

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

Purificación mediante HPLC, caracterización estructural y evaluación biológica de resinas glicosídicas de *Operculina hamiltonii* (Batata de Purga)

Juan Sebastian Carrillo Rojas

Trabajo de grado para optar al título de Químico

Modalidad: Pasantía de Investigación

Directora:

Mabel Clara Fragoso Serrano

Doctora en Ciencias Químicas

Codirectores:

Rogelio Gregorio Pereda Miranda

Doctor en Ciencias Químicas

Julio Roberto Pinzón Joya (UIS)

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2023

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

Dedicatoria

A mis amados padres Janneth y William, cuya incondicionalidad es mi tesoro,

Con su amor, me han enseñado el verdadero valor,

Su apoyo, fuente de fortaleza y bienestar,

Su valentía e inspiración, un faro en mi andar.

A Clau, Wil y Julieth, mi profundo agradecimiento por su apoyo incondicional.

Su generosidad y aliento han sido invaluable en mi travesía.

Gracias por estar siempre allí para mí.

A Lalo, mi ancla constante ante la tempestad de la vida.

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

Agradecimientos

A la Universidad Industrial de Santander, la Facultad de Ciencias y la Escuela de Química por la inestimable formación académica y la invaluable oportunidad de realizar un intercambio internacional.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, la Facultad de Química y el Departamento de Farmacia, por recibirme como estudiante de intercambio y pasante, así como el apoyo brindado bajo el proyecto DGAPA PAPIIT IN-202123. Además, la oportunidad de sumergirme en su riqueza académica y cultura, y por brindarme acceso a sus recursos e instalaciones.

A la Dra. Mabel C. Fragoso Serrano y al Dr. Rogelio G. Pereda Miranda, mi más sincero agradecimiento por recibirme en su laboratorio y por su destacado trabajo como tutores de mi pasantía de investigación. Agradezco su paciencia, conocimiento, enseñanza, dedicación, carisma y amabilidad durante toda mi pasantía.

A la Unidad de Servicios y Apoyo a la Investigación (USAI), de la Facultad de Química (UNAM), por el registro de los espectros de RMN y HPLC-EM.

A mi familia y grandes amigos, mi sincero agradecimiento por su lealtad. Siempre valoraré nuestros momentos juntos y sus sabios consejos.

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto, bajo modalidad de Pasantía de Investigación, se realizó en colaboración con la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), en el Laboratorio 123 Departamento de Farmacia, Conjunto E, Facultad de Química, y bajo la supervisión de la Dra. Mabel Clara Fragoso Serrano y el Dr. Rogelio Gregorio Pereda Miranda.

Contenido

1.	Introducción	1
2.	Objetivos	4
2.1.	Objetivo General.....	4
2.2.	Objetivos Específicos	4
3.	Marco Teórico.....	5
3.1.	Familia <i>Convolvulaceae</i>	5
3.2.	Convolvuláceas Purgantes.....	7
3.3.	<i>Operculina hamiltonii</i>	11
3.3.1.	Morfología.....	11
3.3.2.	Distribución Geográfica	12
3.3.3.	Usos Tradicionales	12
3.4.	Propiedades Farmacológicas	13
3.5.	Resinas Glicosídicas	14
3.5.1.	Composición estructural de las resinas glicosídicas	15
3.6.	Efecto Modulador sobre la MDR	17
4.	Situación Actual del Conocimiento	19
5.	Desarrollo Experimental	27
5.1.	Material vegetal	27

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

5.2.	Preparación del extracto	28
5.3.	Fraccionamiento primario.....	28
5.4.	Purificación y aislamiento mediante HPLC	29
5.5.	Registro de RMN y EM.....	30
5.6.	Evaluación biológica	30
6.	Resultados y Discusión.....	32
6.1.	Extracción	32
6.2.	Fraccionamiento primario del extracto orgánico.....	32
6.3.	Aislamiento y purificación de las resinas mediante HPLC	35
6.3.1.	Análisis por HPLC a escala analítica	35
6.3.2.	Análisis por HPLC a escala preparativa.....	35
6.3.3.	Purificación de BPF10P2	36
6.3.4.	Purificación de BPF10P4	39
6.3.5.	Elucidación Estructural	40
6.4.	Ensayos de citotoxicidad y de modulación de la resistencia	53
7.	Conclusiones	55
8.	Referencias Bibliográficas	56

Listado de Tablas

Tabla 1 Fraccionamiento primario del extracto total de <i>Operculina hamiltonii</i>	28
Tabla 2 Fraccionamiento del extracto total.....	32
Tabla 3 Desplazamientos químicos en RMN ^1H y ^{13}C de los batatinósidos VI (1) y IX (2).....	47
Tabla 4 Ensayos de modulación de la actividad de la vinblastina con glicolípidos aislados sobre las líneas MCF-7 y MCF-7/Vin.	54

Lista de Figuras

Figura 1 Morfología distintiva de la familia <i>Convolvulaceae</i>	6
Figura 2 A) flor y hoja de <i>I. purga</i> ; B) Flores de <i>I. orizabensis</i> ; C) tallos, hojas y raíz de <i>I. stans</i> ; y D) drogacruda de la jalapa oficial (<i>I. Purga</i>).....	8
Figura 3 Representación del Folio 32 rectus.....	10
Figura 4 <i>Operculia hamiltonii</i> con flores amarillas	12
Figura 5 Estructura general de un glicolípido constituyente de las resinas glicósidas de las convovuláceas	17
Figura 6 Estructura química de los ácidos macrocarposídicos	21
Figura 7 Visualización microscópica de la línea celular resistente MCF-7/Vin.....	23
Figura 8 Estructuras de la hamiltoninas	24
Figura 9 Visualización microscópica de la línea celular resistente MCF-7/Vin.....	25
Figura 10 Muestra comercial de raíces pulverizadas de jalapa brasileña	27
Figura 11 Placa cromatográfica de las fracciones.....	33
Figura 12 Espectro de RMN ¹ H de la fracción 10	34
Figura 13 Perfil cromatográfico a escala preparativa donde se observan los picos mayoritarios de interés	36
Figura 14 Perfil cromatográfico a nivel analítico de BPF10P2	37
Figura 15 Purificación del componente mayoritario con clave BPF10P2	38
Figura 16 Perfil cromatográfico a nivel analítico de BPF10P4	39
Figura 17 Perfil de la purificación de la subfracción BPF10P4.....	40
Figura 18 Región anomérica entre 4.6 y 6.4 ppm de espectro de RMN ¹ H.....	41
Figura 19 Región entre 0.8 y 1.7 ppm del espectro de RMN ¹ H de los batatinósidos V1	42

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

Figura 20 Comparativo entre los espectros de RMN ^{13}C (100 MHz) del batatinosido IX (azul) y F10P4 (negro).	43
Figura 21 Comparativo entre los espectros de RMN ^1H del batatinosido IX (azul) y F10P4 (azul oscuro) (400MHz).....	44
Figura 22 Comparativo entre los espectros de RMN ^1H del batatinosido VI (azul) y F10P2 (negro) (400MHz).....	45
Figura 23 Estructura molecular de la resina glicosidica para los batatinósidos VI (1) y IX(2)	46
Figura 24 Coelución mediante cromatografía Líquidos de Alta Eficiencia.....	48
Figura 25 A) UHPLC-ESI-MS en modo de ionización negativa para la detección de aniones de m/z 1153 [M-H]	51
Figura 26 A) UHPLC-LRESI-MS en modo de iones negativos para la detección de aniones de m/z 1199 [M-H+H ₂ O] y 1037.....	52

PASANTÍA DE INVESTIGACIÓN

Abreviaturas y acrónimos

α	Rotación óptica observada en el polarímetro
δ	Desplazamiento químico
[M-H]⁻	Ion pseudomolecular
CH₃CN	Acetonitrilo
CHCl₃	Cloroformo
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia
ESI	Ionización por electrospray
Hz	Hertz
J	Constante de acoplamiento
L	Litro
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
m/z	Relación masa-carga
p.f.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RMN de ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN de ¹H	Resonancia Magnética Nuclear Protónica

Resumen

Título: Purificación mediante HPLC, caracterización estructural y evaluación biológica de resinas glicosídicas de *Operculina hamiltonii* (Batata de Purga)

Autor: Juan Sebastián Carillo Rojas

Palabras Clave: Plantas medicinales, Resinas glicosídicas, *Convolvulaceae*, Purificación, Actividad biológica.

La investigación se enfoca en el estudio de las plantas medicinales, sus compuestos y su relevancia en la oncología. Estos compuestos, como las resinas glicosídicas presentes en plantas de la familia Convolvulaceae, poseen propiedades curativas y pueden ser valiosos en la industria farmacéutica. Se han identificado más de 350 resinas glicosídicas con diversas actividades biológicas.

La familia Convolvulaceae, a la que pertenecen estas plantas, se caracteriza por su diversidad y crecimiento trepador. Sus flores tienen una corola tubulosa y sus frutos se desarrollan en cápsulas. Por ello, este estudio contribuye al conocimiento de las propiedades medicinales de estas plantas y su potencial en la lucha contra el cáncer.

El estudio se lleva a cabo mediante la caracterización de los productos obtenidos de la raíz de jalapa brasileña, *Operculina hamiltonii*, que contiene estas resinas glicosídicas. Esto se logra a través de la identificación de los compuestos mayoritarios, la optimización del método de purificación mediante HPLC, la determinación de su pureza y el análisis de su estructura química. Además, se evalúa la actividad biológica de estos productos en líneas celulares de cáncer de mama.

ABSTRACT

Title: HPLC purification, structural characterization and biological evaluation of glycosidic resins from *Operculina hamiltonii* (Purge Sweet Potato).

Author: Juan Sebastian Carillo Rojas

Keywords: Medicinal plants, Glycosidic resins, Convolvulaceae, Purification, Biological activity.

The research focuses on the study of medicinal plants, their compounds and their relevance in oncology. These compounds, such as glycosidic resins present in plants of the Convolvulaceae family, possess curative properties and may be valuable in the pharmaceutical industry. More than 350 glycosidic resins with diverse biological activities have been identified.

The family Convolvulaceae, to which these plants belong, is characterized by its diversity and climbing growth. Their flowers have a tubular corolla and their fruits develop in capsules. Therefore, this study contributes to the knowledge of the medicinal properties of these plants and their potential in the fight against cancer.

The study is carried out by characterizing the products obtained from the Brazilian jalap root, *Operculina hamiltonii*, which contains these glycosidic resins. This is achieved through the identification of the majority compounds, the optimization of the purification method by HPLC, the determination of their purity and the analysis of their chemical structure. In addition, the biological activity of these products is evaluated in breast cancer cell lines.

1. Introducción

La utilidad de las plantas medicinales para el tratamiento de diversos padecimientos es un hecho bien conocido desde siempre por todas las sociedades (Hardy, 2021). La Organización Mundial de la Salud define a las plantas medicinales como cualquier especie vegetal que contenga sustancias que puedan ser utilizadas con fines terapéuticos y cuyos principios activos puedan servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos (Loraine & Mendoza-Espinosa, 2010).

Actualmente, las plantas medicinales han ganado aceptación como una opción complementaria en el campo de la oncología. Cada año se aíslan de plantas varios compuestos citotóxicos que forman parte de las terapias para combatir el cáncer. La comunidad científica pone especial atención en la investigación de moléculas naturales, que pueden ser de utilidad para la industria farmacéutica. En el mundo existe una gran variedad de compuestos naturales con propiedades curativas que se obtienen de plantas, animales y microorganismos; por ejemplo, los alcaloides analgésicos opiáceos como la morfina o el agente antitumoral paclitaxel (Dehelean et al., 2021).

Los compuestos naturales con importancia medicinal presentan estructuras únicas y diferentes blancos moleculares específicos. En algunos casos su toxicidad y efectos secundarios son bajos, lo que los hace perfectos para tratar diferentes enfermedades. Además, en los últimos años, se han desarrollado derivados de productos naturales con mayor estabilidad y eficacia terapéutica, con el fin de mejorar las propiedades de estos compuestos (Deng et al., 2020).

Las plantas medicinales constituyen una importante fuente de sustancias denominadas metabolitos secundarios, los cuales desempeñan un papel sobresaliente en su adaptación ante el estrés ambiental y en la defensa frente a depredadores y patógenos. Por esta razón, estos principios poseen diversas propiedades biológicas de posible interés farmacológico. Entre estos, se encuentran las resinas glicosídicas que corresponden a oligosacáridos de ácidos grasos característicos de las especies de la familia Convolvulaceae (Pereda-Miranda et al., 2010). Las resinas glicosídicas forman parte del grupo de metabolitos conocidos como glicolípidos, los cuales presentan pesos moleculares altos y estructuras complejas cuya descripción es relativamente reciente (Pereda-Miranda et al., 1993). A la fecha, alrededor de 350 resinas glicosídicas se han descrito en la literatura fitoquímica (Fan et al., 2022; Pereda-Miranda et al., 2010) y han demostrado un amplio espectro de actividades biológicas (Lira-Ricárdez & Pereda-Miranda, 2020).

Numerosas especies de convolvuláceas se utilizan en la medicina tradicional como purgantes, *e.g.*, la raíz de jalapa auténtica (*Ipomoea purga*). Las resinas glicosídicas de las convolvuláceas aumentan la permeabilidad de la membrana celular del tracto gastrointestinal y el transporte de aniones ^{-}Cl para desencadenar un desequilibrio en la homeostasis celular a través de una actividad formadora de poros (Zhou et al., 2022; Zhu et al., 2019). Asimismo, esta clase de compuestos también se han estudiado debido a las numerosas propiedades que se les atribuyen, tales como su actividad purgante, citotoxicidad y reversión de la resistencia a fármacos en células con resistencia cruzada a fármacos derivadas de tumores humanos (Lira-Ricárdez & Pereda-Miranda, 2020).

Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente trabajo se describe el estudio químico de una muestra comercial de la raíz de jalapa brasileña o “batata de purga” (*Operculina hamiltonii*). En este estudio, se logró la purificación mediante HPLC en el modo de reciclaje a nivel semipreparativo de dos principios mayoritarios a partir de una fracción del extracto total (CH_2Cl_2 - CH_3OH , 1:1), con el objetivo de dar continuidad a un trabajo anterior (Moreno-Velasco, 2023) y completar la caracterización estructural de las resinas glicosídicas mayoritarias responsables de las propiedades purgantes de esta planta. Finalmente, se determinó la modulación de las resistencias de los batatinósidos VI y IX.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Caracterizar los productos mayoritarios obtenidos de una fracción de la raíz de jalapa brasileña, *Operculina hamiltonii* (*Convolvulaceae*).

2.2. Objetivos Específicos

1. Identificar los compuestos mayoritarios presentes en la fracción obtenida a partir del extracto orgánico de la raíz de jalapa brasileña (*Operculina hamiltonii*).
2. Optimizar el método de purificación mediante HPLC a nivel preparativo utilizando el reciclaje de muestra con el fin de obtener los compuestos de interés en una cantidad y pureza adecuadas.
3. Determinar la pureza de los compuestos mediante HPLC.
4. Analizar la estructura química completa de los compuestos, incluyendo la identificación de los grupos funcionales presentes, mediante técnicas espectroscópicas y espectrométricas.
5. Evaluar la actividad biológica potencial de los productos mayoritarios (efecto modulador sobre la MDR) presente en una fracción obtenida a partir de un extracto orgánico de la raíz de jalapa brasileña (*Operculina hamiltonii*) en líneas celulares de cáncer de mama.

3. Marco Teórico

3.1. Familia Convolvulácea

La familia Convolvulaceae es altamente diversa y abarca una amplia gama de plantas trepadoras, hierbas y arbustos, aunque rara vez se encuentran especies arbóreas. Pertenecen al orden Solanales y se distribuyen en todo el mundo, especialmente en regiones tropicales y templadas (Simoes y Staples, 2017).

El nombre de esta familia proviene del término latino "convolvere", que significa entrelazado —en referencia a la forma de crecimiento característica de estas plantas como trepadoras—. Sus tallos volubles se entrelazan alrededor de un soporte para sostenerse (Pereda y Bah, 2003; Pereda-Miranda et al., 2010). Las plantas de esta familia suelen ser herbáceas, con tallos a menudo volubles que les permiten crecer como lianas o enredaderas. Tienen hojas simples y carecen de estípulas. Las flores presentan una corola tubulosa o en forma de embudo, con los pétalos fusionados, mientras que el cáliz está compuesto por cinco sépalos separados. El androceo, que se refiere al conjunto de estambres, está unido al tubo de la corola. Los frutos, en su mayoría, se desarrollan en forma de cápsulas (**Figura 1**) (Staples y Brummitt, 2007).

FIGURA 1

Morfología distintiva de la familia Convolvulaceae



Nota: adaptado de Staples & Brummitt, (2007).

La familia Convolvulaceae es conocida por su enorme diversidad de especies y su capacidad de adaptación a diferentes climas y hábitats. Algunos géneros destacados dentro de esta familia incluyen *Convolvulus*, *Ipomoea*, *Calystegia* y *Cuscuta*. Estos géneros contienen numerosas especies que se utilizan tanto en la medicina tradicional como en la jardinería ornamental.

La clasificación actual de la familia Convolvulaceae se ha establecido mediante un análisis filogenético molecular utilizando códigos de barras de ADN. Este análisis se basa en marcadores de genes de cuatro regiones de cloroplastos: *rbcL*, *atpB*, *psbE-J* operon y *trnL-trnF* intron/espaciador (Staples y Brummitt, 2007; Stevens, 2001). Este enfoque molecular ha permitido identificar y reconocer 23 tribus dentro de la familia Convolvulaceae. Además de la clasificación molecular, se han realizado estudios morfológicos para caracterizar aún más estas tribus dentro de la familia (Stefanovic et al., 2002). Estos estudios consideran aspectos como la forma de las flores,

la estructura de las hojas y otros rasgos morfológicos distintivos. La combinación de información molecular y morfológica ha proporcionado una visión más completa y detallada de la diversidad y las relaciones evolutivas dentro de la familia Convolvulaceae.

3.2. Convolvuláceas Purgantes

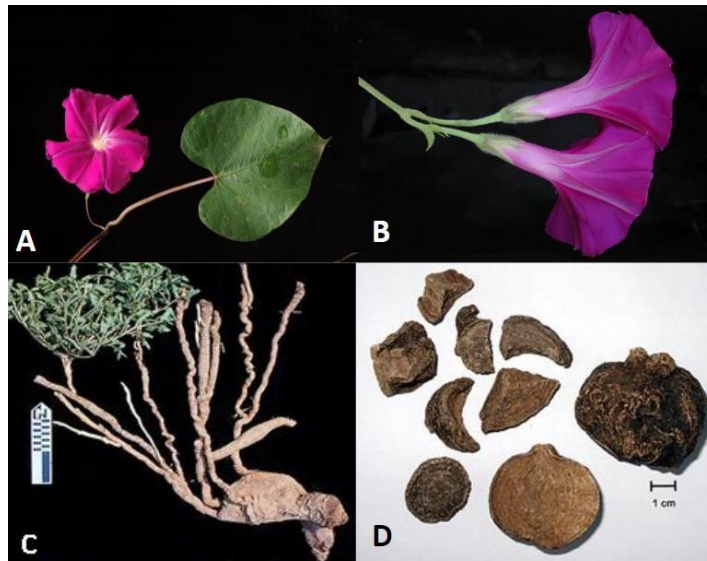
El uso de las especies endémicas de la familia Convolvulaceae en la región mesoamericana está estrechamente relacionado con el desarrollo cultural y etnomédico de las culturas nativas. Un ejemplo destacado de esto es el uso de las semillas de las convolvuláceas *Rivea corymbosa* L. e *Ipomoea tricolor* Cav. —conocidas como *ololiuhqui* en náhuatl—, las cuales han sido utilizadas desde tiempos prehispánicos por los aztecas y otras tribus de la región debido a sus propiedades psicotrópicas y curativas (Hoffman, 1971).

En la herbolaria mesoamericana, se destacan los remedios purgantes o laxantes conocidos como *cacamotili tlanoquiloni* por los aztecas (Hernández, 1959). Estos remedios consisten en diferentes especies de raíces tuberosas, que varían en características morfológicas, hábitat y potencia de sus efectos. Investigaciones botánicas contemporáneas han identificado estas raíces como especies pertenecientes al género *Ipomoea*, formando lo que se conoce actualmente como el complejo medicinal de la raíz de jalapa. Aunque taxonómicamente diferentes a nivel de especie, comparten características morfológicas distintivas como raíces engrosadas y flores en forma de embudos, así como el nombre común de jalapas, un sabor acre en las raíces y una aplicación terapéutica como agente purgante. Algunas de estas especies son *I. purga* (la raíz de la jalapa

auténtica), *I. orizabensis* (falsa jalapa o escamonea mexicana) e *I. stans* (la raíz de la tumbavaqueros), entre otras menos utilizadas (**Figura 2**) (Pereda Miranda et al., 2006).

FIGURA 2

A) flor y hoja de *I. purga*; B) Flores de *I. orizabensis*; C) tallos, hojas y raíz de *I. stans*; y D) droga cruda de la jalapa oficial (*I. Purga*).



Nota: imagen tomada de Pereda-Miranda et al., (2006).

La importancia de estas plantas medicinales llamó la atención de los colonizadores españoles, ya que las propiedades purgantes eran valiosas en la medicina europea galénica del siglo XVI. Estas raíces fueron aceptadas como sustituto de la raíz de escamonea (*Convolvulus scammonia* L.), que se utilizaba desde tiempos precristianos en el imperio romano. La raíz de Michoacán, *I. jalapa* (L.) Pursh, también conocida como ruibarbo de las Indias en los libros de plantas medicinales europeos, fue otra especie de gran importancia en el uso terapéutico de las jalapas comercializadas en Europa. La obra "Great Herball or Generall Historie of Plantes" del

naturalista inglés John Gerard, publicada en el siglo XVII, contiene una ilustración de la raíz de "Michoacán", la cual se hizo popular en la medicina como sustituto menos drástico de la raíz de escamonea (Montiel-Ayala, 2021). Hasta finales del siglo XX, la jalapa (*I. purga*) fue una fuente de ingresos importante para la región de Xico, Veracruz (Linajes et al., 1994). Sin embargo, su demanda ha disminuido debido a la obtención de purgantes de diversas fuentes vegetales alternativas, como la jalapa brasileña (*Operculina hamiltonii* (G.Don) D.F Austin & Staples) y la jalapa de la India (*Operculina turpethum* (L.) Silva Manso), comercializadas por distribuidores alemanes de plantas medicinales (por ejemplo, Müggenburg Group) (Lira-Ricárdez et al., 2019).

Es importante destacar que la raíz de jalapa (*I. purga*) se identificó como la droga cruda auténtica de mayor utilidad en el mundo prehispánico y ha sido ampliamente comercializada hasta la fecha. Se encuentra ilustrada en el Códice de la Cruz-Badiano —considerado el texto más antiguo de medicina escrito en América en el siglo XVI—. La jalapa era prescrita como remedio purgante por los sanadores aztecas (Miranda & Valdés, 1964). La ilustración muestra una hierba trepadora con una raíz tuberosa, hojas ovaladas y acorazonadas, y flores rosa-purpúrea en forma de embudo (**Figura 3**). En la actualidad, se sigue utilizando como purgante para el vientre, como lo indica la descripción latina (*purgatio ventris*) que acompaña a la ilustración para la raíz de jalapa (*uelicpahltli*, lengua nahuatl, *uelic* sabrosa, *pahltli* medicina), y para el tratamiento de lombrices intestinales, meningitis y manchas en la piel (Bye & Linares, 2013).

FIGURA 3

Representación del Folio 32 rectus del manuscrito



Nota: tomado de De la Cruz-Badiano (1552, herbario Azteca), mostrando la ilustración de la raíz de jalapa (I. purga), el ingrediente principal del antiguo remedio purgante prehispánico conocido como "cacamotli tlanoquinoli".

3.3. *Operculina hamiltonii*

La familia Convolvulaceae es una de las más grandes y diversas en la familia de las plantas, con flores con más de 1,650 especies descritas. El género *Ipomoea* es uno de los más representativos de esta familia, con más de 600 especies. Entre ellas se encuentra *Operculina hamiltonii*, conocida popularmente como la raíz de jalapa brasileña o "batata-de-purga" (en portugués) debido a su uso medicinal como laxante. A continuación, se presentará información detallada sobre esta especie, que incluye información sobre su morfología, distribución geográfica, usos tradicionales y propiedades farmacológicas (Bingham & Wallis, 2012; Staples et al., 2020).

3.3.1. *Morfología*

Operculina hamiltonii es una planta trepadora que puede alcanzar hasta 6 metros de altura. Su tallo es leñoso y puede tener hasta 10 cm de diámetro. Sus hojas son grandes, con forma de corazón, de color verde oscuro y pueden medir hasta 20 cm de longitud y 15 cm de ancho. Las flores son grandes, de color amarillo (**Figura 4**) y en forma de trompeta, y se agrupan en inflorescencias terminales. El fruto es una cápsula leñosa, globosa y rugosa que contiene de 1 a 4 semillas.

3.3.2. Distribución Geográfica

Operculina hamiltonii se encuentra en las regiones tropicales y subtropicales de América, desde América Central y las Antillas hasta el norte de Argentina. Se puede encontrar en bosques húmedos, bosques de galería y en zonas perturbadas por el hombre, como bordes de caminos y campos abandonados.

FIGURA 4

Operculina hamiltonii con flores amarillas



Nota: tomado de Fondo Mundial de Información sobre Diversidad Biológica (Montiel-Ayala et al., 2021).

3.3.3. Usos Tradicionales

La *Operculina hamiltonii* ha sido utilizada tradicionalmente como laxante y purgante en la medicina popular. Se ha demostrado que el alto contenido de las resinas glicosídicas en las raíces

de las convolvuláceas de uso en la medicina tradicional estimula el tracto intestinal, lo que puede provocar una evacuación intestinal (Cunha et al., 2011). Además, la raíz de jalapa brasileña también se ha utilizado en el tratamiento de otras afecciones como dolor de estómago, fiebre y trastornos respiratorios.

3.4. Propiedades Farmacológicas

Las resinas glicosídicas aumentan la permeabilidad de la membrana celular a cationes y aniones (Zhu et al. 2019b) para desencadenar un desequilibrio en la homeostasis celular a través de una actividad formadora de poros, actuando como laxantes osmóticos al producir eliminación de agua y peristaltismo del intestino. La acción purgante también se atribuye a la activación del factor nuclear kappa-beta en el colon, que aumenta la secreción mediada por ciclooxigenasa-2 de la prostaglandina E₂, resultando en la disminución de la expresión de acuaporina-3, que inhibe el agua absorbida desde el intestino hasta el vaso sanguíneo (Zhu et al. 2019a). Se han estudiado diversas actividades biológicas de las resinas glicosídicas, metabolitos a los que se le atribuye gran parte de los efectos terapéuticos de las jalapas, resaltando su actividad citotóxica, antifúngica, antibacteriana, anticonvulsivo, antidepresivo, vasorrelajante y efectos de modulación sobre la resistencia cruzada a las drogas terapéuticas de uso clínico en líneas derivadas de tumores humanos (Pereda et al., 2010).

Estudios recientes demostraron que existe una amplia relación entre la estructura anfipática de las resinas glicosídicas y su actividad moduladora sobre los sitios catalíticos de la glicoproteína P (P-gp) y algunos transportadores transmembranales ABC. Estas bombas de extrusión permiten

el desarrollo de la resistencia a fármacos previniendo la acumulación de altas concentraciones de la droga (xenobióticos) en el medio intracelular. Tal es el caso de la tricolorina A, un tetrasacárido macrocíclico aislado de *Ipomoea tricolor* que incrementa la susceptibilidad de las células MCF-7/Vin a la vinblastina con un factor de reversión de 270 ($RF_{MCF-7/Vin+} = CI_{50} \text{ vinblastina} / CI_{50} \text{ vinblastina en la presencia del glicolípido de prueba}$; reserpina $RF_{MCF-7/Vin+} = 19$) (Figuroa-González, 2012) cuando se incorporó a una concentración de 10 μM (Lira-Ricárdez, 2019). Como resultado de estos estudios han surgido un gran número resinas glicosídicas con un importante efecto modulador de la susceptibilidad a la vinblastina de 1 a >1500 veces a las concentraciones de 1 a 25 $\mu\text{g/mL}$ (Figuroa-González, 2012). Así, la murucoidina V, la purgina II, el jalapínósido A y el albinósido III resultaron potentes agentes de reversión en ensayos *in vitro*. La disminución en la expresión de la glicoproteína P, mediada por la murucoidina V y la purgina II, se detectó por inmunofluorescencia y medida por citometría de flujo después de incubar los compuestos de prueba con un anticuerpo monoclonal anti-P-gp (Lira-Ricárdez & Pereda-Miranda, 2020).

3.5. Resinas Glicosídicas

Los azúcares acilados o glicolípidos son un tipo de metabolito secundario de origen vegetal que se caracterizan por su capacidad para producir espuma y viscosidad en solución acuosa. Se encuentran en diversas plantas, particularmente en las familias Solanaceae, Carophyllaceae, Geraniaceae y Convolvulaceae (Kruse et al., 2022). Sin embargo, las resinas glicosídicas de las convolvuláceas muestran los patrones estructurales más complejos entre los diferentes tipos conocidos de azúcares acilados.

3.5.1. Composición estructural de las resinas glicosídicas

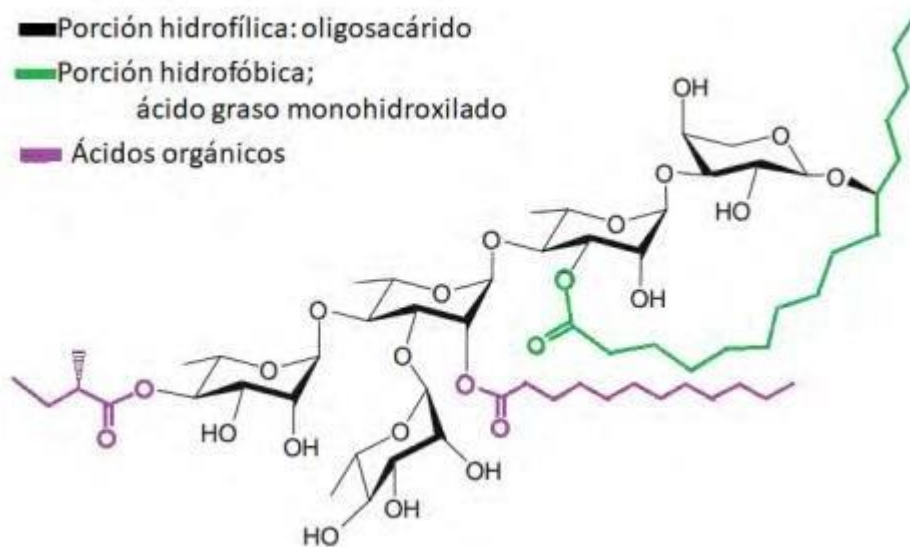
Su composición estructural varía ampliamente dependiendo de la planta de la que se extrae; sin embargo, en general, todas las resinas glicosídicas comparten una estructura básica que consta de un núcleo central de ácido graso mono o dihidroxilado, al cual se encuentran unidos uno o más azúcares a través de enlaces glicosídicos (Pereda-Miranda et al., 2010).

Las resinas glicosídicas constituyen un conjunto de glicolípidos de alto peso molecular. Estos compuestos con un origen biosintético mixto contienen una porción hidrofílica representada por un núcleo oligosacárido y una porción hidrofóbica compuesta por una aglicona, caracterizada por ácidos grasos mono hidroxilados o di hidroxilados de C₁₄ a C₁₈ átomos de carbono unidos a través de un éster cíclico intramolecular con el núcleo sacárido (Montiel-Ayala et al., 2021). Esta diversidad química es el resultado de tres características principales: (i) un núcleo heteropolisacárido de sólo unos pocos residuos de azúcar (hasta siete), que contiene aldohexosas (D-glucosa o D-galatosa) y epímeros de pentosas (L-ramnosa, D-fucosa, D-quinovosa y D-xilosa) en sus formas de piranosa; (ii) monohidroxi y dihidroxi C₁₄-C₁₈ ácidos grasos como las agliconas, que pueden formar una macrolactona; y (iii) esterificaciones de los núcleos de azúcar por ácidos grasos aromáticos o alifáticos que pueden ser de C₂-C₁₆ carbonos de largo. Algunos oligómeros sufren condensaciones intermoleculares para formar dímeros de tipo éster de mayor peso molecular y complejidad (Castañeda-Gómez et al., 2013; Escalante-Sánchez y Pereda-Miranda, 2008).

La mayoría de las veces, el núcleo oligosacárido se encuentra esterificado por ácidos grasos saturados con diferentes longitudes de cadena (**Figura 5**) (Castañeda-Gómez et al., 2013). Por ejemplo, algunas resinas glicosídicas pueden contener a los ácidos acético, nílico, metilbutírico, hexanoico, decanoico y dodecanoico, entre otros. Además, algunos compuestos pueden contener esterios aromáticos, como el cinámico, y otros grupos acilantes menos comunes como el ácido exogónico. El ácido 3,6,6,9-dioxidodecanoico: 2-carboximetil-7-metil-1,6-dioxaspiro-[4,4]-nonano) es un componente característico (~7%) que puede ser aislado como un ácido libre junto con pequeñas cantidades del ácido 4-oxocaprílico (4-oxo-*n*-octanoico) de la jalapa brasileña de flores blancas, *Operculina macrocapa*, y se considera como un marcador quimiotaxonómico para esta planta medicinal purgante.

FIGURA 5

Estructura general de un glicolípido constituyente de las resinas glicosídicas de las convolvuláceas



Nota: tomado de Castañeda-Gómez et al., (2013)

3.6. Efecto Modulador sobre la MDR

La resistencia cruzada a fármacos (MDR, por sus siglas en inglés) se refiere a la capacidad de las células, microorganismos o tumores para volverse resistentes a múltiples medicamentos o agentes quimioterapéuticos. Este fenómeno representa un desafío significativo en los campos médico y farmacéutico, ya que limita la efectividad de muchos tratamientos.

La MDR puede ocurrir en diversos contextos, incluyendo infecciones bacterianas, infecciones virales y cáncer. En las infecciones bacterianas, ciertas bacterias pueden desarrollar resistencia a múltiples antibióticos, lo que dificulta el tratamiento efectivo de las infecciones. De manera similar, en las infecciones virales como el VIH algunas cepas pueden volverse resistentes a los medicamentos antivirales.

En el contexto del cáncer, la MDR es un problema particularmente complejo. Las células cancerosas pueden desarrollar resistencia a los medicamentos empleados en la quimioterapia, lo que lleva al fracaso del tratamiento, a la progresión de la enfermedad y la metástasis refractaria. Esta resistencia puede surgir debido a diversos mecanismos, incluyendo el aumento de la eliminación de medicamentos, la reducción de la captación de medicamentos, el metabolismo alterado de los medicamentos y cambios en los blancos de acción de los medicamentos.

En particular, uno de los aspectos relevantes de la MDR en el contexto del cáncer es el papel de las resinas glicosídicas. Estas resinas son compuestos químicos que se encuentran presentes en ciertas plantas y han sido objeto de investigación debido a su capacidad de modular la actividad de los transportadores activos ABC en células cancerosas (Figuroa-González et al., 2011; Lira-Ricárdez & Pereda-Miranda, 2020). Estos estudios han demostrado que las resinas glicosídicas pueden afectar los mecanismos de resistencia celular, lo que potencialmente podría revertir la MDR y mejorar la efectividad de la quimioterapia.

El conocimiento sobre las resinas glicosídicas y su efecto modulador en la MDR es relevante para desarrollar estrategias terapéuticas más efectivas en el tratamiento del cáncer y

superar los desafíos que la resistencia a los agentes quimioterapéuticos plantea en este campo. A través de la comprensión de estos mecanismos y la identificación de compuestos que puedan contrarrestar la MDR, se abren nuevas posibilidades para mejorar los enfoques clínicos y lograr mejores resultados en la lucha contra el cáncer.

4. Situación Actual del Conocimiento

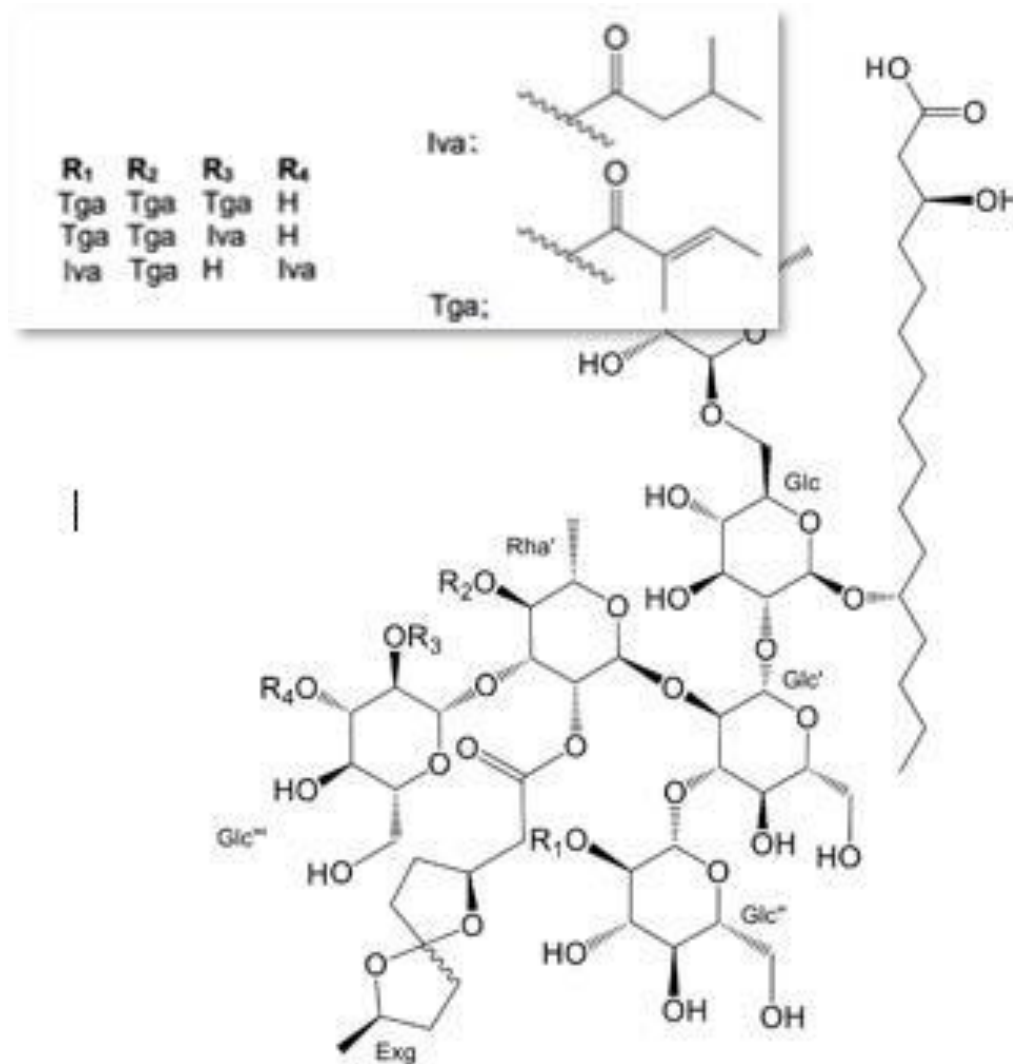
A lo largo de las últimas décadas, se han realizado numerosos estudios sobre resinas glicosídicas presentes en diferentes especies de plantas. Estas resinas se caracterizan por ser mezclas complejas de compuestos químicos que presentan una estructura molecular variada, siendo el azúcar la unidad repetitiva común en todas ellas (D-glucosa, D-fucosa, D-quinovosa, D-xilosa y L-ramnosa). Debido a las propiedades biológicas de interés terapéutico de las resinas glicosídicas, se ha suscitado un gran interés en diferentes industrias, como la farmacéutica, cosmética y alimentaria. Por lo tanto, es importante continuar investigando sobre estas resinas con el fin de obtener información valiosa para el desarrollo de nuevos productos y aplicaciones industriales.

En la literatura científica, se han descrito diversos estudios sobre la composición química de las dos especies del complejo medicinal de la raíz de jalapa brasileña o “batata-de-purga”: *Operculina macrocarpa*, la especie con flores blancas, y *Operculina hamiltonii*, la especie con flores amarillas. En un estudio reciente realizado por Pereda-Miranda et al., (2019), se investigó la composición química de la batata de purga de flores blancas y se encontró que la especie

contiene una variedad de compuestos bioactivos, incluyendo resinas glicosídicas. El análisis de la fracción soluble en metanol del extracto de las raíces de *O. macrocarpa* se llevó a cabo generando perfiles en RMN de tres ácidos glicosídicos sin descripción previa que fueron caracterizados como lipohexasacáridos y denominados como ácidos macrocarposídicos A-C, derivados del ácido operculínico H, núcleo sacárido que constituye el marcador químico de esta jalapa de flores blancas (Montiel-Ayala et al., 2021). Del mismo modo, se identificaron los ácidos provenientes de los residuos acilantes de las cadenas oligosacáridas, como los ácidos 3-metilbutírico o isovalérico, tíglico y exogónico, el cual se presenta en mezcla epimérica (**Figura 6**): dos nuevos hexasacáridos, los ácidos operculínicos I y J, que resultaron ser isómeros estructurales difiriendo en la posición de hidroxilación de la aglicona; y un monosacárido de quinovosa del ácido 7-hidroxicanoico, que fue nombrado como el ácido operculínico K (Lira-Ricárdez, 2019).

FIGURA 6

Estructura química de los ácidos macrocarposídicos A-C, principios activos de la *Operculina macrocarpa*, que contienen dos unidades de ramnosa (Rha) y cuatro de glucosa (Glc) aciladas por residuos de los ácidos isovalérico (Iva), tíglico (Tga) y exogonónico (Exg).



Recientemente, se ha encontrado que las resinas glicosídicas de la batata de purga de flores amarilla (*Operculina hamiltonii*) presentan propiedades biológicas interesantes. Un estudio

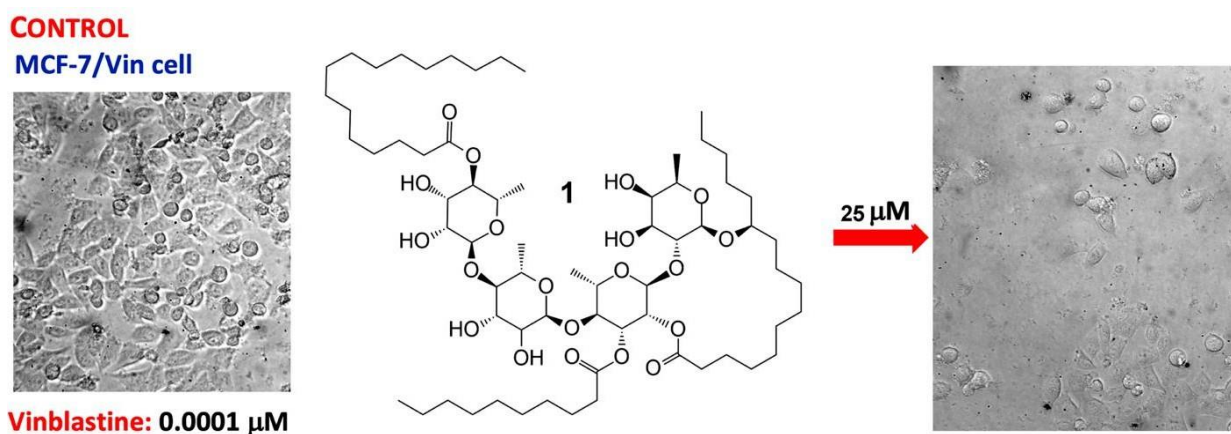
realizado por Araújo y colaboradores (2020) demostró que la resina de *O. hamiltonii* posee actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y negativas, así como actividad antifúngica. Por otra parte, Villarreal-Calderón et al., (2013) han realizado un estudio en el que se identificaron los compuestos bioactivos presentes en la batata de purga (*Operculina hamiltonii*). Los autores encontraron que la resina de *O. hamiltonii* presenta actividad antiparasitaria frente a *Giardia lamblia* y *Trypanosoma cruzi*, dos parásitos de importancia médica. Además, se encontraron compuestos con actividad antibacteriana y antifúngica en la resina. Estos hallazgos sugieren un uso potencial de las resinas glicosídicas de *O. hamiltonii* en la industria farmacéutica y en la elaboración de productos naturales con actividad antimicrobiana y antiparasitaria.

Finalmente, un estudio reciente realizado por Moreno-Velasco y colaboradores (2021) se centró en la identificación de los compuestos presentes en las resinas glicosídicas de la batata de purga (*Operculina hamiltonii*) y su posible aplicación en el tratamiento del cáncer. Los investigadores aislaron cinco nuevos glicolípidos, denominados como las hamiltoninas I-V, los cuales demostraron una actividad citotóxica moderada o nula frente a células de cáncer de mama y de colon. La hamiltonina I corresponde a una macrolactona intramolecular en la posición C-2 de la segunda unidad monosacárida (la unidad interna de ramnosa), con un patrón de acilación desconocido en la literatura, teniendo como los residuos de ácidos grasos (agliconas) a dos ésteres de cadena lineal, el ácido *n*-hexadecanoico en la parte más externa de la molécula (la posición C-4 de la unidad de ramnosa) y el ácido *n*-decanoico en su porción interna y vecinal a la posición de lactonización. Esta molécula representa el primer ejemplo de una resina glicosídica tetrasacárida en la familia de las convolvuláceas con el ácido *n*-hexadecanoico como residuo acilante (Moreno-Velasco et al., 2021). Además, se observó una sinergia de este compuesto inactivo como un agente

citotóxico con la vinblastina, medicamento utilizado en la quimioterapia, lo que sugiere un posible uso de estos compuestos en terapias de combinación contra el cáncer (**Figura 7**).

FIGURA 7

Visualización microscópica de la línea celular resistente MCF-7/Vin después de 48 horas de incubación con una dosis subinhibitoria de vinblastina a la concentración de 0.001 μM (control, sin resina glicosídica) en combinación con la hamiltonina 1 (25 μM).

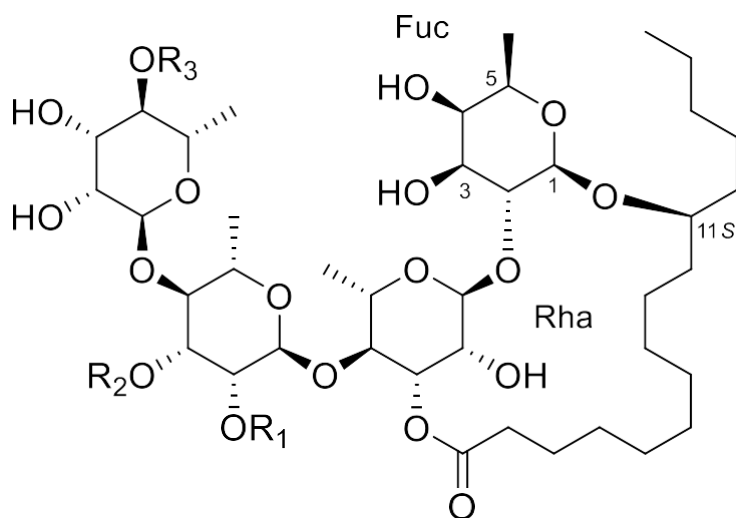


Las hamiltoninas II-IV corresponden a tres isómeros estructurales, difiriendo en la posición de esterificación del residuo del ácido *n*-dodecanoico sobre el núcleo tetrasacárido compuesto por una fucosa y tres ramnosas (**Figura 8**). Por último, se elucidó la estructura de un dímero, producto de la condensación de las hamiltoninas II y III. Por último, se explicó la estructura de la hamiltonina V como un dímero tipo éster producto de la condensación de las hamiltoninas II y III (**Figura 9**).

Por otro lado, se comprobó que todos los compuestos aislados son inactivos como agentes citotóxicos. Sin embargo, cuando fueron evaluados (1-25 μM) en combinación con una concentración subletal de dos agentes anticancerígenos, la vinblastina y la podofilotoxina (0.003 μM), se produjo un incremento significativo en la citotoxicidad, especialmente para las células resistente del carcinoma de mama. Estos hallazgos abren nuevas posibilidades en la búsqueda de tratamientos más efectivos y menos tóxicos contra el cáncer. Por último, se elucidó la estructura de la hamiltonina V como un dímero tipo éster producto de la condensación de las hamiltoninas II y III (Figura 9).

FIGURA 8

Estructuras de las hamiltoninas II-IV de Operculina hamiltonii.



II $R_1 = n\text{-C}_{12}\text{H}_{23}\text{O}$; $R_2 = R_3 = \text{H}$ **III**

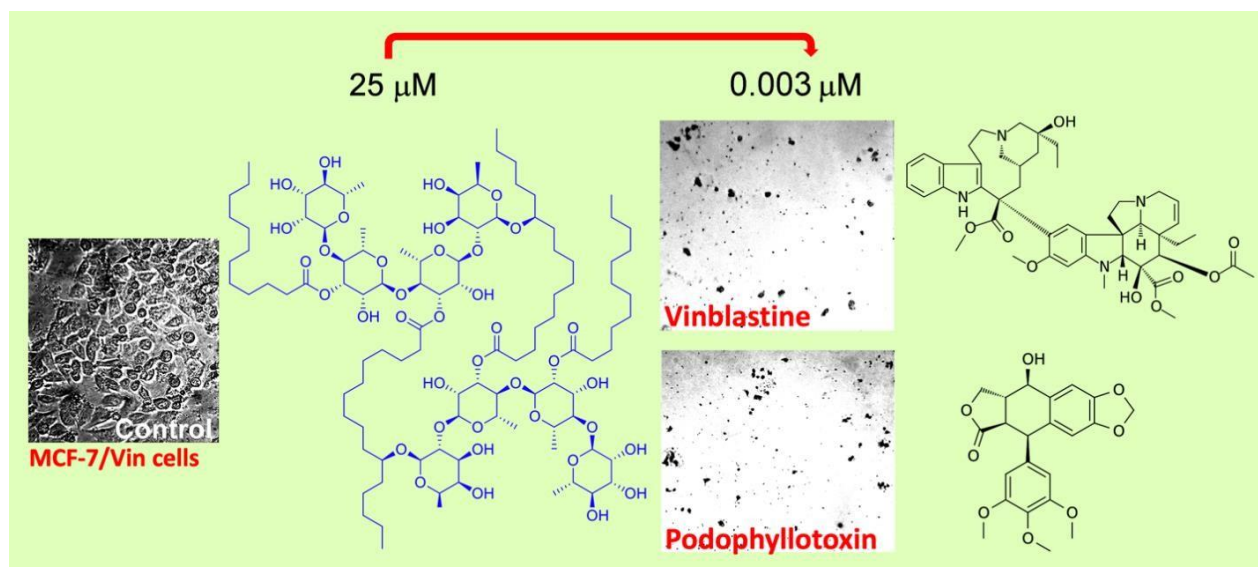
$R_1 = R_3 = \text{H}$; $R_2 = n\text{-C}_{12}\text{H}_{23}\text{O}$ **IV**

$R_1 = R_2 = \text{H}$; $R_3 = n\text{-C}_{12}\text{H}_{23}\text{O}$

Rha = Ramnosa; Fuc = Fucosa

FIGURA 9

Visualización microscópica de la línea celular resistente MCF-7/Vin después de 48 horas de incubación con una dosis subinhibitoria de vinblastina o podofilotoxina a la concentración de 0.003 μM (control, sin resina glicosídica) en combinación con la hamiltonina V (25 μM).



A pesar de los avances en la investigación sobre la batata de purga, aún existen importantes limitaciones y vacíos en la literatura científica. En tal sentido, uno de los aspectos que aún no se ha investigado en profundidad es la caracterización de los diferentes tipos de resinas glicosídicas presentes en la planta, lo que permitiría una mejor comprensión de su estructura química y potencial toxicidad. Asimismo, se requiere una mayor exploración del uso potencial de estas resinas en diferentes aplicaciones como, por ejemplo, en las industrias farmacéutica y alimenticia, ya que podrían tener propiedades de interés para la producción de productos farmacéuticos, cosméticos o alimentos funcionales. En general, se necesita una investigación más detallada y sistemática para llenar los vacíos de conocimiento y establecer una base sólida para la comprensión

de la presencia de resinas glicosídicas en la batata de purga. Esta investigación contribuye a llenar algunos de estos vacíos en el conocimiento a través de la caracterización detallada de algunas resinas glicosídicas en la batata de purga y su evaluación biológica en cuanto a la modulación de la resistencia.

5. Desarrollo Experimental

5.1. Material vegetal

Una muestra comercial de raíces pulverizadas de *Operculina hamiltonii*, conocida en el mercado como "batata purga", "jalapa em pó" o *Convolvulus operculata*" (**Figura 10**), se encuentra disponible bajo la marca "Mercadão Natural" en Brasil (Lote: 1111010010473). La identificación de esta muestra la realizó la Dra. Suzana Leitão (Facultad de Farmacia, Universidad Federal de Río de Janeiro, Brasil) mediante la comparación con las características anatómicas microscópicas que se han descrito para esta especie (Michelin Carvalho et al., 2010).

FIGURA 10

Muestra comercial de raíces pulverizadas de jalapa brasileña.



Nota: Producto adquirido vía internet en el sitio de la tienda de alimentos naturales Mercadão Natural, São Paulo, SP, Brasil.

5.2. Preparación del extracto

La muestra (900 g) fue sometida a un proceso de extracción mediante la técnica de maceración exhaustiva empleando CH₂Cl₂-MeOH (1:1). El macerado se filtró y se llevó a sequedad en rotaevaporador.

5.3. Fraccionamiento primario

El extracto total (48 g) se simplificó mediante cromatografía en columna abierta. La fase estacionaria consistió en gel de sílice (500 g) empacado en una columna de vidrio. Se realizó la elución con los disolventes indicados en la **tabla 1**. Se colectaron fracciones de 200 mL.

TABLA 1

*Fraccionamiento primario del extracto total de *Operculina hamiltonii**

Eluato	Disolvente	Proporción
1	Hexano	100
2	CH ₂ Cl ₂ – Me ₂ CO	8:2
3	CH ₂ Cl ₂ – Me ₂ CO	1:1
4	CH ₂ Cl ₂ – Me ₂ CO	2:8
5	Me ₂ CO	100
6	Me ₂ CO – MeOH	8:2
7	Me ₂ CO – MeOH	1:1
8	Me ₂ CO – MeOH	2:8

Eluato	Disolvente	Proporción
9	MeOH	100

Con el apoyo de CCF se reunieron las fracciones semejantes y, al mismo tiempo, se seleccionaron las fracciones donde podrían localizarse las resinas glicosídicas.

5.4. Purificación y aislamiento mediante HPLC

Con el fin de llevar a cabo la purificación de la fracción seleccionada de la batata de purga (BPF10), se empleó la técnica HPLC en fase reversa con un sistema de elución isocrático, inicialmente a escala analítica, para establecer las condiciones experimentales que permitieron la separación y purificación de los componentes mayoritarios, empleando una columna analítica de fase reversa Symmetry C-18 (4.6 × 250 mm; 5mm) de la marca Waters. Además, la fase móvil consistió de una mezcla de CH₃CN:H₂O (9:1). La muestra se disolvió en MeOH. Adicionalmente, el flujo al cual se llevó a cabo la cromatografía analítica fue de 0.4 mL/min; el volumen de inyección fue de 20 µL (concentración: 1mg/20µL); y se utilizó un detector de índice de refracción, el cual se encontraba a 40°C y a una sensibilidad de 1024.

Una vez definidas las condiciones analíticas, fue posible llevar a cabo los cortes requeridos para la purificación de cada uno de los compuestos por medio de condiciones preparativas. Por una parte, se empleó una columna preparativa Symmetry Prep C-18 (19 × 300 mm; 7 mm) de la marca Waters. Además, la fase móvil con la cual se hicieron los estudios fue una mezcla de

CH₃CN:H₂O (9:1). La muestra se disolvió en MeOH. Adicionalmente, el flujo al cual se llevó a cabo la cromatografía preparativa fue de 8 mL/min; el volumen de inyección fue de 500 µL (concentración: 20 mg/500µL); y se utilizó un detector de índice de refracción, el cual se encontraba a 40 °C y a una sensibilidad de 1024. La adquisición y procesamiento de datos se llevó a cabo con el programa Empower 2.0. Las subfracciones de interés se sometieron a un proceso de corte de núcleo y reciclaje en las mismas condiciones preparativas en el HPLC para permitir la purificación de los compuestos mayoritarios. Una vez fueron separados los compuestos de interés a nivel preparativo, se procedió a concentrarlos utilizando un rotavapor acoplado a una bomba de vacío; posteriormente, se dejaron en el desecador por 1 semana para asegurar que no tuviera humedad o residuos de disolventes.

5.5. Registro de RMN y EM

Se registraron los espectros de RMN ¹H y ¹³C en un equipo Varían Innova operando a una frecuencia de 400 MHz para ¹H y 100 MHz para ¹³C, empleando piridina deuterada como disolvente. Además, se registraron los espectros de masas.

5.6. Evaluación biológica

Se utilizaron las líneas celulares MCF-7, MCF-7/Vin⁺ y MCF-7/Vin⁻, derivadas de cáncer de mama. La primera, que corresponde una línea sensible, se adquirió de la American Type Culture Collection (ATCC HTB-22), y las otras se desarrollaron en el Departamento de Farmacia de la

Facultad de Química de la UNAM para producir resistencia mediante la exposición continua a vinblastina (Figuroa-González et al., 2011). Con el propósito de preservar la resistencia a la vinblastina, las células MCF-7/Vin⁺ se cultivaron en medio que contenía 0.192 µg/mL de vinblastina. Al mismo tiempo, las células MCF-7/Vin⁻ se mantuvieron en medio libre de vinblastina. Todas las células se mantuvieron en medio RPMI 1640 suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y se cultivaron a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂ en aire y 100% de humedad.

Los efectos de modulación fueron determinados con el método de la SRB (Orellana & Kasinski, 2016). Las líneas MCF-7 sensible MCF-7/Vin^{+/-} se sembraron en placas de 96 pozos y fueron tratadas con varias concentraciones de vinblastina (0.000128–2 µg/mL) en presencia o ausencia de los dos glicolípidos a 25 µg/mL por 72 h. La habilidad de los glicolípidos para potenciar la citotoxicidad de la vinblastina se determinó a partir de la CI₅₀. En estos experimentos se utilizó reserpina (5 µg/mL) como control positivo. El factor de reversión (FR, como un parámetro de potencia) se calculó dividiendo la CI₅₀ de la vinblastina entre la CI₅₀ de la vinblastina en presencia del compuesto de prueba.

6. Resultados y Discusión

6.1. Extracción

Se obtuvo un extracto total de 48 g a partir de 900 g de raíz de jalapa brasileña pulverizada.

6.2. Fraccionamiento primario del extracto orgánico

Doce fracciones de interés se obtuvieron durante el proceso de fraccionamiento primario. Las cantidades y códigos correspondientes a cada una de estas fracciones se encuentran resumidos en la **tabla 2**.

TABLA 2

Fraccionamiento del extracto total

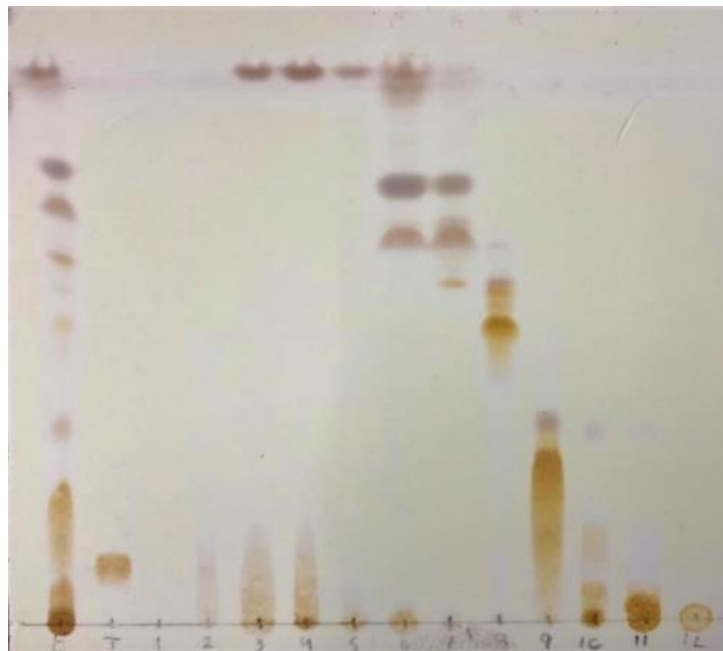
Fracción	Peso (g)
F1	0.04
F2	1.71
F3	2.18
F4	1.58
F5	0.70
F6	2.67
F7	2.93
F8	3.53
F9	7.00

F10	5.43
F11	4.36
F12	2.60

Se eluyó cada fracción obtenida en una placa de aluminio recubierta con gel de sílice, empleando una mezcla de CH_2Cl_2 -MeOH en una proporción de 9:1 como fase móvil. Se utilizó una muestra auténtica de tricolorina A como referencia, y el extracto total se utilizó para compararlo con las fracciones (**Figura 11**).

FIGURA 11

Placa cromatográfica de las fracciones F1-F12, con tricolorina A (T) como estándar de referencia.

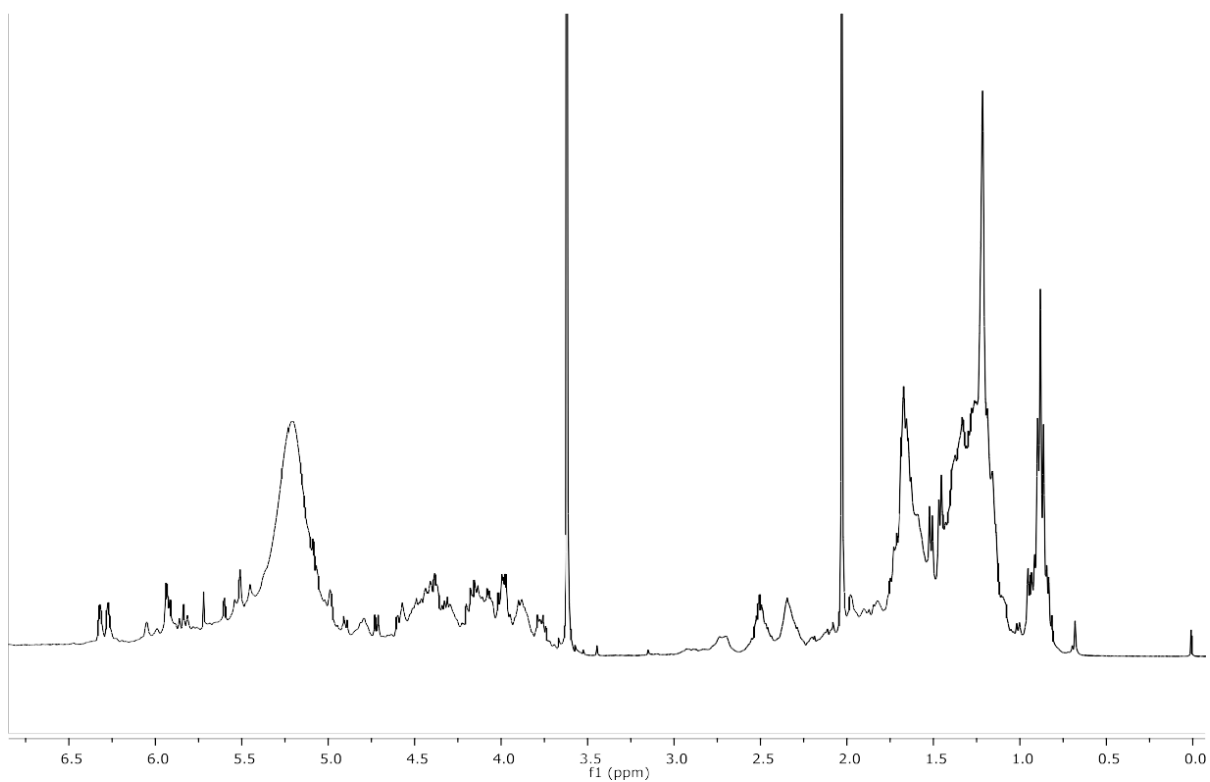


Nota: tomado de Moreno-Velasco, (2023).

El registro del espectro de RMN- ^1H de la fracción 10 (**Figura 12**) permitió detectar la presencia de resinas glicosídicas al observar señales alifáticas para los residuos de ácidos grasos de las agliconas (0.8-2.5 ppm), los protones oxigenados (3.7-4.4 ppm) y señales anoméricas (3.6-6.4 ppm).

FIGURA 12

Espectro de RMN ^1H de la fracción 10 (400 MHz, piridina- d_5).



6.3. Aislamiento y purificación de las resinas mediante HPLC

6.3.1. Análisis por HPLC a escala analítica

El análisis mediante HPLC de la fracción 10 para obtener la resolución de la muestra se logró con las siguientes condiciones: columna C-18, fase reversa: Symmetry C-18 (4.6 250 mm; 5 mm) (Waters); fase móvil: CH₃CN:H₂O (85:15); flujo: 0.4 mL/min; concentración de muestra: 1 mg/20 µL; volumen de inyección: 20 µL; detector: Índice de refracción (sensibilidad 1024 y temperatura interna de 40 °C).

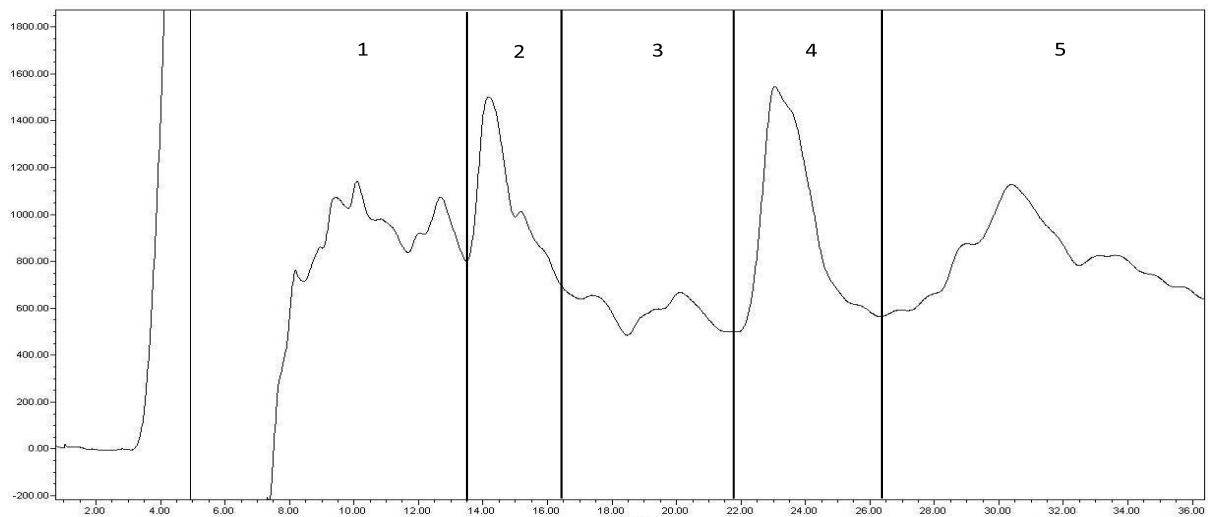
6.3.2. Análisis por HPLC a escala preparativa

A continuación, se procedió a realizar la inyección de la fracción 10 con el objetivo de someterla a un análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en una escala preparativa. Esta técnica analítica se utilizó para separar y caracterizar los componentes presentes en la muestra.

El cromatograma, cuya representación gráfica se presenta en la **figura 13**, revela la distribución y el tiempo de retención de los diferentes componentes presentes en la muestra. Con especial atención, se observó la presencia de dos picos claramente identificados como los constituyentes mayoritarios BPF10P2 (pico 2) y BPF10P4 (pico 4).

FIGURA 13

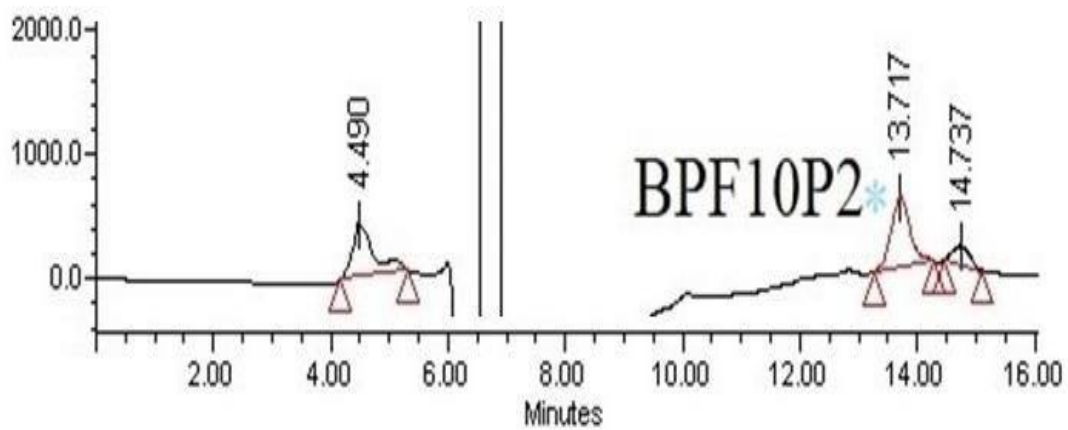
Perfil cromatográfico a escala preparativa donde se observan los picos mayoritarios de interés.

**6.3.3. Purificación de BPF10P2**

A continuación, cada uno de los eluatos colectados, mediante el empleo de la técnica de corte de núcleo, se sometieron a una prueba a escala analítica (**Figura 14**) para verificar su pureza y adecuación para el siguiente paso del proceso de purificación. Una vez confirmada la viabilidad de los núcleos en función de la complejidad cromatográfica, se llevó a cabo la técnica de corte y rasurado de los mismos para eliminar cualquier principio minoritario o contaminante que pudiera afectar la pureza del compuesto objetivo, el pico BPF10P2.

FIGURA 14

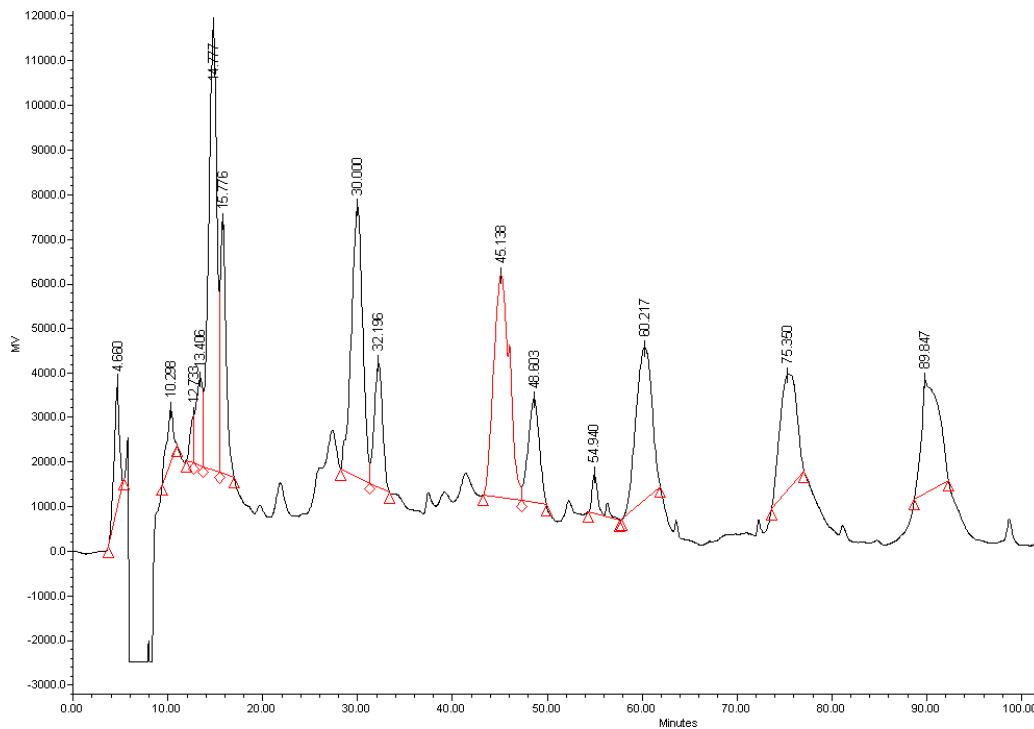
Perfil cromatográfico a nivel analítico de BPF10P2.



Posteriormente, se aplicó la técnica de reciclaje de pico con el objetivo de purificar completamente el BPF10P2 (**Figura 15**). Esta técnica permitió concentrar y enriquecer el compuesto de interés a niveles óptimos de pureza (>98.5 %).

FIGURA 15

Purificación del componente mayoritario con clave BPF10P2, utilizando la técnica de “reciclaje de pico”.



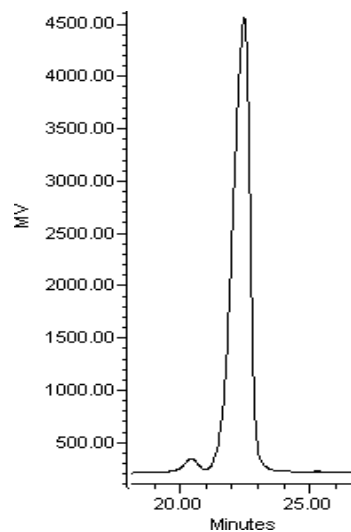
Estos procedimientos condujeron a la separación y la purificación de uno de los componentes mayoritarios de la fracción analizada, obteniéndose 7 mg de un sólido blanco con tiempo de retención = 14.5 min (BPF10P2) y con punto de fusión de 141-142 °C. (Rosas-Ramirez y Pereda-Miranda, 2013).

6.3.4. Purificación de BPF10P4

Los núcleos recortados se sometieron a una prueba analítica (**Figura 16**) para verificar su pureza para la siguiente etapa de purificación. Después de confirmar su viabilidad, se aplicó una técnica de corte y rasurado para eliminar impurezas que pudieran afectar la pureza del compuesto objetivo, el BPF10P4.

FIGURA 16

Perfil cromatográfico a nivel analítico de BPF10P4.

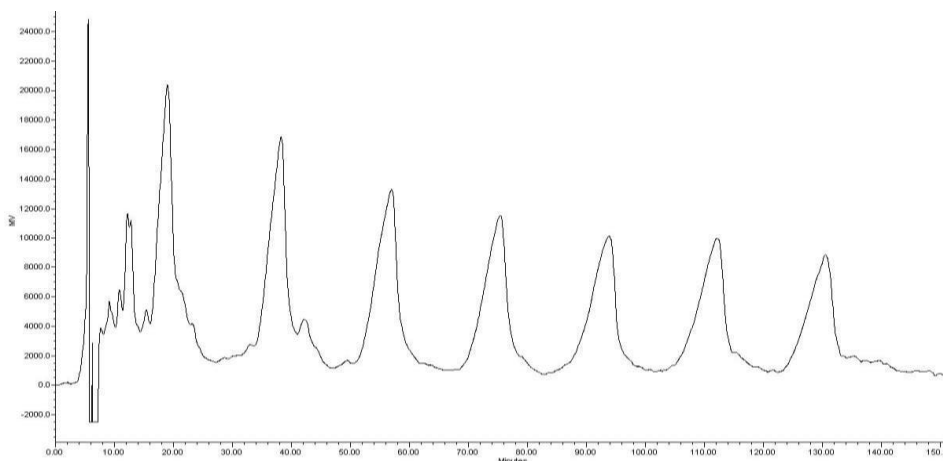


La subfracción BPF10P4, también fue purificada mediante la técnica de reciclaje (**Figura 17**).

FIGURA 17

Perfil de la purificación de la subfracción F10P4. Fase: 9:1 (AcN:H₂O). Flujo: 4ml/min.

Columna: Symmetry C18 Waters.



Se obtuvieron 10 mg de un sólido blanco con tiempo de retención = 21.7 min con punto de fusión 132-135 °C (Rosas-Ramírez y Pereda-Miranda, 2013).

6.3.5. Elucidación Estructural

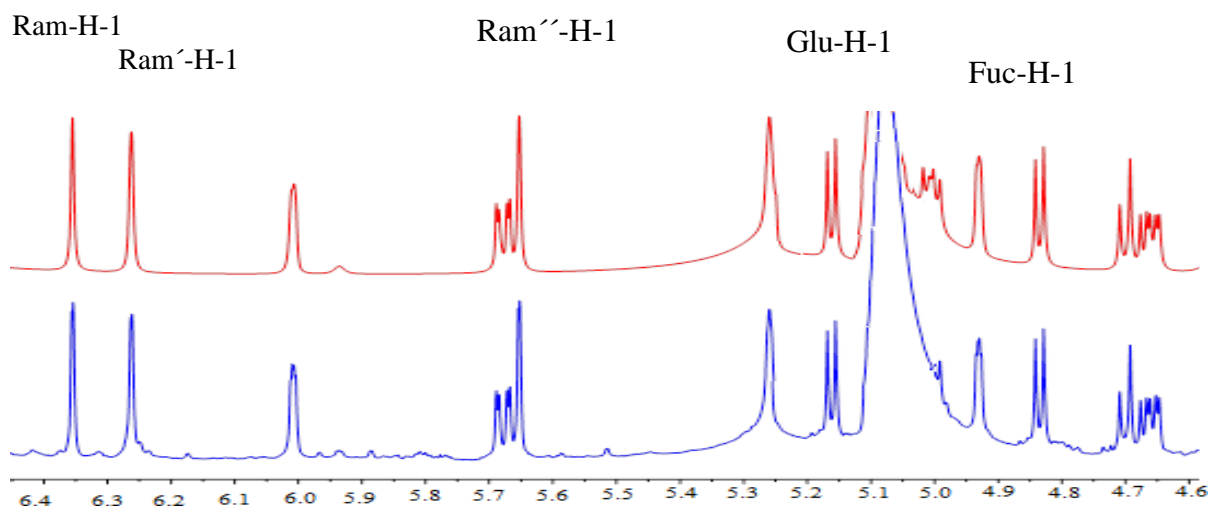
La elucidación estructural del compuesto BPF10P2 se realizó utilizando una combinación de técnicas analíticas, que incluyen espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a espectrometría de masas. Estas técnicas proporcionaron datos complementarios que permitieron determinar de manera precisa la estructura química del compuesto.

6.3.5.1. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Se realizó el registro de los espectros unidimensionales RMN ^1H de los dos compuestos mayoritarios purificados a partir de las fracciones BPF10P2 y BPF10P4. El procedimiento para la asignación de las señales observadas se realizó iniciando con la localización de las señales diagnósticas, que corresponden a las señales generadas por los protones anoméricos de las unidades monosacáridas. Los dobletes de los protones anoméricos que registraron la constante de acoplamiento grande ($J = 7.5 \text{ Hz}$) correspondieron a la presencia de una unidad de glucosa y una de fucosa; y los dobletes de los protones anoméricos, que registraron la constante de acoplamiento pequeña ($J = 1.5 \text{ Hz}$), a las ramnosas (**Figura 18**).

FIGURA 18

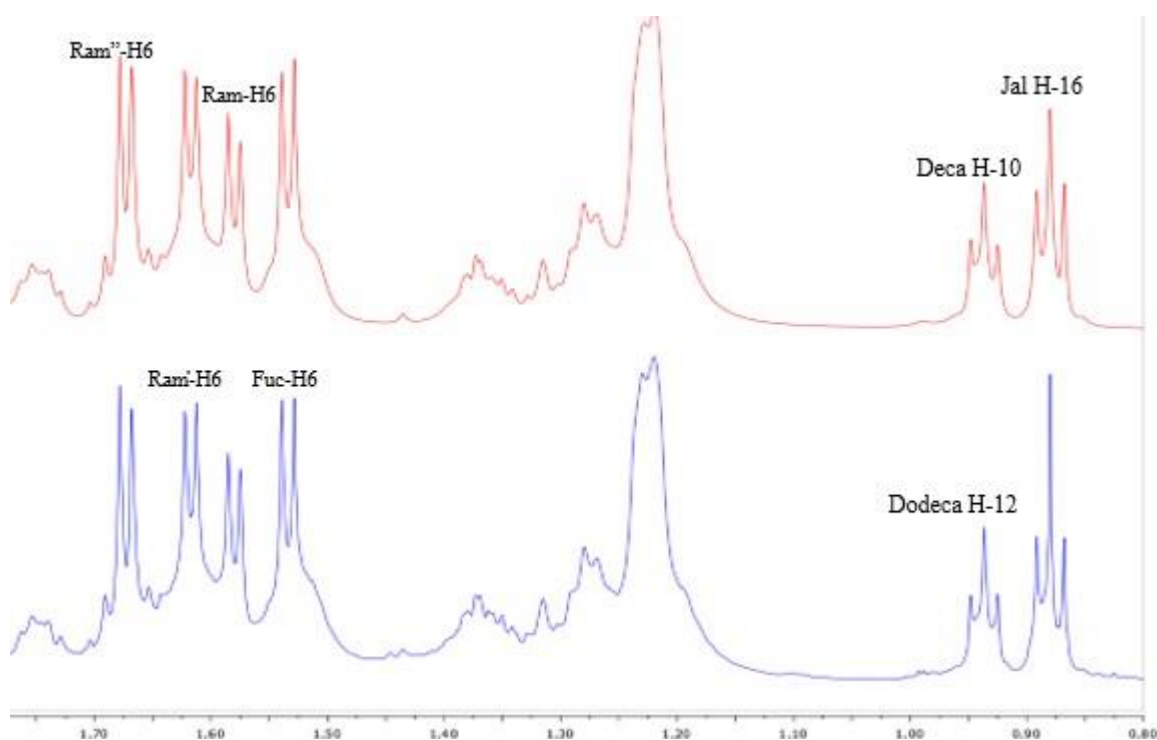
Región anomérica entre 4.6 y 6.4 ppm de espectro de RMN ^1H (400 MHz) de los batatinósidos VI (**1**, rojo) y IX (**2**, azul).



Los cuatro dobletes localizados entre 1.5 y 1.7 ppm indican la presencia de un número correspondiente de unidades de metilpentosa en la estructura de estos compuestos. También, se observan dos triplete entre 0.8 y 1 ppm, que son característicos de los protones de los metilos terminales de los ácidos alifáticos de cadena larga, correspondientes al esqueleto hidrocarbonado de la aglicona y al ácido que esterifica a la cadena oligosacárida (**Figura 19**).

FIGURA 19

Región entre 0.8 y 1.7 ppm del espectro de RMN ^1H de los batatinósidos VI (**1**, rojo) y IX (**2**, azul) (400 MHz).

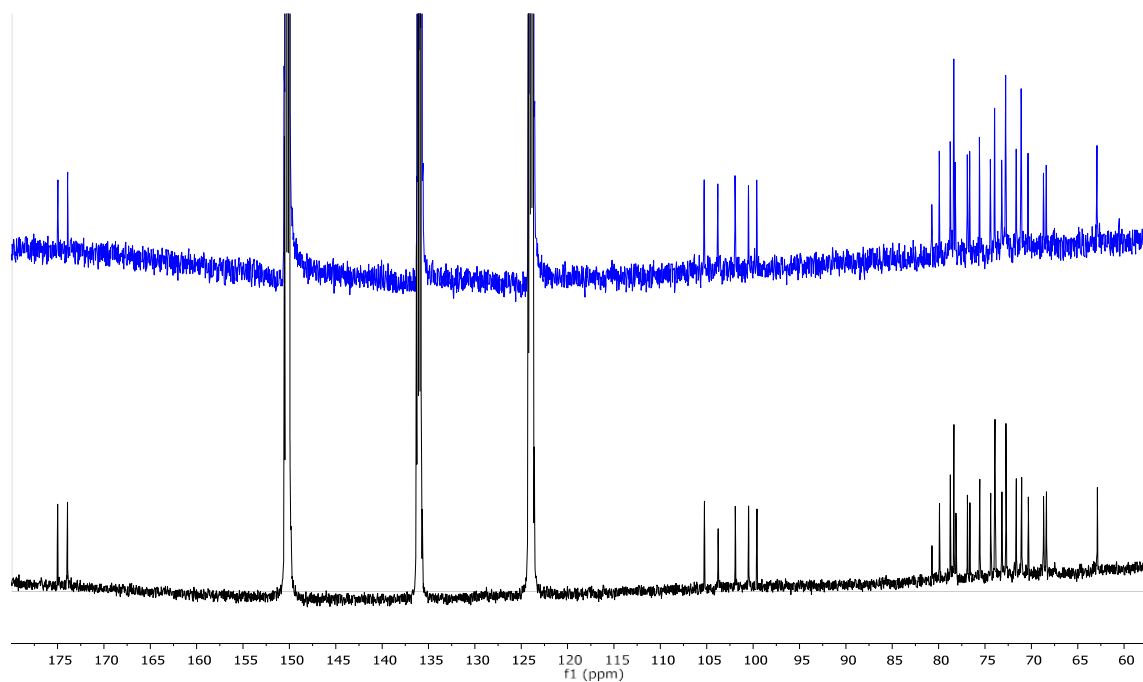


Al analizar las constantes de acoplamiento y la secuencia de glicosilación, se concluyó que ambos compuestos contienen al pentasacárido conocido como ácido operculínico A.

En el espectro de RMN ^{13}C se identificó el número de señales anómeras observadas entre 98 a 105 ppm (**Figura 20**) que indican directamente el número de unidades monosacáridas constituyentes del núcleo estructural de estas moléculas oligosacáridas, así como dos señales entre 173–175 ppm, que corresponden a los grupos carbonilos del ácido que se encuentra acilando la porción glicosídica y al carbonilo aportado por la aglicona que forma la macrolactona característica de estos compuestos.

FIGURA 20

Comparativo entre los espectros de RMN ^{13}C (100 MHz) del batatinosido IX (azul) y F10P4 (negro).



Al realizar una comparación de los espectros de RMN ^1H (**Figuras 21 y 22**) y de los puntos de fusión con la literatura, se logró establecer que se trata de los batatinosidos VI (**1**) y IX (**2**)

(Figura 23), que fueron identificados por primera vez en las raíces del camote de *Ipomoea batatas* (Rosas-Ramírez & Pereda-Miranda, 2013) y recientemente en una muestra comercial de la jalapa adquirida en el Mercado Municipal 2000 en Santarém, Pará, Brasil en Septiembre de 2015 (Moreno-Velasco et al., 2022).

FIGURA 21

Comparativo entre los espectros de RMN ^1H del batatinosido IX (azul) y F10P4 (azul oscuro) (400 MHz).

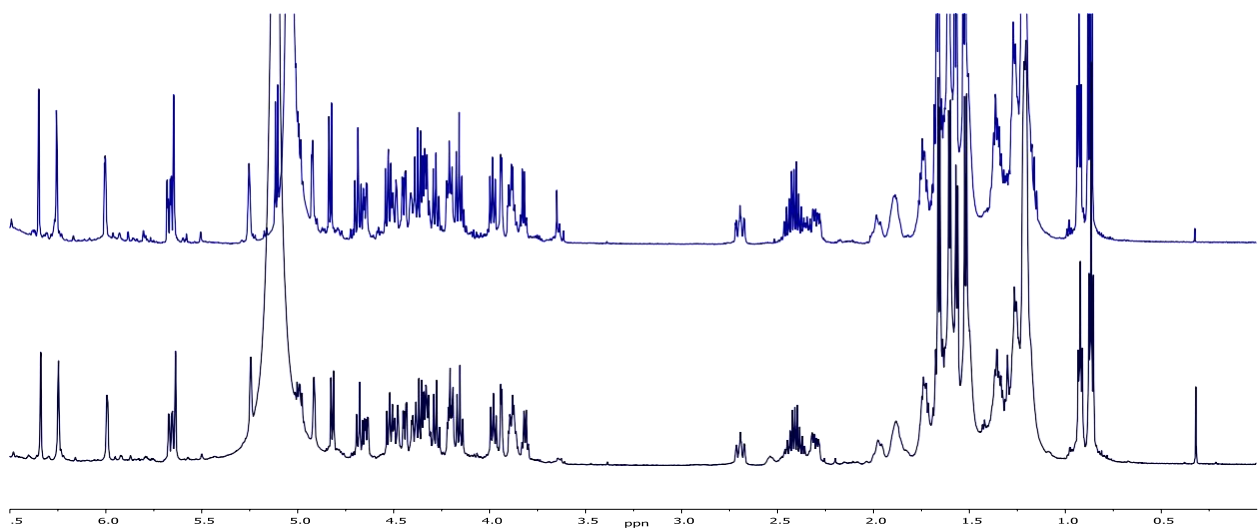


FIGURA 22

Comparativo entre los espectros de RMN ^1H del batatinosido VI (azul) y F10P2 (negro) (400 MHz).

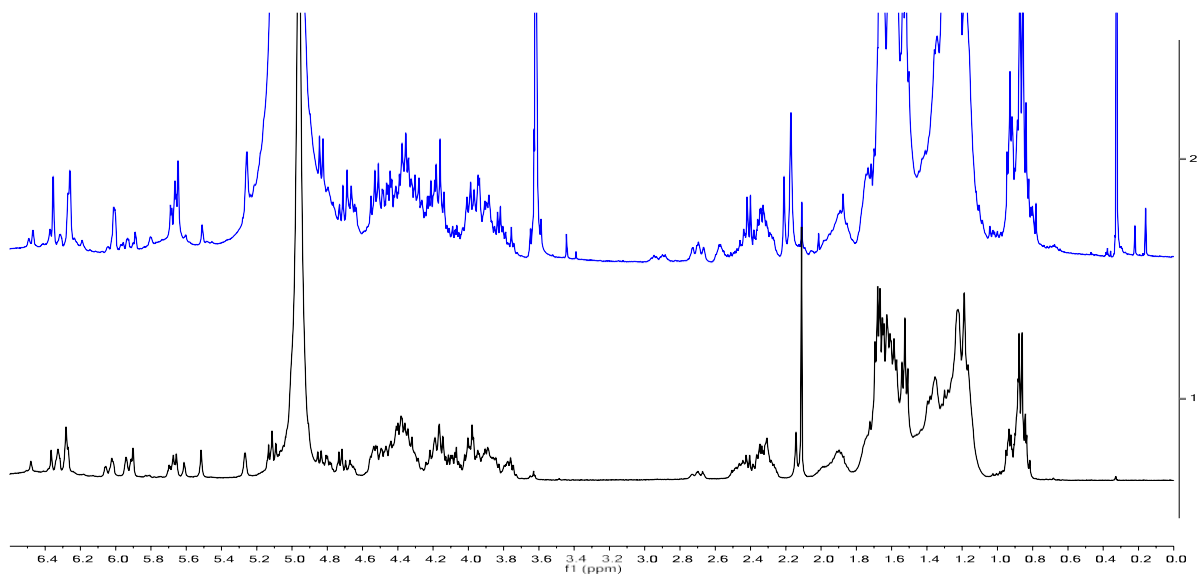


TABLA 3Desplazamientos químicos en RMN ^1H y ^{13}C de los batatinósidos VI (1) y IX (2)

Cuadro 3. Desplazamientos químicos en RMN ^1H y ^{13}C de los batatinósidos VI (1), y IX (2)		
Posición	1	2
Fuc-1	4.83 d (7.8)	4.83 d (7.8)
2	4.52 dd (9.3, 7.9)	4.53 dd (9.5, 7.8)
3	4.21 dd (9.3, 3.5)	4.21 dd (9.5, 3.5)
4	3.94 brd (3.5)	3.94 brd (3.5)
5	3.83 q (6.4)	3.82 q (6.4)
6	1.53 d (6.4)	1.52 d (6.4)
Rha-1	6.35 d (1.2)	6.35 d (1.2)
2	5.25 (br s)	5.25 (br s)
3	5.67dd (2.8, 9.9)	5.67 dd (3.0, 9.9)
4	4.69 dd (9.7, 9.7)	4.68 dd (9.6, 9.6)
5	5.00 *	4.99 dq (9.6, 5.9)*
6	1.57 d (6.2)	1.57 d (5.9)
Rha'-1	5.64 d (1.4)	5.64 d (1.4)
2	6.00 dd (1.4, 3.0)	6.00 dd (1.6, 2.9)
3	4.66 dd (8.8, 3.6)	4.64 dd (8.7, 3.7)
4	4.36 dd (8.8, 8.8)	4.37 dd (9.2, 9.2)
5	4.33 dq (8.8, 5.8)	4.33 dq (9.2, 6.0)
6	1.67 d (5.8)	1.66 d (6.0)
Rha''-1	6.26 d (1.3)	6.25 d (1.3)
2	4.92 *	4.92 dd (3.3, 1.2)
3	4.45 dd (3.3, 8.6)	4.44 dd (8.7, 3.3)
4	4.29 dd (8.6, 9.1)	4.28 dd (8.7, 9.1)
5	4.36 dq (9.1, 5.7)	4.34 dq (9.1, 6.0)
6	1.61 d (5.7)	1.61 d (6.0)
Glc-1	5.11 d (7.3)	5.11 d (7.3)
2	3.99 dd (7.4, 8.6)	3.98 dd (7.4, 8.6)
3	4.17 dd (8.6, 9.0)	4.16 dd (8.6, 9.0)
4	4.21 dd (9.0, 9.0)	4.21 dd (9.0, 9.0)
5	3.89 (9.0, 5.5)	3.89 ddd (9.0, 5.5, 3.0)
6a	4.41 dd (11.5, 5.5)	4.40 dd (11.5, 5.5)
6b	4.49 dd (11.5, 3.0)	4.49 dd (11.5, 3.0)
Agl-1	-	-
2a	2.29 ddd (14.0, 7.0, 3.0)	2.29 ddd (14.0, 7.0, 3.0)
2b	2.69 ddd (14.0, 10.0, 2.5)	2.69 ddd (14.0, 10.0, 2.5)
11	3.87 m	3.87 m
16	0.86 t (7.14)	0.87 t (7.11)
12'(10')	(Dec-10) 0.93 t (7.14)	(Dod-12) 0.93 t (7.11)

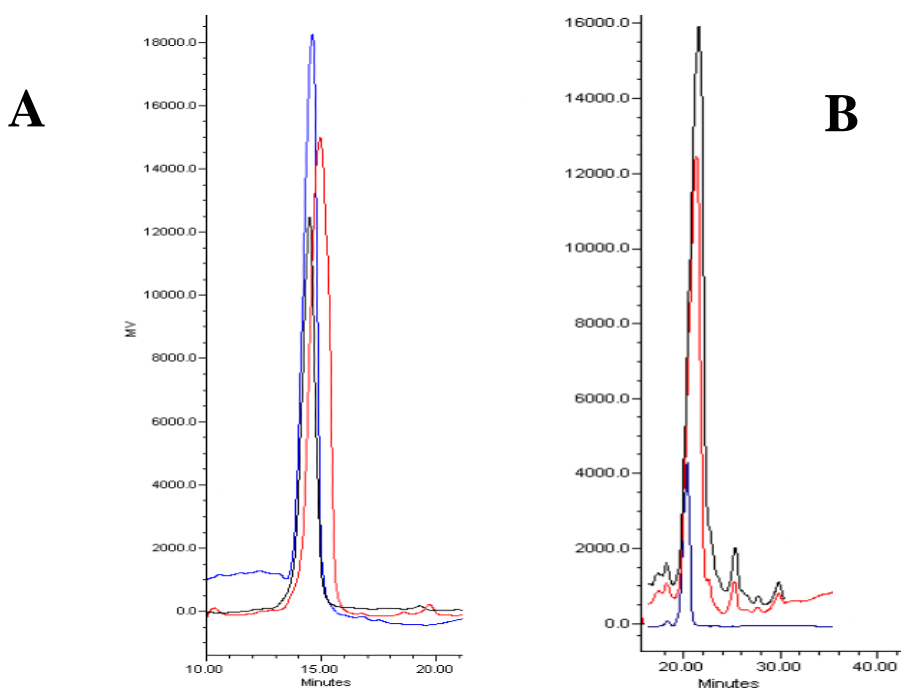
Espectros registrados a 400 MHz en $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$. Entre paréntesis, las constantes de acoplamiento en Hz. s = singulete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete. Abreviaciones: Fuc = fucosa; Ram = ramnosa; Glu = glucosa; Jal = ácido 11-hidroxihexadecanoico; Deca = ácido decanoico; Dodeca = ácido dodecanoico.

6.3.5.2. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

La congruencia en los espectros de RMN confirmó que las dos muestras purificadas (F10P2 y F10P4) correspondían a los batatinósidos VI y IX, respectivamente. La validación de esta propuesta estructural se logró mediante coelución en HPLC con muestras estándar correspondientes. La Figura 24A ilustra para la coelución entre la muestra F10P2 y el batatinósido VI en tanto que la Figura 24B presenta la coelución entre el eluyente F10P4 y el batatinósido IX.

FIGURA 24

Coelución mediante cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). A) Cromatograma de la coelución (trazo negro) entre la muestra auténtica del batatinósido VI (trazo azul) y la muestra purificada BPF10P2 (trazo rojo). B) Coelución (trazo negro) entre la muestra auténtica del batatinósido VI (trazo azul) y la muestra purificada BPF10P4 (trazo rojo).



Este ejercicio de coelución fortalece la asignación de que las muestras purificadas corresponden a los batatinósidos VI y IX. El registro del mismo tiempo de retención permitió una evidencia para la identificación de su identidad química. Esta confirmación experimental refuerza la identificación de los compuestos purificados, aportando una capa adicional de certeza a su asignación.

6.3.5.3. Espectrometría de Masas

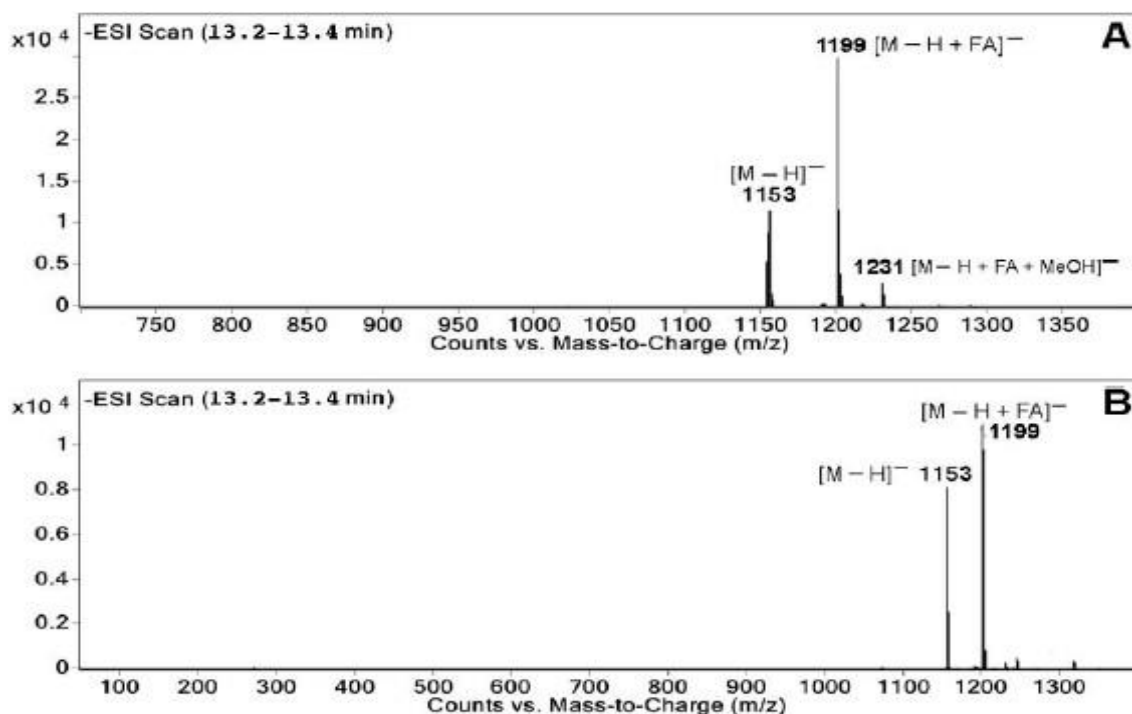
Con el propósito de robustecer y ampliar la certeza en la identificación de los compuestos purificados, se emprendió una confirmación adicional utilizando la metodología de espectrometría de masas acoplada a la cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC-ESI-MS). Esta estrategia analítica es conocida por su capacidad para proporcionar información detallada sobre la composición molecular, permitiendo confirmar el peso de los compuestos bajo análisis (Demarque et al., 2016).

Para el batatinósido VI, en el espectro de masas adquirido en modo de ionización negativa, se observó una señal a un valor de m/z 1153 $[M - H]^-$, la cual se asocia directamente con la especie desprotonada del batatinósido VI. Adicionalmente, se identificó la señal de m/z 1199 $[M - H + \text{ácido fórmico } (CH_2O_2)]^-$ (**Figura 25A**), que corresponde al aducto formado entre la forma ionizada del compuesto con la adición de una molécula ácido fórmico (FA). Estas señales, como marcadores inequívocos de la presencia del batatinósido VI, robustecen la identidad entre la muestra purificada y el estándar.

Es importante señalar que la concordancia en los valores de masas (m/z) registradas proporciona una base sólida para verificar la correspondencia estructural entre las moléculas. Además, esta confirmación instrumental se refuerza mediante los mismos valores en los tiempos de elución en UHPLC obtenidos (tiempo de retención = 13.2-13.4 min) y los resultados previamente descritos para la coelución en HPLC y el análisis de RMN. El espectro UHPLC-ESI-MS (**Figura 25B**) demostró la convergencia para los datos, al evidenciar la superposición de patrones y masas características para la muestra BPF10P2 con los registrados para la muestra auténtica del batatinósido IX.

FIGURA 25

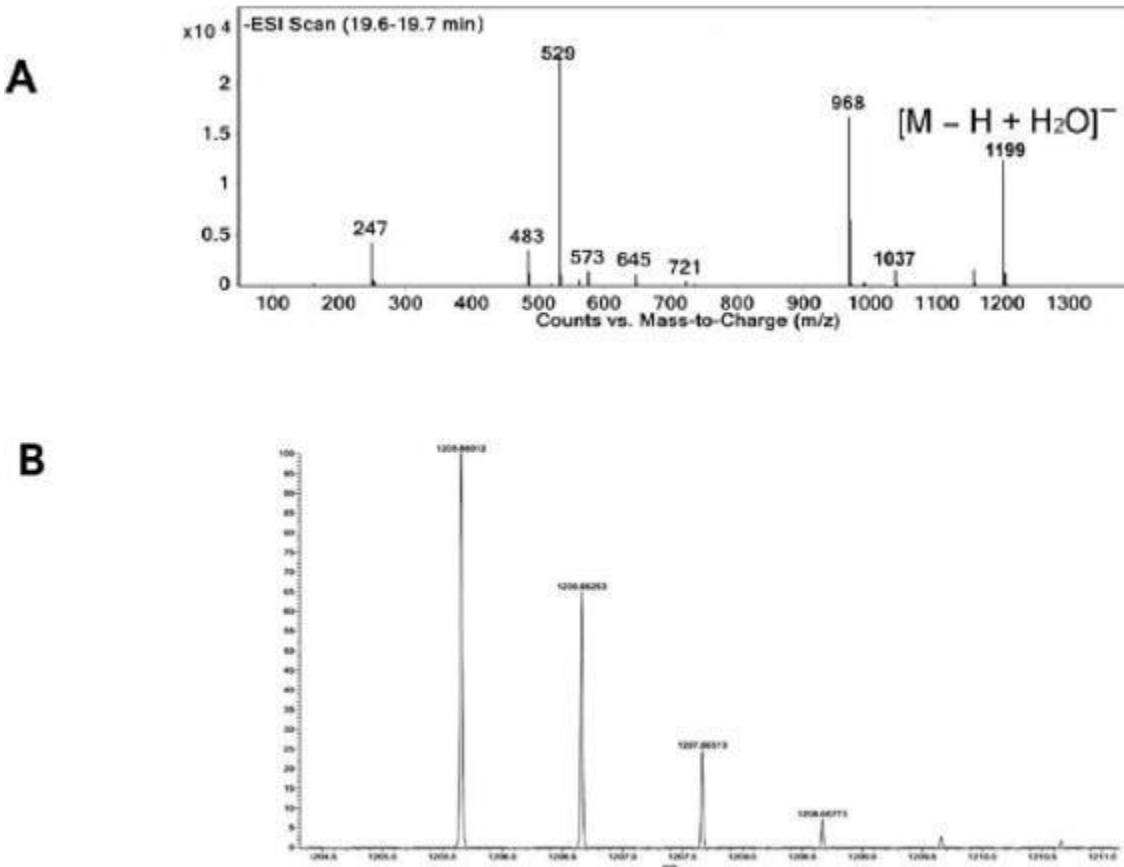
A) UHPLC-ESI-MS en modo de ionización negativa para la detección de aniones de m/z 1153 $[M - H]^-$ y 1199 $[M - H + FA]^-$ en el pico BPF10P2 analizado; B) Espectro UHPLC-ESI-MS de la muestra auténtica pura del batatinósido IX.



Para el batatinósido IX, en el espectro UHPLC-LRESI-MS (26A) en modo negativo se detectaron los aniones de m/z 1199 $[M - H + H_2O]^-$ y 1037 $[M - H - 162 \text{ (unidad hexosa)}]^-$ en la muestra purificada que, al comparar con el espectro HRESI-MS en modo positivo de la muestra estándar, se detectó el aducto $[M + Na]^+$ (**Figura 26B**).

FIGURA 26

A) UHPLC-LRESI-MS en modo de iones negativos para la detección de aniones de m/z 1199 [$M - H + H_2O$]⁻ y 1037 [$M - H - 162$ (unidad de hexosa)]. B) HRESI-MS en modo de iones positivos para la detección del aducto [$M + Na$]⁺.



Por lo tanto, la concordancia entre los espectros de la muestra purificada y el estándar permitió concluir que el pico BPF10P2 purificado correspondía, sin lugar a dudas, al batatinósido IX

6.4. Ensayos de citotoxicidad y de modulación de la resistencia

En los ensayos de citotoxicidad para los dos glicolípidos aislados se encontró que no son citotóxicos ($CI_{50} > 25 \mu\text{g/mL}$) y, por lo tanto, se evaluaron como inhibidores de las bombas de eflujo en las células resistentes.

Un requisito indispensable e importante para realizar los ensayos de modulación es la ausencia de citotoxicidad ($CI_{50} < 4 \mu\text{g/mL}$). Esta propiedad intrínseca a la muestra de prueba es el principal criterio de selección, ya que así se puede distinguir claramente cualquier efecto de potenciación (por inhibición de las bombas de eflujo) de un posible sinergismo entre un compuesto activo y la vinblastina (Figueroa-González et al, 2012).

En los ensayos de modulación de los glicolípidos aislados sobre la línea resistente MCF-7/Vin^r, se observó un incremento en la susceptibilidad de las células a la vinblastina desde 3 a 27 veces (Tabla 4). La reversión de la resistencia en células de cáncer de mama resistentes a la vinblastina demostró que el batatinósido IX (**2**) ejerce una potenciación de la susceptibilidad a la vinblastina, con un factor de reversión (RF) similar a la vinblastina a una concentración de 25 $\mu\text{g/mL}$. El batatinósido VI (**1**) mostró una moderada actividad, con un mayor FR para la línea celular sensible.

TABLA 4

Ensayos de modulación de la actividad de la vinblastina con glicolípidos aislados sobre las líneas MCF-7 sensible y MCF-7/Vin.

Compuesto ^a	CI ₅₀ (µg/mL)			Factor de reversión ^c		
	MCF-7/Vin ⁻	MCF-7/Vin ⁺	MCF-7 sens	FR _{MCF-7/Vin⁻}	FR _{MCF7/Vin⁺}	FR _{MCF-7 sens}
vinblastina	1.37 ± 0.19	1.66 ± 0.04	0.03 ± 0.04			
Bat VI	0.18 ± 0.14	0.23 ± 0.03	0.002 ± 0.001	7.6	7.2	15.0
Bat IX	0.05 ± 0.04	0.41 ± 0.05	0.011 ± 0.006	27.4	4.0	2.7
reserpina ^b	0.063 ± 0.03	0.037 ± 0.02	0.001 ± 0.0007	21.7	44.9	30.0

^aDiluciones consecutivas de 0.000128 a 2 µg/mL de vinblastine en la presencia o ausencia del glicolípido (25 µg/mL). ^bReserpina = 5 µg/mL como control positivo ^cRF = IC₅₀ Vinblastina/IC₅₀ Vinblastina en la presencia del glicolípido. Cada valor se representa como el promedio ± DE de tres diferentes experimentos individuales.

7. Conclusiones

1. Se obtuvieron dos glicolípidos a partir de la muestra comercializada como la batata de purga (*Operculina hamiltonii*) en el territorio brasileño, los batinósidos VI (**1**) y IX (**2**), conteniendo como núcleo constitutivo al ácido operculínico A macrolactonizado en la posición C-3 de la segunda unidad sacárida. La única diferencia estructural radica en el largo de la cadena alifática perteneciente a la longitud de la cadena hidrocarbonada del ácido esterificante, es decir, el ácido decanoico para el compuesto **1** y el ácido dodecanoico para el **2**.
2. La cromatografía de líquidos de alta eficiencia representó una poderosa herramienta para las resinas glicosídicas como un método de separación y purificación de los oligosacáridos individuales para lograr la resolución de estas mezclas complejas de glicolípidos.
3. Las técnicas espectroscópicas, como la resonancia magnética nuclear, y espectrométricas, como la espectrometría de masas, constituyen una herramienta esencial para la caracterización de las estructuras moleculares de los glicolípidos.
4. Se encontró que estos compuestos tienen una moderada actividad como inhibidores de la resistencia cruzada a diversos fármacos citotóxicos, con lo cual este tipo de productos naturales representan una clase prometedora de novedosos prototipos más seguros y eficaces para la inhibición de las bombas de eflujo para vencer la resistencia adquirida a los agentes antineoplásicos de uso común en la clínica, disminuyendo sus dosis terapéuticas efectivas y, por lo tanto, los efectos tóxicos indeseables.

8. Referencias Bibliográficas

- Araújo, B. S. L., Martins, G. R., Vilar, M. E., de Oliveira, R. M. A., Albuquerque-Júnior, R. L. C., & Quintans-Júnior, L. J. (2020). Phytochemical characterization and evaluation of the antimicrobial and antifungal activities of the resin of *Operculina hamiltonii* (*Convolvulaceae*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(5), 62-69. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.105008>
- Austin, D., Staples, G. W., Simoes, A. R. (2020). A monograph of *Operculina* (*Convolvulaceae*). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 105, 64-138. doi: 10.3417/2020435
- Bingham, M. G., & Wallis, J. M. (2020). *Operculina hamiltonii* (L.) D.F. Austin. En van Wyk, B. (Ed.), *Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa* (pp. 469-471). Briza Publications.
- Castañeda-Gómez, J., Charry-Sánchez, P. A. & Pereda-Miranda, R. (2013). Empleo de métodos analíticos modernos para el aislamiento y la identificación de Resinas Glicosídicas de la Familia *Convolvulaceae*. *Revista de Investigaciones. Universidad del Quindío*, 24(1), 19–29.
- Cunha, G.H., Fechine, F.V., Santos, L.K., Pontes, A.V., Oliveira, J.C., Moraes, M.O., Moraes, M.E., 2011. Efficacy of the tincture of jalap in the treatment of functional constipation: a

- double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Contemp. Clin. Trials.* 32, 153–159.
<https://doi.org/10.1016/j.cct.2010.10.011>.
- Dehelean, C. A., Marcovici, I., Soica, C., Mioc, M., Coricovac, D., Iurciuc, S., Cretu, O. M., Pinzaru, I. (2021). Plant-Derived Anticancer Compounds as New Perspectives in Drug Discovery and Alternative Therapy. *Molecules*, 26, 1109.
<https://doi.org/10.3390/molecules26041109>
- Demarque, D.P., Crotti, A.E., Vessecchi, R., Lopes, J.L. and Lopes, N.P., 2016. Fragmentation reactions using electrospray ionization mass spectrometry: an important tool for the structural elucidation and characterization of synthetic and natural products. *Nat. Prod. Rep.* 33, 432-455. <https://doi.org/10.1039/c5np00073d>.
- Deng, P., Khan, A., Jacobson, D., Sambrani, N., McGurk, L., Li, X., Jayasree, A., Hejatko, J., Shohat-Ophir, G., O’Connell, M. A., Li, J. B., & Keegan, L. P. (2020). Adar RNA editing-dependent and -independent effects are required for brain and innate immune functions in *Drosophila*. *Nature Communications*, 11(1), 1580. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15435-1>
- Escalante-Sánchez, E., Rosas-Ramírez, D., Linares, E., Bye, R., & Pereda-Miranda, R. (2008). Batatinosides II-VI, acylated lipooligosaccharides from the resin glycosides of sweet potato. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(20), 9423–9428.
<https://doi.org/10.1021/jf801973m>

- Fan, B. Y., Jiang, X., Li, Y. X., Wang, W. L., Yang, M., Li, J. L., ... & Chen, G. T. (2022). Chemistry and biological activity of resin glycosides from Convolvulaceae species. *Medicinal Research Reviews*, 42(6), 2025-2066.
- Figueroa-González, G., Jacobo-Herrera, N., Zentella-Dehesa, A., & Pereda-Miranda, R. (2012). Reversal of multidrug resistance by morning glory resin glycosides in human breast cancer cells. *Journal of Natural Products*, 75(1), 93-97.
- Ghosh, B., Jones, A (2017). Profiling, characterization, and analysis of natural and synthetic acylsugars (sugar esters). *Analytical Methods*, 29(6),892-905.
<https://doi.org/10.1039/c6ay02944b>
- Hardy, K. (2021) Paleomedicine and the Evolutionary Context of Medicinal Plant Use. *Rev. Bras. Farmacogn.* 31, 1–15. <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00107-4>
- Hernández, F. (1959). *Historia Natural de Nueva España*. Universidad Nacional Autónoma de México: Mexico City, 2, 133-135.
- Kruse, L. H., Bennett, A. A., Mahood, E. H., Lazarus, E., Park, S. J., Schroeder, F., Moghe, G. D. (2022). Illuminating the lineage-specific diversification of resin glycoside acylsugars in the morning glory (Convolvulaceae) family using computational metabolomics. *Horticulture Research*, 9, 1-10. <https://doi.org/10.1093/hr/uhab079>.

- Linajes, A., Rico-Gray, V. & Carrión, G. (1994). Traditional production system of the root of jalapa, *Ipomoea purga* (convolvulaceae), in Central Veracruz, Mexico. *Econ Bot*, 48, 84–89.
- Lira-Ricárdez, J., Pereda-Miranda, R. (2020). Reversal of multidrug resistance by amphiphilic morning glory resin glycosides in bacterial pathogens and human cancer cells. *Phytochem Rev* 19:1211-1229. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09631-1>
- Lira-Ricárdez, J., Pereda-Miranda, R. P., Castañeda-Gómez, J., Fragoso-Serrano, M., Simas, R. C., Leitao, S. G. (2019). Resin Glycosides from the roots of *Operculina macrocarpa* (Brazilian Jalap) with purgative activity. *Journal of Natural Products*, 1664-1667.
- Loraine, S., Mendoza-Espinosa, J.A. (2010). Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41, 18-27.
- Miranda, F., Valdés, J. (1964). “Comentarios botánicos”. En *Libellus de medicinalibus Indorum herbis*, Martín de la Cruz, pp. 243-284. Instituto Mexicano del Seguro Social.
- Montiel-Ayala, M. E., Jiménez-Bárceñas, N. R., Castañeda-Gómez, J., Moreno-Velasco, A., Lira-Ricárdez, J., Fragoso-Serrano, M., Leitão, S. G., & Pereda-Miranda, R. (2021). Glycosidic Acid Content from the Roots of *Operculina hamiltonii* (Brazilian Jalap) and Some of Their

- Phytopharmaceuticals with Purgative Activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 31(5), 698–708.
- Moreno-Velasco, A. (2023). Caracterización estructural de las resinas glicosídicas de *Operculina hamiltonii* y su efecto sinérgico con vinblastina en células cancerosas humanas. [Tesis de doctorado, Programa de Posgrado en Ciencias Química, Universidad Nacional Autónoma de México].
- Moreno-Velasco, A., Flores-Tafoya, P. J., Fragoso-Serrano, M., Guimarães Leitão, S., Pereda-Miranda, R. (2022). Resin Glycosides from *Operculina hamiltonii* and Their Synergism with Vinblastine in Cancer Cells. *Journal of Natural Products*, 85(10), 2385-2394. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00594>
- Orellana, E. A., & Kasinski, A. L. (2016). Sulforhodamine B (SRB) Assay in Cell Culture to Investigate Cell Proliferation. *Bio-protocol*, 6(21), e1984. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.1984>
- Pereda-Miranda R, Rosas-Ramírez D, Castañeda-Gómez J (2010) Resin Glycosides from the Morning Glory Family. In: Kinghorn A, Falk H, Kobayashi J (eds) *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*; Springer-Verlag: New York, Vol. 92, Chapter 2, pp 77–152. https://doi.org/10.1007/978-3-211-99661-4_2

- Pereda-Miranda, R., & Bah, M. (2006). Diterpenoids and other constituents from *Operculina hamiltonii*. *Natural Product Communications*, 1(11), 1037-1042.
- Pereda-Miranda, R., & Bah, M. (2003). Biodynamic constituents in the Mexican morning glories: purgative remedies transcending boundaries. *Current topics in medicinal chemistry*, 3(2), 111–131. <https://doi.org/10.2174/1568026033392534>
- Pereda-Miranda, R., & Escobedo-Martínez, C. (2003). *Química de productos naturales: métodos de análisis*. México: Limusa.
- Pereda-Miranda, R., Hernández-Carlos, B. (2002). HPLC isolation and structural elucidation of diastereomeric niloyl ester tetrasaccharides from Mexican scammony root. *Tetrahedron*, 3145-3154.
- Pereda-Miranda, R., Mata, R., Anaya, A. L. (1993). Tricolorin A, major phyto-growth inhibitor from *Ipomoea tricolor*. *Journal of Natural Products*, 56, 571-582.
- Pereda-Miranda, R., Salazar-Cabrera, C. J., Mata, R., & Rodríguez-Ortiz, R. (2010). Phytochemistry of Mexican Convolvulaceae: Chemistry, ethnopharmacology, and biologic activities of *Argyrea nervosa* and *Ipomoea* species. In *Studies in Natural Products Chemistry*. Elsevier, 37, 367-438.

Rosas-Ramírez, D., & Pereda-Miranda, R. (2013). Resin glycosides from the yellow-skinned variety of sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(39), 9488–9494. <https://doi.org/10.1021/jf402952d>

Staples, G. W., & Brummitt, R. K. (2007). Convolvulaceae. In G. W. Staples, D. R. Herbst, & C. T. Imada (Eds.), *A tropical garden flora: Plants cultivated in the Hawaiian Islands and other tropical places* (Vol. 2, pp. 75-139). Bishop Museum Press.

Stefanovic, S., Krueger, L., & Olmstead, R. G. (2002). Monophyly of the Convolvulaceae and circumscription of their major lineages based on DNA sequences of multiple chloroplast loci. *American journal of botany*, 89(9), 1510–1522. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.9.1510>

Stevens, P. F., & Davis, H. M. (2006). The angiosperm phylogeny Website - a tool for reference and teaching in a time of change. *Proceedings of the American Society for Information Science and Technology*, 42(1). <https://doi.org/10.1002/meet.14504201249>

Villarreal-Calderón, R., Rodríguez-López, V., Rodríguez-Pérez, R., Villaseñor, J. L., Mata, R., & Bye, R. (2013). Antiprotozoal and cytotoxic activities of extracts and compounds from *Operculina hamiltonii* roots. *Molecules*, 18(9), 11231-11245. doi: 10.3390/molecules180911231

Zhou JR, Tokutomi N, Satou Y, Yasuda S, Kinoshita H, Nohara T, Yokomizo K, Ono M.

Different Zhou, J.-R., Tokutomi, N., Satou, Y., Yasuda, S., Kinoshita, H., Nohara, T.,

Yokomizo, K., & Ono, M. (2022). Different effects on the tonus of colon and ileum

isolated from mouse by resin glycoside (pharbitin) of Pharbitidis Semen. *BMC*

Complementary Medicine and Therapies, 22(1), 82. [https://doi.org/10.1186/s12906-022-](https://doi.org/10.1186/s12906-022-03570-9)

03570-9

Zhu, D., Chen, C., Xia, Y., Kong, L.-Y., & Luo, J. (2019). A purified resin glycoside fraction

from Pharbitidis Semen induces paraptosis by activating chloride intracellular channel-1

in human colon cancer cells. *Integrative Cancer Therapies*, 18, 1534735418822120.

<https://doi.org/10.1177/1534735418822120>