

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUÍMICA



“ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS Y CORTEZA DE *STRYCHNOS FENDLERI* SPRAGUE & SANDWICH”

**Trabajo Especial de Grado
presentado ante la ilustre
Universidad Central de Venezuela
por la Br. Mónica Mancebo Coto
para optar al título de Licenciado
en Química.**

Caracas, Mayo 2014

Los abajo firmantes asignados por la Universidad Central de Venezuela, como integrantes del jurado examinador del Trabajo Especial de Grado titulado: **"ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS Y CORTEZA DE STRYCHNOS FENDLERI SPRAGUE & SANDWITH"**, presentado por Br. Mónica Mancebo Coto, certificamos que este trabajo cumple con los requisitos exigidos por nuestra Magna Casa de Estudios para optar por el título de Licenciado en Química.

Caracas, mayo 2014.



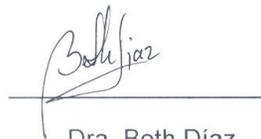
Dra. Alirica Suarez
(Tutor)



Dra. Maria Lupe Márquez
(Tutor)



Dra. Maria Rodríguez
(Jurado)



Dra. Beth Díaz
(Jurado)

DEDICATORIA

*Le dedico este logro a mis padres, Carmen y Manuel,
y a mis abuelos, Patricia y José, quienes me acompañan y
apoyan en todas mis decisiones.*

Agradecimientos

A mis padres, Carmen y Manuel, quienes vivieron mi llanto, frustraciones y mal humor; pero siempre con optimismo, esperando para celebrar cada uno de mis logros. Ustedes fueron mi soporte y apoyo, les doy las gracias por todo, gracias por ser esas maravillosas personas que son.

A mis abuelos, Patricia y José, no tengo palabras para explicar lo que significan para mí, gracias por su apoyo incondicional.

A mi hermano, Jhonatan, que a pesar de sus burlas y chistes pesados, siempre estuvo conmigo acompañándome en los buenos y malos momentos.

A Luis I. gracias por ser mi apoyo durante toda la realización de este proyecto, gracias por ayudarme y brindarme tu amor y compañía, sin ti hubiese sido el doble de difícil.

A Nelson Acevedo a quien molesté y fastidié durante toda mi carrera, gracias por toda tu guía y sobre todo tu paciencia.

A mi tutora Dra. Alírica Suárez, no solo por haberme permitido formar parte de su grupo de trabajo, sino por ser una mano amiga, quien siempre tuvo cerca las palabras adecuadas para animarme a seguir adelante; quien no se imagina el conocimiento e inspiración que dejó en mí, puedo decir que más que una tutora la vida me dió una amiga.

A mis amigas, profesoras Beth Díaz y Katiuska Chávez, gracias por brindarme siempre su ayuda y sus conocimientos todos los días en el laboratorio. Puedo afirmar que más que un excelente grupo de laboratorio, tuve una familia que me guió y acompañó durante toda mi tesis.

Gracias a nuestra Magna casa de estudios, por abrirme sus puertas y formarme más que como Químico, como persona integral.

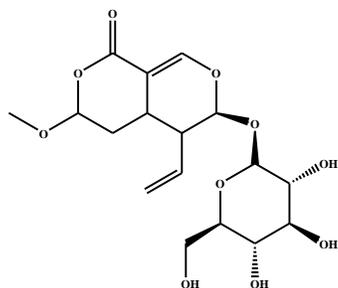
Resumen

El presente trabajo describe el estudio fitoquímico de las hojas y corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith.

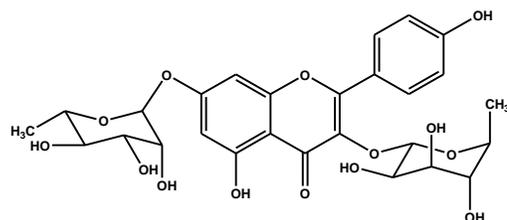
Partiendo del extracto metanólico de las hojas de esta especie, mediante técnicas cromatográficas, pudieron ser aislados tres compuestos identificados por primera vez para la especie: vogelosido (**I**), kamferitrin (**II**) y D-1-metilmyoinositol (**III**).

De la misma manera, partiendo del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri*, mediante técnicas cromatográficas, pudieron ser aislados cinco compuestos: dos compuestos reportados por primera vez en la literatura de productos naturales: strychnosine (**VII**) y 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (**VIII**); dos compuestos identificados por primera vez para la especie: 3-metoxi-quercetina (**IV**) y boonein (**V**); y un compuesto conocido para la especie: N-acetilstrychnosplenderine (**VI**).

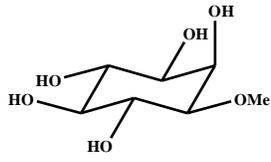
La caracterización de estos compuestos fue llevada a cabo por medio de espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en una y dos dimensiones, espectrometría de masa e infrarrojo.



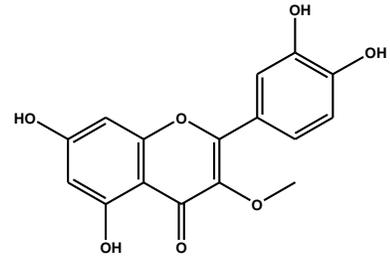
I



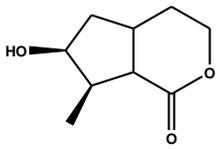
II



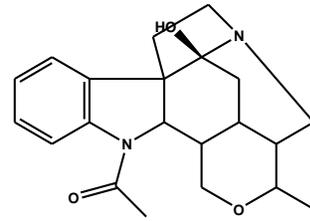
III



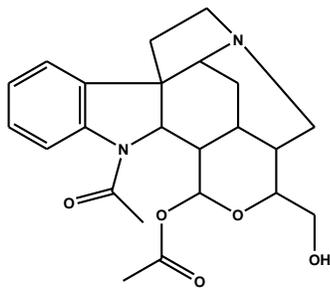
IV



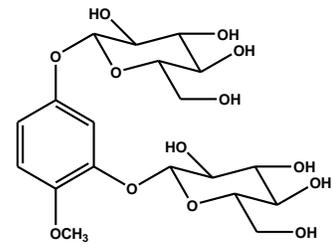
V



VI



VII



VIII

Índice general

Índice de tablas.....	i
Índice de figuras.....	iii
Índice de esquemas.....	iv
Índice de espectros.....	vi
Lista de abreviaturas (acrónimos) y símbolos.....	xii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
I.1 Familia Loganiaceae.....	3
I.2 Clasificación.....	4
I.3 Género <i>Strychnos</i>	4
I. ANTECEDENTES.....	6
II.1 Metabolitos aislados en diversas especies del género <i>Strychnos</i>	6
II.1.I Alcaloides.....	6
II.1.II Iridoides.....	7
II.1.III Flavonoides.....	8
II.2.a <i>Strychnos amazónica</i> Krukoff.....	8
II.2.b <i>Strychnos atlántica</i> Krukoff & Barneby.....	9

II.2.c <i>Strychnos barnhartiana</i> Krukoff	10
II.2.d <i>Strychnos brasiliensis</i> (Spreng.) Mart	11
II.2.e <i>Strychnos castelnaeana</i> Wedd.....	12
II.2.f <i>Strychnos divaricans</i> Ducke	13
II.2.g <i>Strychnos erichsonii</i>	16
II.2.h <i>Strychnos froessi</i>	17
II.2.i <i>Strychnos garderi</i>	18
II.2.j <i>Strychnos guianensis</i> J.B. Aublet	19
II.2.k <i>Strychnos hirsuta</i> Spruce ex Benth	21
II.2.m <i>Strychnos macrophylla</i> Barb. Rodr.....	21
II.2.n <i>Strychnos mattogrossensis</i> S. Moore	22
II.2.o <i>Strychnos melinoniana</i> Baillon	22
II.2.p <i>Strychnos mitscherlichii</i> M. R. Schomb	23
II.2.q <i>Strychnos panamensis</i> Seemann	24
II.2.r <i>Strychnos rubiginosa</i>	25
II.2.s <i>Strychnos solimoesana</i> Krukoff	26
II.2.t <i>Strychnos tabascana</i> Sprague & Sandwith.....	26

II.2.u <i>Strychnos toxifera</i> Robert Schomburgk ex Bentham	27
II.2.v <i>Strychnos trinervis</i>	28
II.2.w <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith	29
II. JUSTIFICACIÓN.....	33
III. OBJETIVOS.....	34
IV.1 Objetivo general.....	34
IV.2 Objetivos específicos.....	34
IV. MATERIALES Y EQUIPOS.....	35
V.1 Equipo de laboratorio	35
V.2 Materiales cromatográficos.....	35
V.3 Solventes.....	36
V.4 Solventes para análisis de RMN.....	36
V.5 Reveladores.....	37
V.6 Desecantes.....	37
V. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	38
VI.1 Colecta del material vegetal.....	38
VI.2 Preparación de la muestra.....	38

a.	ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE <i>STRYCHNOS FENDLERI</i> SPRAGUE & SANDWITH.....	39
VI.a.1	Extracción.....	39
VI.a.2	Fraccionamiento del extracto metanólico.....	39
VI.a.3	Separación de los componentes por fracción.....	41
VI.a.4	Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	42
VI.a.5	Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	46
VI.a.6	Separación de los componentes en la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	47
VI.a.7	Separación de los componentes en la fracción acuosa obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	50
b.	ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA CORTEZA DE <i>STRYCHNOS FENDLERI</i> SPRAGUE & SANDWITH.....	52

VI.b.1 Extracción.....	52
VI.b.2 Fraccionamiento del extracto metanólico.....	52
VI.b.3 Separación de los componentes por fracción.....	54
VI.b.4 Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de la corteza de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	55
.	
VI.b.5 Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	56
VI.b.6 Separación de los componentes en la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de la corteza de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	59
VI.b.7 Separación de los componentes en la fracción acuosa obtenida del extracto metanólico de la corteza de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	60
VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	60
VII.1 Compuesto I: Vogelosido.....	61
VII.2 Compuesto II: Kamferitrin.....	69

VII.3 Compuesto III: D-1-metilmyoinositol.....	79
VII.4 Compuesto IV: 3-metoxi-quercetina.....	87
VII.5 Compuesto V: Boonein.....	93
VII.6 Compuesto VI: N-acetilstrychnosplenderine.....	101
VII.7 Compuesto VII: Strychnosine.....	119
VII.8 Compuesto VIII: 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno.....	133
VII. CONCLUSIONES.....	145
VIII. RECOMENDACIONES.....	147
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	148

Índice de tablas

Tabla N°1. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de las hojas, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.....	43
Tabla N°2. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.....	48
Tabla N°3. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción del extracto acuoso obtenida del extracto metanólico de las hojas, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.....	51
Tabla N°4. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.....	57
.	
Tabla N° 5. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en el Vogelosido (I).....	68

Tabla N° 6. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en el Kamferitrin (II).....	78
Tabla N° 7. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^{13}C a los átomos de C presentes en los compuestos tipo Inositol.....	86
Tabla N° 8. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en 3-metoxi-quercetina (IV).....	92
Tabla N° 9. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en los compuestos de Boonein e Iso-boonein comparado con el experimental.....	100
Tabla N° 10. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en N-acetilstrychnosplenderine (VI).....	118
Tabla N° 11. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en Strychnosine (Experimental)	132
Tabla N°12. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en compuesto experimental y 1,4-di-O- β -D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenzeno (VIII).....	144

Índice de figuras

Figura N° 1. Mapa de distribución mundial de la familia Loganiaceae.....	3
Figura N° 2. Ilustración de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	29
Figura N° 3. Hojas de <i>Strychno fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	29
Figura N°4: Posibles rearrreglos estéricos del grupo metoxi con dos grupos hidroxilo adyacentes, visto desde el átomo de oxígeno del grupo metóxi a lo largo de su enlace con el átomo de carbono del anillo. Los efectos de la O-metilación se encuentran indicadas en paréntesis para la señales ¹ H y en corchete para las señales ¹³ C. ^[38]	80

Índice de esquemas

Esquema N°1. Fraccionamiento del extracto metanólico de las hojas <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	40
Esquema N°2. Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	45
Esquema N°3. Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	46
Esquema N°4. Separación de los componentes en la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	49
Esquema N°5. Separación de los componentes en la fracción acuosa obtenida del extracto metanólico de las hojas de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	51
Esquema N°6. Fraccionamiento del extracto metanólico de la corteza <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	53
Esquema N°7. Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de la corteza de <i>Strychnos fendleri</i> Sprague & Sandwith.....	55

Esquema N°8. Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith..... 58

Esquema N°9. Separación de los componentes en la fracción acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith..... 59

Índice de espectros:

Espectro N° 1: RMN ¹ H Vogelosido (I) (270; MeOD).....	63
Espectro N° 2: RMN ¹³ C y DEPT 135 Vogelosido (I) (270 MHz; MeOD).....	64
Espectro N° 3: HETCOR Vogelosido (I) (270 MHz; MeOD).....	65
Espectro N° 4: HETCOR ampliado Vogelosido (I) (270 MHz; MeOD).....	66
Espectro N° 5: Masas Vogelosido (I).....	67
Espectro N° 6: RMN ¹ H Kamferitrin (II) (270 MHz; DMSO).....	71
Espectro N° 7: RMN ¹³ C Kamferitrin (II) (270 MHz; DMSO).....	72
Espectro N° 8: RMN ¹ H Kamferitrin (II) (270 MHz; C ₅ D ₅ N).....	73
Espectro N° 9: RMN ¹³ C y DEPT 135 Kamferitrin (II) (270 MHz; C ₅ D ₅ N).....	74
Espectro N° 10: Masas Kamferitrin (II).....	75
Espectro N° 11: RMN ¹ H Kamferitrin (II) (400 MHz; DMSO) (Tomado de Kaempferitrin from <i>Ucaria guianensis</i> (Rubiaceae) and its Potential as a Chemical Marker for the Species) ^[36]	76

Espectro N° 12: RMN ^{13}C Kamferitrin (II) (100 MHz; DMSO) (Tomado de Kaempferitrin from <i>Ucaria guianensis</i> (Rubiaceae) and its Potential as a Chemical Marker for the Species) ^[36]	77
Espectro N° 13: RMN ^1H D-1metilmyoinositol (III) (270 MHz; MeOD).....	81
Espectro N° 14: RMN ^{13}C D-1metilmyoinositol (III) (270 MHz; MeOD).....	82
Espectro N° 15: RMN ^1H D-1metilmyoinositol (III) (270 MHz; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	83
Espectro N° 16: RMN ^{13}C y DEPT 135 D-1metilmyoinositol (III) (270 MHz; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	84
Espectro N° 17: Masas D-1-metilmyoinositol (III).....	85
Espectro N° 18: RMN ^1H 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$).....	88
Espectro N° 19: RMN ^{13}C 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$).....	89
Espectro N° 20: RMN ^1H 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; DMSO).....	90
Espectro N° 21: RMN ^{13}C 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; DMSO).....	91
Espectro N° 22: RMN ^1H Boonein (V) (270; CDCl_3).....	95
Espectro N° 23: RMN ^1H ampliado Boonein (V) (270; CDCl_3).....	96

Espectro N° 24: ^{13}C y DEPT 135 Boonein (V) (270; CDCl_3).....	97
Espectro N° 25: ^{13}C y DEPT 135 ampliado Boonein (V) (270; CDCl_3).....	98
Espectro N° 26: HETCOR Boonein (V) (270; CDCl_3).....	99
Espectro N° 27: IR N-acetilstrychnosplenderine (VI).....	103
Espectro N° 28: Masas N-acetilstrychnosplenderine (VI).....	104
Espectro N° 29: RMN ^1H N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl_3)..	105
Espectro N° 30: RMN ^1H ampliado N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl_3).....	106
Espectro N° 31: RMN ^{13}C N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl_3).....	107
Espectro N° 32: RMN ^{13}C y DEPT 135 N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl_3).....	108
Espectro N° 33: COSY N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl_3)....	109
Espectro N° 34: HMBC N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl_3)....	110

Espectro N° 35: HMBC ampliado N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl ₃).....	111
Espectro N° 36: HMBC ampliado N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl ₃).....	112
Espectro N° 37: HMQC N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl ₃)....	114
Espectro N° 38: HMQC ampliado N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl ₃).....	115
Espectro N° 39: HMQC ampliado N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl ₃).....	116
Espectro N° 40: HMQC ampliado N-acetilstrychnosplenderine (VI) (500 MHz; CDCl ₃).....	117
Espectro N° 41: IR Strychnosine (VII).....	121
Espectro N° 42: Masas Strychnosine (VII).....	122
Espectro N° 43: RMN ¹ H Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	123
Espectro N° 44: RMN ¹³ C Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	124
Espectro N° 45: RMN ¹³ C y DEPT Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	125

Espectro N° 46: COSY Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	126
Espectro N° 47: HMBC Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	127
Espectro N° 48: HMQC Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	129
Espectro N° 49: HMQC ampliado Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	130
Espectro N° 50: HMQC ampliado Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl ₃).....	131
Espectro N° 51: RMN ¹ H 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	135
Espectro N° 52: RMN ¹ H ampliado 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	136
Espectro N° 53: RMN ¹ H ampliado 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	137
Espectro N° 54: RMN ¹³ C 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	138

Espectro N° 55: RMN ¹³ C y DEPT 135° 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	139
Espectro N° 56: HETCOR 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	140
Espectro N° 57: HETCOR ampliado 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 HMz; MeOD).....	141
Espectro N° 58: RMN ¹³ C 1,4-di-O-β-D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenceno (VIII) (DMSO) (Tomado de Glycosides from the Stem Bark of <i>Fraxinus sieboldiana</i>).....	142
Espectro N° 59: RMN ¹³ C 1,4-di-O-β-D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenceno (VIII) (DMSO) (Tomado de Glycosides from the Stem Bark of <i>Fraxinus sieboldiana</i>).....	143

Lista de abreviaturas (acrónimos) y símbolos

CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía de Capa Fina
CDCl ₃	cloroformo deuterado
MeOD	metanol deuterado
C ₅ H ₅ N	Piridina deuterada
C ₃ D ₆ O	Acetona deuterada
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
δ	Desplazamiento químico
d	Doblete
dd	Doblete de doblete
g	Gramo
Hz	Hertz

<i>J</i>	Constante de acoplamiento
mg	Miligramo
mL	Mililitro
MHz	megaHertz
ppm	Partes por millón
R _f	Factor de retención
UV	Ultravioleta
MMQAHH	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de hexano extraído de las hojas
MMQAD	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de diclorometano extraído de las hojas
MMQAAC	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de acetato de etilo extraído de las hojas
MMQAEA	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de acetato de etilo extraído de las hojas

MMQACH	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de hexano extraído de la corteza
MMQACD	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de diclorometano extraído de la corteza
MMQACAc	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción de acetato de etilo extraído de la corteza
MMQACEA	Monica Mancebo <i>Strychnos fendleri</i> fracción acuosa extraído de la corteza
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	Hexano
CH_2Cl_2	Diclorometano
CHCl_3	Cloroformo
AcOEt	Acetato de etilo
MeOH	Metanol
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
EtOH	Etanol
CH_3COOH	Ácido acético

I. INTRODUCCIÓN

Desde el comienzo de la humanidad, el uso de plantas medicinales ha jugado un papel fundamental en el desarrollo de la civilización. La dependencia del hombre de los recursos naturales, lo llevó a conocer las propiedades medicinales de muchas plantas mediante métodos de ensayo y error.

Actualmente se evidencia la importancia de las plantas para el cuidado de la salud humana, es por ello que el estudio de nuevos componentes es de gran importancia en la medicina moderna.

Las plantas del género *Strychnos* (Loganiaceae) son conocidas desde hace mucho tiempo debido a las propiedades farmacológicas de las sustancias presentes en algunas especies. Se caracterizan por contener alcaloides indólicos (brucina y sobre todo estricnina) que provocan contracción y rigidez muscular. Este género está constituido por 200 especies distribuidas en las zonas tropicales de Asia, África, Australia y América^[1].

Strychnos fendleri, es un árbol que llega a alcanzar los 10 m de altura, es vulgarmente conocido en Venezuela como “cruceto”, esta especie junto a otras plantas de este género, es utilizada por algunas tribus indígenas que viven en las regiones montañosas de América Ecuatorial para preparar el curare. El curare es un veneno de origen vegetal, de aspecto de alquitrán y sabor amargo que se utiliza para envenenar las flechas. El mismo produce parálisis progresiva y finalmente colapso cardíaco. Sus mortales efectos se deben a varios alcaloides. Uno de ellos es la curarina, que se emplea en la medicina actual para el tratamiento de shock, pues es un excelente relajante muscular.^[2]

Aunque muchas especies de este género han resultado ser tóxicas también se han usado popularmente para muchos trastornos. De las especies utilizadas con mayor frecuencia,

se emplea las hojas o la corteza con las siguientes acciones farmacológicas: estimulante y tónico (*S. acuta*, *S. brasiliensis*, *S. guianensis*, *S.pseudoquina*, *S.rubiginosa* e *S. trinervis*), contra problemas estomacales y abdominales (*S. erichsonii*, *S. pseudoquina* e *S. trinervis*), antipirético y antimalárico (*S. brasiliensis*, *S. fendleri* e *S.pseudoquina*), analgésica y antireumática (*S. javariensis*, *S. panamensis* e *S. tansentosa*), espasmódica (*S. toxifera*), tratamiento de las enfermedades venéreas (*S. erichsonii*), como abortiva (*S. erichsonii*), como afrodisíaca (*S. erichsonii*, *S. melinoniana*, *S. mitscherlichii* var. *mitscherlichii*, *S.nigricans* e *S. oiapocensis*) y en el tratamiento de la anemia (*S. guianensis*).^[2]

Como se ha descrito anteriormente la especie *Strychnos fendleri* es utilizada en la medicina tradicional para el tratamiento de la malaria. Actualmente se ha reportado que este parásito se ha vuelto resistente a ciertos medicamentos antimaláricos, esto hace necesario el estudio de plantas que puedan aportar nuevos metabolitos con acción antimalárica, fundamentales para ofrecer tratamientos alternativos más eficaces.

La malaria se ha registrado en Venezuela sin interrupciones desde 1936, lográndose reducir las áreas palúdicas y la mortalidad notablemente, pero nunca la erradicación total de la enfermedad. Según la Organización Mundial de la Salud (Dic, 2012), Venezuela se encuentra entre los pocos países en el mundo en donde los casos de malaria han aumentado en la última década.^[3] Los estados Bolívar, Amazonas y Delta Amacuro representan el 97% de los casos de malaria reportados en el país.^[4]

I.1 Familia Loganiaceae:

Es una familia de plantas fanerógamas, posee 13 géneros distribuidos alrededor de los trópicos. Son árboles, arbustos o plantas herbáceas, a menudo volubles. Sus hojas son generalmente opuestas, simples, enteras a lobuladas con estípulas más o menos desarrolladas, sésiles o pecioladas, glabras, pubescentes o tomentosas. Sus flores son perfectas, actinomorfas o ligeramente zigomorfas, tetracíclicas 5-4 meras, solitarias, en cabezuelas, espigas, panojas o cimas. Los frutos en cápsula, drupa o baya. Semillas variadas, pequeñas con endosperma. Son plantas monoicas o dioicas. Las flores carpeladas pueden o no presentar estaminodios.^[5,6]

Esta familia se puede encontrar en las regiones tropicales, subtropicales y templadas de la tierra. Crecen en los biotopos secos, raramente a altitudes superiores a 3000 m, nunca forman masas densas y suelen presentarse ejemplares aislados o en pequeños grupos de reducida importancia ecológica.^[6]

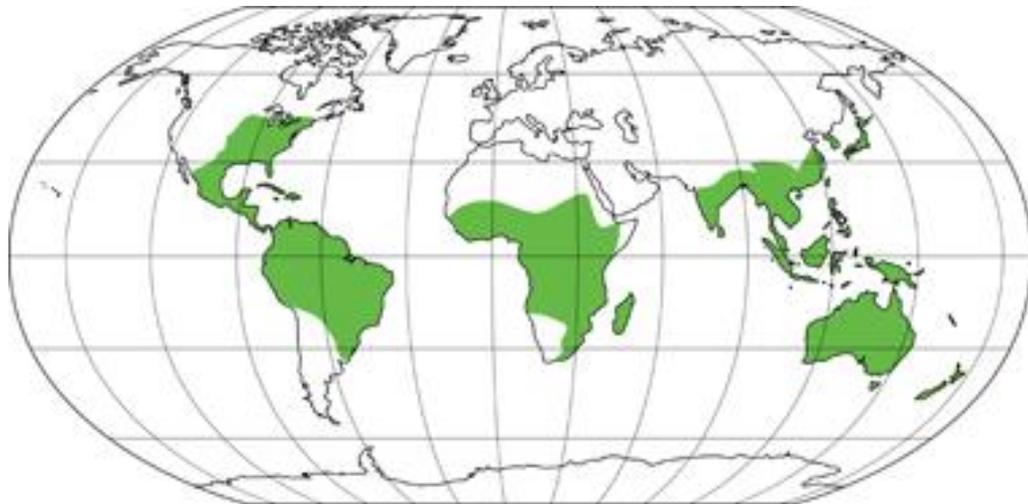


Figura Nº1. Mapa de distribución mundial de la familia Loganiaceae.^[7]

I.2 Clasificación:

La especie *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith, tiene la siguiente taxonomía ^[8]:

- **Reino:** Plantae
- **División:** Tracheophyta
- **Clase:** Spermatopsida
- **Orden:** Gentianales
- **Familia:** Loganiaceae
- **Género:** *Strychnos*
- **Especie:** *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

I.3 Género *Strychnos*:

Lianas, con menor frecuencia arbustos o árboles pequeños, generalmente con zarcillos, a veces con espinas, o ambos; ramas opuestas, a veces con lenticelas elípticas u orbicular conspicuos; ramillas cilíndricas o aplanadas; espinas simples, cilíndricas, curvas o rectas. Hojas opuestas o simples; pecíolos de 0-2 cm de largo, algo canalizado en el lado superior, a menudo estrechamente alado en el margen. Las inflorescencias terminales o axilares, o ambos. Sépalos unidos en la base, los lóbulos en la madurez más o menos imbricados cercanos a la base, libre apicalmente.^[9]

Diversas especies del género *Strychnos* pueden ser encontradas en Venezuela, en los estados: Apure, Barinas, Sucre, Amazonas, Bolívar, Zulia, Guárico, Falcón, Aragua, Lara, Anzoátegui, Miranda, Nueva Esparta, Táchira, Cojedes y Yaracuy.^[9]

En Venezuela se pueden encontrar 20 especies del género *Strychnos*^[10]:

- *Strychnos brachiata* Ruiz & Pavon
- *Strychnos bredemeyeri* Sprague & Sandwith
- *Strychnos cogens* Benthams
- *Strychnos diabolii* Sandwith
- *Strychnos erichsonii* Richard Schomburgk
- *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith
- *Strychnos glabra* Sagot ex Progel in Martius
- *Strychnos guianensis* (Aubl) Martius
- *Strychnos jobertiana* Baillon
- *Strychnos matogrossensis* S. moore
- *Strychnos melinoniana* Baillon
- *Strychnos mitscherlichii* Richard Schomburgk
- *Strychnos panamensis* Seemann
- *Strychnos panurensis* Sprague & Sandwith
- *Strychnos parviflora* Spruce ex Benthams
- *Strychnos peckii* B. L. Robinson
- *Strychnos rondeletioides* Spruce ex Benthams
- *Strychnos schultesiana* Krukoff
- *Strychnos tomentosa* Benthams
- *Strychnos toxifera* Robert Schomburgk ex Benthams

II. ANTECEDENTES:

A continuación se muestra una revisión de los metabolitos secundarios aislados en estudios fitoquímicos realizados para el género *Strychnos*.

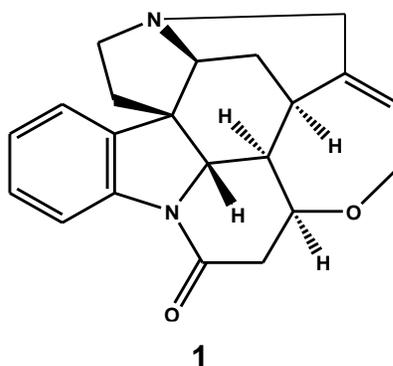
II.1 Metabolitos aislados en diversas especies del género *Strychnos*.

Las plantas del género *Strychnos* (Loganiaceae) son conocidas desde hace mucho tiempo debido a las propiedades farmacológicas de los metabolitos secundarios aislados de algunas de sus especies. Se ha encontrado que las especies americanas producen alcaloides derivados de la estricnina, que causan efectos tetanizantes (Contracciones musculares, engarrotamiento, etc.), mientras que las especies asiáticas producen alcaloides con efectos curarizantes (Inhiben la acción de los nervios motores sobre los músculos)^[2]. Tomando en cuenta que la especie en estudio fue colectada en Venezuela, se hará la revisión bibliográfica de las especies americanas, debido al gran número de referencias encontradas para este género.

II.1.1 Alcaloides

Los alcaloides son comunes en el género *Strychnos*. Son bases orgánicas que se aíslan principalmente de las plantas superiores, su variedad estructural es muy grande, tanto en su esqueleto carbonado como en el tipo y número de sustituyentes. El nitrógeno, debe estar presente para que una molécula sea catalogada como alcaloide, puede estar como una amina primaria, secundaria, terciaria, o sal cuaternaria de amonio, amida y N-óxidos, o puede haber más de un átomo de nitrógeno con diferente funcionalidad en la misma molécula. Los aminoácidos no son alcaloides, pero son sus precursores.^[11]

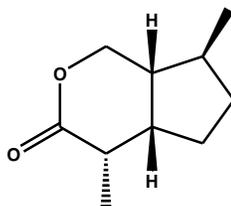
Su utilidad en los organismos productores es poco clara. Debido a su sabor amargo y su actividad biológica pueden actuar como material químico de defensa. Como ejemplo de alcaloide tenemos la estricnina (**1**) aislada de nuez vómica y otras especies del género *Strychnos*, altas dosis puede llegar a producir muerte cerebral.^[12]



II.1.b Iridoides

Los ciclopentanoides (iridoides) son aquellos compuestos que poseen el esqueleto ciclopentanopirano; generalmente presentan oxigenación en C-1 y menos frecuente en C-11, C-7 y C-6. Se aíslan como glicósidos de la glucosa, apiosa y gentiobiosa. A veces puede faltar el enlace 7-8, a este grupo se le conoce como “seco-iridoide”^[11].

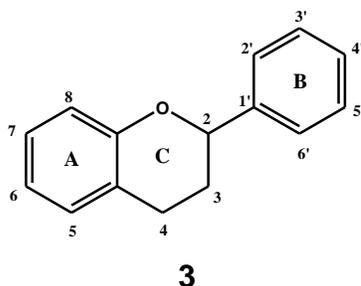
El nombre “iridoide” proviene de la fuente natural de donde se obtuvo el primer ejemplo: la iridomirmecina (**2**) que logró aislarse de una hormiga australiana *Iridomyrmex detectus*.^[11]



2

II.1.c Flavonoides

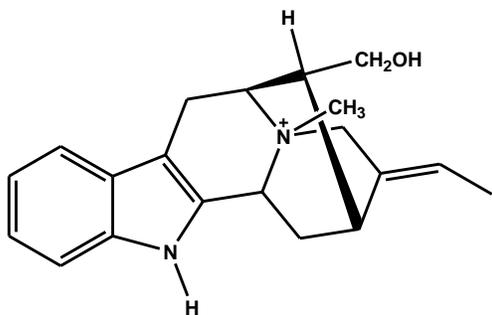
La estructura general de los flavonoides **(3)** consta de dos anillos bencénicos (A y B) comúnmente ligados a través de un anillo C heterocíclico o, pocas veces, a través de una cadena abierta (chalconas)^[11]. Sin ser metabolitos primarios, se encuentran en casi cualquier especie vegetal superior.



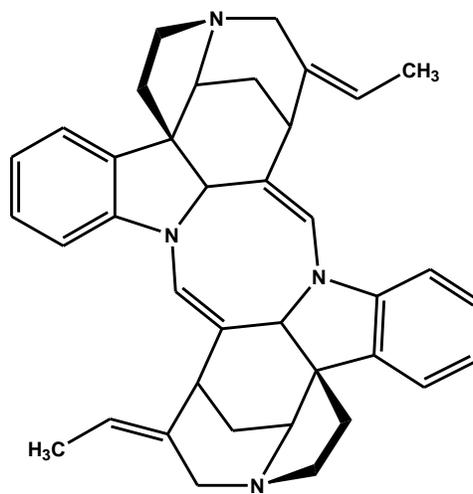
Los flavonoides presentan una intensa absorción en la región ultravioleta y visible, debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados. En las plantas desempeñan varias funciones. Así se consideran antioxidantes y secuestradores de radicales libres, agentes antimicrobiales, fotoreceptores y protectores contra la luz UV, agentes quelantes de metales, atractores visuales para insectos, entre otros.^[11]

II.2.a *Strychnos amazonica* Krukoff:

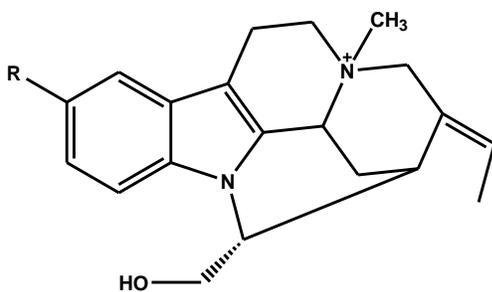
De *Strychnos amazonica* K. se ha aislado masicurina B **(4)**, la cual posee propiedades analgésica, hipotensora y convulsivante; bisnordihidrotoxiciferina **(5)** con actividad antimicrobiana, relajante muscular, sedativa e antidiarreica; mavicurina B **(6)**, mavicurina C **(7)** y nordihidrofluorocurarina **(8)**, en las cuales se demostró un efecto cicatrizante.^[13]



4

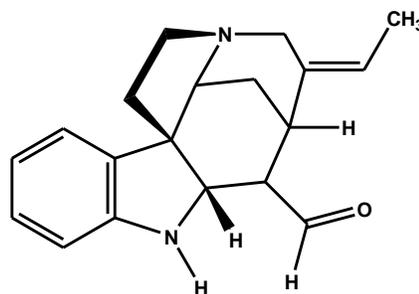


5



6 R= H

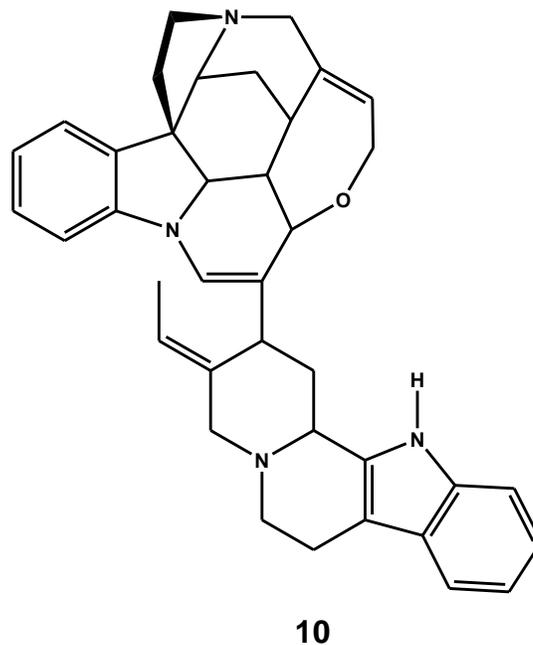
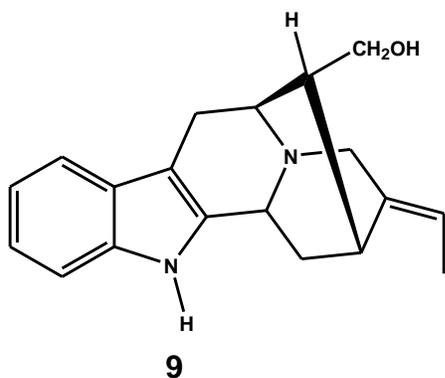
7 R= OH



8

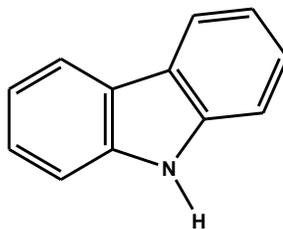
II.2.b *Strychnos atlántica* Krukoff & Barneby:

De *S. atlántica* K. & B. se ha aislado normascusina B (**9**), el cual posee propiedades convulsivantes, sedativas e hipotensoras; longicaudatina (**10**), la cual es hipotensor y tranquilizante.^[14,15,16]



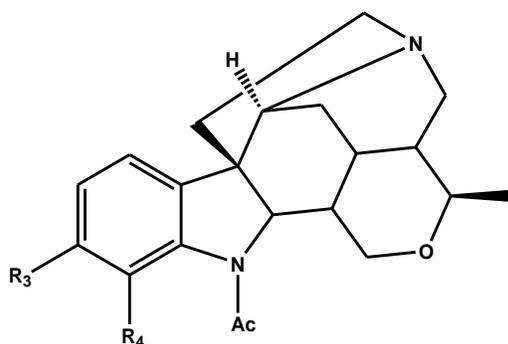
II.2.c *Strychnos barnhartiana* Krukoff:

De *S. barnhartiana* K. se ha aislado norharmano (**11**).^[13]



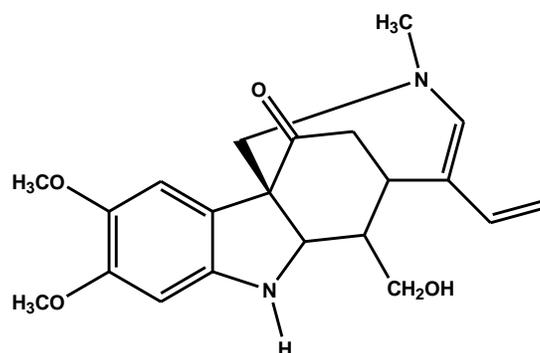
II.2.d *Strychnos brasiliensis* (Spreng.) Mart.:

De *S. brasiliensis* se ha aislado espermoestricnina (**12**), 12-hidroxi-11-metoxiespermoestricnina (**13**), diacetiesticnosilidina (**14**), 12-hidroxi-11-metoxiestricnobrasilina (**15**) y 10,11-dimetoxiestricnobrasilina (**16**).^[17,18]

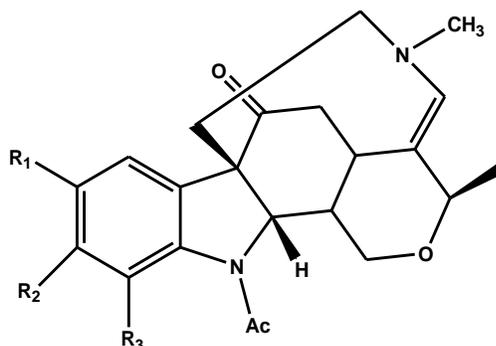


12 $R_3 = H$, $R_4 = H$

13 $R_3 = OCH_3$, $R_4 = OH$



14

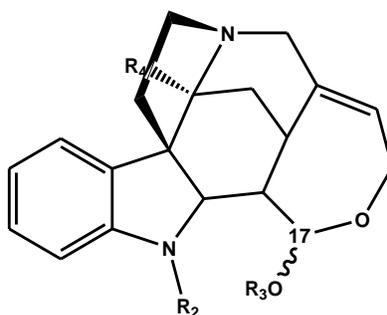


15 $R_1 = H$, $R_2 = OCH_3$, $R_3 = OH$

16 $R_1 = R_2 = OCH_3$, $R_3 = H$

II.2.e *Strychnos castelnaeana* Wedd:

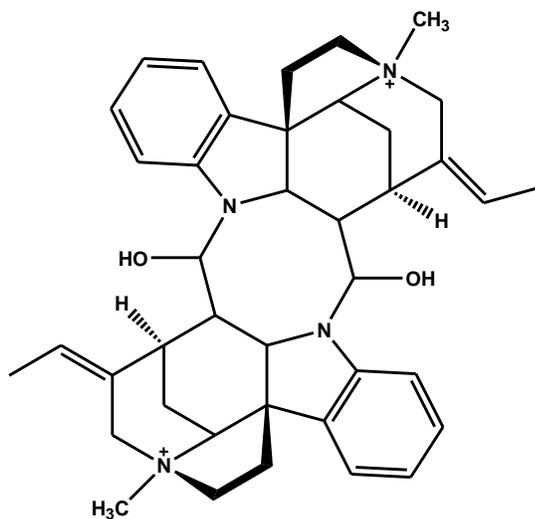
De *S. castelnaeana* W. se han identificado diabolina (**17**) la cual se utiliza como relajante muscular con acción hipotensora; jobertina (**18**); 3-hidroxi-diabolina (**19**) y C-alcaloide D (**20**) el cual posee propiedades cicatrizantes.^[19,20]



17 $R_3 = R_4 = H$, $R_2 = Ac$, 17- $OH \beta$

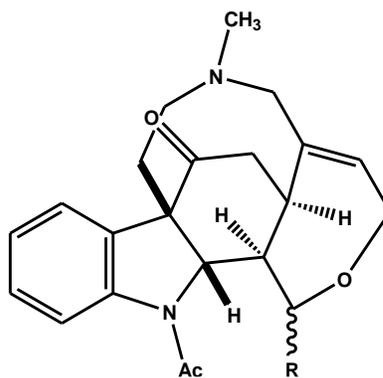
18 $R_4 = H$, $R_2 = R_3 = Ac$, 17- $OAc \alpha$

19 $R_3 = H$, $R_2 = Ac$, $R_4 = OH$



20

También se han aislado N-metil-sec-pseudo-diabolina (**21**) y α -o-acetil-N-metil-sec-pseudo-diabolina (**22**).^[13]

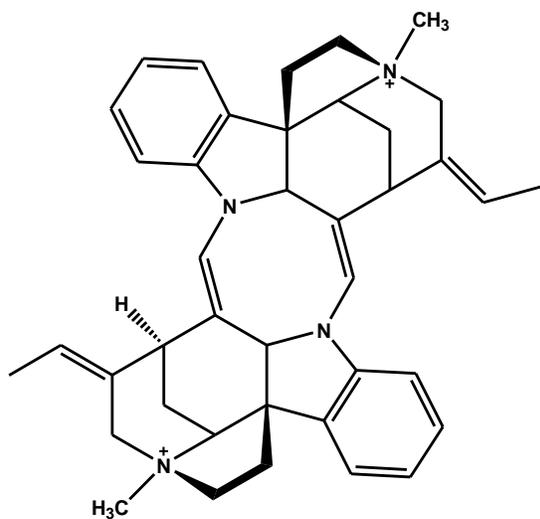
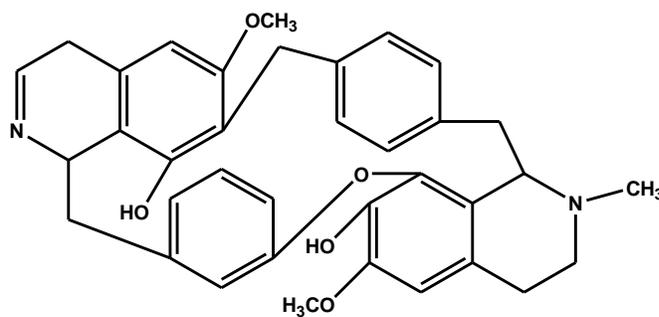
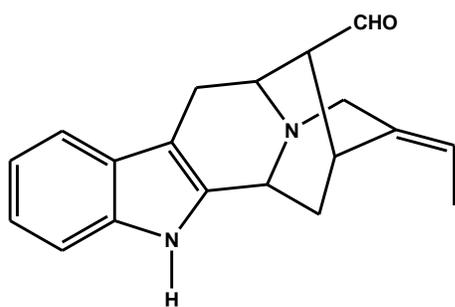
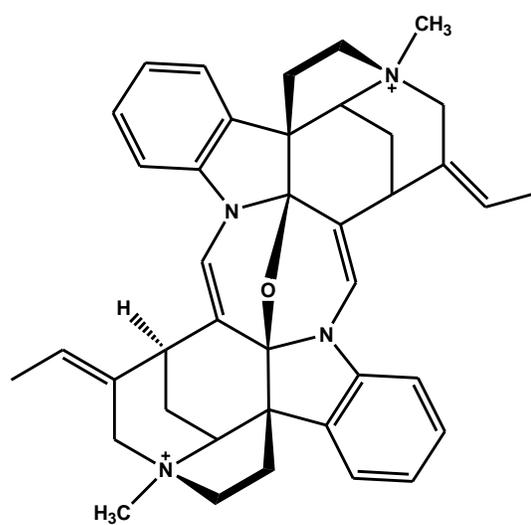


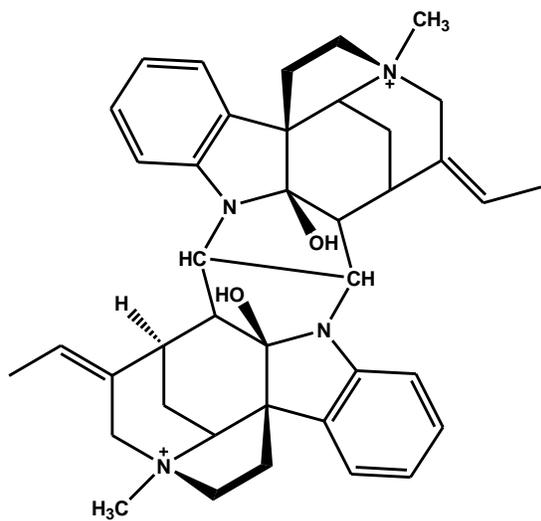
21 R= OH

22 R= OAc

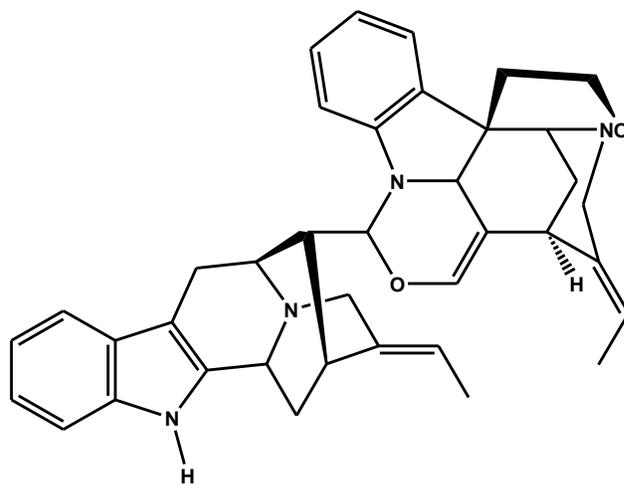
II.2.f *Strychnos divaricans* Ducke:

De *S. divaricans* D. se han aislado diidrotoxiferina (**23**), warifiteina (**24**), velocimina (**25**) la cual presenta actividad espasmódica, C-curarina I (**26**), toxiferina II (**27**), divaricina (**28**), divarina (**29**).^[13]

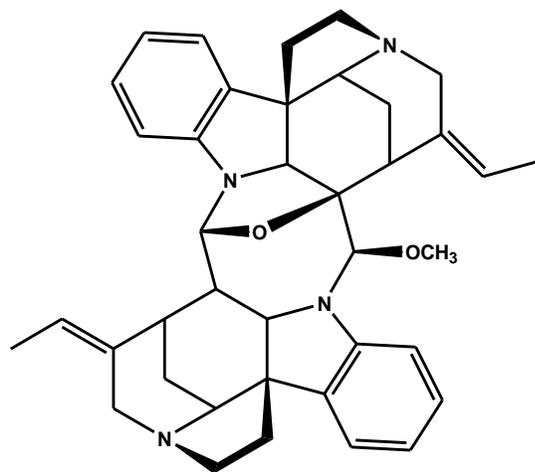
**23****24****25****26**



27



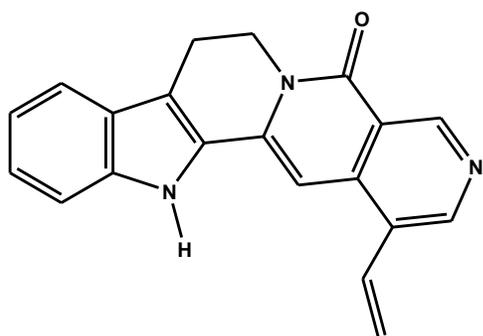
28



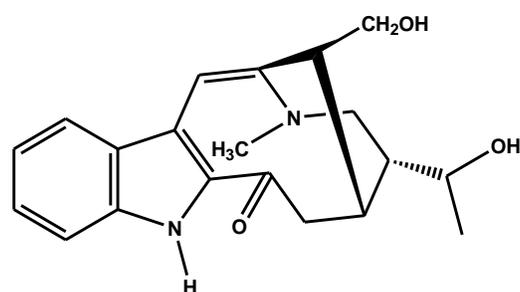
29

II.2.g *Strychnos erichsonii* R. H. Schomb:

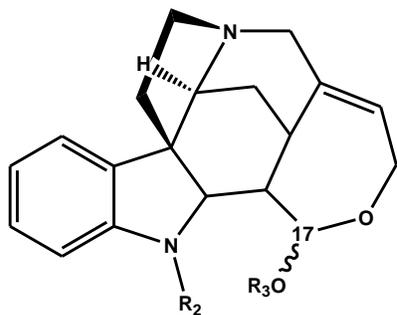
De *S. erichsonii* se ha aislado angustina (**30**), ericsonina (**31**), caracurina (**32**), heningsamina (**33**) y epiafinina (**34**).^[21,22]



30

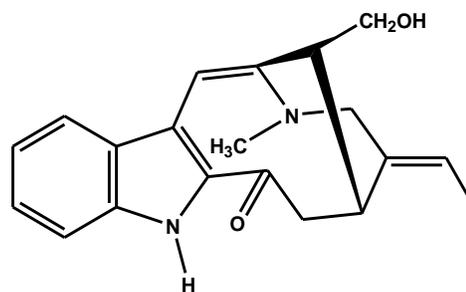


31



32 $R_2 = R_3 = \text{H}$, 17- OH β

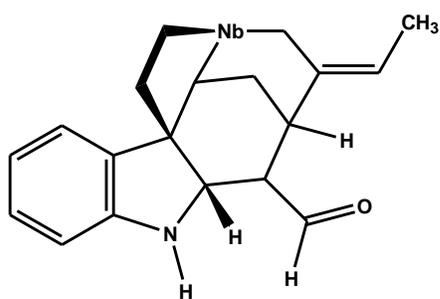
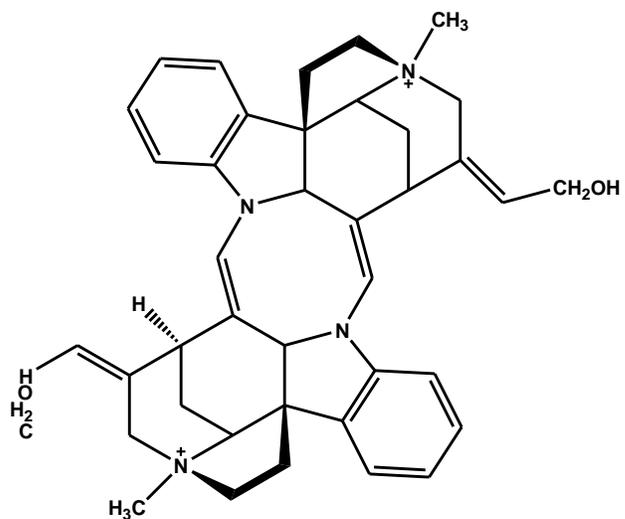
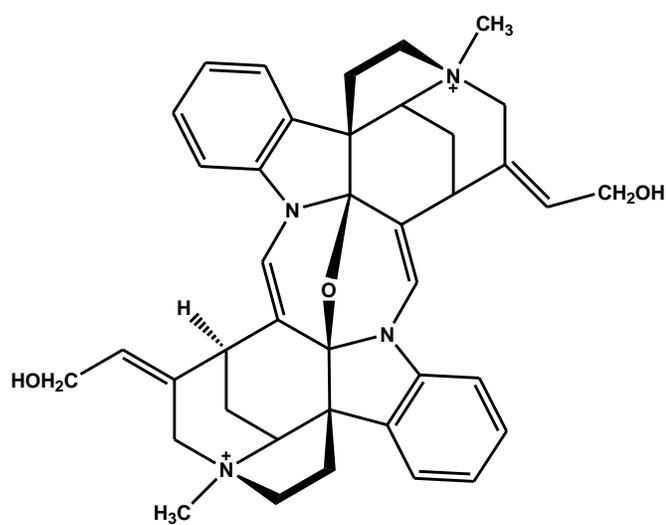
33 $R_2 = R_3 = \text{Ac}$, 17- OAc β



34

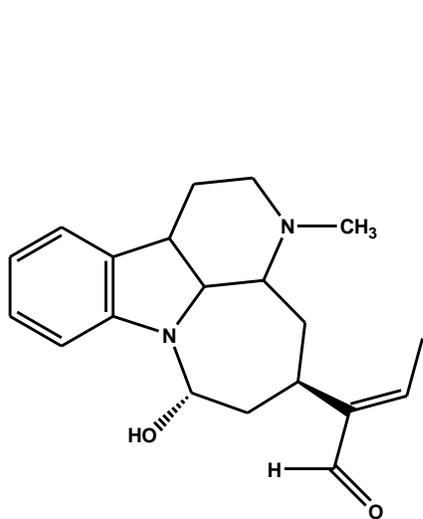
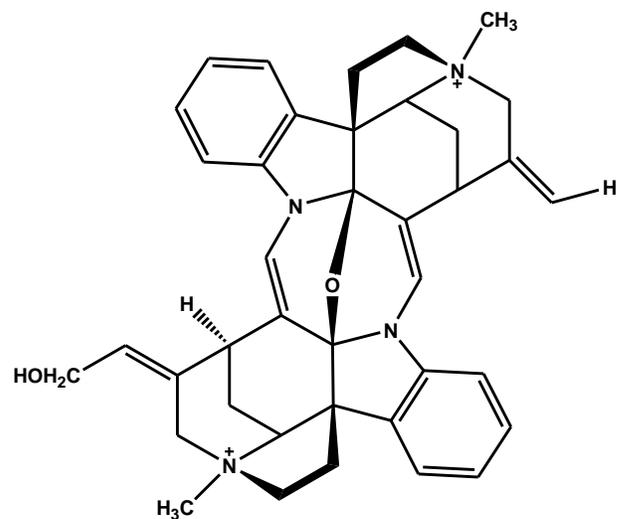
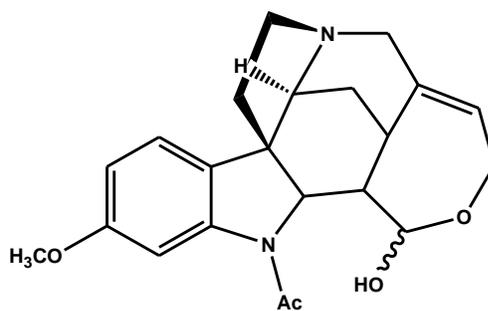
II.2.h *Strychnos froessi*:

De *S. froessi* se han aislado 3 compuestos con propiedades cicatrizantes nordihidrofluorocurarina (**35**), toxiferina I (**36**) y alcaloide E (**37**).^[13]

**35****36****37**

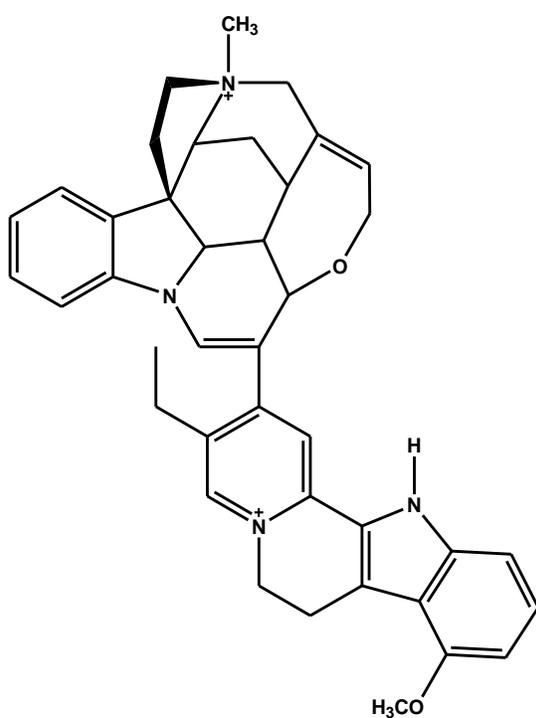
II.2.i *Strychnos garderi* A. DC.:

De *S. garderi* se ha aislado acagerina (**38**) con actividad citotóxica y convulsivante, C-alcaloide H (**39**) y 11-metoxidiabolina (**40**).^[23]

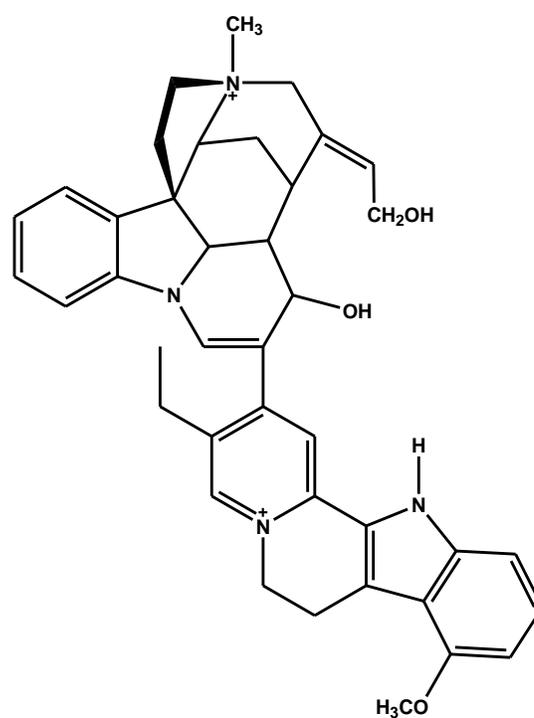
**38****39****40**

II.2.j *Strychnos guianensis* J.B. Aublet:

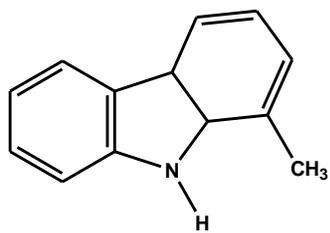
De *S. guianensis* se ha reportado: guiaflavina (**41**); guiacrisina (**42**); harmano (**43**); C-proflurocurina (**44**); C-alcaloide O (**45**); 9-metoxi-N-metilgeisoscizol (**46**); metoxigeisoscizol (**47**).^[24,25,26]



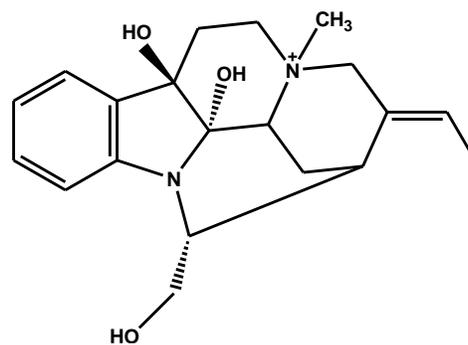
41



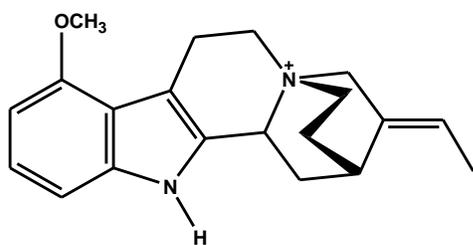
42



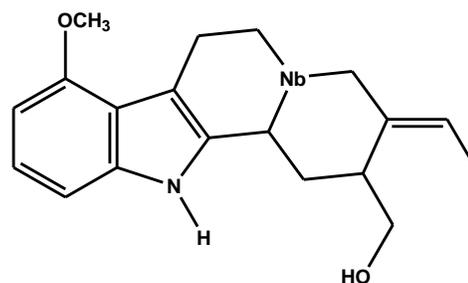
43



44

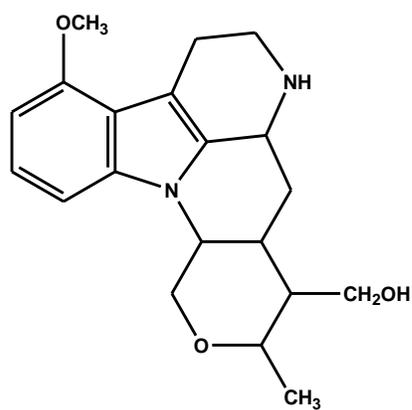


45

46 $\text{Nb} = \text{N}^+ - \text{CH}_3$ 47 $\text{Nb} = \text{N}$

II.2k *Strychnos hirsuta* Spruce ex Benth:

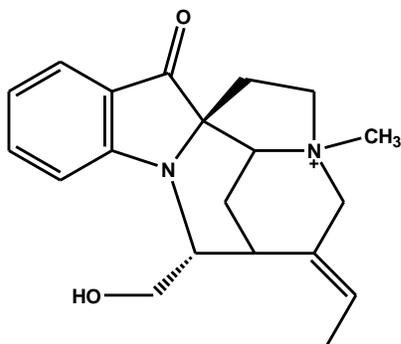
De *S. hirsuta* se ha aislado estriehnohirsutina (**48**).^[13]



48

II.2.m *Strychnos macrophylla* Barb. Rodr.:

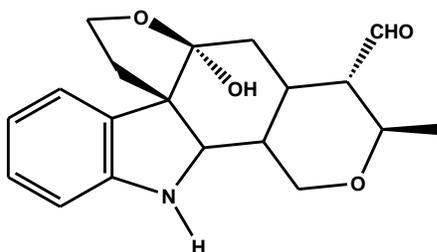
De *S. macrophylla* se ha aislado fluorocurina (**49**).^[13]



49

II.2.n *Strychnos mattogrossensis* S. Moore:

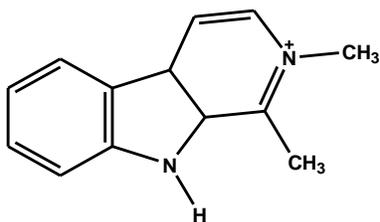
De *S. mattogrossensis* S. se ha aislado matogrosina (**50**).^[27]



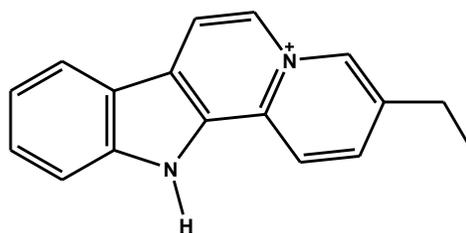
50

II.2.o *Strychnos melinoniana* Baillon:

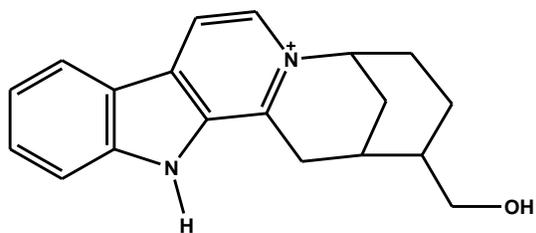
De *S. melinoniana* B. se ha aislado melinonina F (**51**) con propiedades antimicóticas, melinonina G (**52**), melinonina E (**53**), melinonina B (**54**), melinonina A (**55**).



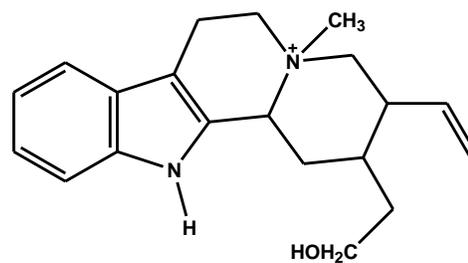
51



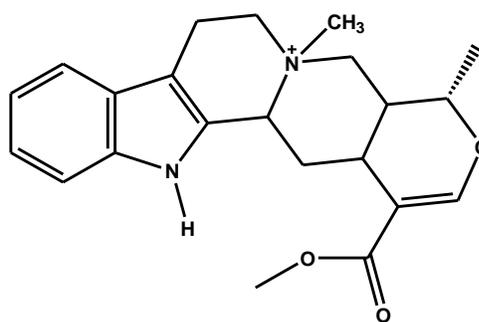
52



53



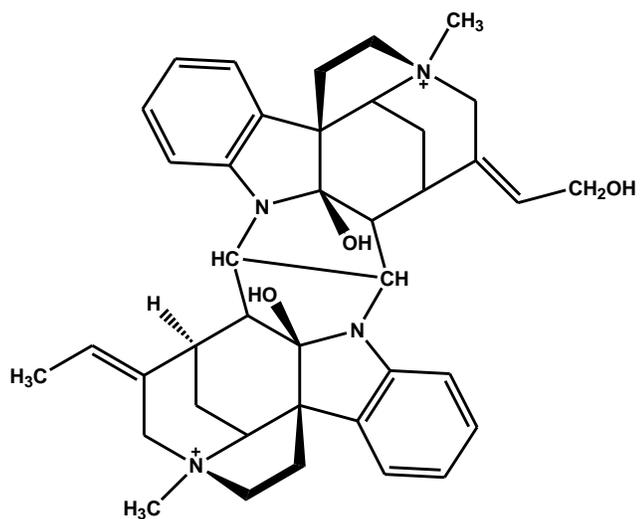
54



55

II.2.p *Strychnos mitscherlichii* M. R. Schomb:

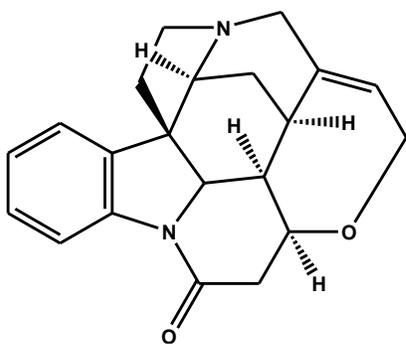
De *S. mitscherlichii* se ha aislado C-alcaloide F (**56**) con propiedades cicatrizantes.^[13]



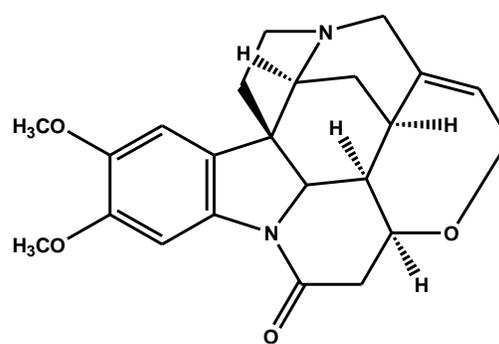
56

II.2.q *Strychnos panamensis* Seemann:

De *S. panamensis* S. se ha aislado estricnina (**57**) y brucina (**58**) con actividad analgésica, antireumática, convulsivante y relajante muscular.^[13]

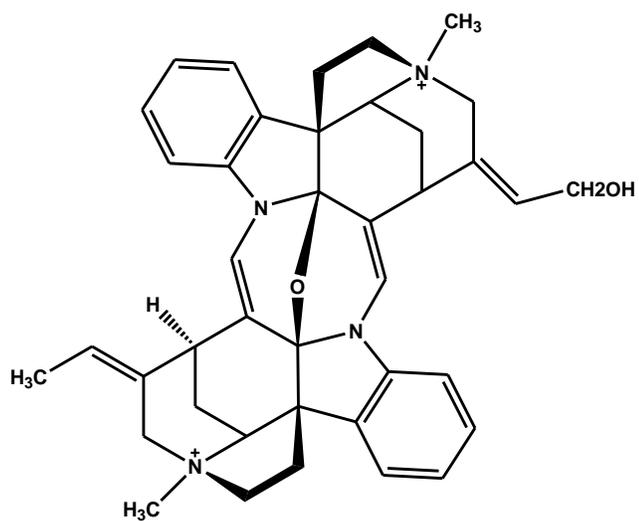


57



58

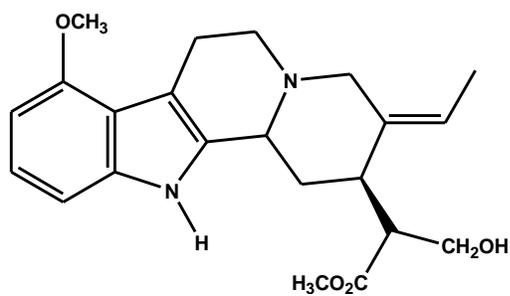
También se ha aislado C-alcaloide G (**59**) con propiedades cicatrizantes. [13]



59

II.2.r *Strychnos rubiginosa* A. DC.:

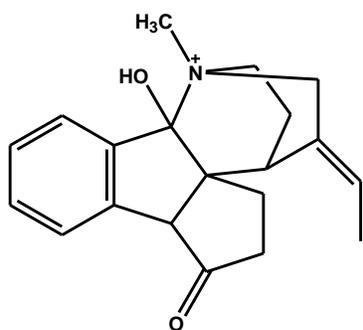
De *S. rubiginosa* se ha aislado estricnorubigina (**60**). [28]



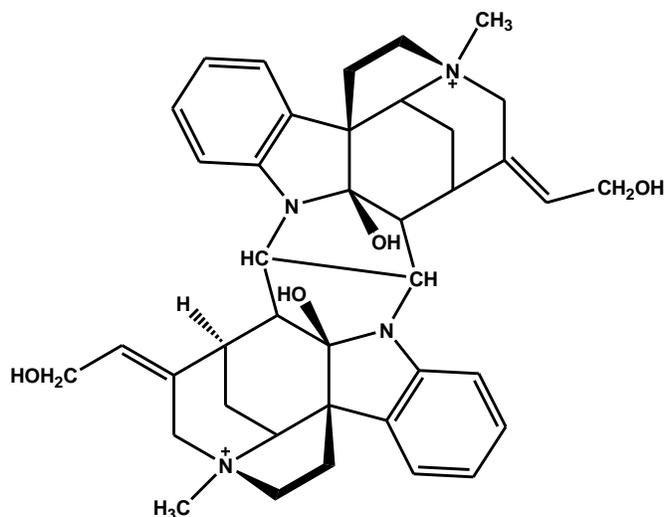
60

II.2.s *Strychnos solimoesana* Krukoff:

De *S. solimoesana* K. se ha aislado C-calebassinina (**61**) y C-alcaloide A (**62**) con propiedades cicatrizantes.^[13]



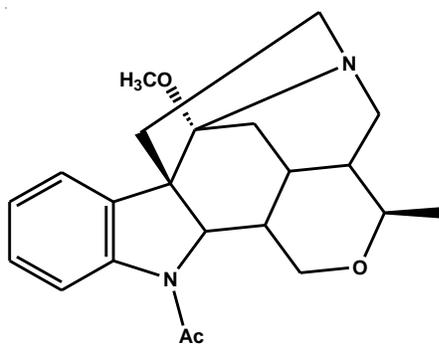
61



62

II.2.t *Strychnos tabascana* Sprague & Sandwith:

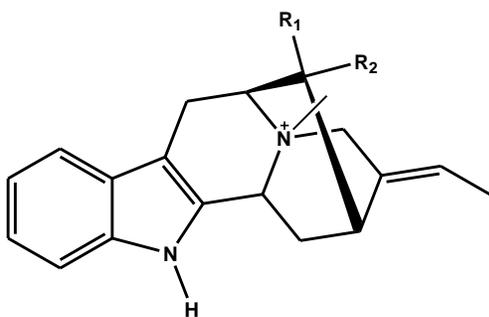
De *S. tabascana* se ha aislado N-acetil-O-metoxiestricnosplendina (**63**).^[13]



63

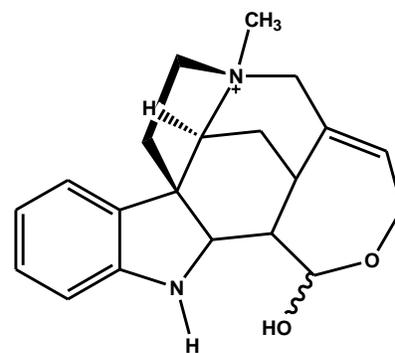
II.2.u *Strychnos toxifera* Robert Schomburgk ex Bentham:

De *S. toxifera* se ha aislado mascusina A (**64**), mascusina C (**65**), hemitoxiferina (**66**), toxiferina IX (**67**), curacurina II (**68**) y caracurina (**69**).^[13]

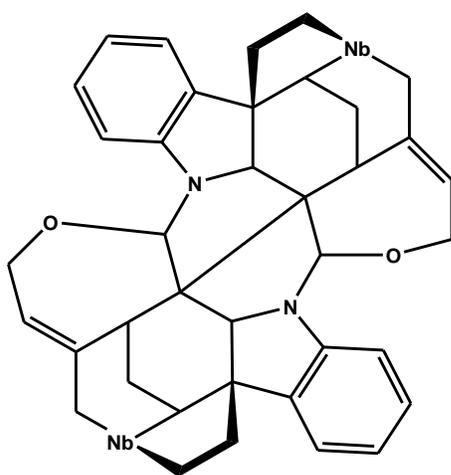


64 $R_1 = \text{CH}_2\text{OH}$, $R_2 = \text{CO}_2\text{CH}_3$

65 $R_1 = \text{COOCH}_3$, $R_2 = \text{CH}_2\text{OCH}_3$

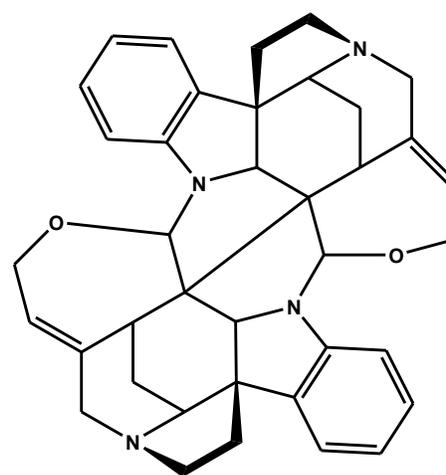


66



67 $\text{Nb} = \text{N}^+\text{-CH}_3$

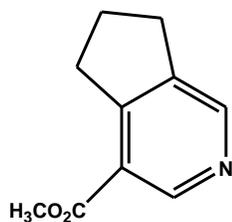
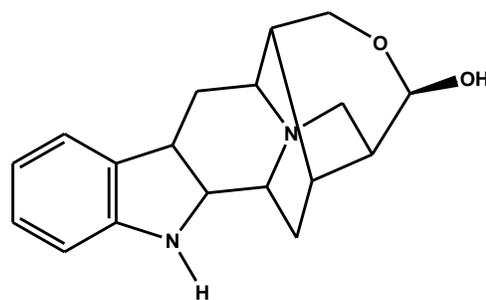
68 $\text{Nb} = \text{N}$



69

II.2.v *Strychnos trinervis* (Vell.) Mart:

De *S. trinervis* se ha aislado cantleina (**70**) con actividad espasmódica y trinervina (**71**).^[29,30]

**70****71**

II.2.w *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith:

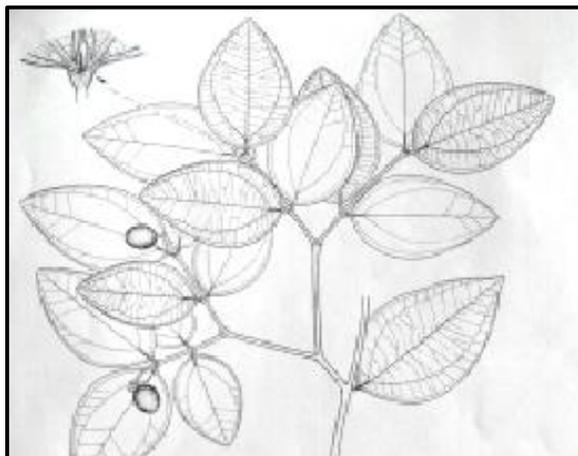


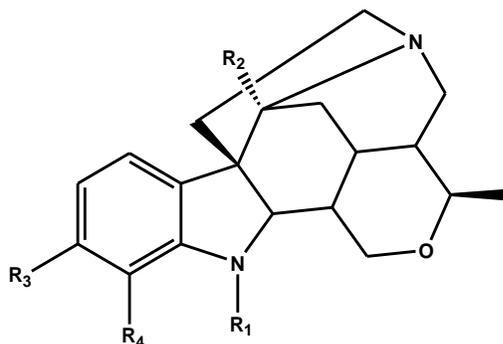
Figura N°2. Ilustración de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

Strychnos fendleri es un árbol pequeño de 10 m de altura, con espinas afiladas, sin zarcillos; frutos de color naranja con 2,5 cm de diámetro. Se extiende en las partes secas del norte de Bolívar, Anzoátegui, Aragua, Distrito federal, Falcón, Guárico, Lara, Miranda, Nueva Esparta, Sucre, Zulia; nordeste de Colombia, Brasil (Roraima).^[9]



Figura N°3. Hojas de *Strychno fendleri* Sprague & Sandwith

De la corteza de *S. fendleri* se ha aislado espermostrychnine (**72**), strychnosplendine (**73**), N.acetil-O-metoxiestrychnosplendine (**74**), N-acetilestrychnosplendine (**75**), N-desacetilspermostrychnine (**76**), N-acetil-12-hidroxi-11-metoxistrychnoesplendine (**77**), strychnofendlerine (**78**), 12-hidroxi-11-metoxistrychnofendlerine (**79**), 11-metoxistrychnofendlerine (**80**), N-desacetilstrychnofendlerine (**81**), diaboline (**82**), heningsamine (**83**), pseudostrychnine (**84**) y 19,20-dihidroicajine (**85**).^[13,31,32]



72 R₁= Ac, R₂= H, R₃= H, R₄= H

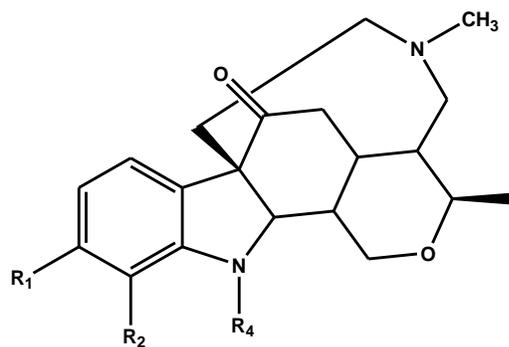
73 R₁= H, R₂= OH, R₃= H, R₄= H

74 R₁= Ac, R₂= OCH₃, R₃= H, R₄= H

75 R₁= Ac, R₂= OH, R₃= H, R₄= H

76 R₁= H, R₂= H, R₃= H, R₄= H

77 R₁= Ac, R₂= OH, R₃= OCH₃, R₄= OH

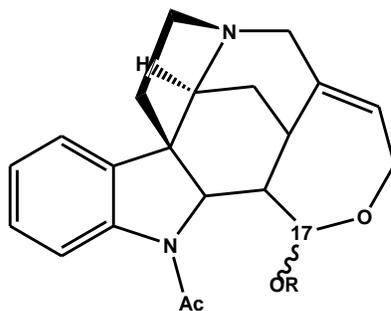


78 $R_1 = R_2 = H$, $R_4 = Ac$

79 $R_1 = OCH_3$, $R_2 = OH$, $R_4 = Ac$

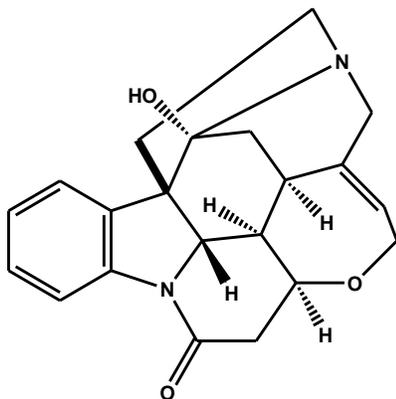
80 $R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$, $R_4 = Ac$

81 $R_1 = OCH_3$, $R_2 = H$, $R_4 = H$

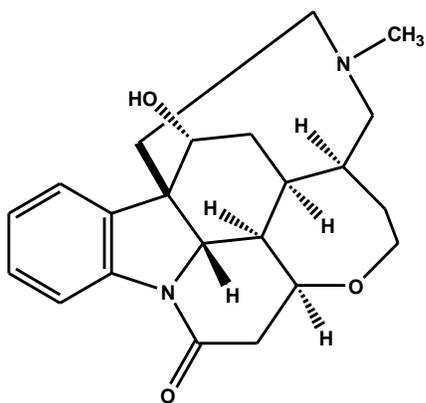


82 $R = H$, 17-OH β

83 $R = Ac$, 17-OAc β



84



85

III. JUSTIFICACIÓN

En nuestro país se utilizan muchas plantas en el tratamiento de distintas patologías o enfermedades, sin que sobre las mismas se hayan realizado estudios de toxicidad y de evaluación química. Dentro de un proyecto que se lleva a cabo en la Facultad de Farmacia de nuestra universidad donde se evalúa el potencial terapéutico de plantas utilizadas por las poblaciones rurales, se escogió el estudio de esta planta que es ampliamente utilizada por los habitantes de la zona de los estados Bolívar y Amazonas para tratar la malaria y en general cualquier tipo de fiebre. Los únicos reportes fitoquímicos de *Strychnos fendleri*, colectada en Brasil se llevaron a cabo hace más de 40 años, cuando no se disponían de las técnicas modernas actuales para la caracterización de estructuras químicas.

IV. OBJETIVOS

IV.1 Objetivo general

Aislar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la corteza y hojas de la planta *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith colectada en Venezuela.

IV.2 Objetivos específicos

- Aislar y purificar mediante técnicas cromatográficas los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la fracciones de hexano, diclorometano y acetato de etilo del extracto metanólico de las hojas de la planta *Strychnos fendleri*.
- Aislar y purificar mediante técnicas cromatográficas los metabolitos secundarios mayoritarios presentes en la fracciones de hexano, diclorometano y acetato de etilo del extracto metanólico de la corteza de la planta *Strychnos fendleri*.
- Caracterizar e identificar la estructura de los compuestos procedentes de las hojas mediante técnicas espectroscópicas de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C en una y dos dimensiones, Infrarrojo y Espectrometría de Masa.
- Caracterizar e identificar la estructura de los compuestos procedentes de la corteza mediante técnicas espectroscópicas de RMN de ^1H y ^{13}C en una y dos dimensiones, Infrarrojo y Espectrometría de Masa.

V. MATERIALES Y EQUIPOS

V.1 Equipos de laboratorio

- Balanza analítica digital, marca OHAUS Adventurer.
- Secador, modelo HG-751 B.120 V.A.C., 60 Hz, 14,5 AMPS. Rango temp. 750/1000 °F (399/538 °C). Master Appliance.
- Estufa Memmert. Modelo 500.
- Rotaevaporador, marca Buchi, modelo B-480.
- Lámpara de UV longitud de onda (λ) 254 y 365 nm, UVP, modelo UVG-11.
- Equipo Soxhlet Electrothermal, 2000 mL.
- Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear, modelo ECLIPSE-JEOL. 270 MHz para los experimentos de ^1H y 75 MHz para los experimentos de ^{13}C .
- Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear Bruker Avance 500 MHz (Centro de Química, IVIC)
- Espectrómetro de masas Hewlett Packard, modelo 5971A (Centro de Química, IVIC)
- Fusiómetro, marca Fisher-johns.
- Espectrofotómetro de infrarrojo medio (FT-IR), marca Varian, Modelo 640.

V.2 Materiales cromatográficos

- Sílica gel G60 para cromatografía de columna (CC), 0,06-0,2 mm (70-230 mesh ASTM) Scharlau.
- Placas de sílica gel para cromatografía de capa fina (CCF) Macherey-Nagel ALUGRAM SIL G/UV254, 20X20 cm. 0,20 mm de espesor.

- Placas preparativas de sílica gel 60. F254, 20X20 cm, 0,25 mm de espesor. MERK.
- Columna fase reversa, waters Sep-Pak. Vac 35cc, C₁₈-10g.

V.3 Disolventes

Se emplearon solventes grado p.a. Aldrich:

- Metanol (MeOH)
- Diclorometano (CH₂Cl₂)
- Cloroformo (CHCl₃)
- Acetato de etilo (AcOEt)
- n-hexano (CH₃(CH₂)₄CH₃)

V.4 Disolventes para análisis de RMN

- Cloroformo deuterado (CDCl₃) Aldrich
- Metanol deuterado (MeOD) Aldrich
- Piridina deuterada (C₅D₅N) Aldrich
- Acetona deuterada (C₃H₆O) Aldrich
- Dimetilsulfóxido deuterado (DMSO) Aldrich

V.5 Reveladores

- p-anisaldehído (revelador universal): se preparó mezclando 5 mL de p-anisaldehído con 90 mL de EtOH, 5 mL de H₂SO₄ y 1 mL de CH₃COOH glacial.
- Reactivo de Dragendorff (revelador de alcaloides): se Prepararon 2 soluciones: Solución A: 0,85 g. de nitrato de bismuto en una mezcla de 10 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua. Solución B: 8 g. de Ioduro de potasio en 20 mL de agua.
Preparación: 5 mL de la solución A, con 4 mL de solución B y 100 mL de agua. Por cada 10 mL de esta solución A se agregaron 10g.de ácido tartárico y 50 mL de agua.

V.6 Desecantes

- Sulfato de magnesio anhidro, ANALAR (BDH).

VI. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

VI.1 Colecta del material vegetal

Las hojas y corteza de la especie *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith, empleados para llevar a cabo el presente trabajo, fueron colectadas en Maniapure, Edo. Bolívar, Venezuela, en diciembre de 2012 e identificadas por el Botánico Dr. Stephen S. Tillett. Una muestra comprobante de la colección se encuentra en el herbario “Dr. Víctor Manuel Ovalles” de la Facultad de Farmacia de la UCV. (MYF28423)

VI.2 Preparación de la muestra

Las hojas y corteza se dejaron secar al aire libre durante una semana. Luego fueron almacenadas, por separado, hasta la fecha de inicio del trabajo (19 de febrero de 2013).

El análisis fitoquímico de la corteza y las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith fue realizado por separado.

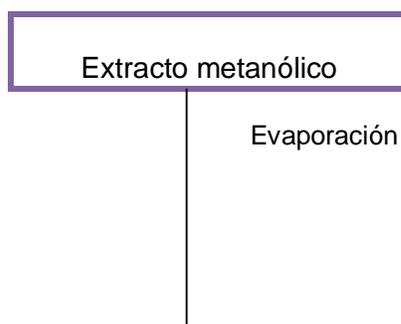
- a. **ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS DE *STRYCHNOS FENDLERI* SPRAGUE & SANDWITH**

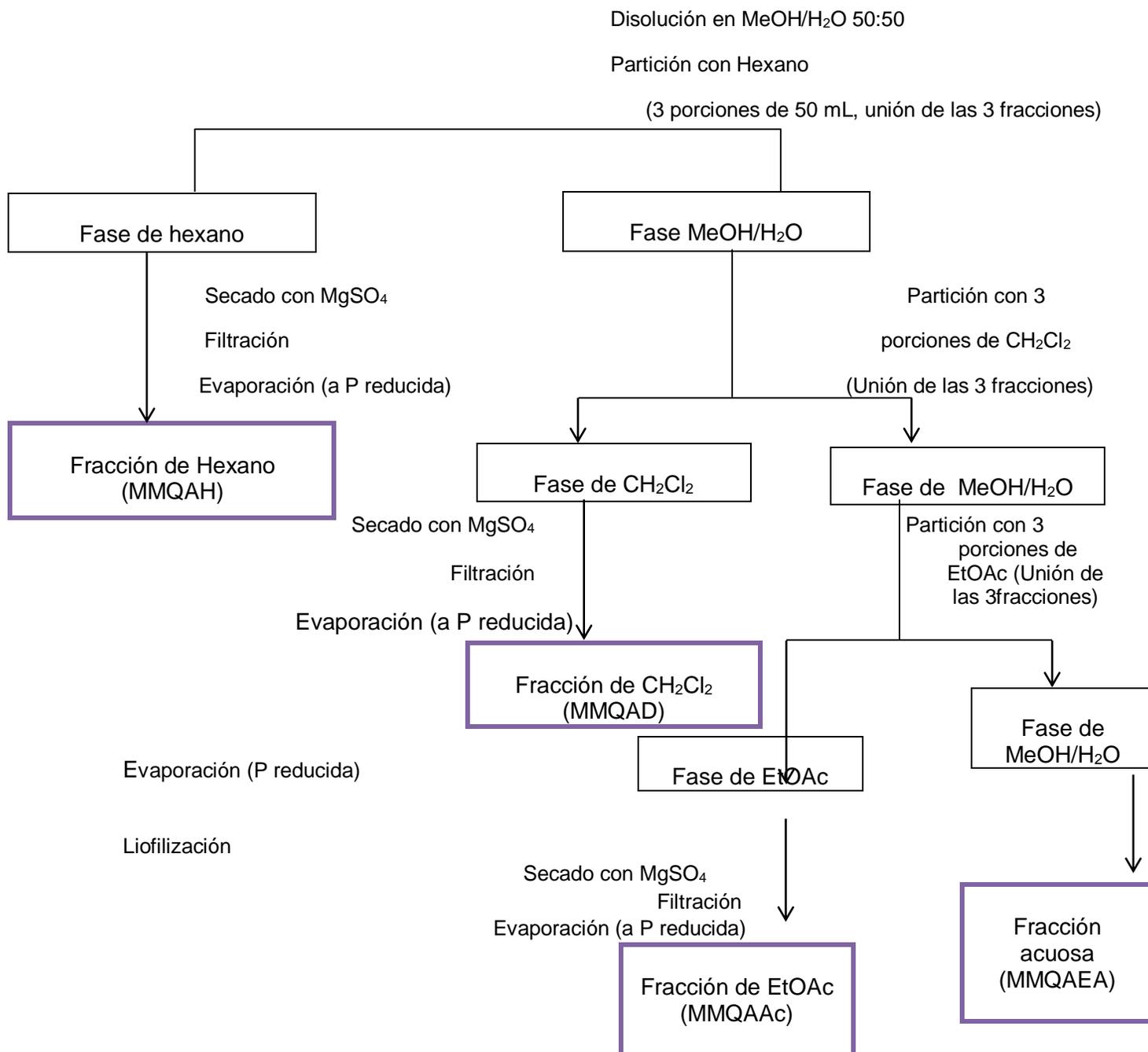
VI.a.1 Extracción

Se pesó la cantidad disponible de hojas de *Strycnos fendleri* Sprage & Sandwith, obteniéndose un total de $41,31 \pm 0,01$ g. Seguidamente las hojas fueron mecánicamente fragmentadas y sometidas a un procedimiento de extracción continua en caliente durante 12 horas, en un equipo Soxhlet, empleando metanol como disolvente. El extracto metanólico obtenido fue filtrado y concentrado, evaporando el disolvente hasta sequedad por medio de un rotaevaporador.

VI.a.2 Fraccionamiento del extracto metanólico

El extracto metanólico resultante $7,50 \pm 0,01$ g. fue disuelto en una mezcla 50:50 metanol-agua, la solución se vertió en un embudo de separación y se llevó a cabo el fraccionamiento a través de un proceso de partición, añadiendo tres porciones de 50 mL de cada uno de los siguientes solventes, en orden creciente de polaridad: n-hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), diclorometano (CH_2Cl_2) y acetato de etilo (AcOEt), obteniéndose así las correspondientes fracciones de hexano (MMQAH), de diclorometano (MMQAD), acetato de etilo (MMQAAC) y acuosa (MMQAEA). Cada una de estas fracciones fue concentrada, evaporando el disolvente en su totalidad a través de un rotaevaporador. Este procedimiento aplicado se ilustra y sintetiza a través del siguiente esquema (esquema N°1):





**Esquema N°1. Fraccionamiento del extracto metanólico de las hojas *Strychnos fendleri*.
VI.a.3 Separación de los componentes por fracción**

A cada una de las fracciones obtenidas se le aplicó la técnica de cromatografía de capa fina (CCF) para la determinación y selección de las condiciones de óptima separación de los compuestos constituyentes, visualizando las placas mediante la iluminación ultravioleta (254 y 365 nm) seguida de inmersión en solución de p-anisaldehído y posterior calentamiento.

Una vez determinadas las mencionadas condiciones, se aplicó la técnica de cromatografía en columna (CC), sobre sílica gel para llevar a cabo la separación, empleando solventes y mezclas de los mismos con incremento de la polaridad a lo largo del proceso, de acuerdo a las determinaciones efectuadas en la cromatografía de capa fina (CCF). Las fracciones obtenidas fueron concentradas, evaporando el solvente a través de un rotaevaporador; luego de lo cual fueron monitoreadas por medio de CCF y se agruparon tomando en consideración el número de compuestos observados sobre la placa, así como los factores de retención (R_f).

Los grupos de fracciones en los cuales se observó una composición relativamente sencilla al realizar el monitoreo por CCF, fueron examinadas por espectroscopia de RMN (^1H y ^{13}C), y aquellos en los cuales se observó la presencia de un componente mayoritario de interés químico, se sometieron a un procedimiento de purificación por CC o cromatografía de placa preparativa, de acuerdo a la cantidad obtenida y conveniencia, empleando de nuevo las condiciones de separación determinadas a través de CCF.

Los grupos de fracciones que presentaron una composición relativamente compleja, se sometieron nuevamente a un proceso de separación en CC, sobre sílica gel, empleando solventes y mezclas de acuerdo a lo determinado por CCF. A continuación se presentan los detalles de la separación de componentes en cada fracción.

VI.a.4 Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

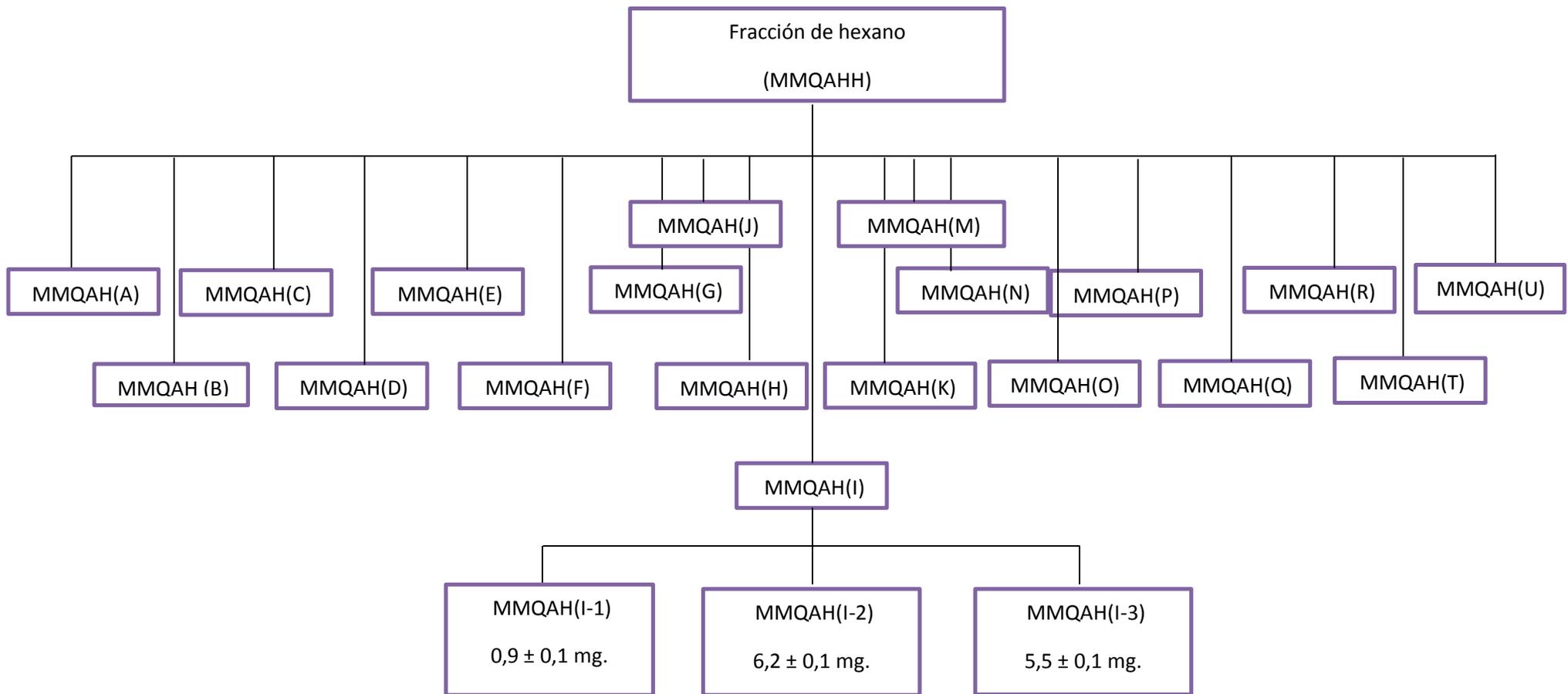
La fracción de hexano obtenida, una vez concentrada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $605,4 \pm 0,1$ mg. y se analizó a través de CCF para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes. Una vez determinada la composición de la fase móvil que generó una mejor separación de los compuestos presentes, 9:1 cloroformo-hexano, se efectuó el procedimiento de separación a través de CC en fase normal, empleando como fase estacionaria sílica gel en una proporción sílica/muestra 50:1, iniciando la elución con la mezcla 9:1 cloroformo-hexano y aumentando progresivamente la polaridad de la fase móvil, pasando por cloroformo puro, luego mezclas cloroformo-metanol, aumentando la polaridad hasta una mezcla 8:2 cloroformo-metanol y finalmente metanol puro. Se obtuvo un total de 58 fracciones, las cuales fueron monitoreadas mediante CCF, empleando como revelador p-anisaldehído y continuando con el calentamiento de la placa. En base a los resultados obtenidos en este monitoreo, las fracciones fueron combinadas en 20 grupos: MMQAH(A), MMQAH(B), MMQAH(C), MMQAH(D), MMQAH(E), MMQAH(F), MMQAH(G), MMQAH(H), MMQAH(I), MMQAH(J), MMQAH(K), MMQAH(M), MMQAH(N), MMQAH(O), MMQAH(P), MMQAH(Q), MMQAH(R), MMQAH(S), MMQAH(T) y MMQAH(U) (ver tabla N° 1).

Tabla N°1. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de las hojas, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.

Grupo de fracciones	Fracciones combinadas	Peso $\pm 0,1$ mg
MMQAH(A)	2-3	28,5
MMQAH(B)	4-5	11,3
MMQAH(C)	6	6,4
MMQAH(D)	7	01,0
MMQAH(E)	8-10	18,4
MMQAH(F)	11-13	7,9
MMQAH(G)	14-17	16,3
MMQAH(H)	18	0,2
MMQAH(I)	19-24	50,0
MMQAH(J)	25-32	29,5
MMQAH(K)	33	18,4
MMQAH(M)	34-36	29,4
MMQAH(N)	37-38	10,2
MMQAH(O)	39-40	10,4
MMQAH(P)	41-42	19,0
MMQAH(Q)	43-45	36,5
MMQAH(R)	46-48	6,5
MMQAH(S)	50-52	23,2
MMQAH(T)	53-57	7,7
MMQAH(U)	58	389,0

De los 20 grupos obtenidos, sólo 2, MMQAH(E) y MMQAH(F), reflejaron ser fracciones considerablemente sencillas, por lo cual fueron analizadas por espectroscopía de RMN (^1H y ^{13}C), sin embargo no se reflejaron resultados químicamente interesantes. Para el grupo MMQAH(I) al realizar CCF se observaron 3 compuestos fácilmente separables, por

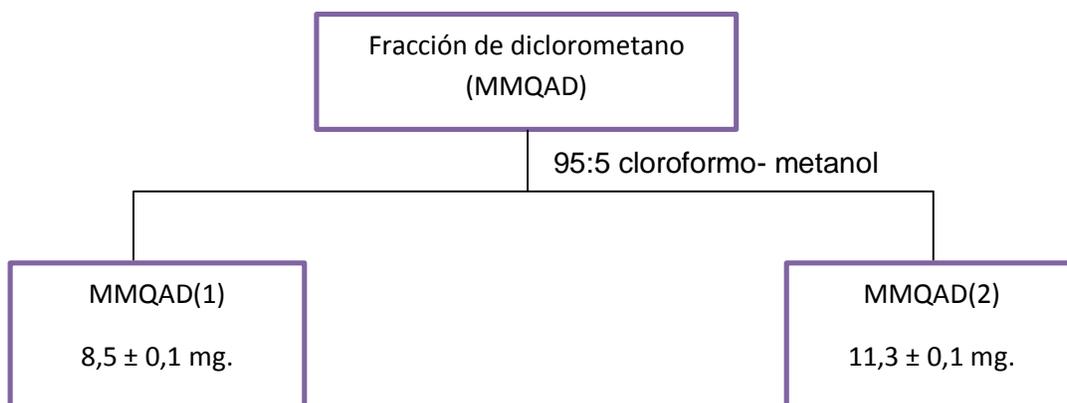
lo cual se llevó a cabo el procedimiento separativo a través de cromatografía en placa preparativa, empleando diclorometano como fase móvil. A partir de éste último procedimiento, se obtuvieron 3 fracciones identificadas sobre la placa: MMQAH(I-1), MMQAH(I-2) y MMQAH(I-3). Cada zona de la placa que contenía adsorbidos estos compuestos fue removida, y se mantuvo en agitación continua durante 15 min empleando una mezcla de cloroformo-metanol como solvente. Estas fracciones fueron examinadas por espectroscopia de RMN (^1H y ^{13}C), los espectros obtenidos no arrojaron resultados químicamente interesantes.



Esquema N°2. Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

VI.a.5 Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

La fracción de diclorometano obtenida, una vez concentrada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $280,3 \pm 0,1$ mg. y se analizó a través de CCF para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes. Una vez determinada la composición de fase móvil que generó una mejor separación de los compuestos presentes, 95:5 cloroformo-metanol, se efectuó el procedimiento de separación a través de cromatografía de placa preparativa, sembrando toda la fracción de diclorometano obtenida en dos placas. Se logró separar 2 compuestos mayoritarios, MMQAD(1) y MMQAD(2), los cuales fueron analizados por espectrometría de RMN (^1H y ^{13}C), sin embargo los espectros obtenidos no arrojaron resultados químicamente interesantes.



Esquema N°3. Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

VI.a.6 Separación de los componentes en la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

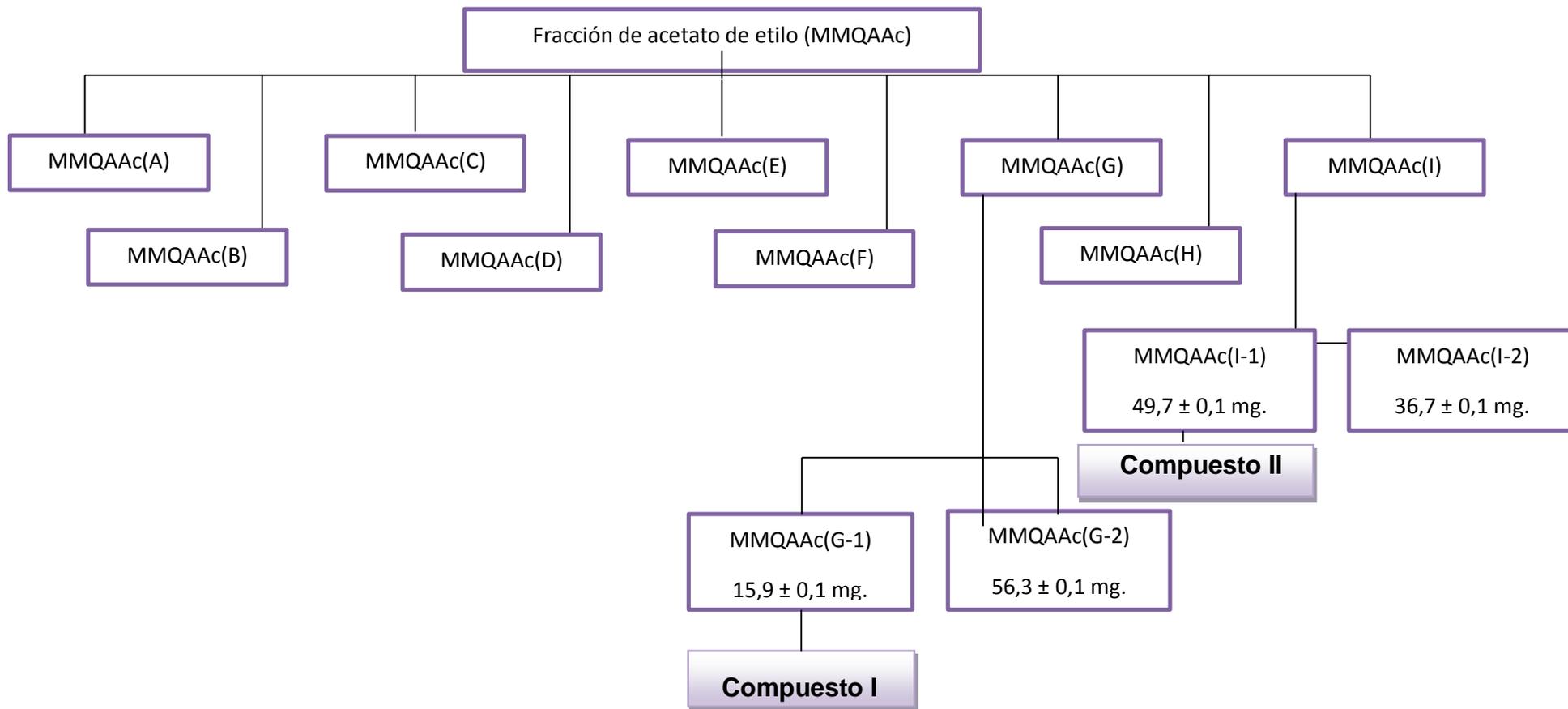
La fracción de acetato de etilo obtenida, una vez concentrada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $855,5 \pm 0,1$ mg. y se analizó a través de CCF para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes, resultando que la mezcla 9:1 cloroformo-metanol fue la fase móvil que permitió la mejor separación de los compuestos constituyentes. Se llevó a cabo la separación de los componentes mediante CC en fase normal sílica gel, en una proporción sílica/muestra 50:1, debido a que la fracción de acetato de etilo únicamente se disolvió en metanol, fue necesario preparar un “tapón” de sílica, el cual consistió en añadir una pequeña cantidad de sílica al extracto para luego ser evaporado en su totalidad, de esta manera se sembró en la columna. La elución de la misma inició con cloroformo, aumentando progresivamente la polaridad de la fase móvil con una mezcla cloroformo-metanol, hasta llegar a una mezcla 8:2 cloroformo metanol y finalmente metanol puro. Se obtuvo un total de 37 fracciones, las cuales fueron monitoreadas mediante CCF, empleando como revelador p-anisaldehído y continuando con el calentamiento de la placa. En base a los resultados obtenidos en este monitoreo, las fracciones fueron combinadas en 9 grupos: MMQAAc(A), MMQAAc(B), MMQAAc(C), MMQAAc(D), MMQAAc(E), MMQAAc(F), MMQAAc(G), MMQAAc(H) y MMQAAc(I) (ver tabla N° 2).

Para los grupos de fracciones MMQAAc(G), MMQAAc(H) y MMQAAc(I), al realizar CCF se observaron compuestos fácilmente separables, por lo que se sometieron a cromatografía de placa preparativa: MMQAAc(G) se empleó una mezcla 8:2 diclorometano-metanol como fase móvil, logrando separar 2 compuestos, MMQAAc(G-1) y MMQAAc(G-2), estos compuestos fueron examinados por espectroscopia de RMN (^1H y ^{13}C); MMQAAc(I) se empleó una mezcla 8:1:1 acetato de etilo-metanol-éter de petróleo

como fase móvil, lográndose la separación de dos compuestos MMQAAc(I-1) y MMQAAc(I-2), igualmente los compuestos fueron analizados por espectroscopia de RMN (^1H y ^{13}C).

Tabla N°2. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.

Grupo de fracciones	Fracciones combinadas	Peso $\pm 0,1$ mg
MMQAAc(A)	1-12	6,1
MMQAAc(B)	13-16	6,9
MMQAAc(C)	17-21	13,9
MMQAAc(D)	22-24	11,8
MMQAAc(E)	25-26	8,4
MMQAAc (F)	27	4,2
MMQAAc(G)	28-32	143,6
MMQAAc(H)	33-36	100,1
MMQAAc(I)	37	236,0



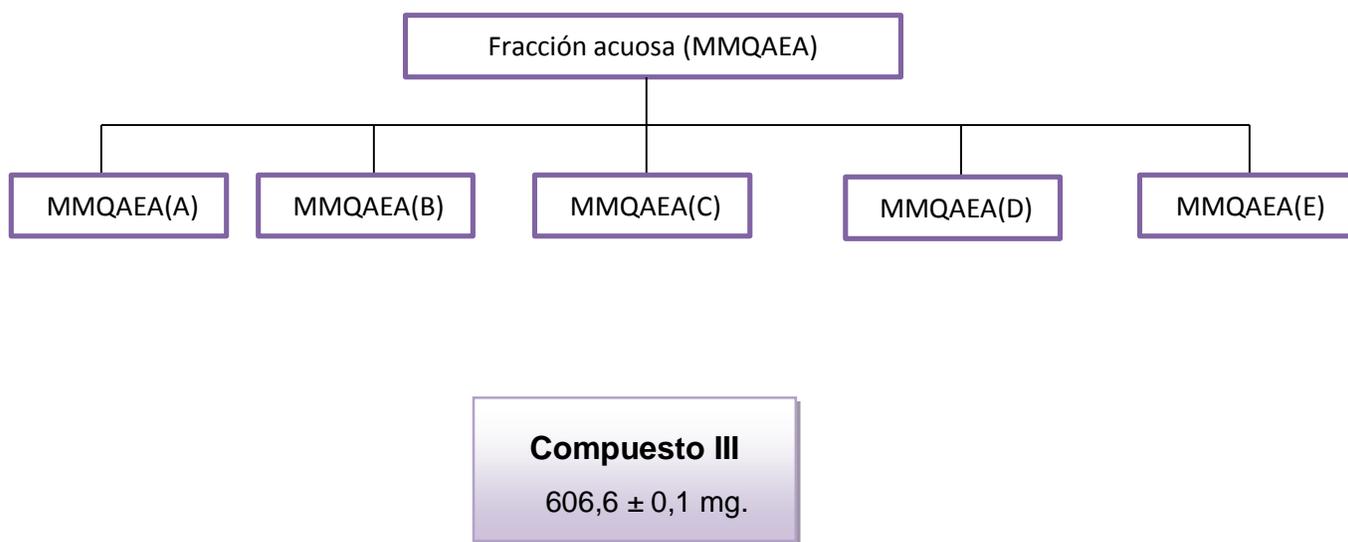
Esquema N^o4. Separación de los componentes en la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

VI.a.7 Separación de los componentes en la fracción acuosa obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

La fracción de extracto acuoso obtenida, fue liofilizada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $3,45 \pm 0,01$ g. y se analizó a través de CCF en fase reversa para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes, resultando que la mezcla 1:1 agua-metanol fue la fase móvil que permitió mejor separación de los compuestos constituyentes. Se llevó a cabo la separación de los compuestos mediante CC en fase reversa, sin embargo no se obtuvo separación. Esto llevo a analizar el extracto a través de CCF en fase normal para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes, resultando que la mezcla 9:1 acetato de etilo-metanol fue la fase móvil que permitió mejor separación de los compuestos constituyentes. Se llevó a cabo la separación de los componentes mediante CC en fase normal sílica gel, en una proporción sílica/muestra 50:1, iniciando la elución con la mezcla 9:1 acetato de etilo-metanol, y aumentando progresivamente la polaridad de la fase móvil, hasta llegar a metanol puro. Se obtuvo un total de 67 fracciones, las cuales fueron monitoreadas mediante CCF, empleando como revelador p-anisaldehído y continuando con el posterior calentamiento de la placa. En base a los resultados obtenidos en este monitoreo, las fracciones fueron combinadas en 5 grupos: MMQAEA(A), MMQAEA(B), MMQAEA(C), MMQAEA(D) y MMQAEA(E) (ver tabla N° 3). Estas fracciones fueron analizadas por espectroscopia de RMN (^1H y ^{13}C)

Tabla N°3. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción del extracto acuoso obtenida del extracto metanólico de las hojas, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.

Grupo de fracciones	Fracciones combinadas	Peso $\pm 0,1$ mg
MMQAEA(A)	15-21	5,8
MMQAEA(B)	25-33	101,5
MMQAEA(C)	34-55	606,6
MMQAEA(D)	1-14	9,9
MMQAEA(E)	57-67	576,9



Esquema N°5. Separación de los componentes en la fracción acuosa obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

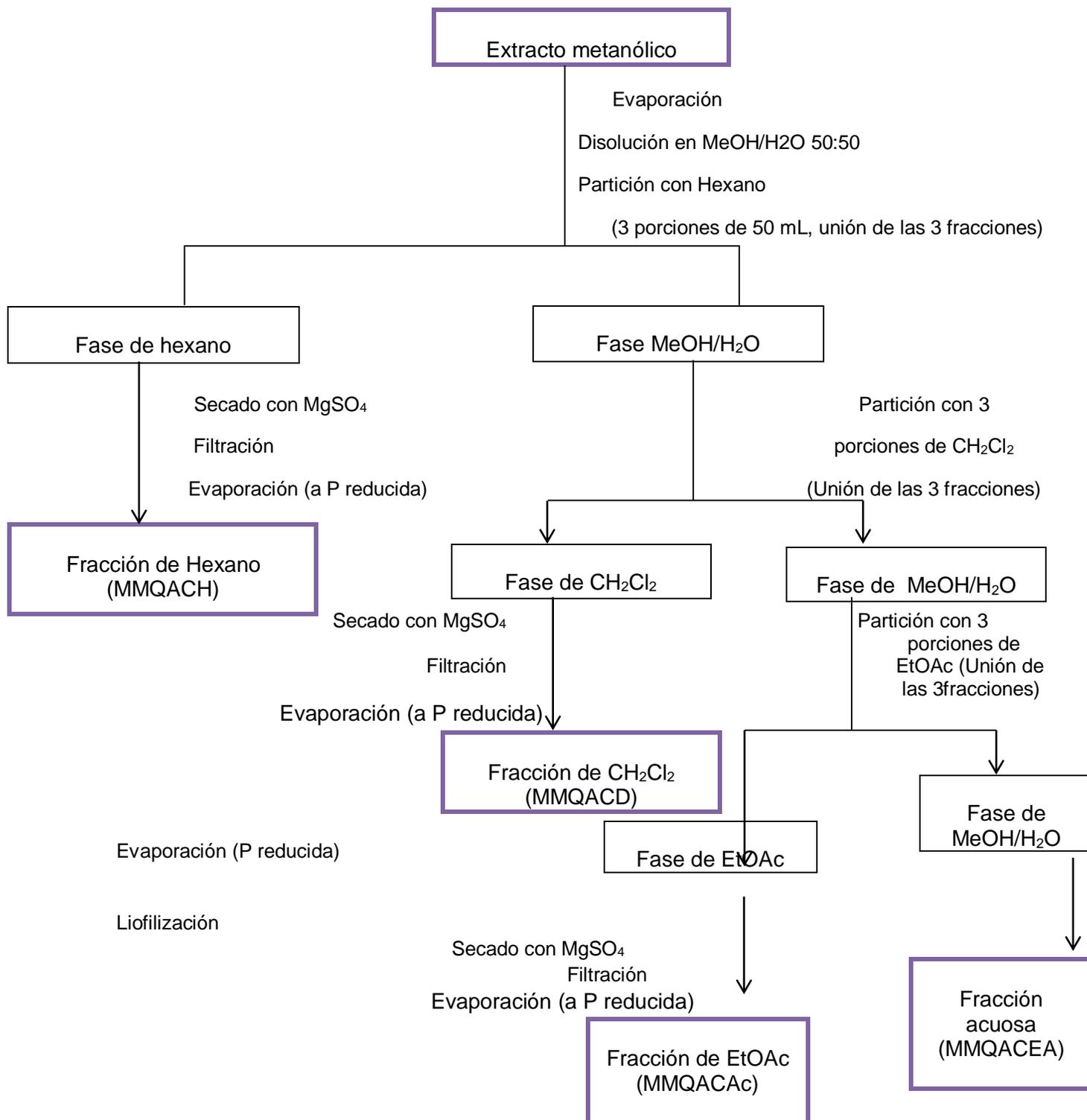
b. ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA CORTEZA DE *STRYCHNOS FENDLERI* SPRAGUE & SANDWITH

VI.b.1 Extracción

Se pesó la cantidad disponible de corteza de *Strychnos fendleri* Sprage & Sandwith, obteniéndose un total de $107,34 \pm 0,01$ g. Seguidamente la corteza fue mecánicamente fragmentada y sometida a un procedimiento de extracción continua en caliente durante 12 horas, en un equipo Soxhlet, empleando metanol como disolvente. El extracto metanólico obtenido fue filtrado y concentrado, evaporando el disolvente hasta sequedad por medio de un rotaevaporador.

VI.b.2 Fraccionamiento del extracto metanólico

El extracto metanólico resultante $6,42 \pm 0,01$ g. fue disuelto en una mezcla 50:50 metanol-agua, la solución se vertió en un embudo de separación y se llevó a cabo el fraccionamiento a través de un proceso de partición, añadiendo tres porciones de 50 mL de cada uno de los siguientes solventes, en orden creciente de polaridad: n-hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), diclorometano (CH_2Cl_2) y acetato de etilo (AcOEt), obteniéndose así las correspondientes fracciones de hexano (MMQACH), de diclorometano (MMQACD), acetato de etilo (MMQACAc) y acuosa (MMQACEA). Cada una de estas fracciones fue concentrada, evaporando el disolvente en su totalidad a través de un rotaevaporador. Este procedimiento aplicado se ilustra y sintetiza a través del siguiente esquema (esquema N°6):



Esquema N°6. Fraccionamiento del extracto metanólico de la corteza *Strychnos fendleri*.

VI.b.3 Separación de los componentes por fracción

A cada una de las fracciones obtenidas (excepto la acuosa) se le aplicó la técnica de cromatografía de capa fina (CCF) para la determinación y selección de las condiciones de óptima separación de los compuestos constituyentes, visualizando las placas mediante la iluminación ultravioleta (254 y 365 nm) seguida de inmersión en solución de p-anisaldehído y posterior calentamiento.

Una vez determinadas las mencionadas condiciones, se aplicó la técnica de cromatografía en columna (CC), sobre sílica gel para llevar a cabo la separación, empleando solventes y mezclas de los mismos con incremento de la polaridad a lo largo del proceso, de acuerdo a las determinaciones efectuadas en la cromatografía de la capa fina (CCF). Las fracciones obtenidas fueron concentradas, evaporando el solvente a través de un rotaevaporador; luego de lo cual fueron monitoreadas por medio de CCF y se agruparon tomando en consideración el número de compuestos observados sobre la placa, así como los factores de retención (R_f).

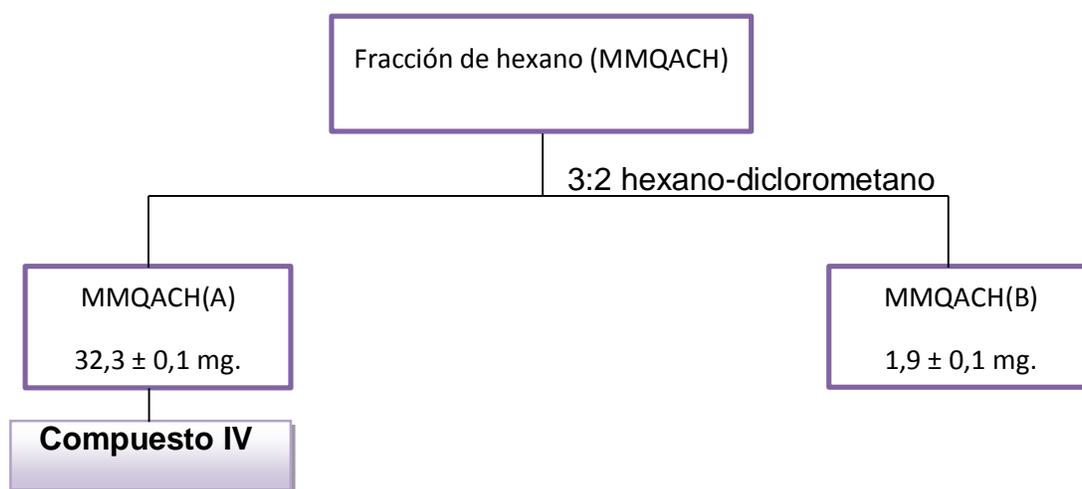
Los grupos de fracciones en los cuales se observó una composición relativamente sencilla al realizar el monitoreo por CCF, fueron examinadas por espectroscopia de RMN (^1H y ^{13}C), y aquellos en los cuales se observó la presencia de un componente mayoritario de interés químico, se sometieron a un procedimiento de purificación por CC o cromatografía de placa preparativa, de acuerdo a la cantidad obtenida y conveniencia, empleando de nuevo las condiciones de separación determinadas a través de CCF.

Los grupos de fracciones que presentaron una composición relativamente compleja, se sometieron nuevamente a un proceso de separación en CC, sobre sílica gel, empleando

solventes y mezclas de acuerdo a lo determinado por CCF. A continuación se presentan los detalles de la separación de componentes en cada fracción.

VI.b.4 Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith.

La fracción de hexano obtenida, una vez concentrada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $281,3 \pm 0,1$ mg. y se analizó a través de CCF para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes. Una vez determinada la composición de fase móvil que generó una mejor separación de los compuestos presentes, 3:2 hexano-diclorometano, se efectuó el procedimiento de separación a través de cromatografía de placa preparativa, debido a la poca masa obtenida del extracto. Se logró separar 2 compuestos mayoritarios, MMQACH(A) y MMQACH(B), los cuales fueron analizados por espectrometría de RMN (^1H y ^{13}C), obteniéndose el compuesto IV.



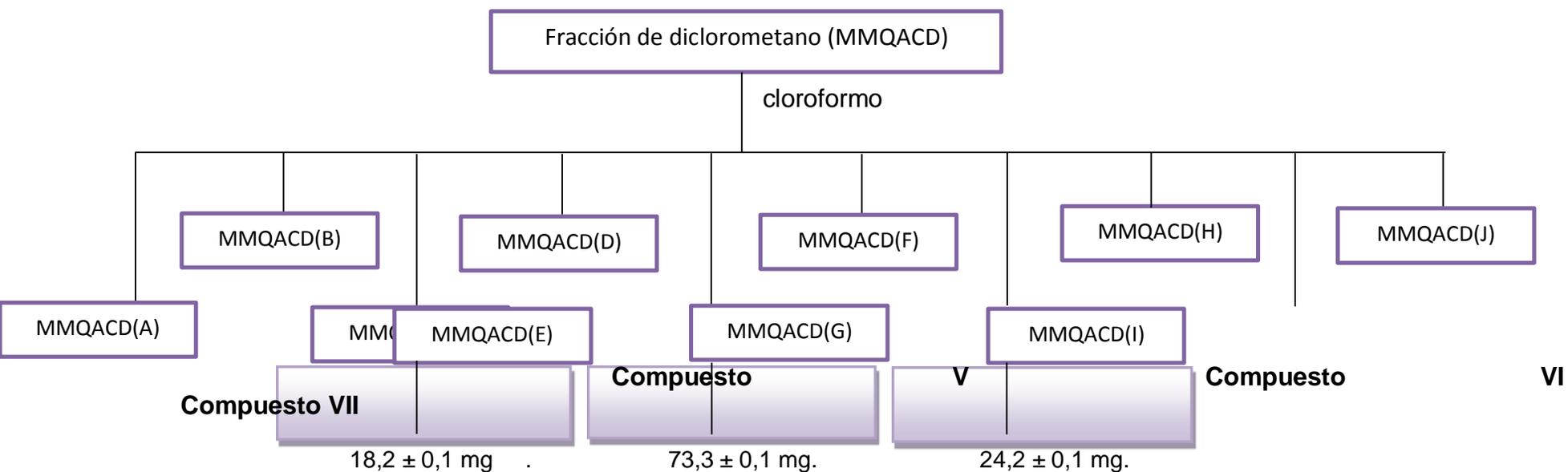
Esquema N°7. Separación de los componentes en la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

VI.b.5 Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith.

La fracción de diclorometano obtenida, una vez concentrada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $583,3 \pm 0,1$ mg. y se analizó a través de CCF para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes. Una vez determinada la composición de fase móvil que generó una mejor separación de los compuestos presentes, cloroformo puro, se efectuó el procedimiento de separación a través de CC en fase normal, empleando como fase estacionaria sílica gel en una proporción sílica/muestra 50:1, iniciando la elución con cloroformo puro y aumentando progresivamente la polaridad de la fase móvil, con mezclas cloroformo-metanol hasta llegar a una proporción 8:2 cloroformo-metanol y finalmente metanol puro. Se obtuvo un total de 39 fracciones, las cuales fueron monitoreadas mediante CCF, empleando como revelador p-anisaldehído y continuando con el calentamiento de la placa. En base a los resultados obtenidos en este monitoreo, las fracciones fueron combinadas en 10 grupos: MMQACD(A), MMQACD(B), MMQACD(C), MMQACD(D), MMQACD(E), MMQACD(F), MMQACD(G), MMQACD(H), MMQACD(I) y MMQACD(J) (ver tabla N°4)

Tabla N°4. Combinación y peso de las fracciones obtenidas en la separación de la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza, por cromatografía de columna en fase normal sobre sílica gel, para obtener grupo de fracciones.

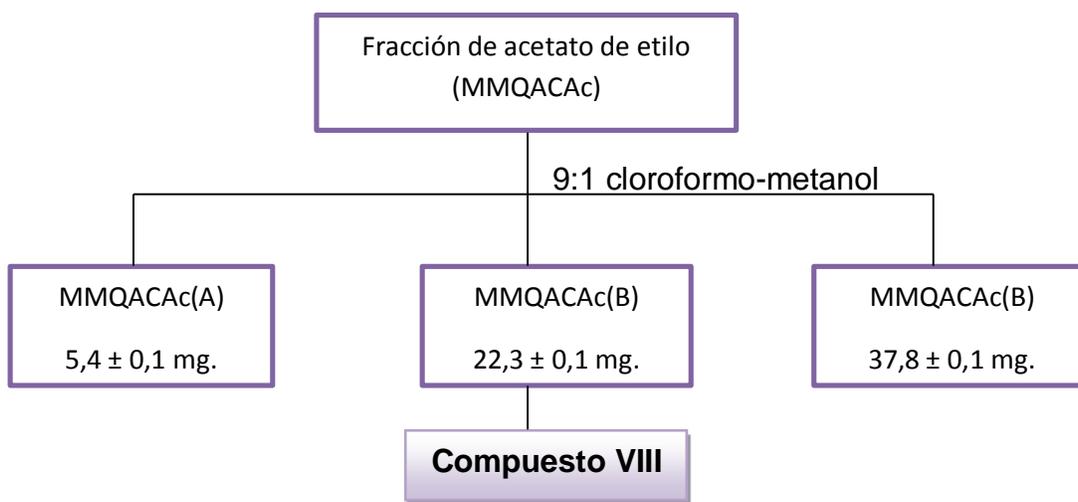
Grupo de fracciones	Fracciones combinadas	Peso \pm 0,1 mg
MMQACD(A)	1-4	22,5
MMQACD(B)	5-8	18,7
MMQACD(C)	9-14	11,0
MMQACD(D)	15-17	31,5
MMQACD(E)	18-19	73,3
MMQACD(F)	20-22	66,4
MMQACD(G)	23-26	24,2
MMQACD(H)	27-28	5,8
MMQACD(I)	29-36	13,6
MMQACD(J)	37-39	26,5



Esquema N°8. Separación de los componentes en la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

VI.b.6 Separación de los componentes en la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

La fracción de acetato de etilo obtenida, una vez concentrada hasta completa sequedad, se pesó obteniéndose $773,5 \pm 0,1$ mg. y se analizó a través de CCF para determinar las condiciones necesarias para la óptima separación de los compuestos constituyentes. Una vez determinada la composición de fase móvil que generó una mejor separación de los compuestos presentes, 9:1 cloroformo-metanol, se efectuó el procedimiento de separación a través de cromatografía de placa preparativa, debido a la poca masa obtenida del extracto. Se logró separar 3 compuestos mayoritarios, MMQACAc(A), MMQACAc(B) y MMQACAc(C) los cuales fueron analizados por espectroscopía de RMN (^1H y ^{13}C), obteniéndose el compuesto VIII.



Esquema N°9. Separación de los componentes en la fracción acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

VI.b.7 Separación de los componentes en la fracción acuosa obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith

Esta fracción fue reservada para un análisis futuro.

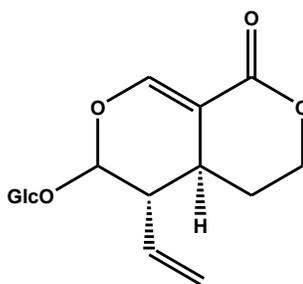
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se ha hecho mención en anteriores oportunidades, los compuestos aislados a partir de las hojas y corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith fueron caracterizados por medio de espectroscopía de RMN (^1H y ^{13}C) en una y dos dimensiones, y comparación de los datos reportados por otros autores en estudios de sistemas análogos.

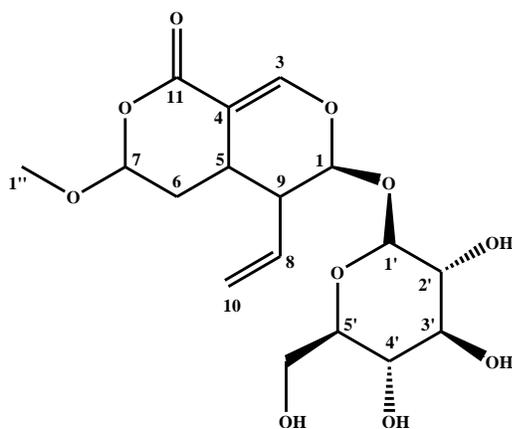
VII.1 Compuesto I: Vogelosido

El compuesto (I) se aisló como un aceite incoloro de la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto de las hojas de *Strychnos fendleri*, con un peso de $15,9 \pm 0,1$ mg. Su fórmula molecular fue establecida de acuerdo al análisis en conjunto de los experimentos de RMN ^{13}C -DEPT 135 (espectro N° 2) y el espectro de masas (espectro N° 5), el cual mostró un ión molecular de $389,12$ m/z , permitiendo proponer una estructura con fórmula molecular $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ la cual establece seis insaturaciones en la molécula. El análisis de los espectros de resonancia magnética de protones indicó la presencia de una estructura que contenía un fragmento glicosilado con señales en la zona entre 3,27 -5,31 ppm, corroboradas en el espectro de RMN ^{13}C con las resonancias de un grupo de metinos en la zona entre 70,1 y 77,02 ppm. Ese fragmento de tipo carbohidrato se caracterizó como una glucosa por sus típicas señales del carbono metilénico a 62,35 ppm y su carbono anomérico a 99,0 ppm. El espectro de protones se mostraba bastante complicado, pero en el espectro de ^{13}C se identificó una serie de señales que indicaban la presencia de dos olefinas, una de tipo terminal (δ 131,4; 119,7), otra trisustituida (δ 104,0; 153,2) y un grupo carboxilo perteneciente a una lactona alfa-beta insaturada a 165,9 ppm. Todas las señales de protones y carbono trece fueron correlacionadas, utilizando espectros de RMN (HETCOR) (espectros N° 3-4). La comparación de nuestros datos con compuestos reportados en la literatura nos permitió proponer una estructura muy semejante a la estructura del conocido iridoide swerosido (**85**), con la diferencia de un grupo metóxido en la estructura que analizábamos, el cual mostraba una señal singlete en protones a 3,40 ppm que correlacionaba con 55,7 ppm en el carbono trece. Este metóxido solo podría ser ubicado en el carbono 7 de la estructura de swerosido variando de δ 67,8 (CH_2)^[33] a δ 102,0 (CH) en nuestro compuesto. Todo el análisis de la data espectroscópica permitió proponer la estructura del compuesto como el 7-metoxi-swerosido (I), cuyos datos comparados con la literatura se muestran en la tabla N° 5, el mismo fue aislado previamente de la planta *Chelonanthus alatus*^[34] y por primera vez de

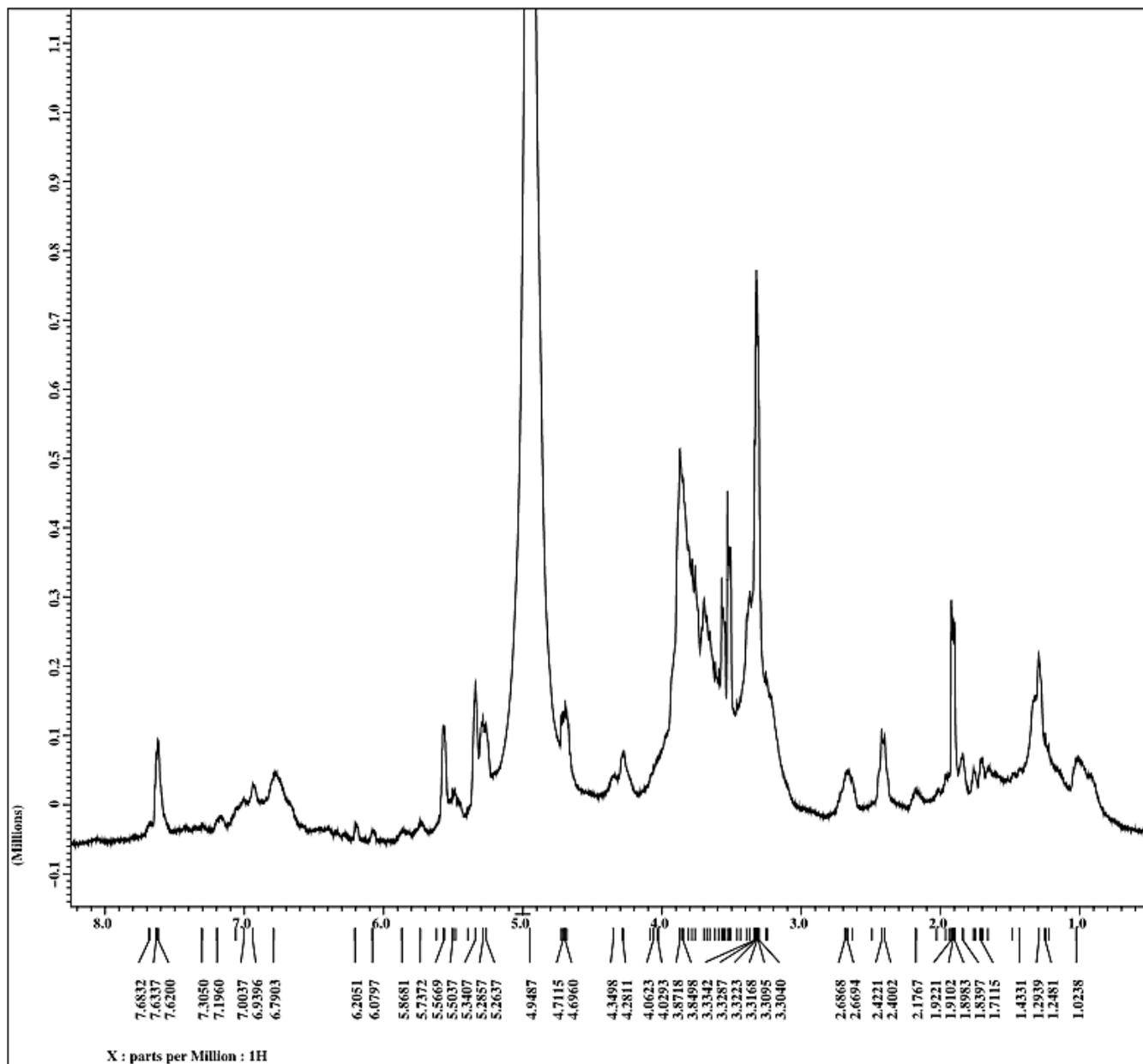
Anthocleista vogelii, a la cual debe su nombre y se reporta en esta oportunidad en especies de *Strychnos*.



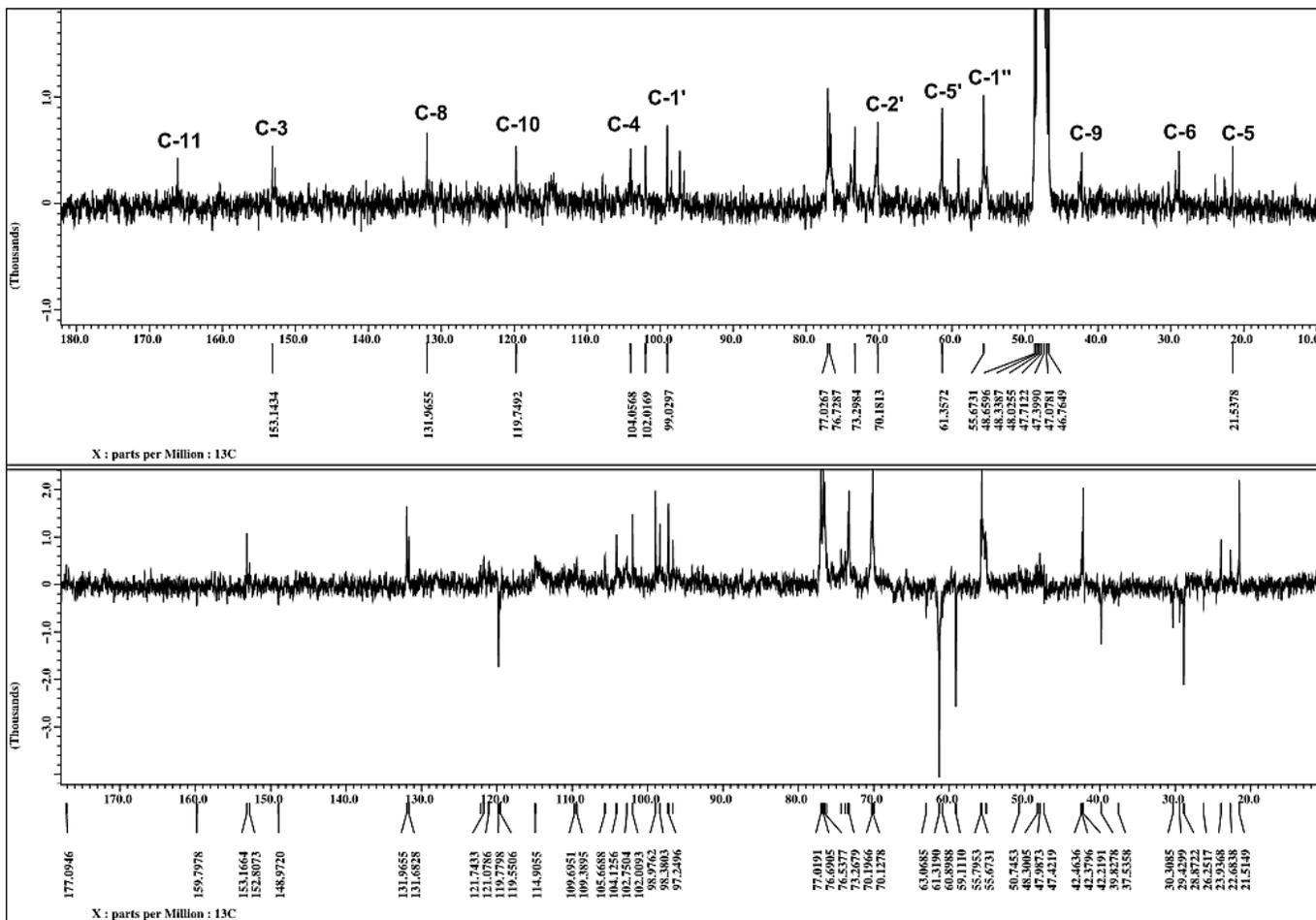
Swerosido (85)



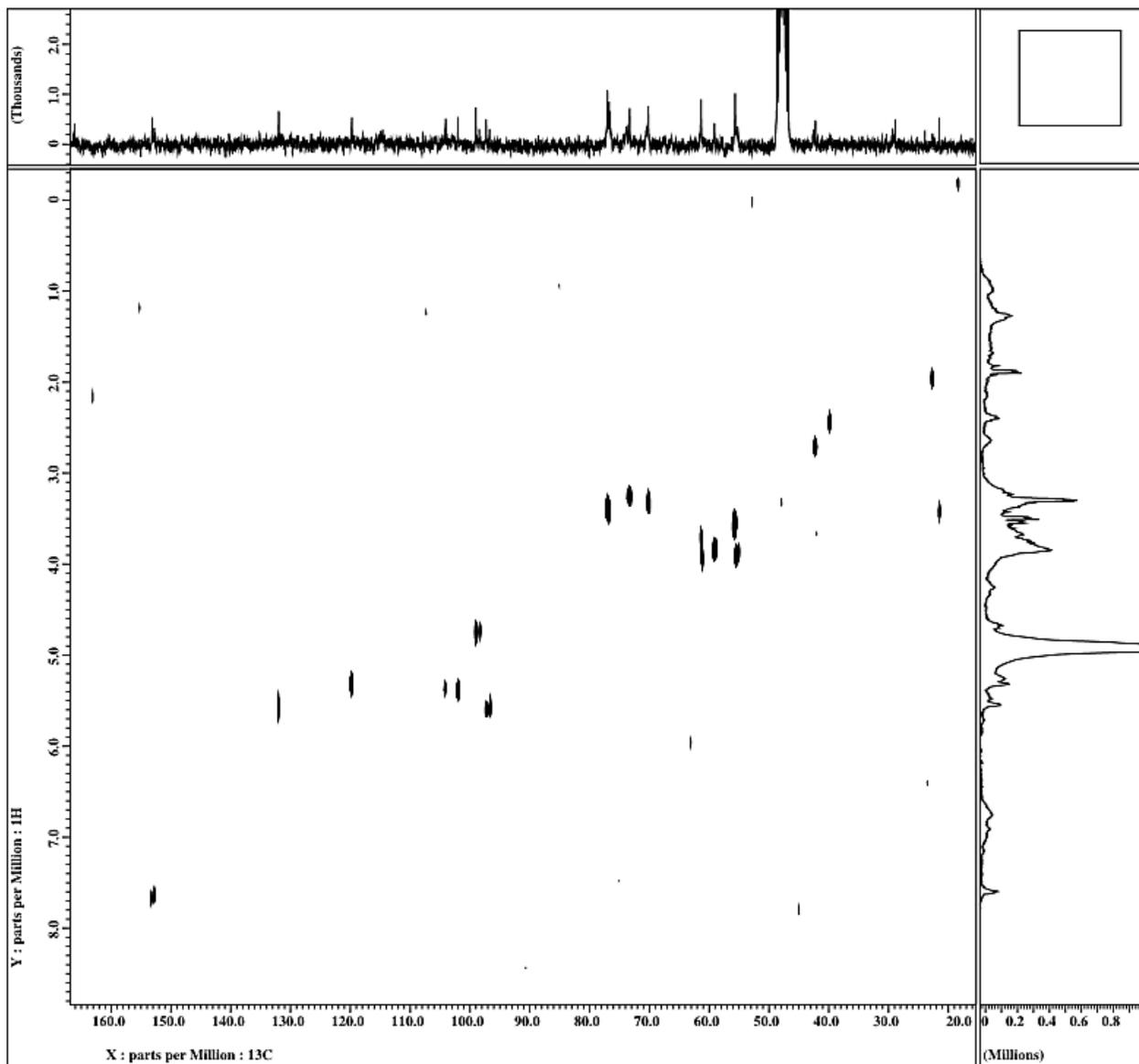
Vogelosido (I)



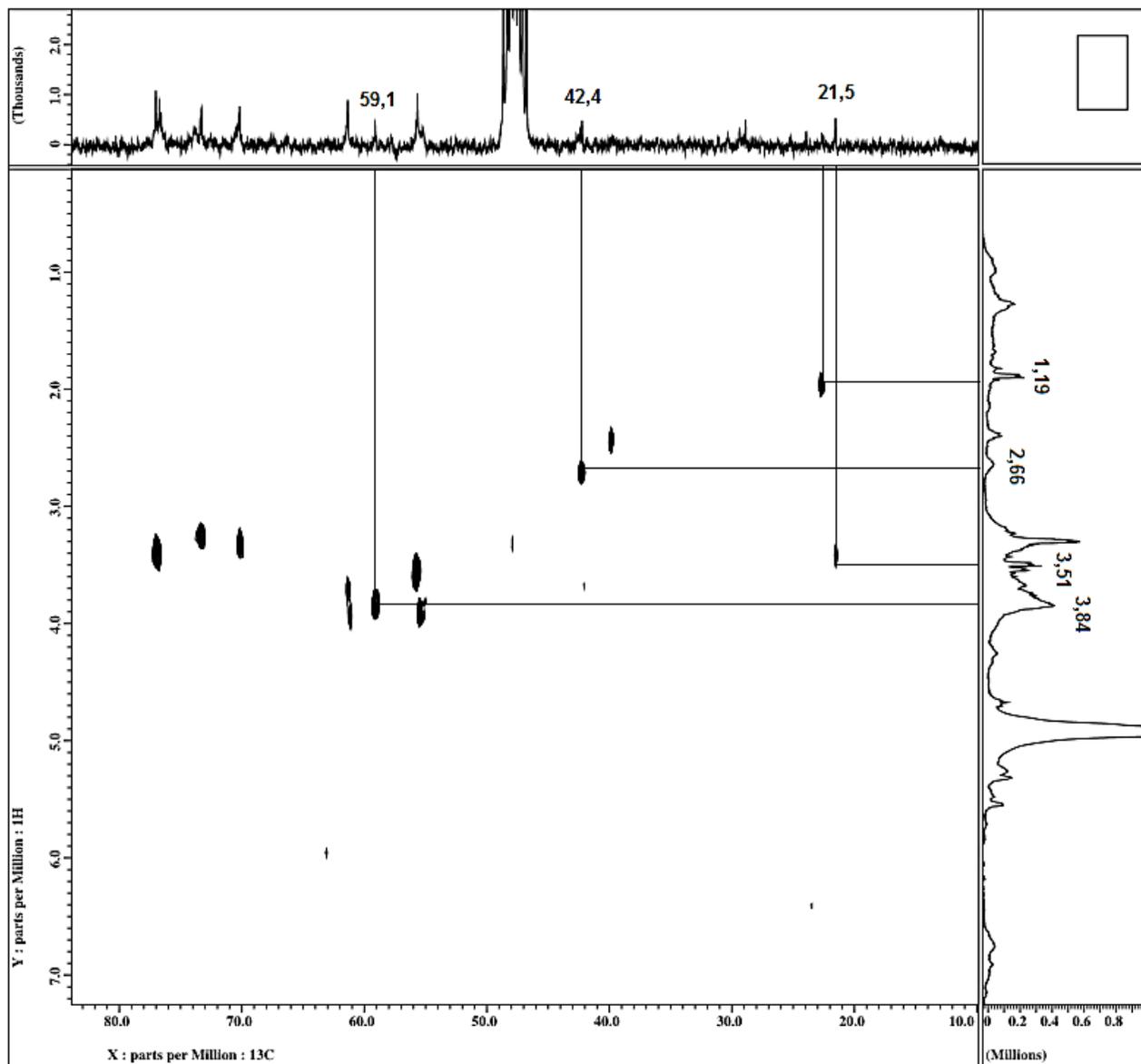
Espectro N° 1: RMN ¹H Vogelosido (I) (270 MHz; MeOD)



Espectro N° 2: RMN ^{13}C y DEPT 135 Vogelosido (I) (270 MHz; MeOD)

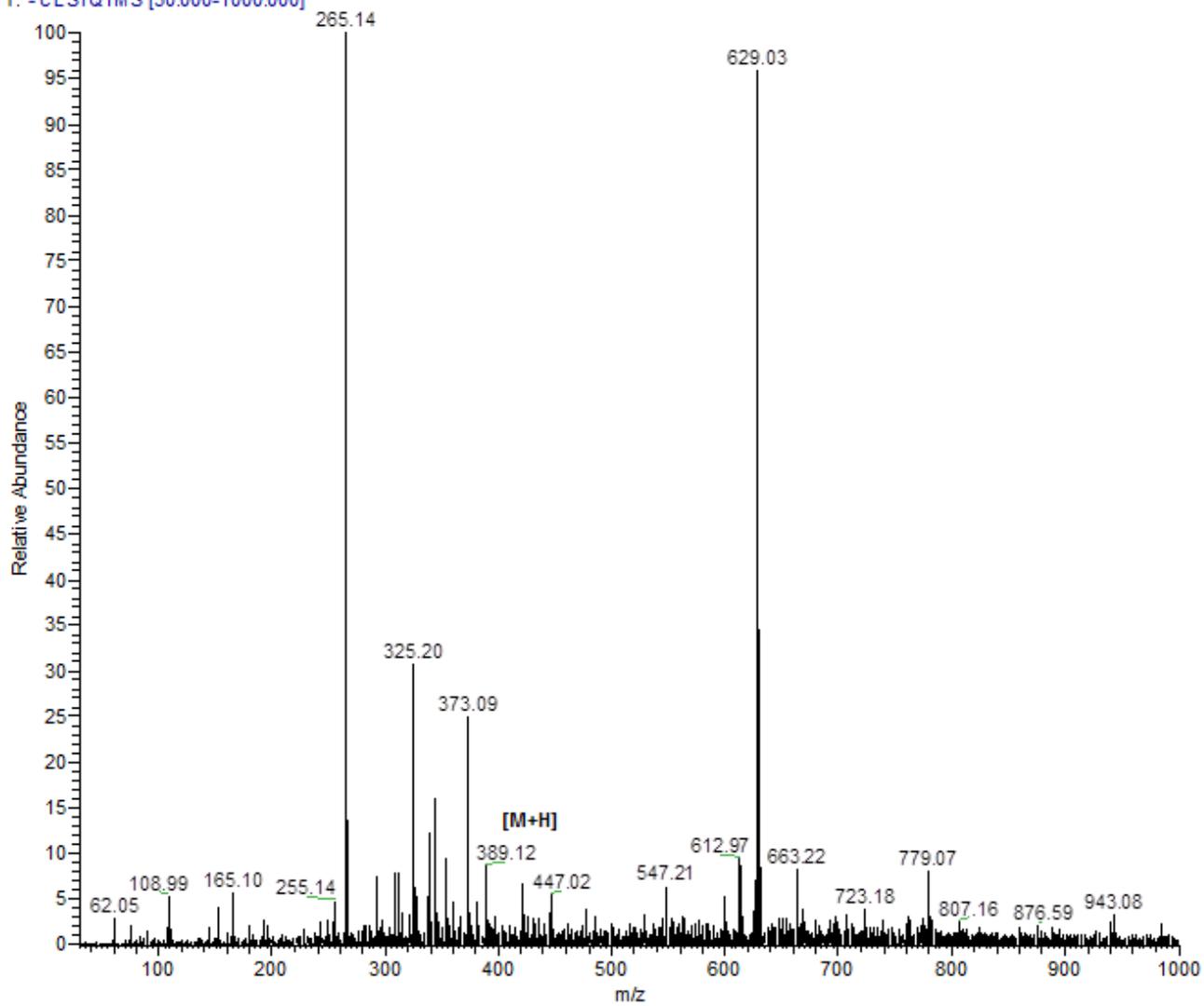


Espectro N° 3: HETCOR Vogelosido (I) (270 MHz; MeOD)



Espectro N° 4: HETCOR ampliado Vogeloso (I) (270 MHz; MeOD)

Alirica 14 #60 RT: 3.52 AV: 1 NL: 5.67E6
T: -cESI Q1MS [30.000-1000.000]



Espectro N° 5: Masas Vogeloso (I)

Tabla N° 5. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en el Vogelosido (I)

C	δ_{H} (ppm) [m; J (Hz)] Exp.^a	δ_{C} (ppm) Exp.^a	δ (ppm) ^{34,a} Vogelosido
1	5,55, d, (1,5)	97,3	98,7
3	7,62,d, (2,4)	153,2	155,2
4	-	104,0	104,4
5	3,30- 3,32,m	21,6	22,8
6	a.- 1,69,m b.- 1,91,m	28,8	28,8
7	5,28,t,(2,0)	102,0	103,3
8	5,48,t, (9,8)	131,4	133,0
9	2,66,m	42,2	43,4
10	a.- 5,26,m b.- 5,28,m	119,7	121,4
11	-	166,2	167,4
1'	4,68,d,(7,9)	99,0	100,4
2'	3,34- 3,50,m	73,2	74,7
3'	3,34- 3,50,m	76,7	78,1
4'	3,34- 3,50,m	70,2	71,4
5'	3,34- 3,50,m	61,3	62,6
1''	3,40,s	55,7	56,9

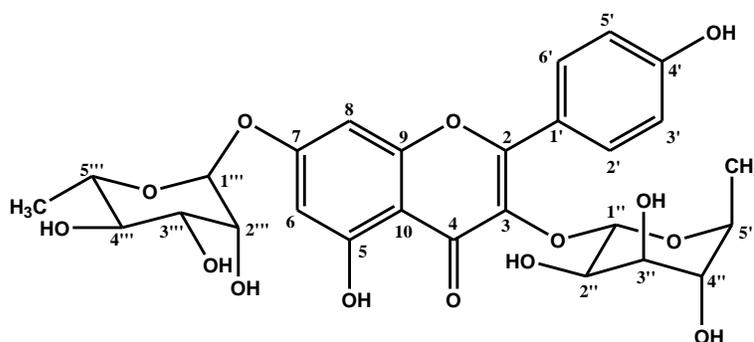
a: tomado en MeOD, 270 MHz

VII.2 Compuesto II: Kamferitrin

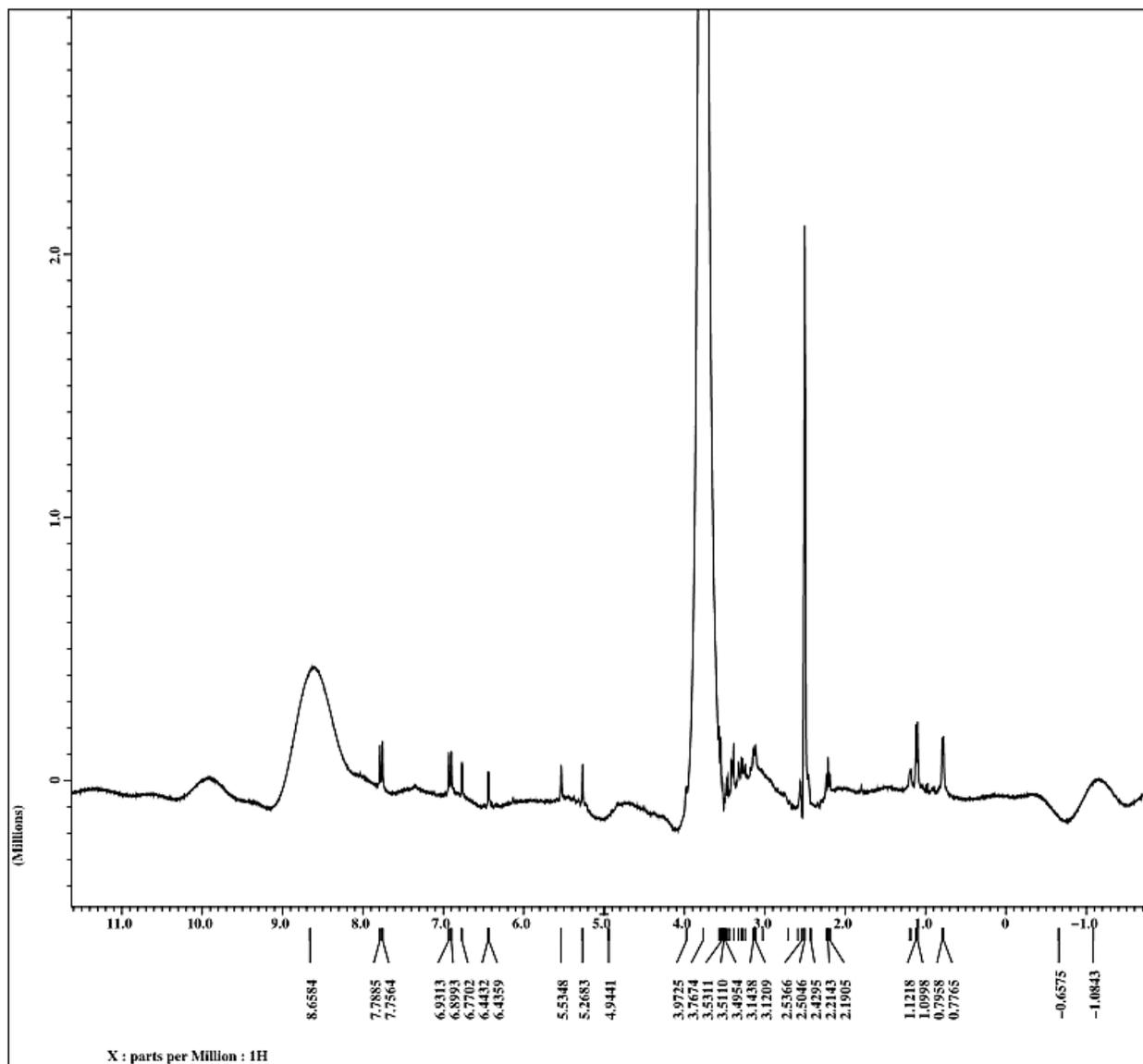
El compuesto (II), aislado de la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri*, resultó ser un sólido amarillento de peso $49,7 \pm 0,1$ mg., el cual mostro en el espectro de masas un $[M + H]$ de 579 m/z (espectro N° 10). Se disolvió en DMSO para tomar sus espectros de RMN y posteriormente debido a la falta de una buena línea de base en sus espectros, se decidió tomarlos nuevamente utilizando como solvente piridina deuterada (C_5D_5N). El espectro de RMN de 1H (espectro N° 6) mostró señales en todo el campo espectroscópico, a campo alto, se visualizaron señales a δ 0,79 (d, $J = 3H$) y 1,12 (d, $J = 3H$), los cuales sugirieron dos metilos acoplados a un metino. Un grupo de señales complejas entre 2,54- 3,49 ppm indicaron la presencia de protones glicosídicos en la estructura. Igualmente se observaron un grupo de señales en la zona aromática: a δ 7,78 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,93 (d, $J = 8,1$ Hz) señales que se corresponden a un sistema de tipo AA'BB' y a 6,77 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 6,43 (d, $J = 2$ Hz, 1H), se observan las resonancias de un sistema AB que se corresponden con dos protones que guardan una relación meta. A desplazamientos de 5,53 y 5,26 ppm se observaron dos dobletes con $J = 1,6$, que indicaron la presencia de dos protones anoméricos en la estructura analizada; estas señales conjuntamente con los dos metilos anteriormente descritos sugirieron la presencia de dos ramnosas en la estructura del flavonoide. El análisis de las señales aromáticas señaló una aglicona de tipo kamferol. El espectro de ^{13}C el cual se analizó conjuntamente con un espectro DEPT 135 mostró que la estructura poseía 27 átomos de carbonos, de ellos 9 de naturaleza cuaternaria y oxigenada, 16 metinos y dos grupos metilo. Este análisis conjuntamente con datos aportados por el espectro de masas, nos permitieron proponer una formula molecular de $C_{27}H_{30}O_{14}$. Los experimentos en dos dimensiones HETCOR y FLOCK nos permitieron ubicar los protones correspondientes a cada carbono, así como correlaciones a dos y tres enlaces. Toda la data que teníamos nos sugería la estructura de kamferol sustituido en las posiciones 3 y 7 con grupos ramnosas. La búsqueda en la literatura de estructuras que cumplieran con nuestra data, señalaron que el compuesto analizado corresponde al

kamferol-3,7-O-(α)-diramnosido (II) , también conocido como kamferitrin, reportado anteriormente en plantas como *Bauhinia forticata*^[35] y *Uncaria guainensis*^[36], el cual se informa por primera vez en una especie *Strychnos*.

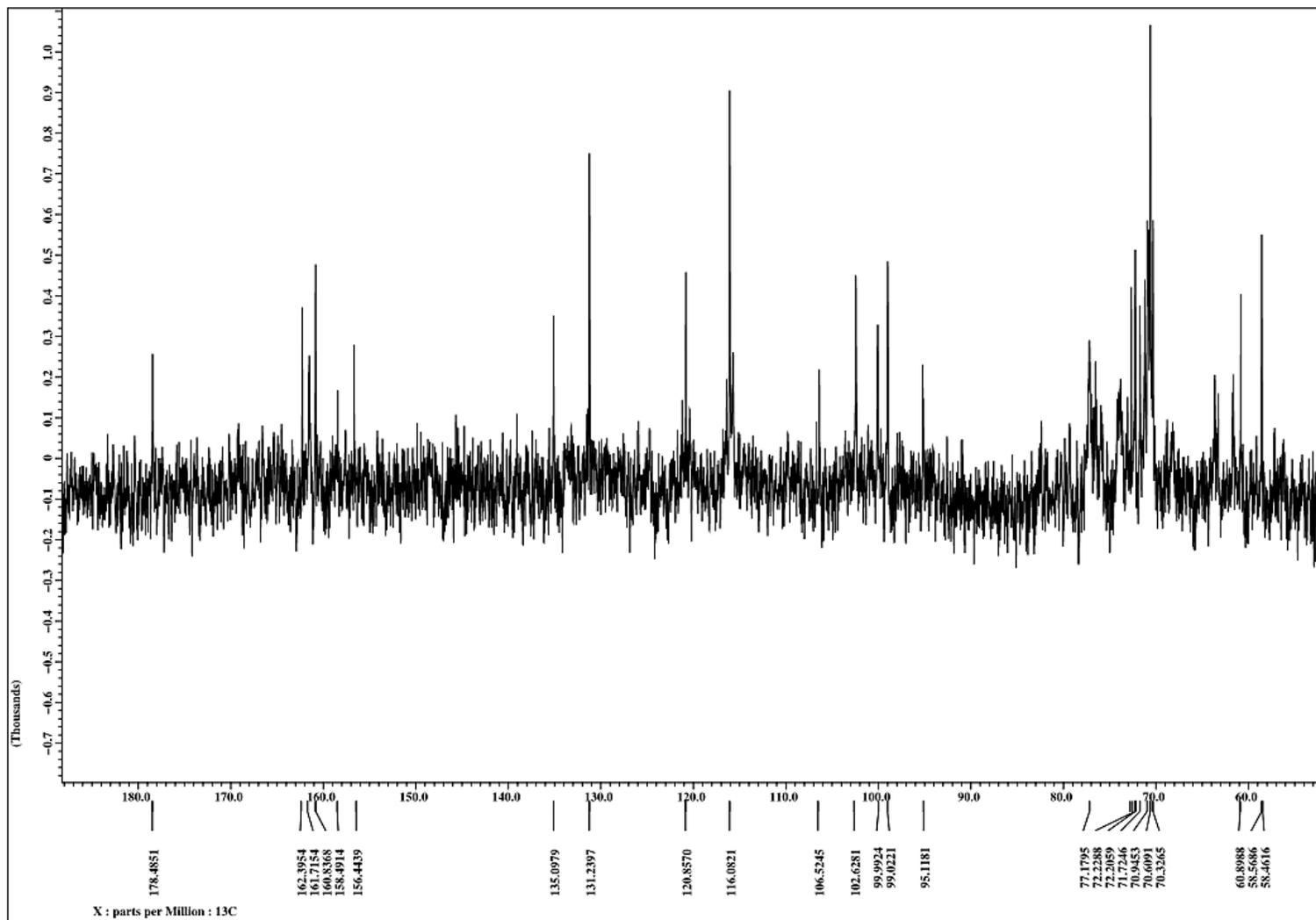
Los datos espectroscópicos fueron comparados con los datos reportados en la literatura de productos naturales (espectros N° 11-12; tabla N°6).



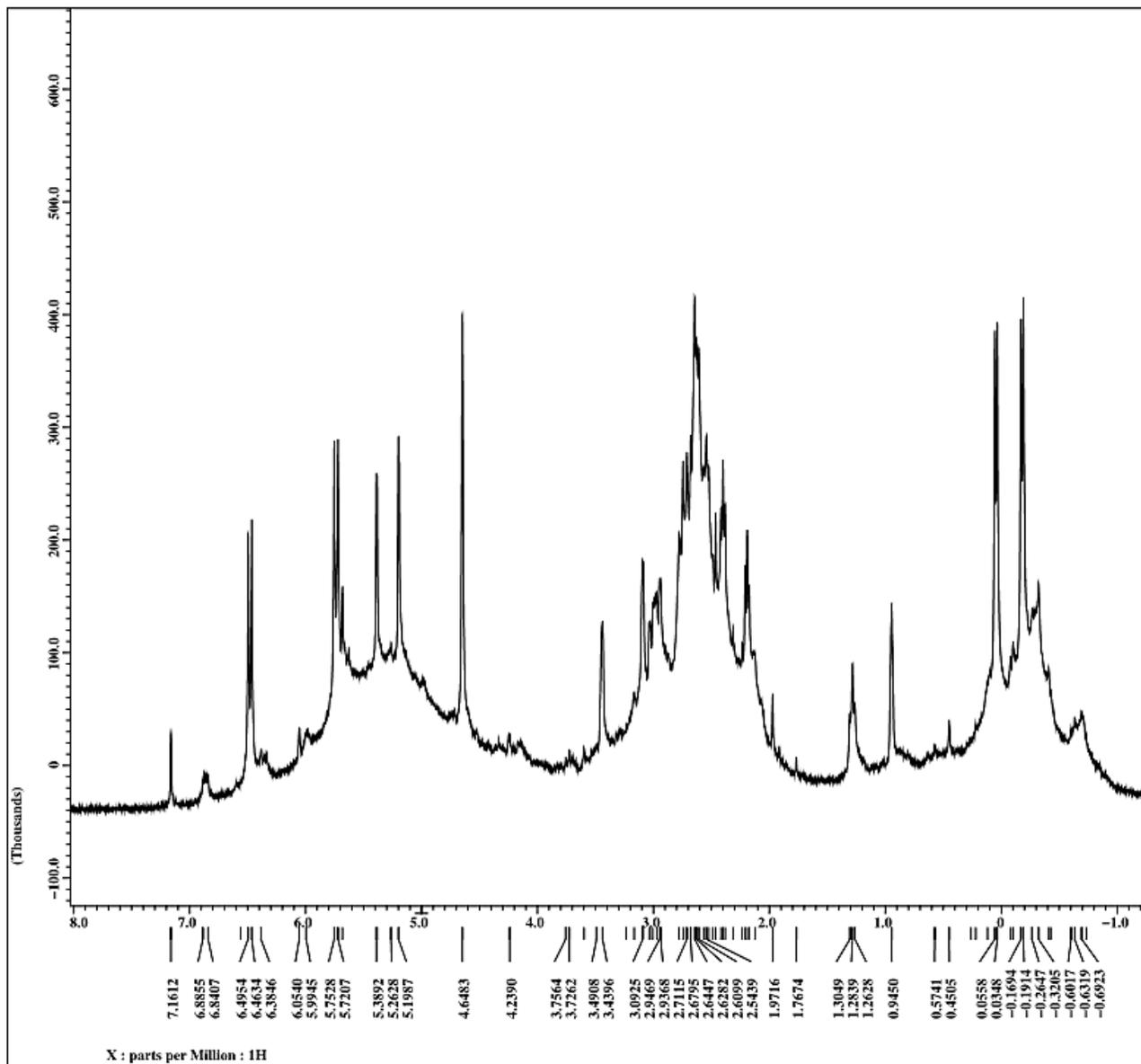
Kamferitrin (II)



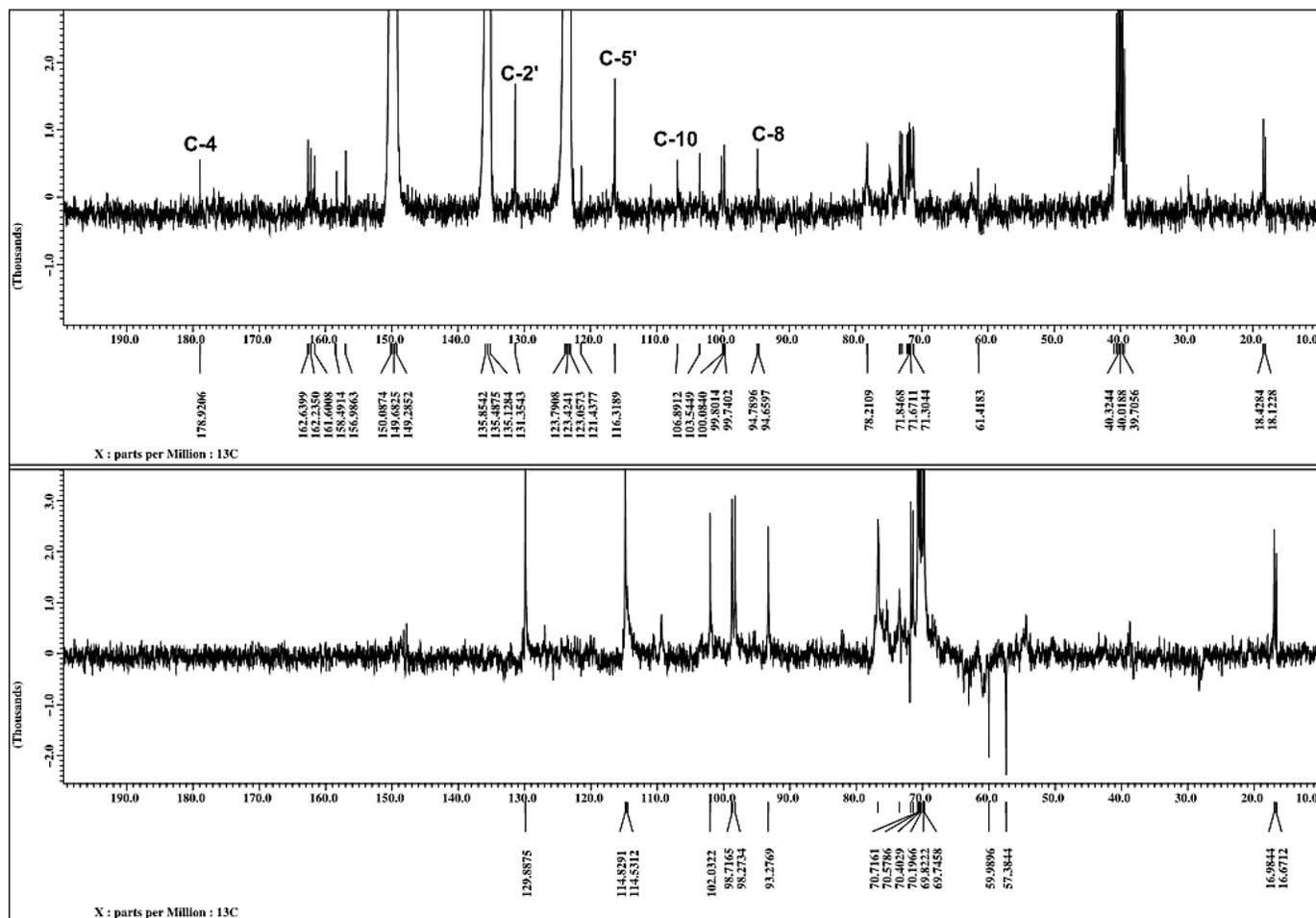
Espectro N° 6: RMN ¹H Kamferitrin (II) (270 MHz; DMSO)



Espectro N° 7: RMN ¹³C Kamferitrin (II) (270 MHz; DMSO)

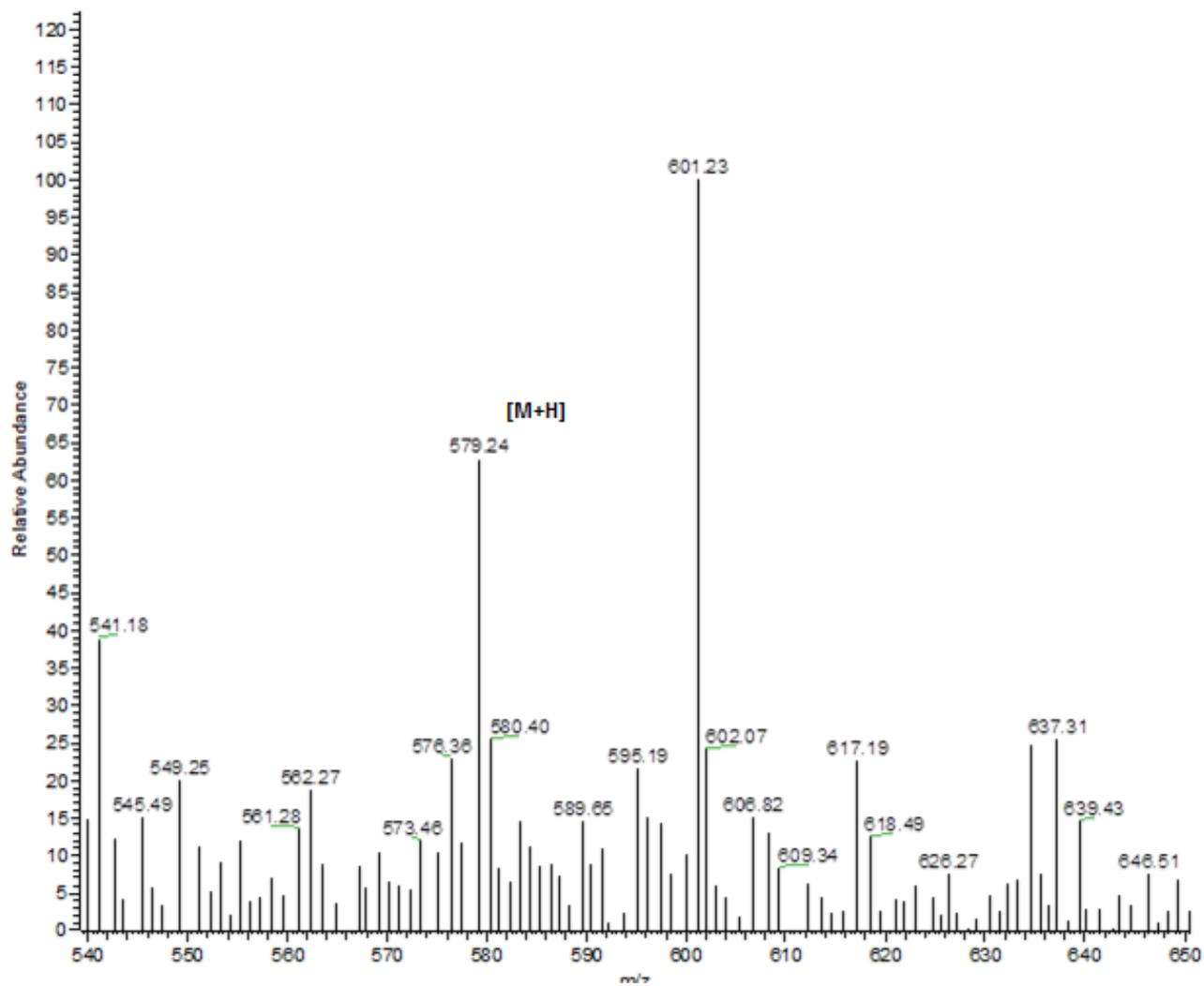


Espectro N° 8: RMN ¹H Kamferitrin (II) (270 MHz; C₅D₅N)

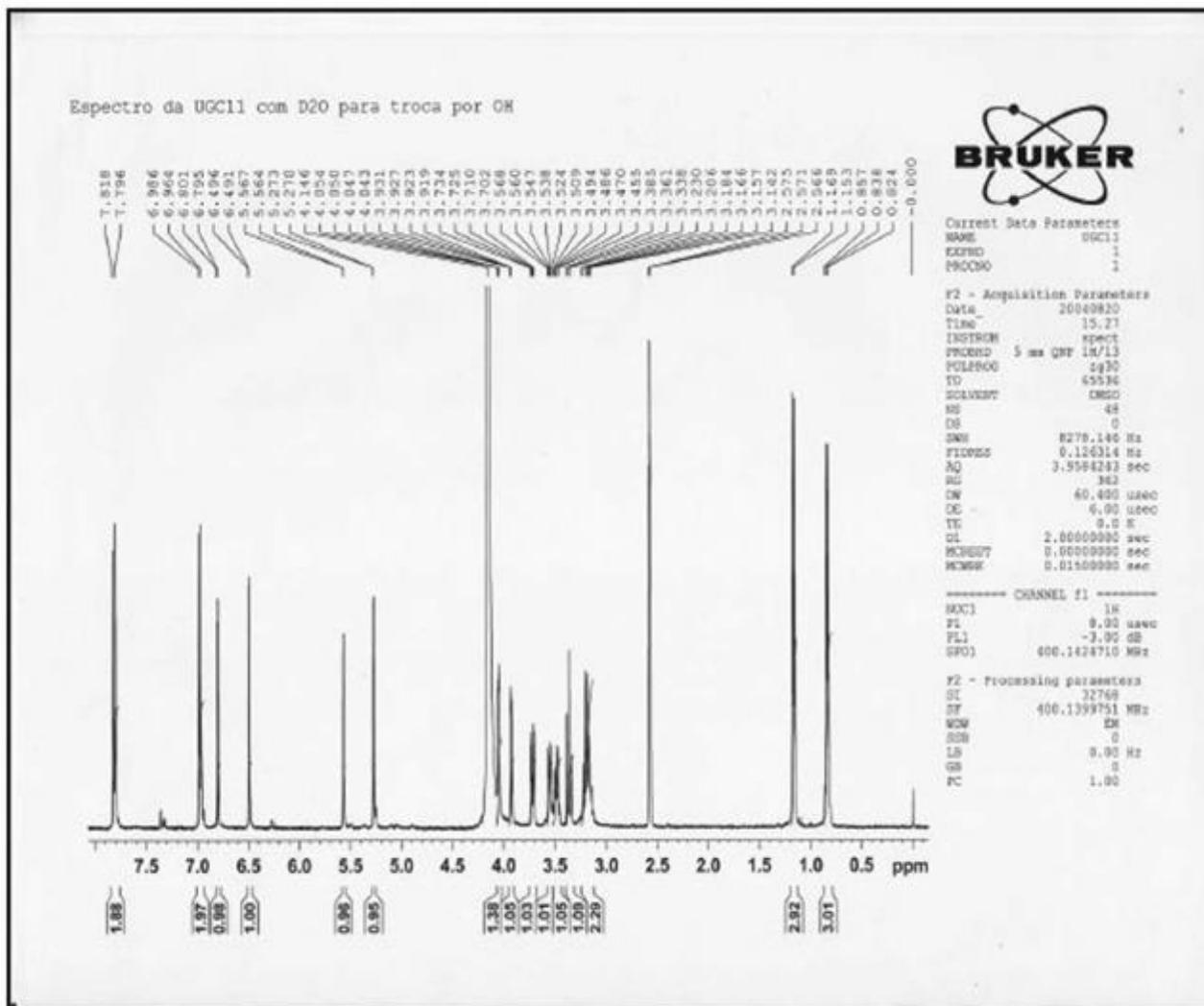


Espectro N° 9: RMN ^{13}C y DEPT 135 Kamferitrin (II) (270 MHz; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

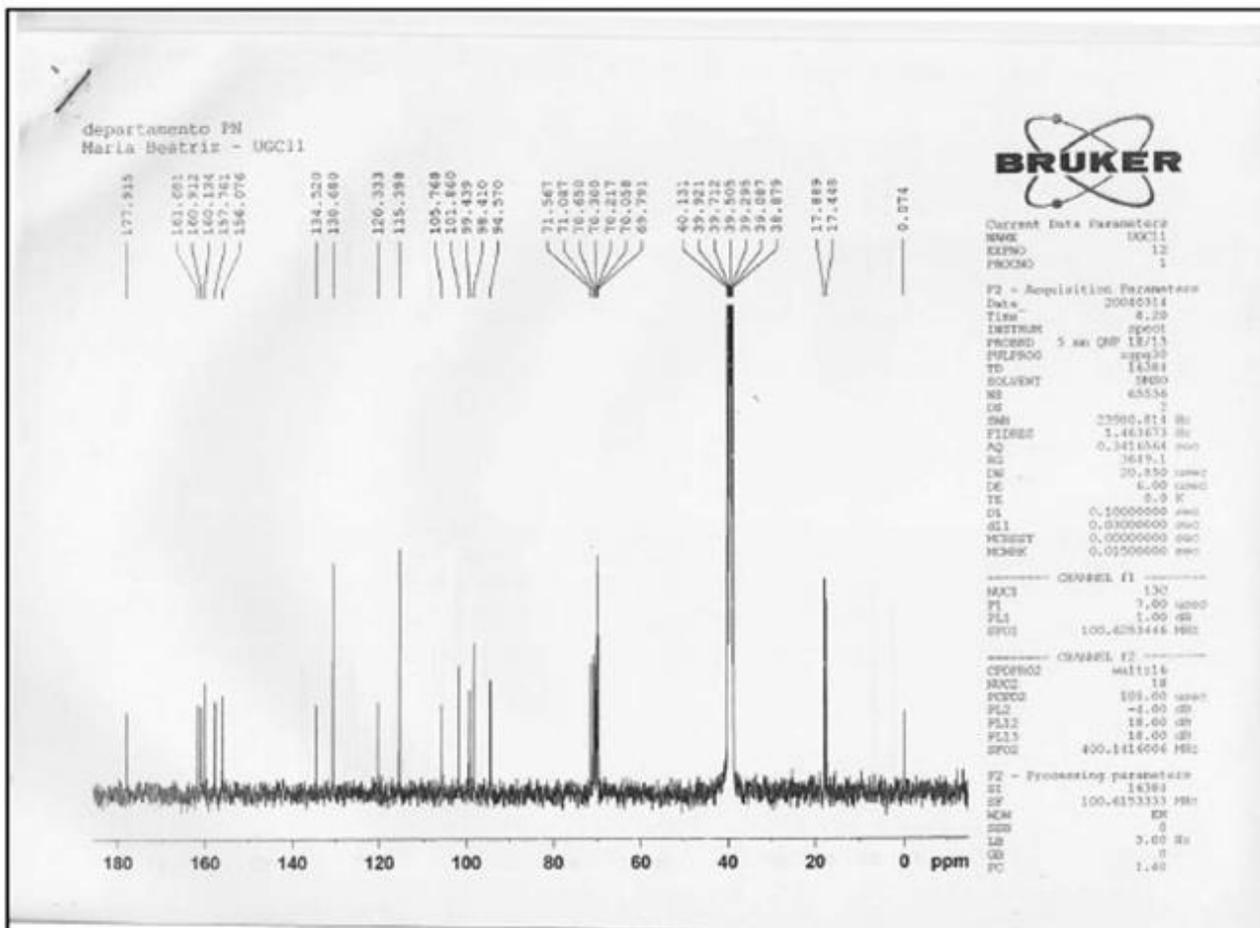
Alirica1#233 RT: 10.29 AV: 1 NL: 2.19E5
T: +c ESIQ1MS [100.000-1500.000]



Espectro N° 10: Masas Kamferitrin (II)



Espectro N° 11: RMN ^1H Kamferitrin (II) (400 MHz; DMSO) (Tomado de Kamferitrin from *Ucaria guianensis* (Rubiaceae) and its Potential as a Chemical Marker for the Species)^[36]



Espectro N° 12: RMN ^{13}C Kamferitrin (II) (100 MHz; DMSO) (Tomado de Kaempferitrin from *Ucaria guianensis* (Rubiaceae) and its Potential as a Chemical Marker for the Species)^[36]

Tabla N° 6. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en el Kamferitrin (II)

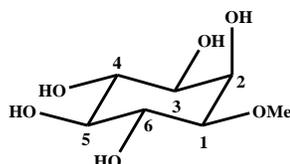
C	δ_{H} (ppm) [m; J (Hz)] Exp.^a	δ_{C} (ppm) Exp.^a	δ_{C} (ppm) ^{35, b} Kamferitrin
2	-	158,5	157,7
3	-	134,6	134,6
4	-	178,4	177,9
5	-	161,3	160,9
6	6,75,d,(2,4)	100,0	99,4
7	-	162,1	161,7
8	6,94,d,(2,0)	94,7	94,6
9	-	156,6	156,1
10	-	106,3	105,8
1'	-	120,5	120,4
2'	7,79,d,(8,8)	131,2	130,7
3'	6,94,d,(8,8)	116,1	115,4
4'	-	161,5	160,1
5'	6,94,d,(8,8)	116,1	115,4
6'	7,79,d,(8,8)	131,2	130,7
1''	5,31,s	102,4	101,9
2''	3,34- 3,79,m	70,7	70,4
3''	3,34- 3,79,m	70,8	70,6
4''	3,34- 3,79,m	72,7	72,4
5''	3,34- 3,79,m	70,2	70,1
6''	0,81,d,(5,6)	17,9	17,5
1'''	5,56,s	98,8	98,5
2'''	3,82,m	70,7	70,3
3'''	3,34- 3,79,m	70,2	69,8
4'''	3,32,m	72,2	71,6
5'''	3,34- 3,79,m	70,5	70,1
6'''	1,13,d,(6,4)	18,4	17,9

a: tomado en DMSO, 270 MHz; b: tomado en DMSO, 600 MHz

VII.3 Compuesto III: D-1-metilmyoinositol

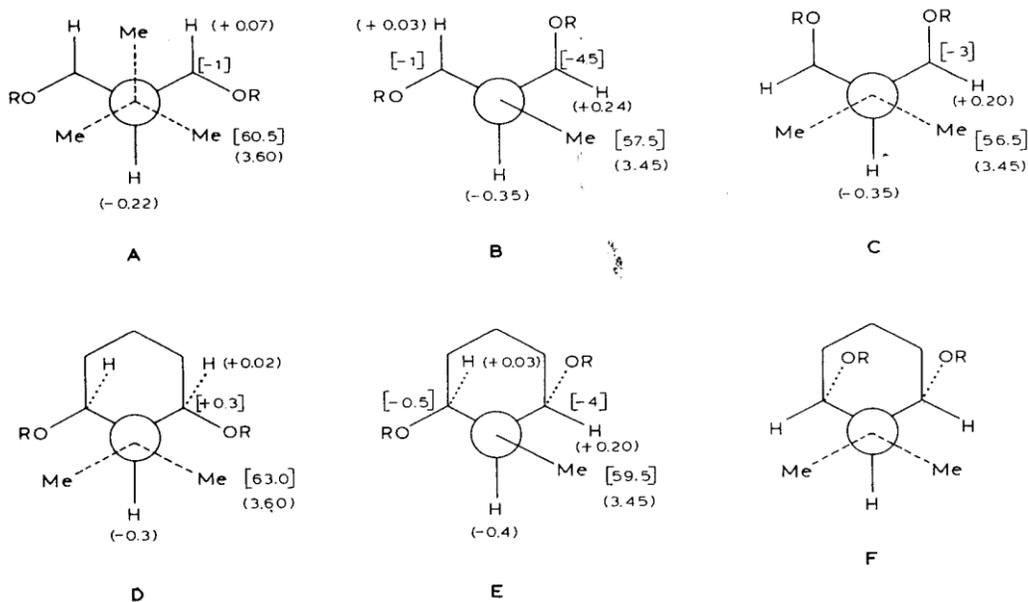
El compuesto III fue identificado como D-1-metilmyoinositol. Fue aislado de la fracción acuosa de las hojas de *Strychnos fendleri*, con un aspecto físico tipo “miel” con un peso $606,6 \pm 0,1$ mg. Se disolvió en metanol deuterado (MeOD) para tomar sus espectros de RMN y posteriormente debido a la falta de una buena línea de base en sus espectros, se decidió tomarlos nuevamente utilizando como solvente piridina deuterada (C_5D_5N). Su espectro de RMN de protones (espectro N° 15), mostro señales típicas de carbohidratos entre 1,98 y 3,11 ppm y un triplete a 3,11 ppm, el resto eran señales anchas y complejas. Los espectros de RMN de carbono trece y DEPT (espectro N° 16), señalaron que la estructura analizada estaba constituida por 7 átomos de carbono, seis de ellos metino tipo oxigenado y a 55,9 ppm se observaba una señal posiblemente de un grupo metoxi. Se tomó un espectro de masas el cual arrojó un ión molecular m/z de 217,13 $[M+Na]^+$ (espectro N° 17). Igualmente fue observado en el espectro de masas un ion m/z 195 $[M+H]$. Con este dato y el RMN ^{13}C se estableció una fórmula molecular de $C_7H_{14}O_6$. Se consideró la estructura de un poliol cíclico tipo inositol. La posición del grupo O-metilo no fue fácil de determinar por cuanto la molécula tiene seis centros estereogénicos y nueve estereoisómeros y aun cuando todos han sido reportados en la literatura ^[37,38,39] es muy difícil determinar espectroscópicamente e inequívocamente la estructura de ellos. Como primer paso se compararon los desplazamientos químicos obtenidos tanto en piridina como metanol deuterado, llegándose a la conclusión que dichos desplazamientos no parecían depender del solvente, para la determinación de la posición del grupo metoxi se procedió a comparar el desplazamiento del mismo con la figura N° 4, llegándose a pensar que podría tratarse del compuesto C, sin embargo al comparar nuestra data espectroscópica con datos reportados en la literatura, especialmente los aislados de plantas, consideramos que nuestros datos se asemejan más al D-1-metilmyoinositol (tabla N° 7). Experimentos de derivatización y RMN avanzados se tiene previsto realizar a futuro con este compuesto para determinar con certeza la posición del grupo metilo. Por las razones antes expuestas proponemos que la estructura del compuesto (II) es la de D-1-

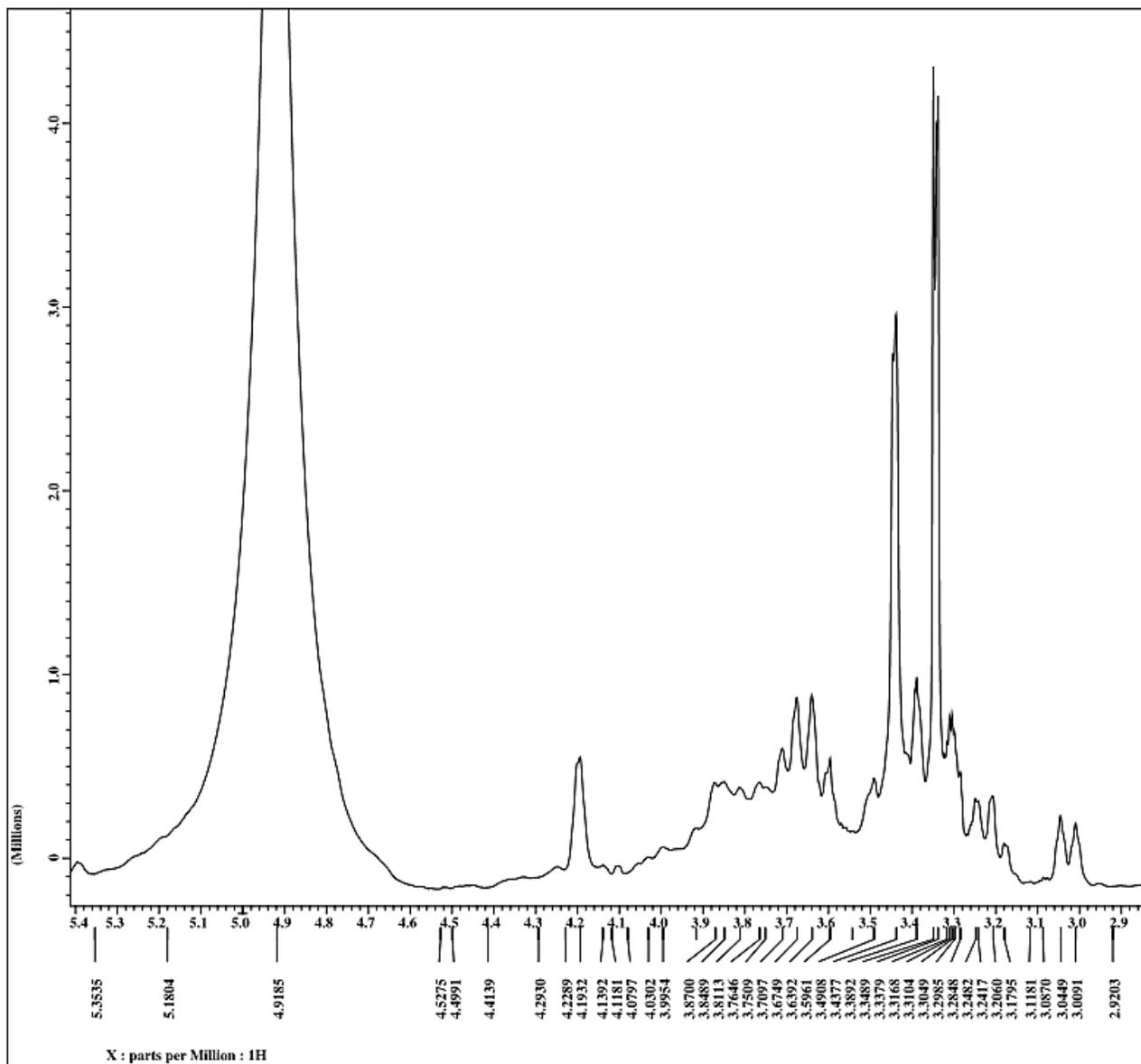
metilmyoinositol. Recientemente este compuesto también fue reportado con Boonein (IV) de la especie *Aspidosperma ulei*^[40] de la cual también se han reportado alcaloides indólicos.



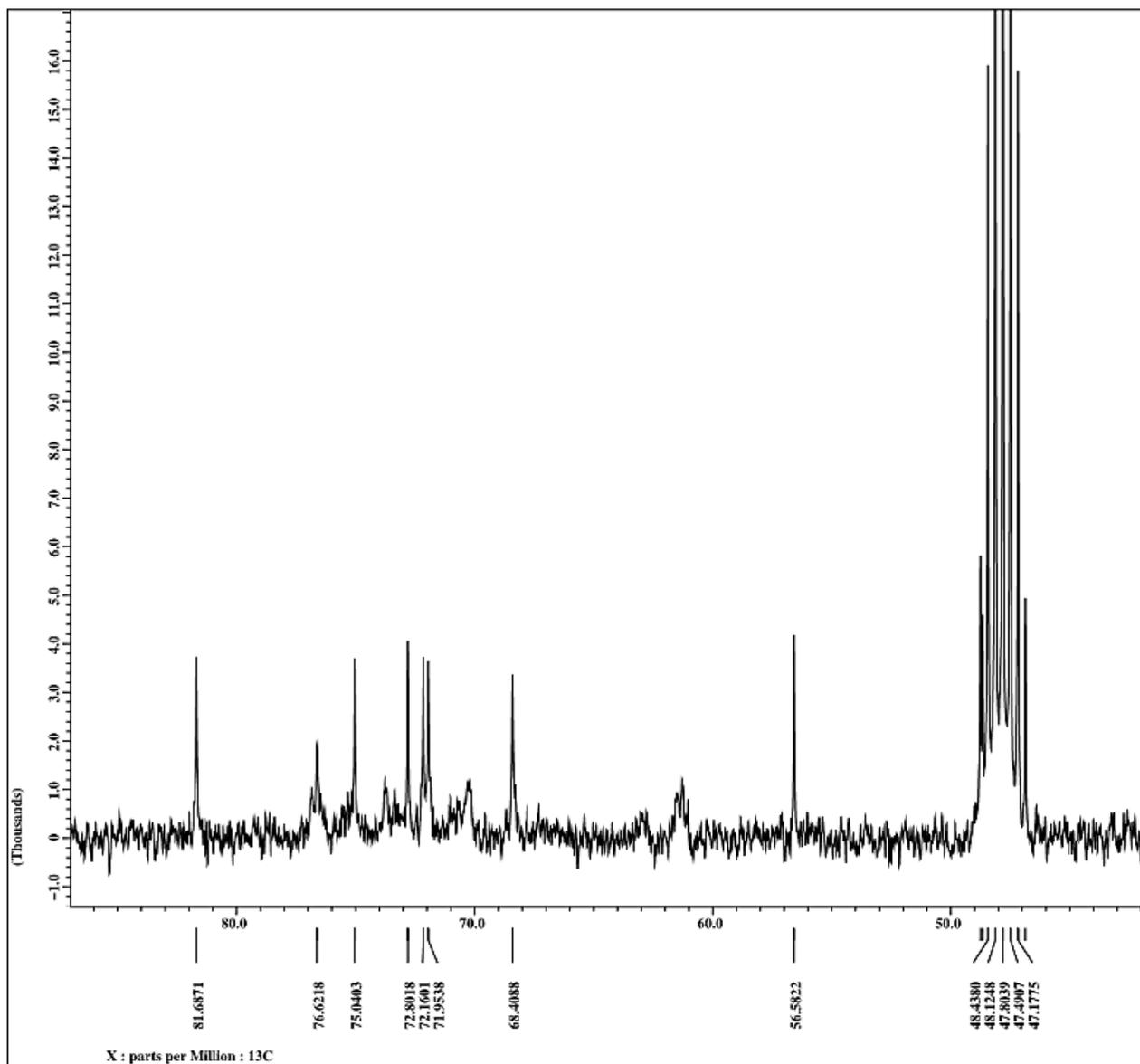
D-1-metilmyoinositol (III)

Figura N°4: Posibles rearrreglos estéricos del grupo metoxi con dos grupos hidroxilo adyacentes, visto desde el átomo de oxígeno del grupo metóxi a lo largo de su enlace con el átomo de carbono del anillo. Los efectos de la O-metilación se encuentran indicadas en paréntesis para la señales ^1H y en corchete para las señales ^{13}C .^[38]

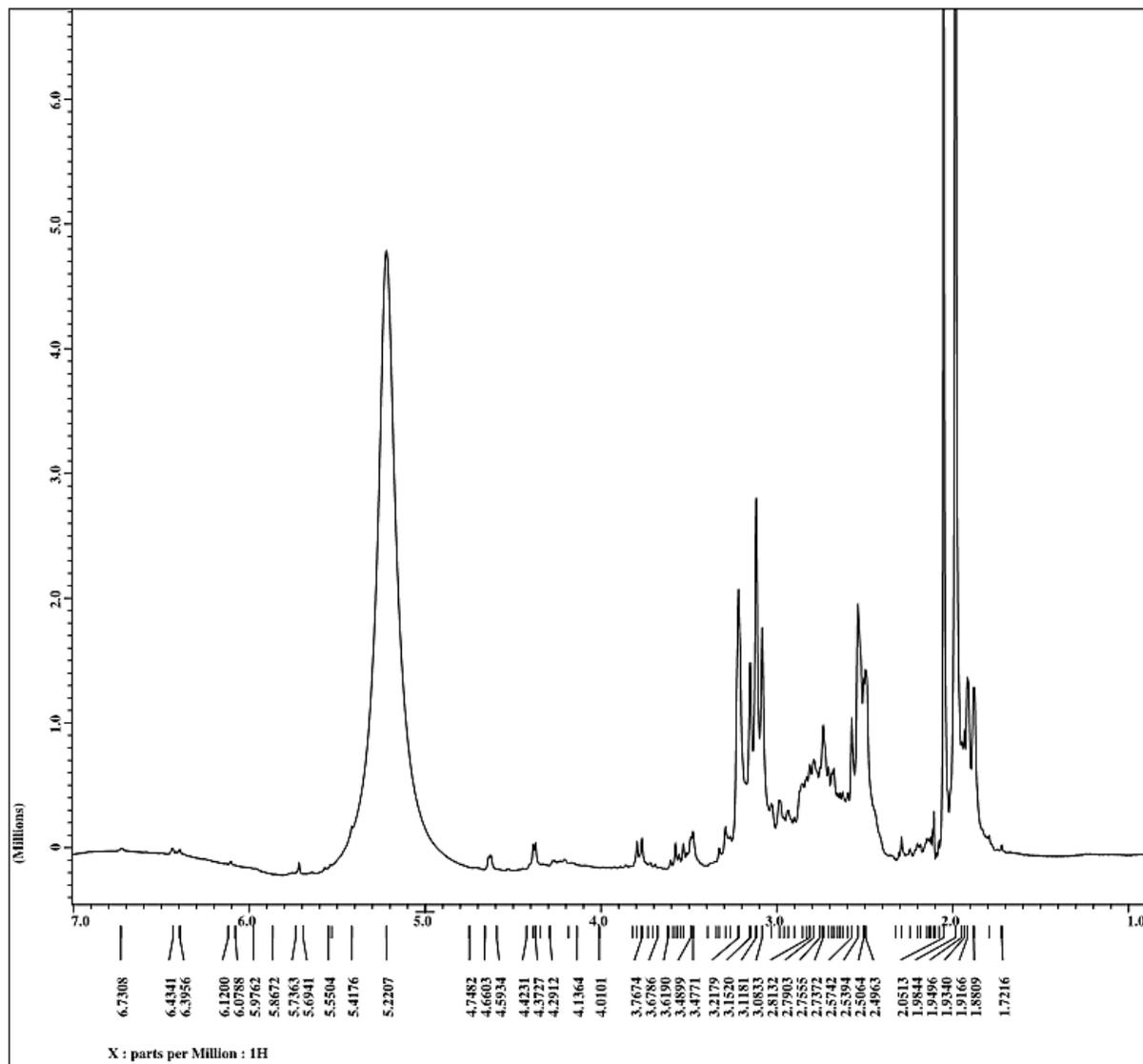




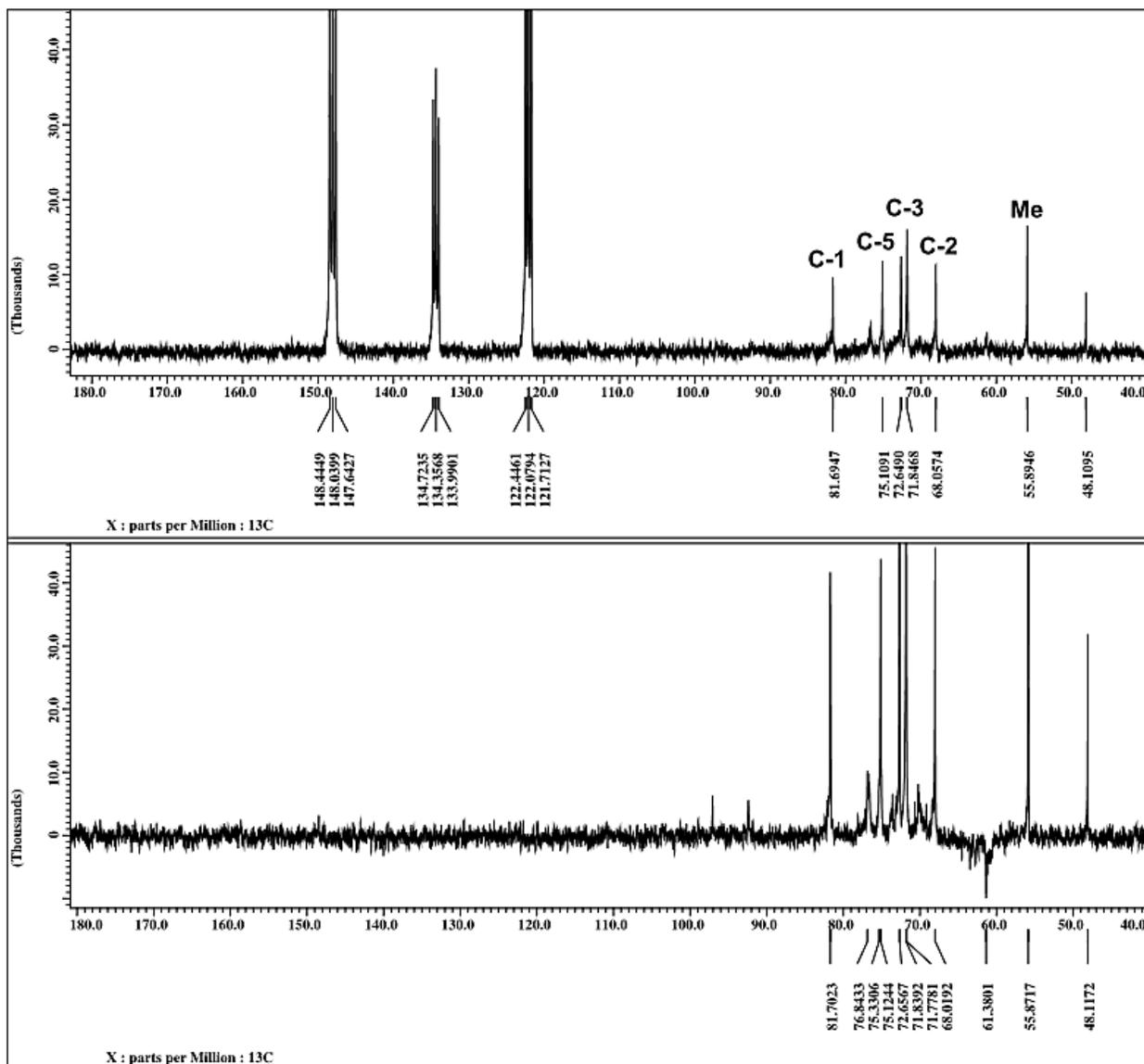
Espectro N° 13: RMN ^1H D-1-metilmyoinositol (III) (270 MHz; MeOD)



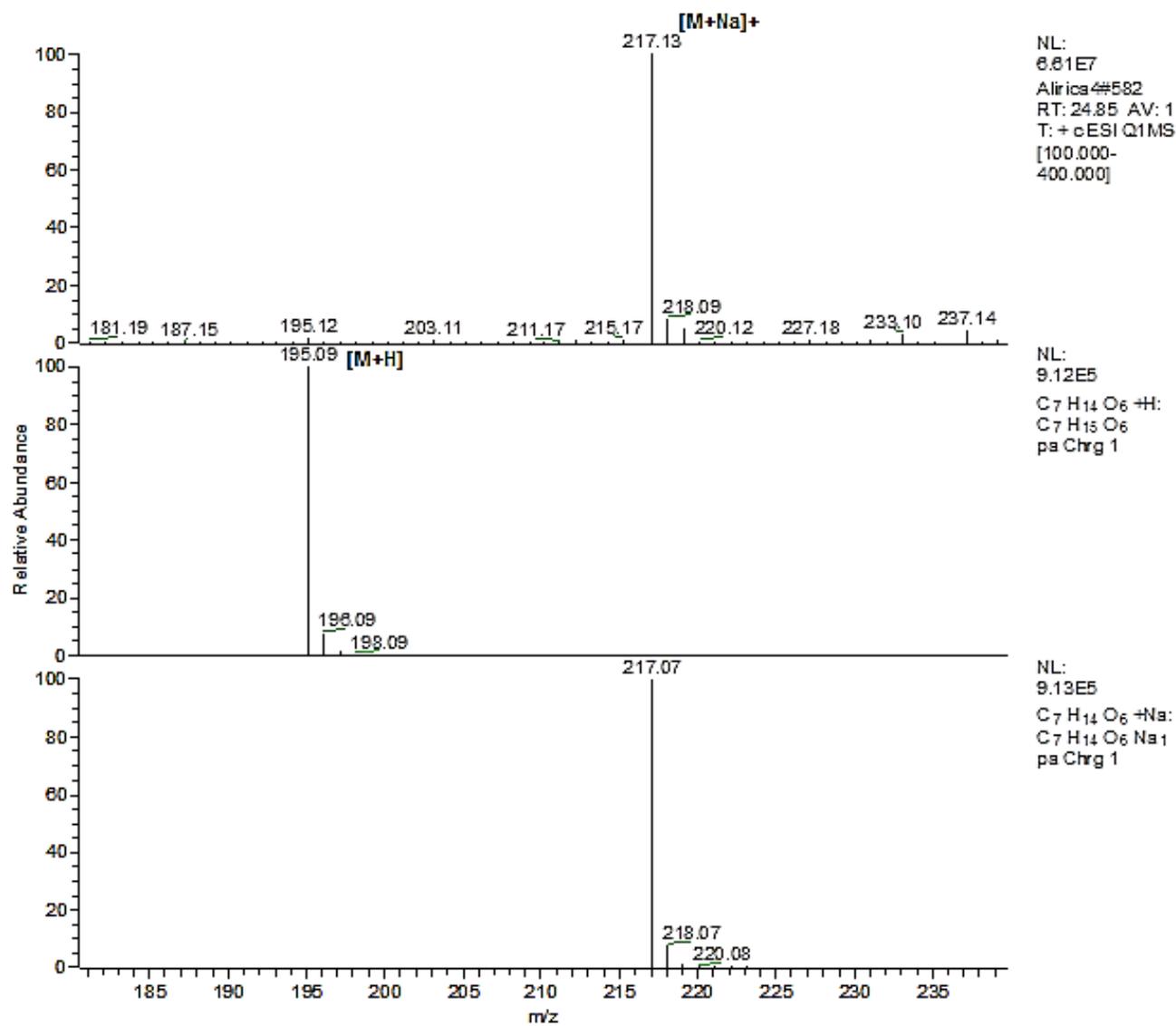
Espectro N° 14: RMN ^{13}C D-1-metilmyoinositol (III) (270 MHz; MeOD)



Espectro N° 15: RMN ^1H D-1-metilmyoinositol (III) (270 MHz; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



Espectro N° 16: RMN ^{13}C y DEPT 135 D-1-metilmyoinositol (III) (270 MHz; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



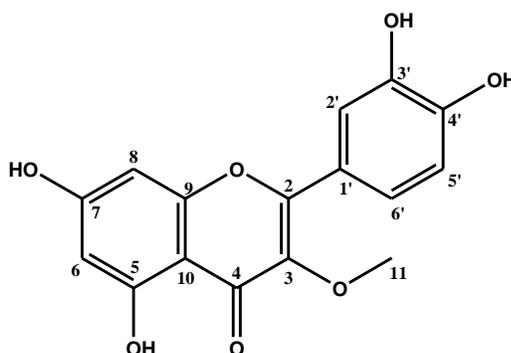
Espectro N° 17: masas D-1-metilmyoinositol (III)

Tabla Nº 7. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^{13}C a los átomos de C presentes en los compuestos tipo Inositol.^[38]

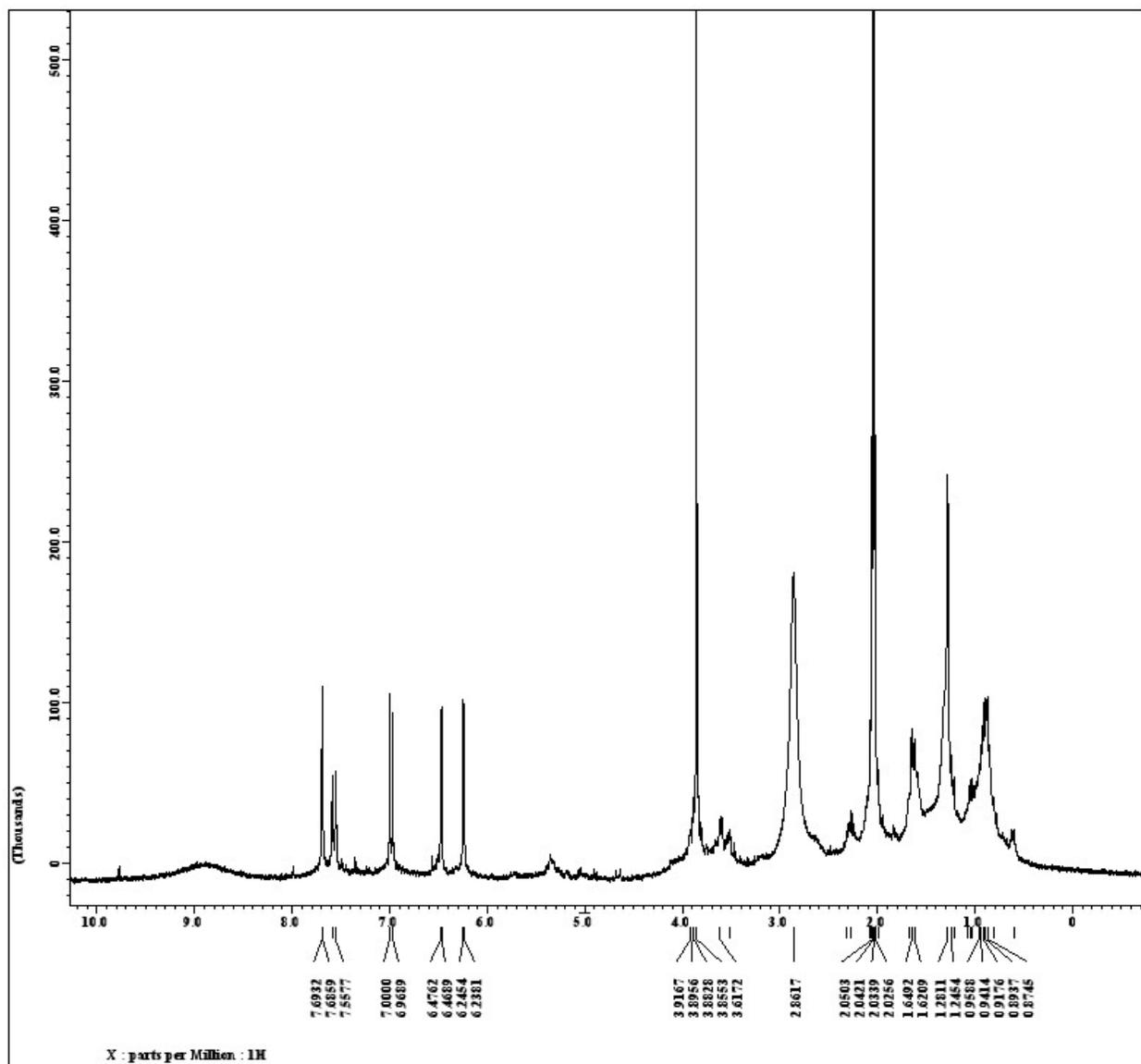
Inositol	Typo	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	Me
O-metil- <i>scyllo</i> -	A	84,2	73,7	74,3	74,3	74,3	73,7	60,6
D-1-O-metil- <i>myo</i> -	B	81,3	68,4	71,8	73,1	75,2	72,4	57,5
2-O-metil- <i>myo</i> -	D	72,4	83,6	72,4	73,5	75,2	73,5	63,0
D-1-O-metil- <i>chiro</i> -	E	82,4	71,0	73,9	73,4	71,4	68,9	59,4
L-2-O-metil- <i>chiro</i> -	B	68,2	81,1	72,9	73,8	71,4	72,3	57,8
D-3-O-metil- <i>chiro</i>	A	72,3	70,7	83,5	72,9	71,4	72,5	60,5
3-O-metil- <i>epi</i> -	C	72,6	72,6	76,4	72,6	72,6	71,1	56,7
Experimental	--	81,7	68,1	71,8	72,6	75,1	71,9	55,9

VII.4 Compuesto IV: 3-metoxi-quercetina

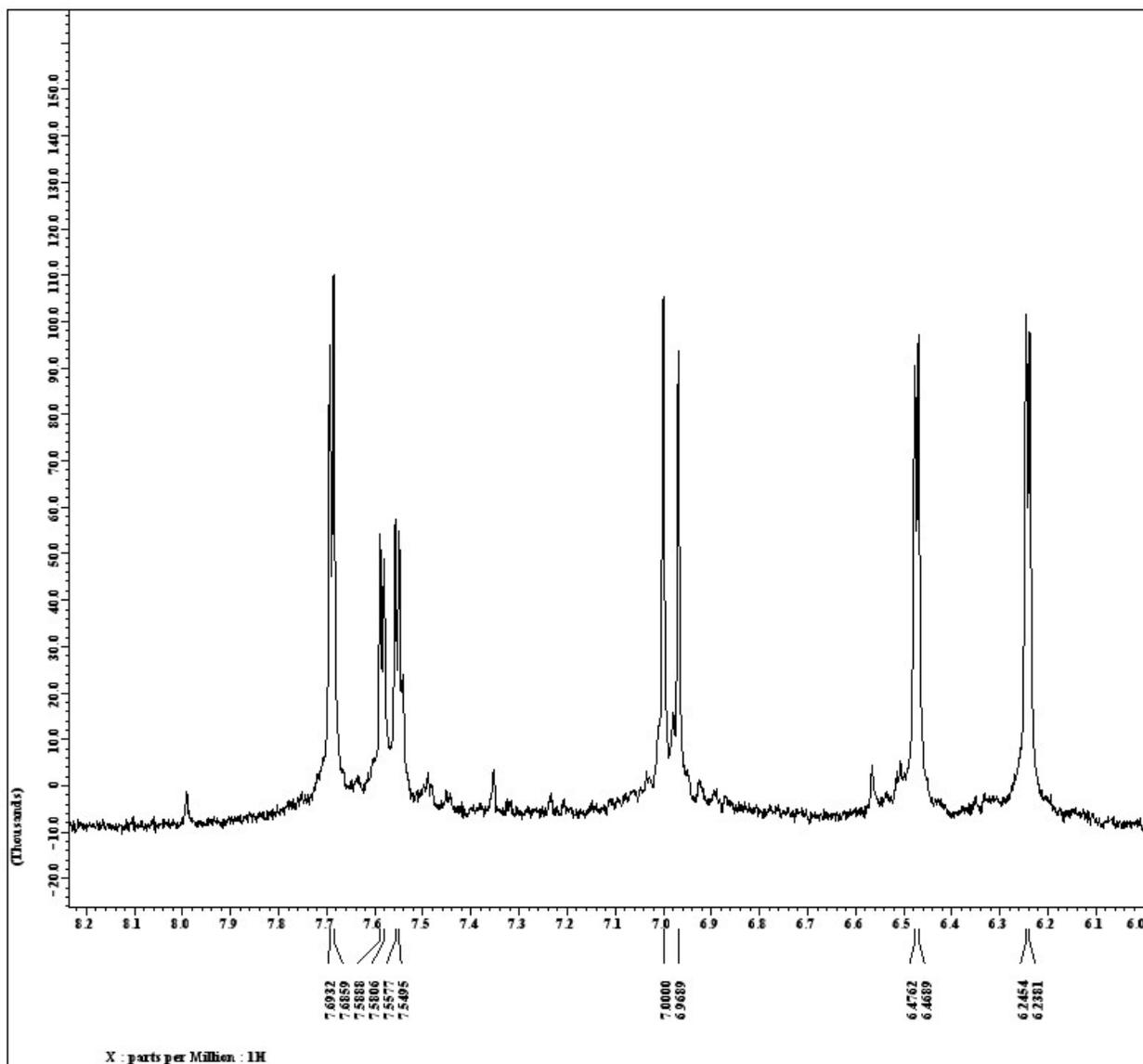
Este compuesto fue aislado de la fracción hexano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* como un polvo amarillo de pf: 139- 141 °C, peso 32,3 ± 0,1 mg. Los espectros de ^1H , ^{13}C y DEPT, sugirieron un esqueleto de tipo flavonoide. El análisis del espectro de RMN de protones (espectro N° 18-19), indicó un patrón 5,7 dihidroxilado para el anillo A, ya que muestra dos protones acoplados en meta con dobletes a δ 6,24 y δ 6,46, $J = 1,97$ Hz y un patrón para el anillo B de tipo 3', 4'-dihidroxilado, ya que muestra un sistema de tipo ABX con señales a δ 6,97, d, $J = 8,4$ Hz; δ 7,58, dd, $J = 6,3, 2,21$ Hz; δ 7,69, d, $J = 2,2$ Hz. Estos datos permitieron reconocer un flavonoide de tipo quercetina. El espectro de RMN ^1H y ^{13}C señalaron igualmente la presencia de un grupo metoxi en la estructura a δ_{H} 3,88; δ_{C} 59,34. Los datos espectroscópicos y físicos se compararon con datos de la literatura, los cuales permitieron la identificación del compuesto (IV) como el flavonoide 3-metoxi-quercetina (tabla N° 8)



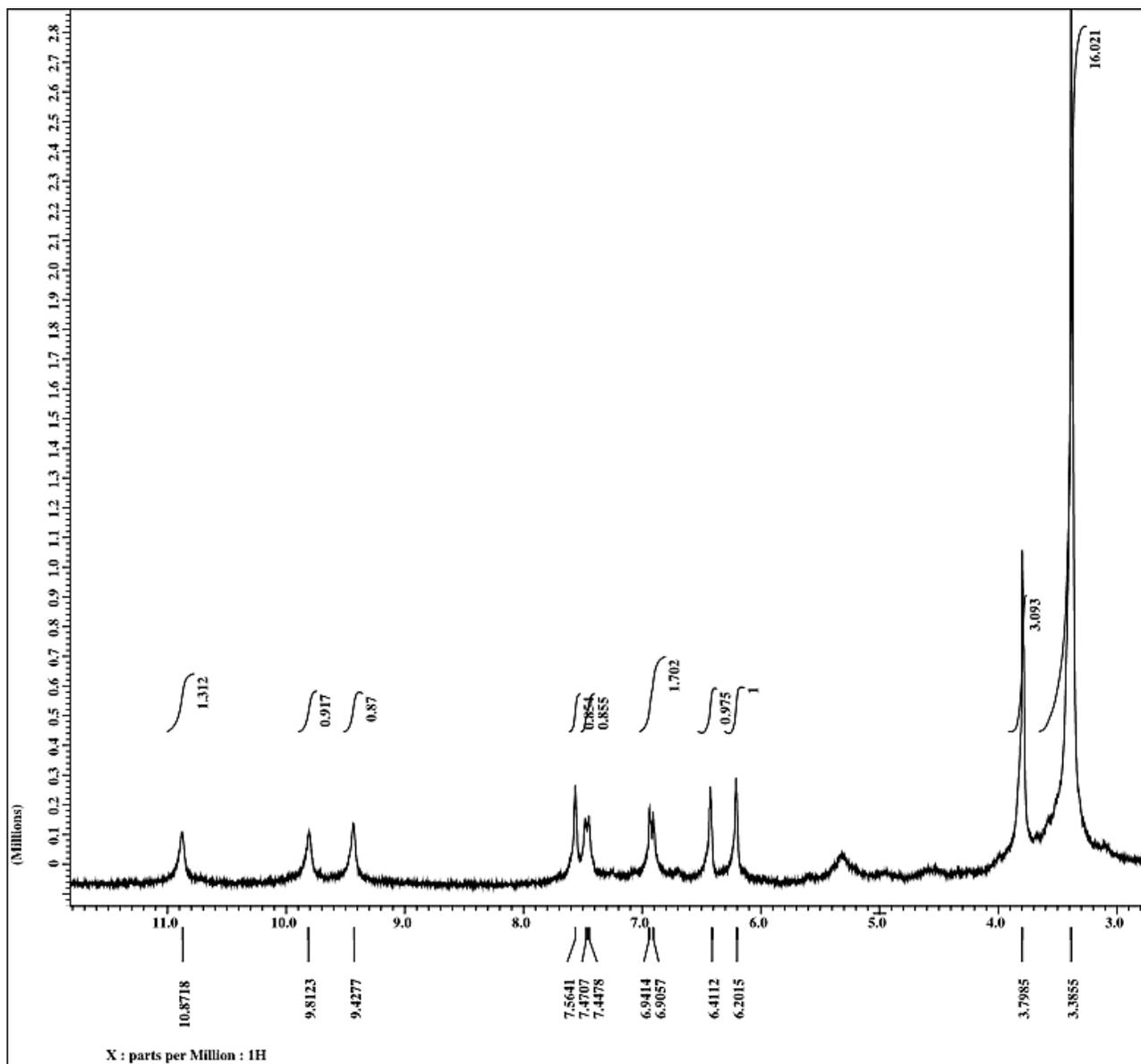
3-metoxi-quercetina (IV)



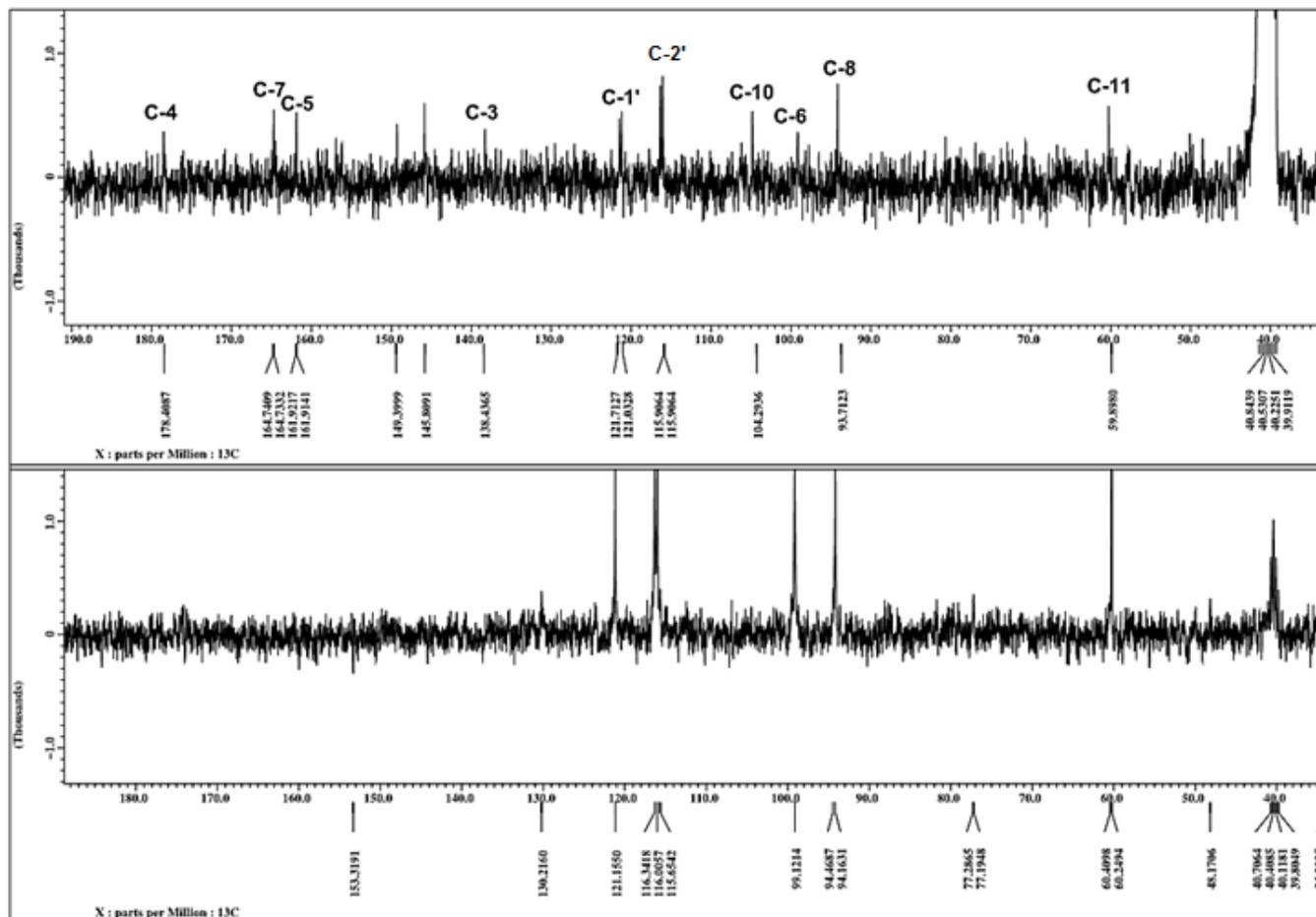
Espectro N° 18: RMN ^1H 3-metoxi-querçetina (IV) (270 MHz; $\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$)



Espectro N° 19: RMN ¹H ampliado 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; C₃D₆O)



Espectro N° 20: RMN ^1H 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; DMSO)



Espectro N° 21: RMN ^{13}C -DEPT 135 3-metoxi-quercetina (IV) (270 MHz; DMSO)

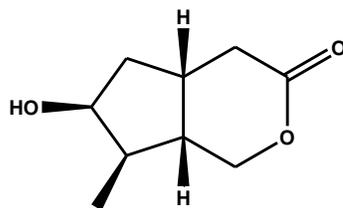
Tabla N° 8. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en 3-metoxi-quercetina (IV)

C	δ_{H} (ppm) [m; J (Hz)] Exp.^a	δ_{C} (ppm) Exp.^a	δ_{C} (ppm)^{a, 41} 3-metoxi- quercetina
2	-	149,3	147,6
3	-	138,4	135,6
4	-	178,5	176
5	-	161,9	160,7
6	6,19,s	98,7	98,2
7	-	164,7	163,9
8	6,40,s	94,2	93,4
9	-	156,9	156,2
10	-	104,7	103,0
11	3,79,s	60,3	56,1
1'	-	121,5	122,0
2'	7,54,s	116,0	115,3
3'	-	145,8	145,0
4'	-	156,2	146,9
5'	6,92,d,(8,5)	116,3	115,6
6'	7,44,dd,(2,1;8,5)	121,1	120,0

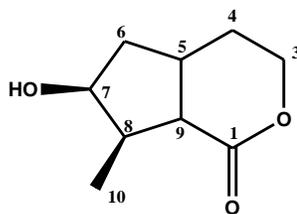
a: tomado en DMSO, 270 MHz

VII.5 Compuesto V: Boonein

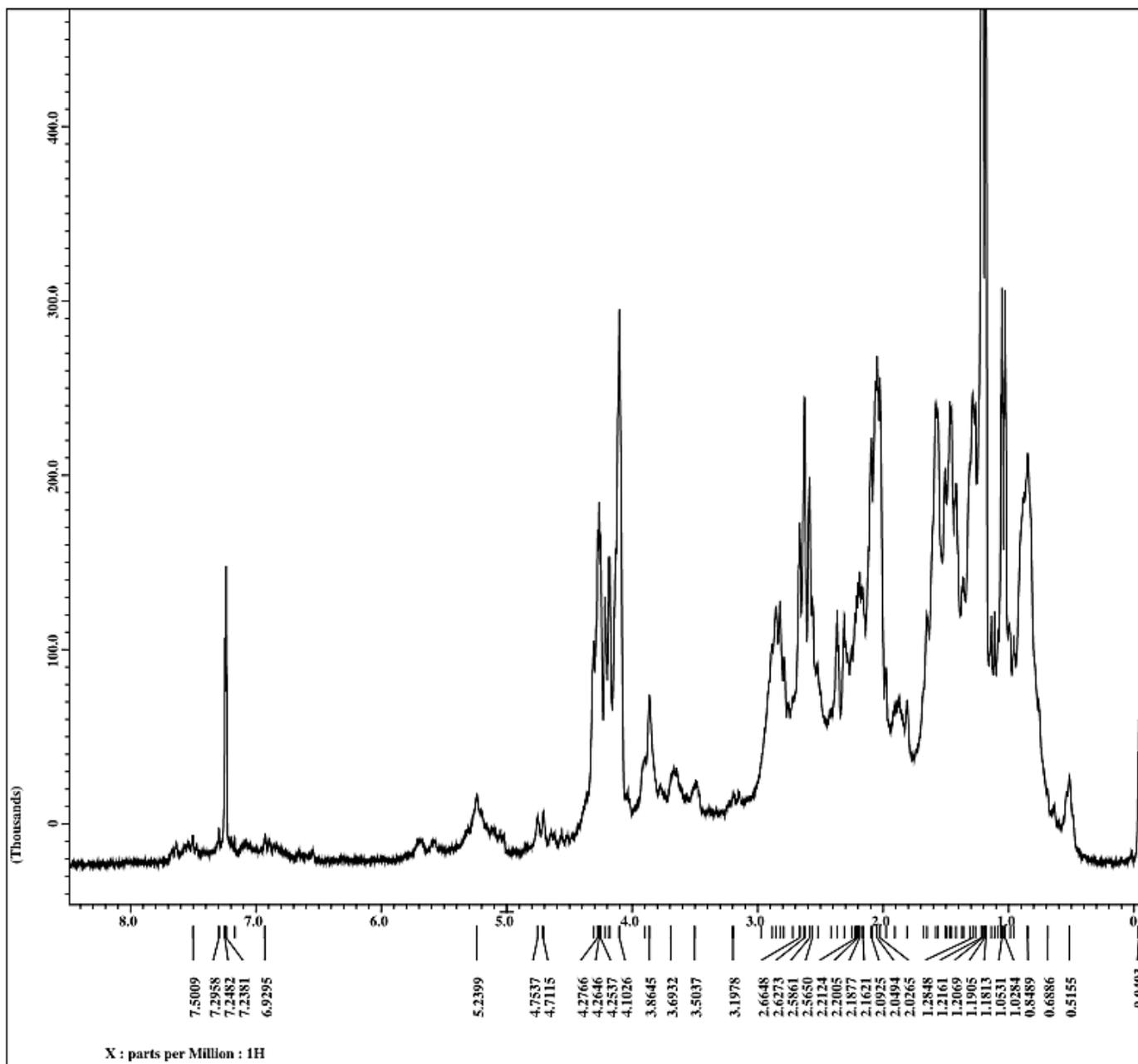
Fue aislado como un aceite viscoso de color amarillo de la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri*, con un peso de $18,2 \pm 0,1$ mg. Su espectro de RMN ^1H (CDCl_3) (espectro N° 22), mostró una serie de señales en la zona alifática entre 1,02 y 4,27 ppm, todas las señales mostraron ser complejas evidenciándose acoplamiento múltiple en los protones de la estructura. El espectro de RMN de ^{13}C analizado conjuntamente con un espectro DEPT 135 (espectros N° 24), permitió establecer la presencia de nueve átomos de carbono que conformaban la estructura. De estos carbonos solo uno era metilo (δ 13,8), se observaron señales asociadas a dos metilenos a (δ 29,6; 41,2) y un tercer metileno oxigenado apareció a 67,0 ppm. El resto de las señales pertenecían a cuatro metinos, de los cuales uno era oxigenado (δ 75,3) y los otros mostraban resonancias a 34,0, 44,1 y 47, 3 ppm. Un carbono cuaternario evidenciando un grupo acilo en la estructura se observó a 174,9 ppm. Se propuso de acuerdo a los datos de RMN de protones y carbono trece una estructura con una fórmula molecular de $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_2$, que debía contener 3 insaturaciones, considerando que el grupo acilo fuese de tipo éster. Con la ayuda de experimentos de RMN en dos dimensiones HETCOR, se establecieron las correlaciones de carbonos con sus protones. Se consideró luego del análisis un monoterpeno que debía contener una lactona y otro anillo que completaría la insaturación. Con la fórmula molecular propuesta se realizó la búsqueda bibliográfica que permitió comprobar que el compuesto que habíamos aislado correspondía a la estructura de boonein (IV), previamente aislado de plantas del género *Aspidosperma*^[40] y de *Alstonia* (Apocynaceae)^[42]. En la tabla N° 9 se presentan nuestros datos experimentales con los reportados para boonein (IV) y su isómero Isoboonein (**50**). En la literatura no se ha reportado este compuesto en especies del género *Strychnos*.



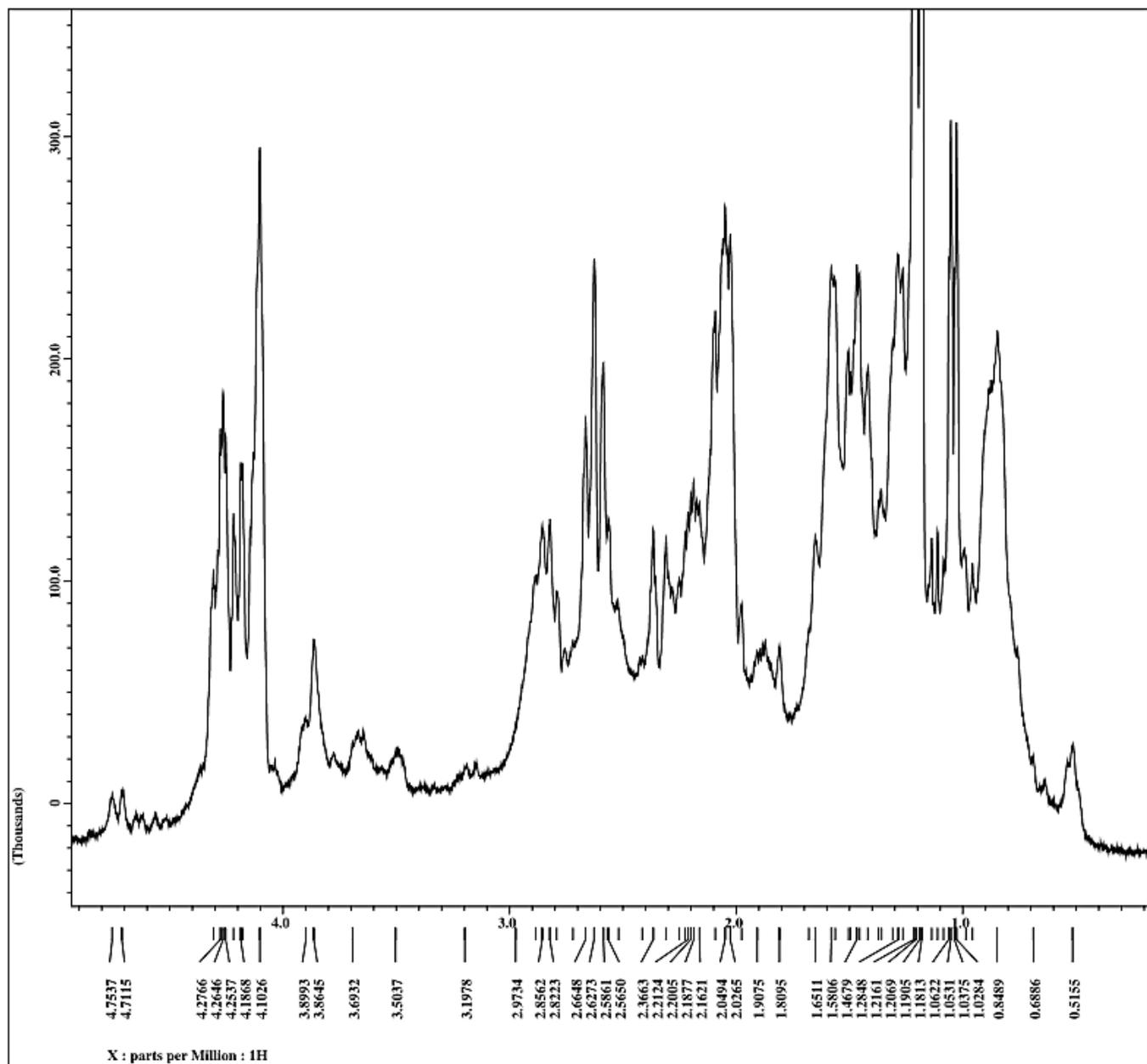
Isoboonein (86)



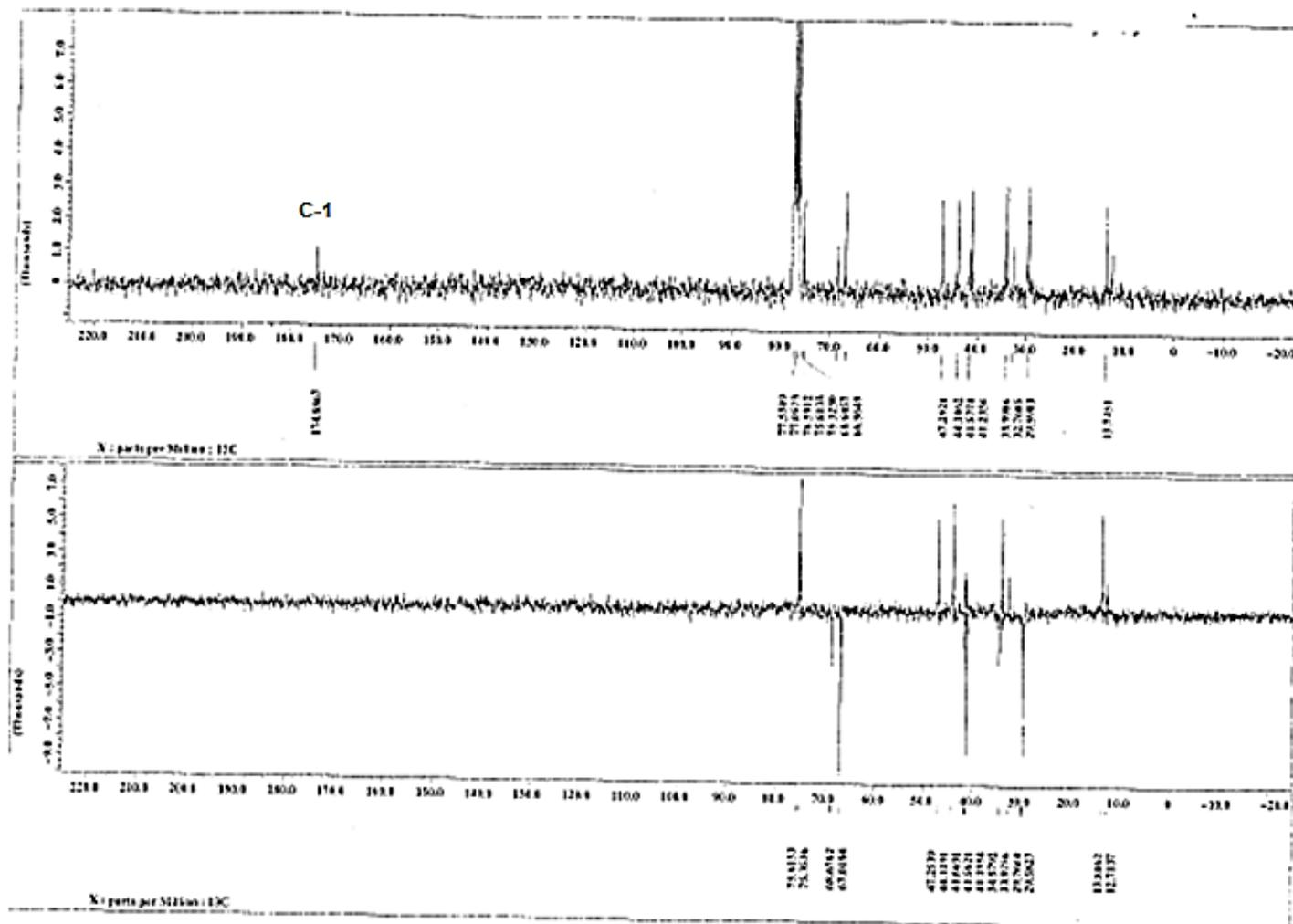
Boonein (V)



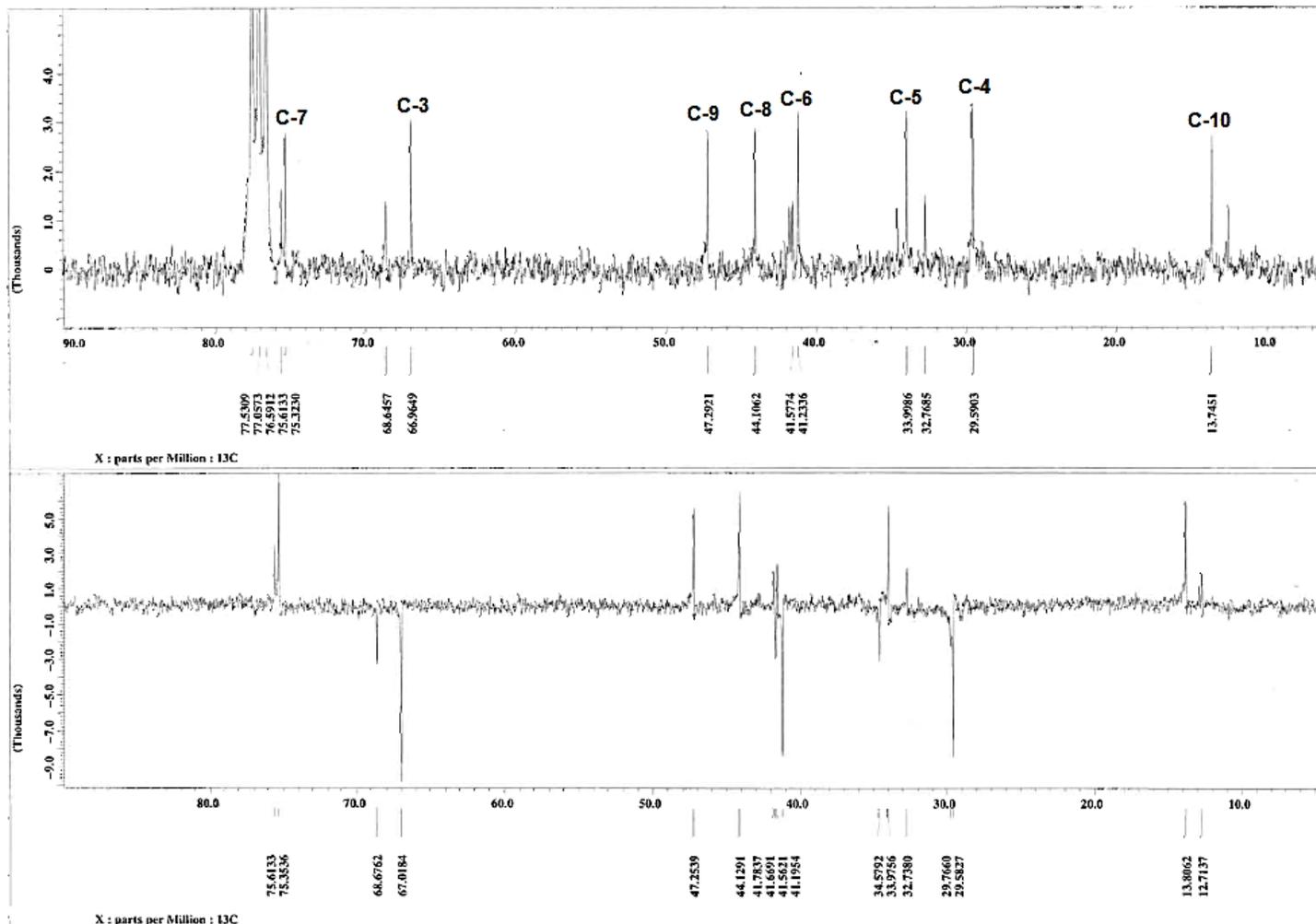
Espectro N° 22: RMN ^1H Boonein (V) (270 MHz; CDCl_3)



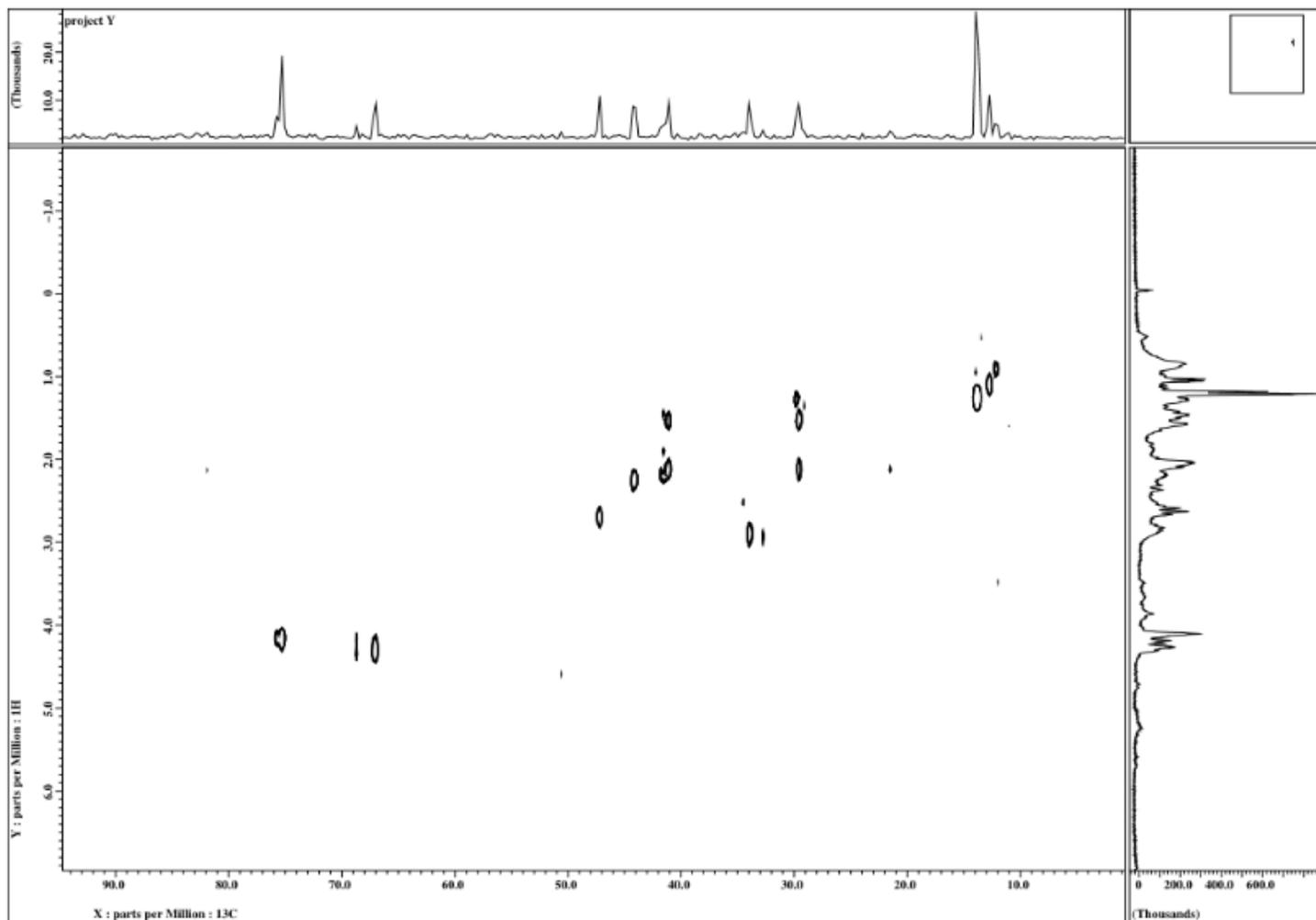
Espectro N° 23: RMN ^1H ampliado Boonein (V) (270 MHz; CDCl_3)



Espectro N° 24: RMN ^{13}C y DEPT 135 Boonein (V) (270 MHz; CDCl_3)



Espectro N° 25: RMN ^{13}C y DEPT 135 ampliado Boonein (V) (270 MHz; CDCl_3)



Espectro N° 26: HETCOR Boonein (V) (270 MHz; CDCl_3)

Tabla N° 9. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en los compuestos de Boonein e Isoboonein comparado con el experimental.

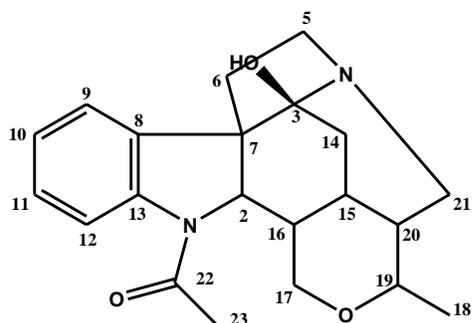
C	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{C} (ppm) ^{a 43}	
	[m; J (Hz)] Exp. ^a	Exp. ^a	Boonein	Isoboonein
1	-	174,9	175,3	173,5
3	4,26,m	67	67,08	68,6
4	a.- 1,45,m b.- 2,16,m	29,6	29,52	32,7
5	2,62,m	34,0	33,64	34,5
6	a.- 1,50,m b.- 2,04,m	41,2	40,85	41,5
7	4,10,s	75,3	75,6	75,6
8	2,18,m	44,1	43,9	41,6
9	2,62,m	47,3	47,16	41,7
10	1,20,d,(7,2)	13,8	13,46	12,7

a: tomado en CDCl_3 , 270 MHz

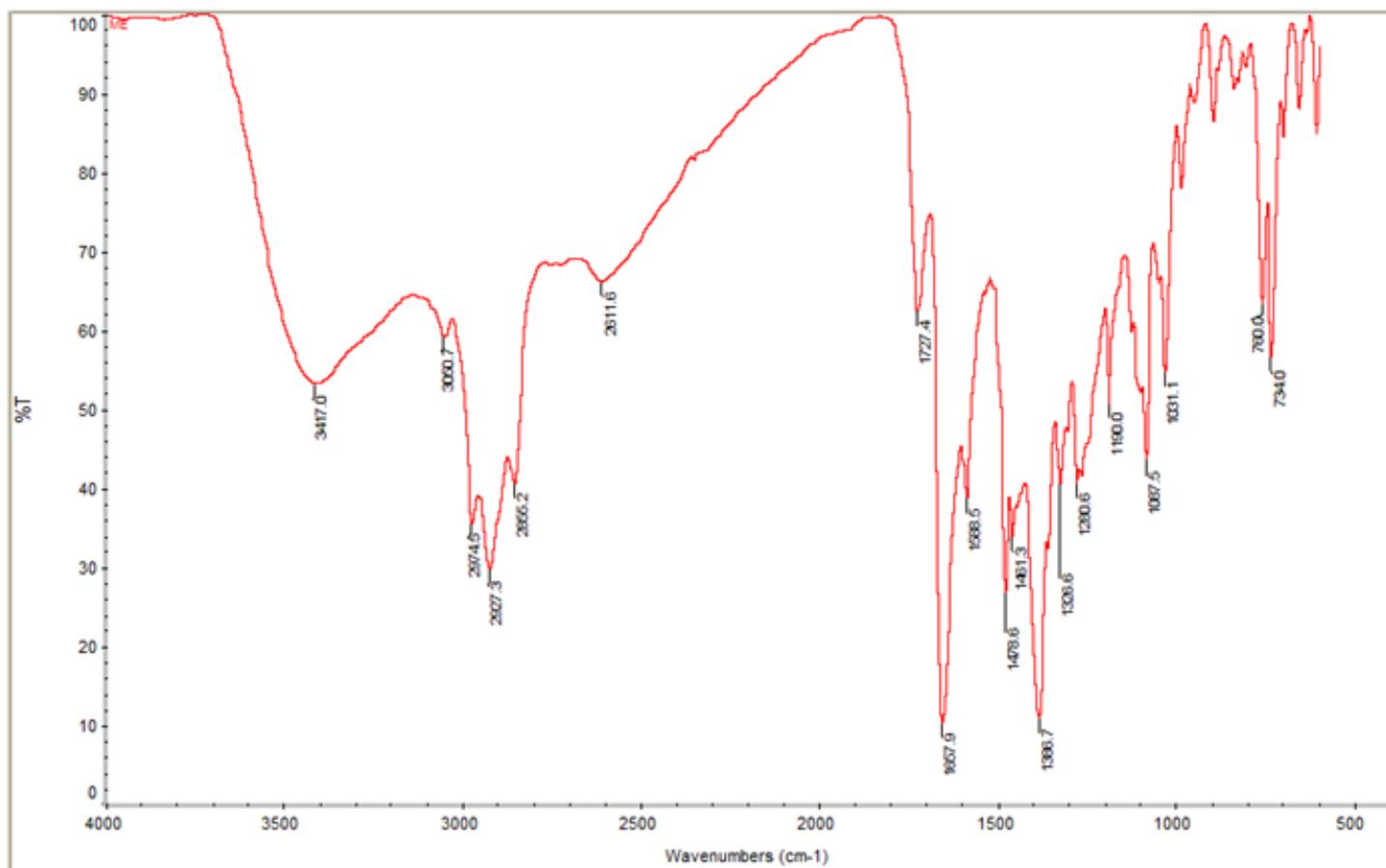
VII.7 Compuesto VI: N-acetilstrychnosplendine

Compuesto VI fue aislado de la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri*, como un sólido de color marrón p.f.153-156 °C, peso $73,3 \pm 0,1$ mg. Su espectro de IR (espectro N° 27) mostró bandas de absorción a 3417, 1657 y 1588, señalando la presencia de grupo hidroxilo, carbonilo de éster o amida y aromáticos en la estructura analizada. La información obtenida de su espectro de masas (espectro N° 28) con m/z igual a 355 [M+H], conjuntamente con los datos de RMN de ^{13}C , permitieron proponer una fórmula molecular de $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3$. El espectro de RMN de ^{13}C analizado conjuntamente con un experimento DEPT 135 (espectro N° 32), reveló la resonancia de 21 carbonos, los cuales fueron clasificados como 2 metilos, 5 metilenos, 9 metinos (cuatro de los cuales son de naturaleza aromática) y cinco carbonos cuaternarios que incluían 2 aromáticos, 1 de grupo acilo (éster o amida) y dos de naturaleza alifática. El análisis del espectro de RMN de ^{13}C , luego de obtener la data del masas, permitió observar la dualidad de un grupo N-acetilo a (δ_{C} 23,8 y 23,2 y δ_{H} 2,36 y 1,98) para el grupo metilo y (δ_{C} 169,7, 170,1) para el grupo acilo. Esta característica dualidad de señales ha sido informada en alcaloides acetil-indólicos, debido a la conformación que puede adoptar el grupo acetilo sobre el nitrógeno indólico. El espectro de RMN de ^1H (espectro N° 29), mostro señales muy complejas en todo el rango espectral, identificándose claramente la presencia de un grupo metilo a 1,12 ppm y lo que parecían ser dos grupos acetilos a 1,98 y 2,36 ppm. En la zona aromática se observó un sistema bencénico disustituido. Teniendo en consideración que estábamos en presencia de un alcaloide, se realizó el análisis de la data espectroscópica de RMN, asignando cada protón a su carbono con el experimento HMQC (espectro N° 37). Los experimentos COSY y HMBC (espectro N° 33-35), nos llevaron a proponer la estructura que se mostró, cuya comparación con datos de la literatura (tabla N° 10), señaló que la estructura elucidada coincidía con la de N-acetil-strychnosplendine^[31], reportada para esta especie colectada en Brasil en el año 1976. La información obtenida a través de los espectros en 2D para

esta estructura, con los cuales no se contaba en la época en la cual fue reportada, representa un valioso aporte a la literatura de esta clase de alcaloides.

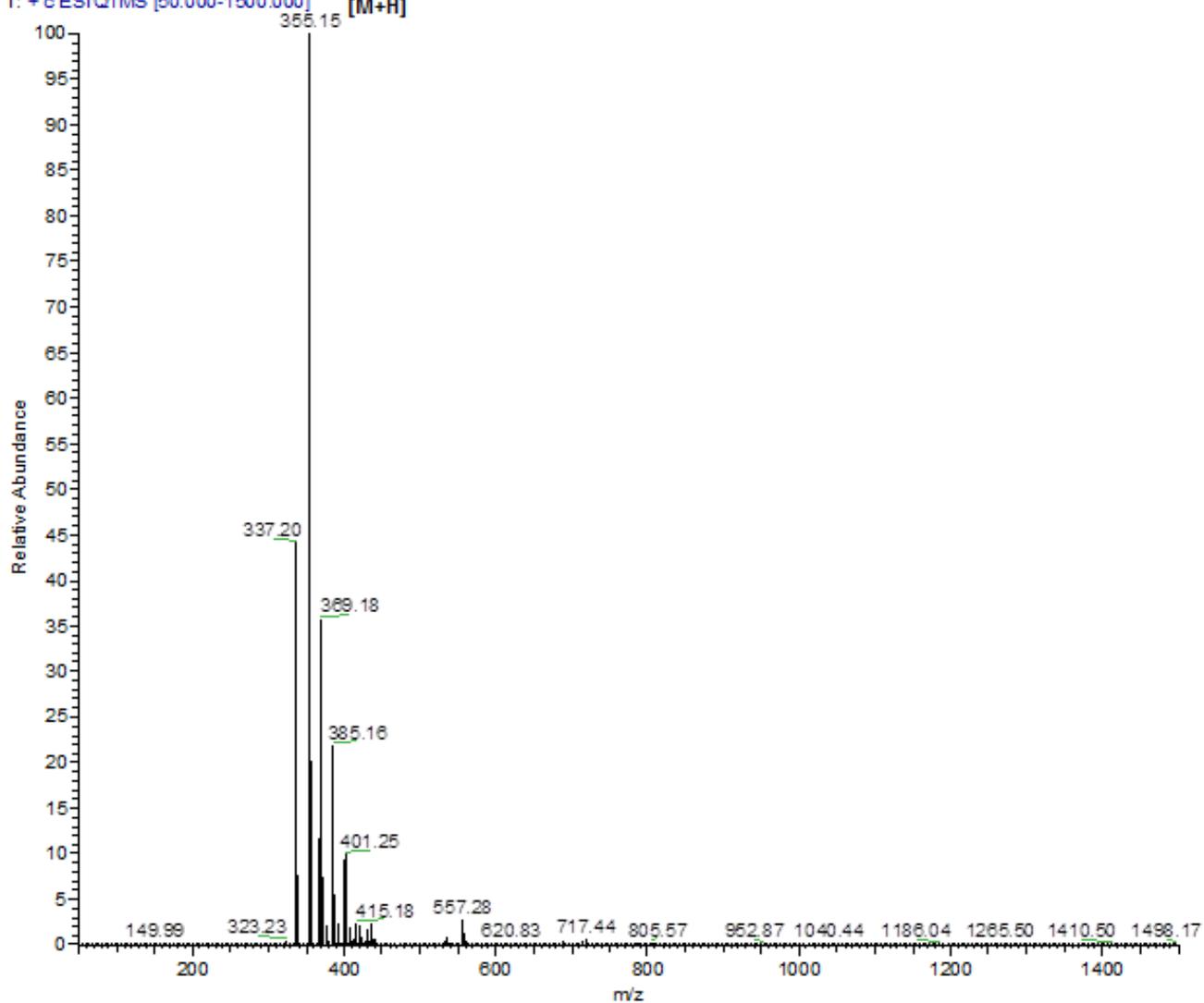


N-acetylstrychnosplendine (VI)

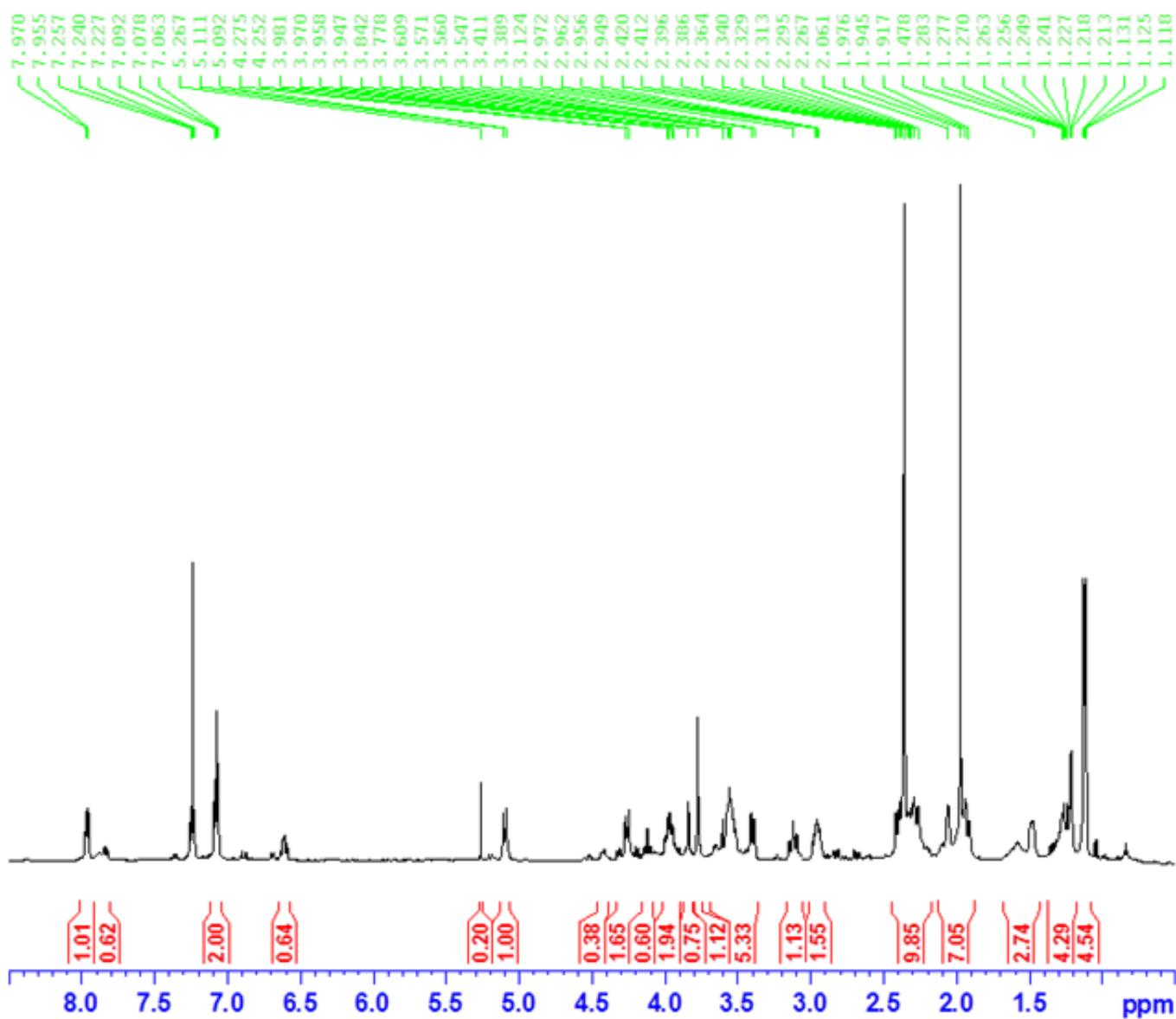


Espectro N° 27: IR N-acetylstrychnosplendine (VI)

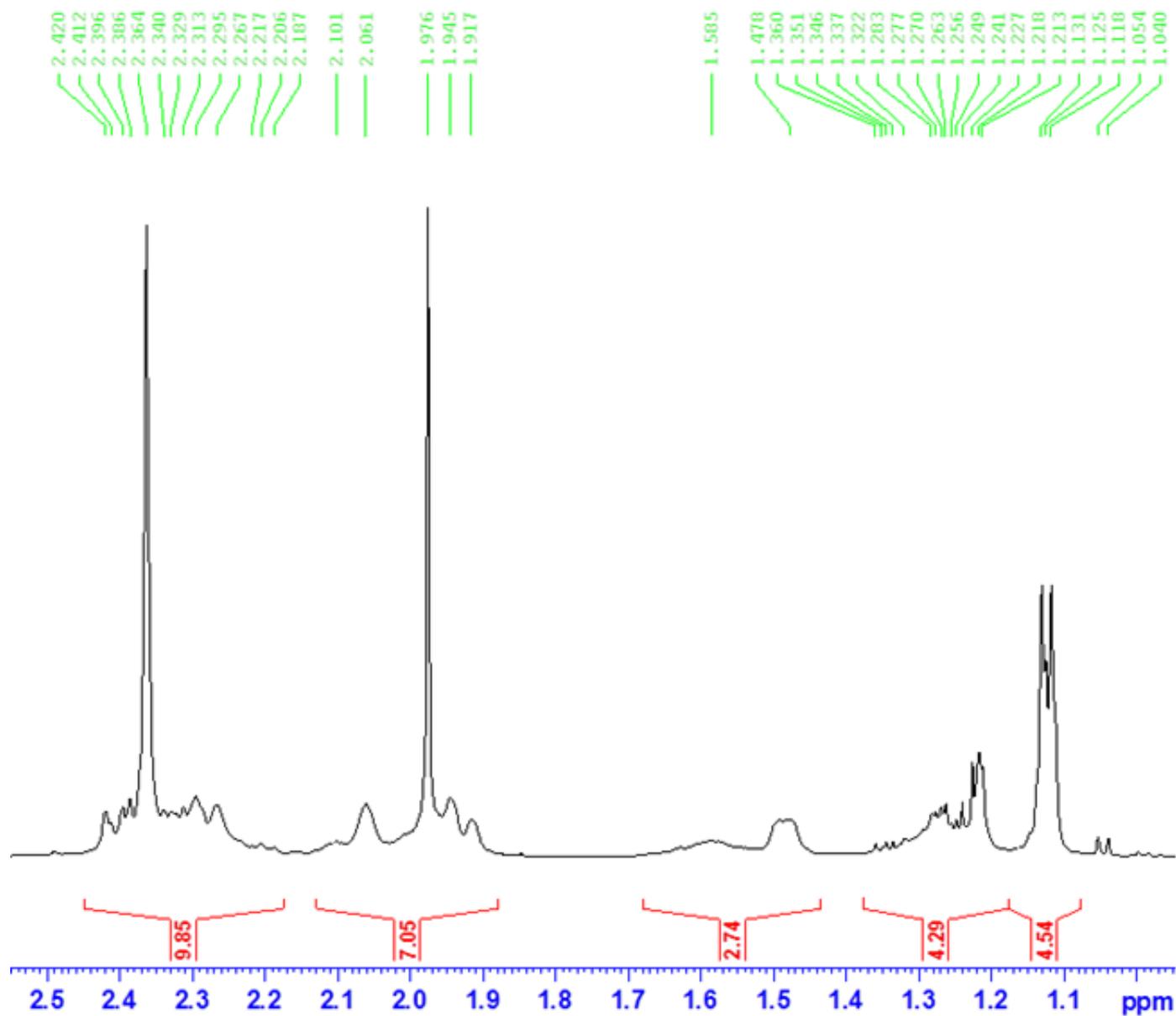
Alirica6RAW #84 RT: 8.76 AV: 1 NL: 1.03E8
T: + c ESI Q1MS [50.000-1500.000] [M+H]



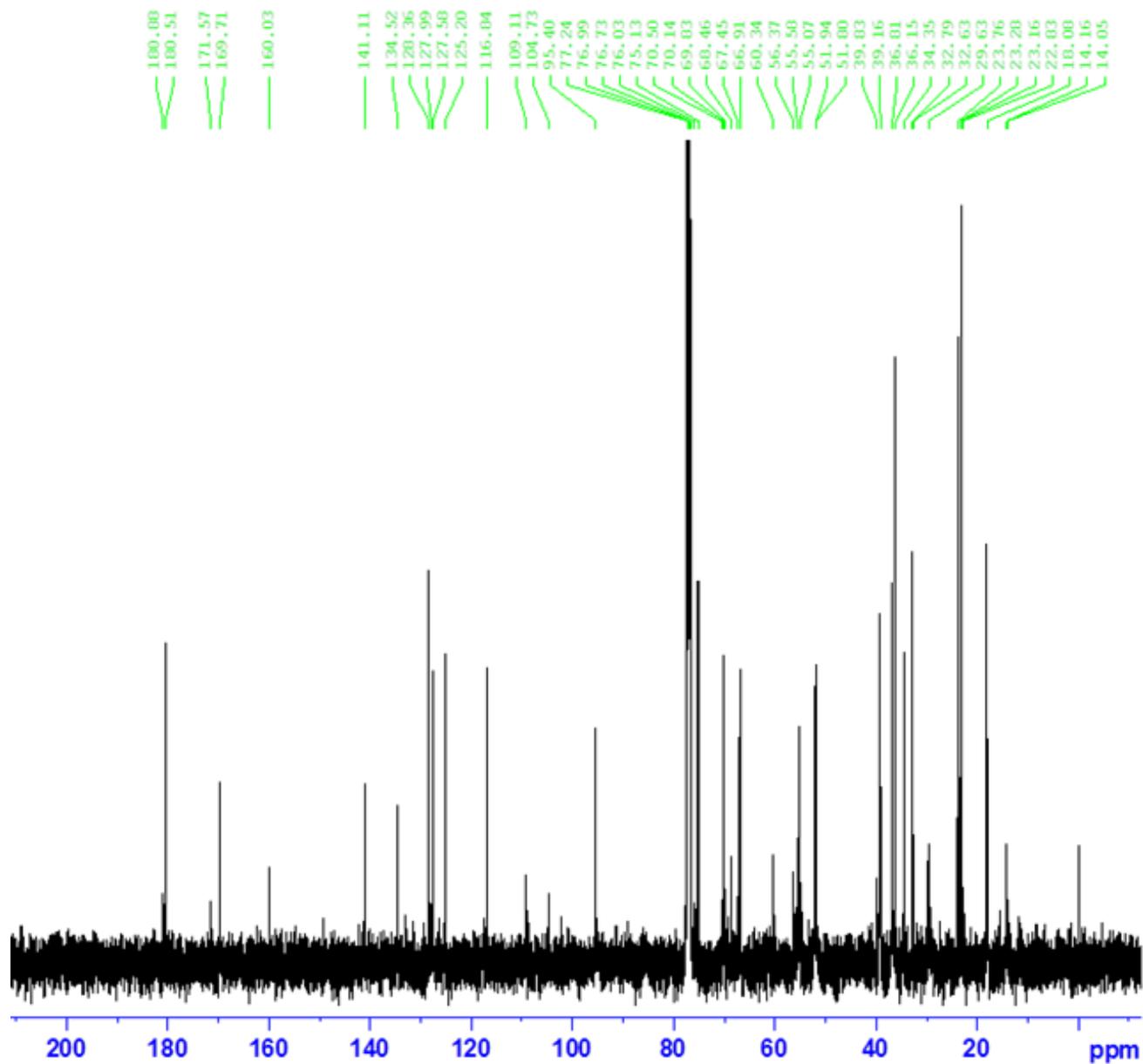
Espectro N° 28: Masas N-acetylstrychnosplendine (VI)



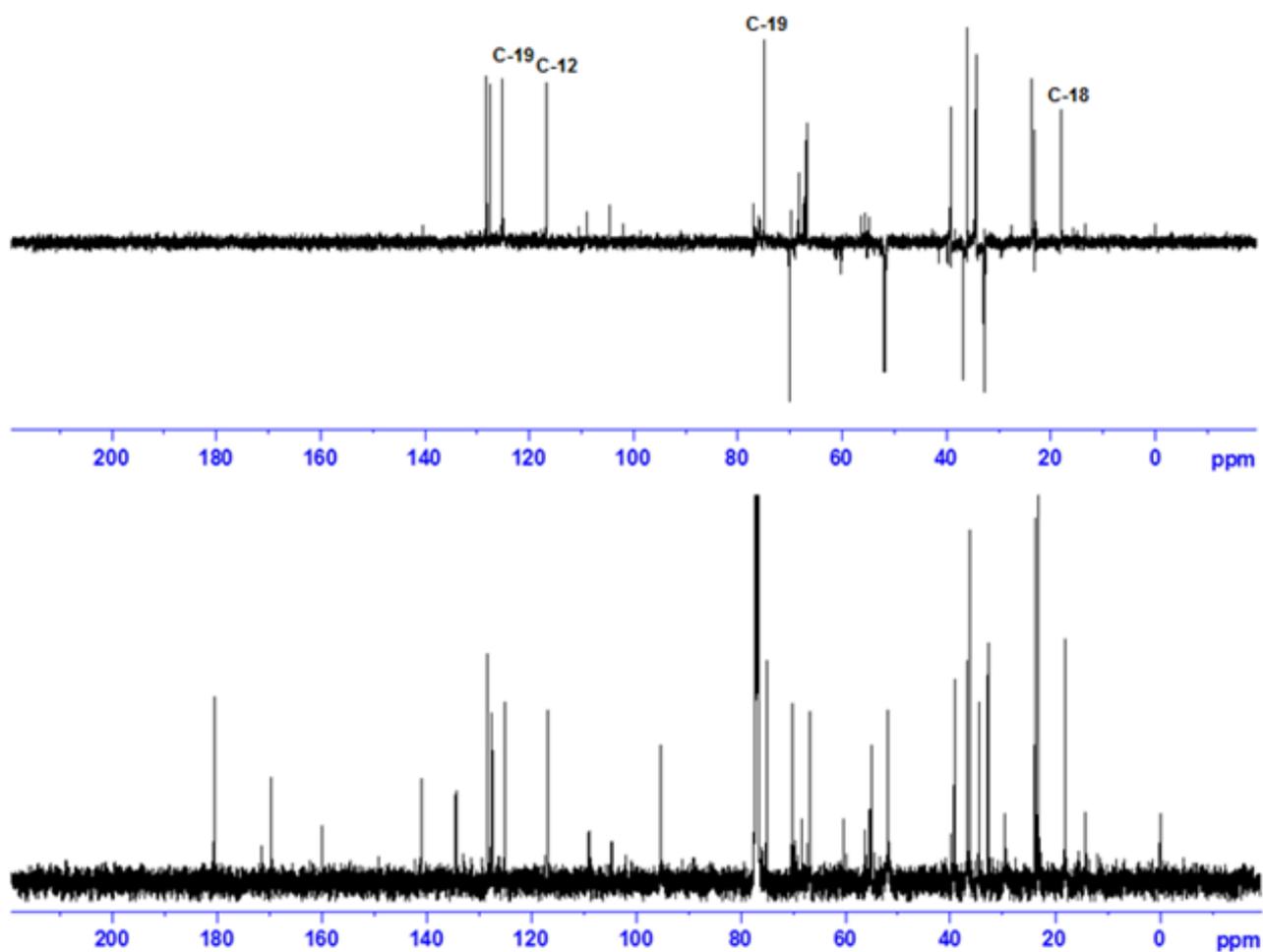
Espectro N° 29: RMN ^1H N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl_3)



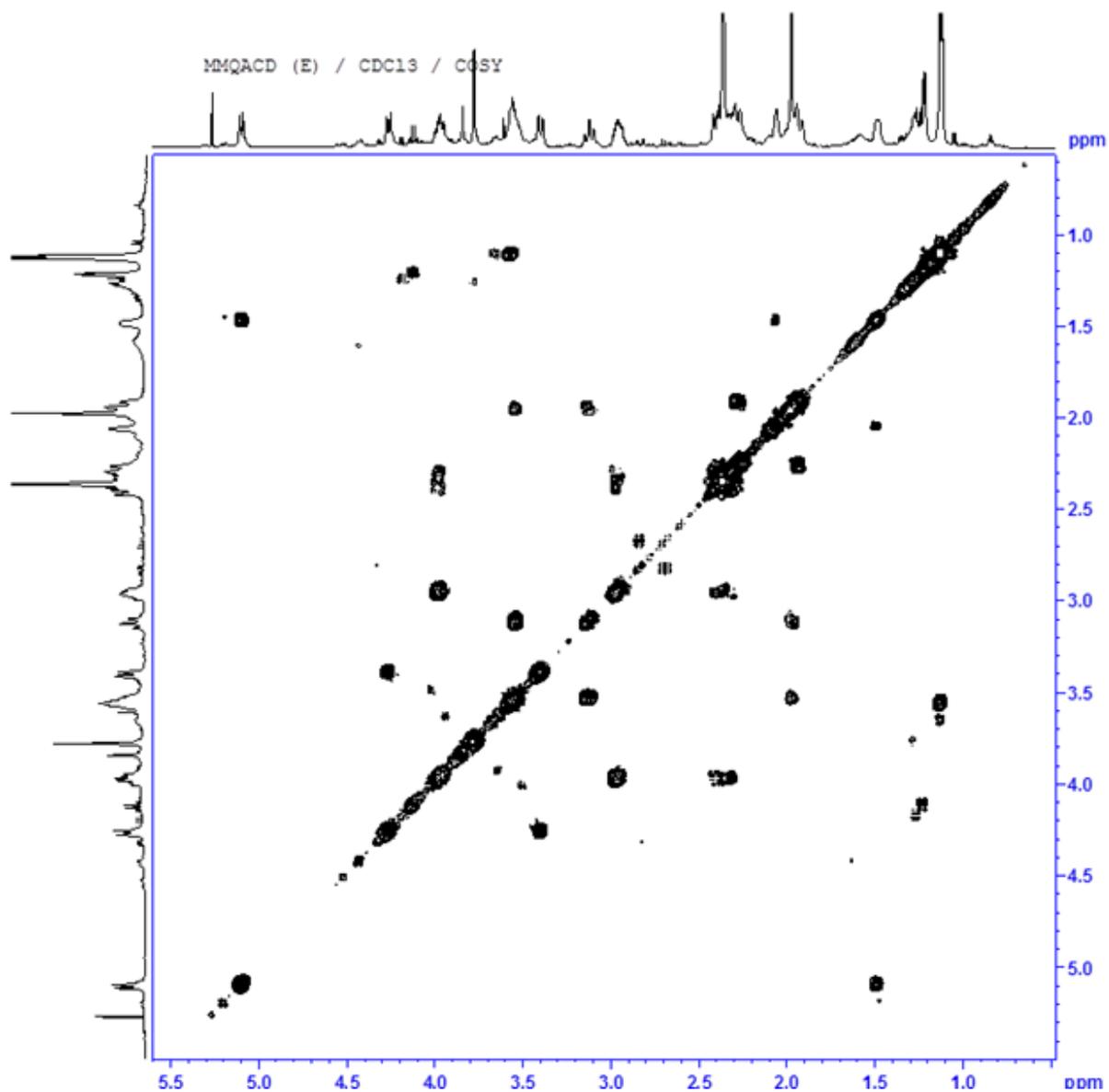
Espectro N° 30: RMN ^1H ampliado N-acetilstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl_3)



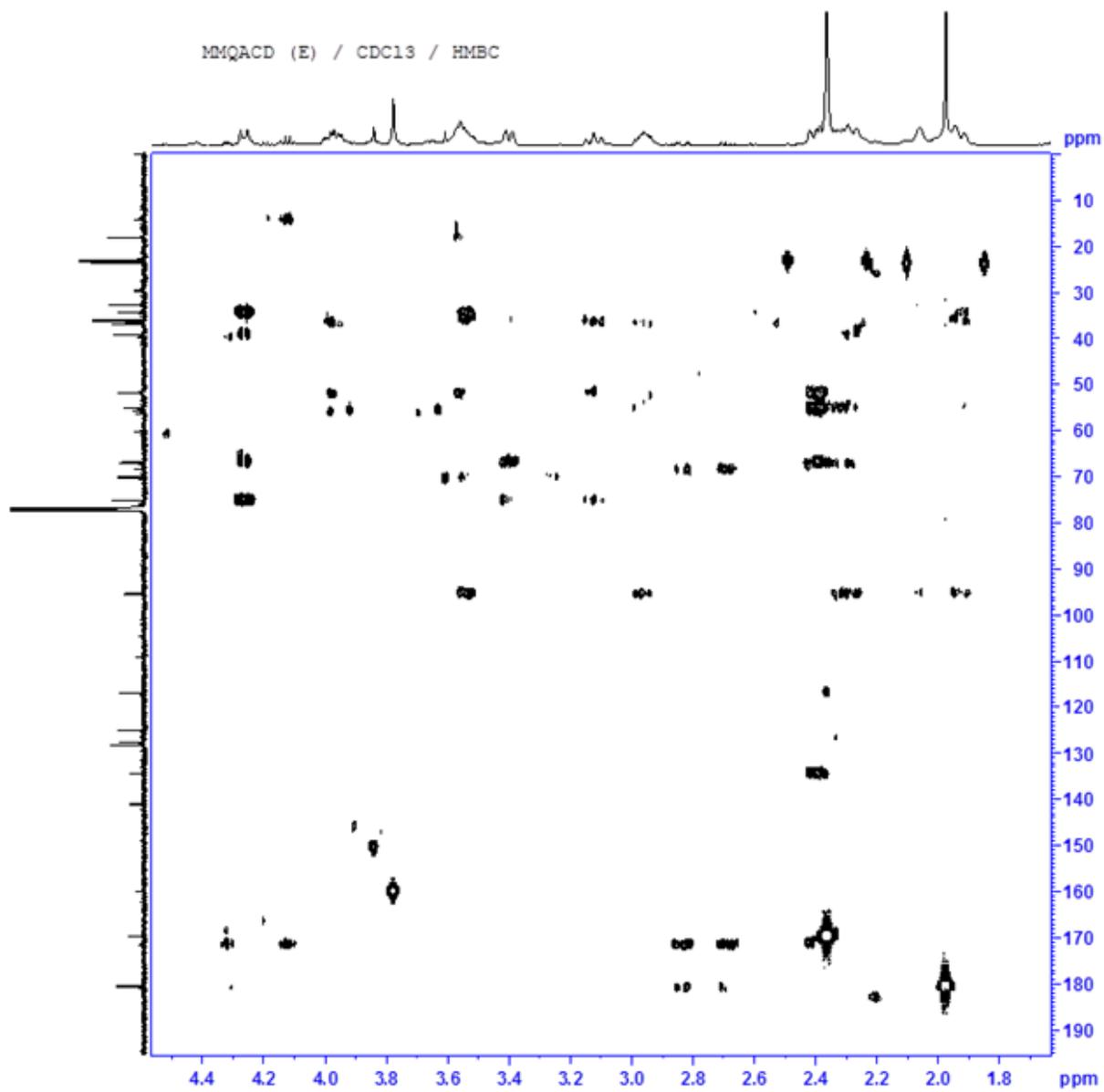
Espectro N° 31: RMN ^{13}C N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl_3)



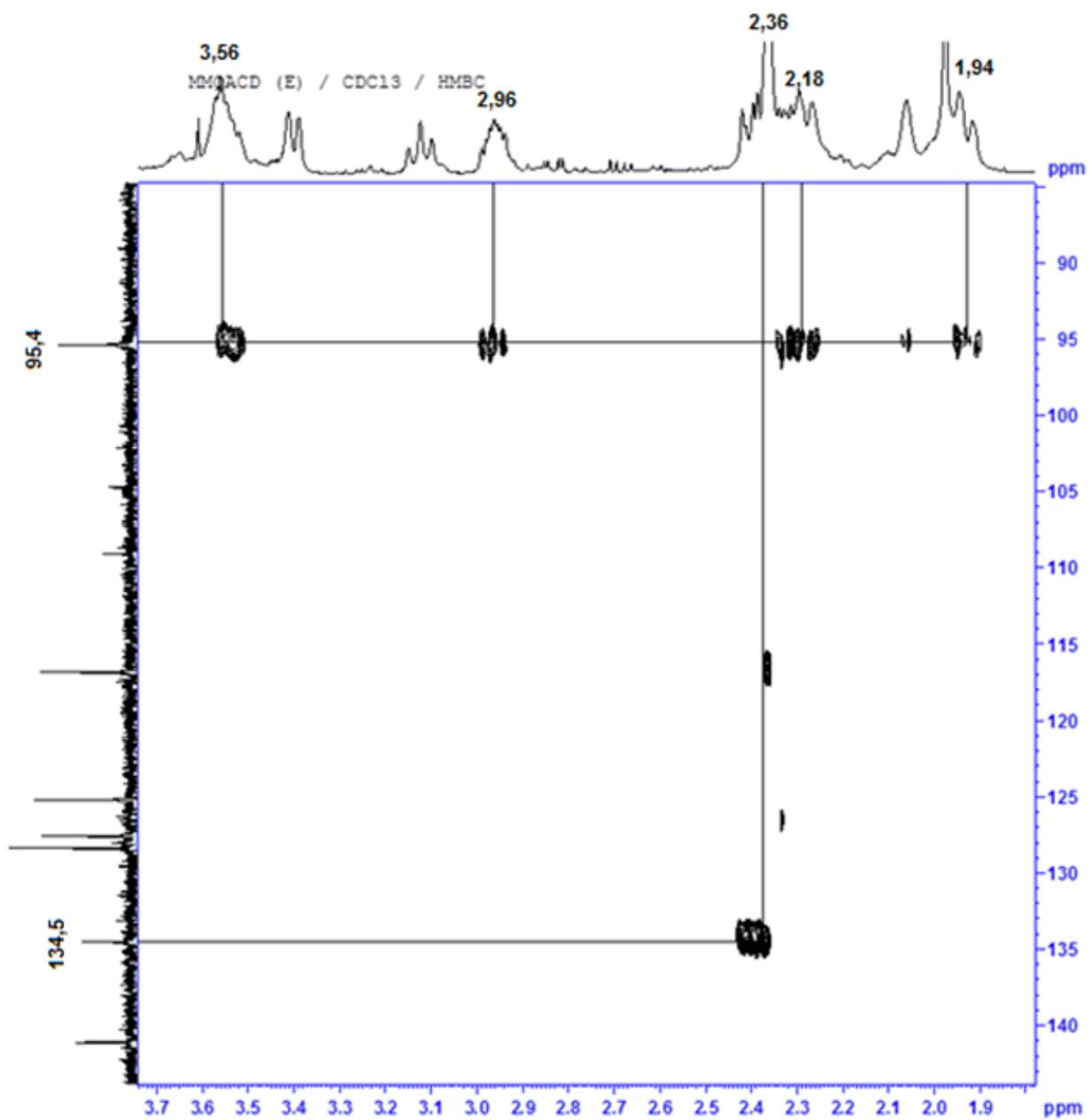
Espectro N° 32: RMN ^{13}C y DEPT 135 N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)



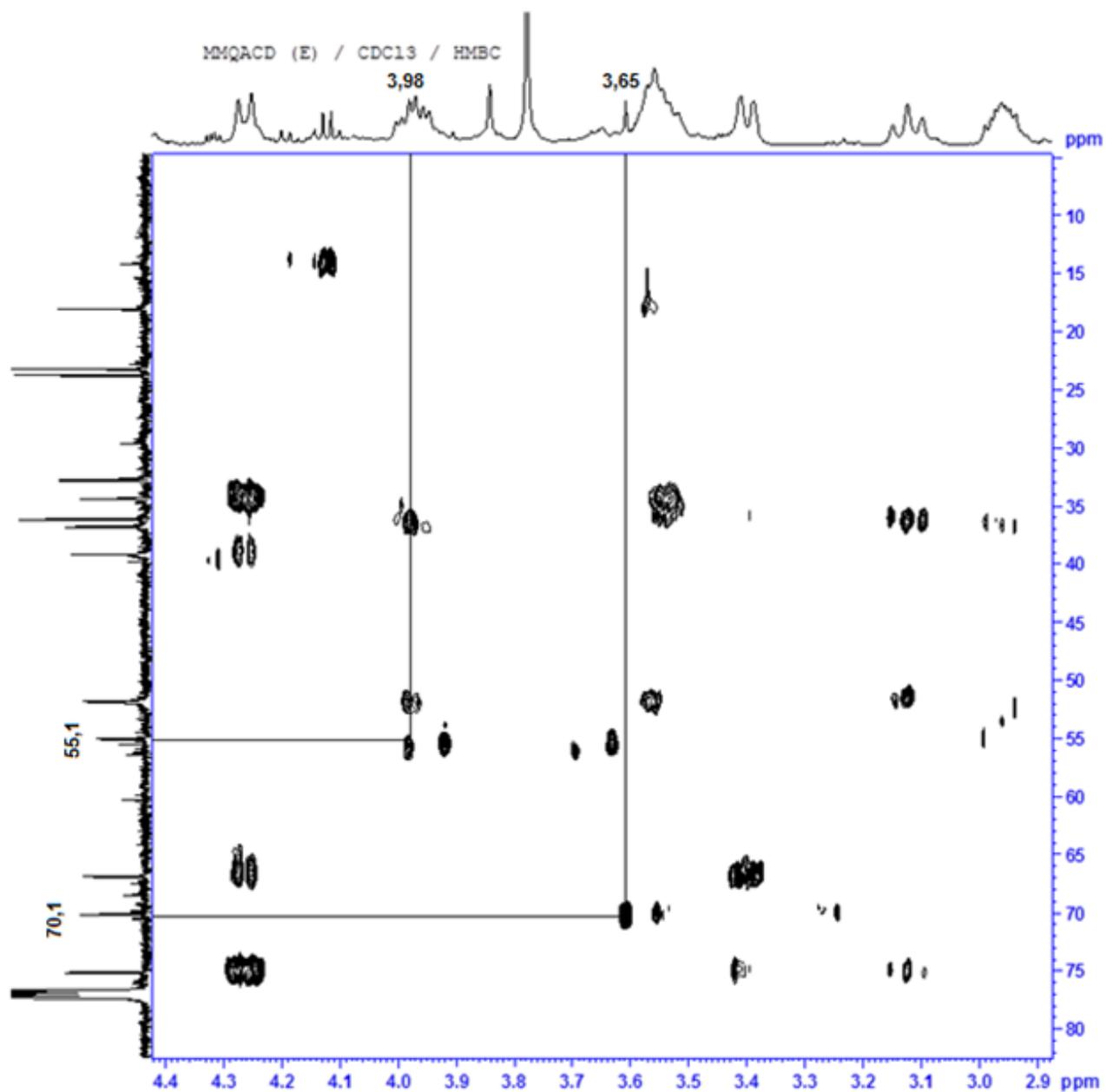
Espectro N° 33: COSY N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)



Espectro N° 34: HMBC N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)

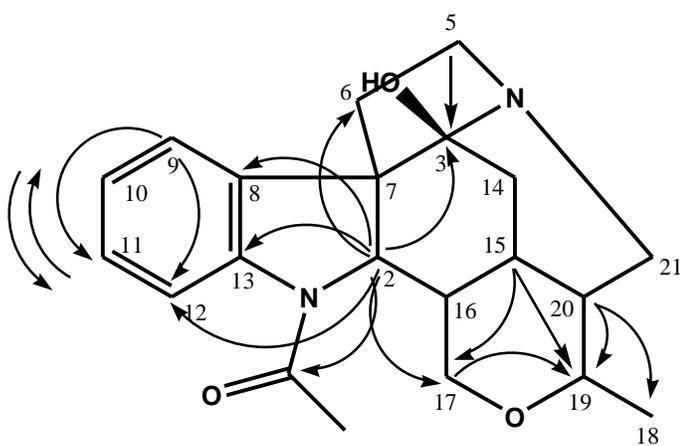


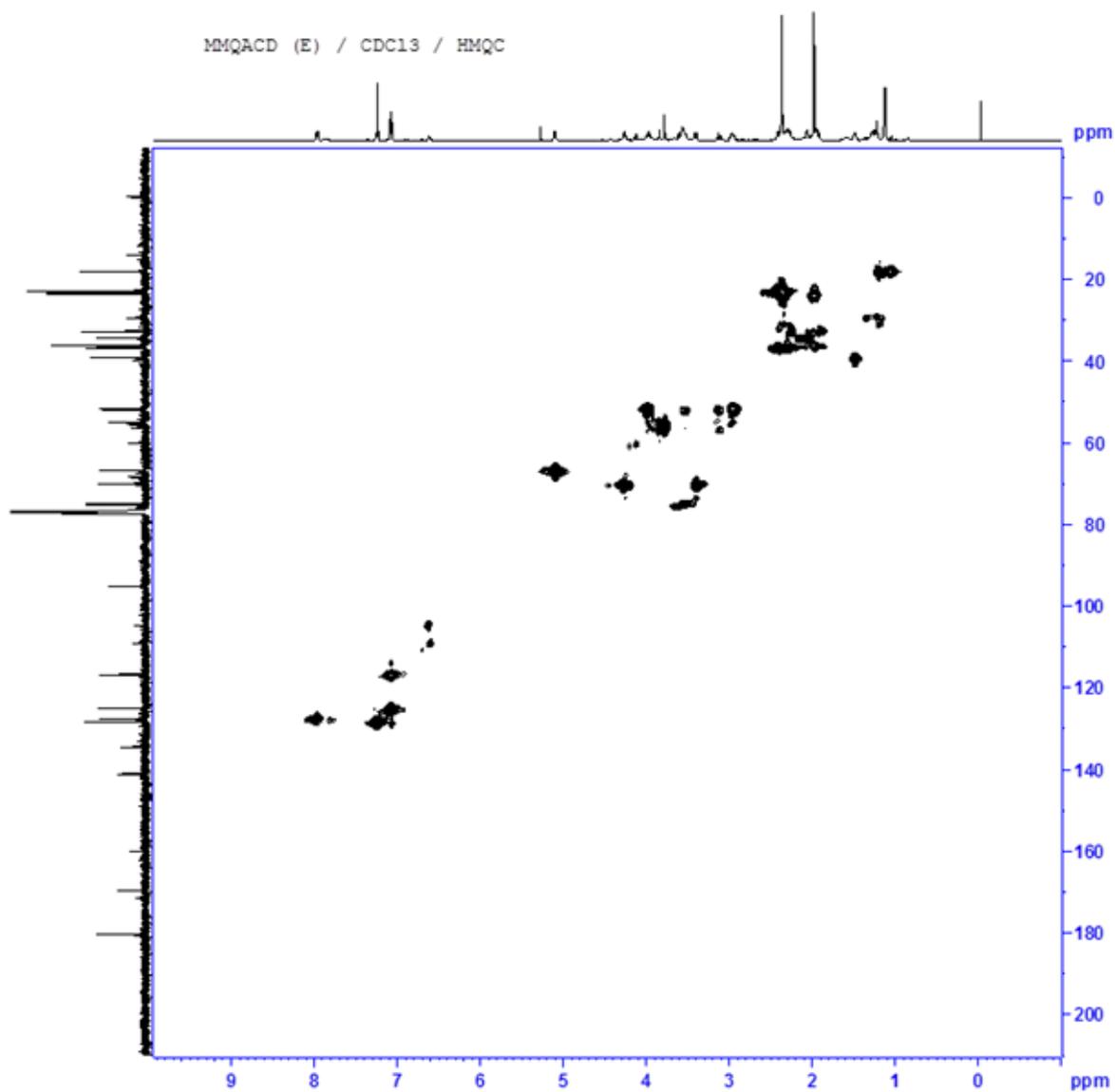
Espectro N° 35: HMBC ampliado N-acetilstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)



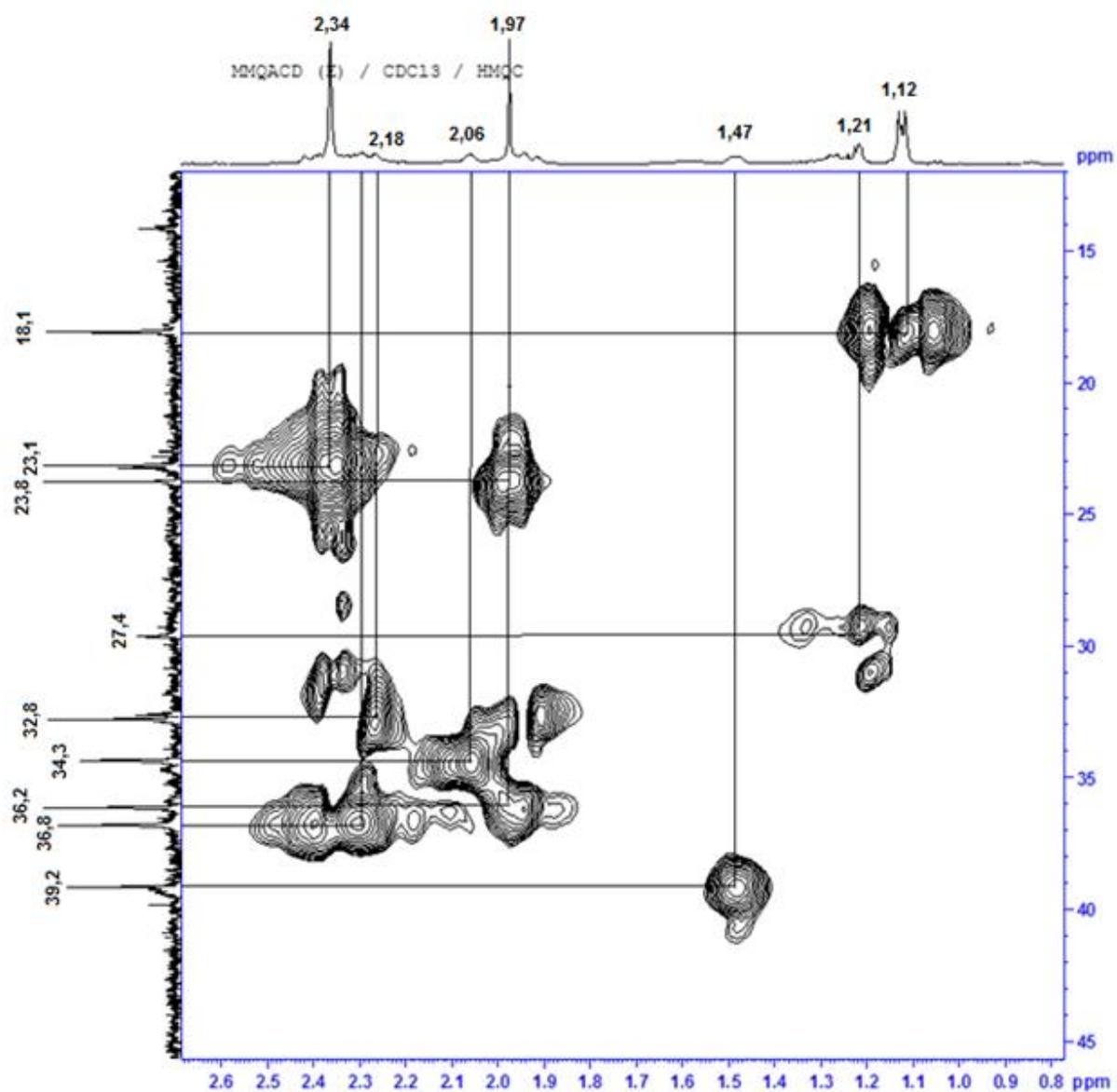
Espectro N° 36: HMBC ampliado N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)

Principales correlaciones observadas en el espectro de HMBC:

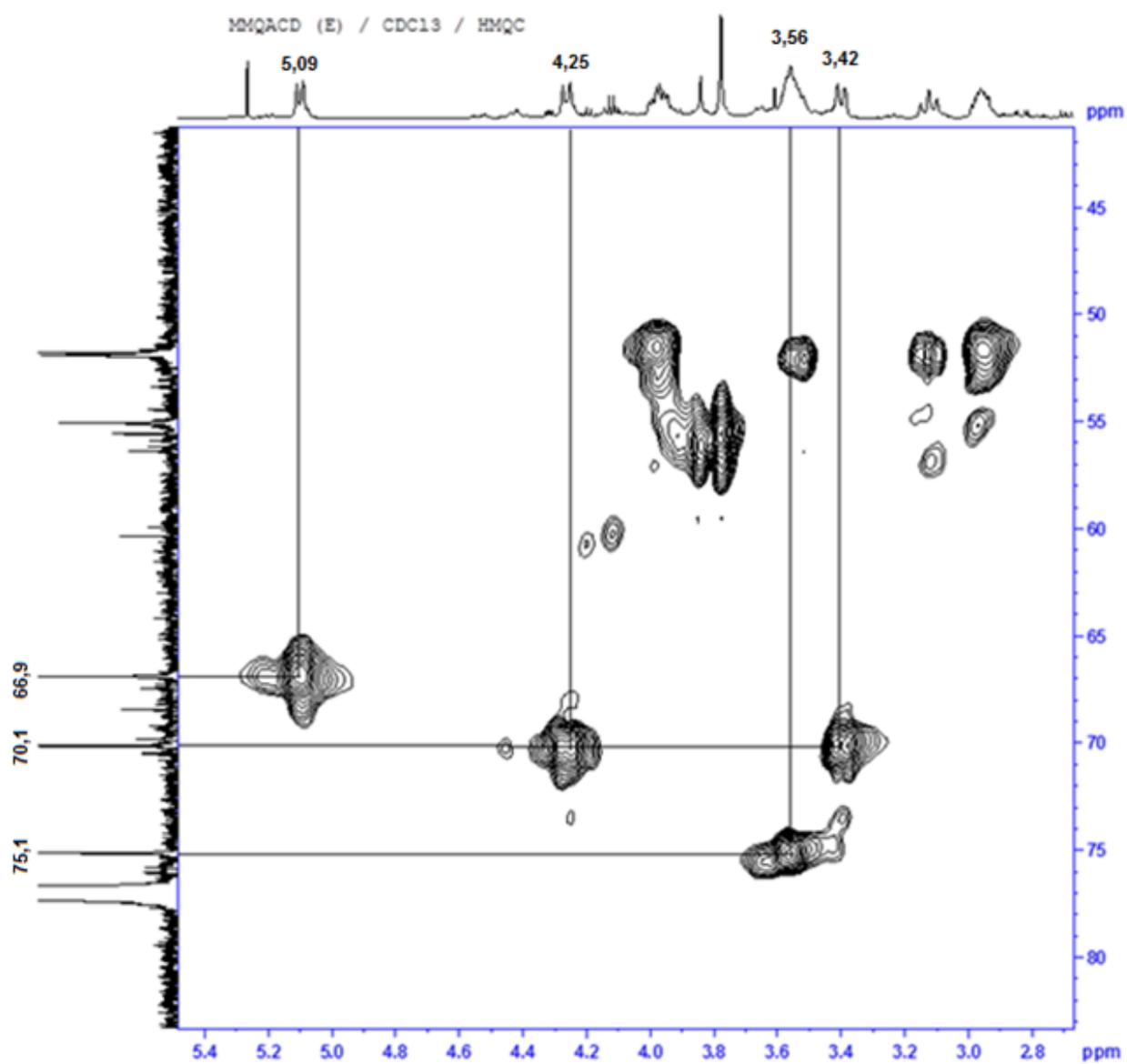




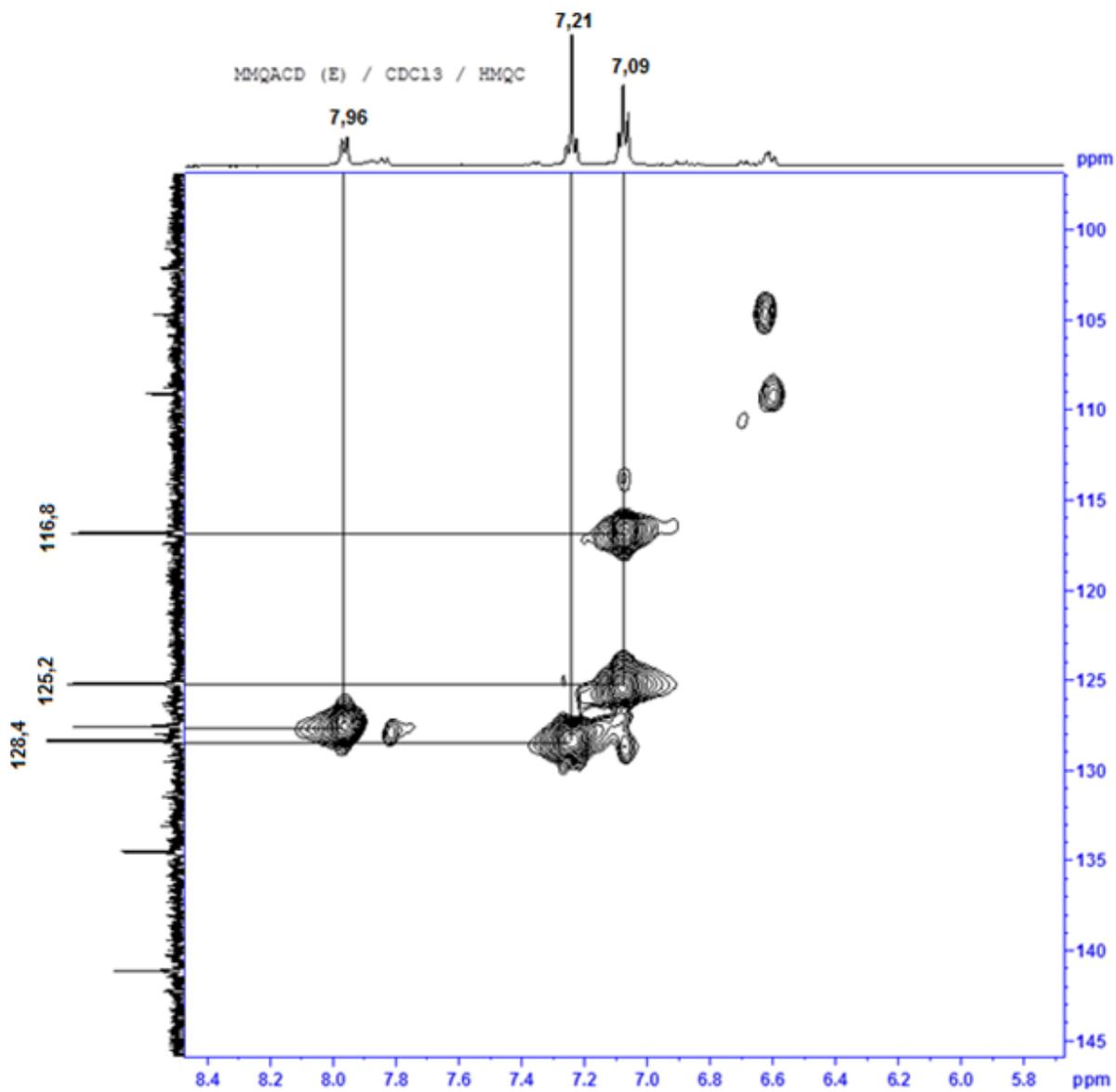
Espectro N° 37: HMQC N-acetilstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)



Espectro N° 38: HMQC ampliado N-acetylstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)



Espectro N° 39: HMQC ampliado N-acetilstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)



Espectro N° 40: HMQC ampliado N-acetilstrychnosplendine (VI) (500 MHz; CDCl₃)

Tabla N° 10. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en N-acetilstrychnosplendine (VI)

δ_{C} (ppm) Exp. ^a	δ_{H} (ppm) [m; J (Hz)] Exp. ^a	Correlaciones
180,5 (C)	-	23,2/ 1,97/ 51,9
169 (C)	-	23,8/ 66,9
141,1 (C)	-	128/ 66,9/ 116,8
134,5 (C)	-	66,9/ 128,4/ 125,2
128,4 (CH)	7,24 (t, J = 6,65 Hz)	125,2/ 127,6
127,6 (CH)	7,96 (d, J = 7,95 Hz)	-
125,2 (CH)	7,07 (d, J = 7,6 Hz)	-
116,8 (CH)	7,07 (d, J = 7,6 Hz)	-
95,4 (C)	-	75,1/ 51,8/ 36,2
75,1 (CH)	3,56 (m)	70,1/ 18,1/ 36,2
70,1 (CH ₂)	4,27 (d, J = 11,0); 3,40 (d, J = 10,9)	66,9/ 75,1/ 36,2/ 39,2
66,9 (CH)	5,10 (d, J=11,4 Hz)	23,8/ 70,1/ 141/ 134
60,4 (C)	-	-
55,0 (CH)	3,77 (s)	23,89
51,9 (CH ₂)	2,96 (m); 3,12 (t, J = 12 Hz)	51,8/ 95
51,8 (CH ₂)	3,56 (m); 3,99 (m)	51,9/ 75
39,2 (CH)	1,47 (m)	32,8
36,8 (CH ₂)	2,41 (m); 2,29 (m)	-
36,2 (CH)	1,94 (m)	95/ 70
34,3 (CH)	2,18 (m)	36,2/ 39,2
32,8 (CH ₂)	2,38 (m)	95,1
23,8 (CH ₃)	2,36 (s)	169,7/ 66,9
23,4 (CH ₃)	1,97 (s)	180,8/ 55,0
18,1 (CH ₃)	1,11 (d, J = 7,0 Hz)	75,1/ 36,2

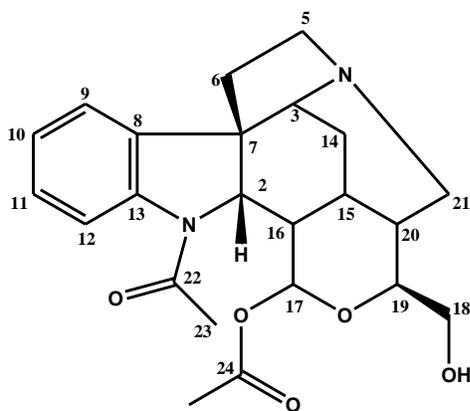
a: tomado en CDCl₃, 500 MHz

Compuesto VII: Strychnosine

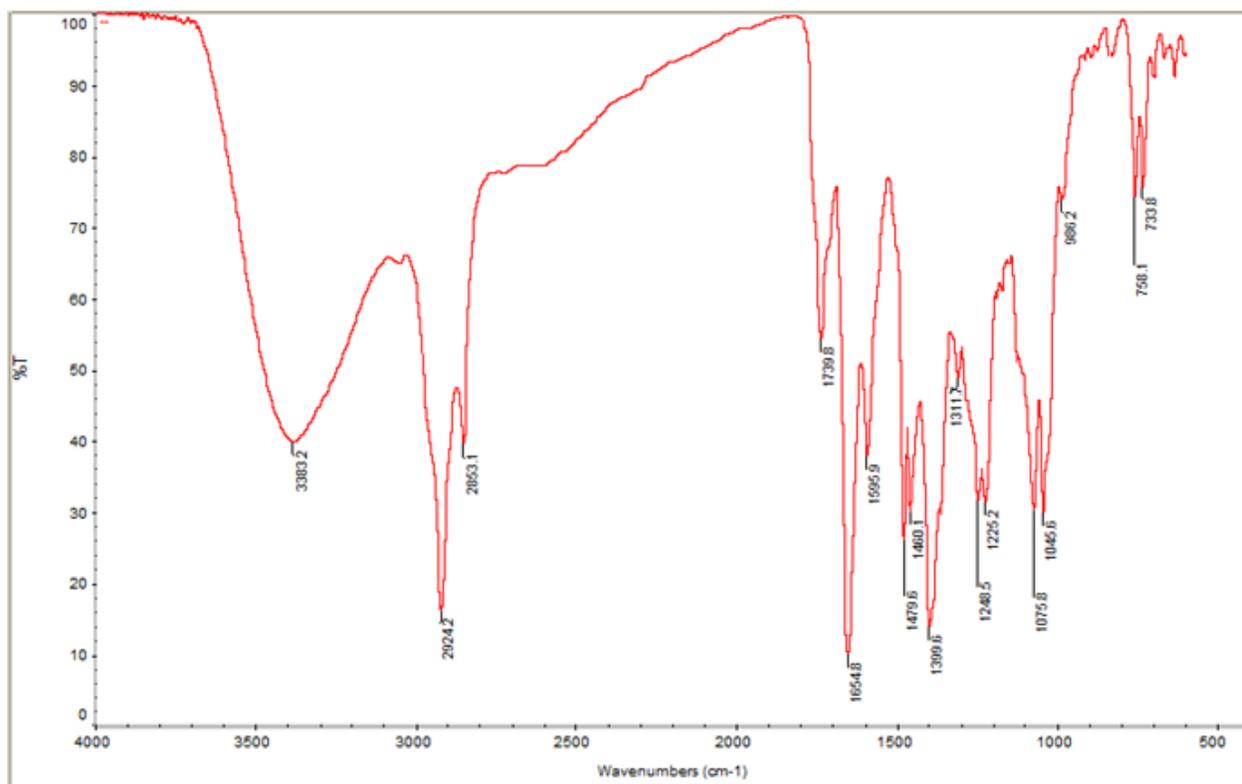
El compuesto VII, fue aislado de la fracción de diclorometano obtenida del extracto metanólico de la corteza como un sólido amorfo de color marrón con pf.: 140-142 °C, peso $24,2 \pm 0,1$ mg. Su espectro de IR mostró bandas de ν_{\max} a 3383 cm^{-1} de estiramiento de OH, 1738 cm^{-1} atribuible a estiramiento de grupo acilo, además de bandas a 1645 y 1595 cm^{-1} identificando estiramientos de anillos bencénicos (espectro N° 41).

El espectro de masas obtenido con la técnica de ESI (electrospray) en modo negativo señaló un pico base de m/z 395 [M-H₂O] y el pico que identificó al ión molecular se obtuvo en 411 [M-H] esto en conjunto con el análisis de los espectros de carbono y DEPT 135 (espectro N° 45), permitió proponer una estructura con una fórmula molecular de C₂₃H₂₈N₂O₅. Los espectros de RMN de protones y carbono trece de este compuesto, mostraron gran similitud con los del alcaloide VI. También aquí fue evidenciado la dualidad de las señales del grupo N-acetil presente en la estructura indólica δ_{H} (2,38; 1,97) y δ_{C} (24,1; 22,6) para el metilo y δ_{C} (170,1; 172,1) para el grupo carbonilo, estas asignaciones se corroboraron con el análisis de los experimentos de RMN en 2D. Toda la data espectroscópica señaló que la estructura que se analizaba era muy similar a N-acetilstrychnosplendine (VI), con unas pequeñas diferencias que se veían representadas por la presencia de otro grupo acetilo δ_{H} (2,01) y δ_{C} (21,0) del metilo y δ_{C} (168,8) para el carbonilo, y también un grupo hidroximetilénico δ_{H} (3,60; 3,74) y δ_{C} (72,3). Igualmente el patrón de acoplamiento para las señales protónicas del anillo aromático, revelan una disustitución orto de un anillo tipo bencénico. La estructura del compuesto VI, fue completamente verificada con la información obtenida de los experimentos de RMN en 2D. A través del experimento HMQC se asignaron los hidrógenos correspondientes a los carbonos que los contenían, los experimentos COSY y HMQC (espectro N° 46-48) fueron fundamentales para obtener las correlaciones entre protones y las correlaciones a largo alcance para proponer la estructura de este nuevo alcaloide Strychnosine, reportado por primera vez para la especie *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith y para la literatura de

productos naturales. En relación a la estereoquímica, hemos asignado la configuración relativa de este compuesto por comparación de nuestros datos espectroscópicos de RMN con compuestos análogos, lo que nos señala que los centros quirales tienen la misma configuración absoluta de esos compuestos^[13]. Finalmente se prevén experimentos de Dicroísmo Circular (efecto Cotton) para confirmar la asignación establecida.

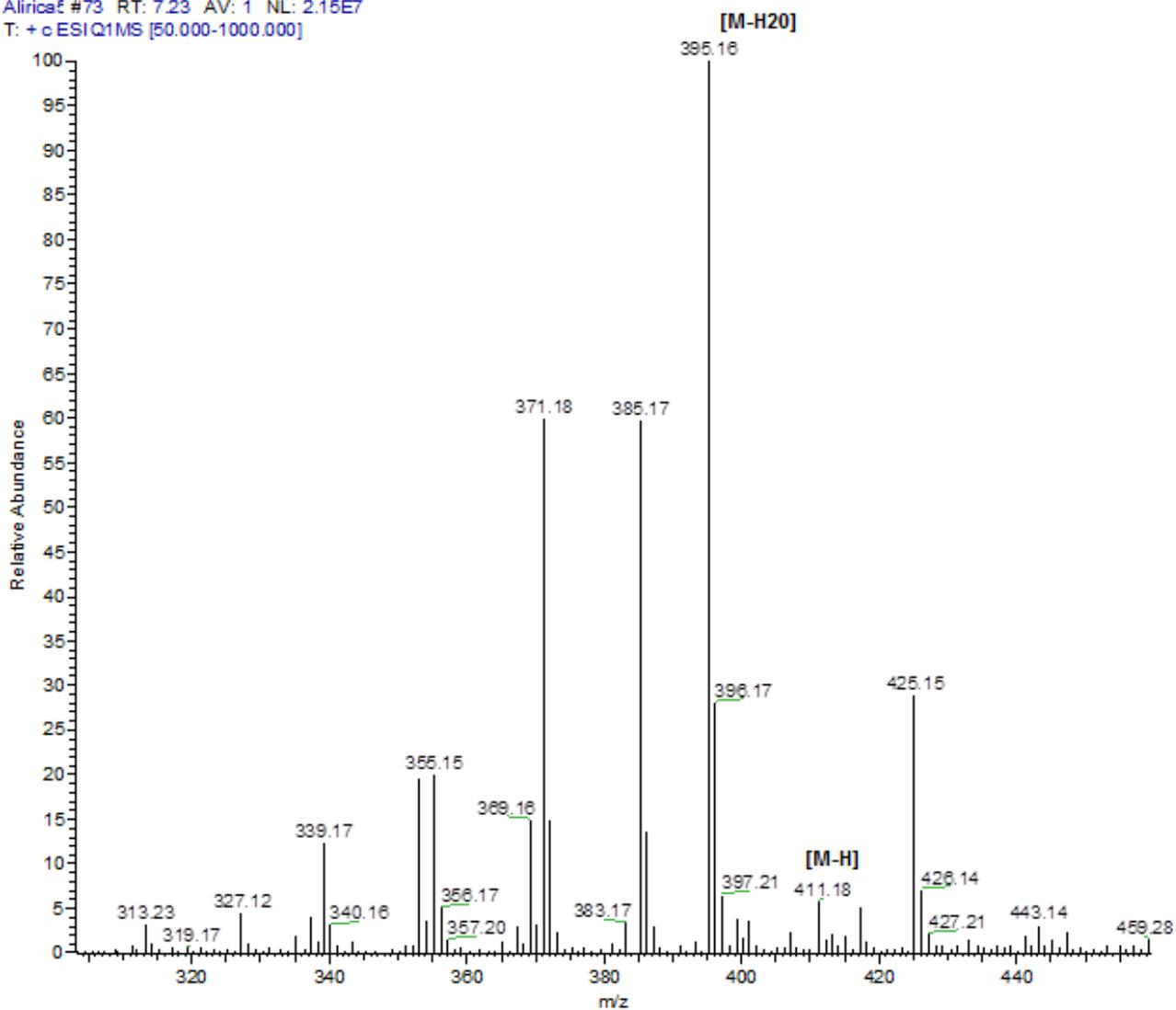


Strychnosine (VII)

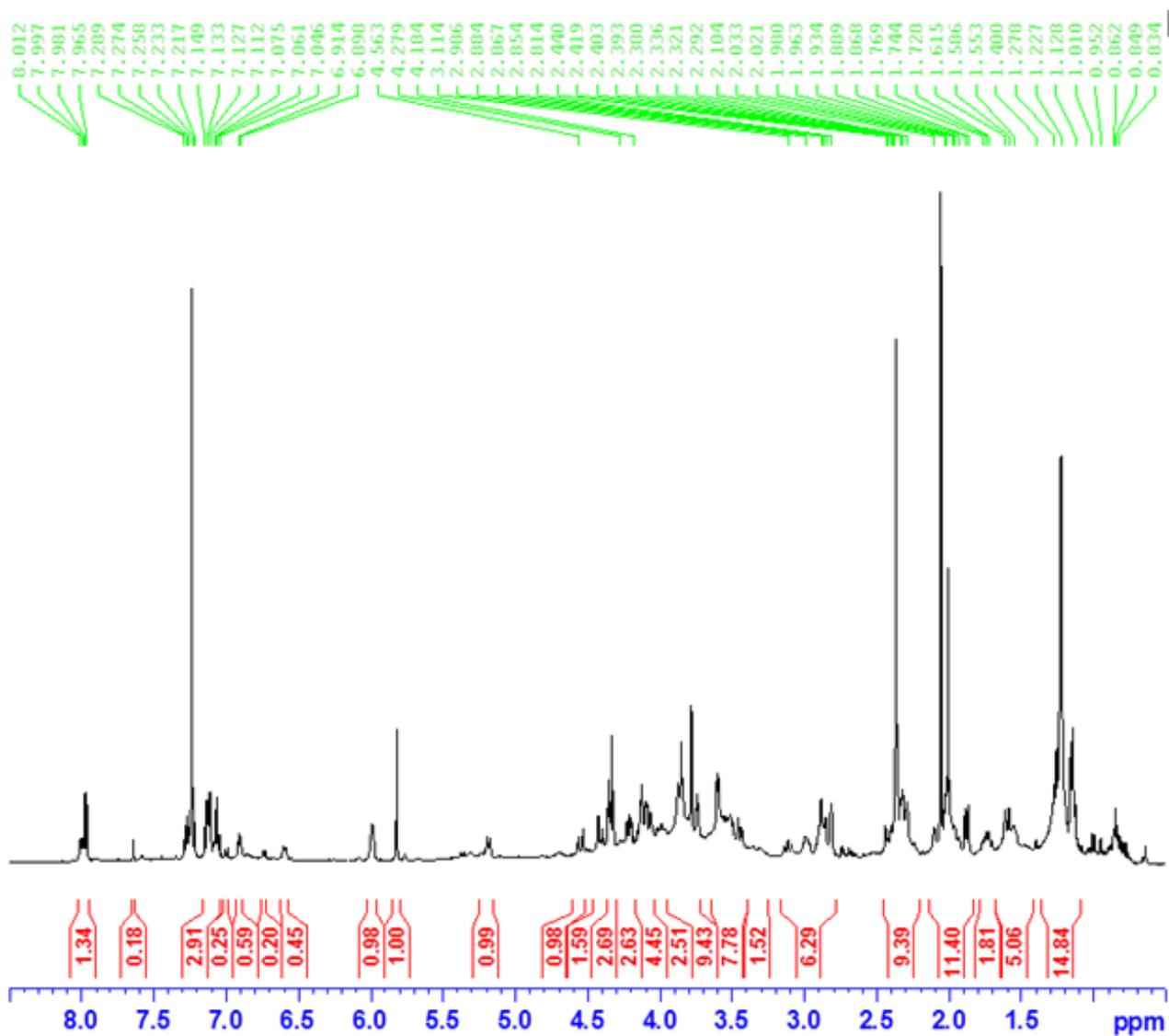


Espectro N° 41: IR Strychnosine (VII)

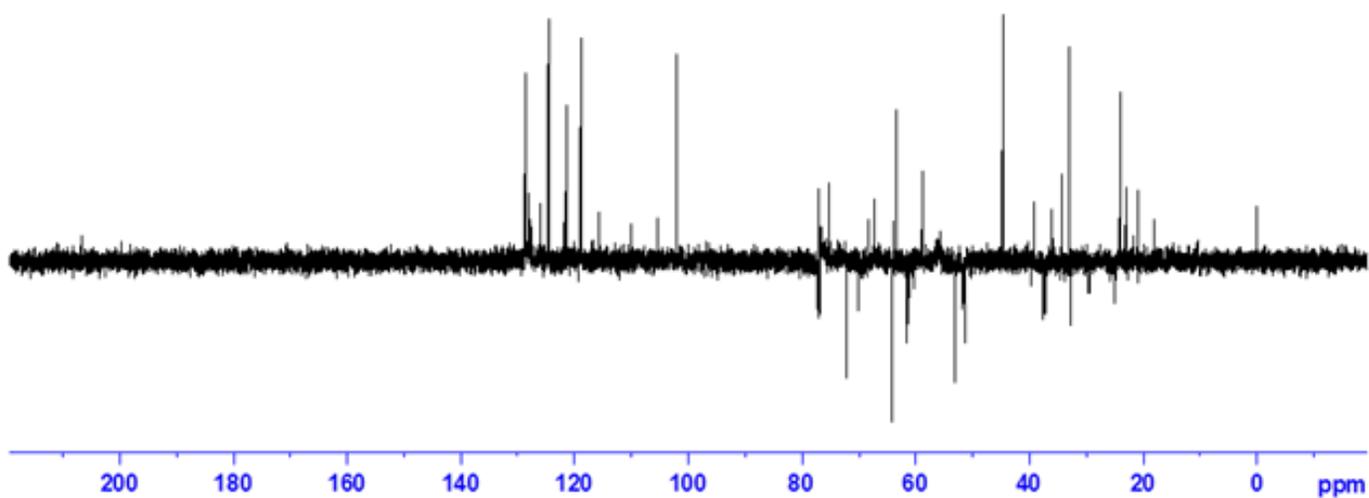
Alirica# #73 RT: 7.23 AV: 1 NL: 2.15E7
T: +c ESI Q1MS [50.000-1000.000]



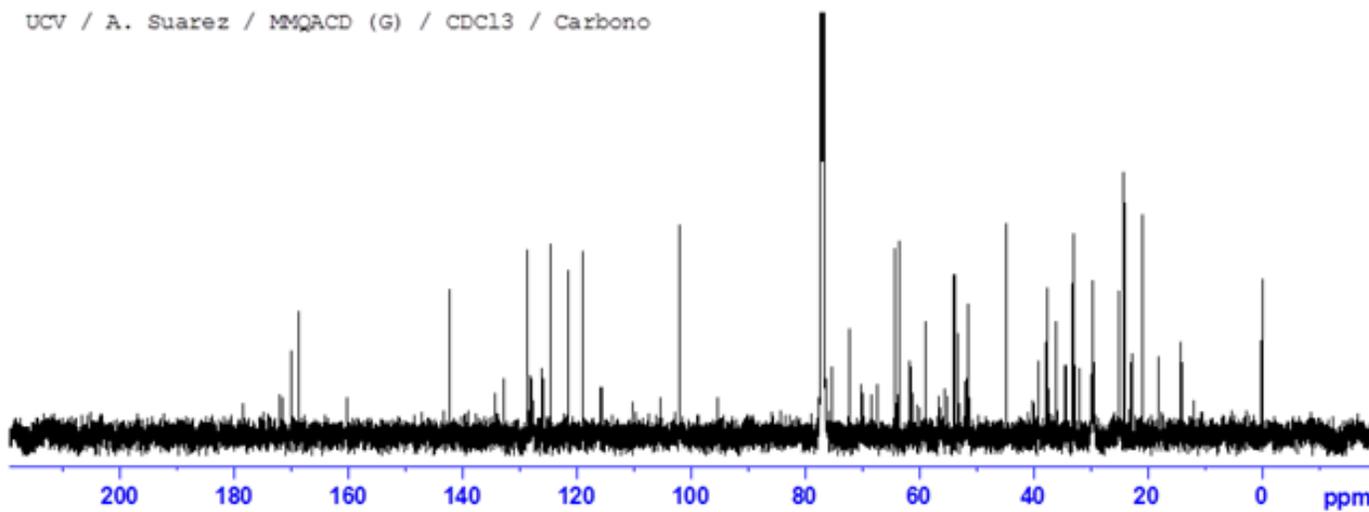
Espectro N° 42: Masas Strychnosine (VII)



Espectro N° 43: RMN ^1H Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl_3)

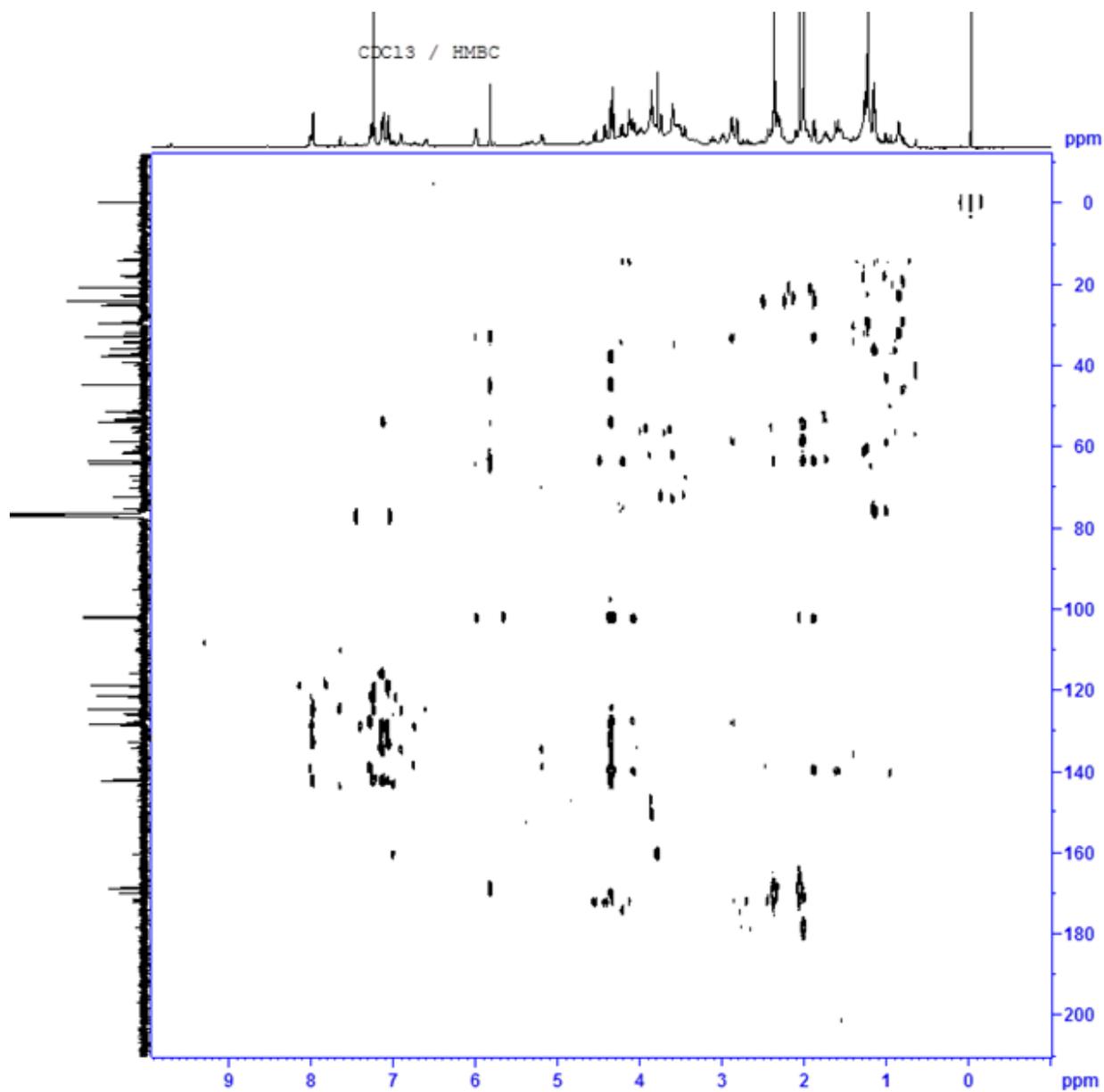


UCV / A. Suarez / MMQACD (G) / CDCl_3 / Carbono

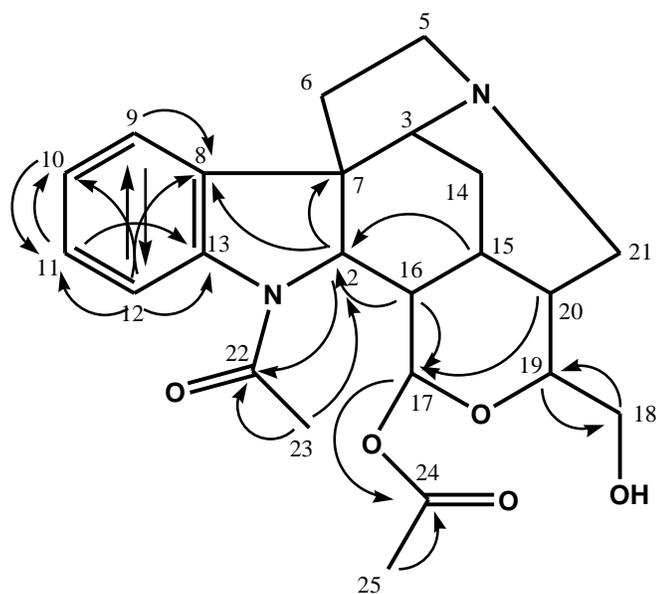


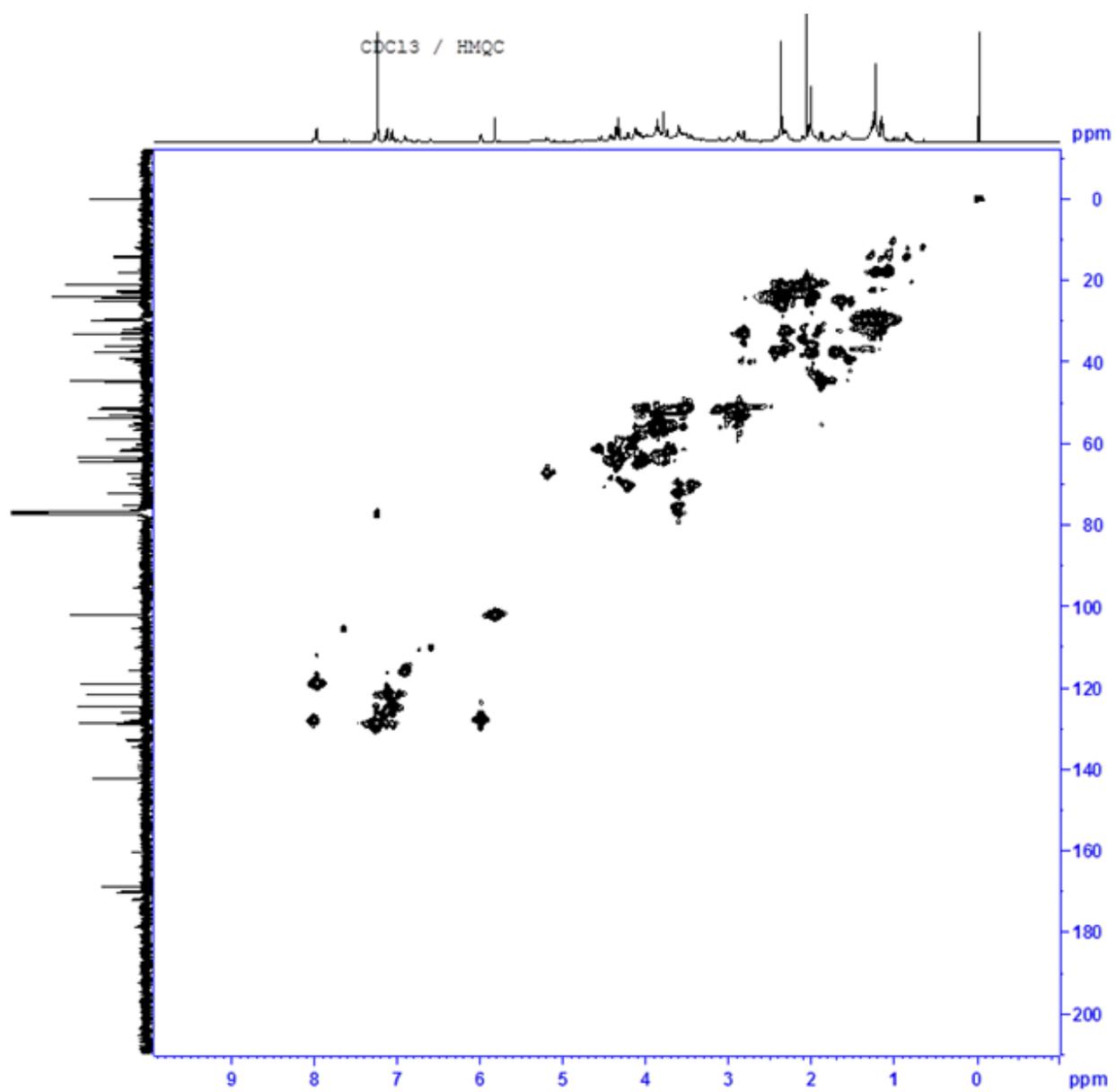
Espectro N° 44: RMN ^{13}C Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl_3)

Espectro N° 45: RMN ^{13}C y DEPT 135 Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl_3)

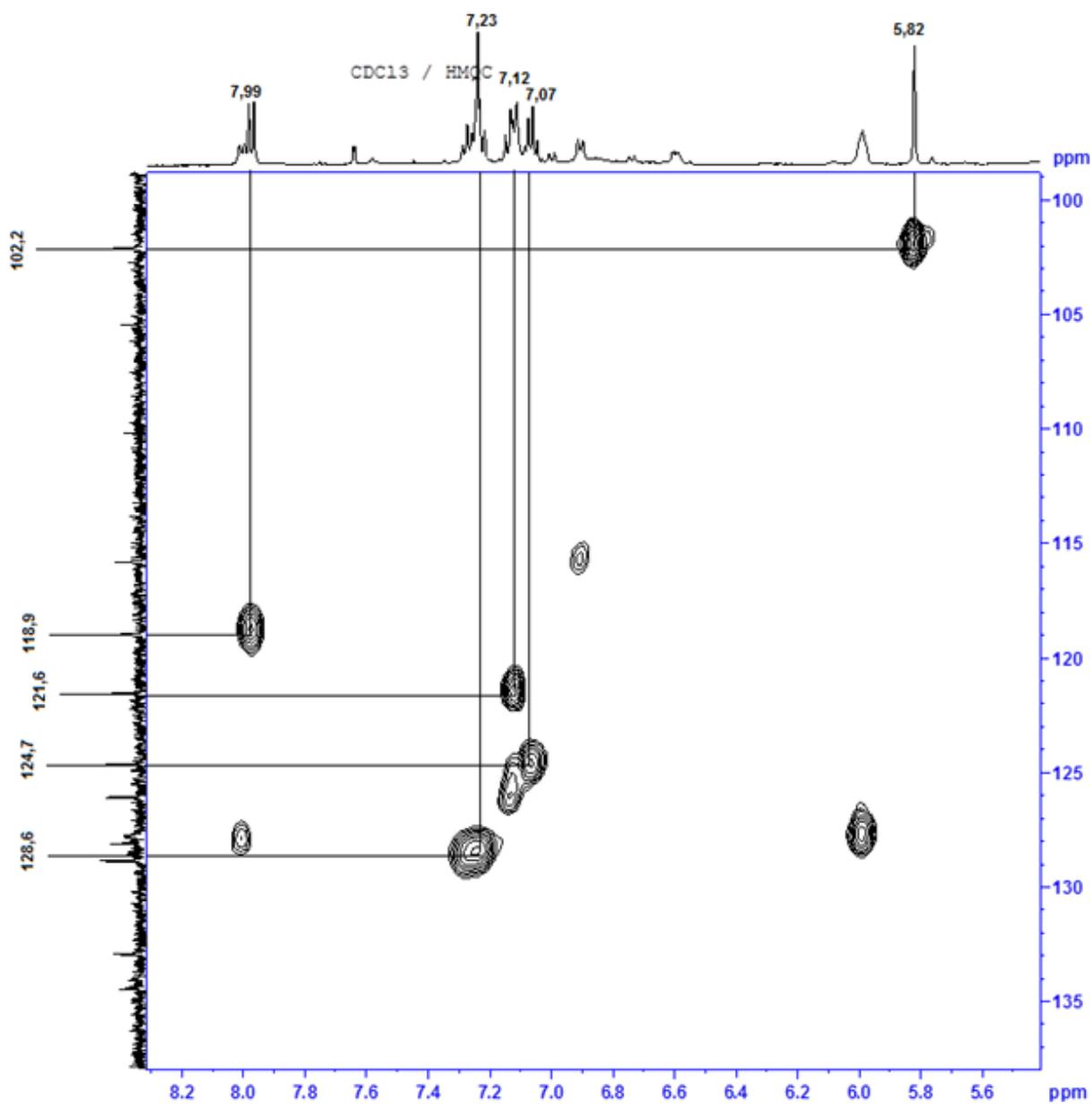


Espectro N° 46: COSY Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl_3)

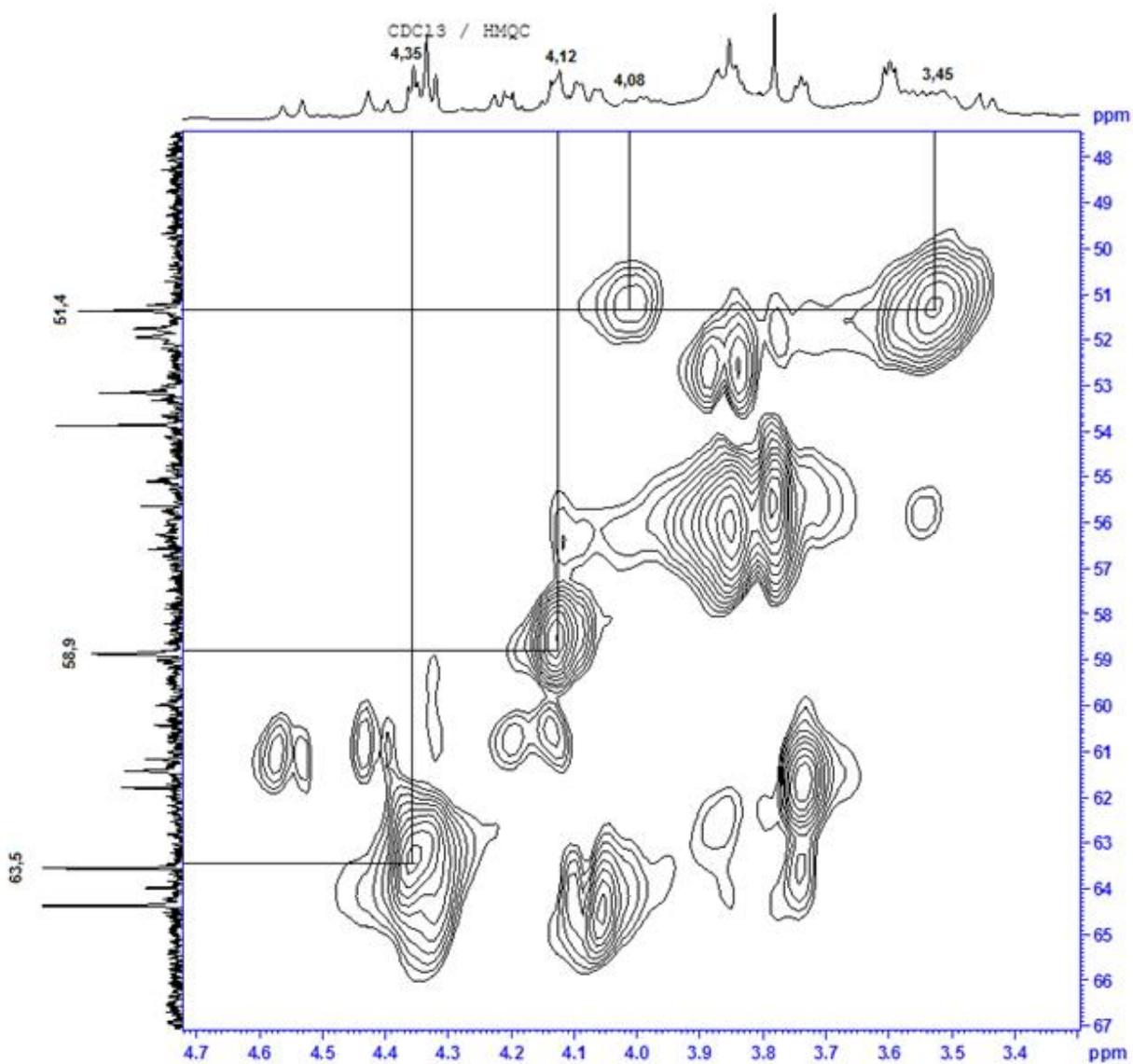
Espectro N° 47: HMBC Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl₃)**Principales correlaciones observadas en el espectro de HMBC:**



Espectro N° 48: HMQC Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl₃)



Espectro N° 49: HMQC ampliado Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl₃)



Espectro N° 50: HMQC ampliado Strychnosine (VII) (500 MHz; CDCl₃)

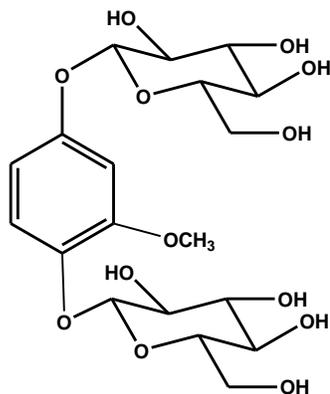
Tabla N° 11. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ¹H y ¹³C a los átomos de C presentes en Strychnosine (Experimental)

δ_C (ppm) Exp. ^a	δ_H (ppm) [m; J (Hz)] Exp. ^a	Correlaciones
172,1	-	171,2
170,1 (N-CO-)	-	-
168,8 (OCO-)	-	160,4
142,3 (C)	-	-
132,9 (C)	-	134,4
128,7 (CH)	7,26 (t)	129,9
124,7 (CH)	7,05 (d)	128,2
121,6 (CH)	7,13 (t)	126,1
119,0 (CH)	7,97 (d)	115,9/ 110,2/ 105,8
102,2 (CH)	5,82 (s)	102,1
75,3 (CH-O-)	3,60 (m)	-
72,3 (CH ₂ -O-)	3,60 (m)	70,2 (4,18t)
67,4 (CH)	5,18 (d)	68,6
64,4 (CH ₂)	4,10	61,8 (4,55d)/ 61,4 (4,34d)
63,5 (CH)	4,34 (t)	-
58,9 (CH)	4,08 (dd)	56,6/ 56,3/ 55,2
53,9 (C)	-	-
53,2 (CH ₂)	3,90	-
51,4 (CH ₂)	4,00/ 3,50	51,9/ 51,3/ 51,2
44,7 (CH)	1,97 (d)	44,8/ 39,2
37,7 (CH ₂)	2,0/ 1,73	37,3
36,1 (CH)	2,0	34,4
33,1 (CH)	2,83	29,7/ 29,2 (1,27)/ 178,6/ 18,1(1,13t) impureza A.G. sat.
25,1 (CH ₂)	1,73/ 1,60 (d)	-
24,1 (N-Me)	2,38 (s)	23,1
21,0 (MeCO-O) (AcNH)	2,01 (s) 6,00	22,7 -

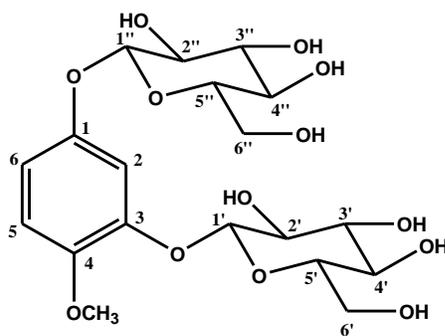
a: tomado en CDCl₃, 500 MHz

VII.8 Compuesto VIII: 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno

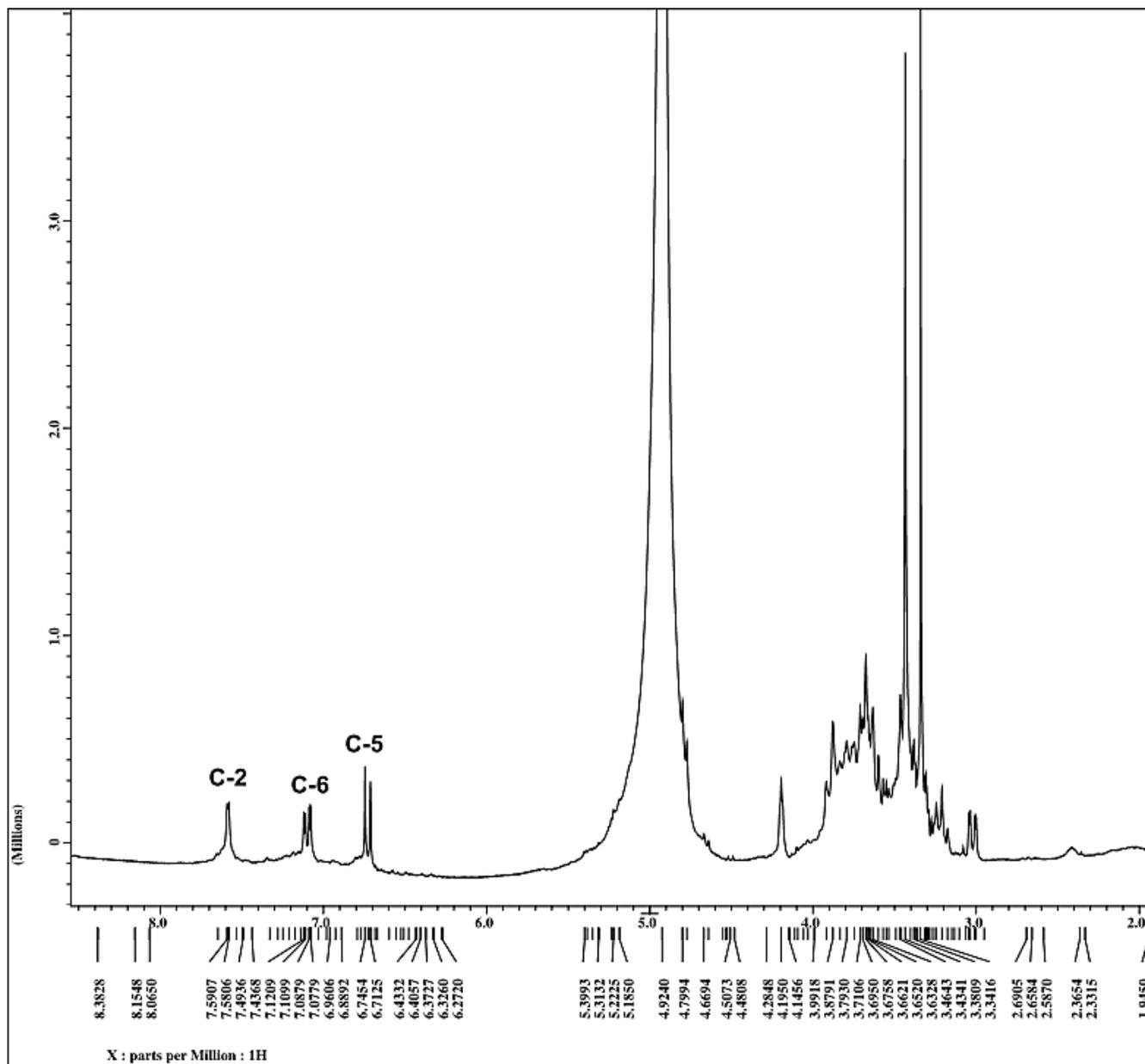
El compuesto VI, fue aislado de la fracción de acetato de etilo obtenida de la corteza de *Strychnos fendleri*, con un aspecto tipo “miel” de color marrón con un peso de $22,3 \pm 0,1$ mg. La data espectral de RMN de protones y carbono trece (MeOD), señalaron que parte de la molécula estaba constituida por un anillo aromático tipo bencénico trisustituido en un sistema 1,2,4. Tres señales las cuales integraban cada una para un protón en la zona comprendida entre δ 7.59 y 6.71 señalaron ese patrón de sustitución: la señal a δ 7.58 (d, $J = 2,5$ Hz), fue asignada al protón 2 del anillo. A 7,10 ppm (dd, $J = 2,5; 8.6$ Hz) se observó la señal asignada al protón de la posición 6 y a δ 6.71 (d, $J = 8.6$ Hz), se evidenció la resonancia del protón de la posición 5. Adicional a las señales descritas, un grupo de resonancias entre la zona de 3.63 – 4.19 ppm se consideraron pertenecientes a grupos glicosilados. Se observó igualmente un metilo oxigenado a 3.46 ppm. Se analizó el espectro de RMN de ^{13}C conjuntamente con un DEPT 135(espectro N° 55), el cual nos permitió considerar una estructura compuesta de 19 átomos de carbono de la siguiente naturaleza: 3 carbonos cuaternarios (156,7 y 149,5 (x2)) dos de los cuales resonaban al mismo desplazamiento químico (inferido en base a su intensidad); 2 metilenos oxigenados, un grupo metoxi y el resto eran todos metinos oxigenados. Con la ayuda del espectro de 2D HETCOR (Ver espectro N° 56) se pudo correlacionar todos los carbonos con sus correspondientes protones. De este análisis fue evidente la subestructura de la β -D-glucopiranososa como parte de la molécula analizada. El número de carbonos y el patrón de sustitución, claramente señalaron la presencia de dos subunidades de glucosa como sustituyentes, adicional al grupo metoxi. Tomando en consideración el análisis de nuestra data, se llevó a cabo la búsqueda bibliográfica, la cual nos permitió comparar nuestros datos con los reportados para compuestos que contenían esas subunidades. Los datos espectroscópicos fueron comparados con aquellos del 1,4-di-O- β -D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenceno (**86**)^[45] (tabla N° 12 y espectros N° 53- 54) y con base en el análisis de todos los espectros, se propone por primera vez el producto natural 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno.



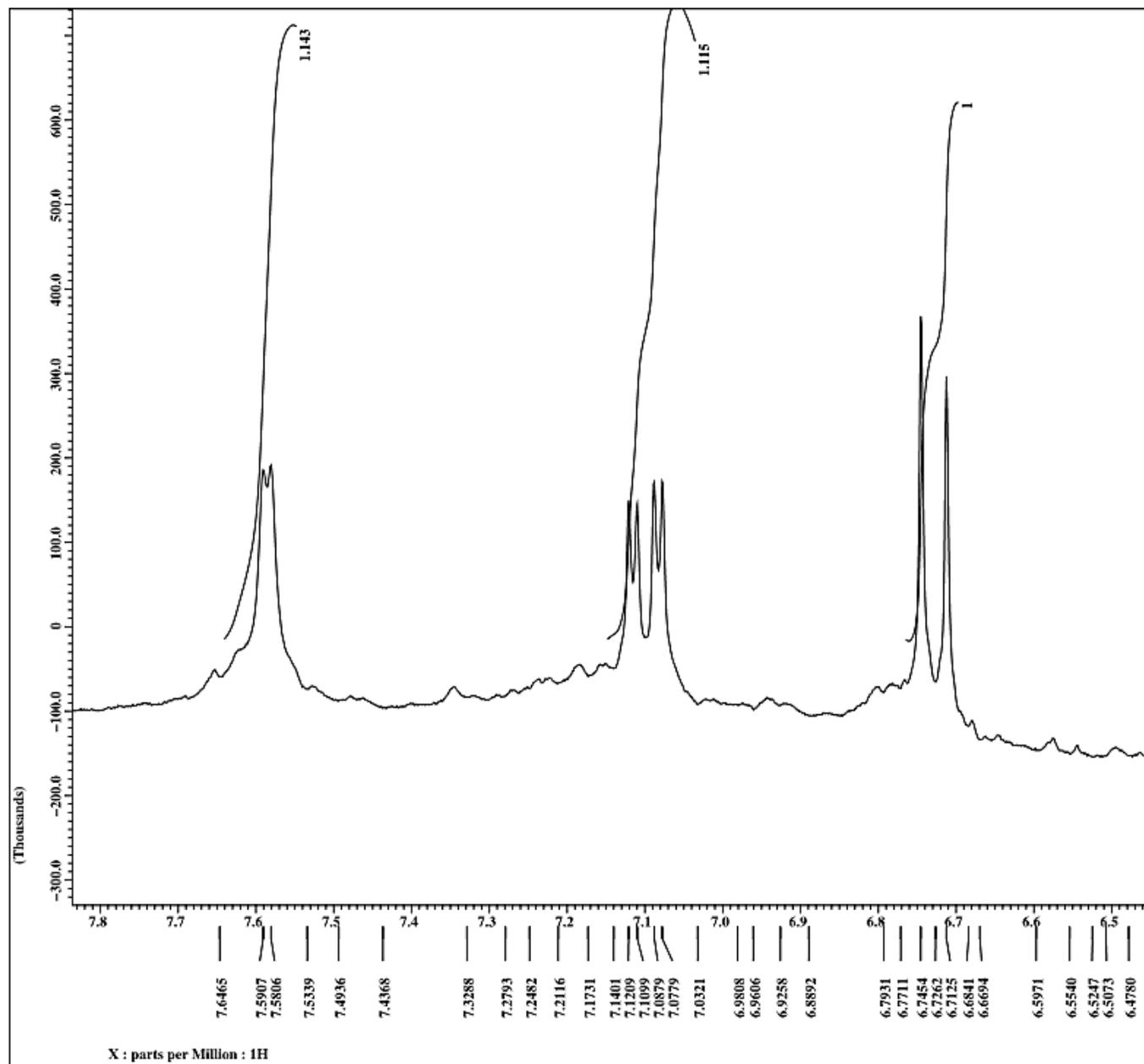
1,4-di-O- β -D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenceno (86)



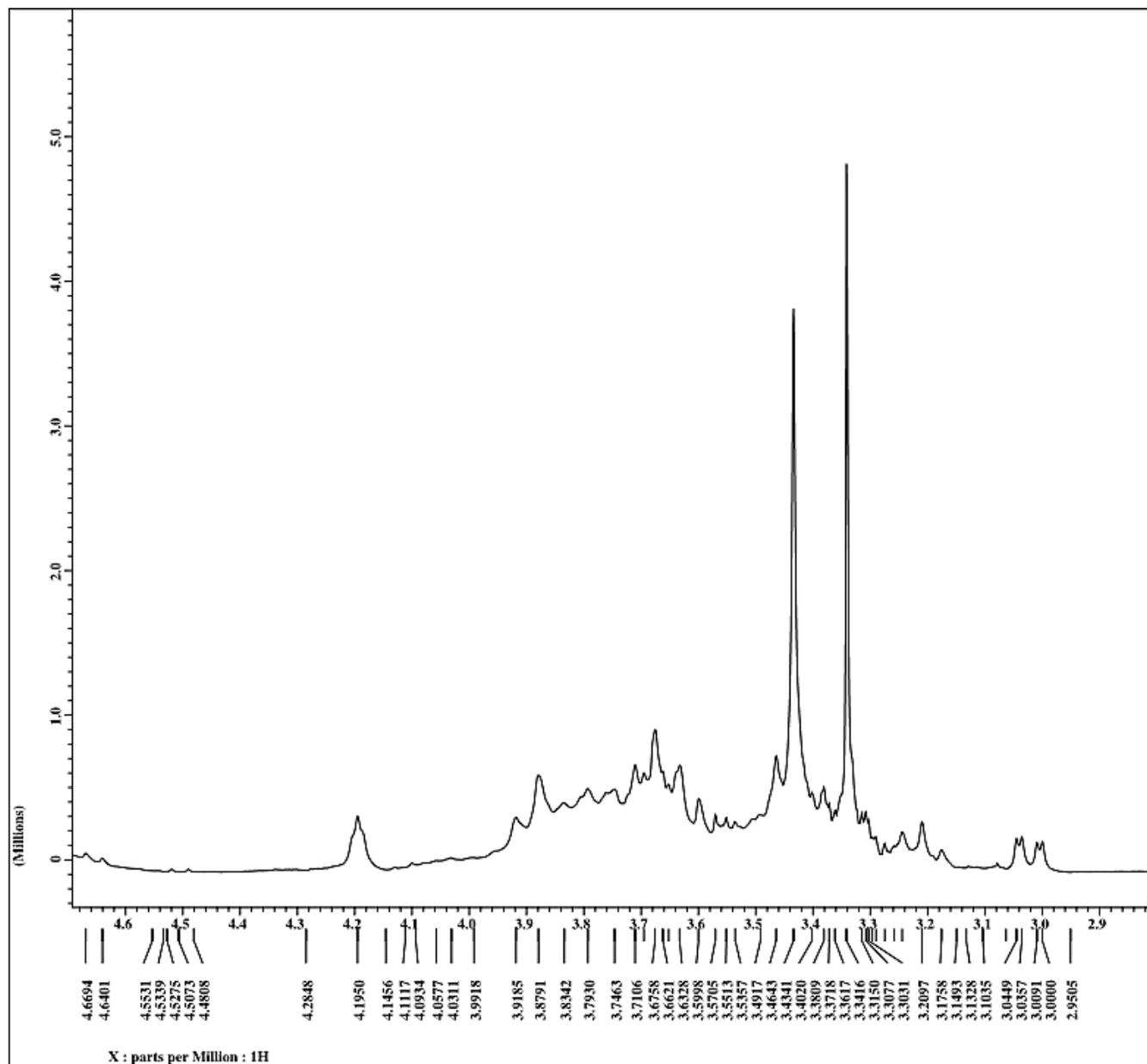
1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII)



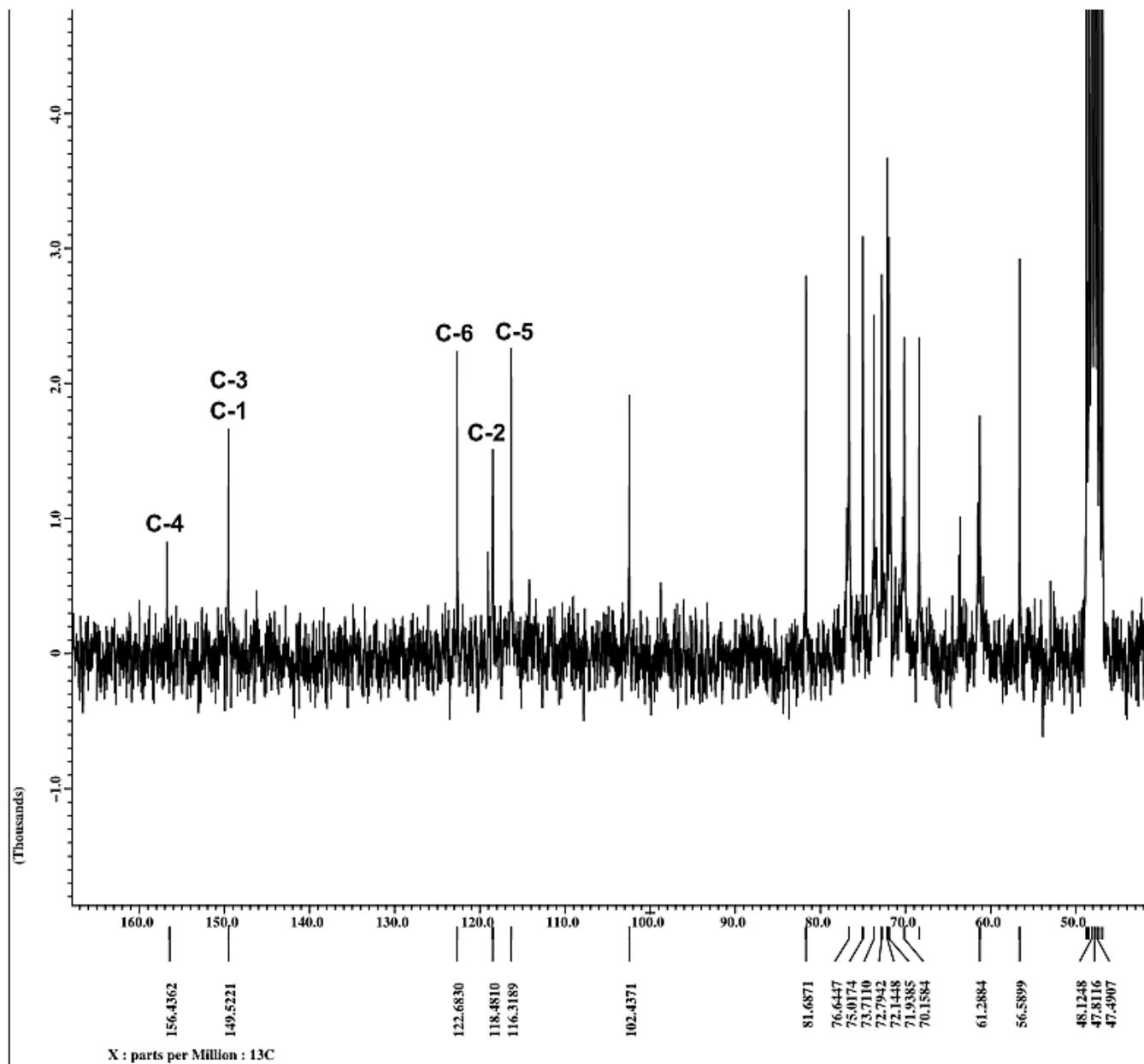
**Espectro N° 51: RMN ^1H 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII)
(270 MHz; MeOD)**



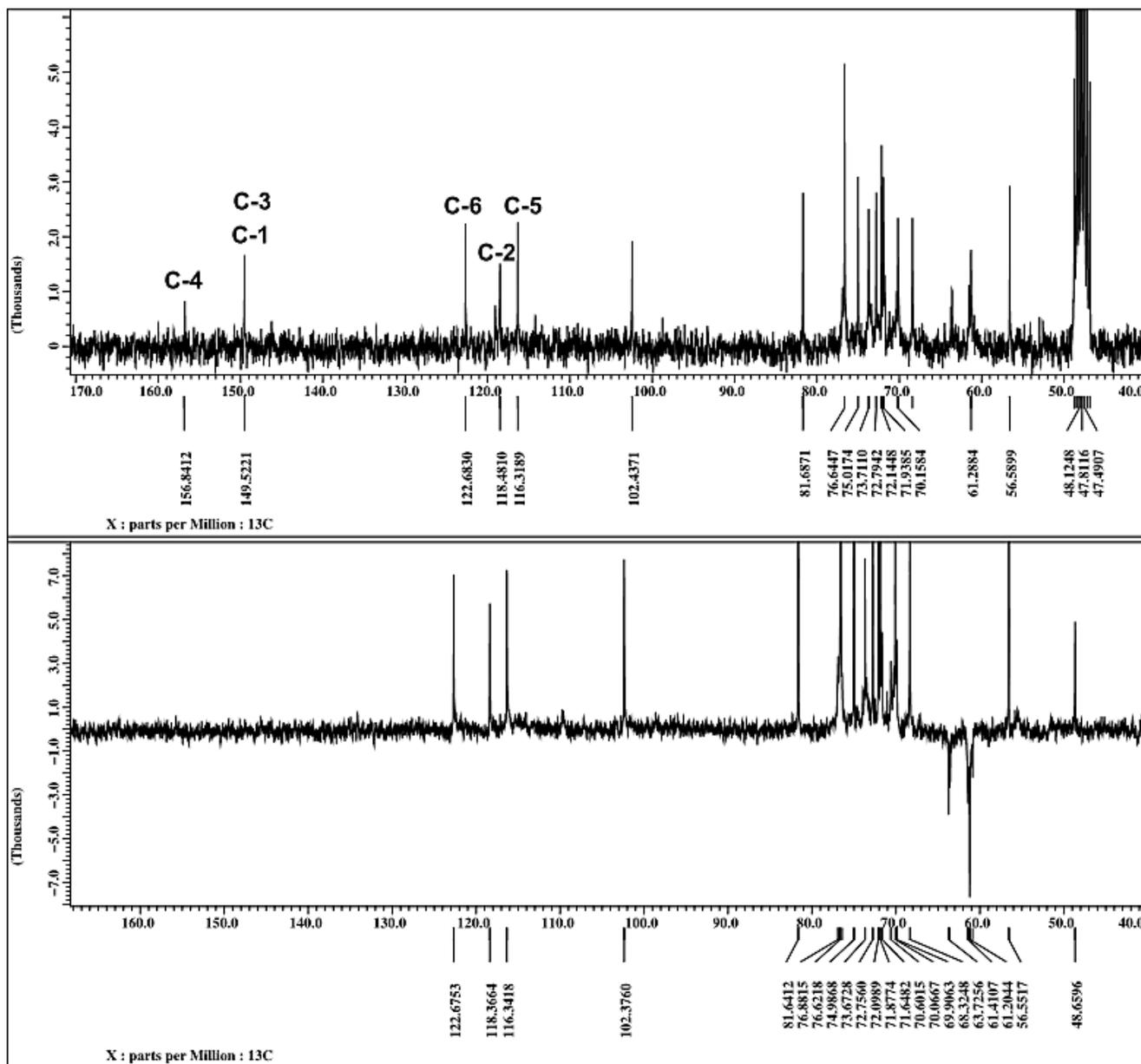
Espectro N° 52: RMN ^1H ampliado 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 MHz; MeOD)



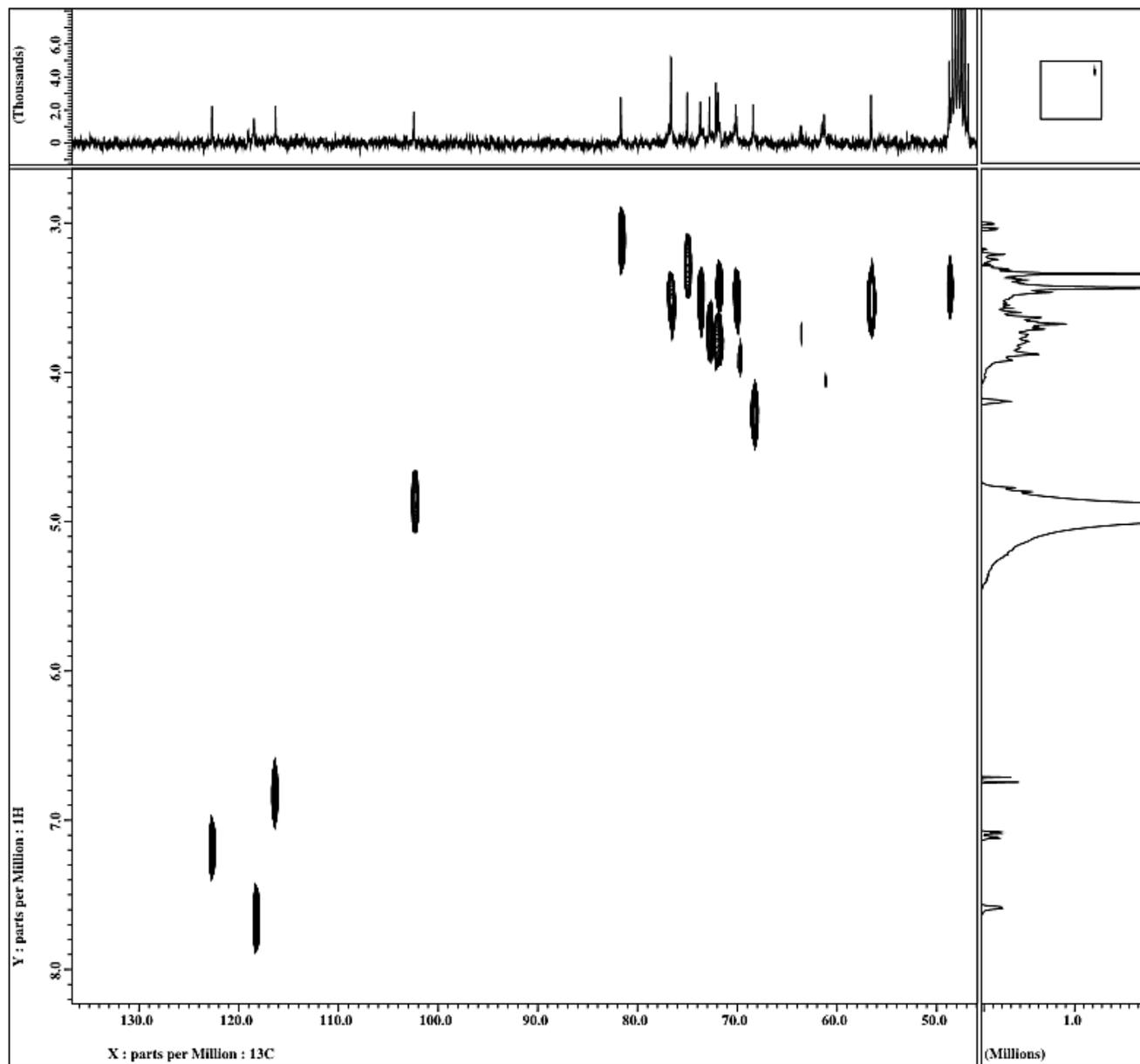
Espectro N° 53: RMN ^1H ampliado 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 MHz; MeOD)



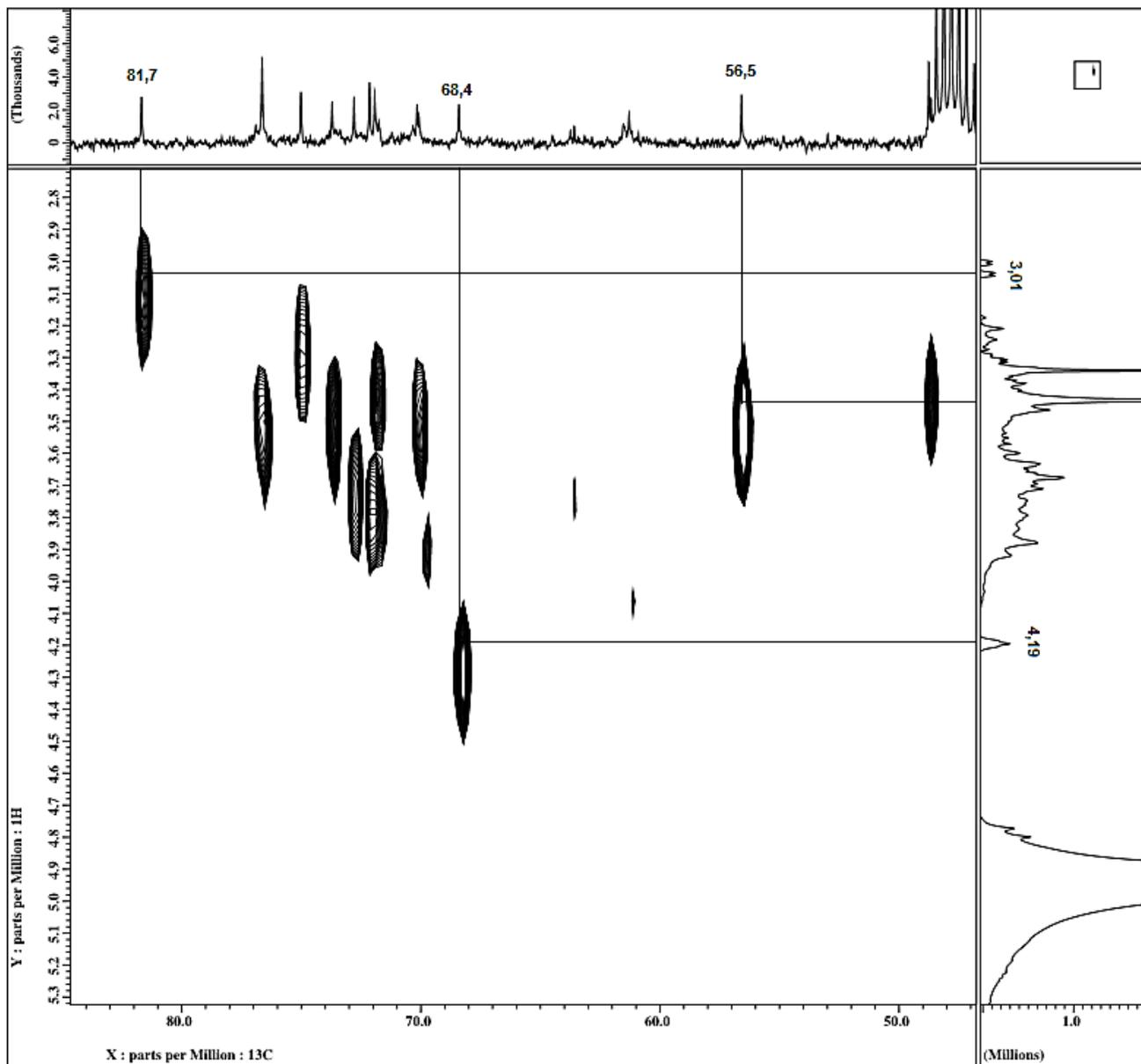
**Espectro N° 54: RMN ^{13}C 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII)
(270 MHz; MeOD)**



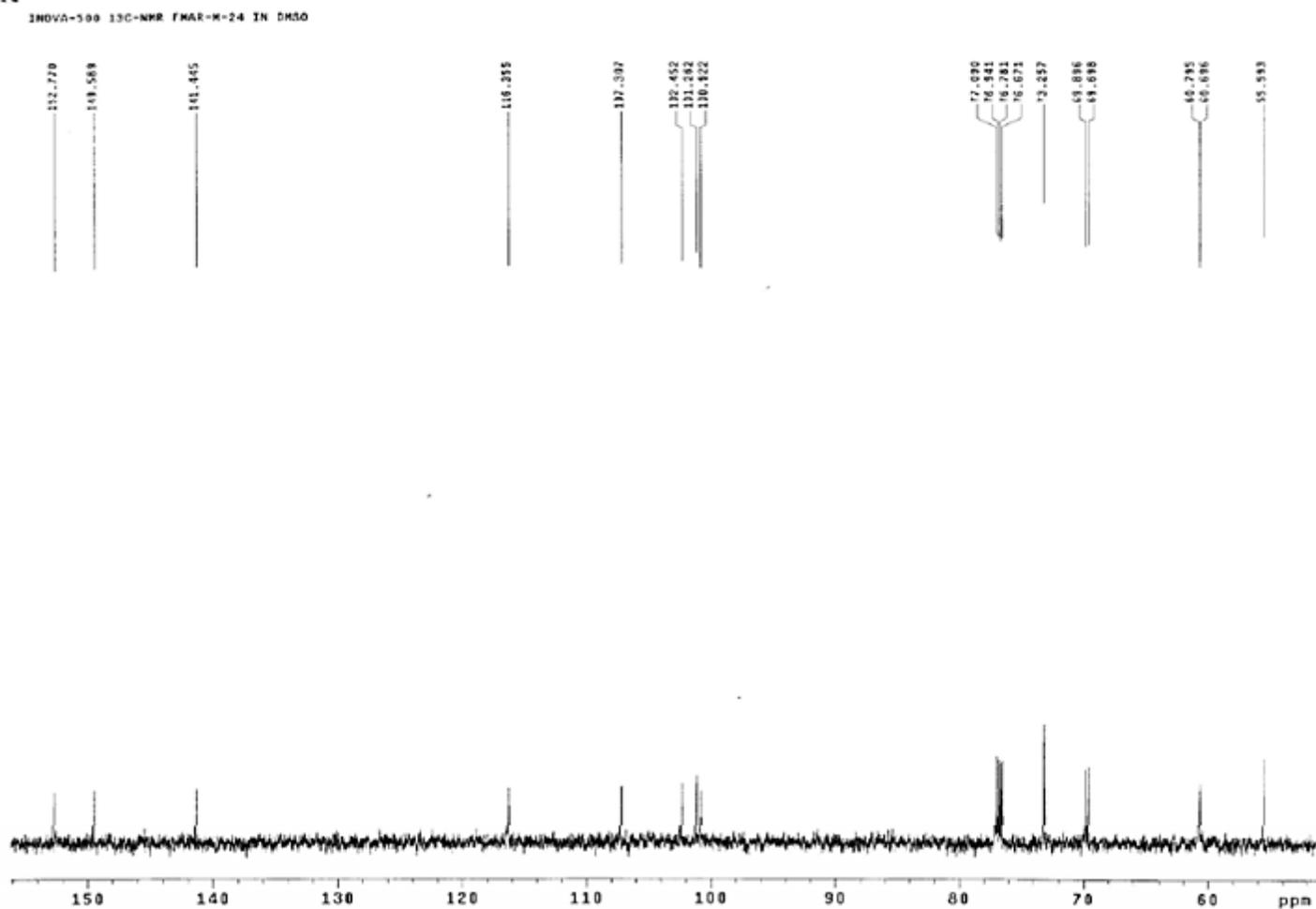
Espectro N° 55: RMN ^{13}C y DEPT 135 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 MHz; MeOD)



Espectro N° 56: HETCOR 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 MHz; MeOD)



Espectro N° 57: HETCOR ampliado 1,3-Di-O-β-D-glucopiranosil-4-metoxibenceno (VIII) (270 MHz; MeOD)



Espectro N° 59: RMN ^{13}C 1,4-di-O- β -D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenzeno (VIII) (DMSO) (Tomado de material suplementario de: Glycosides from the Stem Bark of *Fraxinus sieboldiana*)^[46]

Tabla N°12. Asignaciones de los desplazamientos químicos de las señales de RMN ^1H y ^{13}C a los átomos de C presentes en compuesto experimental y 1,4-di-O- β -D-glucopyranosiloxi-2-metoxibenceno.

C	δ_{H} (ppm) [m; J (Hz)] Exp.^a	δ_{C} (ppm) Exp.^a	δ (ppm) ^{b 45} 1,4-di-O-β-D- glucopyranosiloxi-2- metoxibenceno
1	-	149,6	141,4
2	7,58,d,(2,5)	118,4	149,6
3	-	149,6	102,5
4	-	156,7	152,8
5	6,71,d,(8,6)	116	107,3
6	7,10,dd,(2,5; 8,6)	122,7	116,4
1'	4,14,d, (7,5)	102,4	100,9
2'	3,63- 3,91,m	72,2	73,3
3'	3,63- 3,91,m	75,0	76,8
4'	3,63- 3,91,m	70,1	69,9
5'	3,63- 3,91,m	76,8	77,1
6'	3,63- 3,91,m	61,2	60,8
1''	4,14,d,(7,5)	102,4	101,3
2''	3,63- 3,91,m	72,8	73,3
3''	3,63- 3,91,m	73,7	76,7
4''	3,63- 3,91,m	68,4	69,7
5''	3,63- 3,91,m	76,6	76,9
6''	3,63- 3,91,m	60,8	60,7
MeO	3,46,s	56,6	55,6

a: tomado en MeOD, 270 MHz; b: tomado en DMSO, 500 MHz

VIII. CONCLUSIONES

- En el estudio fitoquímico del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aislaron e identificaron tres compuestos nuevos para esta especie: Vogelosido **(I)**, Kamferitrin **(II)** y D-1-metilmyoinositol **(III)**.
- En el estudio fitoquímico del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aislaron e identificaron cinco compuestos: Un compuesto conocido para esta especie: N-acetilstrychnosplenderine **(VI)**; Dos compuestos nuevos para esta especie: 3-metoxi-quercetina **(IV)** y Boonein **(V)**; y dos compuestos por primera vez reportados en la literatura de productos naturales: Strychnosine **(VII)** y 1,3-Di-O- β -Dglucopiranosil-4-metoxibenceno **(VIII)**.
- De la fracción de Acetato de etilo obtenido del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aislaron dos compuestos nuevos para esta especie: Vogelosido **(I)** y Kamferitrin **(II)**.
- De la fracción acuosa del extracto metanólico de las hojas de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aisló un compuesto nuevo para esta especie: D-1-metilmyoinositol **(III)**.
- De la fracción de hexano obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aisló un compuesto nuevo para esta especie: Boonein **(V)**.
- En la fracción de diclorometano del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aisló un total de tres compuestos: un compuesto conocido para la especie: N-acetilstrychnosplenderine **(VI)**; un compuesto nuevo

para la especie: Boonein **(V)**; y un compuesto por primera vez reportado en la literatura de productos naturales: Strychnosine **(VII)**.

- De la fracción de acetato de etilo obtenida del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith se aisló un compuesto por primera vez reportado en la literatura de productos naturales: 1,3-Di-O- β -D-glucopiranosil-4-metoxibenceno **(VIII)**.

IX. RECOMENDACIONES

- Realizar el estudio fitoquímico de las hojas y corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith, partiendo del procedimiento experimental realizado en la ref. 31, con la finalidad de realizar la búsqueda de nuevos alcaloides.
- Estudiar la composición de la fracción acuosa del extracto metanólico de la corteza de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith.
- Realizar el estudio fitoquímico de los frutos de *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith.
- Evaluar los efectos citotóxicos y antimaláricos del nuevo alcaloide Strychnosine **(VII)**.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. Díaz, G., Plantas tóxicas de importancia en salud y producción animal en Colombia, Ed. Universidad Nacional de Colombia, primera edición, Colombia, 2010, pag. 137-138.
2. Silva, M., Souza-Brito, A., Hiruma-Lima, C., Santos, L., Sannomiya, M., Vilegas, W., *Strychnos* L. da América do Sul e Central, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 2005, 15 (3), pag. 256- 267.
3. www.new.paho.org/ven/, Casos de malaria en las Américas bajaron casi un 60% en la última década, según nuevo informe de la OMS, Washington DC., 20 de diciembre de 2012- Consultada 29-03-2013.
4. Macias, B., Bolívar, Amazonas y D. Amacuro con 97% de casos de malaria, El Carabobeño, Abril 2012
5. González, L., Flora de Costa Rica I. Guía Práctica, Ed. Universidad Estatal a Distancia, EUNED, primera edición, Costa Rica, 2011, pag. 138- 139.
6. <http://www.biologia.edu.ar/diversidadv/fascIII/1.%20Loganiaceae.pdf> - Consultada 18/06/2013.
7. http://www.thecompositaehut.com/www_tch/webcurso_spv/familias_pv/loganiaceae.html -Consultada 18/06/2013.
8. http://www.zipcodezoo.com/Plants/s/Strychnos_fendleri/ - Consultada 15/06/2013.

9. Steyermark, P., Berry, P., Yatskievych, K., Holst, B., Flora of the Venezuelan Guayana, Ed. Missouri Botanical Garden Press, Volumen 9, 2005, pag. 28- 36.
10. Krukoff, B., Barneby, R., Acta Botánica Venezuelica, 1974, 9 (1-4), pag. 63- 118.
11. Marcano, D., Hasegawa, M., Fitoquímica Orgánica, ed. Trino, segunda edición, Venezuela, pag. 217, 218, 230, 237, 238, 379
12. <http://www.bt.cdc.gov/agent/strychnine/espanol/facts.asp> -Consultada 12/06/2013.
13. Argenot, L., Quertin-Leclercq, J., South American *Strychnos* species. Ethnobotany and alkaloid screening, *J. Ethnopharmacol*, 1990, (28), pag.1- 52.
14. Oliveira, E., Medeiros, I., Mukherjee, R., Hypotensive and spasmolytic effects of normacusine B from *Strychnos atlántica* root, *Phytomedicine*, 1996, 3(1), pag. 45-49.
15. Mukherjee, R., Guimaraes, J., Oliveira, E., Keiffer, P., Tertiary alkaloid fraction of *Strychnos atlántica*: Confirmation of the identity and structures of indole alkaloids by high field nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Phytochem Anal*, 1997, (8), pag. 115- 119.
16. Oliveira, E., Medeiros, I., Mukherjee, R., Hypotensive and spasmolytic effects of normacusine B from *Strychnos atlántica* root, *Phytomedicine*, 1996, (3), pag. 45- 49.
17. Iwataki, I., Comin, J., Studies on argentine plants-XXXI. Alkaloids from *Strychnos brasiliensis*, *Tetrahedron*, 1971, 27 (12), pag 2541- 2552.
18. Iwataki, I., Studies on Argentine plants- XXXI., *Tetrahedron*, 1971, (27), pag. 2541- 2552.

19. Galeffi, C., Patamia, M., Nicoletti, M., Messina, I., Marini-Betrolo, G., 3-Hydroxydiaboline, a tertiary alkaloid from *Strychnos castelnaeana*, *Phytochemistry*, 1982, 21 (9), pag. 2393- 2395.
20. Galeffi, C., Patamia, M., Nicoletti, M., Messina, I., Martini-Bettolo, G., 3-hydroxydiaboline, a tertiary alkaloid from *Strychnos castelana*, *Phytochemistry*, 1982, (21), pag. 2393- 2395.
21. Forgacs, P., Jehanno, A., Provost, J., Thai, C., Guilhem, J., Pascard, C., Moretti, C., An indole alkaloid from *Strychnos erichsonii*, *Phytochemistry*, 1986, 25 (4), pag. 969- 971.
22. Juliem, L., Fruit composition, seed dispersal and fate in the vine *Strychnos erichsonii* in a French Guianan forest, *Revue d' Ecologie la Terre et la Vie*, 1999, (54), pag. 315- 326.
23. Pinheiro, M., Contribuicao ao estudo fitoquimico do genero *Strychnos* da flora Amazonica. Tese de Dourorato em Química Organica- Universidad Federal do Ceara, 2000.
24. Argenot, L. Quentin-Leclercq, J., Llabres, G., Warins, R., Belem, P., Guianensine, a zwitterionic alkaloid from *Strychnos guianensis*, *Phytochemistry*, (40), 1557- 1560.
25. Penelle, J., Monique, T., Philippe, C., Viviane, B., Guiaflavine, a new bisindole quaternary alkaloid from the stem bark of *Strychnos guanensis*, *J. Nat Prod*, 1999, (62), 898- 900.

26. Penelle, J., Monique, T., Philippe, C., Viviane, B., Quaternary indole alkaloids from the bark of *Strychnos guianensis*, *Phytochemistry*, (53), pag. 1057- 1066.
27. Angeno, L., Belem-Pinheiro, M., Imbiriba, A., Poukens, P., Quetin, J., Warin, R., An indolinc cryptoalkaloid from *Strychnos mattogrossensis*, *Phytochemistry*, 1990, 29 (8), pag. 2746- 2749.
28. Battista, G., Galeffi, C., Nicoletti, M., Messana, I., Alkaloids of *Strychnos rubiginosa*, *Phytochemistry*, 1980, 19 (5), pag. 992 – 994.
29. Da Silva, T., Da Silva, B., Mukherjee, R., The monoterpene alkaloid cantleyine from *Strychnos trinervis* root and its spasmolytic properties, *Phytomedicine*, 1999, 6 (3), Pg. 169- 176.
30. Melo, M., Da Silva, B., Mukherjee, R., Spasmolytic actions of the new indole alkaloid Trinervine from *Strychnos trinervi* root, *Phytomedicine*, 1994, 1 (3), pag. 205- 207.
31. Galeffi, C., Lupi, A., Marini-Bettolo, G., XXV/on the alkaloids of *Strychnos*. XXIX. New indole alkaloids from *Strychnos fendleri* (Sprague & Sandwith), 1976, *Gazzetta Chimica Italiana*, pag.106.
32. Galeffi, G., Marini-Bettolo, G., on the alkaloids of *Strychnos*. XXXII. The alkaloids of *Strychnos fendleri* Sprague & Sandwith, *Gazzetta Chimica Italiana*, pag.81.
33. Zhou, Y., Tong, Y., Gesang, S., Peng, S., Ding, L., Secoiridoid Glycosides from *Swertia mileensis*, *Helvetica Chimica Acta*, 2006, 89, pag. 94- 102.

34. Sanchez J., Moreno B., Cuca L., Two new secoiridoids from *Chelonanthus alatus* (Aubl.) Pulle (Gentianaceae), *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 2013, 12 (2): 186- 195
35. Pizzolatti, M, Cunha, A., Szpoganicz, B., Sousa, E., Flavonóides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* (leguminosae), *Química Nova*, 2013, 26 (4), pag. 466- 469.
36. Valente, L., Bizarri, C., Liechocki, S., Barboza, R., Paixao, D., Almeida, M., Benevides, P., Magalhaes, A., Siani, A., Kaempferitrin from *Ucaria guianensis* (Rubiaceae) and its Potential as a Chemical Marker for the Species, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2009, 20(6), pag. 1041 -1045.
37. Angyal, S., Odier, L., The ^{13}C - N.M.R. spectra of inositols and cyclohexanepentols: The Validity of rules correlating chemical shifts with configuration, *Carbohydrate Research*, 1982, 100, pag. 43- 54
38. Angyal, S., The effect of methylation on chemical shifts in the ^1H - and ^{13}C -N.M.R. spectra of cyclic polyols, *Carbohydrate Research*, 1983, 123, Pag. 23- 29
39. Dorman, D., Angyal, S., Roberts, J., Carbon-13 spectra of Some Inositols and Their O-methylated Derivatives, *Journal of the American Chemical Society*, 1970, 92, pag. 1351- 1354
40. Dos Santos, Z., Rocha, E., Rocha, L., Silva, E., Lima, E., Carvalho, M., Andrade, D., Braz, R., Martin, A., Chemical Composition of *Aspidosperma ulei* Markgr. and Antiplasmodial Activity of Selected indole Alkaloids, *Molecules*, 2013, 18, pag. 6281- 6297

41. Jung, M., Park, M., Acetylcholinesterase Inhibition by Flavonoids from *Agrimonia pilosa*, *Molecules*, 2007, 12, pag. 2130- 2139
42. Marini, G., Nicoletti, M., Messana, I., Patamia, M., Boonein, a new terpenoid lactone from *Alstonia boonei*: a possible precursor in the indole alkaloid biogenesis, *tetrahedron*, 1983, vol 39 (2), pag. 323- 329
43. Chang M., Lin C., Sun P., Chang N., Total Synthesis of (\pm)- Boonein, *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2007, 54, 239-243
44. Tada M., Inoue S., Miki T., Onogi S., Kaminaga J., Hiraoka J., Kitano Y., Chiba K., *Chemical and pharmaceutical Bulletin*, 1998, 46(9), pag. 1451-1453
45. Lin, S., Wang, S., Liu, M., Gan, M., Li, S., Yang, Y., Wang, Y., He, W., Shi, J., Glycosides from the Stem Bark of *Fraxinus sieboldiana*, *Journal of Natural Products*, 2007, 70 (5), pag. 817 -823