

# ELAGITANINOS Y FLAVONOIDES DE *CUPHEA* *CARTHAGENENSIS* (JACQ.) J.F.MACBR. AISLADOS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA SEMIPREPARATIVA

Mirtes Midori Tanae<sup>a</sup>, Ingrit Elida Collantes Díaz<sup>\*b</sup>, Antonio José Lapa<sup>a</sup>

## RESUMEN

*Cuphea carthagenensis* fue seleccionada por el Ministerio de Salud del Brasil (CEME Programa 1984 – 1998) como una fuente nativa para desarrollar fitomedicamentos para el servicio público de salud. El presente trabajo reporta la identificación y el aislamiento de elagitaninos y flavonoides mayoritarios presentes en la fase butanólica del extracto acuoso de las partes aéreas de *C. carthagenensis* por cromatografía líquida de alta performance semipreparativa. La identificación de los compuestos fue realizada por análisis de sus espectros de resonancia magnética nuclear y espectro de masas. Los elagitaninos que están bien definidos fueron oenoteína B (1) y woodfordina C (3) y los flavonoides quercetina (8) y quercetina-3-O-β-D-glucuronopiranosideo (10). También fue identificado el elagitanino trimero *oenoteína A* (2), pero se encuentra en sus posibles mezclas anoméricas, así como, un tetrámero (4, 5, 6 y 7) también en sus posibles mezclas anoméricas, este último confirmamos por el análisis de sus espectros de masas.

**Palabras claves:** *Cuphea carthagenensis*, planta medicinal, elagitaninos, flavonoides, HPLC

## ELLAGITANNINS AND FLAVONOIDS FROM *CUPHEA* *CARTHAGENENSIS* (JACQ.) J.F.MACBR. ISOLATED BY SEMIPREPARATIVE LIQUID CHROMATOGRAPHY

## ABSTRACT

*Cuphea carthagenensis* was selected by the Brazilian Ministry of Health (CEME Program 1984-1998) as a native source to develop phytomedicines for the public health service. The present work reports the isolation and identification of major ellagitannins and flavonoids present in the butanolic phase of the aqueous extract of the aerial parts of *C. carthagenensis* by semi-preparative High Performance Liquid Chromatography. The identification of the compounds was carried out by analysis of nuclear magnetic resonance spectrum and mass spectrometry. The well-defined ellagitannins were oenotein B (1), woodfordin C (3) and flavonoids were quercetin (8), and quercetin-3-O-β-D-glucuronopyranosideo (10). The ellagitannin trimer oenotein A (2) was also identified,

---

<sup>a</sup> Natural Products Section, Department of Pharmacology, Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 04044-020 São Paulo, SP, Brazil

<sup>b</sup> Facultad de Ingeniería Química y Textil, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru 210 Rímac, Lima-Perú. icollantesd@uni.edu.pe

but it is found in its possible anomeric mixtures, as well as a tetramer (4, 5, 6 and 7) also in its possible anomeric mixtures, the latter confirmed by the analysis of its mass spectra.

**Keywords:** *Cuphea carthagenensis*, medicinal plant, ellagitannins, flavonoids, HPLC

## INTRODUCCIÓN

La familia Lythreaceae incluye 31 géneros con aproximadamente 600 especies diseminadas en las regiones subtropical y tropical<sup>1,2,3</sup>. El género *Cuphea* es el más representativo de esta familia y comprende alrededor de 250 especies dispersas en el continente americano, siendo 100 especies nativas en el Brasil, distribuidas en las regiones noreste, sureste y sur<sup>1,2,3</sup>. *Cuphea* es una planta herbácea de bajo crecimiento anual, dependiendo de la especie cultivada, su altura varía entre 20 cm – 4 m en plantas cruzadas o autopolinizable. Muchas especies de *Cuphea* son conocidas popularmente en el Brasil como “sete-sangrías” porque el té de sus hojas son usadas por la medicina popular brasilera para el tratamiento de la hipertensión, otros usos también son mencionados como para el tratamiento de la diarrea, fiebre, reumatismos, malaria, sífilis, hipercolesteremia y arterioesclerosis<sup>4,5,6</sup>. *Cuphea carthagenensis* es abundante y fue seleccionada por el Ministerio de Salud del Brasil (CEME Programa 1984 – 1998) como una fuente nativa para desarrollar fitomedicamentos por el servicio público de salud.

Estudios farmacológicos con los extractos y compuestos aislados del género *Cuphea* presentaron actividad anticancerígena<sup>7,8,9,10,11</sup>, antiprotazoal<sup>12,13</sup>, antioxidante<sup>14</sup>, antiviral<sup>15</sup>, antiulcera<sup>16</sup>, antihipertensivo/hipotensora<sup>17,18,19</sup> y también para la pérdida de peso<sup>20,21</sup>. También fueron identificados los ácidos caprílico, cáprico, mirístico y láurico que son usadas en la industria química, farmacéutica y nutricional, haciendo así, *Cuphea* como una planta de alta importancia económica<sup>22,23,24,25</sup>. Entre los metabolitos secundarios identificados están los flavonoides apigenina glicosilada, luteolina *O*-glicosilada, kaempferol *O*-glicosilado, quercetina *O*-glicosilada y miricetin *O*-glicosilada<sup>26,12,13</sup>. Los taninos hidrolizables del tipo elagitaninos como cuphiin D<sub>1</sub>, cuphiin D<sub>2</sub>, oenothina B y woodfordin C fueron identificados en *C. hyssopifolia* nativa de México, Guatemala y honduras<sup>7,27</sup>. Los triterpenos epifriedelinol y cartagenol fueron identificados en *C. carthagenensis* nativa de America del Sur<sup>25</sup>. En el Brasil existen pocos reportes sobre *C. carthagenensis* mismo siendo conocida como una planta medicinal, por ese motivo hemos desarrollado por HPLC semipreparativo un método de purificación del extracto y aislamos e identificamos algunos componentes de un extracto acuoso.

## PARTE EXPERIMENTAL

### Reactivos y materiales

Solventes para el sistema HPLC: ácido trifluoroacético (TFA), acetonitrilo (ACN) (grado HPLC, de la marca MERCK), agua ultrapura (Nanopure® Deionization System).

Solventes para la extracción, éter etílico, acetona, acetato de etilo y butanol (Grado PA).

### **Obtención de la *Cuphea carthagenensis***

La *C. carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. fue cultivada en el Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA-UNICAMP) del estado de São Paulo, Brasil y sus partes aéreas fueron utilizadas para los estudios fitoquímicos y farmacológicos.

### **Obtención del extracto bruto**

Las partes aéreas fueron secadas bajo sombra por 2 días, luego fueron secadas a 40°C y molidas hasta obtener 1 mm de tamaño. El material seco y molido fue sometido a extracción con agua caliente (100 g/L, 72 °C, 30 min), la infusión obtenida fue enfriada, filtrada y congelada para después ser sometida a liofilización hasta la remoción total del agua, conduciéndonos a la obtención del extracto acuoso (EA). 100 g de EA de las partes aéreas fueron extraídos con 600 mL de agua:acetona (70:30) a temperatura de ambiente con agitación constante por 10 h por tres veces, el extracto fue filtrado y extraído con éter etílico (3 x 100 mL), seguido de acetato de etilo (3 x 100 mL) y finalmente por butanol (3 x 100 mL), los solventes fueron removidos con rotaevaporador obteniéndose finalmente las fases de éter etílico, acetato de etilo y butanólica. La fase butanólica fue sometida a análisis por cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) analítico.

### **Cromatógrafo líquido analítico (HPLC analítico)**

El HPLC analítico (Shimadzu® - Japan) está conformado por 2 bombas LC-20AT, detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-10A), una controladora CBM-20A operando con software Shimadzu LC solución 1.24 SP1 y columna VP ODS-Shimadzu (25 x 0.46 cm x 5 µm).

### **Método con el HPLC analítico**

El extracto acuoso y la fase butanólica secos fueron sometidos a análisis por HPLC analítico para obtener las condiciones cromatográficas adecuadas para la mejor separación de las señales presentes en el cromatograma: el solvente A (H<sub>2</sub>O/TFA 0,1%) y de 15 – 60% del solvente B (H<sub>2</sub>O/acetonitrilo 75%) en 30 min a un flujo constante de 1 mL/min y a la longitud de onda de 260 nm.

### **Cromatógrafo líquido semipreparativo (HPLC semipreparativo)**

El HPLC semipreparativo (Shimadzu® - Japan) está conformado por 2 bombas (LC-8A), un detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-6A) operando a 260 nm, una controladora SCL-8A, un integrador CR-4A y un colector de fracciones FCV-100B, fue usada una columna Shimpack-prep ODS (25 x 2 cm x 5 µm).

### **Método con el HPLC semipreparativo**

La fase butanólica (3 g) debidamente seca fue sometida a separación y aislamiento de sus componentes usando como eluyente el solvente A (H<sub>2</sub>O/TFA 0,1%) y 15 - 60 % del solvente B (H<sub>2</sub>O/acetonitrilo 75%) en 30 min a un flujo constante de 10 mL/min, 10 fracciones fueron colectados, el solvente orgánico fue removido con rotaevaporador y la fase acuosa fue removida por liofilización. Las fracciones liofilizadas fueron analizadas

por resonancia magnética nuclear (RMN) y por cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas (LC-MS/MS).

### Espectrómetro de resonancia magnética nuclear (RMN)

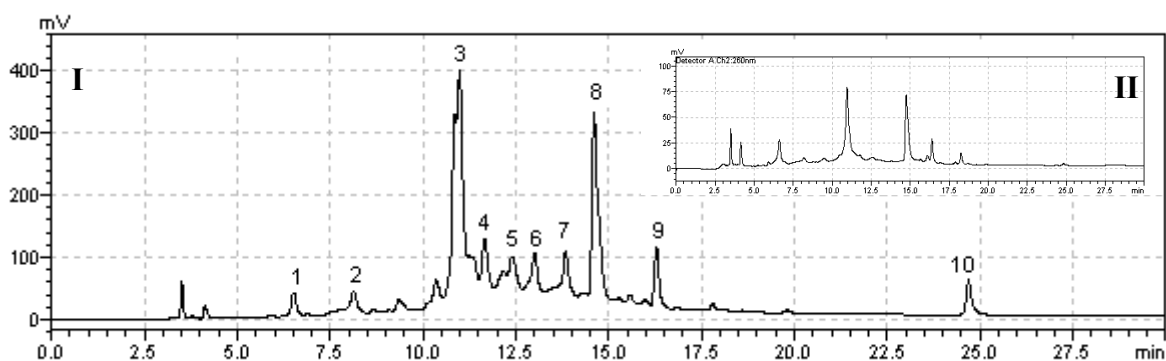
Los espectros de resonancia magnética nuclear de hidrógeno y carbono 13 (RMN- $^1\text{H}$  y RMN- $^{13}\text{C}$ ) fueron obtenidos en un espectrómetro Bruker DRX 500 operando a 500 y 125 MHz respectivamente. Fueron usados acetona- $d_6$  y dimetilsulfoxido- $d_6$  como solventes deuterados.

### Cromatógrafo líquido acoplado a espectrómetro de masas (CL-MS/MS)

El cromatógrafo líquido (Shimadzu® - Japan) está conformado por 2 bombas (LC-10AVP), con detector espectrofotométrico UV-Vis (SPD-M10AVP), con una controladora (SCL-10AVP) acoplado a un espectrómetro de masas Ion Trap LC-MS/MS<sup>n</sup>-Bruker Datonics Esquire 3000 Plus. Fue usado como eluyente el solvente A: H<sub>2</sub>O and B: H<sub>2</sub>O/acetonitrilo 75%; 15 – 60% de B en 30 min. el flujo fue a 100 $\mu\text{L}/\text{min}$  a 325°C, 7 L/min del gas seco y nebulizado a 27 psi y HV 4000 V.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

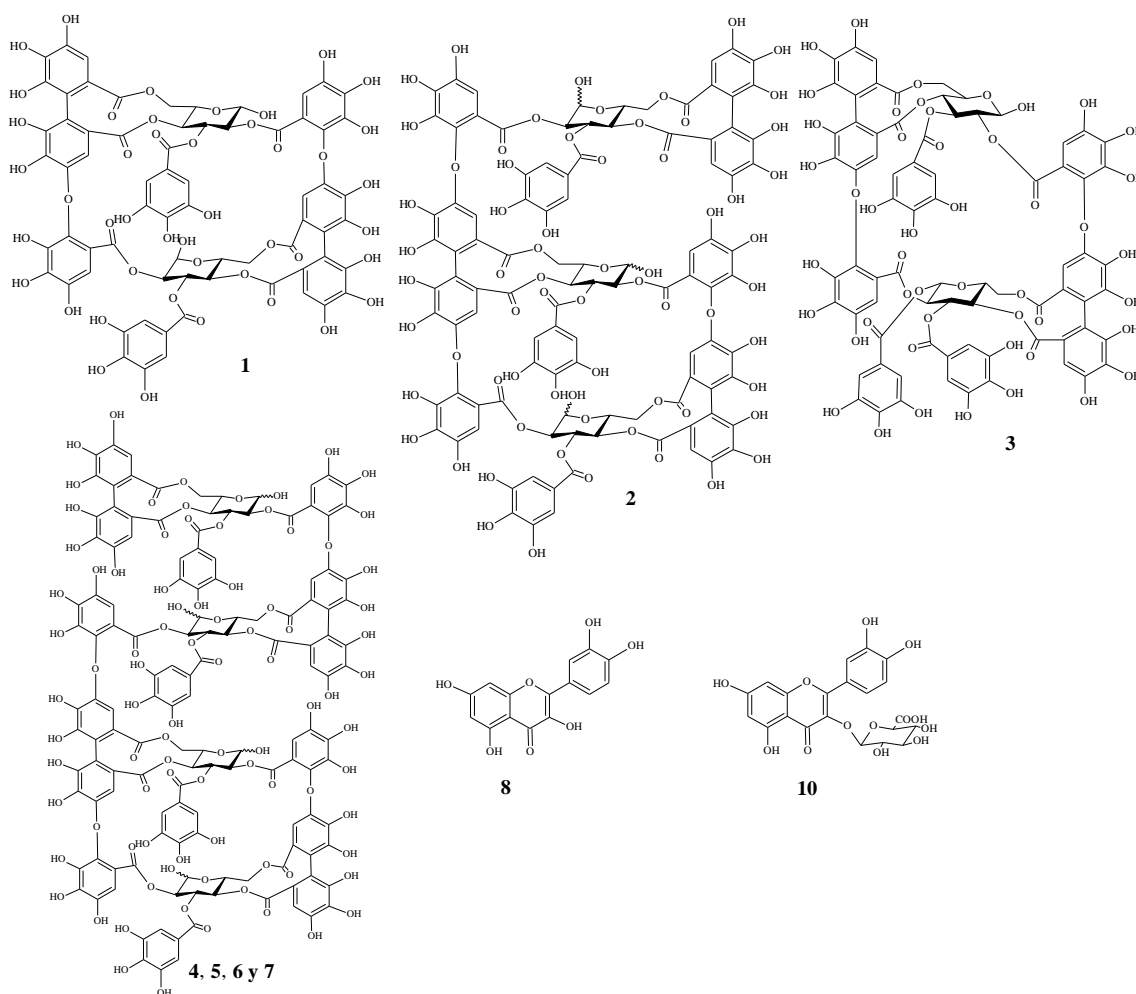
El cromatograma analítico de la fase butanólica (Figura 1-I) presento 10 picos óptimos para ser sometido a aislamiento por HPLC semipreparativo, ni todas las señales observadas en la fase butanólica se puede apreciar en el cromatograma del extracto acuoso (Figura 1-II), esta diferencia fue observada debido a que la fase butanólica esta más preconcentrado los componentes (4 - 7), mientras que en el extracto acuoso se encuentra más diluidos. El análisis de los espectros (RMN- $^1\text{H}$ , RMN- $^{13}\text{C}$  y LC-MS/MS) de las fracciones aisladas de la fase butanólica del extracto acuoso de *C. cathagenensis*, demuestran la presencia de taninos hidrolizables del tipo elagitaninos y de flavonoides como mostramos sus estructuras en la Figura 2.



**Figura 1.-** Cromatograma obtenido por HPLC analítico a  $\lambda$  260 nm, usando como columna (VP ODS–Shimadzu, 25x0.46 cm), con gradiente el solvente A (H<sub>2</sub>O/TFA 0,1%) y de 15 – 60% del solvente B (H<sub>2</sub>O/acetonitrilo 75%) en 30 min a un flujo constante de 1 mL/min. I de la fase butanólica y II del extracto acuoso de las partes aéreas de *C. cathagenensis*.

Fracción 1 (1).- Fue obtenido como un polvo crema amorfo. Su espectro de masas en el modo positivo presentó los iones  $m/z$  1586.4  $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}]^+$ , 1569.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$  y 1551.4  $[\text{M}+\text{H}-$

$\text{H}_2\text{O}]^+$  sugiriendo que su fórmula molecular sería  $\text{C}_{68}\text{H}_{48}\text{O}_{44}$ . El análisis en el modo negativo presenta un ion molecular  $m/z$  1567.2  $[\text{M}-\text{H}]^-$  y su fragmento en  $m/z$  783.1  $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$  como pico base, este fragmento es un ion doblemente cargado que sugiere que F1 es un elagitanino, también llamado de un dímero macrocíclico formado por la dimerización de 2 monómeros de telimagrandina I vía dos enlaces *m*-DOG, al formar el dímero cada unidad pierde 2 Da y es por esa razón que se observa el fragmento  $m/z$  783.1 de elagitanino oenoteína B<sup>28</sup>. Los desplazamientos químicos de sus espectros de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C en  $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ , se encuentran en las Tablas 2 y 3 respectivamente, la comparación de estos desplazamientos químicos con los reportados por la literatura<sup>29</sup> confirmó que se trataba de oenoteína B.



**Figura 2.-** Moléculas identificadas en la fase butanólica del extracto acuoso de las partes aéreas de *C. carthagenensis* oenoteína B (1), oenoteína A (2), woodfordina C (3), tetrámero (4, 5, 6 y 7), quercetina (8) y quercetina-3-*O*-β-D-glucuronopiranosido (10).

Fracción 2 (2).- Fue obtenido un polvo crema amorfo. Su espectro de masas en el modo negativo presentó el fragmento  $m/z$  1175,3  $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$  como pico base, esta señal es un ion doblemente cargado que sugiere que F2 es un trímero de masa molar de 2352.28 Da con fórmula molecular  $\text{C}_{102}\text{H}_{72}\text{O}_{66}$ . Biosintéticamente se generó después de formada la oenoteína B se enlazó un monómero adicional de telimagrandina I vía un enlace DOG (1568Da + 786Da -2Da), sugiriendo que F2 es oenoteína A<sup>28,30</sup>. Sus espectros de RMN-

$^1\text{H}$  y RMN- $^{13}\text{C}$  presentan desplazamientos químicos complejos debido a que se trata de un trímero y debe estar en sus diferentes mezclas anoméricas posibles, la comparación de estos con los reportados por la literatura<sup>31,32</sup> confirmaron que se trataba de oenoteina A. Fracción 3 (3).- Fue obtenido un polvo amorfo de color crema, sus desplazamientos químicos de sus espectros de RMN- $^1\text{H}$  y RMN- $^{13}\text{C}$  son reportados en las Tablas 2 y 3 respectivamente, la comparación de estos con los reportados por Kadota et al 1990 sugiriendo que es woodfordina C. Su espectro de masas en el modo negativo presentó el fragmento  $m/z$  859.2  $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$  como pico base, es un ion doblemente cargado que sugiere que el ion molecular es  $m/z$  1719  $[\text{M}-\text{H}]^-$  correspondiente a woodfordina C ( $\text{C}_{75}\text{H}_{52}\text{O}_{48}$ ). Su estructura fue confirmada por la referencia bibliográfica<sup>34</sup>.

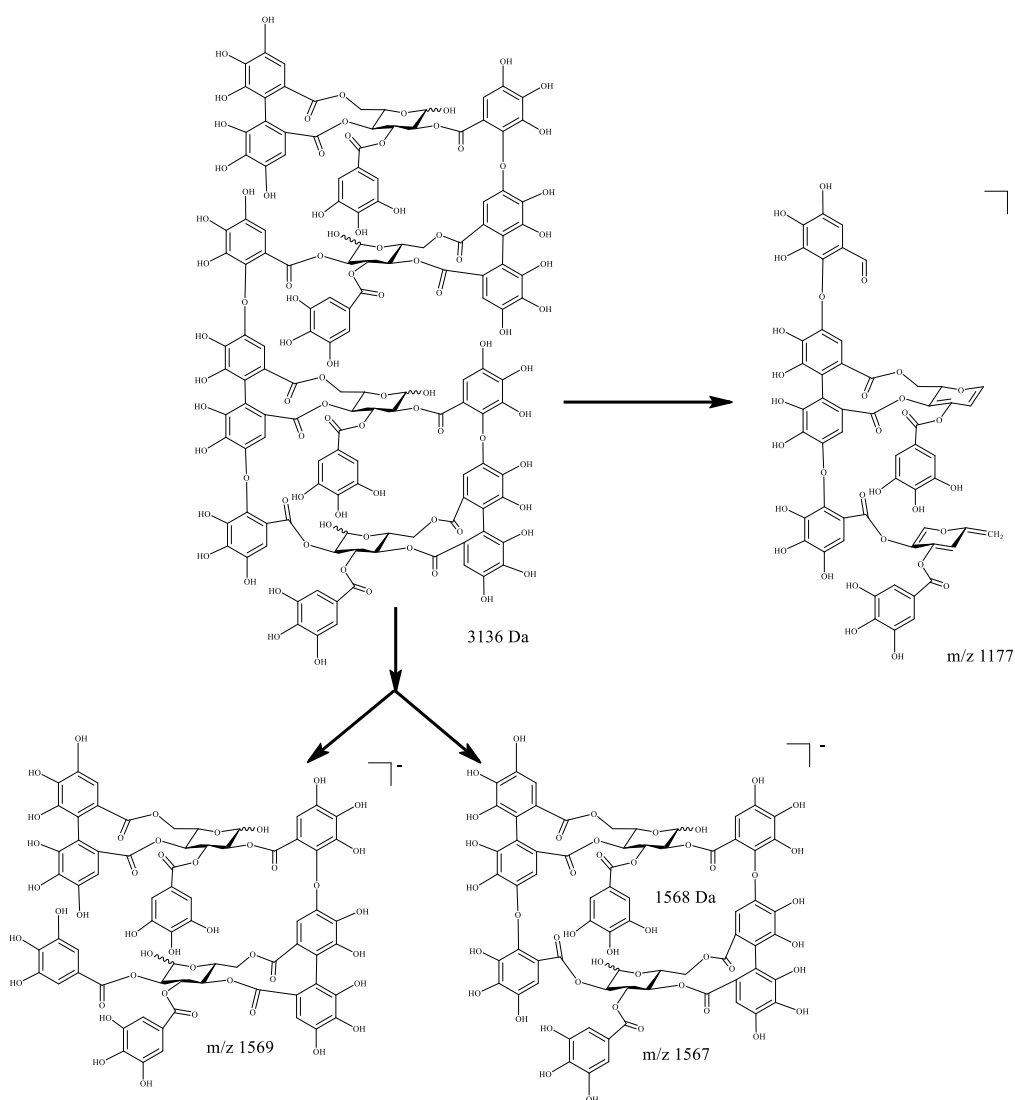
**Tabla 1.-** Fragmentos presentes en los cromatogramas totales de iones de las fracciones 4, 5, 6 y 7 del fraccionamiento de la fase butanólica del extracto acuoso de las partes aéreas de *C. carthagenensis*. La propuesta es que se trata de un tetrámero de masa molar 3136 Da.

Fracción	TR	Pseudo ion molecular	Fragmentos $m/z$
4	12.3	1045.6	1569.1, 1251.7, 1177.2
	12.9		1568.7, 1251.2, 1176.6
	13.9		1568.7, 1251.7
5	12.3	1045.6	1568.6, 1251, 1176.6
	12.9		1639.2 1568.6, 1251.6, 1176.2, 994.7, 934.9,
	13.3		1644.1, 1569.1, 1256,3, 1176.2, 1095.5, 935, 859
	13.9		1644, 1568.6, 1252.6, 1176.1, 1095.5
6	12.3	1045.6	1569.2, 1251.1, 1176.7, 995.9
	12.9		1568.7, 1444.5, 1219.8, 1176.6
	13.9		1569.1, 1252.4, 1095.9, 834.3
7	13.8	1045.6	1569.1, 1252, 1176.2, 1095.7

$m/z$  relación masa carga, TR tiempo de retención

Fracciones 4, 5, 6 y 7 (4, 5, 6 y 7).- Sus espectros de RMN- $^1\text{H}$  y de RMN- $^{13}\text{C}$  presentan muchas señales demostrando su complejidad para la identificación. Ya sus espectros de masas en el modo negativo proporcionan más información, los cromatogramas totales de iones de las cuatro fracciones presenta señales muy similares como se puede observar en la Tabla 1. La referencia bibliográfica<sup>28,35,36</sup> sugiere que estamos frente a isómeros de un elagitanino tetramérico de masa molar 3136 Da con fórmula molecular  $\text{C}_{136}\text{H}_{96}\text{O}_{88}$ , que viene del enlace del trímero con la telimagrandina I vía un enlace DOG (2352Da + 786Da -2Da). Con los cromatoiones de cada fracción se puede apreciar que las tres fracciones tienen las mismas señales, pero en diferentes proporciones, excepto la fracción 5 que presenta una señal a más en 13.3 min. El tetrámero propuesto debe tener una serie de combinaciones anoméricas por esa razón es difícil su identificación por RMN. En la Tabla 1 se presentan las fracciones (4, 5, 6 y 7) con sus respectivas absorciones en los diferentes tiempos de retención, también se observa que el pseudo ion molecular en  $m/z$  1045  $[\text{M}-3\text{H}]^{3-}$  así denominado por Karonen et al 2010 es un ion triplemente cargado, y los demás fragmentos presentes como  $m/z$  1569 que se origina por la pérdida de la oenoteina B del tetrámero  $[\text{M}-\text{H}-\text{Oenoteina B}]^-$  como mostramos en la Figura 3. Una manera de explicar los resultados observados en las fracciones 4, 5, 6 y 7 es que como en el cromatógrafo semipreparativo se trabaja con mucho mayor cantidad de masa comparado con un

cromatógrafo analítico, entonces puede que se hayan sobrepuesto las señales, es por ello que tuvimos esos resultados observados en la Tabla 1.



**Figura 3.-** Fragmentación propuesta para las diferentes combinaciones anoméricas del tetrámero presente en las fracciones 4, 5, 6 y 7.

Fracción 8 (**8**).- Fue obtenido un polvo amarillo amorfo, su espectro de RMN- $^1\text{H}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ) presenta característicos desplazamientos químicos de un flavonoide donde el anillo B esta disustituido y el anillo A presenta señales en  $\delta$  6.19 ( $J = 1.95$  Hz) y en  $\delta$  6.42 ( $J = 2.2$  Hz), sus desplazamientos químicos están en la Tabla 2. El espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  ( $\text{Me}_2\text{SO}-d_6$ ) presenta 15 señales y sus desplazamientos químicos están en la Tabla 3. Por comparación de los desplazamientos químicos con los reportados por la literatura<sup>37,38</sup> confirmamos que se trata de quercetina.

Fracción 10 (**10**).- Fue obtenido un polvo amarillo amorfo, los desplazamientos químicos de su espectro de RMN- $^1\text{H}$  y RMN- $^{13}\text{C}$  se encuentran en la tabla 2 y 3 respectivamente, la comparación de estos con la respectiva literatura sugiere que la fracción 10 es

quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopiranosideo<sup>39</sup>. La confirmación de su estructura nos la dio el espectro de masas  $m/z$  955.3 [2M-H]<sup>-</sup> como el reportado por Yang et al 2016.

**Tabla 2.-** Desplazamiento químico de los espectros de RMN-<sup>1</sup>H (Me<sub>2</sub>CO-*d*<sub>6</sub>, ppm, 500 MHz) de los compuestos F1, F3, F8 y F10

H	F1	F3	H	F8	F10
	<b><math>\beta</math>-glucosa</b>	<b><math>\beta</math>-glucosa</b>			
1	4.43 <i>d</i> , <i>J</i> =8.1	4.4 <i>d</i> <i>J</i> =7.9	1	-	-
2	5.17 <i>dd</i> , <i>J</i> =9.5, 8.2	5.21 <i>dd</i> <i>J</i> =9.5, 8	2	-	-
3	5.43 <i>t</i> , <i>J</i> =9.7	5.49 <i>t</i> <i>J</i> =9.7	3	-	-
4	4.89 <i>t</i> , <i>J</i> =9.5	4.92 <i>t</i> <i>J</i> =9.93	4	-	-
5	4.14 <i>dd</i> , <i>J</i> =9.7, 4.2	4.17 <i>dd</i> <i>J</i> =9.9, 5.2	5	-	-
6a	3.86 <i>d</i> , <i>J</i> =13.2	3.89 <i>d</i> <i>J</i> =13.31	6	6.19 <i>d</i> <i>J</i> =1.95	6.22 <i>d</i> <i>J</i> =2.2
6e	5.02 <i>dd</i> , <i>J</i> =12.8, 7.4	5.04 <i>dd</i> <i>J</i> =13.5, 5.6	7	-	-
A	6.67 <i>s</i>	6.67 <i>s</i>	8	6.42 <i>d</i> <i>J</i> =2.2	6.42 <i>d</i> <i>J</i> =1.91
B	6.29 <i>s</i>	7.09 <i>s</i>	9	-	-
C	7.02 <i>s</i>	6.52 <i>s</i>	10	-	-
G-2	7.24 <i>s</i>	7.32 <i>s</i>	1'	-	-
G-6	7.24 <i>s</i>	7.32 <i>s</i>	2'	7.66 <i>d</i> <i>J</i> =2.2	7.52 <i>d</i> <i>J</i> =2.5
	<b><math>\alpha</math>-glucosa</b>	<b><math>\alpha</math>-glucosa</b>	3'	-	-
1	6.23 <i>d</i> , <i>J</i> =3.5	7.29 <i>d</i> <i>J</i> =2.9	4'	-	-
2	5.99 <i>m</i>	6.24 <i>m</i>	5'	6.89 <i>d</i> <i>J</i> =8.3	6.84 <i>d</i> <i>J</i> =8.56
3	6.12 <i>m</i>	6.22 <i>m</i>	6'	7.54 <i>dd</i> <i>J</i> =8.6, 2.2	7.60 <i>dd</i> <i>J</i> =8.56, 2.2
4	5.60 <i>m</i>	5.83 <i>t</i> <i>J</i> =10	1''	-	5.49 <i>d</i> <i>J</i> =7.33
5	4.58 <i>dd</i> , <i>J</i> =9.3, 6.7	4.68 <i>dd</i> <i>J</i> =9.9, 7	2''	-	3.30 <i>t</i> <i>J</i> =8.8
6a	3.62 <i>d</i> , <i>J</i> =12.6	3.71 <i>d</i> <i>J</i> =13.1	3''	-	3.38 <i>t</i> <i>J</i> =9.29
6e	5.25 <i>dd</i> , <i>J</i> =13.2, 6.5	5.33 <i>dd</i> <i>J</i> =13.5, 6.7	4''	-	3.49 <i>m</i>
A'	6.47 <i>s</i>	6.53 <i>s</i>	5''	-	3.58 <i>d</i> <i>J</i> =9.78
B'	6.48 <i>s</i>	6.32 <i>s</i>	6''	-	-
C'	6.69 <i>s</i>	6.73 <i>s</i>			
G'-2	7.02 <i>s</i>	7.22 <i>s</i>			
G'-6	7.02 <i>s</i>	7.22 <i>s</i>			
G''-2	-	7.04 <i>s</i>			
G''-6	-	7.04 <i>s</i>			

multiplete (*m*), doblete (*d*), duplodoblete (*dd*), singlete (*s*), tripleta (*t*), constante de acoplamiento en Hz (*J*)



**Tabla 3.-** Desplazamiento químico de los espectros de RMN  $^{-13}\text{C}$  ( $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$ , ppm, 125 MHz) de los compuestos F1, F3, F8 y F10

C	F1 $\beta$ -glucosa	F3 $\beta$ -glucosa	C	F1 $\alpha$ -glucosa	F3 $\alpha$ -glucosa	C	F8	F10
1	95.72	95.89	1	91.29	91.46	1	-	-
2	74.86	74.92	2	74.37	73.23	2	147.46	156.83
3	73.51	73.39	3	71.52	71.52	3	136.35	133.65
4	73.65	73.99	4	70.41	69.81	4	176.47	177.78
5	72.03	72.49	5	69.72	72.06	5	161.33	161.78
6	62.37	65.50	6	63.37	62.91	6	98.87	99.42
A 1	125.76	125.53	A' 1'	125.1	126.35	7	164.52	164.84
A 2	116.04	116.06	A' 2'	115.31	116.06	8	94.06	94.26
A 3	144.46	146.05	A' 3'	144.80	144.9	9	156.79	156.89
A 4	136.73	136.98	A' 4'	136.41	136.84	10	103.65	104.49
A 5	145.32	146.05	A' 5'	145.32	144.9	1'	122.61	122.36
A 6	107.84	107.86	A' 6'	107.86	108.16	2''	115.67	115.84
A CO	169.74	169.84	A' CO	166.85	168.46	3'	145.69	145.54
B 1	126.89	127.04	B' 1'	126.89	127.04	4'	148.33	149.24
B 2	117.59	121.52	B' 2'	117.59	117.35	5'	116.26	116.59
B 3	145.59	146.05	B' 3'	145.32	145.12	6'	120.7	121.47
B 4	135.82	141.16	B' 4'	136.41	135.72	1''	-	101.63
B 5	147.66	146.86	B' 5'	147.11	147.96	2''	-	71.96
B 6	105.88	115.77	B' 6'	106.6	106.04	3''	-	76.43
B CO	167.56	167.88	B' CO	168.05	168.46	4''	-	72.8
C 1	112.34	121.30	C' 1'	112.34	118.43	5''	-	74.38
C 2	138.96	143.25	C' 2'	136.73	143.99	6''	-	170.41
C 3	139.99	140.23	C' 3'	138.96	145.59			
C 4	139.99	138.35	C' 4'	141.07	134.01			
C 5	143.92	138.42	C' 5'	143.08	139.26			
C 6	110.25	109.04	C' 6'	109.05	109.22			
C CO	166.85	168.08	C' CO	166.07	167.08			
G 1	121.74	121.97	G' 1'	121.68	121.97			
G 2	110.38	111.02	G' 2'	110.38	111.02			
G 3	145.32	145.94	G' 3'	145.32	146.33			
G 4	138.96	139.19	G' 4'	138.96	139.81			
G 5	145.59	145.94	G' 5'	145.59	146.33			
G 6	110.38	111.02	G' 6'	110.38	111.02			
G CO	166.07	166.43	G' CO	167.56	165.26			
			G'' 1''	-	121.67			
			G'' 2''	-	110.61			
			G'' 3''	-	145.86			
			G'' 4''	-	139.43			
			G'' 5''	-	145.86			
			G'' 6''	-	110.51			
			G'' CO	-	168.08			

## CONCLUSIONES

Cuatro tipos de elagitaninos (oenoteina B, oenoteina A, woodfordina C y un tetrámero) y dos flavonoides (quercetina y quercetina-3-*O*- $\beta$ -D-glucuronopiranosideo) fueron aislados e identificados en la fase butanólica del extracto acuoso de las partes aéreas de *C. carthagenensis*. Los flavonoides ya habían sido reportados en la especie colectada en Parana<sup>41,42</sup> y en Rio Grande do Sul<sup>43</sup> del Brasil, también fue reportado quercetina en *C. pinetorum*<sup>12</sup>, *C. ingrata*<sup>34</sup>, *C. ignea*<sup>44</sup>. Los taninos hidrolizables oenoteina B y woodfordina C también fueron aislados en *C. hissopifolia*<sup>7,27</sup>, mientras que en *C. ingrata* fue identificado oenoteina B<sup>34</sup>. Es primera vez que se reporta la presencia del trímico oenoteina A y un tetrámero en *C. carthagenensis*. Los elagitaninos son polifenoles encontrados en plantas como metabolitos secundarios, que han demostrado su habilidad para reducir la emisión de metano por rumiantes<sup>35</sup>.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Dr. Pedro M. Magalhães del CPQBA – UNICAMP, Brasil por la provisión de *Cuphea carthagenensis*; también agradecen por el soporte financiero de FAPESP y FADA-UNIFESP del Brasil.

## REFERENCIA

1. Graham SA, The flowering plant family Lythraceae, the loosestrifes: the genera of North America including Mexico and Central America. 1998a.
2. Graham SA, A taxonomic monograph of the genus *Cuphea* (Lythraceae). 1998b.
3. Ramos LCS, Roath MW, Cavalcanti TB, Kirkbride JH, *Cuphea* (Lythraceae) descriptors. Staff Report. North central regional plant introduction station. Agriculture and home experiment station. Iowa State University of Science and Technology. Ames, Iowa, 1992.
4. Cruz GL, Livro verde das plantas medicinais e industriais do Brasil, Velloso, S.A. (Ed.). Belo Horizonte, Brasil, 1965, p. 864.
5. Corrêa MP, Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultiváveis, v. 1, Rio de Janeiro, Brasil, 1975, 483.
6. Lorenzi N, Plantas daninhas do Brasil terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais, 1991.
7. Wang C-C, Chen L-G, Yang L-L. Antitumor activity of four macrocyclic ellagitannins from *Cuphea hyssopifolia*. *Cancer Letters* 1999; 140(1-2): 195 – 200.
8. Wang C-C, Chen L-G, Yang L-L. Cuphiin D, the macrocyclic hydrolysable tannin induced apoptosis in HL-60 cell line. *Cancer Letters* 2000; 149 (1-2) 77 – 83.
9. Wang CC, Chen LG, L.L. Yang LL. Cytotoxic effects of cuphiin D1 on the growth of human cervical carcinoma and normal cells. *Anticancer Research* 2002a; 22(5): 2677 – 2684.
10. Wang CC, Chen LG, Yang LL. In vitro immunomodulatory effects of cuphiin D1 on human monoclear cells. *Anticancer Research* 2002b 22 (6C) 4233 – 4236.
11. Avila EV, Aguilar RT, Estrada MJ, Ortega ML, Ramos RR. Cytotoxic activity of *Cuphea aequipetala* Proceedings of the Western Pharmacology Society. 2004; 47: 129 – 133
12. Calzada F. Additional antiprotozoal constituents from *Cuphea pinetorum*, a plant used in Mayan traditional medicine to treat diarrhea. *Phytotherapy Research* 2005; 19(8): 725 – 727.
13. Barbosa E, Calzada F, Campos R. In vivo anti giardial activity of three flavonoids isolated of some medicinal plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of diarrhea. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 109(3): 552 – 554.
14. Schuldt EZ, Farias MR, Ribeiro-do-Valle RM, Ckless K. Comparative study of radical scavenger activities of crude extract and fraction from *Cuphea carthagenensis* leaves. *Phytomedicine* 2004; 11(6): 523 – 529.
15. Andrighetti-Fröhner CR, Sincero TCM, da Silva AC, Savi LA, Gaido CM, Bettega JMR, Mancini M, de Almeida MTR, Barbosa RA, Farias MR, Barardi CRM, Simões CMO. Antiviral evaluation of plants from Brazilian Atlantic tropical forest. *Fitoterapia* 2005; 76 (3-4): 374 – 378.

16. Castillo-Juárez I, González V, Jaime-Aguiar H, Martínez G, Linares E, Bye R, Romero I. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in Mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 2009; 122(2): 402 – 405.
17. Braga FC, Wagner H, Lombardi JA, de Oliveira AB. Screening the Brazilian flora for antihypertensive plant species for in vitro angiotensin-I-converting enzyme inhibiting activity. *Phytomedicine* 2000; 7(3): 245 – 250.
18. Isla KKY, Tanae MM, Lima-Landman MTR, Magalhães PM, Lapa AJ, Souccar C. Vasorelaxant effects of ellagitannins isolated from *Cuphea carthagenensis*. *Planta Medica* 2024; 90(4): 276 – 280.
19. Schuldt EZ, Ckless K, Simas ME, Farias MR, Ribeiro-Do-Valle RM. Butanolic fraction from *Cuphea carthagenensis* Jacq McBride relaxes rat thoracic aorta through endothelium-dependent and endothelium-independent mechanisms *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 2000; 35(2): 234 – 239.
20. Biavatti MW, Farias C, Curtius F, Brasil LM, Hort S, Schuster L, Leite SN, Prado SRT. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq) J.F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. *Journal of Ethnopharmacology* 2004; 93(2-3): 385 – 389.
21. Dickel ML, Rates SM, Ritter MRJ. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre South Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 109(1): 60 – 71.
22. Wolf RB, Graham SA, Kleiman R. Fatty acid composition of *Cuphea* seed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 1983; 60(1): 103 – 104.
23. Knapp SJ, Tagliani LA. Genetic variation for seed dormancy in *Cuphea laminuligera* and *Cuphea lanceolata*. *Euphytica* 1990; 47: 65 – 70.
24. Dehesh K. How can we genetically engineer oilseed crops to produce high levels of medium-chain fatty acids?. *European Journal of Lipid Science Technology*. 2001; 103(10): 688 – 697.
25. González AG, Valencia E, Siverio Exposito T, Bermejo Barrera J, Gupta MP. Chemical components of *Cuphea* species. Carthagenol: A new triterpene from *C. carthagenensis* *Planta Medica* 1994; 60(6): 592 – 593.
26. Santos DYAC, Salatino MLF, Salatino A. Flavonoids of species of *Cuphea* (Lythraceae) from Brazil. *Biochemical Systematics and Ecology* 1995; 23(1): 99 – 103.
27. Chen LG, Yen KY, Yang LL, Hatano T, Okuda T, Yoshida T. Macrocyclic ellagitannin dimers, cuphiins D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub>, and accompanying tannins from *Cuphea hyssopifolia*. *Phytochemistry* 1999; 50(2): 307 – 312.
28. Karonen M, Parker J, Agrawal A, Salminen J-P. First evidence of hexameric and heptameric ellagitannins in plants detected by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2010; 24: 3151 – 3156.
29. Santos SC, Waterman PG. Polyphenols from *Eucalyptus consideniiana* and *Eucalyptus viminalis*. *Fitoterapia* 2001; 72: 95 – 97.
30. Saha S, Imran IB. Isolation, detection and quantification of hydrolysable tannins of the biosynthetic pathway by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2021; 35(5): e9005
31. Yoshida T, Chou T, Matsuda M, Yasuhara T, Yazaki K, Hatano T, Nitta A, Okuda T. Woodfordin D and oenothien A, trimeric hydrolysable tannins of macro-ring

- structure with antitumor activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1991; 39(5):1157 – 1162.
32. Yoshida T, Chou T, Nitta A, Okuda T. Tannins and related polyphenols of Lythraceous plants. III- Hydrolyzable tannin oligomers with macrocyclic structures, and accompanying tannins from *Woodfordia fruticosa* Kurz. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1992; 40(8): 2023 – 2030.
  33. Kadota S, Takamori Y, Nyein KN, Kikuchi T, Tanaka K, Ekimoto H. Constituents of the leaves of *Woodfordia fruticosa* Kurz. I. Isolation, structure, and proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance signal assignments of woodfruticosin (woodfordin C), an inhibitor of deoxyribonucleic acid topoisomerase II. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 1990; 38(10) 2687 – 2697.
  34. Sobolewska D, Owczarek A, Olszewska M, Paulino N, Podolak I, Pasko P, Wróbel-Biedrawa D and Michalska K. UHPLC-PDA-ESI-MS profile of phenolic compounds in the aerial parts of *Cuphea ingrata* Cham. & Schltld. *Natural Products Research* 2021; 36(6): 1 – 5.
  35. Baert N, Karonen M, Salminen J-P. Isolation, characterization and quantification of the main oligomeric macrocyclic ellagitannins in *Epilobium angustifolium* by ultra-high- performance chromatography with diode array detection and electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2015; 1419(Suppl 1): 26 – 36.
  36. Karonen M, Ahern JR, Legroux L, Suvanto J, Engström MT, Sinkkonen J, Salminen J-P and Hoste H. Ellagitannins inhibit the exsheathment of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* larvae: The efficiency increases together with the molecular size. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2020; 68(14): 4176 – 4186.
  37. Napolitano JG, Lankin DC, Chen S-N, Pauli GF. Complete <sup>1</sup>H-NMR spectral analysis of ten chemical markers of *Ginkgo biloba*. *Magnetic Resonance in Chemistry Letters* 2012; 50(8): 569 – 575.
  38. Wawer I, Zielinska A. <sup>13</sup>C CP/MAS NMR studies of flavonoids. *Magnetic Resonance in Chemistry* 2001; 39(1-2): 374 – 380.
  39. Parejo IF, Viladomat J, Bastidas G, Schmeda-Hirschmann J, Burillo C, Codina J. Bioguided isolation and identification of the nonvolatile antioxidant compounds from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2004; 52(7): 1890 – 1897.
  40. Yang L-L, Xiao N, Li X-W, Fan Y, Alolga RN, Sun X-Y, Wang S-L, Li P, Qi L-W. Pharmacokinetic comparison between quercetin and quercetin 3-*O*- $\beta$ -glucuronide in rats by UHPLC-MS/MS. *Scientific Reports* 2016; 6:35460
  41. Barbosa LN, Lívero FA dos R, Prando TBL, Ribeiro R de CL, Lourenco ELB, Budel JM, de Souza LM, Acco A, Dalsenter PR, Junior AG. Atheroprotective effects of *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. In New Zealand rabbits fed with chloresterol-rich diet. *Journal of Ethnopharmacology* 2016; 187: 134 – 145.
  42. Schaedler MI, Palozi RAC, Tirloni CAS, Silva AO, Araújo V de O, Lourenco ELB, De Souza LM, Lívero FA dos R, Junior AG. Redox regulation and NO/cGMPplus K<sup>+</sup> channel activation contributes to cardiorenal protection induced by *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J.F. Macbr. In ovariectomized hypertensive rats. *Phytomedicine* 2018; 51: 7 – 19.
  43. Santos MC, Toson NSB, Pimentel MCB, Bordignon SAL, Mendez ASL, Henriques AT. Polyphenols composition from leaves of *Cuphea* spp. And inhibitor potential, in

- vitro, of angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Journal of Ethnopharmacology* 2020; 255: 112781
44. Ismail WM, Ezzat SM, El-Mosallamy AEMK, El Deeb KS, El Fishawy AM. In vivo Antihypertensive activity and UHPLC-Orbitrap-HRMS profiling of *Cuphea ignea* A. DC. *ACS Omega* 2022; 7: 46524 – 46535.