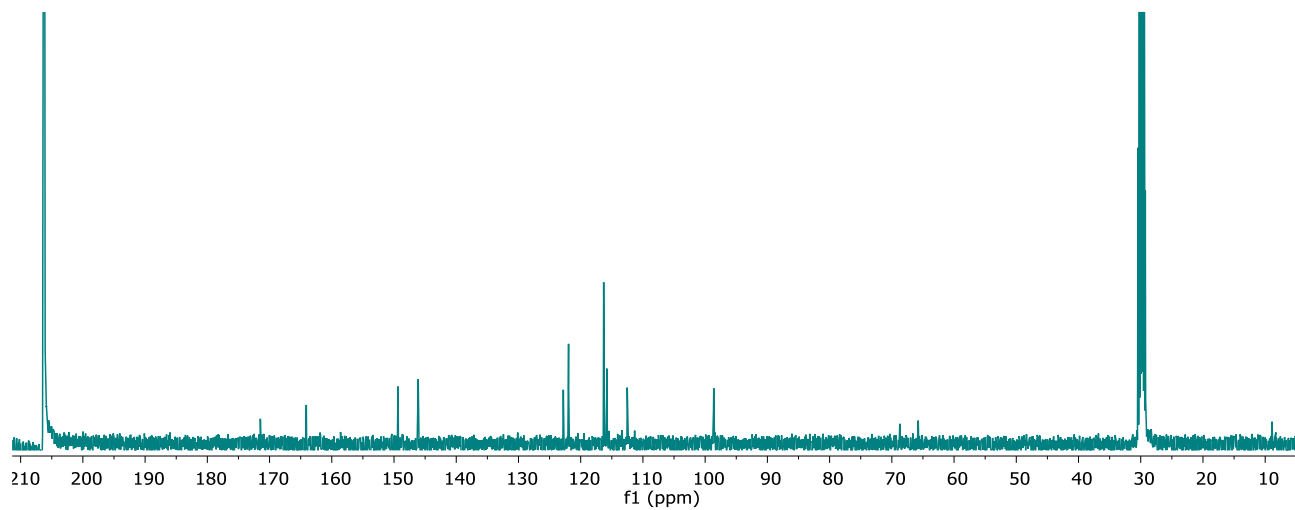
Espectro de RMN de ^{13}C de los compuestos **55** y **56** en CDCl_3 .

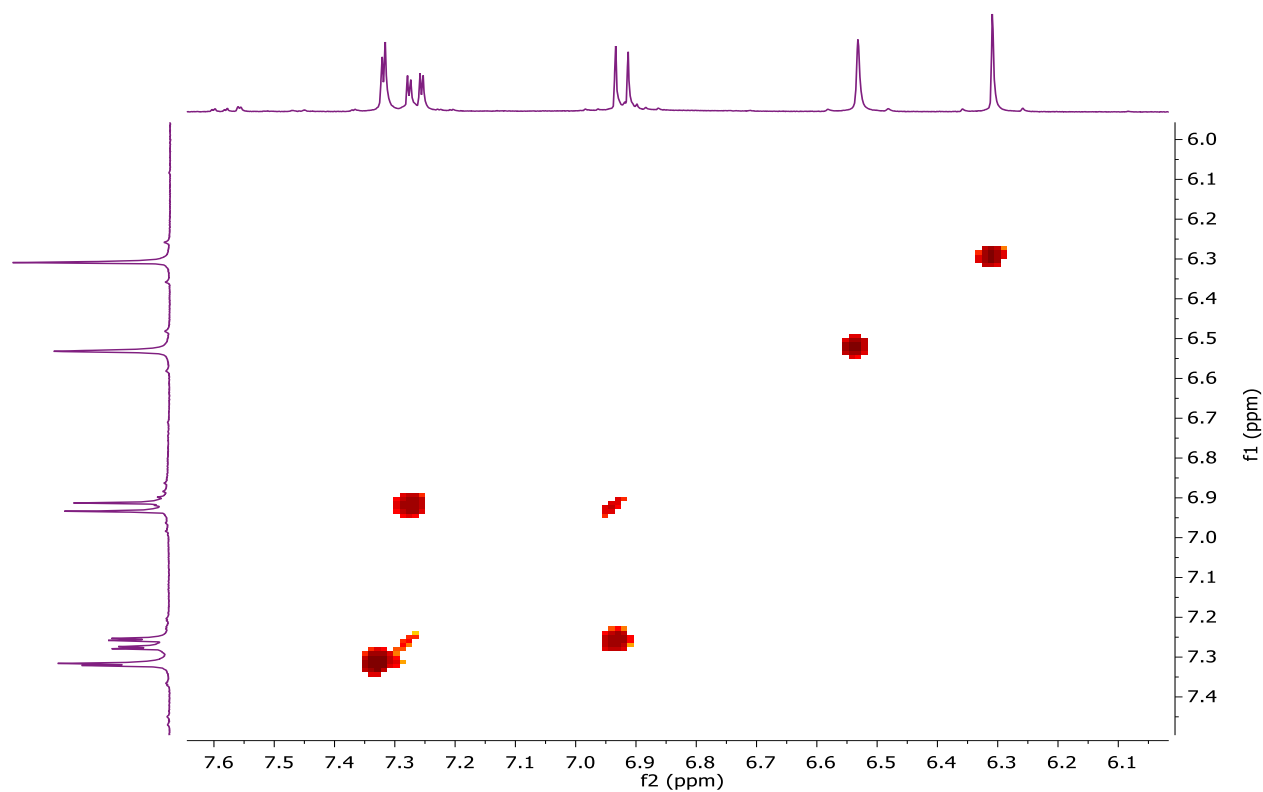
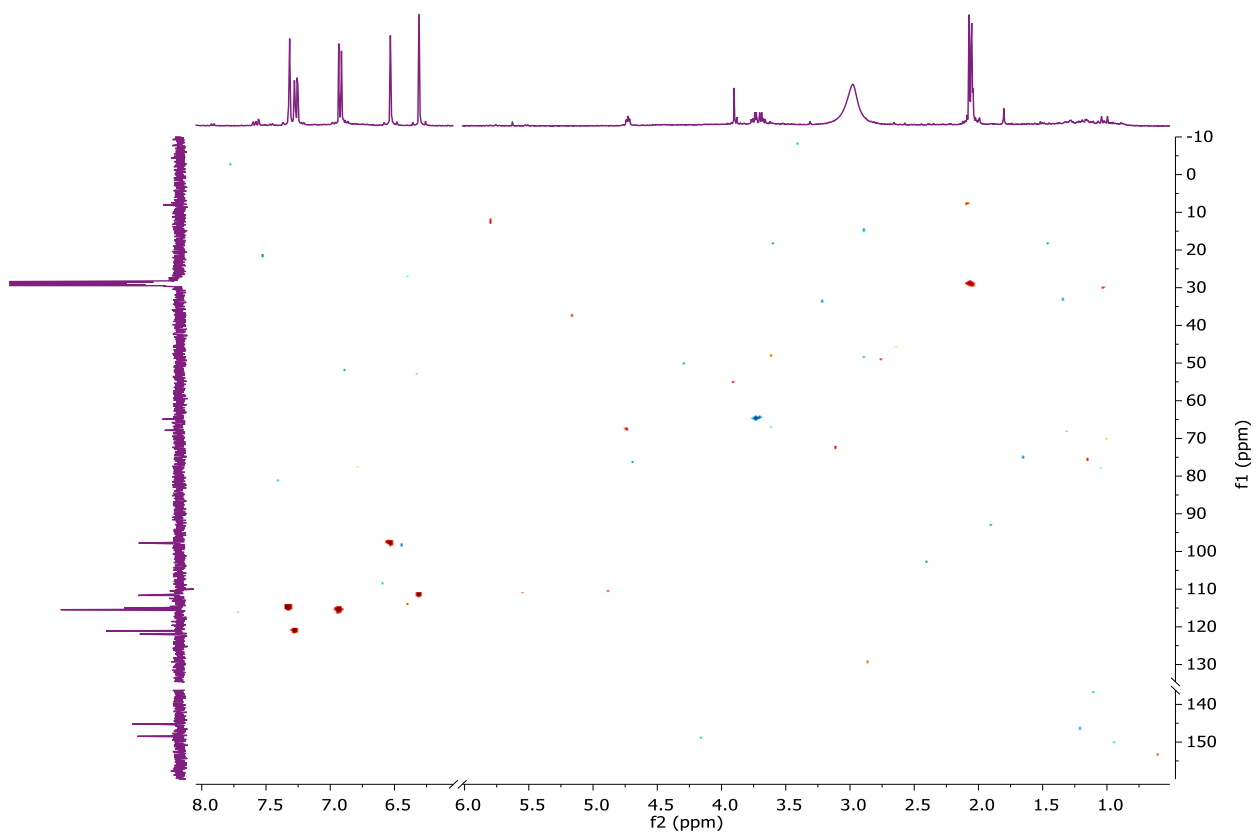
Espectro de RMN gCOSY de los compuestos **55** y **56** en CDCl₃.Espectro de RMN gHSQC de los compuestos **55** y **56** en CDCl₃.

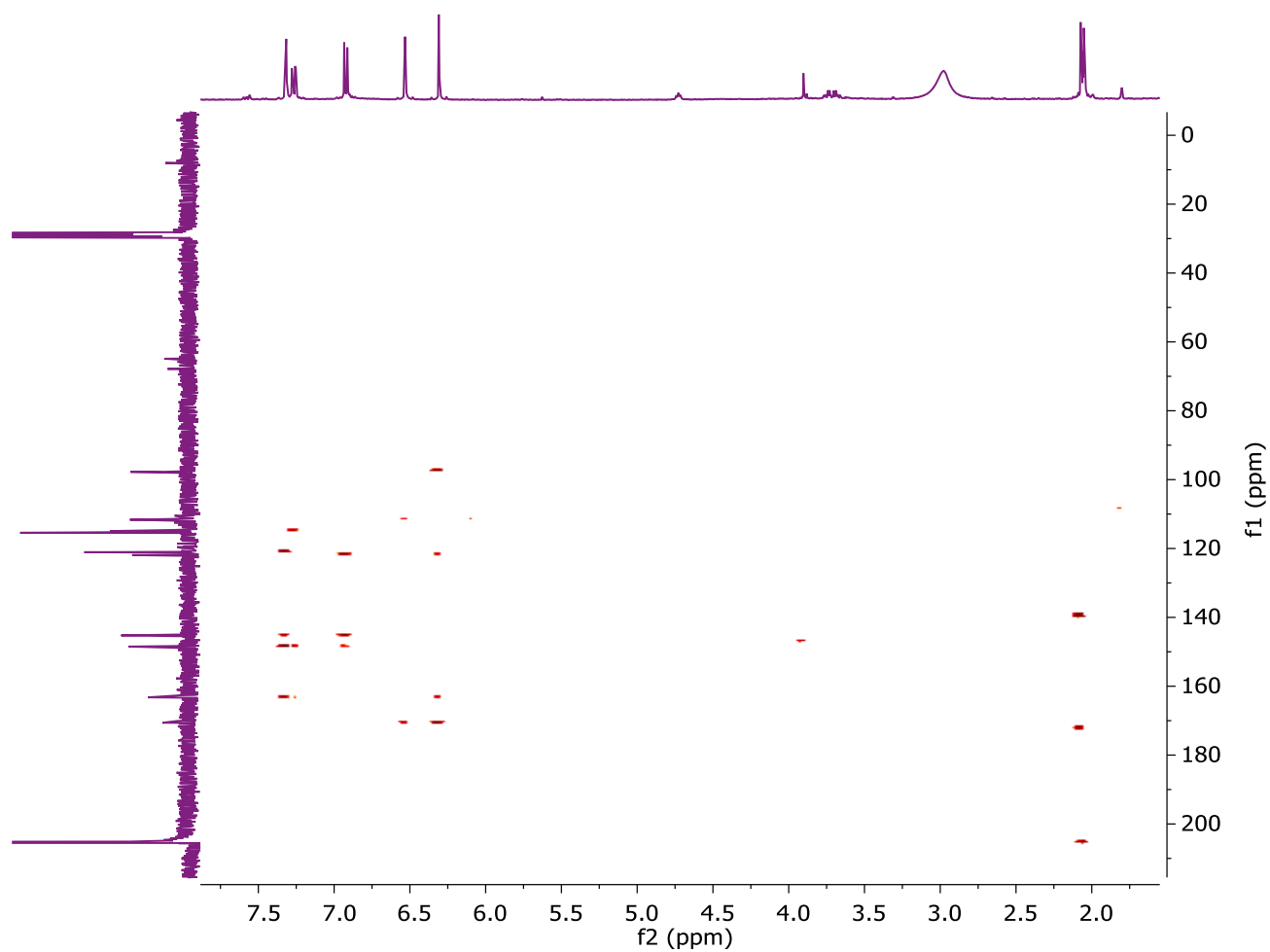


Espectro de RMN gHMBC de los compuestos **55** y **56** en CDCl_3 .

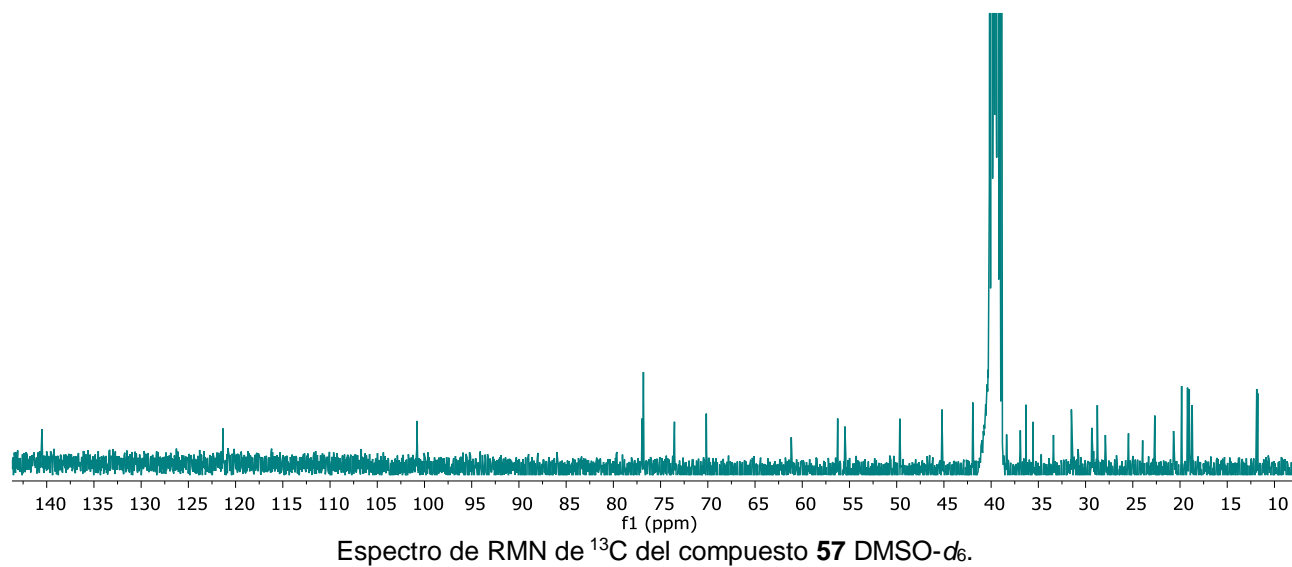
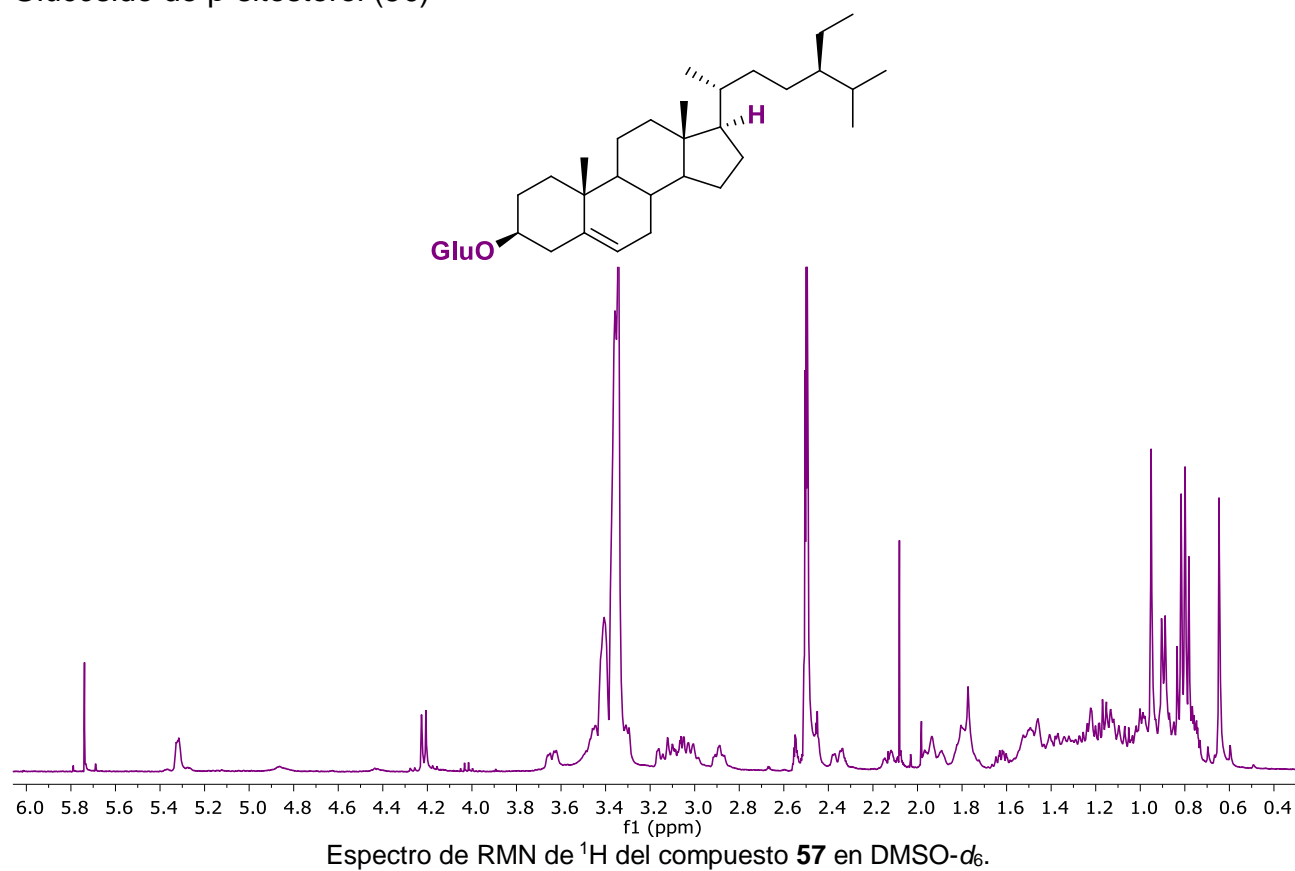
Bracteanólido A (19)

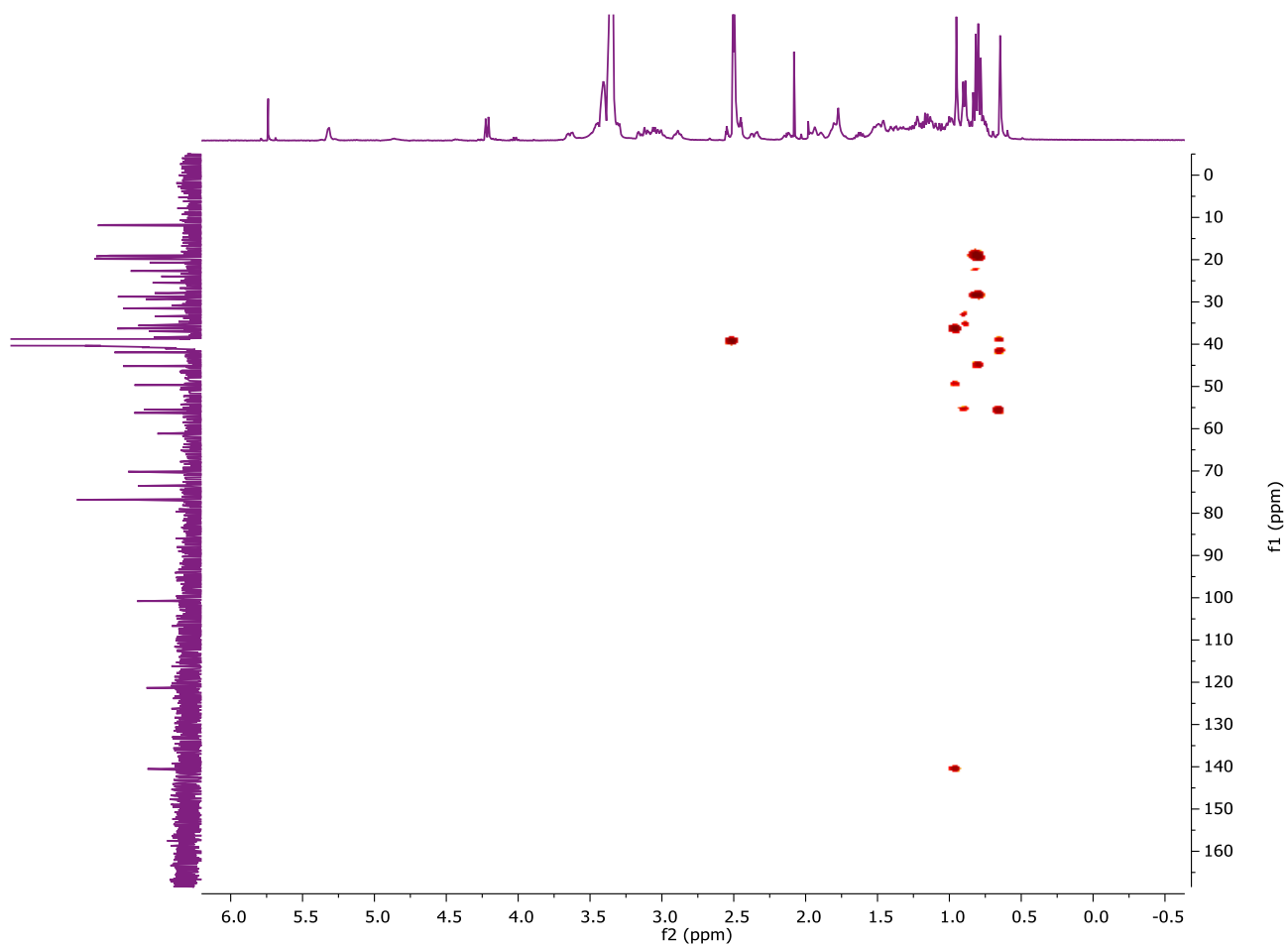
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **19** en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **19** en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

Espectro de RMN gCOSY del compuesto **19** en (CD₃)₂CO.Espectro de RMN gHSQC del compuesto **19** en (CD₃)₂CO.



Espectro de RMN gHMBC del compuesto **19** en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$.

Glucósido de β -sitosterol (**56**)



Espectro de RMN gHMBC del compuesto **57** DMSO- d_6 .

XI. REFERENCIAS

- (1) Gómez-Pompa, A.; Krömer, T.; Castro-Cortés, R. *Atlas de La Flora de Veracruz. Un Patrimonio Natural en Peligro*, 1st ed.; Comisión del Estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional y la Revolución Mexicana: Veracruz, 2010.
- (2) OMS. *Estrategia de La OMS Sobre Medicina Tradicional 2014-2023*; 2013.
- (3) Arriaga-Alba, M.; Blasco, J. L.; Ruíz-Pérez, N. J.; Sánchez-Navarrete, J.; Rivera-Sánchez, R.; González-Avila, M. Antimutagenicity Mechanisms of the *Rhoeo Discolor* Ethanolic Extract. *Exp. Toxicol. Pathol.* **2011**, *63*, 243–248.
- (4) Karuppusamy, S. A Review on Trends in Production of Secondary Metabolites from Higher Plants by *in Vitro* Tissue, Organ and Cell Cultures. *J. Med. Plants Res.* **2009**, *3*, 1222–1239.
- (5) Sepúlveda Jiménez, G.; Porta Ducoing, H.; Rocha Sosa, M. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Rev. Mex. Fitopatol.* **2003**, *21*, 355–363.
- (6) Wink, M. *Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites*, 2nd ed.; Wiley-Blackwell: Chichester, 2010.
- (7) Nikam, M. B.; Mundada, P. S.; Kadam, D. A.; Jadhav, S. N.; Aparadh, V. T. Comparative Screening of Various Solvent for Phytochemical Testing Using Some Commelinaceae Members. *Int. Res. J. Pharm. Appl. Sci.* **2013**, *3*, 18–20.
- (8) Tan, J.; Yap, W.; Tan, S.; Lim, Y.; Lee, S. Antioxidant Content, Antioxidant Activity, and Antibacterial Activity of Five Plants from the Commelinaceae Family. *Antioxidants* **2014**, *3*, 758–769.
- (9) Idaka, E.; Ogawa, T.; Kondo, T.; Goto, T. Isolation of Highly Acylated Anthocyanins from Commelinaceae Plants, *Zebrina Pendula*, *Rhoeo Spathacea* and *Setcreasea Purpurea*. *Agric. Biol. Chem.* **1987**, *51*, 2215–2220.
- (10) Rosales-Reyes, T.; De la Garza, M.; Arias-Castro, C.; Rodríguez-Mendiola, M.; Fattel-Fazenda, S.; Arce-Popoca, E.; Hernández-García, S.; Villa-Treviño, S. Aqueous Crude Extract of *Rhoeo Discolor*, a Mexican Medicinal Plant, Decreases the Formation of Liver Preneoplastic Foci in Rats. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *115*, 381–386.
- (11) González-Avila, M.; Arriaga-Alba, M.; De La Garza, M.; Hernández Pretelín, M. D. C.;

- Domínguez-Ortíz, M. A.; Fattel-Fazenda, S.; Villa-Treviño, S. Antigenotoxic, Antimutagenic and ROS Scavenging Activities of a *Rhoeo Discolor* Ethanolic Crude Extract. *Toxicol. Vitro*. **2003**, *17*, 77–83.
- (12) Domínguez Ortíz, M. Á.; Aguilar Espinosa, S.; Farias Larios, J.; Flores Bello, M. del R.; López Aguirre, J. G. Elucidación Estructural y Actividad Antimicrobiana de Los Metabolitos Presentes En *Rhoeo Discolor* L. Hér Hance. Tesis doctoral. Universidad de Colima, noviembre de 2002.
- (13) BDMTM. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7875> (accessed Jul 4, 2018).
- (14) Contreras Contreras, R. M. Usos del Maguey Morado o *Tradescantia Spathacea* Sw., En El Sureste de México. *Tlahui* **2011**, 1–23.
- (15) Parivuguna, V.; Gnanaprabhal, R.; Dhanabalan, R.; Doss, A. Antimicrobial Properties and Phytochemical Constituents of *Rhoeo Discolor* Hance . *Ethnobot. Leaflet*. **2008**, *12*, 841–845.
- (16) González Ramírez, S.; Báez López, O.; Hernández Guzmán, T.; Ulloa Munguía, S.; Zaragoza Espinosa, S. Actividad Antifúngica in Vitro de Extractos de *Origanum Vulgare* L., *Tradescantia Spathacea* Swartz y *Zingiber Officinale* Roscoe Sobre *Moniliophthora Roreri* (Cif & Par) Evans et Ál. *Tecnol. en Marcha* **2011**, *24*, 3–17.
- (17) Tan, J. B. L.; Lim, Y. Y.; Lee, S. M. Antioxidant and Antibacterial Activity of *Rhoeo Spathacea* (Swartz) Stearn Leaves. *J. Food Sci. Technol.* **2013**, *52*, 2394–2400.
- (18) Prakash, R.; Rajesh, R. Aberrant Expression of WNT/Beta-Catenin Signalling Pathway and *in Vitro* Cytotoxic Activity of *Tradescantia Spathacea* Medicinal Plant Used to Treat Human Breast Adenocarcinoma (MCF-7 Cell Lines). *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2014**, *5*, 5230–5234.
- (19) Tan, J. B. L.; Lim, Y. Y.; Lee, S. M. *Rhoeo Spathacea* (Swartz) Stearn Leaves, a Potential Natural Food Colorant. *J. Funct. Foods* **2014**, *7*, 443–451.
- (20) Vo, Q. H.; Nguyen, P. H.; Zhao, B. T.; Ali, M. Y.; Choi, J. S.; Min, B. S.; Nguyen, T. H.; Woo, M. H. Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) Inhibitory Constituents from the Aerial Parts of *Tradescantia Spathacea* Sw. *Fitoterapia* **2015**, *103*, 113–121.
- (21) García-Varela, R.; García-García, R. M.; Barba-Dávila, B. A.; Fajardo-Ramírez, O. R.;

- Serna-Saldívar, S. O.; Cardineau, G. A. Antimicrobial Activity of *Rhoeo Discolor* Phenolic Rich Extracts Determined by Flow Cytometry. *Molecules* **2015**, *20*, 18685–18703.
- (22) Tatsuzawa, F.; Saito, N.; Maeyama, K.; Yokoi, M.; Shigihara, A.; Honda, T. Triacylated Anthocyanidin 3-Arabinosylglucoside-7,3'-Diglucosides Isolated from the Bluish Flowers of *Tradescantia Virginiana* Cultivars and Their Distribution in the Tradescantieae. *Heterocycles* **2010**, *81*, 2257–2267.
- (23) García-Varela, R.; Fajardo Ramírez, O. R.; Serna-Saldívar, S. O.; Altamirano, J.; Cardineau, G. A. Cancer Cell Specific Cytotoxic Effect of *Rhoeo Discolor* Extracts and Solvent Fractions. *J. Ethnopharmacol.* **2016**, *190*, 46–58.
- (24) Sánchez-Roque, Y.; Ayora-Talavera, G.; Rincón-Rosales, R.; Gutiérrez-Miceli, F. A.; Meza-Gordillo, R.; Winkler, R.; Gamboa-Becerra, R.; Ayora-Talavera, T. D. R.; Ruiz-Valdiviezo, V. M. The Flavonoid Fraction from *Rhoeo Discolor* Leaves Acting as Antiviral against Influenza A Virus. *Rec. Nat. Prod.* **2017**, *11*, 532–546.
- (25) Benítez-Azaola, R.; García-Varela, R.; García-García, R. M.; Suárez-Jacobo, A.; Cardineau, G. A.; Altamirano, J.; Serna-Saldívar, S. *Listeria monocytogenes* Growth Inhibition in Inoculated Fresh Panela Cheese by the Addition of *Rhoeo discolor* Aqueous Extracts Combined with Potassium Sorbate. *Rev. Mex. Ing. Quím.* **2017**, *16*, 425–434.
- (26) Xiaoqi, F.; Xingjie, L. Study on Antineoplastic Components of *Zebrina Pendula* Schnizl. *Chinese Tradit. Pat. Med.* **1992**, *2*, 23.
- (27) Yang, C.; Liu, X.; Xu, J.; Dong, Y. Studies on the Isolation and Identification of Beta-Ecdysone from *Zebrina Pendula* Schnizl and Its Antiarrhythmic Effect. *Nat. Prod. Res. Dev.* **1996**, *8*, 17–19.
- (28) Wang, W. L.; Sheu, S. Y.; Huang, W. D.; Chuang, Y. L.; Tseng, H. C.; Hwang, T. S.; Fu, Y. T.; Kuo, Y. H.; Yao, C. H.; Kuo, T. F. Phytochemicals from *Tradescantia Albiflora* Kunth Extracts Reduce Serum Uric Acid Levels in Oxonate-Induced Rats. *Pharmacogn. Mag.* **2016**, *12*, 1–5.
- (29) Patil, U. .; Deshmukh, O. S. Preliminary Phytochemical Screening of Six Medicinal Plants Used as Traditional Medicine. *Int. J. Pharma Bio Sci.* **2016**, *7*, 187–193.
- (30) Hoang, M. H.; Ha, N. C.; Thom, L. T.; Tam, L. T.; Anh, H. T. L.; Thu, N. T. H.; Hong,

- D. D. Extraction of Squalene as Value-Added Product from the Residual Biomass of *Schizochytrium Mangrovei* PQ6 during Biodiesel Producing Process. *J. Biosci. Bioeng.* **2014**, *118*, 632–639.
- (31) Pogliani, L.; Ceruti, M.; Ricchiardi, G.; Viterbo, D. An NMR and Molecular Mechanics Study of Squalene and Squalene Derivatives. *Chem. Phys. Lipids* **1994**, *7*, 21–34.
- (32) Warleta, F.; Campos, M.; Allouche, Y.; Sánchez-Quesada, C.; Ruiz-Mora, J.; Beltrán, G.; Gaforio, J. J. Squalene Protects against Oxidative DNA Damage in MCF10A Human Mammary Epithelial Cells but Not in MCF7 and MDA-MB-231 Human Breast Cancer Cells. *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 1092–1100.
- (33) She, L. C.; Liu, C. M.; Chen, C. T.; Li, H. T.; Li, W. J.; Chen, C. Y. The Anti-Cancer and Anti-Metastasis Effects of Phytochemical Constituents from *Leucaena Leucocephala*. *Biomed. Res.* **2017**, *28*, 2893–2897.
- (34) Joel, E. L.; Bhimba, V. Isolation and Characterization of Secondary Metabolites from the Mangrove Plant *Rhizophora Mucronata*. *Asian Pac. J. Trop. Med.* **2010**, *3*, 602–604.
- (35) Bak, I.; Lekli, I.; Juhasz, B.; Varga, E.; Varga, B.; Gesztelyi, R.; Szendrei, L.; Tosaki, A. Isolation and Analysis of Bioactive Constituents of Sour Cherry (*Prunus Cerasus*) Seed Kernel: An Emerging Functional Food. *J. Med. Food* **2010**, *13*, 905–910.
- (36) He, H. P.; Cai, Y.; Sun, M.; Corke, H. Extraction and Purification of Squalene from *Amaranthus* Grain. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 368–372.
- (37) Ragasa, C. Y.; Alimboyoguen, A. B.; Shen, C. C. Chemical Constituents of *Ficus Nota*. *Der Pharma Chem.* **2014**, *6*, 98–101.
- (38) Zeb, A.; Murkovic, M. Thin-Layer Chromatographic Analysis of Carotenoids in Plant and Animal Samples. *J. Planar Chromatogr.* **2010**, *23*, 94–103.
- (39) Fuhrman, B.; Elis, A.; Aviram, M. Hypocholesterolemic Effect of Lycopene and β -Carotene Is Related to Suppression of Cholesterol Synthesis and Augmentation of LDL Receptor Activity in Macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *233*, 658–662.
- (40) Burton, G. W.; Ingold, K. U. β -Carotene: An Unusual Type of Lipid Antioxidant. *Science* **1984**, *224*, 569–573.
- (41) Abdo, M. Y.; Wan Ahmad, W. Y.; Din, L. Bin; Ibrahim, N. Phytochemical Study of

- Hedychium Malayanum* (Zingiberaceae). *Sains Malaysiana* **2017**, *46*, 83–89.
- (42) Pardo, F.; Perich, F.; Torres, R.; Delle Monache, F. Stigmast-4-Ene-3,6-Dione an Unusual Phytotoxic Sterone from the Roots of *Echium Vulgare* L. *Biochem. Syst. Ecol.* **2000**, *28*, 911–913.
- (43) Alexander-Lindo, R. L.; Morrison, E. Y. S. A.; Nair, M. G.; McGrowder, D. A. Effect of the Fractions of the Hexane Bark Extract and Stigmast-4-en-3-one Isolated from *Anacardium Occidentale* on Blood Glucose Tolerance Test in an Animal Model. *Int. J. Pharmacol.* **2007**, *3*(1), 41–47.
- (44) Saludes, J. P.; Garson, M. J.; Franzblau, S. G.; Aguinaldo, A. M. Antitubercular Constituents from the Hexane Fraction of *Morinda Citrifolia* Linn. (Rubiaceae). *Phyther. Res.* **2002**, *16*, 683–685.
- (45) Wu, T. S.; Jong, T. T.; Tien, H. J.; Kuoh, C. S.; Furukawa, H.; Lee, K. H. Annoquinone-A, an Antimicrobial and Cytotoxic Principle from *Annona Montana*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1623–1625.
- (46) Li, W. H.; Chang, S. T.; Chang, S. C.; Chang, H. T. Isolation of Antibacterial Diterpenoids from *Cryptomeria Japonica* Bark. *Nat. Prod. Res.* **2008**, *22*, 1085–1093.
- (47) Chang, C. W.; Chang, H. S.; Cheng, M. J.; Peng, C. F.; Chen, I. S. Identification of Five New Minor Constituents from the Whole Plant of *Amischotolype Hispida*. *Helv. Chim. Acta* **2015**, *98*, 347–358.
- (48) Gunawan; Cordero, A.; Paano, A. Structure Elucidation of Two New Phytol Derivatives , a New Phenolic Compound and Other Metabolites of *Averrhoa Bilimbi*. *Res. Congr., La Salle Univ. Manila* **2013**, 1–8.
- (49) Pongprayoon, U.; Baeckström, P.; Jacobsson, U.; Lindström, M.; Bohlin, L. Antispasmodic Activity of β -Damascenone and *E*-Phytol Isolated from *Ipomoea Pes-Caprae*. *Planta Med.* **1992**, *58*, 19–21.
- (50) Islam, M. T.; De Alencar, M. V. O. B.; Da Conceição Machado, K.; Da Conceição Machado, K.; De Carvalho Melo-Cavalcante, A. A.; De Sousa, D. P.; De Freitas, R. M. Phytol in a Pharma-Medico-Stance. *Chem. Biol. Interact.* **2015**, *240*, 60–73.
- (51) Pejcin, B.; Kojic, V.; Bogdanovic, G. An Insight into the Cytotoxic Activity of Phytol at *in Vitro* Conditions. *Nat. Prod. Res. Former. Nat. Prod. Lett.* **2014**, *28*, 37–41.
- (52) Martínez, M.; Benítez, B.; Alvarez, S.; Prieto, R.; Valdo, G.; Da, J.; Bravo, J. A.; Vila,

- J. L. Determination of an Active Principle of *Polygonum Punctatum* Elliott; Full NMR Spectra of Stigmas-5-en-3 β -ol (500/125 MHz). *Rev. Boliv. Química* **2017**, *34*, 14–27.
- (53) Rowshanul, M.; Nikkon, F.; Rahman, M.; Ekramul, M.; Rezaul, K. Isolation of Stigmasterol and β -Sioosterol from Methanolic Extract of Root Back of *Calotropis Gigantez* (Linn). *PaKistan J. Biol. Sci.* **2007**, *10*, 4174–4176.
- (54) Saeidnia, S. The Story of Beta-Sitosterol- A Review. *European J. Med. Plants* **2014**, *4*, 590–609.
- (55) Nguyet, T. T. H.; Nguyen, T. H. T.; Quang, T. T.; Phung, N. K. P. Some Compounds From Flower of *Wedelia Trilobata* (L.) Hitch. (Asteraceae). *Sci. Technol. Dev.* **2011**, *14*, 20–27.
- (56) Suttiarporn, P.; Chumpolsri, W.; Mahatheeranont, S.; Luangkamin, S.; Teepsawang, S.; Leardkamolkarn, V. Structures of Phytosterols and Triterpenoids with Potential Anti-Cancer Activity in Bran of Black Non-Glutinous Rice. *Nutrients* **2015**, *7*, 1672–1687.
- (57) Mioso, R.; Marante, F. J. T.; Bravo de Laguna, Irma H. González, J. E. G.; Rodríguez, J. J. S. Biomolecules Produced in Liquid-State Fermentarion by a Marine-Derived Fungus, *Penicillium Roqueforti*. *Quim. Nova* **2014**, *37*, 1158–1164.
- (58) Takei, T.; Yoshida, M.; Ohnishi-Kameyama, M.; Kobori, M. Ergosterol Peroxide, an Apoptosis-Inducing Component Isolated from *Sarcodon Aspratus* (Berk.) S. Ito. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2005**, *69*, 212–215.
- (59) Russo, A.; Cardile, V.; Piovano, M.; Caggia, S.; Espinoza, C. L.; Garbarino, J. A. Pro-Apoptotic Activity of Ergosterol Peroxide and (22E)-ergosta-7,22-dien-5 α -hydroxy-3,6-dione in Human Prostate Cancer Cells. *Chem. Biol. Interact.* **2010**, *184*, 352–358.
- (60) Kim, S.; Park, S.; Min, T.; Yu, K. Antioxidant Activity of Ergosterol Peroxide (5,8-epidioxy-5,8-ergosta-6,22E-dien-3-ol) in *Armillariella Mellea*. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1999**, *20*, 819–823.
- (61) Kim, D. H.; Sung, J. J.; Chung, I. S.; Lee, Y. H.; Kim, D. K.; Kim, S. H.; Kwon, B. M.; Jeong, T. S.; Park, M. H.; Seoung, N. S.; et al. Ergosterol Peroxide from Flowers of *Erigeron Annuus* L. as an Anti-Atherosclerosis Agent. *Arch. Pharm. Res.* **2005**, *28*, 541–545.
- (62) Cantrell, C. L.; Rajab, M. S.; Franzblau, S. G.; Fronczek, F. R.; Fischer, N. H.

- Antimycobacterial Ergosterol-5,8-endoperoxide from *Ajuga Remota*. *Planta Med.* **1999**, *65*, 732–734.
- (63) Macías, F. A.; Simonet, A. M.; Galindo, J. C. G. Bioactive Steroids and Triterpenes from *Melilotus Messanensis* and Their Allelopathic Potential. *J. Chem. Ecol.* **1997**, *23*, 1781–1803.
- (64) Bernardis, M. A.; Lewis, N. G. Alkyl Ferulates in Wound Healing Potato Tubers. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 5–8.
- (65) Liu, H.; Jin, Y. S.; Song, Y.; Yang, X. N.; Yang, X. W.; Geng, D. S.; Chen, H. S. Three New Compounds from *Arnebia Euchroma*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2010**, *12*, 286–292.
- (66) Kawanishi, K.; Yasufuku, J.; Ishikawa, A.; Hashimoto, Y. Long-Chain Alkyl Ferulates in Three Varieties of *Ipomoea Batatas* (L.) Lam. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 105–108.
- (67) Baldé, A. M.; Claeys, M.; Pieters, L. A.; Wray, V.; Vlietinck, A. J. Ferulic Acid Esters from Stem Bark of *Pavetta Owariensis*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 1024–1026.
- (68) De Andrade, M. R.; Almeida, E. X.; Conserva, L. M. Alkyl Chromone and Other Compounds from *Clusia Nemorosa*. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1431–1433.
- (69) Jayaprakasam, B.; Vanisree, M.; Zhang, Y.; Dewitt, D. L.; Nair, M. G. Impact of Alkyl Esters of Caffeic and Ferulic Acids on Tumor Cell Proliferation, Cyclooxygenase Enzyme, and Lipid Peroxidation. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 5375–5381.
- (70) Sørensen, A. M.; Durand, E.; Bayrasy, C. Antioxidant Properties and Efficacies of Synthesized Alkyl Caffeates, Ferulates, and Coumarates. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 12553–12562.
- (71) He, D.; Bernd, R. T.; Simoneit; Jara, B.; Jaffé, R. Gas Chromatography Mass Spectrometry Based Profiling of Alkyl Coumarates and Ferulates in Two Species of Cattail (*Typha Domingensis* P., and *Typha Latifolia* L.). *Phytochem. Lett.* **2015**, *13*, 91–98.
- (72) Zuo, B.; Liao, Z. X.; Xu, C.; Liu, C. Two Novel Prenylated Kaempferol Derivatives from Fresh Bud's Fur of *Platanus Acerifolia* and Their Anti-Proliferative Activities. *Nat. Prod. Res.* **2016**, *30*, 2523–2528.
- (73) Thongthoom, T.; Songsiang, U.; Phaosiri, C.; Yenjai, C. Biological Activity of Chemical

- Constituents from *Clausena Harmandiana*. *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 675–680.
- (74) Wang, G. J.; Chen, S. M.; Chen, W. C.; Chang, Y. M.; Lee, T. H. Selective Inducible Nitric Oxide Synthase Suppression by New Bracteanolides from *Murdannia Bracteata*. *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *112*, 221–227.
- (75) Li, M.; Xu, L.; Li, Z.; Qian, S.; Qin, M. Chemical Constituents from *Mentha Canadensis*. *Biochem. Syst. Ecol.* **2013**, *49*, 144–147.
- (76) Luo, W.; Zhao, M.; Yang, B.; Shen, G.; Rao, G. Identification of Bioactive Compounds in *Phyllanthus Emblica* L. Fruit and Their Free Radical Scavenging Activities. *Food Chem.* **2009**, *114*, 499–504.
- (77) Sultana, N.; Afolayan, A. J. A Novel Daucoesterol Derivative and Antibacterial Activity of Compounds from *Arctotis Arctotoides*. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 889–896.
- (78) Zhao, C.; She, T.; Wang, L.; Su, Y.; Qu, L.; Gao, Y.; Xu, S.; Cai, S.; Shou, C. Daucoesterol Inhibits Cancer Cell Proliferation by Inducing Autophagy through Reactive Oxygen Species-Dependent Manner. *Life Sci.* **2015**, *137*, 37–43.
- (79) Lee, J. H.; Lee, J. Y.; Park, J. H.; Jung, H. S.; Kim, J. S.; Kang, S. S.; Kim, Y. S.; Han, Y. Immunoregulatory Activity by Daucoesterol, a β -Sitosterol Glycoside, Induces Protective Th1 Immune Response against Disseminated Candidiasis in Mice. *Vaccine* **2007**, *25*, 3834–3840.
- (80) Liao, X.; Peng, S.-L.; Ding, L.-S. Chemical Constituents of *Rabdosia Leucophylla*. *Acta Bot. Sin.* **1997**, *39*, 1073–1077.