

UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

Campus Tuxtepec

**Estudio fitoquímico del extracto etanólico
de *Oxalis tetraphylla* CAV.**

Tesis

Para obtener el título de
Licenciado en Ciencias Químicas
presenta:

Gabriela Antonio Isidro

Asesor de tesis: Dr. Lemuel Pérez Picaso

San Juan Bautista Tuxtepec Oaxaca, 2018

**UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN**

CAMPUS TUXTEPEC

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax. a 28 de Mayo de 2018

Asunto: Autorización de impresión de tesis


L.P. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
P R E S E N T E

Sirva la presente para informarle que los abajo firmantes, miembros de la comisión revisora de la tesis presentada por **Gabriela Antonio Isidro** (pasante de la Licenciatura en Ciencias Químicas, número de matrícula 12060143), manifestamos que después de examinar su trabajo de tesis autorizamos la impresión del manuscrito que lleva por título "Estudio fitoquímico del extracto etanólico de *Oxalis tetraphylla* CAV" para su posterior presentación y defensa por parte de la sustentante. El trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Lemuel Pérez Picaso.

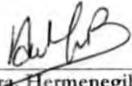
Sin otro asunto en particular le agradecemos la atención a la presente.

Atentamente


terra uberrima, mens aperta
Bœ Lotama, chí jí jí




Dr. Omar Vinas Bravo
Profesor Investigador
Universidad del Papaloapan



Dra. Hermenegilda Moreno Díaz
Profesora Investigadora
Universidad del Papaloapan



Dr. Oscar Abelardo Ramirez Marroquin
Profesor Investigador
Universidad del Papaloapan



Dr. Lemuel Pérez Picaso
Profesor Investigador
Director de Tesis

C.e.p. M. en C. Héctor López Arjuna, Vice-Rector Académico de la UNPA, para su conocimiento.
C.e.p. Dra. Rosana Martínez Pascual, Jefa de Carrera de la Licenciatura en Ciencias Químicas.

www.unpa.edu.mx

Campus Tuxtepec
Calle Circuito Central, No.200, col. Parque Industrial
C.P. 68301, Tuxtepec, Oax. Tel: 01 (287) 87 5 92 40

Campus Loma Bonita
Av. Ferrocarril s/n, Cd. Universitaria
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax. Tel: 01 (281) 87 2 22 39



El presente trabajo se desarrolló 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 el financiamiento del proyecto INFRA-2015-01-252013 y CB-2011/169593.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por la vida, salud, paciencia, sabiduría, y por darme fuerzas en los momentos más difíciles.

A la universidad del Papaloapan por haberme abierto las puertas y aceptado para mi preparación en todos estos cinco años y haberme otorgado las herramientas para concluir esta meta.

A mi director de tesis, Dr. Lemuel Pérez Picaso (jefesito), por la confianza y mucha paciencia a la realización de este proyecto y no tan solo por eso sino también por brindarme su amistad y sobre todo por su tiempo de dedicación a este trabajo.

A los sinodales encargados de la revisión de mi tesis, Dr. Omar, Dr. Óscar Abelardo, Dra. Gilda y Dr. Antonio por las observaciones y consejos para el mejoramiento de la tesis.

Agradezco al Dr. Adolfo por buenas enseñanzas y paciencia brindada, y poder apoyarme en la realización de algunos experimentos.

Al Dr. Enrique por brindar la planta *Oxalis tetraphylla* para poder realizar este trabajo de investigación.

A la Química Lety por la prestación de equipos, materiales, entre otros. No tan sólo por eso sino también por brindar su amistad y por sus consejos.

A Sadia por la iniciación que dio al trabajo de investigación.

Agradezco infinitamente a mi familia, por darme el apoyo, la confianza, amor y las fuerzas de seguir adelante. A mis hermanos, Salvador, Rubén, Darío y Julián porque sin su ayuda no estaría concluyendo esta meta, por su amor, cariño, paciencia y tanta tanta ayuda que me brindaron, como ellos me dicen somos tus padres y nunca te vamos a dejar sola. Por mi única hermana por darme el ánimo y el empuje de seguir estudiando (me regaña más que mi mamá), por mi hermano Ale por la confianza y por su complicidad. A demás por su infinito amor, cariño brindado por mis sobrinos (Luis y Diego) ellos son mí adoración. No podía faltar el apoyo moral



de mi mamá, por el amor brindado, la confianza y por un ángel que me cuida desde cielo (mi papá[†]), no tengo palabras por agradecer por todo lo que han hecho por mí.

A mis abuelitos Reyna y Juan por sus sabios consejos, amor y darme palabras de alientos.

Agradezco a mi tía Reynalda por recibirme en su casa cuando la necesitaba, por su tanto amor brindado y su apoyo.

Agradezco a M.C.E Karina Illescas Mora por todos sus consejos y siempre estar conmigo cuando la necesito, por una finita amistad que surgió desde la preparatoria y hoy en día ella es mi profesora-amiga favorita, gracias totales.

A mis compañeros (Celia, Fanny, Brandon, Xhu y Coyo) por compartir estos cinco años de aprendizaje y de aguantar hasta el final. Y sobre todo por aguantar nuestros indiferencias, gustos y complicidad para las clases y tareas jajja.

Un verdadero amigo es aquel que siempre está contigo cuando sabe tus peores errores, que no te juzga y siempre está para iluminarte. Que a pesar de tu caída te ayuda a levantarte, agradezco infinitamente a mis amigas (Celia, Fany, Nuria y Maky) por contar con ellas en las buenas y en las malas, por brindar su confianza, amor y hermandad y vivir muchas chocoaventuras a sus lados.



DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado principalmente a mi familia (mi mamá, papá[†], hermanos, sobrinos y abuelos), amigos y las personas que me dieron palabras de aliento, apoyo en cada etapa de mi vida.



ÍNDICE	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	2
<i>Oxalis corniculata</i>	2
<i>Oxalis erythrorhiza</i>	7
<i>Oxalis pes-caprae</i>	8
<i>Oxalis triangularis</i>	16
<i>Oxalis tetraphylla</i>	20
3. JUSTIFICACIÓN	21
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVO GENERAL	21
5.1. Objetivos particulares.....	21
6. METODOLOGÍA.....	22
6.1. Material vegetal.....	22
6.1. Obtención del extracto.....	22
6.2. Purificación y aislamiento.....	22
6.3. Caracterización	23
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
8. CONCLUSIÓN	43
9. REFERENCIAS	44
GLOSARIO	¡Error! Marcador no definido.

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. <i>Oxalis corniculata</i>	2
Figura 2. Flavonas aisladas de <i>O. corniculata</i>	3
Figura 3. Galactosil-glicerolípido aislado de <i>O. corniculata</i>	4
Figura 4. Compuestos aislados de <i>O. corniculata</i>	5
Figura 5. Flavonoides aislados de <i>O. corniculata</i>	6
Figura 6. <i>O. erythrorhiza</i>	7
Figura 7. Derivados de alquilfenoles	8
Figura 8. <i>O. pes-caprae</i>	8
Figura 9. Ésteres cinámicos y otros compuestos comunes aislado de <i>O. pes-caprae</i>	10
Figura 10. Derivados de ácido cinámico aislado de <i>O. pes-caprae</i>	11
Figura 11. Compuestos aislados de <i>O. pes-caprae</i>	13
Figura 12. Compuestos aislados de <i>O. pes-caprae</i>	14
Figura 13. Compuestos aislados de <i>O. pes-caprae</i>	15
Figura 14. <i>O. triangularis</i>	16
Figura 15. C-glicósidos de flavonas aislados de <i>O. triangularis</i>	17
Figura 16. Antocianinas acilada aislada de <i>O. triangularis</i>	18
Figura 17. Antocianina covalente flavona aislada de <i>O. triangularis</i>	19
Figura 18. <i>O. tetraphylla</i>	20
Figura 19. Espectro de RMN de β -sitosterol en CDCl_3 ; a) ^1H b) ^{13}C	25
Figura 20. Espectro de RMN en CDCl_3 a) ^1H b) ^{13}C de la dihidroquinona (2)	27
Figura 21. Espectro de gHMBC y gCOSY de la cadena alifática unida a un grupo carbonilo de éster.	28
Figura 22. Espectro de gHMBC del anillo aromático y una estructura cíclica unidas a cadena alifáticas.	30
Figura 23. Espectro de RMN en CDCl_3 a) ^1H b) ^{13}C de la dihidroquinona (3).	33
Figura 24. Espectro de RMN en CD_3OD de una mezcla de monosacáridos a) ^1H b) ^{13}C	36
Figura 25. Espectro de gCOSY, fragmentos de una cadena polihidroxilada.....	37
Figura 26. Espectro de gHMBC y CIGAR formación de un anillo piranosido.....	38
Figura 27. Espectro de gCOSY fragmento de una cadena polioxigenado.....	40
Figura 28. Espectro de gHMBC y CIGAR.....	41

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Compuestos identificados por GC-MS y compuestos aislados 12	4
Tabla 2. Datos espectroscópicos del compuesto dihidroquinona 2	31
Tabla 3. Datos espectroscópicos de dihidroquinona 3	34
Tabla 4. Datos espectroscópicos de etil α-fructopiranosido 4	39
Tabla 5. Datos espectroscópicos de etil glucopiranosido 5	41

**LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS**

[M+H] ⁺	Ion molecular modo positivo
[M-H] ⁻	Ion molecular modo negativo
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
CCF	Cromatografía en capa fina
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
CIGAR	C onstant time I nverse-detected G radient A ccordion R escaled long-range (por sus siglas en inglés).
cm	centímetro
δ	Desplazamiento químico
d	doble
ddd	doble de doble de doble
DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer (por sus siglas en inglés).
dq	doble de cuadruplete
EM	Espectrometría de masas
EM-CG	Espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases
ESI-MS	Espectrometría de masas de ionización por electrospray
g	Gramos
GC-MS	Cromatografía de gases-espectrometría de masa



gCOSY	gradient C ORrelated S pectroscop Y (por sus siglas en inglés).
gHMBC	gradient H eteronuclear M ultiple B ond C orrelation (por sus siglas en inglés).
Hex	Hexano
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
Hz	Hertz
IR	Espectrometría de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
mm	milímetro
MeOH	Metanol
mL	mililitro
mg	miligramo
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
m	multiplete
nm	nanómetro
ppm	partes por millón
R _f	R atio to the f ront
RMN	R esonancia M agnética N uclear
s	singulete
sa	singulete amplio
UV-Vis	U ltra V ioleta V isible

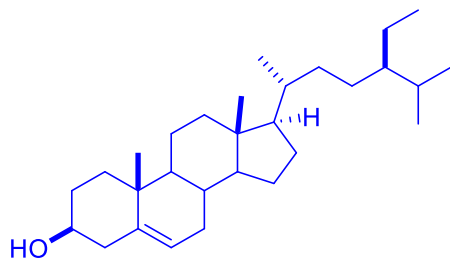


RESUMEN

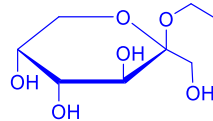
Desde la antigüedad los derivados de las plantas se han utilizado como remedio medicinal y en la actualidad sigue persistiendo su uso por la efectividad que presentan. La especie *Oxalis tetraphylla* es una planta bulbosa que pertenece a la familia Oxalidaceae y es originaria de México y Guatemala, está ampliamente distribuida en América del sur, África. Tradicionalmente se conoce como: trébol de la buena suerte y cruz de hierro, es una planta comestible y se utiliza para el tratamiento de dolores musculares y calambres.

La planta se colectó en Ixtlán de Juárez, Oaxaca, en el mes de Agosto de 2014, se identificó por el Biol. Gabriel González Adame y se depositó en el herbario de la Universidad de la Sierra Juárez (Voucher 583). El material vegetal seco (pseudo bulbo, 48.30 g), se maceró en etanol y se obtuvo 12.8 g de extracto seco de color café oscuro.

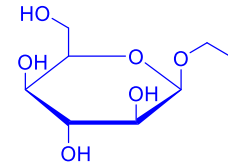
La purificación se realizó mediante el uso de columnas cromatográficas sucesivas del extracto crudo y permitió el aislamiento y la elucidación estructural de cinco metabolitos; β -sitosterol **1**, dos dihidroquinonas **2** y **3** y dos alquihexosas **4** y **5**. Todos los compuestos se caracterizaron mediante el uso de resonancia magnética nuclear con experimentos en 1D y 2D y ESI-MS.



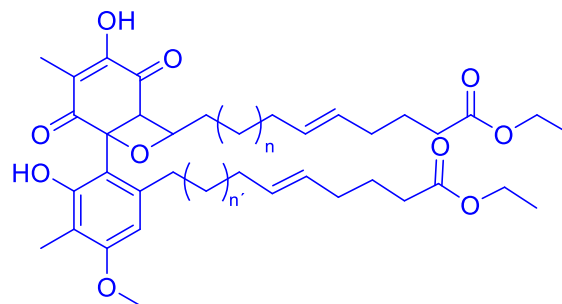
β -sitosterol (**1**)



Etil α -fructopiranosido (**4**)



Etil glucopiranosido (**5**)



2; n=5, n'=4

3; n=4, n'=3



1. INTRODUCCIÓN

El término de producto natural se aplica para derivados de plantas, microorganismos y organismos invertebrados y vertebrados; en un sentido amplio un producto natural está formado por los compuestos que se originan en la naturaleza y su importancia radica en la función biológica para la cual son biosintetizados [1]. Desde la antigüedad los derivados de las plantas se han utilizado como remedio para combatir enfermedades y en la actualidad sigue persistiendo su uso por la efectividad que presentan. Además, pueden ser útiles por sus posibles usos como agentes terapéuticos, pueden servir como modelos para la preparación de sustancias bioactivas y como materia prima para la síntesis de sustancias de interés farmacológico y/o interés industrial [2].

En un sentido más restringido el área de productos naturales estudia el metabolismo secundario y cubre los aspectos adicionales como: estructura de los constituyentes químicos, actividad biológica, extracción y purificación, datos espectroscópicos, síntesis y biosíntesis de los metabolitos secundarios [3].

Las etapas requeridas para obtener los metabolitos secundarios de interés de la fuente natural adecuadamente identificada, consisten en: extracción, aislamiento, purificación y determinación estructural [4]. Para la identificación de estas estructuras se utilizan técnicas como: Resonancia magnética nuclear (RMN), Espectrometría de masas (EM), Espectrometría de infrarrojo (IR), Difracción de rayos X; técnicas cromatográficas, solas o acopladas con métodos espectroscópicos tales como: Espectrometría de masas acoplada a cromatografía de gases (EM-CG) y/o Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) [5].

En el presente trabajo se efectuó el estudio químico de la especie *Oxalis tetraphylla* CAV con objeto de efectuar el aislamiento y la elucidación estructural de los metabolitos presentes en el extracto etanólico del pseudo bulbo de la planta.



2. ANTECEDENTES

Oxalis (oca o ñame) es el género más grande y diverso en la familia *oxalidaceae*, agrupa cerca de 900 especies que se encuentran distribuidas en las regiones tropicales de Asia, África y América.

En esta revisión se describe el estudio químico de 4 especies del género *Oxalis* que incluye: lugar de colecta, formas de extracción, extracto empleado y la estructura y las actividades biológicas de los compuestos aislados.

Oxalis corniculata

Es una planta herbácea de crecimiento lento, se encuentra abundantemente distribuida en lugares húmedos y sombreados, es común en África, Filipinas, China, India y Pakistán. La medicina tradicional emplea la decocción de las raíces para el tratamiento del mareo, disentería, diarrea y parásitos. Las hojas se utilizan para el tratamiento de fiebre, tos, dolor de estómago, hemorragias y para la expulsión de parásitos. Las actividades farmacológicas descritas son: antioxidante, anticancerígena, antimicrobiana, antiinflamatoria, analgésica, antifúngica, esteroidogénica, antihelmíntica y antiamebiana.



Tamaño: Hasta 15 cm de alto

Tallo: Hasta 35 cm de largo

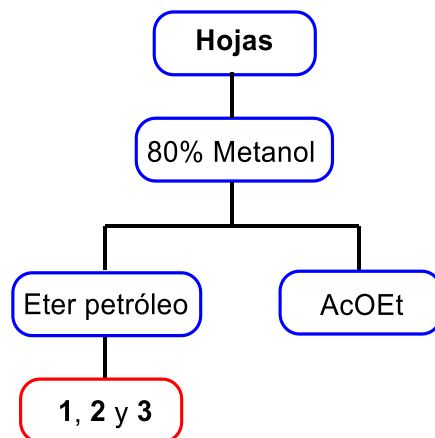
Hojas: 2.5 a 11 mm de largo, de 6 a 15 mm ancho

Tiene una floración amarilla

Figura 1. *Oxalis corniculata*



En el 2008 se llevó a cabo un análisis químico de las hojas de *O. corniculata*, recolectadas en Kumamoto, Japón en octubre de 2005. El extracto hidroalcohólico (MeOH 80%) se disolvió en agua y se extrajo con éter de petróleo y acetato de etilo (Esquema 1). De la fracción de éter petróleo se identificaron tres C-glicosilflavonas (**1-3**). El compuesto **2** mostró una selectividad para acumularse en las alas de la mariposa de la especie *P. maha* [6].



Esquema 1. Extractos obtenidos por bipartición

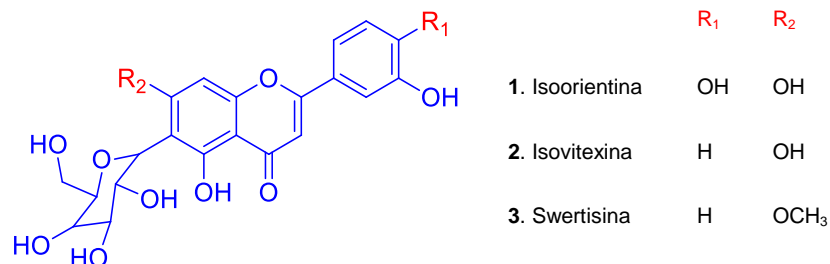
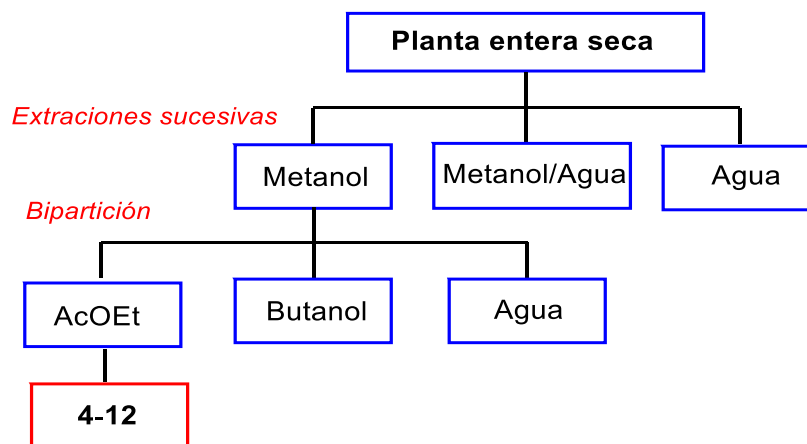


Figura 2. Flavonas aisladas de *O. corniculata*

En 2010 se realizó un estudio biodirigido antiparasitario (Esquema 2) frente a *E. histolytica* de las hojas de *O. corniculata*, colectada en Kolkata, India. Del extracto metanólico se identificaron por GC-MS (Tabla 1), tres ácidos grasos (**4-6**), cinco alcoholes (**7-11**) y se aisló un compuesto novedoso; un galactosil-glicerolípido (**12**). El compuesto **12**, mostró una fuerte actividad frente a los parásitos; *E. histolytica* y *G. lamblia* [7].



Esquema 2. Estudio biodirigido de *O. corniculata*.

Tabla 1. Compuestos identificados por GC-MS y compuestos aislados 12

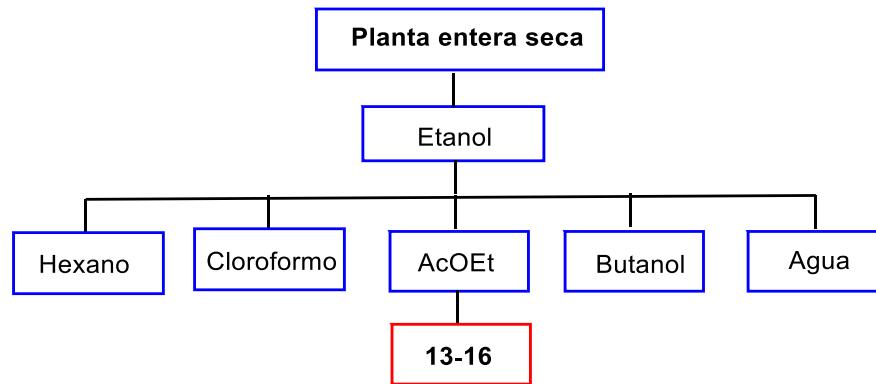
Ácidos grasos	Alcoholes
4. Ácido lignocérico	7. 1-octadecanol
5. Ácido hexacosanoico	8. 1-docosanol
6. Ácido octacosanoico	9. 1-pentacosanol
	10. 1-heptacosanol
	11. 1-octacosanol

R=

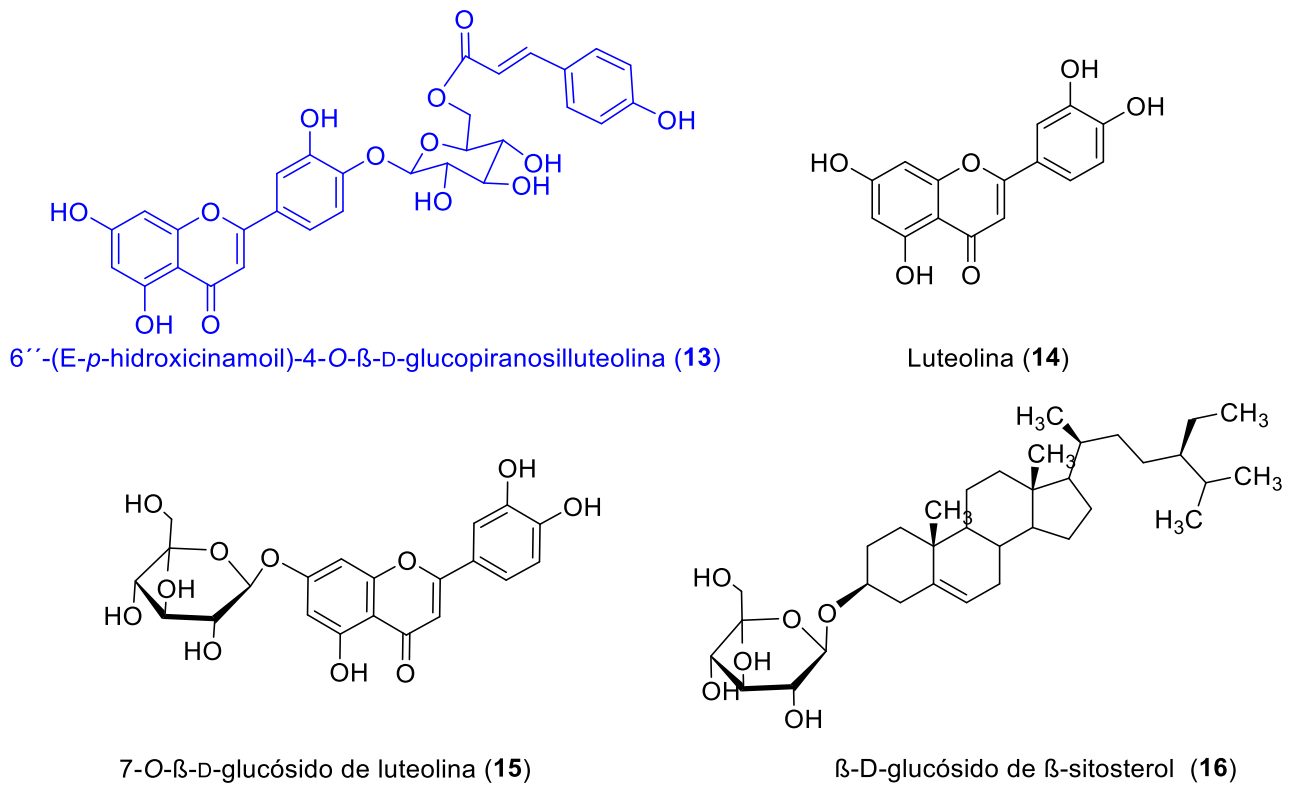
12

Figura 3. Galactosil-glicerólípido aislado de *O. corniculata*

En 2013 se realizó el análisis químico de la planta entera, recolectada en Karachi, Pakistán. A partir del extracto etanólico por medio de bipartición se obtuvo la fracción soluble de acetato de etilo (Esquema 3), de esta fracción se aislaron cuatro compuestos; un flavonoide (14) y su glucósido (15); glucósido de β-sitosterol (16) y un compuesto novedoso; el glucósido del flavonoide luteolina (13) [8].

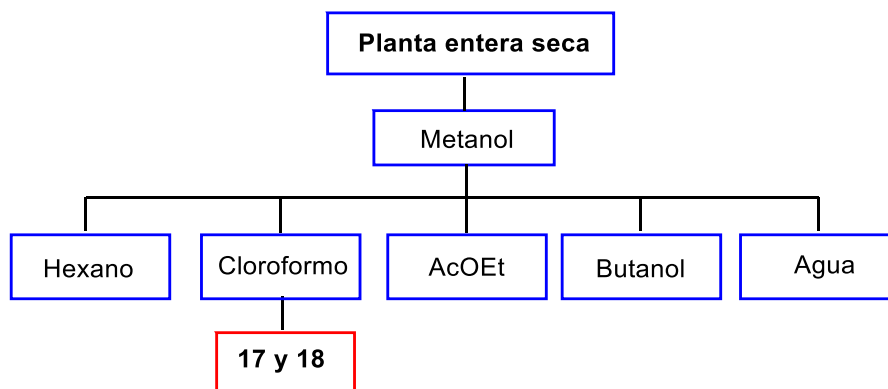


Esquema 3. Obtención de los extractos mediante bipartición.

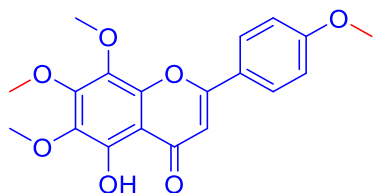
Figura 4. Compuestos aislados de *O. corniculata*



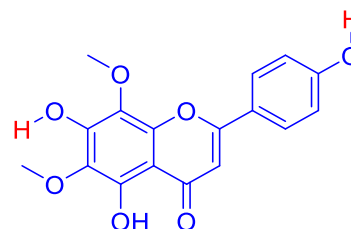
En el año 2014 se llevó a cabo el estudio de la planta entera de *O. corniculata*, recolectada en el Distrito Burner, Pakistán en junio de 2012 como agroquímico potencial. A las fracciones obtenidas de la bipartición del extracto metanólico (Esquema 4), se le determinó la actividad antibacteriana, antifúngica e insecticida. Se aislaron dos flavonas (**17-18**, Figura 5), que fueron obtenidas de la fracción soluble en cloroformo. Los compuestos (**17-18**) mostraron actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. typhi* y *B. subtilis* [9].



Esquema 4. Obtención de los extractos mediante bipartición.



5-hidroxi-6,7,8,4'-tetrametoxiflavona (**17**)



5,7,4'-trihidroxi-6,8-dimetoxiflavona (**18**)

Figura 5. Flavonoides aislados de *O. corniculata*



Oxalis erythrorhiza

Es un arbusto comúnmente conocido como boldo de la cordillera, y es muy utilizado por la medicina tradicional. Una decocción de las hojas de esta planta es recomendada para el dolor hepático y corazón, se utiliza comúnmente en la jardinería.

Recientemente reportaron que cuenta con actividad antimicrobiana [10].



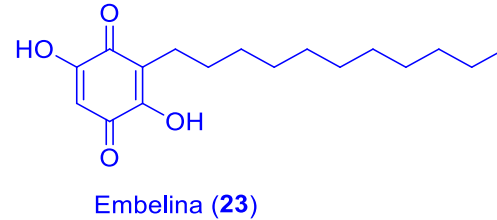
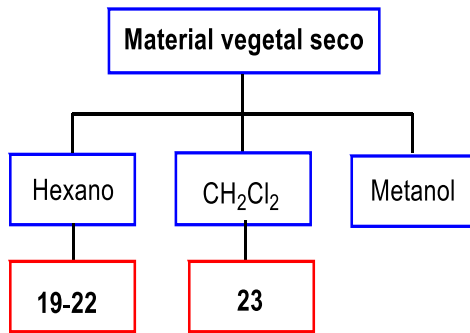
Se caracteriza por tener bulbos más grandes (35-40 mm) y cuatro folíolos.

Forma cojines densos, aproximadamente de 30 cm de diámetro.

Tiene una floración amarilla, cuenta con cinco pétalos y sus hojas son típicamente triangulares.

Figura 6. *O. erythrorhiza*

En el 2003 se llevó a cabo el análisis químico de las partes aéreas de *O. erythrorhiza*, colectada en la Provincia San Juan, Argentina. A partir de extracciones sucesivas con disolvente de diferente polaridad (Esquema 5) se aislaron cuatro alquilfenoles (**19-22**) y una benzoquinona (**23**). El compuesto **21** mostró actividad frente a *L. amazonensis* y *L. donovani*, mientras que el compuesto **23** es activo contra las bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y hongos: *Epidermophyton*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum* y el parásito: *Trypanosoma cruzi* [10].



Esquema 5. Obtención de los extractos mediante extracción sucesiva.

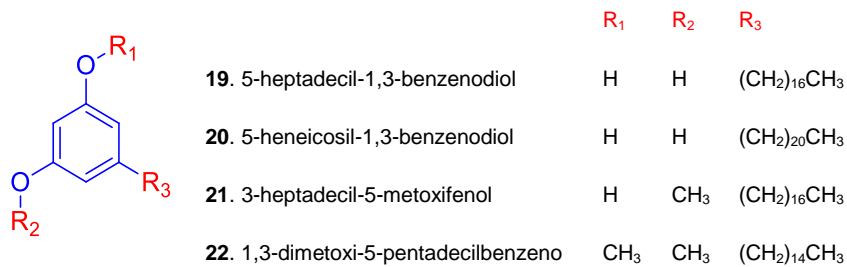


Figura 7. Derivados de alquilfenoles

Oxalis pes-caprae

Se conoce como bermuda, es una especie herbácea perteneciente a la familia de las oxalidaceae, es nativa de Sudáfrica, es una maleza invasora agresiva y muy extendida en todo el mundo debido a la capacidad de mantener monocultivos densos y altos niveles de alelopatía. Esta planta presenta actividad: antimicrobiana y antioxidante.



Figura 8. *O. pes-caprae*

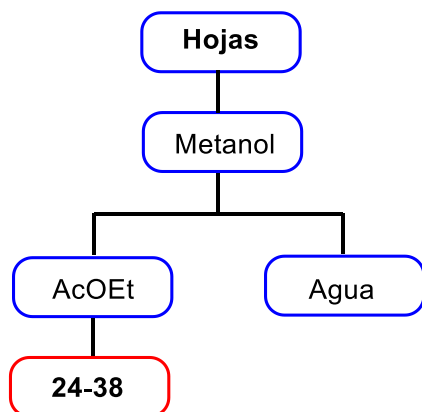
Hojas trifoliadas con lóbulos acorazonados

Numerosas flores y con una floración amarilla

Altura de hasta 30 cm

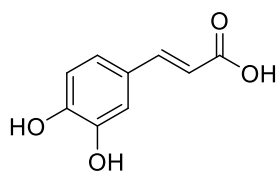


En el año 2007 se realizó el estudio químico de las hojas y ramas de *O. pes-caprae*, colectadas en Bacoli-Nápoles, Italia. De la bipartición con acetato de etilo del extracto metanólico (**Esquema 6**), se aislaron quince compuestos (**24-38**), de los cuales siete son nuevos compuestos derivados del éster cinámico (**24-30**) [11].

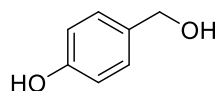


Esquema 6. Obtención de extractos por bipartición.

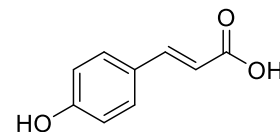
	24. (E)-3,4,5-trimetoxicinamato de 3-metoxifenilo	R	R ₁		
		CH ₃	CH ₃		
	25. (E)-3,4,5-trimetoxicinamato de 3-hidroxifenilo	CH ₃	H		
	26. Sinapato de 3-hidroxifenilo	H	H		
	27. (E)-3,4,5-trimetoxicinamato de 2-hidroxietilo	R	R ₁	R ₂	R ₃
		CH ₃	H	OCH ₃	CH ₃
	28. Sinapato de 2-hidroxietilo	H	H	OCH ₃	CH ₃
	29. (E)-3,4,5-trimetoxicinamato de 2-acetiletilo	CH ₃	COCH ₃	OCH ₃	CH ₃
	30. Cafeato de 2-hidroxietilo	H	H	H	H



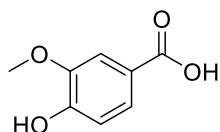
Ácido cafeico (31)



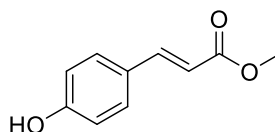
alcohol 4-hidroxibenzílico (32)



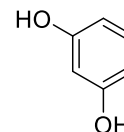
Ácido 4-hidroxicinámico (33)



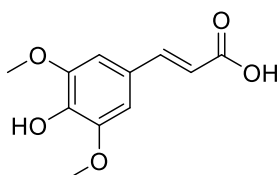
Ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoico (34)



4-hidroxicinamato de metilo (35)



Resorcinol (36)



Ácido sinápico (37)

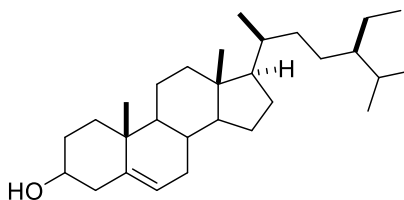
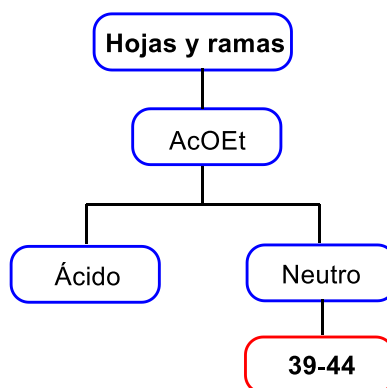
 β -sitosterol (38)

Figura 9. Ésteres cinámicos y otros compuestos comunes aislado de *O. pes-caprae*

En el 2008 se realizaron estudios químicos a las hojas y a las ramas de *O. pes-caprae*, colectada en Bacoli, Nápoles, Italia. De la bipartición del extracto de acetato de etilo se obtuvo dos fracciones; neutra y ácida. De la fracción neutra se identificaron seis nuevos compuestos derivados del ácido cinámico (39-44) [12].



Esquema 7. Obtención de extractos por bipartición.

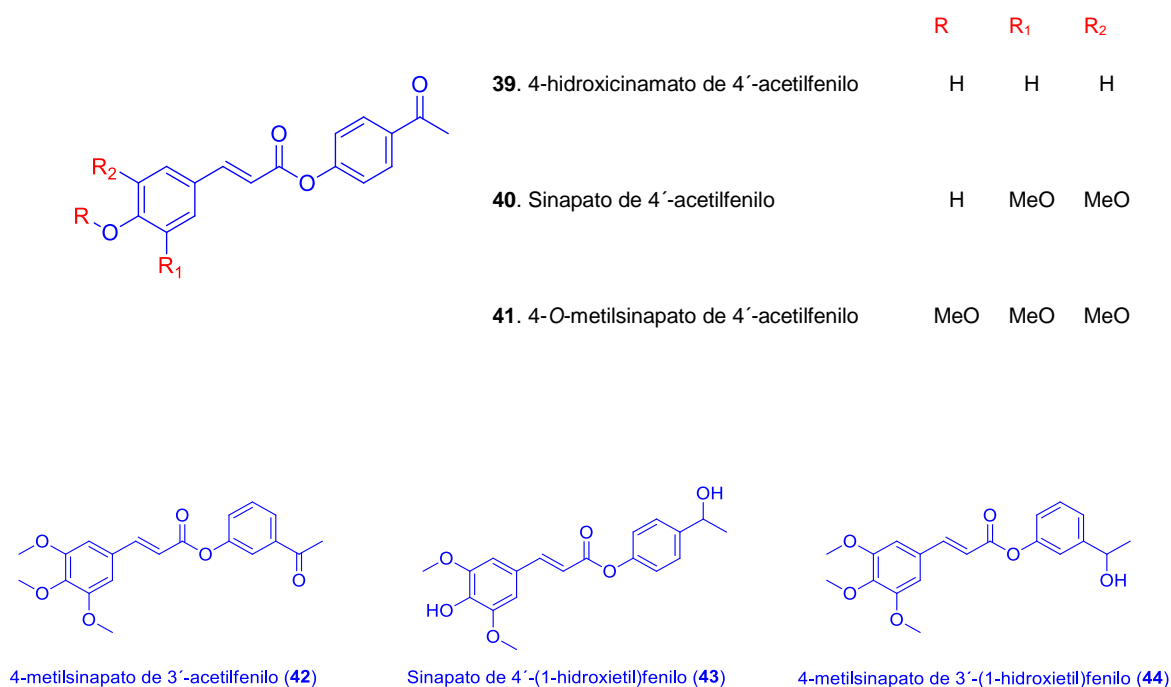
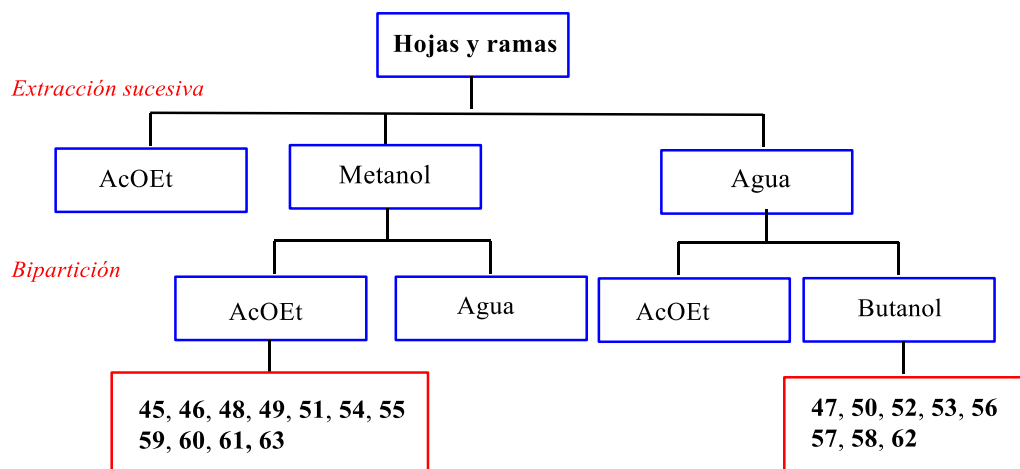
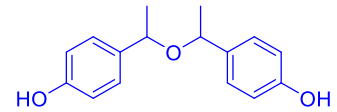
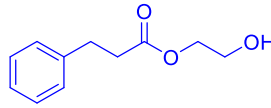
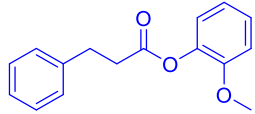


Figura 10. Derivados de ácido cinámico aislado de *O. pes-caprae*

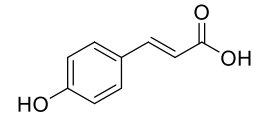
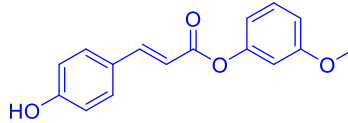
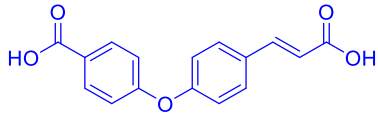
En el 2009 se realizó el estudio químico de las hojas y ramas de *O. pes-caprae*, colectadas en Bacoli-Nápoles, Italia. Al material vegetal se le realizaron extracciones sucesivas con disolventes orgánicos y al extracto metanólico se le efectuó una bipartición con acetato de etilo (Esquema 8), del cual se aislaron 11 compuestos (45, 46, 48, 49, 51, 54, 55, 59, 60, 61, 63). De la misma manera al extracto acuoso, se le realizó una bipartición con AcOEt y butanol; de la extracción de butanol se aislaron 8 compuestos (47, 50, 52, 53, 56, 57, 58, 62). En esta planta se identificaron 19 compuestos (45-63), de los cuales; hay un éster del ácido cinámico (49), dos ésteres del ácido dihidrocinámico (45-46), un noroxyneolignano (48), un derivado dibenzil éter (47) y otros compuestos comunes (51-63). Los compuestos 45-49 mostraron actividad fitotóxica sobre la germinación y crecimiento de *Lactuca sativa L.* que es una planta invasiva indeseada y algunos mostraron una actividad mayor que el herbicida comercial pendimethalin [13].



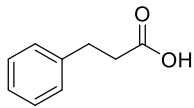
Esquema 8. Obtención de los extractos de o. pes-caprae.



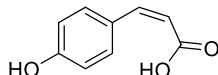
3-fenilpropanato de 2-metoxifenilo (45) 3-fenilpropanato de 2-hidroxiethyl (46) 4,4'-[1,1'-oxibis(etano-1,1-diol)]difenol (47)



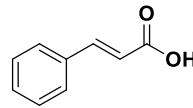
Ácido (E)-4-[4-(2-carboxifenil)fenoxi]benzoico (48) (E)-4-hidroxicinamato de 3-metoxifenilo (49) Ácido *p*-cumárico (50)



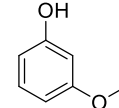
Ácido dihidrocínámico (51)



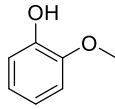
cis-p-cumárico (52)



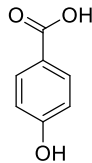
Ácido cinámico (53)



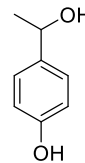
3-metoxifenol (54)



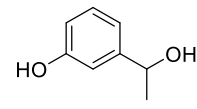
2-metoxifenol (55)



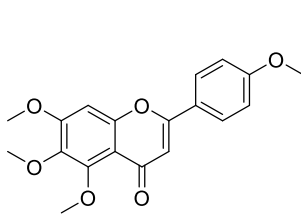
Ácido 4-hidroxibenzoico (56)



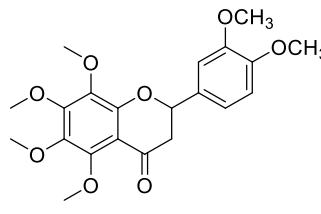
4-(1-hidroxiethyl)fenol (57)



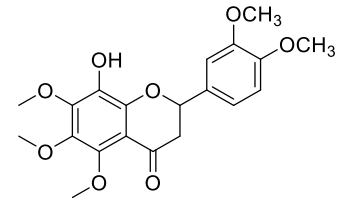
3-(1-hidroxiethyl)fenol (58)



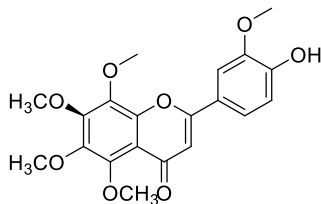
Tangeretina (59)



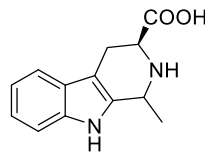
Nobiletina (60)



5-dimetilnobiletina (61)



4'-demetilnobiletina (62)

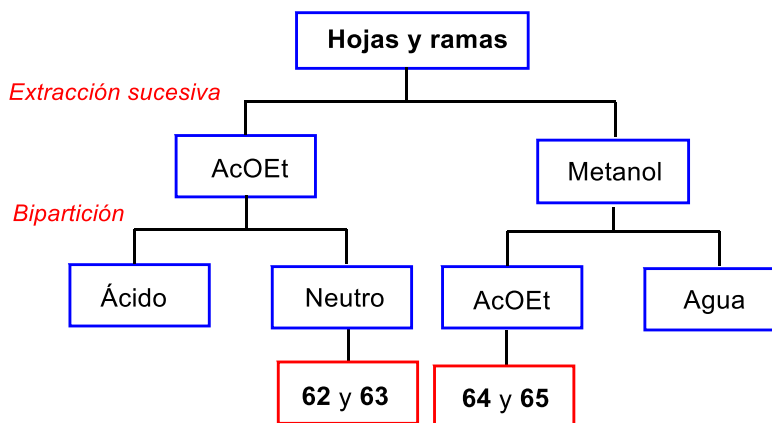


Ácido 1-metil-1,2,3,4-tetrahidro- β -carbolina-3-carboxílico (63)

Figura 11. Compuestos aislados de *O. pes-caprae*



En el 2010 se realizaron estudios químicos de las hojas y ramas de *O. pes-caprae*, colectadas en Bacoli-Nápoles, Italia, en abril de 2005. En esta planta se aislaron cuatro compuestos (**62-65**, Esquema 9). De la bipartición del extracto de AcOEt de la fracción neutra se aislaron dos compuestos (**62 y 63**) y de la bipartición del extracto metanólico de la fracción de AcOEt se aislaron dos ésteres derivado de ácidos orgánicos (**64 y 65**) [14].



Esquema 9. Obtención de los extractos de *O. pes-caprae*.

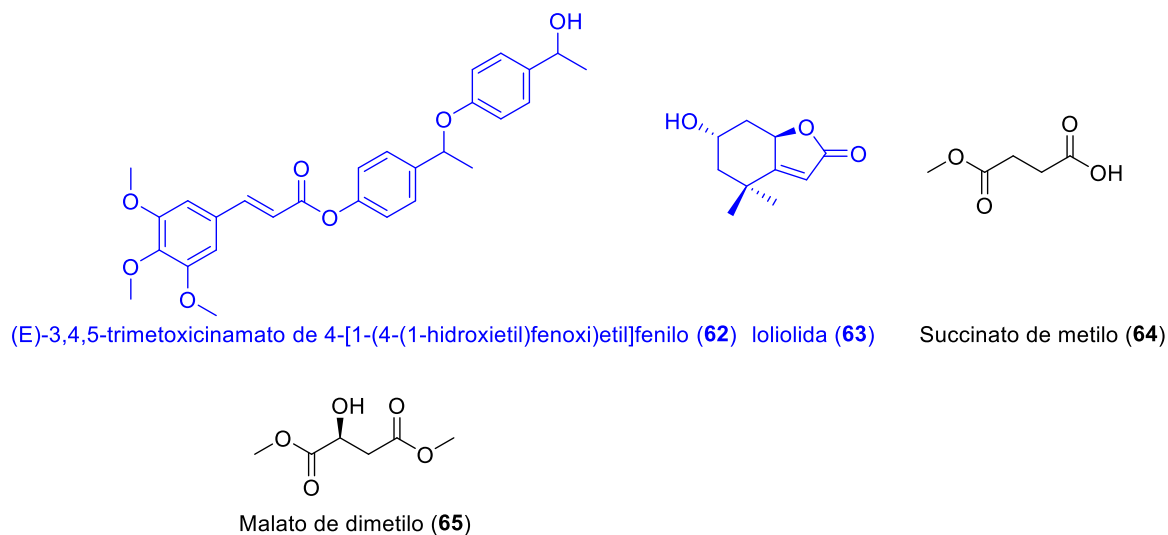
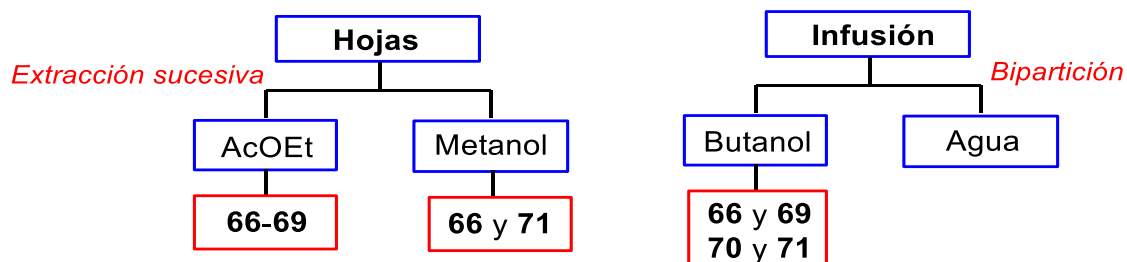


Figura 12. Compuestos aislados de *O. pes-caprae*



En el año 2012 se realizó un análisis químico de la parte aérea de *O. pes-caprae* recolectada en Creta en febrero de 2010. En esta planta se identificaron seis compuestos (**66-71**) que se aislaron del extracto de (Esquema 10), AcOEt (**66-69**), metanol (**66, 71**) y de la fracción de butanol procedente de la infusión de las hojas (**66, 69, 70, 71**). Estos extractos presentaron una actividad antioxidante significativa [15].



Esquema 10. Obtención de extractos mediante extracción sucesiva y bipartición.

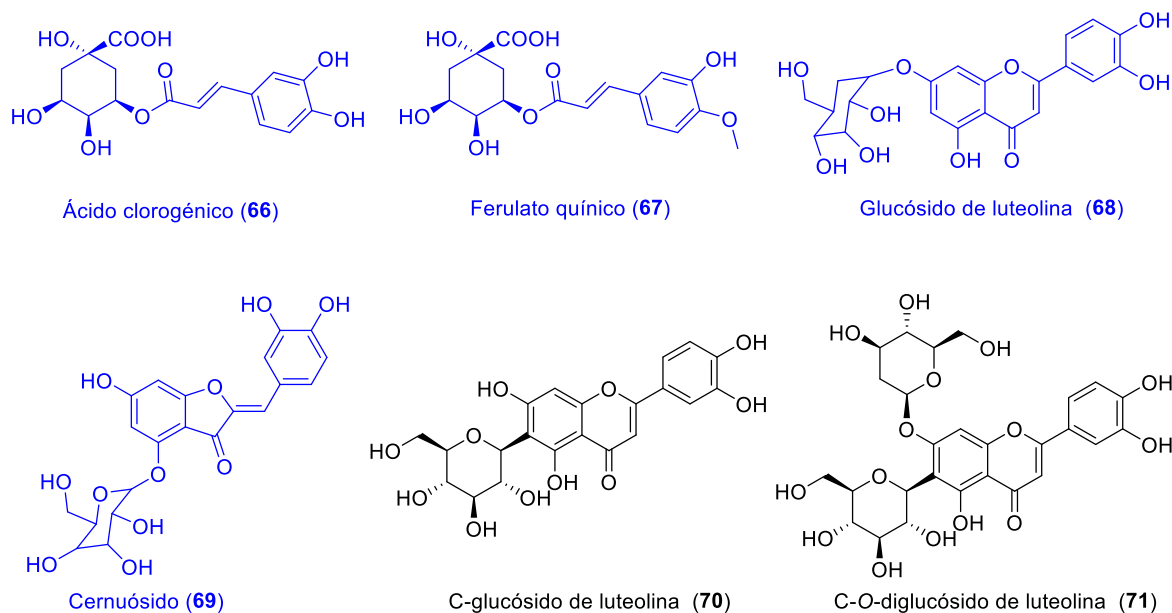


Figura 13. Compuestos aislados de *O. pes-caprae*.



Oxalis triangularis

Es una planta herbácea perenne, esta especie pertenece a la familia *oxalidaceae*, las hojas son especialmente apreciadas por su sabor agrio y exótico.



Plantación: otoño al interior, primavera al exterior

Floración: 3-5 semanas después del plantado

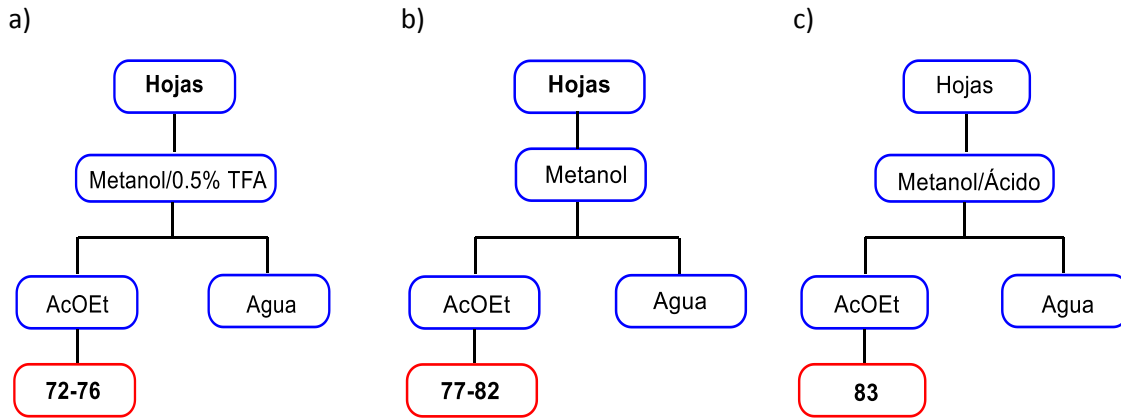
Altura de 30 cm

Floración: flores pequeñas de color morado

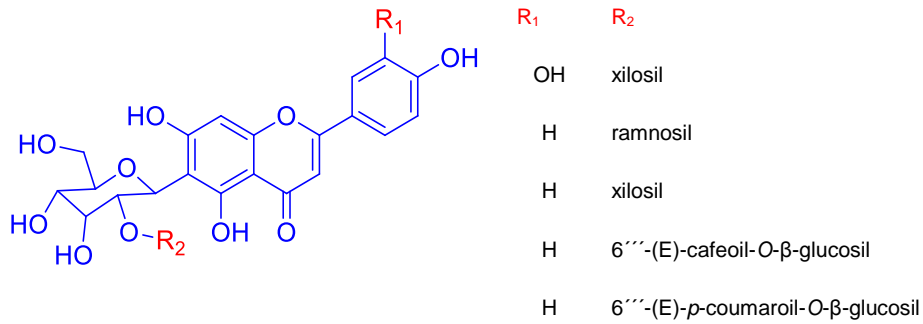
Hojas: presenta la forma de una mariposa

Figura 14. *O. triangularis*

En el 2005 se realizó el estudio químico de las hojas de *O. triangularis*, colectada en Bergen, Noruega. Del extracto metanólico/ácido (Esquema 11a) se realizó una bipartición con AcOEt y se aislaron cinco compuestos (**72-76**, Figura 15) [16]. Mientras que a partir de la bipartición de la fracción soluble en AcOEt del extracto metanólico neutro (Esquema 11b) se aislaron siete compuestos (**77-82**, Figura 16) [17]. Además, en un estudio posterior en 2007, al extracto metanólico acidificado se le realizó una bipartición con AcOEt y agua (Esquema 11c). A partir de la fracción soluble en AcOEt se aisló una antocianina (**83**, Figura 17) [18].

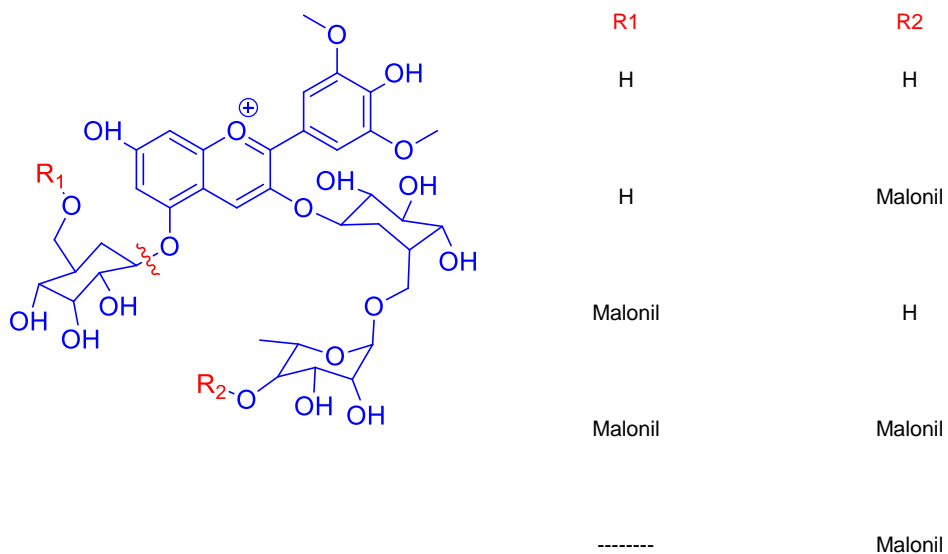


Esquema 11. Obtención de extractos por bipartición.



- 72. 6-C-(2''-O-β-xilopiranosil-β-glucopiranósido) luteolina
- 73. 6-C-(2''-O-α-ramnopiranosil-β-glucopiranósido) apigenina
- 74. 6-C-(2''-O-β-xilopiranosil-β-glucopiranósido) apigenina
- 75. 6-C-(2''-O-(6'''-(E)-cafeoilglucosídico)-β-glucopiranósido) apigenina
- 76. 6-C-(2''-O-(6'''-(E)-p-coumaroilglucosídico)-β-glucopiranósido) apigenina

Figura 15. C-glicósidos de flavonas aislados de *O. triangularis*



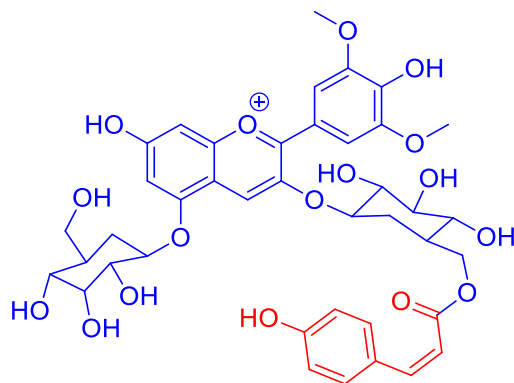
77. 3-O-(6-O- α -ramnopiranosil- β -glucopiranosido)-5-O- β -glucopiranosido malvidina

78. 3-O-(6-O-(4-O-malonil- β -ramnopiranosil)- β -glucopiranosido)-5-O- β -glucopiranosido malvidina

79. 3-O-(6-O- α -ramnopiranosil- β -glucopiranosido)-5-O-(6-O-malonil- β -glucopiranosido)malvidina

80. 3-O-(6-O-(4-O-malonil- α -ramnopiranosil)- β -glucoiranosido)-5-O-(6-O-malonil- β -glucopiranosido)malvidina

81. 3-O-(6-O-(4-O-malonil- α -ramnopiranosil)- β -glucopiranosido)malvidina



3-O-(6-O-(Z)-*p*-coumaril- β -glucopiranosido)-5-O- β -glucopiranosido malvidina (82)

Figura 16. Antocianinas acilada aislada de *O. triangularis*.

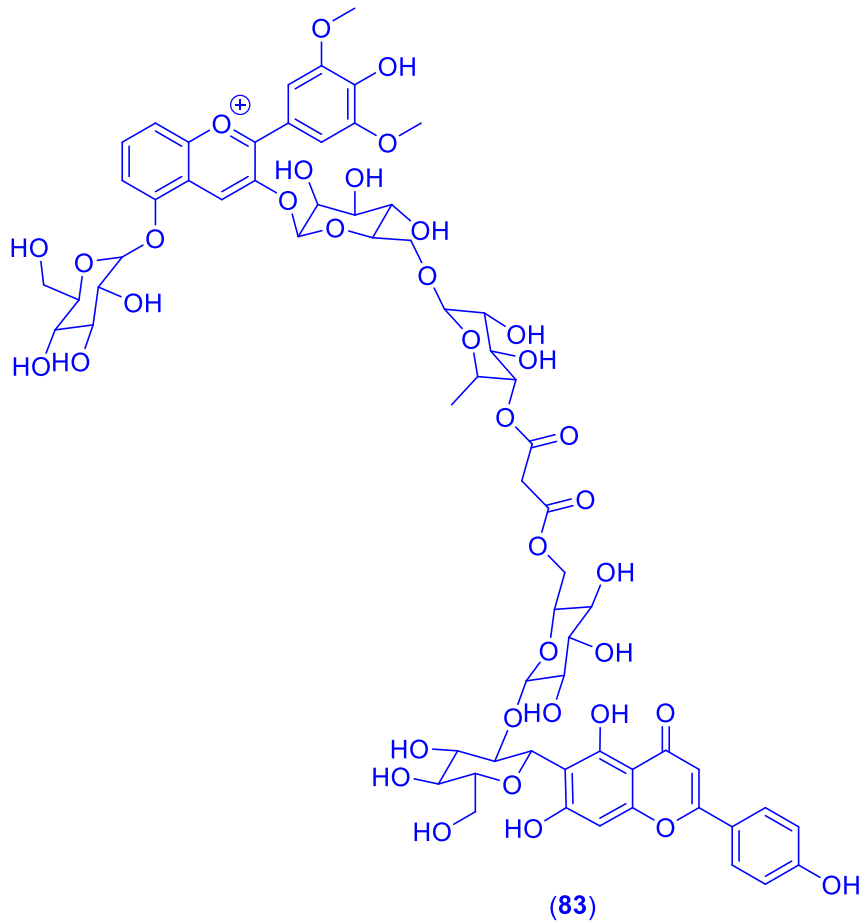


Figura 17. Antocianina covalente flavona aislada de *O. triangularis*.



Oxalis tetraphylla

La especie *Oxalis tetraphylla* es una planta bulbosa que pertenece a la familia Oxalidaceae y es originaria de México y Guatemala, está ampliamente distribuida en América del sur, África. Tradicionalmente se le conoce como: trébol de la buena suerte y cruz de hierro, es una planta comestible y se utiliza para el tratamiento de dolores musculares y calambres [19].



Alcanza aproximadamente 20 cm de altura

30 cm de amplitud

Su floración es cada verano y es de color rojo

Pseudobulbo

Figura 18. *O. tetraphylla*

En 2017 se realizó un estudio farmacológico de la actividad larvicida y antihelmíntico de las hojas y tallos de *O. tetraphylla* recolectada en el pueblo de San Juan Tlacotenco, municipio de Tepoztlán, Morelos, México, en enero de 2012. El análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico mostró la presencia de flavonoides y esteroides.

Además, el estudio biológico del extracto hidroalcohólico mostró que presenta efecto antihelmíntico y larvicida frente a *Haemonchus contortus*, el cual es un parásito que afecta al ganado ovino, bovino y caprino.



3. JUSTIFICACIÓN

Está ampliamente reportado el uso de plantas del género *Oxalis* para el tratamiento de diversas enfermedades y existen algunos trabajos que describen la actividad biológica.

Sin embargo, aún faltan especies por ser estudiadas como; *O. tetraphylla*, cuyo estudio fitoquímico contribuirá al conocimiento de la planta y del género al que pertenece.

4. HIPÓTESIS

Las investigaciones recabadas en la literatura han demostrado que las partes aéreas (hojas y tallos) y la planta entera de estas cuatro especies del género *Oxalis* presentan compuestos fenólicos y glucósidos.

Por lo que el estudio químico de la planta entera de *Oxalis tetraphylla* colectada en Ixtlán Juárez, Oaxaca permitirá el aislamiento de compuestos fenólicos, glucósidos, entre otros.

5. OBJETIVO GENERAL

Aislar y elucidar los metabolitos secundarios que estén presentes en el extracto hidroalcohólico de *Oxalis tetraphylla*.

5.1. Objetivos particulares

1. Purificar mediante técnicas cromatográficas los compuestos que están presentes en el extracto hidroalcohólico de *Oxalis tetraphylla*.
2. Efectuar la elucidación estructural de los compuestos aislados mediante técnicas de Resonancia Magnética Nuclear y Espectrometría de masa.



6. METODOLOGÍA

6.1. Material vegetal

Se realizó la recolección de la parte aérea de la planta *O. tetraphylla*. en el mes de agosto de 2014, en el municipio de Ixtlán de Juárez, Oaxaca (coordenadas; N-17.34272, O-96.473277, y altitud 2012 msm). Se revisó que la planta no tuviera alguna enfermedad o plaga. Las hojas y tallos se transportaron al laboratorio de la Universidad de la Sierra Juárez (UNSIJ).

Ejemplares completos de la planta (hojas, tallos, flores y frutos), se prensaron y se realizó la ficha recolección. La planta fue identificada taxonómicamente por el Biólogo Gabriel González Adame profesor-investigador de la Universidad de la Sierra Juárez (INSIJ), se depositó en el herbario de esta Universidad.

Otorgando la identificación de la especie como: *O. tetraphylla* CAV, con número de folio: 583.

6.1. Obtención del extracto

Se maceraron 48.30 g del pseudo bulbo de la especie *O. tetraphylla* en 500 mL de etanol, el proceso se realizó dos veces. Se separó el disolvente orgánico por filtración y se procedió a evaporar mediante el uso de un rotaevaporador. El extracto seco se sometió a la purificación cromatográfica respectiva.

6.2. Purificación y aislamiento

El extracto etanólico seco se purificó por cromatografías sucesivas hasta la obtención de compuesto puros. Las fracciones recolectadas se monitorearon por CCF y se reunieron con base en su similitud cromatográfica.

Las columnas cromatográficas y las cromatografías en capa fina se realizaron usando gel de sílice con tamaño de partículas 230-400 μm y placas precortadas de sílice gel 60 malla F₂₅₄, respectivamente. Todos los disolventes son grado técnico (Hexano, acetato de etilo, metanol) y se destilaron antes de su uso.



6.3. Caracterización

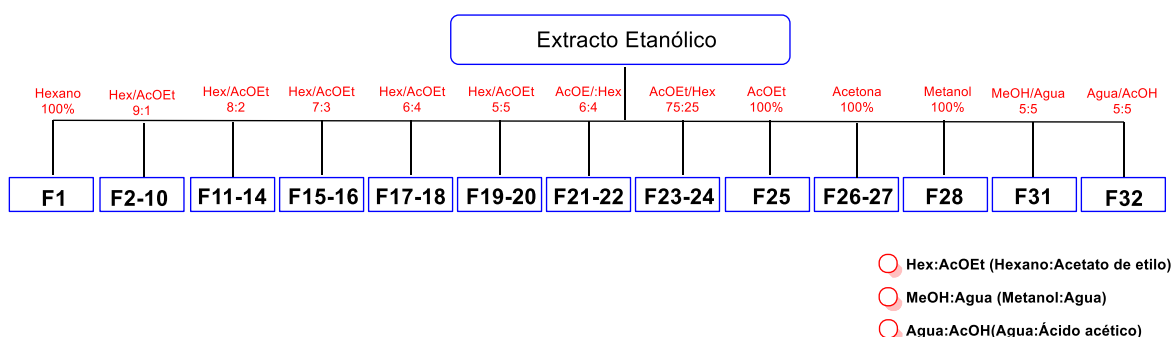
Todos los compuestos aislados se llevaron a RMN en 1D y 2D con un espectrómetro de RMN, marca VARIAN modelo MR400, a 400 MHz para espectros de ^1H y 100 MHz para los espectros de ^{13}C . Además, se les efectuó el análisis de ESI-MS para corroborar la masa molecular del compuesto, mediante la inyección por infusión directa a un espectrómetro de masas SYNAPT G2-Si provisto de ionización por electro rociado, filtro de masas de cuadrupolo sencillo y analizador de masas de tiempo de vuelo.

Los disolventes para RMN fueron; cloroformo deuterado (CDCl_3), metanol deuterado (CD_3OD) y dimetilsulfóxido ($\text{DMSO}-d_6$) de marca Aldrich, tomando como referencia interna a trimetilsilano (TMS).



7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La planta *Oxalis tetraphylla* CAV, colectada en Ixtlán de Juárez, Oaxaca, en el mes de agosto de 2014, se identificó por el Biólogo Gabriel González Adame y se depositó en la Universidad de la Sierra Juárez (Voucher 583). El material vegetal seco (48.30 g), se maceró en etanol y se obtuvo 12.8 g de extracto seco con un aspecto color miel, café oscuro. El fraccionamiento del extracto crudo se realizó por cromatografía flash, empleando diferentes sistemas de elución con polaridad ascendente para disminuir la complejidad del extracto (Esquema 15). La columna se eluyó de forma inicial con hexano 100%, y gradualmente se incrementó la polaridad del sistema de elución en el orden; hexano/AcOEt (9:1) → (5:5), AcOEt/Hexano (6:4) → AcOEt 100%, Acetona 100%, MeOH 100%, MeOH/Agua (5:5) y Agua/AcOH (5:5). Se colectaron 32 fracciones con un volumen aproximado de 50 mL cada una.



Esquema 15. Fraccionamiento del extracto etanólico por CCF.

Aislamiento del esteroide β -sitosterol (1).

A la fracción 12 (Esquema 15) se le realizó CCF para encontrar el sistema adecuado para efectuar su separación mediante el empleo de una columna cromatográfica. Se eligió el sistema de elución Hexano → Hex/AcOEt (95:5) y se colectaron 30 fracciones. A las fracciones se les realizó su respectivo análisis de CCF y se revelaron con H_2SO_4 , observando que la fracción 15 mostraba una mancha morada que presentaba una similitud en el $R_f = 0.5$ con el patrón de referencia de β -sitosterol en un sistema Hex/AcOEt (8:2). Se obtuvieron 44.5 mg de un sólido amarillo.



En el análisis del tubo 15 mediante RMN de ^1H y ^{13}C (Figura 19), se observa un multiplete con un δ_{H} 3.53, que es una señal típica para un esteroide con un grupo hidroxilo en la posición 3 (δ_{C} 72.02), y seis señales que corresponden a metilos (δ_{H} 1.01, 0.93, 0.84, 0.82, 0.80, 0.68) características de un esteroide. Además, la señal del multiplete con δ_{H} 5.35 corresponde al protón vinílico del C6 (δ_{C} 121.94), y el carbono cuaternario (C5) en 140.92 ppm, corroboran la presencia de un doble enlace en la estructura del esteroide.

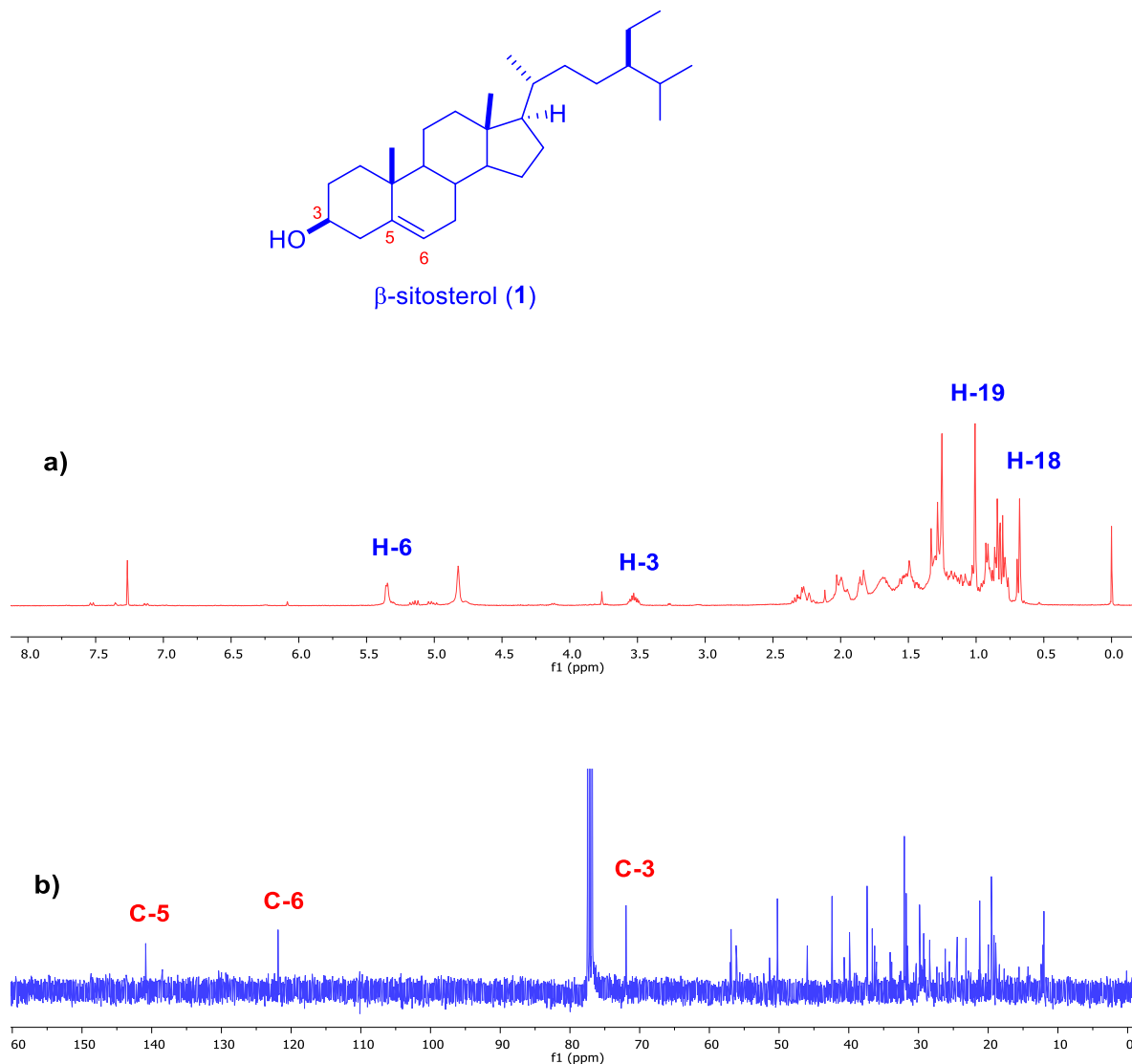


Figura 19. Espectro de RMN de β -sitosterol en CDCl_3 ; a) ^1H b) ^{13}C

La comparación de los datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C , demuestra que la estructura del compuesto aislado corresponde al compuesto β -sitosterol (1), que es



un esteroide de amplia distribución en plantas, generalmente se usa para enfermedades cardiovasculares, hipercolesterolemia, modulación del sistema inmunitario, prevención del cáncer. Además, tiene efectos benéficos en artritis reumatoide, tuberculosis, cáncer de cuello uterino, pérdida de cabello e hiperplasia prostática benigna y presenta actividad tripanocida y larvicida [20].

Aislamiento y purificación del compuesto dihidroquinona (2).

Las fracciones 18-19 (Esquema 15) se reunieron por similitud cromatográfica y se purificaron por cromatografía flash, utilizando un sistema de elución Hex/AcOEt (9:1) → MeOH 100% y se colectaron 56 fracciones. A partir de las fracciones 29-35 se aisló 22.2 mg de un compuesto con $R_f = 0.4$, que revela en UV (254 nm).

En el análisis de ESI-MS se obtuvieron los iones $[M+H]^+$; m/z 767 y $[M-H]^-$; m/z 765, indicando una fórmula molecular $C_{45}H_{66}O_{10}$. En el análisis del espectro RMN de 1H se observan 14 señales diferenciables y en la zona congestionada de 1.36-1.06 ppm se distinguen dos triples desplazados a 1.25 ppm (6H). Las señales en 6.09 ppm (1H, s), 5.35, 5.30 ppm (4H, m) corresponden a protones vinílicos y las señales en 4.12 ppm (4H, m), y 3.77 ppm (3H, s) corresponden a protones unidos a carbonos base de oxígeno. Además, las señales de protones alilícos en 1.96 ppm (2H), 2.06 ppm (4H, m) y dos señales de protones de metilos unidos a un anillo aromático en 2.03 ppm (3H, s) y 2.12 ppm (3H, s).

En el espectro de ^{13}C se observan 43 señales; dos carbonilos de cetona (196.02, 193.45), dos carbonilos de éster (174.00, 173.99), doce carbonos en la zona de 155.2-101.4 ppm, de las cuales cinco carbonos son metinos (DEPT, 131.00, 130.97, 128.67, 128.64, 101.34), un carbono base de oxígeno en 82.22 ppm; veintiséis carbonos entre 60.51-8.58 ppm, de las cuales dos señales son metinos (57.35, 41.73 ppm), veinte metilenos y cuatro metilos, sin embargo, las señales en 60.40 y 14.39 ppm corresponden cada una a dos carbonos en base a su integral de RMN de 1H . En base a este análisis se deduce la presencia de doce carbonos cuaternarios, veintiuno metilenos, siete metinos y cinco metilos.

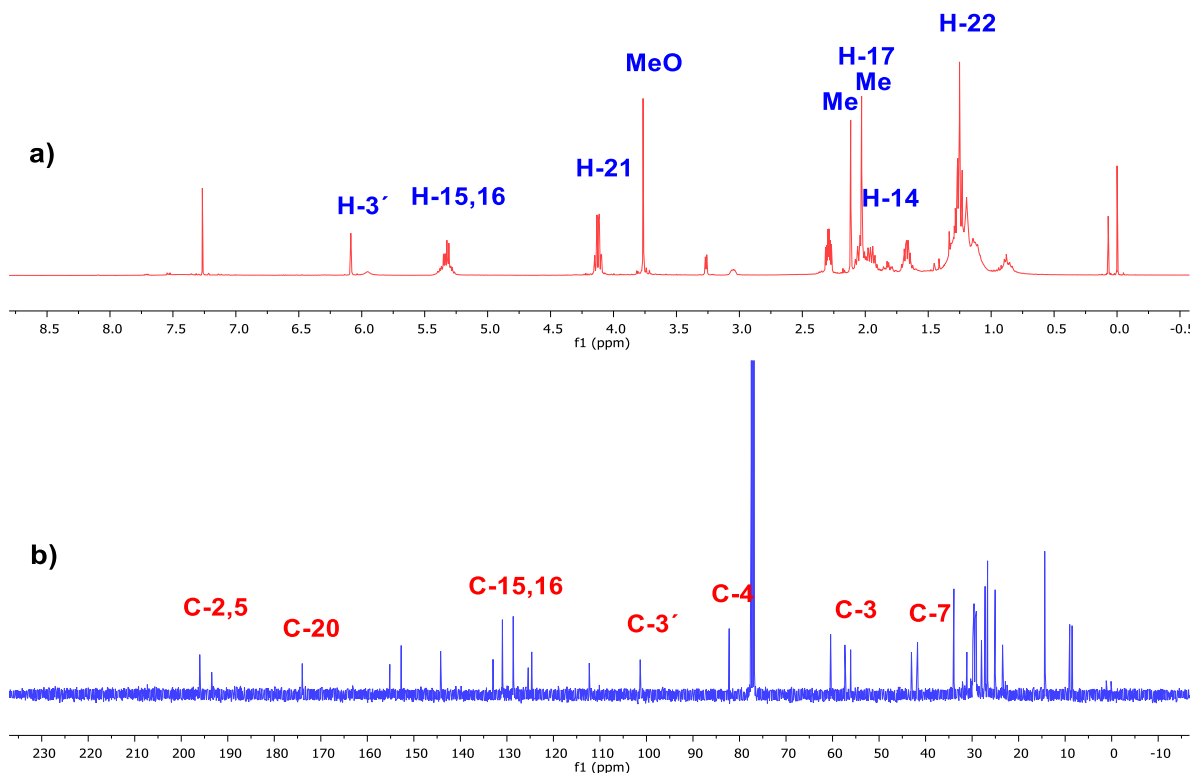


Figura 20. Espectro de RMN en CDCl_3 a) ^1H b) ^{13}C de la dihidroquinona (2)

En el espectro de $g\text{COSY}$ (Figura 21d) se observan las correlaciones de los protones del metileno H-21 (δ 4.12) con la señal del metilo H-22 (δ 1.25), que se corrobora con el experimento de $g\text{HMBC}$, donde los protones H-21 (δ 4.12, J^2), H-18 (δ 1.67, J^3) y H-19 (δ 2.35, 2.29, J^2) correlacionan con el carbonilo del éster (Figura 21c). Además, se observa que la señal de los protones H-19 correlacionan con los metilenos C-18 y C-17 (δ 25.03, 26.68; Figura 21a). En el espectro de $g\text{COSY}$ los protones del metileno H-18 (Figura 21e) correlacionan con los protones de los metilenos H-19 y H-17 (δ 2.06), mientras que el protón vinílico H-16 correlaciona con el protón vinílico H-15 (δ 5.35) y el metileno H-17 (δ 2.06), que se corrobora con el experimento de $g\text{HMBC}$ (Figura 21b). En el experimento de $g\text{HMBC}$ los protones del metileno H-14 (δ 1.95) correlacionan con los metinos C-16 (δ 128.67, J^2) y C-15 (δ 131.00, J^3 , Figura 21b); todas estas correlaciones permiten establecer una cadena alifática unida a un grupo éster (Figura 21). Este mismo patrón se observa para los carbonos 12' a 20' de la cadena unida al anillo aromático.

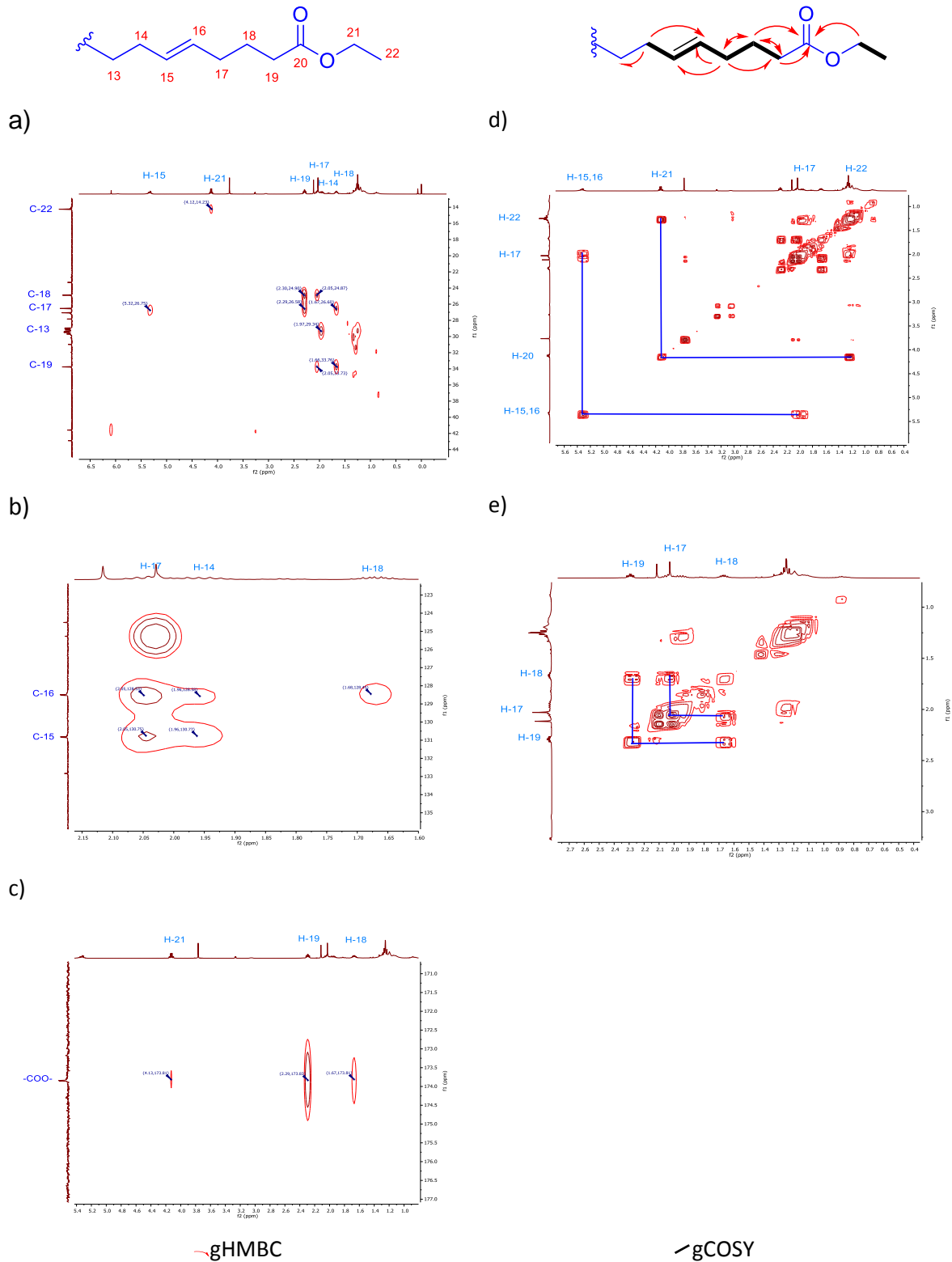


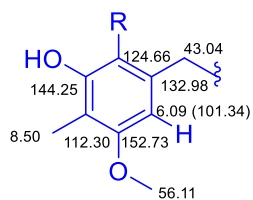
Figura 21. Espectro de gHMBC y gCOSY de la cadena alifática unida a un grupo carbonilo de éster.



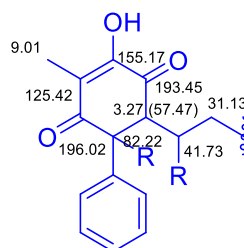
La presencia de un anillo aromático se deduce a partir de las correlaciones en el experimento $gHMBC$ que presenta el protón vinílico H-3' (δ 6.09) al correlacionar con C-4' (J^2), C-6' (J^4), C-2' (J^2), C-5' (J^3), C-7' (J^3) (Figura 22b); además los protones del metilo 2.12 (δ 8.56) correlacionan con los carbonos C-4' (J^3), C-6' (J^3), C-2' (J^5), C-1' (J^4), C-5' (J^2), C-3' (J^4 , Figura 22c), lo que evidencia que el desplazamiento del C-1' (δ 124.66) pertenece al anillo aromático. Aunado a la presencia de un grupo metoxi sobre el anillo aromático que se corrobora por la correlación entre el metilo de 3.77 ppm (δ 56.11) con el C-4' (δ 152.73, J^3 , Figura 22c). Éstas correlaciones permiten establecer la conectividad del fragmento aromático presente en la estructura (Figura 22a).

El protón del metino 3.27 (δ 57.35) correlaciona con los carbonos C-2 (J^3), C-5 (J^2), C-1' (J^3), C-4 (J^2), C-7 (J^2), C-8 (J^3 , Figura 22e), además el metilo 2.03 (δ 9.01) correlaciona con C-5 (J^3), C-1 (J^3), C-6 (J^2 , Figura 22f), por lo que se corrobora la presencia del C-1 (δ 155.04); lo que permite establecer una estructura cíclica con dos grupos carbonilos de cetona y la unión a una cadena alifática (Figura 22d).

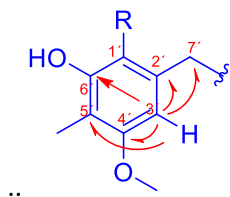
a)



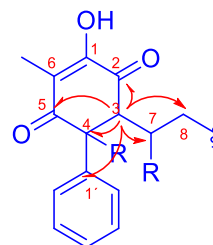
d)



b)



e)



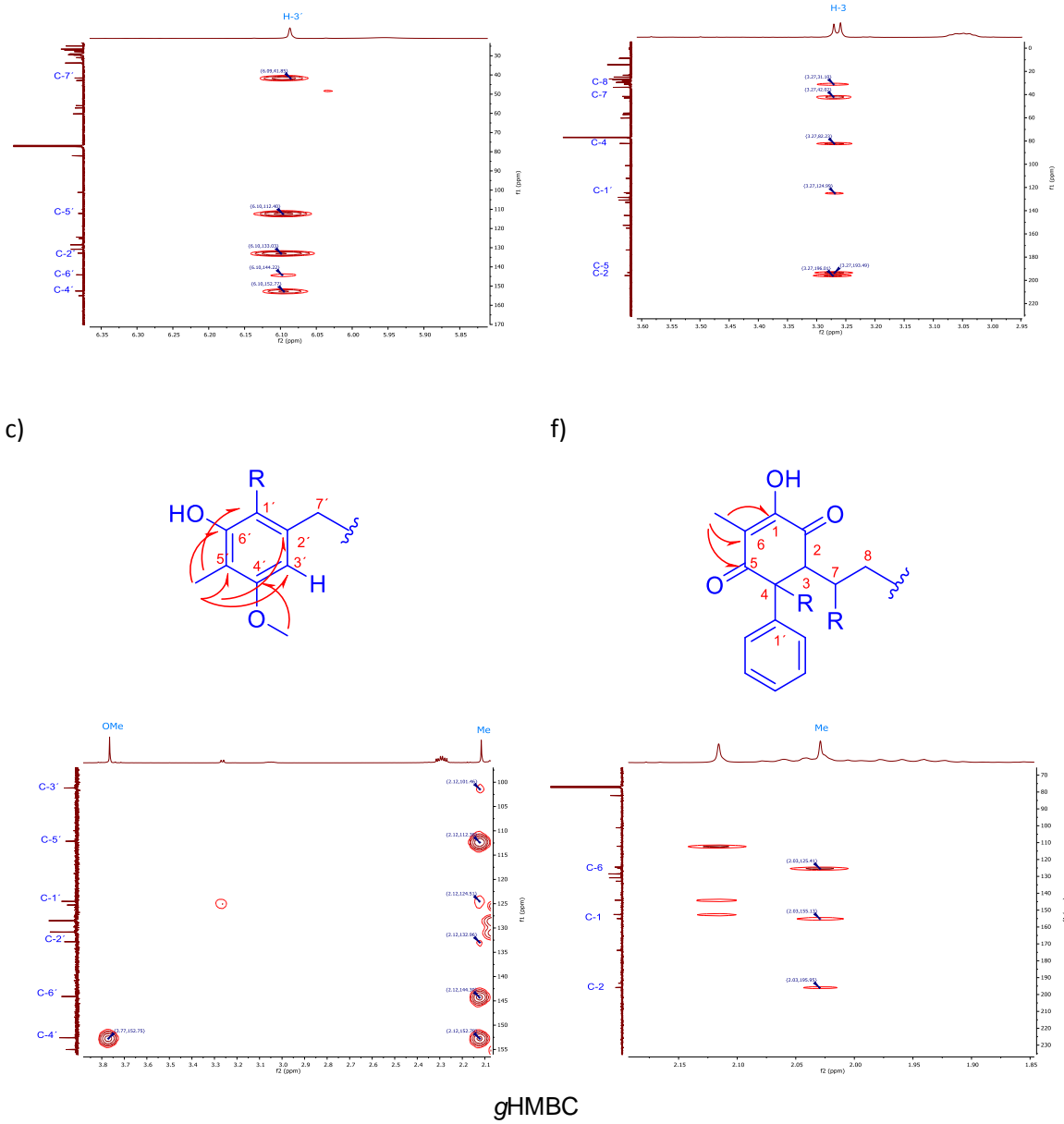
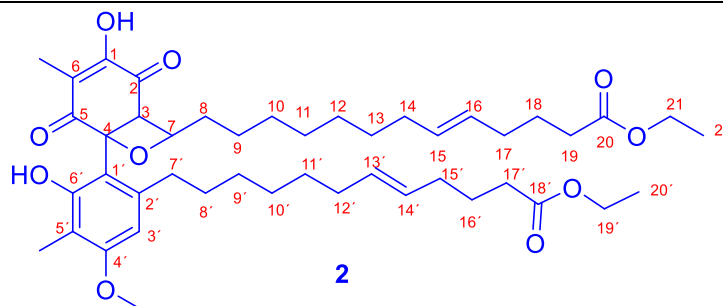


Figura 22. Espectro de gHMBC del anillo aromático y una estructura cíclica unidas a cadena alifáticas.



Tabla 2. Datos espectroscópicos del compuesto dihidroquinona 2



	¹ H	¹³ C	gCOSY	gHMBC
1		155.17		
2		193.45		
3	3.27(1H, d, J=4.4 Hz)	57.35	3.05	196.02, 193.45, 124.66, 82.22, 41.73, 31.13
4		82.22		
5		196.02		
6		125.42		
7	3.05 (1H, sa)	41.73		
8	1.18 (2H, m)	31.13		
9*		29.64		
10*		29.59		
11*		29.52		
12*		29.19		
13		29.34		
14	1.96 (2H)	27.21	5.35	131.00, 128.67, 29.52
15	5.35 (1H, m)	131.00		
16	5.30 (1H, m)	128.67	2.06	
17	2.06 (2H, m)	26.68	1.67, 5.30	131.00, 33.92, 25.03
18	1.67 (2H)	25.05	2.39, 2.35, 2.06	173.99, 128.64, 33.90
19	2.35 (2H, m)	33.92		
20		174.00		
21	4.12 (2H, m)	60.40	1.25	173.99, 14.39
22	1.25 (3H, t)	14.39		60.40
Me	2.04 (3H, s)	9.01		196.02, 155.17, 125.42
1'		124.66		
2'		132.98		
3'	6.09 (1H, s)CDCl ₃	101.34		152.73, 144.25, 132.98, 112.30, 43.04
4'		152.73		
5'		112.30		



6'		144.25		
7'	1.82 (2H, ddd)	43.04		
8'*		29.15		
9'*		29.09		
10'*		27.98		
11'		29.34		
12'	1.96 (2H)	27.20	5.35	131.00, 128.67, 29.52
13'	5.35 (1H, m)	130.97		
14'	5.30 (1H, m)	128.64	2.06	
15'	2.06 (2H, m)	26.67	1.67, 5.30	131.00, 33.92, 25.03
16'	1.67 (2H)	25.03	2.39, 2.35, 2.06	173.99, 128.64, 33.90
17'	2.29 (2H, m)	33.90		
18'		173.99		
19'	4.12 (2H, m)	60.40	1.25	173.99, 14.39
20'	1.25 (3H, t)	14.39		60.40
MeO	3.77 (3H, s)	56.11		152.73
Me	2.12 (3H, s)	8.50		152.73, 144.25, 132.98, 124.66, 112.30, 101.41

*Estas señales pueden estar intercambiadas

Aislamiento y purificación del compuesto dihidroquinona (3).

A la fracción 21 (Esquema 15) se le realizó una columna cromatográfica, colectando 52 fracciones de las cuales se juntaron los tubos 43-48. Sin embargo, al analizar por CCF no se observaba un compuesto puro por lo que se requirió de una purificación cromatográfica adicional. Se eligió por CCF el sistema Hex/AcOEt (8:2 + gotas de ácido acético) → MeOH 100%, como sistema de elución para efectuar la purificación. Se colectaron 56 fracciones y por CCF se observó que la fracción 3 presentaba un solo punto con $R_f=0.3$.

En el análisis de ESI/MS se obtuvo un ión $[M+H]^+$; m/z 737 y $[M-H]^-$; m/z 735 m/z , indicando una fórmula molecular $C_{43}H_{62}O_{10}$. En el análisis del espectro de RMN de 1H se observan 14 señales diferenciables y en la zona congestionada de 1.36-1.06 ppm se distinguen dos triples desplazados a 1.25 ppm (6H). Las señales 6.09 ppm (1H, s), 5.35, 5.30 ppm (4H, m) corresponden a protones vinílicos; además las señales 4.12 ppm (4H, m) y 3.76 (3H, s) corresponden a protones unidos a carbonos base de oxígeno; y las señales de protones alílicos en 1.96 (2H), 2.06 (4H, m) y dos



señales de protones de metilos unidos a un anillo aromático en 2.03 ppm (3H, s) y 2.12 ppm (3H, s).

En el espectro ^{13}C se observan 41 señales; dos carbonilos de cetona (196.20, 193.90), dos carbonilos de éster (177.73, 174.01), doce carbonos en la zona de 155.2-101.4 ppm, de las cuales cinco carbonos son metinos (DEPT, 131.24, 131.00, 128.67, 128.43, 101.44); un carbono base de oxígeno en 82.29 ppm; veinticuatro señales entre 60.51-8.58 ppm que corresponden a 26 carbonos, de las cuales dos señales son metinos (57.40, 41.74 ppm), dieciocho metilenos y cuatro metilos. Sin embargo, cada una de las señales en 60.40 y 14.39 ppm corresponden a dos carbonos en base a su integral de RMN de ^1H . En base a este análisis se deduce la presencia de doce carbonos cuaternarios, diecinueve metilenos, siete metinos y cinco metilos.

Este compuesto presenta la misma conectividad que la hidroquinoina (**2**), aunque con dos carbonos menos. Las correlaciones observadas en *g*COSY y *g*HMBC, permiten establecer que la estructura del compuesto es una hidroquinona.

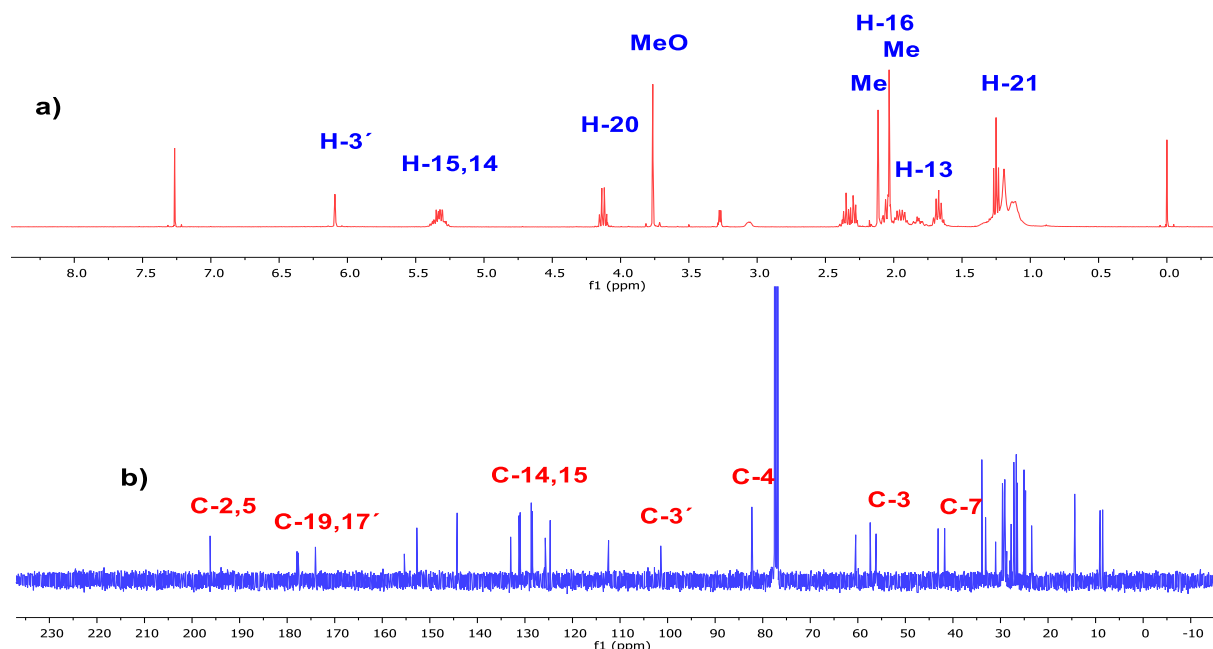
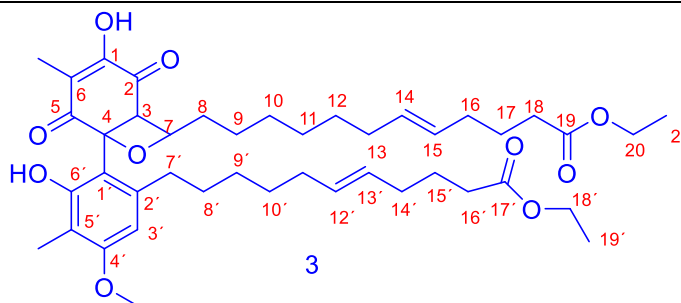


Figura 23. Espectro de RMN en CDCl_3 a) ^1H b) ^{13}C de la dihidroquinona (**3**).



Tabla 3. Datos espectroscópicos de dihidroquinona 3



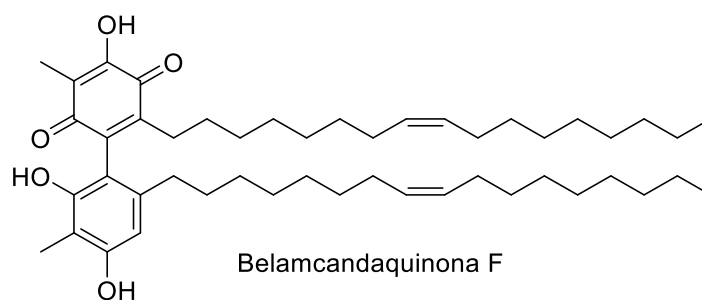
	¹ H	¹³ C		gHMBC
1		155.36		
2		193.90		
3	3.27	57.40		196.20,82.29,41.73, 31.00
4		82.29		
5		196.20		
6		125.73		
7	3.05	41.74		
8	1.14	31.00		
9*		29.59		
10*		29.51		
11*		29.18		
12		29.47		
13	1.96	27.20		131.00, 29.52
14	5.35	131.24		
15	5.30	128.67		27.10
16	2.06	26.69		131.24,128.43, 33.92, 25.03
17	1.67	25.05		128.67, 177.73
18	2.34	33.93		177.73, 25.05
19		177.73		
20	4.12	60.44		174.01
21	1.25	14.39		60.44
Me-6	2.04	9.05		196.20, 155.36, 125.73
1'		124.69		
2'		133.01		
3'	6.09	101.44		152.73, 133.01, 112.41, 43.11
4'		152.73		
5'		112.41		
6'		144.25		
7'		43.11		
8'*		29.09		
9'*		28.90		
10'		29.47		



11'		27.10		
12'		131.00		
13'		128.43		
14'		26.48		
15'		24.72		152.73
16'	2.29	33.14		174.05
17'		174.01		
18'	4.12	60.44		174.01
19'	1.25	14.39		60.44
Meo	3.77	56.16		
Me-5'	2.12	8.52		152.73, 144.25, 112.41

*Estas señales pueden estar intercambiados

Los datos espectroscópicos presentados en la Tabla 1 y 2 son similares, por lo que se propone la misma estructura, aunque el compuesto **3** presenta una pérdida de masa de dos carbonos, por lo que la cadena alifática disminuye. Las dos estructuras propuestas están relacionadas con las belamcandaquinonas que han sido aisladas en plantas del género *Ardisia* [23]. Cabe mencionar que a pesar de la relación que existe entre estos compuestos, las dihidroquinonas aisladas en este trabajo son nuevos compuestos reportados por primera vez para este género.



Aislamiento y purificación de etil hexosas 3 y 4.

A la fracción 28 se le añadió 20 mL de CH_2Cl_2 y 5 mL de MeOH, se agitó y se observó un precipitado café oscuro, se recuperó la fase soluble y se le realizó CCF para encontrar el sistema adecuado para efectuar su separación mediante el empleo de una cromatopla. Esta muestra se eluyó en una placa preparativa con el sistema de elución $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1). La cromatopla se observó en UV y se



identificaron cuatro bandas. La banda con un $R_f=0.2$ en un sistema $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (9:1), reveló con anilina/ H_3PO_4 y se obtuvieron 11.1 mg de este compuesto.

En el análisis del espectro RMN de ^1H y ^{13}C , se observan dos señales que posiblemente correspondan a protones (4.1 y 4.26 ppm) unidos a carbonos anoméricos (105.4, 104.24 ppm) que indican la presencia de dos monosacáridos libres o de un posible disacárido. En el espectro de RMN de ^{13}C se observan 16 señales. En el experimento DEPT-135 se observa cinco señales que corresponden a metilenos (57.9, 62.05, 62.88, 65.11, 66.33 ppm) y ocho que corresponden a metinos (71.77, 75.22, 77.38, 78.05, 78.22, 78.56, 83.52, 104.24 ppm). Los dos metilos se infieren en base a la integración de las señales en 1.23 (15.60 ppm) y 1.15 (16.17 ppm) del espectro de protón y la señal en 105.4 ppm es de un carbono cuaternario. Los carbonos anoméricos y el número de señales permiten establecer la presencia de unidades de glucosa y fructosa (12 carbonos), con cadenas alquílicas situadas sobre un átomo de oxígeno de cada uno de los monosacáridos (cuatro carbonos).

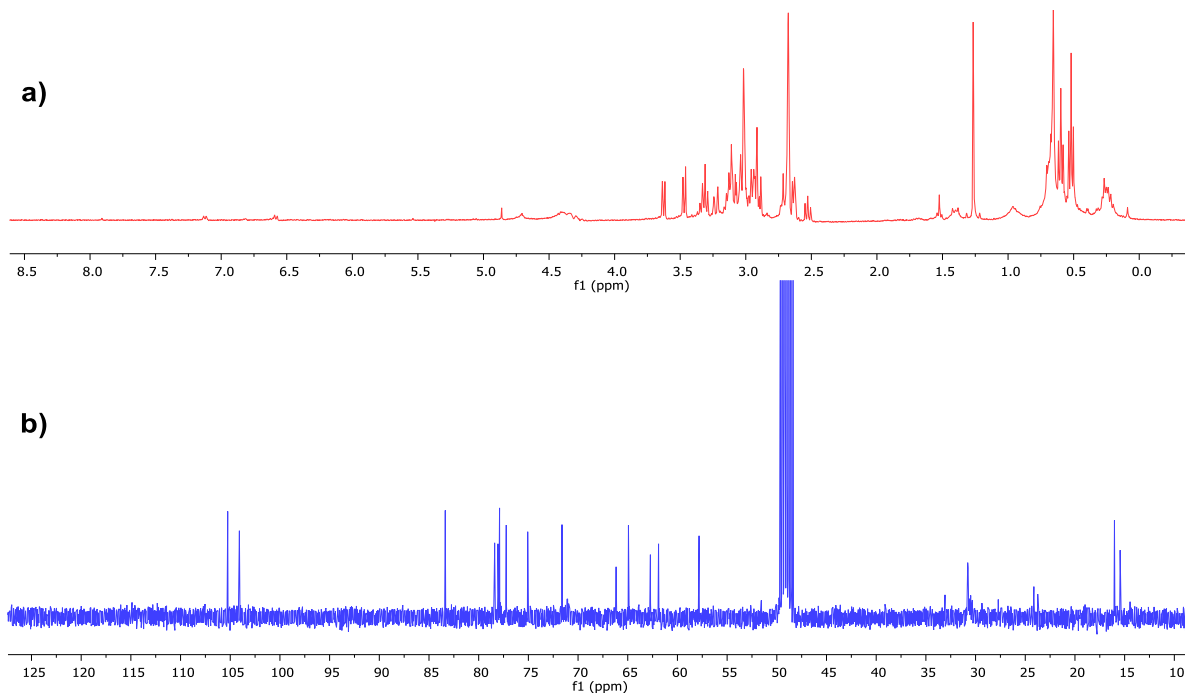


Figura 24. Espectro de RMN en CD_3OD de una mezcla de monosacáridos a) ^1H b) ^{13}C



Elucidación estructural del compuesto Etil α -fructopiranosido 4

En el espectro de gCOSY del etil α -fructopiranosido se observa que los protones del metilo H-2' (δ 1.15), se acoplan con los protones diasterotópicos H-1' (δ 3.54, 3.76), que es un metileno oxigenado (Figura 25a). El protón del metino H-3 (δ 4.1) se acopla con el protón H-4 (δ 3.94) y el protón H-4 (δ 3.94) se acopla con el protón H-5 (δ 3.75), por último, el protón H-5 (δ 3.75) correlaciona con un metileno diasterotópico; H-6 (δ 3.57, 3.72). Estas correlaciones indican la presencia de una cadena polihidroxilada (Figura 25b). Además, el metileno H-1 se observa como una señal doble para cada protón con una constante $gem=13$ Hz y correlacionan entre sí.

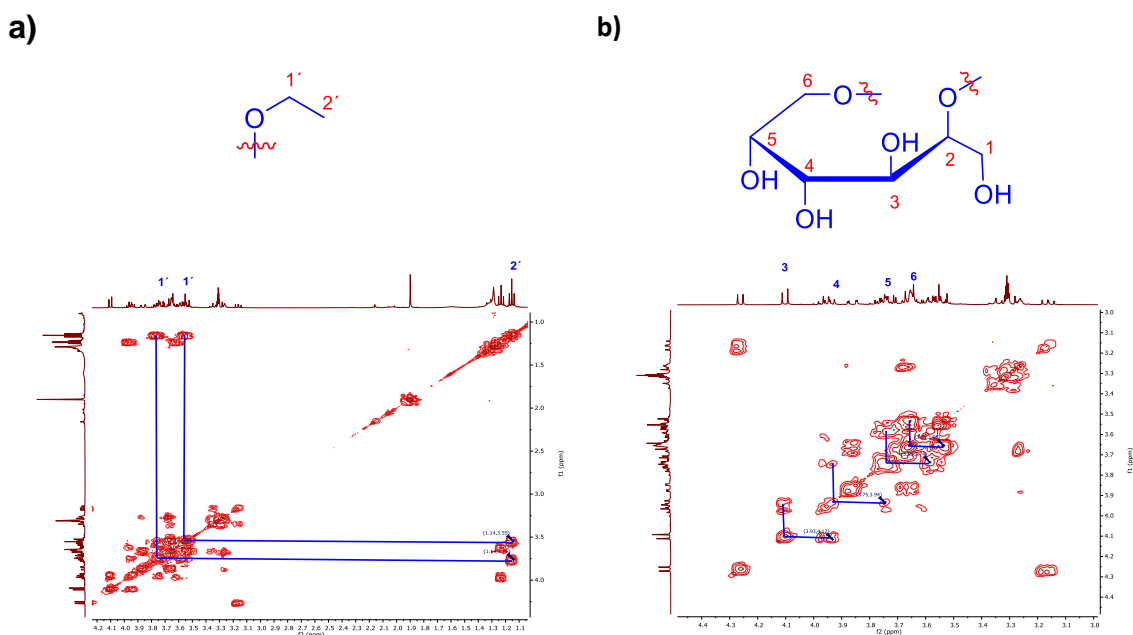


Figura 25. Espectro de gCOSY, fragmentos de una cadena polihidroxilada.

El experimento de gHMBC permite unir los fragmentos observados en gCOSY. El protón del metilo H-2' (δ 1.15) correlaciona con el C-1' (β) del metileno oxigenado



y los protones del metileno H-1' (δ_H 3.54, 3.76) correlacionan con el carbono cuaternario C-2 (J^β) y con el metilo C-2' (J^α), estas correlaciones permiten establecer que el grupo etilo se encuentra situado en el oxígeno que está unido al carbono C-2 de la cadena polihidroxilada.

Los protones H-1 (δ 3.54, 3.64) correlacionan con los carbonos; C-2 (J^α) y C-3 (J^β). El protón del metino H-3 (δ 4.1) correlaciona con el C-4 (J^α) y en el experimento CIGAR correlaciona con el C-1 (J^β). El protón del metino H-4 (δ 3.94) correlaciona con los carbonos; C-6 (J^β), C-3 (J^α) y C-5 (J^α) y el protón H-5 (δ 3.75) en CIGAR correlaciona con el C-6 (J^α). Estas interacciones corroboran la cadena polihidroxilada observada en el experimento gCOSY. Por último, el cierre del anillo como la forma piranósida, se determinó por las correlaciones que presentan los protones de los grupos metilenos; H-6 (J^β , δ 3.57, 3.72), H-1' (J^β , δ 3.54, 3.76) y H-1 (J^α , δ 3.54, 3.64) con el carbono anomérico C-2 (Figura 26b).

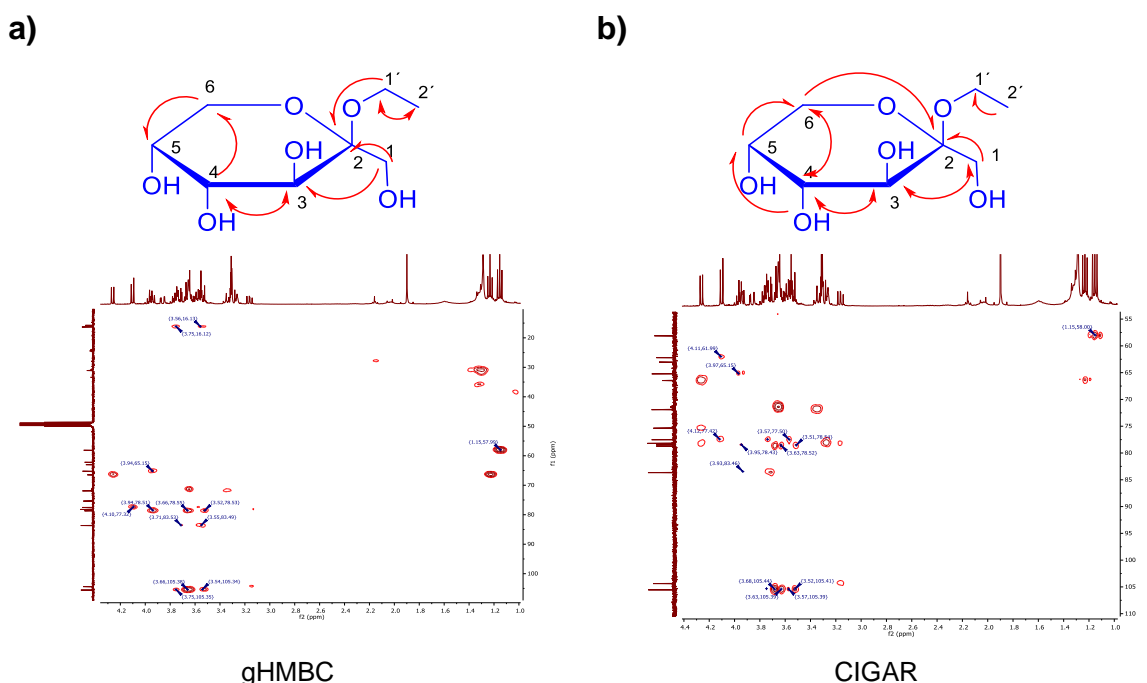


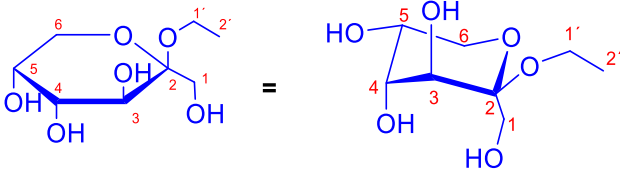
Figura 26. Espectro de gHMBC y CIGAR formación de un anillo piranósido.

Con base en los datos espectroscópicos de RMN de 1D y 2D, se puede afirmar que la estructura corresponde al compuesto etil α -fructopiranósido (**4**). Además, todos



los desplazamientos químicos de RMN corresponden con los datos del compuesto sintético descrito en la literatura [24].

Tabla 4. Datos espectroscópicos de Etil α -fructopiranosido 4.



Etil α -fructopiranosido (4)

	^1H	^1H literatura	^{13}C	^{13}C literatura	COSY	HMBC	CIGAR
C-2'	1.15 (3H, t, J=7.2 Hz)	1.15 (3H, t, J=7.2 Hz)	16.17	16.1	3.54, 3.76	57.9	57.9
C-1'	3.54 (1H, m) 3.76 (1H, m)	3.51-3.61 (1H, m) 3.64-3.79 (1H, m)	57.9	57.9		105.41, 16.17	105.41
C-1	3.54 (1H, m) 3.64 (1H, m)	3.51-3.61 (1H, m) 3.64-3.79 (1H, m)	62.05	61.9		105.41, 78.56	105.41
C-6	3.72 (1H, m) 3.57 (1H, m)	3.64-3.79(1H, m) 3.51-3.61(1H, m)	65.11	65.0		83.52	105.41, 77.38
C-4	3.94	3.94(1H, t, J=7.8 Hz)	77.38	77.3	4.1, 3.75	65.11, 78.56, 83.52	65.11, 78.56, 83.52
C-3	3.94 (1H, d, J=8.4 Hz)	4.09 (1H, d, J=7.8 Hz)	78.56	78.3	3.94	77.38	77.38, 62.05
C-5	3.75 (1H, dd,)	3.64-3.79 (1H, m)	83.52	83.4	3.94, 3.72, 3.54		65.11
			105.41	105.3			

Elucidación estructural del compuesto Etil glucopiranosido 5

En el espectro de $g\text{COSY}$ se observa que los protones del metilo H-2' (δ 1.23), se acopla con los protones diasterotópicos H-1' (δ 3.96, 3.60), que es un metileno oxigenado (Figura 27a). En este experimento el protón anomérico H-1 (δ 4.26), presenta una secuencia de espines con las señales (δ 3.16, 3.35, 3.26, 3.65, 3.66,



3.85), que permite establecer un fragmento polioxigenado como el que presenta la glucosa (Figura 27b).

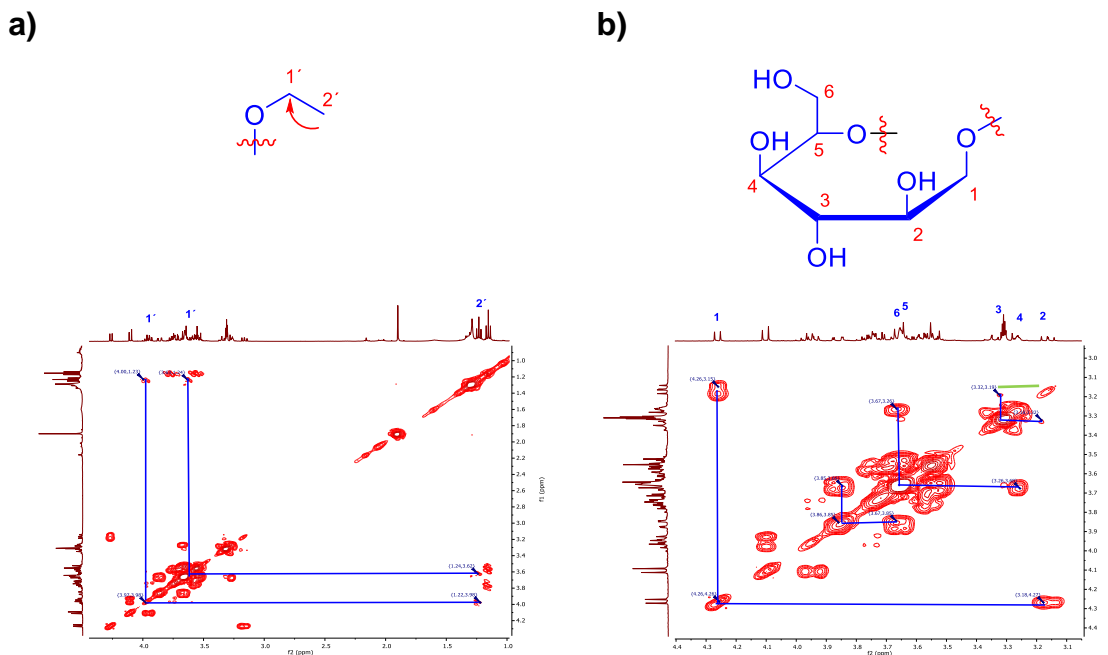


Figura 27. Espectro de gCOSY fragmento de una cadena polioxigenado

El experimento de gHMBC permite unir los fragmentos observados en gCOSY. El protón del metilo H-2' (δ 1.23) correlaciona con el C-1' (J^2) del metileno oxigenado y el protón anomérico (δ 4.26) correlaciona con el metileno oxigenado C-1' (J^3), además en el experimento CIGAR correlaciona con C-2 (J^2) y C-3 (J^3), estas correlaciones permiten establecer que el grupo etilo se encuentra situado en el oxígeno que está unido al C-1 de la cadena polihidroxiada.

El protón H-2 (δ 3.16) correlaciona con los carbonos; C-1 (J^2) y C-3 (J^2), el protón del metino H-3 (δ 3.35) correlaciona con el carbono; C-5 (J^3), mientras que los protones diasterotópicos H-6 (δ 3.66, 3.85) correlacionan con el C-5 (J^2).

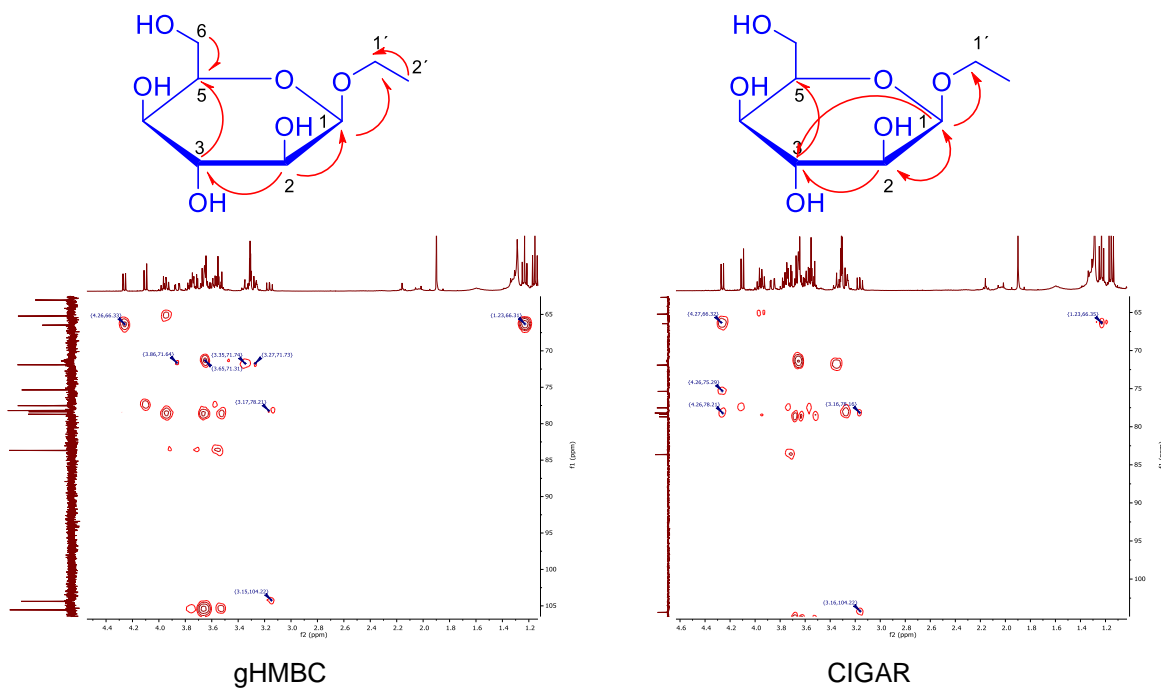


Figura 28. Espectro de gHMBC y CIGAR

Con base en los datos espectroscópicos de RMN 1D y 2D, se puede afirmar que la estructura corresponde a etil glucopiranosido **5**.

Tabla 5. Datos espectroscópicos de etil glucopiranosido					
<p>Etil glucopiranosido (5)</p>					
	¹ H	¹³ C	gCOSY	gHMBC	CIGAR
C-2'	1.23	15.60	3.96, 3.60	66.33	66.33
C-6	3.66 (1H, m)	62.88	3.65	71.77	



	3.85 (1H, m)				
C-1'	3.96 (1H, m) 3.60 (1H, m)	66.33	1.23		
C-5	3.65 (1H, m)	71.77	3.66, 3.85	78.22	
C-2	3.16 (1H, dd)	75.22	4.26, 3.35	104.24, 78.22	104.24, 78.22
C-4	3.26	78.05	3.35, 3.65	71.77	
C-1	4.26 (1H, d, J=8 Hz)	104.24	3.16	66.33	66.33, 75.22, 78.22
C-3	3.35	78.22	3.16, 3.26	71.77	

El compuesto Etil glucopiranosido (**4**) es comúnmente encontrado en algunos alimentos como; raíces vegetales, cítricos y frutas [25].

Una de las fuentes de etil glucopiranosido es la planta *Sarcandra glabra*, que es una hierba usada en la medicina tradicional china [26, 27].



8. CONCLUSIÓN

El estudio fitoquímico del pseudobulbo de *Oxalis tetraphylla* CAV, permitió identificar por primera vez en esta especie cinco compuestos: β -sitosterol **1**, que es un esteroide que presenta diversas actividades biológicas como: larvicida y tripanosida, dos nuevos compuestos propuestos por primera vez en este género, **dihidroquinonas 2, 3** que presentan una estructura relacionada con las belamcandaquinonas que han sido aisladas en plantas del género Ardisia. Además, se aislaron dos derivados de etil hexosas (Etil fructopiranosido **4** y Etil glucopiranosido **5**). En base a nuestra revisión bibliográfica, las estructuras de las dihidroquinonas (**2, 3**) no han sido descritas como metabolitos en productos naturales, por lo que son dos moléculas novedosas.



9. REFERENCIAS

1. Medina, L.; Cortes, F.; Forero, J.E.; Maya, W.; *Rev. Fitoter.* **2015**, *15*, 129-136.
2. Claramunt Vallespi, R.M. Farrán Morales, M.A. López García, C. Pérez Torralba, M. Gutiérrez, D.S.M. *Química bioorgánica y Productos naturales*. Ed. UNED, 2013.
3. Ravelo, A.; Braun, A.; *R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat.* **2009**, *103*, 409-419
4. Pomilio, A.B. *Acta Bioquim. Clin. Latinoam.* **2012**, *46*, 173-182.
5. Marcano, D. Hasegawa, M. *Fitoquímica Organica*, Ed.Cdch Ucv, 2012.
6. Mizokami, H.; Yokotani, K.; Yoshitama, K. *J. Plant. Res.* **2008**, *121*, 133-136.
7. Manna, D.; Dutta, P.; Achari, B.; Lohia, A. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **2010**, *54*, 4825-4832.
8. Ibrahim, M.; Hussain, I.; Imran, M.; Hussain, N.; Hussain, A.; Mahboon, T. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2013**, *23*, 630-634.
9. Rehman, A.; Rehman, A.; Ahmad, I. *Int. J. Anal. Chem.* **2014**, *2015*, 1-6.
10. Feresin, G.; Tapia, A.; Sortino, M.; Zacchino, S.; Arias, A.; Inchausti, A.; Yaluff, G.; Rodriguez, J.; Theoduloz, C.; Hirschman, G. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *88*, 241-247.
11. DellaGreca, M.; Previtera, L.; Purcaro, R.; Zarrelli, A. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1664-1667.
12. Dellagreca, M.; Purcaro, R.; Previtera, L.; Zarrelli, A.; *Chem. Biodivers.* **2008**, *5*, 2408-2414.
13. DellaGreca, M.; Previtera, L.; Purcaro, R.; Zarrelli, A.; *Chem. Biodivers.* **2009**, *6*, 459-465.
14. DellaGreca, M.; Previtera, L.; Zarrelli, A. *Nat. Prod. Res.* **2010**, *24*, 958-961.



15. Gucluturk, I.; Detsi, A.; Weiss, E.; Ioannou, E.; Roussis, V.; Kefalas, P. *Phytochem. Anal.* **2012**, *23*, 642-646.
16. Rayyan, S.; Fossen, T.; Andersen, O. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 10057-10060.
17. Fossen, T.; Rayyan, S.; Holmberg, M.; Nateland, H.; Andersen, O. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 1133-1140.
18. Fossen, T.; Rayyan, S.; Holmberg, M.; Nimtz, M.; Andersen, O. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 652-662.
19. González, B.J.; Rodríguez, M.; González, M.; Zamilpas, A.; López, M.E.; Aguilar, L.; González, R.; Torres, J.F.J.; Olmedo, A.; Mendoza, P. *J. Helminthol.* **2017**, *91*, 1-8.
20. Saeidnia, S.; Manayi, A.; Gohari, A.R.; Abdoliahi, M. *Eur. J. Med. Plants.* **2014**, *4*, 590-609.
21. Chaturvedula, V.S.; Prakash, I. *Intel Curr. Pharm. J.* **2012**, *1*, 239-242.
22. Habib, M.; Nikkon, F.; Rahman, M.; Haque, M.; Karim, M. *Pak. J. Biol. Sci.* **2007**, *10*, 4174-4176.
23. Liu, H.; Zhao, F.; Yang, R.; Wang, M.; Zheng, M.; Zhao, Y.; Zhang, X.; Qiu, F.; Wang, H. *Phytochemistry* **2009**, *70*, 773-778.
24. Liu, J.; Tang, Y.; Wu, K.; Bi, C.; Cui, Q. *Carbohydr. Res.* **2012**, *350*, 20-24.
25. Food Data Base. Compound Ethyl beta-D-glucopyranoside (FDB001255). (Accesado: 27 de abril de 2018). Recuperado de <http://foodb.ca/compounds/FDB001255>
26. Chem Faces. (Accesado: 27 de abril de 2018). Recuperado de www.chemfaces.com/natural/ethyl-glucoside
27. Sarcandra glabra powerful for cancer and inflamation. (Accesado: 27 de abril de 2018). Recuperado de <http://paulharder.wordpress.com>

