

TRABAJO FIN DE GRADO

CURSO 2018-2019

GRADO EN FARMACIA

---

**“ESTUDIO FITOQUÍMICO DE  
*SMILAX CANARIENSIS* WILLD”**

Alumno: Daniel Ganosa Pérez

Tutor: Jesús Manuel González Díaz

## ÍNDICE

	Página
<b>1. ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>5</b>
<b>3.1 MATERIAL VEGETAL</b>	<b>5</b>
<b>3.2 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO</b>	<b>5</b>
<b>3.3 FRACCIONAMIENTO FITOQUÍMICO</b>	<b>6</b>
<b>3.4 TÉCNICAS DE AISLAMIENTO</b>	<b>9</b>
<b>3.3.1 Cromatografía en capa fina (CCF)</b>	<b>9</b>
<b>3.4.2 Cromatografía en fase reversa de media presión C-18</b>	<b>9</b>
<b>3.4.3 Cromatografía de exclusión molecular (CEM)</b>	<b>9</b>
<b>3.4.4 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)</b>	<b>9</b>
<b>3.5 TÉCNICAS DE ELUCIDACIÓN</b>	<b>10</b>
<b>3.5.1 Resonancia magnética nuclear (RMN)</b>	<b>10</b>
<b>3.5.2 Espectrometría de masas (EM)</b>	<b>11</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>12</b>
<b>5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA</b>	<b>14</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b>	<b>15</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>16</b>
<b>8. ANEXOS: GALERÍA DE ESPECTROS</b>	<b>17</b>

## 1. ABSTRACT

Plants continue to be an important source of new chemical and pharmacophore structures. The biosynthesis of natural products, also known as secondary metabolites, is related to the interaction of plants with their environment and with natural selection.

With the objective of carrying out a phytochemical study and isolating some of the secondary metabolites present in the Canarian endemism *Smilax canariensis* Willd (family Smilacaceae), the n-butanol extract (intermediate polarity) was extracted from fresh leaves and stems, which fractionated using different chromatographic techniques until finally obtaining the pure products.

The interpretation of the spectroscopic data obtained by the application of different spectroscopic techniques allowed the structural elucidation of 5 compounds: quercetin-3-*O*-rutinose (rutin) **1**, quercetin-3-*O*-rutinose decaacetate **1a**, kaempferol-3-*O*-rutinose nonaacetate **2**, *trans*-resveratrol **3** and 1-*O*-*p*-coumaroylglycerol triacetate **4**.

Finally, it was carried out in a bibliographic study of the biological activities and therapeutic applications of isolated natural products.

## 2. INTRODUCCIÓN

Históricamente el uso medicinal de las plantas se extiende a la práctica totalidad de los tiempos y de los pueblos de la tierra. Las plantas medicinales tienen la capacidad vital de sintetizar un elevado número de compuestos químicos que tienen su origen en la selección natural y cuya función es primordial para la preservación de la vida de la planta sobre la tierra, como adaptación al medio en que vive, a las condiciones atmosféricas, resistencia frente a otras plantas o animales, atracción o defensa frente a insectos, etc. [1]

El metabolismo primario vegetal es el origen de una pequeña parte de los principios activos que se encuentran en las plantas, organismos autótrofos, que además poseen un **metabolismo secundario** que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos se denominan **metabolitos secundarios** (también conocidos como **productos naturales**) y constituyen el origen fundamental de los principios activos de las plantas medicinales y de su acción terapéutica. [1,2]

Los principios activos derivados de plantas se agrupan en 3 clases principales:

- **Compuestos fenólicos:** Ácidos fenólicos, Cumarinas, Lignanos, Flavonoides, Taninos, Quinonas.
- **Terpenoides y esteroides:** Aceites esenciales, Oleorresinas, Iridoides, Lactonas sesquiterpénicas, Saponinas, heterósidos cardiotónicos.
- **Alcaloides o isoprenoides.**

### PLANTA A ESTUDIO:

*Smilax canariensis* Willd es una especie endémica de Canarias y Madeira, perteneciente a la familia *Smilacaceae*, popularmente conocida como “zarzaparrilla sin espinas”. Se trata de una planta subarborescente, trepadora y con forma de liana. Sus tallos son largos, las espinas que presentan en la base van desapareciendo progresivamente y la distingue de *Smilax aspera*. Sus hojas son alternas, anchas, carnosas, y, otra diferencia con su pariente, sin bordes espinosos. Sus flores son unisexuales y se disponen en umbelas a lo largo de un eje. Sus frutos son bayas de color rojizo, negros al madurar. [3,4]

Quedan muy pocos ejemplares en Madeira, y en Canarias solo se encuentra en unas pocas zonas del norte de Tenerife, y en algunas áreas de La Palma y La Gomera. Su hábitat es el interior del monte verde, donde recibe la sombra y humedad que requiere.[4]

Se le han atribuido una gran variedad de propiedades medicinales: sudorífica, diurética, depurativa, laxante, hipoglucemiante. Las partes utilizadas como medicina son el rizoma, las hojas y el tallo que habitualmente se emplean como infusión de agua caliente. Como principios activos fundamentales contiene, saponinas esteroidales: parrillina y compuestos fenólicos: flavonoides. [3]



**Imagen 1.** *Smilax canariensis* Willd.

## OBJETIVOS:

El principal objetivo de este trabajo es la búsqueda de productos naturales a partir del extracto de n-butanol de *Smilax canariensis* Willd.

Para llevarlo a cabo se ha seguido el siguiente plan de trabajo:

- Fraccionamiento del extracto de n-butanol por cromatografía en fase reversa de media presión C-18 y cromatografía de exclusión molecular.
- Aislamiento y purificación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Elucidación estructural de los productos puros mediante técnicas espectroscópicas y de espectrometría de masas.
- Estudio bibliográfico de las actividades biológicas de los compuestos.

## **3. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **3.1 Material vegetal**

*Smilax canariensis* se recolectó en la isla de La Palma (Islas Canarias-España) en San José-Cuatro Caminos de Breña Baja a 290 m de altitud (UTM E 228608–N 3172246), el 16 de octubre de 2011. Fue identificado por el Dr. Pedro Pérez de Paz, Departamento de Botánica, Universidad de La Laguna (Tenerife, España), donde se han depositado especímenes de muestra (TFC 49.941).

### **3.2 Preparación del extracto:**

Las hojas y tallos frescos (50:50) finamente divididos de *Smilax canariensis* se maceraron hasta agotamiento en una mezcla agua: etanol al 95 %. Una vez filtrado y concentrado al vacío a 60°C, utilizando un evaporador rotatorio, dio un residuo de color marrón y aspecto gomoso.

El residuo de etanol obtenido (extracto crudo) se resuspendió en agua y mediante partición líquido-líquido, en embudo de decantación, se repartió entre agua y disolventes orgánicos de polaridades crecientes, para producir tres nuevos extractos.

En primer lugar, el residuo se resuspendió en agua y extrajo tres veces con diclorometano, obteniendo una fracción soluble en diclorometano y una fracción acuosa. La fracción orgánica se llevó a sequedad, produciendo un residuo de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

A continuación, la fracción acuosa se extrajo tres veces con n-butanol, obteniendo una fracción soluble en n-butanol y una fracción acuosa. La fracción orgánica se llevó a sequedad dando un residuo de n-butanol.

### **3.3 Fraccionamiento fitoquímico**

Una alícuota del extracto de n-butanol se fraccionó por cromatografía en fase reversa de media presión C-18. Como eluyente se usaron mezclas de agua destilada y metanol con polaridad decreciente. Se recogieron 40 fracciones de 500ml cada una, que se concentraron al vacío en un rotavapor y se transfirieron a viales. Estas subfracciones fueron sometidas a sucesivas cromatografías en capa fina (CCF).

Por similitud en CCF se reunieron las fracciones 20-24 SM, se concentraron al vacío en rotavapor hasta sequedad y se redisolvió en metanol. Luego se sometió a cromatografía de exclusión molecular (CEM) en Sephadex LH-20, usando como fase móvil una mezcla de metanol y diclorometano (1:1).

Esta columna rindió 18 fracciones recogidas en viales. De acuerdo con su similitud en CCF se reunieron las fracciones 8-9 Sph, La purificación posterior por precipitación, a través de una mezcla de metanol/diclorometano, permitió aislar un producto puro que mediante las diferentes técnicas espectroscópicas realizadas se identificó como *trans*-resveratrol **3**.

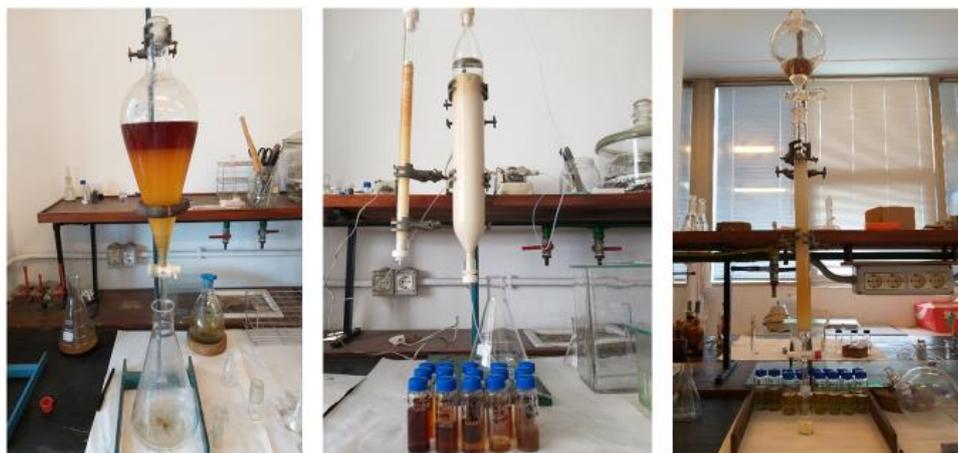
También fueron reunidas por similitud en CCF las fracciones 5-6 Sph y tras su purificación por precipitación, a través de una mezcla metanol/acetato de etilo, se volvió a purificar el sobrenadante con hexano y el precipitado con una mezcla metanol/diclorometano/hexano. Esto permitió aislar un producto puro cuya elucidación estructural por medio de técnicas espectroscópicas se identificó como quercetin-3-O-rutinoso **1**.

El siguiente paso fue la acetilación del líquido sobrenadante, para ello, se concentró en rotavapor y se redisolvió en 2 ml de piridina, 4 ml de anhídrido acético y un catalizador que acelera la acetilación (dimetil aminopiridina 99%), dejando reaccionar la mezcla en agitación y en la oscuridad durante 12 horas. Al cabo de este tiempo, se extrae de forma usual, primero con agua para hidrolizar, después con acetato de etilo y por último con HCl al 10 %, para la eliminación de la piridina ya que el HCl reacciona con ésta y forma el cloruro de piridinio que es soluble en agua.

Se eliminó la fracción acuosa y la fase orgánica se lavó con una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> para eliminar el exceso de ácido por neutralización. Por último, se

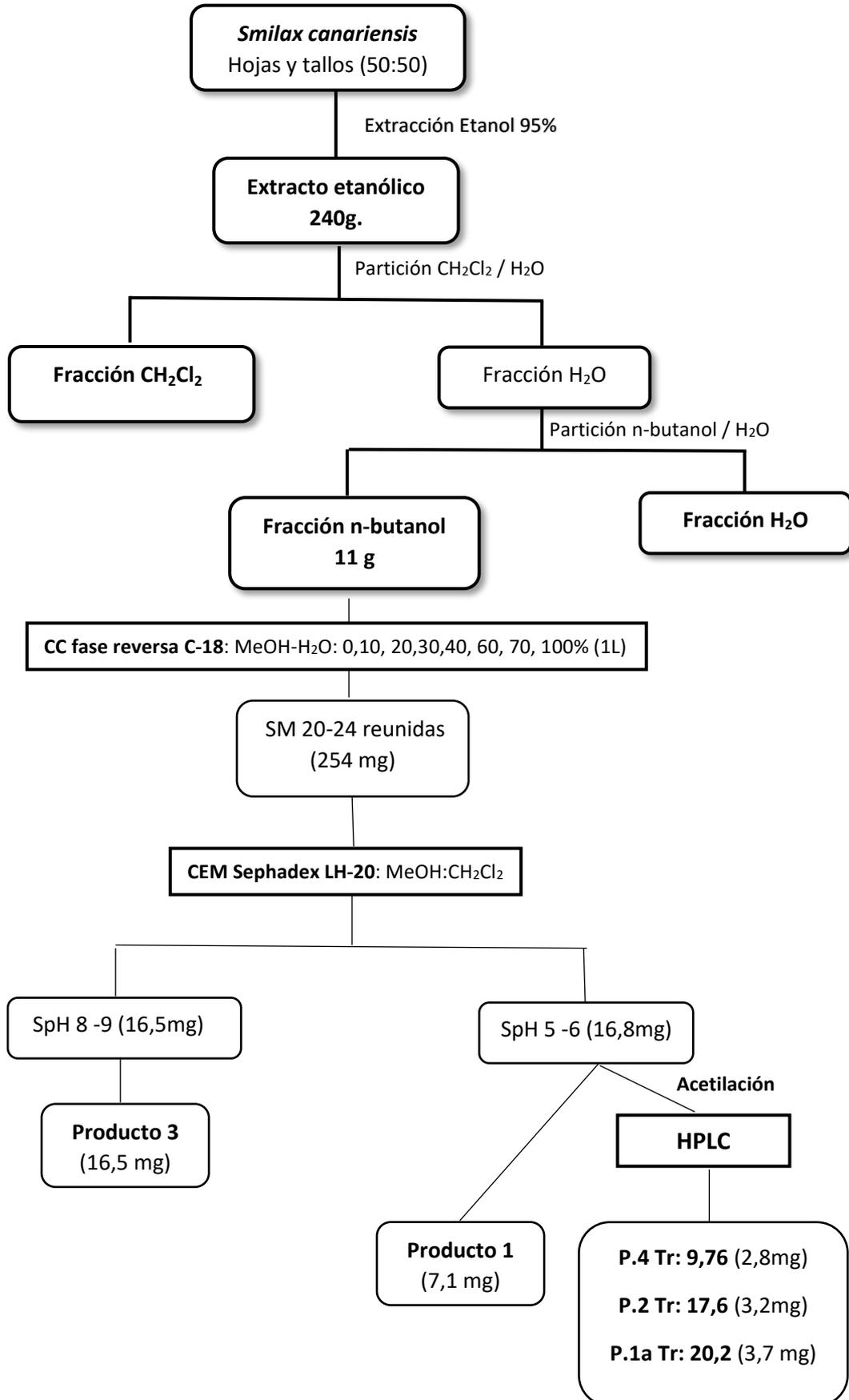
secó con sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró a vacío para su posterior estudio.

Tras realizar una CCF se observó una mezcla de compuestos y el cambio en la polaridad. Se procedió a su purificación por HPLC en columna semipreparativa, siguiendo las condiciones siguientes: disolvente hexano/acetato de etilo (3:7), flujo 2 ml/min y detector con longitud de onda 254 nm. Se obtuvieron tres productos puros: quercetin-3-*O*-rutinosa decaacetato (tiempo de retención, Tr: 20,2) **1a**, kaempferol-3-*O*-rutinosa nonaacetato (Tr: 17,6) **2** y 1-*O*-*p*-coumaroilglicerol triacetato (Tr: 9,76) **4**.



**Imagen 2.** De izquierda a derecha: partición liq-liq., cromatografía en fase reversa y CEM.

Esquema 1. Estudio fitoquímico de *Smilax canariensis*



### **3.4 técnicas de aislamiento:**

#### **3.4.1 Cromatografía en capa fina (CCF).**

Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron sobre cromatofolios (20x20 cm) de sílica gel tipo SIL G-60 de 0.20 mm de espesor, de la casa Macherey-Nagel. Para la elución, se usaron diferentes mezclas de disolventes para lograr la polaridad adecuada que permita la separación deseada. Los cromatogramas fueron visualizados por fluorescencia bajo luz UV a 254 nm y/o 360 nm. Estos se revelaron pulverizando óleum [mezcla de CH<sub>3</sub>COOH: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: H<sub>2</sub>O (8:0,4:1,6)] y posteriormente calentando con una pistola de calor.

#### **3.4.2 Cromatografía en fase reversa de media presión C-18.**

Esta técnica permite separar moléculas en base a su polaridad. La fase estacionaria es de partículas de sílica químicamente modificadas con una cadena lineal de 18 carbonos. Esto convierte a la fase estacionaria en una matriz apolar. Por lo tanto, para este tipo de cromatografías se emplean como eluyente mezclas de solventes polares. Las moléculas se retienen en la columna en virtud de las interacciones hidrofóbicas que establecen con la sílica modificada y para eluir las moléculas es casi siempre necesario disminuir la polaridad del disolvente.[5]

#### **3.4.3 Cromatografía de exclusión molecular (CEM)**

La cromatografía en columna de exclusión molecular se realizó sobre Sephadex® LH-20 de la empresa Sigma–Aldrich Co. Esta fase estacionaria requiere una estabilización previa humectando la resina con metanol durante un mínimo de 12 horas. A continuación, se busca un disolvente adecuado que se utilizará como fase móvil y en el que será soluble la muestra a purificar, que tras ser filtrada se cargará en la cabeza de la columna y se recogen fracciones en viales.

#### **3.4.4 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)**

La HPLC fue realizada por un sistema de bombeo JASCO PU-980 equipado con un detector JASCO UV-975 y con una columna semipreparativa Waters Kromasil Si 5mm (10 x 250 mm). La fase móvil utilizada, con elución isocrática, fue una mezcla de acetato de etilo y Hexano (70:30). Los productos mayoritarios se recogieron en viales a

medida que se visualizaron los picos más altos. Cada compuesto tiene un tiempo de retención (Tr) diferente.

Dado que la columna se construye de micropartículas porosas de sílice, se debe aplicar presión para obtener las velocidades de flujo adecuadas. El resultado neto es una elevada resolución y una separación rápida.[6]

### **3.5 Técnicas de elucidación**

#### **3.5.1 Resonancia magnética nuclear (RMN).**

Los espectros obtenidos de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN unidimensionales y COSY, HSQC, HMBC y ROESY bidimensionales, fueron registrados en los espectrómetros Bruker Avance II 500 (500 MHz) y Bruker Avance III 600 (600 MHz). Las diferentes frecuencias, conocidas como desplazamiento químico ( $\delta$ ) y constante de acoplamiento (J), se expresan en partes por millón (ppm) y hertzios (Hz) respectivamente.

Para calibrar la escala del desplazamiento químico de un espectro de RMN se utiliza siempre un patrón de referencia. En disolventes orgánicos la referencia habitual es el tetrametilsilano (TMS), que se encuentra disuelta en un disolvente deuterado junto con la muestra a estudiar. Deben reunir una serie de características como son: ser químicamente inertes, dar una única señal en RMN y a ser posible en un extremo de la zona espectral para no interferir con las señales de la muestra, y ser miscible con el disolvente deuterado que se está empleando. [6]

El uso de uno u otro disolvente deuterado {cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), acetona deuterada [ $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ], benceno deuterado ( $\text{C}_6\text{D}_6$ ), metanol deuterado ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )} está en función de la solubilidad del producto en el mismo.[7]



**Imagen 3.** Espectrómetro Bruker Avance II 500

### 3.5.2 Espectrometría de masas (EM)

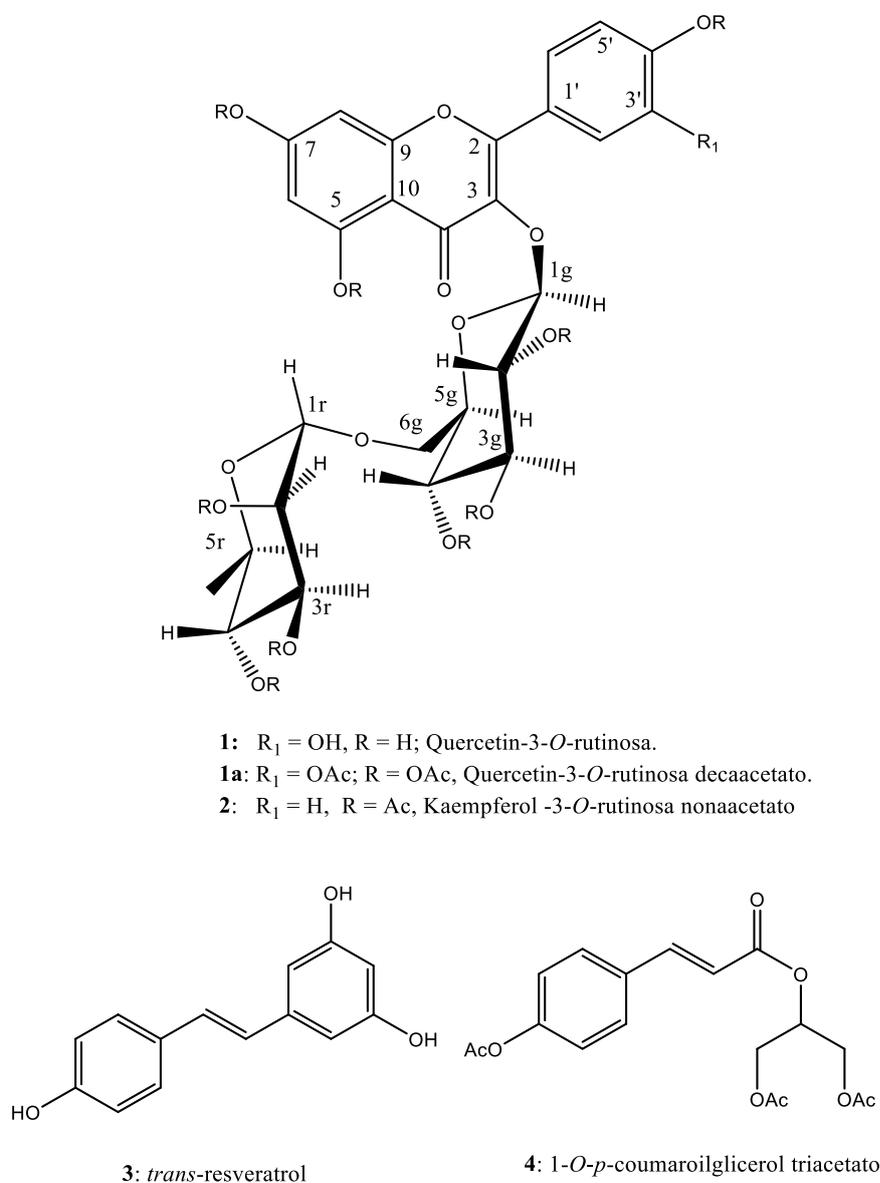
Los espectros de masa fueron realizados por el Servicio de Espectrometría de Masas del Instituto de Productos Naturales y Agrobiología (IPNA). Este centro cuenta con un equipo LCT Premier XE, un espectrómetro que cuenta con dos tipos de fuentes de ionización: electrospray (ESI), una fuente de ionización química a presión atmosférica (APCI) y con un analizador de tiempo de vuelo con aceleración ortogonal (oa-TOF) que proporciona alta sensibilidad, resolución y medida de masa exacta. [8]

En esta técnica, se generan iones de una molécula por aplicación de un haz de láser y se aceleran a través de un campo eléctrico. Estos viajan a través del tubo de vuelo, siendo los iones más ligeros, los que viajan más rápido y llegan antes al detector. El pulso de láser ionizante también activa un reloj que mide el tiempo de vuelo (TOF, “time off light”) de los iones en el campo eléctrico y mide la relación masa/carga ( $m/z$ ). [6]

Los iones que llegan al detector producen una señal eléctrica que es procesada, ampliada y enviada a un ordenador. El resultado de la ionización molecular, la separación iónica, y la posterior detección es un “espectro de masas” donde se representan las abundancias iónicas obtenidas en función de la relación masa/carga de los iones detectados. [8]

#### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el objetivo propuesto de aislamiento y purificación de metabolitos secundarios de *Smilax canariensis*, mediante el estudio fitoquímico de la fracción de n-butanol y después de sucesivas cromatografías, según se detalla en la parte experimental, se consiguió el aislamiento de 5 compuestos: quercetin-3-*O*-rutinosa **1**, (rutinosa = 6- $\alpha$ -rhamnopyranosil- $\beta$ -glucopiranos), quercetin-3-*O*-rutinosa decaacetato **1a**, kaempferol-3-*O*-rutinosa nonaacetato **2**, *trans*-resveratrol **3**, 1-*O*-*p*-coumaroilglicerol triacetato **4**. (ver figura 1).



**Figura 1:** estructuras químicas de los compuestos aislados.

La elucidación estructural de las referidas sustancias se basó en los siguientes datos:

El compuesto **1**, se aísla como un sólido de color amarillo de punto de fusión 240°C, da positiva la reacción del FeCl<sub>3</sub>, característica de fenoles y presenta una fórmula molecular C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>, determinada por espectrometría de masas de alta resolución HREIMS, que muestra el pico del ion molecular a m/z 609.1416 [M-H]<sup>+</sup> (100). El espectro de <sup>1</sup>H-RMN, presenta resonancias de dos protones acoplados en meta a δ<sub>H</sub> 6.35 y 6.17 ppm (cada uno 1H, d, J = 1.9 Hz), correlacionados con los carbonos δ<sub>C</sub> 94.3 y 99.5 ppm, respectivamente, en el espectro de HSQC, característicos de los protones H-6 y H-8 del anillo A para un flavonoide hidroxilado en las posiciones C-5 y C-7. El anillo B fue caracterizado como un anillo bencénico 1, 3, 4-trisustituido (δ<sub>H</sub> 7.76, 1H, d, J = 2.1 Hz, δ<sub>C</sub> 116.3, δ<sub>H</sub> 7.63 1H, dd, J = 8.5 y 2.1 Hz, δ<sub>C</sub> 122.3 y a δ<sub>H</sub> 6.86 1H, d, J = 8.5 Hz, δ<sub>C</sub> 114.7). Las señales a δ<sub>H</sub> 5.06 (1H, d, J = 7.8 Hz, δ<sub>C</sub> 103.4) y a δ<sub>H</sub> 4.5 (1H, brs, δ<sub>C</sub> 101.1) son típicas de dos protones anoméricos. El valor de la constante de acoplamiento de la señal a δ<sub>H</sub> 5.06 ppm es consistente con una unión β-glicosídica. La correlación observada en el espectro de HMBC entre el protón anomérico a δ<sub>H</sub> 5.06 y C-3 de la aglicona en δ<sub>C</sub> 134.6 nos proporciona pruebas para la *O*-glicosilación en C- 3.

La acetilación de **1** con anhídrido acético en piridina rinde el decaacetato **1a** con una fórmula molecular C<sub>47</sub>H<sub>50</sub>O<sub>26</sub> cuyo espectro <sup>1</sup>H-RMN muestra una región central bien resuelta. Los experimentos bidimensionales, COSY, HMBC, HSQC y ROESY, nos permitieron identificar todos los sistemas de spin. Así **1a**, fue identificado como el decaacetato de la quercetina 3-*O*-β-rutinoso.

El compuesto **2** de fórmula molecular C<sub>45</sub>H<sub>48</sub>O<sub>24</sub> se aisló en el proceso de purificación por HPLC de **1a**, con un tiempo de retención 17,6 min. Su espectro de <sup>1</sup>H-NMR es muy similar al de **1a** diferenciándose principalmente por el grado de sustitución del anillo B, que en **2** es un derivado del kaempferol, identificado como el nonaacetato de kaempferol 3-*O*-β-rutinoso.

La sustancia **3**, se aísla como un sólido cristalino de punto de fusión 240°C, da positiva la reacción del FeCl<sub>3</sub> y presenta una fórmula molecular de C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> indicando la presencia de 9 grados de insaturación en la molécula. El espectro de <sup>1</sup>H-NMR indica la presencia de siete hidrógenos ligados a carbonos aromáticos: tres dobletes δ<sub>H</sub> 6.54,

6.82 y 7.41 y un triplete a 6.26, algunos de los hidrógenos presentan el mismo valor de desplazamiento químico debido a la simetría de la molécula. Dos hidrógenos observados a  $\delta_{\text{H}}$  7.01 y 6.88 ppm, cada uno doblete,  $J_{1,3} = 16$  Hz, se corresponden con hidrógenos olefinicos en disposición trans. Las señales a  $\delta_{\text{H}}$  8.21 (2H, s) y 8.48 ppm que desaparecen al añadir una gota de D<sub>2</sub>O al tubo de resonancia, se corresponden con tres grupos hidroxilo. Los datos anteriores nos permitieron identificar a **3** como *trans*-resveratrol, polifenol presente en las uvas algunos frutos secos y el vino tinto, posee interesantes propiedades beneficiosas para la salud.

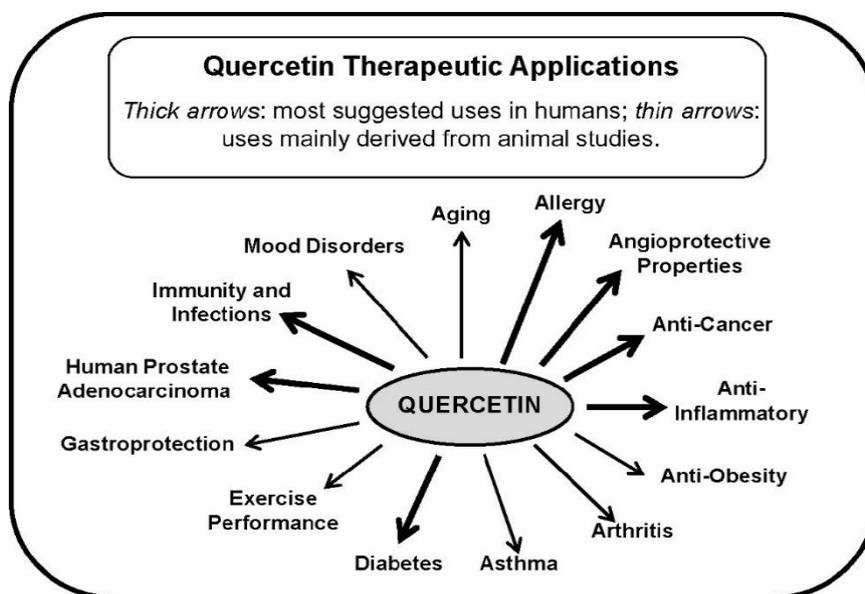
El compuesto **4**, se aisló en el proceso de purificación por HLPC de **1a**, con un tiempo de retención 9.76 min. El espectro de <sup>1</sup>H NMR en benceno deuterado, muestra dobletes acoplados en orto a  $\delta_{\text{H}}$  6.93 (2H, J = 8.4 Hz) y 6.85 (2H, J = 8.4 Hz) en un sistema AB, y dos dobletes trans acoplados a  $\delta_{\text{H}}$  7.72 (1 H, J = 15.9 Hz) y 6.28 (1 H, J = 15.9 Hz). Estos datos sugirieron que **4** tenía un resto *p*-coumaroilo. En la región central del espectro aparecen las señales de cinco protones con un sistema spin de cuatro dobles dobles a  $\delta_{\text{H}}$  3.32 (1H, J = 12.1, 4.0 Hz) y 4.25 (1H, J = 11.9, 4.2 Hz), 4.20 (1H, J = 11.9, 5.8 Hz), 4.05 (1H, J = 12.1, 6.0 Hz), y un multiplete a  $\delta_{\text{H}}$  5.37 (1 H, m). Tres singuletes a  $\delta_{\text{H}}$  1.70, 1.68 y 1.61 (cada uno 3H, s), fueron asignados a tres grupos acetilo presentes en la molécula.

## 5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA.

El *trans*-resveratrol (3, 4', 5- trihidroxi-*trans*-stilbeno) es un estilbenoide, un tipo de polifenol natural no flavonoide y una fitoalexina producida por algunos espermatofitos, como las vides, en respuesta a una lesión o cuando éstas se encuentran bajo el ataque de patógenos [9]. Se ha demostrado que el resveratrol modula el metabolismo de los lípidos e inhibe la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y la agregación de plaquetas. Además, como fitoestrógeno, el resveratrol puede proporcionar protección cardiovascular. Este compuesto también posee propiedades antiinflamatorias y anticancerígenas. Sin embargo, la biodisponibilidad y las vías metabólicas deben conocerse antes de sacar conclusiones sobre los beneficios del resveratrol en la dieta para la salud.[10]

La **quercetina** y sus **O-glicósidos** pertenecen a las estructuras más ubicuas de todos los flavonoles vegetales, una de las cinco subclases de compuestos flavonoides. [11]

Se utiliza en gran medida como un suplemento nutricional y como un remedio fitoquímico para una variedad de enfermedades como la diabetes / obesidad y la disfunción circulatoria, incluida la inflamación y los trastornos del estado de ánimo. Debido a su estructura química básica, la característica más obvia de la quercetina es su fuerte actividad antioxidante que potencialmente le permite apagar los radicales libres para formar radicales fenoxilo estabilizados por resonancia.[12]



**Figura 2.** Aplicaciones terapéuticas prominentes de quercetina. Flechas gruesas: usos más sugeridos en humanos; flechas delgadas: usos derivados principalmente de estudios en animales.

## 6. CONCLUSIONES

Al finalizar el trabajo experimental sobre el estudio fitoquímico de *Smilax canariensis*, se puede concluir lo siguiente:

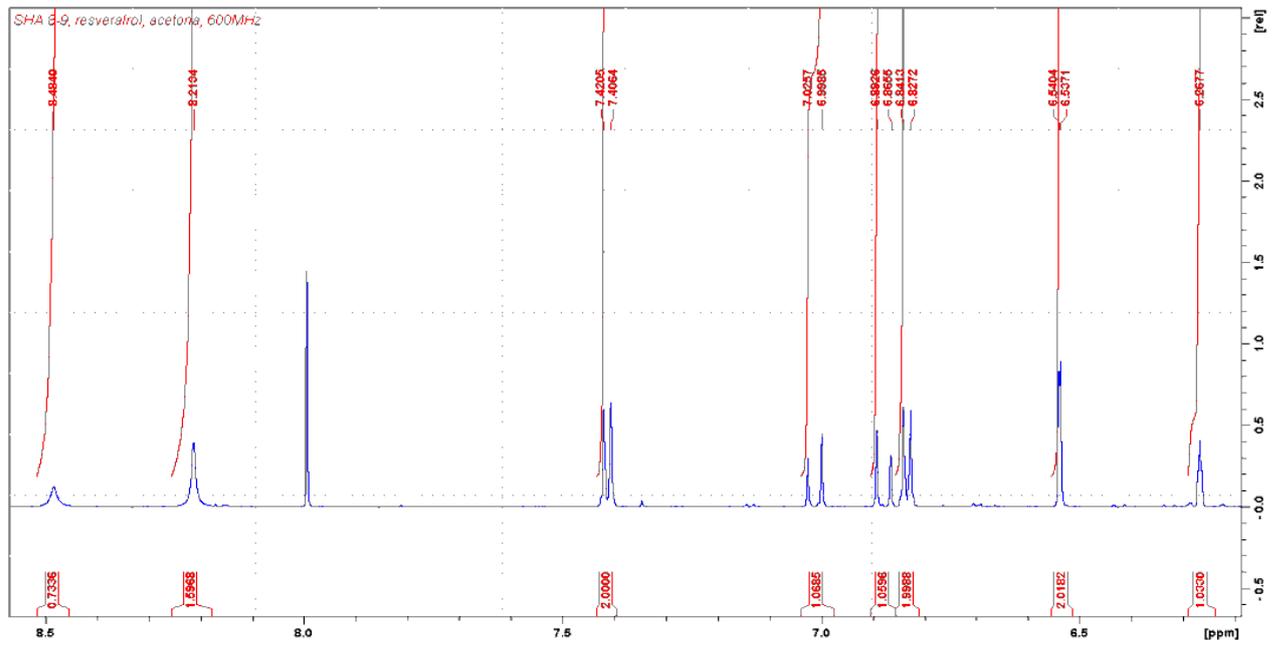
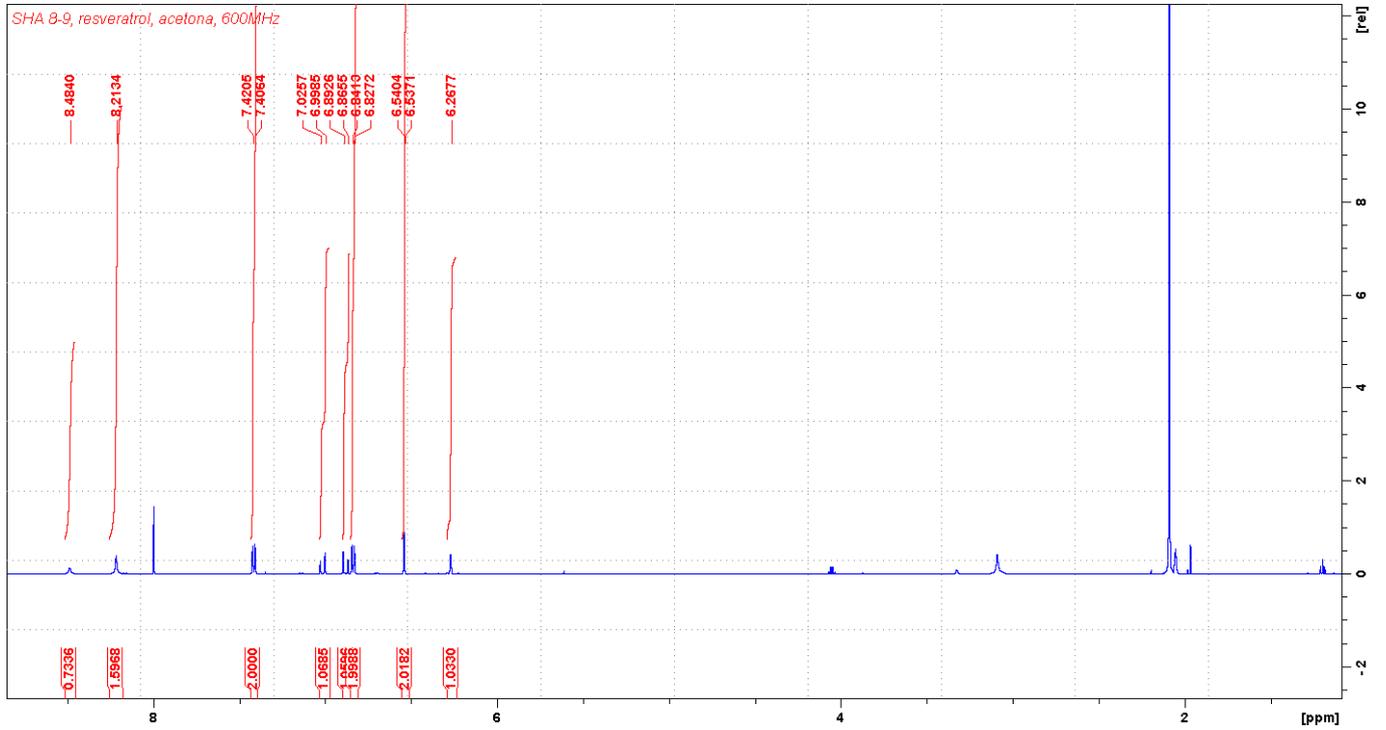
- Los fitoconstituyentes determinados en la parte aérea fresca de la planta son polifenoles que pueden estar relacionadas con las propiedades medicinales que se le atribuyen a la planta.
- Se requiere de mucho tiempo y dedicación para llegar a aislar productos nuevos y determinar las aplicaciones terapéuticas que nos permitan identificar potenciales fármacos.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

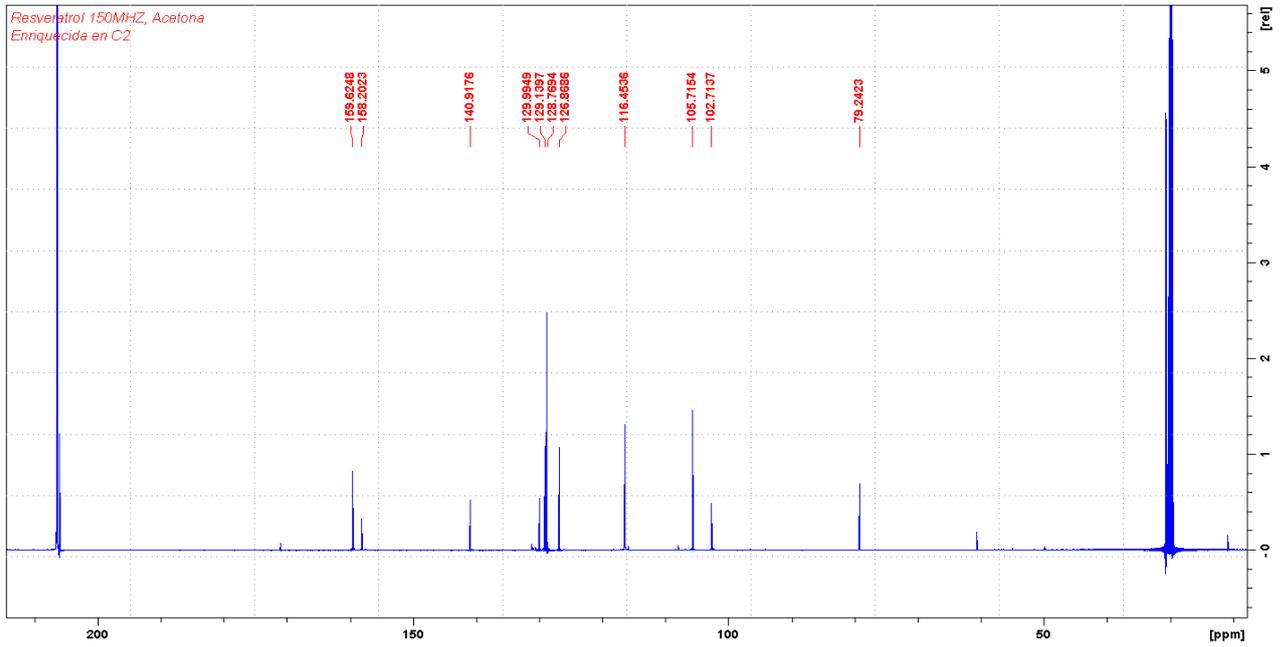
- [1] CRUZ SUÁREZ, S.J. Más de 100 plantas medicinales en medicina popular canaria. Primera edición: octubre 2007. Las Palmas de Gran Canaria: Obra Social de la Caja de Canarias, 2007, pág. 19-39
- [2] ADOLFO ÁVALOS GARCÍA. ELENA PÉREZ-URRIA CARRIL. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, 2009.
- [3] PÉREZ DE PAZ, P.L., HERNÁNDEZ PADRÓN, C.E. *Plantas medicinales o útiles en la flora canaria. Aplicaciones populares*. Tenerife, La Laguna: Francisco Lemus, 1999, pág. 161
- [4] Banco de Datos de Biodiversidad de Canarias.(Consultada el 1/7/2019)  
<https://www3.gobiernodecanarias.org/medusa/wiki/index.php?title=Zarzaparrilla>
- [5] La cromatografía en fase reversa. (Consultada el 15/07/2019)  
<http://depa.fquim.unam.mx/proteinas/estructura/EPrpc.html>
- [6] JEREMY M. BERG, JOHN L. TYMOCZKO, LUBERT STRYER;] *Bioquímica*. Quinta edición, versión española por: Prof. Dr. Miguel Ángel. Trueba. – Barcelona: Reverté, 2013. Capítulo 4.
- [7] Guía para la solicitud, preparación y envío de muestras al servicio de RMN del centro de química orgánica “Lora Tamayo”. (Consultada el 15/07/2019).  
<http://www.cenquior.csic.es/es/rmn/normasdeuso>
- [8] Servicio de Espectrometría de Masas (Consultada el 20/8/2019)  
<https://www.ipna.csic.es/servext/masas/presentación>
- [9] THOMAS WALLE. Bioavailability of resveratrol. *Annals of the New York academy of sciences*. Department of Pharmacology, Medical University of South Carolina, Charleston, South Carolina. ISSN 0077-8923
- [10] FREMONT, LUCIE «*Biological Effects of Resveratrol*». *Life Sciences* **66**: 663-673. PMID [10680575](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10680575/) Vol. 66, No. 8, pp. 663-673, 2000
- [11] VEVERKA, M., DUBAJ, T., GALLOVIČ, J. ET AL. *MONATSH CHEM* (2015) Cocrystals of quercetin: synthesis, characterization, and screening of biological activity. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*.
- [12] GABRIELE D’ANDREA. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia*. Volumen 106.October 2015, Pages 256-27]

## ANEXO: GALERÍA DE ESPECTROS

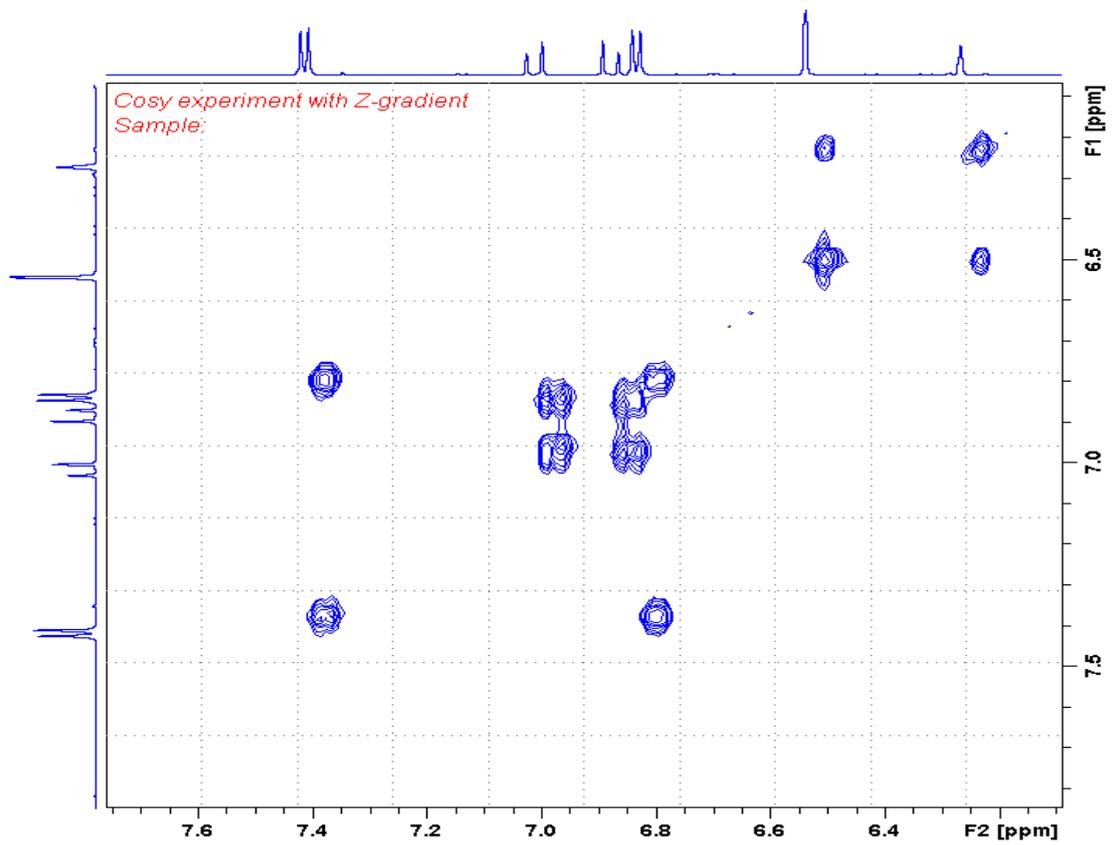
$^1\text{H}$ -RMN: *trans*-resveratrol



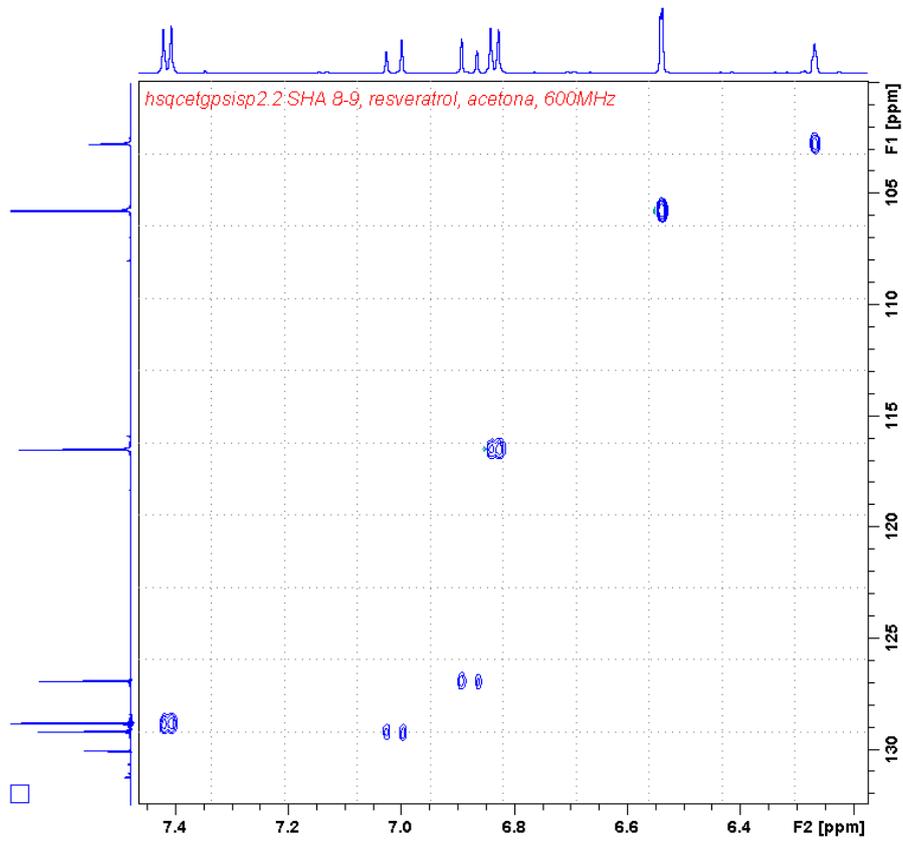
$^{13}\text{C}$ -RMN: *trans*-resveratrol



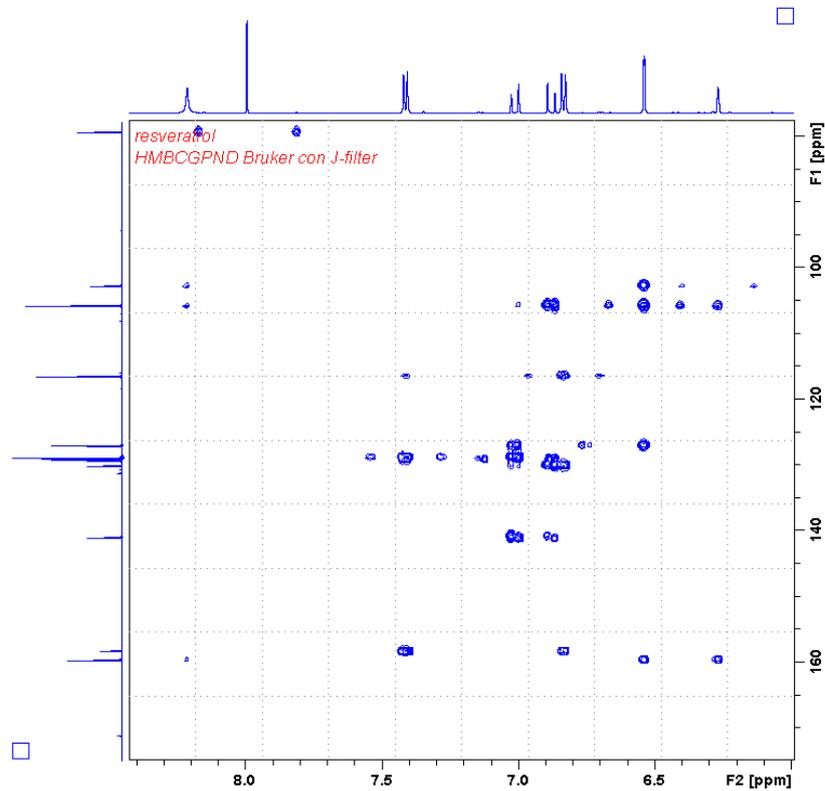
COSY: *trans*-resveratrol



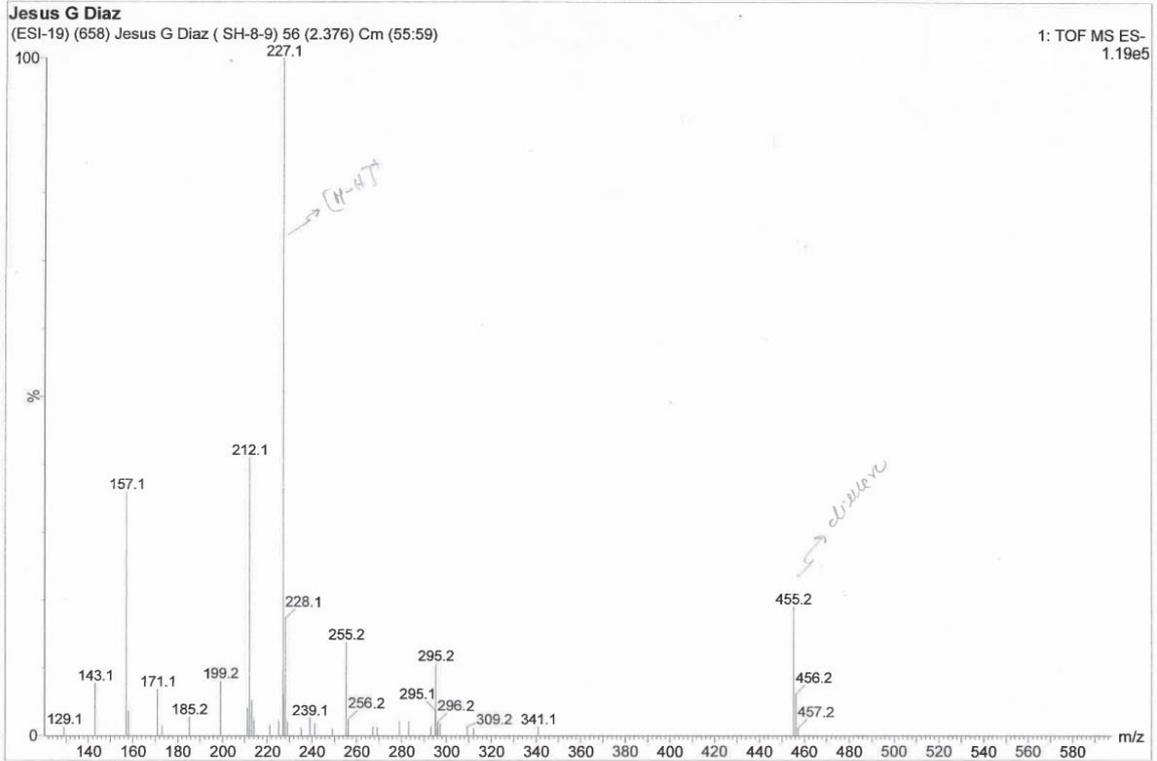
HSQC: *trans*-resveratrol



HMBC: *trans*-resveratrol



*Espectro de Masas: trans-resveratrol*



**Elemental Composition Report**

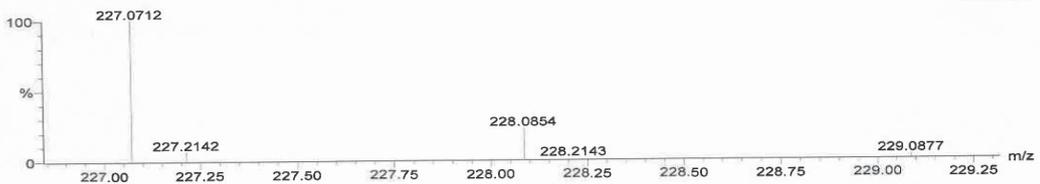
Page 1

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -3.0, max = 120.0  
 Element prediction: Off  
 Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions  
 89 formula(e) evaluated with 1 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)  
 Elements Used:

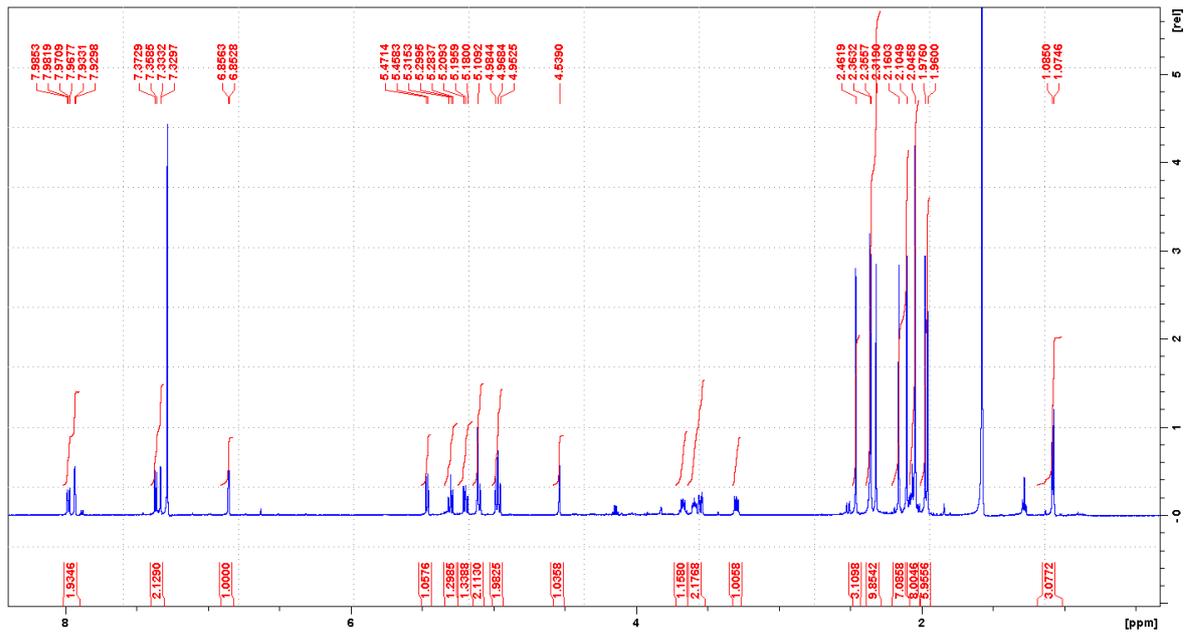
C: 0-60 H: 0-120 O: 0-10 Na: 0-2  
 Jesus G Diaz  
 (ESI-19) (658) Jesus G Diaz ( SH-8-9) 68 (2.894)

1: TOF MS ES-  
2.53e+004

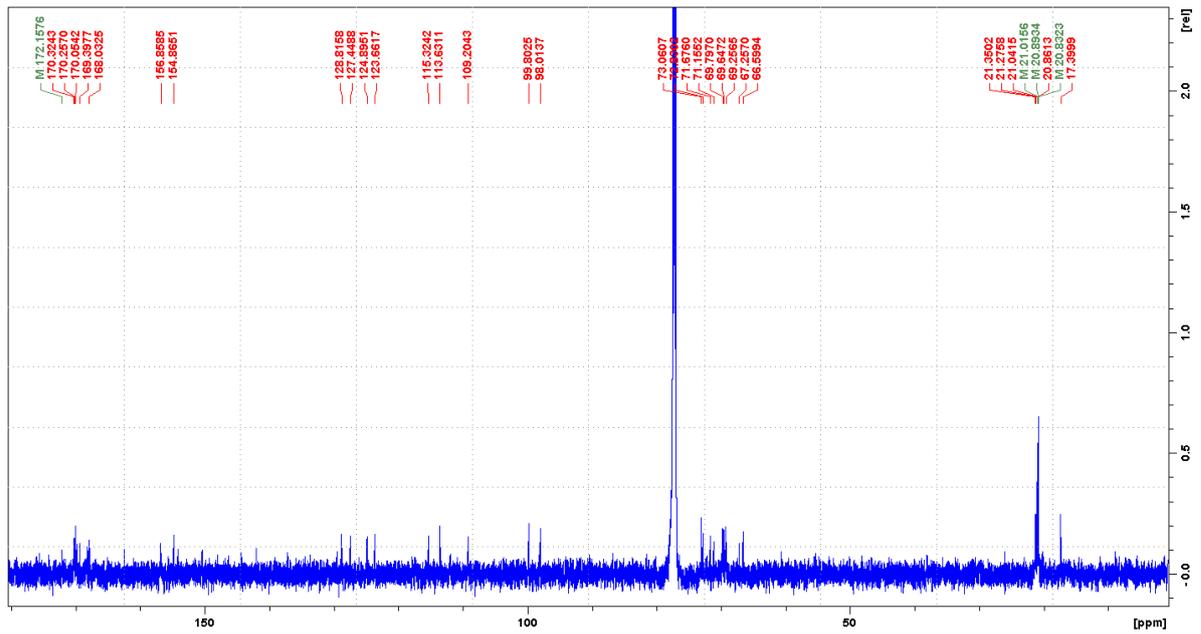


Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	i-FIT (Norm)	Formula
227.0712	100.00	227.0708	0.4	1.8	9.5	53.7	0.0	C14 H11 O3

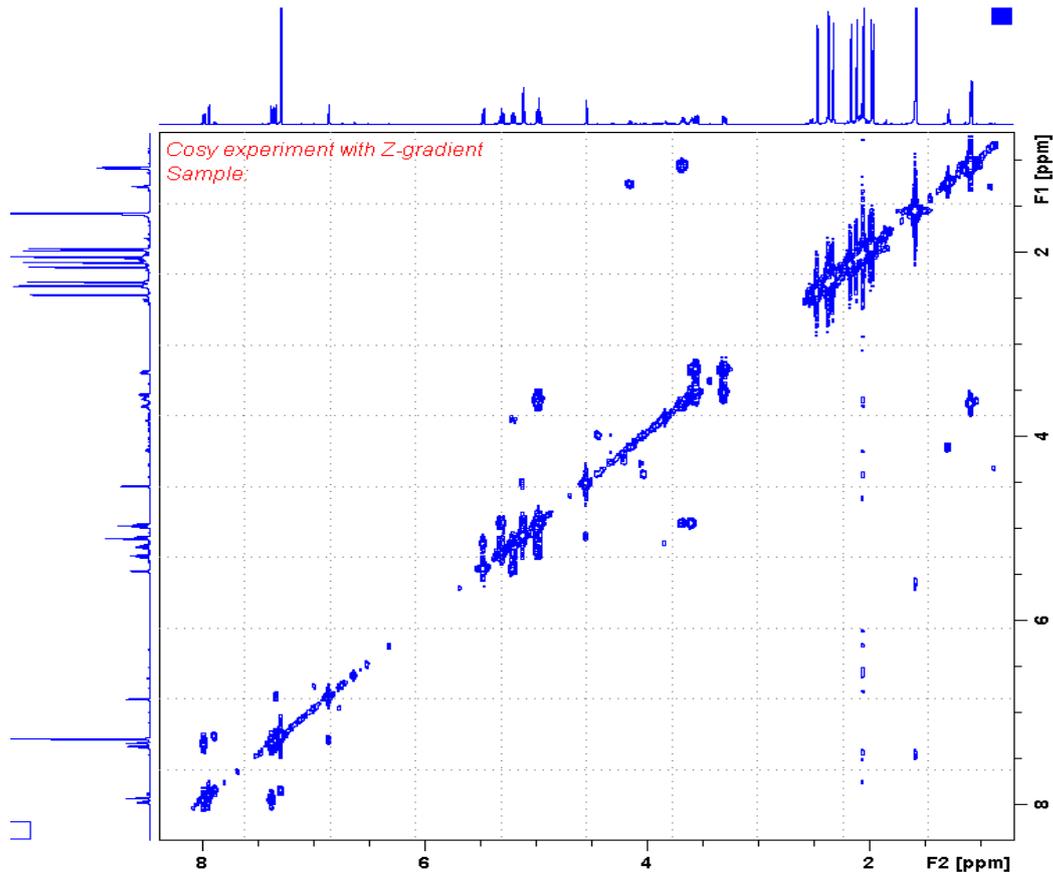
<sup>1</sup>H-RMN: Quercetin-3-O-rutinoso decaacetato



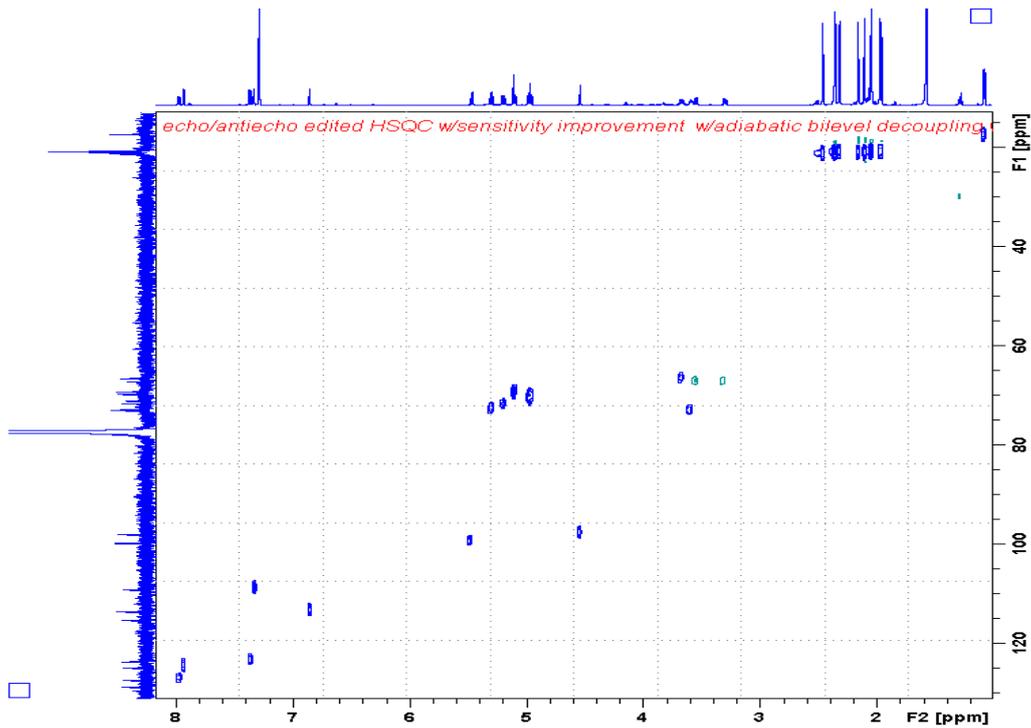
<sup>13</sup>C-RMN: Quercetin-3-O-rutinoso decaacetato



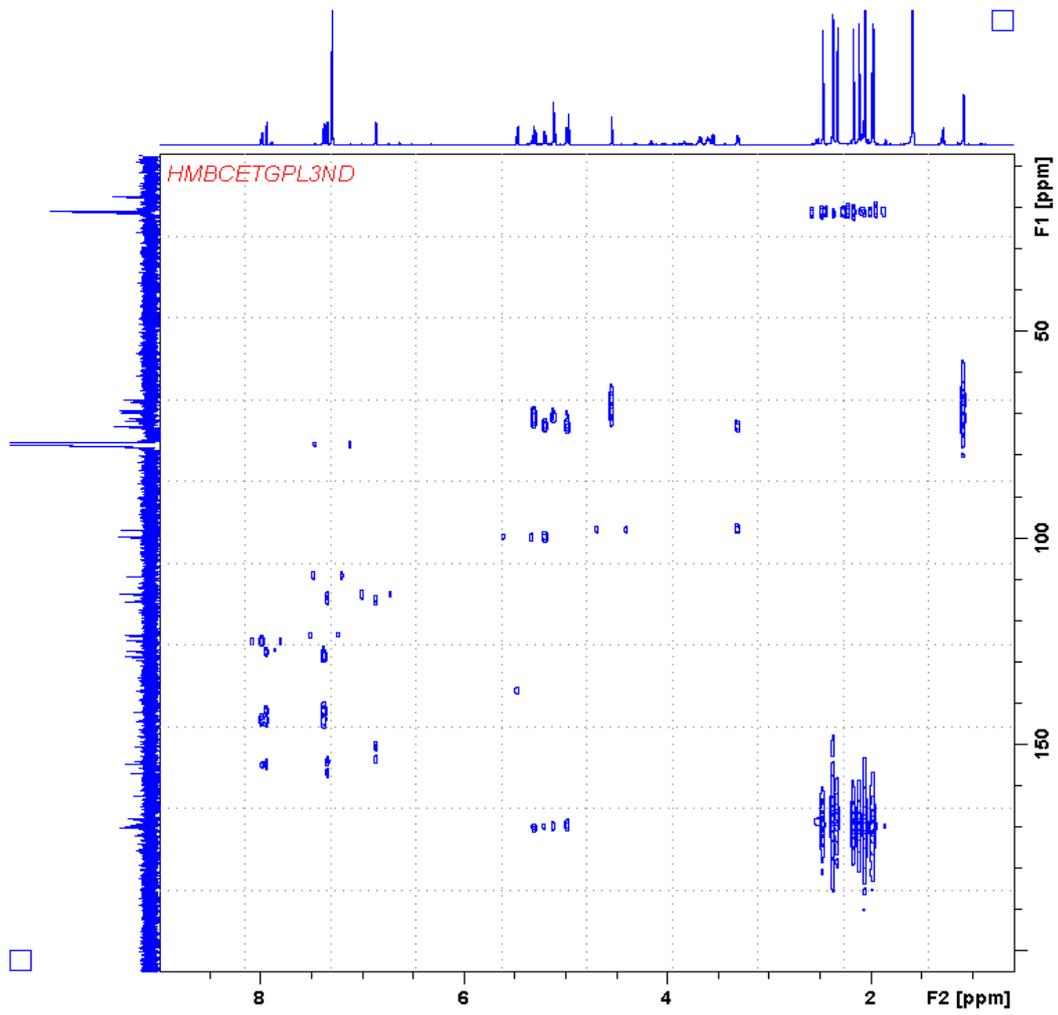
### COSY: Quercetin-3-O-rutinoso decaacetato



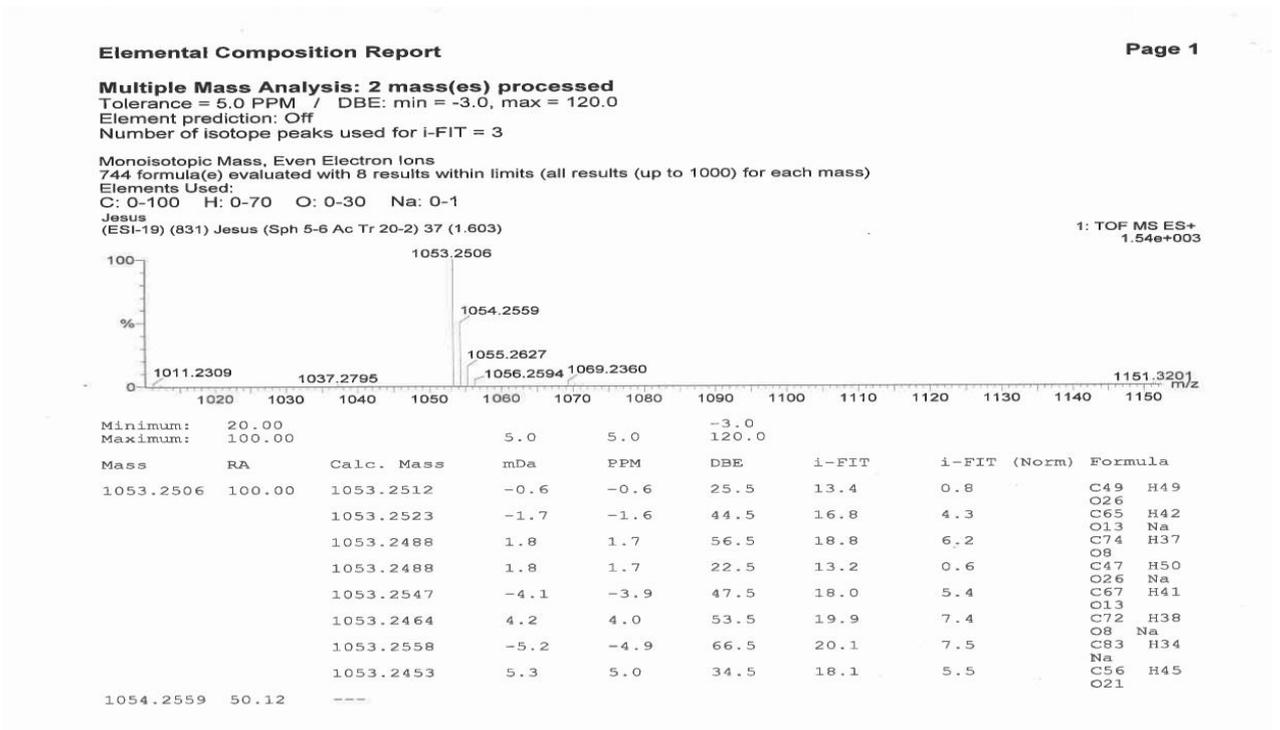
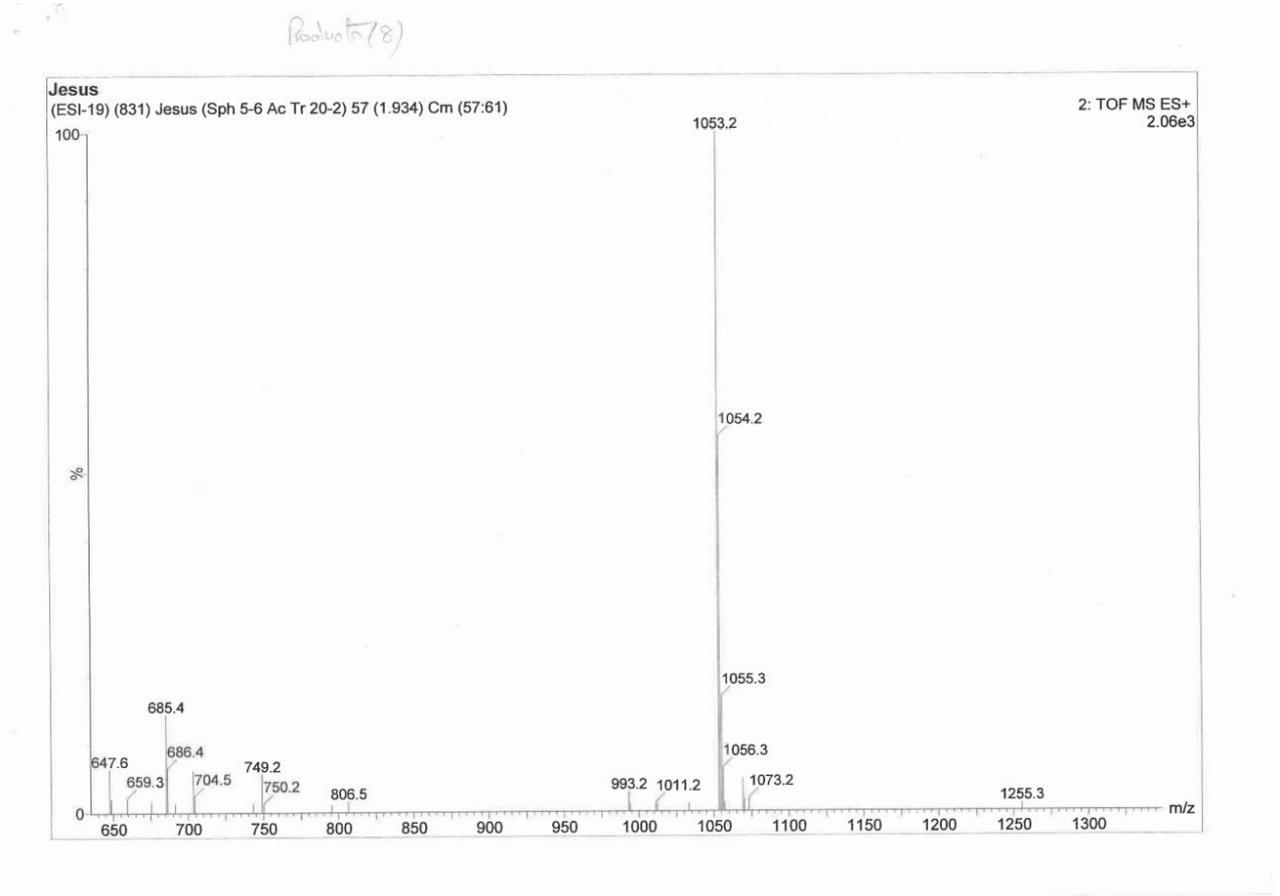
### HSQC: Quercetin-3-O-rutinoso decaacetato



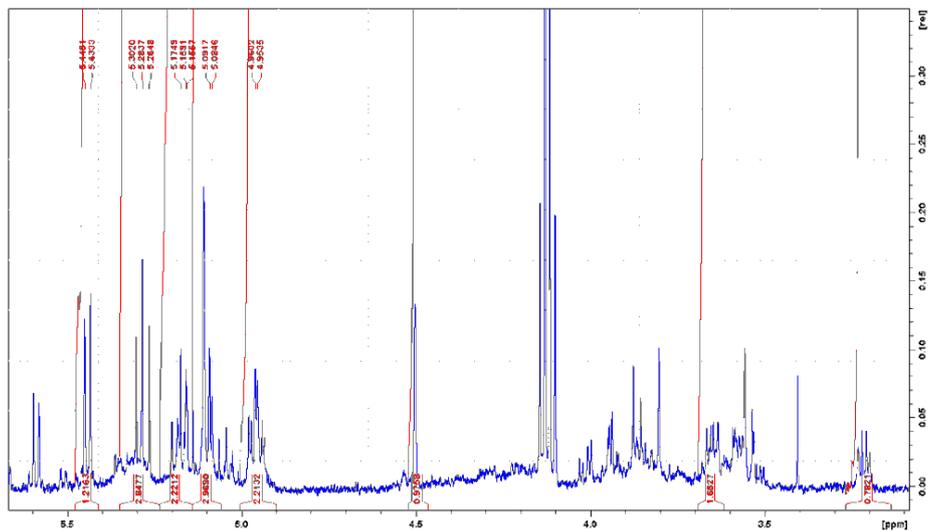
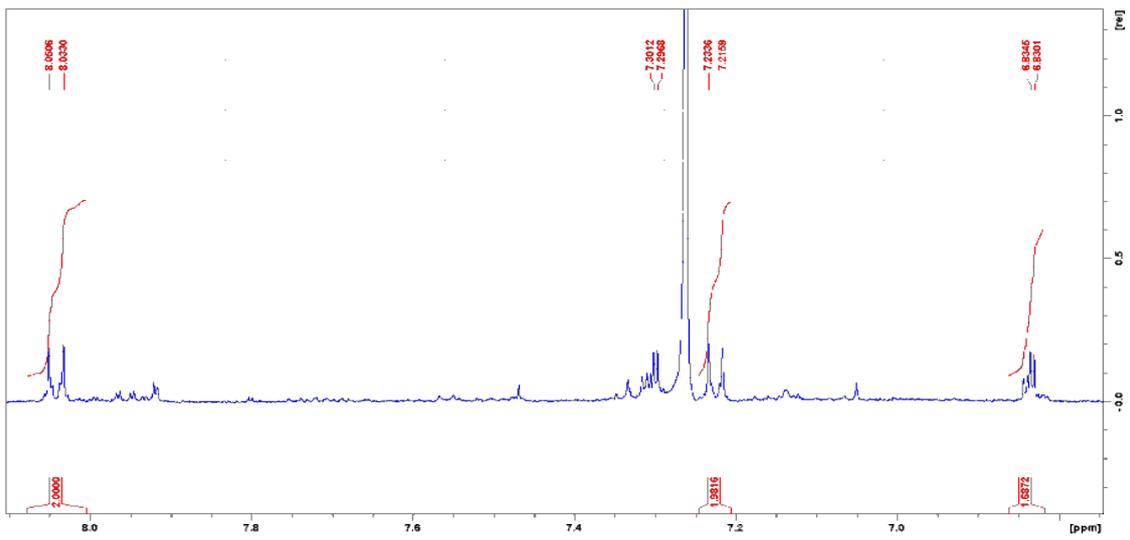
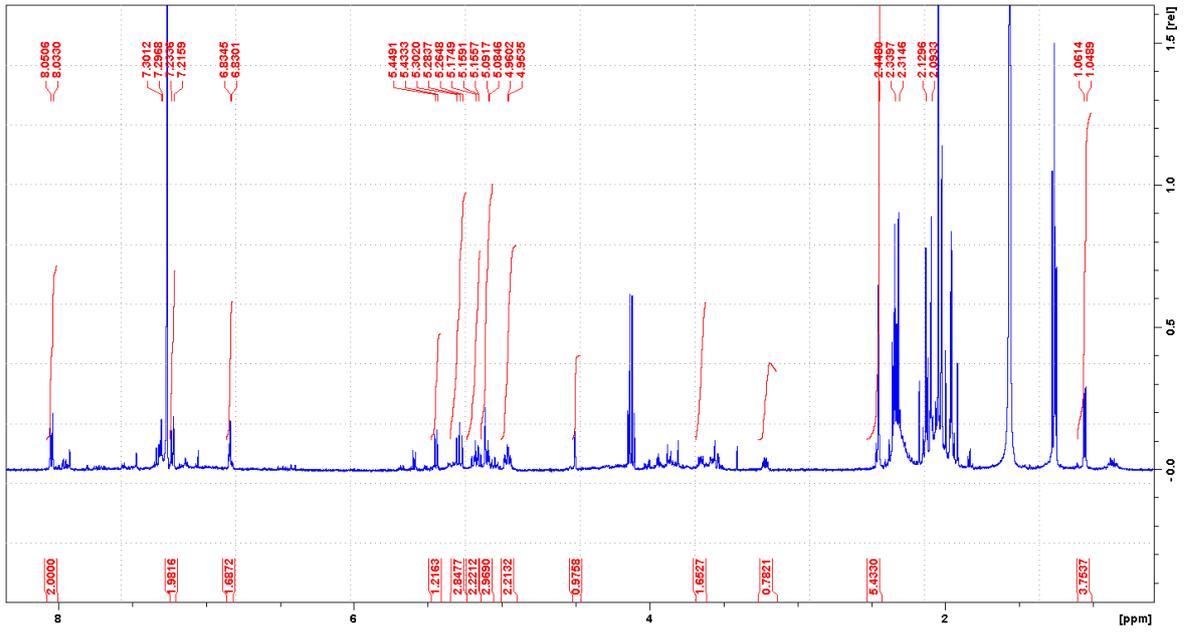
# HMBC: Quercetin-3-O-rutinoso decaacetato



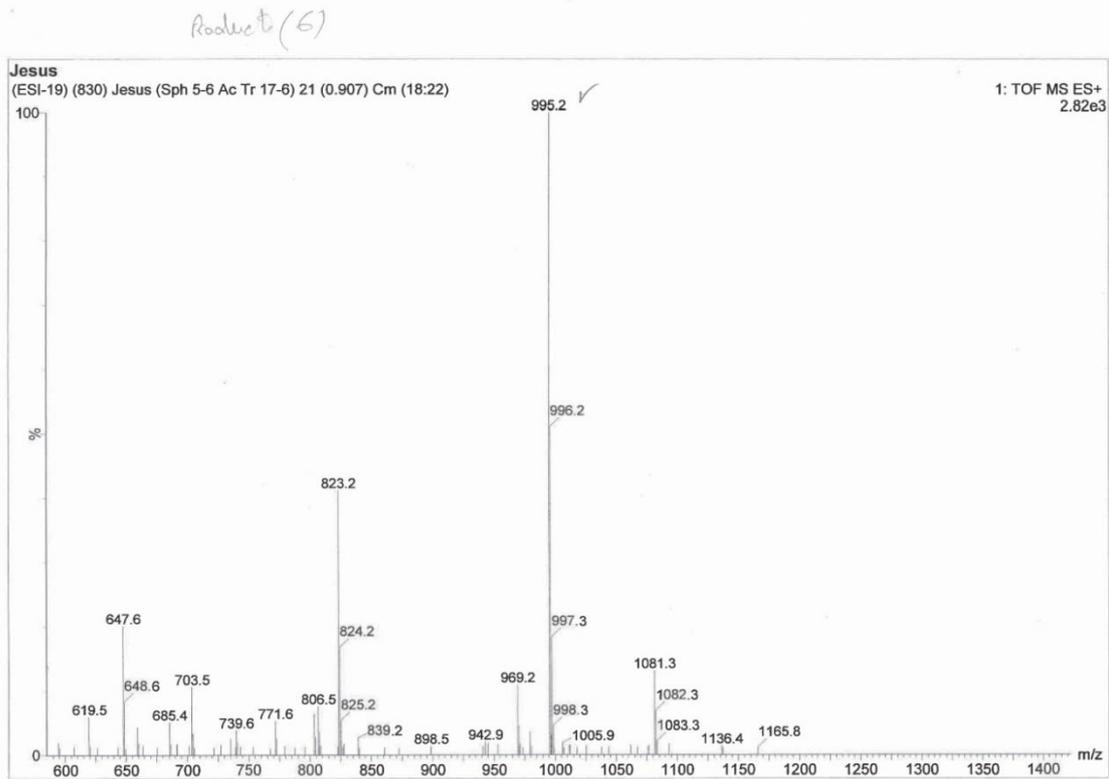
Espectro de Masas: Quercetin-3-O-rutinosa decaacetato



<sup>1</sup>H-RMN: Kaempferol-3-O-rutinoso nonaacetato



Espectro de Masas: Kaempferol-3-O-rutinosona nonaacetato



Elemental Composition Report

Multiple Mass Analysis: 2 mass(es) processed

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -3.0, max = 120.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

744 formula(e) evaluated with 6 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

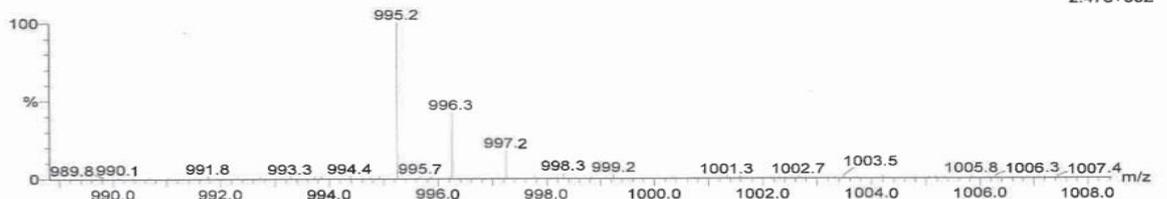
Elements Used:

C: 0-100 H: 0-70 O: 0-30 Na: 0-1

Jesus

(ESI-19) (830) Jesus (Sph 5-6 Ac Tr 17-6) 25 (0.818)

2: TOF MS ES+  
2.47e+002



Minimum: 20.00  
Maximum: 100.00

Mass	RA	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	i-FIT (Norm)	Formula
995.2460	100.00	995.2457	0.3	0.3	24.5	16.9	1.3	C47 H47 O24
		995.2468	-0.8	-0.8	43.5	19.9	4.4	C63 H40 O11 Na
		995.2434	2.6	2.6	55.5	21.1	5.5	C72 H35 O6
		995.2433	2.7	2.7	21.5	16.7	1.2	C45 H48 Na
		995.2492	-3.2	-3.2	46.5	20.8	5.2	C65 H39 O11
		995.2492	-3.2	-3.2	12.5	16.4	0.9	C38 H52 O29 Na
996.2507	42.60	---						

<sup>1</sup>H-RMN: 1-*O*-*p*-coumaroilglicerol triacetato

